



# Vliv degradace na mechanické vlastnosti nanovlákných polyesterových materiálů

## Bakalářská práce

*Studijní program:* B3107 – Textil

*Studijní obor:* 3106R016 – Textilní technologie, materiály a nanomateriály

*Autor práce:* **Maxim Lisenko**

*Vedoucí práce:* Ing. Věra Jenčová, Ph.D.





# Effect of degradation on the mechanical properties of nanofibrous polyester materials

## Bachelor thesis

*Study programme:* B3107 – Textil  
*Study branch:* 3106R016 – Textile Technologies, Materials and Nanomaterials  
*Author:* **Maxim Lisenko**  
*Supervisor:* Ing. Věra Jenčová, Ph.D.



## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Maxim Lisnenko**  
Osobní číslo: **T15000237**  
Studijní program: **B3107 Textil**  
Studijní obor: **Textilní technologie, materiály a nanomateriály**  
Název tématu: **Vliv degradace na mechanické vlastnosti nanovláknenných polyesterových materiálů**  
Zadávací katedra: **Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat rešerši na dané téma.
2. Optimalizace enzymatické degradace nanovláknenných materiálů připravených z polyesterů: PCL, PLCL a jejich směsi.
3. Analýza morfologie materiálů před degradací.
4. Charakteristika materiálů v průběhu degradace: monitoring úbytku hmotnosti (gravimetricky), stanovení molekulové hmotnosti polymeru ve zbylém materiálu (chromatograficky, GPC), stanovení krystalinity polymeru ve zbylém materiálu (kalorimetricky, DSC), pozorování změny morfologie materiálu v průběhu degradace.
5. Měření mechanických vlastností nanovláknenných materiálů před a v průběhu degradace.
6. Porovnání a vyhodnocení dosažených výsledků.

Rozsah grafických prací: dle potřeby dokumentace

Rozsah pracovní zprávy: 40-60 dle potřeby

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:


1. Dong Y., Liao S., Ngiam M., Chan K.C., Ramakrishna S.. Degradation Behaviors of Electrospun Resorbable Polyester Nanofibers. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2009, 15(3): 333-351. doi:10.1089/ten.teb.2008.0619.
2. Gan Z., Yu D., Zhong Z., Liang Q., Jing X. Enzymatic degradation of poly(e-caprolactone)/poly(dl-lactide) blends in phosphate buffer solution. 1999, 40(10):2859-2862.
3. Bikiaris D.N. Nanocomposites of aliphatic polyesters: An overview of the effect of different nanofillers on enzymatic hydrolysis and biodegradation of polyesters. *Polymer Degradation and Stability*. 2013, 98(9): 1908-1928.
4. Zeng, J., Chen, X., Liang, Q., Xu, X. and Jing, X. (2004), Enzymatic Degradation of Poly(L-lactide) and Poly(e-caprolactone) Electrospun Fibers. *Macromol. Biosci.*, 4: 11181125. doi:10.1002/mabi.20040009
5. SCOTT Gerald. *Degradable Polymers : Principles and applications*. 2nd Edition. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2002. 493 pages. ISBN 1-4020-0790-6 .
6. KROISOVÁ, Dora. *Biodegradovatelné polymery - úvod do problematiky*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009. ISBN 978-80-7372-468-9

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Věra Jenčová, Ph.D.


Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

Datum zadání bakalářské práce: 13. října 2017

Termín odevzdání bakalářské práce: 4. května 2018

  
Ing. Jana Drašarová, Ph.D.  
děkanka



  
prof. RNDr. David Lukáš, CSc.  
vedoucí katedry

V Liberci dne 13. října 2017

## Prohlášení

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

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

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

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

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum:

Podpis:

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěl bych poděkovat především své vedoucí Ing. Věře Jenčové, Ph.D. za pomoc při zpracování mé bakalářské práce, za cenné rady, odborné konzultace a také za veškerý věnovaný čas. Děkuji také pánům Ing. Ondřeji Novákovi, Ph.D. (pracoviště KNT), Mgr. Vítu Novotnému (pracoviště NTI), Ing. Luboši Běhálkovi, Ph.D. (pracoviště KSP) za vstřícnou pomoc a návrhy v dané problematice, za přívětivé jednání a za svůj čas, který mi věnovali. Zároveň bych rád poděkoval své rodině a blízkým za trpělivost a podporu během celého studia.

## **ABSTRAKT**

Hlavním cílem práce je studium mechanických vlastností polyesterových nanovláknenných materiálů v průběhu degradace. Degradace materiálů bylo docíleno pomocí enzymů, které katalyzují rozklad polyesterů. V teoretické části je stručně popsána výroba nanovláknenných vrstev pomocí elektrostatického zvlákňování, dále jsou krátce charakterizovány chemicko-fyzikální vlastnosti použitých materiálů – tedy PCL, PLCL a jejich směsi, a dále jsou popsány typy degradací. V experimentální části je uveden popis degradování materiálů – jedná se o simulace procesu degradace pomocí specifických enzymů (Lipáza a Proteináza K), s cílem připravit materiály v různých stupních degradace a změřit jejich mechanické vlastnosti. V rámci degradace byly stanovovány váhový úbytek, změna molekulové hmotnosti, morfologie materiálů a změna krystalinity. Pro charakteristiku mechanických vlastností byla použita zkouška tahem. Byly určovány napěťové a deformační charakteristiky, kterými jsou pevnost v tahu, tažnost a modul pružnosti. V závěru jsou vyhodnoceny výsledky práce, které ukazují, že se v průběhu degradace výrazně zhoršují mechanické vlastnosti u všech testovaných materiálů.

*KLÍČOVÁ SLOVA:* nanovláknna, degradace, polyestery, enzymatická degradace, mechanické vlastnosti

## **ABSTRACT**

The main aim of this work is a study the mechanical properties of polyester nanofibrous materials during degradation. The degradation of the materials was achieved by using enzymes that catalyse the decomposition of polyesters. The theoretical part describes, in brief, the production of nanofibrous layers by electrospinning. In addition to this, the part deals with the characteristic of the chemical-physical properties of the used materials such as PCL, PLCL and their Blend in particular, as well as a brief description of degradation types. The experimental part is focused on the description of the degradation of materials, which represents a simulation of the degradation process by using specific enzymes (Lipase and Proteinase K) in order to prepare the materials in different degrees of degradation and to measure their mechanical properties. Weight loss, molecular weight change, material morphology and crystallinity change were the determinants of degradation. A pull test was used as a determinant for mechanics. During the test tensile and deformation characteristics, such as tensile strength, ductility and the elastic modulus, are observed. Finally, the results of the work, which show that the degradation has a significant influence on the mechanical properties that deteriorate during the testing, are evaluated.

*KEY WORDS:* nanofibers, degradation, polyesters, enzymatic degradation, mechanical properties



# Obsah

Obsah .....	8
Seznam zkratk .....	10
Úvod.....	11
TEORETICKÁ ČÁST .....	12
<b>1. Nanovláknenné materiály pro medicínské aplikace .....</b>	<b>12</b>
1.1 Použití v medicíně .....	12
1.2 Příprava nanovláken .....	13
1.3 Vstupní materiály .....	17
<b>2. Typy degradací .....</b>	<b>20</b>
<b>3. Biodegradace polymerů .....</b>	<b>21</b>
3.1 Biodegradace nanovláknenných materiálů .....	22
<b>4. Vlastnosti nanovláknenných materiálů pro medicínské aplikace .....</b>	<b>22</b>
4.1 Stanovení mechanických vlastností .....	23
4.2 Stanovení molekulových hmotností .....	24
4.3 Krystalinita a její měření.....	25
4.4 Elektronová mikroskopie .....	27
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	28
<b>5. Materiály a metody .....</b>	<b>28</b>
5.1 Použité materiály a chemikálie .....	28
5.2 Použité přístroje a programy .....	29
5.3 Použité metody .....	30
5.3.1 Příprava vzorků pro degradaci a mechanické testování .....	30
5.3.2 Metoda dosažení degradace .....	30
5.3.3 Mechanické testování .....	30
5.3.4 Příprava vzorků pro SEM .....	31
5.3.5 Příprava vzorků pro GPC .....	31
5.3.6 Příprava vzorků pro DSC.....	32
<b>6. Výsledky a diskuze .....</b>	<b>33</b>
6.1 Optimalizace degradace a mechanického testování na první sadě polyesterových vláknenných materiálů .....	33
6.1.1 Morfologie prvních testovaných vláknenných vrstev .....	33

6.1.2	<i>Vliv orientace (příčná a podélná) a stavu (suchý a mokrý) materiálů na mechanické vlastnosti</i> .....	34
6.1.3	<i>Monitoring průběhu degradace u první sady polyesterových vlákenných materiálů</i> .....	36
6.2	<i>Optimalizace degradace a mechanického testování na druhé sadě polyesterových vlákenných materiálů s rozšířeným množstvím Blendů</i> .....	43
6.2.1	<i>Morfologie druhé sady testovaných vlákenných vrstev</i> .....	43
6.2.2	<i>Optimalizace mechanického testování na mokrých a suchých vzorcích druhé sady materiálů</i> .....	45
6.2.3	<i>Monitoring průběhu degradace u druhé sady polyesterových vlákenných materiálů</i> .....	45
	Závěr .....	55
	Literatura .....	57
	Přílohy .....	60

## Seznam zkratek

dH<sub>2</sub>O – Destilovaná voda

DSC – Diferenciální skenovací kalorimetrie

GPC – Gelová permeační chromatografie

IS – Interval spolehlivosti

NC – Negativní kontrola

PBS – Fosfátový pufr (phosphate-buffered saline)

PCL – Polykaprolakton

PDO – Polydioxanon

PE – Polyethylen

PEO – Polyethylenoxid

PET – Polyethylentereftalát

PGA – Polyglykolová kyselina

PLA / PLLA – Polymléčná kyselina

PLCL – Polymléčná kyselina-co-kaprolakton

PLGA – Kopolymer kyseliny polymléčné a polyglykolové

PVA – Polyvinylalkohol

PVDF – Polyvinylidendifluorid

PVP – Polyvinylpyrrolidon

SD – Směrodatná odchylka

SEM – Skenovací elektronová mikroskopie

TEM – Transmisní elektronová mikroskopie

## Úvod

V posledních letech bylo řečeno mnoho o nanovláknenných materiálech a polymerech, které hrají klíčovou roli v jejich vývoji. Polymery se staly jedněmi z mnoha průmyslově využívaných materiálů (ve stavebnictví, v elektrotechnice, v automobilovém průmyslu, pro výrobu obalů, nátěrových hmot a textilních vláken), díky dobrým fyzikálním, chemickým a mechanickým vlastnostem, vysoké stálosti, snadné zpracovatelnosti a dostupnosti surovinových zdrojů. Podle původu se polymery dělí na přírodní a syntetické.

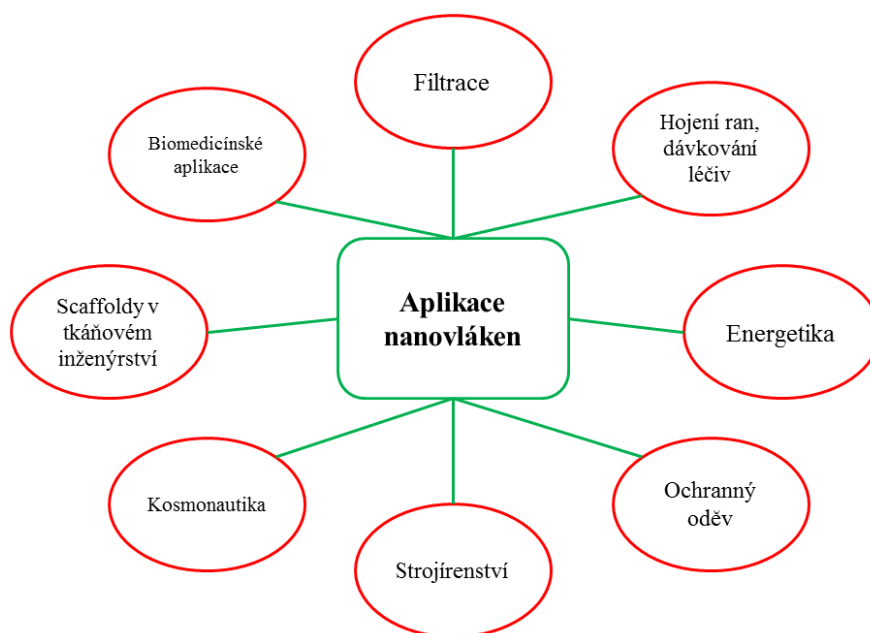
V zásadě se všechny organické polymery rozkládají, rozdíl je pouze ve způsobu degradace a v čase. Stárnutí a degradaci polymerů způsobují: světlo, kyslík, ozón, voda, teplota, atmosférické nečistoty a mikroorganismy. Degradace by měla být sledována, aby bylo možné vyhodnotit životnost polymerů v různých aplikacích. Vývoj řady biologicky rozložitelných polymerních produktů s předem stanovenou životností je zajímavý v nejméně čtyřech hlavních oblastech. Jedná se o: a) obalové materiály; b) mulčovací fólie v zemědělství; c) jednorázové předměty (nádobí, jako jsou např. lžíce, šálky apod.); d) lékařské aplikace, při nichž musí dojít k degradaci in vivo přirozeným metabolismem v lidském nebo zvířecím těle. Nejatraktivnější aplikací je medicína, kde se používají jak nedegradabilní, tak degradabilní materiály, například při výrobě vaskulárních náhrad, zubních a kostních implantátů, chirurgických nití či náhrad kožní tkáně.

Cílem práce je studium vlivu procesu degradace na mechanické vlastnosti polyesterových materiálů. Práce se skládá ze dvou částí. Teoretická část práce se zabývá úvodem do problematiky nanovláknenných materiálů, jejich degradací a mechanickým testováním. Tato část se stává oporou pro další část práce. Experimentální část se zabývá enzymatickou degradací materiálů a následnou analýzou mechanických vlastností, v závislosti na stupni degradace. Byly použity následující nanovláknenné materiály: PCL, PLCL a jejich směsi (blends) v různých poměrech (1:1, 1:3 a 3:1). Na základě získaných výsledků bylo provedeno vyhodnocení celého experimentu.

## TEORETICKÁ ČÁST

### 1. Nanovláknenné materiály pro medicínské aplikace

Nanovláknna jsou speciálně vyráběná vlákna o průměru menším než 1  $\mu\text{m}$ , délka vláken záleží na použité technologii výroby, v případě nanovláken vyrobených při electrospinningu, lze považovat délku za nekonečnou. Vlákna mají následující vlastnosti: velký specifický měrný povrch, malá velikost pórů – dobrá prodyšnost, vysoká porozita, možnost funkcionalizovat nanovláknenný materiál [1]. Lze je použít v řadě aplikací:



Obr. 1: Aplikace elektrostaticky zvlákněných nanovláken v různých odvětvích

#### 1.1 Použití v medicíně

a) Tkáňové inženýrství – je multidisciplinární obor sloužící k vytvoření náhrady nebo modifikace funkce tkání [2]. Nejprve se vytvoří návrh náhrady, pak následuje izolace a kultivace požadovaných buněk, výroba a následné osazení scaffoldu<sup>1</sup>, potom probíhá kultivace a posledním krokem je implantace do těla pacienta. Scaffoldy můžeme aplikovat v tkáňovém inženýrství kostí, chrupavek, vaziv, kůže, cévních a nervových tkáních a kosterních svalů a jako prostředek pro cílené dopravy léčiv, bílkovin a DNA.

<sup>1</sup> Z angličtiny lešení, konstrukce, skelet; ve tkáňovém inženýrství vyjadřuje podpurnou konstrukci pro růst buněk a celých tkání.

Důležitými podmínkami pěstování uměle vytvořené tkáně jsou vysoce porézní mikrostruktura a velká plocha povrchu, která pomáhá k vrůstání tkáně do scaffold [2].

b) Systémy cíleného/řízeného doručení léčiv „Drug delivery systems“ do místa terapeutického účinku, tzv. targeting, které vedou k žádoucí distribuci léčiva do tkáně či orgánu postiženého patologickým procesem. Principem dodávky léku polymerními nanovláknými je to, že rychlost rozpuštění částičky léku se zvyšuje s rostoucí plochou povrchu léku i odpovídajícího nosiče. Existuje několik možností inkorporace, ale většinou se s výhodou dají použít elektrostaticky zvlákněná polymerní nanovlákná, díky relativně snadnému začlenění léčiv během zvláknovacího procesu [2].

c) Obvazoviny – další aplikací nanovláken mohou být kryty ran, které je musí chránit před průnikem bakterií, musí také udržovat vhodnou vlhkost hojení, mít snadnou aplikaci a být lehce odstranitelné z rány, dále musí mít dostatečné mechanické vlastnosti a velký měrný povrch, který je účinný pro sorpci kapalin. Kolagen, chitosan, želatina, alginát, silk protein a karboxyethylchitosan jsou běžnými polymery, které se používají pro výrobu nanovlákných krytů ran. Mohou obsahovat začleněná aditiva, která podporují normální růst tkání [2].

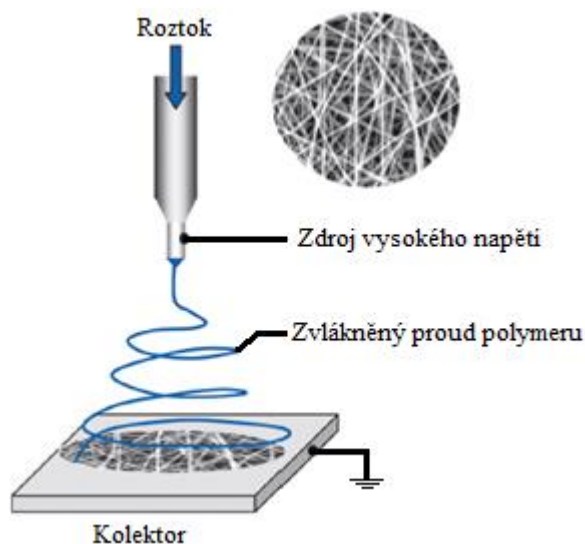
## 1.2 Příprava nanovláken

Při přípravě nanovláken jsou sledovány tloušťka a průměrná délka vlákna, plošná nebo objemová hmotnost, porozita a měrný povrch. V současnosti existuje několik možností výroby polymerních nanovláken: Electrospinning (elektrické zvláknování), Drawing (dloužení), Template synthesis (syntéza šablonou), Phase separation (fázová separace), Melt-blowing (foukání taveniny), Forcespinnig (odstředivé zvláknování) a výroba bikomponentních vláken.

Elektrostatické zvláknování je technika, která byla poprvé pozorována v roce 1897 fyzikem Rayleighem. Elektrostaticky zvlákněná nanovlákná vrstva se vyznačuje velkým specifickým povrchem, vysokou pórovitostí, malou velikostí pórů, průměry vláken se pohybují v intervalu 100 až 750 nm. Během elektrostatického zvláknování se používá vysoké napětí k vytvoření elektricky nabitého proudu polymerního roztoku nebo taveniny, ty jsou následně přitahovány vlivem elektrického potenciálu. Díky vysokému elektrickému napětí mezi nabitými částicemi kapaliny a uzemněným kolektorem vzniká tzv. Taylorův kužel. V okamžiku, kdy je překonána prahová hodnota

napětí, elektrostatické síly překonají povrchové napětí kapičky polymeru a jeden nebo dva nabitě proudy kapaliny jsou vytahovány z Taylorova kužele. Vlákna procházející atmosférou ztuhnou po odpaření rozpouštědla a vytvoří vláknennou vrstvu na povrchu kolektoru [3].

Ve své práci se Bhardwaj (2010) zabývá vlivem různých parametrů na electrospinning. Uvádí, že procesními podmínkami jsou okolní teplota, vlhkost, vzdálenost od kolektoru, použité napětí, elektrické vlastnosti podpůrného materiálu. Materiálovými podmínkami jsou typ polymeru, koncentrace, molekulová hmotnost, viskozita, elektrická vodivost, povrchové napětí, použité rozpouštědlo a aditiva. Při růstu koncentrace polymerního roztoku, roste postupně viskozita a průměr nanovláken. Větší molekulová hmotnost způsobuje menší počet vad ve struktuře. Při nízkých viskozitách vznikají nejen perličky, ale také ve struktuře mohou být patrná různá spojení vláken a svazky vláken. Zvýšení elektrického napětí vede k odstranění perliček. Zvyšující se elektrická vodivost roztoku vede k výrobě více uniformních vláken s menším počtem defektů, také vede k výrobě menších průměrů. Touto metodou lze připravit vlákna nejen z přírodních nebo syntetických polymerů, ale také z polymerů obsahujících různé příměsi v závislosti na použití a požadovaných vlastnostech [4].



Obr. 2: Elektrostatické zvláknění [5]

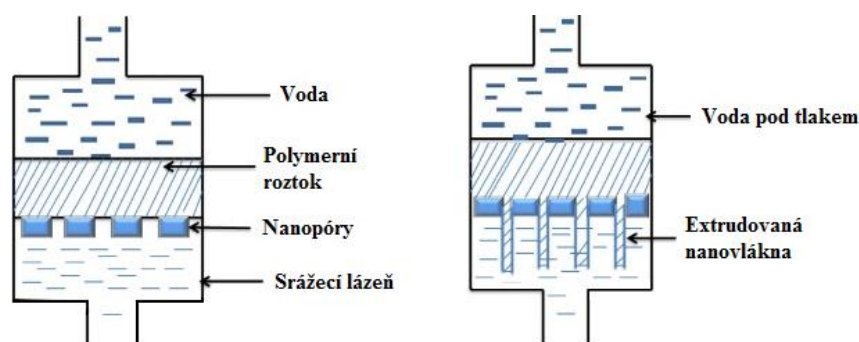
Drawing neboli tažení vláken – z povrchu malé kapky prekursoru (roztok nebo tavenina polymeru) je vytahováno nanovláknem pomocí mikropipety a mikromanipulátoru. Odtahování probíhá definovaným způsobem a konstantní rychlostí. Vzniklé vlákno

může dosáhnout submikronových tloušťek. U této laboratorní technologie nelze dobře kontrolovat tloušťku vláken [6, 7].



Obr. 3: Schématický princip metody Drawing [7]

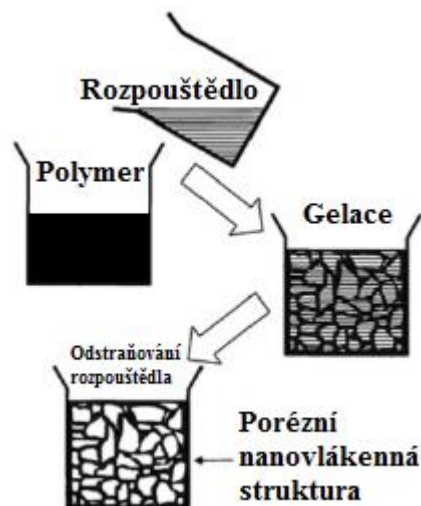
Template synthesis – používá se pouze při laboratorní výrobě, výhodou je možnost řízení průměrů vláken. Tento postup využívá speciální membrány s velmi malými otvory, kterými je protlačován kapalný prekurzor (zpravidla roztok polymeru) do srážecí lázně [6, 8].



Obr. 4: Schématický princip metody Template synthesis [8]

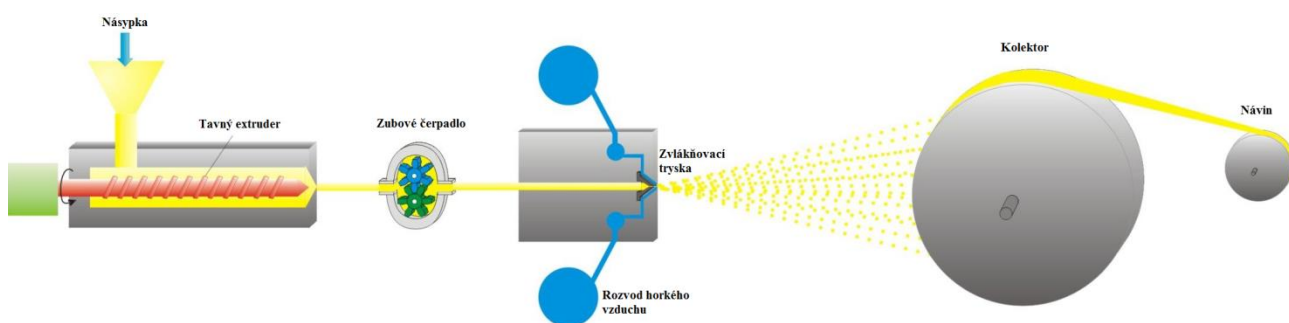
Fázová separace – mechanismem této metody je oddělení dvou fyzikálně odlišných fází. Nejprve se vytvoří homogenní fáze, potom při dosažení teploty gelace, která závisí na koncentraci polymeru v roztoku, dojde k vytvoření gelu. Poté je původní rozpouštědlo vymýváno vodou a následuje vysušení pomocí metody mrazového sušení (freeze drying). Vzniká vysoce porézní nanovláknenná struktura, v průměru 50 – 500 nm. Tuto laboratorní metodu lze využít pouze u některých polymerů (PLLA, PLGA) [6, 9].





Obr. 5: Schématický princip metody Fázová separace [9]

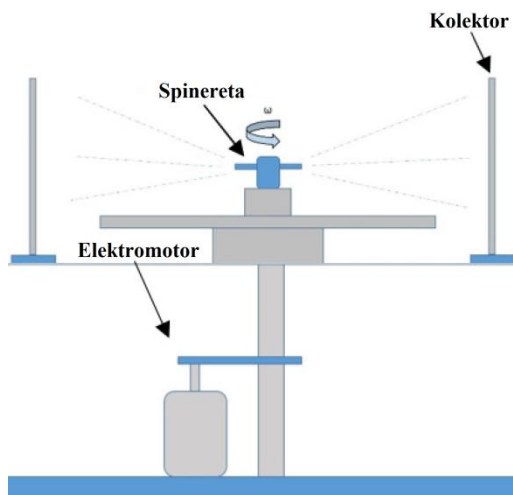
Melt-blowing je další velmi rozšířenou metodou, při které vznikají vlákna o průměru 2 – 4 mikrony, vyznačující se velkým měrným povrchem. Je možné vyrobit textilie z mnohem jemnějších vláken (0,1 mikronu) nebo naopak z vláken běžných textilních jemností (10 – 15 mikronů). Probíhá tavení polymeru a doprava taveniny k hubici. Při tomto postupu je tavenina polymeru přiváděna do trysky s mnoha otvory, ke kterým je současně veden ohřátý a stlačený vzduch. Po vytlačení z otvorů následuje strhávání taveniny proudem vzduchu, formování vláken a jejich chlazení. Formování vláknenné vrstvy probíhá na porézním sběrném bubnu nebo pásu, poté následuje pojení a navíjení. Vlastnosti výrobku lze ovlivňovat podmínkami procesu, např. vlákna jsou tím jemnější, čím je nižší viskozita taveniny, vyšší teplota vzduchu, vyšší dávkování vzduchu / nižší dávkování polymeru. Výhodou této metody je možnost efektivně zpracovávat polymery z taveniny (PE, PP, PET) [10].



Obr. 6: Schématický princip metody Melt-blowing

Odstředivé zvláknování – vlákna se tvoří pomocí odstředivých hydrodynamických a kapilárních sil, které vznikají pomocí rotací duté spinnerety, do které byl umístěn polymerní roztok či tavenina. Dále jsou vlákna dlužena a zachytávána na kolektorech.

Základní parametry nastavení zařízení, tedy velikost otáček, vzdálenost kolektoru od spinnerety a průměr spinnerety, mají vliv na kvalitu zvlákňování. Nekonečná vlákna s průměrem větším než 200 nm se vytvoří, pokud jsou parametry koncentrace polymeru, s ní související viskozita roztoku a obvodová rychlost dostatečně velké. Výhodou této technologie je relativně jednoduché zařízení a velká produkce [11, 12].



Obr. 7: Schématický princip metody Forc spinning [12]

### 1.3 Vstupní materiály

Materiálem pro přípravu nanovláken bývá zpravidla nějaký polymer, který se připravuje z polymerního roztoku. Lze použít jak syntetické, tak přírodní polymery, které zároveň mohou být degradabilní a nedegradabilní.

#### a) Přírodní polymery a jejich deriváty

Tato skupina zahrnuje nanovláken z kolagenu a želatiny, z celulosy a jejích derivátů, z chitinu a chitosanu.

Tab. 1: Běžně využívané přírodní polymery pro výrobu nanovláken [6]

Přírodní polymery a jejich deriváty	Použití ve tkáňovém inženýrství
<i>Kolagen</i> je fibrilární, ve vodě nerozpustná bílkovina, polypeptid tvořící pojivovou tkáň, základní strukturní jednotkou je trojšroubovice, tvořená aminokyselinami (většinou glycin, prolin a hydroxyprolin).	Kolagen je nejpoužívanějším proteinem ve tkáňovém inženýrství na přípravu scaffoldů a cévních náhrad, protože má nízkou imunogenicitu. Zesíťováním kolagenu a kombinací s jinými biomateriály dojde ke

<p>V současnosti je známo 27 různých typů kolagenů a každý z nich plní v rámci organismu specifickou roli.</p>	<p>zvýšení jeho mechanické pevnosti a ke kontrole adheze buněk. Např. kopolymer kolagenu a polyuretanu (PUR) podporuje růst endoteliálních buněk.</p>
<p><i>Želatina</i> se získává denaturací kolagenu. Hydrolyzou šlach, kůží a kostí za teplot vyšších než 40°C vzniká želatina, která je rozpustná v řadě běžných rozpouštědel (voda, zředěné organické a minerální kyseliny) a má horší mechanické vlastnosti. Základní stavební jednotkou jsou <math>\alpha</math>-aminokyseliny.</p>	<p>Želatina má dobrou biokompatibilitu a biodegradabilitu, proto se používá při výrobě scaffoldů a želatinová vlákna jsou využívána v regenerativní medicíně.</p>
<p><i>Celulosa</i> je polysacharid, tvořený z poly-<math>\beta</math>(1,4)-D-glukosových jednotek. Kvůli silným intramolekulárním vodíkovým vazbám je nerozpustná v běžných rozpouštědlech. Příkladem derivátu celulosy je oxidovaná celulosa, která je lépe rozpustná.</p>	<p>Celulóza je nejrozšířenějším biopolymerem na Zemi, nejvíce se používá k přípravě nanovláken, která urychlují zastavení krvácení nebo mají anibakteriální účinek, vhodný k hojení ran po popálení.</p>
<p><i>Chitin</i> je polysacharid, vyskytující se ve škeblích, skořápkách krabů a raků. Je to málo rozpustná přírodní látka. Deacetylací (zmýdlněním) chitinu vzniká chitosan, který je také nerozpustný ve vodě a běžných rozpouštědlech, ale rozpouští se v organických kyselinách (mravenčí, mlečná).</p>	<p>Chitosan se častěji používá ve tkáňovém inženýrství, je biodegradabilní a antibakteriální, a je druhým nejrozšířenějším biopolymerem. Vlákna z něj se hodí jako trombogenní a hemostatická a mají dobrou adhezi k lidskému epidermálnímu fibroblastu, proto jsou dobrými kandidáty na nosiče ve tkáňovém inženýrství.</p>

## b) Syntetické polymery

Celá řada syntetických polymerů se používá pro tkáňové inženýrství, dají se dělit z hlediska biodegradability do dvou skupin: nebiodegradabilní a biodegradabilní. K nebiodegradabilním patří PVA, PEO, PVP, PET, PVDF. Zástupci biodegradabilních jsou PGA, PLA, PLGA, PCL, PLCL, PDO. Vzhledem k charakteru práce budou dále rozvedeny pouze ty ze skupiny biodegradabilních.

Většina biodegradabilních polymerů patří do skupiny polyesterů. Polyesterů obsahují ve svém základním makromolekulárním řetězci hydrolyzovatelnou esterovou vazbu. Mezi nejvýznamnější biodegradující alifatické polyesterů patří kyselina polyglykolová (PGA), kyselina polylactonová (PLA) a jejich kopolymer (PLGA), polykaprolakton (PCL) dnes jeden z nejzkoumanějších polymerů a polylactonová kyselina-co-kaprolakton (PLCL). Alifatické polyesterů představují obrovský význam pro tkáňové inženýrství, systémy cílené dopravy léčiv či implantáty. To je spojeno s jejich biokompatibilitou, která je definována jako schopnost materiálu vyvolávat přijatelnou odezvu hostitele v biologickém prostředí.

Tab. 2: Běžně využívané alifatické polyesterů pro výrobu nanovláken [13]

Polymery	T <sub>g</sub> [°C]	T <sub>m</sub> [°C]	Krystalinita [%]
<p><i>PGA</i> – je tuhý termoplastický materiál s vysokou pevností (až do 250 MPa). Nanovlákná vykazují dobré mechanické vlastnosti i zvýšenou odolnost vůči vnějšímu prostředí.</p>	36	225	45 – 55
	$\text{H}-\left[ \text{O}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} \right]_n-\text{OH}$		
<p><i>PLA</i> – existuje ve třech isomerických formách: D, L a směs DL. Většinou se používá L isomer, protože je přednostně metabolizován v těle. Porézní PLA nanovlákná lze vytvořit vhodnou volbou rozpouštědel, což přivede ke zvýšení měrného povrchu. Tyto polymery jsou vhodné pro nosiče tělních implantátů, jako vstřebatelné chirurgické nitě a kryty ran.</p>	60 – 65	175	37
	$\text{H}-\left[ \text{O}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} \right]_n-\text{OH}$		
<p><i>PCL</i> – je semikrystalický polymer, dobře kombinovatelný s celou škálou dalších polymerů. Jednou z výhod je pomalejší hydrolyza ve srovnání s PGA a PLA, proto se využívá na dlouhotrvající implantované nosiče buněk či léků. Obvykle se používá v tkáňovém inženýrství, pro regeneraci kostí a v srdečním tkáňovém inženýrství.</p>	- 60	59 – 64	45 – 67
	$\text{H}-\left[ \text{O}-(\text{CH}_2)_5-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} \right]_n-\text{OH}$		

<p><i>PLCL</i> – biodegradabilní a biokompatibilní kopolymer, který se může používat jako náhrada poškozené kůže po popáleninách, jako regenerace kostí, chrupavek, nervové tkáně a také jako cílené dodávání léčiva s řízeným uvolňováním. Molekulová hmotnost, mechanické i fyzikální vlastnosti jsou závislé na předem zvoleném poměru monomerů (L-laktidu a ε-kaprolaktonu).</p>	<p>Podstatný vliv na vlastnosti PLCL má poměr jednotlivých monomerních jednotek, proto se s rostoucím podílem jednoho z nich i vlastnosti PLCL podobají více vlastnostem převažujícího monomeru.</p> $\text{H}-\left[ \text{O}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} \right]_n-\text{O}-(\text{CH}_2)_5-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\left[ \right]_m-\text{OH}$
--	---

Polyestery jsou také využitelné pro řadu dalších aplikací (např. jako obalové materiály či mulčovací fólie). Jsou populární, protože pomáhají snižovat problémy týkající se hromadění konvenčních plastů.

## 2. Typy degradací

Degradace – pochází z latinského jazyka, kde de- znamená "dole" a gradus znamená "krok". Dochází vlastně k nevratnému rozkladnému procesu, který způsobuje podstatné změny struktury a vlastností, vlivem času a vnějších podmínek [13]. Degradáční procesy lze podle vnějších příčin rozdělit na:

a) degradaci mechanickým zatěžováním – obráběcím procesem (mletím, hnětením, válcováním) nebo ultrazvukem. Rychlost degradace závisí především na frekvenci pohybu, na struktuře polymeru, na teplotě a přítomnosti kyslíku [14].

b) degradaci fyzikálně-chemickou: 1) fotodegradace – je degradace vyvolaná zářením, nejčastěji ultrafialovým (290 – 400 nm). Pohlcením světelného záření se zvětší energie makromolekuly, která se dostává do vyššího energetického stavu; 2) termodegradace – probíhá při ní depolymerace, protože polymery jsou senzitivní na teplo, kvůli malé pevnosti kovalentních vazeb, tvořících polymerní strukturu; 3) pyrolýza – působením tepla, bez přístupu kyslíku se přeměňuje rozložitelná hmota na benzín, vodík, metan, plynový nebo těžký olej, oleje s vysokým obsahem alkanů atd. Tento proces

reprezentuje bezodpadový uzavřený cyklus, který probíhá bez znečištění půdy, vody a atmosféry škodlivými emisemi [14, 15].

c) degradaci chemickou – pomocí chemických činidel (voda, kyseliny, zásady, alkoholy, halogeny, amoniak, ozon) probíhá rozklad polymeru na monomerní jednotky. Odolnost vůči chemickým činidlům zvyšuje, je-li polymer v krystalickém stavu [14].

e) biodegradaci – The United States Environmental Protection Agency definuje biodegradaci jako, "Biologický proces, který transformuje nebo mění (metabolickým nebo enzymatickým účinkem) strukturu chemických látek zavedených do životního prostředí." Jinými slovy, je chemickou degradací podmíněnou mikroorganismy, jako jsou houby, bakterie a řasy, při které vzniká oxid uhličitý nebo methan [16].

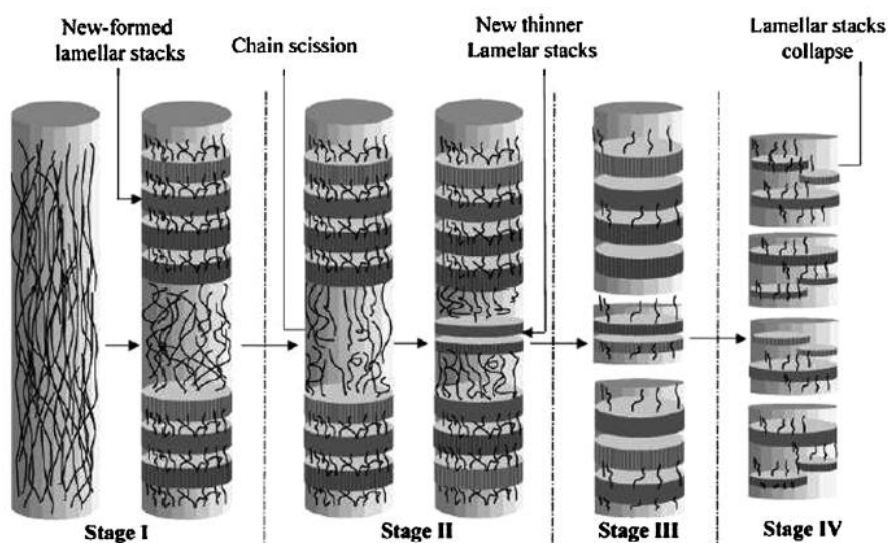
### **3. Biodegradace polymerů**

Počáteční studia o mechanismech biodegradace byla motivována biomedicínskými aplikacemi, při kterých docházelo k rozkladu polymeru působením biologických činitelů, přesněji enzymatickým působením živých organismů. Enzymy jsou látky, které působí jako katalyzátor v živých organismech. Teplota a pH jsou důležitými podmínkami pro enzymatické katalyzované reakce, změna těchto podmínek může způsobit denaturaci enzymů [17].

Rychlost biologické degradace závisí na chemické struktuře polymeru, na morfologii (buď amorfní nebo semikrystalické), na molekulové hmotnosti, konfiguraci, konformaci, větvení, síťování, na typu funkčních skupin a také na různých aditivech, používaných při výrobě polymerů. Syntetické polymery v porovnání s polymery přírodními modifikují snadněji a nejsou imunogenní. Funkcionalizace a modifikace syntetických biodegradabilních polymerů rozšiřuje aplikační možnosti biomateriálů v oblasti biomedicíny a především v tkáňovém inženýrství. Biomateriály a produkty jejich degradace musejí být bezpečné, biokompatibilní, kontrolovaně degradovatelné, netoxické a nekarcinogenní, nesmí podporovat zánět in vivo. Vzhledem k tomu, že se používání těchto materiálů stále zvyšuje, porozumění mechanismům degradace je zásadní [18].

### 3.1 Biodegradace nanovláknenných materiálů

Ve své práci Zong (2003) rozdělil mechanismus degradace polokrystalických PLGA nanovláken do čtyř fází (viz Obr. 8). V první fázi (během 1. dne), vedl rychlý termický krystalizační proces k dvoufázové lamelární struktuře, protože teplota skelného přechodu ( $T_g$ ) je v blízkosti teploty inkubace ( $37\text{ }^\circ\text{C}$ ). Ve druhé fázi (2. až 5. den) začaly polymerní řetězce v amorfních oblastech mezi lamelárními vrstvami degradovat, z důvodu snadného pronikání vody. Tento proces štěpení zvyšuje mobilitu polymerního řetězce, což vede k další krystalizaci a tvoří se tenčí lamely. Ve třetí fázi (den 6. až 11.) se rychlost rozkladu nanovláken zvyšovala kvůli autokatalýze. Vzorek se fragmentoval, protože amorfní oblasti degradovaly rychleji než krystalické oblasti. V tomto stádiu Zong pozoroval narušení nanovláknenné vrstvy při velké ztrátě hmotnosti (40 %). Degradovaný vzorek byl hydrofilnější než počáteční vzorek, kvůli karboxylovým skupinám, které vznikly v důsledku hydrolýzy esterových vazeb. Fáze čtvrtá (den 12.) byla popsána jako ztráta hmotnosti z krystalické oblasti, lamelární vrstvy se začínaly rozpadat [19].



Obr. 8: Čtyřfázový model strukturních a morfologických změn PLGA nanovláknenné vrstvy při degradaci *in vitro* [19]

## 4. Vlastnosti nanovláknenných materiálů pro medicínské aplikace

Použití nanovláken v medicíně vyžaduje specifické vlastnosti, kterými jsou např. mechanická odolnost, pevnost, pružnost, pórovitost, prodyšnost pro plyny a propustnost pro kapaliny, tvarovatelnost.

#### 4.1 Stanovení mechanických vlastností

U nanovláknenných materiálů pro medicínské aplikace je zpravidla vyžadována dlouhodobá trvanlivost v podmínkách použití a odpovídající mechanická odolnost a stabilita. Mechanické vlastnosti ukazují kvalitu materiálů zejména pro medicínské účely, kde se obvykle vyžaduje odolnost vůči komplexním deformacím zahrnujícím i deformace tahové. Existuje velké množství různých způsobů namáhání, které poskytují různé informace o mechanických projevech. Namáhání lze rozdělit na: jednoosé (tah, tlak) nebo víceosé (krut, ohyb). S ohledem na opakování se rozlišuje namáhání prosté a cyklické; s ohledem na čas se dělí na statické, časově závislé (creep) a dynamické namáhání. Také jej ještě můžeme rozdělit na namáhání do přetruhu (ultimativní) nebo na namáhání, kdy nedochází k porušení materiálu. Základním režimem namáhání je jednoosá deformace v tahu. Sleduje se vztah mezi silou a protažením vláken. Na vzorek působí postupně rostoucí síla, dochází k růstu prodloužení až do bodu přetruhu. Kromě těchto základních mechanických vlastností lze z hodnot získaných během zkoušky stanovit i další deformační charakteristiky, např. modul pružnosti [20].

Modul pružnosti v tahu  $E$  (Youngův modul) určuje sklon přímky získané metodou nejmenších čtverců v nejstrmější lineární oblasti tahové křivky (obvykle z počátku tahové křivky). Je měřítkem tuhosti materiálu – jako odporu proti prodloužení. Čím je vyšší modul materiálu, tím je materiál pevnější, a tím je méně protažitelný danou silou [20].

$$E = tg \alpha \quad (1)$$

$E$  - modul pružnosti v tahu [MPa]

$\alpha$  - úhel mezi směrnicí počáteční přímkové části diagramu a osou  $X$

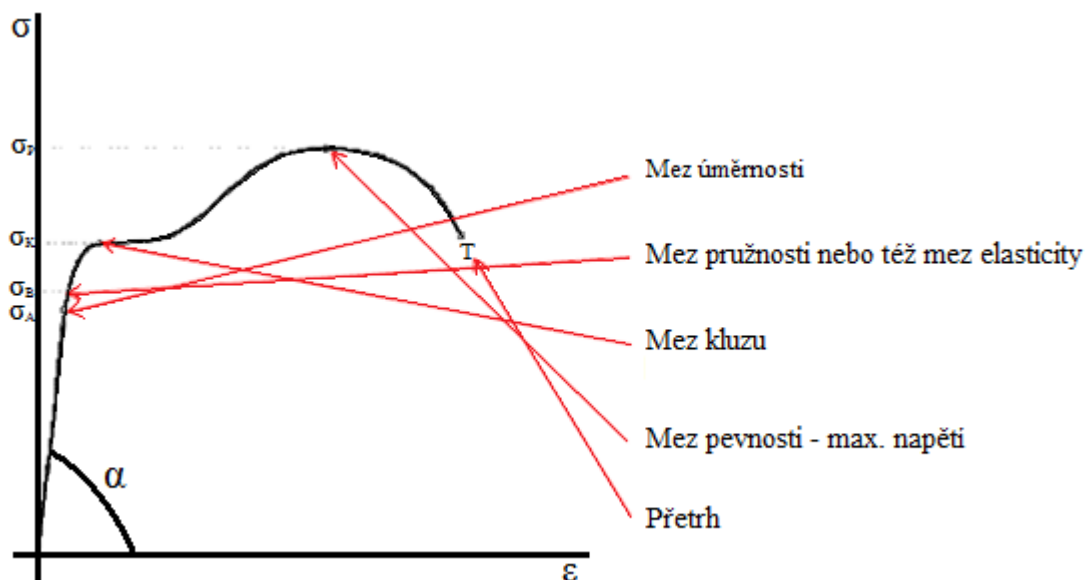
Do meze úměrnosti (viz Obr. 9) platí lineární závislost mezi napětím a poměrnou deformací podle Hookova zákona:

$$\sigma = E \times \varepsilon \quad (2)$$

$\sigma$  - mechanické napětí [MPa]

$\varepsilon$  - poměrná deformace [-]





Obr. 9: Smluvní diagram tahové zkoušky

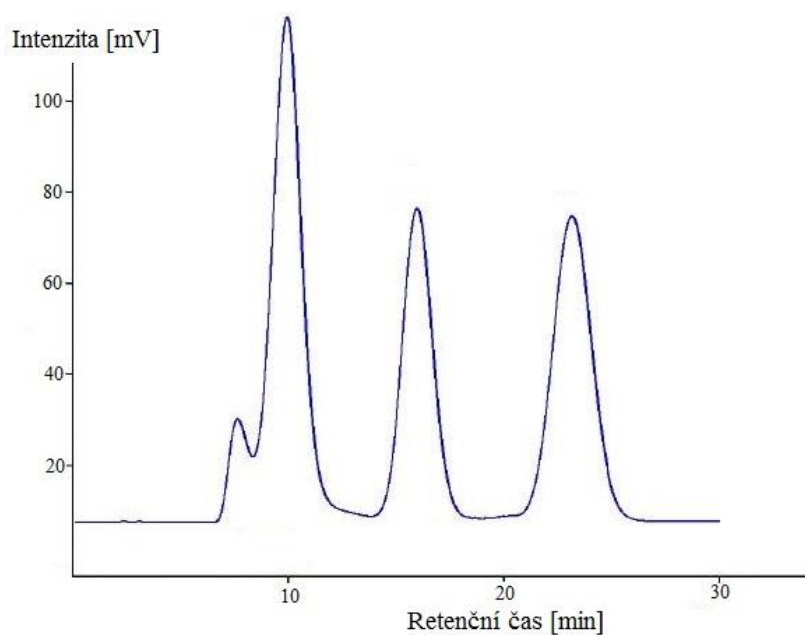


Obr. 10: Trhací stroj

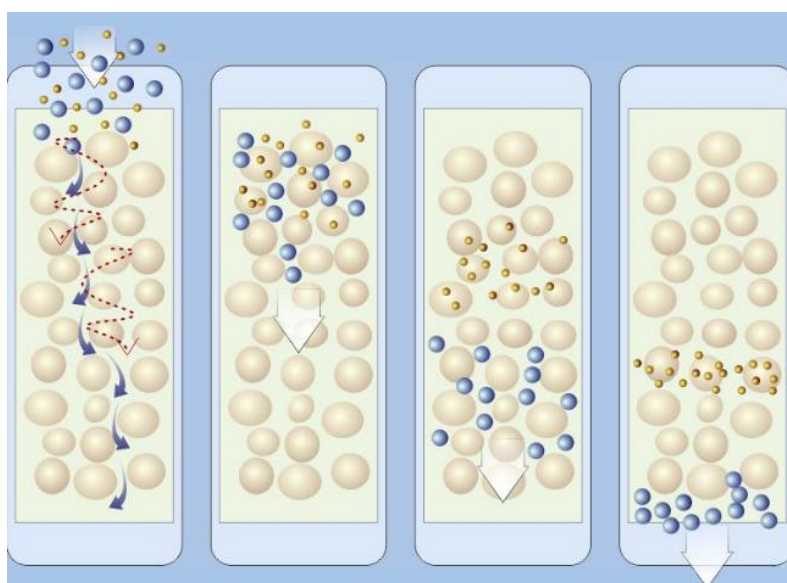
#### 4.2 Stanovení molekulových hmotností

Při degradaci materiálu dochází ke snižování molekulové hmotnosti. Pro její stanovení je nutno použít vhodnou separační techniku, která zajistí rozdělení polymerního vzorku na frakce s odlišnými molárními hmotnostmi. Nejběžnější separační metodou je gelová permeační chromatografie (GPC). Principem této metody je rozdílná rychlost pohybu látek v soustavě mobilní fáze (kapalina) a stacionární fáze (porézní materiál, nejčastěji silikagel). Vzorek, který obsahuje několik složek, je unášen mobilní fází. Z kolony

nejprve vycházejí největší makromolekuly, které se nezachytávají v pórech, dále se postupně vymývají frakce menších makromolekul. Chromatogram je výstupem této metody, z něj lze pro každou látku určit retenční čas [21].



Obr. 11: Příklad chromatogramu

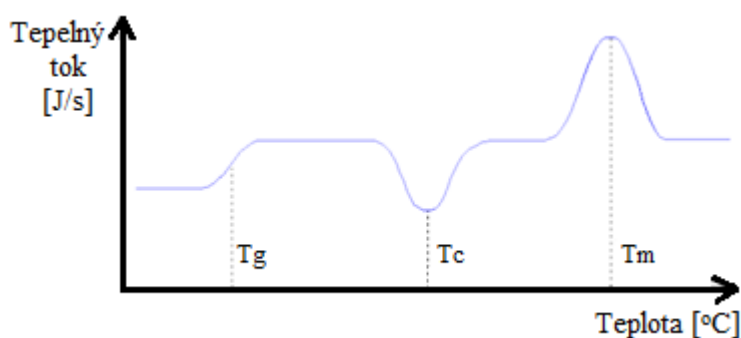


Obr. 12: Princip gelové permeační chromatografie

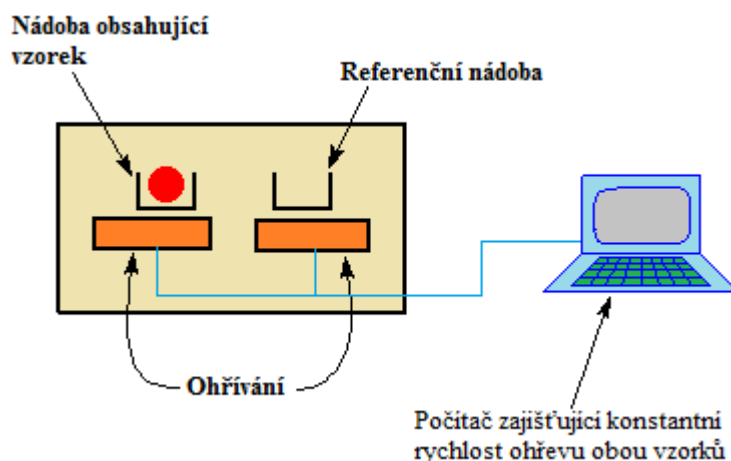
#### 4.3 Krystalinita a její měření

V průběhu degradace dochází k tomu, že se materiál restrukturalizuje a vznikají oblasti s menší a větší krystalinitou. Jednou z nejpoužívanějších metod je diferenciální

skenovací kalorimetrie (DSC) – měření spočívá v konstantní rychlosti ohřívání (chlazení) dvou nádob, aby mezi nimi nebyl žádný teplotní rozdíl. Jedna nádoba je prázdná (referenční) a druhá obsahuje vzorek. Množství tepla, které je potřebné k udržení izotermních podmínek mezi vzorky, je sledováno v závislosti na teplotě nebo čase. Pokud dojde ke zvýšení (endotermní procesy) anebo naopak ke snížení (exotermní procesy) tepelné kapacity sledovaného vzorku, tak se zvýší nebo naopak sníží množství dodávaného tepla do sledovaného vzorku. A tato kompenzace zajistí nulový teplotní rozdíl mezi měřeným a referenčním vzorkem. Krystalizace ( $T_c$ ) je exotermický proces, dochází ke snížení dodávaného tepla do systému, což se projeví záporným píkem na křivce. Tání materiálu ( $T_m$ ) je naopak endotermický proces, na DSC křivce se tento jev projeví stejným tvarem píku jako krystalizace, ale v opačném směru [22].



Obr. 13: Schématické znázornění DCS grafu ( $T_g$  – teplota skelného přechodu,  $T_c$  – teplota krystalizace a  $T_m$  – teplota tání) [22]

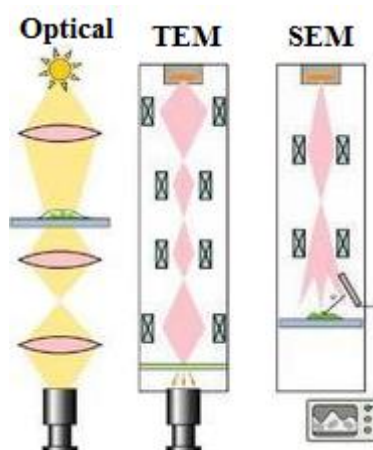


Obr. 14: Princip měření krystalinity [22]

V porovnání s ostatními metodami termické analýzy má DSC pravděpodobně nejuniverzálnější využití, lze s ní testovat pevné i kapalné vzorky o malém množství (10 – 300 mg) ve velmi širokém rozmezí teplot.

#### 4.4 Elektronová mikroskopie

Mikroskopy se dělí na optické a elektronové. V klasickém optickém mikroskopu se používá viditelné světlo fokusované pomocí čoček, v elektronovém mikroskopu se používá svazek elektronů fokusovaný pomocí magnetů. Elektronové mikroskopy pracují s proudem elektronů ve vakuu. Dělí se na dva druhy: Transmisní elektronový mikroskop (TEM) a Rastrovací (skenovací) elektronový mikroskop (SEM). SEM: na vzorek dopadá tenký svazek elektronů, který dopadá postupně na všechna místa. Vzorek může být 2-3 cm tlustý a 15 cm dlouhý a musí být kvalitně pokryt tenkou vrstvou těžkého kovu. Projekční čočka zajistí, aby zaostřený svazek elektronů dopadl na preparát. Odražený (emitovaný) paprsek se převádí na viditelný obraz. Mikroskop vytváří trojrozměrné obrazy objektů s rozlišením mezi 3 a 20 nm [23].



Obr. 15: Schémata optického a elektronových mikroskopů (převzato z Shanghai Yuyi Analysis and Test Center)

## EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem práce bylo optimalizovat proces degradace polyesterových mikro- a nanovlákných vrstev pomocí enzymů (Lipázy a Proteinázy K) a sledovat průběh degradace a změny mechanických vlastností. V této části práce bylo provedeno testování vlákných materiálů PCL, PLCL a jejich Blendů v poměru 1 : 1, 1 : 3, 3 : 1 s průběžným vyhodnocováním výsledků.

### 5. Materiály a metody

#### 5.1 Použité materiály a chemikálie

V následující tabulce jsou vypsány všechny chemikálie, které byly použity v této práci.

Tab. 3: Použité materiály a chemikálie

Chemikálie	Firma	Poznámka
Chlorid draselný	Analytika, spol. s.r.o., ČR	KCl
Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát	Analytika, spol. s.r.o., ČR	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *12H <sub>2</sub> O
Chlorid sodný	Analytika, spol. s.r.o., ČR	NaCl
Dihydrogenfosforečnan draselný	Analytika, spol. s.r.o., ČR	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
Destilovaná voda	–	dH <sub>2</sub> O
Azid sodný	Sigma – Aldrich, Německo	NaN <sub>3</sub>
Kyselina chlorovodíková	Penta	HCl
pH standardy 4.01; 7.00; 10.01	Hamilton Bonaduz AG, Švýcarsko	
Lipáza z Pseudomonas cepacia	Sigma – Aldrich, Německo	Koncentrace: 30 ≥ U/mg
Proteináza K	Sigma – Aldrich, Německo	Koncentrace: 30 ≥ U/mg
Tetrahydrofuran	Chromservis, Praha, ČR	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O
Chloroform	Penta	CHCl <sub>3</sub>
PCL	Sigma – Aldrich, Německo	Mm: 80 000 g·mol <sup>-1</sup>
PLCL	PolySciTech	Poměr monomerů L-lactide a ε-caprolactone je 70:30

Roztoky:

Tab. 4: Použité roztoky

Název	Popis
Pufř PBS (Phosphate buffer solution)	Do velké nádoby bylo nalito 1600 ml dH <sub>2</sub> O, poté bylo přidáno 16 g – NaCl; 0,4 g – KCl; 7,26 g – Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> * 12H <sub>2</sub> O; 0,48 g – KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . pH roztoku bylo upraveno pomocí HCl na hodnotu 7,2. Pak byl roztok doplněn vodou do objemu 2000 ml a přefiltrován přes filtrační papír.
PBS + 0,02% azid sodný	Do 2000 ml připraveného roztoku PBS bylo přidáno 0,4 g NaN <sub>3</sub> , aby celkový roztok PBS obsahoval 0,02 % azidu sodného.
Roztok PBS + 0,02% azid sodný s Lipázou	Do 100 ml připraveného roztoku PBS + 0,02% azid sodný bylo přidáno 10 mg Lipázy, aby koncentrace Lipázy byla 3 U / ml PBS + 0,02% azid sodný. Objem roztoku se určoval podle počtu testovaných vzorků.
Roztok PBS + 0,02% azid sodný s Proteinázou K	Do 100 ml připraveného roztoku PBS + 0,02% azid sodný bylo přidáno 3,33 mg Proteinázy K, aby koncentrace Proteinázy K byla 1 U / ml PBS + 0,02% azid sodný. Objem roztoku se určoval stejným principem, podle počtu testovaných vzorků.

## 5.2 Použité přístroje a programy

Tab. 5: Použité přístroje a programy

Seznam přístrojů a programů		Výrobce
Nanospider™	NS 1WS500U	Elmarco
Elektronový mikroskop	Vega 3 <sub>SEM</sub>	Tescan
Analytické váhy	ATL124-I Analytical Scale	Acculab Sartorius Group
Trhací stroj	LabTest 4.050	LaborTech
Software – analýza mechanických vlastností	LabTest v.3.21.2138	LaborTech
Chromatograf	Dionex UltiMate 3000 HPLC	Thermo Scientific
pH metr	pH 700	Eutech Instruments
Sterilizátor	AN 74i	Anprolene
Hlubokomrazicí box	MDF-033V	Sanyo Electric
Biological Thermostat	BT 120	Laboratorní přístroje Praha
Zlatíci přístroj	Quorum Q150R ES	Quorum technologies
Software – analýza obrazů	NIS Elements AR 4.30.00	Nikon Instruments
Software pro tvorbu grafů, tabulek	Microsoft Office Excel 2010	Microsoft Corporation

### 5.3 Použité metody

#### 5.3.1 Příprava vzorků pro degradaci a mechanické testování

Každý vzorek byl připraven tak, aby vážil  $50 \pm 0,1$  mg. Poté byl od získaného vzorku ještě odříznut kousek specifického tvaru o velikosti 50 x 10 mm na budoucí mechanické testování na trhacím stroji LaborTech LabTest 4.050. Stejným principem byly vytvořeny vzorky pro negativní kontrolu (NC). Na čtyři testovací dny bylo připraveno 20 vzorků materiálů PCL a PLCL a 36 vzorků materiálů Blend v poměru 1 : 1, 1 : 3 a 3 : 1. Potom byly všechny vzorky umístěny do 15ml zkumavek a vysterilizovány (ethylenoxidem, při pokojové teplotě, během 12 hodin).

#### 5.3.2 Metoda dosažení degradace

Ke každému vzorku bylo napipetováno 5 ml roztoku PBS + 0,02% azidu sodného s příslušnou koncentrací enzymu, do NC bylo přidáno pouze 5 ml PBS + 0,02% azidu sodného (rozpis přípravy PBS + 0,02% azidu sodného je uveden v roztocích v Tab. 4). Potom byly vzorky odneseny do inkubátoru, kde byly nechány inkubovat při 37 °C po celou dobu experimentu. Každých 24 hodin byly roztoky s enzymy měněny a od každého materiálu bylo odebráno několik vzorků, které byly dále propláchnuty destilovanou vodou. Jeden ze vzorků byl odložen do jednotlivé jamky destičky, po usušení byl následně použit pro stanovení změny molekulové hmotnosti, krystalinity a morfologie materiálu během degradace. Zbylé 3 vzorky od každého materiálu byly ponechány v dH<sub>2</sub>O a odneseny na měření mechanických vlastností. Po ukončení trhání byly vzorky uschovány v sušárně při 24 °C, aby nedošlo k přichycení, byly jednotlivé jamky vyloženy parafilmem. Takovým způsobem probíhal každý den experimentu.

#### 5.3.3 Mechanické testování

Mechanické testy byly provedeny na přístroji LabTest 4.050 of firmy LaborTech. Před měřením byly nastaveny vzdálenost mezi čelistmi, která činila 25 mm, zkušební rychlost 20 mm/min, program zkoušení 5 kN a tloušťky u každého materiálu. Po ukončení trhání byl za pomoci vyhodnocovacího softwaru LabTest v.3.21.2138 zajištěn grafický i číselný výstup z trhacího stroje, který poskytl porovnání všech vzorků ve

formě protokolu. Kromě základních mechanických vlastností získaných z trhacího stroje, bylo z hodnot pracovních grafů stanoveno též napětí při maximální síle (dělením maximální síly na původní obsah průřezu vzorku). Data byla dále uspořádána v tabulkách a charakterizována jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD).

#### 5.3.4 Příprava vzorků pro SEM

Příprava vzorku pro SEM spočívá v ustříhnutí malé části vrstvy, nalepení pomocí oboustranné lepicí pásky na kovový terč a pokovení 14 nm vrstvou zlata na přístroji Quorum Q150ES. Morfologie vyrobených vrstev v průběhu degradace byla prozkoumána skenovacím elektronovým mikroskopem Tescan VEGA 3 při různých zvětšeních. Pomocí obrazové analýzy v programu NIS Elements AR 4.30.00 byly stanoveny průměry vláken, a to vždy 100 hodnot průměrů vláken jednotlivých materiálů na několika smímcích při zvětšení 5000x. Data jsou charakterizována jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD).

#### 5.3.5 Příprava vzorků pro GPC

Pro GPC měření je potřeba mít k dispozici vzorek ve formě roztoku. Ten byl připraven v koncentraci 1 mg/ml, což znamená, že do 4 ml vialky byly naváženy 4 mg vzorku a dále byly přidány 4 ml rozpouštědla (v případě PCL jenom THF, u všech ostatních materiálů 3,5 ml THF + 0,5 ml CHCl<sub>3</sub>). Rozpouštění některých polymerů bylo časově náročné, proto byl proces urychlen vortexováním. Po rozpouštění vzorků je potřeba roztok přefiltrovat tak, aby se odstranily všechny nečistoty. Filtrace byla provedena pomocí 13 mm PTFE stříkačkového mikrofiltru s velikostí pórů 0,45  $\mu$ m. Stanovení molekulové hmotnosti vzorku probíhá pomocí rozptylového detektoru (laserový paprsek), který je při dopadu rozptylován rozpuštěnými polymerními částicemi. Intenzita rozptýleného světla je úměrná velikosti částic, které rozptyl způsobují. Měření probíhalo na přístroji Dionex UltiMate 3000 of firmy Thermo Scientific, po skončení měření ve vyhodnocovacím okně programu vyjde chromatogram a kalibrační křivka vzorku, pomocí které se zároveň získávají hodnoty molekulových hmotností.



### 5.3.6 *Příprava vzorků pro DSC*

Materiály byly navažovány v malém množství 4 až 10 mg, rozprostřeny na dně kelímku o objemu 25  $\mu\text{l}$  (pro přesnost měření je potřeba maximální kontaktní plocha mezi dnem kelímku a vzorkem). Po navážení byly kelímky uzavřeny víčkem s dírkou a vzorky zalisovány na lisu. Kelímek se vzorkem byl umístěn do pravé části cely, protože v levé části byl prázdný referenční kelímek. Po skončení měření vyjde křivka DSC grafu s píkem, plocha pod ním určuje potřebnou entalpii fázového přechodu.

## 6. Výsledky a diskuze

Cílem práce bylo pomocí enzymů optimalizovat proces degradace připravených polyesterových vrstev z PCL (Polykaprolakton), PLCL (Polymléčná kyselina-co-kaprolakton) a jejich Blendů, používaných v různých poměrech polymerů PCL : PLCL – 1 : 1; 1 : 3 a 3 : 1. Pro degradaci PCL byla použita Lipáza, pro degradaci PLCL byla použita Proteináza K, Blendy byly degradovány oběma enzymy jak Lipázou, tak Proteinázou K. Oba enzymy katalyzují hydrolyzu esterové vazby. Cílem práce bylo také sledovat průběh (stupně) degradace a změny mechanických vlastností připravených polyesterových vlákenných materiálů, které byly vyrobeny elektrostatickým zvlákňováním na přístroji Nanospider™ typu NS 1WS500U od firmy Elmarco Ing. Kristýnou Havlíčkovou, z polymerních roztoků za následujících podmínek:

Tab. 6: Použité polymerní roztoky a průměrné hodnoty nastavení při zvlákňování

Polymerní roztoky	Parametry	Hodnoty
10 hm % PCL v 8:1:1	Vzdálenost kolektoru	138 – 143 mm
10 hm % PLCL v 8:1:1	Odtah textilie	5 – 8 mm/min
10 hm % Blend 1:1 (PCL:PLCL) v 8:1:1	Rychlost cartridge	140 – 200 mm/sec
10 hm % Blend 1:3 (PCL:PLCL) v 8:1:1	Odtah struny	13 – 15
10 hm % Blend 3:1 (PCL:PLCL) v 8:1:1	Napětí	+ 40 / - 20 kV
	Teplota	22 – 23 °C

K přípravě roztoků byl vybrán vhodný rozpouštědlový systém 8 : 1 : 1, směs čistého chloroformu, ethanolu a kyseliny octové.

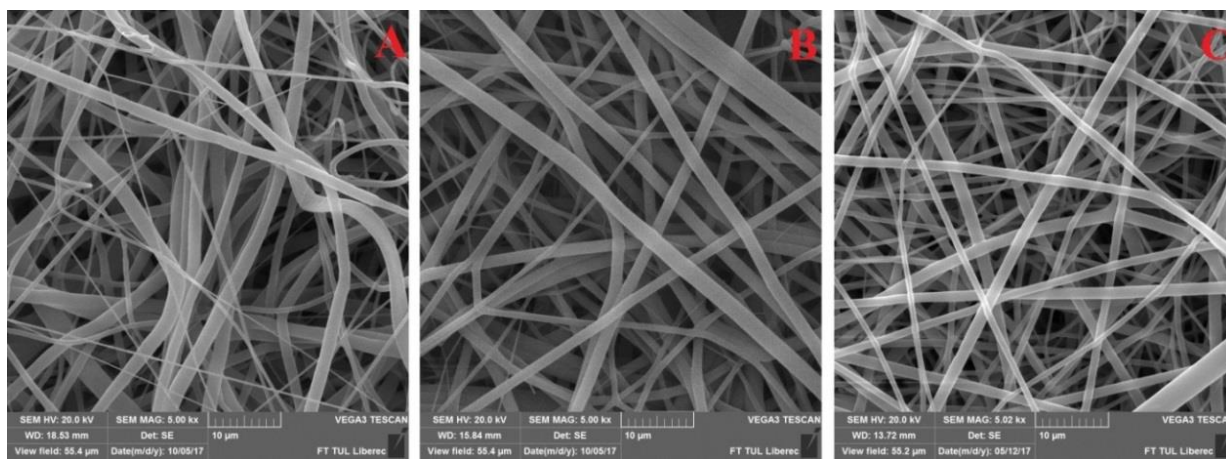
### 6.1 Optimalizace degradace a mechanického testování na první sadě polyesterových vlákenných materiálů

#### 6.1.1 Morfologie prvních testovaných vlákenných vrstev

Mechanické testy byly provedeny v podélném a příčném směrech za mokra a za sucha na trhačím stroji LabTest 4.050 od firmy LabTech na vlákenných polyesterových materiálech PCL, PLCL a Blend 1 : 1 (viz Obr. 16). Morfologie testovaných materiálů (zejména průměry vláken) byla srovnatelná (viz Tab. 7).

Tab. 7: Střední průměry vláken a plošná hmotnost materiálů při optimalizaci mechanického testování (v tabulce jsou průměry vláken uvedeny jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD))

Materiál	Střední průměr $\pm$ SD [ $\mu\text{m}$ ]	Plošná hmotnost [ $\text{g}/\text{m}^2$ ]
PCL	$0,94 \pm 0,44$	20,62
PLCL	$1,18 \pm 0,41$	13,4
Blend 1 : 1	$0,84 \pm 0,35$	20,04



Obr. 16: Snímky z elektronového mikroskopu vstupních polyesterových materiálů, zvětšení 5000x, A - PCL, B - PLCL, C - Blend 1 : 1

### 6.1.2 Vliv orientace (příčná a podélná) a stavu (suchý a mokrý) materiálů na mechanické vlastnosti

Mechanické testování bylo provedeno na vzorcích příčně a podélně vyřezaných, pro každý směr bylo připraveno 10 vzorků, ze kterých 5 bylo testováno za sucha a 5 za mokra. Rozměr každého vzorku byl vždy stejný  $50 \times 10$  mm. Testování probíhalo natahováním vzorku až do přetržení (viz Obr. 17). Bylo zjištěno, že mechanické chování v obou směrech a v obou stavech je srovnatelné vzhledem k omezené homogenitě materiálů (viz Tab. 8). Pouze Blend 1 : 1 v podélném řezu za mokra a za sucha vykazuje větší rozdíly v poměrném prodloužení, což s největší pravděpodobností souvisí s nehomogenitou materiálu.

Tab. 8: Mechanické vlastnosti prvních testovaných vlákenných materiálů (v tabulce jsou data uvedena jako střední hodnota ± směrodatná odchylka (SD))

	PŘÍČNÝ ŘEZ					
	Za sucha			Za mokra		
	Maximální síla ± SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle ± SD [%]	Napětí při maximální síle ± SD [MPa]	Maximální síla ± SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle ± SD [%]	Napětí při maximální síle ± SD [MPa]
<b>PCL</b>	1,24 ± 0,1	83,11 ± 7,88	0,51 ± 0,04	1,34 ± 0,4	89,41 ± 4,4	0,55 ± 0,06
<b>PLCL</b>	0,78 ± 0,06	112,81 ± 5,4	0,87 ± 0,07	0,86 ± 0,08	113,83 ± 9,5	0,96 ± 0,08
<b>Blend 1:1</b>	1,55 ± 0,08	162,11 ± 18,3	1,03 ± 0,05	1,55 ± 0,1	157,17 ± 16	1,03 ± 0,07

	PODÉLNÝ ŘEZ					
	Za sucha			Za mokra		
	Maximální síla ± SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle ± SD [%]	Napětí při maximální síle ± SD [MPa]	Maximální síla ± SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle ± SD [%]	Napětí při maximální síle ± SD [MPa]
<b>PCL</b>	1,31 ± 0,1	91,61 ± 4,43	0,54 ± 0,04	1,22 ± 0,14	90,35 ± 9,4	0,51 ± 0,06
<b>PLCL</b>	1,08 ± 0,3	125,66 ± 9,1	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,2	115,56 ± 12	1,22 ± 0,19
<b>Blend 1:1</b>	1,4 ± 0,06	158,34 ± 28	0,93 ± 0,04	1,44 ± 0,07	139,51 ± 18,4	0,96 ± 0,05



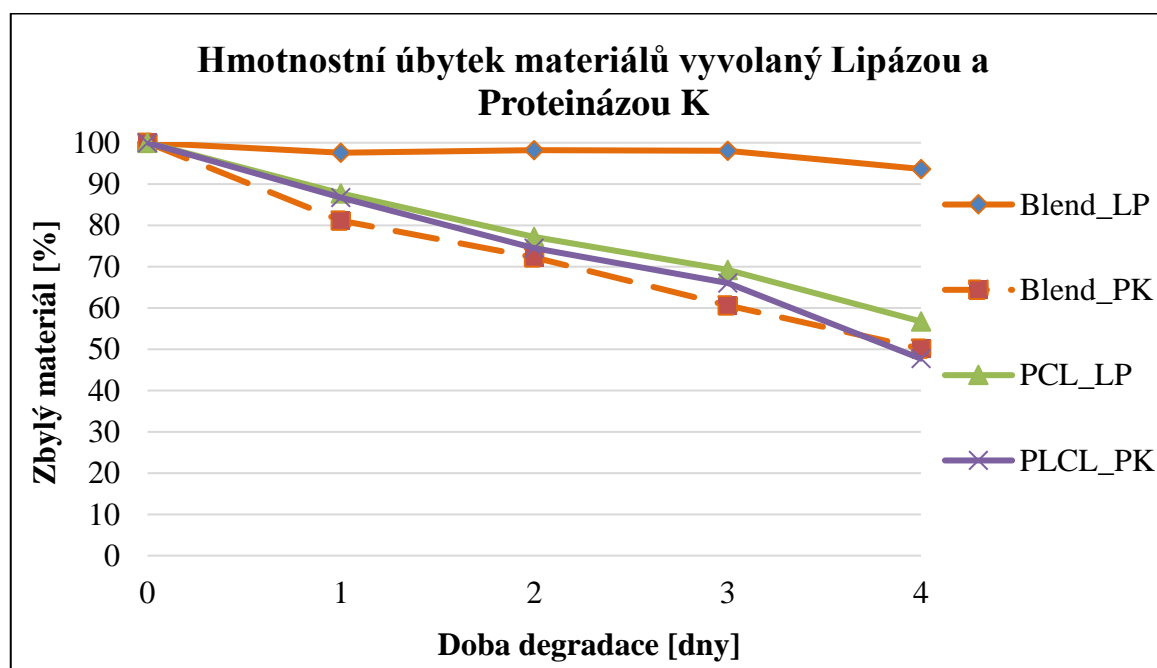
Obr. 17: Vlákenný materiál umístěný mezi dvěma čelistmi po trhacím testu, kdy došlo k přetržení

### 6.1.3 Monitoring průběhu degradace u první sady polyesterových vlákných materiálů

Degradace připravených polyesterových vrstev PCL, PLCL a Blendu 1 : 1 probíhala hydrolytickým štěpením esterové vazby ve vodném prostředí za použití enzymů (Lipáza a Proteináza K o koncentracích  $30 \geq U/mg$ ), které katalyzují reakci rozkladu materiálů. Pro degradaci PCL byla použita Lipáza, pro PLCL byla Proteináza K, Blend 1:1 byl degradován jak Lipázou, tak Proteinázou K. Průběh degradace materiálů byl sledován pomocí hmotnostního úbytku materiálu, změny morfologie vláken (SEM), změny molekulové hmotnosti (GPC) a krystalinity polymeru (DSC). Celkově bylo připraveno 76 vzorků (příprava vzorků a metoda dosažení degradace jsou popsány v kapitole 5.3).

#### 6.1.3.1 Hmotnostní úbytek

Degradace probíhala čtyři dny a vzorky se odebíraly každých 24 hodin. Cílem bylo vybrat takovou koncentraci enzymů, aby byla po čtyřech dnech hmotnost zbylého materiálu cca 50 %. Výsledky z hmotnostního úbytku první sady testovaných materiálů jsou znázorněny v Grafu 1. Také byla provedena degradace negativní kontroly (NC) a byl měřen hmotnostní úbytek testovaných materiálů (viz Graf A. 1 uvedený v přílohách).

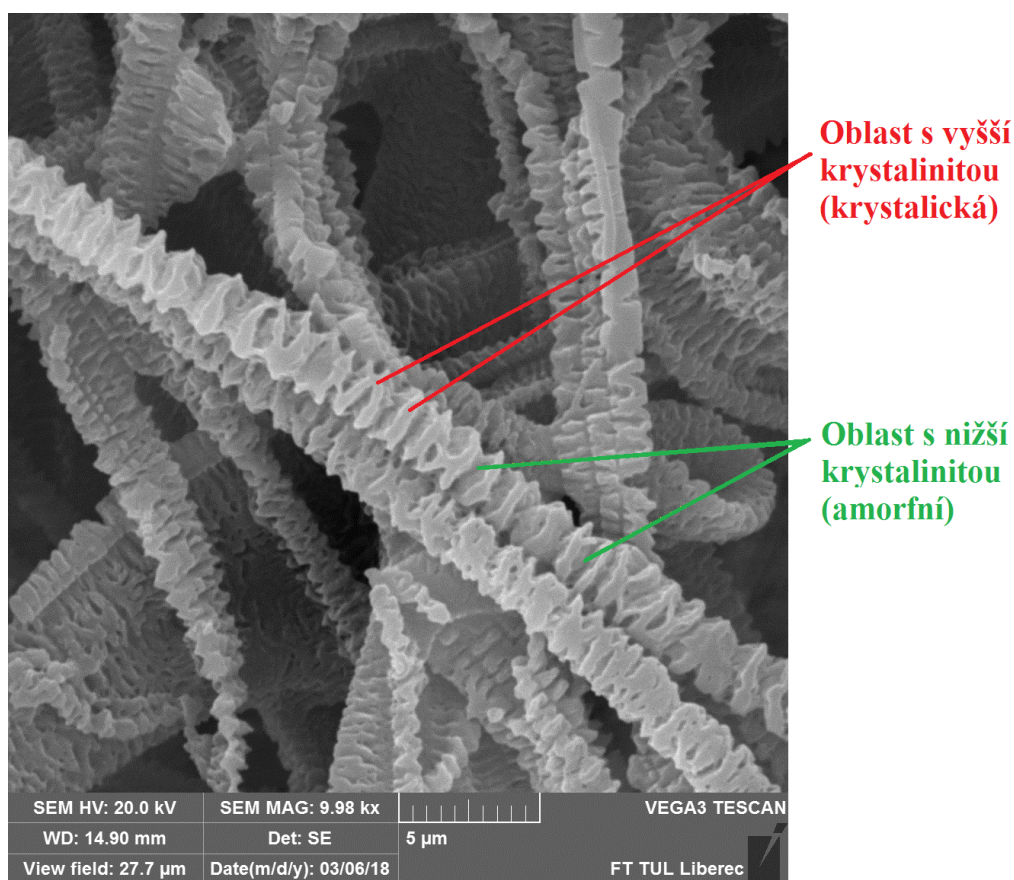


Graf 1: Hmotnostní úbytek první sady polyesterových vlákných materiálů (LP znamená materiály štěpené Lipázou, PK znamená materiály štěpené Proteinázou K)

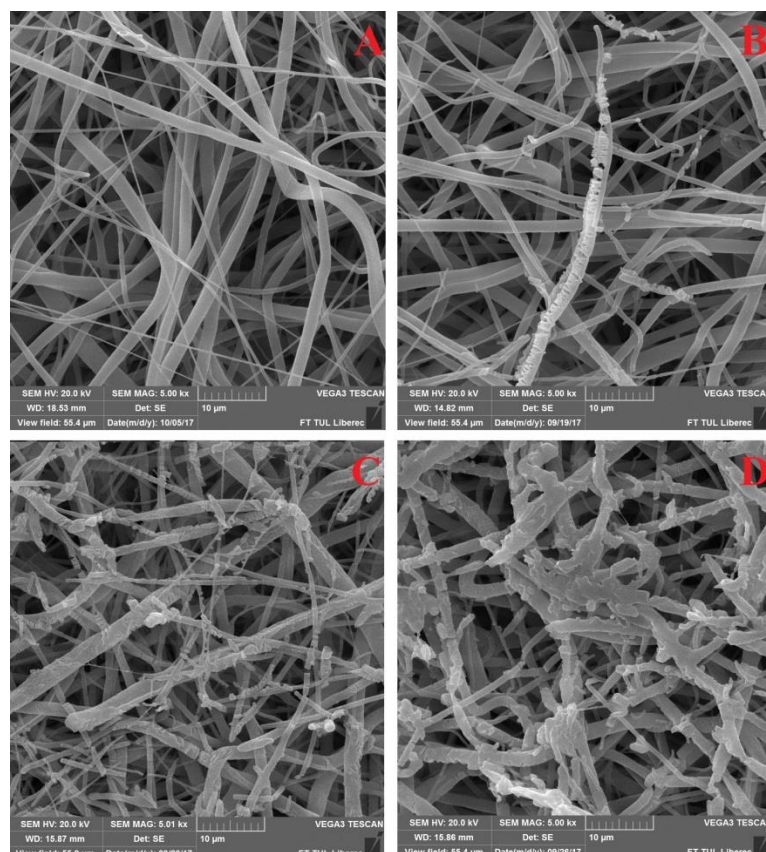
Z Grafu 1 je vidět, že po čtyřech dnech degradace mají 50% hmotnostní úbytek materiály PCL, PLCL a Blend 1 : 1 štěpený Proteinázou K. Pouze u Blendu 1 : 1 štěpeného Lipázou to takto nevyšlo, protože Lipáza zřejmě nekatalyzuje tento materiál tak účinně, jako Proteináza K, což se znovu potvrdí u druhé sady testovaných materiálů (viz kapitola 6.2.3.1).

### 6.1.3.2 Změna morfologie

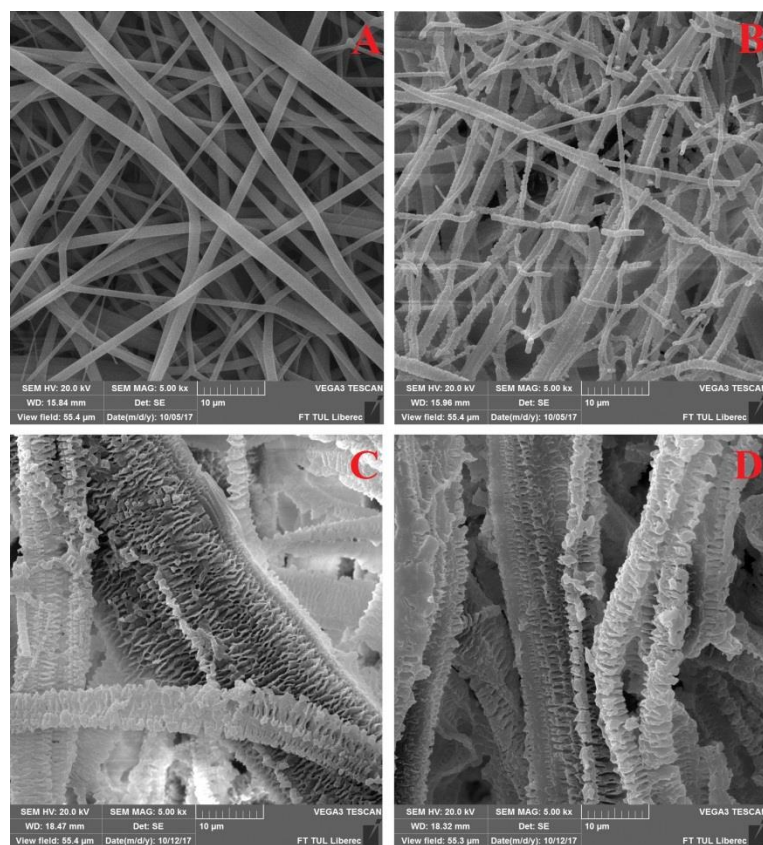
Pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu byly pořízeny snímky jednotlivých materiálů, které byly následně hodnoceny vizuálně. Při zvětšení 5000x je na Obrázcích 19, 20, 21 a 22 patrná, výrazná změna morfologie v průběhu degradace, která koresponduje s mechanismem degradace popsaným v kapitole 3.1. Nejdříve dochází k degradaci na povrchu vláknenného materiálu, pak degradují polymerní řetězce v amorfních (neuspořádaných) oblastech a nakonec degraduje krystalická (uspořádaná) oblast, lamelární vrstvy se rozpadají. Z Obr. 18 je jasně vidět, že vlákna v průběhu degradace fragmentují, protože amorfní oblast degraduje rychleji než oblast krystalická.



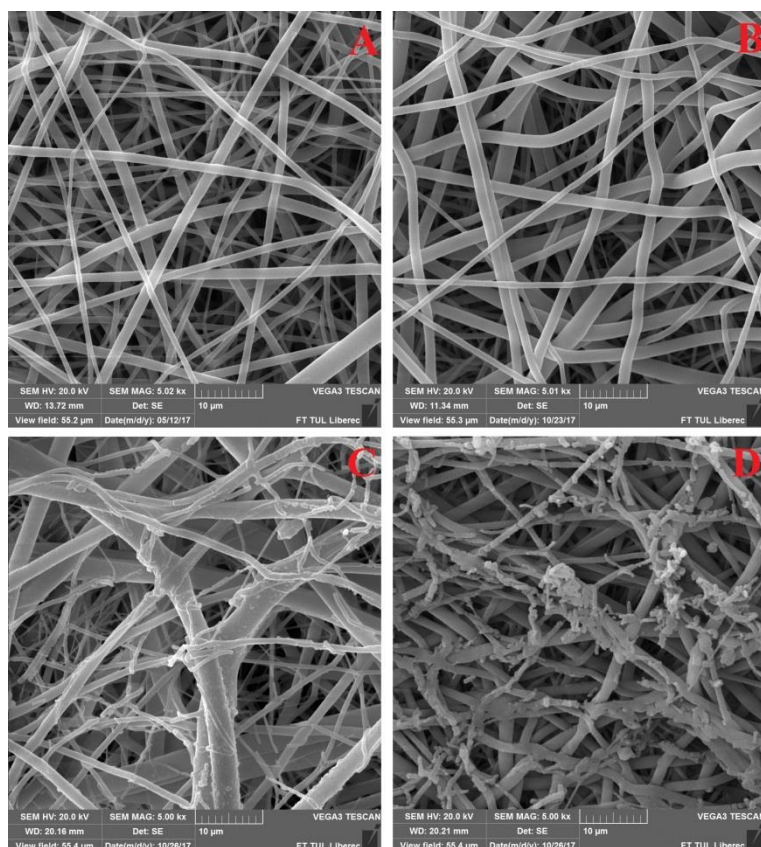
Obr. 18: Ukázka krystalické a amorfní oblastí u degradovaného PLCL, 3. den, při zvětšení 10 000x



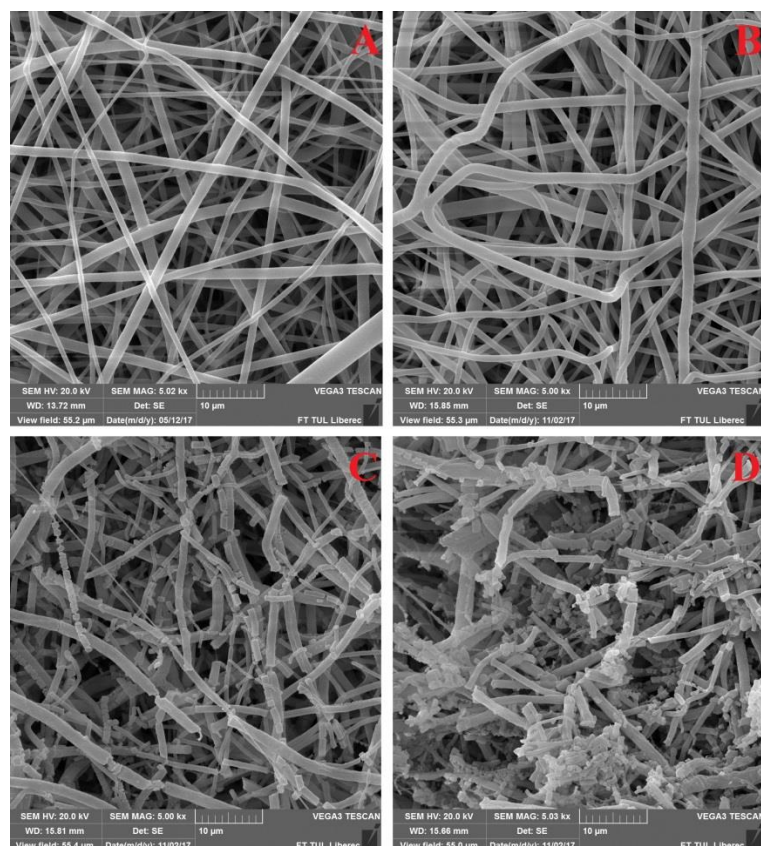
Obr. 19: Změna morfologie PCL štěpeného Lipázou během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace



Obr. 20: Změna morfologie PLCL štěpeného Proteinázou K během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace



Obr. 21: Změna morfologie Blendu 1 : 1 štěpeného Lipázou během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace



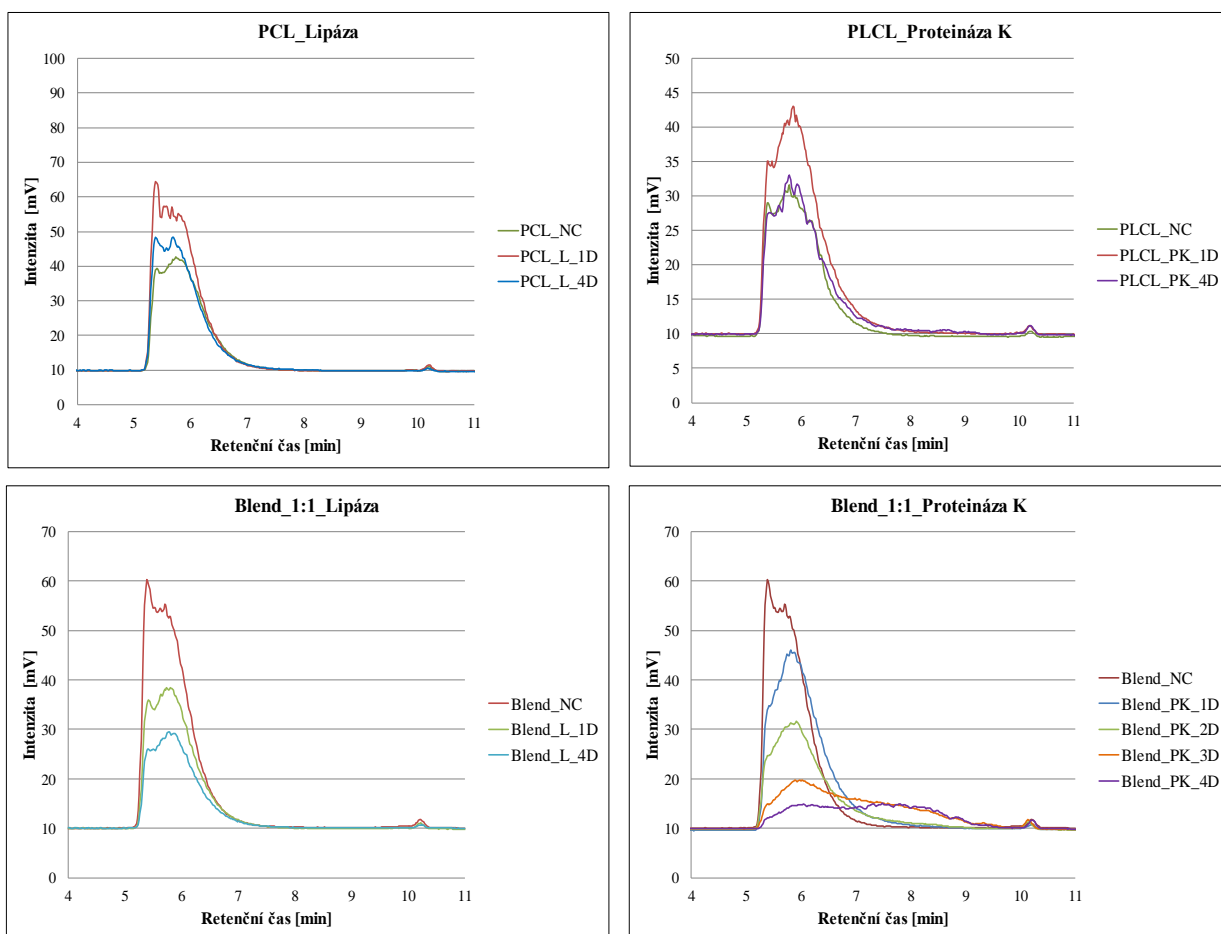
Obr. 22: Změna morfologie Blendu 1 : 1 štěpeného Proteinázou K během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace



Z předchozích obrázků jsou patrné výrazné rozdíly v morfologiích testovaných vrstev v průběhu degradace. Morfologie není u každého materiálu stejná, u PLCL štěpeného Proteinázou K je nejvýraznější rozdíl mezi krystalickou a amorfni oblastí (Obr. 20), dochází ke spojování vláken, tvoří se celky. U PCL nejsou tak patrné krystalické a amorfni oblasti a nedochází ke spojování vláken jako u PLCL, ale dochází k jejich rozpadu. Blendy mají podobné chování jako PCL. Výsledky hmotnostního úbytku korespondují se změnou morfologie. U Blendu 1 : 1 štěpeného Lipázou je hmotnostní úbytek cca 8% (Graf 1) a na Obr. 21 je patrná pouze degradace na povrchu vláken.

### 6.1.3.3 Změna molekulové hmotnosti

Při degradaci materiálu dochází ke snižování molekulové hmotnosti polymeru. Změna molekulové hmotnosti byla měřena pomocí metody gelové permeační chromatografie (GPC) s ELS detektorem (rozptyl světla), viz Obr. 23. Intenzita rozptýleného světla je úměrná velikosti částic, které rozptyl způsobují.

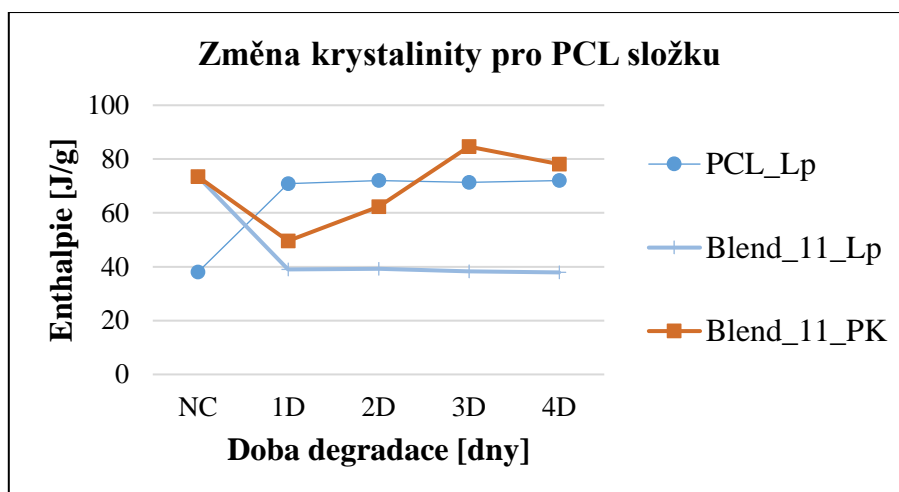


Obr. 23: Chromatogramy ukazující změny molekulové hmotnosti u první sady testovaných materiálů v průběhu degradace (L znamená materiály štěpené Lipázou, PK znamená materiály štěpené Proteinázou K; 1D, 2D, 3D, 4D – 1., 2., 3., 4. den degradace)

Z Obr. 23 je vidět, že se u PCL, PLCL a Blendu 1 : 1 štěpeného Lipázou molekulová hmotnost ve zbylém materiálu nemění, ale u Blendu 1 : 1 štěpeného Proteinázou K makromolekuly s nižší molekulovou hmotností zůstávají součástí zbylého materiálu. Také je vidět že pouze u Blendů 1 : 1 štěpených jak Lipázou, tak Proteinázou K se postupně v průběhu degradace zmenšuje velikost částic molekul, u PCL a PLCL tomu tak není.

#### 6.1.3.4 Změna krystalinity

Také v rámci optimalizace degradace byla sledována změna krystalinity pro PCL složku pomocí Ing. Běhálka, Ph.D. (pracoviště KSP). Výsledky jsou znázorněny na Grafu 2 a v Tab. 9, ze které je zřejmé, že pouze u Blendu 1 : 1 s Proteinázou K dochází ke změně krystalinity, což částečně koresponduje se změnou morfologie tohoto materiálu v průběhu degradace, kde byl viděn vznik několika krystalických oblastí, rozhodně více než u Blendu 1:1 štěpeného Lipázou.



Graf 2: Změna krystalinity v průběhu degradace pro PCL složku

(Lp znamená materiály štěpené Lipázou, PK znamená materiál štěpený Proteinázou K)

Tab. 9: Výsledky měření krystalinity pomocí metody diferenciální skenovací kalorimetrie pro PCL složku [%]

	NC	1. den	2. den	3. den	4. den
<b>PCL_Lipáza</b>	28,1	52,3	53,2	52,7	53,2
<b>B_11_Lipáza</b>	54,3	28,8	29,0	28,2	28,0
<b>B_11_Proteináza K</b>	54,3	36,6	46,0	62,5	57,7

### 6.1.3.5 Mechanické testování prvních degradovaných materiálů

Mechanické testování degradovaných materiálů bylo provedeno stejným principem na trhacím stroji LabTest 4.050 od firmy LabTech. Pro každý materiál bylo nastříháno po 16-ti kusech (4 kusy na jeden degradační den), z důvodu, že se Blendy testovaly jak s Lipázou, tak s Proteinázou K, byl u nich počet vzorků dvojnásobný. Také byla provedena negativní kontrola (NC), od každého materiálu bylo nastříháno po 4 kusech (2 kusy vždy pro 2. a 4. testovací den) a stejně byl odříznut kousek o velikosti 50 × 10 mm na mechanické testy (viz Tab. C. 1 uvedená v přílohách). Výsledky mechanického testování první sady polyesterových vlákenných materiálů jsou uvedeny v Tab. 10.

Tab. 10: Výsledky mechanického testování první sady degradovaných materiálů (data jsou charakterizována jako střední hodnota ± směrodatná odchylka (SD))

PCL_Lipáza			
	Maximální síla [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle [%]	Napětí při maximální síle [MPa]
1. den	1,011 ± 0,5	79,31 ± 57,9	0,42 ± 0,22
2. den	0,585 ± 0,36	29,7 ± 16,6	0,24 ± 0,15
3. den	0,339 ± 0,2	8,06 ± 2,2	0,14 ± 0,07
4. den	0,241 ± 0,16	8,84 ± 6,1	0,1 ± 0,06

PLCL_Proteináza K			
	Maximální síla [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle [%]	Napětí při maximální síle [MPa]
	0,96 ± 0,2	172,75 ± 30,5	1,06 ± 0,26
	0,647 ± 0,2	135,67 ± 45,2	0,72 ± 0,27
	0,168 ± 0,05	19,22 ± 13,04	0,19 ± 0,05
	*	*	*

Blend_1:1_Lipáza			
	Maximální síla [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle [%]	Napětí při maximální síle [MPa]
1. den	2,612 ± 0,9	353,44 ± 85,5	1,74 ± 0,62
2. den	2,754 ± 0,7	329,4 ± 111,2	1,83 ± 0,48
3. den	1,75 ± 0,4	196,49 ± 62,7	1,16 ± 0,27
4. den	1,804 ± 0,4	254,83 ± 89,1	1,2 ± 0,26

Blend_1:1_Proteináza K			
	Maximální síla [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle [%]	Napětí při maximální síle [MPa]
	0,528 ± 0,06	30,81 ± 20,4	0,35 ± 0,04
	0,181 ± 0,1	4,51 ± 5,5	0,12 ± 0,07
	*	*	*
	*	*	*

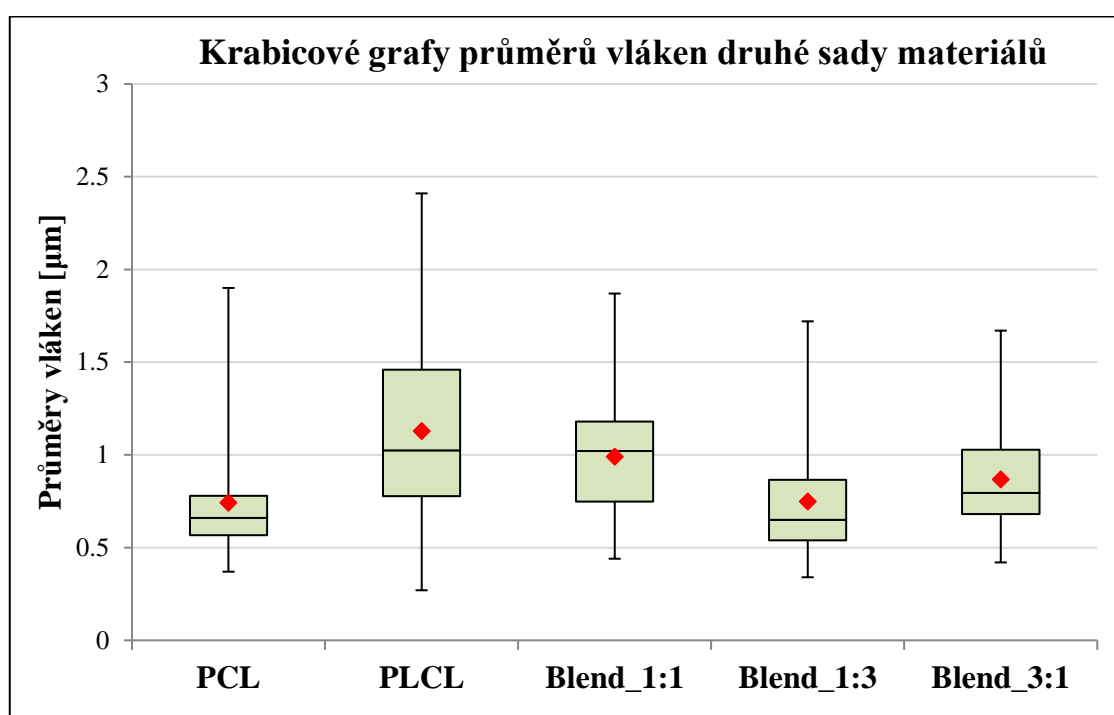
\* Vzhledem k vysokému stupni degradace nebylo možné provést mechanické testování

Téměř u všech materiálů je jasně vidět, jak se postupně s každým následujícím dnem zmenšuje pevnost a tažnost materiálů v důsledku enzymatické degradace. Nejvíce se změnila mechanická vlastnosti u PCL, během čtyř dnů degradace klesla síla o 76 % a tažnost o 89 %. Naopak nejméně u Blendu 1 : 1 štěpeného Lipázou, kde síla klesla o 31 % a tažnost o 28 %.

## 6.2 Optimalizace degradace a mechanického testování na druhé sadě polyesterových vláknenných materiálů s rozšířeným množstvím Blendů

### 6.2.1 Morfologie druhé sady testovaných vláknenných vrstev

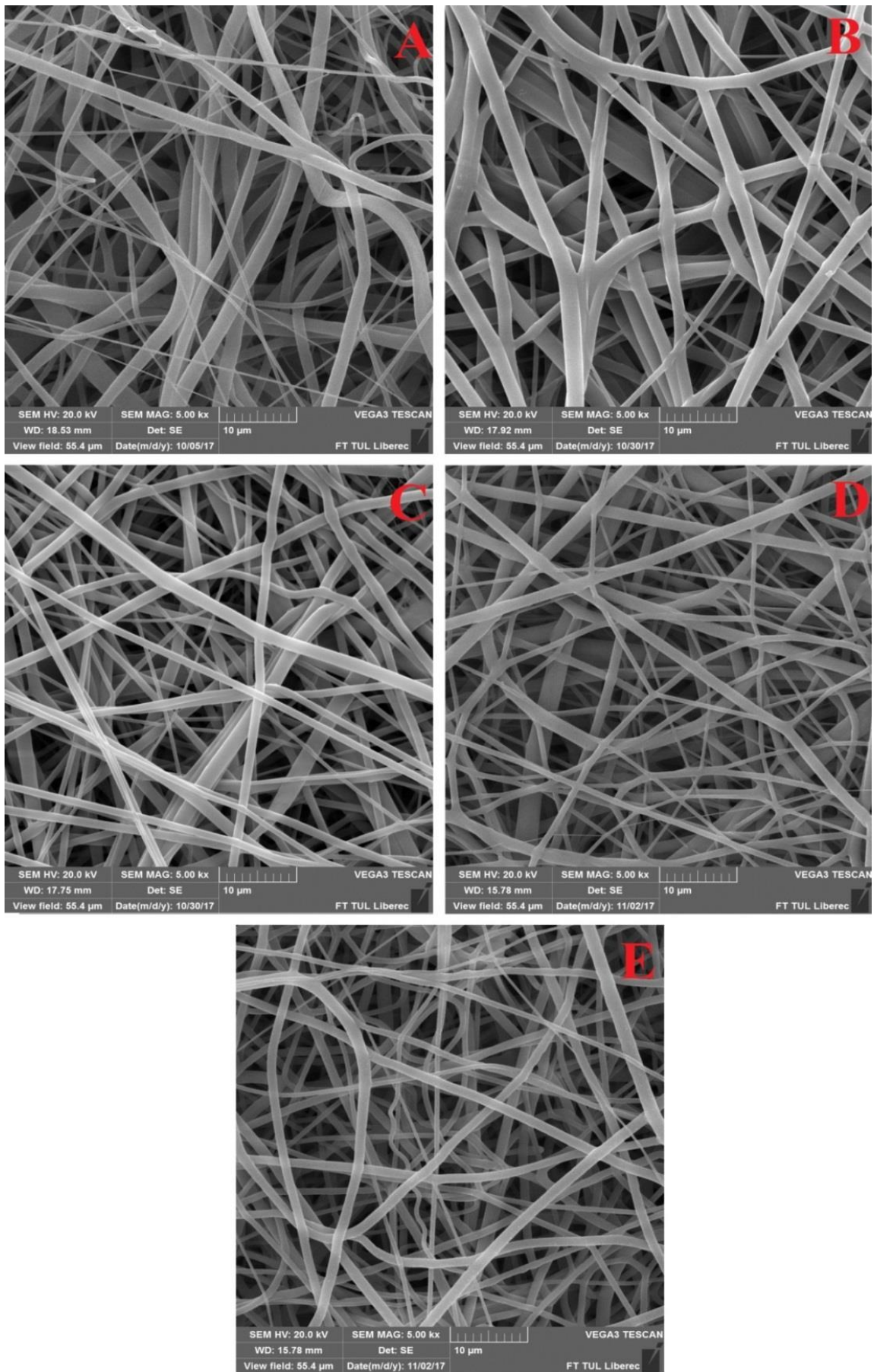
U druhé sady připravených polyesterových vláknenných materiálů PCL, PLCL, Blend 1 : 1, Blend 1 : 3 a Blend 3 : 1 byla také hodnocena morfologie před degradací (viz Obr. 24). Ze SEM snímků je vidět, že morfologie je z makroskopického hlediska vzájemně srovnatelná u všech vláknenných materiálů. Za pomoci softwaru Nis-elements byly na připravených snímcích proměřeny průměry vláken (viz Graf 3 a Tab. 11).



Graf 3: Krabicové grafy průměrů vláken různých vrstev vyjadřují: minima, první kvartily, mediány, třetí kvartily a maxima; ♦ – střední hodnota průměrů vláken

Tab. 11: Střední průměry vláken a plošná hmotnost připravených vrstev (v tabulce jsou průměry vláken uvedeny jako střední hodnota ± směrodatná odchylka (SD))

Materiál	Střední průměr ± SD [µm]	Plošná hmotnost [g/m <sup>2</sup> ]
PCL	0,74 ± 0,29	33,7
PLCL	1,13 ± 0,47	40,64
Blend 1:1	0,99 ± 0,31	30,62
Blend 1:3	0,75 ± 0,29	36,91
Blend 3:1	0,87 ± 0,25	30,01



Obr. 24: Snímky z elektronového mikroskopu druhé sady připravených vrstev, zvětšení 5000x, A - PCL, B - PLCL, C - Blend 1 : 1, D - Blend 1 : 3, E - Blend 3 : 1

### 6.2.2 Optimalizace mechanického testování na mokrých a suchých vzorcích druhé sady materiálů

Na základě získaných výsledků z kapitoly 6.1.2 byly prováděny další mechanické testy na vzorcích pouze za mokra a za sucha bez ohledu na směr řezání. Výsledky z mechanického testování jsou ukázány v Tab. 12, ze které je vidět, že se u většiny těchto materiálů, stejně jako v prvním pokusu, příliš nemění mechanické vlastnosti v různých stavech (za mokra a za sucha). Z Tab. 12 je také zřejmé, že u některých materiálů je směrodatná odchylka poměrného prodloužení dost velká, což zapříčinilo velkou variabilitu dat, která souvisí s nehomogenitou materiálů.

Tab. 12: Mechanické testování nedegradovaných vzorků za sucha/za mokra (v tabulce jsou data charakterizována jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD))

	Maximální síla $\pm$ SD [N]		Poměrné prodloužení při maximální síle $\pm$ SD [%]		Napětí při maximální síle $\pm$ SD [MPa]	
	Za sucha	Za mokra	Za sucha	Za mokra	Za sucha	Za mokra
<b>PCL</b>	6,217 $\pm$ 0,3	6,083 $\pm$ 0,5	106,17 $\pm$ 12,2	120,14 $\pm$ 25,6	2,17 $\pm$ 0,26	2,12 $\pm$ 0,2
<b>PLCL</b>	5,569 $\pm$ 0,7	4,921 $\pm$ 0,5	184,43 $\pm$ 20,7	167,87 $\pm$ 18,5	3,14 $\pm$ 0,61	2,85 $\pm$ 0,18
<b>Blend 1 : 1</b>	5,156 $\pm$ 0,5	5,323 $\pm$ 0,4	166,42 $\pm$ 29,9	162,34 $\pm$ 27,1	2,46 $\pm$ 0,24	2,4 $\pm$ 0,26
<b>Blend 1 : 3</b>	4,015 $\pm$ 0,3	4,049 $\pm$ 0,5	120,54 $\pm$ 22,9	128,6 $\pm$ 18,8	2,96 $\pm$ 0,18	2,97 $\pm$ 0,55
<b>Blend 3 : 1</b>	4,12 $\pm$ 0,2	5,002 $\pm$ 0,3	195,14 $\pm$ 80,9	160,8 $\pm$ 77,4	1,82 $\pm$ 0,13	1,99 $\pm$ 0,13

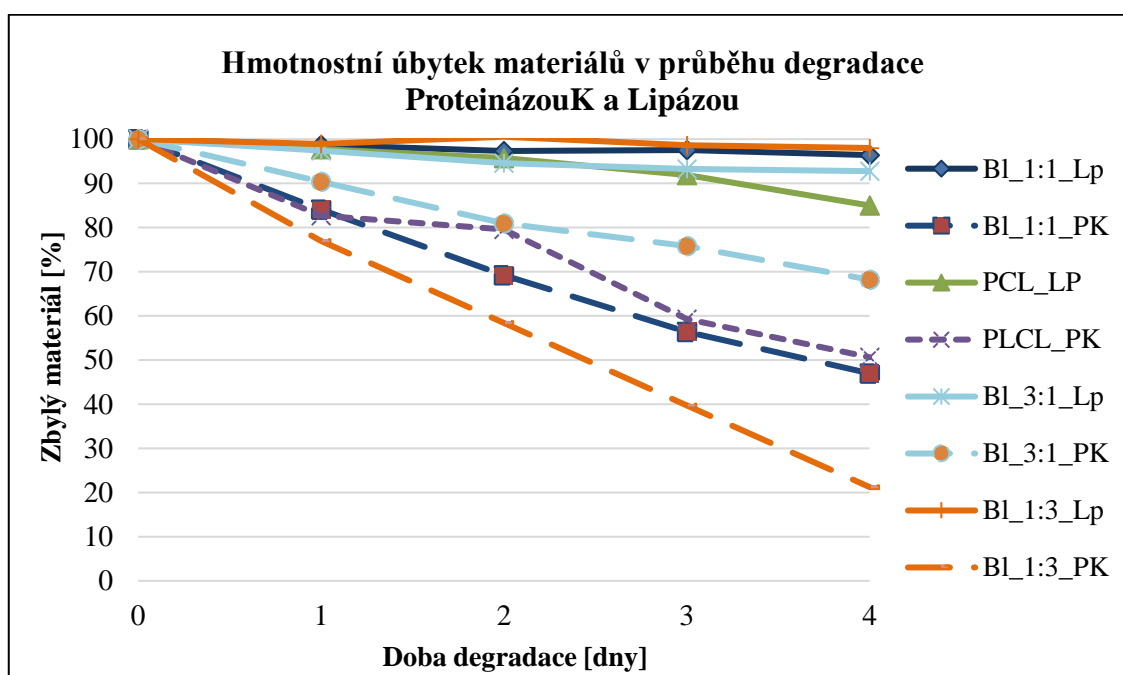
### 6.2.3 Monitoring průběhu degradace u druhé sady polyesterových vláknenných materiálů

Degradace připravených polyesterových vrstev PCL, PLCL a Blendů v poměrech 1 : 1, 1 : 3 a 3 : 1 probíhala hydrolytickým štěpením esterové vazby, které bylo katalyzováno enzymaticky (Lipázou a Proteinázou K o koncentracích  $30 \geq U/mg$ ). Pro degradaci PCL byla použita Lipáza, pro PLCL byla užita Proteináza K, Blendy byly degradovány jak Lipázou, tak Proteinázou K. Celkově bylo připraveno 148 vzorků (příprava vzorků

a metoda dosažení degradace jsou popsány v kapitole 5.3). Průběh degradace materiálů byl sledován pomocí hmotnostního úbytku materiálu, změny morfologie vláken (SEM), změny molekulové hmotnosti (GPC) a krystalinity polymeru (DSC).

### 6.2.3.1 Hmotnostní úbytek

Každých 24 hodin byl měřen váhový úbytek vzorků, viz Kapitola 5.3. Podmínky degradace byly znovu nastaveny tak, aby byla po 4 dnech hmotnost zbylého materiálu cca 50 %. V průběhu druhé degradace (viz Graf 4), je opět vidět, že u materiálů degradovaných Proteinázou K je ztráta hmotnosti výraznější, než u degradovaných Lipázou, kde váhový úbytek není příliš velký. Také byla provedena degradace negativní kontroly (NC) a byl měřen hmotnostní úbytek materiálů (viz Graf A. 2 uvedený v přílohách). Je zřejmé, že hmotnost NC vzorků se vůbec nezměnila během celého experimentu.



Graf 4: Hmotnostní úbytek materiálů v průběhu druhé degradace

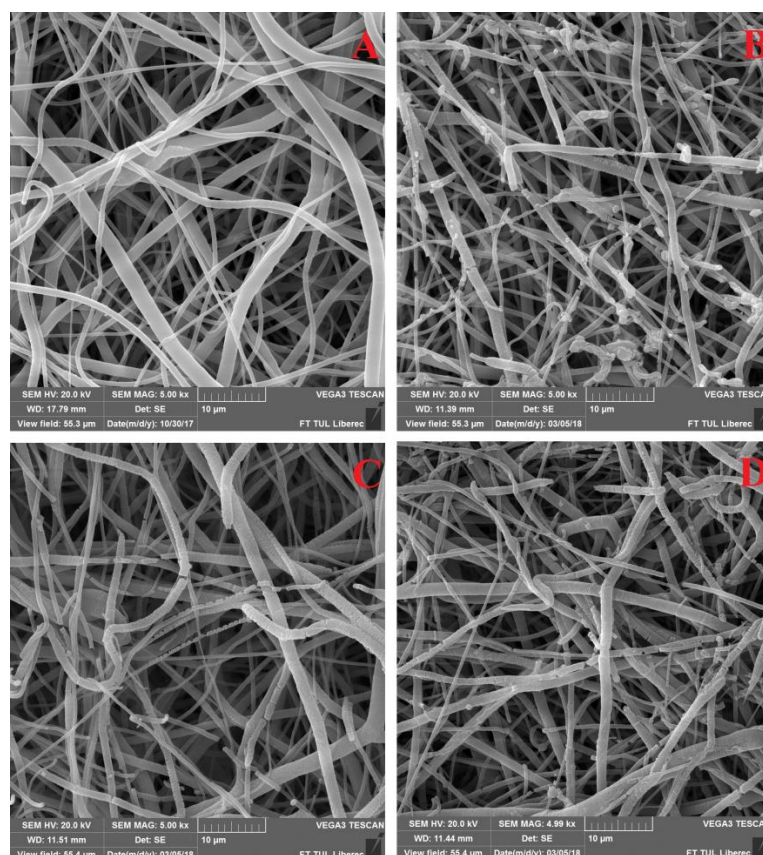
(Lp znamená materiály štěpené Lipázou, PK znamená materiály štěpené Proteinázou K)

Z Grafu 4 vyplývá, že PLCL štěpený Proteinázou K zdegradoval na cca 50 %, stejně jako při prvním testování (viz Graf 1). Také je vidět, že všechny Blendy štěpené Proteinázou K zdegradovaly na takové procento, jak měly poměry zastoupených polymerů PCL : PLCL. Například Blend 1 : 1 zdegradoval na cca 50 %, ale Blend 3 : 1 zdegradoval na cca 30 % a Blend 1 : 3 na 80 %. Z výsledků vyplývá, že Proteináza K

katalyzuje štěpení PLCL v přítomnosti PCL (Blendy) zřejmě rychleji, což je patrné u Blendu 1 : 3. U Blendů štěpených Lipázou hmotnostní úbytek klesl pouze na 5 - 8 %. Při porovnání úbytku materiálu PCL štěpeného Lipázou z prvního a druhého testování (viz Grafy 1 a 4) je zřejmě, že se tento materiál v obou případech chová jinak. Lze předpokládat, že tento výsledek je ovlivněn aktivitou Lipázy, pravděpodobně vlivem nevhodné manipulace, proto není ve druhém testování váhový úbytek 50% jako v prvním, ale je pouze na cca 20%.

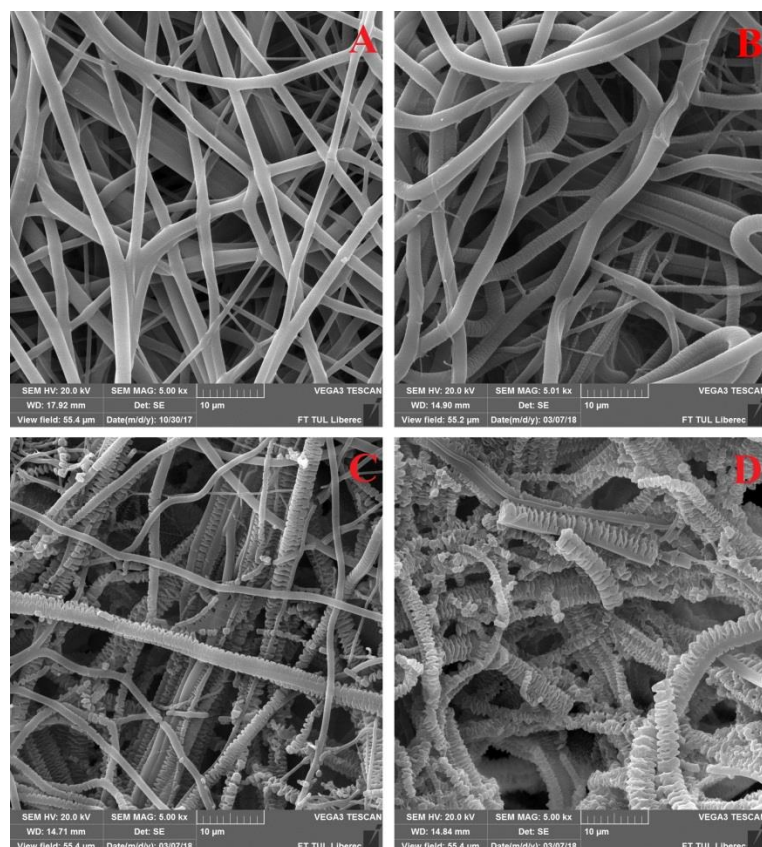
### 6.2.3.2 Změna morfologie

Změny morfologie materiálů jsou velmi výrazné, zejména u vzorků štěpených Proteinázou K. Pomocí mikroskopu Vega 3<sub>SEM</sub> od firmy Tescan byly pořízeny snímky jednotlivých materiálů: PCL štěpeného Lipázou, PLCL štěpeného Proteinázou K a Blendů (1 : 1; 1 : 3 a 3 : 1) štěpených Proteinázou K (viz Obr. 25, 26, 27, 28, 29). Ze snímků je opět zřejmé, že změny morfologie v průběhu degradace korespondují s mechanismem degradace popsaným v kapitole 3.1.

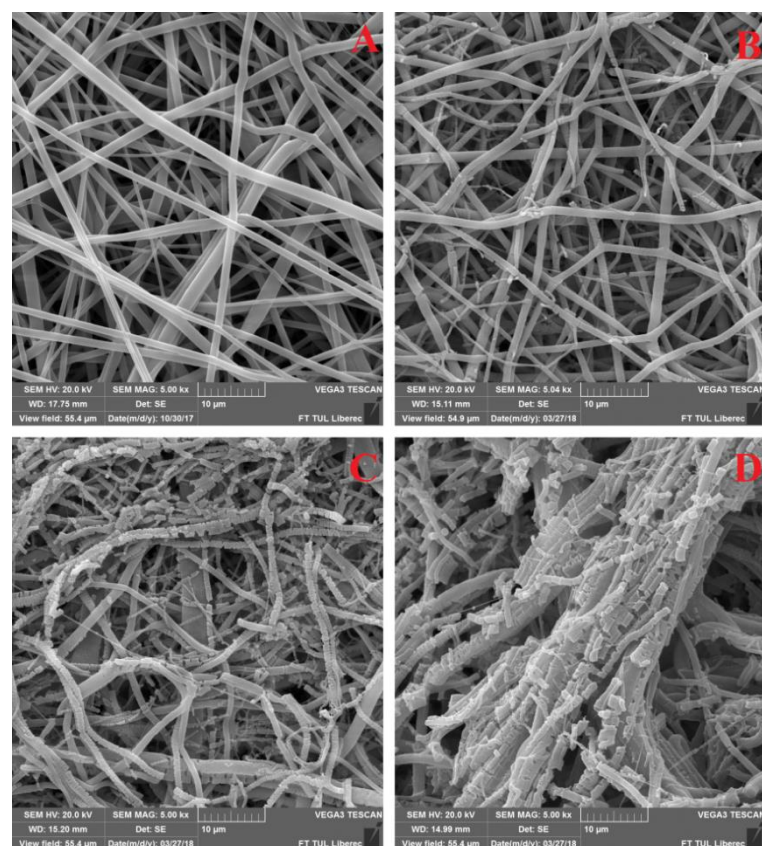


Obr. 25: Změna morfologie PCL štěpeného Lipázou během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace

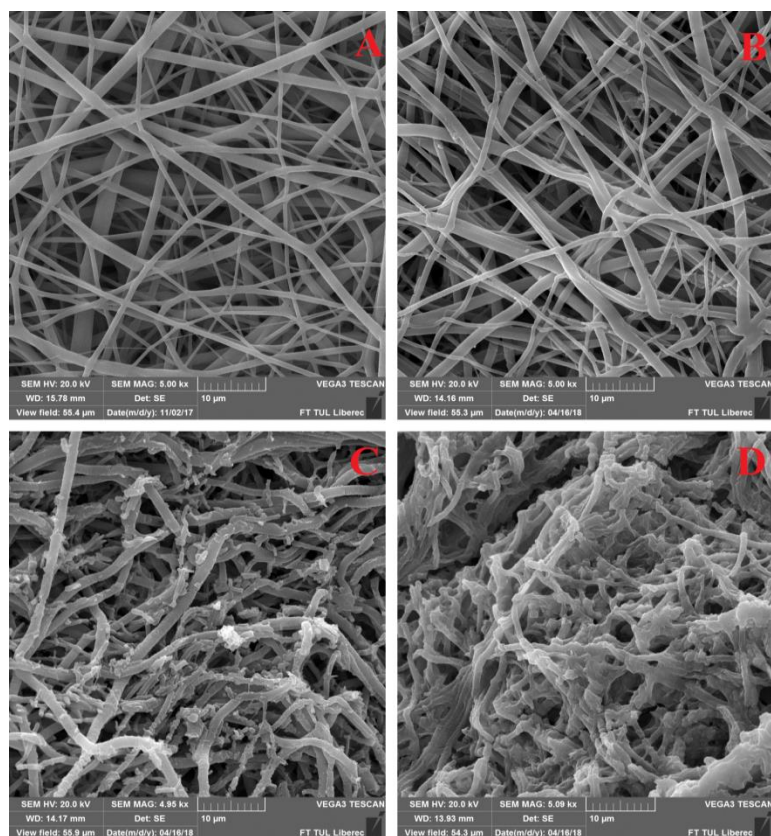




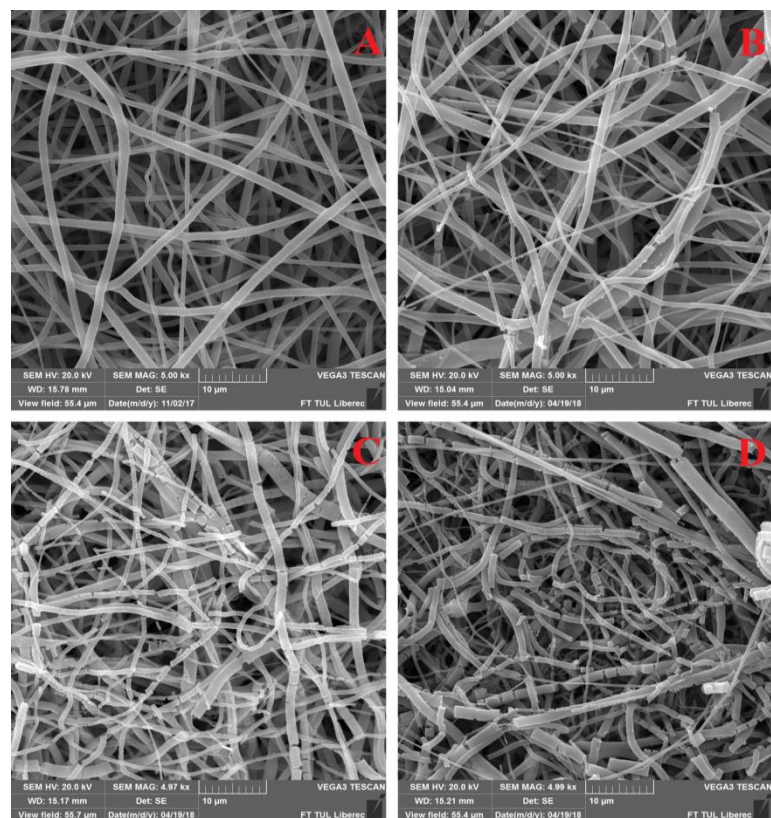
Obr. 26: Změna morfologie PLCL štěpeného Proteinázou K během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace



Obr. 27: Změna morfologie Blendu 1 : 1 štěpeného Proteinázou K během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace



Obr. 28: Změna morfologie Blendu 1 : 3 štěpeného Proteinázou K během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace

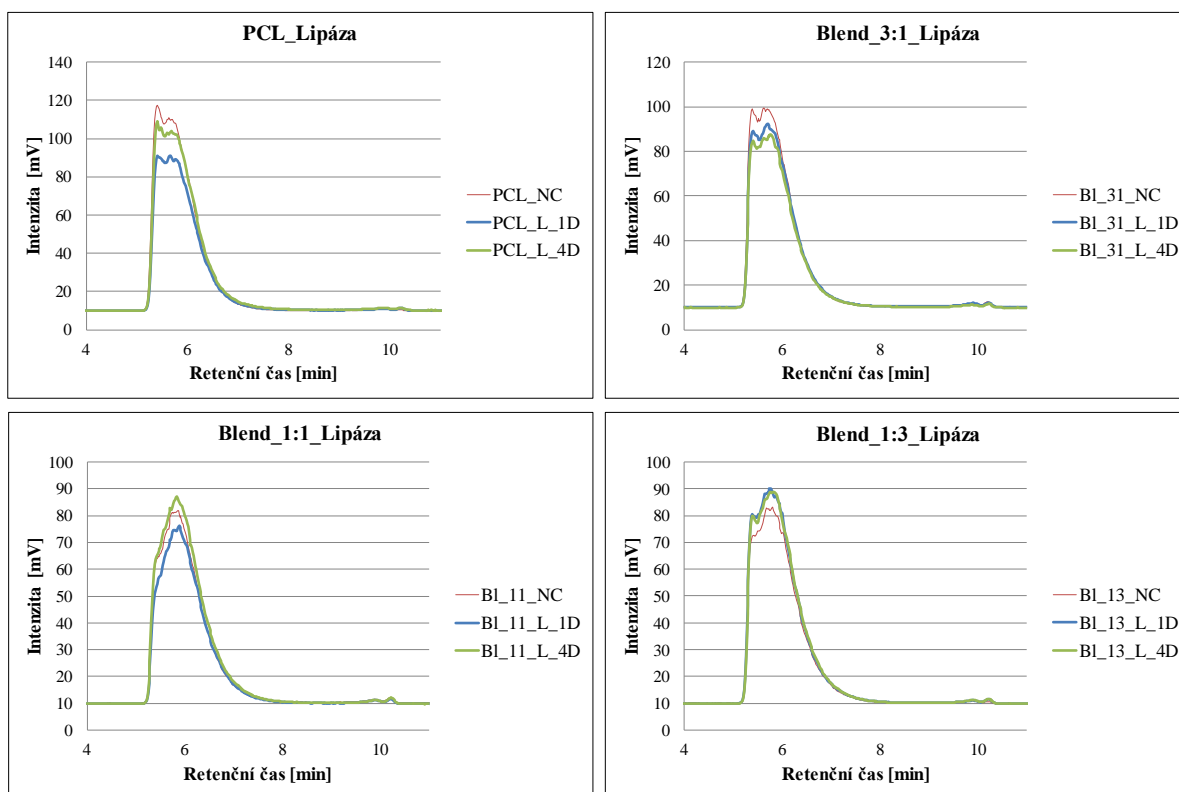


Obr. 29: Změna morfologie Blendu 3 : 1 štěpeného Proteinázou K během čtyř dnů degradace, zvětšení 5000x, A - před degradací, B - 1. den degradace, C - 3. den degradace, D - 4. den degradace

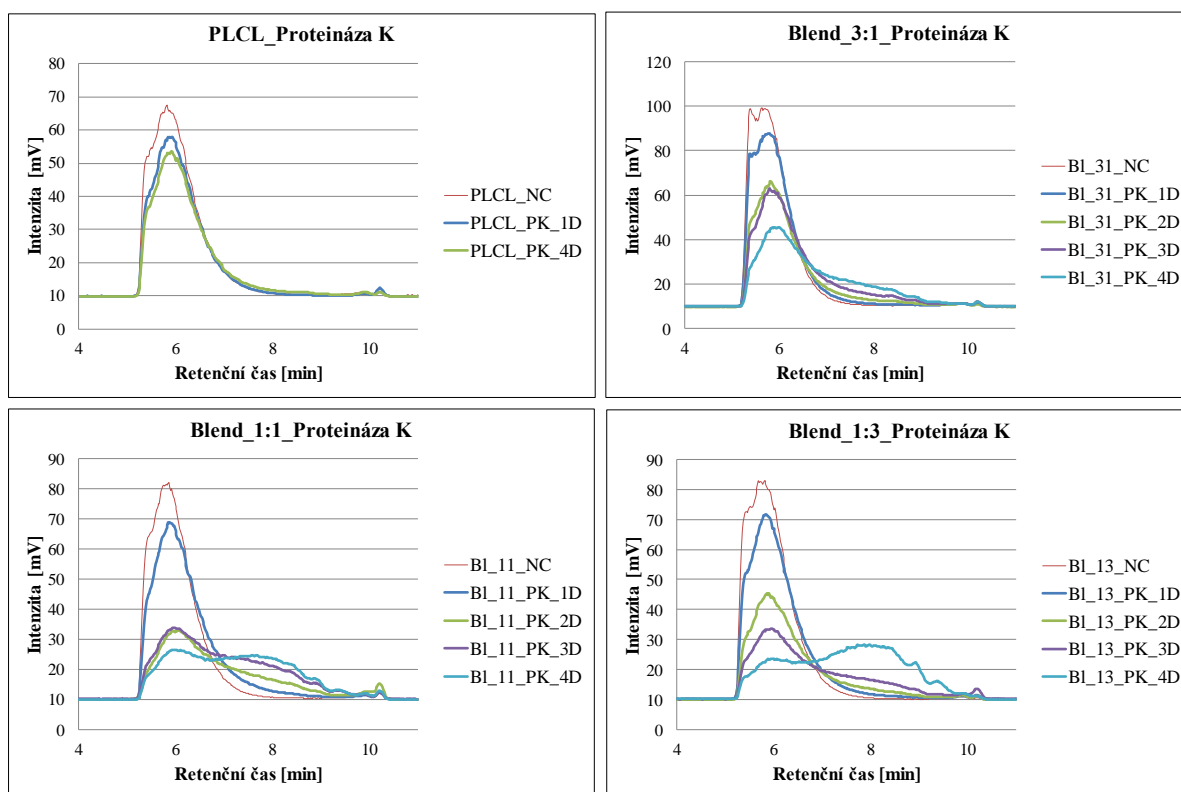
Z předchozích obrázků je patrné, že morfologie u Blendů štěpených Proteinázou K závisí na poměru zastoupených polymerů PCL : PLCL. Blendy 1 : 1 a 3 : 1 se v průběhu degradace mění podobným způsobem jako PCL, v pozdějších fázích degradace se vlákna nadrobí na malé fragmenty. Když Blend 1 : 3 vytváří podobně jako PLCL větší celky, dochází ke spojování vláken, ale není vidět restrukturalizaci vláken, nejsou patrné oblasti s vyšší (krystalickou) a nižší (amorfní) krystalinitou. Důležitým poznatkem je i to, že výsledky hmotnostního úbytku, stejně jako u první sady vzorků, korespondují s morfologií.

### 6.2.3.3 Změna molekulové hmotnosti

Dále byla sledována změna molekulové hmotnosti také u druhé sady testovaných materiálů (viz Obr. 30, 31), výsledky korespondují s první sadou testovaných materiálů (viz kapitola 6.1.3.3). Z chromatogramů na Obr. 31 je vidět, že u všech Blendů zůstávají částečně degradované makromolekuly (s nižší molekulovou hmotností) součástí zbylého materiálu, výraznější s přibývajícím PLCL složkou.



Obr. 30: Chromatogramy ukazující změny molekulové hmotnosti u druhé sady testovaných materiálů štěpených Lipázou v průběhu degradace (L znamená materiály štěpené Lipázou; 1D, 4D – 1. a 4. den degradace)



Obr. 31: Chromatogramy ukazující změny molekulové hmotnosti u druhé sady testovaných materiálů štěpených Proteinázou K v průběhu degradace (PK znamená materiály štěpené Proteinázou K; 1D, 2D, 3D, 4D – 1., 2., 3. a 4. den degradace)

#### 6.2.3.4 Změna krystalinity

Z důvodu, že vyhodnocení krystalinity trvá delší dobu, nebyly výsledky měření krystalinity druhé sady polyesterových vlákných materiálů v době tisku této bakalářské práce ještě k dispozici.

#### 6.2.3.5 Mechanické testování druhé sady materiálů v průběhu degradace

Zkoušky byly provedeny stejným postupem jako u první sady vzorků (viz kapitola 6.1.3.5) na trhacím stroji LabTest 4.050 od firmy LabTech, měření probíhalo po dobu čtyř dnů. Pro každý materiál bylo nastříháno 16 kusů (4 kusy na jeden degrační den). Také byla udělána negativní kontrola (NC) od každého materiálu pro 2. a 4. testovací den (viz Tab. C. 2 uvedená v přílohách). Tab. 13 a 14 ukazují výsledky mechanického testování druhé sady polyesterových materiálů v průběhu degradace.

Tab. 13: Výsledky mechanického testování druhé sady vzorků štěpené Lipázou (v tabulce jsou data uvedena jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD))

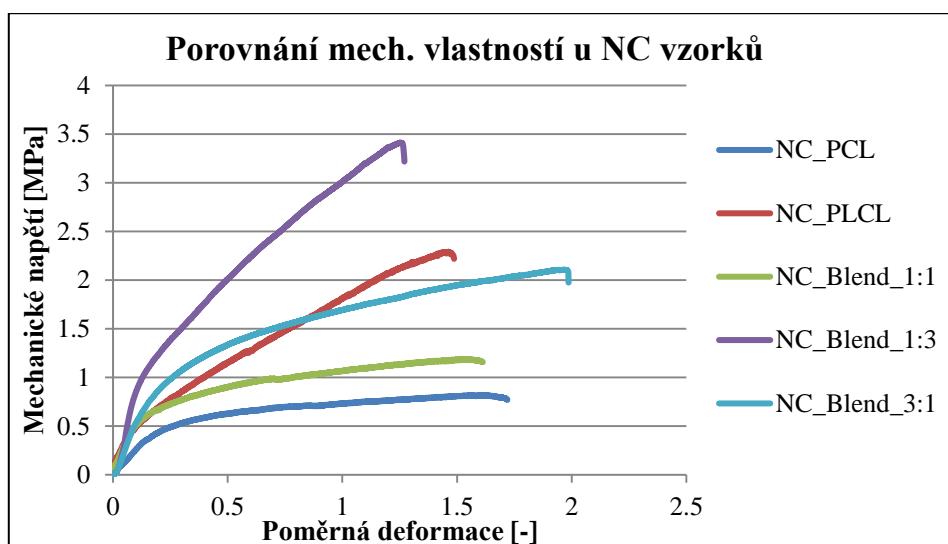
		Maximální síla $\pm$ SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle $\pm$ SD [%]	Napětí při maximální síle $\pm$ SD [MPa]
<b>PCL s Lp</b>	1. den	2,13 $\pm$ 1,2	47,91 $\pm$ 33,8	0,76 $\pm$ 0,42
	2. den	2,421 $\pm$ 0,5	45,11 $\pm$ 23,1	0,86 $\pm$ 0,18
	3. den	1,695 $\pm$ 0,9	28,32 $\pm$ 15,9	0,6 $\pm$ 0,32
	4. den	1,586 $\pm$ 1,1	24,41 $\pm$ 16,4	0,56 $\pm$ 0,38
<b>Blend 3:1 s Lp</b>	1. den	2,302 $\pm$ 0,4	93,73 $\pm$ 25,7	0,99 $\pm$ 0,18
	2. den	1,704 $\pm$ 0,3	80,44 $\pm$ 36,8	0,67 $\pm$ 0,06
	3. den	1,714 $\pm$ 0,1	97,81 $\pm$ 17,5	0,74 $\pm$ 0,06
	4. den	1,855 $\pm$ 0,7	56,79 $\pm$ 27,8	0,79 $\pm$ 0,33
<b>Blend 1:1 s Lp</b>	1. den	3,714 $\pm$ 0,3	129,6 $\pm$ 6,6	1,9 $\pm$ 0,17
	2. den	3,921 $\pm$ 0,3	123,31 $\pm$ 7,3	2 $\pm$ 0,17
	3. den	3,261 $\pm$ 0,6	105,13 $\pm$ 22,5	1,67 $\pm$ 0,33
	4. den	2,991 $\pm$ 0,1	97,27 $\pm$ 11,2	1,53 $\pm$ 0,05
<b>Blend 1:3 s Lp</b>	1. den	4,66 $\pm$ 0,1	124,29 $\pm$ 13,8	3,67 $\pm$ 0,11
	2. den	3,15 $\pm$ 0,02	105,99 $\pm$ 31,8	2,47 $\pm$ 0,02
	3. den	4,57 $\pm$ 0,3	112,56 $\pm$ 10,2	3,59 $\pm$ 0,26
	4. den	4,08 $\pm$ 0,05	106,95 $\pm$ 9,6	3,21 $\pm$ 0,04

Tab. 14: Výsledky mechanického testování druhé sady vzorků štěpené Proteinázou K

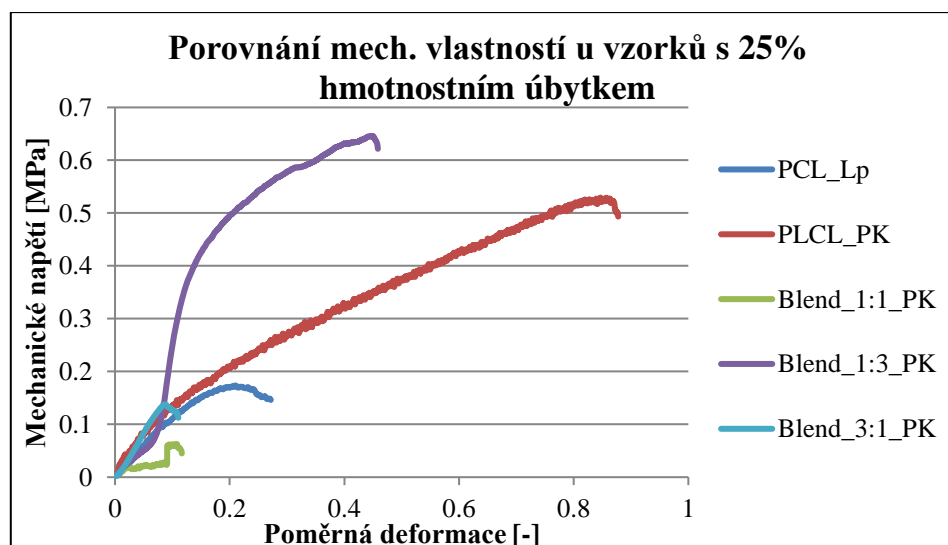
		Maximální síla $\pm$ SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle $\pm$ SD [%]	Napětí při maximální síle $\pm$ SD [MPa]
<b>PLCL s PK</b>	1. den	1,794 $\pm$ 0,2	189,69 $\pm$ 13,5	1,05 $\pm$ 0,15
	2. den	1,667 $\pm$ 0,3	181,7 $\pm$ 15,7	0,98 $\pm$ 0,16
	3. den	1,026 $\pm$ 0,1	163,75 $\pm$ 10,9	0,59 $\pm$ 0,11
	4. den	0,768 $\pm$ 0,3	140,21 $\pm$ 56,7	0,45 $\pm$ 0,17
<b>Blend 3:1 s PK</b>	1. den	1,813 $\pm$ 0,1	54,43 $\pm$ 10,7	0,78 $\pm$ 0,06
	2. den	0,845 $\pm$ 0,2	21,64 $\pm$ 2,9	0,36 $\pm$ 0,09
	3. den	0,356 $\pm$ 0,1	11,28 $\pm$ 4,04	0,15 $\pm$ 0,06
	4. den	0,198 $\pm$ 0,1	9,53 $\pm$ 4,3	0,08 $\pm$ 0,04
<b>Blend 1:1 s PK</b>	1. den	0,853 $\pm$ 0,02	48,44 $\pm$ 24,5	0,44 $\pm$ 0,01
	2. den	0,218 $\pm$ 0,08	13,48 $\pm$ 7,3	0,11 $\pm$ 0,04
	3. den	*	*	*
	4. den	*	*	*
<b>Blend 1:3 s PK</b>	1. den	0,957 $\pm$ 0,2	75,68 $\pm$ 31,5	0,75 $\pm$ 0,13
	2. den	0,289 $\pm$ 0,2	17,91 $\pm$ 10,3	0,23 $\pm$ 0,16
	3. den	*	*	*
	4. den	*	*	*

\* Vzhledem k vysokému stupni degradace nebylo možné provést mechanické testování

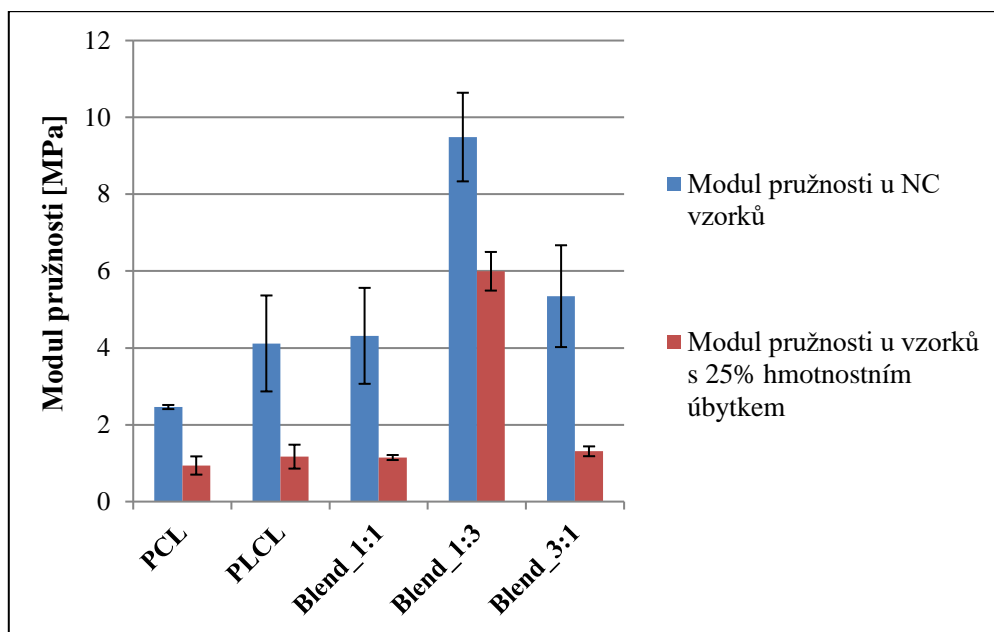
U většiny materiálů je vidět, jak se postupně zmenšuje pevnost a tažnost s každým následujícím dnem v důsledku enzymatické degradace. Pro porovnání mechanických vlastností testovaných vlákných polyesterových materiálů bylo vybráno stejné procento degradace s hmotnostním úbytkem 25 %. Pro lepší názornost pomocí získaných hodnot z pracovních grafů (viz Obr. D. 1 a D. 2 v přílohách) byly udělány smluvní grafy (viz Grafy 5, 6). Bylo spočítáno mechanické napětí a moduly pružnosti (dle vzorce uvedeného v kapitole 4.1) u každého vybraného materiálu. Ze získaných dat byly udělány nejen smluvní diagramy porovnávající mechanické vlastnosti materiálů mezi sebou ve stejném stupni degradace, ale byl také udělán sloupcový graf porovnávající moduly pružnosti NC vzorků a materiálů s 25% hmotnostním úbytkem, viz Graf 7.



Graf 5: Smluvní graf mechanických vlastností u NC vzorků, 4. den degradace



Graf 6: Smluvní graf mechanických vlastností materiálů s 25% hmotnostním úbytkem (Lp znamená materiál štěpený Lipázou, PK znamená materiály štěpené Proteinázou K)



Graf 7: Porovnání modulu pružnosti u NC vzorků a materiálů s 25% hmotnostním úbytkem

Z Grafů 5 a 6 je vidět, že v průběhu degradace dochází k výraznému zmenšení mechanického napětí a poměrné deformace u všech materiálů při 25% hmotnostním úbytku. Také je zřejmé, že při stejném stupni degradace vykazuje největší odolnost mechanickému namáhání materiál Blend 1 : 3 (s větším obsahem PLCL složky). Z Grafu 7 je patrné, že modul pružnosti, který je měřítkem tuhosti materiálu, klesá v průběhu degradace. Také je vidět, že největší modul pružnosti u NC vzorků a u vzorků s 25% hmotnostním úbytkem má Blend 1 : 3, což svědčí o tom, že tento materiál je nejpevnější ze všech ostatních testovaných materiálů.

## Závěr

V rámci této práce byly připraveny polyesterové vlákenné materiály, které jsou biodegradabilní a netoxické pro živý organismus. Cílem práce bylo zavedení postupu pro měření mechanických vlastností materiálů, včetně optimalizace degradace pomocí specifických enzymů, s následným měřením mechanických vlastností materiálu v průběhu degradace. Stručně jsou popsány metody dosažení degradace a metody mechanického testování materiálů před a po degradaci.

Na základě získaných výsledků z celé experimentální části je vidět, že degradace má výrazný vliv na morfologii materiálu, molekulovou hmotnost polymeru a mechanické vlastnosti materiálů. Testované vlákenné materiály byly morfologicky srovnatelné (viz Tab. 11 s průměry vláken), tudíž u mechanických testů morfologie by neměla být rozhodujícím faktorem, který by určoval mechanické chování vzorků, rozhodujícím faktorem je zastoupení polymerů (PCL : PLCL). Výsledky z měření mechanických vlastností vstupních materiálů příčně a podélně vyřezaných byly srovnatelné vzhledem k omezené homogenitě materiálů (nezáleží na směru vyřezání vzorku). Zároveň bylo optimalizováno mechanické testování na mokřích vzorcích.

V průběhu degradace polyesterových vlákenných materiálů byl sledován hmotnostní úbytek, změna morfologie vláken a změna molekulové hmotnosti a krystalinity polymerů. Výsledky hmotnostního úbytku ukazují, že Lipáza nekatalyzuje degradaci všech Blendů tak účinně, jako Proteináza K. Také bylo zjištěno, že Blendy štěpené Proteinázou K zdegradovali na takové procento, jaké byly poměry zastoupených polymerů PCL : PLCL (výsledky z hmotnostního úbytku odpovídají obsahu PLCL složky v Blendech štěpených Proteinázou K).

Ze SEM snímků byla pozorována změna morfologie a bylo vidět, že nejdříve dochází k degradaci na povrchu vlákenného materiálu, poté degradují polymerní řetězce v amorfních oblastech a nakonec degraduje krystalická oblast (lamelární vrstvy se rozpadají). Ale změna morfologie není v průběhu degradace u každého z materiálů stejná, například u PCL vznikají nadrobená vlákna, u PLCL se vlákna spojují (tvoří se celky). Výsledky z měření molekulové hmotnosti ukázaly, že u všech Blendů zůstávají částečně degradované makromolekuly (s nižší molekulovou hmotností) součástí zbylého materiálu, výraznější s přibývajícím PLCL složkou.



Dále bylo provedeno mechanické testování na degradovaných vzorcích, ze kterého bylo zjištěno, že v důsledku enzymatické degradace se postupně zmenšuje pevnost a tažnost s každým následujícím dnem. Z obou sad vzorků je patrné, že všechny Blendy degradované Lipázou mají větší odolnost vůči degradaci a mechanickému zatěžování, než Blendy degradované Proteinázou K a samotné čisté PCL a PLCL materiály.

Poté byly porovnány mechanické vlastnosti vlákenných materiálů ve stejném stupni degradace (s 25% hmotnostním úbytkem) a materiálů z NC. Z výsledků je zřejmé, že v průběhu degradace dochází k výraznému zmenšení mechanického napětí, poměrné deformace a modulu pružnosti. Největší odolnost mechanickému namáhání při stejném stupni degradace prokázal materiál Blend 1 : 3 (s větším obsahem PLCL složky), proto lze usuzovat, že tento materiál je nejpevnější ze všech ostatních testovaných materiálů.

V rámci práce byla optimalizována metodika degradace vlákenných materiálů s následnou analýzou mechanických vlastností. Pro budoucí experimenty testování mechanických vlastností materiálů v průběhu degradace bych navrhol udělat větší počet vzorků pro každý testovací den, aby bylo možné výsledky lépe statisticky zpracovat. Také by bylo dobré testovat materiály v delším časovém úseku při pomalejší degradaci, ze které vyjde větší počet dat.

## Literatura

- [1] Charakteristika nanovláken, 2018. *Elmarco* [online]. Liberec: Versoft.cz [cit. 2018-01-30]. Dostupné z: <http://www.elmarco.cz/technologie/nanovlakna/>
- [2] RŮŽIČKOVÁ J., 2010. *Uvolňování začleněných látek ze struktury nanovláken a možnosti využití v medicíně*. Liberec. Disertační práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní. Školitel: Prof. RNDr. Oldřich Jirsák CSc.
- [3] LUKÁŠ, D., SARKAR, A., MARTINOVÁ, L., VODSEĎÁLKOVÁ, K., LUBASOVÁ, D., CHALOUPEK, J., POKORNÝ, P., MIKEŠ, P., CHVOJKA, J. and KOMÁREK, M., 2009. Physical principles of electrospinning (Electrospinning as a nanoscale technology of the twentyfirst century). *Journal Textile Progress*. **41**(2), 59-140. DOI: 10.1080/00405160902904641.
- [4] BHARDWAJ, N., KUNDU, S., 2010. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. **28**(3), 325–347. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.01.004.
- [5] DONG, LIAO AT AL., 2009. Degradation behaviors of electrospun resorbable polyester nanofibers. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. **15**(3), 333–351. DOI: 10.1089/ten.TEB.2008.0619.
- [6] PETRÁŠ, D., KIMMER, D., SOUKUP, K., KLUSOŇ, P., 2009. Bezpečná nanovlákná. *Chemické listy*. **103**, 1009-1016.
- [7] NAIN, A., WONG, J., AMON, C., and SITTI, M., 2006. *Drawing suspended polymer micro-/nanofibers using glass micropipettes*. Department of Mechanical Engineering, Carnegie Mellon University, Pittsburgh. DOI: 10.1063/1.2372694
- [8] RAMAKRISHNA, S., FUJIHARA, K., TEO, W. E., LIM, T. CH., MA, Z., 2010. An introduction to electrospinning and nanofibers. *World Scientific Publishing Co Pte Ltd*. 341. ISBN 981-256-415-2.
- [9] XING, X., YU, H., ZHU, D., Jiapeng ZHENG, J., CHEN, H., 2012. Subwavelength and nanometer diameter optical polymer fibers as building blocks for miniaturized photonics integration. *Intech Open Access Publisher*. 289-320. DOI: 10.13140/2.1.1698.4649

- [10] JIRSÁK, O., KALINOVÁ, K., 2003. *Netkané textilie*. Liberec: Technická univerzita. ISBN 80-7083-746-2.
- [11] SARKAR, K., GOMEZ, C., ZAMBRANO, S., RAMIREZ, M., DE HOYOS, E., VASQUEZ, H. a LOZANO, K., 2010. Electrospinning to Forcespinning<sup>TM</sup>. *Materials Today*. **13**(11), 12-14. DOI: 10.1016/S1369-7021(10)70199-1.
- [12] OBREGON, N., AGUBRA, V., POKHREL, M., CAMPOS, H., FLORES, D., 2016. Effect of polymer concentration, rotational speed, and solvent mixture on fiber formation using forcespinning. *Fibers*. **4**(2), 20. DOI: 10.3390/fib4020020.
- [13] SCOTT G., 2002. *Degradable Polymers, Principles and applications*. 2nd Edition. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 493 pages. ISBN 1-4020-0790-6.
- [14] DUCHÁČEK, V., 2011. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Vyd. 3., Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-788-0.
- [15] KRATOCHVÍL, B., ŠVORČÍK, V., VOJTĚCH, D., 2005. *Úvod do studia materiálů*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-7080-568-4.
- [16] HUNKELER, D., MECKENSTOCK, R., LOLLAR, B., SCHMIDT, T. and WILSON, J., 2009. *A Guide for assessing biodegradation and source identification of organic groundwater contaminants using compound specific isotope analysis (CSIA)*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/R-08/148.
- [17] KROISOVÁ, D. *Biodegradovatelné polymery – úvod do problematiky*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009. ISBN 978-80-7372-468-9.
- [18] VOJTOVÁ, L., WOLFOVÁ, L., JUREČKOVÁ, L., KOHUTOVÁ, L., 2015. Úvod do tkáňového inženýrství. In *Úvod do tkáňového inženýrství*. Česká Republika: MediaBros s.r.o. s. 19-45. ISBN: 978-80-260-9720-4.
- [19] ZONG, X., RAN, S., KIM, K., FANG, D., HSIAO, B., CHU, B., 2003. Structure and morphology changes during in vitro degradation of electrospun poly(glycolide-co-lactide) nanofiber membrane. *Biomacromolecules*. **4**(2), 416–423. DOI: 10.1021/bm025717o.
- [20] MILITKÝ, J., 2012. *Textilní vlákna: klasická a speciální*. [2. vydání]. V Liberci: Technická univerzita. ISBN 978-80-7372-844-1.

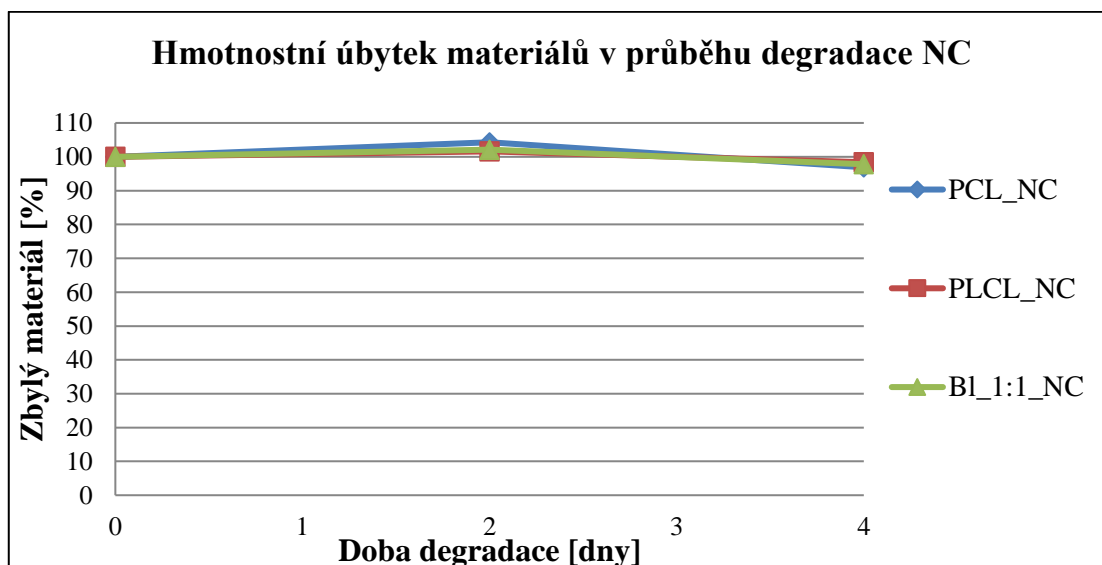
[21] STOJASPAL, R., 2007. *Aplikace gelové permeační chromatografie pro charakterizaci biopolymerů*. Zlín. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Ing. Věra Kašpárková, CSc.

[22] Calorimetry, 2018. *Polymer Science Learning Center* [online]. [cit. 2018-02-15]. Dostupné z: <http://pslc.ws/macrog/dsc.htm>

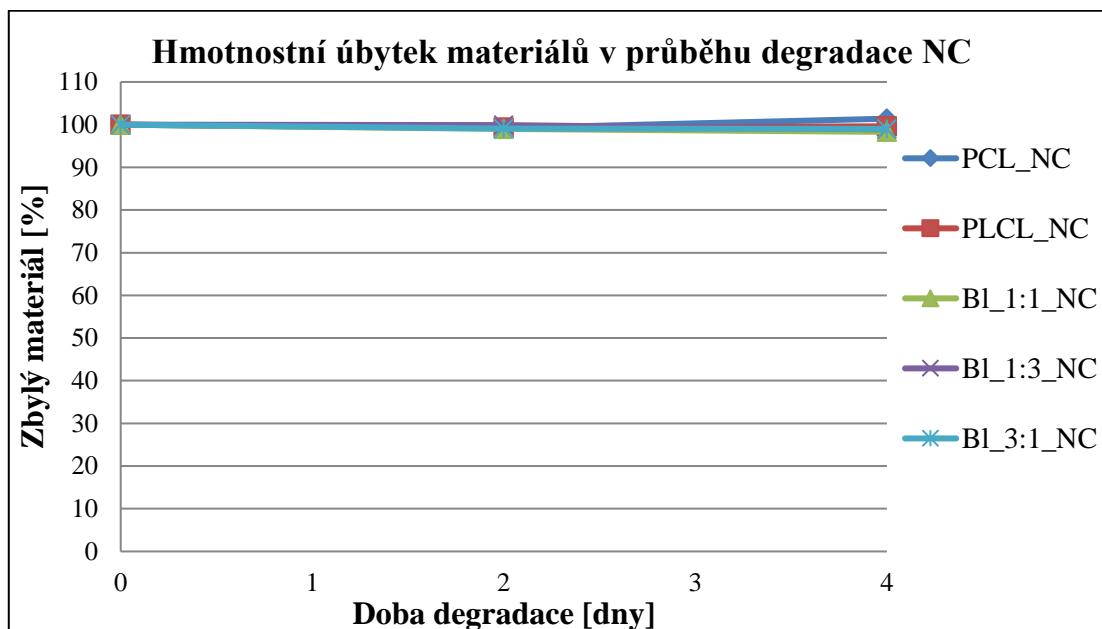
[23] Elektronová mikroskopie transmisní a rastrovací, 2018. *Společná laboratoř optiky Univerzity Palackého v Olomouci a Fyzikálního ústavu Akademie věd ČR* [online]. [cit. 2018-02-15]. Dostupné z: [http://jointlab.upol.cz/~soubusta/OSYS/El\\_mikr/El\\_mikr.html](http://jointlab.upol.cz/~soubusta/OSYS/El_mikr/El_mikr.html)

## Přílohy

### A Výsledky hmotnostních úbytků NC vzorků

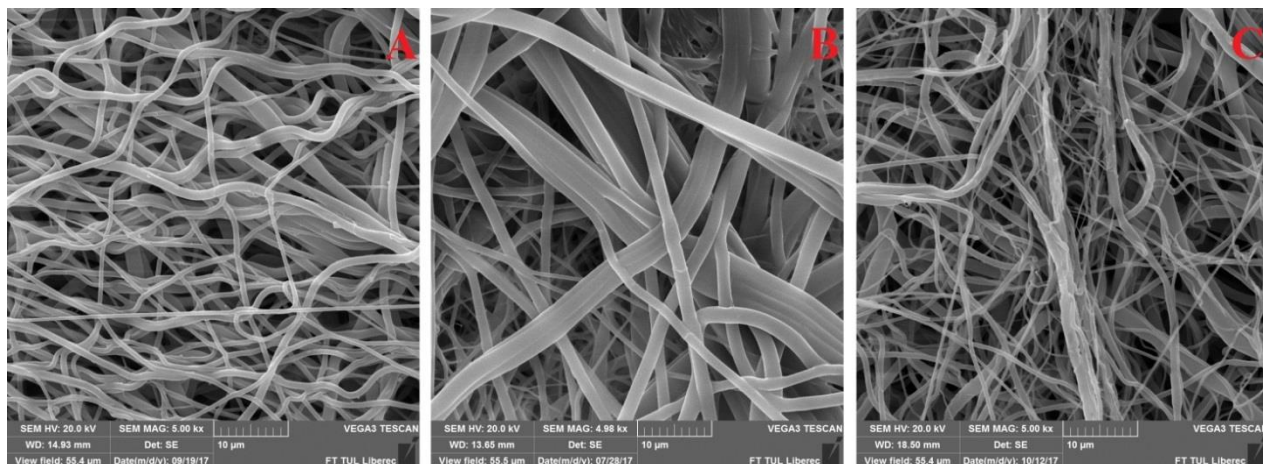


Graf A. 1: Hmotnostní úbytek první sady materiálů v průběhu degradace NC

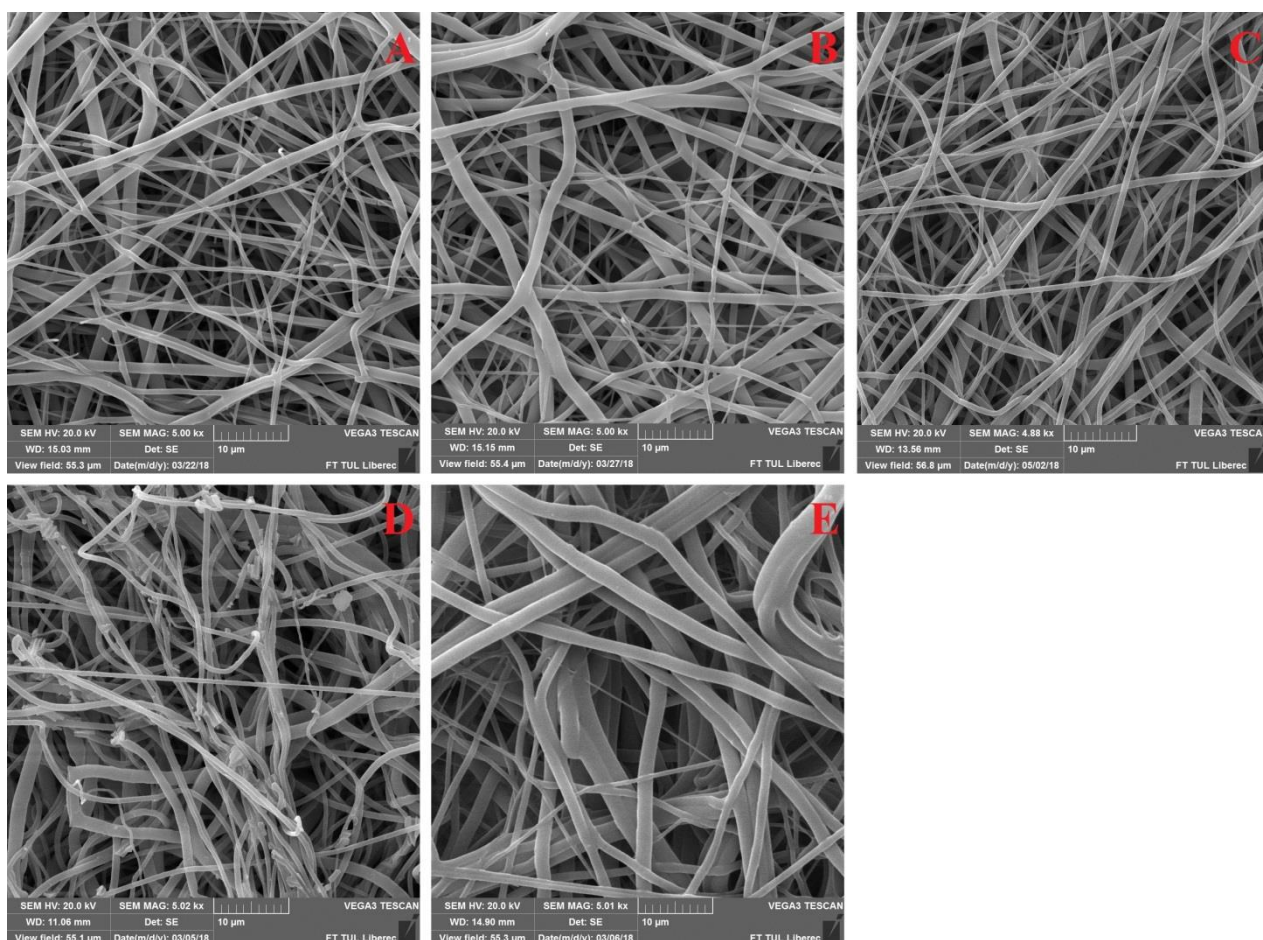


Graf A. 2: Hmotnostní úbytek druhé sady materiálů v průběhu degradace NC

## B Snímky z elektronového mikroskopu NC vzorků po čtyřech dnech degradace



Obr. B. 1: Snímky z elektronového mikroskopu první sady NC materiálů, 4. den degradace, zvětšení 5000x, A - PCL, B - PLCL, C - Blend 1:1



Obr. B. 2: Snímky z elektronového mikroskopu druhé sady NC materiálů, 4. den degradace, zvětšení 5000x, A - Blend 1:1, B - Blend 1:3, C - Blend 3:1, D - PCL, E - PLCL

## C Výsledky mechanických testů NC vzorků

Tab. C. 1: Výsledky mechanického testování NC z první sady vzorků během průběhu degradace (v tabulce jsou data uvedena jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD))

	NC_PCL		
	Maximální síla $\pm$ SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle $\pm$ SD [%]	Napětí při maximální síle $\pm$ SD [MPa]
2. den	2,09 $\pm$ 0,3	184,46 $\pm$ 43,6	0,87 $\pm$ 0,1
4. den	2,53 $\pm$ 0,1	351,89 $\pm$ 15,8	1,05 $\pm$ 0,05

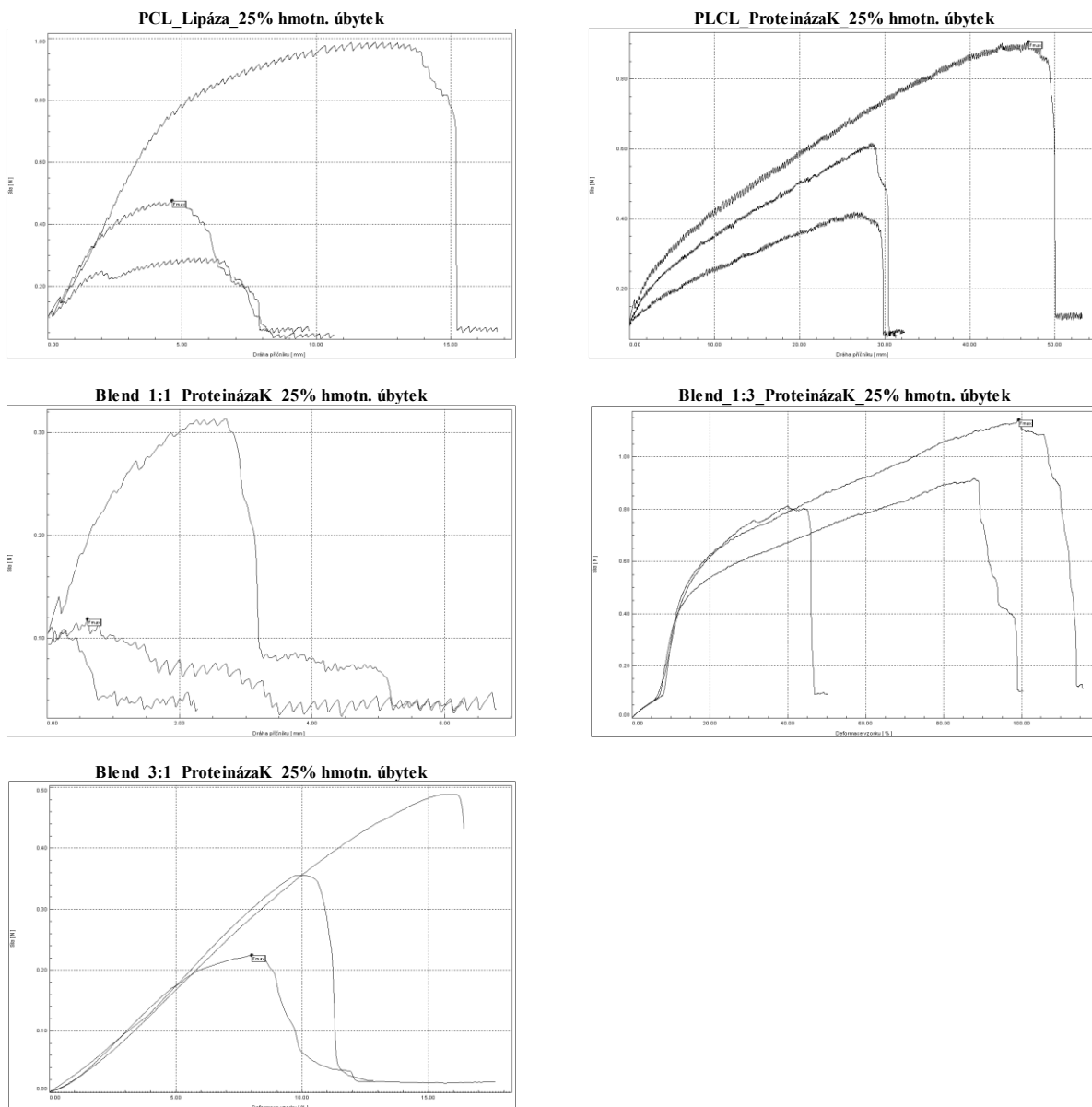
	NC_PLCL		
	Maximální síla $\pm$ SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle $\pm$ SD [%]	Napětí při maximální síle $\pm$ SD [MPa]
2. den	2,07 $\pm$ 0,1	144,93 $\pm$ 2,4	2,3 $\pm$ 0,07
4. den	2,19 $\pm$ 0,1	162,02 $\pm$ 26,1	2,44 $\pm$ 0,08

	NC_Blend 1:1		
	Maximální síla $\pm$ SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle $\pm$ SD [%]	Napětí při maximální síle $\pm$ SD [MPa]
2. den	2,07 $\pm$ 0,01	235,18 $\pm$ 119,2	1,38 $\pm$ 0,006
4. den	2,3 $\pm$ 0,7	189,6 $\pm$ 74,7	1,53 $\pm$ 0,48

Tab. C. 2: Výsledky mechanického testování NC z druhé sady vzorků v průběhu degradace (v tabulce jsou data uvedena jako střední hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD))

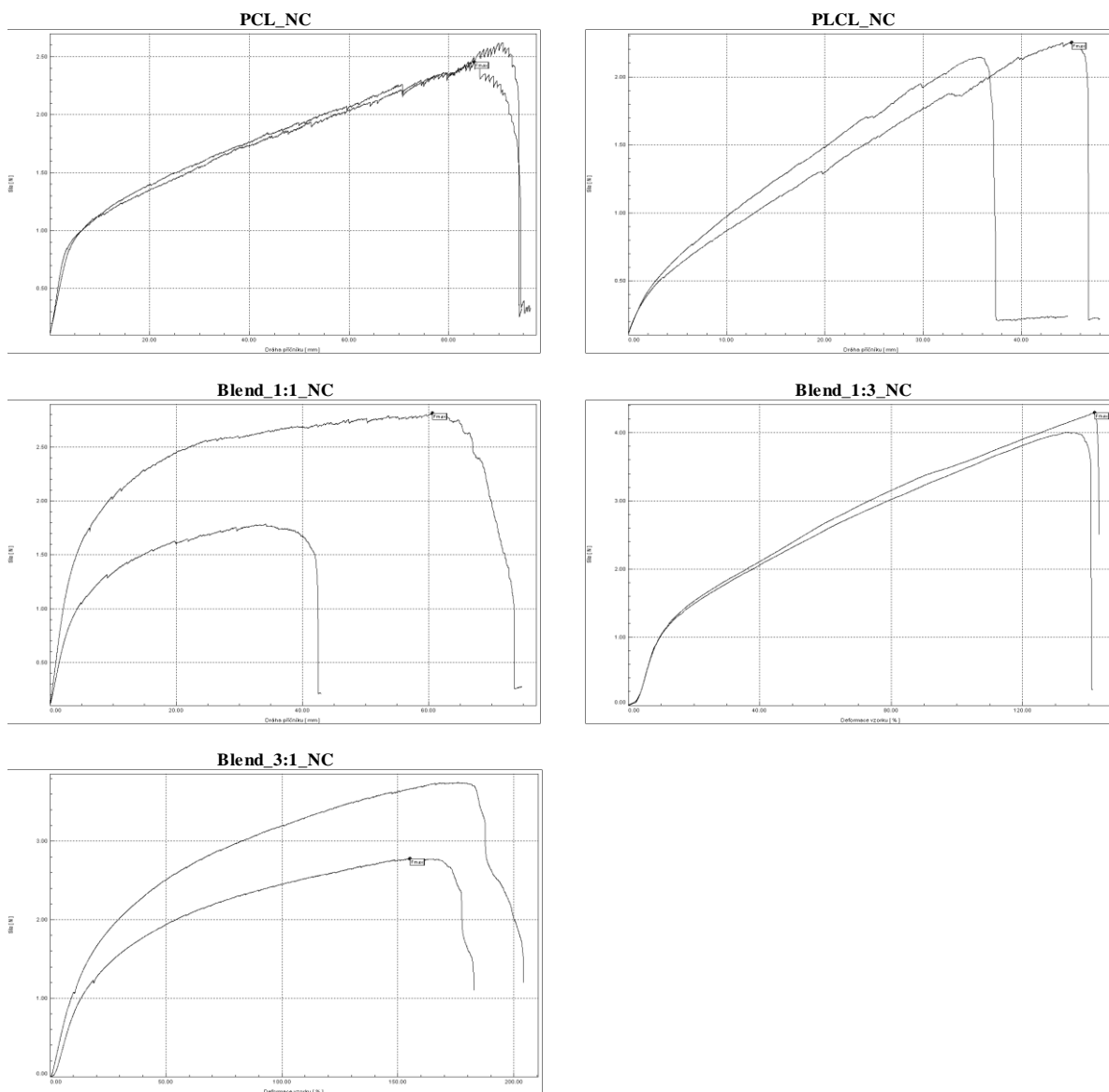
		Maximální síla $\pm$ SD [N]	Poměrné prodloužení při maximální síle $\pm$ SD [%]	Napětí při maximální síle $\pm$ SD [MPa]
NC_PCL	2. den	5,39 $\pm$ 1,8	118,92 $\pm$ 19,7	1,92 $\pm$ 0,67
	4. den	4,98 $\pm$ 1,6	94,51 $\pm$ 6,04	1,77 $\pm$ 0,56
NC_PLCL	2. den	5,28 $\pm$ 0,2	220,78 $\pm$ 0,4	3,1 $\pm$ 0,15
	4. den	5,07 $\pm$ 0,4	194,07 $\pm$ 18,4	2,97 $\pm$ 0,23
NC_Blend 1 : 1	2. den	4,08 $\pm$ 0,2	174,04 $\pm$ 16,5	2,1 $\pm$ 0,13
	4. den	3,78 $\pm$ 0,2	144,65 $\pm$ 15,3	1,93 $\pm$ 0,13
NC_Blend 1 : 3	2. den	4,19 $\pm$ 0,6	132,64 $\pm$ 11,1	3,3 $\pm$ 0,48
	4. den	4,15 $\pm$ 0,2	137,7 $\pm$ 6,04	3,26 $\pm$ 0,16
NC_Blend 3 : 1	2. den	4,11 $\pm$ 0,6	213,59 $\pm$ 27,1	1,77 $\pm$ 0,27
	4. den	3,26 $\pm$ 0,7	165,81 $\pm$ 14,8	1,41 $\pm$ 0,29

## D Pracovní grafy testovaných materiálů získané z trhačích stroje



Obr. D. 1: Pracovní grafy materiálů s 25% hmotnostním úbytkem  
(na ose Y je síla v [N]; na ose X je deformace vzorků v [%])





*Obr. D. 2: Pracovní grafy NC vzorků  
(na ose Y je síla v [N]; na ose X je deformace vzorků v [%])*

**E Obsah příloženého CD:**

Lisnenko\_Maxim\_BP\_2018.pdf