



Bakalářská práce

Nanovlákná typu shishkebab s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi

Studijní program:

B0519A270001 Bioinženýrství

Autor práce:

Ashot Agazarian

Vedoucí práce:

doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D.
Katedra chemie

Liberec 2024



Zadání bakalářské práce

Nanovláknna typu shishkebab s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi

<i>Jméno a příjmení:</i>	Ashot Agazarian
<i>Osobní číslo:</i>	P21000709
<i>Studijní program:</i>	B0519A270001 Bioinženýrství
<i>Zadávací katedra:</i>	Katedra chemie
<i>Akademický rok:</i>	2022/2023

Zásady pro vypracování:

1. Seznamte se s odbornou literaturou na téma tvorby polymerních nanovláken typu shishkebab pro medicínské aplikace a téma struktury a vlastností uhlíkových nanotrubic.
2. Vypracujte literární rešerši týkající se tvorby nanovláken typu shishkebab z polykaprolaktonu.
3. Navrhněte a realizujte sérii experimentů s tvorbou kompozitních nanovláken obsahujících uhlíkové nanotrubicce a jejich postprocesní úpravou do podoby shishkebab.
4. Studujte strukturní charakteristiky těchto nanovláken s vlivem uhlíkových nanotrubic.
5. Diskutujte výsledky a vyvodte závěry.

Rozsah grafických prací: dle potřeby dokumentace
Rozsah pracovní zprávy: 50 stran
Forma zpracování práce: tištěná/elektronická
Jazyk práce: čeština

Seznam odborné literatury:

1. Wu, T., Chen, X., Sha, J. et al. Fabrication of shish-kebab-structured carbon nanotube/poly(ϵ -caprolactone) composite nanofibers for potential tissue engineering applications. *Rare Met.* 38, 64–72 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12598-017-0965-y>.
2. Jing, Xin, Hao-Yang Mi, Travis M. Cordie, Max R. Salick, Xiang-Fang Peng, a Lih-Sheng Turng. "Fabrication of Shish–Kebab Structured Poly(ϵ -Caprolactone) Electrospun Nanofibers That Mimic Collagen Fibrils: Effect of Solvents and Matrigel Functionalization". *Polymer* 55, č. 21 (říjen 2014): 5396–5406. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.08.061>.
3. Bhushan, Bharat. *Springer handbook of nanotechnology*. 4th edition. Springer handbooks 15558. New York, NY: Springer Berlin Heidelberg, 2017.

Vedoucí práce: doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D.
Katedra chemie

Datum zadání práce: 30. června 2023
Předpokládaný termín odevzdání: 24. dubna 2024

prof. RNDr. Jan Pícek, CSc.
děkan

L.S.

doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková,
Ph.D.
garant studijního programu

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 poděkovat paní docentce Kuželové-Košťákové za vedení mé práce a skvělou bezproblémovou domluvu a vždy rychlou zpětnou vazbu během celé tvorby bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat paní inženýrce Hauzerové za pomoc se zpracováním buněčných testů. Také bych chtěl poděkovat panu doktorovi Kejzlarovi za povrchovou analýzu materiálů na SEM. Ještě bych chtěl poděkovat své rodině za trpělivost během všech let studia, za podporu a speciálně mé sestře za největší podporu.

Anotace

Hlavním cílem této práce je zjistit vliv uhlíkových integrovaných nanotrubic na výslednou strukturu nanovláken připravených postprocesní úpravou do podoby shish-kebab struktur.

Dalším účelem této studie je prozkoumat, zda se liší základní vlastnosti vláken typu shish-kebab s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi a bez nich. Také se zjistí, zda se liší průměry vláken v závislosti na přítomnosti úpravy shish-kebab a také plošné hmotnosti materiálů s touto úpravou a bez ní. Autor dané práce si myslí, že je nutné provést i základní buněčné testy a to především na cytotoxicitu vyrobených materiálů.

Autor rovněž doufá, že výsledky této práce budou užitečné k budoucím zkoumáním v dané oblasti.

Klíčová slova:

Nanovlákná typu shish-kebab, uhlíkové nanotrubice, polykaprolakton, stejnosměrné elektrické zvlákňování (DC).

Annotation

The main purpose of this study is to determine the influence of integrated carbon nanotubes on the resulting structure of nanofibers prepared by post-processing into the form of shish-kebab structures.

Another purpose of this study is to investigate whether the basic properties of shish-kebab fibers with and without incorporated carbon nanotubes differ. It will also be determined whether fiber diameters differ depending on the presence of shish-kebab treatment, as well as the basis weight of materials with and without this treatment. The author of the work thinks that it is necessary to carry out basic cell tests, especially for the cytotoxicity of the produced materials.

The author also hopes that the results of this work will be useful for future investigations in the given area.

Keywords:

Shish-kebab nanofibers, carbon nanotubes, polycaprolactone, DC electrospinning.

Obsah

1. Úvod	5
2. Teoretická část.....	6
2.1. Nanovláknna.....	6
2.2. Elektrické zvlákňování	6
2.2.1. Stejnoseměrné elektrické zvlákňování	7
2.2.2. Střídavé elektrické zvlákňování	10
2.3. Nanovláknna typu shish-kebab.....	11
2.3.1. Krystalizace polymerních materiálů.....	12
2.3.2. Tvorba vláknenných materiálů typu shish-kebab postprocesní úpravou	15
2.3.3. Volba materiálů	17
2.3.4. PCL – polykaprolakton.....	17
2.3.5. Využití nanovláken typu shish-kebab	18
2.4. Předchozí studie vlivu přídavku MWCNTs	19
3. Experimentální část	21
Cíle práce.....	21
3.1. Materiály.....	21
3.1.1. Příprava roztoků	21
3.1.2. Elektrické zvlákňování a postprocesní úprava	23
3.2. Metody hodnocení	24
3.2.1. Skenovací elektronová mikroskopie.....	24
3.2.2. DSC	26
3.2.3. Měření plošné hmotnosti	27
3.2.4. Cytotoxicita vyrobených materiálů	28
3.3. Výsledky a diskuze.....	29
3.3.1. Obrazová analýza zvlákněných materiálů bez a s postprocesní úpravou.....	29
3.3.2. Plošné hmotnosti	44
3.3.3. Stupeň krystalinity zvlákněných materiálů.....	45
3.3.4. Hodnocení cytotoxicity zvlákněných materiálů bez a s postprocesní úpravy	46
3.3.5. Nános postprocesní úpravy.....	47
4. Závěr.....	49
5. Použitá literatura.....	50

Seznam zkratek a symbolů

% – procenta
hm% – hmotnostní procenta
% RH – relativní vlhkost vzduchu
°C – stupně Celsia
Atd. – a tak dále
cm – centimetr
CO₂ – molekula oxidu uhličitého
g – gramy
Hz – Hertz
kV – kilovolty
mg – miligramy
ml – mililitr
mm – milimetr
MWCNTs - Multi-walled carbon nanotubes
nm – nanometr
SEM – Skenovací elektronová mikroskopie
μm – mikrometr
AC – střídavé zvlákňování
DC – stejnosměrné zvlákňování
Obr. č. – obrázek číslo
kHz – kilo Hertz
např. – například
PCL – polykaprolakton
PDA - p-Phenylene-diamin
TPA -1,4-terephthalaldehyd
g/mol – jednotka gram na mol
PCL 45 – polykaprolakton o Mn = 45000
PCL 80 - polykaprolakton o Mn = 80000
ECM - extracelulární matrix
NVSK – nanovlákna shish-kebab
CF – chloroform
EtOH – etanol
PeAc – pentylacetát
mm/min – jednotka odtahové rychlosti
NS – Nanospider
eV – elektron volt
BSE – zpětně odražené elektrony
SE – sekundární elektrony
DSC - diferenční skenovací kalorimetrie
CCK-8 – metabolický test

1. Úvod

Nanovlákná typu shish-kebab jsou revoluční materiály, které kombinují pokročilé vlastnosti nanotechnologií s jedinečnou strukturou a flexibilitou vláken. Tato vlákna se obvykle vyrábí z netoxických biodegradabilních polymerů, typicky je to například polykaprolakton (PCL), ze kterého jsou vyrobena vlákna pomocí elektrického zvlákňování s následnou postprocesní úpravou i v experimentální části této bakalářské práce. Vlákna mají v průměru stovky nanometrů a jsou nezměřitelně dlouhá, často označovaná za nekonečně dlouhá..

Nanovlákná typu shish-kebab jsou strukturně velmi zajímavé materiály, které díky svému členitému povrchu mohou mít výrazný vliv při jejich použití v medicínských aplikacích a to jak na eukaryotické tak na prokaryotické buňky. Postprocesní úprava polymerních nanovláken vedoucí k povrchovým strukturálním úpravám je v literatuře popisována spíše z empirického pohledu. Prozatím nejsou detailně prostudovány jednotlivé parametry, které by mohly proces výroby nanovláknenných materiálů s povrchovými změnami ovlivňovat. Přídavek nerozpustné inertní látky respektive částic by mohl narušit tvorbu krystalických oblastí v polymerních nanovláknách a tím změnit finální uspořádání povrchu po postprocesní úpravě. Právě ověřením této úvahy se zabývá tato bakalářská práce

Uhlíkové nanotrubicе jsou cylindrické struktury o průměru na úrovni nanometrů a délkách v jednotkách až stovkách mikrometrů s obrovským potenciálem ve zlepšení mechanické pevnosti, elektrické vodivosti, tepelné stability a dalších důležitých vlastností materiálů. Začlenění nanotubic do polymerních mikro a nanovláken obecně vede k nové generaci materiálů, které mají širokou škálu využití. Tato nanovlákná lze využít v elektronice, medicíně, textilu, ochraně životního prostředí a mnoha dalších oblastech. Jako příklad lze uvést možnost výroby ultratenkých senzorů, výkonných baterií, pevných a lehkých kompozitů, a dokonce i pokročilých systémů čištění vody. V případě této bakalářské práce pak slouží jako aditivum, jehož vliv byl sledován na výsledné povrchové strukturální změny vláken po postprocesní úpravě.

Cílem této práce bylo prozkoumat, zda se liší základní vlastnosti vláken typu shish-kebab s integrovanými uhlíkovými nanotubicemi a bez nich. Sledovány byly průměry vláken (zda se liší v závislosti na přítomnosti dané úpravy), plošné hmotnosti daných materiálů, a to vždy v porovnání vláken s nanotubicemi s vlákny bez nanotubic. Autor se v této práci pokusí objasnit svůj postup a doufá, že by mohl být užitečný k dalším studiím.

2. Teoretická část

Co jsou nanomateriály a nanotechnologie obecně?

Nanotechnologie - soubor metod a praktik, které umožňují řízeně vytvářet a upravovat objekty, obsahující malé komponenty o rozměrech menších než 100 nm, které mají zásadně nové vlastnosti a umožňují jejich integraci do plně funkčních systémů většího měřítka.

Nanomateriály - materiály obsahující strukturní prvky, jejichž geometrické rozměry alespoň v jedné ose tohoto materiálu nepřesahují 100 nm a které mají kvalitativně nové vlastnosti, funkce a provozní charakteristiky. (Baloyan et al. 2007)

2.1. Nanovlákná

Nanovlákná – pojem, který je dnes přijímán jako zcela běžný, avšak jeho definice není zcela jednoznačná. Toto slovo se skládá ze dvou částí:

- 1) nano (z řeckého *nanos*, což znamená *trpaslík*) – vyjadřující rozměr 10^{-9} m
- 2) vlákno – dlouhý válcovitý útvar, který se vyznačuje podstatně vyšší délkou oproti průměru daného útvaru. (Jenčová et al. 2021)

Technická profesionální komunita, která se zabývá problematikou výroby především polymerních nanovláken přijímá spíše definici uvedenou v publikaci (Wilson 2010): „Nanovlákná jsou obvykle válcovité struktury s vnějším průměrem pod 1000 nm a s rozměrovým poměrem délky vlákna ku jeho průměru, který by měl být větší než 50.“.

Nanovlákná jsou považována za skutečně revoluční materiály a přesně proto jejich zkoumání a výroba se v posledních letech aktivně propagují. Jedinečnost těchto materiálů tkví v jejich rozměrech, které jim přiřazují výjimečné vlastnosti jako jsou:

- vysoká plocha povrchu
- vysoká absorpční schopnost
- vysoký poměr specifické plochy k objemu

2.2. Elektrické zvlákňování

Elektrické zvlákňování je proces tvorby polymerních nanovláken pomocí elektrického pole. Vlákna se při této metodě vytvářejí pomocí nabíjených elektrod (jednoduše řečeno díky rozdílu elektrických potenciálů). Elektrické zvlákňování lze dělit podle typu použitého zdroje elektrického napětí na stejnosměrné (DC electrospinning) a střídavé (AC electrospinning) elektrické zvlákňování. Jak je dále ukázáno, u metody AC electrospinningu se zmíněné dvě

elektrody nevyžadují, tato metoda se tím právě liší od DC electrospinningu, který byl použit během experimentální části této práce. (Yue Wu et al. 2008)

Nejjednodušší zařízení pro DC electrospinning se skládá především ze zdroje vysokého napětí, kovové jehly nasazené na injekční stříkačce umístěné do dávkovacího zařízení, která je napojena na zdroj vysokého napětí a uzemněného elektricky vodivého kolektoru. (Greiner a Wendorff 2007).

Během procesu DC electrospinningu, pod vlivem vysokého napětí se kapka polymerního roztoku na hrotu jehly deformuje do kuželovitého tvaru, který se obecně nazývá Taylorův kužel. Elektrická síla je hnací silou pro zahájení procesu electrospinningu. Pod vlivem silného elektrického pole se vytváří náboj v roztoku a na špičce spinneru nebo jehly mění svou velikost, aby se udržela rovnováha sil. S rostoucí intenzitou elektrického pole dochází k vzájemnému odpuzení nábojů na zvlákňovacím povrchu polymerního roztoku. Tyto odpudivé síly působí proti silám způsobovaným povrchovým napětím zvlákňované kapaliny, což vede k deformaci kapky roztoku a začátku procesu zvlákňování. Jestliže elektrické pole dosáhne kritického napětí V_c , pak rovnováha odpudivých sil se poruší, a kvůli tomu se vytvoří povrchová vrstva, která pak nabitým proudem vystřelí ze špičky kuželovité kapky. Kritické napětí V_c (napětí, za kterého dochází k začátku zvlákňování) pro DC electrospinning je dáno následujícím výrazem založeným na Taylorově výpočtu: (Long et al. 2019)

$$V_c^2 = 4 \frac{H^2}{h^2} \left(\ln \left(\frac{2h}{R} \right) - 1.5 \right) (1.3\pi R\gamma)(0.09)$$

kde H je vzdálenost od špičky jehly do kolektoru, h je výška sloupce kapaliny, R je vnitřní poloměr jehly a γ je povrchové napětí roztoku (jednotky: H , h a R jsou v cm, g a dyn/cm). Po prodloužení vláken a odpaření rozpouštědla nebo ochlazení taveniny se nakonec na sběrač nanese pevná ultratenká vlákna. Nakonec se vytvoří tenká netkaná vrstva s vláknitou strukturou, přičemž vlákna se usazují kontinuálně na kolektoru. (Long et al. 2019)

2.2.1. Stejnoseměrné elektrické zvlákňování

Jak už bylo zmíněno, v procesu DC elektrického zvlákňování, se nanovláknem vytváří pomocí elektrických sil a to díky rozdílu elektrických potenciálů mezi elektrodami. Jedna z nabitých elektrod je v kontaktu s polymerním roztokem, zatímco druhá plní roli kolektoru, zjednodušeně: polymerní roztok se nabije, začnou se tvořit polymerní trysky, ty se ve zvlákňovacím prostoru dluží a vysušují a pak vlákna letí směrem ke kolektoru (viz Obr. č.1 a 2).

To, jakého tvaru či uspořádání budou obě elektrody je prvním základním parametrem ovlivňujícím tvorbu nanovláken. (Yue Wu et al. 2008)

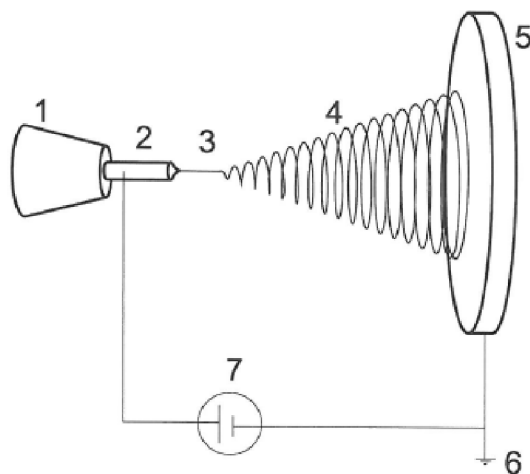
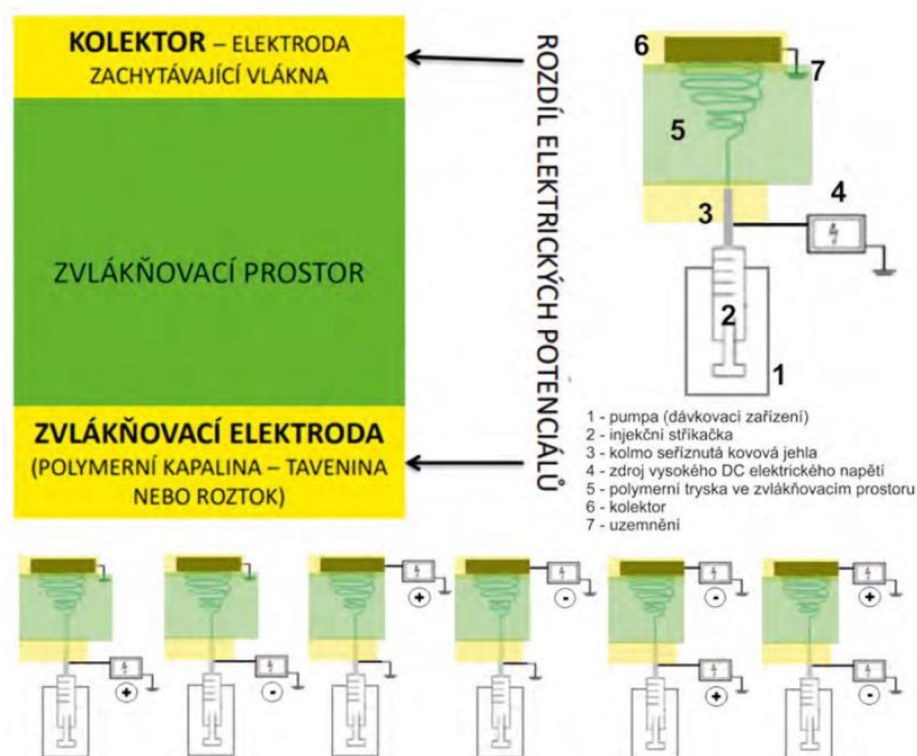


Schéma elektrostatického zvlákňování z trysky: (1) stříkačka napojená na pumpu, (2) jehla/kapilára jako jedna z elektrod, (3) stabilní část trysky, (4)bičující zóna, (5) kolektor, (6) uzemnění, (7) zdroj vysokého napětí.

*Obr. č.1: Schéma elektrického zvlákňování z trysky
Převzato z (Lukáš, 2009).*

Proces elektrického zvlákňování se skládá z několika kroků:

- Příprava polymerního roztoku či taveniny jako zvlákňované polymerní kapaliny (zvlákňování z taveniny nebo z roztoku).
- Roztavený nebo rozpuštěný polymer se přivádí na zvlákňovací elektrodu (například na rotující válec, či jehlu, či zvlákňovací drát v závislosti na technologii zvlákňování) a potom následuje proces elektrického zvlákňování.
- Vlákna procházejí elektrickým polem, čímž se elektricky nabijí a dlouží se do velmi jemných vláken o průměru stovek nanometrů.
- Tato vlákna se ukládají na sběrnou desku tedy kolektor, kde se vlákna spojují do nanovláknenné sítě.



Obr. č.2: Schéma zvlákňovacího prostoru při elektrickém zvlákňování stejnosměrným elektrickým proudem s příkladem jehlové (kapilární) zvlákňovací elektrody a rovinného plošného kolektoru (vpravo nahoře). Příklady všech teoreticky možných zapojení zdrojů elektrického napětí a uzemnění na příkladu jehlového DC electrospinningu pro dosažení nadkritického rozdílu elektrických potenciálů. Tyto možnosti zapojení platí jak pro bezjehlové DC elektrické zvlákňování, tak i pro elektrické DC elektrické zvlákňování z volné hladiny zvlákňovacího roztoku.

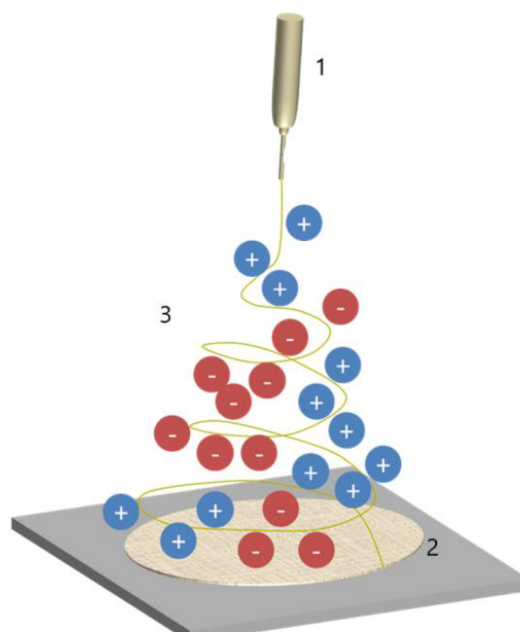
Výsledný materiál, získaný pomocí této metody, je ve formě tenké a jemné vrstvy nanovláken, která mají náhodnou orientací na podkladovém materiálu. Délka vláken získaných touto technologií je označována za nekonečnou, a to z toho důvodu, že vlákno začíná se vznikem polymerní trysky a končí s jejím zánikem, není tedy možné jednoduchou optickou analýzou jejich délku změřit. Výsledná nanovláknenná vrstva se vyznačuje vysokou porozitou, velkým specifickým povrchem a relativně velmi malými póry. (Jenčová et al. 2021)

Tím, že se v této práci bude používat technologie bezjehlového zvlákňování, pak je nutností, podle mínění autora práce, se o této technologii zmínit. Vedle elektrického zvlákňování z jehly popisovaného výše existují techniky zvlákňování bez použití kapilár a to bezjehlové zvlákňování. Během experimentů se používala metoda, kterou (Jenčová et al. 2021) nazvala „zvlákňování polymerní kapaliny nanášením na nepohybující se kovový drát či strunu“. Jediný významný rozdíl mezi těmito dvěma metodami je v tom, že v daném pokusu se polymerní roztok zvlákňoval z volné hladiny (přesněji z povrchu drátu) a to použitím technologie Nanospider™. Výhoda této technologie v porovnání s jehlovým zvlákňováním je v tom, že u technologií, které

mají obdobný princip fungování jako Nanospider™ je mnohem vyšší výrobnost, která umožňuje vyrábět nanovlákná i průmyslově.

2.2.2. Střídavé elektrické zvlákňování

Ve většině případů se elektrické zvlákňování provádí pomocí metody stejnosměrného zvlákňování (DC electrospinning). Bylo však prokázáno, že pro zvlákňování nanovláken lze použít i střídavý proud o vysokém napětí (Obr. č. 3) (Kessick et al. 2004). Jedním z nejdůležitějších parametrů při použití vysokonapěťového střídavého proudu pro electrospinning je frekvence proudu. Tento parametr je obzvlášť závislý na konkrétních roztocích a může se v závislosti na jejich složení výrazně měnit. U některých roztoků při příliš vysoké frekvenci, nebude přenos náboje nebo pohyblivost iontů dostatečně rychlá, aby se roztok dostatečně nabil a aby došlo k zvlákňování a vytvoření tzv. Taylorova kužele. Frekvenční rozsah pro electrospinning střídavým proudem je třeba určit pro každý materiál a pro každou technologii zvlášť, například v článku (Sarkar et al. 2007) jsou uvedeny frekvence v rozmezí 500 Hz až 1 kHz, ale obecně se používá frekvence 50 Hz. Pokud je frekvence příliš nízká, může se proud electrospinningu, procházející mezi hrotem a kolektorem (elektricky neaktivním), skládat v podstatě z jedné polaroty místo periodicky se střídajících kladných a záporných nábojů.



Obr. č.3: Schéma jednoduchého uspořádání střídavého zvlákňování představující zejména zvlákňovací prostor mezi zvlákňovací elektrodou s polymerním roztokem a elektricky neaktivním kolektorem: 1 - zvlákňovací jehla, napojená na zdroj střídavého napětí; 2 – podkladový materiál pro záchyt nanovláken; 3 – stabilní a bičující zóna polymerní trysky. Převzato z www.electrospintech.com

Bylo prokázáno, že periodicitu kladných a záporných nábojů ve trysce vytvářené střídavým elektrickým zvlákňováním přispívá k tvorbě stabilnějšího paprsku ve srovnání se stejnosměrným zvlákňováním. Při navíjení na rotující se válec vytváří stabilnější proud střídavého electrospinningu vlákna s větším uspořádaností ve srovnání s vlákny vytvářenými stejnosměrným electrospinningem (Kessick et al. 2004). Průměr vláken při AC electrospinningu je však ve srovnání s DC electrospinningem výrazně větší (Kessick et al. 2004). To je pravděpodobně způsobeno potlačením ohybové nestability při AC electrospinningu. Avšak v některých případech vzniká při electrospinningu střídavým proudem menší průměr vláken než při electrospinningu stejnosměrným proudem.

U střídavého zvlákňování existuje kromě frekvence ještě další parametr, který se u stejnosměrného zvlákňování nevyskytuje, ten parametr je tvar průběhu střídavého napětí. Daný parametr určuje, jak se napětí mění mezi jednotlivými přiloženými napětími v čase. To následně ovlivňuje náboj trysky a profil elektrického pole mezi zvlákňovací jehlou nebo drátem a kolektorem. V práci (Sivan et al (2022)) je ukázáno, jak průběh napětí různého tvaru ovlivňuje morfologii zvlákněných nanovláken z polykaprolaktonu (PCL). Srovnání čtvercového, sinusového a trojúhelníkového průběhu střídavého napětí ukázalo, že čtvercový tvar frekvence vede ke zvýšení tloušťky proudu polymeru ve srovnání s ostatními tvary. Přepínání mezi opačnými náboji je u čtvercového průběhu mnohem rychlejší. Při vyšších frekvencích se vytvoří kuličky – defekty mezi vlákny, protože krátké segmenty se střídavou polaritou snižují sílu protahování a na průsečíku dvou polarit, kde jsou náboje nulové, převládne povrchové napětí, takže se vytvoří kuličky. Při nižších frekvencích dlouhé segmenty se stejnou polaritou způsobují setrvačnost při protahování a řídnutí proudu, takže na rozhraní setrvačnost a snížení hmotnosti roztoku brání vzniku kuliček. Čtvercový průběh také poskytl nejvyšší výkon, následovaný sinusovým a trojúhelníkovým průběhem s nejnižším výkonem. Je to pravděpodobně proto, že hustota náboje je nejvyšší u čtvercového průběhu a nejnižší u trojúhelníkového průběhu (Sivan et al (2022)).

2.3. Nanovlákná typu shish-kebab

Nanovlákná typu shish - kebab jsou speciální vlákenné struktury (většinou polymerní), které se skládají jak z amorfních tak i z krystalických částí polymeru. Dané struktury připomínají soustředné kousky masa na rožni či jehle, což jim také dalo název.

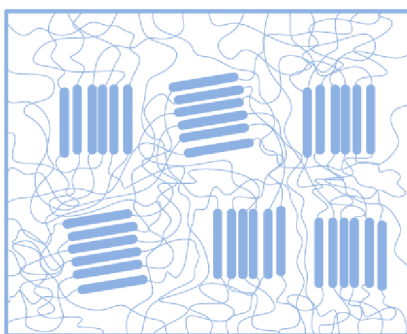
Vlastnosti kompozitních nanovláken typu shish-kebab je možné popsat takto:

- Nanovláknna či mikrovlákna typu shish-kebab mají unikátní morfologii a vlastnosti, které je odlišují od běžných nanovláken. Hlavní charakteristiky nanovláken typu shish-kebab zahrnují velký či zvýšený specifický povrch.
- Mechanická pevnost: Uspořádaná struktura nanovláken typu shish-kebab s integrovanými do nich nanočásticemi poskytuje zvýšenou mechanickou pevnost v porovnání s klasickými nanovláknny. (Saeed et al. 2009)
- Orientovaná struktura krystalů v nanovláknnech shish-kebab: Nanovláknna se skládají z amorfního a krystalického podílu, když u nanovláken typu shish-kebab je ten podíl krystalické části mnohem větší než podíl amorfni oblasti. Tato orientace je výhodná pro přenos napětí a tepelnou vodivost v materiálech. Tím se zvyšuje jejich schopnost odolávat mechanickému namáhání, snižuje se riziko trhlin a zvyšuje se efektivita přenosu tepla. (Saeed et al. 2009)
- Uchycení a proliferace eukaryotických buněk: nanovláknna typu shish-kebab s vloženými MWCNTs vykazují vyšší biokompatibilitu s MG-63 než s jejich protějšky vyrobené z čistého PCL, přičemž nanotopologie podobná kolagenu, dále usnadňuje adhezi a proliferaci buněk. (Wu et al. 2019)

2.3.1. Krystalizace polymerních materiálů

V posledních desetiletích byla rozsáhle studována morfologie krystalů vznikajících při tzv. “self-induced“ krystalizaci (dál jen samočinná krystalizace), její různé rysy byly zkoumány experimentálně a popsány několika teoriemi, které lze rozdělit do tří kategorií (názvy ponechány v anglickém jazyce, protože se vychází z anglicky psané literatury): Fringed-micelle model; Folded chain model a Extended chain model, které jsou popsány níže.

Fringed-micelle (třásně-micely, model úsekové krystalizace, model roztřepených micel): jedná se o jeden z prvních modelů vyvinutých k popisu morfologie krystalů v semikrystalické matici. Tento model uvažuje krystaly jako kompaktní uspořádání různých polymerních řetězců v určitých bodech. Tímto způsobem se polymerní řetězec podílí na několika krystalitech. Tedy jeden polymerní řetězec může procházet několika různými krystalickými i amorfními oblastmi. Model vysvětluje existenci fibrilárních krystalitů a předpovídá směr jejich růstu vzhledem k ose řetězce (Obr. 4).



Obr. č.4: Ilustrace modelu třásňových micel.

Převzato z (Dargazany et al. 2014)

Folded chain model (Model se skládaným řetězem)

Na rozdíl od modelu třásňových micel zde ukazuje elektronová difrakce tvorbu tenkých lamelovitých destiček polymerních řetězců orientovaných ve směru protažení. Pro popis těchto destiček byl vyvinut model skládaného řetězce. První generace modelů skládaných řetězců byla založena na takovém konceptu, kde se předpokládá, že řetězce se vrací tam a zpět a ukládají se do jedné lamely a tvoří smyčky se stejnou délkou (Obr. č.5). Výsledná lamela má tedy zřetelný tvar kvádrů, který byl později použit k vysvětlení existence sférolitových struktur.



Obr. č.5: Schematický pohled na lamelu s vertikálně uspořádanými krystalickými oblastmi

Extended chain model (Model s rozšířeným řetězcem):

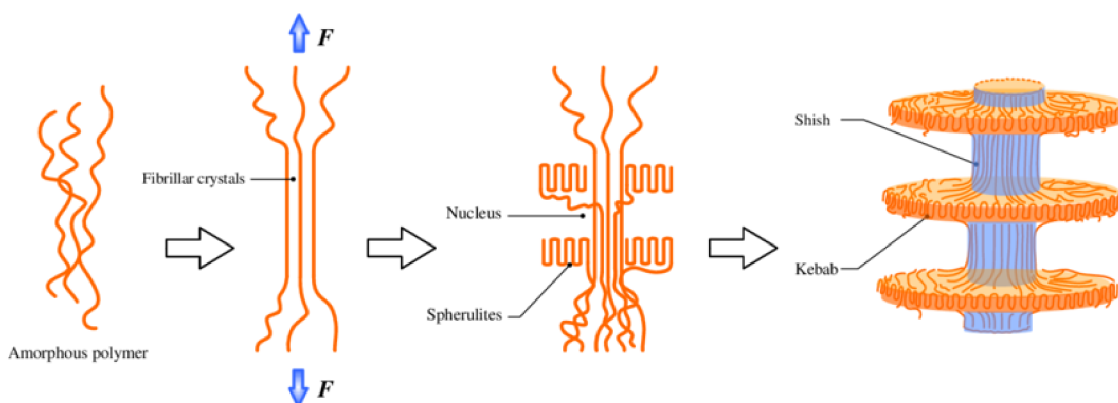
Samočinná krystalizace je přirozený proces, který se vyskytuje u některých materiálů, především polymerních látek. Při tomto procesu dochází k uspořádání molekul nebo částic v materiálu do krystalické struktury bez vnějšího ovlivnění. Samočinná krystalizace může být spojena s tvorbou tzv. "shish-kebab" struktur, které jsou typické pro polymerní materiály. V nejčastěji využívaném postupu tvorby nanovláken typu shish-kebab vycházejícím ze základních polymerních nanovláken se jedná o samočinnou krystalizaci. (Wu et al. 2019)

Proces samočinné krystalizace a tvorby shish-kebab struktur obvykle probíhá ve třech fázích: jádrování, růst a stabilizace (Obr. č.6).

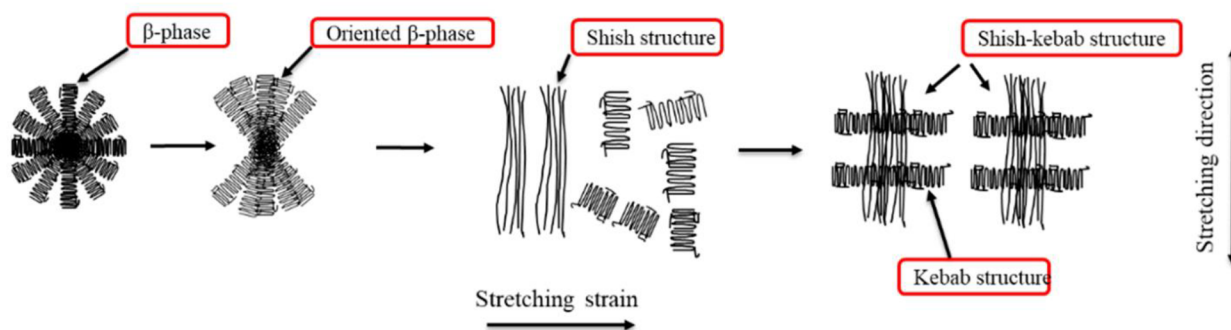
První fází je **jádrování (tvorba zárodků, nukleace)**, kdy se v materiálu vytvářejí malé krystaly, nazývané "shish". Tato jádra jsou tvořena uspořádanými polymerovými řetězci, které se začínají shlukovat do krystalických oblastí. Jádrování může nastat na různých místech v materiálu a je ovlivněno faktory, jako je teplota, tlak, rychlost ochlazování nebo přítomnost příměsí.

Druhá fáze je **růst (růst zárodků, tvorba krystalů)**, kdy se kolem jádra (shish) začínají formovat vlákna nebo fibrily, které jsou známé jako "kebab". Tyto vlákna se skládají z uspořádaných polymerových řetězců a rostou směrem ven z jádra. Růst může probíhat díky difuzi polymerových řetězců z okolního nekystalického materiálu směrem k jádru.

Poslední fáze je **stabilizace (spojování malých krystalů)**, kdy dochází ke stabilizaci vytvořených shish-kebab struktur. V této fázi se krystalické oblasti zpevňují a stávají se pevnějšími a stabilnějšími. Stabilizace může trvat různou dobu v závislosti na materiálu a podmínkách.



Obr. č.6: Tvorba krystalu shish-kebab. (a) Amorfní polymerní řetězce se formují (b) vytvářejí pod napětím fibrilární krystaly, které působí jako (c) jádro při tvorbě sférolitů. Tento postup vede ke vzniku (d) shish-kebab krystalů. Převzato z (Dargazany et al. 2014)



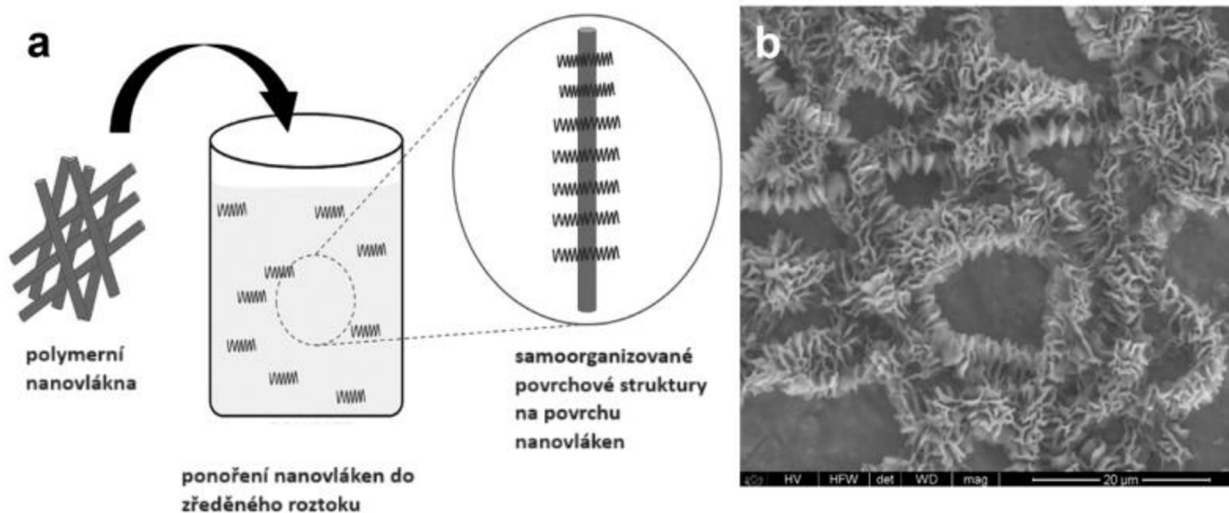
Obr. č.7: Podstata tvorby struktur shish-kebab (krystalizace řetězců polymeru).

Převzato z (Ji et al. 2020)

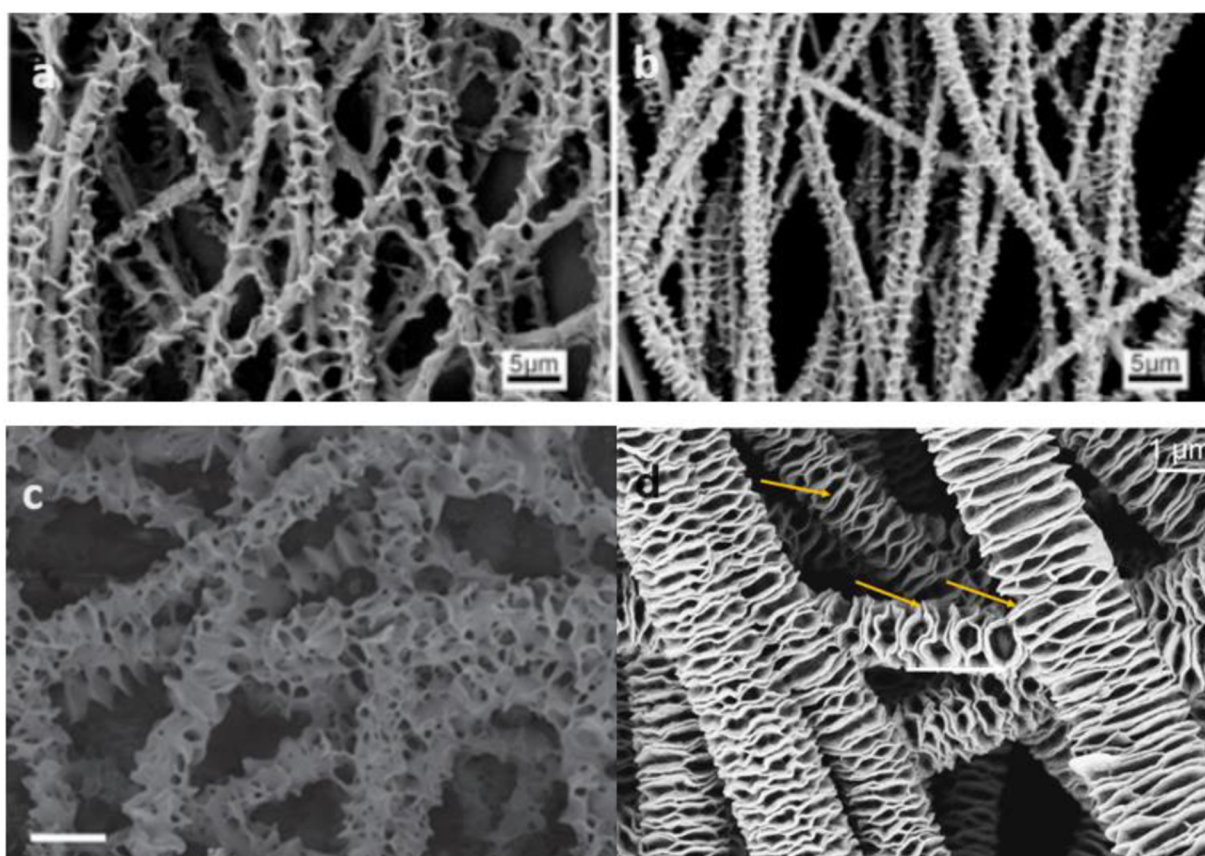
Na Obr. č.7 je uvedeno jiné schéma tvorby daných struktur, ukazuje se vznik jádra, růst vláken pod mechanickým napětím a na konci stabilizace nanovláken.

2.3.2. Tvorba vláknenných materiálů typu shish-kebab postprocesní úpravou

Hierarchicky strukturované nanovláknenné materiály jsou velmi zajímavé. Strukturální změny na povrchu vláken mohou být provedeny různými způsoby. Výše popsáním způsobem v kapitole 2.3.1. mohou vznikat vlákna a nanovláknna se strukturou shish-kebab přímou krystalizací. Avšak častějším postupem je tvorba materiálů pomocí tzv. postprocesní úpravy, kdy se jedná o tvorbu povrchových útvarů na vláken samorganizací (Wang et al. 2017). Jedná se o postup, kdy se v první fázi vytvoří polymerní nano či mikrovláknenný materiál, obvykle vrstva. Tato vlákna či vláknenný materiál je dále smočen či postříkán zředěným polymerním roztokem stejného polymeru (viz. obr. č. 8). V literatuře se objevuje zejména úprava zředěným roztokem stejného polymeru, ze kterého jsou vytvořena základní vlákna. Následně dojde k vysušení této úpravy a na povrchu vláken se vytvoří strukturální změny. Tyto změny nejčastěji nabývají právě vzhledu shish-kebab struktur. Pro tvorbu zředěných polymerních roztoků se používají nejčastěji nedokonalá (špatná) rozpouštědla pro daný polymer, kdy je potřeba roztok připravit zahřátím, jako například aceton pro PCL či pentylacetát pro PCL ((Jing et al. 2014); (Yu et al. 2019)), nebo směsi v různých poměrech rozpouštědla či špatného rozpouštědla a nerozpouštědla jako například kyselina octová/voda ((Wang et al. 2017); (Jing et al. 2014)) či pentylacetát/etanol ((Yu et al. 2021)). Zředěné roztoky mají obvykle koncentraci od 0,2 do 1,5 hm% a finální sušení probíhá nejčastěji pomocí vakuové sušárny či lyofilizace.



Obr.č.8: Schéma procesu postprocesní úpravy vedoucí k samoorganizaci povrchových struktur na polymerních nanovláčknech. Převzato z (Kurpanik a Stodolak-Zych 2021).



Obr. č. 9: Příklad snímku z rastrovacího elektronového mikroskopu různých vláken s postprocesní úpravou typu shish-kebab: (a) PCL/pentylacetát (Jing et al. 2014); (b) PCL/kyselina octová (Jing et al. 2014); (c) PCL/kyselina octová/voda (Wang et al. 2017); (d) PLA/xylen (Xie et al. 2020). Měřítka představují u snímků (a-c) 5 mikrometrů a u snímku (d) 1 mikrometr.

2.3.3. Volba materiálů

Nanovlákná typu shish-kebab mohou být vytvářena z různých polymerních materiálů, kterými mohou být např.: PCL, PDA, TPA, PLCL a mnoho dalších. Zde bude uvedeno několik příkladů použití různých polymerů na výrobu nanovláken shish-kebab a to ve různých výzkumech. Například v práci (Wu et al. 2019) byl použit PCL (o molekulové hmotnosti 80,000 g/mol), (Chen et al. 2013) pro svoji práci použili 1,4-terephthalaldehyd (TPA) a p-Phenylene-diamin (PDA), ale v práci (Jing et al. 2019) se taky používá PCL 80, pak v práci (Saeed et al. 2009) byl také použit PCL, ale o molekulové hmotnosti 90,000 g/mol, v práci (Jing et al. 2019) se také používá PCL o molekulové hmotnosti 80,000 g/mol.

Celková tendence je naprosto jasná: většina výzkumníků při výběru polymerního materiálů volí PCL 80 v různých rozpouštědlových systémech (v závislosti na vyžadovaných vlastnostech výsledného roztoku). Avšak PCL 80 většinou tvoří vlákna o průměru jednotkách mikrometrů. Snah a v této bakalářské práci byla vytvořit nanovlákná se strukturou shish-kebab a právě proto pro experimentální část dané práce byl použit PCL 45, jelikož tato molekulová hmotnost se používá pro tvorbu vláken s průměrem ve stovkách nanometrů a používá ve většině studií zaměřených na tvorbu materiálů pro medicínské aplikace z PCLa, ale je i v oblasti elektrického zvlákňování biodegradabilních polyesterů považován za “nejspolehlivější” materiál s ohledem na technologickou variabilitu, ochotu ke zvlákňování za různých podmínek a tak dále.

2.3.4. PCL – polykaprolakton

Alifatický polyester Polykaprolakton (PCL) se v poslední době hojně používá jako polymer na tvorbu scaffoldů pro tkáňové inženýrství (různé orgány nebo tkáně, včetně chrupavek, šlach a vazů, cév, kůže a nervů), protože má vysokou odolnost proti poškození, je biodegradabilní (rozkládá se v přírodě a organismech) a je biokompatibilní (velmi zjednodušeně řečeno není toxický pro lidský organismus).

Obecně lze poznamenat, že mechanické vlastnosti PCL scaffoldů nejsou dostačující při vysokém zatížení, což omezuje jejich použití zejména jako scaffoldů pro tvrdé tkáně tedy hlavně kosti (Wu et al. 2019). K překonání tohoto nedostatku byly vyvinuty polymerní kompozitní scaffoldy z nanovláken s integrovanými nanočásticemi. Začleněním nanočástic do polymerní matrice lze získat materiály, které budou mít lepší vlastnosti (nanočástice mohou zlepšovat fyzikální vlastnosti a biokompatibilitu). Díky svým jedinečným mechanickým, fyzikálním a chemickým vlastnostem, bylo úspěšně ověřeno, že scaffoldy s přídavkem uhlíkových nanotrubic

(MWCNTs) jsou vynikajícími kandidáty na materiály pro tkáňové inženýrství. (Balani et al. 2007), (Edwards et al. 2009)

Ačkoli scaffoldy vyrobené pomocí elektrického zvláknování představují podobnou morfologii jako přirozená mimobuněčná hmota (extracelulární matrix, ECM), „umělá“ nanovláknna měla hladký povrch namísto topografie, kterou se vyznačuje povrch přírodních nanovláken kolagenu v ECM (Fang et al. 2013). Topografie v nanorozměrech povrchu scaffoldu má podle zjištění významný pozitivní vliv na počáteční přilnavost buněk a jejich následnou proliferaci (Fiedler et al. 2013). Proto je žádoucí vytvořit nanotopografii podobnou kolagenu na zvlákněných nanovláknnech, aby se usnadnilo přichycení buněk, jejich růst a proliferace.

V závislosti na molekulové hmotnosti polymerního řetězce se mění i výsledné vlastnosti nanovláknenného materiálu, a to následně: Scaffoldy vyrobené z PCL s nižší molekulovou hmotností vykazovaly více hydrofilní povrch, lepší mechanické vlastnosti (vyšší modul pružnosti v tlaku a pevnost v tlaku). Také bylo zjištěno, že se zlepšily výsledky buněčné proliferace a osteogenní diferenciaci. Nebylo však možné stanovit žádnou přímou korelaci mezi rychlostí degradace a molekulovou hmotností, pravděpodobně kvůli úzkému rozsahu (rozdílu) hodnot molekulové hmotnosti uvažovaných v studii (Hou et al. 2022).

2.3.5. Využití nanovláken typu shish-kebab

Nanovláknna typu shish-kebab (NVSK) jsou jedinečné materiály, které jsou výjimečné svými vlastnostmi a kvůli tomu jsou právě vhodné pro biomedicínské aplikace. Jejich drsný povrch – povrchová struktura, která je charakteristická jen pro daný typ vláken, podporuje proliferaci buněk a morfologie daných vláken zajišťuje pórovitost, která je nezbytná v biomedicínských scaffoldových aplikacích. Výsledkem je materiál, který lze aplikovat jak v nanosvětě (filtry a fólie), ale zároveň jej lze zvětšit do 3D struktury a aplikovat v medicíně. Tyto různé vlastnosti daných vláken umožňují vytvářet mineralizované kompozity, povrchy s různými kontaktními úhly nebo buněčné substráty. NVSK byly použity k napodobení morfologie kolagenních vláken v nanorozměrech v syntetických preparátech kostní ECM. Připojení, proliferace, zarovnání a mineralizace různých buněčných struktur prokázaly užitečnost této technologie v biomimetických aplikacích. (Attia et al. 2018)

NVSK nabízejí možnost snadno funkcionalizovat MWCNTs pomocí polymeru tvořícího kebab a řídit rozsah a rozestupy funkcionalizace vyladěním doby krystalizace, koncentrace, molekulové hmotnosti a dalších faktorů. Tato architektura shishu byla rychle pochopena jako výhodná v aplikacích napodobujících kosti díky svému univerzálnímu složení a nanostruktuře. Za účelem

zavedení anorganické minerální složky byl blokový kopolymer PCL-b-poly (kyselina akrylová) (PCL-b-PAA) vykrytalizován na nanovlákná PCL inkubací v roztoku, čímž vznikla nanovlákná zdobená lamelárními krystaly kolmými na osu vlákna v kvaziperiodickém vzoru.

Centrální vlákno lze považovat za "shish" a krystaly blokového kopolymeru za "kebab". Řetězce blokového kopolymeru krystalizují na povrchu nanovlákná, segmenty PCL blokového kopolymeru se díky měkké epitaxi vyrovnávají rovnoběžně s osou vlákna. Segmenty PAA se přemisťují na povrch krystalových lamel PCL a vytvářejí aniontové domény, které mohou dále usnadňovat růst krystalů přilehlé vrstvy PCL. Tento proces, při kterém se vyrábí unikátní NVSK struktura, se označuje jako měkká epitaxe, která nevyžaduje těsnou mřížkovou shodu mezi páteří shish a krystalovými kebaby. Tím, že se v kebabech nacházejí periodické aniontové domény PAA, bylo zajištěno opakující se místo nukleace minerálů pro růst hydroxyapatitu. (Attia et al. 2018)

2.4. Předchozí studie vlivu přídavku MWCNTs

V odborném článku (Wu et al. 2019), který byl inspirací k této práci, byl zkoumán vliv integrovaných uhlíkových nanotrubic na výslednou morfologii nanovláken typu shish-kebab. Byly zde použity stejné roztoky o stejných koncentracích, ale s jiným obsahem vícestěnných uhlíkových nanotrubic (MWCNTs): „Finální koncentrace PCL byla 15 hm% zatímco koncentrace MWCNTs byla 0,1 hm%; 0,5 hm% a 1,5 hm% v tomto pořadí”.

Autoři práce (Wu et al. 2019) dospěli k výsledkům popsaným dále. Bylo zjištěno, že koncentrace MWCNTs ovlivňuje průměr vláken a mechanické vlastnosti zvlákněných nanovláken. Bylo zjištěno, že průměr vlákna se snižuje až do přídavku 0,5 hm% MWCNTs, ale při větším přídavku už se zvyšoval. Předpokládá se, že během electrospinningu roztok polymeru s vyšším obsahem MWCNTs přenáší víc náboje, což vede k větším elektrickým silám a větší tahové síle, která by mohla zvýšit dlužení vláken, což by vedlo k tvorbě jejich menšího průměru. Na druhou stranu bylo také zjištěno, že viskozita polymerního roztoku ovlivňuje průměr nanovláken. Průměry zvlákněných vláken se zvyšují s rostoucí viskozitou polymerního roztoku. Viskozita polymerního roztoku se zvyšuje s rostoucí koncentrací MWCNTs, což má za následek, jak bylo uvedeno výše, větší průměr zvlákněného vlákna.

Uchycení a proliferace buněk odhalily, že při 0,5 hm% MWCNTs v PCL vláknech vykazuje scaffold vyšší biokompatibilitu s buňkami MG-63 než s materiály vyrobenými z čistého PCL. Přičemž nanotopologie podobná kolagenu, dále usnadňuje adhezi a proliferaci buněk. S nárůstem podílu MWCNTs se povrch vláken stává drsnějším v důsledku přítomnosti vyčnívajících plniv, což uvádějí také Shao et al. V tomto případě se na vláknech s MWCNTs vytváří více lamel než na

čistých PCL vlákních, což má za následek, že se na vlákních snižují průměrné periodické vzdálenosti mezi nimi.

Předpokládá se, že dobrá disperze MWCNTs v polymerní matrici poskytuje rovnoměrnější rozložení mechanického napětí, minimalizuje přítomnost center koncentrace napětí a zvyšuje mezifázové napětí v matrici MWCNTs. Příznivé mechanické vlastnosti materiálu s přidavkem 0,1 hm% MWCNTs/PCL nanovláken a 0,5 hm% MWCNTs/PCL nanovláken jsou pravděpodobně způsobeny dobře rozptýlenými - rozdistributedovanými MWCNTs v „tělech“ vláken a tím i v celé nanovlákněné membráně. Na druhou stranu je-li přidavek MWCNTs příliš velký, není možné je dobře oddělit a tedy rovnoměrně dispergovat v roztoku a tím ani ve výsledných vlákních. Takto zapletené MWCNTs pak způsobují defekty na vlákních a vedou ke zhoršení mechanických vlastností. To bylo pozorováno u koncentrace 1,5 hm% MWCNTs v PCL nanovlákních. Kromě toho se lze také pozorovat, že mechanické vlastnosti scaffoldů se po „dekoraci“ shish-kebab tedy po postprocesní úpravě povrchu PCL vláken postříkem zředěného roztoku PCL zlepšují. (Wu et al. 2019)

Scaffoldy s shish-kebab strukturou MWCNTs/PCL představuje nejlepší buněčnou proliferaci, zatímco hladký PCL scaffold vykazuje nejnižší buněčnou proliferaci. Kromě toho scaffoldy s vloženými MWCNTs a shish-kebabem jsou lépe strukturované a vykazují zvýšenou buněčnou proliferaci, než jejich nedotčené a hladké protějšky. Prokázalo se, že MWCNTs plniva by mohla zvýšit proliferaci buněk tím, že zmenší průměr vláken, zvýší drsnost povrchu nebo indukují osteogenní zranění pomocí adsorpcí specifických proteinů. Shish-kebab strukturovaná vlákna podporují buněčnou proliferaci díky nanovzorkovanému povrchu. Bylo zjištěno, že většina buněk pěstovaných na čistých PCL vlákních vykazují vřetenovitý nebo zaoblený tvar, což nejsou příznivé morfologie buněk na scaffoldech. (Wu et al. 2019)

Avšak tato studie je pouze jedinou mezi odbornými články zaměřenými na tvorbu materiálů typu shish-kebab kombinujícími uhlíkové nanotrubicí a polykaprolakton. Ověření výsledků v podmínkách na Technické univerzitě v Liberci je cílem této bakalářské práce, neboť strukturovaný povrch zajištěný postprocesní úpravou materiálů s polykaprolaktonu je nyní tématem na oddělení bioinženýrství katedry chemie FP TUL.

3. Experimentální část

Experimentální část této bakalářské práce je zaměřena za tvorbu a testování kompozitních nanovláknenných materiálů s přidavkem vícestěnných uhlíkových nanotrubic a na jejich následnou postprocesní úpravu pro získání strukturovaného povrchu. Polymerním materiálem použitým pro tuto bakalářskou práci byl biodegradabilní alifatický polyester polykaprolakton. Po stejnosměrném elektrickém zvlákňování byly materiály podrobeny zejména rastrovací elektronové mikroskopii a základní obrazové analýze pro zhodnocení strukturálních rozdílů zejména v průměrech vláken. Pro základní text hodnotící biokompatibilitu byl použit test cytotoxicity výluhem.

Cíle práce

Cílem dané práce bylo zjistit či ověřit dle (Wu et al. 2019) tato tvrzení:

- 1) vliv koncentrace CNT na tvorbu polymerních roztoků pro zvlákňování v daném rozpouštědlovém systému a tím vliv na výsledné průměry vláken zvlákňovaných pomocí bezjehlového elektrického zvlákňování
- 2) Vliv přidavku CNT na základní cytocompatibilitu / cytotoxicitu vyrobených materiálů
- 3) Vliv přidavku CNT na výslednou povrchovou strukturu vláknenných kompozitních materiálů po postprocesní úpravě.

3.1. Materiály

Pro tvorbu nanovláknenných materiálů s integrovanými nanotrubicemi s postprocesní úpravou pro získání vláken typu shish-kebab byly použity následující materiály:

- Polykaprolakton (PCL, M_n 45 000) od firmy Sigma-Aldrich.
- Polykaprolakton (PCL, M_n 80 000) od firmy Sigma-Aldrich.
- Chloroform (CF) od firmy Sigma-Aldrich.
- Ethanol (EtOH) od firmy Sigma-Aldrich.
- Vícestěnné uhlíkové nanotrubicce (MWCNTs, obsah uhlíku >95%, průměr 6-9 nm, délka 5 μm) od firmy Sigma-Aldrich.
- Pentyl acetát (PeAc) od firmy Sigma-Aldrich

3.1.1. Příprava roztoků

V této práci bylo namícháno 200 g každého roztoku, do každého roztoku bylo přidáno stejné množství PCL 45 a to 32 g (koncentrace 16 hm%) a bylo použito několik různých

koncentrací MWCNTs: 0%; 0,1%; 0,5% a 1%, a to u všech roztoků hmotnostně. Důležité je poznamenat, že koncentrace nanotrubic se počítaly vzhledem k hmotnosti „čistého“ polymeru, tzn. sušiny (např. u 1 % roztoku MWCNTs se postupovalo tak: 32 g PCL 45 je 100 %, pak 1 % z toho je 0,32 g MWCNTs). Také je důležité to, že v dané práci z účelu zachování stejné koncentrace polymeru a rozpouštědel, u žádného z roztoků nebyl proveden přepočítání hmotností na zachování celkové hmotnosti roztoku (200 g) (tzn., že roztoky s MWCNTs vážily o 0,032 g; 0,16 g; 0,32 g více než roztok bez přídavku MWCNTs). Byly zachovávány poměry mezi polymerem a rozpouštědlovým systémem. Celkem byly připraveny 4 roztoky PCL 45 ve stejném rozpouštědlovém systému, o stejné koncentraci rozpouštědel a pomocí jedné stejné technologie přípravy. Pro přípravu roztoků byl použit ultrazvukový homogenizátor Q500 SONICATOR od firmy QSonica se sonotrodou o průměru 1/4. Níže jsou uvedena data o čtyřech roztocích, použitých v dané práci (rozpuštědlový systém + přídavek uhlíkových nanotrubic):

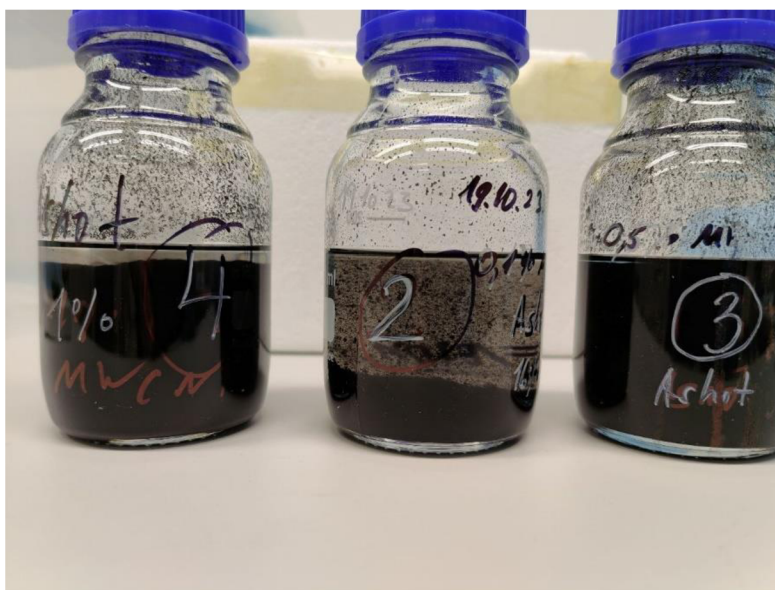
1. Chloroform:Ethanol v poměru 8:2 hm. bez MWCNTs, roztok byl dán pod sonotrodu po dobu 60 sekund (zvláknování plné nádoby na polymerní roztok tedy 10 ml polymerního roztoku trvalo cca 4 min)
2. Chloroform:Ethanol v poměru 8:2 hm. + 0,1 hm% MWCNT, roztok byl dán pod sonotrodu po dobu 60 sekund (zvláknování plné nádoby na polymerní roztok tedy 10 ml polymerního roztoku trvalo cca 6 min, prvních 150 ml odtahová rychlost byla nastavena na 48 mm/min, pak odtah byl nastaven na 30 mm/min)
3. Chloroform:Ethanol v poměru 8:2 hm. + 0,5 hm% MWCNT, roztok byl dán pod sonotrodu po dobu 60 sekund (zvláknování plné nádoby na polymerní roztok tedy 10 ml polymerního roztoku trvalo cca 7 min)
4. Chloroform:Ethanol v poměru 8:2 hm. + 1 hm% MWCNT, roztok byl dán pod sonotrodu po dobu 60 sekund (zvláknování plné nádoby na polymerní roztok tedy 10 ml polymerního roztoku trvalo cca 8 min)

Postup přípravy roztoků byl následující:

Nejprve bylo spočítáno, jaké množství EtOH a CF bude použito pro každý roztok. Jelikož byla zvolena jedna koncentrace rozpouštědel pro všechny roztoky, do každého z nich bylo přidáno 33,6 g EtOH a 134,4 g CF (což odpovídá CF:EtOH 8:2). Prvním krokem byl do každé z lahví přidán EtOH (33,6 g), do kterých se druhým krokem přisypalo jisté množství MWCNTs (v závislosti na výsledné požadované koncentraci). Poté všechny roztoky byly dány pod sonotrodu po dobu 1 minuty. Následně do lahví byl přidán chloroform (134,4 g).

A posledním krokem byl přidán i samotný polymer (32 g). Roztoky byly dány na magnetickou míchačku a míchány přes noc tedy cca 16 hodin bez zvýšené teploty

Před následujícím krokem a to zvlákňováním byly roztoky dány stranou (nemíchaly se) na dobu cca. 1 týdne. V některých roztocích došlo k sedimentaci uhlíkových nanotrubic (viz. Obr. č.10). Těsně před zvlákňováním pak byly promíchány alespoň 10 minut na magnetickém míchadle.



Obr. č.10: Roztoky nemíchané po dobu jednoho týdne, zleva doprava: roztok PCL45 + 1hm% MWCNTs, PCL45 + 0,1hm% MWCNTs, PCL45 + 0,5hm% MWCNTs.

Lze pozorovat jak moc koncentrace nanotrubic v roztoku ovlivňuje jejich disperzi v roztocích. Dá se tvrdit, že roztok č.3 má nejlépe dispergované nanotrubice ze tří roztoků kvůli optimální koncentraci MWCNTs. Když roztoky č.2 a č.4 jsou právě ukázkou opaku (v roztoku č.2 je jich málo, v roztoku č.4 je jich moc).

3.1.2. Elektrické zvlákňování a postprocesní úprava

Všechny nanovláknenné vzorky, které jsou součástí dané práce byly připraveny z výše uvedených polymerních roztoků za stejných podmínek, které jsou popsány níže, a stejným způsobem – elektrostatickým zvlákňováním (DC electrospinning) na zařízení Nanospider™ (NS 1S500U s klimatizační jednotkou NS AC150). Vlákna byla připravena za následujících podmínek:

- Vzdálenost elektrod – 180 mm
- Vlhkost vzduchu – 30 % RH
- Teplota vzduchu – 22 °C
- Odtahová rychlost podkladové netkané textilie – 20 - 48 mm/min (u vzorků se liší)
- Průměr průvlaku – 0,7 mm
- Podkladový materiál – netkaná textilie typu spunbond s antistatickou úpravou o plošné hmotnosti 30 g/m² (PFNonwovens)

- Pojezd nádržky s polymerním roztokem 2 s/50 cm
- Elektrické napětí na zvlákňovací elektrodě + 40 kV
- Elektrické napětí na kolektoru -10 kV

Všechny roztoky byly zvlákněny za těchto stejných podmínek v celém svém objemu. Již z měření vyprazdňování nádržek dávkujících polymerní roztok na drátěnou stacionární elektrodu vyplývá, že odběr roztoku byl pro různé polymerní roztoky různý (se zvyšujícím zastoupením uhlíkových nanotrubic se snižovala produktivita zvlákňování) a tím bylo zřejmé, že budou i různé finální plošné hmotnosti.

Vyrobené nanovlákněné vrstvy byly vypnuty na kruhových rámečcích o průměru 15 cm a byly postříkány připraveným roztokem pomocí mechanického ručního spreje. Roztok byl tvořen 1 hm% PCL 45 a PCL 80 v pentyl acetátu. Polymer se rozpouštěl za zvýšené teploty (40°C) po dobu 4 hodin. Stříky se prováděly na vzorky z obou stran do té doby, až se vzorek na rámečku nestal kompletně mokrým. Následně byla přebytečná kapalina odstraněna pomocí odsátí filtračním papírem, dokud materiál nezmatněl. Dále byly rámečky se vzorky ponechány v digestoři k vysušení za laboratorních podmínek, které nebylo možné přesně nastavovat. V průběhu tohoto sušení došlo k tvorbě struktury shish-kebab. Sušení se uskutečňovalo za teploty 22,9 °C a vlhkosti 20% RH. Před a po postříkání roztokem pentylacetátu byly vzorky zváženy a výsledný nános je uveden v tabulce č.2 a č.3. Takto připravené materiály byly následně podrobeny hodnocení.

3.2. Metody hodnocení

Dále jsou popsány metody hodnocení vyrobených nanovlákněných vzorků jak pouze z PCL tak z PCL s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi.

3.2.1. Skenovací elektronová mikroskopie

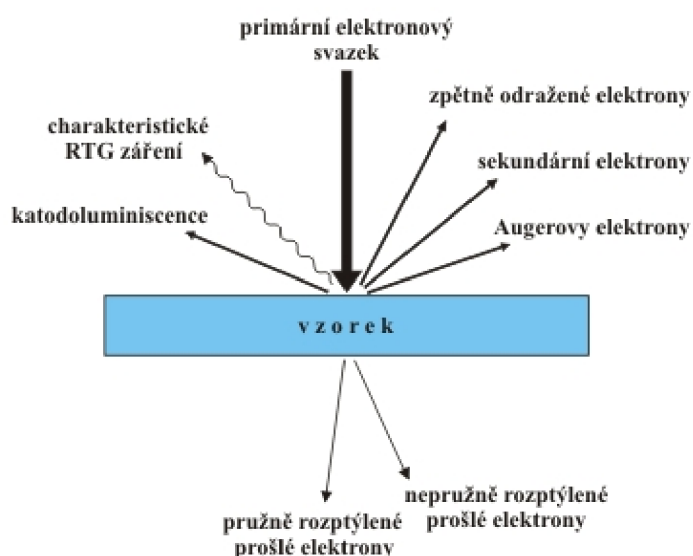
SEM – skenovací elektronová mikroskopie je základní metodou hodnocení povrchu materiálu. Elektronový mikroskop (EM) - zařízení (mikroskop), které umožňuje získat obraz objektů s maximálním zvětšením až 106krát větší díky tomu, že na rozdíl od optického mikroskopu využívá místo světelného toku svazek elektronů o energiích 200 eV - 400 keV a více (například transmisní elektronové mikroskopy s vysokým rozlišením s urychlovacím napětím 1 MV). (Stokes 2008)

Během této práce byl použit EM, fungující na principu skenovací mikroskopie a proto daný princip dále bude popsán. Signály, které SEM používá k vytvoření obrazu, jsou výsledkem interakce

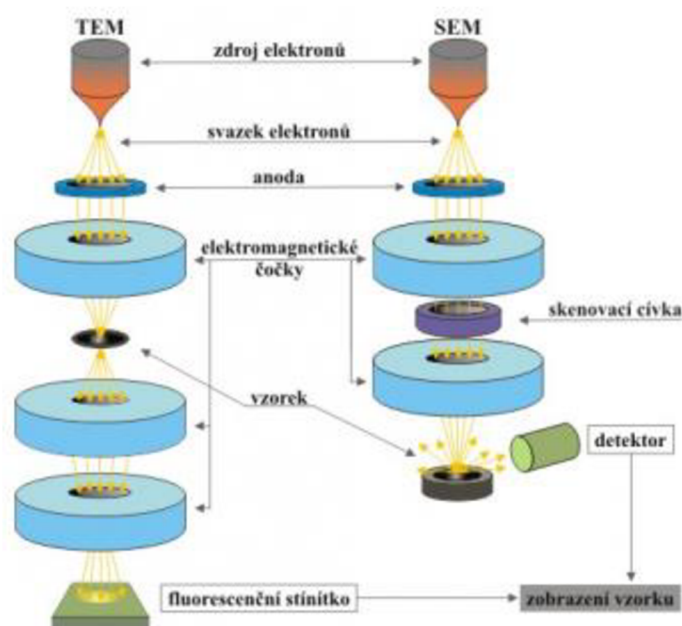
elektronového paprsku s atomy v různých hloubkách uvnitř vzorku (Obr. č.11). Vznikají různé typy signálů, včetně sekundárních elektronů (SE), zpětně odražených elektronů (BSE), charakteristického rentgenového záření a světla (katodoluminiscence) (CL), absorbovaného proudu (proud vzorku) a prošlých elektronů. Detektory sekundárních elektronů jsou standardním vybavením všech SEM, ale je vzácné, aby jeden přístroj měl detektory všech ostatních možných signálů.

Sekundární elektrony mají velmi nízké energie v řádu 50 eV, což omezuje jejich střední volnou dráhu v pevné látce. V důsledku toho mohou SE unikat pouze z horních několika nanometrů povrchu vzorku. Signál ze sekundárních elektronů bývá vysoce lokalizován v místě dopadu primárního svazku elektronů, což umožňuje získat snímky povrchu vzorku s rozlišením pod 1 nm. Zpětně odražené elektrony (Back-scattered electrons, BSE) jsou paprsky elektronů, které se od vzorku odrážejí pružným rozptylem. Protože mají mnohem vyšší energii než SE, vycházejí z hlubších míst uvnitř vzorku, a proto je rozlišení snímků BSE menší než u snímků SE. BSE se však často používají v analytické SEM spolu se spektry pořízenými z charakteristického rentgenového záření, protože intenzita signálu BSE silně souvisí s atomovým číslem (Z) vzorku. Snímky BSE mohou poskytnout informace o rozložení, nikoli však o identitě různých prvků ve vzorku. (Stokes 2008)

Charakteristické rentgenové záření je emitováno, když elektronový svazek odstraní ze vzorku elektron z vnitřního obalu, což způsobí, že elektron s vyšší energií vyplní obal a uvolní energii.



Obr. č.11: Princip SEM (Při dopadu elektronů na vzorek dochází k vzájemné interakci, která zapříčiňuje různé typy signálů, které nesou informaci o vzorku)
Převzato z www.fzu.cz



Obr. č.12: Schémata transmisního (vlevo) a řádkovacího (vpravo) elektronového mikroskopu.
Převzato z www.fzu.cz

Důležitou roli hraje i příprava vzorků. Vzorky pro SEM musí být dostatečně malé (maximálně obvykle jednotky centimetrů), aby se vešly na stůl pro vzorky a do komory mikroskopu, a mohou vyžadovat speciální přípravu pro zvýšení jejich elektrické vodivosti a stabilizaci, aby vydržely podmínky vysokého vakua a svazek elektronů s vysokou energií. Vzorky se obvykle pevně připevňují na držák vzorků nebo na stojan. Mnoho přístrojů má komory, které mohou objekt této velikosti naklonit až o 45° a umožňují plynulé otáčení o 360°. Pro danou práci byla použita naprašovačka firmy Quorum Q150ES a vzorky byly pokovovány po dobu 120 sekund zlatem o tloušťce cca 1nm. Použitý skenovací elektronový mikroskop byl pro menší zvětšení Tescan Vega S3B Easy Probe a pro větší zvětšení FE-SEM Carl Zeiss ULTRA Plus. Pomocí SEM Tescan si snímky vytvářel autor této bakalářské práce sám. Snímání pomocí SEM Zeiss prováděl Ing. Pavel Kejzlar, Ph.D. a vzorky si připravoval autor sám. Všechny byly při SE detektorech tedy zaměřené na tvarový kontrast sledovaných materiálů.

Nanovláknenné vzorky byly dány pod SEM a vyfoceny pod různými zvětšeními. Pro statistické vyhodnocení průměru vláken jednotlivých materiálů byl použit program pro vědecké zpracování digitálních obrazů ImageJ.

3.2.2. DSC

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) je nejznámější technika termické analýzy, kterou lze stanovit exotermní a endotermní změny látek jako funkce teploty. Vzorek a referenční vzorek jsou během experimentu udržovány na téměř stejné teplotě a lze tak měřit tepelný tok, který jimi

prochází. DSC je termodynamický nástroj pro přímé hodnocení absorpce tepelné energie, ke které dochází ve vzorku při regulovaném zvýšení nebo snížení teploty.

Pro studium biochemických reakcí se běžně používá DSC, která se nazývá jednomolekulární přechod molekuly z jedné konformace do druhé. Teploty termického přechodu (T_t ; body tání) vzorků se zjišťují také v roztoku, pevné, popř. smíšené fáze, jako jsou suspenze. (Gill et al. 2010)

V základním DSC experimentu je tepelná energie současně zaváděna do kyvety se vzorkem (která obsahuje roztok s polymerem, o kterou se jedná) a referenční kyvety (obsahující pouze rozpouštědlo). Teploty obou vzorků se v průběhu času zvyšují stejně. Rozdíl ve vstupní energii potřebné k tomu, aby se teplota vzorku srovnala s teplotou reference, by bylo množství přebytečného tepla absorbovaného nebo uvolněného polymerem ve vzorku (během endotermického, resp. exotermického procesu). V důsledku přítomnosti sledovaného polymeru je zapotřebí více energie k uvedení vzorku na stejnou teplotu jako referenční a proto přichází na scénu pojem přebytku tepla. Jako analytická metoda je DSC schopna objasnit faktory, které přispívají ke skládání a stabilitě biomolekul. Předpokládá se, že změny v C_p pocházejí z narušení sil stabilizujících nativní proteinovou strukturu. Patří sem například van der Waalsovy, hydrofobní a elektrostatické interakce, vodíkové vazby, hydratace exponovaných zbytků, konformační entropie a fyzikální prostředí (jako je pH, pufr, iontová síla, pomocné látky). Proto získané termodynamické parametry z DSC experimentů jsou poměrně citlivé na strukturální stav biomolekuly. Jakákoli změna v konformaci by ovlivnila polohu, ostrost a tvar přechodu v DSC skenech. (Gill et al. 2010). V této bakalářské práci byla analýza DSC využita k zjištění stupně krystalinity pro polymer PCL u vyrobených nanovláknenných materiálů. Autor této práce připravil vždy tři vzorky od každého materiálu, aby měření mohlo probíhat v tzv. tripletu. Bylo využito zařízení Differential Scanning Calorimetry (DSC, 1/700, Mettler Toledo) a měření prováděl Ing. Luboš Běhálek, Ph.D.

3.2.3. Měření plošné hmotnosti

U všech čtyřech vyrobených nanovláknenných vzorků byla proměřena plošná hmotnost. Při zachování stále stejných podmínek zvláknování musí hodnota plošné hmotnosti jednoznačně souviset s výrobností a je tedy možné odhadnout, jak přídavek nanotubic tento proces ovlivňuje. Pro měření plošné hmotnosti byly z každého materiálu vyřezány tři vzorky o velikosti $2 \times 2 \text{ cm}^2$ a následně zváženy na laboratorních vahách s přesností 0,001 g. Výsledné hmotnosti v (g) jsou uvedeny v tabulce č.1.

3.2.4. Cytotoxicita vyrobených materiálů

Cytotoxicita je vlastnost materiálu a látek, které působí na buňky toxickým účinkem – kovy, jedy a jiné chemické látky. Existuje mnoho různých technik a metod, jak zkontrolovat cytotoxicitu určitého materiálu, které se nazývají testy cytotoxicity.

V této práci byla testována cytotoxicita vyrobených materiálů z biodegradabilního polymeru PCL 45 s přidavkem různých koncentrací uhlíkových nanotrubic. Dále byly testovány materiály, u kterých byla provedena povrchová modifikace vláken tvorbou shish-kebab struktur. U materiálů s povrchovou modifikací je předpoklad, že z členitého povrchu (shish-kebab úprava) se mohou nanotrubice snadněji uvolňovat a tím negativně ovlivňovat buněčnou linii. Pro měření metabolické aktivity byl použit roztok CCK-8.

Test cytotoxicity byl realizován v průběhu tří po sobě jdoucích dnů. Testování probíhalo dle normy ČSN EN ISO 10993-5 (855220). První den se postupovalo tak, jak je popsáno dále. Nejprve byly vyřezány kulaté vzorky o průměru cca 1 cm. Poté následovala 20 minutová sterilizace vzorků pomocí UV-C záření (pro sterilizaci, které zabíjí až 99,9% patogenů (bakterií a virů)) z každé strany vzorku. Dle hmotnosti jednotlivých vzorků byl spočítán objem média tak, že největší objem kultivačního média byl přidán do vzorků s největší plošnou hmotností.

Dále byla spočítána koncentrace buněk v předem připravené kultivační láhvi. Tato buněčná suspenze byla naředěná na požadovanou koncentraci $1 \cdot 10^5$ buněk/ml do 96 jamkové mikrotitrační destičky bylo přeneseno 100 μ l buněčné suspenze.

Výsledná koncentrace buněk v jamce byla $1 \cdot 10^4$ buněk. Pro každý materiál bylo připraveno 8 jamek. Zkoušely se materiály ze 4 roztoků a to jak s úpravou shish-kebab, tak i bez ní. Také byl připraven celý sloupec (8 jamek) pozitivní a negativní kontroly.

Druhý den bylo nejprve odstraněno kultivační médium z jamek s adherovanými buňkami na jejich dně. Poté byly k buňkám přidány výluhy z materiálů, kultivační médium které interagovalo s jednotlivými materiály po dobu 24 hodin, v CO₂ inkubátoru (5% CO₂) Do každé jamky bylo přidáno 100 μ l výluhu.

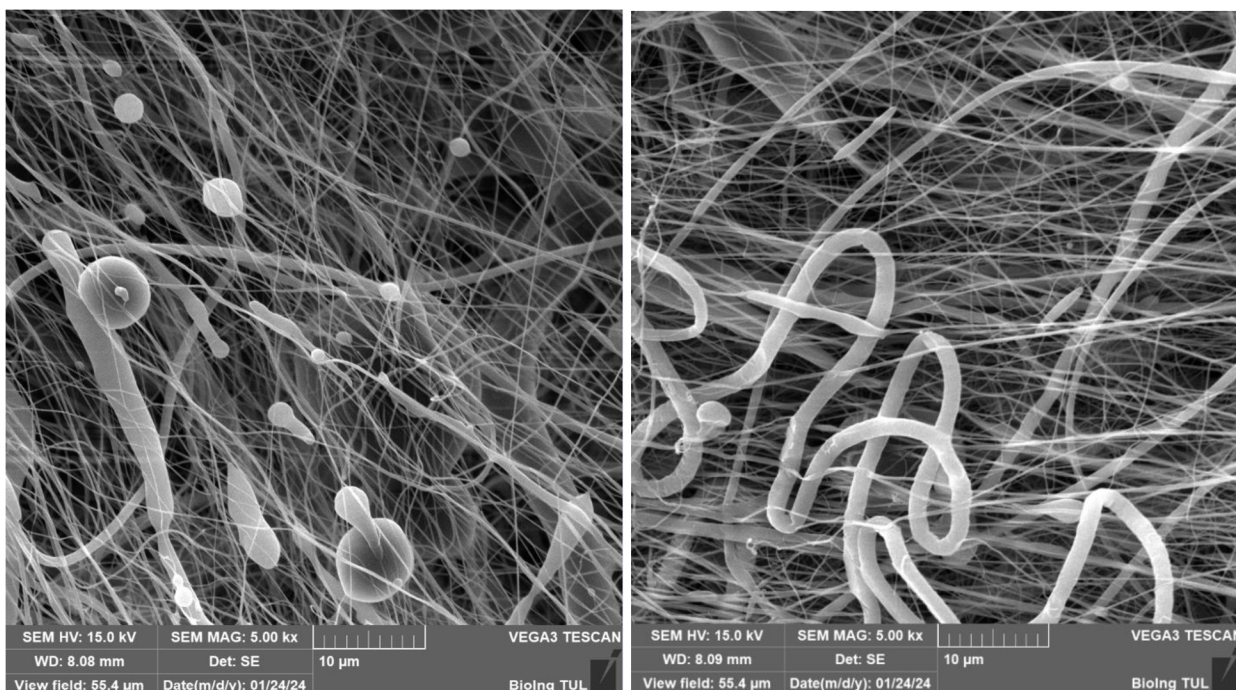
Třetí den byla měřena metabolická aktivita buněk pomocí 10% roztoku CCK-8 v kultivačním médiu (DMEM). Nejprve bylo z jamek odsáto médium (výluh z materiálu) a poté bylo přidáno 120 μ l roztoku CCK-8. Buňky byly inkubovány po dobu 2 hodin v CO₂ inkubátoru. Poté bylo přeneseno 100 μ l roztoku CCK-8 po inkubaci s buňkami do čistých jamek (96 jamková destička). Následovala analýza pomocí spektrofotometru při vlnové délce 450 nm. Z naměřených hodnot

byla vypočítána procentuální viabilita buněk v jednotlivých jamkách vztažená k negativní kontrole (buňky v čistém kultivačním médiu).

3.3. Výsledky a diskuze

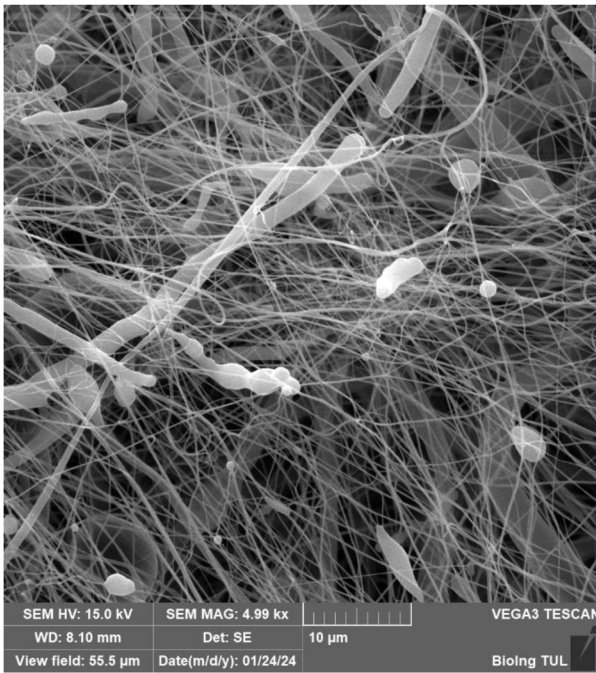
3.3.1. Obrazová analýza zvlákněných materiálů bez a s postprocesní úpravou

Níže (viz. Obrázek č.13 až 24) jsou porovnána nanovláknna ve formě snímků z rastrovacího elektronového mikroskopu se stejným zvětšením, vyrobená ze stejných roztoků z pohledu shora (líc) a zdola (rub). Zdola znamená od původního kontaktu s podkladovou textilií. A dále v grafech (viz. Graf č.1 a 2) jsou představeny výsledky měření průměrů vláken před a po postprocesní úpravě zředěným roztokem PCL 45. Průměry vláken po postprocesní úpravě zředěným roztokem PCL 80 nebyly detailně proměřovány. U průměrů vláken se vždy jedná pouze o odhad, jelikož není přesně možné stanovit vlastní „tělo“ vlákna čili „shish“. U vláken s postprocesní úpravou PCL 80 to už nebylo s ohledem na nárůsty výstupků skoro vůbec možné, proto bylo od tohoto hodnocení upuštěno. Čísla 1, 2, 3, 4 označují číslo příslušného roztoku. Obrázky č.13-16 představují základní nanovláknenné materiály bez postprocesní úpravy.

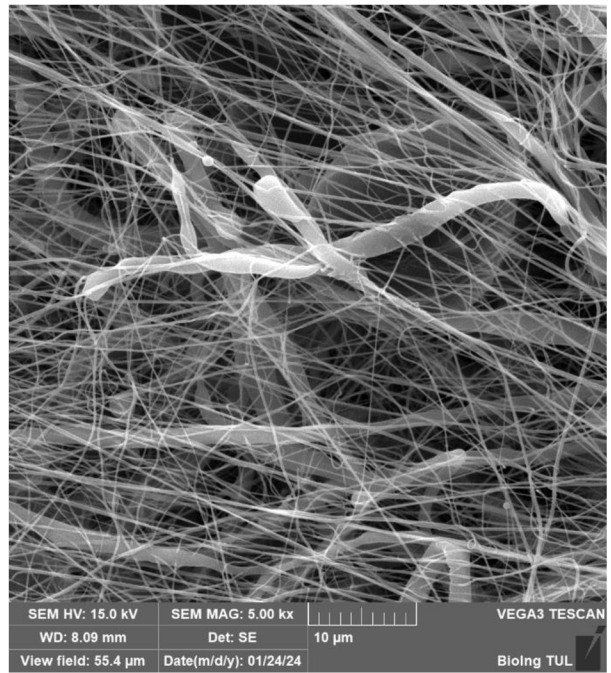


l líc bez úpravy

l rub bez úpravy

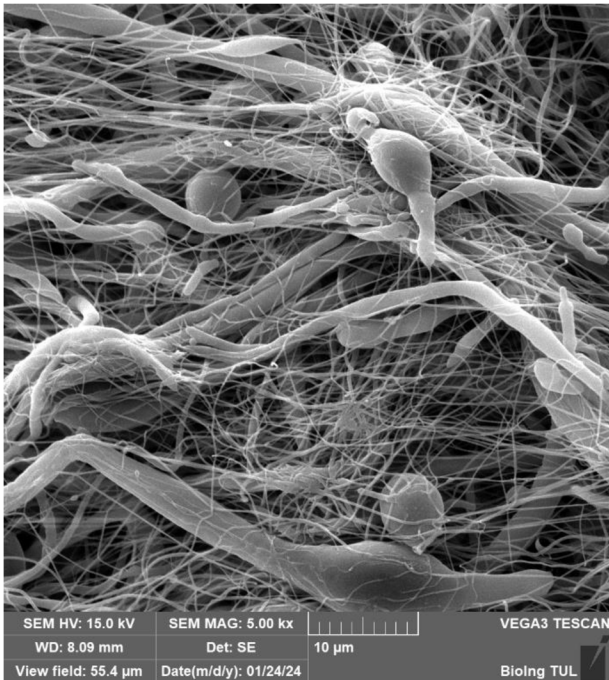


1 líc bez úpravy

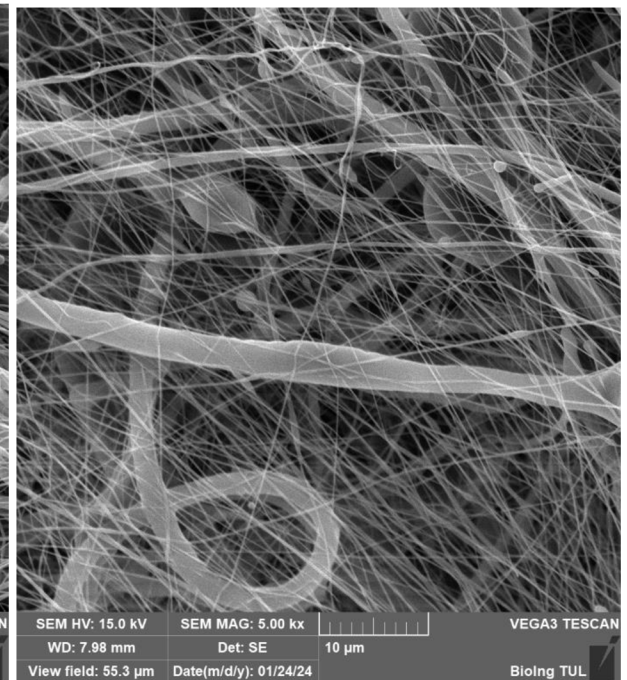


1 rub bez úpravy

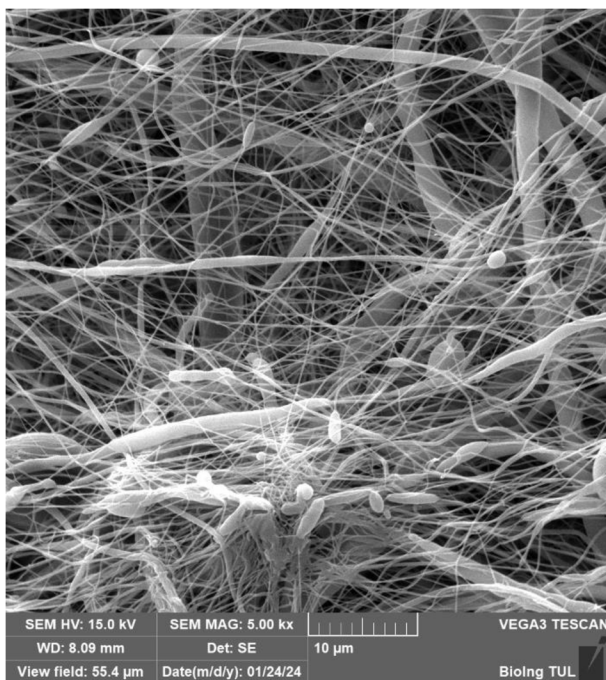
Obrázek č.13: SEM snímky nanovláknenné vrstvy bez uhlíkových nanotrubic a bez shish-kebab úpravy tedy vzorek č.1 (PCL 45) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřítka představuje 10 μm.



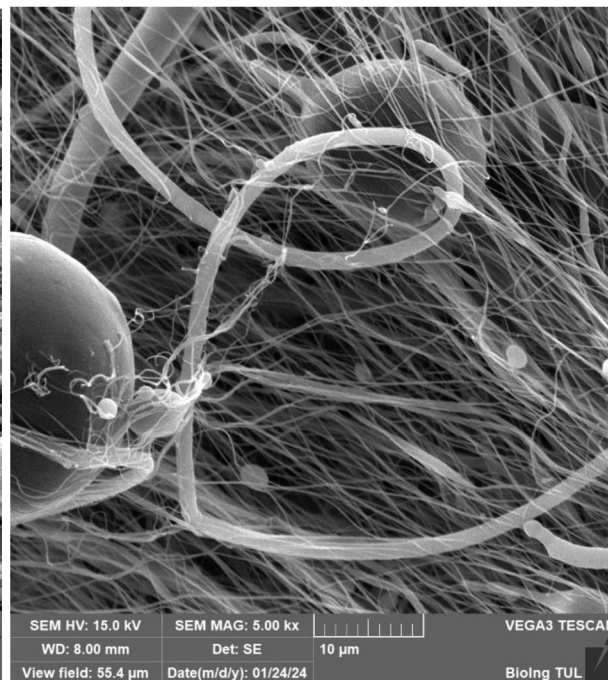
2 líc bez úpravy



2 rub bez úpravy

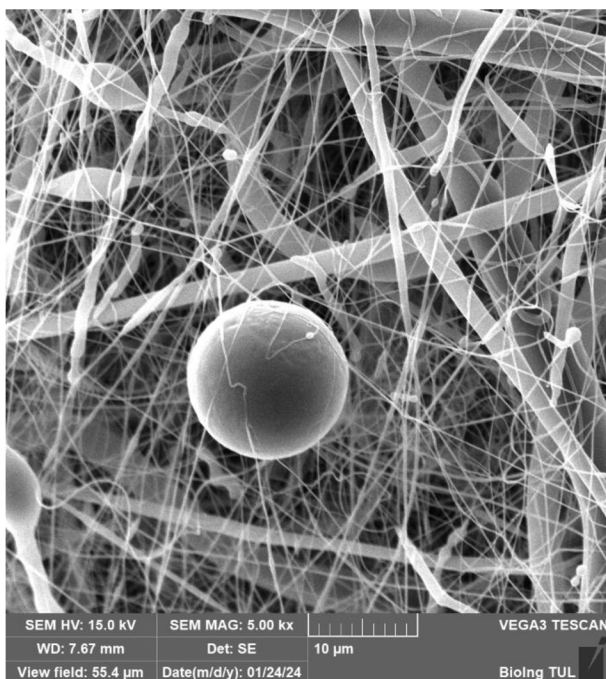


2 líc bez úpravy

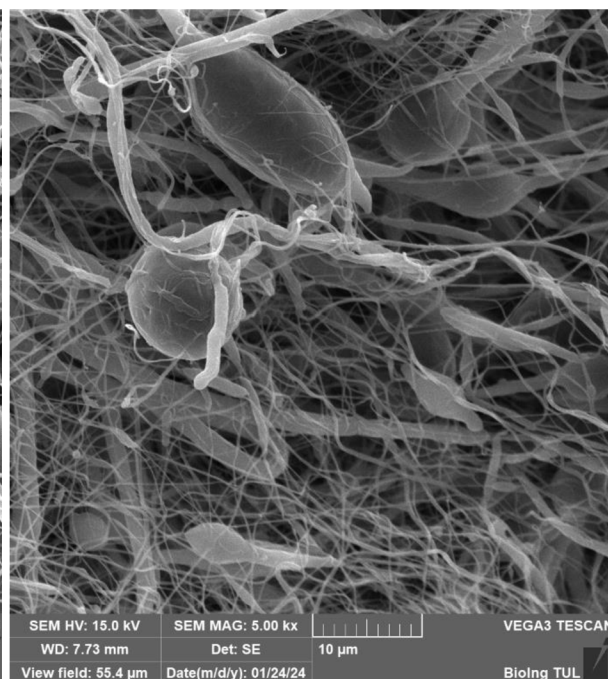


2 rub bez úpravy

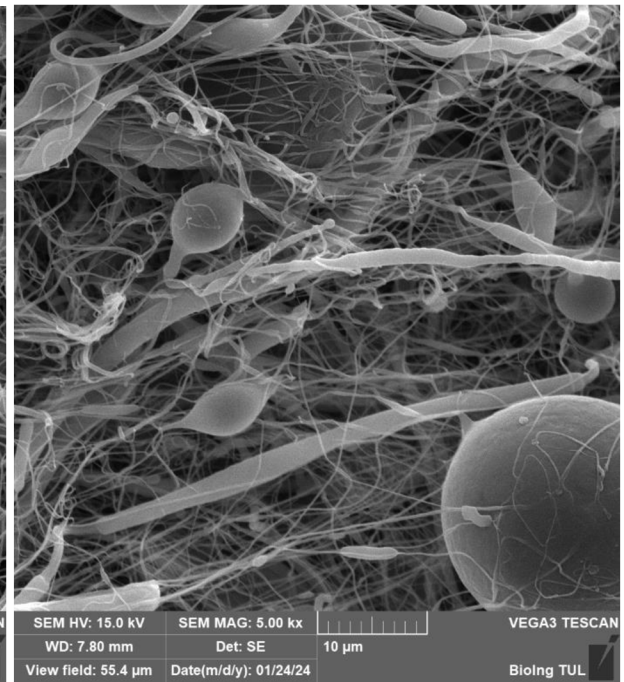
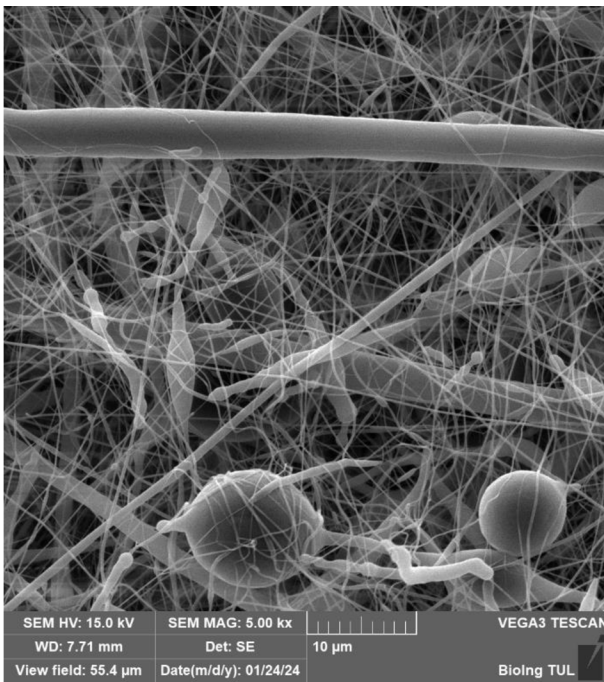
Obrázek č.14: SEM snímky nanovlákněné vrstvy s uhlíkovými nanotrubicemi, ale bez shish-kebab úpravy tedy vzorek č.2 (PCL 45 + 0,1 % MWCNTs) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřitko představuje 10 µm.



3 líc bez úpravy



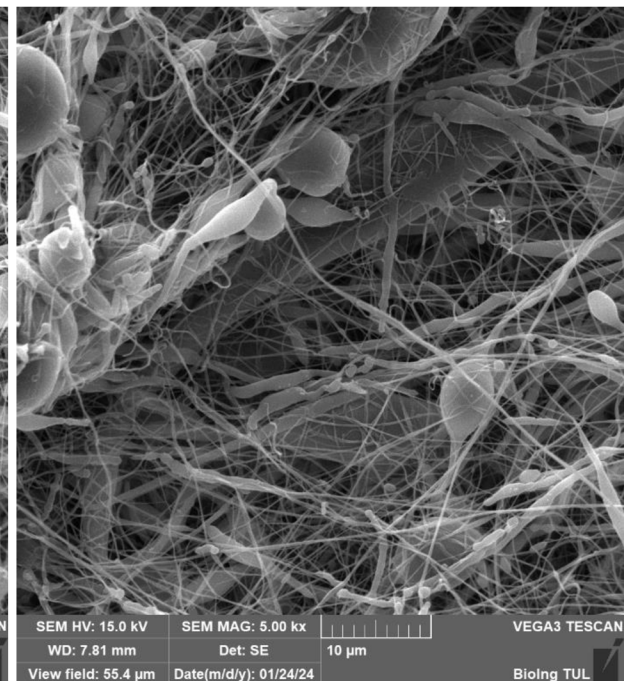
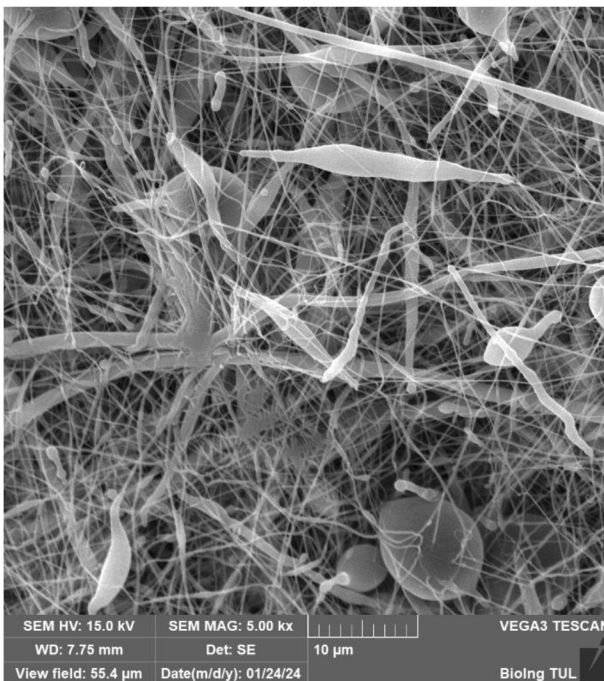
3 rub bez úpravy



3 líc bez úpravy

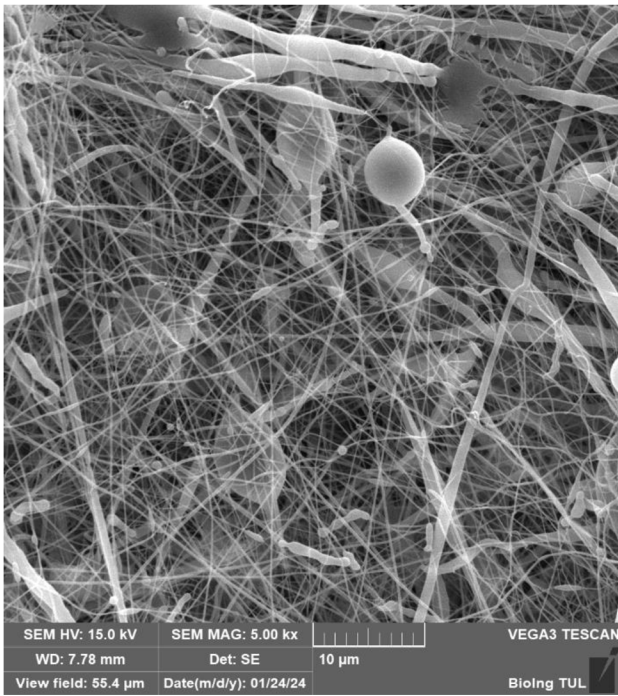
3 rub bez úpravy

Obrázek č.15: SEM snímky nanovláčenné vrstvy s uhlíkovými nanotrubicemi, ale bez shish-kebab úpravy tedy vzorek č.3 (PCL 45 + 0,5 % MWCNTs) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřitko představuje 10 µm.

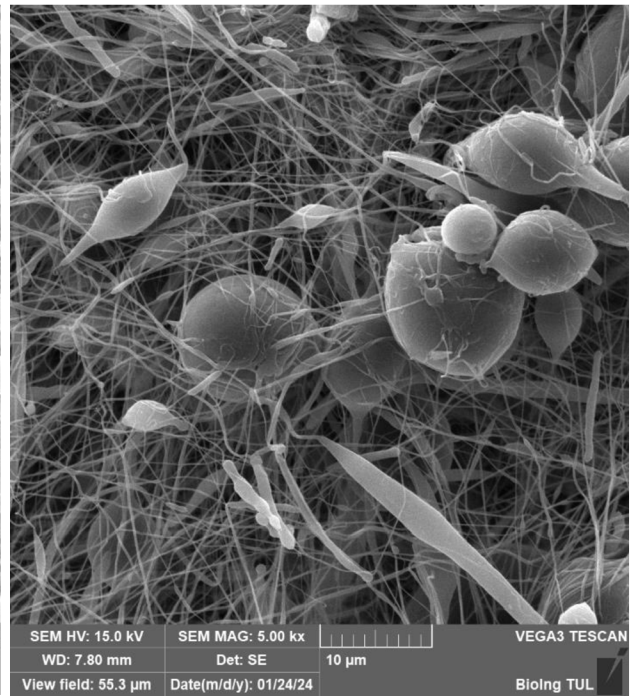


4 líc bez úpravy

4 rub bez úpravy

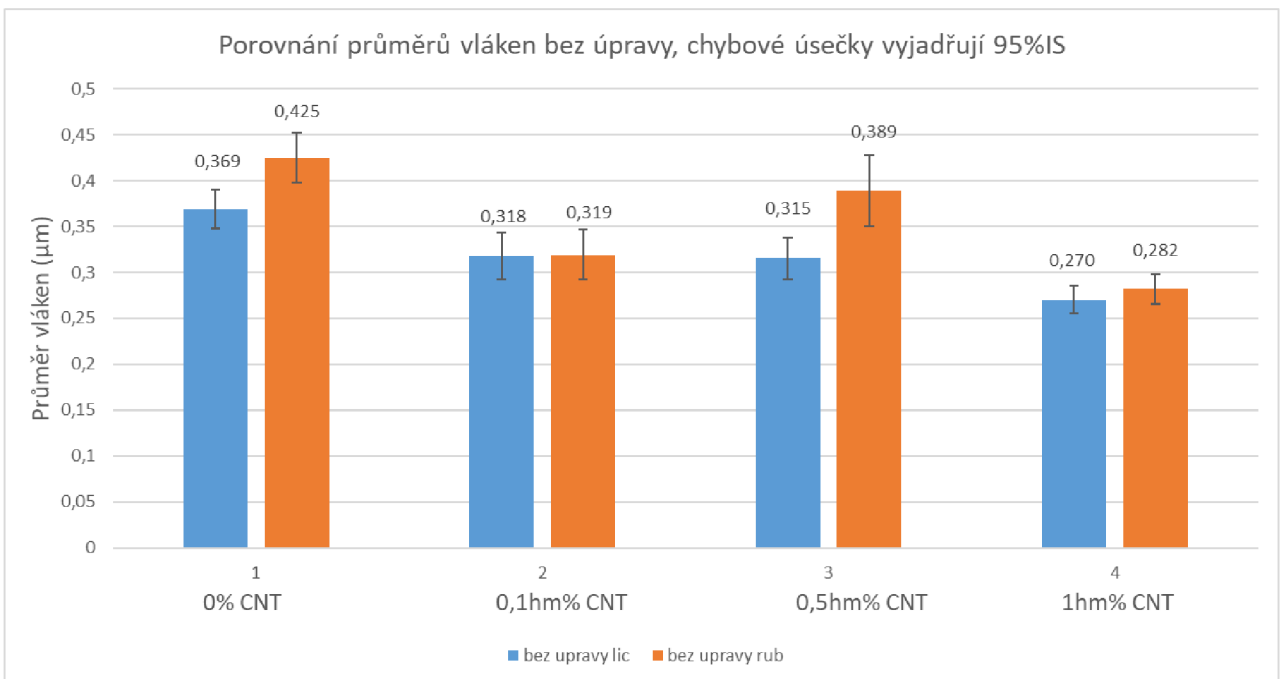


4 lic bez úpravy



4 rub bez úpravy

Obrázek č.16: SEM snímky nanovlákněné vrstvy s uhlíkovými nanotrubicemi, ale bez shish-kebab úpravy tedy vzorek č.4 (PCL 45 + 1 % MWCNTs) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřítka představuje 10 µm.

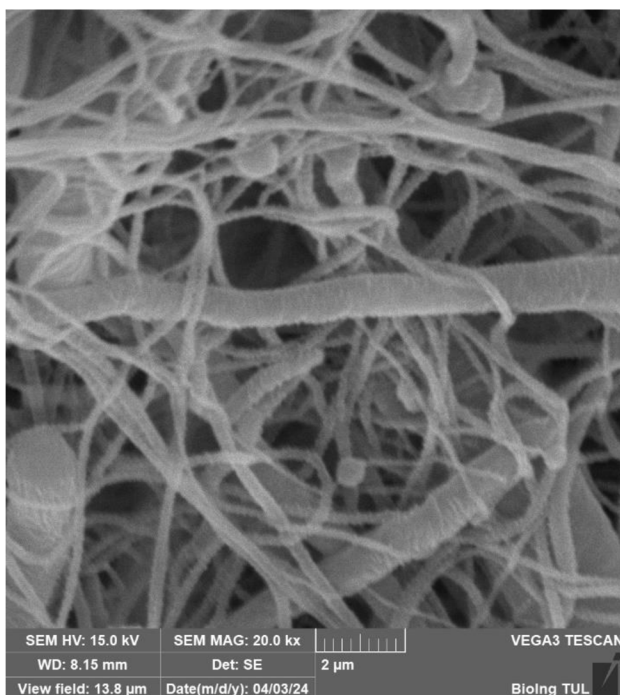


Graf č.1: Porovnání průměrů nanovláken bez postprocesní úpravy zředěným polymerním roztokem

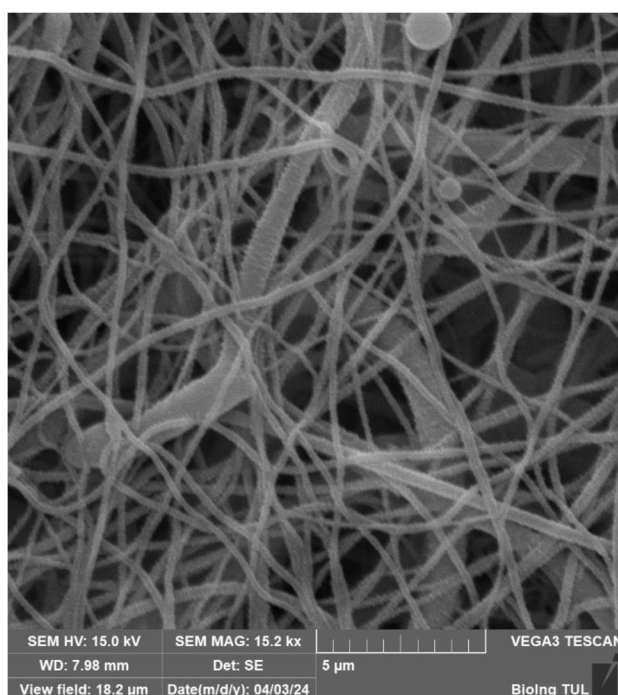
Líc a rub se významně liší u vzorku 1 a 3. Tento rozdíl může být způsoben postupným ukládáním vláken v průběhu elektrického zvláknování na podkladovou textilii. Postupné zvětšování tloušťky nanovlákněné vrstvy na podkladové textilii vede ke změně elektrického pole a tím může dojít i k

postupným změnám ve struktuře vytvářených vláken a tedy k rozdílu mezi lícem a rubem vyrobených materiálů. Dále se mezi sebou liší statisticky významně vzorky 1 a 4. V obecném pohledu by se až na výjimku u rubu vzorku č.3 dalo z grafu rozpoznat, že s rostoucím přídatkem uhlíkových nanotrubic průměr vláken klesá a možným vysvětlením je to, že během procesu zvlákňování docházelo k většímu prodlužování (dloužení) vláken kvůli tomu, že nanotrubičky dispergované v roztoku vystupovaly jako výztuž a během tažení podporovaly prodlužování a to i díky své elektrické vodivosti či udržely mechanicky vlákna před jejich roztržením. Avšak mezi průměry vláken s přídatkem uhlíkových nanotrubic o 0,1 a 0,5 hm% není patrný výrazný rozdíl.

Snímky shish-kebab úprava PCL 45:



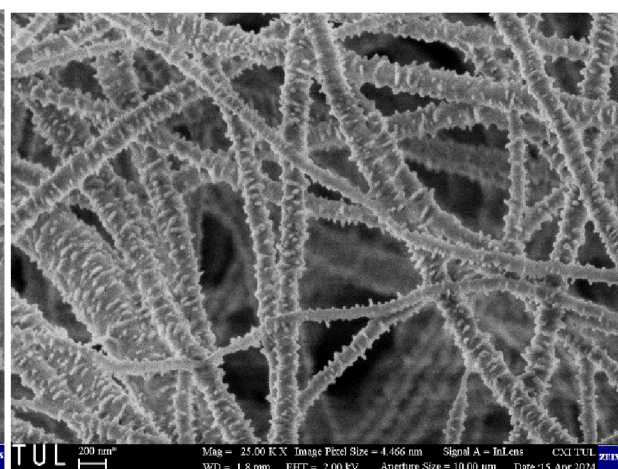
1 líc shish-kebab PCL 45



1 rub shish-kebab PCL 45

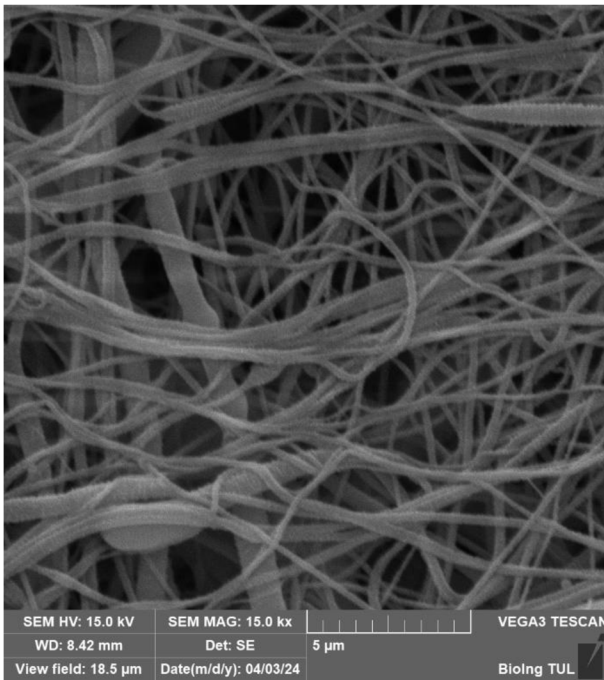


1 líc shish-kebab PCL 45

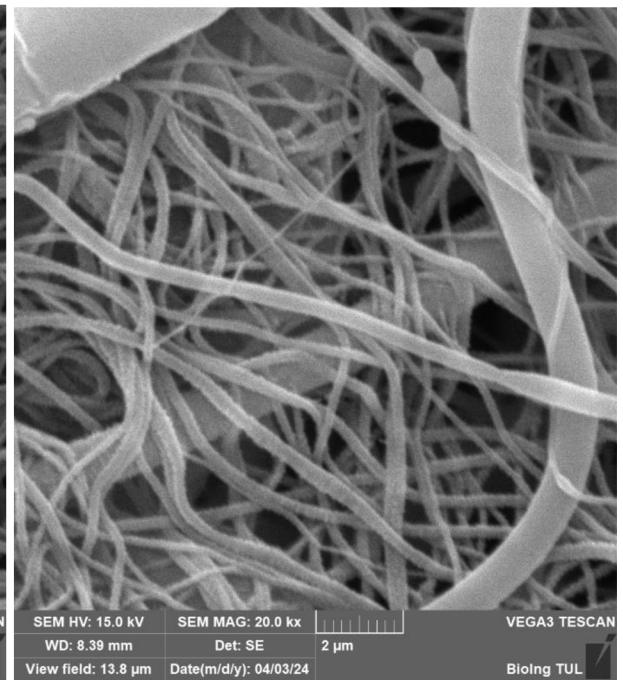


1 rub shish-kebab PCL 45

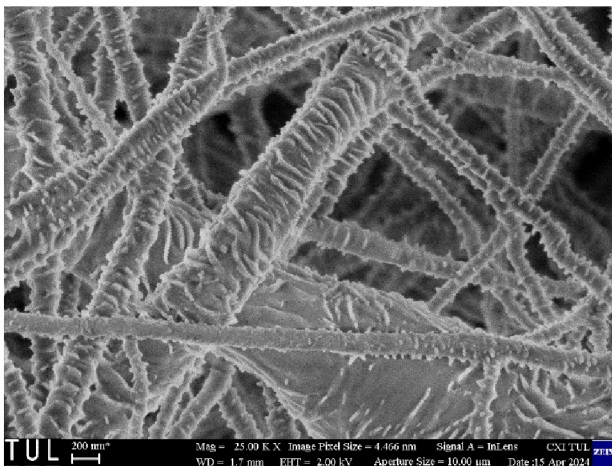
Obrázek č.17: SEM snímky nanovlákněné vrstvy bez uhlíkových nanotrubic, ale s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.1 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 45) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřítko představuje 2 a 5 μ m nahoře a 200 nm dole.



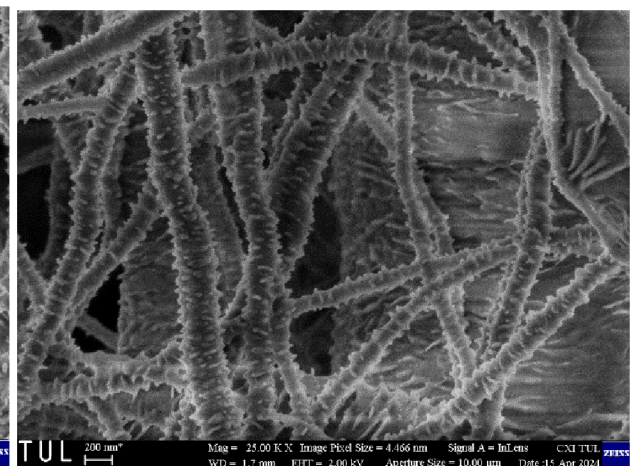
2 lic shish-kebab PCL 45



2 rub shish-kebab PCL 45

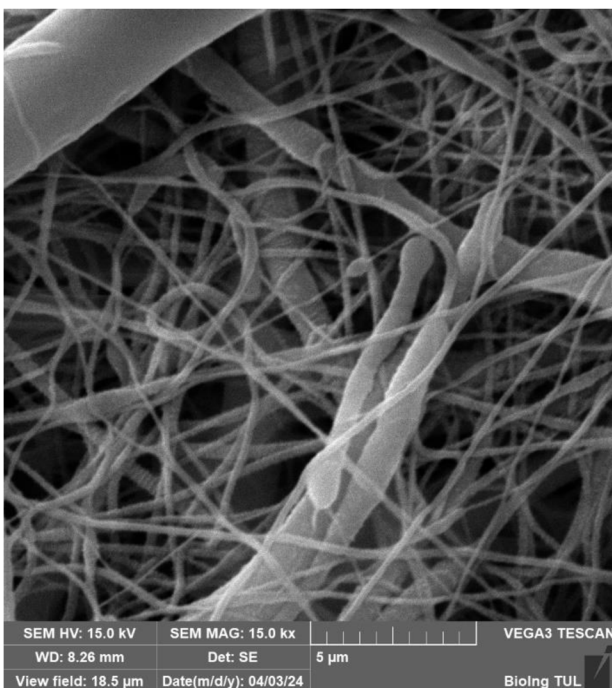


2 lic shish-kebab PCL 45

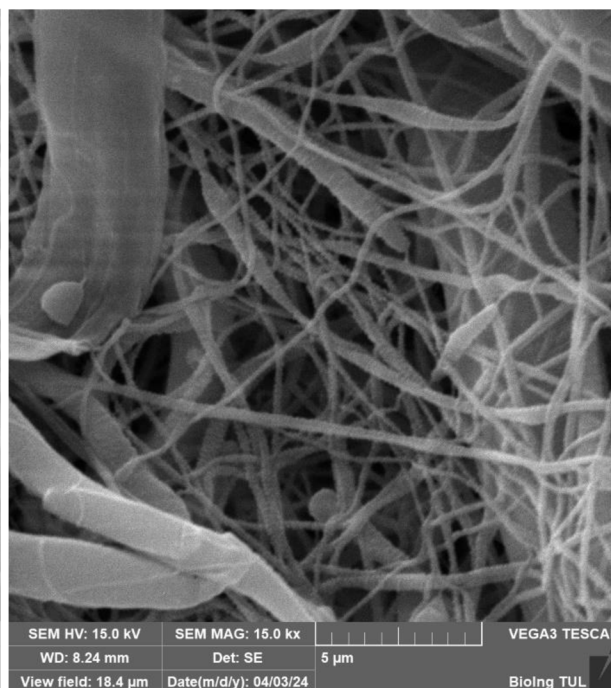


2 rub shish-kebab PCL 45

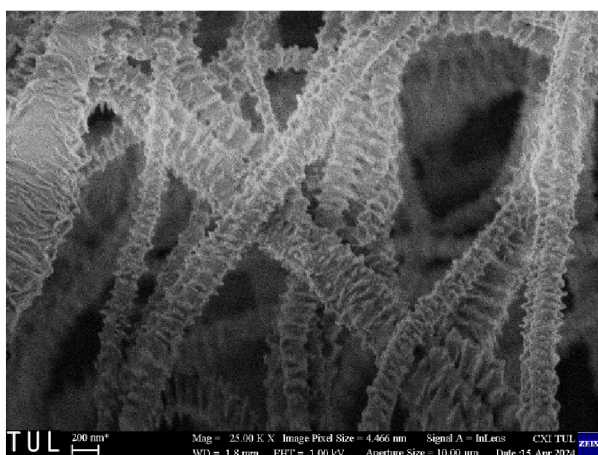
Obrázek č.18: SEM snímky nanovlákné vrstvy s uhlíkovými nanotrubicemi a s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.2 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 45 + 0,1 hm% MWCNTs) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřítka představuje 5 a 2 μm nahoře a 200 nm dole.



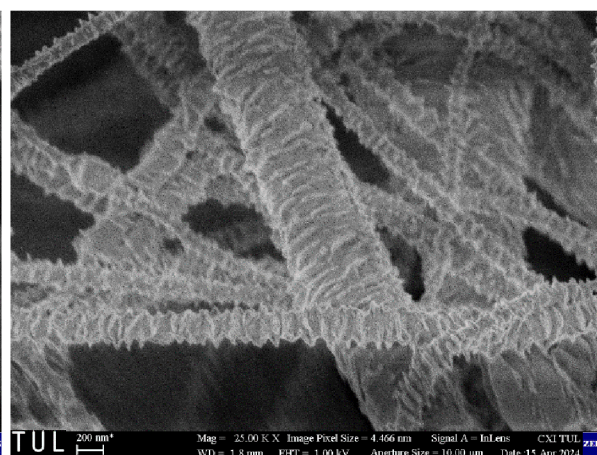
3 líc shish-kebab PCL 45



3 rub shish-kebab PCL 45

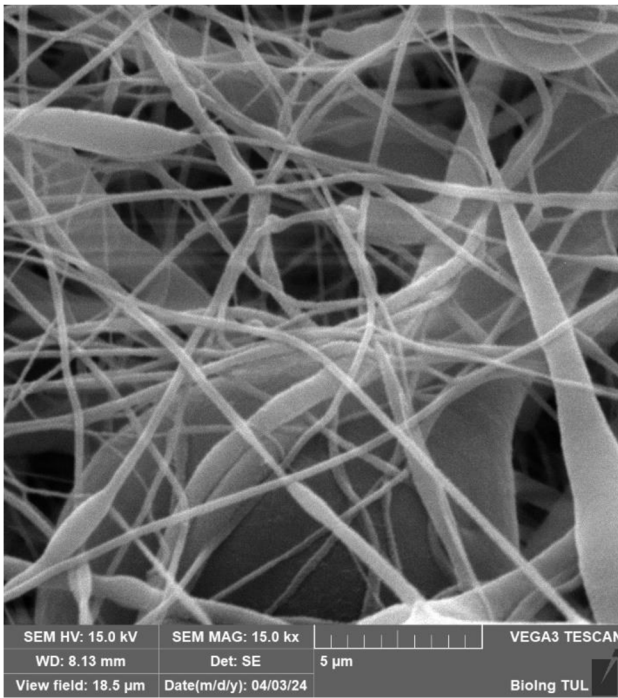


3 líc shish-kebab PCL 45

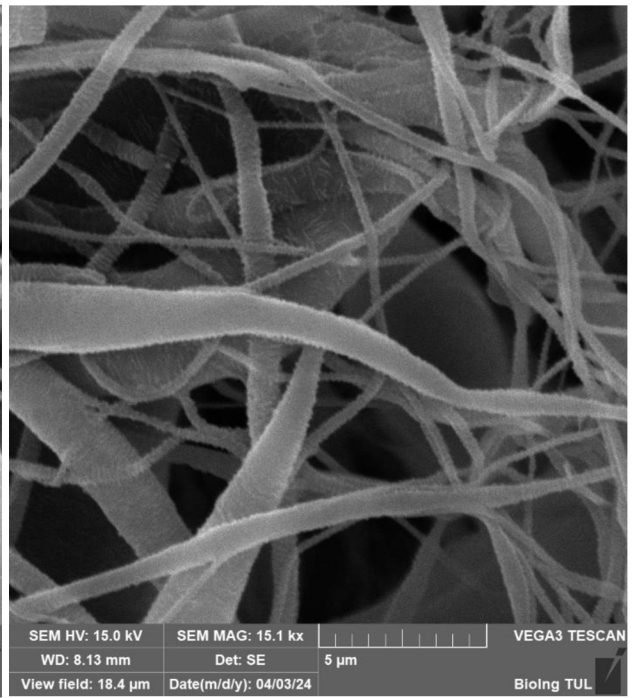


3 rub shish-kebab PCL 45

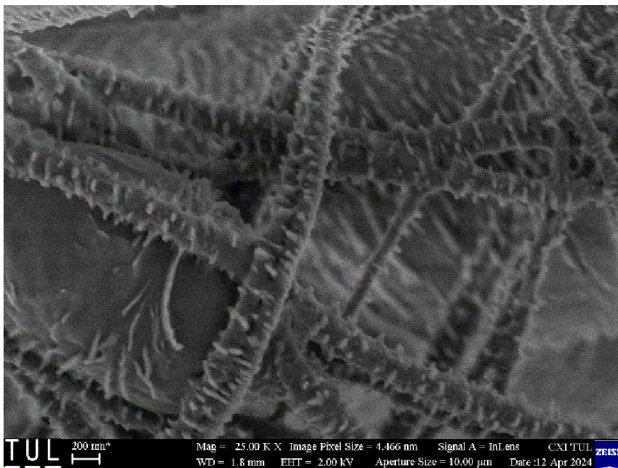
Obrázek č.19: SEM snímky nanovláčenné vrstvy s uhlíkovými nanotrubicemi a s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.3 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 45 + 0,5 hm% MWCNTs) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřitko představuje 5 µm nahoře a 200 nm dole.



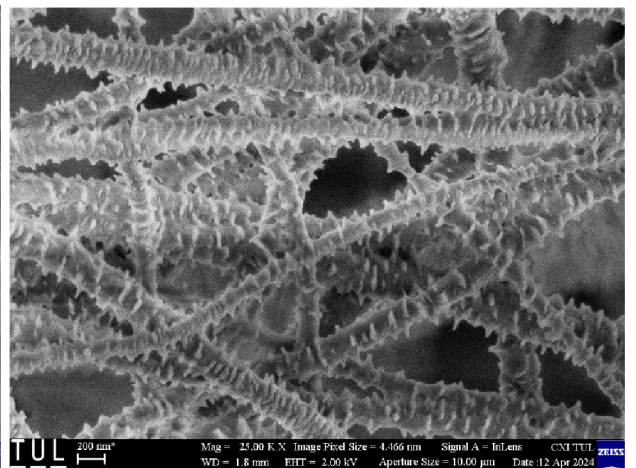
4 lic shish-kebab PCL 45



4 rub shish-kebab PCL 45

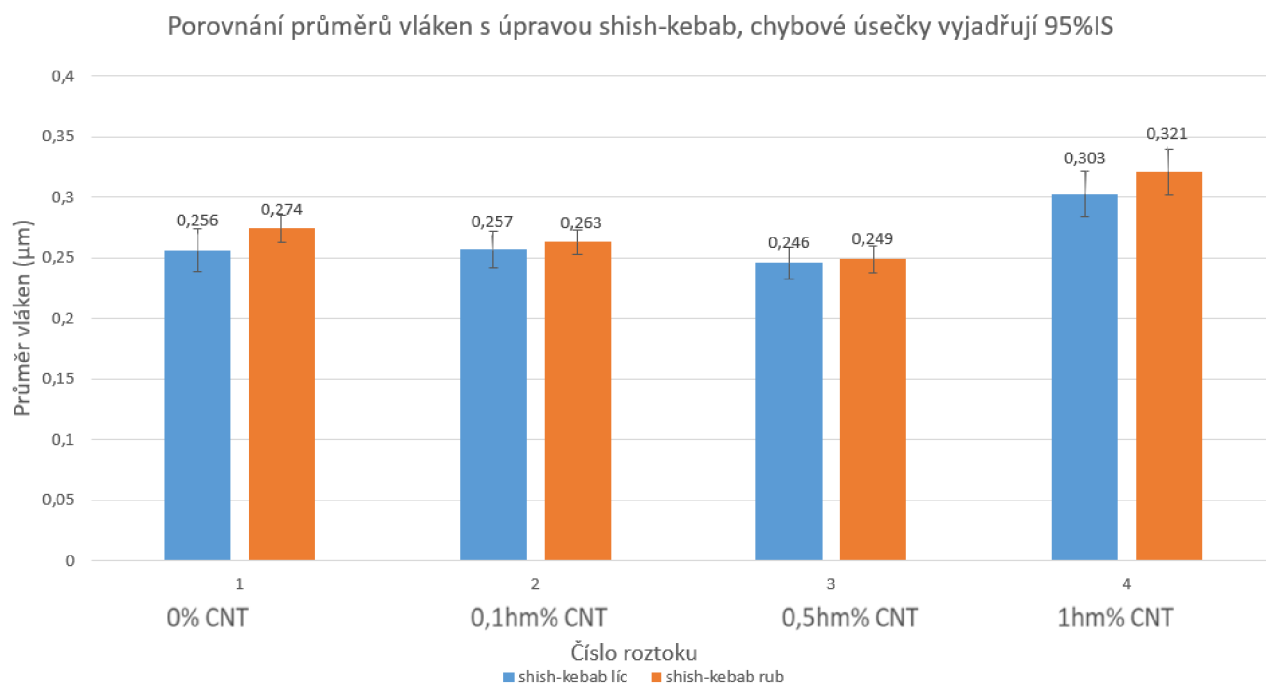


4 lic shish-kebab PCL 45



4 rub shish-kebab PCL 45

Obrázek č.20: SEM snímky nanovlákněné vrstvy s uhlíkovými nanotrubicemi a s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.4 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 45 + 1 hm% MWCNTs) v pohledu shora (nalevo) a zdola (napravo). Měřitko představuje 5 μm nahoře a 200 nm dole.

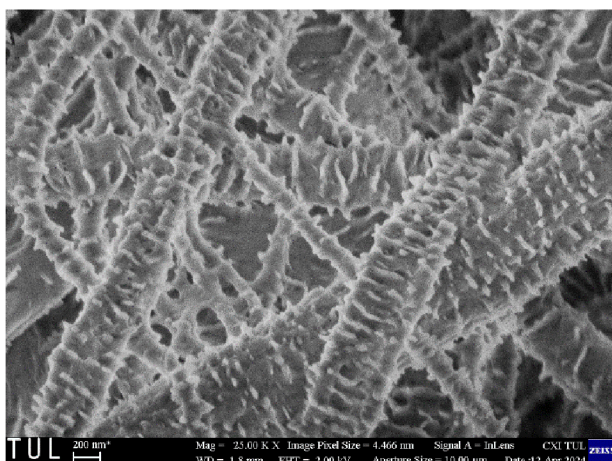


Graf č.2: Porovnání průměrů nanovláken s úpravou shish-kebab zředěným roztokem PCL45. Proměřován byl základní průměr vláken bez výstupků.

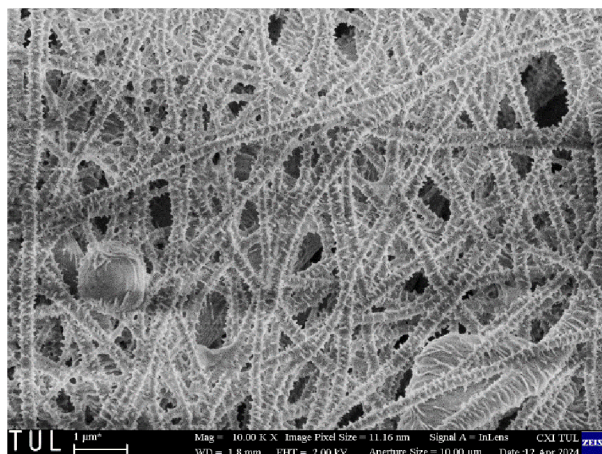
Z hodnocení grafu č.2 vyplývá, že ve všech případech jsou průměry vláken z líce i rubu stejné a celkově jsou průměry vláken menší než pro vláknenné materiály bez postprocesní úpravy až na vzorek č.4 (PCL45 + 1 hm% MWCNTs). U tohoto vzorku jsou ale průměry vláken zejména z lícové strany statisticky nevýznamně rozdílné. Zmenšení průměrů vláken respektive základních „těl“ vláken po postprocesní úpravě může být způsobeno narušením povrchu vláken (rozpuštěním povrchu vláken) a přetvořením této části povrchu do formy výstupků při následném sušení. Avšak toto tvrzení by vyžadovalo další přesnější hodnocení, neboť rozdíly mohou být způsobeny nestandardizovanou ruční úpravou a sušením volně v digestoři.

Dále pokračují snímky z rastrovacích elektronových mikroskopů pro nanovlákná bez a s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi s postprocesní úpravou zředěným polymerním roztokem PCL 80.

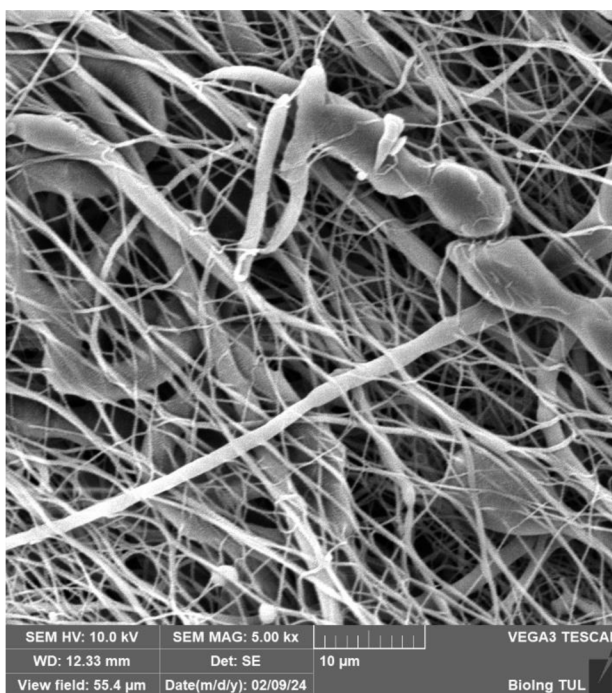
Snímky shish-kebab úprava PCL 80:



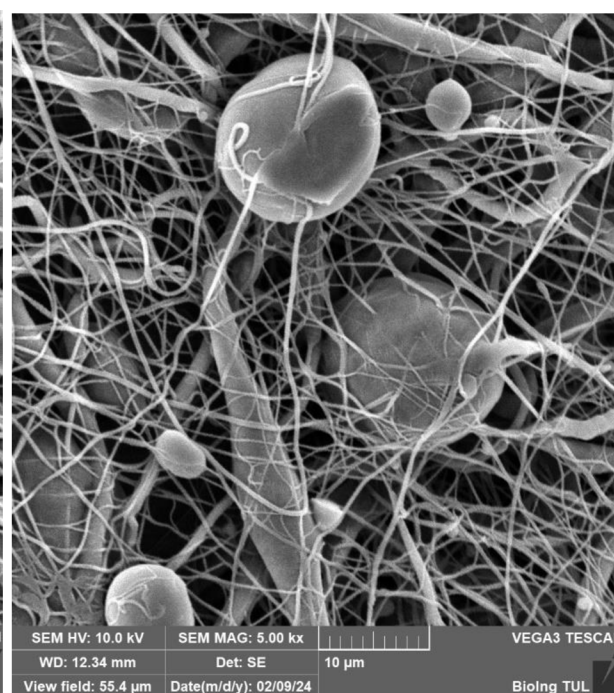
1 líc shish-kebab PCL 80



1 líc shish-kebab PCL 80

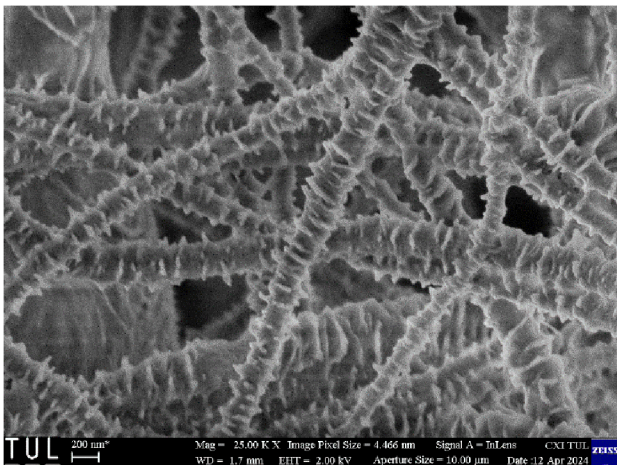


1 rub shish-kebab PCL 80

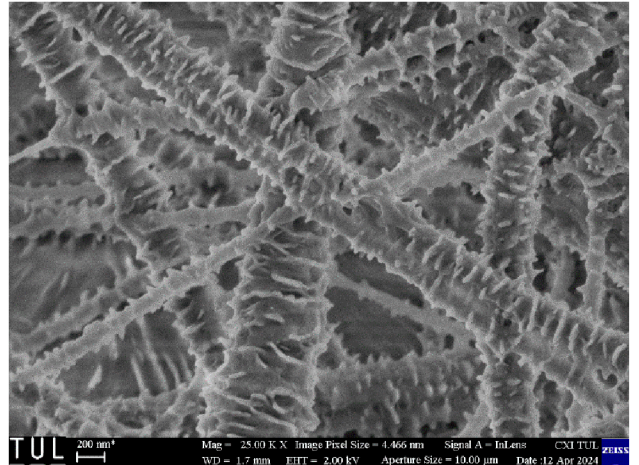


1 rub shish-kebab PCL 80

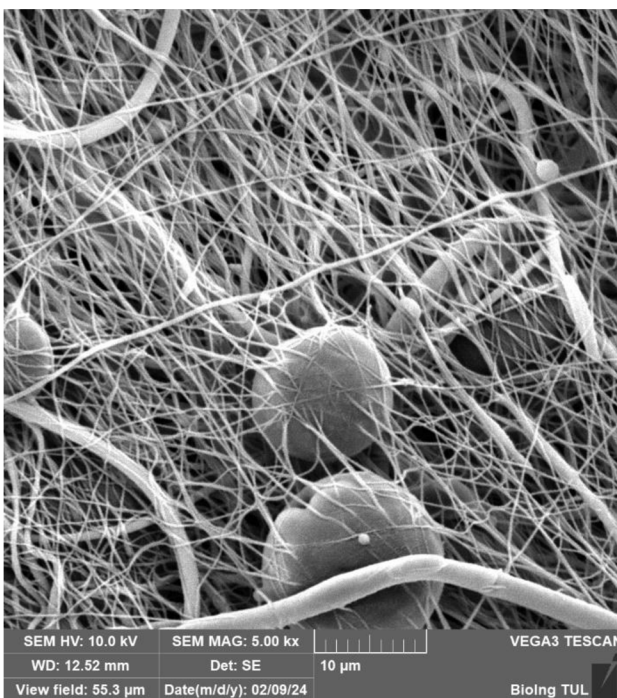
Obrázek č.21: SEM snímky nanovláknenné vrstvy bez uhlíkových nanotrubic, ale s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.1 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 80) v pohledu zdola pro snímky z SEM Tescan a v pohledu shora pro snímky z SEM Zeiss. Měřítka 200 nm a 1 µm nahoře a 10 µm dole.



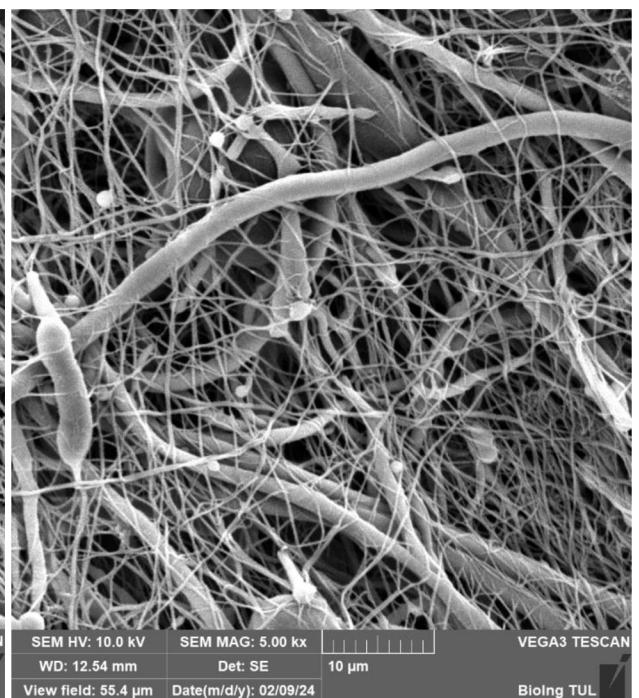
2 líc shish-kebab PCL 80



2 líc shish-kebab PCL 80

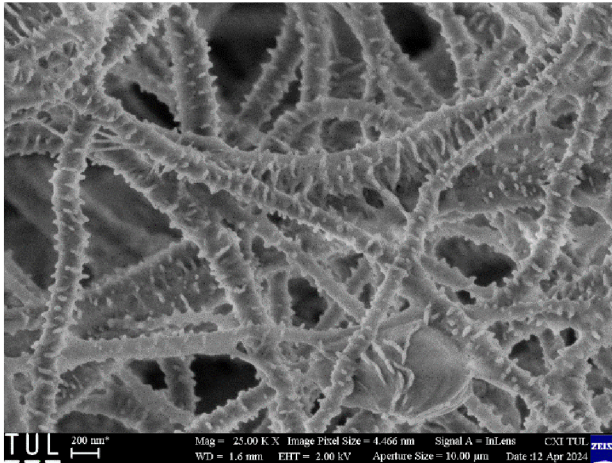


2 rub shish-kebab PCL 80

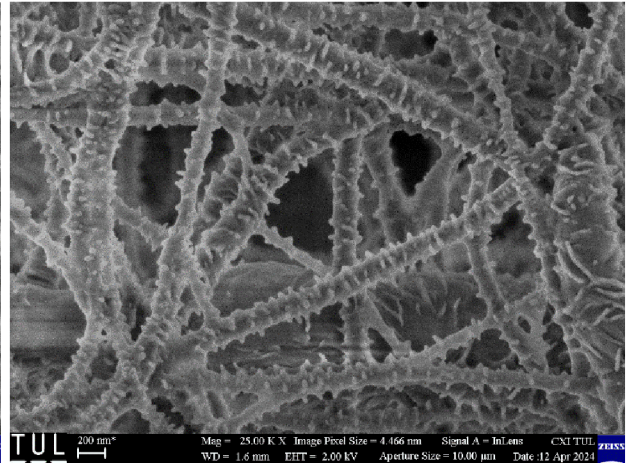


2 rub shish-kebab PCL 80

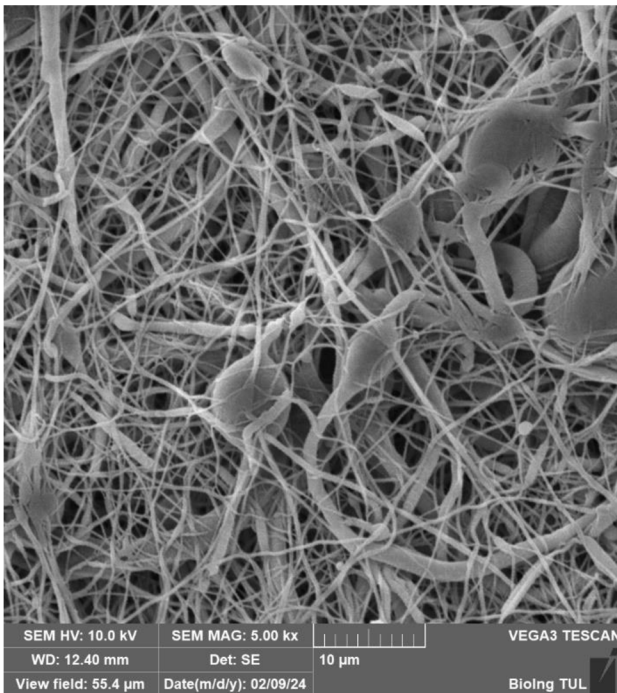
Obrázek č.22: SEM snímky nanovláčenné vrstvy bez uhlíkových nanotrubic, ale s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.2 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 80 + 0,1 hm% MWCNTs) v pohledu zdola pro snímky z SEM Tescan a v pohledu shora pro snímky z SEM Zeiss. Měřitko 200 nm nahoře a 10 μm dole.



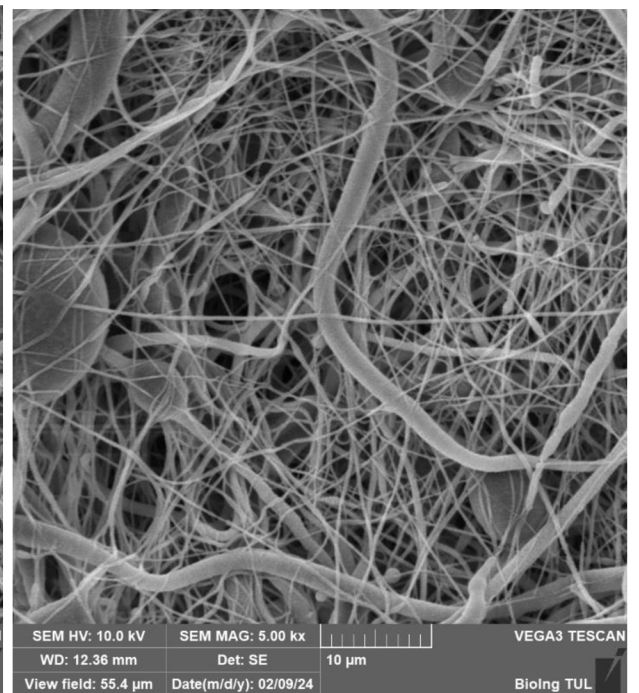
3 líc shish-kebab PCL 80



3 líc shish-kebab PCL 80

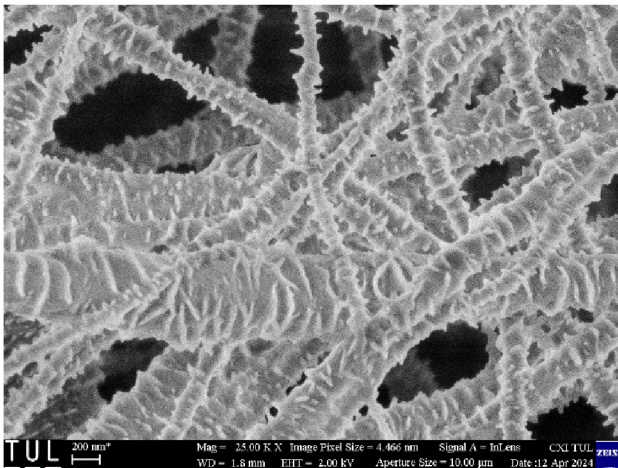


3 rub shish-kebab PCL 80

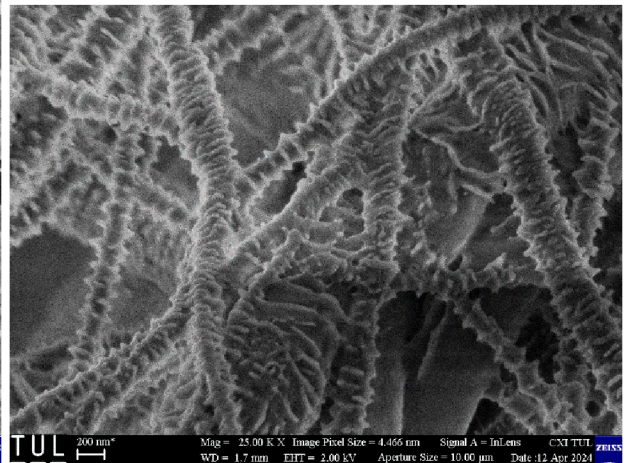


3 rub shish-kebab PCL 80

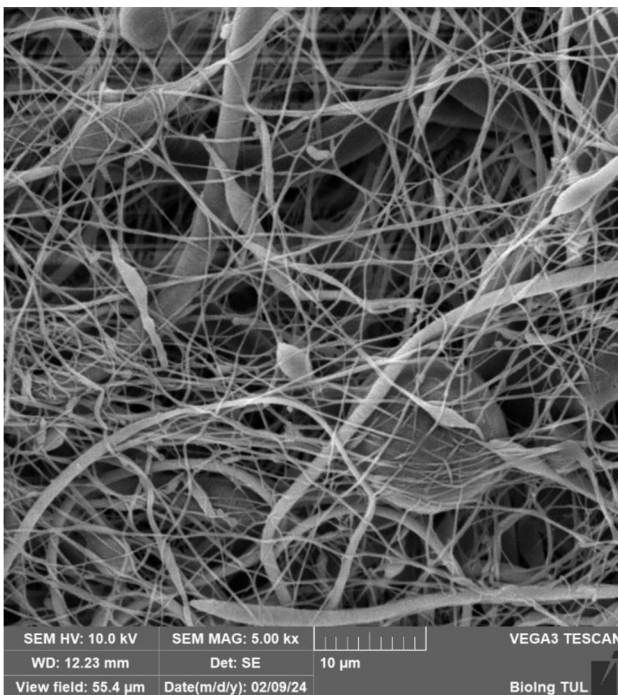
Obrázek č.23: SEM snímky nanovlákněné vrstvy bez uhlíkových nanotrubic, ale s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.3 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 80 + 0,5 hm% MWCNTs) v pohledu zdola pro snímky z SEM Tescan a v pohledu shora pro snímky z SEM Zeiss. Měřitko 200 nm nahoře a 10 μm dole.



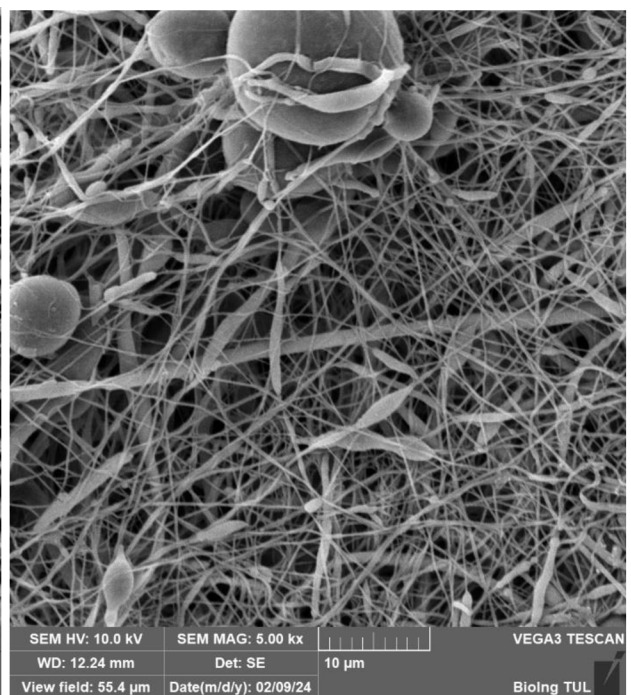
4 lic shish-kebab PCL 80



4 lic shish-kebab PCL 80



4 rub shish-kebab PCL 80



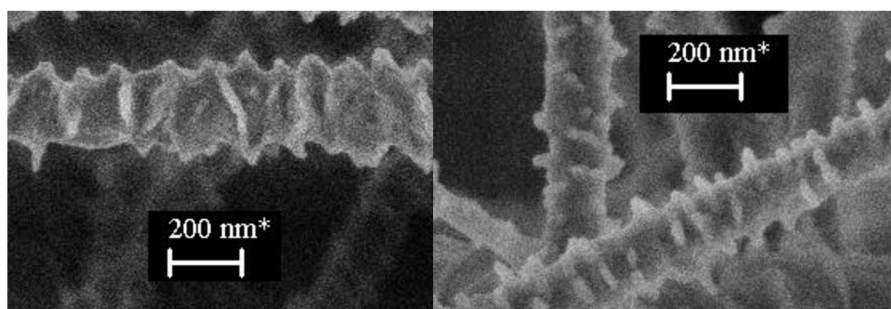
4 rub shish-kebab PCL 80

Obrázek č.24: SEM snímky nanovlákněné vrstvy bez uhlíkových nanotrubic, ale s shish-kebab úpravou tedy vzorek č.3 (PCL 45 s úpravou zředěným roztokem PCL 80 + 1 hm% MWCNTs) v pohledu zdola pro snímky z SEM Tescan a v pohledu shora pro snímky z SEM Zeiss. Měřitko 200 nm nahoře a 10 μm dole.

Hodnocení snímků z rastrovacích elektronových mikroskopů základních vlákněných materiálů bez i s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi ukazuje poměrně velké množství kapkových defektů, ale to je typické pro zvlákňování polykaprolaktonu stejně tak jako velká distribuce průměrů vláken. To je způsobeno zejména zvoleným rozpouštědlovým systémem chloroform/etanol. Avšak použití jiných rozpouštědlových systémů například s přidavkem koncentrovaných kyselin

(kyseliny octové a kyseliny mravenčí) vede k nestabilitě polymerních roztoků v čase respektive k degradaci polymerních materiálů v nich.

Pro materiály po postprocesní úpravě je třeba poznamenat, že velmi úspěšně byly všechny materiály „porostlé“ výstupky. Tyto výstupky či struktura vláken typu shish-kebab má různou podobu pro postřík zředěným roztokem stejné molekulové hmotnosti polymeru jako byla základní vlákna oproti postříku zředěným roztokem polymeru o vyšší molekulové hmotnosti. Pro vzorky s postprocesní úpravou PCL 45 je na povrchu více lamelovitých výběžků. Pro vzorky s postprocesní úpravou pomocí PCL 80 je na povrchu vláken více ostřejších výběžků spíše píků (viz obr. č.25).



Obr. č.25: Ukázka podoby lamelovitých výběžků více zastoupených pro postřík roztokem PCL45 (nalevo) a ostřejších výběžků tvaru píků více zastoupených pro postřík roztokem PCL80 (napravo).

Dále je třeba poznamenat, že pro všechny materiály došlo i po postříku zředěným roztokem a následnému vysušení k zachování i velmi jemných vláken pod 200 nm v průměru, což bylo v dřívějších testech velmi obtížné dosáhnout, neboť jemná vlákna se při postříku rozpouštěla a bylo zřejmé, že z materiálů po postprocesní úpravě mizí. Důležitý je také, že nárůst je na všech vláknech a je rovnoměrný. Avšak při pozorování SEM snímků nejsou pozorované žádné výrazné změny struktury vláken a jejich povrchu při zvětšujícím se zastoupení integrovaných uhlíkových nanotrubic do vláken.

3.3.2 Plošné hmotnosti

Z tabulky č.1 lze konstatovat, že po přidání nanotrubic se výrobnost/produktivita nanovláken zvýšila. To je zajímavý poznatek vzhledem k tomu, že se jistě zvětšuje celková viskozita polymerních roztoků s přidavkem uhlíkových nanotrubic. Vyšší viskozita polymerních roztoků obecně při elektrickém zvlákňování způsobuje nižší produktivitu, což tento experiment nepotvrzuje. Viskozita nebyla v rámci této BP měřena z důvodů potřeby velkého množství polymerního roztoku pro měření viskozity na dostupném zařízení. V průběhu výroby vláknenných vrstev byla nejprve snaha o vytvoření materiálů o stejných plošných hmotnostech, z toho důvodu byly u některých vzorků měněny odtahové rychlosti. Avšak posléze nebylo možné plně

optimalizovat na stejnou plošnou hmotnost z důvodu nedostatku uhlíkových nanotrubic, jejichž cena se pohybuje v řádu desetitisíc korun za 10 g.

Vyšší produktivita tedy výsledně vyšší plošné hmotnosti při stejných odtahových rychlostech pro zvláknění polymerních roztoků s vyšším přídatkem uhlíkových nanotrubic může být vysvětleno vyšší elektrickou vodivostí polymerních roztoků a tím vyšší ochotou ke zvláknění. Z roztoku č.2 (PCL 45 + 0,1 hm% MWCNTs) byl pro následné postprocesní úpravy vybrán vzorek vyrobený při odtahové rychlosti 30 mm/min.

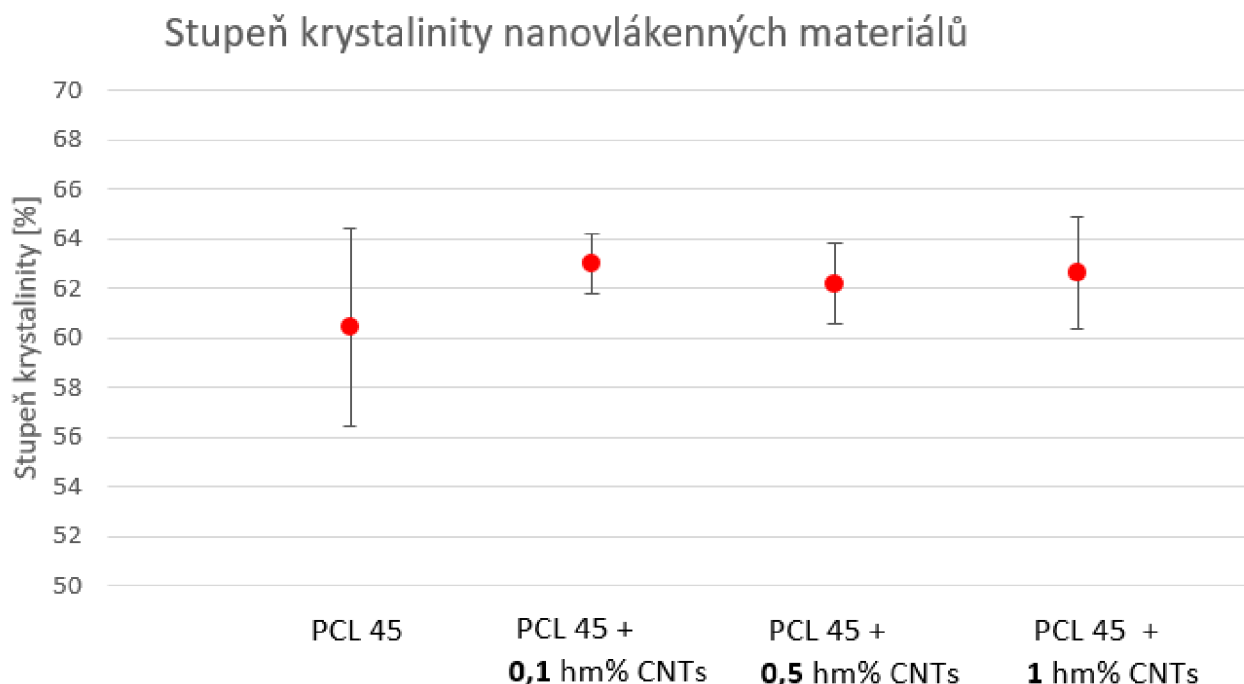
Č. roztoku (Odtahová rychlost)/Číslo měření	hmotnost vzorků 4 cm ² (g)			Průměrná hmotnost (g)	Průměrná plošná hmotnost ± SD (g/m ²)
	1	2	3		
1 - PCL45 (30 mm/min)	0,0958	0,0960	0,0921	0,0946	19,31 ± 0,45
2 - PCL45+0,1hm% MWCNTs (30 mm/min)	0,1154	0,1134	0,1124	0,1137	23,20 ± 0,31
2 - PCL45+0,1hm% MWCNTs (48 mm/min)	0,0717	0,0708	0,0696	0,0707	14,42 ± 0,22
3 - PCL45+0,5hm% MWCNTs (20 mm/min)	0,2052	0,2132	0,1691	0,1958	39,98 ± 4,79
4 – PCL45+1hm% MWCNTs (20 mm/min)	0,3182	0,3358	0,2458	0,2999	61,20 ± 9,74

Tabulka č.1: Plošné hmotnosti výsledných vzorků elektricky zvlákněných materiálů bez postprocesní úpravy.

3.3.3. Stupeň krystalinity zvlákněných materiálů

Hodnocení stupně krystalinity pomocí DSC analýzy je dle grafu č.3 pro jednotlivé nanovlákněné materiály nepřilíš rozdílné. Avšak zajímavé je, že materiál neobsahující uhlíkové nanotrubicice má větší směrodatnou odchylku od střední hodnoty stupně krystalinity než materiály s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi. Pokud by se hrubě srovnávaly jen střední hodnoty pak by bylo možné poznamenat, že s přídatkem uhlíkových nanotrubic stupeň krystalinity polykaprolaktonu v těchto kompozitních vláknech vzrostl, avšak neliší se s velikostí přídatku uhlíkových nanotrubic. Touto metodou je možné vyhodnotit pouze celkový stupeň krystalinity, ale není možno zhodnotit velikosti krystalických oblastí. Ty by mohly být s přídatkem uhlíkových nanotrubic při

rovnouměrné distribuci v tělech vláken menší, avšak to je nutné ověřit v navazujících studiích například pomocí rentgenové difrakce.



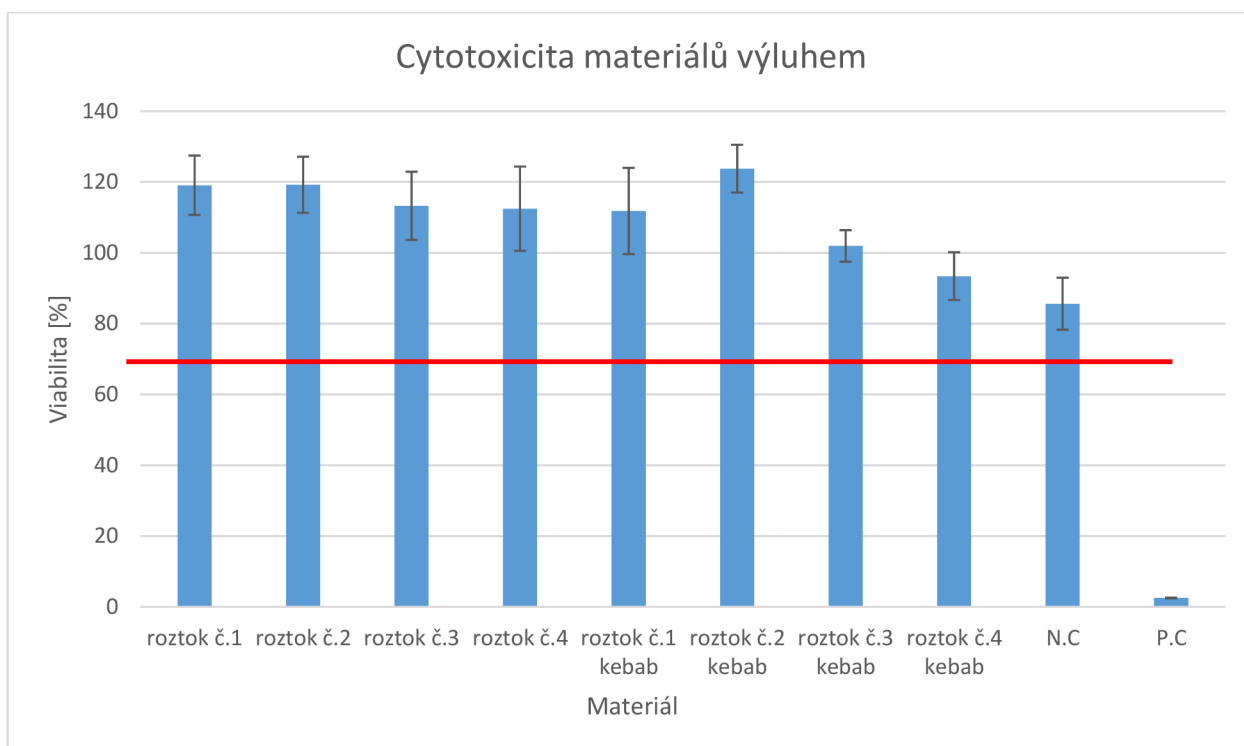
Graf č.3: Střední hodnota stupně krystalinity PCL45 v elektricky zvlákněných nanovlákněch. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku.

3.3.4. Hodnocení cytotoxicity zvlákněných materiálů bez a s postprocesní úpravou

Z výsledného grafu hodnocení cytotoxicity materiálů s a bez přídavku MWCNTs a s a bez postprocesní úpravy povrchu lze usoudit, že výsledné nanovláknenné materiály s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi jsou biokompatibilními materiály s buněčnou linií 3T3 - NIH (myši fibroblasty), protože žádný z materiálů nevykazuje viabilitu buněk pod 70% (viz Graf č.4). Při důkladném zkoumání viability každého vzorku bylo zjištěno, že vlákna z PCL + 0,5 hm% a PCL + 1 hm% mají nejnižší viabilitu buněk, což může být podobně jako v článku (Wu et al. 2019) vysvětleno na základě tvorby struktur shish-kebab postříkem a následným rozpuštěním povrchu vláken s následkem vyčnívání inkorporovaných uhlíkových nanotrubic na povrch či z povrchu vláken.

Podle mínění autora této bakalářské práce je nutné v tomto směru i nadále provádět různé testy cytotoxicity, biokompatibility a také doměřit kvantifikaci DNA např. pomocí spektrofotometrické metody (Quant-iT dsDNA assay Kit) a to proto, že test, který byl použit v dané práci by se spíše

měl považovat za orientační (časově méně náročný, ale i méně přesný). Složitější a přesnější cytotoxické testy jsou mnohem náročnější, a to jak časově, tak i finančně.



Graf č.4: Cytotoxicita materiálů výluhem. Červeně označena spodní hranice cytotoxicity a to cca. 70 % (vše, co je nad čarou se považuje za biokompatibilní, pod čarou znamená, že materiál je toxický pro buňky)

3.3.5. Nános postprocesní úpravy

Dále jsou uvedeny hodnoty hmotností vzorků před a těsně po aplikaci nástřiku zředěných polymerních roztoků pro postprocesní úpravu a rychlým odsátím přebytečného roztoku. Tabulka č.3 ukazuje na hodnoty pro postprocesní úpravu roztokem PCL 45 a tabulka č.2 roztokem PCL 80.

Č. roztoku	Hmotnost vzorků (před stříky) (g)	Hmotnost vzorků (po střících) (g)	Rozdíl (g)	Plošná hmotnost nástřiku (g/m ²)	Poměr pl.hm. nástřiku ku plošné hmotnosti vzorků (1)
1 (0% MWCNTs)	29,42	30,15	0,73	41,31	2,1
2 (0,1% MWCNTs)	28,92	30,20	1,28	72,43	3,1
3 (0,5% MWCNTs)	29,40	31,90	2,5	141,47	3,5
4 (1% MWCNTs)	29,62	33,28	3,66	207,12	3,4

Tabulka č.2: Hmotnosti vzorků, postříkaných pentyl acetátem v 1 hm% PCL 80.

Výsledná plošná hmotnost nástřiku ukazuje tendenci materiálů s větší plošnou hmotností (Viz tabulka č.3) nasávat větší objem kapaliny.

Č. roztoku	Hmotnost vzorku (před stříky) (g)	Hmotnost vzorku (po střících) (g)	Rozdíl (g)	Plošná hmotnost nástřiku (g/m ²)	Poměr pl.hm. nástřiku ku plošné hmotnosti vzorků (1)
1 (0% MWCNTs)	25,45	26,26	0,81	45,86	2,4
2 (0,1% MWCNTs)	25,26	25,92	0,66	37,37	1,6
3 (0,5% MWCNTs)	24,53	26,36	1,83	103,61	2,6
4 (1% MWCNTs)	25,16	28,16	3	169,85	2,8

Tabulka č.3: Hmotnosti vzorků, postříkaných pentyl acetátem v 1 hm% PCL 45.

Výsledná plošná hmotnost nástřiku ukazuje tendenci materiálů s větší plošnou hmotností (Viz tabulka č.2 i č.3) nasávat větší objem kapaliny použité k postprocesní úpravě. Aby bylo lépe prokázáno, že i když se jednalo o ruční nános postprocesní úpravy, šlo o opakovatelný postup, bylo provedeno normování přes skutečnou plošnou hmotnost základních použitých materiálů. V tabulce č. 2 a č.3 je vidět, že se poměr těchto plošných hmotností pohybuje 1,6 až 3,5. Postup by tedy bylo dobré ještě dále optimalizovat, aby nánosy postprocesních úprav byly do nejpodobnější mezi jednotlivými vzorky, avšak při ručním postupu to není možné zcela zaručit.

4. Závěr

Tato bakalářská práce se věnovala výrobě vláknenných materiálů z biodegradabilního polykaprolaktonu a jejich následné úpravě do podoby vláken se strukturovaným povrchem. Struktura těchto vláken je často označována jako shish-kebab struktura. Práce si dala za cíl zjistit vliv integrovaných uhlíkových nanotrubic na výslednou strukturu vláken připravených postprocesní úpravou do podoby shish-kebab struktur.

Vlákna s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi s různým přídatkem MWCNTs byla úspěšně zvlákněna. Bylo zjištěno, že se zvyšujícím se přídatkem uhlíkových nanotrubic klesá průměr vláken a zvyšuje se produktivita výroby bezjehlovým elektrickým stejnosměrným zvlákněním.

Pro postprocesní úpravu byly použity dva zředěné roztoky polykaprolaktonu o různé molekulové hmotnosti avšak se stejnou koncentrací. Z výsledků vyplývá, že nárůst povrchových útvarů byl pro všechny vzorky rovnoměrný a byl na všech vláknech. Po této úpravě byla zachována ve vzorcích i velmi jemná vlákna pod dvě stě nanometrů v průměru. Pro úpravu stejným polymerním materiálem byly na vláknech pozorovány spíše lamelovité výběžky, podélné útvary narostlé kolmo na osu vlákna. Avšak při použití pro postprocesní úpravu roztoku polymerního materiálu o vyšší molekulové hmotnosti byly nárůsty na vláknech spíše ve formě píků. Avšak nebyl pozorován žádný efekt způsobený změnou koncentrace integrovaných uhlíkových nanotrubic v základních vláknech.

S přídatkem uhlíkových nanotrubic do vláken byl naměřen vyšší stupeň krystalinity, avšak toto by bylo potřeba dále lépe zhodnotit. Nejen měřit pro více vzorků ale využít i jiné metody hodnocení krystalinity či až tvaru krystalitů či jejich velikostí. Předpoklad, že pokud budou uhlíkové nanotrubice rovnoměrně rozloženy ve vláknech bude se s jejich zvyšujícím se zastoupením snižovat stupeň krystalinity potvrzen nebyl. Mohlo ale dojít ke zmenšení velikosti krystalických oblastí, i když to nemělo vliv na celkový stupeň krystalinity.

Ze základního testu cytotoxicity vyplývá, že žádný připravený vzorek jak s integrovanými uhlíkovými nanotrubicemi tak podrobené postprocesní úpravě pro změnu povrchu nebyl cytotoxický. Nejhorší byly vzorky s vyšším zastoupením uhlíkových nanotrubic po postprocesní úpravě, což může být způsobeno odhalením částí MWCNTs na povrchu vláken, ale i toto tvrzení by mělo být ještě dále potvrzeno.

Nanostrukturované povrch vláken jsou velmi zajímavou oblastí ovlivňování chování materiálů zejména pro medicínské aplikace. Je nutné dále studovat možnosti ovlivňování tvorby nárůstů povrchových změn při postprocesních úpravách a hledat obecné zákonitosti při hlubším hodnocení a ověřování výsledků.

5. Použitá literatura

1. ATTIA, Aria C., Tony YU, Sarah E. GLEESON, Mark PETROVIC, Christopher Y. LI a Michele MARCOLONGO, 2018. A Review of Nanofiber Shish Kebabs and Their Potential in Creating Effective Biomimetic Bone Scaffolds. *Regenerative Engineering and Translational Medicine* [online]. **4**(3), 107–119. ISSN 2364-4133, 2364-4141. Dostupné z: doi:10.1007/s40883-018-0053-3
2. BALANI, Kantesh, Rebecca ANDERSON, Tapas LAHA, Melanie ANDARA, Jorge TERCERO, Eric CRUMPLER a Arvind AGARWAL, 2007. Plasma-sprayed carbon nanotube reinforced hydroxyapatite coatings and their interaction with human osteoblasts in vitro. *Biomaterials* [online]. **28**(4), 618–624. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2006.09.013
3. DARGAZANY, Roozbeh, Vu Ngoc KHIÊM, Emad A. POSHTAN a Mikhail ITSKOV, 2014. Constitutive modeling of strain-induced crystallization in filled rubbers. *Physical Review E* [online]. **89**(2), 022604. ISSN 1539-3755, 1550-2376. Dostupné z: doi:10.1103/PhysRevE.89.022604
4. EDWARDS, Sharon L., Jeffrey S. CHURCH, Jerome A. WERKMEISTER a John A.M. RAMSHAW, 2009. Tubular micro-scale multiwalled carbon nanotube-based scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* [online]. **30**(9), 1725–1731. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.031
5. FANG, Ming, Elizabeth L. GOLDSTEIN, Eryn K. MATICH, Bradford G. ORR a Mark M. BANASZAK HOLL, 2013. Type I Collagen Self-Assembly: The Roles of Substrate and Concentration. *Langmuir* [online]. **29**(7), 2330–2338. ISSN 0743-7463, 1520-5827. Dostupné z: doi:10.1021/la3048104
6. FIEDLER, Jörg, Burcin ÖZDEMİR, Jochen BARTHOLOMÄ, Alfred PLETTL, Rolf E. BRENNER a Paul ZIEMANN, 2013. The effect of substrate surface nanotopography on the behavior of multipotent mesenchymal stromal cells and osteoblasts. *Biomaterials* [online]. **34**(35), 8851–8859. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2013.08.010
7. GILL, Pooria, Tahereh Tohidi MOGHADAM a Bijan RANJBAR, 2010. Differential scanning calorimetry techniques: applications in biology and nanoscience. *Journal of biomolecular techniques: JBT*. **21**(4), 167–193. ISSN 1943-4731.
8. GREINER, Andreas a Joachim H. WENDORFF, 2007. Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. **46**(30), 5670–5703. ISSN 14337851, 15213773. Dostupné z: doi:10.1002/anie.200604646
9. HOU, Yanhao, Weiguang WANG a Paulo BARTOLO, 2022. Investigation of polycaprolactone for bone tissue engineering scaffolds: In vitro degradation and biological studies. *Materials & Design* [online]. **216**, 110582. ISSN 02641275. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2022.110582
10. CHEN, Lu, Zihua CHEN, Xiang LI, Wei HUANG, Xiaojuan LI a Xikui LIU, 2013. Dynamic imine chemistry assisted reaction induced hetero-epitaxial crystallization: Novel approach towards aromatic polymer/CNT nanohybrid shish-kebabs and related hybrid crystalline structures. *Polymer* [online]. **54**(7), 1739–1745. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2013.01.046

11. JENČOVÁ, Věra, Eva KUŽELOVÁ KOŠŤÁKOVÁ, Petr MIKEŠ, Věra HEDVIČÁKOVÁ a David LUKÁŠ, 2021. *Nanovlákná: teorie, technologie a použití*. Vydání: 1. Liberec: Technická univerzita v Liberci. ISBN 978-80-7494-539-7.
12. JI, Huajian, Xulin ZHOU, Xin CHEN, Haili ZHAO, Yu WANG, Huihao ZHU, Yulu MA a Linsheng XIE, 2020. Deformation-Induced Crystallization Behavior of Isotactic Polypropylene Sheets Containing a β -Nucleating Agent under Solid-State Stretching. *Polymers* [online]. **12**(6), 1258. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12061258
13. JING, Xin, Heng LI, Hao-Yang MI, Yue-Jun LIU a Yi-Min TAN, 2019. Fabrication of fluffy shish-kebab structured nanofibers by electrospinning, CO₂ escaping foaming and controlled crystallization for biomimetic tissue engineering scaffolds. *Chemical Engineering Journal* [online]. **372**, 785–795. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2019.04.194
14. JING, Xin, Hao-Yang MI, Travis M. CORDIE, Max R. SALICK, Xiang-Fang PENG a Lih-Sheng TURNG, 2014. Fabrication of shish-kebab structured poly(ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers that mimic collagen fibrils: Effect of solvents and matrigel functionalization. *Polymer* [online]. **55**(21), 5396–5406. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2014.08.061
15. KESSICK, Royal, John FENN a Gary TEPPER, 2004. The use of AC potentials in electrospinning and electrospinning processes. *Polymer* [online]. **45**(9), 2981–2984. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2004.02.056
16. KURPANIK, Roksana a Ewa STODOLAK-ZYCH, 2021. Chemical and physical modifications of electrospun fibers as a method to stimulate tissue regeneration – minireview [online]. [vid. 2024-04-24]. Dostupné z: doi:10.34821/ENG.BIOMAT.159.2021.31-41
17. LONG, Yun-Ze, Xu YAN, Xiao-Xiong WANG, Jun ZHANG a Miao YU, 2019. Electrospinning. In: *Electrospinning: Nanofabrication and Applications* [online]. B.m.: Elsevier, s. 21–52 [vid. 2023-08-02]. ISBN 978-0-323-51270-1. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-51270-1.00002-9
18. SAEED, Khalid, Park SOO-YOUNG a Mohammad ISHAQ, 2009. ADSORPTION OF MULTIWALLED CARBON NANOTUBES ON ELECTROSPUN POLYCAPROLACTON NANOFIBERS. *Journal of the Chilean Chemical Society* [online]. **54**(4) [vid. 2023-08-09]. ISSN 0717-9707. Dostupné z: doi:10.4067/S0717-97072009000400011
19. SARKAR, Soumayajit, Seetharama DEEVI a Gary TEPPER, 2007. Biased AC Electrospinning of Aligned Polymer Nanofibers. *Macromolecular Rapid Communications* [online]. **28**(9), 1034–1039. ISSN 10221336, 15213927. Dostupné z: doi:10.1002/marc.200700053
20. STOKES, Debbie J, 2008. *Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM)* [online]. 1. vyd. B.m.: Wiley [vid. 2024-02-18]. ISBN 978-0-470-06540-2. Dostupné z: doi:10.1002/9780470758731
21. WANG, Xiaofeng, Yanhong GAO, Yiyang XU, Xuyan LI, Jing JIANG, Jianhua HOU, WenJuan HAN, Qian LI a Changyu SHEN, 2017. A Prerequisite of the Poly(ϵ -

- Caprolactone) Self-Induced Nanohybrid Shish–Kebab Structure Formation: An Ordered Crystal Lamellae Orientation Morphology of Fibers. *Macromolecular Chemistry and Physics* [online]. **218**(24), 1700414. ISSN 1022-1352, 1521-3935. Dostupné z: doi:10.1002/macp.201700414
22. WILSON, A., 2010. The formation of dry, wet, spunlaid and other types of nonwovens. In: *Applications of Nonwovens in Technical Textiles* [online]. B.m.: Elsevier, s. 3–17 [vid. 2023-07-21]. ISBN 978-1-84569-437-1. Dostupné z: doi:10.1533/9781845699741.1.3
23. WU, Tong, Xin CHEN, Jin SHA, Yi-Yan PENG, Yu-Lu MA, Lin-Sheng XIE a Lih-Sheng TURNG, 2019. Fabrication of shish-kebab-structured carbon nanotube/poly(ϵ -caprolactone) composite nanofibers for potential tissue engineering applications. *Rare Metals* [online]. **38**(1), 64–72. ISSN 1001-0521, 1867-7185. Dostupné z: doi:10.1007/s12598-017-0965-y
24. XIE, Qing, Xiaohua CHANG, Qian QIAN, Pengju PAN a Christopher Y. LI, 2020. Structure and Morphology of Poly(lactic acid) Stereocomplex Nanofiber Shish Kebabs. *ACS Macro Letters* [online]. **9**(1), 103–107. ISSN 2161-1653, 2161-1653. Dostupné z: doi:10.1021/acsmacrolett.9b00953
25. YU, Tony, Sarah E. GLEESON, Christopher Y. LI a Michele MARCOLONGO, 2019. Electrospun poly(ϵ -caprolactone) nanofiber shish kebabs mimic mineralized bony surface features. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. **107**(4), 1141–1149. ISSN 1552-4973, 1552-4981. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.b.34207
26. YU, Tony, Mark PETROVIC, Aria ATTIA, Diego GALINDO, Mark C. STAUB, Seyong KIM, Christopher Y. LI a Michele MARCOLONGO, 2021. MC3T3 E1 cell response to mineralized nanofiber shish kebab structures. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. **109**(10), 1601–1610. ISSN 1552-4973, 1552-4981. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.b.34818
27. YUE WU, Jian-Yong YU, a CHI MA, 2008. Electrospun Nanoporous Fiber. *Textile Research Journal* [online]. **78**(9), 812–815. ISSN 0040-5175, 1746-7748. Dostupné z: doi:10.1177/0040517507090550
28. ElectrospinTech. <http://www.electrospintech.com/>.
29. Fyzikální ústav Akademie věd České republiky | FZU. 24. duben 2024, <https://www.fzu.cz/home>.