



## **Bakalářská práce**

# **Vývoj vláknenných tubulárních vzorků pomocí AC zvlákňování**

*Studijní program:*

B0723A270001 Textilní technologie, materiály  
a nanomateriály

*Autor práce:*

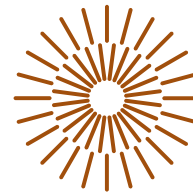
**Jan Semeneč**

*Vedoucí práce:*

doc. RNDr. Jana Horáková, Ph.D.

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných  
materiálů

Liberec 2024



## Zadání bakalářské práce

# Vývoj vláknenných tubulárních vzorků pomocí AC zvlákňování

*Jméno a příjmení:*

**Jan Semeneč**

*Osobní číslo:*

T20000240

*Studijní program:*

B0723A270001 Textilní technologie, materiály a nanomateriály

*Zadávající katedra:*

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

*Akademický rok:*

2022/2023

### Zásady pro vypracování:

1. Zpracování rešerše na dané téma: současný přehled výroby tubulárních vláknenných vzorků určených pro aplikace v medicíně – použité technologie, polymerní materiály, příklady využití.
2. Experimentální část: výběr polymerních materiálů a rozpouštědlových systémů vhodných pro zvlákňování, výroba tubulárních vzorků pomocí AC zvlákňování, optimalizace procesu, hodnocení morfologie materiálů na vnější / vnitřní straně, měření tloušťky vrstvy a její homogenity v délce vzorku.
3. Vyhodnocení provedených experimentů a zpracování výsledků.

*Rozsah grafických prací:* dle potřeby dokumentace  
*Rozsah pracovní zprávy:* 40-60 dle potřeby  
*Forma zpracování práce:* tištěná/elektronická  
*Jazyk práce:* čeština

### **Seznam odborné literatury:**

- [1] Ratner BD et al. Biomaterials Science, Third Edition, Academic Press, 2013. ISBN: 978-0-12-374626-9.
- [2] Sivan M., Madheswaran D., Hauzerova S., Novotny V., Hedvicakova V., Jencova V., Kostakova E.K., Schindler M., Lukas D., AC electrospinning: impact of high voltage and solvent on the electrospinnability and productivity of polycaprolactone electrospun nanofibrous scaffolds. *Materials Today Chemistry*, 2022, 26: 101025. DOI: 10.1016/j.mtchem.2022.101025
- [3] Valtera, J., Kalous, T., Pokorny, P. et al. Fabrication of dual-functional composite yarns with a nanofibrous envelope using high throughput AC needleless and collectorless electrospinning. *Scientific Reports*, 2019, 9: 1801. DOI: 10.1038/s41598-019-38557-z
- [4] Yuan X., Li W., Yao B., Li Z., Kong D., Huang S., Zhu M. Tri-Layered Vascular Grafts Guide Vascular Cells; Native-like Arrangement. *Polymers (Basel)*, 2022, 14 (7): 1370. DOI: 10.3390/polym14071370. PMID: 35406244; PMCID: PMC9003212.
- [5] Horakova J., Mikes P., Saman A., Jencova V., Klapstova A., Svarcova T., Ackermann M., Novotny V., Suchy T., Lukas D. The effect of ethylene oxide sterilization on electrospun vascular grafts made from biodegradable polyesters. *Materials Science and Engineering: C* 2018, 92: 132-42. DOI: 10.1016/j.msec.2018.06.041

*Vedoucí práce:* doc. RNDr. Jana Horáková, Ph.D.  
Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

*Datum zadání práce:* 1. listopadu 2022  
*Předpokládaný termín odevzdání:* 20. května 2024

L.S.

doc. Ing. Vladimír Bajzík, Ph.D.  
děkan

doc. Ing. Pavel Pokorný, Ph.D.  
garant studijního programu

V Liberci dne 1. listopadu 2022

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Jsem si vědom toho, 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 nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

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

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědom následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

## **Poděkování**

Chtěl bych vyjádřit upřímné díky vedoucí mé bakalářské práce, paní docentce Janě Horákové, a panu doktorovi Kalousovi za jejich cenné rady, podporu a trpělivost během mého výzkumu a psaní této práce. Jejich odborné vedení bylo pro mě neocenitelné. Rovněž musím poděkovat panu doktorovi Skřivánkovi za jeho pomoc s přípravou a modifikací zvlákňovací jednotky v Laboratoři Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace.

Také moc děkuji paní inženýrce Porkertové za cenné rady a pomoc se zpracováním naměřených dat. Dále děkuji paní doktorce Tomkové za pomoc s tahovými zkouškami.

Také bych rád poděkoval celé katedře netkaných textilií za poskytnutí prostředků a podmínek, které mi umožnily realizovat tento výzkum. Jejich ochota a vstřícnost byla pro mě velkou inspirací.

Nesmím zapomenout poděkovat i své rodině a všem lidem, kteří mi v průběhu psaní práce poskytli podporu a pomoc. Vaše povzbuzení mi dodávalo sílu a odhodlání pokračovat vpřed.

Děkuji vám všem za vaši neocenitelnou podporu a přispění k úspěšnému dokončení této práce.

## **Anotace**

Tato bakalářská práce se zaměřuje na inovativní přístup k výrobě tubulárních útvarů pro tkáňové inženýrství pomocí metody elektrospinningu pomocí střídavého proudu (AC) na rozdíl od většiny dosavadních výzkumů v této oblasti, které se soustředily na zvlákňování pomocí elektrospinningu se stejnosměrným proudem (DC). Hlavním cílem práce bylo vybrat vhodné polymery, testovat možnosti výroby tubulárních vzorků touto metodou a optimalizovat proces výroby a morfologickou analýzu vzniklých vzorků. Práce zahrnovala modifikaci zařízení pro rozvod vlákninové vlečky, testování cytotoxicity vzorků a jejich mechanické testování. Experimenty potvrdily možnost výroby tubulárních vzorků pomocí AC elektrospinningu a identifikovaly vhodné polymery pro tuto aplikaci, kterými byly polykarpolaktin (PCL) a kyselina polymléčná (PLA). Byly zjištěny různé faktory ovlivňující proces výroby a vlastnosti vzorků, jako jsou vibrace vřetene, změny koncentrace polymerního roztoku a vliv rychlosti rotace. Během experimentů byly připraveny vzorky bez rozvodu vlákninové vlečky o maximální délce 260 mm, ale většina připravených vzorků dosahovala maximální délky 170 mm. Při použití rozvodu vlákninové vlečky byly připraveny vzorky o délce až 300 mm a jeden vzorek o délce až 500 mm. Testování cytotoxicity ukázalo, že vzorky z PCL, PLA v rozpouštědlovém systému kyseliny mravenčí, octové, acetonu s použitím ethanolu a lubrikantu na bázi vody při koncentraci extraktu 10 mg/ml nejsou pro buňky cytotoxické. Tyto výsledky naznačují potenciál těchto materiálů pro využití v tkáňovém inženýrství pro výrobu scaffoldů. Výsledky mechanických testů naznačily, že každý z testovaných materiálů má specifické vlastnosti. Vzorky připravené z PCL se vyznačovaly vysokou elasticitou a tažností, ale nízkou maximální silou do přetržení, zatímco vzorky z PLA se na druhou stranu vyznačovaly vysokou maximální silou do přetržení a nízkou elasticitou a tažností. Celkově představuje tato práce důležitý krok směrem k vývoji nových materiálů pro tkáňové inženýrství a nabízí perspektivní směry pro další výzkum v této oblasti.

## **Klíčová slova:**

Elektrické zvlákňování, elektrospinning střídavým proudem, poly- $\epsilon$ -kaprolakton, kyselina polymléčná, tubulární vzorky, bezjehlové zvlákňování, morfologické analýzy, nano/mikro vlákna

## **Annotation**

This bachelor's thesis focuses on an innovative approach to producing tubular structures for tissue engineering using the electrospinning method with alternating current (AC), as opposed to the majority of previous research in this field, which concentrated on fiber production using direct current (DC) electrospinning. The main aim of the thesis was to select suitable polymers, test the production possibilities of tubular samples using this method, and optimize the production process and morphological analysis of the resulting samples. The work involved modifying the device for fiber distribution, testing the cytotoxicity of the samples, and conducting their mechanical testing. Experiments confirmed the feasibility of producing tubular samples using AC electrospinning and identified suitable polymers for this application, namely polycaprolactone (PCL) and polylactic acid (PLA). Various factors affecting the production process and sample properties were identified, such as spindle vibrations, changes in polymer solution concentration, and the influence of rotation speed. During the experiments, samples without fiber distribution reached a maximum length of 260 mm, but the majority of prepared samples achieved a maximum length of 170 mm. When fiber distribution was used, samples with lengths up to 300 mm and one sample up to 500 mm were prepared. Cytotoxicity testing showed that samples of PCL and PLA in a solvent system of formic acid, acetic acid, acetone using ethanol, and water-based lubricant at an extract concentration of 10 mg/ml were not cytotoxic to cells. These results indicate the potential of these materials for use in tissue engineering for scaffold production. The results of mechanical tests indicated that each of the tested materials has specific properties. Samples prepared from PCL exhibited high elasticity and extensibility but low maximum tensile strength, while samples from PLA, on the other hand, showed high maximum tensile strength but low elasticity and extensibility. Overall, this work represents a significant step towards the development of new materials for tissue engineering and offers promising directions for further research in this field.

## **Key words:**

Electrospinning, alternating current electrospinning, poly- $\epsilon$ -kaprolactone, polylactic acid, tubular samples, needless electrospinning, morphological analysis, nano/mikro fibers

## Obsah

<b>Seznam obrázků</b> .....	<b>4</b>
<b>Seznam tabulek</b> .....	<b>9</b>
<b>Seznam rovnic</b> .....	<b>11</b>
<b>Seznam zkratk a symbolů</b> .....	<b>11</b>
<b>Úvod</b> .....	<b>13</b>
<b>1 Teoretická část</b> .....	<b>14</b>
1.1 Cíl práce .....	14
1.2 Elektrospinning .....	14
1.2.1 Jehlový a bezjehlový elektrospinning.....	14
1.2.2 Elektrospinning střídavým a stejnosměrným proudem .....	15
1.2.3 Rozdíl mezi střídavým a stejnosměrným elektrospinningem .....	16
1.2.4 Společné vlastnosti střídavého a stejnosměrného elektrospinningu ..	16
1.3 Polymerní materiály.....	17
1.3.1 Syntetické biodegradabilní polymery .....	18
1.3.2 Degradace biodegradabilních polymerů .....	19
1.4 Příklady aplikací tubulárních tkáňových nosičů.....	20
1.4.1 Cévní náhrady .....	20
1.4.2 Léčba glaukomového onemocnění .....	22
1.4.3 Náhrady periferních nervů .....	23
1.5 Další metody výroby scaffoldů.....	24
1.5.1 Decelularizace.....	24
1.5.2 Biotisk.....	25
1.5.3. Lyofilizace .....	26
1.5.4. Možnosti aplikace scaffoldů .....	27
1.6 Předchozí studie .....	28
<b>2 Experimentální část</b> .....	<b>30</b>



2.1 Materiály a metody .....	30
2.2 Experimentální zvlákňování na kolektor bez rozvodné jednotky.....	31
2.2.1 Experiment 1 .....	31
2.2.2 Experiment 2 .....	39
2.2.3 Experiment 3 .....	45
2.2.4 Experiment 4.....	54
2.2.5 Experiment 5 .....	62
2.3 Experimentální zvlákňování na kolektor s použitím rozvodné jednotky .	65
2.3.1 Úprava zvlákňovací jednotky .....	65
2.3.2 Experiment 6.....	67
2.4 Testování cytotoxicit vzorků .....	87
2.5 Testování mechanických vlastností .....	91
<b>Závěr .....</b>	<b>98</b>
<b>Literatura .....</b>	<b>101</b>
<b>Přílohy.....</b>	<b>111</b>

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma jehlového a bezjehlového elektrospinningu podle [12] A – Jehlový elektrospinning; B – bezjehlový elektrospinning.....	15
Obrázek 2: Schémata molekulárních modelů syntetických polymerů A – Model molekuly PCL překreslen podle [26]; B – Překreslený model L izomeru molekuly PLA podle [31]; C – Překreslený model D izomeru molekuly PLA podle [31] .....	18
Obrázek 3: Příklady různých cévních náhrad podle [46] A- Tkané cévní náhrady; B – Pletené cévní náhrady; C – Nanovláknenné cévní náhrady .....	21
Obrázek 4: Glaukomoví drenážní implantát na odvod nitrooční tekutiny podle [55] A- Nepovlákněný dren; B- Povlákněný dren .....	23
Obrázek 5: Schéma zvlákňovací jednotky určené pro jehlový DC elektrospinning tubulárních vzorků [94] 1- Pohonná jednotka; 2- Převod; 3- Pozitivně nabytý kolektor; 4-	

Zvlákňovací jehla; 5- Pneumatické ovládání pojezdu; 6- Pumpa polymerního roztoku; 7 – Zdroj vysokého napětí .....	28
<i>Obrázek 6: Zakalený roztok PCL v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) po 24 hodinách.....</i>	32
<i>Obrázek 7: Zvlákňovací aparatura A – Zdroj elektrického proudu; B – Věž s magnetickým míchadlem; C – Přehřívací elektroda; D – Kolektor (vřeteno); E – Pohonná jednotka .....</i>	33
<i>Obrázek 8: Vzorek z PA6 A – Vzorek z PA6 na vřeteni s pravítkem před sejmutím; B – Sejmutý a sražený vzorek z PA6.....</i>	35
<i>Obrázek 9: Vzorek z PCL A – sejmutý vzorek z PCL; B – příčný pohled na sejmutý vzorek z PCL.....</i>	36
<i>Obrázek 10: Snímek pozlacených terčků se vzorky pro SEM analýzy.....</i>	37
<i>Obrázek 11: SEM snímky z PA6 a PCL: A – průřez vzorkem z PA6, B – vnitřní strana vzorku z PA6, C – vnější strana vzorku z PA6, E – průřez vzorkem z PCL, F – vnitřní strana vzorku z PCL, G – vnější strana vzorku z PCL.....</i>	38
<i>Obrázek 12: Sejmutý vzorek PA6 z kompozitního vřetene vpravo obarvená vnitřní strana .....</i>	40
<i>Obrázek 13: Sejmutý vzorek z PCL-PA6 v poměru 2:3s viditelným poškozením od tloušťkoměru.....</i>	42
<i>Obrázek 14: SEM snímky z PA6; PCL; PCL-PA6: A – Příčný řez vzorkem z PA6; B – Detail příčného řezu z PA6 vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PA6; D – Vnější strana vzorku z PA6; E – Příčný řez vzorkem z PCL; F – Detail příčného řezu z PCL vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PCL; H – Vnější strana vzorku z PCL; I – Příčný řez vzorkem z PCL-PA6; J – Detail příčného řezu z PCL-PA6 vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; K – Vnitřní strana vzorku z PCL-PA6; L – Vnější strana vzorku z PCL-PA6 .....</i>	44
<i>Obrázek 15: Polymerní roztok PCL-PA6-A v rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1), PCL-PA6-B v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1) a PLA v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) A – Polymerní roztok PCL-PA6-B po 24hodinách; B – Polymerní roztok PCL-PA6-A po 24hodinách; C – Polymerní roztok PCL-PA6-A po 48hodinách; D – Roztok PLA v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) po 3 hodinách E – Polymerní shluk .....</i>	46

Obrázek 16: SEM snímky z PCL-PA6 s ethanolem v levé části a s lubrikantem na bázi vody v pravé části: A – Příčný řez vzorkem z PCL-PA6 s ethanolem; B – Detail příčného řezu z PCL-PA6 s ethanolem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PCL-PA6 s ethanolem; D – Vnější strana vzorku z PCL-PA6 s ethanolem; E – Příčný řez vzorkem z PCL-PA6 s lubrikantem; F – Detail příčného řezu z PCL-PA6 s lubrikantem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PCL-PA6 s lubrikantem; H – Vnější strana vzorku z PCL-PA6 s lubrikantem ..... 51

Obrázek 17: SEM snímky z PLA s ethanolem v levé části a s lubrikantem na bázi vody v pravé části: A – Příčný řez vzorkem z PLA s ethanolem; B – Detail příčného řezu z PLA s ethanolem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PLA s ethanolem; D – Vnější strana vzorku z PLA s ethanolem; E – Příčný řez vzorkem z PLA s lubrikantem; F – Detail příčného řezu z PLA s lubrikantem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PLA s lubrikantem; H – Vnější strana vzorku z PLA s lubrikantem ..... 53

Obrázek 18: Polymerní rozorá PCL v rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) po 24 hodinách s oddělenou hladinou acetonu A – vrstva acetonu; B – Polymerní vrstva, C – Rozhraní dvou hladin..... 55

Obrázek 19: Grafické znázornění tloušťky stěny vzorků z PCL v jeho délce při A – graf tloušťky stěny při 1000 RPM; B – graf tloušťky stěny při 2000 RPM ..... 57

Obrázek 20: Grafické znázornění tloušťky stěny vzorků z PLA v jeho délce při A – graf tloušťky stěny při 1000 RPM; B – graf tloušťky stěny při 2000 RPM ..... 59

Obrázek 21: Snímky tubulárních vzorků z PCL podle nové metodiky A – Příčný řez vzorkem z PCL s ethanolem při 1000 RPM; B – Detail příčného řezu z PCL s ethanolem při 1000 RPM vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PCL s ethanolem při 1000 RPM; D – Vnější strana vzorku z PCL s ethanolem při 1000 RPM; E – Příčný řez vzorkem z PCL s ethanolem při 2000 RPM; F – Detail příčného řezu z PCL s ethanolem při 2000 RPM vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PCL s ethanolem při 2000 RPM; H – Vnější strana vzorku z PCL s ethanolem při 2000 RPM ..... 61

Obrázek 22: Výsledek procesu za zhoršených atmosférických podmínek vlevo povláknné vřeteno vpravo lepkavá polymerní folie..... 64

Obrázek 23: Rotující vlákenná vlečka z PLA obarvená kurkuminem při špatných atmosférických podmínkách ..... 64

Obrázek 24: Uchycení pohonné jednotky na hliníkovém profilu A – vytisknutý držák protikusu; B – protikus pohonné jednotky; C – Hliníkový profil; D – Kolektor (vřeteno); E – pohonná jednotka.....	66
Obrázek 25: Sestavená zvlákňovací jednotka A – Zdroj vysokého napětí; B – Věž s magnetickým míchadlem; C – Ovládání pohonné jednotky; D – Pohonná jednotka; E – Protikus pohonné jednotky; F – Rozvodná jednotka; G – Kolektor (vřeteno) .....	68
Obrázek 26: Grafické znázornění tloušťky vzorků z PCL a PLA při 1000 RPM .....	70
Obrázek 27: Grafické znázornění tloušťky vzorků z PCL a PLA při 2000 RPM .....	71
Obrázek 28: Zvlákňování na pohybující se rotující vřeteno.....	72
Obrázek 29: Tubulární vzorky vyrobené při různých rychlostech rotace vřetene A – při 1000 RPM nadýchaná vlákenná vrstva s ovinky; D – při 1500 RPM defektní vrstva s periodicky se opakujícími silnými a slabými místy; C – při 2250 RPM stažená uniformní vlákenná vrstva; D – Nejdelší připravený vzorek 500 mm při 2250 RPM.....	73
Obrázek 30: Snímky vzorků z PCL a PLA po týdnu A – Zamotaný vzorek z PC do uzlu; B – Ohnutý vzorek z PLA o 30° vzhledem k rovině .....	74
Obrázek 31: Vzorky z PLA s vrstvou rezidui z vřetene .....	74
Obrázek 32: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s ethanolem při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku .	76
Obrázek 33: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s ethanolem při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku .	77
Obrázek 34: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s lubrikantem na bázi vody při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku.....	78
Obrázek 35: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s lubrikantem na bázi vody při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní	

strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku..... 79

Obrázek 36: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s ethanolem při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku . 81

Obrázek 37: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s ethanolem při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku . 82

Obrázek 38: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s lubrikantem na bázi vody při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku..... 83

Obrázek 39: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s lubrikantem na bázi vody při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku..... 84

Obrázek 40: Schéma vyhodnocování překrytí intervalů spolehlivosti A – Intervaly se silně překrývají; B – Intervaly se částečně překrývají vysoké riziko chyby; C – Intervaly se nepřekrývají ..... 85

Obrázek 41: Připravené extrakty ze vzorků vpravo zbarvený extrakt z PA6 (označen červenou šipkou) ..... 89

Obrázek 42: Snímky fibroblastů na dně 96jamkové testovací destičky po 24 hodinách inkubace při 100x zvětšení A – Jamky negativní kontroly bez extraktu a cytotoxického činidla B – Jamky pozitivní kontroly s cytotoxickým činidlem C – Jamky s testovaným extraktem ..... 89

Obrázek 43: Buněčná viabilita po 24 hodinové inkubaci fibroblastů v médiu DMEM (NC), v médiu obsahujícím Triton X-100 (PC) a v extraktech testovaných materiálů z laboratoře KNT. Červená čára značí limit cytotoxického působení daný normou ISO 10993-5. .... 90

Obrázek 44: Buněčná viabilita po 24 hodinové inkubaci fibroblastů v médiu DMEM (NC), v médiu obsahujícím Triton X-100 (PC) a v extraktech testovaných materiálů z laboratoře CXI. Červená čára značí limit cytotoxického působení daný normou ISO 10993-5. ....	91
Obrázek 45: Příprava vzorků a testování Snímek A: Vzorek připravený k mechanickému testování C – Trn; D – Vzorek v tubulárním stavu; Snímek B: Vzorek upnutý v trhacím zařízení D – Vzorek v tubulárním stavu; E – Pohyblivá čelist se senzorem; F – Statická čelist .....	92
Obrázek 46: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PCL při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s ethanolem.....	93
Obrázek 47: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PCL při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody .....	94
Obrázek 48: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PLA při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s ethanolem.....	95
Obrázek 49: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PLA při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody .....	96

## Seznam tabulek

Tabulka 1 – Chemikálie použité během experimentů .....	30
Tabulka 2 – Přístroje a programy používané během experimentů .....	31
Tabulka 3 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu.....	34
Tabulka 4 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PA6 s výsledky experimentu .....	35
Tabulka 5 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL s výsledky experimentu .....	35
Tabulka 6 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu.....	39
Tabulka 7 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL a PA6 na kovové vřeteno s výsledky experimentu .....	41
Tabulka 8 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL-PA6 s výsledky experimentu .....	42
Tabulka 9 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu.....	47

Tabulka 10 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL-PA6-B s výsledky experimentu .....	48
Tabulka 11 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PLA s výsledky experimentu .....	49
Tabulka 12 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu.....	55
Tabulka 13 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL s výsledky experimentu .....	56
Tabulka 14 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PLA s výsledky experimentu .....	57
Tabulka 15 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu.....	63
Tabulka 16 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu.....	66
Tabulka 17 – Nastavení pojezdové soustavy .....	68
Tabulka 18 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu.....	69
Tabulka 19 – Nastavení procesu pro optimalizaci tloušťky stěny vzorků pro PLA a PCL při rychlostech včetně 1000 RPM s výsledky experimentu .....	69
Tabulka 20 – Nastavení procesu pro optimalizaci tloušťky stěny vzorků pro PLA a PCL při rychlostech včetně 2000 RPM s výsledky experimentu .....	70
Tabulka 21 – Morfologické vlastnosti pro PCL při 1000 a 2000 RPM s ethanolem .....	75
Tabulka 22 – Morfologické vlastnosti pro PCL při 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody .....	78
Tabulka 23 – Morfologické vlastnosti pro PLA při 1000 a 2000 RPM s ethanolem .....	80
Tabulka 24 – Morfologické vlastnosti pro PLA při 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody .....	83
Tabulka 25 – Výsledky tahové zkoušky pro PCL při rychlostech otáček včetně 1000 a 2000 RPM s ethanolem .....	93
Tabulka 26 – Výsledky tahové zkoušky pro PCL při rychlostech otáček včetně 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody .....	94
Tabulka 27 – Výsledky tahové zkoušky pro PLA při rychlostech otáček včetně 1000 a 2000 RPM s ethanolem .....	95
Tabulka 28 – Výsledky tahové zkoušky pro PLA při rychlostech otáček včetně 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody .....	96

## Seznam rovnic

Rovnice 1 – Výpočet koncentrace polymerního roztoku $C_{\odot}$ = Koncentrace polymerního roztoku; $m_{\text{polymeri}}$ = Hmotnost navážky polymerních granulátů; $m_{\text{rozpouštědloj}}$ = Hmotnost navážených rozpouštědel .....	33
Rovnice 2 – Výpočet výrobnosti tloušťky stěny za sekundu $M_{\text{min}}$ = Průměrná výrobnost tloušťky stěny; $T_i$ = I-tá tloušťka stěny; $t_{\text{spin}}$ = doba zvláknování .....	40
Rovnice 3 – Výpočet doby potřebné na vytvoření požadované tloušťky stěny $t_p$ = Čas na zvláknění požadované tloušťky; $M_p$ = Požadovaná tloušťka stěny; $M_{\text{min}}$ = Průměrná výrobnost tloušťky stěny .....	40
Rovnice 4 – Výpočet plošné hmotnosti $S_w$ = Plošná hmotnost; $m_s$ = Hmotnost vzorku; $d$ = Průměr; $l$ = Délka vzorku .....	47

## Seznam zkratek a symbolů

% RH – Relativní vlhkost vzduchu

\_N – Číslo od 1 do nekonečna

3D – Tří dimenzionální

AC – Střídavý proud

$C_{\odot}$  – Koncentrace roztoku

cck-8 – Cell counting kit

CE – Označení pro shodu s evropskými normami (Conformité Européenne)

CO<sub>2</sub> – Oxid uhličitý

CXI – Laboratoři Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace

Da – Dalton jednotka molární hmotnosti 1 Da = 1 g·mol<sup>-1</sup>

DC – Stejnoseměrný proud

DMEM – Dulbecco's modified eagle medium (Kultivační médium)

ECM – Extracelulární matrix (mezibuněčná hmota)

ET – Ethanol

f – Frekvence

F – Síla

FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických (Food and Drug Administration)



hm% – Hmotnostní procento  
KMI – Laboratoř katedry materiálového inženýrství  
KNT – Laboratoř katedry netkaných textilií  
LUB – Lubrikant na bázi vody  
 $M_{\min}$  – Výpočet výrobnosti tloušťky vrstvy  
P – Výrobnost  
PA6 – Polyamid 6  
PCL – Poly- $\epsilon$ -kaprolakton  
PDLLA – Racemická směs PLA  
PLA – Kyselina polyléčná  
RPM – Otáčky za minutu  
 $S_w$  – Plošná hmotnost  
 $t_p$  – Čas potřebný pro přípravu požadované tloušťky  
Vz – Vzorek

# Úvod

V dnešní době se stále více uplatňuje využití nanotechnologií a pokročilých materiálů v oblasti biomedicíny s cílem vyvinout inovativní a účinné terapeutické a diagnostické prostředky. Jedním z perspektivních směrů v této oblasti je výroba tubulárních nano/mikrovlákených struktur pomocí techniky známé jako AC elektrospinning, která je prvně použita pro přípravu tubulárních útvarů v této práci. Mezi nejběžněji používané polymery pro výrobu scaffoldů patří polykaprolakton (PCL) a kyselina polymléčná (PLA), které jsou díky svým vlastnostem, jako je biokompatibilita a biodegradabilita, vhodné pro biomedicínské aplikace.

Cílem této bakalářské práce je představit techniku AC elektrospinningu pro výrobu tubulárních nano/mikrovlákených útvarů z PCL a PLA. Které by mohly najít uplatnění jako náhrady nervů a cévní implantát. Tyto materiály představují klíčové oblasti v biomedicínském výzkumu a nabízejí možnost léčby a regenerace poškozených tkání a orgánů, což má potenciál výrazně zlepšit kvalitu života pacientů trpících různými patologiemi.

V rámci této práce budou diskutovány základní principy AC elektrospinningu, optimalizace procesu výroby tubulárních struktur, charakterizace morfologie a vlastností vláken, a také přehled stávajících výzkumných výsledků a perspektivních směrů v oblasti biomedicínského využití. Důkladná analýza této problematiky přispěje k dalšímu porozumění potenciálu tubulárních nano/mikrovlákených struktur jako efektivních biomedicínských materiálů a podpoří rozvoj nových technologií a terapeutických strategií.

# 1 Teoretická část

Teoretická část práce je zaměřena na rešerši literatury týkající se problematiky a je rozdělena do šesti kapitol. Kapitoly jsou navrženy tak, aby poskytovaly potřebné informace, čímž se vytváří srozumitelný a koherentní přehled teoretické části práce. V první kapitole jsou stanoveny cíle této práce. Druhá kapitola se věnuje elektrickému zvlákňování, které je základní technologií pro výrobu tubulárních vzorků v této práci. Třetí kapitola se zaměřuje na polymerní materiály, které jsou v práci používány. Čtvrtá kapitola popisuje příklady aplikací tubulárních scaffoldů. Pátá kapitola se zabývá dalšími metodami výroby scaffoldů. Šestá kapitola shrnuje předchozí studie v oblasti, ze kterých tato práce vychází, a o které se opírá. Tato kapitola slouží také jako most mezi teoretickou a praktickou částí práce.

## 1.1 Cíl práce

Cílem této práce je navázat na předchozí výzkumy a provést ověření a testování možností výroby tubulárních vzorků pomocí technologie AC elektrospinningu. Hlavním zaměřením práce je optimalizace procesu výroby tubulárních vzorků, morfologická analýza vlákněných struktur, optimalizace parametrů výroby tubulárních útvarů a identifikace optimálních podmínek pro jejich produkci.

## 1.2 Elektrospinning

Elektrospinning neboli elektrické zvlákňování je metoda výroby ultratenkých vláken z různých materiálů, jako jsou polymery, kompozity a keramika. Princip elektrospinningu spočívá v použití silného elektrického pole k vytažení nabitých vláken z polymerních roztoků nebo tavenin do jemných vláken o průměru od několika mikrometrů do několika stovek nanometrů. [1–4] Tento proces je velmi univerzální a použitelný prakticky pro každý rozpustný nebo tavitelný polymer a nabízí možnost řídit průměr, morfologii, složení a prostorové uspořádání nanovláken. [1–3]

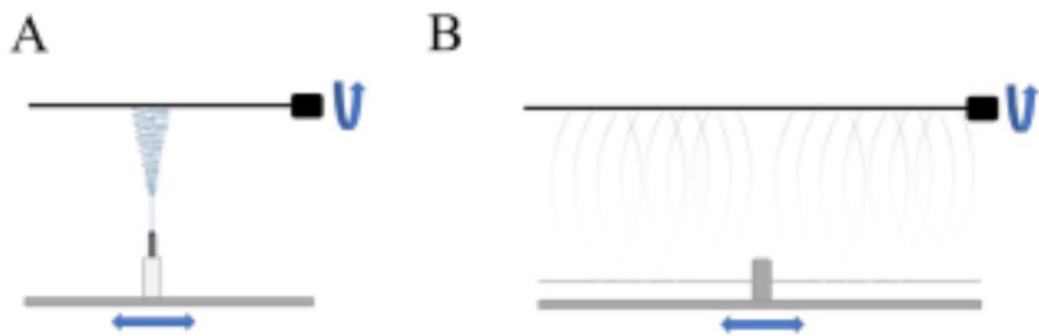
### 1.2.1 Jehlový a bezjehlový elektrospinning

Elektrospinning lze rozdělit do dvou hlavních kategorií způsobů výroby nanovlákněných vrstev. První kategorií je jehlový elektrospinning, který je široce používanou technikou pro výrobu nanovláken v laboratorním prostředí. Jehlový

elektrospinning je převážně vhodný pro výrobu malých experimentálních vzorů a prací s malým množstvím látek. Nevýhodou jehlového elektrospinningu je špatná replikovatelnost procesu a nízká homogenita vzniklých vlákných vrstev. Při této technice se vysokonapěťové elektrické pole používá k zvlákňování polymerního roztoku nebo taveniny do ultratenkých vláken pomocí jehly jako spinnerety viz Obrázek 1 A. [5–8].

Druhou kategorií je bezjehlový elektrospinning. Jedná se o modifikace konvenčního procesu elektrospinningu, kde je eliminována potřeba jehly jako spinnerety. Místo toho se jako spinnereta používá pohyblivý drát nebo různé sběrače, jak je patrné z Obrázku 1 B. Tato metoda byla vyvinuta pro účely zvýšení produktivity a snížení složitosti procesu.

Bezjehlový i jehlový elektrospinning byl použit při výrobě nanovláken pro tkáňové inženýrství, filtraci vzduchu a podávání léčiv. [9–11]



Obrázek 1: Schéma jehlového a bezjehlového elektrospinningu podle [12] A – Jehlový elektrospinning; B – bezjehlový elektrospinning

## 1.2.2 Elektrospinning střídavým a stejnosměrným proudem

Zvlákňování pomocí stejnosměrného proudu (DC) je forma elektrospinningu, která využívá stejnosměrný proud k vytvoření nabitého pole. Proces zahrnuje nabitou elektrodu pokrytou polymerním roztokem a elektricky aktivní kolektor, který může být uzemněný nebo pod napětím s opačnou polaritou vůči kolektoru.[13] Elektrické pole způsobí nabití povrchu roztoku a vytvoření tzv. Taylorova kužele. Při zvyšující se intenzitě elektrického pole dojde k vytažení ultra tenkých vláken z vrcholu Taylorova kužele směrem ke kolektoru. Rozpouštědlo se během letu vlákna odpařuje, což za sebou zanechává pevná ultra tenká vlákna. [4, 14]

Zvlákňování pomocí střídavého proudu (AC) je forma tvorby vláken, při níž se z polymerních roztoků vyrábějí ultra jemná vlákna působením dynamické tažné síly

elektrostatického pole s periodicky se měnící polaritou. [15–17] Tato technika využívá elektrické síly k vytahování nabitých vláken z polymerních roztoků až do průměrů vláken v řádu několika set nanometrů. [18] Vytažená vlákna jsou pak unášena iontovým větrem k elektroneutrálnímu (neuzemněnému) kolektoru, tedy není potřeba fyzický kolektor, protože kolektorem je de facto sama atmosféra. Vlákna během svého letu ztratí svůj náboj vlivem vyrovnání jejich potenciálů a výsledná vlákenná vrstva připravena touto metodou nemá téměř žádný náboj, a to v důsledku zániku náboje vláken během letu.

### **1.2.3 Rozdíl mezi střídavým a stejnosměrným elektrospinningem**

AC elektrospinning se liší od DC elektrospinningu oscilujícím napětím, které změni svou polaritu několikrát za sekundu. Oscilující signál elektrického proudu umožňuje modulaci signálu na různé tvary s různými periodami, frekvencemi a amplitudami.

Střídání polarity elektrického napětí hraje v procesu elektrospinningu významnou roli. Výzkum naznačuje, že různé tvary a frekvence vysokonapěťového signálu ovlivňují produktivitu a tvorbu nanovláken. Konkrétně bylo zjištěno, že nejvyšší produktivitu poskytuje obdelníkový tvar vlny vysokonapěťového střídavého signálu, následovaný sinusovým a trojúhelníkovým tvarem vlny. [15] Studie navíc ukázaly, že tvar a frekvence vlny mohou ovlivnit proces elektrospinningu střídavým proudem z hlediska morfologie a produktivity. [17, 19]

Dalším rozdílem je výskyt jevu iontového větru. Iontový vítr se vyskytuje také i u DC elektrospinningu, ale u AC elektrospinningu je více prominentní. Tento jev zahrnuje generování proudu ionizovaného vzduchu vyvolaného elektrickým polem během procesu. Iontový vítr hraje klíčovou roli při manipulaci s nanovláknennými materiály bez nutnosti použití fyzického kolektoru. Výzkum ukázal, že při AC elektrospinningu iontový vítr usnadňuje transport nanovláken směrem od elektrody a vytváří nanovláknenné útvary se specifickými vlastnostmi. [20–22] Iontový vítr je pro AC elektrospinning významným prvkem, který umožňuje snadnou manipulaci s nanovláknem a přispívá k účinnosti této relativně nové metody vytváření nanovláknenných struktur.

### **1.2.4 Společné vlastnosti střídavého a stejnosměrného elektrospinningu**

Společnými parametry pro AC a DC elektrospinningu jsou provozní parametry (napětí elektrod, rychlost dávkování polymeru, odtah výparů rozpouštědel, vzdálenost

elektrod, rychlost odtahu podkladu), vlastnosti roztoků (viskozita, vodivost, povrchové napětí, rozpouštědla, koncentrace), parametry prostředí (teplota, vlhkost, rychlost proudění vzduchu) a typ polymerů (polymerační stupeň, struktura a vlastnosti polymeru). Tyto čtyři parametry ovlivňují hlavně strukturu a vlastnosti získaných nanovláken. Rovnováha mezi nimi umožňuje zvlákňováním získat nanovlákněné struktury.

Při elektrospinningu, ať už je využíván AC nebo DC elektrospinning, je možné pro sběr vytvořených vláken použít různé typy kolektorů. Kolektorem může být deska, drát nebo cokoliv vodivého. Pro kontinuální výrobu vlákněné vrstvy je nutno zachytávat vlákněnou vrstvu na podkladový materiál, kterým může být spunbond, folie. Pro určité aplikace není nutné používat podkladový materiál, například pro tvorbu tubulárních útvarů, kdy se vlákněná vrstva zachytává přímo na rotující vřeteno nebo jiný rotující kolektor a vytváří tubulární útvary.

### 1.3 Polymerní materiály

Polymer je velká molekula složená z opakujících se strukturních jednotek neboli monomerů spojených kovalentními chemickými vazbami. Tyto molekuly mohou být přírodní nebo syntetické a vyznačují se dlouhými řetězci atomů. Polymery hrají klíčovou roli v různých oborech, včetně tkáňového inženýrství, díky svým upravitelným vlastnostem a univerzálnosti. [23, 24] Polymery se dají rozdělit podle jejich původu na přírodní a syntetické, a dle dalších hledisek například na biodegradabilní a nebiodegradabilní.

Mezi přírodní polymery (biopolymery) patří polysacharidy (např. alginát, chitosan) a bílkoviny (např. kolagen, želatina, elastin). Jsou biokompatibilní, biologicky odbouratelné, ale jejich mechanické a strukturální vlastnosti omezují jejich široké použití. [25]

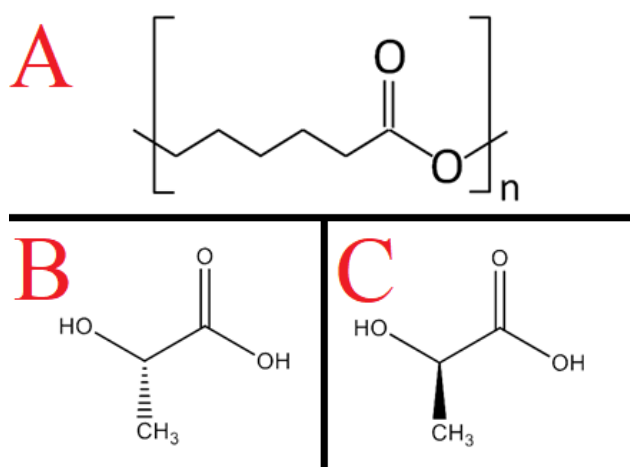
Mezi syntetické biodegradabilní polymery, patří například skupiny alifatických polyesterů, polyurethany, polyfosfazen a polyortoestery. [26–28] Mezi zástupce alifatických polyesterů patří polykaprolakton (PCL) kyselina polymléčná (PLA) a polyglikolid. PLA a PCL se široce používají v tkáňovém inženýrství díky svému degradačnímu procesu zahrnujícímu absorpci vody, hydrolýzu a enzymatické štěpení. [29]

Mezi nebiodegradabilní polymery patří například polyvinylidenfluorid, polytetraflourethylen, polymethylmethakrylát, polyamid a polyethylen s jeho

modifikacemi. Tyto polymery se v těle nerozkládají a zůstávají dále vně těla. Nebiodegradabilní polymery mohou mít v závislosti na druhu polymeru a druhu jejich syntézy a zpracování potenciální imunitní reakce nebo mohou být cytotoxické. [29]

### 1.3.1 Syntetické biodegradabilní polymery

Syntetické polymery nabízejí širokou škálu možností modifikace a funkcionalizace pro zlepšení jejich vlastností ve scaffoldech a implantátech tkáňového inženýrství. [30] Syntetické polymery lze přesně upravit tak, aby měly specifické mechanické, chemické a degradační vlastnosti, což umožňuje přizpůsobení na základě požadované aplikace. Ve srovnání s přírodními polymery syntetické polymery poskytují konzistentnější kvalitu. Syntetické polymery často vykazují vyšší mechanickou pevnost ve srovnání s přírodními polymery, takže jsou vhodné pro nosné aplikace v tkáňovém inženýrství. Syntetické polymery mohou být navrženy tak, aby se rozkládaly řízenou rychlostí, což poskytuje předvídatelný profil rozkladu, který odpovídá rychlosti regenerace tkání. [26] Příklady dvou syntetických polymerů jsou vyobrazeny na Obrázku 2 A, B, C.



Obrázek 2: Schémata molekulárních modelů syntetických polymerů A – Model molekuly PCL překreslen podle [26]; B – Překreslený model L izomeru molekuly PLA podle [31]; C – Překreslený model D izomeru molekuly PLA podle [31]

#### 1.3.1.1 Polykaprolakton

Polykaprolakton je semikrystalický biologicky rozložitelný polyester s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem viz Obrázek 2 A, který je schválen pro použití ve zdravotnictví Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických (FDA) a získal označení pro shodu s evropskými normami (CE). Je dobře rozpustný v organických rozpouštědlech a velmi dobře se rozpouští v tetrachlormethanu, dichlormethanu

a toluenu. Omezeně je rozpustný v acetonu, ethylacetátu a acetonitrilu, nerozpustný je v alkoholu a diethyletheru. [32–35] Molekulová hmotnost PCL se pohybuje v závislosti na druhu syntézy v rozmezí od 3000–80000 Da a od jeho molekulové hmotnosti se odvíjí i jeho teplota skelného přechodu, která je  $-60^{\circ}\text{C}$ , a teplota tání, která se pohybuje v rozmezí od  $55\text{--}60^{\circ}\text{C}$ . [36, 37]

### **1.3.1.2 Kyselina polyléčná**

Kyselina polyléčná nebo také polylaktid (PLA) je biologicky odbouratelný semikrystalický polyester získávaný z obnovitelných zdrojů jako je kukuřičný škrob, cukrová třtina nebo se vyrábí syntézou za pomoci otevírání kruhů. [38–40] Kyselina polyléčná je schválena pro použití ve zdravotnictví Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických (FDA) a získala označení pro shodu s evropskými normami (CE).

Kyselina polyléčná se vyskytuje ve dvou izomerech, L – kyselina mléčná a D – kyselina mléčná. Vyobrazení těchto izomerů viz Obrázek 2 B, C. Existuje také racemická směs polylaktidů, kdy L a D izomery jsou v poměru 1:1. Izomerie této molekuly je zapříčiněna přítomností chirálního uhlíku ve struktuře.

PLA se velmi dobře rozpouští v trichlormethanu, dichlormethanu a hexafluorpropan-2-olu, je omezeně rozpustný v acetonu, acetonitrilu, tetrahydrofuranu a ethylacetátu, a je nerozpustný v diethyletheru a ethanolu. [41, 42] Molekulová hmotnost PLA se pohybuje v závislosti na druhu syntézy a poměru izomerů L a D – laktidu v rozmezí 10000 - 100000 Da. [38] Molekulová hmotnost a poměr izomerů ovlivňuje teplotu tání, a i teplotu skelného přechodu. PLA vyrobené z čistého L nebo D – laktidu mají teplotu tání v rozmezí od  $178\text{--}180^{\circ}\text{C}$  a teplotu skelného přechodu  $55\text{--}60^{\circ}\text{C}$ . Teplota skelného přechodu a tání se snižuje se snižujícím se podílem čistého L a D – laktidu. Amorfní PLA neboli PDLLA nemá přesně určenou teplotu tání a vykazuje vysokou proměnlivost skelného přechodu. [39, 40, 43]

## **1.3.2 Degradace biodegradabilních polymerů**

Biologicky rozložitelné materiály podléhají degradaci různými mechanismy v závislosti na typu polymeru. Způsoby degradace mohou zahrnovat hydrolýzu, enzymatickou degradaci nebo povrchovou erozi. [26, 28] U syntetických polymerů dochází nejčastěji k hydrolýze vazeb, přičemž u přírodních polymerů dochází k enzymatickému štěpení. Tyto rozdílné druhy metabolismování polymeru jsou



zapříčiněny nutností metabolizování tělu neznámou molekulu na tělu již známou molekulu, přičemž vznikají metabolity jako vedlejší produkt. Produkty rozkladu syntetických biologicky rozložitelných materiálů zahrnují kyselé vedlejší produkty, které mohou ovlivnit místní úroveň pH a potenciálně ovlivnit okolní buňky. [26]

PCL a PLA podléhají stejnému rozkladnému procesem hydrolyzy esterových vazeb na alkohol a karboxylovou kyselinu, které jsou dále metabolizovány. Rychlost degradace mohou ovlivňovat faktory jako je teplota, vlhkost a přítomnost mikroorganismů nebo molekulární povaha polymeru, například PCL vykazuje hydrofobní povahu vlivem dlouhého uhlíkového řetězce. PCL a PLA jsou navrženy tak, aby se rozkládaly po určitou dobu, a proto jsou vhodné pro aplikace, kde je vyžadována biologická rozložitelnost. [44] Vlákná připravena technologiemi AC/DC elektrospinningu vykazují díky svému velkému povrchu vyšší rychlost degradace ve srovnání s objemovým PCL. [34]

## **1.4 Příklady aplikací tubulárních tkáňových nosičů**

Aplikace nano / mikro vláknenných scaffoldů v medicíně zaznamenala významný pokrok a nabízí řadu perspektivních využití v různých oblastech zdravotnictví. Jednou z těchto oblastí je vytváření cévních náhrad. Nano / mikro vláknenné scaffoldy poskytují vhodný materiál pro konstrukci cévních implantátů, které mohou nahradit poškozené cévy. Dalším využitím je léčba glaukomového onemocnění, vážného onemocnění očí, které může vést k trvalému poškození zraku. Scaffoldy lze využít k vytvoření mikroimplantátů, které umožňují regulovat odtok nitrooční tekutiny, čímž snižují oční tlak a pomáhají tím při léčbě glaukomu. Náhrady periferních nervů jsou dalším důležitým příkladem medicínského využití. Tubulární scaffoldy mohou sloužit jako nosiče pro růstové faktory a buňky, které podporují regeneraci poškozených nervů. Tímto způsobem se může zlepšit léčba pacientů s periferní neuropatií nebo po poranění periferního nervového systému.

### **1.4.1 Cévní náhrady**

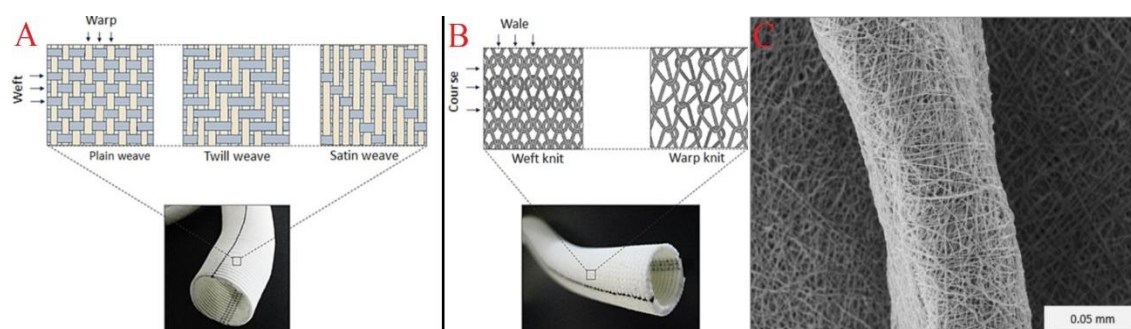
V současné době existuje několik typů cévních náhrad, které jsou komerčně dostupné. Mezi tyto patří tkané a pletené cévní náhrady. Kromě těchto komerčně dostupných náhrad probíhá také intenzivní výzkum a vývoj nových typů cévních náhrad. Jedním z nejnovějších trendů v této oblasti je vývoj nanovláknenných cévních náhrad.

### 1.4.1.1 Typy cévních náhrad

Tkané cévní náhrady jsou typem textilních cévních náhrad vyrobených z polyethyltereftalátových vláken, která jsou utkána dohromady, a vytvářejí homogenní strukturu, viz Obrázek 3 A. Tkané cévní náhrady mají malé póry s jednotnou velikostí a tvarem, což může podpořit lepší hojení a začlenění do hostitelské tkáně. [45] Tkané cévní náhrady vykazují nízkou elasticitu a relativně špatnou poddajnost, což může vést ke komplikacím, jako je tvorba aneuryzmat a selhání štěpu. [46]

Další možností výroby cévních náhrady jsou pletené cévní náhrady, viz Obrázek 3 B. Ty jsou nejčastěji vyrobeny z polyethyltereftalátu a jsou preferovány jako náhrady tepen většího průměru. [46] Pletené cévní náhrady mají strukturu, která umožňuje lepší pružnost a poddajnost, což je důležité pro mechanické chování náhrady. Mají také větší povrch, což podporuje lepší hojení a začlenění do tkáně hostitele. [47] Stejně jako všechny umělé cévní náhrady jsou však spojeny s krátkodobými a dlouhodobými komplikacemi. [48]

Nanovláknenné cévní náhrady jsou typem cévní náhrady vyrobené z elektricky zvlákněných nanovláken viz Obrázek 3 C. Nanovláknenné cévní náhrady mají strukturu, která disponuje lepší pružností a poddajností, což je důležité pro mechanické chování náhrady. Mají také větší povrch, což podporuje lepší hojení a začlenění do tkáně hostitele. [46, 49, 50] Stejně jako u pletených a tkaných cévních náhrad může dojít v těle hostitele ke krátkodobým i dlouhodobým komplikacím. [51].



Obrázek 3: Příklady různých cévních náhrad podle [46] A- Tkané cévní náhrady; B – Pletené cévní náhrady; C – Nanovláknenné cévní náhrady

### 1.4.1.2 Komplikace spojené s použitím cévních náhrad

Všechny typy cévních náhrad jsou spojeny s rizikem jak akutních, tak chronických komplikací. Mezi nejčastější komplikaci po operaci patří trombóza, kdy se uvnitř štěpu vytvoří krevní sraženina, která blokuje průtok krve a vede k selhání náhrady. Dalším problémem může být krvácení a prosakování, které se může objevit během operace nebo po ní, a v některých případech může být život ohrožující. [52] Infekce je

rizikem spojeným se všemi typy cévních štěpů, ale častější je u umělých štěpů. [53] Závažnou komplikací je rovněž tvorba aneuryzmatu, kdy se štěp rozšíří a oslabí, což vede k vytvoření výdutě ve stěně štěpu. Konečným důsledkem těchto komplikací při aplikaci cévních náhrad je možnost úplného selhání cévní náhrady. K selhání štěpu může dojít v důsledku trombózy, hyperplazie (nadměrné proliferace buněk), infekce, dilatace, pseudoaneuryzmatu a ruptury. [52]

## **1.4.2 Léčba glaukomového onemocnění**

Glaukom představuje skupinu oftalmologických onemocnění, která zahrnují různé patologické změny v očním nervu. Tyto změny mohou být spojeny se zvýšeným nitroočním tlakem.

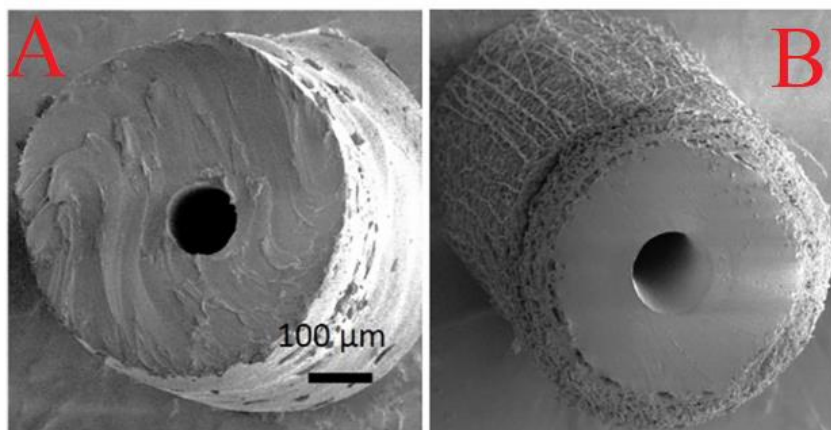
### **1.4.2.1 Léčba glaukomu**

Léčba glaukomu obvykle zahrnuje snížení nitroočního tlaku, aby se zabránilo dalšímu poškození zrakového nervu. První volbou při léčbě glaukomu bývá medikace, která zahrnuje perorální léky nebo oční kapky. Oční kapky snižují produkci tekutiny v oku, nebo zlepšují odtok tekutiny, čímž snižují nitrooční tlak. [54]

Pokud medikace nefunguje, je nutné podstoupit laserovou operaci, která může snížit nitrooční tlak. [54] Pokud nedojde ke zlepšení ani po laserové obrábění, je nutný chirurgický zákrok. Chirurgickým zákrokem je vytvořen nový odtokový kanál pro odtok tekutiny z oka. [54]

### **1.4.2.2 Nanovláknenné dreny**

Implantáty na bázi nanovláken se ukázaly jako slibné při léčbě glaukomu. Studie publikovaná v časopise *Bioengineering & Translational Medicine* prokázala, že glaukomové drenážní implantáty viz Obrázek 4 B na bázi mikro/nanovláken zlepšují výsledky chirurgického zákroku díky modulaci chování fibroblastů. Studie zjistila, že nano drenážní implantáty dosáhly větší integrace tkáně, zabránily hypotonii a zmírnily tvorbu zjizvené tkáně pod spojivkou oka ve srovnání s běžnými drenážními implantáty s hladkým povrchem a komerčně dostupnými drenážními implantáty. Účinnost nano drenážních implantátů *in vivo* u králíků byla příznivá ve srovnání se stávajícími chirurgickými možnostmi, což naznačuje potenciál pro významné zlepšení výsledků operací glaukomu. [55, 56]



Obrázek 4: Glaukomoví drenážní implantát na odvod nitrooční tekutiny podle [55] A- Nepovlákněný dren; B- Povlákněný dren

### 1.4.3 Náhrady periferních nervů

Poranění periferních nervů lze léčit různými technikami včetně rekonstrukce nervů, nervovými náhradami a transplantací nervů. [57, 58] Rekonstrukce nervů spočívá v opětovném spojení zdravých konců nervů, zatímco nervové náhrady a transplantáty zahrnují implantaci kousku nervů z jiné části těla nebo nervové náhrady do oblasti poškození nervů. [58]

#### 1.4.3.1 Umělé náhrady nervů

Nejjednodušším a nejběžnějším typem nervové náhrady jsou duté nervové náhrady, které se skládají z duté trubice, jež překlenuje mezeru mezi dvěma konci přerušeno nervu. Poskytuje fyzickou předlohu pro regeneraci periferního nervu. Duté nervové náhrady lze ještě modifikovat intraluminární výplní pro zlepšení regenerace nervů. Mezi příklady intraluminárních výplní patří kolagen, fibrin a kyselina hyaluronová [59]

Další formou nervové náhrady jsou porézní nervové náhrady, které jsou podobné dutým nervovým náhradám, ale mají porézní strukturu, která umožňuje infiltraci buněk a složek extracelulární matrix (ECM). [59] Bioabsorbovatelné nervové náhrady jsou navrženy tak, aby se časem rozložily a byly vstřebány tělem. Mohou být vyrobeny z různých materiálů, včetně PLA a PCL. Nedávné studie zkoumaly použití bioabsorbovatelných nervových vodičů potažených kmenovými buňkami k podpoře regenerace periferních nervů. . [60]

## 1.5 Další metody výroby scaffoldů

V oblasti tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny se používají různé metody pro výrobu scaffoldů. Tyto metody nejsou omezeny pouze na scaffoldy tubulární formy, ale existují i metody, které zvládnou vytvořit scaffoldy z celého orgánu nebo scaffoldy o požadovaných rozměrech a tvarech. Mezi tyto metody patří decelularizace, biotisk a lyofilizace.

Základní principy výroby scaffoldů jsou klíčové pro oblast tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny, kde scaffoldy slouží jako umělé konstrukce podporující růst a regeneraci buněk a tkání v lidském těle. Technologie výroby scaffoldů umožňují vytvářet širokou škálu tkáňových náhrad, implantátů a konstrukcí pro léčbu různých onemocnění a poranění.

Povrch scaffoldu musí mít určitou geometrii, velikosti pórů, tloušťku a tvar. Optimální struktura scaffoldu je navržena tak, aby co nejvíce napodobovala přirozenou tkáň a umožňovala efektivní kolonizaci buněk a vznik krevních cév v tkáni neboli vaskularizaci.

### 1.5.1 Decelularizace

Decelularizace je proces, při kterém jsou tkáně nebo orgány získané od lidských (allograft) nebo zvířecích (xenograft) dárců a jsou upravovány tak, aby byl odstraněn buněčný materiál, přičemž je zachována neživá struktura nazývaná extracelulární matrix (ECM). Tím se odstraní hlavní zdroj odmítnutí dárcovského materiálu, kterým jsou buňky. [61–64]

Tím, že se zachová ECM tkáně nebo orgánu, může být neživý dárcovský materiál použit jako scaffold pro regeneraci živých, funkčních náhrad, které mohou být použity k léčbě pacientů s nemocnými, dysfunkčními nebo poškozenými částmi jejich těla, aniž by byly odmítnuty. [61–63] Myšlenka decelularizace existuje desítky let, avšak za posledních 20 let získala zvýšenou pozornost a výzkumnou činnost, protože oblasti tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny hledají způsoby vytvoření živých náhrad pro části lidského těla.

#### 1.5.1.1 Princip

Decelularizace je obvykle prováděna kombinací fyzikálních, chemických a enzymatických metod. Decelularizace začíná rozpadem buněčné membrány pomocí

fyzikálních postupů nebo iontových roztoků, následně dochází k oddělení buněčných komponent od ECM pomocí enzymů, detergenty rozpustí cytoplazmatickou membránu a jaderné komponenty, nakonec jsou odstraněny i buněčné zbytky z tkáně. Tyto kroky mohou být prováděny s pomocí fyzikálních metod (ultrazvuk, míchání, třepání...), aby se zvýšila jejich účinnost. Po decelularizaci musí být odstraněny všechny zbytky chemických látek, aby se zabránilo nepříznivé reakci. [61, 62, 65]

### **1.5.1.2 Extracelulární matrix**

ECM neboli extracelulární matrix je složitá síť, která poskytuje strukturální podporu tkáním a orgánům. Skládá se z různých složek, včetně vláknitých elementů, adhezivních proteinů a amorfních látek. Vláknité složky ECM se skládají ze strukturálních proteinů, jako je kolagen, elastin, které zajišťují pevnost, pružnost a organizaci matrixu. [66–70] Adhezní proteiny, jako je laminin a fibronectin, hrají klíčovou roli v adhezi a migraci buněk v ECM. [66, 67, 69, 70] Amorfní látky v ECM jsou převážně proteoglykany, které mohou dodávat tkáni napětí (turgor) a zajišťovat její hydrataci. [66, 69, 70] Tyto složky společně vytvářejí 3D amorfní gel, který podporuje různé buněčné procesy a pomáhá tkáním se správně formovat a organizovat. [67, 69, 70]

Struktura ECM se liší i mezi tkáněmi, přičemž různé typy tkání mají jedinečnou architekturu ECM, která je přizpůsobena jejich specifickým funkcím. ECM kostí je uspořádána tak, aby odolávala mechanickému namáhání a podporovala mineralizaci, zatímco ECM svalů je strukturována tak, aby udržovala morfologii kosterního svalu a usnadňovala přenos síly. [71]

### **1.5.2 Biotisk**

Biotisk je proces výroby scaffoldů podobných přirozeným částem těla a obsahujících živé buňky pomocí technologie 3D tisku. [72] Tento způsob výroby scaffoldů je na rozdíl od ostatních způsobů výroby prováděn ve sterilním prostředí. Jedná se o proces aditivní výroby podobný 3D tisku, který používá digitální soubor jako předlohu pro tisk objektu. Na rozdíl od 3D tisku, který pro tisk používá termoplastické materiály, biotiskárny používají k tisku bioinkoust. [73] Jedná se o roztok biomateriálu nebo směsi biomateriálů ve formě hydrogelu, který obvykle zapouzdřuje požadované typy buněk. [73, 74]

Složení bioinkoustu musí zohledňovat specifické požadavky a místo aplikace výsledného scaffoldu. Bioinkoust musí mít také správnou mikrostrukturu, a mechanické vlastnosti. [74–77]

### **1.5.2.1 Princip**

Biotisk je založen na přesném umístování biologických složek, biochemických látek a živých buněk po vrstvách, a to pomocí prostorové kontroly umístění funkčních složek vyrobené 3D struktury. [75, 78] Proces biotisku zahrnuje tři základní kroky. [73, 76]

- Fáze před tiskem: Jedná se o vytvoření 3D skenu pro biotisk. Dnes jsou tyto skeny vytvářeny pomocí rentgenové počítačové tomografie a magnetické rezonance snímků. Buňky jsou připravovány laboratorně a smíchány s bioinkoustem, přičemž je používán systém zobrazování živých buněk, aby bylo zajištěno, že je dostatek buněk pro úspěšné tisknutí scaffoldu.
- Biotisk: Druhým krokem je samotný proces tisku, při kterém je bioinkoust vložen do tiskárny a tiskne se 3D struktura.
- Stabilizace po tisku: Tento krok zahrnuje mechanickou a chemickou stimulaci vytištěných částí, aby byly vytvořeny stabilní struktury pro růst a zrání tkáně. Vytištěná tkáň se poté inkubuje v bioreaktoru, aby buňky mohly růst a dozrát ve funkční tkáň.

### **1.5.3. Lyofilizace**

Lyofilizace, známá také jako sušení mrazem, vakuové sušení nebo mrazová sublimace, je proces, který se často využívá k uchování materiálů s omezenou trvanlivostí nebo k usnadnění jejich přepravy. Tato technika umožňuje odstranit vodu z materiálů v podmínkách nízkého tlaku při nízké teplotě, což vede k její přeměně do plynného stavu bez přechodu do kapalného stavu. Výsledkem je sušení materiálu, který je téměř bez vlhkosti. [79, 80]

Jedním z významných využití lyofilizace je příprava vysoce porézních nosičů (scaffoldů). [81] Tato technologie je vhodná pro přípravu nosičů, protože umožňuje precizní kontrolu porozity materiálu. [81]

Tato technologie byla úspěšně použita pro přípravu nosičů na bázi kolagenu, jako důležitého biomateriálu v oblasti tkáňového inženýrství.

### 1.5.3.1 Princip

Lyofilizace je proces, který se používá k odstranění vody z výrobku zmrazením materiálu, snížením tlaku a přidáním tepla, aby zmrzlá voda v materiálu sublimovala. [82] Proces se skládá ze tří vzájemně závislých fází:

Zmrazování: Směs produktu se zmrazí umístěním na chlazené police v mrazicí komoře nebo předchozím zmrazením v jiné komoře. [83] Ochlazení materiálu pod jeho trojný bod (teplota a tlak, při kterých jsou všechny tři fáze – pevná, kapalná a plynná v termodynamické rovnováze) zajistí, že dojde k sublimaci, nikoliv k roztavení, čímž se zachová jeho struktura bez poškození. [82]

Primární sušení (sublimace): Snížením tlaku a přidáním tepla do materiálu se usnadní sublimace vody ze zmrzlého stavu na páru. Vakuum urychluje proces sublimace, zatímco chladný kondenzátor poskytuje povrch, na kterém vodní pára ulpívá a tuhne, a chrání vývěvu před vodní párou. V této fázi se odstraní přibližně 95 % vody z materiálu. [82]

Sekundární sušení (desorpce): V této fázi se iontově vázané molekuly vody odstraňují zvýšením teploty oproti fázi primárního sušení, čímž se přeruší vazby mezi materiálem a molekulami vody. Většinu materiálů lze vysušit na 1-5 % zbytkové vlhkosti. [82]

### 1.5.4. Možnosti aplikace scaffoldů

Scaffoldy vytvořené pomocí decelularizace, biotisku a lyofilizace mají široké využití v medicíně, zejména v tkáňovém inženýrství. Například se dají vyrábět kostní grafty [65, 84–86], cévní a kardiovaskulární náhrady [65, 87, 88], kožní kryty a štěpy. [76, 89–92] Decelularizované scaffoldy lze použít v různých formách, jako jsou práškové nebo jako hydrogely pro elektrostatické zvláknování. Lze je také použít jako materiál pro výrobu bioinkoustu, který slouží pro trojrozměrný tisk a samostatně jako nosiče. [84]

Tyto inovativní materiály mají potenciál revolučně změnit léčebné postupy a zlepšit kvalitu života pacientů. Jejich použití nabízí široké spektrum aplikací od obnovy kostní tkáně po regeneraci kůže a obnovu cévního systému. Díky nim lze lépe řešit mnoho lékařských problémů a otevírá se tak cesta k novým léčebným možnostem.



## 1.6 Předchozí studie

V rámci předchozích studií byly tubulární vzorky vyráběny výhradně pomocí různých metod elektrospinningu, včetně jehlového, a bezjehlového DC elektrospinningu na katedře netkaných textilií fakulty textilní Technické univerzity v Liberci (KNT FT TUL). Tyto techniky umožňují tvorbu nano/mikrovláknenných struktur s různorodými morfologiemi a vlastnostmi, což je klíčové pro dosažení požadovaných charakteristik materiálu. V průběhu těchto předchozích studií byly vyvinuty metodiky pro efektivní snímání vzorků a jejich následné mechanické testování, což přispělo k lepšímu pochopení jejich vlastností a chování.

V práci od Horáková et al. [93] byly vzorky připravovány pomocí jehlového DC elektrospinningu viz Obrázek 5. Tyto vzorky byly následně sterilizovány ethylenoxidem a podrobně analyzovány, byl sledován vliv tohoto sterilizačního procesu na jejich mechanické vlastnosti. Navíc bylo provedeno testování cytotoxicity sterilovaných vzorků, což umožnilo zhodnotit jejich bezpečnost pro potenciální biomedicínské aplikace.



Obrázek 5: Schéma zvláknovací jednotky určené pro jehlový DC elektrospinning tubulárních vzorků [94] 1- Pohonná jednotka; 2- Převod; 3- Pozitivně nabitý kolektor; 4- Zvláknovací jehla; 5- Pneumatické ovládání pojezdu; 6- Pumpa polymerního roztoku; 7 – Zdroj vysokého napětí

V bakalářské práci od Daška [95] byly tubulární vzorky vytvářeny pomocí bezjehlového DC elektrospinningu na modifikovaném Nanospider™. Metodika snímání vzorků pomocí ethanolu byla použita s cílem minimalizovat deformace a zachovat jejich původní morfologii, čímž bylo zajištěno zachování strukturální integrity materiálu. V práci od Klapstove et al. [12] byly tyto vzorky také vyráběny pomocí jehlového

a bezjehlového DC elektrospinningu a vyrobené vzorky byly morfologicky vyhodnocovány v MatLabu podle kódu na bázi práce diplomové práce od Řičicové. [96]

V těchto studiích byly zkoumány vzorky vyrobené z polymerního materiálu PCL. Tento materiál byl zvolen pro své vlastnosti, které ho činí vhodným pro širokou škálu biomedicínských aplikací, včetně regenerativní medicíny a tkáňového inženýrství.

Vzhledem ke změně způsobu zvlákňování z DC na AC elektrospinning byly pro tuto práci využity studie, které se zaměřují na AC elektrospinning. Jednou z těchto studií je studie od Kalouse et al. [17] a Holce et al. [22], která se zabývá zvlákňováním PA6. Tato studie poskytuje důležité poznatky o procesu zvlákňování PA6 pomocí AC elektrospinningu a zároveň poskytuje úvodní informace, které jsou důležité pro AC elektrospinning.

Další relevantní studií je studie M. Sivana et al. [97], která se zaměřuje na zvlákňování PCL ve formě planárních vzorků. Tato studie přináší nové poznatky o možnostech a omezeních AC elektrospinningu při vytváření vlákných struktur z tohoto materiálu. Zahrnuje optimalizaci procesních parametrů a podrobnou charakterizaci vlastností vzniklých struktur. Další práce, která se zabývala zvlákňováním PCL a přípravou scaffoldů, byla práce od Jirkovce et al. [98]

## 2 Experimentální část

V experimentální části této práce bylo cílem optimalizovat proces výroby nano/mikro vlákných tubulárních útvarů za pomoci AC elektrospinningu, dále pak vyhodnotit morfologii cytotoxicitu a mechanické vlastnosti takto připravených útvarů.

Experimentální část je rozdělena do 4 sekcí. První ověřovací experimenty a optimalizace procesu byly prováděny s rotujícím vřetenem bez rozvodu vlákné vlečky v laboratoři katedry netkaných textilií (KNT). Další experimenty byly prováděny na modifikovaném zařízení pro přípravu dlouhých vzorků s rozvodem vlákné vlečky v laboratoři Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace (CXI). U vzorků byla testována jejich cytotoxicita a byly dále mechanicky testovány.

### 2.1 Materiály a metody

V tabulce 1 a 2 jsou vypsány používané chemikálie, přístroje a programy používané v experimentální části.

Tabulka 1 – Chemikálie použité během experimentů

Název	Firma
Aceton 99,8 %	Roth
CCK-8	Dojindo
DMEM Dulbecco's Modified Eagle Medium	Capricorn Scientific
Ethanol 90 %	Severochema
Ethylen oxide	Aprolene
FBS Xtra (Fetální bovinní sérum)	Capricorn Scientific
Kyselina mravenčí 98 %	Penta
Kyselina octová 99 %	Penta
Kyselina sírová 96 %	Penta
Lubrikant	Durex
NIH 3T3 myší fibroblasty	Sigma Aldrich
Polyamid 6 (PA6)	Elmarco
poly-ε-kaprolaktonu (PCL) Mw = 80000 Da	Polyscience, Inc
Kyselina polymléčná (PLA) Mw = 116,89 Da	NatureWorks LLC
Triton-X 100;	Sigma-Aldrich

Tabulka 2 – Přístroje a programy používané během experimentů

Přístroje a programy	Firma
Analytické váhy – ATL124-I Analytical Scale	Acculab Sartorius Group
Digitální tloušťkoměr	Elcometer
Elektronový mikroskop – Vega 3SEM	Tescan
Flowbox TOPSafe	Bioair
Image J	-
LabConro	-
MATLAB A SIMULINK	-
Microsoft Office Excel – tvorba tabulek a grafů	Microsoft Corporation
Microsoft Office Word – psaní textů	Microsoft Corporation
Optický mikroskop Nikon Eclipse Ts2 (optický)	Nikon Imaging
Laboratorní třepačka Shaking incubator NB-205	N-biontek
Spectrophotometer Spektrofotometr Spark	TECAN
Sterilizátor ethylen oxid	Anprolene
Svařovačka fólií	Mllseal
Počítačový zkušební systém síly (trhačka) Tira test 2300	-
Zlatící přístroj – Quorum Q150R ES	Quorum technologies
Zvlákňovací jednotka CXI s rozvodem vláknenné vlečky	TUL
Zvlákňovací jednotka KNT bez rozvodu vláknenné vlečky	TUL

## 2.2 Experimentální zvlákňování na kolektor bez rozvodné jednotky

Experimenty byly prováděny v laboratoři KNT. Tato laboratoř je vybavena zvlákňovací jednotkou s vysokonapětovým transformátorem ABB KGUG 36 a variabilním autotransformátorem Thalheimer-Trafowerke ESS 104. Tato jednotka také disponuje analogovou pohonnou jednotkou a bubnovým kolektorem, nedisponuje však klimatizační jednotkou a odtahem výparů.

### 2.2.1 Experiment 1

Cílem prvního experimentu bylo ověření hypotézy, zda AC elektrospinning může být použit pro přípravu tubulárních útvarů. Polymer PA6 jeho rozšířenému používání jako modelový polymer pro ověření zvlákňovatelnosti na rotující vřeteno. Jako druhý polymer byl zvolen PCL, a to zejména kvůli jeho standartnímu užívání při přípravě tubulárních

útvary. Tento polymer byl také používán v předchozích pracích a studiích. V tomto experimentu byly PA6 a PCL zvláknovány na kovové vřeteno o průměru 6 mm.

### 2.2.1.1 Příprava roztoků

Pro první experiment byly připraveny dva polymerní roztoky o hmotnosti 100 g s požadovanou koncentrací 10hm % v 24 hodinovém předstihu.

Byl připraven 10hm % roztok PA6 rozpuštěním 10 g PA6 v rozpouštědlovém systému, ve kterém byla kyselina mravenčí a kyselina octová v poměru 1:1. V den zvláknování bylo do polymerního roztoku přidáno 5 ml 96% kyseliny sírové.

Byl připraven 10hm % roztok PCL rozpuštěním 10 g PCL v rozpouštědlovém systému, ve kterém byl aceton, kyselina mravenčí a kyselina octová v poměru 1:1:1. Rozpouštědlový systém byl zvolen na základě článku. [97, 98] U tohoto polymerního roztoku byla pozorována změna zabarvení roztoku z průzračného na lehce narůžovělý s malými sraženinami, viz Obrázek 6. Tento jev se vyskytl i v předchozích pracích a neměl vliv na proces elektrospinningu.



Obrázek 6: Zakalený roztok PCL v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) po 24 hodinách

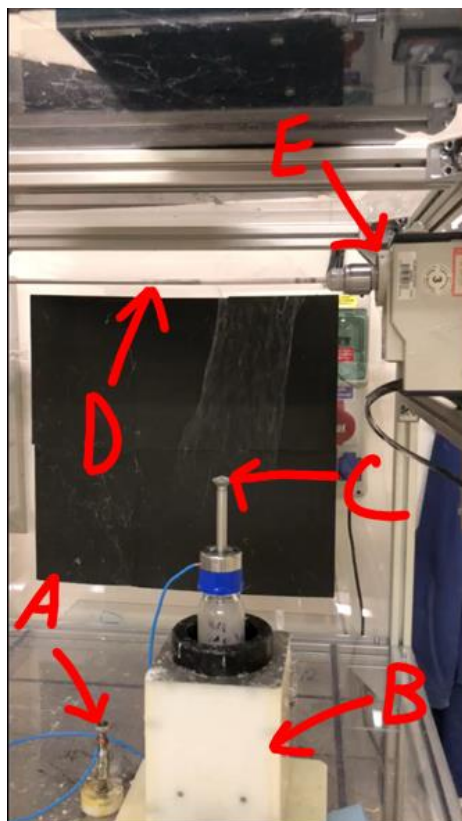
Koncentrace připravených roztoků byla ověřena výpočtem pomocí zapsaných hmotností navážek polymerů a hmotností použitých rozpouštědel. Koncentrace připraveného polymerního roztoku byla vypočtena podle rovnice 1. Koncentrace připravených roztoků byla ověřena výpočtem pomocí Rovnice 1 a odpovídala požadované koncentraci 10 hm%.

$$C_{\odot} = \frac{\sum_{i=1}^n m_{\text{polymer}_i}}{\sum_{i=1}^n m_{\text{polymer}_i} + \sum_{j=1}^n m_{\text{rozpouštědlo}_j}} \cdot 100 = \frac{[g]}{[g]} \cdot 100 = [\%]$$

Rovnice 1 – Výpočet koncentrace polymerního roztoku  $C_{\odot}$  = Koncentrace polymerního roztoku;  $m_{\text{polymer}_i}$  = Hmotnost navážky polymerních granulátů;  $m_{\text{rozpouštědlo}_j}$  = Hmotnost navážených rozpouštědel

### 2.2.1.2 Příprava aparatury pro elektrosinning

Aparatura pro elektrosinning se skládala ze zvlákňovací jednotky, ve které byl bubnový kolektor s podkladem vyměněn za vřeteno o průměru 6 mm. Vřeteno bylo na jedné straně uchyceno do pohonné jednotky a na druhé straně do dřevěného protikusů, který byl připevněn na hliníkový profil. K této aparatuře byla připojena věž s magnetickým míchadlem. Míchadlo otáčelo Archimédovým šroubem (šnekovicí), který dávkoval roztok z láhve na hranu přeplavovací elektrody, ke které byl následně připojen zdroj vysokého napětí. Byla změřena vzdálenost mezi hranou přepravovací elektrody a vřetenem, která byla 220 mm. Schéma sestavené aparatury je vyobrazeno na Obrázku 7. Po zprovoznění a vyrovnání věže do vodováhy byl k elektrodě přiveden zdroj vysokého napětí a bylo roztočeno vřeteno na požadované otáčky.



Obrázek 7: Zvlákňovací aparatura A – Zdroj elektrického proudu; B – Věž s magnetickým míchadlem; C – Přeplavovací elektroda; D – Kolektor (vřeteno); E – Pohonná jednotka

### 2.2.1.3 Elektrospinning a sundávání vzorků

Po roztočení vřetene byl zapnut zdroj vysokého napětí a polymer se začal zvlákňovat. Vlákenné vlečce bylo občas nutno pomoci se uchytit na elektroneutrální vřeteno. Toto bylo provedeno vložím plastové tyčky do dráhy letu vlákenné vlečky a následně její vytažení až k vřetenu. V průběhu celé práce probíhal elektrospinning s frekvencí napětí 50 Hz a sinusovým tvarem signálu, parametry prostředí jsou uvedeny v tabulce, viz Tabulka 3. Parametry procesu a výsledky měření jsou zapsané pro každý polymer zvlášť v Tabulce 4 a Tabulce 5. Zvlákňováním bylo připraveno více vzorků označených podle druhu polymeru jako PA6\_N a PCL\_N. Proces zvlákňování probíhal do vyčerpání roztoku nebo dokud se dal roztok zvlákňovat. Během experimentu byla měněna rychlost rotace vřetene a doba zvlákňování.

*Tabulka 3 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu*

	<b>Začátek experimentu</b>		<b>Konec experimentu</b>
Teplota [°C]	22,3	→	23,1
Vzdušná vlhkost [%]	56,4	→	60,3

Během procesu byly pozorovány nepatrné vibrace vřetene, které měly minimální vliv na proces. Vibrace byly pozorovány vyšší, když bylo vřeteno méně zasunuté v pohonné jednotce a délka, na kterou se dalo zvlákňovat, byla delší. Po vyjmutí vřetene ze zvlákňovací jednotky bylo vřeteno s vlákennou vrstvou polito ethanolem a vlákenná vrstva byla stažena z vřetene, viz Obrázek 8B.

Vlákenná vrstva kladla velký odpor, proto bylo vřeteno během jeho roztáčení potřeno ethanolem. Na jeho povrchu se vytvářela hladina ethanolu, která lehce usnadnila snímání dalších vzorků z vřetene. Před sejmutím z vřetene byly vzorky proměřeny a byla odstraněna nehomogenní místa – části vzorku, kde vlákenná vrstva byla slabá a nesourodá.

Tabulka 4 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PA6 s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>			
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PA6_1</b>	<b>PA6_2</b>	<b>PA6_3</b>
Otáčky [RPM]	250	550	1000
Napětí [kV]	36,3	36,8	36,5
Čas zvlákňování [min]	10	10	10
<b>Výsledky experimentu</b>			
Délka vzorku na vřetenu [mm]	130	120	140
Délka vzorku po ořezu [mm]	110	104	110
Délka vzorku po sejmutí [mm]	35	80	75

Po sejmutí a změření vzorků byl hodnocen jejich makroskopický vzhled. Tubulární vzorky z PA6 byly na ohmat křehké, ale nedocházelo k jejich destrukci. Vzorek byl lehce ohebný a v celé své délce zvrásněný viz Obrázek 8B.

Délka vzorků z PA6 s ethanolem se pohybovaly v rozmezí od 120 do 140 mm. Po ořezu a sejmutí z vřetene byly získány vzorky o délce 35 až 80 mm.



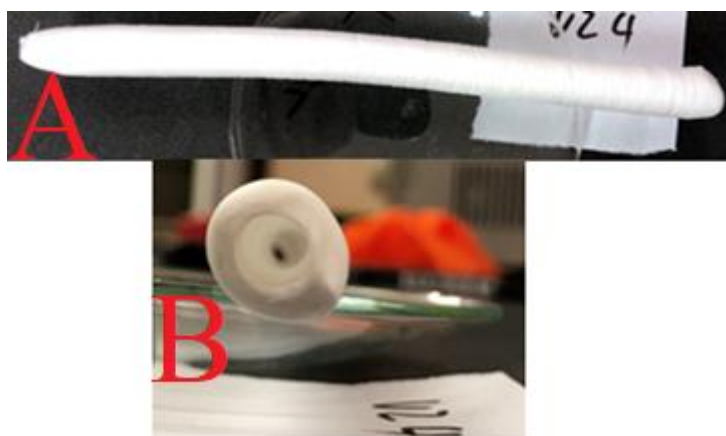
Obrázek 8: Vzorek z PA6 A – Vzorek z PA6 na vřetenu s pravítkem před sejmutím; B – Sejmutý a sražený vzorek z PA6

Tabulka 5 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>					
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PCL_1</b>	<b>PCL_2</b>	<b>PCL_3</b>	<b>PCL_4</b>	<b>PCL_5</b>
Otáčky [RPM]	250	550	1000	2000	2000
Napětí [kV]	36,5	37	37,5	38,2	39,9
Čas zvlákňování [min]	3	3	5	10	10
<b>Výsledky experimentu</b>					
Délka vzorku na vřetenu [mm]	112	109	152	205	199
Délka vzorku po ořezu [mm]	112	89	130	135	129
Délka vzorku po sejmutí [mm]	50	60	90	120	110



Vzorky připravené z PCL s nižšími otáčkami 250 a 550 RPM byly na ohmat velmi měkké, zvrásněné a více ohebné. Oproti vzorkům z PA6 jejich zvrásnění nebylo tak výrazné. Zatím co vzorky připravené s vyššími otáčkami 1000 a 2000 RPM byly méně ohebné a tužší, zvrásnění bylo méně patrné. Tyto vzorky se daly sejmout v jednom kuse s minimálním zvrásněním, viz Obrázek 9 A, B. U vzorku bylo opticky pozorováno, že s prodlužující se dobou zvlákňování roste i tloušťka stěny. Délka připravených vzorků se pohybovala v rozmezí od 109 do 205 mm. Po ořezu a sejmutí z vřetene se vzorky srazily na délku v rozmezí 50 až 120 mm. Tyto vzorky byly delší v porovnání se vzorky z PA6.



Obrázek 9: Vzorek z PCL A – sejmutý vzorek z PCL; B – příčný pohled na sejmutý vzorek z PCL

U všech připravených vzorků byla pozorována změna rozměrů po sundání z vřetene. Tato změna byla zapříčiněna stahováním vzorku z vřetene, kdy došlo k hrnutí materiálu před sebou a tvorbě ohybů, které přetrvaly i po sejmutí celého vzorku z vřetene. Tyto záhyby bylo možné roztáhnout, ale z důvodu možnosti poničení vzorků byly záhyby roztahovány minimální silou, která stačila pouze k částečnému roztažení. Vytvořené vzorky byly odvětrávány po dobu 24 hodin, aby došlo k odpaření ethanolu před další analýzou.

#### 2.2.1.4 Příprava vzorků pro elektronovou mikroskopii

Z odvětraných vzorků byly vybrány 4 vzorky, které byly zkoumány pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu. Z těchto vzorků byly odebrány dva příčné řezy. První řez byl rozříznut na dvě části, přičemž jeho první část byla nalepena vnější stranou nahoru na terčíkem a vedle vzorku bylo napsáno písmeno O (Outer). Jeho druhá část byla nalepena vnitřní stranou nahoru na terčíkem a vedle vzorku bylo napsáno písmeno I (Inner). Druhý řez byl nalepen tak, že vytvořil příčný řez a vedle vzorku byla napsána písmena

CS (Cros Section). Příčné řezy, jak z PA6, tak z PCL, šly velmi špatně připravovat. Vzorky z PA6 se vlivem mechanického namáhání drolily a jejich stěny slepovaly. U vzorků z PCL byla problém jeho elasticita, která kladla velký odpor proti řezání, stěny vzorků se lepily k sobě. Vzhledem k těmto obtížím docházelo ke zvýšené deformaci již deformovaného vzorku z téměř kruhového průřezu na eliptický průřez. Terčíky se vzorky byly pozlaceny ve zlatícím přístroji Quorum Q150R ES 10 nm vrstvou zlata viz Obrázek 10.



Obrázek 10: Snímek pozlacených terčů se vzorky pro SEM analýzy

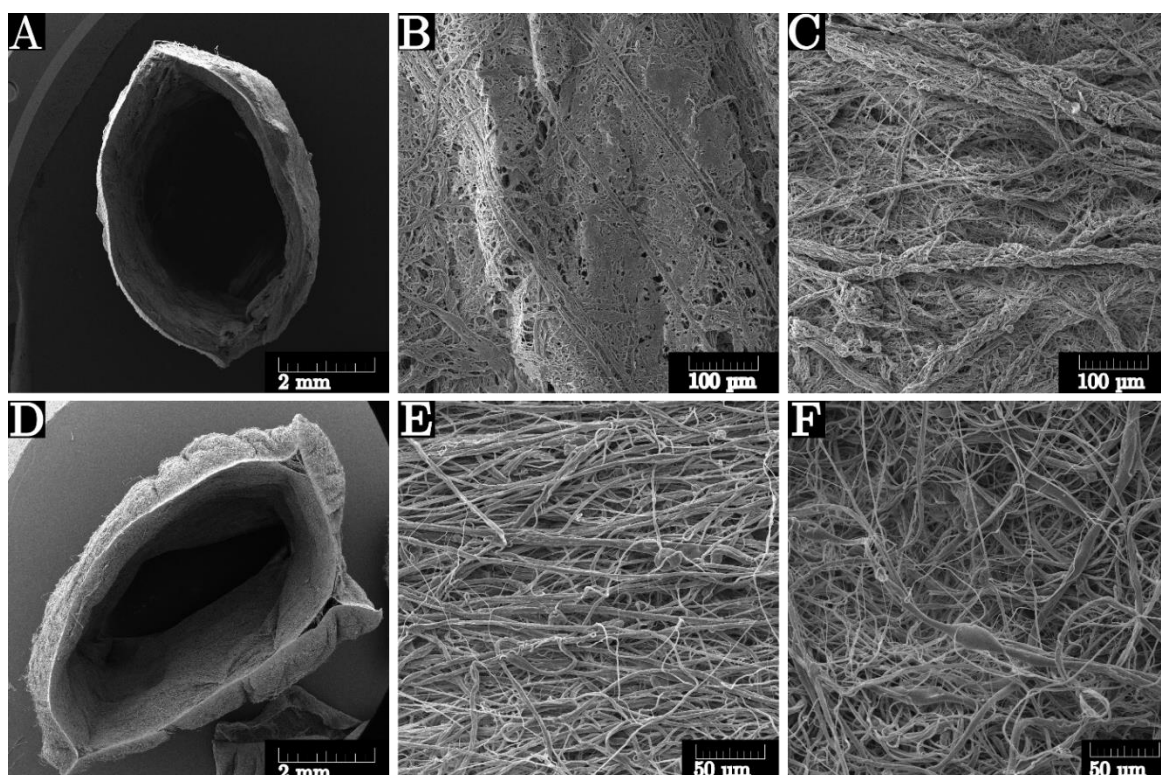
### 2.2.1.5 Vyhodnocení snímků

Na snímků příčného řezu z PA6 není téměř vidět vlákněná povaha vzorku jak z vnitřní, tak z vnější strany viz Obrázek 11A. Bylo zjištěno, že tyto vlákněné vrstvy byly silně poškozeny převážně z vnitřní strany. Vlákněná vrstva na vnitřní straně byla většinou slitá, s minimální možností rozlišit jednotlivá vlákna viz Obrázek 11 B. Z vnější strany byla vlákněná vrstva lépe rozlišitelná, ale vlákna tvořila silné provazce, viz Obrázek 11C.

Vlákněná vrstva z PCL na snímku příčného řezu, viz Obrázek 11 D, vyobrazuje vlákněnou povahu vzorku jak z vnitřní, tak z vnější strany. Příčný řez při nižších otáčkách vykazoval formu strukturní nesoudržnosti, jak je vidět na Obrázku 11 D, kdy docházelo k oddělování jednotlivých vrstev materiálu od sebe. Vlákněná vrstva byla na obou stranách dobře rozlišitelná s minimem defektů, viz Obrázek 11F, G.

U vzorků z PCL bylo provedeno měření průměrů vláken, další morfologické analýzy nebyly prováděny, jelikož se jednalo o experiment sloužící k ověření

proveditelnosti zvlákňování a proces vyžadoval další optimalizace. V programu image-J bylo manuálně provedeno 101 měření průměrů, přičemž manuálními výpočty bylo zjištěno, že průměrný průměr vláken na vnitřní straně je  $2,39 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $1,14 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $2,03 \mu\text{m}$  do  $2,74 \mu\text{m}$ . Na vnější straně je průměrný průměr vláken  $2,69 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $1,61 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $2,26 \mu\text{m}$  do  $3,11 \mu\text{m}$ . Pro výpočet intervalu spolehlivosti byly použity hodnoty kvantilu Studentova rozdělení 99,95 %, který se používá ve zdravotnictví.



Obrázek 11: SEM snímky z PA6 a PCL: A – průřez vzorkem z PA6, B – vnitřní strana vzorku z PA6, C – vnější strana vzorku z PA6, E – průřez vzorkem z PCL, F – vnitřní strana vzorku z PCL, G – vnější strana vzorku z PCL

### 2.2.1.6 Vyhodnocení experimentu

Experimenty byla hypotéza možnosti přípravy tubulárních vzorků pomocí AC elektrospiningu potvrzena. Bylo zjištěno, že polymerní roztoky PA6 a PCL se dají zvlákňovat přímo na povrch vřetene bez použití podkladového materiálu. Dále bylo zjištěno, že se u snímání vzorků vyskytují stejné obtíže jako v předchozích pracích a studiích. Bylo zjištěno, že vzorky připravené s vyššími rychlostí rotace vřetene se tolik nesráží jako vzorky s nižšími otáčkami, které se sráží více. Připravené vzorky z PCL byly

relativně dlouhé i bez optimalizace procesu a použití rozvodné soustavy vlákenné vlečky dosahovaly tyto vzorky délky v rozmezí 109 až 205 mm.

## 2.2.2 Experiment 2

Cílem druhého experimentu bylo připravit vzorky pro ověření replikovatelnosti procesu, vyzkoušet jiné materiály včetně a začít s optimalizací zvláknovacího procesu s cílem dosáhnout požadované tloušťky stěny 0,2 mm. Experimentálně byl připraven nový polymerní roztok ze směsi PCL a PA6 v poměru 2:3.

### 2.2.2.1 Příprava roztoků

Byly připraveny tři polymerní roztoky, každý o hmotnosti 100 g, s požadovanou koncentrací 10hm %. První dva roztoky byly roztoky z PA6, třetím roztokem byl roztok PCL. Roztoky byly připraveny v 24hodinovém předstihu. Koncentrace připravených roztoků byla ověřena výpočtem a odpovídala požadované koncentraci 10 hm%.

### 2.2.2.2 Elektrospinning

Aparatura byla sestavena stejně jako v předchozím experimentu. Parametry prostředí jsou uvedeny v Tabulce 6 a parametry procesu s výsledky měření jsou zapsány v Tabulce 7 a Tabulce 8 pro každý polymerní roztok zvlášť. Zvláknováním bylo připraveno více vzorků označených podle druhu polymeru jako PA6-A\_N, PA6-B\_N a PCL\_N. Parametry, které se během experimentu měnily, byly rychlost rotace včetně a případně doba zvláknování polymerního roztoku. Zvláknování probíhalo do vyčerpání roztoku, nebo dokud se dal roztok zvláknovat.

Tabulka 6 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu

	Začátek procesu		Konec procesu
Teplota [°C]	22,8	→	22,2
Vzdušná vlhkost [%]	37,5	→	40,5

Proces sundávání vzorků byl totožný jako v předchozím experimentu, pouze byl použit jiný materiál pro včetně a vzorky byly před sejmutím rozděleny na pětiny a v každé části bylo provedeno jedno měření tloušťky digitálním tloušťkoměrem. Polymerní roztoky byly zvláknovány na dva typy materiálů, na kovové včetně a na kompozitní včetně.

Experimenty bylo zjištěno, že z kompozitního včetně nejdou vzorky sundávat, a že musí být rozřezávány, aby je bylo možno sejmut. Kompozitní včetně také



obarvovalo vnitřky vzorků na černou barvu, viz Obrázek 12, a z důvodu nekovové povahy nebylo možné na kompozitním vřetenu měřit tloušťku stěn. Od používání kompozitního vřetene bylo tedy upuštěno.



Obrázek 12: Sejmutý vzorek PA6 z kompozitního vřetene vpravo obarvená vnitřní strana

Na kovové vřeteno byly vytvořeny 2 vzorky z PCL, vzorek byl vždy rozdělen na pětiny a z každé pětiny bylo provedeno jedno měření tloušťky digitálním tloušťkoměrem. Ze získaných hodnot byla vypočtena průměrná výrobnost tloušťky stěny podle Rovnice 2. Z výsledku výpočtu této rovnice byla vypočtena nová doba zvlákňování polymerního roztoku podle Rovnice 3, která je potřeba pro vytvoření vzorku s tloušťkou stěny 0,2 mm. Z roztoku PA6 byly vytvořeny 4 vzorky podle stejného zadání jako byly vytvářeny vzorky z PCL. Vypočtené doba zvlákňování (podle Rovnice 2 a Rovnice 3) pro vytvoření vzorku o požadované tloušťce byla pro PCL po zaokrouhlení 2 minuty a pro PA6 byla tato doba vypočtena po zaokrouhlení na 7 minut.

$$M_{min} = \frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n T_i}{t_{spin} \cdot 60} = \frac{[\mu m]}{[min] \cdot 60} = [\mu m \cdot s^{-1}]$$

Rovnice 2 – Výpočet výrobnosti tloušťky stěny za sekundu  $M_{min}$  = Průměrná výrobnost tloušťky stěny;  $T_i$  = I-tá tloušťka stěny;  $t_{spin}$  = doba zvlákňování

$$t_p = \frac{M_p}{M_{min}} = \frac{[\mu m]}{[\mu m \cdot s^{-1}]} = [s]$$

Rovnice 3 – Výpočet doby potřebné na vytvoření požadované tloušťky stěny  $t_p$  = Čas na zvlákňování požadované tloušťky;  $M_p$  = Požadovaná tloušťka stěny;  $M_{min}$  = Průměrná výrobnost tloušťky stěny

Připravené vzorky byly makroskopicky zhodnoceny a byly identické se vzorky z předchozího experimentu. Vzorky připravené z PA6 vykazovaly stejné makroskopické prvky stejně jako v předchozím experimentu. Stejně makroskopické prvky byly pozorovány i u vzorků z PCL, pouze byla pozorována větší tvorba návinnu blíže k pohonné jednotce. Motor pohonné jednotky nejspíše přitahuje iontový vítr svým elektromagnetickým polem a tím dochází k deformaci proudění vlákně vlečky.

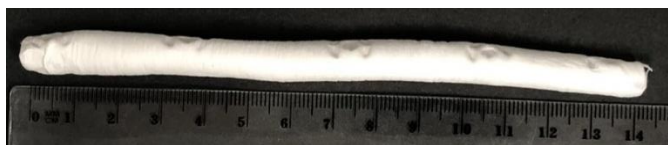
Tabulka 7 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL a PA6 na kovové vřeteno s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>					
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PCL_1</b>	<b>PCL_2</b>	<b>PA6_1</b>	<b>PA6_2</b>	<b>PA6_3</b>
Otáčky [RPM]	1000	1000	500	600	1010
Napětí [kV]	37,2	37,4	31	31,7	37,2
Čas zvlákňování [min]	10	2	10	10	10
<b>Výsledky experimentu</b>					
Dálka na vřetenu [mm]	260	256	232	255	218
Délka po ořezu [mm]	153	172	200	235	168
Délka po sejmutí [mm]	100	112	137	110	132
Průměrná tloušťka [mm]	1,70	0,19	0,19	0,20	0,29

Vzorky připravené z PCL s ethanolem dosahovali délky 256 a 260 mm. Po ořezu se vzorky srazily na délku 100 a 112 mm. Vzorky z PA6 s ethanolem dosahovali délky v rozmezí od 218 do 255 mm. Po ořezu se vzorky srazily na délku v rozmezí 110 až 137 mm. Vzorky z PCL a PA6 byly výrazně delší nežli v předchozím experimentu.

Během elektrospinningu byla u roztoku PCL pozorována pozvolná změna procesu, která byla nejspíše zapříčiněna velkou výrobností procesu a tím i zvýšenou rychlostí odpařování rozpouštědel z roztoku. Proces ke konci přestal vytvářet jemnou vláknennou vlečku, a začal vytvářet silné vláknenné provazce a přestával být kontinuální. Tyto pozvolné změny vedly až k nezvlákňitelnosti roztoku.

Nezvlákňené zbytky polymerních roztoků PCL a PA6 byly slity dohromady v poměru 2:3 a byl proveden experiment s bipolymerním systémem označen jako PCL-PA6. Roztoky byly slity z důvodu vytvořit tubulární vláknennou vrstvu, z níž by část vrstvy byla nerozložitelná a část rozložitelná. Vzniklý polymerní roztok měl mléčné bílou barvu a produkoval homogenní vláknennou vlečku. Bipolymerní roztok byl zvlákňován podle parametrů uvedených v Tabulce 8 na kovové vřeteno. Z bipolymerního roztoku byl připraven jeden vzorek, který byl stejně jako předchozí vzorky proměřen tloušťkoměrem a byl makroskopicky zhodnocen. Připravený vzorek se lepil na vřeteno, ale po sundání byl velmi ohebný a jeho povrch vypadal, jako kdyby byl vytvořen technologií lití, viz Obrázek 13. Takto připravený vzorek dosahoval délky 220 mm a po ořezu a sejmutí z vřetene se vzorek srazil na délku 50 mm.



Obrázek 13: Sejmutý vzorek z PCL-PA6 v poměru 2:3s viditelným poškozením od tloušťkoměru

Tabulka 8 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL-PA6 s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>	
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PCL-PA6</b>
Otáčky [RPM]	1000
Napětí [kV]	30,3
Čas zvlákňování [min]	10
<b>Výsledky experimentu</b>	
Dálka na vřetenu [mm]	220
Délka po ořezu [mm]	134
Délka po sejmutí [mm]	50
Průměrná tloušťka [mm]	0,27

Vzorky byly odvětrávány po dobu 24 hodin, aby došlo k odpaření ethanolu před další analýzou.

### 2.2.2.3 Pořízení a vyhodnocení snímků

Byla pořízena série snímků z připravených vzorků pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu a snímky byly vyhodnoceny stejně jako v předchozím experimentu. Z důvodů ušetření času a zefektivnění procesu statistické analýzy byl v programu MatLab přímo pro tuto práci napsán kód, který provedl statistické vyhodnocení automaticky z manuálně naměřených dat. Kód je uveden v Příloze 1.

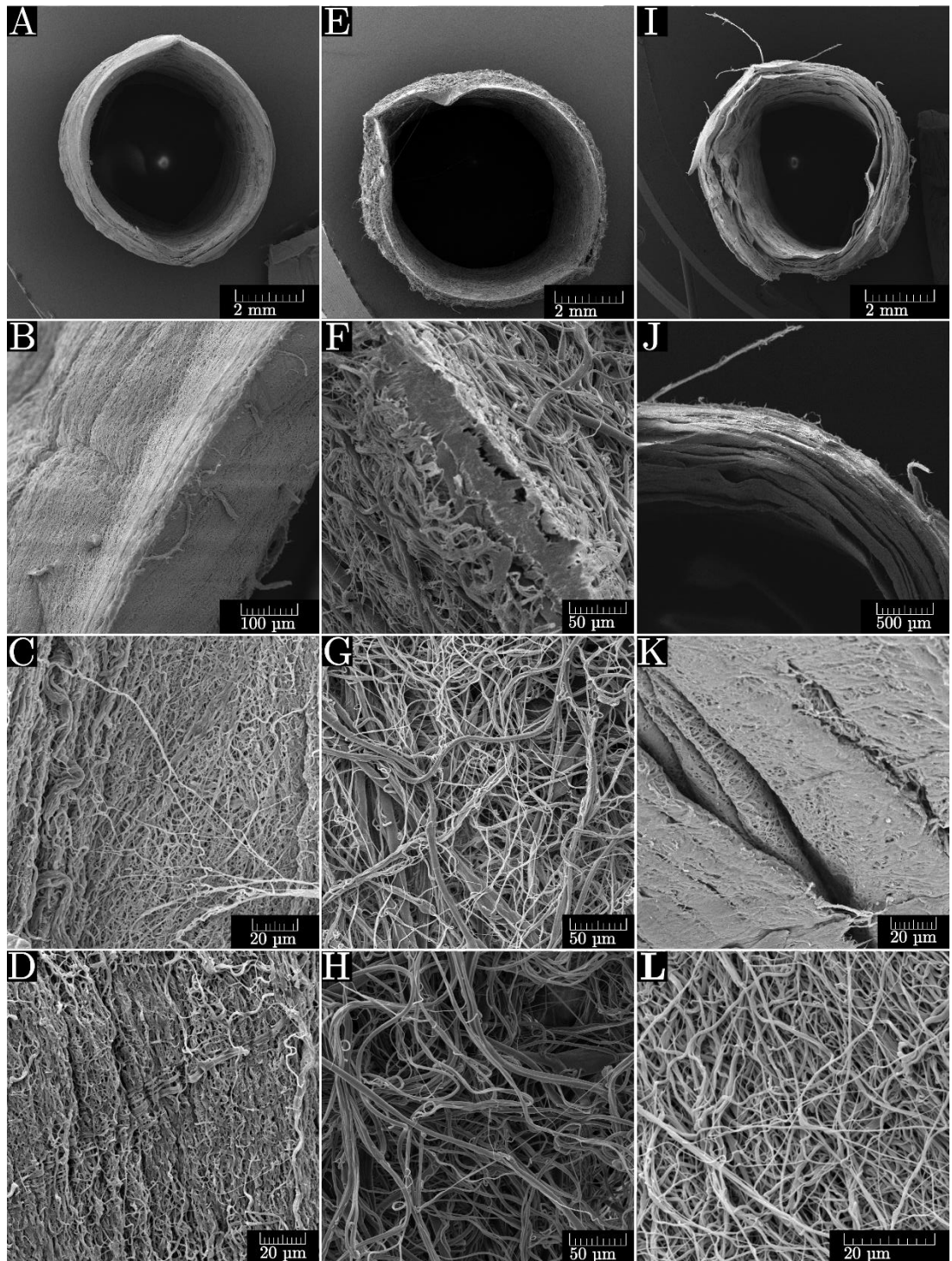
Vlákněné vrstvy připravené z PA6 byly při těchto experimentech lépe rozlišitelné a vlákna již netvořila provazce a slitou vrstvu viz Obrázek 14C; D. U těchto vzorků byla patrná výrazná poškození, která vznikla pravděpodobně vlivem sundávání, jak je vidět na Obrázku 14 C. Kvůli velkému poškození vrstev nebylo možné určit průměry vláken, ani jiné morfologické vlastnosti.

Vlákněné vrstvy připravené z PCL byly velmi dobře rozlišitelné, jednotlivá vlákna se dala velmi dobře rozpoznat, viz Obrázek 14 G; H. Vlákněná povaha vnitřní strany a vnější strany tubulárního vzorku je nejlépe patrna na snímku detailu příčného řezu viz Obrázek 14 E, F. Ve vlákněné vrstvě se vyskytovala velmi tenká vlákna s průměrem od 0,5  $\mu\text{m}$  po velmi široká vlákna s průměrem do 3  $\mu\text{m}$ . Bylo zjištěno, že vlákna na vnitřní straně dosahují průměrného průměru 1,72  $\mu\text{m}$  s průměrným rozptylem

0,35  $\mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od 1,52  $\mu\text{m}$  do 1,92  $\mu\text{m}$ . Vlákná na vnější straně dosahovala průměrného průměru 2,31  $\mu\text{m}$  s průměrným rozptylem 1,28  $\mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od 1,93  $\mu\text{m}$  do 2,69  $\mu\text{m}$ .

Vlákenná vrstva připravená z bipolymerního roztoku PCL-PA6 tvořila z příčného pohledu delaminovanou strukturně nesoudržnou strukturu viz Obrázek 14 I, J. Vrstva byla z vnitřní strany poškozena. Při 50x násobném zvětšení bylo vidět, že vlákenná vrstva je na této straně slitá do folie s občasnými úseky vláken, jak je vidět na Obrázku 14 K. Vlákenná vrstva byla z vnější strany minimálně poškozena, vlákna byla dobře rozlišitelná, viz Obrázek 14 L. Ze snímků bylo manuálně provedeno 101 měření a bylo zjištěno, že z vnější strany byla vlákenná vrstva dobře viditelná a jednotlivá vlákna byla dobře rozlišitelná. Vlákná tohoto vzorku dosahovala konzistentně průměru od 0,14  $\mu\text{m}$  do 1,1  $\mu\text{m}$ . Bylo zjištěno, že vlákna ve vlákenné vrstvě tohoto vzorku dosahují průměrného průměru 0,48  $\mu\text{m}$  s rozptylem 0,03  $\mu\text{m}^2$  a s intervalem spolehlivosti od 0,42  $\mu\text{m}$  do 0,54 $\mu\text{m}$ .





Obrázek 14: SEM snímky z PA6; PCL; PCL-PA6: A – Příčný řez vzorkem z PA6; B – Detail příčného řezu z PA6 vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PA6; D – Vnější strana vzorku z PA6; E – Příčný řez vzorkem z PCL; F – Detail příčného řezu z PCL vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PCL; H – Vnější strana vzorku z PCL; I – Příčný řez vzorkem z PCL-PA6; J – Detail příčného řezu z PCL-PA6 vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; K – Vnitřní strana vzorku z PCL-PA6; L – Vnější strana vzorku z PCL-PA6

#### **2.2.2.4 Závěr experimentu**

Experimentálně bylo zjištěno, že vřeteno z kompozitních materiálu je nevyhovující pro přípravu a následné vyhodnocování vlákenné vrstvy. Byla ověřena hypotéza, že tloušťku vlákenné vrstvy lze řídit pomocí zvlákňování v různých časových intervalech. Připravené vzorky byly na vřetení delší, než v předchozích experimentech jejich délka u vzorků z PCL se pohybovala v rozmezí 256 až 260 mm, ale po sejmutí z vřetene dosahovaly obdobné délky jako vzorky připravené v předchozím experimentu a měly i obdobnou srážlivost.

Na základě výsledků bylo rozhodnuto, že s PA6 nebudou nadále prováděny experimenty kvůli jeho nevyhovujícím vlastnostem. Dále bylo rozhodnuto prozkoumat možnosti přípravy bipolymerních vlákenných vrstev za použití směsi PCL a PA6 v poměru 1:1.

### **2.2.3 Experiment 3**

Cílem třetího experimentu bylo otestovat další možné polymerní roztoky, které by mohly být vhodné pro přípravu tubulárních vzorků a připravit experimentální bipolymerní roztok PCL-PA6 a roztok PLA v novém rozpouštědlovém systému. Dalším cílem bylo otestovat jiné látky pro snímání vzorků z vřetene, konkrétně lubrikant na bázi vody namísto ethanolu, který byl doposud používán, a změřit homogenitu tloušťky stěny vzorků podle nové metodiky.

#### **2.2.3.1 Příprava roztoků**

Byly připraveny tři polymerní roztoky, každý o hmotnosti 100 g. Bipolymerní roztoky byly připraveny s požadovanou koncentrací 10hm % a roztok PLA byl připraven s požadovanou koncentrací 15hm %. Roztoky byly připraveny v 24hodinovém předstihu.

Byl připraven 10hm % roztok PCL-PA6-A rozpuštěním 5 g PA6 a 5 g PCL v rozpouštědlovém systému, ve kterém byl aceton, kyselina mravenčí a kyselina octová v poměru 1:1:1.

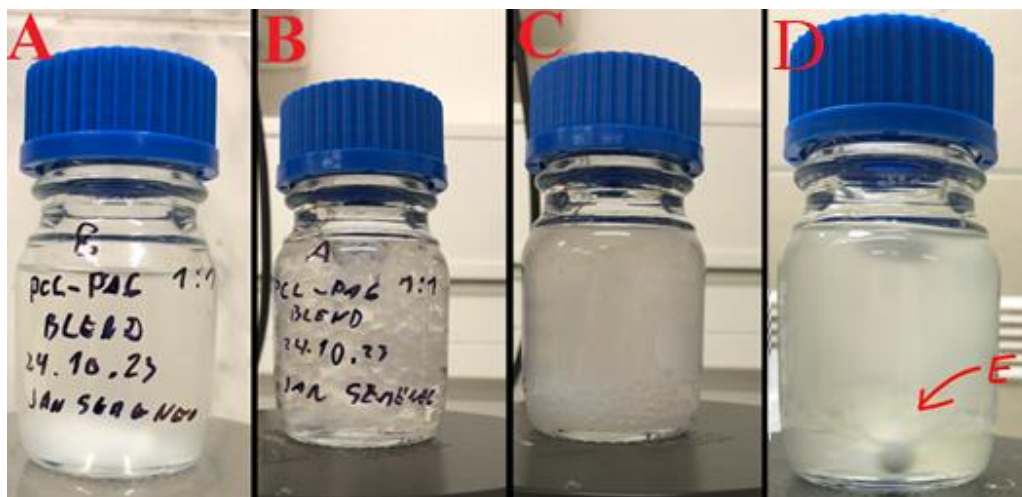
Byl připraven 10hm % roztok PCL-PA6-B rozpuštěním 5 g PA6 a 5 g PCL v rozpouštědlovém systému, ve kterém byla kyselina mravenčí a kyselina octová v poměru 1:1.

Byl připraven 10hm % roztok PLA rozpuštěním 15 g PLA v rozpouštědlovém systému, ve kterém byl aceton, kyselina mravenčí a kyselina octová v poměru 1:1:1.

Rozpouštědlový systém byl zvolen ve snaze zachovat stávající rozpouštědlový systém pro zjednodušení práce a porovnávání.

Roztok PCL-PA6-B po 24 hodin změnil barvu z čiré na matnou. Došlo k úplnému rozpuštění granulí PCL a PA6 viz Obrázek 15 A.

U druhého roztoku PCL-PA6-A nedošlo po 24 hodinách k rozpuštění granulí PA6 viz Obrázek 15 B. Roztok byl ponechán dalších 24 hodin na magnetické míchačce. Po uplynutí 48 hodin od přípravy tohoto roztoku nedošlo k rozpuštění granulátu PA6, došlo pouze k zakalení roztoku do šeda, viz Obrázek 15 C. Nerozpuštění granulí PA6 bylo nejspíše zapříčiněno reakcí granulí s acetonem a vzniku nerozpustné vrstvy na povrchu granulátu. Změna zbarvení roztoku mohla být zapříčiněna degradací PCL. S tímto roztokem nebyly prováděny žádné další experimenty.



Obrázek 15: Polymerní roztok PCL-PA6-A v rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1), PCL-PA6-B v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1) a PLA v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) A – Polymerní roztok PCL-PA6-B po 24hodinách; B – Polymerní roztok PCL-PA6-A po 24hodinách; C – Polymerní roztok PCL-PA6-A po 48hodinách; D – Roztok PLA v rozpouštědlovém systému rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) po 3 hodinách E – Polymerní shluk

Roztok PLA po 24 hodinách změnil barvu z čiré na šedo žlutý zákal. Během rozpouštění granulátu došlo k vytvoření shlukovité hmoty Obrázek 15 D. Tato hmota se lepila na magnetické míchátko a zastavovala jeho rotaci. Po nějaké době se shluk nalepil na stěnu láhve a míchátko se mohlo volně točit. Část tohoto shluku se nerozpustila a musela být druhý den vyndána. Připravené roztoky byly ponechány 24 hodin na magnetických míchačkách.

### 2.2.3.2 Elektrospinning

Aparatura byla sestavena stejně jako v předchozích experimentech, parametry prostředí jsou uvedeny v Tabulce 9 a parametry procesu s výsledky jsou zapsány v Tabulce 10 a Tabulce 11 pro každý polymerní roztok zvlášť. Zvlákňováním bylo připraveno více vzorků označených podle druhu polymeru jako PCL-PA6-B\_N a PLA\_N. Zvlákňování probíhalo do vyčerpání roztoku, nebo dokud se dal roztok zvlákňovat. Během tohoto experimentu byla měněna rychlost rotace vřetene. Pro snížení adheze vlákně vrstvy byl podle dosavadní metodiky použit ethanol a nově byl testován lubrikant na bázi vody, který by neměl narušovat proces a výslednou vlákněnou vrstvu.

U připravených vzorků byla měřena jejich plošná hmotnost výpočtem podle Rovnice 4. Vzorky byly také proměřeny digitálním tloušťkoměrem na 5 místech podle stejné metodiky jako v předchozích experimentech a byla vypočtena jejich průměrná tloušťka.

$$S_w = \frac{m_s}{(\pi \cdot d \cdot l) \cdot 10^{-4}} = [g \cdot m^{-2}]$$

Rovnice 4 – Výpočet plošné hmotnosti  $S_w$  = Plošná hmotnost;  $m_s$  = Hmotnost vzorku;  $d$  = Průměr;  $l$  = Délka vzorku

Tabulka 9 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu

	<b>Začátek procesu</b>		<b>Konec procesu</b>
Teplota [°C]	21,9	→	23,0
Vzdušná vlhkost [%]	41,3	→	41,0



Tabulka 10 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL-PA6-B s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>				
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PCL-PA6-B_1</b>	<b>PCL-PA6-B_2</b>	<b>PCL-PA6-B_3</b>	<b>PCL-PA6-B_4</b>
Otáčky [RPM]	1000	2000	1000	2000
Napětí [kV]	32,2	32,3	33	32,8
Čas zvlákňování [min]	10	10	10	10
Průměr vřetene [mm]	6	6	6	6
Lubrikant [-]	Ethanol	Ethanol	Lubrikant	Lubrikant
<b>Výsledky experimentu</b>				
Dálka na vřetenu [mm]	190	171	170	183
Délka po ořezu [mm]	152	149	135	149
Délka po sejmutí [mm]	99	105	108	99
Průměrná tloušťka [mm]	0,275	0,495	0,328	0,549
Hmotnost vzorku [g]	0,46	0,55	0,77	0,69
Plošná hmotnost [g·m <sup>-2</sup> ]	246,50	277,89	378,24	369,75

Vlákněná vrstva z PCL-PA6-B s ethanolem šla dobře sundávat a rychle schla. Vrstvu bylo možné roztáhnout po sejmutí pinzetou, ale došlo k poškození vlivem stlačení jak při roztahování, tak při měření tloušťky. U roztahování bylo dbáno na to, aby se vzorky nepřetrhly. Vzorky dosahovaly délky 171 a 190 mm. Po ořezu a sejmutí se vzorky srazily na délku 99 a 105 mm.

Při použití lubrikantu na bázi vody vlákněná vrstva nekladla žádný odpor proti snímání a šla dobře roztahovat ze zabaleného stavu. Vrstva měla mokřý vzhled, který po čase zmizel. Vlákněná vrstva byla flexibilní s minimálním zvrásněním, k poškození vrstvy docházelo převážně na koncích, kde vrstva přišla do kontaktu s pinzetami a v místech, kde byla stlačena digitálním tloušťkoměrem. Vzorky dosahovaly délky 170 a 183 mm. Po ořezu a sejmutí se vzorky srazily na délku 99 a 108 mm.

Tabulka 11 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PLA s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>				
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PLA_1</b>	<b>PLA_2</b>	<b>PLA_3</b>	<b>PLA_4</b>
Otáčky [RPM]	1000	2000	1000	2000
Napětí [kV]	37,6	37,2	37,4	37,7
Čas zvlákňování [min]	2	2	2	2
Průměr vřetene [mm]	6	6	6	6
Lubrikant [-]	Ethanol	Ethanol	Lubrikant	Lubrikant
<b>Výsledky experimentu</b>				
Dálka na vřetenu [mm]	230	182	192	170
Délka po ořezu [mm]	138	145	145	129
Délka po sejmutí [mm]	115	127	111	101
Průměrná tloušťka [mm]	0,302	0,274	0,251	0,248
Hmotnost vzorku [g]	0,31	0,32	0,66	0,63
Plošná hmotnost [ $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	143,01	133,67	315,44	330,92

Vlákněná vrstva z PLA s ethanolem kladla odpor, ale dala se sejmut v jednom kuse z vřetene. K poškození vrstvy docházelo převážně na koncích, kde vrstva přišla do kontaktu s pinzetami a v místech, kde byla stlačena. Po sejmutí a odpaření ethanolu vrstva ztvrdla a docházelo při snaze vzorky ohnout k jejich lámání. Vzniklé lomové linie byly čisté a hladké. U roztahování bylo dbáno na to, aby se vzorky nepřetrhly. Vzorky dosahovaly délky 182 a 230 mm. Po ořezu a sejmutí se vzorky srazily na délku 115 a 127 mm.

Při použití lubrikantu na bázi vody kladla vlákněná vrstva lehký odpor proti snímání z vřetene. Vlákněná vrstva byla po sejmutí flexibilní s minimálním zvrásněním, k poškození vrstvy docházelo převážně na koncích, kde vrstva přišla do kontaktu s pinzetami, a v místech, kde byla stlačena. Po odpaření lubrikantu došlo ke ztvrdnutí vlákněné vrstvy a jejich lámání. Vzorky dosahovaly délky 170 a 192 mm. Po ořezu a sejmutí se vzorky srazily na délku 101 a 111 mm.

### 2.2.3.3 Pořízení a vyhodnocení snímků

Byla pořízena série snímků z připravených vzorků pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu a snímky byly vyhodnoceny stejně jako v předchozím experimentu.

Vlákněné vrstvy připravené z PCL-PA6-B s ethanolem vykazují v příčném řezu lehkou strukturní nesoudržnost, viz Obrázek 16 A, B. Tato vlákněná vrstva byla více defektní na vnitřní straně, jak je patrné na Obrázku 16 C, kde docházelo k tvorbě velkých slitých úseků vláken s tvorbou vlákněných provazců. Vyskytovala se i místa, kde nedošlo

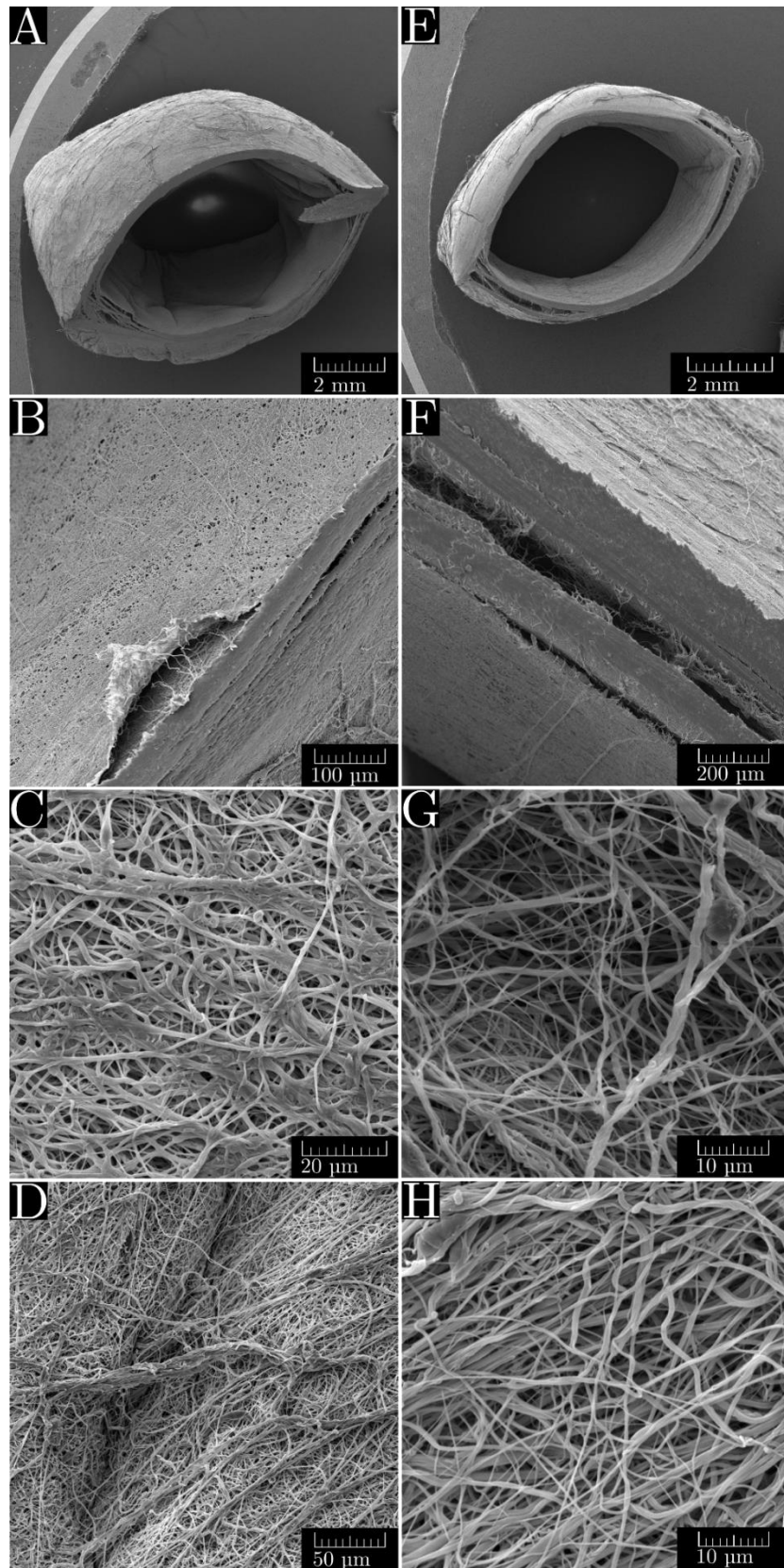
k poškození a vlákenná vrstva na nich byla dobře diferencovaná. V těchto místech byla vidět vysoká koncentrace vláken vlákenné vrstvy. Na vnější straně byla vlákenná vrstva dobře diferencovaná, s občasným výskytem silných vlákenných provazců viz Obrázek 16 D.

Statistickými výpočty bylo zjištěno, že vlákna na vnitřní straně dosahovala průměrného průměru  $0,63 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,04 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $0,57 \mu\text{m}$  do  $0,69 \mu\text{m}$ . Vlákna na vnější straně dosahovala průměrného průměru  $0,63 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,03 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $0,58 \mu\text{m}$  do  $0,69 \mu\text{m}$ .

Vzorky, které byly připraveny s lubrikantem na bázi vody, vykazují v příčném řezu lehkou strukturní nesoudržnost, viz Obrázek 16 E, F. Na vnitřní a vnější straně byla vlákna dobře diferencovatelná, přičemž tato vlákna netvořila pouze kulatá vlákna, ale plochá vlákna, jak je vidět na Obrázku 16 G, H.

Vlákna na vnitřní straně dosahují průměrného průměru  $0,76 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,05 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $0,69 \mu\text{m}$  do  $0,83 \mu\text{m}$ . Vlákna na vnější straně dosahovala průměrného průměru  $0,74 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,06 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $0,65 \mu\text{m}$  do  $0,84 \mu\text{m}$ .

U vzorků, které byly vytvořeny s využitím lubrikantu na bázi vody, byla zaznamenána minimální odchylka v průměrech vláken ve srovnání se vzorky, které byly vytvořeny s ethanolem.



Obrázek 16: SEM snímky z PCL-PA6 s ethanolem v levé části a s lubrikantem na bázi vody v pravé části: A – Příčný řez vzorkem z PCL-PA6 s ethanolem; B – Detail příčného řezu z PCL-PA6 s ethanolem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PCL-PA6 s ethanolem; D – Vnější strana vzorku z PCL-PA6 s ethanolem; E – Příčný řez vzorkem z PCL-PA6 s lubrikantem; F – Detail příčného řezu z PCL-PA6 s lubrikantem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PCL-PA6 s lubrikantem; H – Vnější strana vzorku z PCL-PA6 s lubrikantem



Vláknenné vrstvy připravené z PLA s ethanolem nevykazují v příčném řezu strukturní nesoudržnost, viz Obrázek 17 A, B. Vzorky příčného řezu se podařilo připravit téměř v kruhovém průřezu, což bylo zapříčiněno ztvrdnutím materiálu. Z vnitřní strany byla vláknenná vrstva silně poškozená, vlákna vytvořila téměř hladkou folii viz Obrázek 17 C. Z vnější strany byla tato vláknenná vrstva obdobně defektní jako vnitřní strana, vytvářela se však místa dobře diferencovaná, s občasnými defekty v podobě vláknenných provazců, jak je vidět na Obrázku 17 D.

U druhého vzorku již nedošlo k takovému poškození vláknenné vrstvy na vnitřní straně, ale vlákna se jevila plochá. Na vnitřní straně se vyskytovaly drobné defekty, které vypadaly jako kapky. Z vnější strany byla vláknenná vrstva dobře diferencována a byla hustě převlákněna.

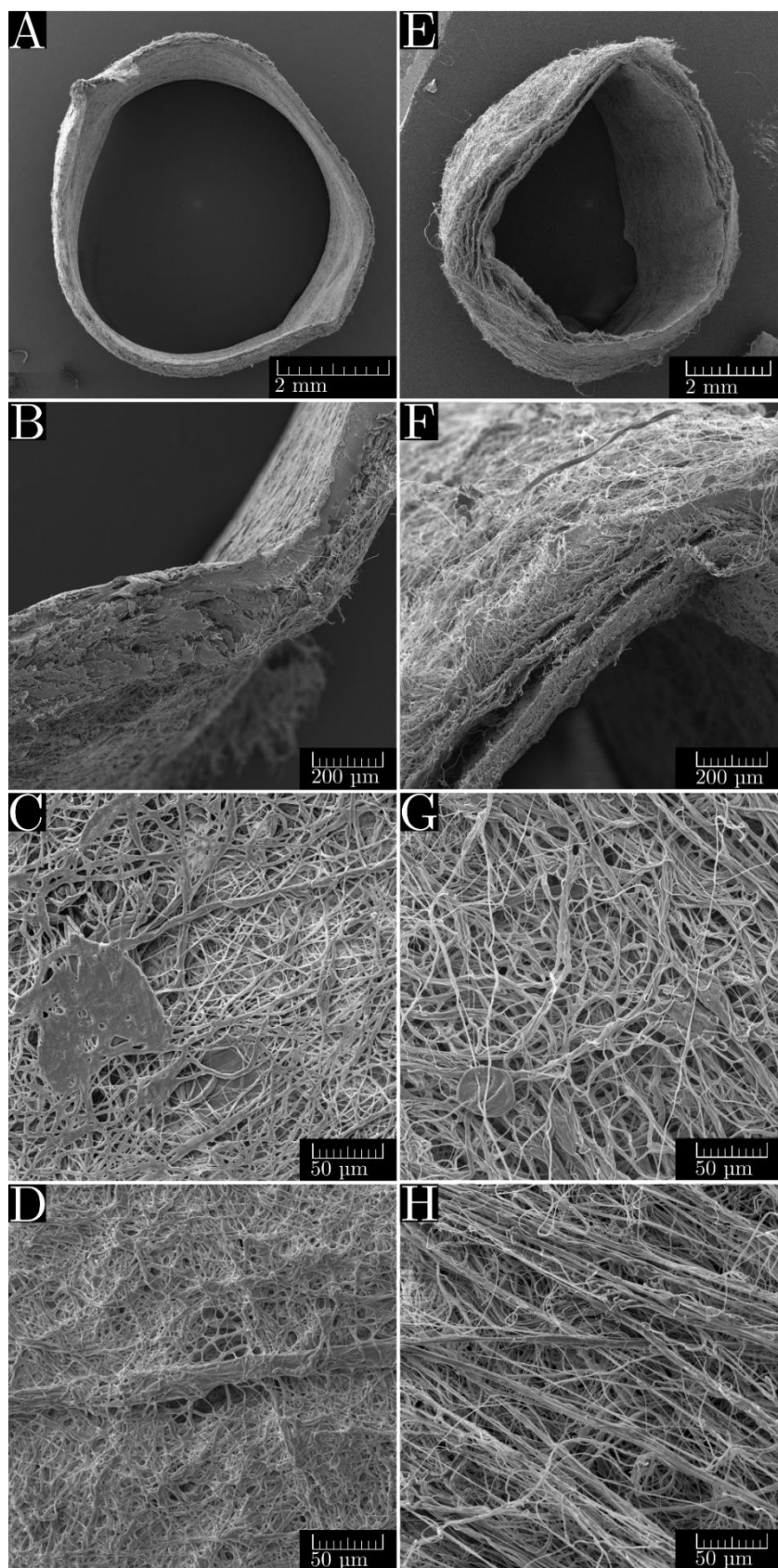
Statistickými výpočty bylo zjištěno, že vlákna na vnitřní straně dosahovala průměrného průměru  $1,25 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,51 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $1,24 \mu\text{m}$  do  $1,26 \mu\text{m}$ . Vlákna na vnější straně dosahovala průměrného průměru  $1,19 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,54 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $1,18 \mu\text{m}$  do  $1,20 \mu\text{m}$ .

Vrstvy, které byly připraveny s lubrikantem na bázi vody, vykazují v příčném řezu silnou strukturní nesoudržnost, jak je vidět na Obrázku 17 E, F. Příčné řezy si vlivem lubrikantu na bázi vody, který zvýšil strukturní nesoudržnost vrstvy, neudržely kruhový průřez i přesto, že po odpaření lubrikantu ztvrdly.

Vláknenná vrstva z vnitřní strany byla lehce poškozena, ale vlákna již byla od sebe rozeznatelná. Vlákna vytvářela silnější vláknenné provazce s občasnými kapkami, viz Obrázek 17 G. Z vnější strany byly pozorovány tvorby obdobných silných vláken jako na vnitřní straně, ale byly pozorovány i jemnější vlákna, jak je vidět na Obrázku 17 H. Vlákna ve vláknenné vrstvě byla dobře diferencovaná a rozlišitelná.

Vlákna na vnitřní straně dosahovala průměrného průměru  $1,93 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $1,43 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $1,92 \mu\text{m}$  do  $1,95 \mu\text{m}$ . Vlákna na vnější straně dosahovala průměrného průměru  $1,68 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $1,12 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $1,67 \mu\text{m}$  do  $1,69 \mu\text{m}$ .

V průměrech vláken byla zaznamenána odchylka mezi vzorky, kdy vzorky vyrobené s lubrikantem na bázi vody dosahovaly vyšších průměrů nežli vzorky s ethanolem, stejně jako u vzorků z PCL-PA6, což naznačuje možnost vlivu lubrikantů na bázi vody na vlastnosti a strukturu výsledného materiálu



Obrázek 17: SEM snímky z PLA s ethanolem v levé části a s lubrikantem na bázi vody v pravé části: A – Příčný řez vzorkem z PLA s ethanolem; B – Detail příčného řezu z PLA s ethanolem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PLA s ethanolem; D – Vnější strana vzorku z PLA s ethanolem; E – Příčný řez vzorkem z PLA s lubrikantem; F – Detail příčného řezu z PLA s lubrikantem vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PLA s lubrikantem; H – Vnější strana vzorku z PLA s lubrikantem

#### **2.2.3.4 Vyhodnocení experimentu**

Experimentálně bylo zjištěno, že PLA lze rozpouštět ve stejném rozpouštědlovém systému jako PCL. I přes vyšší míru defektnosti vlákně vrstvy připravené z PLA bylo s tímto polymerem pracováno nadále, ale v nižších koncentracích, a to v koncentraci 10hm % namísto stávající koncentrace 15hm %. Vzorky připravené s ethanolem dosahovaly délky 182 a 230 mm, což jsou podobné výsledky jako v předchozích experimentech. S lubrikantem na bázi vody vzorky dosahovaly délky 170 a 192 mm.

Experimenty bylo zjištěno, že vzorky připravené z PCL-PA6 s ethanolem dosahovaly délky 171 a 190 mm, což jsou podobné výsledky jako v předchozích experimentech. S lubrikantem na bázi vody vzorky dosahovaly délky 170 a 183 mm. Zkoumání tohoto polymerního systému by vyžadovalo další systematickou práci, proto bylo od jeho využití v rámci této BP odstoupeno.

Experimentálně bylo zjištěno, že použitím lubrikantu na bázi vody se snižuje tvorba defektů na vnitřní straně vzorků. Byl však pozorován vliv lubrikantu na tloušťku stěny, kdy vzorky vyrobené s jeho pomocí dosahovaly větší tloušťky stěny než vzorky připravené s ethanolem. Tento jev byl pozorován pouze u vzorků vyrobených z PCL-PA6. Dalším jevem, který byl pozorován u vzorků s lubrikantem na bázi vody, byla jejich zvýšená plošná hmotnost. U vzorků z PCL-PA6 a PLA s použitím lubrikantu na bázi vody byla pozorována změna průměrů vláken, tento jev naznačuje, že lubrikant na bázi vody by mohl mít potenciální vliv na průměry vláken a lehké snížení délky vzorků.

#### **2.2.4 Experiment 4**

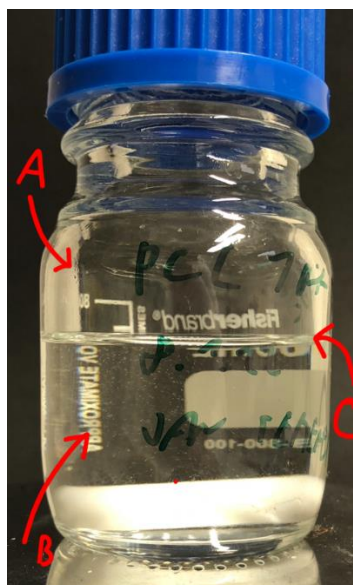
Cílem čtvrtého experimentu byla optimalizace procesu na tvorbu tubulárních útvarů s tloušťkou stěny 0,2 mm z PLA a PCL při různých rychlostech rotace vřetene s použitím ethanolu, u PLA byla připravena nižší koncentrace oproti předchozímu experimentu a u PCL byla použita nová metodika přípravy.

##### **2.2.4.1 Příprava roztoků**

Byly připraveny dva polymerní roztoky z PCL a PLA, každý o hmotnosti 100 g s požadovanou koncentrací 10hm %. Roztoky byl připraveny v 24hodinovém předstihu.

Roztok PCL byl připraven podle nové metodiky rozpuštěním 10 g PCL v rozpouštědlovém systému, ve kterém byl aceton, kyselina mravenčí a kyselina octová v poměru 1:1:1. Polymerní granulát byl rozpuštěn v kyselinách s přidáním acetonu druhý den.

U polymerního roztoku PCL nedošlo k vytvoření růžového zákalu ani sraženin. Při přidávání acetonu došlo vlivem rozdílných hustot k vytvoření hladiny acetonu na hladině polymerního roztoku, viz Obrázek 18. Tyto dvě hladiny se daly promísit třepáním, po kterém nedošlo ke změně zbarvení roztoku, ani k vytvoření polymerní sraženiny.



Obrázek 18: Polymerní rozorá PCL v rozpouštědlovém systému aceton, kyselina mravenčí, kyselina octová (1/1/1) po 24 hodinách s oddělenou hladinou acetonu A – vrstva acetonu; B – Polymerní vrstva, C – Rozhraní dvou hladin

#### 2.2.4.2 Elektrospinning

Aparatura byla sestavena stejně jako v experimentu 1. Parametry prostředí jsou uvedeny v Tabulce 12 a parametry procesu s výsledky jsou zapsány v Tabulce 13 a Tabulce 14 pro každý polymerní roztok zvlášť. Zvlákňováním bylo připraveno více vzorků označených podle druhu polymeru jako PCL\_N, PLA\_N. Zvlákňování probíhalo stejně jako v předchozích experimentech.

Tabulka 12 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu

	Začátek procesu		Konec procesu
Teplota [°C]	23,1	→	23,5
Vzdušná vlhkost [%]	44,0	→	44,3

U připravených vzorků byla měřena jejich plošná hmotnost výpočtem podle Rovnice 4. U vzorků byla měřena také tloušťka pomocí digitálního tloušťkoměru

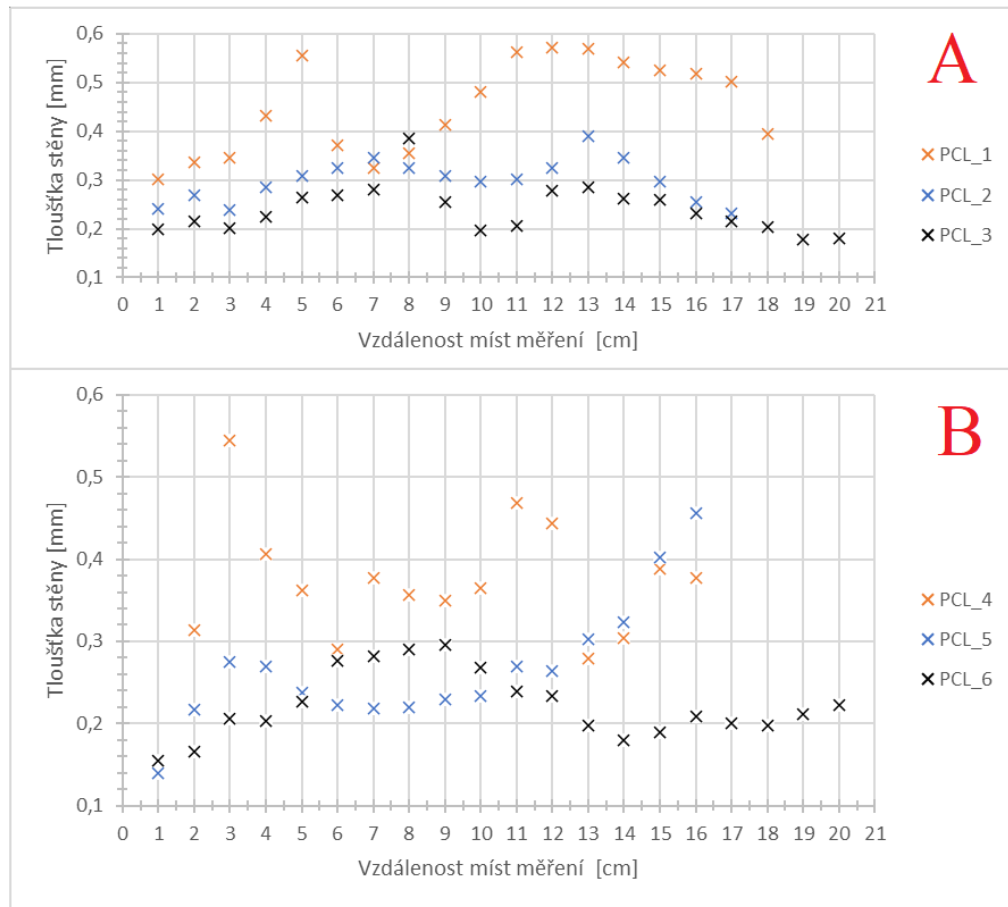
v centimetrových rozestupech mezi jednotlivými měřeními v celé šíři vzorku před ořezem. Pro dosažení co nejpřesnějších výsledků byl před každým měřením digitální tloušťkoměr kalibrován. Vizualizované tloušťky stěn vzorků jsou graficky vyobrazeny pomocí bodových grafů, viz Obrázek 19 a Obrázek 20.

Tabulka 13 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PCL s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>						
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PCL_1</b>	<b>PCL_2</b>	<b>PCL_3</b>	<b>PCL_4</b>	<b>PCL_5</b>	<b>PCL_6</b>
Otáčky [RPM]	1000	1000	1000	2000	2000	2000
Napětí [kV]	39,2	39,4	39,1	39,7	39,8	40,0
Čas zvlákňování [min]	10	4	2,5	5	2	2
Průměr vřetene [mm]	6	6	6	6	6	6
Lubrikant [-]	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol
<b>Výsledky experimentu</b>						
Dálka na vřetenu [mm]	183	167	202	177	173	163
Délka po ořezu [mm]	126	116	144	136	124	131
Délka po sejmutí [mm]	93	85	109	112	98	105
Minimální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,302	0,231	0,177	0,152	0,140	0,155
Maximální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,572	0,389	0,386	0,545	0,456	0,296
Průměrná tloušťka [mm]	0,4504	0,2995	0,2397	0,3613	0,2675	0,2224
Hmotnost vzorku [g]	1,04	0,49	0,33	1,05	0,34	0,29
Plošná hmotnost [ $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	43,79	22,41	12,16	40,96	14,55	11,74

U vzorků z PCL připravených při 1000 RPM byla pozorována vysoká fluktuace tloušťky stěny vzorku v celé délce a její odchýlení od požadované tloušťky stěny. Se změnou doby zvlákňování se podařilo přiblížit požadované tloušťce stěny. Tyto fluktuace vytvářely téměř periodicky se opakující silná a slabá místa, která jsou nejvíce patrná na vzorcích PCL\_2 a 3, které jsou vyobrazeny na Obrázku 19 A. U vzorků připravených při 2000 RPM byla tato fluktuace ještě výraznější, pouze u vzorků PCL\_5 a 6, které jsou vyobrazeny na Obrázku 19 B, bylo pozorováno ustálení těchto fluktuací v malém intervalu. U vzorků PCL\_6 je patrná periodicitu změny tloušťky vzorku obdobně jakou u vzorků připravených při 1000 RPM. Nejnižší naměřená tloušťka stěny při rychlostech rotace vřetene 1000 RPM byla 0,177 mm a nejvyšší byla 0,572 mm a při rychlosti rotace vřetene 2000 RPM byla nejnižší naměřená tloušťka stěny 0,14 mm a nejvyšší byla 0,545 mm.

Vzorky dosahovaly při rychlostech rotace vřetene 1000 a 2000 RPM délky v rozmezí 98 až 202 mm. Což jsou podobné hodnoty jako v předchozích experimentech.



Obrázek 19: Grafické znázornění tloušťky stěny vzorků z PCL v jeho délce při A – graf tloušťky stěny při 1000 RPM; B – graf tloušťky stěny při 2000 RPM

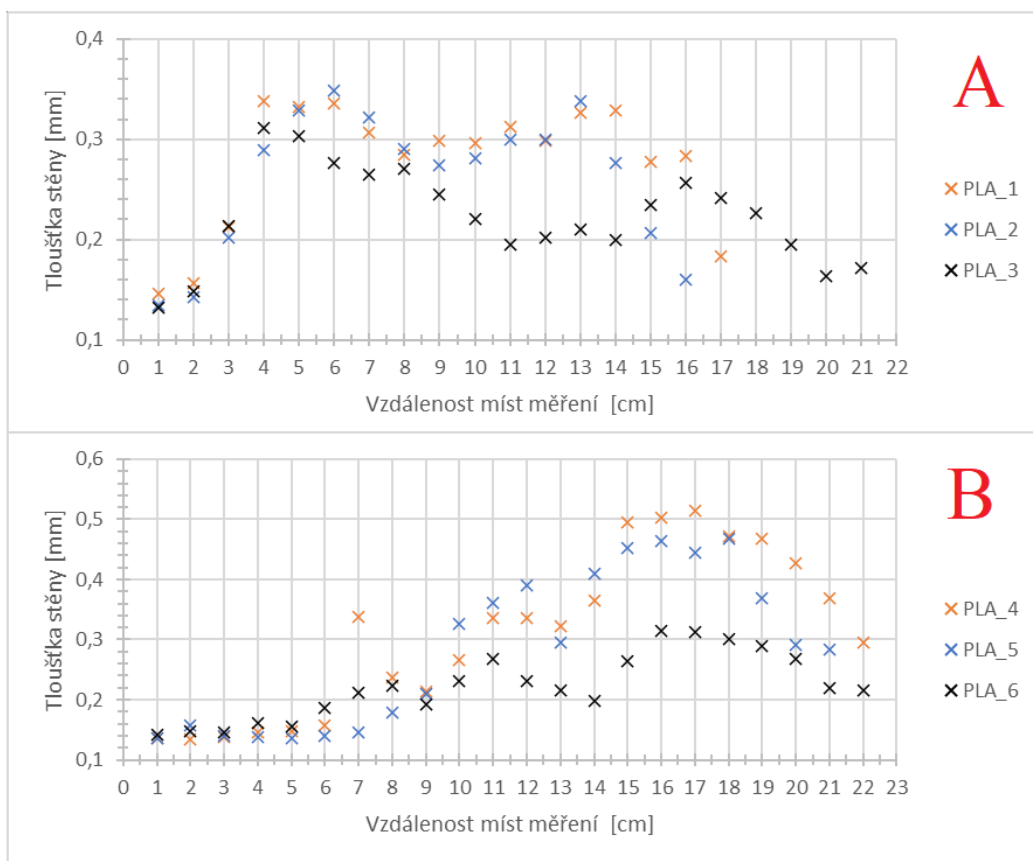
Tabulka 14 – Procesní podmínky elektrického zvlákňování PLA s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>						
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PLA_1</b>	<b>PLA_2</b>	<b>PLA_3</b>	<b>PLA_4</b>	<b>PLA_5</b>	<b>PLA_6</b>
Otáčky [RPM]	1000	1000	1000	2000	2000	2000
Napětí [kV]	39,1	38,9	39,4	39,8	39,6	40,0
Čas zvlákňování [min]	10	7	4	10	6	4
Průměr vřetene [mm]	6	6	6	6	6	6
Lubrikant [-]	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol
<b>Výsledky experimentu</b>						
Dálka na vřetenu [mm]	170	163	212	221	214	193
Délka po ořezu [mm]	144	135	152	192	168	133
Délka po sejmutí [mm]	110	80	123	134	98	91
Minimální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,146	0,134	0,132	0,135	0,136	0,141
Maximální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,338	0,349	0,311	0,515	0,468	0,315
Průměrná tloušťka [mm]	0,2776	0,2613	0,2295	0,3096	0,2754	0,2127
Hmotnost vzorku [g]	0,73	0,23	0,19	0,94	0,27	0,21
Plošná hmotnost [ $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ]	26,89	9,03	6,63	25,97	8,52	8,37

U vzorků z PLA připravených při 1000 RPM byla pozorována vysoká fluktuace tloušťky stěny vzorku v celé délce a její odchýlení od požadované tloušťky stěny. Tloušťka stěny byla nejvyšší v levé části, kde směrem k pravé části tloušťka klesala a posléze zase vzrostla. U vzorku PLA\_3, který je vyobrazen na Obrázku 20 A, byl pozorován náznak periodické změny tloušťky stěny. Se změnou doby zvlákňování se podařilo přiblížit požadované tloušťce stěny. U vzorků připravených při 2000 RPM byla tato fluktuace méně výrazná než u předchozích vzorků, pouze se silné místo vytvářelo na pravé straně vzorku a na levé straně se vytvářel slabý úsek. U změny tloušťky byl pozorován náznak periodického opakování tvoření tloušťky stěny obdobně jako u vzorků z PCL. Tato periodicitu je nejvíce patrná na vzorku PLA\_6 na obrázku Obrázku 20 B. Nejnižší naměřená tloušťka stěny při rychlostech rotace vřetene 1000 RPM byla 0,132 mm a nejvyšší byla 0,349 mm a při rychlosti rotace vřetene 2000 RPM byla nejnižší naměřená tloušťka stěny 0,135 mm a nejvyšší byla 0,515 mm.

Vzorky dosahovaly při rychlostech rotace vřetene 1000 a 2000 RPM délky v rozmezí 91 až 212 mm. Což jsou podobné výsledky jako v předchozích experimentech.





Obrázek 20: Grafické znázornění tloušťky stěny vzorků z PLA v jeho délce při A – graf tloušťky stěny při 1000 RPM; B – graf tloušťky stěny při 2000 RPM

Nehomogenita vlákenné vrstvy je zapříčiněna statickým nepohyblivým rotujícím vřetenem, kdy vlivem nulového rozvádění vlákenné vlečky dochází k vytváření statického nábalu. Vlákenná vlečka byla částečně rozváděna prouděním vzduchu a prouděním iontového větru směrem k pohonné jednotce a tím docházelo k občasnému rozvodu. Vliv na nehomogenitu měly i vibrace, které byly při těchto experimentech patrnější. Tyto vibrace se projevovaly jako periodicky se opakující zeslabení a zesílení vlákenné vrstvy. Tyto nárůsty jsou nejvíce patrné na vzorcích z PLA při 2000 RPM viz Obrázek 20 B. Zvýšené vibrace mohly být způsobeny opotřebením dřevěného protikusu i přes jeho pravidelné promazávání olejem. Vibrace při několika experimentech uvolnily protikus a vřeteno z něj vypadlo.

Byl připraven jeden vzorek z roztoku PCL podle nové metodiky. Tento vzorek byl určen pro optické analýzy a z tohoto důvodu nebyl proměřován. Procesní nastavení bylo zvoleno stejné jako u vzorků PCL\_3 a PCL\_6.



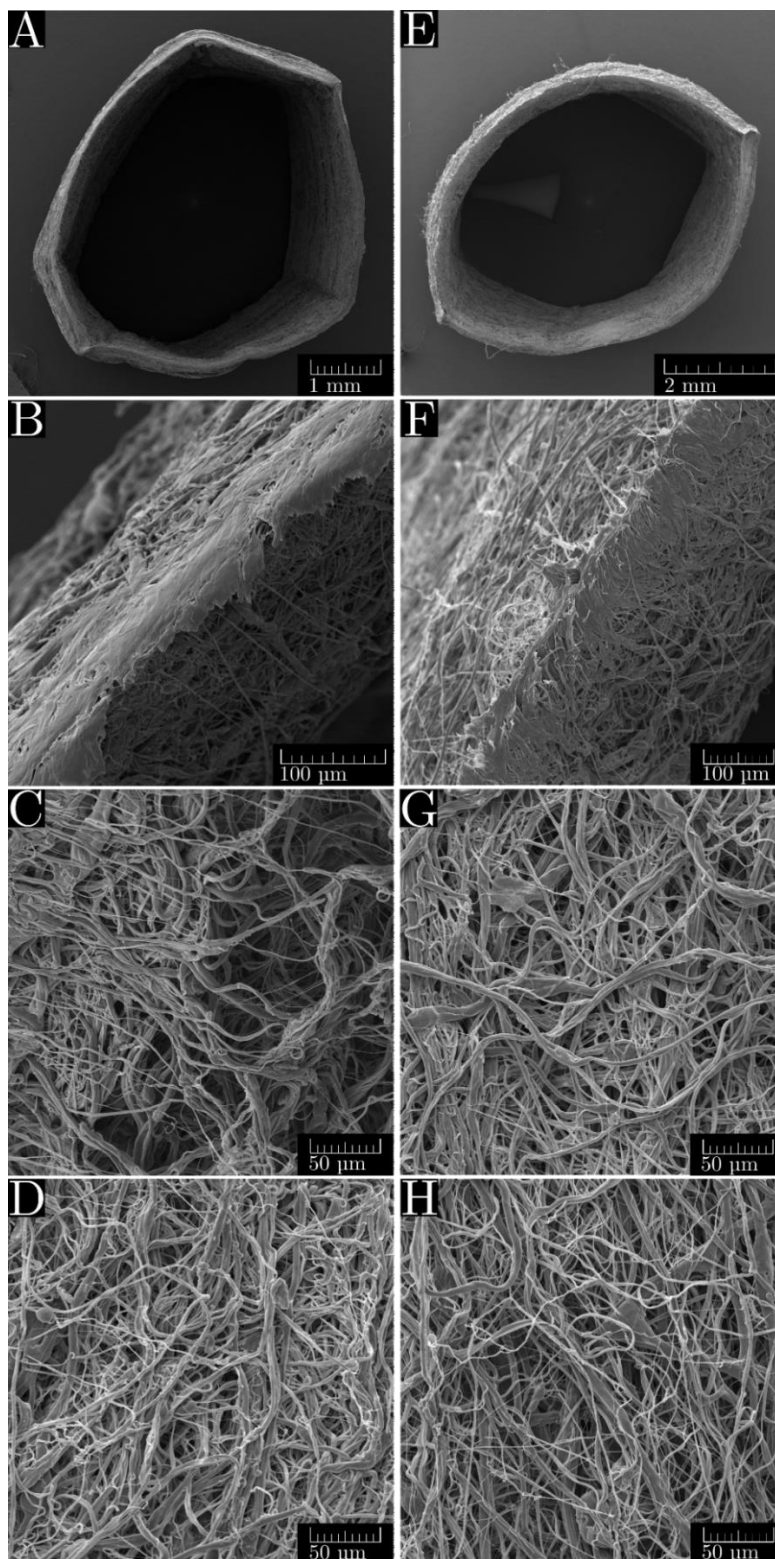
### 2.2.4.3 Pořízení a vyhodnocení snímků

Kvůli proměření digitálním tloušťkoměrem byly všechny vzorky poškozeny a tím nebyly vhodné pro optické analýzy. Dvě vrstvy z PCL, které nebyly proměřeny digitálním tloušťkoměrem, byly nasnímány na rastrovacím elektronovém mikroskopu podle stávající metodiky.

Vlákněné vrstvy připravené z PCL se podařilo sejmout a připravit tak, že vzorek byl minimálně poškozen a udržel si kruhový průřez. Na snímcích příčného řezu a jeho detailu je vidět, že vzorek má vlákněnou povahu jak na vnitřní straně, tak i na vnější straně viz Obrázek 21A, B, E, F. Vlákna na vnitřních stranách byla dobře diferencovaná a tvořila silnější vlákna s minimem defektů, jak je vidět na Obrázku 21 C, G. Na vnější straně byla vlákna obdobná jako na vnitřní straně, pouze se vyskytovala i jemnější vlákna viz Obrázek 21 D, H.

Měřením tloušťky vláken bylo zjištěno, že vlákna na vnitřní straně při rychlostech rotace vřetene 1000 RPM dosahují průměrného průměru  $2,16 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $1,45 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $1,75 \mu\text{m}$  do  $2,56 \mu\text{m}$ . Vlákna na vnější straně dosahovala průměrného průměru  $2,38 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $1,29 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $1,99 \mu\text{m}$  do  $2,76 \mu\text{m}$ .

Vlákna na vnitřní straně při rychlostech rotace vřetene 2000 RPM dosahovala průměrného průměru  $1,95 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,60 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $1,68 \mu\text{m}$  do  $2,21 \mu\text{m}$ . Vlákna na vnější straně dosahovala průměrného průměru  $2,27 \mu\text{m}$  s průměrným rozptylem  $0,49 \mu\text{m}^2$  a s průměrným intervalem spolehlivosti od  $2,04 \mu\text{m}$  do  $2,51 \mu\text{m}$ .



Obrázek 21: Snímky tubulárních vzorků z PCL podle nové metodiky A – Příčný řez vzorkem z PCL s ethanolem při 1000 RPM; B – Detail příčného řezu z PCL s ethanolem při 1000 RPM vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; C – Vnitřní strana vzorku z PCL s ethanolem při 1000 RPM; D – Vnější strana vzorku z PCL s ethanolem při 1000 RPM; E – Příčný řez vzorkem z PCL s ethanolem při 2000 RPM; F – Detail příčného řezu z PCL s ethanolem při 2000 RPM vlevo vnitřní strana a vpravo vnější strana; G – Vnitřní strana vzorku z PCL s ethanolem při 2000 RPM; H – Vnější strana vzorku z PCL s ethanolem při 2000 RPM

Kvůli zvyšujícímu se počtu proměřovaných vzorků a nutnosti provést další morfologické analýzy byly hledány možnosti, jak tyto procesy zautomatizovat. Byly převzaty kódy pro MatLab z diplomové práce Marcely Řičicové [96], ve které tyto kódy automaticky vyhodnocovaly průměry vláken, jejich orientaci a povrchovou porozitu s vyhledáváním defektů. Tyto kódy musely být upraveny, protože obsahovaly funkce, které nebyly v přílohách práce uvedeny, stejně tak jako použitá rozšíření pro MatLab. Pro potřeby této práce byl připraven kód pro automatické měření průměrů vláken, nebyl však použit z důvodu malého množství snímků pro vyhodnocování. Upravený kód je uveden v Příloze 2. V původní práci byly uvedeny postupy, jak tato vyhodnocení provádět v programu image-J. Vzhledem k jednodušší práci v programu MatLab, kde výsledný upravený kód vyžaduje pouze změnu názvu vyhodnocovaného snímku a rozměry škály v jednotkách délky, byly všechny analýzy prováděny v programu MatLab.

#### **2.2.4.4 Vyhodnocení experimentu**

Proces se povedlo částečně zoptimalizovat. Bylo zjištěno, že pro přípravu vzorku o tloušťce stěny 0,2 mm je nutno PCL zvlákňovat 2 minuty a PLA 4 minuty. Tloušťka vrstvy však není konstantní v celé délce, proto byl dbán zřetel zejména na hodnocení tloušťky v délce vzorku v 1 cm intervalech.

Připravené vzorky dosahovaly obdobných délek jako v předchozích experimentech i po ořezu a sejmutí z vřetene. Dále bylo zjištěno, že pokud se roztok PCL připraví pomocí nové metodiky, nedojde k vytvoření zákalu s polymerními sraženinami. Naměřené průměry vláken jsou téměř identické s průměry vláken, kdy byl roztok připravován podle staré metodiky.

Bylo rozhodnuto, že se další polymerní roztoky PCL budou připravovat podle nové metodiky, a že procesy pro PCL a PLA budou ještě jednou optimalizovány kvůli ověření vypočtené doby zvlákňování těchto polymerních roztoků. Byl ustanoven cíl opravit částečně funkční kódy, aby bylo možné provést další morfologické analýzy pomocí obrazových analýz.

#### **2.2.5 Experiment 5**

Cílem tohoto experimentu bylo ověřit optimalizované procesy elektrospinningu pro PCL a PLA, případně je dále vylepšovat a zjistit, zda je možno provádět elektrospinning i ve zhoršujících se atmosférických podmínkách bez klimatizační jednotky.

### 2.2.5.1 Příprava roztoků

Pro experiment byly připraveny dva polymerní roztoky o hmotnosti 100 g s požadovanou koncentrací 10hm % ve 24 hodinovém předstihu.

Jako první roztok byl připraven roztok PCL podle metodiky uvedené v předchozí kapitole. Jako druhý byl připraven roztok PLA podle metodiky uvedené v předchozí kapitole.

Koncentrace připravených roztoků byla ověřena výpočtem a odpovídala požadované koncentraci 10 hm%.

### 2.2.5.2 Elektrospinning

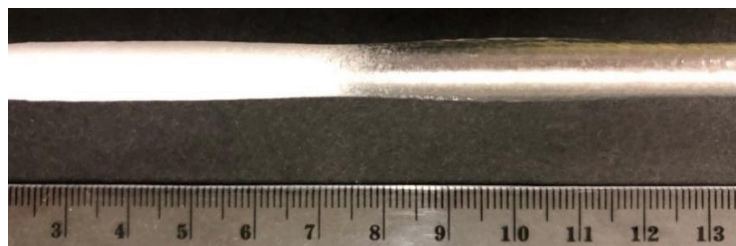
Aparatura byla sestavena stejně jako v předchozích experimentech se stejným nastavením, parametry prostředí jsou uvedeny v Tabulce 15.

Tabulka 15 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu

	<b>Začátek procesu</b>		<b>Konec procesu</b>
Teplota [°C]	21,7	→	23,2
Vzdušná vlhkost [%]	22,1	→	29,3

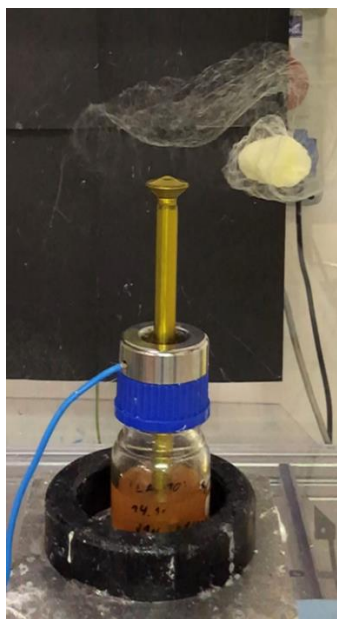
Proces elektrospinningu ze začátku fungoval správně podle předpokladů. Byly vytvořeny 3 vzorky z PCL, které byly proměřeny tloušťkoměrem. Byl pozorován zhoršující se proces přípravy vzorků. Během procesu elektrospinningu docházelo k tvorbě silných provazců namísto jemné vlákně vlečky a k jejímu přetrhávání. Při sundávání vzorků byla pozorována zvyšující se adheze vlákně vrstvy k vřetenu. Tato zvyšující se adheze dosáhla svého maxima, když se vlákně vrstva nedala sejmout z vřetene a musela být odříznuta. Po důkladném očištění vřetene byl učiněn pokus o vytvoření dalšího vzorku. Místo tvorby vlákně vlečky docházelo k tvorbě polymerní folie na povrchu vřetene. Tato folie byla stále tekutá a velmi lepkavá. Bylo usouzeno, že zvyšující se adheze a nefunkčnost procesu byla zapříčiněna nízkou vzdušnou vlhkostí, která byla v laboratoři 22 %. V předchozích experimentech byla vzdušná vlhkost v rozmezí od 40 % do 60 %. Pro zvýšení vzdušné vlhkosti byly v laboratoři vařeny na magnetických míchačkách kádinky s vodou a na velkém vařiči hrnec s vodou. Vzdušná vlhkost se za 2 hodiny zvedla pouze o 4 %, v laboratoři byla výsledná vzdušná vlhkost 26 %. Pro urychlení zvlhčování vzduchu byl zapojen i zvlhčovač vzduchu, s jehož pomocí se za další hodinu povedlo zvýšit vlhkost vzduchu na 29 %. Po zvýšení vzdušné vlhkosti byl proveden další experiment, avšak ani po tomto zvýšení vzdušné vlhkosti

nedošlo ke zlepšení funkčnosti procesu, došlo pouze k tvorbě vlákně vrstvy na části vřetene a lepkavé folie na druhé straně, viz Obrázek 22.



Obrázek 22: Výsledek procesu za zhoršených atmosférických podmínek vlevo povlákněné vřeteno vpravo lepkavá polymerní folie

Experiment byl ještě proveden dvakrát s roztokem PLA. První experiment s PLA vytvořil stejnou lepkavou folii na vřeteni jako vytvářelo PCL. Proces elektrospinningu byl téměř neviditelný, proto byl roztok PLA obarven barvivem kurkuminem, aby byla vlákna lépe vidět. Obarvená vlákenná vlečka byla lépe vidět, ale již nedocházelo k jejímu uchycení na vřeteno, ale k samovolné rotaci ve vzduchu, viz Obrázek 23.



Obrázek 23: Rotující vlákenná vlečka z PLA obarvená kurkuminem při špatných atmosférických podmínkách

Po ukončení elektrospinningu již proces v dalších pokusech nefungoval. Během elektrospinningu v těchto podmínkách byla pozorována tvorba rzi na skalpelu a dalších kovových předmětech, které byly v blízkosti zvláknovací jednotky. Z tohoto důvodu byly experimenty přerušeny. Kovové předměty začaly s největší pravděpodobností korodovat kvůli zvýšené koncentraci ozonu, který vznikal ionizací vzduchu. Jelikož se do okolí uvolňovalo vysoké množství výparů kyselin, byla vůně ozonu přehlédnuta.

### **2.2.6.3 Pořízení a vyhodnocení snímků**

Během experimentu nebyly pořízeny žádné vzorky, které by se daly analyzovat. Vzorky se nedaly považovat za plnohodnotné kvůli tvorbě folie a vysokého množství defektů.

### **2.2.6.4 Vyhodnocení experimentu**

Experimentem bylo zjištěno, že se vlivem silných mrazů snížila vzdušná vlhkost, což negativně ovlivnilo proces elektropsinningu. Při nízké vzdušné vlhkosti tedy nelze provádět elektropsinning bez použití vhodné klimatizační jednotky a dalších kontrol prostředí. S největší pravděpodobností by proces v takovýchto podmínkách nefungoval ani s běžnou klimatizační jednotkou. Bylo by potřeba, aby byla celá zvlákňovací jednotka hermeticky uzavřena, aby nedocházelo k úniku klimatizované atmosféry.

## **2.3 Experimentální zvlákňování na rotující vřeteno s použitím rozvodné jednotky**

Experimenty byly přesunuty do laboratoře CXI z důvodu lepších podmínek a vybavení pro přípravu vzorků a možnosti vytvářet delší tubulární útvary. Laboratoř je vybavena zvlákňovací jednotkou s vysokonapěťovým transformátorem a variabilním autotransformátorem. Tato jednotka disponuje zcela digitálním ovládacím rozhraním a kontrolou klimatu a odsáváním výparů a pojezdovou soustavou.

### **2.3.1 Úprava zvlákňovací jednotky**

Cílem této části práce bylo v laboratoři CXI modifikovat a připravit zvlákňovací jednotku na tvorbu tubulárních vzorků, ověřit funkčnost procesu ve stále zhoršených atmosférických podmínkách a připravit proces pro tvorbu dlouhých vzorků pro testování mechanických vlastností. Zhoršené atmosférické podmínky byly zapříčiněny sníženou vzdušnou vlhkostí, která byla způsobena neustupujícími mrazy.

#### **2.3.1.1 Zvlákňovací jednotky**

Laboratoř CXI je vybavena zvlákňovací jednotkou, která umožňuje zvlákňování ze struny, ale tato možnost nebyla proveditelná z důvodu nevhodného materiálu použitého na výrobu jednotlivých komponent zařízení. Komponenty tohoto zařízení by se v používaném rozpouštědlovém systému poškodily a rozpustily. Tato zvlákňovací jednotka také disponuje soustavou pro rozvod vlákenné vlečky po kolektoru.



### 2.3.1.2 Úpravy zvlákňovací jednotky

Pro přípravu tubulárních vzorků byla využita již zabudovaná rozvodná soustava. Pro použití této rozvodné soustavy bylo nutné vytvořit uchycení pro pohonnou jednotku vřetene. Pro její uchycení byl zvolen hliníkový profil s vytisknutým držákem protikusu a motoru, do kterého se uchytil konec vřetene. Pohonná jednotka a celé přídavné zařízení je na detailně popsáno v článku Klapstova et al. [12]. Použité zařízení je na Obrázku 24.



Obrázek 24: Uchycení pohonné jednotky na hliníkovém profilu A – vytisknutý držák protikusu; B – protikus pohonné jednotky; C – Hliníkový profil; D – Kolektor (vřeteno); E – pohonná jednotka

### 2.3.1.3 Příprava aparatury pro testování zvlákňovitosti

Zvlákňovací aparatura se skládala z kovové tyčky a plastového kolektoru s černým papírem jako podkladem. Ke kovové tyčce byl přiveden zdroj vysokého napětí a na povrch tyčky byl nanesen skleněnou tyčkou polymerní roztok PCL a PLA s koncentrací 10hm %. Po nanesení dostatečného množství polymerního roztoku byl zahájen proces elektrospinningu. V tomto experimentu nebyly zapisovány hodnoty napětí, hodnoceno bylo, zda proces funguje či nikoliv.

Tabulka 16 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu

	Začátek procesu		Konec procesu
Teplota [°C]	21	→	21,6
Vzdušná vlhkost [%]	28,5	→	29,1

### 2.3.1.4 Vyhodnocení experimentu

Bylo připraveno experimentální zařízení pro přípravu dlouhých tubulárních vzorků.

V druhé části experimentu bylo zjištěno, že za pomoci drobné regulace klimatických podmínek a za pomoci klimatizační jednotky bude možno provádět další experimenty i ve zhoršených atmosférických podmínkách. Vlivem silných mrazů v předchozích týdnech klesla vzdušná vlhkost pod hranici 30 %. Laboratorní podmínky pro den provádění experimentu jsou uvedeny v Tabulce 16.

## 2.3.2 Experiment 6

V tomto experimentu byly znovu optimalizovány roztoky z důvodu zapojení rozvodu vlákenné vlečky a byly připraveny vzorky pro testování cytotoxicity a mechanických vlastností.

### 2.3.2.1 Příprava roztoků

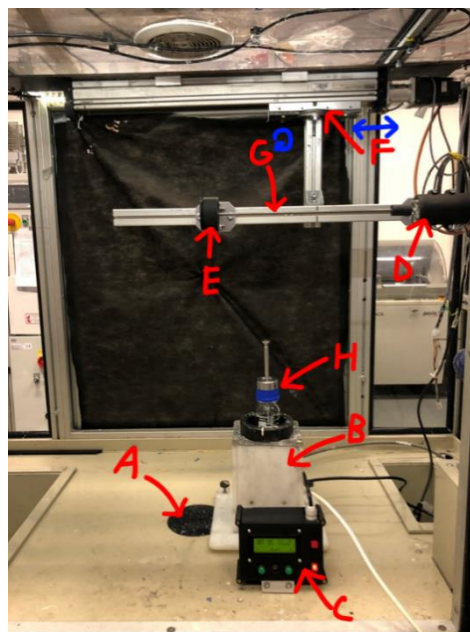
Pro tento experiment byly připraveny dva polymerní roztoky o hmotnosti 200 g s požadovanou koncentrací 10 hm % ve 24 hodinovém předstihu.

Roztoky PCL a PLA byly připraveny podle stávající metodiky. Koncentrace připravených roztoků byla ověřena výpočtem a odpovídala požadované koncentraci 10 hm%.

### 2.3.2.2. Příprava aparatury pro elektrospinning

Aparatura pro elektrospinning se skládala ze zvlákňovací jednotky, na které byl na pojezdovou kolejnici přidělán hliníkový profil s pohonnou jednotkou a protikusem. Před zahájením procesu bylo nutno správně nastavit rychlost, zrychlení a šířku pojezdu. Šířka pojezdu byla určena experimentálně tak, aby byl převlákněn co nejdelší kus vřetene a hliníkový profil nenarážel do stěn zvlákňovací jednotky. Byla sestavena věž stejně jako v předchozích experimentech. Kvůli nemožnosti umístění věže s pumpou přímo do středu zvlákňovací jednotky z důvodu blokování konektoru ke zdroji vysokého napětí, byl na pojezdové jednotce nastaven odskok od kraje. Po zoptimalizování těchto parametrů byla změřena vzdálenost vřetene k hraně přeplavovací elektrody, tato vzdálenost činila 270 mm, u předchozí zvlákňovací jednotky na KNT byla tato vzdálenost 220 mm. Parametry nastavení pojezdu jsou uvedeny v Tabulce 17 a sestavená zvlákňovací jednotka je vyobrazena na Obrázku 25.





Obrázek 25: Sestavená zvláknovací jednotka A – Zdroj vysokého napětí; B – Věž s magnetickým míchadlem; C – Ovládání pohonné jednotky; D – Pohonná jednotka; E – Protikus pohonné jednotky; F – Rozvodná jednotka; G – Kolektor (vřeteno)

Tabulka 17 – Nastavení pojezdové soustavy

Délka vřetene [mm]	450
Rychlost pojezdu [ $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ]	10
Zrychlení [ $\text{mm}\cdot\text{s}^{-2}$ ]	20
Šíře návinu [mm]	130
Odskok [mm]	20
Vzdálenost elektrody k vřetenu [mm]	270

### 2.3.2.3. Elektrosinning

Elektrosinning probíhal s frekvencí napětí 50 Hz a sinusovým tvarem signálu. Parametry prostředí jsou uvedeny v Tabulce 18 a parametry procesu s výsledky měření jsou zapsány v Tabulce 19 a Tabulce 20 pro každé nastavení zvlášť. Nejprve musel být optimalizovaný proces znovu ověřen, a tak byly vytvořeny dva vzorky při různých rychlostech rotace vřetene, a to při 1000 a 2000 RPM s ethanolem. Pojezdová soustava byla při výrobě těchto vzorků aktivní s nastavením podle Tabulky 17. Takto připravené vzorky byly proměřeny tloušťkoměrem v centimetrových rozstupech v celé své šíři, a z jejich průměrné tloušťky byl vypočítán čas pro vytvoření vzorků s tloušťkou stěny 0,2 mm stejně jako v předchozích experimentech podle Rovnice 2 a 3. Z naměřených dat byly vytvořeny grafy, viz Obrázek 26, Obrázek 27 a byla vypočtena statistika pro vzorky. Vzorky nebyly před sejmutím ořezávány, protože byly poškozeny měřením. Pro

optimalizaci procesu byly vzorky z vřetene stahovány stejně jako v předchozích experimentech s použitím ethanolu. V první části experimentu byly měněny pouze rychlosti rotace vřetene.

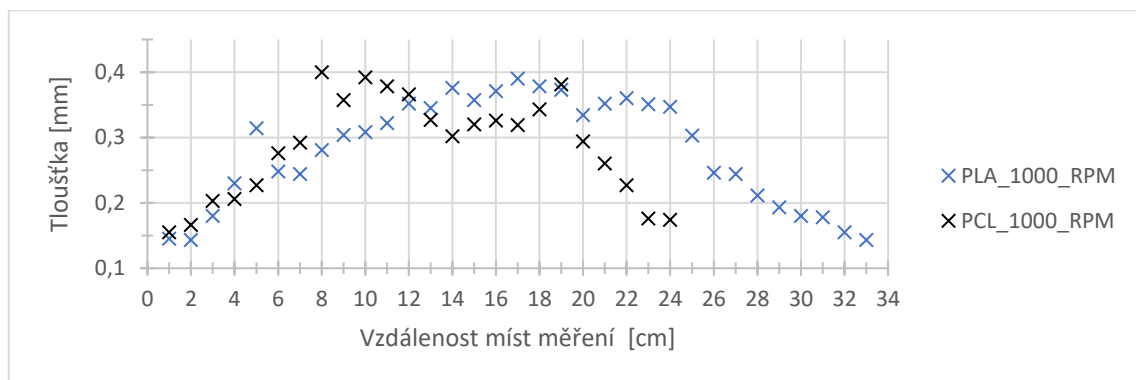
Tabulka 18 – Laboratorní klimatické podmínky během experimentu

	Začátek procesu		Konec procesu
Teplota [°C]	20,1	→	20,5
Vzdušná vlhkost [%]	30,2	→	30,9

Tabulka 19 – Nastavení procesu pro optimalizaci tloušťky stěny vzorků pro PLA a PCL při rychlostech vřetene 1000 RPM s výsledky experimentu

<b>Nastavení procesu experimentu</b>				
<b>Jméno vzorku [-]</b>	<b>PLA_1</b>	<b>PLA_2</b>	<b>PCL_1</b>	<b>PCL_2</b>
Otáčky [RPM]	1000	1000	1000	1000
Napětí [kV]	39,0	39,0	39,0	39,0
Čas zvlákňování [min]	3	2	3	2
<b>Výsledky experimentu</b>				
Dálka na vřetenu [mm]	333	302	246	325
Délka po sejmutí [mm]	315	269	209	286
Minimální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,143	0,163	0,155	0,129
Maximální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,395	0,362	0,403	0,375
Průměrná tloušťka [mm]	0,2805	0,2195	0,2861	0,1985

Vzorky připravené z PCL a PLA při rychlosti rotace vřeten 1000 RPM vykazují zvyšující se homogenitu tloušťky stěny s lehkou fluktuací tloušťky stěny. Vzorky byly více homogenní nežli v experimentu 4 a byly u nich pozorovány podobné periodicky se opakující změny tloušťky stěny. U vzorků z PLA byl průběh téměř podobný křivce s vytvořením homogenního segmentu (úseku) a u PCL hodnoty v průběhu fluktovaly, ale vytvářely homogenní strukturu. Průběh měření tloušťky je uveden na Obrázku 26. Doba zvlákňování pro vytvoření vzorku o tloušťce stěny 0,2 mm při rychlostech rotace vřetene 1000 RPM byla vypočtena po zaokrouhlení na 2 minuty pro PCL a stejně tak pro PLA. Nejnižší naměřená tloušťka stěny při rychlostech rotace vřetene 1000 RPM byla 0,129 mm a nejvyšší byla 0,403 mm.

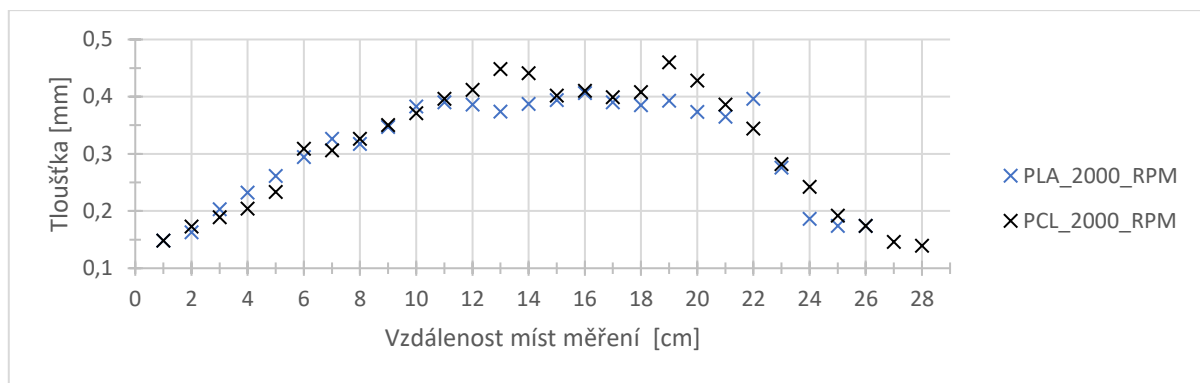


Obrázek 26: Grafické znázornění tloušťky vzorků z PCL a PLA při 1000 RPM

Vzorky připravené z PCL s rozvodem vlákně vlečky dosahovaly při rychlostech rotace včetně 1000 RPM délky v 246 a 325 mm. Po sejmutí tyto vzorky dosahovaly délky 209 a 286 mm. Vzorky z PLA dosahovaly při rychlostech rotace včetně 1000 RPM délky 302 a 333 mm. Po sejmutí tyto vzorky dosahovaly délky 269 a 315 mm. V porovnání se vzorky z experimentu 4, kde se délka vzorků před sejmutím pohybovala v rozmezí od 163 do 212 mm, jsou tyto vzorky výrazně delší, což je zapříčiněno rozvodem vlákně vlečky.

Tabulka 20 – Nastavení procesu pro optimalizaci tloušťky stěny vzorků pro PLA a PCL při rychlostech včetně 2000 RPM s výsledky experimentu

Nastavení procesu experimentu				
Jméno vzorku [-]	PLA_3	PLA_4	PCL_3	PCL_4
Otáčky [RPM]	2000	2000	2000	2000
Napětí [kV]	39,0	39,0	39,0	39,0
Čas zvláknování [min]	3	2	3	2
Výsledky experimentu				
Dálka na vřetenu [mm]	255	324	283	295
Délka po sejmutí [mm]	234	289	247	269
Minimální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,148	0,186	0,139	0,163
Maximální naměřená tloušťka stěny vzorku [mm]	0,406	0,316	0,469	0,386
Průměrná tloušťka [mm]	0,3124	0,2156	0,3105	0,2096



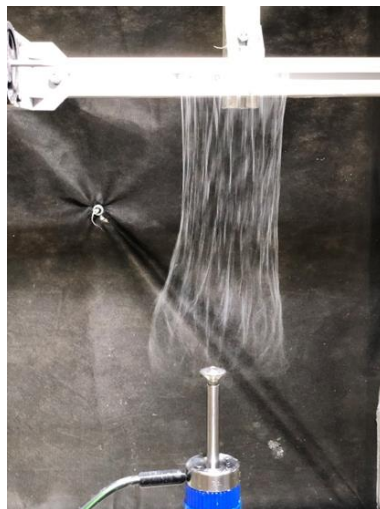
Obrázek 27: Grafické znázornění tloušťky vzorků z PCL a PLA při 2000 RPM

Vzorky připravené z PCL s rozvodem vlákenné vlečky dosahovaly při rychlostech rotace včetně 2000 RPM délky 283 a 295 mm. Po sejmutí tyto vzorky dosahovaly délky 247 a 269 mm. Vzorky z PLA dosahovaly při rychlostech rotace včetně 2000 RPM délky 255 a 324 mm. Po sejmutí tyto vzorky dosahovaly délky 234 a 289 mm. V porovnání se vzorky z experimentu 4, kde se délka vzorků pohybovala před sejmutím v rozmezí od 163 do 221 mm, jsou tyto vzorky výrazně delší, což je zapříčiněno rozvodem vlákenné vlečky.

Vzorky připravené z PCL a PLA při rychlosti rotace včetně 2000 RPM vykazují vysokou homogenitu s minimální fluktuací tloušťky stěny. U vzorků byl pozorován dlouhý homogenní úsek. Průběhy obou vzorků byly podobné křivce, pouze u vzorku z PCL docházelo na pár místech k fluktuaci tloušťky stěny. V homogenní části vzorků je vidět lehká až minimální periodicitu změny tloušťky stěny. Tato periodicitu není tak výrazná jako u předchozích vzorků a u vzorků z experimentu 4. Průběh měření tloušťky je uveden na Obrázku 27. Snížení této periodicity může být zapříčiněno přiblížením rychlosti rotace včetně k jeho rezonanční frekvenci. Doba zvlákňování pro vytvoření vzorku o tloušťce stěny 0,2 mm při rychlostech rotace včetně 2000 RPM byla vypočtena po zaokrouhlení na 2 minuty pro PCL a stejně tak pro PLA. Nejnižší naměřená tloušťka stěny při rychlostech rotace včetně 2000 RPM byla 0,139 mm a nejvyšší byla 0,469 mm.

Po ověření optimalizace procesu byla připravena série vzorků. Vzorky byly vyráběny při 1000 a 2000 RPM podle vypočtené doby zvlákňování z ověřovacích vzorků s lubrikantem na bázi vody a ethanolem na včetně o délce 450 mm viz Obrázek 28. Napětí elektrického proudu bylo při procesu 40 kV pro všechny vzorky, parametry pojezdu jsou uvedeny v Tabulce 17. Během druhé části experimentu se měnily pouze

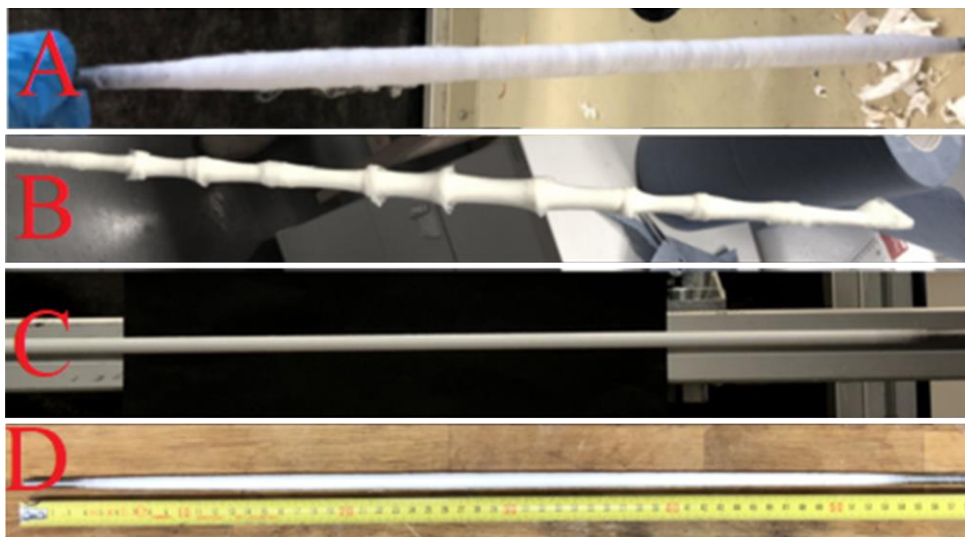
lubrikanty a rychlosti rotace vřetene, vzorky nebyly ořezávány na vřetení, ale byly ořezány až před zkoušením mechanických vlastností ve sražené formě.



*Obrázek 28: Zvlákňování na pohybující se rotující vřeteno*

Při rychlostech vřetene 1000 RPM byly vibrace vřetene téměř minimální, docházelo k tvorbě nadýchané vlákenné vrstvy s ovinky a odstávajícími vlákny viz Obrázek 29 A. S rostoucí rychlostí otáček docházelo k nárůstu vibrací vřetene, což bylo zapříčiněno přibližováním se k rezonanční frekvenci vřetene. Vřeteno se tedy chovalo jako struna. Při rychlostech rotace vřeten 1500–1700 RPM byl připraven jeden vzorek, který vykazoval vysoké množství ovinků, a vytvářela se na něm silná místa v periodicky se opakujících úsecích, jak je vidět na Obrázku 29 B. Jelikož vibrace byly vysoké a tvořily nehomogenní vrstvu, nebyly dále při těchto rotacích vřetene připravovány další vzorky. Při rychlostech rotace vřetene 2000 RPM došlo ke snížení vibrací vřetene na minimum a docházelo k tvorbě stažené vlákenné vrstvy s občasnými ovinky téměř bez odstávajících vláken.

U posledního experimentu bylo použito vřeteno o délce 600 mm, rychlost rotace vřetene byla zvýšena na 2250 RPM, čímž byla s největší pravděpodobností překročena rezonanční frekvence vřetene a vřeteno již nevibrovalo. Díky tomu dostala vlákenná vrstva uniformní vzhled bez ovinků a odstávajících vláken viz Obrázek 29 C, tento vzorek dosáhl délky 500 mm, jak je vidět na Obrázku 29 D, a tím se stal nejdelším připravený vzorkem v této práci.



Obrázek 29: Tubulární vzorky vyrobené při různých rychlostech rotace vřetene A – při 1000 RPM nadýchaná vláknenná vrstva s ovinky; B – při 1500 RPM defektní vrstva s periodicky se opakujícími silnými a sobími místy; C – při 2250 RPM stažená uniformní vláknenná vrstva; D – Nejdelší připravený vzorek 500 mm při 2250 RPM

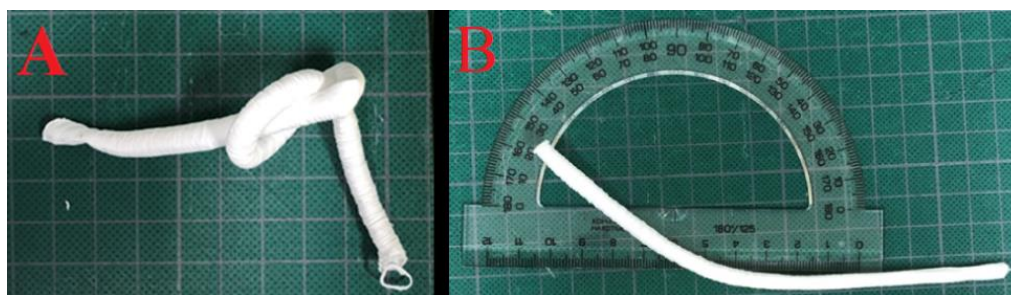
Během procesu byla pozorována rychlá degradace polymerních roztoků. V pumpě bylo dostatečné množství roztoku pro fungování procesu, ale roztok se nedal zvláknňovat. Po dokončení všech experimentů bylo do posledního roztoku přilito 30 ml acetonu, který byl rozmíchán. Po rozmíchání acetonu v roztoku byl proces otestován. Proces po přidání acetonu znovu fungoval.

#### 2.3.2.4 Makroskopické zhodnocení snímků

Vzorky vyrobené z PCL s ethanolem a s rychlostí otáček vřetene 1000 RPM byly lehce utaženy a nadýchané šly dobře snímat. Druhý den se některé vzorky daly smotat bez vzniku zalomení, viz Obrázek 30A. Vzorky s rychlostí otáček vřetene 2000 RPM byly tužší a více stažené, daly se sejmut v jenom kuse s minimálním odporem. Druhý den bylo možné vzorky ohýbat bez zalomení. Vzorky vyrobené z PCL s lubrikantem na bázi vody a s rychlostí otáček vřetene 1000 a 2000 RPM vypadaly jakoby mokře a šly velmi dobře snímat z vřetene.

Vzorky vyrobené z PLA s ethanolem a s rychlostí otáček vřetene 1000 RPM byly lehce utaženy a nadýchané, šly dobře sejmut. Vzorky s rychlostí otáček vřetene 2000 RPM byly tužší a více stažené, daly se sejmut v jenom kuse s minimálním odporem. U obou sérii vzorků bylo pozorováno, že po odpaření ethanolu se ohebné tubulární vzorky změnilly na tuhé neohebné útvary. Tyto útvary se daly lámat a v místě lomu vnikala čistá lomová linie. S odstupem týdne bylo možné některé ztuhlé vzorky ohnout o 30° vzhledem k rovině bez zlomení vzorků viz Obrázek 30B. Vzorky vyrobené z PCL byly více ohebné nežli vzorky vyrobené z PLA, jak je patrné z Obrázku 30 A, B.





Obrázek 30: Snímky vzorků z PCL a PLA po týdnu A – Zamotaný vzorek z PC do uzlu; B – Ohnutý vzorek z PLA o 30° vzhledem k rovině

Vzorky vyrobené z PLA s lubrikantem na bázi vody a s rychlostí otáček vřetene 1000 a 2000 RPM měly mokrý vzhled, daly se snadno sejmut z vřetene. U některých vzorků bylo s odstupem pár minut pozorováno rezavé zbarvení, viz Obrázek 31. Toto bylo nejspíše zapříčiněno korozí vřetene, protože vřeteno nebylo vyrobeno z nerezové oceli, ale z běžné oceli. Ocel mohla korodovat z důvodu stále horších klimatických podmínek nebo z důvodu vystavení agresivním výparům rozpouštědel.



Obrázek 31: Vzorky z PLA s vrstvou rezidui z vřetene

### 2.3.2.5 Sterilizace vzorků

Pro další analýzy byly vzorky sterilizovány pomocí ethylenoxidu. Z připravených vzorků byly odebrány malé vzorky s hmotností v rozmezí 20–30 mg, které byly určeny pro testování cytotoxicity. Tyto vzorky byly vloženy do falkon a byly označeny hmotností a druhem materiálu. Falkony byly vloženy s pootevřeným víčkem do sterilizačního obalu a zavařeny.

Zbylé části vzorků, které byly určené pro mechanické testování, byly volně vloženy do sterilizačního obalu, označeny a zavařeny.

Zavařené obaly se vzorky a falkonami byly vloženy na 12 h do sterilizátoru Anprolene, kde byly sterilizovány ethylenoxidem. Po sterilizaci se musely vzorky nechat pro testování cytotoxicity 14 dnů odvětrávat. Ze vzorků pro mechanické testování byly odebrány před jejich testováním vzorky pro elektronovou mikroskopii. V práci od Horákové et al. [93] byly vzorky před mechanickým testováním sterilizovány a nebyl

zaznamenán významný vliv ethylenoxidu na morfologické vlastnosti vlákných struktur ale na mechanické vlastnosti ano.

### 2.3.2.6 Pořízení a vyhodnocení snímků

Byla pořízena série snímků z 8 sterilizovaných vzorků pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu. Série snímků byla pořízena ze vzorků vzniklých při rychlostech otáček vřetene 1000 a 2000 RPM s ethanolem a ze vzorků s rychlostí otáček vřetene 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody. Bylo pořízeno 5 snímků z vnitřní strany a 5 snímků z vnější strany vzorku, byla také pořízena série snímků příčného řezu vzorků. Z každého pořízeného snímku vnitřní a vnější strany bylo manuálním měřením provedeno 101 měření průměrů vláken. Průměry vláken byly ještě jednou změřeny pomocí automatických výpočtů z jednoho náhodně vybraného snímku podle kódů v Příloze 2. Z manuálně naměřených průměrů byly vytvořeny společné histogramy vnitřní a vnější strany vzorku pomocí napsaného kódu v programu MatLab, kód je uveden v Příloze 3. U těchto histogramů musela být zmenšena osa kvůli odlehlým hodnotám, které nejsou v histogramu vyobrazeny, ale statistika byla s nimi počítána. Histogramy vnitřní strany jsou vyobrazeny modře a histogramy vnější strany jsou vyobrazeny oranžově, spojením těchto histogramů byl vytvořen hnědo oranžovou barvou průnik průměrů vláken z vnitřní a vnější strany vzorku. Tento průnik je reprezentací zastoupení vláken v celém vzorku bez ohledu na stanu měření.

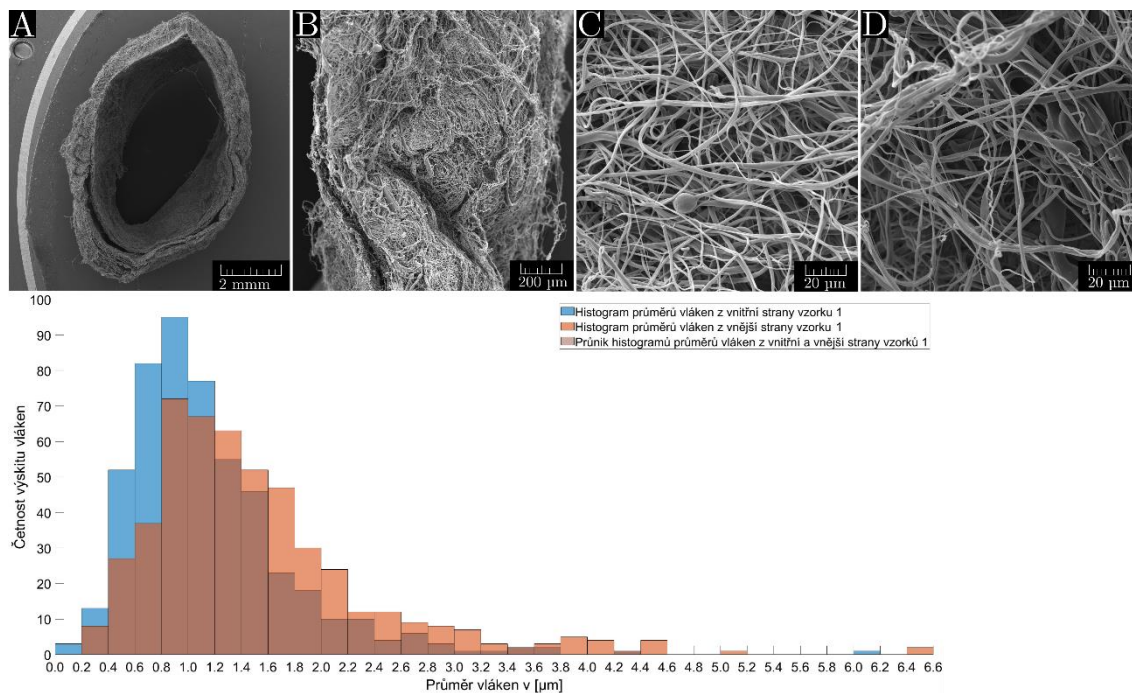
Tabulka 21 – Morfologické vlastnosti pro PCL při 1000 a 2000 RPM s ethanolem

		PCL – Ethanol 1000 RPM				PCL – Ethanol 2000 RPM			
		Vz_1				Vz_2			
		Vnitřní strana		Vnější strana		Vnitřní strana		Vnější strana	
		Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat
Průměry vláken	Počet měření [-]	505	58299	505	45025	505	68138	505	58994
	Průměr [μm]	1,15	1,31	1,63	1,56	0,76	1,19	1,33	1,32
	Rozptyl [μm <sup>2</sup> ]	0,40	0,61	2,50	1,76	0,14	0,54	0,48	0,68
	99,95% Interval spolehlivosti [μm]	1,06-1,25	1,29-1,32	1,38-1,87	1,54-1,59	0,71-0,82	1,18-1,19	1,22-1,44	1,31-1,33

Vlákné vrstvy připravené z PCL s ethanolem při 1000 RPM si v příčném řezu neudržely kruhový průřez a byly silně zdeformovány a poškozeny. V průřezu se



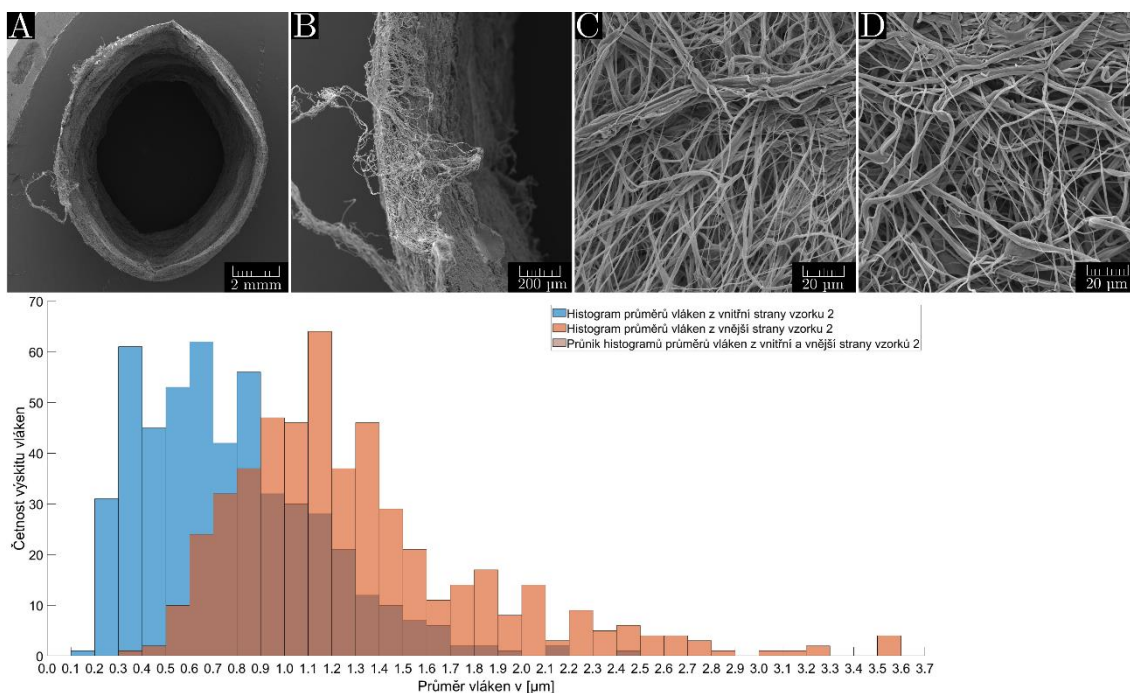
vyskytovaly strukturální nesoudržnosti viz Obrázek 32 A. Na detailu příčného řezu je vidět vlákenná povaha vzorku na obou stranách, viz Obrázek 32 B. Vlákna na vnitřní straně byla dobře diferencovaná, s minimální tvorbou defektů, pouze se vyskytly defekty v podobě kapek, jak je patrné na Obrázku 32 C. Z vnější strany byla vlákna dobře diferencovaná s tvorbou silných vlákenných provazců a slabých vláken, jak je vidět na Obrázku 32 D.



Obrázek 32: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s ethanolom při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku

Nejčastěji se vyskytovala vlákna o průměru 0,8 až 1  $\mu\text{m}$  jak v histogramu vnitřní a vnější strany, tak i v průniku těchto histogramů. Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptyl 0,4  $\mu\text{m}^2$  a na vnější byl 2,5  $\mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vnitřní a vnější strany vzorku vykazuje asymetrii k nule, tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná, což je patrné z histogramu na Obrázku 32.

Vlákenné vrstvy připravené z PCL s ethanolom při 2000 RPM si v příčném řezu téměř udržely kruhový průřez a nebyla pozorována strukturální nesoudržnost, viz Obrázek 33 A. Na detailu příčného řezu je vidět vlákenná povaha vnitřní a vnější strany, viz Obrázek 33 B. Vlákna jsou na vnitřní straně dobře diferencovaná, s minimální tvorbou defektů, viz Obrázek 33 C. Na vnější straně jsou vlákna stejně dobře diferencovaná, s občasným výskytem defektu v podobě kapek viz Obrázek 33 D.



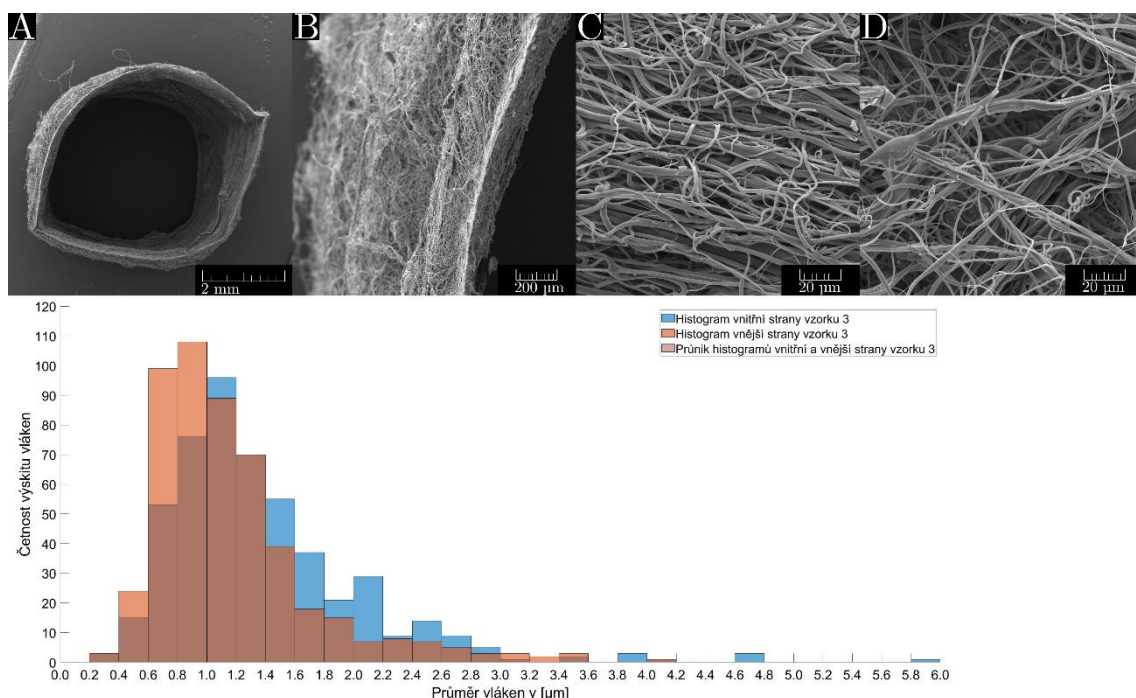
Obrázek 33: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s ethanolem při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku

Nejvíce zastoupená vlákna z vnitřní strany vzorku byla vlákna v rozmezí 0,6 až 0,7  $\mu\text{m}$ . Na vnější straně vzorku se nejčastěji vyskytovala vlákna o průměru 1,1 až 1,2  $\mu\text{m}$ . V průniku těchto histogramů byla nejvíce zastoupena vlákna o průměru 0,9 až 1  $\mu\text{m}$ . Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptyl 1,4  $\mu\text{m}^2$  a na vnější byl 0,48  $\mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vykazuje silnou asymetrii k nule u histogramu vnitřní strany vzorku a lehkou asymetrii k levé až pravé straně u histogramu vnější strany vzorku. Tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná. Asymetrie směrem od nuly značí, že se ve vzorku budou vyskytovat vlákna silnější nežli tenká, což je patrné z histogramu na Obrázku 33.

Tabulka 22 – Morfologické vlastnosti pro PCL při 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody

		PCL – Lubrikantem 1000 RPM				PCL – Lubrikantem 2000 RPM			
		Vz 3				Vz 4			
		Vnitřní strana		Vnější strana		Vnitřní strana		Vnější strana	
		Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat
Průměry vláken	Počet měření [-]	505	56905	505	50061	505	46994	505	34475
	Průměr [ $\mu\text{m}$ ]	1,42	1,30	1,18	1,39	1,78	1,47	2,15	1,68
	Rozptyl [ $\mu\text{m}^2$ ]	0,69	0,59	0,38	0,99	2,42	1,09	2,29	1,66
	99,95% Interval spolehlivosti [ $\mu\text{m}$ ]	1,29-1,55	1,29-1,31	1,08-1,28	1,39-1,41	1,54-2,02	1,45-1,48	1,79-2,51	1,66-1,70

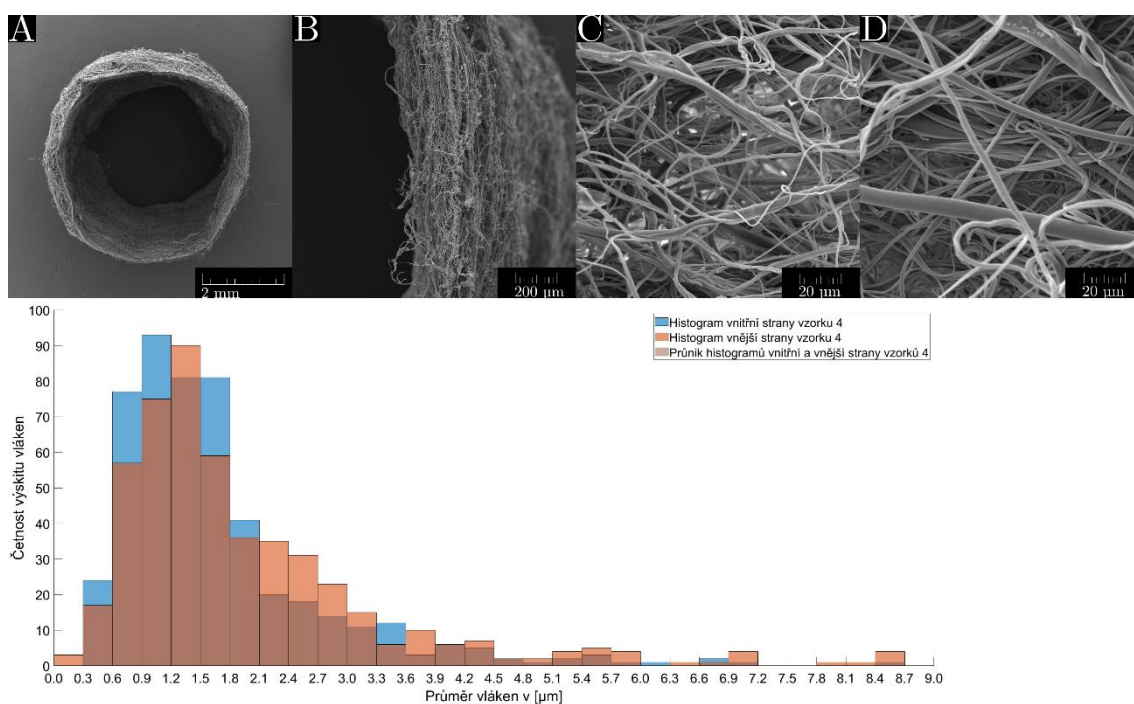
Vlákněné vrstvy připravené z PCL s lubrikantem při 1000 RPM v příčném řezu udržely téměř kruhový průřez a na detailu příčného řezu je vidět vlákněná povaha vzorku na vnitřní a vnější straně viz Obrázek 34 A, B. Vlákněna na vnitřní straně byla dobře diferencovaná a nevyskytovaly se téměř žádné defekty, viz Obrázek 34 C. Na vnější straně byla vlákna také dobře diferencovaná, s minimem defektů. Občasně byla pozorována deformovaná vlákna s kolínkem, viz Obrázek 34 D.



Obrázek 34: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s lubrikantem na bázi vody při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžové vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku

Nejvíce zastoupená vlákna z vnitřní strany vzorku byla vlákna v rozmezí 1 až 1,2  $\mu\text{m}$ . Na vnější straně vzorku se nejčastěji se vyskytovala vlákna o průměru 0,8 až 1  $\mu\text{m}$ . V průniku těchto histogramů byla nejvíce zastoupena vlákna o průměru 1 až 1,2  $\mu\text{m}$ . Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptýl 0,38  $\mu\text{m}^2$  a na vnější byl 0,69  $\mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vykazuje asymetrii směrem k nule u histogramu vnitřní strany vzorku a silnou asymetrii směrem k nule u histogramu vnější strany vzorku. Tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná, což je patrné z histogramu na Obrázku 34.

Vláknenné vrstvy připravené z PCL s lubrikantem při 2000 RPM v příčném řezu udržely téměř kruhový průřez a na detailu příčného řezu je velmi dobře vidět vláknenná povaha vzorku na vnitřní a vnější straně viz Obrázek 35 A, B. Vlákna na vnitřní straně byla dobře diferencovaná, téměř bez tvorby defektů, s občasnou tvorbou silných a tenkých vláken, viz Obrázek 35 C. Na vnější straně byla vlákna také dobře diferencovaná, s minimem defektů viz Obrázek 35 D.



Obrázek 35: Série snímků s histogramem pro vzorek z PCL s lubrikantem na bázi vody při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku

Nejvíce zastoupená vlákna z vnitřní strany vzorku byla vlákna v rozmezí 0,9 až 1,2  $\mu\text{m}$ . Na vnější straně vzorku se nejčastěji se vyskytovala vlákna o průměru 1,2 až

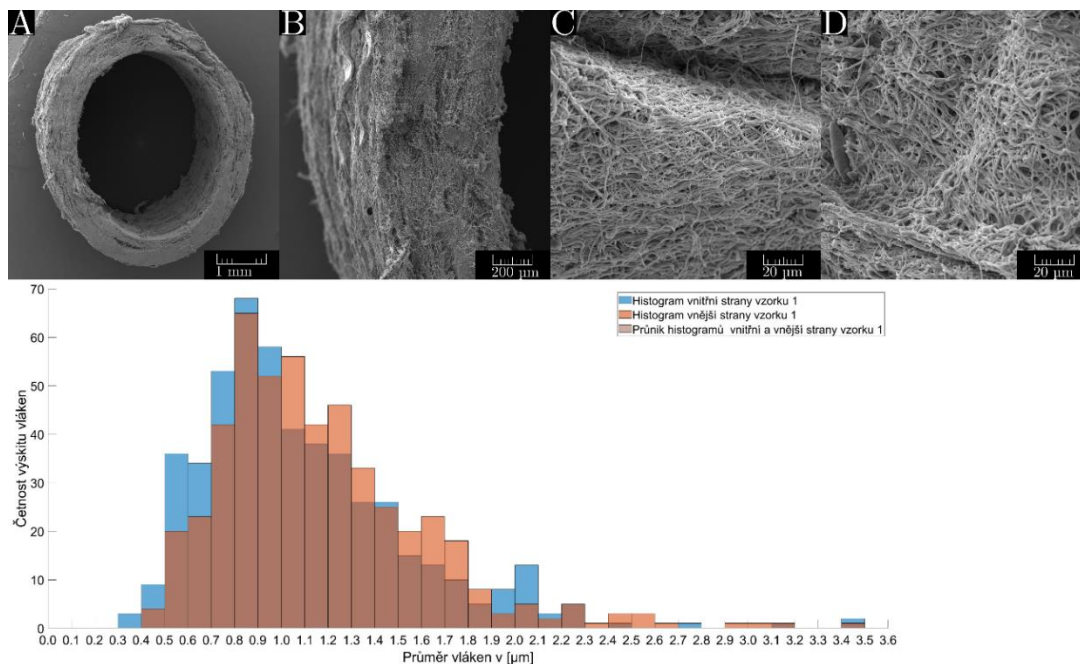
1,5 $\mu\text{m}$ . V průniku těchto histogramů byla nejvíce zastoupena vlákna o průměru 1,2 až 1,5  $\mu\text{m}$ . Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptyl 2,29  $\mu\text{m}^2$  a na vnější byl 2,42  $\mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vykazuje asymetrii směrem k nule u histogramu vnitřní a vnější strany vzorku. Tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná, což je patrné z histogramu na Obrázku 35.

Tabulka 23 – Morfologické vlastnosti pro PLA při 1000 a 2000 RPM s ethanolem

		PLA – Ethanol 1000 RPM				PLA – Ethanol 2000 RPM			
		Vz_1				Vz_2			
		Vnitřní strana		Vnější strana		Vnitřní strana		Vnější strana	
		Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat
Průměry vláken	Počet měření [-]	505	79886	505	78980	505	94559	505	98984
	Průměr [ $\mu\text{m}$ ]	1,09	1,11	1,18	1,15	1,04	0,92	1,13	1,03
	Rozptyl [ $\mu\text{m}^2$ ]	0,20	0,79	0,23	0,51	0,17	0,29	0,26	0,30
	99,95% Interval spolehlivosti [ $\mu\text{m}$ ]	1,02-1,16	1,10-1,12	1,10-1,25	1,14-1,16	0,98-1,11	0,92-0,93	1,05-1,21	1,02-1,03

Vlákněné vrstvy připravené z PLA s ethanolem při 1000 RPM. Vzorek s i po sejmutí udržel v příčném řezu tubulární tvar a byla pozorována vysoká strukturní soudržnost, viz Obrázek 36 A, kdy na detailu příčného řezu je vidět, že vlákněná vrstva z vnitřní a vnější strany je vlákněné povahy viz Obrázek 36 B. Na snímcích z vnitřní strany vzorku jsou vlákna dobře diferenciací s minimem defektů. Ve vrstvě se vyskytují silnější i slabší vlákna, viz Obrázek 36 C. Z vnější strany jsou vlákna hůře diferencovaná, a tvoří hustou vlákněnou strukturu se silnými vlákněnými provazci, viz Obrázek 36 D.

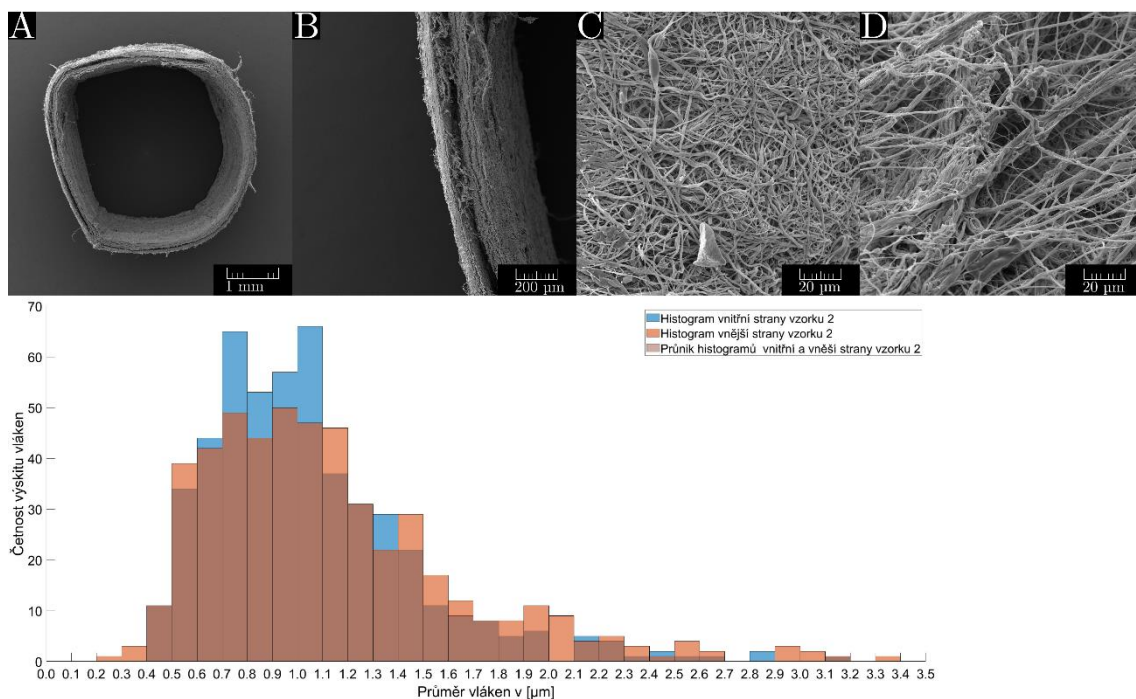




Obrázek 36: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s ethanolem při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku

Nejvíce zastoupená vlákna z vnitřní a vnější strany vzorku byla vlákna v rozmezí 0,8 až 0,9  $\mu\text{m}$ . V průniku těchto histogramů byla nejvíce zastoupena vlákna o průměru 0,8 až 0,9  $\mu\text{m}$ . Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptyl 0,2  $\mu\text{m}^2$  a na vnější byl 0,23  $\mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vykazuje asymetrii směrem k nule u histogramu vnitřní strany vzorku a lehkou asymetrii směrem k nule u histogramu vnější strany vzorku. Tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná, což je patrné z histogramu na Obrázku 36.

Vlákněné vrstvy připravené z PLA s ethanolem při 2000 RPM. Vzorek s i po sejmutí udržel v příčném řezu tubulární tvar a byla pozorována vysoká strukturní soudržnost, viz Obrázek 37 A, kdy na detailu příčného řezu je vidět, že vlákněná vrstva z vnitřní a vnější strany je vlákněné povahy viz Obrázek 37 B. Na snímku z vnitřní strany vzorku je vidět, že vlákněná vrstva je lehce poškozená, ale vlákna jsou diferencovaná, s občasnými defekty v podobě kapek, viz Obrázek 37 C. Z vnější strany jsou vlákna hůře diferencovaná s tvorbou silných provazců, viz Obrázek 37 D.



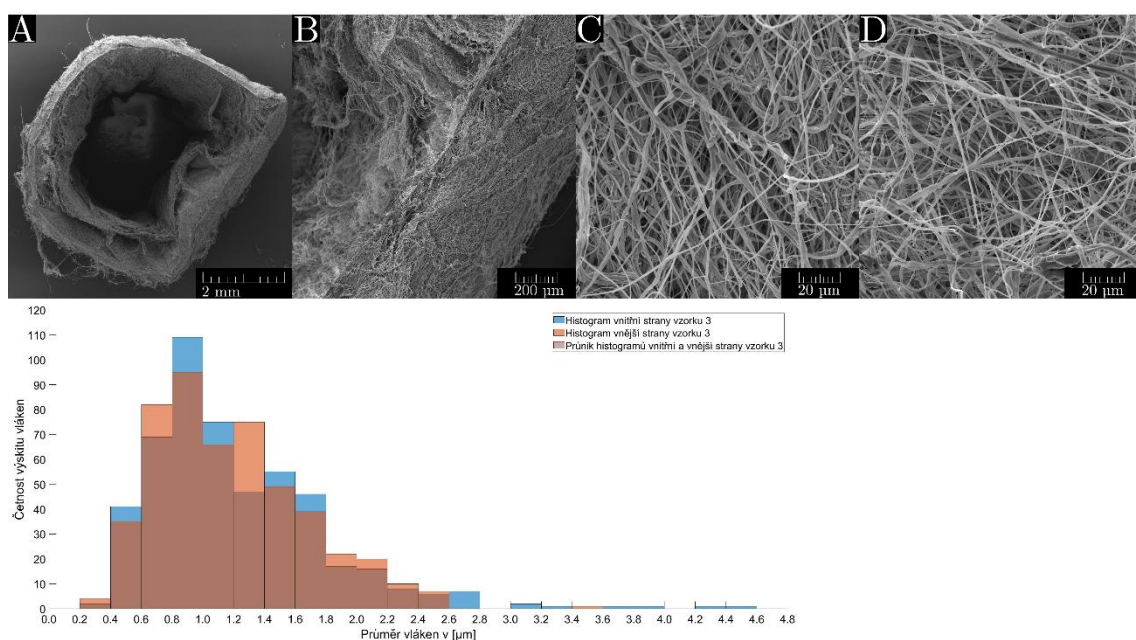
Obrázek 37: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s ethanolem při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku

Nejvíce zastoupená vlákna z vnitřní strany vzorku byla vlákna v rozmezí 1 až 1,1  $\mu\text{m}$ . Na vnější straně vzorku se nejčastěji vyskytovala vlákna o průměru 0,9 až 1  $\mu\text{m}$ . V průniku těchto histogramů byla nejvíce zastoupena vlákna o průměru 0,9 až 1  $\mu\text{m}$ . Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptyl 0,17  $\mu\text{m}^2$  a na vnější byl 0,26  $\mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vykazuje asymetrii směrem k nule u histogramu vnitřní strany a lehkou asymetrii směrem k nule u histogramu vnější strany vzorku. Tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná, což je patrné z histogramu na Obrázku 37.

Tabulka 24 – Morfologické vlastnosti pro PLA při 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody

		PLA – Lubrikant 1000 RPM				PLA – Lubrikant 2000 RPM			
		Vz 3				Vz 4			
		Vnitřní strana		Vnější strana		Vnitřní strana		Vnější strana	
		Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat	Ručně	Automat
Průměry vláken	Počet měření [-]	505	74147	505	70734	505	70734	505	70834
	Průměr [ $\mu\text{m}$ ]	1,22	1,12	1,19	1,36	0,65	1,16	0,66	1,14
	Rozptyl [ $\mu\text{m}^2$ ]	0,33	0,40	0,24	0,69	0,07	0,55	0,06	0,51
	99,95% Interval spolehlivosti [ $\mu\text{m}$ ]	1,13-1,31	1,11-1,12	1,11-1,26	1,35-1,37	0,61-0,69	1,15-1,17	0,62-0,69	1,13-1,15

Vlákněné vrstvy připravené z PLA s lubrikantem na bázi vody při 1000 RPM. Vzorek si po sejmutí neudržel v příčném řezu tubulární tvar, a byla pozorována vysoká strukturální nesoudržnost, viz Obrázek 38 A, kdy na detailu příčného řezu je vidět, že vlákněná vrstva z vnitřní strany kompletně rozvlákněná, ale vnější strana není rozvlákněná, viz Obrázek 38 B. Na snímcích z vnitřní a vnější strany vzorku je vidět dobře diferenciaci vlákna s minimem defektů, ve vrstvě se vyskytují silnější i slabší vlákna, viz Obrázek 38 C, D.

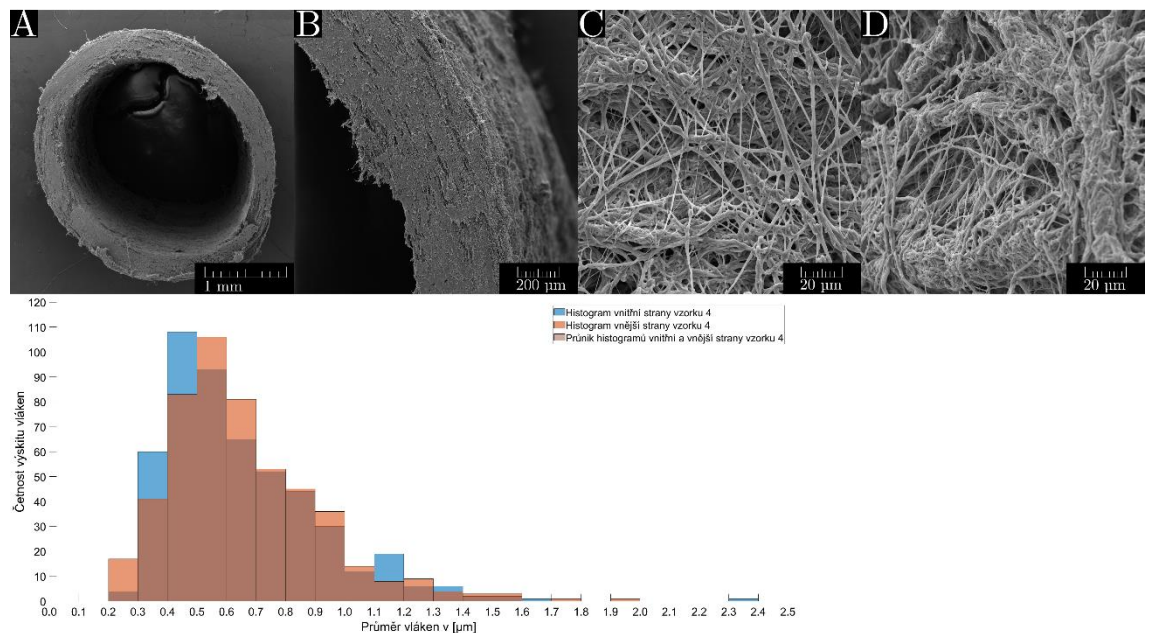


Obrázek 38: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s lubrikantem na bázi vody při 1000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku



Nejčastěji se vyskytovala vlákna o průměru 0,8 až 1  $\mu\text{m}$ , a to jak v histogramu vnitřní a vnější strany, tak i v průniku těchto histogramů. Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptyl 0,24  $\mu\text{m}^2$  a na vnější byl 0,33  $\mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vykazuje silnou asymetrii směrem k nule u histogramu vnitřní a vnější strany vzorku. Tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná, což je patrné z histogramu na Obrázku 38.

Vláknenné vrstvy připravené z PLA s lubrikantem při 2000 RPM. Vzorek s i po sejmutí udržel v příčném řezu tubulární tvar, a byla pozorována vysoká strukturní soudržnost, viz Obrázek 39 A, kdy na detailu příčného řezu je vidět, že vlákenná vrstva z vnější je vlákenné povahy, ale z vnitřní to již není tak patrné kvůli špatnému úhlu snímání viz Obrázek 39 B. Na snímku z vnitřní strany vzorku je vidět, že vlákenná vrstva je poškozená, vlákna jsou hůře diferencovaná a tvoří slité úseky, viz Obrázek 39 C. Z vnější strany jsou vlákna lépe diferencovaná, s tvorbou silných provazců viz Obrázek 39 D.



Obrázek 39: Série snímků s histogramem pro vzorek z PLA s lubrikantem na bázi vody při 2000 RPM A – Snímek příčného řezu; B – Snímek detailu příčného řezu; C – Snímek vnitřní strany vzorku; D – Snímek vnější strany vzorku; Histogram modře vnitřní strana vzorku oranžově vnější strana vzorku a oranžovohnědě průnik vnitřní a vnější strany vzorku

Nejvíce zastoupená vlákna z vnitřní strany vzorku byla vlákna v rozmezí 0,4 až 0,5  $\mu\text{m}$ . Na vnější straně vzorku se nejčastěji vyskytovala vlákna o průměru 0,5 až 0,6  $\mu\text{m}$ . V průniku těchto histogramů byla nejvíce zastoupena vlákna o průměru 0,5 až 0,6  $\mu\text{m}$ .

$\mu\text{m}$ . Průměry vláken jak z vnitřní, tak z vnější strany vykazují vysokou variabilitu. Na vnitřní straně byl rozptyl  $0,06 \mu\text{m}^2$  a na vnější byl  $0,07 \mu\text{m}^2$ . Distribuce dat vykazuje asymetrii směrem k nule u histogramu vnitřní strany a vnější strany vzorku. Tato asymetrie dat směrem k nule naznačuje, že nejčastějšími vlákny budou tenká vlákna a méně častými budou vlákna silná, což je patrné z histogramu na Obrázku 39.

### 2.3.2.7 Testování hypotéz

Statisticky byla otestována hypotéza, zda automaticky vypočtené průměry vláken jsou shodné s průměry pořízenými manuálními měřeními. Zároveň byly ověřeny další dvě hypotézy, zda má používání lubrikantu na bázi vody vliv na průměry vláken a zda má a rychlost rotace vliv na průměry vláken. Metodou použitou pro ověření hypotéz bylo porovnání intervalů spolehlivosti. Interval spolehlivosti jsou uvedeny v Tabulce 21-24. Pro provádění těchto testů byl napsán kód v programu MatLab, který automaticky vykreslil intervaly, které byly následně vyhodnoceny podle Obrázku 40. Kód je uveden v Příloze 4.



Obrázek 40: Schéma vyhodnocování překrytí intervalů spolehlivosti A – Intervaly se silně překrývají; B – Intervaly se částečně překrývají vysoké riziko chyby; C – Intervaly se nepřekrývají

Pro testování první hypotézy, zda lze nahradit manuální měření automatickým měřením, byly porovnány dvě série dat, a to data získaná manuálními měřeními a data získaná automatickými měřeními. Obě série dat obsahovaly měření vnitřních a vnějších stran, přičemž každá vnitřní strana z manuálních měření byla porovnávána s odpovídající vnitřní stranou z automatických měření, a stejně tak byly porovnávány vnější strany.

Na základě vyhodnocení intervalů spolehlivosti lze s jistotou konstatovat, že průměry vláken pořízené manuálním měřením nejsou totožné s průměry z automatického měření i přesto, že si jsou průměry průměrů vláken v mnoha případech velmi podobné až téměř identické. Většina (12 z 16) intervalů se nepřekrývá, což jednoznačně naznačuje signifikantní rozdíl mezi průměry vláken získanými těmito dvěma metodami. Výsledky dokazují, že naměřená data jsou signifikantně odlišná a nelze tedy považovat automaticky naměřená data za totožná s daty naměřenými manuálně.

Faktory, které ovlivňují rozdíly v pořízených datech pomocí automatického měření, zahrnují několik důležitých proměnných. Prvním faktorem je kvalita snímku, která může ovlivnit kontrast vláken a množství detekovaných defektů. Dále je zde

zaostření, které může ovlivnit přesnost měření průměrů vláken. Vliv na výsledky má i použití morfologických operací v kódu, které mohou vést ke vzniku artefaktů. Tyto artefakty jsou následně vyhodnoceny jako jemná nebo extrémně silná vlákna, což přispívá k datovému šumu.

Dalším faktorem je rozdílný charakter dat získaných automatickým a manuálním měřením. Automatické měření poskytuje velké množství datových bodů z jednoho snímku, často v řádu desítek až statisíců, zatímco manuálním měřením lze získat z jednoho snímku stovky datových bodů. Tato nerovnost ve velikosti vzorků může způsobit nepřesnosti při porovnávání výsledků a může být jedním z důvodů rozdílných výsledků mezi oběma metodami měření.

Pro testování druhé hypotézy, zda má rychlost rotace vliv na průměry vláken, byly porovnávány série dat pořízené s různými rychlostmi rotace včetně. Porovnávaná data byla pouze data z manuálního měření.

Na základě vyhodnocení intervalů spolehlivosti lze konstatovat, že existuje pravděpodobně významný vliv rychlosti rotace včetně na průměry vláken. I když se pouze 4 z 8 intervalů nepřekrývaly, a v jednom případě došlo k překrytí na extrémně malém úseku, celkové výsledky naznačují tendenci k rozdílům mezi průměry vláken při různých rychlostech rotace. I přesto, že došlo k překrytí intervalů spolehlivosti, nejsou tyto výsledky jednoznačné a může zde hrát roli náhoda nebo další faktory. Průměry vláken se lišily mezi rychlostmi rotace včetně 1000 a 2000 v rozmezí od  $\pm 0,57$  až  $\pm 0,97$   $\mu\text{m}$ .

Pro testování třetí hypotézy, zda má používání lubrikantu na bázi vody vliv na průměry vláken, byly porovnávány série dat pořízené s ethanolem a lubrikantem na bázi vody. Porovnávaná data byla pouze data z manuálního měření.

Na základě vyhodnocení intervalů spolehlivosti lze konstatovat, že existuje statisticky významný vliv lubrikantu na bázi vody na průměry vláken. V 6 případech se intervaly nepřekrývaly, což naznačuje signifikantní rozdíl mezi průměry vláken při použití a nepoužití lubrikantu na bázi vody. Výsledky dokazují, že použití lubrikantu na bázi vody ovlivňuje průměry vláken v rozmezí  $\pm 0,47$  až  $\pm 0,82$   $\mu\text{m}$ .

### **2.3.2.8 Vyhodnocení experimentů**

Experimentálně se povedlo optimalizovat proces tak, aby vytvářel vzorky o homogenní tloušťce stěny s nízkou fluktuací tloušťky stěny za pomoci rozvodu vlákenné vlečky. Byla připravena série vzorků z PCL a PLA při různých rychlostech včetně a s použitím ethanolu a lubrikantu na bázi vody ke snímání vzorků z včetně pro

mechanické testování. Průměry vláken se lehce lišily v závislosti na druhu polymeru a použitém mediu pro snímání vzorku z vřetene. Průměrné průměry vláken u PCL s ethanolem byly v rozmezí 0,76 až 1,63  $\mu\text{m}$  a u vzorků z PLA byly průměry vláken v rozmezí od 1,04 do 1,18  $\mu\text{m}$ . Při použití lubrikantu na bázi vody byly průměrné průměry vláken z PCL v rozmezí 1,18 až 2,15  $\mu\text{m}$  a u vzorků z PLA byly průměry vláken v rozmezí od 0,65 do 1,19  $\mu\text{m}$ . U vzorků vyrobených s lubrikantem na bázi vody bylo pozorováno obdobné snížení tvorby defektů na vnitřní straně vzorku, jako u vzorků kdy se použil ethanol. Při nižších rychlostech rotace je vlákněná vrstva více nadýchaná, a ne utažená okolo vřetene, což bude přímo ovlivňovat mechanické vlastnosti. Průměry vláken připravených metodou AC elektrospinningu se pohybovaly mezi průměry vláken z jehlového DC elektrospinningu a bezjehlového DC elektrospinningu. Pro jehlový DC elektrospinning jsou ve článku od Klapstové et al. [12] uváděny průměry na vnitřní straně do průměru 4,15  $\mu\text{m}$  a z vnější strany 5,7  $\mu\text{m}$ . Pro bezjehlový DC elektrospinning jsou uváděny průměry pro vnitřní stranu 0,72  $\mu\text{m}$  a pro vnější stranu 0,69  $\mu\text{m}$ .

Pomocí testování hypotéz bylo zjištěno, že průměry vláken pořízené pomocí automatického měření nelze považovat za totožná s průměry pořízenými manuálním měřením. Dále bylo zjištěno, že používání lubrikantu na bázi vody má vliv na průměry vláken, a že rychlost rotace vřetene rovněž ovlivňuje průměry vláken, ale nelze tuto hypotézu jednoznačně potvrdit.

Bylo zjištěno, že neustálá cirkulace má významný vliv na koncentraci rozpouštědel v polymerním roztoku a tím ovlivňuje proces elektrospinningu. Dalším zjištěním bylo, že délka a rychlost rotace vřetene má vliv na tvorbu vlákněné vrstvy, a že je potřeba nalézt optimální rychlosti otáček vřetene, aby nedocházelo k vibracím. Nejvyšší vibrace byly pozorovány při 1500-1700 RPM, vibrace při 1000 a 2000 RPM byly pozorovatelné, ale měly minimální vliv na tvorbu a homogenitu vlákněné vrstvy. Z posledního experimentu, kdy byla překročena rezonanční frekvence vřetene, bylo zjištěno, že při jejím překročení vymizí zcela vibrace a vřeteno rotuje bez vibrací.

## **2.4 Testování cytotoxicit vzorků**

V biologické laboratoři KNT byly testovány připravené vysterilizované materiály na jejich cytotoxicitu. Experimenty byly prováděny se sterilními předem zváženými vzorky v laboratoři buněčných kultur. Nejprve byla testována cytotoxicita sterilních vzorků vyrobených bez rozvodu vlákněné vlečky (vzorky vyrobené z PCL, PLA, PA6 a

PCL-PA6, zaznamenáno bylo i použití ethanolu / lubrikantu na bázi vody pro sundání materiálu z vřetene). Tyto vzorky byly před testováním cytotoxicity sterilizovány pomocí stejné metodiky jako vzorky v experimentu 6. Následně byla testována cytotoxicita sterilních vzorků vyrobených s rozvodnou jednotkou (vzorky vyrobené z PCL a PLA při různých otáčkách vřetene, zaznamenáno bylo i použití ethanolu / lubrikantu na bázi vody pro sundání materiálu z vřetene).

#### **2.4.1 Metodika testování cytotoxicity**

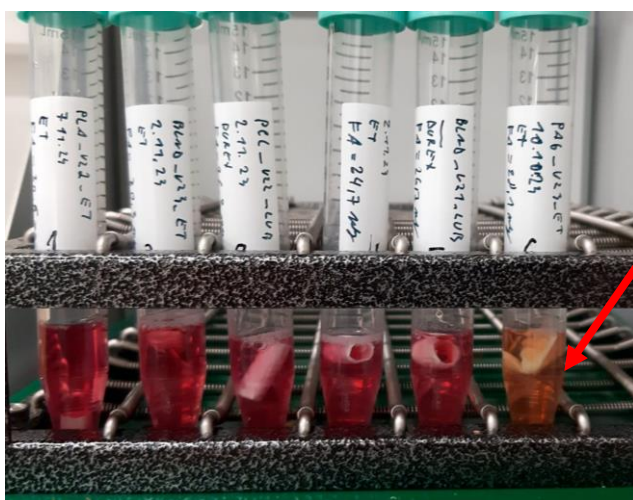
Cytotoxicita materiálu byla hodnocena podle metodiky vycházející z normy ČSN EN ISO 10993-5 pomocí metabolického testu cck-8 s myšimi 3T3-SA fibroblasty. Buňky byly standardně kultivovány v kompletním médiu, které obsahovalo DMEM + 10 % fetálního bovinního séra (FBS) + 1 % antibiotik (penicilin, streptomycin, amfotericin B). Testování cytotoxicity probíhalo ve 3 dnech. První den byly buňky myších fibroblastů (16. pasáž) nasazeny do 96 jamkové kultivační destičky ( $1 \times 10^4$  buněk/jamku), která byla následně uložena na 24 hodin do CO<sub>2</sub> inkubátoru při teplotě 37 °C. Zároveň byly připraveny extrakty z vysterilizovaných materiálů o koncentraci 10 mg/ml (dle navážky vzorků bylo přidáno odpovídající množství kompletního média). Tyto extrakty byly ponechány 24 hodin na třepačce při 60 rpm a teplotě 37 °C.

Druhý den byly mikroskopicky zkontrolovány buňky ve všech jamkách. Poté bylo z jednotlivých jamek odsáto médium, které bylo nahrazeno kontrolami (negativní / pozitivní) či extrakty testovaných vzorků (100 µl, n=8). Do jamek s negativní kontrolou bylo přidáno kompletní médium. Pozitivní kontrola obsahovala kompletní médium s přídavkem 0,1 % Tritonu X-100, který je cytotoxický a způsobuje usmrcení buněk. Do dalších jamek byly přidány extrakty materiálů o koncentraci 10 mg/ml. Takto připravená destička byla inkubována 24 hodin při teplotě 37 °C v CO<sub>2</sub> inkubátoru.

Třetí den bylo provedeno měření viability buněk pomocí testu cck-8. Destička s buňkami byla zkontrolována optickým mikroskopem pro ověření viability buněk v kontrolních jamkách a v jamkách s extrakty testovaných materiálů. Poté bylo odsáto médium a přidáno 100 µl roztoku 10 % cck-8 v médiu. Po 4 hodinách inkubace byla změřena absorbance roztoku v každé jamce při 450 nm. Naměřené absorbance byly přepočteny na viabilitu v %. Hodnota viability buněk v jamkách negativní kontroly odpovídala 100 %, ostatní naměřené hodnoty absorbance (viability) byly vztaženy k hodnotě vzorků negativních kontrol. Do grafu viability byly vyneseny průměry naměřených hodnot a směrodatné odchylky.

## 2.4.2 Výsledky cytotoxicity vzorků bez rozvodné jednotky

Během přípravy extraktů byla pozorována změna barvy média u vzorku z PA6 z růžové na oranžovou barvu viz Obrázek 41 (vzorek vpravo označený červenou šipkou). Médium standardně obsahuje indikátor pH, změna zabarvení značí přítomnost kyselých produktů, což mohlo být v případě vzorku PA6 dáno přítomností síranových aniontů, které byly v materiálu obsaženy vlivem přidání kyseliny sírové do zvláknovacího roztoku. Vzorek z PA6 byl navíc ve vodném prostředí média nestabilní, po 24 h inkubaci došlo k jeho dezintegraci na malé kousky, společně s extraktem tak byly přidány k buňkám i kousky materiálů, což ovšem neovlivnilo měření absorbance.



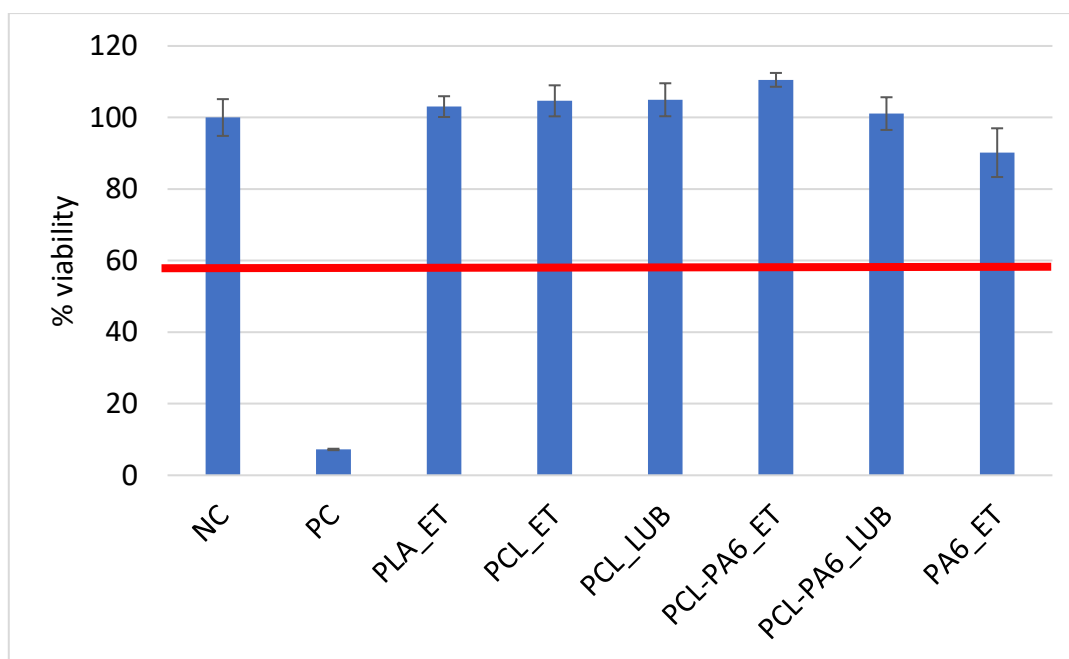
Obrázek 41: Přípravené extrakty ze vzorků vpravo zabarvený extrakt z PA6 (označen červenou šipkou)

Morfologie fibroblastů a stupeň konfluence byla vyhodnocena pomocí optického mikroskopu, viz Obrázek 42. Buňky v kompletním médiu viz Obrázek 42 A si zachovávaly svou charakteristickou morfologií, pokrývaly většinu plochy testovací jamky. Obdobně vypadaly i jamky s obsahem extraktů testovaných materiálů viz Obrázek 42 C. Pro ukázkou je zde znázorněna pouze 1 snímek, shodně však vypadaly jamky u ostatních testovaných extraktů. Usmrcené zakulacené buňky jsou znázorněné na Obrázku 42 B, kde byl přítomný cytotoxický Triton X-100.



Obrázek 42: Snímky fibroblastů na dně 96jamkové testovací destičky po 24 hodinách inkubace při 100x zvětšení A – Jamky negativní kontroly bez extraktu a cytotoxického činidla B – Jamky pozitivní kontroly s cytotoxickým činidlem C – Jamky s testovaným extraktem

Výsledky viability kontrolních buněk a buněk po 24hodinovém kontaktu s extrakty testovaných materiálů jsou zobrazeny v grafu na Obrázek 43. Buňky v negativních kontrolách a v přítomnosti extraktů všech testovaných materiálů dosahovaly hodnoty viability kolem 100 %. Nedošlo tedy k poklesu buněčné viability a materiály lze v testované koncentraci 10 mg/ml označit za necytotoxické. Ani materiál PA6, který změnil zabarvení média, nevykazoval významný pokles viability pod hodnotu 70 %, která značí hranici cytotoxicity dle ISO 10993-5 (naměřená viabilita se pohybovala v rozmezí 90–110 % viability kontrolních buněk).

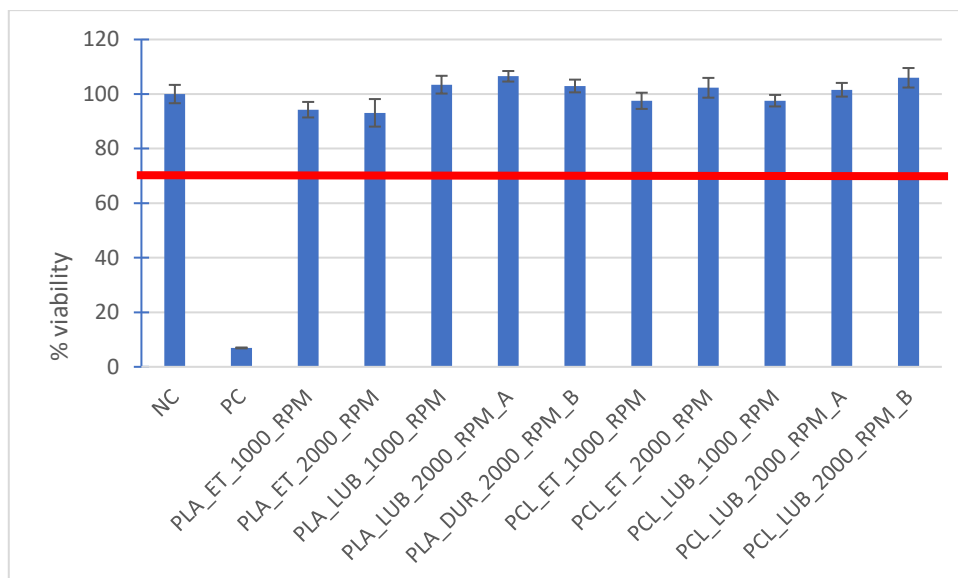


Obrázek 43: Buněčná viabilita po 24 hodinové inkubaci fibroblastů v médiu DMEM (NC), v médiu obsahujícím Triton X-100 (PC) a v extraktech testovaných materiálů z laboratoře KNT. Červená čára značí limit cytotoxického působení daný normou ISO 10993-5.

#### 2.4.3 Výsledky cytotoxicity vzorků s rozvodem vláknenné vlečky

Výsledky naměřené viability buněk pomocí cck-8 testu jsou znázorněny na Obrázku 44. Ani v tomto případě nedošlo k poklesu buněčné viability v porovnání s kontrolními buňkami v kompletním médiu (NC). Viabilita testovaných materiálů se pohybovala v rozmezí 93-106 % viability kontrolních buněk.





Obrázek 44: Buněčná viabilita po 24 hodinové inkubaci fibroblastů v médiu DMEM (NC), v médiu obsahujícím Triton X-100 (PC) a v extraktech testovaných materiálů z laboratoře CXI. Červená čára značí limit cytotoxického působení daný normou ISO 10993-5.

#### 2.4.4 Vyhodnocení experimentů

Žádný z testovaných materiálů o koncentraci 10 mg/ml nevykazuje cytotoxické působení, všechny testované extrakty po 24hodinové inkubaci vykazují hodnotu viability srovnatelnou s kontrolními buňkami. Tubulární vzorky připraveny metodou AC elektrospinningu z PCL, PLA, PA6 a blendu PCL-PA6 v rozpouštědlovém systému kyseliny mravenčí, octové acetonu (případně kyseliny sírové v případě PA6) při koncentraci extraktu 10 mg/ml nejsou pro myši 3T3 fibroblasty cytotoxické.

### 2.5 Testování mechanických vlastností

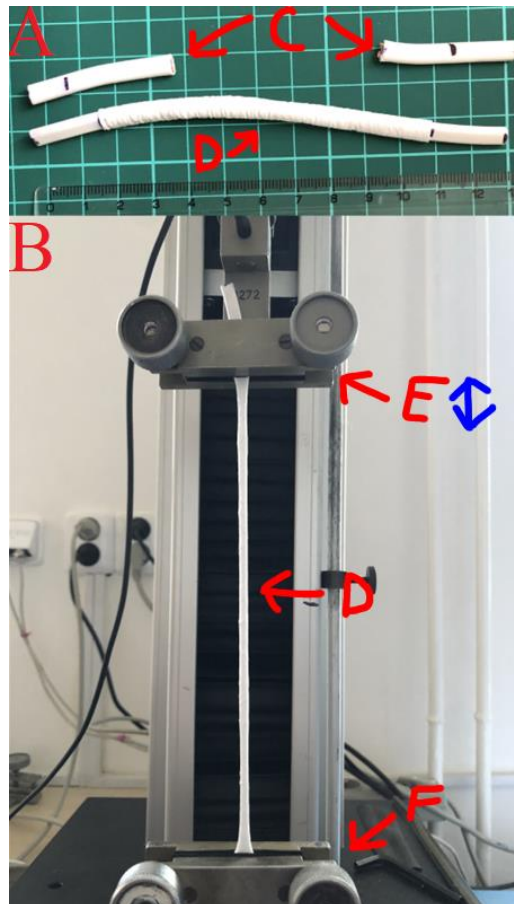
V laboratoři katedry materiálového inženýrství probíhaly trhací zkoušky sterilních vzorků připravených v CXI. Tato laboratoř je vybavena dvěma trhačkami. První trhací stroj LabControl disponuje vyměnitelnými hlavami s detekčním rozptylem od 5, 10, 50, 100 N. Druhý trhací stroj Tira test 2300 má rozsah měření nad 100 N.

#### 2.5.1 Metodika mechanického testování

Mechanické zkoušky byly prováděny podle převzaté metodiky ze článku Horáková et al [93]. První testy pro vzorky připravené z PCL a PLA byly provedeny na trhacím stroji Tira test 2300. Trhací zkoušky byly prováděny na tomto trhacím stroji, aby se našla správná detekční hlava a nevznikal při měření dat zbytečný šum, který by zkresloval výsledky. Sterilizované vzorky byly testovány v tubulárním stavu s nasazením



vzorku na trn a následným uchycením trnu se vzorkem do čelistí viz Obrázek 45 A, B. Upínací délka vzorku byla 50 mm a rychlost 100 mm/min. Přepokládaná tloušťka stěny vzorků neodpovídala požadované tloušťce stěny 0,2 mm, viz Obrázek 26 a Obrázek 27. První vzorky byly testovány do přetržení vzorku a ze získaných dat se zvolila hlava se správnou citlivostí pro trhací zařízení LabControl. Pro vzorky vyrobené z PCL byla zvolena hlava s rozsahem do 50 N a testování vzorů z PLA bylo ponecháno na stávajícím trhacím zařízení.



Obrázek 45: Příprava vzorků a testování Snímek A: Vzorek připravený k mechanickému testování C – Trn; D – Vzorek v tubulárním stavu; Snímek B: Vzorek upnutý v trhacím zařízení D – Vzorek v tubulárním stavu; E – Pohyblivá čelist se senzorem; F – Statická čelist

U vzorků byla měřena maximální síla, dráha při maximálním prodloužení, protažení při maximální síle. Z důvodu nehomogenity tloušťky nebyly počítány moduly pružnosti v tahu a tažnost vzorků. Naměřená data byla graficky zpracována v programu v programu MatLab podle kódu, který je uveden v Příloze 5.

### 2.5.2 Testování vzorků z PCL

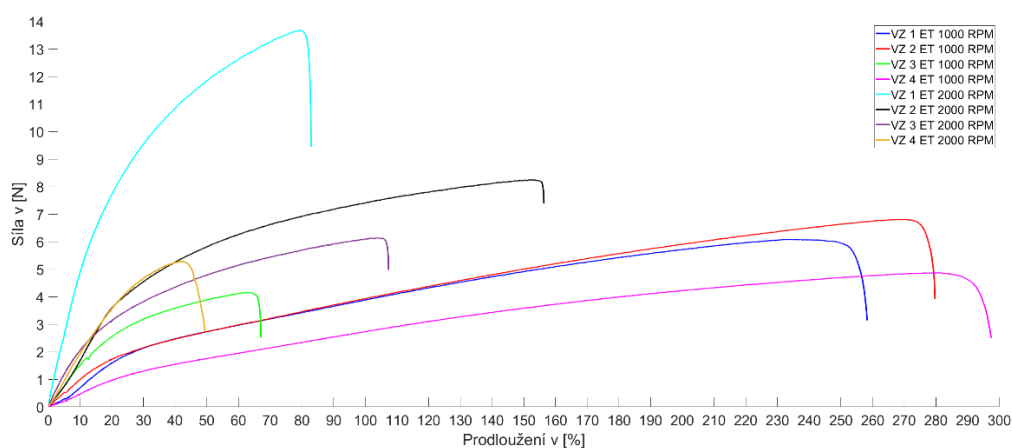
Vzorky připravené s ethanolem a rychlostí otáček vřetene 1000 RPM dosahovaly maximálního prodloužení v rozmezí od 167,09% do 297,39%. Síla se pohybovala v rozmezí od 4,17 N do 6,28 N. Vzorky připravené s rychlostí otáček vřetene 2000 RPM

dosahovaly maximálního prodloužení v rozmezí od 107,32% do 156,33% Síla se pohybovala v rozmezí od 5,28 N do 13,69 N.

Vzorky připravené při rychlosti rotace včetně 1000 RPM dosahovaly vyšší prodloužení nežli vzorky připravené při vyšších rychlostech rotace včetně. Avšak vzorky připravené při rychlostech rotace včetně 2000 RPM dosahovaly větší maximální síly. Vyšší prodloužení u vzorků připravených při nižších rychlosti lze vysvětlit volnějším utažením vlákenné vrstvy okolo vřetene. Vyšší pevnost vzorů při vyšších rychlostech rotace včetně lze vysvětlit tím, že se vlákenná vrstva více utáhne okolo vřetene a tím dojde k jejímu zpevnění. Výsledky trhacích zkoušek vzorků jsou uvedeny v Tabulce 25 a průběhy těchto zkoušek jsou graficky vyobrazeny na Obrázku 46.

Tabulka 25 – Výsledky tahové zkoušky pro PCL při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s ethanolem

	PCL – Ethanol 1000 RPM				PCL – Ethanol 2000 RPM			
	Vz_1	Vz_2	Vz_3	Vz_4	Vz_1	Vz_2	Vz_3	Vz_4
Maximální síla [N]	6,09	6,82	4,17	4,88	13,69	8,18	6,12	5,28
Maximální prodloužení [mm]	129,15	139,85	83,55	148,69	91,47	78,17	53,66	74,68
Maximální prodloužení [%]	258,29	279,69	167,09	297,39	182,93	156,33	107,32	149,36



Obrázek 46: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PCL při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s ethanolem

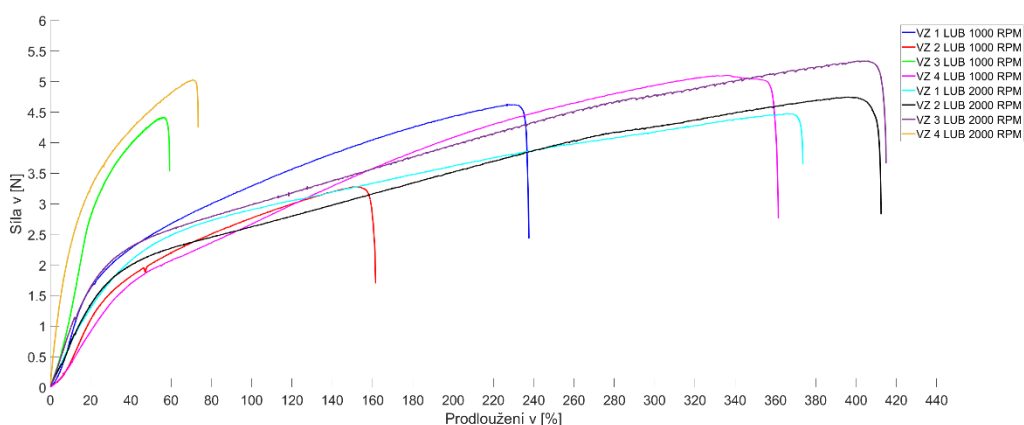
Vzorky připravené s lubrikantem na bázi vody a rychlostí otáček vřetene 1000 RPM dosahovaly maximálního prodloužení v rozmezí od 159,26% do 229,96% Síla se pohybovala v rozmezí od 3,28 N do 5,11 N. Vzorky připravené s rychlostí otáček vřetene

2000 RPM dosahovaly maximálního prodloužení v rozmezí od 173,39% do 414,89% Síla se pohybovala v rozmezí od 4,47 N do 5,34 N.

Vzorky připravené při rychlosti rotace včetně 2000 RPM dosahovaly vyšší maximální síly a vyššího prodloužení nežli vzorky připravené při nižších rychlostech rotace včetně. Zvýšení prodloužení a maximální síly může být zapříčiněno vyšším utažením vlákenné vrstvy okolo vřetene. U vzorků připravených s lubrikantem je oproti vzorkům připraveným s ethanolem pozorováno zvýšení maximálního prodloužení a snížení maximální pevnosti. Tato změna může být zapříčiněna propylen glykolem, který je obsažen v lubrikantu na bázi vody a může účinkovat jako plastifikátor. Výsledky trhacích zkoušek vzorků jsou uvedeny v Tabulce 26 a průběhy těchto zkoušek jsou graficky vyobrazeny na Obrázku 47.

Tabulka 26 – Výsledky tahové zkoušky pro PCL při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody

	PCL – Lubrikant 1000 RPM				PCL – Lubrikant 2000 RPM			
	Vz_1	Vz_2	Vz_3	Vz_4	Vz_1	Vz_2	Vz_3	Vz_4
Maximální síla [N]	4,63	3,28	4,42	5,11	4,47	4,76	5,34	5,03
Maximální prodloužení [mm]	118,82	80,76	79,63	180,72	186,79	206,22	207,45	86,69
Maximální prodloužení [%]	237,63	161,52	159,26	361,43	373,59	412,43	414,89	173,39



Obrázek 47: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PCL při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody

### 2.5.2 Testování vzorků z PLA

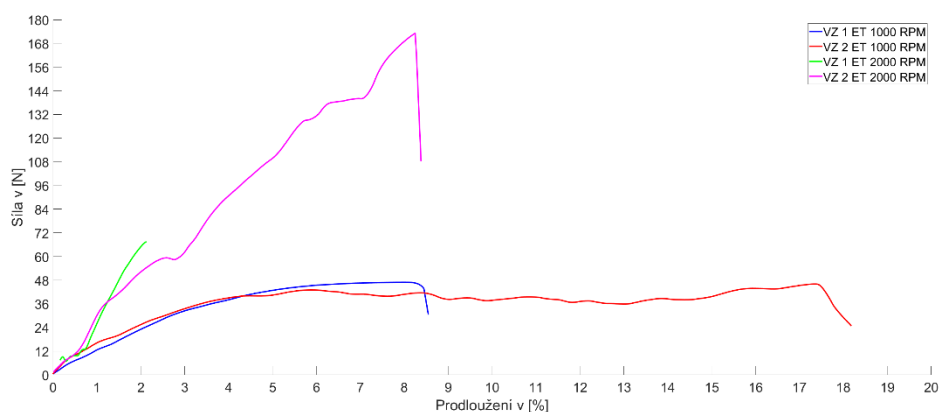
Testované vzorky s ethanolem dosahovaly při rychlosti otáček vřetene 1000 RPM maximálního prodloužení v rozmezí od 108,55% do 118,18%, přičemž síla se pohybovala

v rozmezí od 46,06 N do 46,94 N. V porovnání s tím při rychlosti otáček vřetene 2000 RPM dosahovaly vzorky maximálního prodloužení v rozmezí od 102,13% do 108,38%, avšak síla se zde pohybovala v širším rozmezí od 67,58 N do 173,18 N.

Vzorky připravené při rychlosti rotace vřetene 2000 RPM dosahovaly vyšší maximální síly a nižšího prodloužení nežli vzorky připravené při rychlostech rotace vřetene 1000 RPM, to může být zapříčiněno vyšším utažením vláknenné vrstvy okolo vřetene. Výsledky trhacích zkoušek vzorků jsou uvedeny v Tabulce 27 a průběhy těchto zkoušek jsou graficky vyobrazeny na Obrázku 48.

Tabulka 27 – Výsledky tahové zkoušky pro PLA při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s ethanolem

	PL A – Ethanol 1000 RPM		PLA – Ethanol 2000 RPM	
	Vz_1	Vz_2	Vz_1	Vz_2
Maximální síla [N]	46,94	46,06	67,58	173,18
Maximální prodloužení [mm]	54,275	59,09	51,065	54,19
Maximální prodloužení [%]	108,55	118,18	102,13	108,38



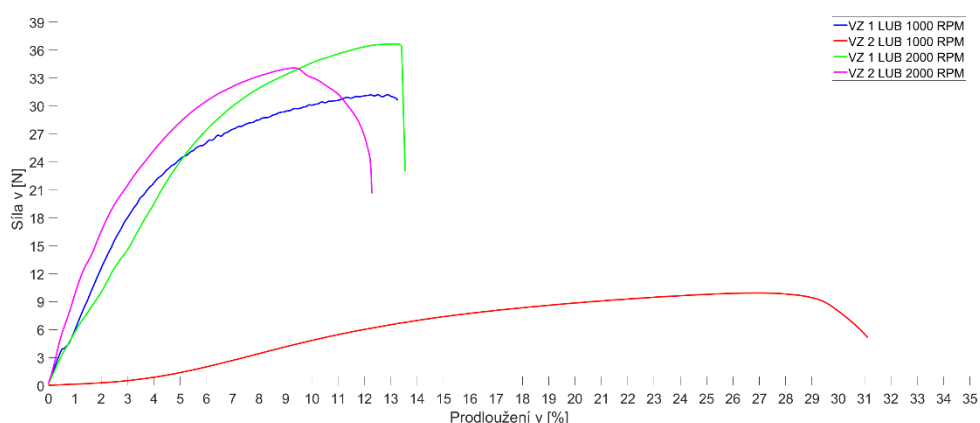
Obrázek 48: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PLA při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s ethanolem

Testované vzorky s lubrikantem na bázi vody dosahovaly při rychlosti otáček vřetene 1000 RPM maximálního prodloužení v rozmezí od 113,26% do 131,12%, přičemž síla se pohybovala v rozmezí od 9,93 N do 31,22 N. V porovnání s tím, při rychlosti otáček vřetene 2000 RPM dosahovaly vzorky maximálního prodloužení v rozmezí od 112,28% do 138,55%, avšak síla se zde pohybovala v širším rozmezí od 34,09 N do 36,65 N.

Vzorky připravené při rychlosti rotace vřetene 2000 RPM dosahovaly vyšší maximální síly a nižšího prodloužení, to může být zapříčiněno vyšším utažením vlákně vrstvy okolo vřetene. Oproti vzorkům připraveným s ethanolem došlo k lehkému nárůstu maximálního prodloužení, což může být zapříčiněno obsažením propylenglykolu v lubrikantu na bázi vody stejně jako u vzorků z PCL. Výsledky trhacích zkoušek vzorků jsou uvedeny v Tabulce 28 a průběhy těchto zkoušek jsou graficky vyobrazeny na Obrázku 49.

Tabulka 28 – Výsledky tahové zkoušky pro PLA při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody

	PLA – Lubrikant 1000 RPM		PLA – Lubrikant 2000 RPM	
	Vz_1	Vz_2	Vz_1	Vz_2
Maximální síla [N]	31,22	9,93	36,65	34,09
Maximální prodloužení [mm]	56,63	65,56	56,775	56,14
Maximální prodloužení [%]	113,26	131,12	113,55	112,28



Obrázek 49: Grafické znázornění průběhu trhací zkoušky pro PLA při rychlostech otáček vřeten 1000 a 2000 RPM s lubrikantem na bázi vody

#### 2.5.4 Vyhodnocení experimentů

Mechanickým testováním vzorků z PCL a PLA bylo zjištěno, že každý materiál má diametrálně odlišné vlastnosti a možné aplikace. Vzorky z PCL vykazovaly vysoké prodloužení, a to až 414,89 % ve srovnání s prodloužením PLA vzorků, kdy maximální prodloužení bylo 131,12%. Vzorky z PCL dosahovaly výrazně nižší maximální síly do přetrhu, maximální síla u PCL byla 13,69 N, u PLA byla maximální síla v přetrhu 173,18 N. Vzhledem k těmto diametrálně odlišným vlastnostem by se tubulární vzorky z PCL daly používat pro kardiovaskulární chirurgii jako cévní náhrady, a vzorky z PLA by se

daly používat pro jiné aplikace v tkáňovém inženýrství. U vzorků jak z PCL, tak z PLA při použití lubrikantu na bázi vody došlo ke zvýšení maximálního prodloužení a snížení maximální síly.

Výsledky, které jsou uvedeny Tabulce 25 -Tabulce 28, vykazují velké rozptyly, které jsou způsobeny tvorbou silných a slabých míst ve vzorcích. Vzorky se vždy přetrhnou v nejslabším místě. Tvorba těchto slabých míst je způsobena velkou variabilitou procesu a vibracemi vřetene, které k tomu přispívají.

Byly vypočteny moduly tažnosti a pružnosti, tyto výpočty však byly zatíženy vysokou chybou, která vyplývá z nemožnosti změření tloušťky stěny vzorku bez jeho destrukce. Některé testované vzorky měly přibližně požadovanou tloušťku, ale některé byly silnější anebo slabší, což zpochybňuje výpočty pružnosti a tažnosti.

Dalším faktorem je i degradace roztoku, kdy během procesu dochází k odpařování rozpouštědla a tím ke změně koncentrace, což ovlivňuje proces elektrospinningu a tloušťku vláken. Mechanické vlastnosti může také ovlivňovat proces snímání vzorku z vřetene, kdy dochází k mechanickému poškození a vytvoření nábalu, který se může projevit jako pokles pevnosti během zkoušky, kdy dojde k jeho rozvinutí.

## Závěr

Kromě této bakalářské práce se mnoho dalších výzkumů na univerzitě i ve světě zabývalo výrobou tubulárních útvarů pro tkáňové inženýrství. Většina těchto prací se zaměřila na zvlákňování pomocí DC elektrospinningu z jehel nebo jiných zařízení vhodných pro laboratorní účely, jako je například modifikovaný Nanospider<sup>TM</sup>, nicméně Nanospider<sup>TM</sup> není omezen pouze pro tyto účely. V této práci byla zkoumána inovace v podobě zvlákňování pomocí AC elektrospinningu, které doposud pro tyto účely nebylo v literatuře publikováno. Cílem této práce byl výběr polymerů, otestování možností výroby tubulárních vzorků pomocí této metody a optimalizování procesů výroby tubulárních vzorků a morfologické analyzování vzniklých vzorků. Nad rámec zadání této práce bylo modifikováno zařízení pro rozvod vlákenné vlečky. Díky této modifikaci byly připraveny a mechanicky otestovány dlouhé vzorky a byla změřena jejich cytotoxicita. Spolu s tím byly upraveny kódy v programu MatLab pro automatické měření průměrů vláken. Byly provedeny statistické testy, které určily, zda je možno používat automatická měření průměrů vláken namísto manuálního měření.

Pomocí řady experimentů v laboratoři KNT byly vybrány vhodné polymery a jejich směsi pro přípravu tubulárních vzorků. Během výběru polymerů byly experimentálně přepraveny dva polymerní roztoky, a to bipolymerní roztok PCL-PA6 a roztok PLA, který byl připraven v novém rozpouštědlovém systému. Pro snížení adheze vzorku ke vřetení byl použit stejně jako v předchozích pracích ethanol, dále byl experimentálně použit lubrikant na bázi vody. Nejdelší připravený vzorek bez rozvodu vlákenné vlečky byl dlouhý 260 mm, většina vzorků však dosahovala nižších hodnot v rozmezí od 109 do 180 mm.

Během procesu výroby vzorků byla pozorována změna procesu, která byla způsobena odpařováním rozpouštědel. Tato změna měnila koncentraci polymerního roztoku a negativně ovlivnila tvorbu vláknité vlečky. Dalším pozorovaným jevem byly vibrace vřetene, které se projevovaly nejvíce při určitých otáčkách a délce vřetene. Tyto vibrace ovlivňovaly proces ukládání vlákenné vlečky na vřeteno a vedly k tvorbě silných míst ve vzorku. Dalším poznatkem je, že při snížené vzdušné vlhkosti a zhoršených atmosférických podmínkách nelze provádět AC elektrospinning bez použití klimatizační jednotky.

Experimentálně byla modifikována zvlákňovací jednotka v laboratoři CXI tak, aby byla schopna vytvářet vzorky o délce až 300 mm. Optimalizovaný proces byl na této



jednotce znovu ověřen a shodoval se výpočty z laboratoře KNT. Byla připravena série dlouhých vzorků při různých rychlostech rotace vřetene s použitím ethanolu a lubrikantu na bázi vody pro snímání vzorků z vřetene. Během procesu byly pozorovány stejné jevy jako v laboratoři KNT, pouze vibrace vřetene byly více patrné kvůli delšímu vřetení. Experimentálně se povedlo připravit vzorek, při kterém byly vibrace odstraněny překročením rezonanční frekvence vřetene. Nejdelším experimentálně připraveným vzorkem byl vzorek o délce 500 mm.

Manuálním a automatickým měřením byla určena morfologie vzorků z vnitřní a vnější strany. Bylo zjištěno, že průměry vláken z PCL jsou téměř srovnatelné s průměry vláken z PLA. Vlákná vyrobená z PCL se pohybovala v rozmezí od 0,76 do 2,15  $\mu\text{m}$  a průměry vláken se pohybovaly v rozmezí od 0,65 do 1,22  $\mu\text{m}$ . Připravené vzorky s ethanolem vykazovaly lehce zvýšenou defektnost na vnitřní straně, ale na vnější straně byly vlákenné vrstvy téměř bez defektů. Spolu s tím vzorky vykazovaly vyšší soudržnost. U vzorků připravených s lubrikantem na bázi vody docházelo k nižší tvorbě defektů na vnitřní straně a vnější strany byly téměř bez defektu, ale vlákenné vrstvy byly méně soudržné.

Pomocí statistických testů bylo dokázáno, že průměry vláken naměřené pomocí automatických výpočtů nelze ve všech případech považovat za totožná s manuálně změřenými průměry. Přesnost těchto měření je vysoce závislá na kvalitě pořízeného snímku a na diferenciaci vláken ve vlákenné vrstvě. Rozdíly mezi naměřenými průměry vláken však řádově odpovídají.

Testováním cytotoxicity bylo dokázáno, že tubulární vzorky připravené metodou AC elektrospinningu z PA6, PCL, PA6-PCL a PLA v rozpouštědlovém systému kyseliny mravenčí, octové, acetonu (případně kyseliny sírové) s použitím ethanolu a lubrikantu na bázi vody při koncentraci extraktu 10 mg/ml nejsou pro buňky cytotoxické. Tento výsledek naznačuje, že by tyto materiály mohly být využity v tkáňovém inženýrství pro výrobu scaffoldů.

Při testování mechanických vlastností byly pozorovány velké odchylky mezi měřenými vzorky, které byly zapříčiněny variabilitou tloušťky stěny. Vzorky z PCL a z PLA měly diametrálně odlišné vlastnosti, přičemž vzorky z PCL dosahovaly výrazně delšího prodloužení nežli vzorky z PLA, ale jejich maximální síla do přetrhu byla velmi nízká. Vzorky z PLA nedosahovaly vysokých hodnot prodloužení, dosahovaly však vyšší maximální síly do přetrhu. Bylo pozorováno, že tubulární vzorky připravené při vyšších

otáčkách (2000 RPM) mají lehce zvýšenou maximální sílu do přetrhu nežli vzorky připravené při nižších rychlostech rotace vřetene (1000 RPM).

Pro další experimenty by bylo vhodné upravit povrch vřetene tak, aby vzniklá adheze vlákně vrstvy byla co nejmenší. Rovněž by bylo třeba používat jinou metodu měření tloušťky, která by nedestruovala vlákně vrstvu, například měřit tloušťku již během procesu pomocí laseru. Další oblastí zkoumání by mohl být vliv recirkulace polymerního roztoku na koncentraci roztoku a studium vlivu vibrací vřetene na mechanické vlastnosti takto připravených tubulárních vzorků. Dalším zajímavým směrem by bylo zvláknění bipolymerních roztoků, které by mohly vytvářet částečně degradovatelnou strukturu, kdy by nedegradovatelná část fungovala jako výztuha pro nově regenerovanou tkáň. Dále vytváření dvouvrstvých vzorků, kdy by byla vnitřní strana vzorku vyrobena pomocí DC elektrospinningu a vnější strana vzorku by byla vyrobena pomocí AC elektrospinningu, čímž by bylo dosaženo napodobení struktury cévní stěny (vnitřní vrstva by byla tenká a vnější by byla nadýchaná).

Dalším zajímavým směrem by mohlo být použití určitých citrátových plastifikátorů, díky kterým by mohlo dojít ke zlepšení mechanických vlastností materiálu, a zároveň by se během rozkladu materiálu mohl citrátový plastifikátor metabolizovat na salicylát, který účinkuje protizánětlivě a tím by mohl zlepšit proces hojení. Přínosné by mohlo být i zkoumání a zdokonalování obrazových analýz, které by mohly zpřesnit veškerá měření a přispět k tvorbě predikčních modelů.

## Literatura

- [1] BHAGURE, Somesh S. a Dr. Adarsh R. RAO. A Review: Electrospinning and Electrospinning Nanofibre Technology, Process & Application. online. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, roč. 5 (2020), č. 6, s. 528–538. Dostupné z: <https://doi.org/10.38124/IJISRT20JUN521>.
- [2] LI, D. a Y. XIA. Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel? online. *Advanced Materials*, roč. 16 (2004), č. 14, s. 1151–1170. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adma.200400719>.
- [3] GREINER, Andreas a Joachim H. WENDORFF. Electrospinning: a fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. online. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, roč. 46 (2007), č. 30, s. 5670–5703. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/anie.200604646>.
- [4] XUE, Jiajia; Tong WU; Yunqian DAI a Younan XIA. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. online. *Chemical Reviews*, roč. 119 (2019), č. 8, s. 5298–5415. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00593>.
- [5] FURLAN, Rogerio; Raymond Ortiz CARDONA; Freddy WONG a Ana Neilde RODRIGUES DA SILVA. Nanofibers containing TiO<sub>2</sub> nanoparticles formed using conventional and non-conventional electrospinning. online. *2017 32nd Symposium on Microelectronics Technology and Devices (SBMicro)*, (2017), s. 1–4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1109/SBMicro.2017.8113010>.
- [6] FURLAN, Rogerio; Steven J. Toro DE LEON a Ana Neilde Rodrigues DA SILVA. Formation of nanofibers containing aloe vera using a non-conventional electrospinning setup. online. *2016 31st Symposium on Microelectronics Technology and Devices (SBMicro)*, (2016), s. 1–4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1109/SBMicro.2016.7731327>.
- [7] KHAN, W. S.; R. ASMATULU; M. CEYLAN a A. JABBARNIA. Recent progress on conventional and non-conventional electrospinning processes. online. *Fibers and Polymers*, roč. 14 (2013), č. 8, s. 1235–1247. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12221-013-1235-8>.
- [8] PARTHENIADIS, Ioannis; Konstantina ATHANASIOU; Ivo LAIDMÄE; Jyrki HEINÄMÄKI a Ioannis NIKOLAKAKIS. Physicomechanical characterization and tablet compression of theophylline nanofibrous mats prepared by conventional and ultrasound enhanced electrospinning. online. *International Journal of Pharmaceutics*, roč. 616 (2022), s. 121558. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121558>.
- [9] RIAZ, Tabinda; Nafisa GULL; Atif ISLAM; Muhammad Rizwan DILSHAD; Leonard Ionut ATANASE et al. Needleless electrospinning of poly (ε-caprolactone) nanofibers deposited on gelatin film for controlled release of Ibuprofen. online. *Chemical Papers*, roč. 77 (2023), č. 5, s. 2657–2669. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11696-022-02655-6>.

- [10] *Recent progress on conventional and non-conventional electrospinning processes / Semantic Scholar.* Webové sídlo. Dostupné z: <https://www.semanticscholar.org/paper/Recent-progress-on-conventional-and-electrospinning-Khan-Asmatulu/2e4fdf5d3cc18c31021b807d1d00c2bde5467113>. [citováno 2024-04-01].
- [11] LEE, Jaeyu; Seongjun MOON; Joerg LAHANN a Kyung Jin LEE. Recent Progress in Preparing Nonwoven Nanofibers via Needleless Electrospinning. online. *Macromolecular Materials and Engineering*, roč. 308 (2023), č. 9, s. 2300057. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mame.202300057>.
- [12] K LAPSTOVA, Andrea; Petra HONZIKOVA; Martin DASEK; Michal ACKERMANN; Klara GERGELITSOVA et al. Effective Needleless Electrospinning for the Production of Tubular Scaffolds. online. *ACS Applied Engineering Materials*, roč. 2 (2024), č. 2, s. 492–500. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsaenm.3c00780>.
- [13] INC, Matsusada Precision. Electrospinning | Application. online. In: *Matsusada Precision*. Dostupné z: <https://www.matsusada.com/application/ps/electrospinning/>. [citováno 2024-04-01].
- [14] AL-ABDULJABBAR, Abdulhamid a Irfan FAROOQ. Electrospun Polymer Nanofibers: Processing, Properties, and Applications. online. *Polymers*, roč. 15 (2023), č. 1, s. 65. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym15010065>.
- [15] SIVAN, Manikandan; Divyabharathi MADHESWARAN; Jan VALTERA; Eva Kuzelova KOSTAKOVA a David LUKAS. Alternating current electrospinning: The impacts of various high-voltage signal shapes and frequencies on the spinnability and productivity of polycaprolactone nanofibers. online. *Materials & Design*, roč. 213 (2022), s. 110308. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.110308>.
- [16] ERBEN, Jakub; Tomas KALOUS a Jiri CHVOJKA. ac Bubble Electrospinning Technology for Preparation of Nanofibrous Mats. online. *ACS Omega*, roč. 5 (2020), č. 14, s. 8268–8271. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00575>.
- [17] KALOUS, Tomas; Pavel HOLEC; Jakub ERBEN; Martin BILEK; Ondrej BATKA et al. The Optimization of Alternating Current Electrospun PA 6 Solutions Using a Visual Analysis System. online. *Polymers*, roč. 13 (2021), č. 13, s. 2098. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13132098>.
- [18] HOLEC, Pavel; Radek JIRKOVEC; Tomáš KALOUS; Ondřej BAŤKA; Jiří BROŽEK et al. The Potential for the Direct and Alternating Current-Driven Electrospinning of Polyamides. online. *Nanomaterials*, roč. 12 (2022), č. 4, s. 665. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nano12040665>.
- [19] FARKAS, Balázs; Attila BALOGH; Attila FARKAS; György MAROSI a Zsombor Kristóf NAGY. Frequency and waveform dependence of alternating current electrospinning and their uses for drug dissolution enhancement. online.

- International Journal of Pharmaceutics*, roč. 586 (2020), s. 119593. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119593>.
- [20] LIU, Wenzheng; Wenlong HU; Hao ZHAI; Zhaoyang CUI a Luxiang ZHAO. Study of ionic wind based on dielectric barrier discharge of carbon fiber spiral electrode. online. *Plasma Science and Technology*, roč. 22 (2020), č. 3, s. 034002. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/2058-6272/ab5069>.
- [21] KOURTZANIDIS, Konstantinos; Guillaume DUFOUR a François ROGIER. The ElectroHydroDynamic force distribution in surface AC Dielectric Barrier Discharge actuators: do streamers dictate the ionic wind profiles? online. *Journal of Physics D: Applied Physics*, roč. 54 (2021), č. 26, s. 26LT01. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1361-6463/abf53e>. arXiv:2007.01614 [physics].
- [22] HOLEC, Pavel; Tomas KALOUS; Pavel POKORNY; Ondrej BATKA a Josef SKRIVANEK. alternating current electrospinning of pa 6 using additives in form of oxoacids. online. In: *NANOCON 2021*. 2021. Dostupné z: <https://doi.org/10.37904/nanocon.2021.4329>.
- [23] SAKAI, Takamasa. Definition of Polymer Gels and Rubber Elasticity. online. In: Anonym. *Physics of Polymer Gels*, s. 45–75. John Wiley & Sons, Ltd, 2020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9783527346547.ch3>.
- [24] BRITAIN, William J. a Sergiy MINKO. A structural definition of polymer brushes. online. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, roč. 45 (2007), č. 16, s. 3505–3512. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pola.22180>.
- [25] PEREZ-PUYANA, Victor; Mercedes JIMÉNEZ-ROSADO; Alberto ROMERO a Antonio GUERRERO. Polymer-Based Scaffolds for Soft-Tissue Engineering. online. *Polymers*, roč. 12 (2020), č. 7, s. 1566. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym12071566>.
- [26] GUNATILLAKE, P. A. a R. ADHIKARI. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. online. *European Cells & Materials*, roč. 5 (2003), s. 1–16; discussion 16. Dostupné z: <https://doi.org/10.22203/ecm.v005a01>.
- [27] RANAKOTI, Lalit; Brijesh GANGIL; Prabhakar BHANDARI; Tej SINGH; Shubham SHARMA et al. Promising Role of Polylactic Acid as an Ingenious Biomaterial in Scaffolds, Drug Delivery, Tissue Engineering, and Medical Implants: Research Developments, and Prospective Applications. online. *Molecules*, roč. 28 (2023), č. 2, s. 485. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules28020485>.
- [28] KANIUK, Łukasz a Urszula STACHEWICZ. Development and Advantages of Biodegradable PHA Polymers Based on Electrospun PHBV Fibers for Tissue Engineering and Other Biomedical Applications. online. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, roč. 7 (2021), č. 12, s. 5339–5362. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.1c00757>.
- [29] JANOUŠKOVÁ, O. Synthetic Polymer Scaffolds for Soft Tissue Engineering. online. *Physiological Research*. 2018-09-27. s. S335–S348. Dostupné z: <https://doi.org/10.33549/physiolres.933983>.

- [30] ZHANG, Shike; Xin CHEN; Mengyao SHAN; Zijuan HAO; Xiaoyang ZHANG et al. Convergence of 3D Bioprinting and Nanotechnology in Tissue Engineering Scaffolds. online. *Biomimetics*, roč. 8 (2023), č. 1, s. 94. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biomimetics8010094>.
- [31] *06\_Porter.pdf* online. Dostupné z: [https://chemistry.illinois.edu/system/files/inline-files/06\\_Porter.pdf](https://chemistry.illinois.edu/system/files/inline-files/06_Porter.pdf). [citováno 2024-04-14].
- [32] FERESHTEH, Zeinab; Mohammadhossein FATHI; Saeid KARGOZAR a Ali SAMADIKUCHAKSARAEI. Implementing Taguchi method to analyze electrospinning parameters influence on Mg-doped fluorapatite nanoparticles-poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanocomposite scaffold (MG-FA NPs / PCL) properties. online. *Polymers for Advanced Technologies*, roč. 31 (2020), č. 12, s. 3114–3125. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pat.5036>.
- [33] JOHNSON, Pamela M.; Justin M. LEHTINEN a Jennifer L. ROBINSON. Surfactant Interactions and Solvent Phase Solubility Modulate Small Molecule Release from Emulsion Electrospun Fibers. online. *AIChE journal. American Institute of Chemical Engineers*, roč. 67 (2021), č. 12, s. e17470. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/aic.17470>.
- [34] DIAS, Juliana R.; Aureliana SOUSA; Ana AUGUSTO; Paulo J. BÁRTOLO a Pedro L. GRANJA. Electrospun Polycaprolactone (PCL) Degradation: An In Vitro and In Vivo Study. online. *Polymers*, roč. 14 (2022), č. 16, s. 3397. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym14163397>.
- [35] ALBINI, Loyse Tussolini; Lucio CARDOZO-FILHO; Marcos Hiroiuqui KUNITA; Marcos Rogerio MAFRA a Marcos Lucio CORAZZA. **Solid-liquid equilibrium measurements for the ternary system PCL + chloroform + nonsolvents (n-hexane, ethanol, methanol, isopropanol) at 303.15 K** - doi: 10.4025/actascitechnol.v36i1.16615. online. *Acta Scientiarum. Technology*, roč. 36 (2013), č. 1, s. 69–73. Dostupné z: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v36i1.16615>.
- [36] JINGA, Sorin-Ion; Andreea-Ioana ZAMFIRESCU; Georgeta VOICU; Monica ENCULESCU; Alexandru EVANGHELIDIS et al. PCL-ZnO/TiO<sub>2</sub>/Hap Electrospun Composite Fibers with Applications in Tissue Engineering. online. *Polymers*, roč. 11 (2019), č. 11, s. 1793. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym11111793>.
- [37] SISSON, Adam L.; Duygu EKINCI a Andreas LENDLEIN. The contemporary role of  $\epsilon$ -caprolactone chemistry to create advanced polymer architectures. online. *Polymer*, roč. 54 (2013), č. 17, s. 4333–4350. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2013.04.045>.
- [38] BOGDANOVA, Alexandra; Elizaveta PAVLOVA; Anna POLYANSKAYA; Marina VOLKOVA; Elena BIRYUKOVA et al. Acceleration of Electrospun PLA Degradation by Addition of Gelatin. online. *International Journal of Molecular Sciences*, roč. 24 (2023), č. 4, s. 3535. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms24043535>.

- [39] BIKIARIS, Nikolaos D.; Ioanna KOUMENTAKOU; Christina SAMIOTAKI; Despoina MEIMAROGLOU; Despoina VARYTIMIDOU et al. Recent Advances in the Investigation of Poly(lactic acid) (PLA) Nanocomposites: Incorporation of Various Nanofillers and their Properties and Applications. online. *Polymers*, roč. 15 (2023), č. 5, s. 1196. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym15051196>.
- [40] BENNINGA, H. *A History of Lactic Acid Making: A Chapter in the History of Biotechnology*. Springer Science & Business Media, 1990. ISBN 978-0-7923-0625-2. Google-Books-ID: fdBMcYg\_xGYC.
- [41] DOS SANTOS FILHO, Edson Antonio; Carlos Bruno Barreto LUNA; Danilo Diniz SIQUEIRA; Eduardo da Silva Barbosa FERREIRA a Edcleide Maria ARAÚJO. Tailoring Poly(lactic acid) (PLA) Properties: Effect of the Impact Modifiers EE-g-GMA and POE-g-GMA. online. *Polymers*, roč. 14 (2021), č. 1, s. 136. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym14010136>.
- [42] LEE, Soo Hong; Hyung Min CHUNG; Young Ha KIM a Soo Hyun KIM. RGD Direct Conjugation Using Co-Solvent System to Increase Cell Attachment on Poly(lactide-co-glycolide) without Change in Hydrophilic/Hydrophobic Property. online. *Key Engineering Materials*, roč. 342–343 (2007), s. 157–160. Dostupné z: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.342-343.157>.
- [43] VIJAYAKUMAR, Janani; Viruthagiri THANGAVELU a Aravindan RAJENDRAN. Recent Trends in the Production, Purification and Application of Lactic Acid. *Chemical & Biochemical Engineering Quarterly (cabeq@pbf.hr)*; Vol.22 No.2, roč. 22 (2008).
- [44] GUPTA, A. P. a Vimal KUMAR. New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – Polylactide: A critique. online. *European Polymer Journal*, roč. 43 (2007), č. 10, s. 4053–4074. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.06.045>.
- [45] NAEGELI, Kaleb M.; Mehmet H. KURAL; Yuling LI; Juan WANG; Emmanuelle A. HUGENTOBLER et al. Bioengineering Human Tissues and the Future of Vascular Replacement. online. *Circulation Research*, roč. 131 (2022), č. 1, s. 109–126. Dostupné z: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319984>.
- [46] SINGH, Charanpreet; Cynthia S. WONG a Xungai WANG. Medical Textiles as Vascular Implants and Their Success to Mimic Natural Arteries. online. *Journal of Functional Biomaterials*, roč. 6 (2015), č. 3, s. 500–525. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jfb6030500>.
- [47] CHLUPÁČ, J; E FILOVÁ a L BAČÁKOVÁ. Blood vessel replacement: 50 years of development and tissue engineering paradigms in vascular surgery. online. *Physiological Research*. 2009. s. S119–S140. Dostupné z: <https://doi.org/10.33549/physiolres.931918>.
- [48] DI FRANCESCO, Dalila; Alexa PIGLIAFREDDO; Simona CASARELLA; Luca DI NUNNO; Diego MANTOVANI et al. Biological Materials for Tissue-Engineered Vascular Grafts: Overview of Recent Advancements. online.

*Biomolecules*, roč. 13 (2023), č. 9, s. 1389. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biom13091389>.

- [49] KARKAN, Sonia Fathi; Soodabeh DAVARAN; Reza RAHBARGHAZI; Roya SALEHI a Abolfazl AKBARZADEH. Electrospun nanofibers for the fabrication of engineered vascular grafts. online. *Journal of Biological Engineering*, roč. 13 (2019), č. 1, s. 83. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13036-019-0199-7>.
- [50] HUANG, Weimin; Mengen HUO; Nan CHENG a Rong WANG. New Forms of Electrospun Nanofibers Applied in Cardiovascular Field. online. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, roč. 8 (2022). ISSN 2297-055X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2021.801077>.
- [51] RICKEL, Alex P.; Xiajun DENG; Daniel ENGBRETSON a Zhongkui HONG. Electrospun nanofiber scaffold for vascular tissue engineering. online. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, roč. 129 (2021), s. 112373. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112373>.
- [52] HALLETT, John W.; Donna M. MARSHALL; Tanya M. PETERSON; Darryl T. GRAY; Thomas C. BOWER et al. Graft-related complications after abdominal aortic aneurysm repair: Reassurance from a 36-year population-based experience. online. *Journal of Vascular Surgery*, roč. 25 (1997), č. 2, s. 277–286. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0741-5214\(97\)70349-5](https://doi.org/10.1016/S0741-5214(97)70349-5).
- [53] VICARETTI, Mauro. Pathophysiology of Vascular Graft Infections. online. In: FITTRIDGE, Robert a Matthew THOMPSON (ed.). *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. Adelaide (AU): University of Adelaide Press, 2011. ISBN 978-0-9871718-2-5. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534262/>.
- [54] *Glaucoma - Diagnosis and treatment - Mayo Clinic*. Webové sídlo. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/glaucoma/diagnosis-treatment/drc-20372846>. [citováno 2023-12-05].
- [55] JOSYULA, Aditya; Ann MOZZER; Julia SZETO; Youlim HA; Nicole RICHMOND et al. Nanofiber-based glaucoma drainage implant improves surgical outcomes by modulating fibroblast behavior. online. *Bioengineering & Translational Medicine*, roč. 8 (2023), č. 3, s. e10487. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/btm2.10487>.
- [56] PARIKH, Kunal S.; Aditya JOSYULA; Revaz OMIADZE; Ju Young AHN; Youlim HA et al. Nano-structured glaucoma drainage implant safely and significantly reduces intraocular pressure in rabbits via post-operative outflow modulation. online. *Scientific Reports*, roč. 10 (2020), s. 12911. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69687-4>.
- [57] Peripheral Nerve Surgery. online. 2019. In: *Plastic & Reconstructive Surgery*. Dostupné z: [https://plasticsurgery.stanford.edu/patient\\_care/Peripheralnerve.html](https://plasticsurgery.stanford.edu/patient_care/Peripheralnerve.html). [citováno 2023-12-05].



- [58] *Peripheral nerve injuries - Diagnosis and treatment - Mayo Clinic*. Webové sídlo. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/peripheral-nerve-injuries/diagnosis-treatment/drc-20355632>. [citováno 2023-12-05].
- [59] STOCCO, Elena; Silvia BARBON; Aron EMMI; Cesare TIENGO; Veronica MACCHI et al. Bridging Gaps in Peripheral Nerves: From Current Strategies to Future Perspectives in Conduit Design. online. *International Journal of Molecular Sciences*, roč. 24 (2023), č. 11, s. 9170. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms24119170>.
- [60] ONODE, Ema; Takuya UEMURA; Kiyohito TAKAMATSU; Takuya YOKOI; Kosuke SHINTANI et al. Bioabsorbable nerve conduits three-dimensionally coated with human induced pluripotent stem cell-derived neural stem/progenitor cells promote peripheral nerve regeneration in rats. online. *Scientific Reports*, roč. 11 (2021), č. 1, s. 4204. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83385-9>.
- [61] SROKOWSKI, E. M. a K. A. WOODHOUSE. 2.20 Decellularized Scaffolds. online. In: DUCHEYNE, Paul (ed.). *Comprehensive Biomaterials II*, s. 452–470. Oxford: Elsevier, 2017. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100691-7.00055-0>.
- [62] GRISALES, Paula A.; Justine M. AZIZ; Sean M. MUIR; Domenica I. MARINO; Catherine LA POINTE et al. Chapter 14 - How the transplant landscape is changing in the regenerative medicine era. online. In: ORLANDO, Giuseppe a Shaf KESHAVJEE (ed.). *Organ Repair and Regeneration*, s. 273–284. Academic Press, 2021. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819451-5.00009-3>.
- [63] GILPIN, Anna a Yong YANG. Decellularization Strategies for Regenerative Medicine: From Processing Techniques to Applications. online. *BioMed Research International*, roč. 2017 (2017), s. 9831534. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2017/9831534>.
- [64] *decellularization*. Webové sídlo. 2023. Dostupné z: <https://dictionary.cambridge.org/us/dictionary/english/decellularization>. [citováno 2023-11-25].
- [65] ZHANG, Xuewei; Xi CHEN; Hua HONG; Rubei HU; Jiashang LIU et al. Decellularized extracellular matrix scaffolds: Recent trends and emerging strategies in tissue engineering. online. *Bioactive Materials*, roč. 10 (2021), s. 15–31. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.09.014>.
- [66] TANZER, Marvin L. Current concepts of extracellular matrix. online. *Journal of Orthopaedic Science*, roč. 11 (2006), č. 3, s. 326–331. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00776-006-1012-2>.
- [67] KULAR, Jaspreet K; Shouvik BASU a Ram I SHARMA. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. online. *Journal of Tissue Engineering*, roč. 5 (2014), s. 2041731414557112. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/2041731414557112>.
- [68] GODFREY, Maurice. Chapter 22 - Extracellular Matrix. online. In: BARNES, Peter J.; Jeffrey M. DRAZEN; Stephen I. RENNARD a Neil C. THOMSON (ed.). *Asthma*

- and COPD (Second Edition), s. 265–274. Oxford: Academic Press, 2009. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374001-4.00022-5>.
- [69] Extracellular Matrix. online. In: *Physiopedia*. Dostupné z: [https://www.physiopedia.com/Extracellular\\_Matrix](https://www.physiopedia.com/Extracellular_Matrix). [citováno 2023-12-04].
- [70] ENGIN, Ayse Basak; Dragana NIKITOVIC; Monica NEAGU; Petra HENRICH-NOACK; Anca Oana DOCEA et al. Mechanistic understanding of nanoparticles' interactions with extracellular matrix: the cell and immune system. online. *Particle and Fibre Toxicology*, roč. 14 (2017), č. 1, s. 22. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12989-017-0199-z>.
- [71] VELLEMAN, S. G. The Role of the Extracellular Matrix in Skeletal Development I. online. *Poultry Science*, roč. 79 (2000), č. 7, s. 985–989. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ps/79.7.985>.
- [72] *bioprinting*. Webové sídlo. 2023. Dostupné z: <https://dictionary.cambridge.org/us/dictionary/english/bioprinting>. [citováno 2023-11-24].
- [73] Bioprinting explained (simply!). online. In: *CELLINK*. Dostupné z: <https://www.cellink.com/blog/bioprinting-explained-simply/>. [citováno 2023-11-24].
- [74] GUNGOR-OZKERIM, P. Selcan; Ilyas INCI; Yu Shrike ZHANG; Ali KHADEMHOSEINI a Mehmet Remzi DOKMECI. Bioinks for 3D bioprinting: an overview. online. *Biomaterials Science*, roč. 6 (2018), č. 5, s. 915–946. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C7BM00765E>.
- [75] DATTA, Pallab; Ananya BARUI; Yang WU; Veli OZBOLAT; Kazim K. MONCAL et al. Essential steps in bioprinting: From pre- to post-bioprinting. online. *Biotechnology Advances*, roč. 36 (2018), č. 5, s. 1481–1504. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.06.003>.
- [76] VARKEY, Mathew; Dafydd O. VISSCHER; Paul P. M. VAN ZUIJLEN; Anthony ATALA a James J. YOO. Skin bioprinting: the future of burn wound reconstruction? online. *Burns & Trauma*, roč. 7 (2019), s. s41038- 019- 0142–7. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s41038-019-0142-7>.
- [77] WANG, Xiaohong. Advanced Polymers for Three-Dimensional (3D) Organ Bioprinting. online. *Micromachines*, roč. 10 (2019), č. 12, s. 814. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/mi10120814>.
- [78] AWARENESS, Pharma. *What is 3D Bioprinting? Basic Principles, Techniques, and Application of 3D Bioprinting*. -. 2021-07-13. Dostupné z: <https://www.pharmawareness.com/what-is-3d-bioprinting-basic-principles-techniques-and-application-of-3d-bioprinting/>. [citováno 2023-11-24].
- [79] *What is Lyophilization? How Does it Work? Millrock Technology, Inc.* Dostupné z: Millrock Technology, Inc, <https://www.millrocktech.com/lyosight/lyobrary/what-is-lyophilization/>. [citováno 2023-12-04].




- [80] AFFAIRS, Office of Regulatory. Lyophilization of Parenteral (7/93). online. FDA. 2022-05-04. Dostupné z: <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-guides/lyophilization-parenteral-793>.
- [81] CAPUANA, Elisa; Francesco LOPRESTI; Francesco CARFÌ PAVIA; Valerio BRUCATO a Vincenzo LA CARRUBBA. Solution-Based Processing for Scaffold Fabrication in Tissue Engineering Applications: A Brief Review. online. *Polymers*, roč. 13 (2021), č. 13, s. 2041. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13132041>.
- [82] DORAN, Pauline M. Chapter 11 - Unit Operations. online. In: DORAN, Pauline M. (ed.). *Bioprocess Engineering Principles (Second Edition)*, s. 445–595. London: Academic Press, 2013. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-220851-5.00011-3>.
- [83] LABCONCO. Introduction to freeze drying. online. In: *Labconco*. Dostupné z: <https://www.labconco.com/articles/introduction-to-freeze-drying>. [citováno 2023-12-04].
- [84] AMIRAZAD, Halimeh; Mehdi DADASHPOUR a Nosratollah ZARGHAMI. Application of decellularized bone matrix as a bioscaffold in bone tissue engineering. online. *Journal of Biological Engineering*, roč. 16 (2022), č. 1, s. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13036-021-00282-5>.
- [85] LU, Dezhi; Yang LIU; Wentao LI; Hongshi MA; Tao LI et al. Development and Application of 3D Bioprinted Scaffolds Supporting Induced Pluripotent Stem Cells. online. *BioMed Research International*, roč. 2021 (2021), s. 4910816. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2021/4910816>.
- [86] *Collagen scaffold production: The freeze drying method*. Webové sídlo. Dostupné z: [https://www.manufacturingchemist.com/news/article\\_page/Collagen\\_scaffold\\_production\\_The\\_freeze\\_drying\\_method/147391](https://www.manufacturingchemist.com/news/article_page/Collagen_scaffold_production_The_freeze_drying_method/147391). [citováno 2023-12-04].
- [87] YU, Yaling; Ali ALKHAWAJI; Yuqiang DING a Jin MEI. Decellularized scaffolds in regenerative medicine. online. *Oncotarget*, roč. 7 (2016), č. 36, s. 58671–58683. Dostupné z: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10945>.
- [88] BROUGHAM, Claire M.; Tanya J. LEVINGSTONE; Nian SHEN; Gerard M. COONEY; Stefan JOCKENHOEVEL et al. Freeze-Drying as a Novel Biofabrication Method for Achieving a Controlled Microarchitecture within Large, Complex Natural Biomaterial Scaffolds. online. *Advanced Healthcare Materials*, roč. 6 (2017), č. 21. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adhm.201700598>.
- [89] DUSSOYER, Mélissa; Anna MICHOPLOU a Patricia ROUSSELLE. Decellularized Scaffolds for Skin Repair and Regeneration. online. *Applied Sciences*, roč. 10 (2020), č. 10, s. 3435. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/app10103435>.
- [90] LIU, Na; Xiaopei ZHANG; Qingxia GUO; Tong WU a Yuanfei WANG. 3D Bioprinted Scaffolds for Tissue Repair and Regeneration. online. *Frontiers in Materials*, roč. 9 (2022). ISSN 2296-8016. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmats.2022.925321>.

- [91] GLOVER, Katie; Essyrose MATHEW; Giulia PITZANTI; Erin MAGEE a Dimitrios A. LAMPROU. 3D bioprinted scaffolds for diabetic wound-healing applications. online. *Drug Delivery and Translational Research*, roč. 13 (2023), č. 8, s. 2096–2109. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13346-022-01115-8>.
- [92] ABBOTT, Alycia; Mattea E. GRAVINA; Mobin VANDADI; Nima RAHBAR a Jeannine M. COBURN. Influence of lyophilization primary drying time and temperature on porous silk scaffold fabrication for biomedical applications. online. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, roč. 111 (2023), č. 1, s. 118–131. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37451>.
- [93] HORAKOVA, J.; P. MIKES; A. SAMAN; V. JENCOVA; A. KLAPSTOVA et al. The effect of ethylene oxide sterilization on electrospun vascular grafts made from biodegradable polyesters. online. *Materials Science and Engineering: C*, roč. 92 (2018), s. 132–142. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.06.041>.
- [94] HORAKOVA, Jana; Petr MIKES; David LUKAS; Ales SAMAN; Vera JENCOVA et al. Electrospun vascular grafts fabricated from poly(*L*-lactide-co- $\epsilon$ -caprolactone) used as a bypass for the rabbit carotid artery. online. *Biomedical Materials*, roč. 13 (2018), č. 6, s. 065009. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aade9d>.
- [95] DAŠEK, Martin. Tubulární vzorky z polykaprolaktonu vyráběné pomocí bezjehlového elektrostatického zvláknování. online. 2022-12-19. Dostupné z: <https://dspace.tul.cz/handle/15240/166760>.
- [96] ŘIČICOVÁ, Michaela. Monitorování vnitřní struktury nanovláknenných vrstev pomocí obrazové analýzy. online. 2018-12-16. Dostupné z: <https://dspace.tul.cz/handle/15240/112507>.
- [97] SIVAN, M.; D. MADHESWARAN; S. HAUZEROVA; V. NOVOTNY; V. HEDVICAKOVA et al. AC electrospinning: impact of high voltage and solvent on the electrospinnability and productivity of polycaprolactone electrospun nanofibrous scaffolds. online. *Materials Today Chemistry*, roč. 26 (2022), s. 101025. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2022.101025>.
- [98] JIRKOVEC, Radek; Pavel HOLEC; Sarka HAUZEROVA; Alzbeta SAMKOVA; Tomas KALOUS et al. Preparation of a Composite Scaffold from Polycaprolactone and Hydroxyapatite Particles by Means of Alternating Current Electrospinning. online. *ACS Omega*, roč. 6 (2021), č. 13, s. 9234–9242. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00644>.

## Přílohy

Přílohy jsou v této práci uchovány v podobě QR kódů. Vzhledem k velkému počtu kódů a jejich délce byly tyto kódy uloženy v podobě PDF a přeformátovány do podoby QR kódů.

Tabulka P 1– Tabulkový seznam příloh s QR kódy

Jméno přílohy	Doplnění kapitoly	Popis obsahu přílohy	QR kód
Příloha 1	2.2.2.3	Kód pro automatické statistické vyhodnocení naměřených dat	
Příloha 2	2.2.4.3 2.3.2.6	Upravený kód pro automatické měření průměrů vláken	
Příloha 3	2.3.2.6	Kód pro statistické vyhodnocení průměrů vláken a vytvoření histogramů s jejich průnikem	
Příloha 4	2.3.2.7	Kód pro grafické vykreslení intervalů spolehlivosti a jejich překrytí pro testování hypotéz	
Příloha 5	2.5.1	Kód vyhodnocení mechanických zkoušek a vytvoření grafu trhací zkoušky s možností po přepočítání na pevnost v MPa a prodloužení v %	