



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

## VLIV ZDROJE PEO NA ZVLÁKŇOVÁNÍ

THE INFLUENCE OF PEO SOURCE ON NANOFIBER LAYER PREPARATION

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jana Grufíková

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Kateřina Knotková, Ph.D.

BRNO 2017

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP0978/2016  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Studentka: **Bc. Jana Grufíková**  
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace  
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace  
Vedoucí práce: **Ing. Kateřina Knotková, Ph.D.**  
Akademický rok: 2016/17

### Název diplomové práce:

Vliv zdroje PEO na zvlákňování

### Zadání diplomové práce:

- 1) Rešerše na téma – zvlákňování HA a PEO, vliv molekulové hmotnosti na zvlákňování v literatuře, roztokové parametry a vliv na elektrospinning
- 2) Zpracování teorie metod užitých v DP – viskozimetrie, povrchové napětí, vodivost, pH, elektrospinning, TGA, DSC, SEC MALS
- 3) Experimentální část – základní charakterizace PEO – TGA, DSC, SEC MALS, charakterizace roztoků PEO, Charakterizace roztoků HA/PEO, zvlákňování, vliv autoklávování na roztokové parametry
- 4) Vyhodnocení a diskuze, vliv jednotlivých parametrů na zvlákňování, vliv parní sterilizace na základní roztokové parametry

### Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

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

-----  
Bc. Jana Grufíková  
student(ka)

Ing. Kateřina Knotková, Ph.D.  
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan



## **ABSTRAKT**

Průběh elektrostatického zvlákňování polymerních roztoků je ovlivňován mnoha různými parametry, které lze rozdělit na parametry roztoku, procesní parametry a parametry okolního prostředí. Tato diplomová práce se zaměřuje na vlastnosti polymeru a jeho roztoku, které jsou součástí roztokových parametrů. Cílem této diplomové práce je porovnat vlastnosti polyethylenoxidů ve vztahu ke zvlákňování kyseliny hyaluronové, najít mezi nimi rozdíl za použití dostupných analytických, termických a spektrálních metod a definovat vliv jednotlivých vlastností na chování roztoků polymerů v průběhu zvlákňování. Bylo zjištěno, že se polyethylenoxidy ze dvou různých zdrojů chovají v elektrostatickém poli odlišně, přestože mají deklarovanou stejnou molární hmotnost. Také bylo potvrzeno, že proces vláknění polymerních roztoků ovlivňuje především jejich viskozita a vodivost. Tyto dvě vlastnosti jsou pak určeny zejména molární hmotností polymeru a dále obsahem nečistot, popř. obsahem jiného polymeru při zvlákňování směsného roztoku.

## **ABSTRACT**

The electrospinning process of polymer solutions is affected by many different parameters that can be divided into solution parameters, process parameters, and ambient parameters. This study is focused on characteristics of a polymer and its solution, which are ranging into the solution parameters. The aim of this study is to compare poly(ethylene oxide) characteristics in the relation to electrospinning of hyaluronic acid, to find the difference between them using available analytic, thermic and spectral methods, and to define the influence of properties on polymeric solutions behavior during electrospinning. It was find that poly(ethylene oxides) obtained from two different sources behave differently in an electrostatic field, although their molar mass is declared as the same. It was also confirmed that the electrospinning process of polymeric solutions is affected mainly by their viscosity and conductivity. This two properties are determined especially by the molar mass of polymer and also by the content of impurities or content of some another polymer during electrospinning of mixed solution.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

elektrospinning, nanovlákna, polyethylenoxid, kyselina hyaluronová, roztokové parametry

## **KEYWORDS**

electrospinning, nanofibers, poly(ethylene oxide), hyaluronic acid, solution parameters

GRUFÍKOVÁ, J. *Vliv zdroje PEO na zvláknování*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 69 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Kateřina Knotková, Ph.D..

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....  
podpis diplomanta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych chtěla poděkovat Ing. Kateřině Knotkové, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce, za její velkou pomoc, ochotu, trpělivost a odborné rady. Za pomoc a ochotu nejen při práci v laboratoři bych chtěla poděkovat i jejím kolegyním a kolegům ze společnosti Contipro. A v neposlední řadě děkuji také společnosti Contipro za to, že mi umožnila tuto diplomovou práci naměřit a zpracovat.

## OBSAH

Úvod .....	7
Teoretická část.....	8
2.1 Nanovláknna.....	8
2.2 Elektrospinning.....	8
2.3 Kyselina hyaluronová.....	10
2.4 Polyethylenoxid.....	11
2.5 Rozpouštědla používaná pro elektrostatické zvlákňování.....	12
2.6 Parametry ovlivňující elektrostatické zvlákňování.....	13
2.6.1 Roztokové parametry .....	14
2.6.2 Procesní parametry.....	17
2.6.3 Parametry okolního prostředí .....	19
2.7 Cíl práce.....	19
2.8 Použité metody .....	20
2.8.1 Infračervená spektroskopie .....	20
2.8.2 Ramanova spektroskopie.....	21
2.8.3 Termogravimetrická analýza.....	22
2.8.4 Diferenční skenovací kalorimetrie .....	23
2.8.5 Měření pH .....	24
2.8.6 Konduktometrie.....	24
2.8.7 Viskozimetrie .....	25
2.8.8 Tenziometrie.....	26
2.8.9 Dynamický rozptyl světla.....	27
2.8.10 Zeta potenciál .....	28
2.8.11 Rastrovací elektronová mikroskopie.....	29
Experimentální část .....	30
3.1 Použité chemické látky .....	30
3.2 Použité přístroje.....	30
3.3 Příprava roztoků .....	31
3.3.1 Příprava 8% roztoků polyethylenoxidu.....	31
3.3.2 Příprava 6% roztoků polyethylenoxidu.....	31
3.3.3 Příprava 6% roztoků polyethylenoxidu a kyseliny hyaluronové v hmotnostním poměru 80/20 .....	31

3.3.4	Příprava 6% roztoků kyseliny hyaluronové ve vodě.....	31
3.3.5	Příprava roztoků PEO pro sterilizaci.....	31
3.4	Analytické metody.....	32
3.4.1	Stanovení viskozity.....	32
3.4.2	Stanovení pH.....	32
3.4.3	Stanovení vodivosti.....	32
3.4.4	Stanovení povrchového napětí.....	32
3.4.5	Elektrostatické vláknění.....	33
3.4.6	Stanovení výrobnosti.....	34
3.4.7	SEM a obrazová analýza.....	34
3.4.8	HPLC.....	35
3.4.9	Měření KBr tablet FTIR.....	35
3.4.10	Ramanova spektroskopie.....	35
3.4.11	DSC.....	36
3.4.12	Analýza TGA.....	36
3.4.13	Stanovení sušiny a popela.....	36
3.4.14	Stanovení velikosti částic.....	36
3.4.15	Stanovení zeta potenciálu.....	37
	Výsledky a diskuze.....	38
4.1	Výběr polyethylenoxidů.....	38
4.2	Roztoky o koncentraci 8 hm. %.....	39
4.3	Roztoky o koncentraci 6 hm. % a jejich parametry.....	40
4.4	Studium vlivu přítomnosti HA na sledované parametry roztoků.....	43
4.5	Charakterizace zdrojového materiálu.....	47
4.5.1	Ověření molární hmotnosti.....	47
4.5.2	Analýza infračervených a Ramanových spekter.....	48
4.5.3	Stanovení krystalinity, bodu tání a termooxidační stability.....	50
4.5.4	Stanovení sušiny a popela.....	51
4.5.5	Stanovení velikosti částic a zeta potenciálu.....	52
4.6	Studium vlivu sterilizace roztoků vzorků.....	54
	Závěr.....	59
	Citovaná literatura.....	61
	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	69

## ÚVOD

Přestože se nanotechnologie dostaly do popředí zájmu až koncem 20. století, nejsou ničím novým. Můžeme je nalézt všude kolem nás, neboť na nanostrukturách jsou založeny ochranné povrchy některých rostlin a brouků a také řada základních životních procesů v přírodě se odehrává v nanometrické škále [1; 2].

Nejznámějším příkladem využití struktur s velikostí menší než jeden mikrometr v přírodě je tzv. efekt lotosového květu neboli samočistící efekt. Lotosový list má vysokou hydrofobicitu. Vodní kapky po jeho povrchu stékají, odnášejí s sebou nečistoty a rostlina tak zůstává stále čistá a suchá. Lotosový list má totiž na svém povrchu mikroskopické výrůstky, které jsou na svém povrchu pokryty nanovlásky. Díky této struktuře se dopadající kapky vody nedostanou přímo k povrchu listu a list je tak chráněn před vodou a usazováním nečistot [1; 2].

Nanovlákná jsou ale obsažena i v nás, neboť tvoří vláknitou složku mezibuněčné hmoty (extracelulární matrix – ECM). Vláknitá složka ECM založená na kolagenových vláknech a doplněná dalšími vláknitými strukturami, jako jsou glykosaminoglykany a polysacharidy [1], je důležitá pro vývoj a regeneraci tkání a orgánů [3]. Poškození její struktury a tedy i funkce tak může mít závažný dopad na naše zdraví. Proto se v současnosti mnoho vědeckých skupin zabývá možností dočasného nahrazení vláknité složky ECM uměle vytvořenými nanovlásky. Výroba nanovláken a nanovlákných materiálů z biokompatibilních polymerů je prvním krokem k efektivnímu napodobení biologických a mechanických vlastností nativní ECM a podpoření buněčného růstu [3].

Nanotechnologie však neposkytují nové nástroje jen pro regenerativní medicínu. Nanomateriály vykazují schopnost vstupovat do jednotlivých buněk, a tak mohou být využity třeba jako nosiče léčiv nebo kontrastní látky v lékařské diagnostice [1]. Kromě medicíny však mohou nanomateriály nalézt využití také v mnoha dalších oborech. Za všechny jmenujme ještě např. kosmetiku, kde mohou být polymerní nanovlákná (ať už samotná nebo s různými aditivy) použita na výrobu kosmetických pleťových masek [4].

V každém případě je však nutné pro přípravu nanomateriálů vybrat suroviny, které jsou vhodné pro zamýšlenou aplikaci. Např. pro výrobu pleťové masky, která se má po dotyku s kůží rozpustit a vstřebat, musí být logicky použity zcela odlišné suroviny jako pro výrobu nanovlákných krytů ran, které naopak musí na místě zranění po nějakou dobu zůstat a zajišťovat tak ochranu rány před vnějšími vlivy a prostředím vhodné pro její zacelení.

Tato diplomová práce se zabývá přípravou nanovláken metodou elektrospinningu a zvláště pak vlivem vlastností polymeru na produktivitu zvláknování jeho roztoků.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 2.1 Nanovlákna

Polymerní nanovlákna jsou relativně novým strukturním materiálem a jsou definována jako vlákna s průměrem v řádu nanometrů a teoreticky neomezenou délkou, velkým poměrem plochy povrchu k objemu a porézní strukturou [5; 6]. Díky svému průměru pak mohou mít nanovlákna velmi odlišné nebo dokonce i opačné vlastnosti v porovnání s vlastnostmi materiálu, ze kterého jsou vyrobeny, na makroúrovni [1]. Nanovlákna mohou být rozdělena podle jejich vnitřní struktury na uniformní a komponentní (jádro-plášť) nebo podle jejich orientace na náhodně orientovaná a uspořádaná nanovlákna [5].

Polymerní nanovlákna jsou zkoumána pro jejich potenciální aplikace v různých oblastech, jako např. filtrace a separace, katalýza, elektronická zařízení, nanokompozity, ochranné oděvy, tkáňové inženýrství a farmaceutika [7; 8]. Díky velkému poměru plochy povrchu k objemu a mikroporézní struktuře mohou být využita pro biomedicínské aplikace jako substráty pro tkáňové regenerace, kryty ran, umělé krevní cévy a materiály pro prevenci pooperačních srůstů [9; 10].

Při návrhu nanovláken pro biomedicínské aplikace hraje klíčovou roli výběr materiálu. Ideální biomateriál je nejenom biokompatibilní a biodegradabilní, ale i netoxický, mírně hydrofilní a má vhodnou mechanickou pevnost [5]. Na základě jejich kompatibility s biologickým prostředím mohou být zvoleny syntetické nebo přírodní materiály [3]. Doposud bylo pro přípravu nanovláken použito mnoha různých polymerů a to jak samostatně, tak i v polymerních směsích [11]. Zvláštní skupinu scaffoldových struktur pak představují kompozitní nanovlákna složená z přírodních a syntetických polymerů, která vykazují výhodné biologické vlastnosti přírodních polymerů a mechanickou pevnost syntetických polymerů [12].

Existuje několik metod pro výrobu nanovláken, např. drawing (dloužení), template synthesis (použití šablon), phase separation (fázová separace), self-assembly (samosestavování), melt blowing (foukání taveniny) a elektrospinning (elektrostatické zvlákňování) [13].

Oblíbenou technikou je elektrospinning, který je podrobně popsán v následující kapitole.

## 2.2 Elektrospinning

Elektrospinning je flexibilní technika s poměrně jednoduchým experimentálním vybavením, která umožňuje kontinuální výrobu vláken s charakteristickými průřezy pohybujícími se v rozmezí od několika desítek do tisíců nanometrů [7; 14; 15; 16; 17].

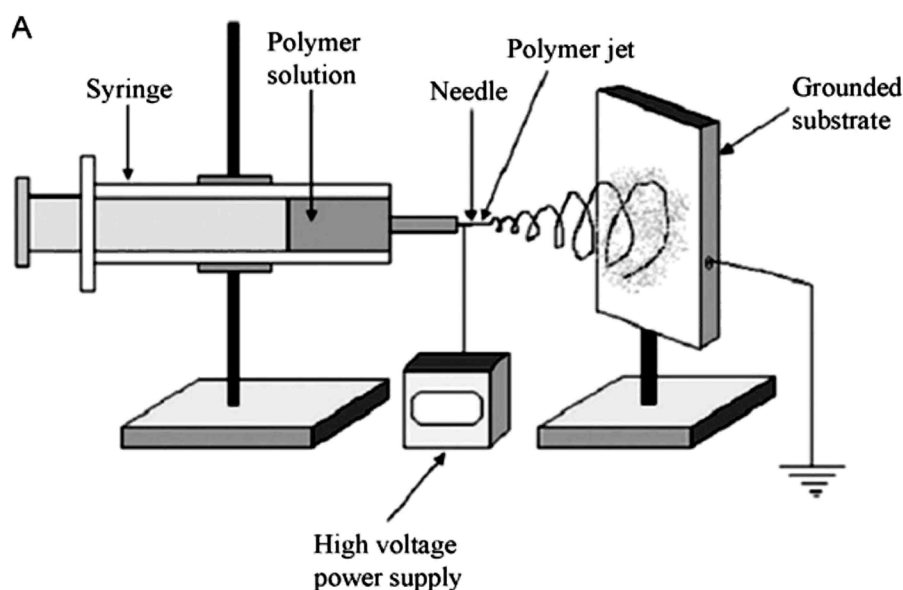
Elektrospinning nabízí unikátní možnost připravit rozličná nanovlákna různých tvarů a velikostí s různými povrchovými charakteristikami z téměř všech rozpustných nebo tavitelných polymerů ať už přírodního či syntetického původu. Příklady přírodních polymerních materiálů mohou být kyselina hyaluronová, kolagen nebo chitosan; mezi syntetické polymery patří např. polyethylenoxid, polykaprolakton a polyvinylalkohol. Pomocí elektrospinningu mohou být snadno připraveny také kompozity smícháním určité složky s polymerním roztokem. Tak mohou být připravena kompozitní vlákna, funkční vlákna a vlákna

s komplexní strukturou přidáním nanočástic, uhlíkových nanotrubek, katalyzátorů nebo enzymů [16].

Elektrospinning má dlouhou historii. Jak ve svém článku uvádí Cengiz-Çallioğlu, první studii hlavních principů této metody zaznamenal už v 17. století Gilbert [14]. V roce 1902 byly nezávisle na sobě uděleny první dva patenty zabývající se procesem disperze kapaliny pomocí elektrických nábojů, který je základem pro vývoj techniky elektrospinningu. Jejich autory jsou J. F. Cooley a W. J. Morton [18; 19]. Dalšího významného pokroku dosáhl John Zeleny, když v roce 1914 publikoval článek zabývající se chováním kapek tekutiny na konci kovových kapilár [20]. Teoretické základy dal elektrospinningu G. I. Taylor v roce 1969 [21]. Značnou pozornost však elektrospinning získal až v 80. letech 20. století [7].

Při této technice jsou vrstvy nanovláken získávány z polymerního roztoku nebo taveniny tím, že se na koncentrovaný polymerní roztok vkládá silné elektrické pole (až několik kV/cm) [15; 16]. Polymerní roztok je přiváděn do kapiláry (emitoru) a vytváří na její špičce kapku. Kapilára je pak vodivě spojena se sběrnou elektrodou (kovovým kolektorem) umístěnou v určité vzdálenosti od jehly [7]. Po zapnutí zdroje vysokého elektrického napětí začne Maxwellovo elektrické napětí natahovat kapku a vytvoří se Taylorův kužel. Jestliže pak elektrostatické síly převýší síly kohezní, vznikne proud polymerního roztoku. Nabitý proud se pohybuje od emitoru ke sběrné elektrodě a při tom dochází k jeho prodlužování a vypařování rozpouštědla nebo tuhnutí taveniny [7; 14; 16; 17; 22]. Při správném nastavení procesních parametrů pak na kolektor dopadají ultratenká vlákna [7].

Přestože je experimentální vybavení jednoduché, zvláknování je komplexní proces kvůli množství procesních parametrů, které ovlivňují tvar, produktivitu i průměr vytvořených vláken [16]. Mezi tyto parametry patří např. vlastnosti polymerů a jejich roztoků (molární hmotnost polymeru a četnost jeho větvení, skelný přechod, těkavost rozpouštědla, viskozita roztoku, elektrická vodivost, povrchové napětí), procesní podmínky (síla elektrického pole, vzdálenost a tvar elektrod, rychlost dávkování roztoku nebo vnitřní průměr jehly) a také okolní podmínky (teplota, tlak, vzdušná vlhkost a rychlost proudění vzduchu) [7; 13; 16].

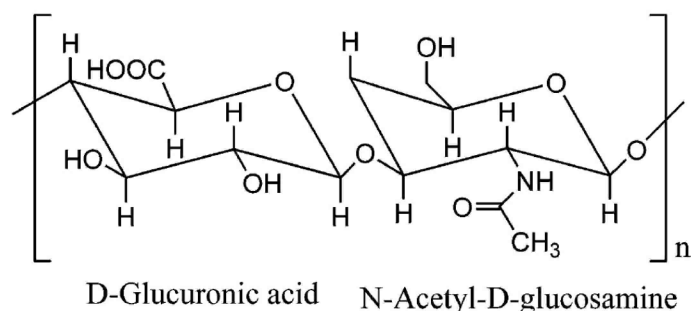


Obrázek 1: Schéma standardního zařízení pro elektrospinning [10].

## 2.3 Kyselina hyaluronová

Kyselina hyaluronová (HA) je přírodní lineární glykosaminoglykan složený ze dvou sacharidových jednotek, kyseliny glukuronové a *N*-acetylglukosaminu, které jsou polymerizované do velkých makromolekul obsahujících více než 30 000 opakujících se jednotek. Jedná se o netoxický, biokompatibilní, biodegradabilní mukoadhesivní polysacharid s negativním nábojem, který je dobře rozpustný ve vodě za vzniku gelu [23]. V mnoha měkkých tkáních vyšších živočichů je hlavní uhlovodíkovou složkou extracelulární matrix (ECM). V ní udržuje hydrataci, indukuje buněčnou proliferaci, migraci a angiogenezi [5]. Kromě ECM je rozšířena především v očích, střevech a plicích, na površích chrupavek a v kloubní tekutině savců [23; 24].

Kyselina hyaluronová je excelentní lubrikant a tlumič; zlepšuje mazání povrchů a snižuje bolest kloubů při osteoartritidě. Díky svým rheologickým vlastnostem a kompletní biokompatibilitě je HA poměrně často využívána v mnoha biomedicínských aplikacích, např. v oftalmologii, dermatologii, chirurgii a tkáňovém inženýrství [9]. Nanovlákna HA byla testována ve vývoji moderních krytů ran a dále pro doručování léčiv, zvláště pro transplantaci, vstřikování a doručování genů, neboť není imunogenní [5; 24]. Nevýhodou nanovláken HA je však relativně slabá buněčná adheze, mechanická nestabilita a rychlá degradace *in vivo* [5].



Obrázek 2: Chemická struktura kyseliny hyaluronové [9].

Obecně je velmi těžké elektrostatičticky zvláknit vodné roztoky HA. Molární hmotnost přírodní HA se pohybuje v řádech milionů. Klíčovými faktory, které znesnadňují elektrostatičticky zvláknění roztoků HA, jsou neobyčejně vysoká viskozita a povrchové napětí [25].

Um a kol. ve své studii popsal přípravu uniformních vláken HA z kyselého roztoku kombinací technik elektrospinningu a elektroblowingu. Elektroblowing se od elektrospinningu liší foukáním horkého vzduchu kolem proudu polymerního roztoku během procesu zvláknění. Autoři pozorovali, že elektrostatičticky zvlákněním HA nemohou být souvisle vyráběna kvalitní nanovlákna, a proto k procesu elektrospinningu připojili horký vzduch. Použitím této techniky pak získali nanovlákna HA s jednotnými průměry v řádu desítek nanometrů [9]. Nevýhodou této techniky je však teplota vzduchu okolo 60 °C, která je příliš vysoká na to, aby byla fyziologicky relevantní. Další nevýhodou této techniky je rozpustnost získaného produktu vláknění ve vodě.

Elektrostatičticky zvláknění HA však může být usnadněno smíšením HA s jinými polymery, např. s polyethylenoxidem. Konkrétním příkladem pak může být studie Ji a kol. popisující

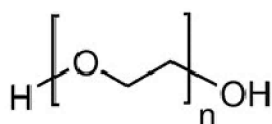


přípravu nanovláknenných skafoldů z thiolovaného derivátu HA. HA byla modifikována 3,3'-dithiobis-(propionodihydrazidem). Získaný derivát HA-DTPH byl smíchán s polyethylenoxidem za účelem modifikace viskozity roztoku a usnadnění tvorby vláken během elektrospinningu. Elektrostatickým zvlákněním této směsi pak byly získány nanovláknenné skafoldy, které byly cross-linkovány konjugační adicí zprostředkovanou polyethylenglykol-diakrylátém. Nakonec byl PEO extrahován deionizovanou vodou, takže po lyofilizaci vznikl jako finální produkt nanovláknenný skafold HA-DTPH. Následné studie tohoto produktu s fibroblasty *in vitro* ukázaly, že by tento skafold mohl být potenciálně použit k buněčné enkapsulaci a tkáňové regeneraci [26].

## 2.4 Polyethylenoxid

Polyethylenoxid (PEO), také známý jako polyethylenglykol, je amfifilní polymer složený z opakujících se jednotek ethylenoxidu [24]. Tento syntetický biokompatibilní polyether má v porovnání s jinými polymery výhodné fyzikální, chemické a biologické vlastnosti, jednoduchou strukturu a je komerčně dostupný v množství molárních hmotností, ve vysoké čistotě a homogenitě [27; 28]. Materiály s molární hmotností do 100 000 g/mol jsou obvykle označovány jako polyethylenglykoly, materiály s vyšší molární hmotností pak jako polyethylenoxidy.

PEO disponuje ideálním souborem vlastností: má velmi nízkou toxicitu, excelentní rozpustnost ve vodných roztocích a extrémně nízkou imunogenicitu a antigenicitu. PEO je silně hydrofilní a s vodou tvoří vodíkové můstky [23; 24; 27]. Není biodegradabilní, ale po jeho podání do živých organismů může být snadno vyloučen. Jeho přítomnost ve vodných roztocích nemá škodlivý účinek na konformaci proteinů nebo aktivitu enzymů. PEO také vykazuje excelentní farmakokinetické a biodistribuční chování. Po jeho vstříknutí do zvířat vykazuje vysokou stálost v krevní části a malé hromadění v orgánech retikuloendotelového systému, v játrech a slezině [27]. PEO je vhodný pro biologické aplikace [23]. Široce se využívá jako kovalentní modifikátor biologických makromolekul a částic i jako nosič pro nízkomolekulární léčiva za účelem zvýšení jejich fyzikální a chemické stability, zabránění jejich agregaci a zvýšení rozpustnosti hydrofobních léčiv [23; 24; 27]. PEO vytváří nanovláknena s určitými elastickými vlastnostmi, které jsou vhodné pro regeneraci měkkých tkání, mezi které patří i kůže [29].



Obrázek 3: Vzorec polyethylenoxidu.

Většina výzkumů zabývajících se elektrospinningem PEO používá jako rozpouštědlo chloroform, ethanol, dimethylformamid (DMF) nebo vodu [30]. Son a kol. publikovali studii zabývající se vlivem roztokových vlastností a polyelektrolytů na morfologii a průměr elektrostaticky připravených vláken PEO. Elektrostatické vláknění jednoho polymeru v různých rozpouštědlech totiž může poskytnout velmi užitečné informace pro porozumění vlivům relevantních roztokových parametrů. K tomuto výzkumu jako rozpouštědla pro PEO

(o molární hmotnosti  $M_w$  300 kg/mol) použil chloroform, ethanol, DMF a vodu s malým přídatkem kationtových a aniontových polyelektrolytů, konkrétně polyallylaminhydrochloridu (PAH) a sodné soli polyakrylové kyseliny (PAA). Ultratenká vlákna PEO bez korálek byla získána elektrostatickým zvlákněním 3, 4, 7 a 8 hm. % roztoků PEO v chloroformu, ethanolu, DMF i ve vodě. V případě roztoku PEO/DMF však bylo třeba v porovnání s jinými rozpouštědly vložit mnohem větší napětí a zvětšit vzdálenost mezi emitorem a kolektorem. Průměry připravených vláken se pohybovaly v rozmezí 0,36–1,96  $\mu\text{m}$ . Nejtenčí vlákna (0,36  $\mu\text{m}$ ) pak byla získána ze 7 hm. % roztoku PEO ve vodě. Bylo zjištěno, že se zvyšující se dielektrickou konstantou rozpouštědla klesá průměr vláken. Naopak průměry vláken se významně neměnily se změnou velikosti vkládaného napětí, pracovní vzdálenosti a rychlosti dávkování. Po přidavku PAH a PAA k 7 hm. % roztoku PEO ve vodě se viskozita a povrchové napětí roztoku změnila jen málo, zato vodivost výrazně vzrostla. Po přidavku 0,1 hm. % PAH, resp. PAA poklesl průměr vláken PEO z 0,36 na 0,2  $\mu\text{m}$  [30].

Jak již bylo řečeno, PEO je polymer s lineární strukturou a dobrou schopností vláknění [5; 30]. Oproti tomu přírodní proteiny jsou samostatně velmi obtížně vláknitelné. Proto je PEO často přidáván k chitosanu, alginátu, HA a jiným polyelektrolytům, které je obtížné samostatně vláknit [30; 31].

Konkrétním příkladem vláknění směsi přírodního polymeru s PEO pak může být práce, kterou publikoval Huang a kol. V ní autoři popisují elektrostatické zvláknění směsného slabě kyselého roztoku kolagenu typu I s PEO (o  $M_w$  900 kg/mol). Pomocí elektrosponingu byla z tohoto roztoku vyrobena vlákna o průměru v rozmezí 100–150 nm [32].

Rošic a kol. přidavkem PEO zase zlepšil vláknící schopnost alginátu a chitosanu. PEO byl pro tento výzkum vybrán pro jeho rozpustnost ve vodě. Díky ní totiž není třeba organických rozpouštědel. Chitosan byl ve formě slabě kyselého roztoku smísen s vodným roztokem PEO (o  $M_w$  400 kg/mol) v různých poměrech, ale vždy za vzniku 3 hm. % roztoku. Vodný roztok alginátu pak byl s vodným roztokem PEO smísen ve stejných poměrech, ale za vzniku 4 hm. % roztoků. Elektrostatickým zvlákněním pak z roztoků chitosanu a alginátu bez přidavku PEO vznikly na kolektoru jen kapky polymeru a žádná vlákna. S klesající koncentrací chitosanu, resp. alginátu a rostoucí koncentrací PEO však klesaly hodnoty rheologických parametrů i vodivost jejich roztoků a morfologie produktů vláknění se měnila z nanočástic přes strukturu „korálky na niti“ až po nanovlákna [31].

## 2.5 Rozpouštědla používaná pro elektrostatické zvláknění

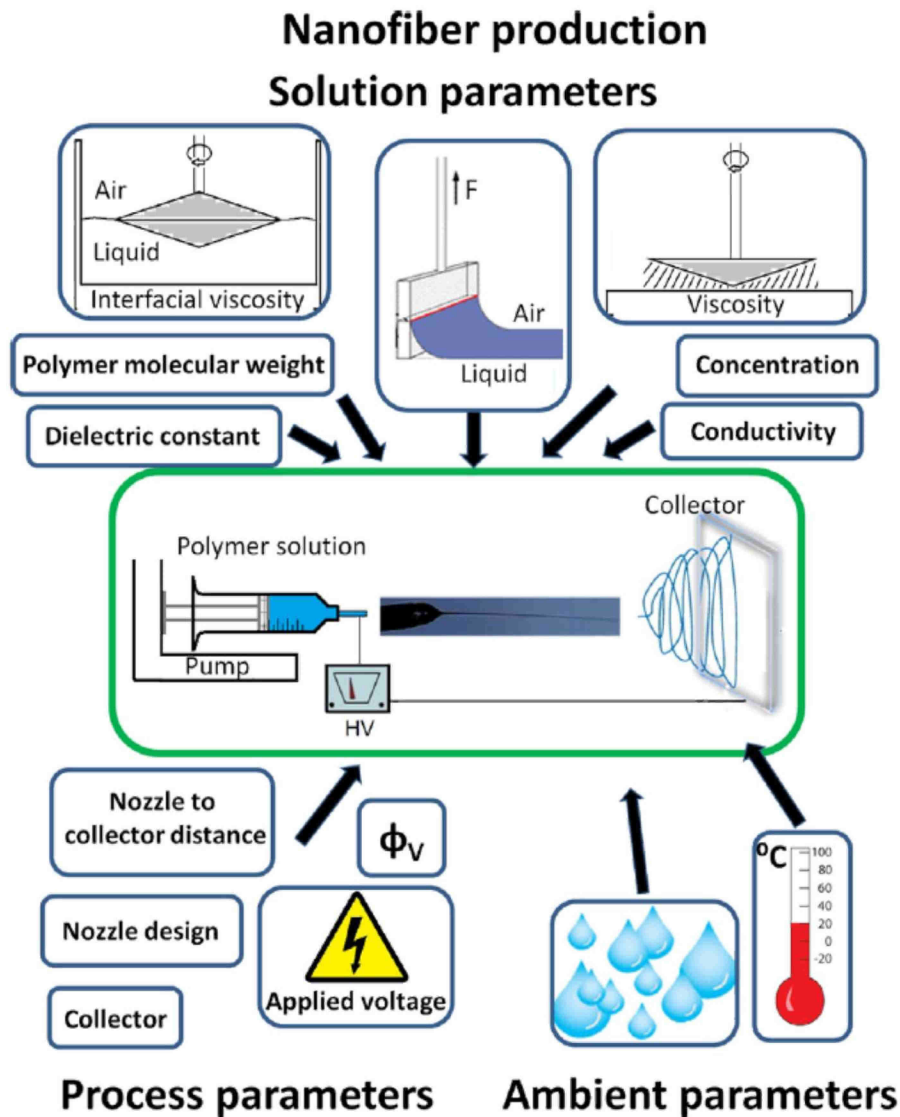
Po výběru polymeru s vhodnými charakteristikami je dalším krokem příprava polymerní disperze [4]. Prvním požadavkem na rozpouštědlo je rozpustnost polymeru v koncentraci dostatečné pro tvorbu nanovláken [5]. Rozpouštědla by měla mít vhodnou míru těkavosti, tlaku par, přiměřeně vysoký bod varu, měla by udržovat integritu polymerního roztoku a neměla by chemicky interagovat s rozpouštěným polymerem [4]. Důležitým produkčním parametrem je viskozita polymerní disperze, která je především funkcí koncentrace polymeru. Mimo to je ale viskozita ovlivněna i vlastnostmi rozpouštědla, neboť na něm závisí interakce polymer-rozpouštědlo a polymer-polymer [33]. Navíc rozpouštědla spolu s povahou polymeru a jeho koncentrací zásadně ovlivňují povrchové napětí a vodivost polymerní disperze

[34; 35]. Nejvhodnějším rozpouštědlem pro svou bezpečnost a biokompatibilitu voda. Nicméně její použití je limitováno pouze na hydrofilní polymery. Rozpustnost polymerů ve vodě navíc bývá často nízká nebo mají vodné roztoky vysokou viskozitu při nízkých koncentracích, což má za následek malé množství navlákněného produktu na velký objem polymerní disperze [5].

Mezi běžně používaná organická rozpouštědla používaná v elektrospinningu patří aceton, dichlormethan, methanol, ethanol, kyselina octová, dimethylformamid, ethylacetát, trifluorethanol, tetrahydrofuran a kyselina mravenčí [4]. Hlavními nevýhodami organických rozpouštědel jsou toxicita, cena a často vysoká těkavost. Pro dosažení optimální viskozity a povrchového napětí roztoku a těkavosti rozpouštědla pak často bývají používány kombinace dvou i více rozpouštědel. Těkavost rozpouštědla je klíčová, neboť velmi těkává rozpouštědla ucpávají trysku a rozpouštědla s malou těkavostí jsou příčinou ukládání nedostatečně suchého zvlákněného produktu na kolektor [5].

## **2.6 Parametry ovlivňující elektrostatické zvláknění**

I když je princip elektrospinningu relativně jednoduchý, tento proces je ovlivňován mnoha různými parametry, které elektrospinning dělají obtížně ovladatelným. Podle současných znalostí mohou být parametry ovlivňující elektrospinning rozděleny do tří hlavních skupin: parametry roztoku, procesní parametry a parametry okolního prostředí [4; 34; 36]. Navzdory některým údajně dobře známým korelacím je morfologie získaného zvlákněného produktu často odlišná od té očekávané. To ukazuje na propojení mnoha známých parametrů a pravděpodobně i některých neznámých. Vliv jednoho parametru se může velmi lišit v závislosti na vybrané kombinaci polymer-rozpouštědlo [36].



Obrázek 4: Schéma elektrospinningu s nejdůležitějšími parametry ovlivňujícími elektrostatické zvláknění [36].

### 2.6.1 Roztokové parametry

Parametry roztoku jsou zkoumány nejčastěji. Nicméně většina studií nevěnuje dostatečnou pozornost jejich souhře s procesními parametry a parametry okolního prostředí. V některých případech, když jsou hodnoceny pouze roztokové parametry, může být dosaženo chybného závěru, že polymerní roztok není vhodný pro elektrospinning. Když jsou pak procesní parametry a/nebo parametry okolního prostředí vhodně upraveny, může se stát, že se z daného roztoku vytvoří homogenní nanovlákná [36]. Roztokové parametry předurčené charakteristikami rozpouštědla a polymeru zahrnují typ a koncentraci polymeru [30; 37; 38], molární hmotnost [37; 39], viskozitu [31], vodivost, povrchové napětí [40] a dielektrickou konstantu [5].

### 2.6.1.1 Molární hmotnost a typ polymeru

Molární hmotnost významně ovlivňuje rheologické i elektrické vlastnosti polymerů, tedy např. viskozitu, povrchové napětí, vodivost a dielektrickou pevnost [39].

Vlivem molární hmotnosti polymeru na elektrostatické zvlákňování jeho roztoku se v jednom ze svých článků zabýval Gupta a kol. Autoři této studie syntetizovali polymethylmethakrylát o různých molárních hmotnostech pohybujících se v rozmezí od 12,47 kg/mol do 365,7 kg/mol. Pro každý z těchto polymerů pak stanovili hodnotu  $c^*$ , což je koncentrace, při níž se polymerní řetězce v roztoku začínají překrývat. S rostoucí molární hmotností polymerů pak jejich hodnota  $c^*$  klesala [37]. Elektrostatickým zvlákňováním roztoků studovaných polymerů bylo zjištěno, že velmi nízká molární hmotnost polymeru vede spíše k tvorbě korálek nebo kapek než vláken. S rostoucí molární hmotností polymeru se počet těchto korálek a kapek snižoval. Uniformní nanovláknina pak byla připravena z polymerních roztoků o koncentraci šest- a vícekrát vyšší než  $c^*$ . Při této koncentraci jsou totiž zajištěny dostatečné kohezní síly mezi polymerními molekulami, které zabraňují rozpadu proudu polymerního roztoku během zvlákňování. Dále bylo zjištěno, že při použití polymethylmethakrylátu s úzkou distribucí molární hmotnosti vznikají uniformní nanovláknina při nižší koncentraci roztoku v porovnání s těmi polymery, které mají distribuci molární hmotnosti širokou [37].

V elektrospinningu jsou obecně preferovány polymery s vyšší molární hmotností (s vyšším stupněm polymerizace), neboť umožňují dostatečné množství intermolekulárních zapletení polymerních řetězců. Tato zapletení pak hrají důležitou roli při elektrostatickém zvlákňování, neboť určují viskozitu roztoku. Řetězce polymerů s vysokou molární hmotností spolu značně interagují a vzájemně se do sebe zaplétají. Díky tomu má roztok daného polymeru dostatečně vysokou viskozitu, která je potřebná na tvorbu uniformního proudu polymerního roztoku během elektrospinningu a tím i pro tvorbu vláken [4]. Z roztoků polymerů s velmi vysokou molární hmotností však vznikají silnější vlákna [39].

Nicméně bylo pozorováno, že vysoké molární hmotnosti nejsou vždy nezbytné pro tvorbu uniformních nanovláken a to v případě, že jsou zapletení mezi polymerními řetězci nahrazena dostatečným množstvím intermolekulárních interakcí [41]. Např. McKee a kol. ve své studii z roku 2004 ukázali, že polymery se silnými čtyřnásobnými vodíkovými vazbami mají podobnou schopnost elektrostatického vlákňování jako polymery s podstatně vyšší molární hmotností, avšak bez těchto vodíkových vazeb [42].

Typ polymeru má podstatný vliv na inter- a intramolekulární interakce, což se odráží ve fyzikálních vlastnostech roztoku [5]. Elektrostatické zvlákňování lineárních polymerů má ve srovnání s nelineárními polymery lepší výsledky, neboť nelineární polymery tvoří velmi viskózní roztoky nebo gely už při nízkých koncentracích polymeru [5; 31].

Polymery s polyelektrolytovou povahou je velmi obtížné elektrostaticky zvláknit [31]. Proto jsou preferovány nenabitě polymery. Polyelektrolyty jsou náchylné k intenzivnímu bobtnání, které vede k vysoce viskózním roztokům už při nízkých koncentracích [5]. Polyelektrolytová povaha polymerů navíc způsobuje intenzivní repulzivní síly během elektrostatického zvlákňování, což má za následek nestabilitu proudu [31].

### **2.6.1.2 Koncentrace polymeru**

Koncentrace polymeru, která také úzce souvisí s viskozitou roztoku, je nejčastěji zkoumaným parametrem. Podle literatury není žádné obecné pravidlo pro výběr optimální koncentrace polymeru, neboť záleží na charakteristikách polymeru a rozpouštědla [5]. Například v případě PEO o  $M_w$  400 kg/mol je optimální koncentrace 3 hm. % [31], zatímco v případě polyvinylalkoholu o  $M_w$  125 kg/mol je to 8–12 hm. % [6]. Při nižší než optimální koncentraci polymeru vznikají zvlákněním daného roztoku místo vláken pouze korálky. Při vysoké koncentraci polymeru pak tvorba spojitých vláken není možná, kvůli neschopnosti udržet proud roztoku na špičce kapiláry, což má za následek tvorbu silnějších vláken [43]. Fakt, že při vyšší koncentraci polymeru vznikají více uniformní nanovlákná, byl popsán už v několika studiích [38; 39].

Rošic a kol. ve své studii popsali existenci tří různých polymerních konformací v roztocích v závislosti na koncentraci polymeru, z nichž vznikají nanovlákná se třemi různými morfologiemi [6]. Je známo, že přerušovaná korálková vlákna a protažené korálky se vyskytují při zvlákněním roztoku s nízkou koncentrací polymeru. S postupným zvyšováním koncentrace polymeru pak vznikají i spojitá vlákna [5]. Jako klíčový faktor ovlivňující přechod z krátkých vláken přes protažené korálky až po spojitá nanovlákná s hladkým povrchem bylo identifikováno zapletení polymerních řetězců [31]. Také bylo potvrzeno, že s rostoucí koncentrací roztoku roste i průměr vláken [34; 39]. Vysvětlením pak může být větší počet zapletení mezi polymerními řetězci, které znesnadňuje protažení proudu při vkládání elektrického pole [5].

### **2.6.1.3 Povrchové napětí**

Povrchové napětí je sklon ke smršťování povrchu kapaliny, která odolává změně vyvolané vnější silou a závisí na charakteristikách rozpouštědla a rozpuštěné látky. Povrchové napětí zasahuje do procesu elektrostatického zvlákněním rozhodujícím způsobem, protože je hlavní silou působící proti formování Taylorova kužele a následnému dloužení proudu polymerního roztoku [5]. Vliv povrchového napětí na morfologii nanovláken byl zkoumán mnohými autory [4; 6; 31; 40], ale přesvědčivé spojení mezi morfologií vláken a hodnotou povrchového napětí zatím nebylo pevně stanoveno [5]. Obecně se z polymerních roztoků s malým povrchovým napětím tvoří vlákna bez korálek a ke zvlákněním stačí nízké napětí [4; 39]. Povrchové napětí může být pozmeněno přidávkem povrchově aktivních látek. Ani nízké povrchové napětí však nemůže vyřešit problémy způsobené nízkou molární hmotností použitého polymeru [5].

### **2.6.1.4 Viskozita**

Rheologické charakteristiky polymerních roztoků rozhodujícím způsobem ovlivňují proveditelnost elektrostatického zvlákněním [5]. Roztoky s velmi nízkou viskozitou nemohou vytvářet spojitá vlákna [4]. S rostoucí viskozitou se pak tvoří silnější vlákna a méně korálových struktur [32; 38]. Roztoky s vysokou viskozitou zase jen obtížně vytváří proudy polymerního roztoku během elektrostatického zvlákněním. Pro přípravu uniformních nanovláken je tedy třeba zajistit optimální viskozitu polymerního roztoku [4].

Tvorbu a stabilitu polymerního proudu a tím i morfologii nanovláken však neovlivňuje jen viskozita roztoku, ale i jeho viskoelastické vlastnosti [31]. Je třeba, aby bylo dosaženo rovnováhy mezi elastickým a plastickým modulem polymerního roztoku. Pro zabránění

rozpadu proudu polymerního roztoku a tvorby korálků by elasticita měla být mnohem menší, než plasticita [5]. Elastická síla totiž zvyšuje tendenci proudu ke zkracování a tím brání vzniku a dloužení polymerního proudu a vede k jeho rozpadu a tvorbě korálků. Dostatečná plasticita naopak zajistí, že polymerní řetězce ve zvlákněvaném polymerním proudu nezmění svou konformaci a zůstanou v průběhu vypařování rozpouštědla natažené [36].

#### **2.6.1.5 Vodivost**

Vodivost je v literatuře považovaná za významný roztokový parametr pro proces elektrostatického zvláknění. Polymerní roztoky s nízkou vodivostí nemohou být zvlákněny, neboť na kapce tekutiny chybí povrchový náboj, který je potřebný k vytvoření Taylorova kužele. Na druhé straně vysoce vodivé roztoky jsou v přítomnosti silného elektrického pole extrémně nestabilní, a proto při jejich elektrostatickém zvláknění vznikají vlákna se širokou distribucí průměrů [4; 36]. V případě nenabitých polymerů může být problém s nízkou vodivostí vyřešen přidávkou solí, neboť použitím soli roste uniformita vláken a snižuje se výskyt koráلكových struktur [4]. Přídavek soli zároveň může posloužit k ovlivnění průměru nanovláken. Bylo totiž prokázáno, že s rostoucí vodivostí roztoku výrazně klesá průměr nanovláken z něj připravených. Nízká vodivost roztoku pak může být příčinou nedostatečného prodlužování proudu polymerního roztoku elektrickými silami, takže se nevytváří uniformní vlákna, ale koráلكové struktury [4]. Vyšší vodivost roztoků navíc umožňuje vložení nižšího napětí [5].

### **2.6.2 Procesní parametry**

Procesní parametry zahrnují vkládané napětí, vzdálenost mezi špičkou kapiláry a kolektorem, rychlost dávkování polymerního roztoku, tvar kapiláry a její umístění, složení a geometrie kolektoru a rychlost jeho rotace [4; 36].

#### **2.6.2.1 Vkládané napětí**

Vliv vkládaného napětí na výsledek zvláknovacího procesu je dobře popsán. Obvykle bývá vkládáno napětí o hodnotě 5–40 kV. Roztoky s nízkou vodivostí, vysokým povrchovým napětím a/nebo vysokou viskozitou vyžadují vyšší napětí a naopak [5]. Vkládáním vyššího napětí na polymerní roztok je potlačena tvorba koráلكů a tvoří se zpravidla tenčí vlákna. Vysoké napětí totiž způsobuje vyšší repulzivní elektrostatické síly mezi špičkou kapiláry a kolektorem, což vede k většímu natahování polymerního proudu a tím k tenčím vláknům a menším koráلكům [4; 39; 40]. Jestliže je však aplikované napětí příliš vysoké, je pravděpodobnost tvorby koráلكů ve zvlákněném produktu mnohem vyšší kvůli nestabilitě Taylorova kužele [5].

#### **2.6.2.2 Vzdálenost mezi špičkou kapiláry a kolektorem**

Vzdálenost mezi špičkou kapiláry a kolektorem byla zkoumána jako jeden z možných způsobů, jak kontrolovat průměr a morfologii vláken. Nebylo však prokázáno, že by její vliv byl významný [4]. Bylo zjištěno, že je vyžadována jakási minimální vzdálenost zajišťující dostatečný čas k vysušení proudu polymerního roztoku před jeho dopadem na kolektor [36]. Jestliže je vzdálenost příliš krátká, proud před dopadem na kolektor neztuhne, takže nanovlákna splynou a na kolektoru se vytvoří polymerní film [5].

Se zvyšováním vzdálenosti mezi špičkou kapiláry a kolektorem klesá průměr vznikajících vláken [5]. Toto oddalování však musí být spojeno se zvýšením rychlosti dávkování polymerního roztoku a zvýšením vkládaného napětí [44]. Při příliš velké nebo naopak malé vzdálenosti mezi špičkou kapiláry a kolektorem pak ale stoupá pravděpodobnost vzniku koráلكových struktur [4; 44].

### **2.6.2.3 Rychlost dávkování**

Řízení rychlosti dávkování roztoku závisí hlavně na těkavosti použitého rozpouštědla. Jestliže je polymer rozpuštěný ve vysoce těkavém rozpouštědle, měla by být použita vyšší rychlost dávkování. Vysoká rychlost dávkování však musí být doprovázena přiměřeně vysokým vkládaným elektrickým napětím, aby bylo zajištěno elektricky indukované vytažení polymerního roztoku ze špičky kapiláry [5]. Některé studie ukazují, že zvýšení rychlosti dávkování vede k tvorbě širšího proudu polymerního roztoku a tím i k tvorbě silnějších nanovláken [4; 45]. Vysoká rychlost dávkování pak může vést k vytváření koráلكových struktur nebo ukládání nedostatečně suchých vláken na kolektor [4; 45].

### **2.6.2.4 Tvar trysky**

Vnitřní průměr trysky je dalším klíčovým parametrem ovlivňujícím tloušťku vytvářených vláken. Použitím trysky s malým průměrem obecně vznikají tenčí nanovlákná a naopak. Jestliže však má tryska příliš velký vnitřní průměr, tvoří se na její špičce více Taylorových kuželů [5]. Krajní variantou zvyšujícího se počtu polymerních proudů je pak bezjehlový elektrospinning, při kterém se z povrchu polymerního roztoku vytahuje množství polymerních proudů. Tato bezjehlová varianta by potenciálně mohla být použita k výrobě nanovláken i v průmyslovém měřítku [46].

Pro přípravu různých druhů nanovláken mohou být vlákníci trysky různě upravovány [8; 47]. Elektrospinning s použitím jednonálové trysky vytváří uniformní nanovlákná z polymerního roztoku obsahujícího buď jeden polymer, nebo polymerní směs [5]. V případě elektrostatického zvlákňování s použitím koaxiální trysky vznikají nanovlákná jádro-plášť nebo vícevrstvá nanovlákná. Koaxiální tryska je složena ze dvou nebo více soustředných jehel umístěných jedna v druhé. Dva polymerní roztoky putují odděleně jednotlivými kanály trysky a fyzicky přijdou do kontaktu až na špičce trysky, kde začíná tvorba nanovláken. Při vhodném nastavení rychlosti dávkování a velikosti vkládaného napětí pak mohou být připravena nanovlákná se strukturou jádro-plášť [5; 47]. Koaxiální tryskou lze ale vyrobit i dutá nanovlákná a vlákná s pokrytou vnitřní stěnou. Jestliže je koncentrace polymeru v roztoku putujícím vnitřní tryskou velmi nízká, vytvoří polymer po odpaření rozpouštědla na vnitřní stěně pláště nanovláken pouze tenký film a jádra těchto vláken zůstanou prázdná [5].

### **2.6.2.5 Tvar kolektoru**

Kolektor (sběrná elektroda) slouží jako vodivá podložka, na kterou se při elektrostatickém zvlákňování ukládají nanovlákná. Základním typem kolektoru je hliníková fólie. Kvůli obtížnému přenášení připravených nanovláknenných vrstev a potřebě uspořádaných vláken pro různé aplikace je však tato hliníková fólie často nahrazována jinými typy kolektorů [4] tvořenými např. vodivým papírem, vodivou látkou, drátěnou sítí [48], špendlíkem [49], rotující tyčí nebo diskem [50] nebo kapalinou (koagulační methanolovou lázní) [51]. Tvar kolektoru pak určuje orientaci a morfologii produktu vláknění, neboť ovlivňuje vlastnosti



elektrického pole během elektrospinningu [45; 48]. Použitím statického rovinného kolektoru jsou vytvářeny nanovlákněné vrstvy s náhodně orientovanými vlákny. Uspořádaná nanovláknena pak mohou být získána vhodnou modifikací kolektoru, např. použitím rotujícího bubnu jako kolektoru [52]. Stupeň orientace nanovláken pak koreluje s rychlostí otáčení bubnu, aniž by jeho rychlost ovlivňovala průměr vznikajících nanovláken [5].

### **2.6.3 Parametry okolního prostředí**

Parametry okolního prostředí nejsou běžně počítané mezi parametry ovlivňující elektrospinning, přestože při zvláknování hrají důležitou roli [5].

#### **2.6.3.1 Teplota okolí**

Teplota okolí ovlivňuje rychlost vypařování rozpouštědla a viskozitu polymerního roztoku nebo taveniny [36]. Při vyšších teplotách se rozpouštědlo rychleji vypařuje a tvoří se silnější nanovláknena a naopak [53]. Vliv teploty na viskozitu roztoku nebo taveniny je opačný – s rostoucí teplotou klesá viskozita polymerního roztoku a vznikají tenčí nanovláknena [53]. Okolní teplota také úzce souvisí se vzdušnou vlhkostí, která je dalším důležitým parametrem okolního prostředí [5].

#### **2.6.3.2 Vzdušná vlhkost**

Vliv vzdušné vlhkosti na elektrospinning závisí na složení polymerního roztoku. V případě hydrofobních polymerů rozpuštěných v organických rozpouštědlech se při vyšších hodnotách vzdušné vlhkosti vytváří porézní nanovláknena [36]. Odpařováním rozpouštědla se totiž na povrchu polymerního proudu tvoří tenký film suchého polymeru a vznikají póry, které umožňují difuzi zachycených molekul rozpouštědla a kompletní ztuhnutí nanovláknena [54].

V případě vodných polymerních roztoků může být vzdušnou vlhkostí ovlivňován průměr nanovláken a jejich mechanické vlastnosti [36]. Změny v morfologii nanovláken způsobené změnami ve vzdušné vlhkosti mohou být vysvětleny spojením dvou efektů – rychlostí vypařování rozpouštědla (rychlostí tuhnutí) a tvorbou vláken s korálkovitou strukturou, které se tvoří kapilárním oddělováním viskoelastické tekutiny. Při nízkých hodnotách vzdušné vlhkosti způsobí rychlé vypařování rozpouštědla tuhnutí polymerního roztoku hned po jeho opuštění trysky. Polymerní proud je pak po kratší dobu vystavený napětím vyvolanému prodloužením a vznikají silnější nanovláknena. Když je naopak vzdušná vlhkost vysoká, proces tuhnutí je zpomalován a tekutina v polymerním proudu má více času letět a být natahována vloženým elektrickým polem. Vysoká vzdušná vlhkost je pak příčinou tvorby tenčích nanovláken, dále častějšího výskytu zvlákněných produktů s morfologií „korálků na niti“ a nakonec i tvorby polymerního filmu jako následku ukládání vlhkého produktu vlákněním a jeho splynutím na kolektoru [36].

## **2.7 Cíl práce**

V předchozích odstavcích byl popisován vliv různých parametrů (roztokových, procesních, okolního prostředí) na průběh elektrospinningu. Zásadní vliv zejména roztokových parametrů byl pozorován také při experimentech prováděných před touto diplomovou prací, kdy bylo zjištěno, že typ polyethylenoxidu zásadním způsobem ovlivňuje průběh vlákního procesu směsného roztoku polyethylenoxidu s kyselinou hyaluronovou. V těchto experimentech se

dva polyethylenoxidy z různých zdrojů s deklarovanými stejnými vlastnostmi zásadně lišily z pohledu zpracovatelnosti. Cílem této diplomové práce je proto porovnat vlastnosti polyethylenoxidů ve vztahu ke zvláknování kyseliny hyaluronové, najít mezi nimi rozdíl za použití dostupných analytických, termických a spektrálních metod a definovat vliv jednotlivých vlastností na chování roztoků polymerů v průběhu zvláknování. V následujících odstavcích jsou ve stručnosti představeny metody použité pro charakterizaci vybraných vzorků polyethylenoxidů.

## 2.8 Použité metody

### 2.8.1 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie je absorpční spektrální metoda, jejímž principem je absorpce infračerveného záření molekulami látek [55; 56]. Infračervená oblast elektromagnetického záření se nachází v intervalu vlnových délek mezi 0,78 a 1 000  $\mu\text{m}$ . V infračervené spektroskopii se k charakterizaci záření běžně používá místo vlnové délky vlnocet (počet vln v jednom centimetru). Pak je infračervená oblast definována vlnocety 12 500 až 10  $\text{cm}^{-1}$ . Tuto poměrně širokou oblast dělíme na blízkou (12 500–5 000  $\text{cm}^{-1}$ ), střední (5 000–500  $\text{cm}^{-1}$ ) a vzdálenou (500–10  $\text{cm}^{-1}$ ) infračervenou oblast. Pro rutinní měření rotačně-vibračních spekter se nejčastěji používá střední infračervená oblast. Značně se však rozšířilo i využití blízké infračervené oblasti [55; 56; 57].

Jestliže molekula absorbuje určité kvantum infračerveného záření, dojde ke změně jejího vibračního a rotačního energetického stavu. Proto jsou infračervená absorpční spektra vibračně-rotační. Změna vibračně-rotačního stavu molekuly absorpcí infračerveného záření však může nastat pouze v případě, že tím dojde ke změně dipólového momentu molekuly [55; 56; 57].

Infračervené spektrum je grafickým znázorněním závislosti intenzity absorpce záření zkoumaným vzorkem na vlnové délce záření, resp. jeho vlnoctu. Toto spektrum je pásové. Pásky ve spektru pak odpovídají různým typům vibračních přechodů [55; 56].

Infračervená spektrometrie může být použita ke kvalitativní i kvantitativní analýze. Z vlnocetů absorpčních páسů ve spektru je možno získat informace o struktuře zkoumané molekuly a identifikovat organické i anorganické sloučeniny. Intenzity absorpčních páсů ve spektru se dají využít pro kvantitativní analytické aplikace [55; 56].

K měření infračervených spekter se používají infračervené spektrometry s Fourierovou transformací – FTIR spektrometry. Tyto přístroje obsahují interferometr, což je zařízení umožňující rekombinaci záření [56].

Optický materiál (materiál pro výrobu kyvet, okének, aj.) použitý v infračervených spektrometrech musí být propustný pro infračervené záření, čemuž vyhovují nejlépe halogenidy alkalických kovů a kovů alkalických zemin (např. chlorid sodný, bromid draselný, směsný bromid a jodid thalný nebo selenid zinečnatý) [55; 56; 57].

Také volba rozpouštědla, ve kterém budou analyzované vzorky rozpuštěny, je velmi důležitá. Rozpouštědly používanými v infračervené spektroskopii nemohou být polární látky, neboť mají nenulový dipólový moment, ani nepolární uhlovodíky, protože uhlovodíkové skelety tvoří základ analyzovaných organických sloučenin. Proto se jako rozpouštědla

používají halogenované deriváty uhlovodíků (tetrachlormethan či freony), sirouhlík, případně chloroform [56].

Metodou infračervené spektrometrie mohou být analyzovány vzorky ve všech skupenstvích. Spektra kapalin mohou být měřena ve filmu látky na destičce z opticky propustného materiálu nebo v kyvetách, které mohou být různě upravené [57].

Pro měření pevných látek infračervenou spektroskopií se používá technika bromidových tablet nebo nujolové suspenze. Bromidové tablety se připravují z bromidu draselného (KBr). K navážce KBr (obvykle 200–300 mg) se přidá několik miligramů vzorku, směs se dobře promísí a za vysokého tlaku se z ní vytlučuje transparentní tabletky. Tuto tabletku lze proměřovat ve zvláštním držáku, případně proti referenční tabletce z čistého KBr. Nevýhodou této metody je značná hygroskopičnost bromidu draselného. Při přípravě tablety je proto nutné postupovat tak, aby došlo k co nejmenší kontaminaci tablety vzdušnou vlhkostí [56; 57].

Při použití transmisních technik prochází paprsek záření vzorkem umístěným nejčastěji v kyvetě a poté dopadá na detektor. Pro měření spekter povrchů různých materiálů však mohou být využity i reflexní techniky, při kterých dochází k odrazu záření od vzorku umístěného ve speciálních měřicích nástavcích. Vzorek pak může být pevného nebo kapalného skupenství. Odrazové techniky jsou stále oblíbenější hlavně z důvodu jednoduché přípravy vzorku [56; 57].

## 2.8.2 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je analytická metoda, která se používá stejně jako infračervená spektroskopie k popisu vibračně-rotálních dějů v molekule. Principem metody je měření rozptýleného záření, které vzniká interakcí záření s molekulami vzorku za současné změny jejich vibračních a rotačních stavů. Jako zdrojové (budící) záření se používá monochromatické záření nejčastěji z viditelné či blízké infračervené oblasti [55; 56].

Při srážkách s molekulami se převážná část záření rozptýlí beze změny vlnové délky. U malé části rozptýleného záření však dojde k posunu vlnové délky proti původní vlnové délce záření a to v případě, že molekula po ozáření přejde na vyšší (virtuální) vibrační energetickou hladinu a ihned klesne na vibrační hladinu, která je ale vyšší než základní, a při tom vyzáří energetické kvantum. Rozdíl hodnot frekvencí mezi rozptýleným a budícím zářením se pak označuje jako Ramanův posun a odpovídá frekvenci příslušného pásu v Ramanově spektru [55; 56; 57].

Při Ramanově spektroskopii se spektrálně rozloží záření rozptýlené po průchodu zkoumanou látkou na jednotlivé vlnové délky (resp. vlnočty) a měří se jejich intenzita. Ramanské spektrum je pak grafickým vyjádřením závislosti naměřených intenzit na hodnotě Ramanova posunu. Obvykle se Ramanská spektra měří ve vlnočtové oblasti  $4\,000\text{--}50\text{ cm}^{-1}$  (tedy rozsahu odpovídajícímu střední a vzdálené infračervené oblasti) a odpovídají absorpčním pásům infračervených spekter [55; 56].

U Ramanských spektrálních pásů se k vyjadřování velikosti používají tzv. relativní intenzity, kdy má pás s největší výškou (plochou) intenzitu 100 % a poměrově k němu jsou v procentech udávány intenzity pásů ostatních [56].

Podmínkou aktivity vibrace (rotace) v Ramanově spektrometrii je nenulová změna polarizovatelnosti molekuly při vibračním (rotačním) přechodu. Tato podmínka se liší od podmínky aktivity vibrace v infračerveném spektru, kterou je nenulová změna dipólového momentu při rotačně-vibračním přechodu. Polarizovatelnost je definována jako polarizace molekuly vyvolaná elektrickým polem jednotkové intenzity, při níž dojde ke změně rovnovážné vzdálenosti mezi atomy. Molekula se snaží zaujmout nové rovnovážné vzdálenosti atomů, což se projeví změnami jejich rotačních a vibračních stavů [55; 57].

S odlišností výběrových pravidel souvisí rozdílná aktivita vibrací v Ramanově a infračerveném spektru. V Ramanských spektrech se nalézají pásy vibrací, které jsou v infračervených spektrech buď velmi slabé anebo se v nich vůbec nenacházejí [56; 57].

Pro měření Ramanových spekter se používají dva základní typy Ramanových spektrometrů – disperzní spektrometry a tzv. FT-spektrometry pracující na principu Fourierovy transformace. Výběr vhodného typu spektrometru pak záleží na požadované aplikaci [56].

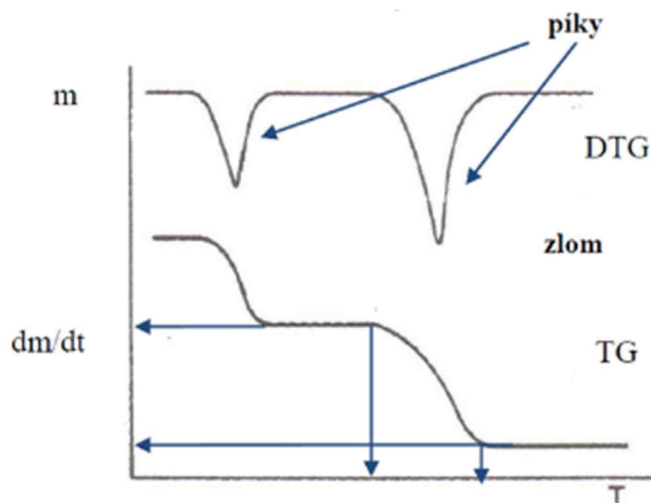
Ramanův rozptyl je velmi slabý. Aby bylo možné dokonale zaznamenat změnu frekvence rozptýleného záření, je zapotřebí v Ramanově spektroskopii používat jako budící záření vysoce monochromatické a velmi intenzivní záření. Tyto požadavky dobře splňují lasery [55; 56; 57].

Ramanova spektroskopie je využívána ke stejným účelům jako spektroskopie infračervená. Obě tyto metody bývají velmi často spojovány a označovány souhrnným názvem vibrační spektroskopie. Využívají se zejména k získávání informací o chemických vazbách ve studované látce a tím i o její struktuře. Infračervená spektroskopie se pak používá spíše pro studium polárních vazeb a nesymetrických nebo málo symetrických molekul a Ramanská pro studium vazeb nepolárních a symetrických molekul [56].

### 2.8.3 Termogravimetrická analýza

Termogravimetrická analýza (TGA) je jednou ze základních metod termické analýzy. Termická analýza je obecně skupina experimentálních metod, při nichž jsou analyzovány změny složení a vlastností studovaného systému při tepelném zatížení. TGA pak sleduje změny hmotnosti měřeného systému v závislosti na teplotě [58; 59]. Výsledkem této analýzy je gravimetrická křivka, tedy znázornění hmotnosti jako funkce teploty nebo času, ze které lze vyčíst teploty hmotnostních změn. V praxi je pak na ose  $y$  výsledného grafu uvedena hmotnost vzorku nebo procenta původní hmotnosti vzorku a na ose  $x$  teplota nebo čas. Z gravimetrické křivky pak lze odečíst oblast termické stability systému, úbytek nebo nárůst hmotnosti a celkový nebo dílčí hmotnostní úbytek. TGA však nemusí sloužit jen ke kvalitativnímu hodnocení, ale i ke kvantitativnímu. Z tvaru gravimetrické křivky tedy můžeme identifikovat děj a zároveň odečíst velikost změn [58].

Z TGA je odvozena derivační termogravimetrie (DTG), která je vypočítávána z jejich experimentálních dat jako první derivace. Jak je patrné na obrázku 5, jsou termogravimetrické i DTG-křivky tvarově odlišné. Oblasti změn se na DTG-křivce projevují jako píky. Díky nim pak mohou být přesněji rozlišeny začátky a konce jednotlivých dějů v rámci termického rozkladu [59].



Obrázek 5: Porovnání DTG a TG křivek [58].

#### 2.8.4 Diferenční skenovací kalorimetrie

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) je další metodou termické analýzy. Slouží k charakterizaci vzorku na základě sledování jeho enthalpie a tepelného toku při tepelném zatížení [58]. Jsou známy dva typy DSC analyzátorů. Principem prvního typu, DSC s kompenzací příkonu, je udržování nulového teplotního rozdílu mezi studovaným vzorkem a referenční látkou, které jsou současně zahřívány pod stejným teplotním programem [58; 59]. Studovaný a referenční vzorek jsou umístěny samostatně ve dvou kalorimetrických celách a nulový teplotní rozdíl je udržován buď dodáním energie do studovaného (pokud v něm probíhá endotermní děj) nebo do referenčního vzorku (při exotermním ději). Dodaná energie je pak měřena jako potřebný elektrický příkon a ten je zaznamenán do grafu jako funkce teploty nebo času. Tento typ DSC zařízení umožňuje velmi citlivě zaznamenat změny teploty a je vhodný ke sledování izotermních dějů [58].

Druhým typem je DSC s tepelným tokem, kdy je sledován rozdíl teplot mezi analyzovaným a referenčním vzorkem [58]. V tomto případě jsou oba vzorky umístěny na samostatných teplotních čidlech v téže kalorimetrické cele a jsou spojené tepelným mostem [58; 59]. Rozdíl teplot je pak zaznamenán jako tepelný tok od vzorku nebo do vzorku [58].

Obecně je výstupem DSC množství energie, které se musí dodat analyzovanému nebo referenčnímu vzorku. Graficky je to zaznamenáno ve formě DSC-křivky znázorňující závislost energie na teplotě (příp. na čase). Experimentátor pak může zvolit, zda budou píky exotermických dějů směřovat do kladných hodnot nebo pod základní linii k hodnotám záporným [59].

DSC studuje tepelné vlastnosti látek a materiálů. Proto je využívána při výrobě skla, keramiky, farmaceutik, plastů, polymerů, potravin aj. Mezi nejčastěji studované děje pak patří tání, krystalizace, teploty skelného přechodu, oxidační stability atd. [58].

### 2.8.5 Měření pH

Koncentrace vodíkových iontů udává vlastnosti vodných roztoků. Pro objektivní hodnocení kyselosti nebo zásaditosti kapaliny bylo zavedeno označení vodíkového exponentu pH jako záporného dekadického logaritmu koncentrace vodíkových iontů v analyzovaném roztoku. Na škále hodnot pH od 0 do 14 leží v jejím středu neutrální roztoky s hodnotami pH = 7 obsahující stejný počet vodíkových a hydroxylových iontů. Kyselé roztoky pak mají hodnotu pH menší než 7 a zásadité větší než 7 (do 14) [60].

Koncentrace (přesněji aktivita) vodíkových iontů se zjišťuje pomocí přístrojů využívajících potenciometrické metody. Ve snímači tohoto přístroje jsou umístěny elektrodové články – měřicí a srovnávací elektroda. Potenciál měřicí elektrody je závislý na koncentraci vodíkových iontů; potenciál srovnávací elektrody na nich závislý není [60; 61]. Mezi nejrozšířenější elektrody používané pro měření pH patří skleněná iontově selektivní elektroda, která je příkladem membránové elektrody. Její potenciál je závislý na koncentraci vodíkových iontů a tedy na hodnotě pH roztoku, do kterého je ponořena [61; 62].

Závislost rovnovážného potenciálu na pH je lineární s teoretickou směrnici  $-0,059$  V na jednotku pH. Odklon od linearity však lze pozorovat v oblasti  $\text{pH} > 11$ , kde se projevuje tzv. sodná neboli alkalická chyba skleněné elektrody, a také v oblasti  $\text{pH} < 1$ , kde je tento odklon způsoben tzv. kyselou chybou elektrody [61; 62].

Stanovení pH umožňují upravené voltmetry, tzv. pH-metry. Před jejich použitím k měření pH neznámého vzorku je nutno je kalibrovat proměřením dvou standardních roztoků o známém pH, tzv. kalibračních pufrů. Dvou kalibračních pufrů se používá proto, že směrnice odezvy skleněné elektrody na pH nebývá vždy teoretická, tj.  $-0,059$  V/pH, ale často menší a nadto se s časem mění. Kalibrační druhým kalibračním pufrům se tak nastaví aktuální směrnice této závislosti [61].

Pro měření pH se běžně používají kombinované skleněné elektrody, které usnadňují manipulaci s elektrodami, protože ve své konstrukci zahrnují současně měrnou i referenční elektrodu. V některých speciálních případech, především v technické praxi se k měření pH používají kovové elektrody, např. antimonová nebo bizmutová pH elektroda. Jejich hlavní předností oproti křehké skleněné elektrodě je mechanická pevnost [61; 62].

### 2.8.6 Konduktometrie

Konduktometrie je elektrometrická metoda, při níž se analyt stanovuje na základě měření elektrické vodivosti. Elektrická vodivost charakterizuje schopnost roztoku vést elektrický proud. Konduktometrie je neselektivní elektroanalytickou metodou. Poskytuje informace o totálním obsahu látek v analyzovaném roztoku, protože se na elektrické vodivosti podílí všechny látky v roztoku a příspěvek jednotlivých složek nelze rozlišit [61].

Vodivost roztoku  $G$  je definována jako převrácená hodnota odporu  $R$ . Její jednotkou je *Siemens* S. Vodivost je závislá na geometrických vlastnostech vodiče (na ploše elektrod  $S$  a jejich vzdálenosti  $l$ ). Proto byla zavedena měrná vodivost (konduktivita)  $\kappa$ , která je rovna vodivosti měřené v soustavě o jednotkovém poměru vzdálenosti a plochy elektrod [55]

$$\kappa = G \cdot \frac{l}{S} \quad (1)$$

Základní jednotka měrné vodivosti  $S \cdot m^{-1}$  je příliš velká. V praxi proto bývají používány jednotky  $mS \cdot m^{-1}$ , popř.  $\mu S \cdot m^{-1}$  [55].

Vodivost roztoků je měřena pomocí vodivostní cely, která je ponořena v analyzovaném roztoku. Obvykle se jedná o skleněnou nebo plastovou trubici se dvěma nebo čtyřmi elektrodami [55]. Při měření vodivosti se objevují nežádoucí polarizační jevy, k nimž dochází při průchodu proudu rozhraním mezi elektrodou a roztokem. Tyto jevy se méně projevují na elektrodách s velkým povrchem. Proto se povrch nejčastěji používaných platinových elektrod zvětšuje pokrytím elektrolyticky vyloučenou platinovou černí. Mimo to se polarizační jevy minimalizují také použitím střídavého proudu místo proudu stejnosměrného [61].

Stanovením látek ze změřené vodivosti se zabývá tzv. přímá konduktometrie. Touto metodou můžeme ze zjištěné měrné vodivosti roztoku usuzovat na celkový obsah iontů v roztoku. Měrná vodivost pak roste s obsahem iontů a s rostoucí koncentrací roztoku [55; 61]. Konduktometrii lze využít také jako objektivní indikační metodu v odměrné analýze, pak jde o konduktometrii nepřímou, o tzv. konduktometrické titrace [61].

### 2.8.7 Viskozimetrie

Dynamická viskozita je látkovou charakteristikou, která vyjadřuje míru vnitřního odporu tekutiny vůči toku, tedy relativnímu pohybu sousedních částic tekutiny. V důsledku chaotického tepelného pohybu a mezimolekulárních přitažlivých sil vzniká mezi dvěma paralelními rovinami tekutiny, které jsou v relativním pohybu, tečné (tangenciální) napětí [63; 64]. Za předpokladu laminárního proudění je podle Newtonova zákona toto tečné napětí  $\tau$  úměrné gradientu rychlosti  $dw/dx$  mezi vrstvami tekutiny, tedy

$$\tau = \eta \cdot \frac{dw}{dx}, \quad (2)$$

kde je konstantou úměrnosti dynamická viskozita  $\eta$ . Ta má v soustavě SI jednotku pascal sekunda [ $Pa \cdot s = kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$ ]. Dynamická viskozita kapalin je závislá na teplotě (s rostoucí teplotou klesá). Vliv tlaku na viskozitu kapalin je většinou zanedbatelný [60; 63; 64].

Podíl dynamické viskozity  $\eta$  a hustoty tekutiny  $\rho$  se nazývá kinematická viskozita  $\nu = \frac{\eta}{\rho}$  [ $m^2 \cdot s^{-1}$ ]. Kinematickou viskozitu je výhodné užívat při popisu dějů závislých jak na viskozitě, tak na hustotě, např. při popisu hydrodynamiky kapalin [60; 63].

Viskozita je závislá na druhu kapaliny. Tekutiny, které se řídí Newtonovým zákonem, se označují jako newtonské a jsou to zpravidla nízkomolekulární látky (např. voda), u nichž se dynamická viskozita nemění v závislosti na tečném napětí. V tomto případě je tedy dynamická viskozita při dané teplotě a tlaku fyzikální konstantou [63; 64].

Vedle newtonských kapalin existují i kapaliny, které se Newtonovým zákonem neřídí. Označují se proto jako neneutronské kapaliny a jsou to např. roztoky a taveniny polymerů, suspenze, různé pasty, natěračské barvy apod. U těchto kapalin je dynamická viskozita závislá na tečném napětí a rychlostním spádu, a tudíž není fyzikální konstantou [63].

K měření viskozity se používají viskozimetry, které se liší principem činnosti a druhem měřené tekutiny. Běžně se používají průtokové, pádové a rotační viskozimetry [60; 63].

Principem průtokových viskozimetrů je měření rychlosti výtoku kapaliny z kolmé (kapilární) trubice kruhového průřezu vlastní hmotností. V praxi se měření provádí relativně na základě srovnání s referenční kapalinou o známé viskozitě. Pak se porovnávají doby výtoku zkoumané a referenční kapaliny. Nejznámějšími typy viskozimetrů jsou viskozimetry Englerův, Ostwaldův, Kohlův a Ubbelohdeův [63].

Měření tělískovými viskozimetry je založeno na měření rychlosti pádu známého tělíška (obvykle koule) ve zkoumané kapalině. V laboratoři je nejčastěji používaným viskozimetrem tohoto typu viskozimetr Höpplerův [63].

V případě rotačních viskozimetrů je vzorek analyzované kapaliny podrobován smyku mezi dvěma definovanými plochami, z nichž jedna vykonává otáčivý pohyb a vyhodnocuje se brzdňý účinek vzorku při různých rychlostech otáčení. Laboratorní viskozimetr je uspořádán tak, že do válcovité nádoby otáčející se konstantní rychlostí a naplněné analyzovanou kapalinou je ponořen válec. Ten je unášen rotující kapalinou a měří se stočení torzního vlákna, na kterém je válec zavěšen. Provozní viskozimetry jsou uspořádány opačně, kdy se vnitřní válec otáčí a nádoba je v klidu. Pak se měří krouticí moment nutný k otáčení vnitřního válce. Místo dvou sousedních válců se zvláště pro viskóznější kapaliny může použít také uspořádání kužel-deska [60; 63].

### 2.8.8 Tenziometrie

Povrchové napětí je veličina charakterizující povrch kapalin. Je definováno jako tečná síla působící ve směru povrchu na úsečku jednotkové délky. Vyjadřuje se v  $\text{N} \cdot \text{m}^{-1}$ ; častěji se ale používá tisíckrát menší jednotky  $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$  [64; 65].

Povrchové napětí je závislé na koncentraci roztoků. Experimentální hodnoty povrchového napětí roztoků proto bývají uváděny v závislosti na koncentraci ve formě tabulek, grafů nebo analytických rovnic. Povrchové napětí klesá s rostoucí teplotou. Při dosažení kritické teploty pak mizí rozhraní mezi kapalnou a plynnou fází a tím klesne povrchové napětí na nulu. Povrchové napětí je v malé míře ovlivňováno i tlakem, případně elektrickým nábojem fázového rozhraní a u velmi malých částic i jejich zakřivením [64; 65].

Pro měření povrchového napětí u fázových rozhraní kapalina-plyn je k dispozici řada metod, které lze rozdělit z hlediska dosažení stavu rovnováhy při měření na statické, semistatické a dynamické [66].

#### 2.8.8.1 *Statické metody měření povrchového napětí*

Statické metody jsou založeny na sledování ustáleného rovnovážného stavu. To umožňuje získat skutečné rovnovážné hodnoty povrchového napětí, což je zvláště důležité při studiu roztoků. Je-li dosaženo rovnováhy, jsou hodnoty povrchového napětí na čase nezávislé a v ideálním případě jsou nezávislé i na způsobu měření. Do této skupiny patří metoda kapilární elevace, sledování tvaru kapek a bublin v gravitačním poli, nebo metoda rotující kapky a Wilhelmyho metoda vyvažování destičky [65; 66].

Posledně jmenovaná Wilhelmyho metoda je založena na měření změny hmotnosti destičky způsobené kapalinou vzlínající po jejím povrchu. Tenká destička se upevní na vahadlo vah a umístí tak, aby se její dolní hrana právě dotýkala hladiny studované kapaliny. Destička je smáčena studovanou kapalinou a na jejím povrchu se z obou stran tvoří menisky. Povrchové napětí se pak určí ze změny hodnoty hmotnosti destičky dané dodatečnou silou, nutnou



na opětne vyvážení přesných vah. Destičky jsou vyrobeny z inertního materiálu s vysokou povrchovou energií, tedy nejčastěji z platiny nebo skla [65; 66].

### **2.8.8.2 Semistatické metody měření povrchového napětí**

Při semistatických metodách je povrchové napětí měřeno za podmínek blížících se rovnovážným, takže i získané hodnoty povrchového napětí, jsou velmi blízké hodnotám rovnovážným. Z nejběžněji používaných metod jsou to metoda nejvyššího tlaku bubliny, metoda odtrhávání prstence a stalagmometrická metoda [66].

DeNoüyho metoda odtrhávání prstence je modifikací Wilhelmyho metody vyvažování destičky. V tomto případě má měřicí tělísko tvar tenkého platinového prstence, přičemž je měřena síla potřebná k odtržení prstence od hladiny měřené kapaliny. Tento postup se častěji než k absolutnímu měření používá jako metoda srovnávací. Často se pracuje také tak, aby nedošlo k odtržení prstence – pak je tato metoda statická [64; 65; 66].

### **2.8.8.3 Dynamické metody měření povrchového napětí**

Dynamické metody se používají pro studium výrazně nerovnovážných stavů ve vícefázových soustavách, které lépe odpovídají reálným technologickým procesům. Tyto metody se však spíše než k měření povrchové energie či povrchového napětí používají k určení smáčení tuhého povrchu kapalinou za dynamických podmínek – dynamický kontaktní (smáčecí) úhel. V praxi jsou nejpoužívanější dynamická provedení goniometrických metod, metoda oscilujícího paprsku a dynamická Wilhelmyho metoda.

V dynamické úpravě klasické Wilhelmyho metody je destička zavěšena na vahách a proti ní se posouvá stolek s nádobkou s měřenou kapalinou. Kapalina stoupá po povrchu destičky a měří se vzestupný kontaktní úhel. Při obrácení děje se obrátí i meniskus kapaliny a kontaktní úhel se ustaví na hodnotě sestupného kontaktního úhlu [66].

## **2.8.9 Dynamický rozptyl světla**

Dynamický rozptyl světla (z anglického Dynamic light scattering – DLS), nazývaný také jako fotonová korelační spektroskopie nebo kvazielastický rozptyl světla, je v současné době široce používaná metoda vhodná pro stanovení velikosti koloidních částic [66; 67]. Jedná se o neinvazivní techniku, jejímž základem je měření fluktuace intenzity rozptýleného světla z laserového zdroje okolo její průměrné hodnoty [67].

Malé částice disperzní fáze se v kapalině díky Brownovu pohybu pohybují. Tím se mění vzdálenost, kterou musí urazit jimi rozptýlené světlo k detektoru. Rozptýlené vlnění pak může být interferenčně zesilováno nebo zeslabováno v závislosti na vzdálenosti mezi částicí a detektorem. Výsledkem jsou fluktuace intenzity rozptýleného záření okolo průměrné hodnoty, a čím rychleji se částice pohybují, tím rychleji se intenzita rozptýleného světla mění. Z fluktuací intenzity se pak získá korelační funkce, která představuje vztah pro výpočet relaxačního času. Z hodnoty relaxačního času je dále vypočten difuzní koeficient rozptylujících částic a z něj pak prostřednictvím Stokes-Einsteinovy rovnice hydrodynamický průměr částic [66; 67].

Výsledky DLS jsou obvykle v přiměřeně dobré shodě s výsledky elektronového mikroskopu. Určité nesrovnalosti ve výsledcích mohou být přisouzeny buď rozdílu mezi hydrodynamickým poloměrem a skutečným poloměrem nebo změnám ve velikosti částice

vznikajícím při přípravě vzorku pro elektronový mikroskop (vysoušení) či změnám pocházejícím od ozařování elektrony. V případě polydisperzních systémů se musí vzít do úvahy pohyb částic rozdílných velikostí a korelační funkce má poté složitější formu [66].

Metoda DLS je vhodná pro přesné stanovení velikosti nejlépe kulovitých částic s rozměry od několika nanometrů až do 1 až 2  $\mu\text{m}$ . Je absolutní, takže není nutno provádět kalibraci. K analýze je třeba jen velmi malé množství vzorku a měřicí zařízení je komerčně dostupné s automatizací včetně analýzy dat. Metodu DLS lze využít pro charakterizaci emulzí, micel, liposomů, latexů i pigmentů. Zajímavé je také uplatnění této metody v biologické a mikrobiologické oblasti pracující s bakteriemi, viry, proteiny a DNA [67].

### 2.8.10 Zeta potenciál

Zeta potenciál je klíčovým faktorem využívaným ke sledování, přípravě nebo destrukci koloidních disperzí a při výrobních procesech [68]. Pro velkou část systémů částic v kapalinách je právě zeta potenciál veličina, která určuje míru interakce částic a tudíž i jejich vlastnosti [69].

Jestliže je koloidní částice nesoucí povrchový náboj dispergována v tekutině, opačně nabitě ionty (protiionty) ze suspenze jsou k částici přitahovány za vzniku pevně přichycené vrstvy okolo částice – Sternovy vrstvy. Většina povrchového náboje je neutralizována pevně vázanými protiionty Sternovy vrstvy. Zbývající náboj je pak vyvážen difúzní vrstvou protiiontů, která může být znázorněna jako nabitá atmosféra obklopující částici. Sternova a difúzní vrstva dohromady tvoří elektrickou dvojvrstvu. Tloušťka dvojvrstvy závisí na typu a koncentraci iontů v suspenzi a také na povrchu částice [68].

Mezi povrchem částic a objemem kapaliny existují dva druhy potenciálových rozdílů. Prvním z nich je elektrochemický potenciál, jehož hodnota je určena celkovým potenciálovým rozdílem mezi povrchem částice a objemem kapaliny. Je odpovědný za jevy spojené s vedením elektrického proudu a za membránové potenciály. Druhým potenciálem je elektrokinetický potenciál ( $\zeta$  potenciál, zeta potenciál), jímž se rozumí potenciálový rozdíl mezi objemem kapaliny a tenkou vrstvou protiiontů poutanou k povrchu částice, tedy na rozhraní mezi adsorpční a difúzní částí elektrické dvojvrstvy [66].

Zeta potenciál je ovlivňován mj. koncentrací a typem iontů v roztoku. Přídavkem elektrolytu do systému se difúzní vrstva stlačuje, stále více protiiontů se nachází v adsorpční vrstvě a hodnota zeta potenciálu se snižuje. Stav systému, při kterém má zeta potenciál nulovou hodnotu, se pak označuje jako isoelektrický bod. Při ředění systému se difúzní vrstva naopak rozšiřuje a zeta potenciál vzrůstá [66; 68].

Elektrický náboj dvojvrstvy charakterizuje a zároveň ovlivňuje stabilitu koloidních systémů [66]. Jestliže je absolutní hodnota zeta potenciálu větší než přibližně 30 mV, částice se vzájemně silně odpuzují a jejich systém je stabilní. Tento stav je velice žádaný pro praktické aplikace, kde se například nanočástice nanášejí na povrchy. Pro malé hodnoty zeta potenciálu se systém vyznačuje nestabilitou a částice se shlukují do agregátů různé velikosti [69].

Pro určení hodnoty elektrokinetického (zeta) potenciálu mohou být využity čtyři typy elektrokinetických jevů – elektroforéza, elektroosmóza, sedimentační potenciál a potenciál proudění. Nejčastěji se pak používá elektroforetických měření, kdy je na koloidní suspenzi vloženo elektrické pole. V případě neutrálních částic se nestane nic. Částice nesoucí

povrchové náboje se však začnou pohybovat směrem k elektrodě. Rychlost jejich pohybu je pak úměrná velikosti vloženého elektrického pole a zeta potenciálu částic [66; 68].

### 2.8.11 Rastrovací elektronová mikroskopie

Rastrovací (skenovací) elektronový mikroskop (SEM) je aktivní zobrazovací systém, který se používá ke studiu povrchů vzorků. Funkčně je velmi podobný světelnému mikroskopu. Na rozdíl od něj však k zobrazování předmětů využívá místo světelného paprsku svazek elektronů urychlených pomocí elektrického pole a místo skleněných čoček používá čočky elektromagnetické (resp. různé typy cívek) [70].

Principem SEM je skenování (rastrování) svazku elektronů (typicky o energii 10 000 eV) řádek po řádku po povrchu vzorku. Vysokoenergetické elektrony z povrchu vyrážejí sekundární elektrony, které jsou zaznamenávány detektorem umístěným nad vzorkem [70; 71]. Pohyb svazku elektronů lze řídit pomocí počítače, čímž lze zobrazit pouze výřez, odstranit šum snížením rastrovací rychlosti, tisknout obraz atd. Podle režimu zobrazení se pak složením obrazů jednotlivých bodů předmětu vytváří výsledný obraz [70].

Emisi sekundárních elektronů je možné získat mnohem podrobnější informace o topografii povrchu v porovnání s klasickou optickou mikroskopií. Pomocí SEM lze vzorek zvětšit až 500 000krát a lze dosáhnout rozlišení v řádu nm. Rozlišovací schopnost u světelné mikroskopie je totiž limitována vlnovou délkou viditelného světla, zatímco u elektronových mikroskopů je vlnová délka energetických elektronů mnohdy menší než  $10^{-10}$  m. Detekcí odražených primárních elektronů je také možné získat informace o prvcích, kterými je tvořen povrch vzorku, neboť intenzita těchto primárních elektronů je funkcí protonového čísla prvků přítomných ve vzorku [70; 71].

Podmínkou pro zobrazení vzorku elektronovým mikroskopem je dobrá vodivost jeho povrchu, takže vodivé materiály lze pozorovat přímo, ale méně vodivé materiály (například biologické vzorky) musí být upraveny. Vodivost takových vzorků pak může být zvýšena pomocí vakuového napařování nebo napařování či chemickou fixací na terčik pomocí inertního materiálu [70; 71].

## EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Použité chemické látky

Název	$M_w$ [g/mol]	Výrobce	Značení
Kyselina hyaluronová	82 000	Contipro	
Polyethylenoxid	400 000	Meisei, Chemical Works, Ltd.	400 Meisei
Polyethylenoxid	300 000	Scientific Polymer Products, Inc.	300 Sp <sup>2</sup>
Polyethylenoxid	400 000	Scientific Polymer Products, Inc.	400 Sp <sup>2</sup>
Bromid draselný	119	Acros	

### 3.2 Použité přístroje

Analytické váhy – Excellence XS204; Mettler Toledo.

Váhy předvážky – KERN 572; Kern.

Magnetická míchačka s ohřevem – Heidolph.

Magnetická míchačka – MR Hei Mix S; Heidolph.

Třepačka – C2 Platform Shaker; New Brunswick Scientific.

Třepačka orbitální s platformou – PSU-20i Multi-functional Orbital Shaker; Biosan.

Dispergační přístroj – Turrax® T25 digital; IKA Ultra.

Autokláv – Systec VX-75; Systec GmbH.

Rotační reometr – AR G2; TA Instruments Inc.

pH metr – WTW 3110 s měřicí elektrodou SenTix ® 81; WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH.

Konduktometr – WTW inoLab Cond 7110 se standardní vodivostní měřicí celou Tetralon® 325; WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH.

Přístroj k určení velikostí částic v roztocích – Zetasizer Nano ZS Nanoseries; Malvern Instruments.

Digitální tenziometr – Tensiometer Krüss K9; Krüss GmbH.

Přístroj pro výrobu nanovláken – 4SPIN® C4S-LAB; Contipro Biotech.

Fotoaparát – Nikon Coolpix P7700; Nikon.

Rastrovací elektronový mikroskop – Zeiss.

Horkovzdušný sterilizátor – Stericell® 111; BMT MMM Group.

FTIR spektrometr – Nicolet 6700 FT-IR; Thermo Scientific.

Ramanův spektrometr – Contipro Biotech.

Termogravimetrický analyzátor – Q 500; TA Instruments Inc.

Diferenční skenovací kalorimetr – Q 2000; TA Instruments Inc.

HPLC chromatograf – Alliance 2695 Separations Module s UV/VIS detektorem; Waters.

### **3.3 Příprava roztoků**

#### **3.3.1 Příprava 8% roztoků polyethylenoxidu**

Pro každý ze studovaných PEO bylo vytvořeno 100 g jeho vodného roztoku o hmotnostní koncentraci 8 %. Všechny tři roztoky byly připraveny stejným způsobem, kdy bylo k navážce 8 g PEO přilito 92 g destilované vody a poté byl vzorek umístěn na třepačku.

PEO se velmi špatně rozpouštěl a ani po 47 hodinách míchání roztoky nebyly homogenní. Proto byly ohřáty ve vodní lázni na 40 °C, míchány magnetickou míchačkou a poté homogenizátorem Ultra Turrax, který funguje podobně jako tyčový mixér.

#### **3.3.2 Příprava 6% roztoků polyethylenoxidu**

Dále byly připraveny 6 hm. % roztoky PEO v destilované vodě. Tyto roztoky byly připraveny stejným postupem, kdy byla do navážky 94 g destilované vody po částech kvantitativně převedena navážka 6 g PEO a to za stálého míchání na magnetické míchačce. Z magnetické míchačky pak byly vzniklé směsi přeneseny na třepačku, kde byly míchány 2 dny.

#### **3.3.3 Příprava 6% roztoků polyethylenoxidu a kyseliny hyaluronové v hmotnostním poměru 80/20**

Stejným způsobem byl pro každý ze studovaných PEO vytvořen roztok kyseliny hyaluronové (HA) a polyethylenoxidu o hmotnostní koncentraci 6 % a s hmotnostním poměrem HA/PEO 80/20. Na přípravu 100 g roztoku bylo třeba navážít 4,8 g HA, 1,2 g PEO a 94 g destilované vody. Po 44 hodinách míchání roztoků na třepačce byly tyto roztoky homogenní a tedy připravené k měření.

#### **3.3.4 Příprava 6% roztoků kyseliny hyaluronové ve vodě**

Bylo připraveno 50 g vodného roztoku HA o hmotnostní koncentraci 6 %. K navážce 47 g destilované vody byla přisypána navážka 3 g HA. Vzniklá směs poté byla homogenizována mícháním na třepačce po dobu 5 hodin.

#### **3.3.5 Příprava roztoků PEO pro sterilizaci**

Byly připraveny vodné roztoky PEO s hmotnostní koncentrací 1,26 %. Také tyto tři roztoky byly připraveny stejným způsobem, kdy bylo k navážce 94 g destilované vody přisypáno 1,2 g PEO. Vzniklé směsi pak byly homogenizovány mícháním na třepačce.

1,26% roztoky PEO a přibližně polovina objemu každého z připravených 6% roztoků PEO byly sterilizovány horkou parou pomocí autoklávu Systec VX-75 od společnosti Systec GmbH (Linden, Germany). Pro sterilizaci byl použit program určený pro kapalné roztoky, který trval 20 minut a pracoval při teplotě 121 °C.

## **3.4 Analytické metody**

### **3.4.1 Stanovení viskozity**

Stanovení viskozity roztoků bylo provedeno pomocí rotačního reometru AR G2 od společnosti TA Instruments Inc. (New Castle, DE, USA) s 60mm hlavici. V programu Rheology Advantage byla nastavena teplota měření 25 °C a rozsah otáček od 0,01 do 5 000. Každý vzorek byl proměřen třikrát, popř. čtyřikrát, jestliže se výsledky naměřené pro tentýž vzorek vzájemně výrazně lišily. Ke každému měření (opakování) byl odebrán vždy přibližně 1 ml vzorku. Naměřené hodnoty byly exportovány do programu MS Excel, kde byly vyneseny do grafů znázorňujících závislost viskozity na čase a závislost viskozity na smykové rychlosti a kde z nich byly vypočteny průměrné hodnoty viskozit pro každý z měřených vzorků. V grafu závislosti viskozity na čase byla nalezena lineární oblast a v ní vybráno 10 hodnot viskozity. Z těchto 10 hodnot pak byl vypočten průměr a výsledná hodnota viskozity pak byla stanovena jako průměr z průměru každého opakování.

### **3.4.2 Stanovení pH**

Pro měření pH roztoků vzorků byl použit pH metr pH 3110 od společnosti WTW (Wielheim, Germany). Měřicí elektroda byla typu SenTix® 81 obsahující 3mol/l KCl a skleněnou membránu. Tato elektroda byla ponořena do kádinky se vzorkem a po ustálení hodnoty pH na displeji byla odečtena tato hodnota pH spolu s teplotou vzorku. Ve snaze minimalizovat chybu stanovení byly hodnoty pH a teploty odečítány vždy po 5 minutách. Každý vzorek byl změřen nejméně třikrát, v případě kolísání hodnot až pětkrát.

### **3.4.3 Stanovení vodivosti**

Vodivost byla stanovována pomocí laboratorního konduktometru WTW inoLab Cond 7110 od firmy WTW (Wielheim, Germany). Tento konduktometr obsahuje standardní vodivostní měřicí celu Tetralon® 325 se čtyřmi elektrodami, dvěma vnitřními napěťovými a dvěma proudovými. Měřicí elektroda vždy byla zcela ponořena do kádinky se vzorkem a po ustálení hodnoty byla z displeje přístroje odečtena hodnota vodivosti a teploty daného vzorku. Měření každého ze vzorků bylo opakováno nejméně třikrát.

### **3.4.4 Stanovení povrchového napětí**

Povrchové napětí připravených roztoků bylo měřeno dynamickou Wilhelmyho metodou na zařízení Tensiometer Krüss K9 od společnosti Krüss GmbH (Hamburk, Germany). Měřicí destička byla zavěšena na háček tenziometru a pomocí posuvného stolku k ní byla přiblížena hladina měřeného roztoku tak, aby se spodní hrana měřicí destičky právě dotkla hladiny roztoku. Měřicí destička pak byla asi do poloviny omočena v roztoku a hned vrácena do původní polohy, kdy se její spodní hrana právě dotýkala hladiny roztoku. Hodnota povrchového napětí pak byla z displeje přístroje odečtena po 15 minutách. Každý vzorek byl proměřen třikrát. Mezi jednotlivými měřeními byla měřicí destička vždy omyta destilovanou vodou, izopropylalkoholem, znovu destilovanou vodou a poté opálena nad kahanem.

### 3.4.5 Elektrostatické vlákňení

Připravené 6 hm. % roztoky PEO a 6 hm. % roztoky HA/PEO byly zvlákňeny pomocí přístroje 4SPIN® C4S-LAB vyrobeného společností Contipro a.s. Jako zvlákňovací elektroda byla použita kapilární jehla (označení E1) a jako sběrná elektroda byl použit statický kontinuální kolektor (označení C1) potažený pečicím papírem. Pečicí papír byl předem zvážen na analytických vahách, aby později bylo možno stanovit výrobnost a produktivitu vlákňení. Obrázek 6 je fotografií emitoru a kolektoru v průběhu zvlákňování. Vzdálenost mezi elektrodami byla nastavena na 20 cm a napětí mezi nimi bylo udržováno v rozmezí 45–50 kV. Hodnota napětí vkládaného mezi elektrody i rychlost dávkování polymerního roztoku byly během zvlákňování pozměňovány tak, aby bylo dosaženo co nejvyšší produktivity vlákňení. Všechny parametry zvlákňování byly zapisovány do příslušných zvlákňovacích protokolů. Ukázkou jednoho z těchto protokolů je tabulka 1. Elektrostatické zvlákňování polymerního roztoku bylo ukončeno vždy po 30 minutách.

Tabulka 1: Zvlákňovací protokol polymerní směsi HA/PEO.

<b>Datum zvlákňování</b>	16. 06. 2016
<b>Elektrostatické zvlákňování na 4SPINU</b>	
Teplota [°C]	25
Vlhkost [%RH]	22
Zvlákňovací elektroda (emitor)	E1
Sběrná elektroda (kolektor)	C1
Vzdálenost elektrod [cm]	20
Napětí [kV]	50
Dávkování [μl/min]	110
Proudění vzduchu [l/min]	80
Elektrický proud [μA]	30
Podkladová vrstva	pečicí papír
Kontinuálně/staticky	staticky
Počet vrstev	1
Stáří roztoku	3 dny
Zakázka/protokol	Z08-2
Čas zvlákňování [min]	<b>30</b>
Elektronový mikroskop	ano
<b>Označení vzorku</b>	<b>NJ_20160616_01</b>
<b>Hodnocení:</b>	proud kolísal v rozmezí 24–48 μA vlákňení probíhalo bez problémů



Obrázek 6: Fotografie emitoru a kolektoru 4SPINu při zvlákňování polymerního roztoku HA/PEO.

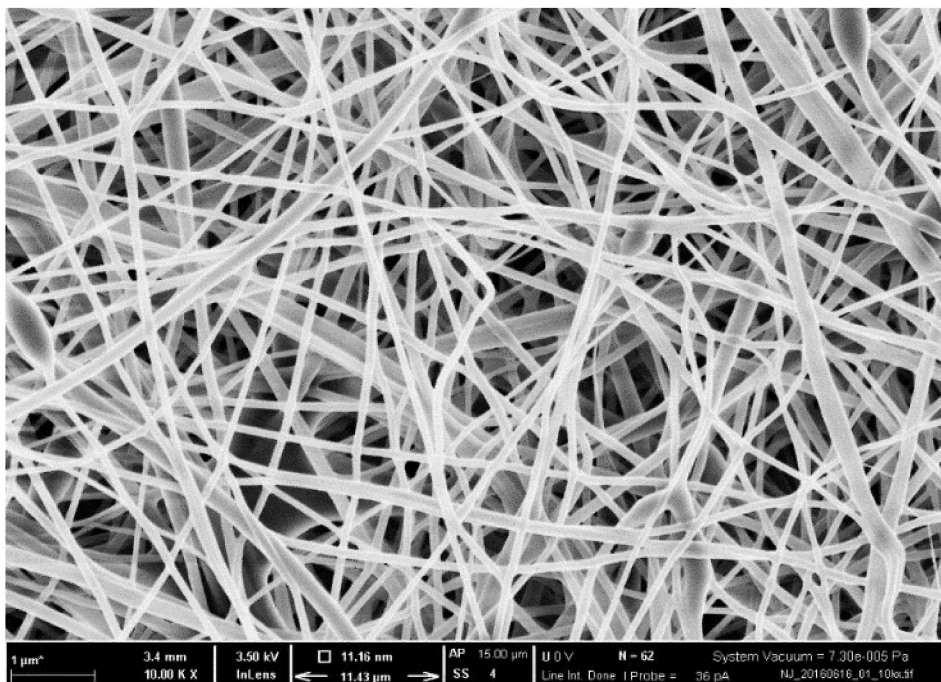
### 3.4.6 Stanovení výrobnosti

Z kolektoru byl sejmут pečící papír s vyrobenou nanovláknennou vrstvou a zvážen na analytických vahách kvůli stanovení produktivity vláknění. Ze zjištěné hmotnosti vyrobené vrstvy pak byla vypočtena výrobnost jako hmotnost vyrobené vrstvy podělená dobou zvlákňování v minutách, dále plošná hmotnost jako hmotnost vyrobené vrstvy podělená plochou kolektoru ve čtverečních metrech a konečně produktivita zvlákňování jako výrobnost podělená plochou kolektoru ve čtverečních metrech.

### 3.4.7 SEM a obrazová analýza

Z každé z vyrobených vrstev byl odebrán vzorek pro analýzu rastrovacím elektronovým mikroskopem značky Zeiss. Tento mikroskop pracoval s rozlišením 0,9 nm a urychlovacím napětím 0,1–30 kV, v komoře dosahoval tlaku  $5 \cdot 10^{-5}$  Pa a v tubusu tlaku  $1 \cdot 10^{-7}$  Pa. Vzorky pak byly zvětšeny 500–10 000krát. Obrázek 7 je snímkem z elektronového mikroskopu zvlákněného směsného polymerního roztoku HA o molární hmotnosti 82 000 g/mol (Contipro) a PEO o  $M_w$  400 000 g/mol (Meisei). Na snímcích z rastrovacího elektronového mikroskopu pak byly odečteny průměrné tloušťky vyrobených vláken. K tomuto odečítání byl využit počítačový program NIS-Elements, pracující pod operačním systémem Windows. Průměrná tloušťka vláken byla vypočtena vždy z minimálně padesáti ručně označených tlouštěk vyrobených vláken. Naměřená data byla exportována do programu MS Excel. Celé měření probíhalo v off-line režimu a vždy začínalo kalibrací samotného programu na skutečné délkové rozměry.





Obrázek 7: Fotografie zvlákněného vzorku z elektronového mikroskopu.

### 3.4.8 HPLC

Stanovení molární hmotnosti vzorků PEO bylo provedeno v externí laboratoři firmy Contipro pod vedením Martiny Hermanové. Analýza SEC-MALS byla provedena na sterilních i nesterilních 6 hm. % roztocích PEO použitím přístroje Alliance 2695 Separations Module s UV/VIS detektorem od společnosti Waters Corporation (Milford, MA, USA).

### 3.4.9 Měření KBr tablet FTIR

Ze studovaných PEO byla sejmuta infračervená spektra technikou FTIR s použitím KBr tablet. Toto měření probíhalo na přístroji Nicolet 6700 FT-IR dodaném firmou Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, MA, USA). Z PEO ve formě prášku bylo odebráno vždy asi 5 mg. K navážce pak bylo přidáno cca 200 mg bezvodého KBr (určeného pro FTIR analýzu). Sypká směs byla rozetřena v achátové misce a vylisována v lisu pro přípravu tablet. Vyroběné tablety byly postupně vkládány do FTIR spektrometru. Ten byl nastaven na snímání 100 skenů, rozlišení  $2 \text{ cm}^{-1}$  a měření v absorbanci. Jako pozadí bylo použito spektrum sejmuté z tablety obsahující pouze KBr. Po každém použití byly lisovací nástavec i achátová miska očištěny isopropylalkoholem a vysušeny pomocí IČ lampy.

### 3.4.10 Ramanova spektroskopie

Byly připraveny tablety z PEO bez přídavku jakékoli látky či ředění postupem popsáním v předešlé kapitole. Ramanova spektra byla snímána pomocí přístroje vyrobeného společností Contipro a.s. Tento přístroj disponuje multi-channel CCD detektorem (Proscan HS101-H; Hamamatsu CCD S9974-1008), He-Ne laserem (Thorlabs HRR170) o vlnové délce 632,8 nm a výkonem 13 mW. Spektra byla snímána pro oblast  $400\text{--}1700 \text{ cm}^{-1}$ .

### 3.4.11 DSC

Stanovení krystalinity a bodu tání bylo provedeno metodou DSC na přístroji Q 2000 od společnosti TA Instruments Inc. (New Castle, DE, USA). Do hliníkového měřicího kelímku byly naváženy vždy asi 3 mg vzorku PEO v práškové formě. Poté byl kelímek hermeticky uzavřen pomocí speciálního ručního lisu a uzavřený kelímek byl zvážen. Pro dosažení přesnějších výsledků byl každý ze studovaných vzorků PEO navážen do dvou kelímků. Kelímky se vzorky byly spolu s referenčním prázdným kelímkem umístěny do měřicí cely přístroje a temperovány na teplotu 30 °C. Ve speciálním počítačovém programu pak byla nastavena metoda měření, která zahrnuje ohřátí vzorků na 90 °C rychlostí 10 °C/min, po 5 minutách ochlazení na – 80 °C opět rychlostí 10 °C/min a po 1 minutě opětovné ohřátí stejnou rychlostí na 90 °C. Touto metodou byly proměřeny i zmražené a následně lyofilizované 6 hm. % roztoky PEO.

### 3.4.12 Analýza TGA

Měřicí pánvičky byly umístěny na vybrané pozice do přístroje Q 500 od společnosti TA Instruments Inc. (New Castle, DE, USA) a vytárovány. Následně bylo na každou z vytárováných pánviček naváženo 5–10 mg vzorku PEO v práškové formě. Každý ze zkoumaných PEO byl navážen a analyzován dvakrát. V počítačovém programu byla nastavena metoda měření, při které byly vzorky ohřáté na 910 °C rychlostí 10 °C/min, poté byla teplota 910 °C udržována 30 min a po uplynutí této doby byly vzorky ochlazeny na 650 °C. Při teplotě menší než 600 °C byla použita dusíková atmosféra; při teplotě 600 °C pak byl dusík vyměněný za vzduch.

Studované vzorky PEO v práškové formě byly proměřeny ještě další metodou, kdy byly navážené vzorky PEO temperovány 24 hodin při laboratorní teplotě. Poté byly v dusíkové atmosféře zahřívány na teplotu 121 °C rychlostí 10 °C/min a teplotě 121 °C byly vystaveny po dobu 300 minut.

### 3.4.13 Stanovení sušiny a popela

Sušina vybraných vzorků PEO byla stanovována dvěma odlišnými metodami. Při první byl z každého ze zkoumaných PEO (v práškové formě i v jeho 6% roztoku) odebrán přibližně 1 g a ten byl sušený horkým vzduchem při 60 °C po dobu 16 hodin. Sušina pak byla vypočtena jako podíl hmotnosti suchého a původního vzorku. Tato metoda však není validovaná a slouží k orientačnímu zjišťování sušiny. Pro přesné stanovení sušiny a s tím spojené stanovení popela byly vzorky PEO odevzdány do Kontrolní analytické laboratoře firmy Contipro. Pro stanovení byla zvolena metoda, která se běžně používá pro vzorky kyseliny hyaluronové v práškové formě, kdy je vzorek sušen při teplotě 105 °C po dobu 6 hodin.

### 3.4.14 Stanovení velikosti částic

Stanovení velikosti částic bylo provedeno metodou dynamického rozptylu světla (DLS) na přístroji Zetasizer Nano ZS Nanoseries, jejímž výrobcem je společnost Malvern Instruments. Pro měření byly použity akrylátové květy (10 x 10 x 45 mm), do kterých byl pipetován vždy 1 ml roztoku vzorku. Analyzovány byly pouze 0,5 hm. % vodné roztoky PEO,

kteřé vznikly nařeďením 6 hm. % roztoků PEO. V počítačovém programu byla nastavena teplota vzorku po dobu 2 minut na teplotu 25 °C a opakování měření každého ze vzorků pětkrát a to za použití červeného laseru pod úhlem 173 °. Roztoky s 0,5 hm. % koncentrací PEO však měly velmi vysokou polydisperzitu, proto byly nařeďeny nejprve pětkrát a následně desetkrát na konečnou koncentraci PEO ve vodě 0,05 hm. %.

#### **3.4.15 Stanovení zeta potenciálu**

Zeta potenciál byl měřen opět na přístroji Zetasizer Nano ZS Nanoseries. Speciální kapilární květa byla naplněna 0,1 hm. %, resp. 0,5 hm. % roztokem PEO a umístěna do měřicí cely přístroje. Každý z analyzovaných vzorků PEO byl 1 minutu temperován na 25 °C a poté pětkrát proměřen.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Je obecně známo, že vlastnosti polymeru ovlivňují jeho chování v elektrostatickém poli a potažmo chování ve směsi. Toto bylo potvrzeno v průběhu experimentů před diplomovou prací, kdy bylo zjištěno, že polyethylenoxid zásadním způsobem ovlivňuje průběh vlákního procesu směšného roztoku polyethylenoxidu s kyselinou hyaluronovou. Dva polyethylenoxidy z různých zdrojů s deklarovanými stejnými vlastnostmi se zásadně lišily z pohledu zpracovatelnosti. Cílem této diplomové práce bylo porovnat vlastnosti polyethylenoxidů ve vztahu ke zvlákňování kyseliny hyaluronové, najít mezi nimi rozdíl za použití dostupných analytických, termických a spektrálních metod a definovat vliv jednotlivých vlastností na chování roztoků polymerů v průběhu zvlákňování. Zároveň byl studován vliv parní sterilizace na základní roztokové vlastnosti i na samotný zvlákňovací proces. Výsledky této práce jsou klíčové pro případné poloprovozní testování a výrobu, kdy je nutností vědět, co se stane při použití které suroviny.

### 4.1 Výběr polyethylenoxidů

Jak již bylo naznačeno, dva polyethylenoxidy, které deklarovaly stejnou základní vlastnost (molární hmotnost 400 kg/mol), se v průběhu zvlákňování jejich vodného roztoku chovaly odlišně. Proto byly zahrnuty do této studie. Pro porovnání pak byl přidán od jednoho z jejich výrobců další polyethylenoxid s jinou deklarovanou molární hmotností.

Polyethylenoxidy o molární hmotnosti 400 kg/mol od dvou výrobců Meisei a od Sp<sup>2</sup> by se neměly lišit. Jedná se o stejnou látku, která má jen odlišnou kvalitu ve smyslu možnosti použití udávanou výrobcem. Výrobce Meisei deklaruje kosmetickou kvalitu svého produktu a produkt společnosti Sp<sup>2</sup> je určen pro laboratorní použití. Tyto dva stupně kvality se vzájemně liší obsahem nečistot a jejich povahou, přičemž oba tyto parametry (hodnota obsahu nečistot a povaha nečistot) jsou známé. Avšak přestože si jsou tyto dva PEO velmi podobné, byly při předchozích experimentech zaznamenány rozlišné produktivity zvlákňování jejich roztoků.

Součástí této studie bylo také porovnávání výsledků měření polyethylenoxidů od stejného výrobce, ale s rozdílnými molárními hmotnostmi (300 kg/mol a 400 kg/mol). Molární hmotnost polymeru může např. ovlivňovat viskozitu polymerních roztoků a tím i jejich schopnost vláknění [4; 37].

Pro měření diplomové práce tedy byly vybrány tyto tři polyethylenoxidy (PEO):

- PEO o molární hmotnosti 400 kg/mol od společnosti Meisei, Chemical Works, Ltd., která jej dodává v kosmetické kvalitě; v práci je označen jako 400 Meisei;
- PEO o molární hmotnosti 400 kg/mol od výrobce Sp<sup>2</sup> Scientific Polymer Products, Inc., který jej dodává v laboratorní kvalitě (tedy nižší než kosmetické); v práci je označen jako 400 Sp<sup>2</sup>;
- PEO o molární hmotnosti 300 kg/mol také od Sp<sup>2</sup> Scientific Polymer Products, Inc. a v laboratorní kvalitě; v práci je označen jako 300 Sp<sup>2</sup>.

## 4.2 Roztoky o koncentraci 8 hm. %

Ve všech předchozích experimentech byla použita stejná kyselina hyaluronová. Proto se dá předpokládat, že rozdíl ve výsledcích zvláknování byl způsoben různými druhy polyethylenoxidů.

Proto byly nejprve připraveny roztoky PEO o hmotnostní koncentraci 8 %. Tato koncentrace byla zvolena na základě literatury [30]. V citované studii byly elektrostaticky zvláknovány mj. vodné roztoky PEO ( $M_w$  300 kg/mol) o hmotnostních koncentracích v rozmezí 3–10 % a nejlepších výsledků bylo dosaženo pro roztoky o koncentraci 7 a 8 hm. % [30]. Při přípravě roztoků se však ukázalo, že je zvolená 8 hm. % koncentrace příliš vysoká, neboť vzniklé suspenze PEO v destilované vodě byly velmi viskózní (viz tabulka 2) a navážky PEO se v navážkách vody rozpouštěly neúměrně dlouho. Ani po 47 hodinách míchání na třepačce nebyly připravované roztoky homogenní. Pro rychlejší rozpuštění zbylých částecek pevného podílu proto byly tyto roztoky po dobu jedné hodiny ohřívány ve vodní lázni na 40 °C za stálého míchání magnetickou míchačkou. Ani ohřátí však nepomohlo a roztoky byly dále míchány homogenizátorem Ultra Turrax. Během deseti minut tohoto míchání se však roztoky ohřály na teplotu asi 50 °C. Když pak byly tyto 8% roztoky PEO homogenní, bylo u nich proměřeno několik parametrů (viskozita, povrchové napětí, vodivost a pH). Výsledky těchto měření jsou uvedeny v tabulce 2. Do výzkumu však nebyly zahrnuty, neboť mohly být pozměněny „turraxováním“. Homogenizací Ultra Turraxem mohlo dojít např. ke změnám ve struktuře PEO vlivem zvýšené teploty, případně k rozbití některých chemických vazeb v polymerních řetězcích nebo vzniku vzduchových kapslí v roztocích a tím ke snížení viskozity roztoků a tedy i snížení schopnosti vláknění.

Tabulka 2: Hodnoty vodivosti, pH, povrchového napětí a viskozity naměřené u 8 hm. % roztoků PEO.

Použitý PEO	Vodivost [ $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]	pH	povrchové napětí [ $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ ]	Viskozita [ $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ]
400 Meisei	38,5	6,55	63,3	10,049
400 Sp <sup>2</sup>	83,8	8,23	58,9	15,536
300 Sp <sup>2</sup>	90,9	8,17	60,3	2,678



Obrázek 8: Fotografie připravených 8 hm. % roztoků PEO. Zleva: 400 Meisei; 300 Sp<sup>2</sup>; 400 Sp<sup>2</sup>.

Obrázek 8 je fotografií 8 hm. % roztoků vzorků PEO. Tyto roztoky nemohly být elektrostaticky zvlákněny, neboť to nedovolovala jejich vysoká viskozita. Přestože roztok obsahující 300 Sp<sup>2</sup> odpovídal literatuře [30], nepovedlo se jej zvláknit. Další dva roztoky polyethylenoxidů o molární hmotnosti 400 kg/mol pak měly hodnotu viskozity mnohem vyšší, než roztok 300 Sp<sup>2</sup>, a proto vůbec nebyly vlákněny.

I tak ale bylo možné pozorovat rozdíly v chování mezi PEO v různých kvalitách. Roztok obsahující 400 Meisei byl průhlednější a spíše šedivý a zdá se, že se tato surovina snáze a lépe rozpouštěla. Roztoky s obsahem PEO od Sp<sup>2</sup> byly nažloutlé, zakalené a neprůhledné až mléčné a vytvářely silný koloidní systém.

#### 4.3 Roztoky o koncentraci 6 hm. % a jejich parametry

Byly připraveny nové roztoky PEO ve vodě, tentokrát se 6 hm. % koncentrací. Tyto roztoky byly poměrně snazší na přípravu, neboť se navážky PEO rychleji rozpouštěly, a zároveň i vhodnější pro porovnávání se 6 hm. % roztoky HA/PEO, které se standardně používají v laboratoři Nanovláken firmy Contipro. Právě u těchto směsných roztoků HA/PEO o hmotnostní koncentraci 6 % a poměru HA/PEO 80/20 byly při předchozích experimentech pozorovány rozdíly v chování při použití různých druhů PEO. Zároveň byly tyto směsné roztoky do výzkumu zahrnuty za účelem zjištění vlivu přítomnosti HA na studované parametry.

Pro každý ze tří studovaných práškových PEO byl připraven jeho vodný roztok o koncentraci 6 hm. %. U těchto roztoků pak byly proměřeny 4 základní roztokové parametry (stejně jako v předchozím případě 8 hm. % roztoků). Průměrné hodnoty vodivosti, pH, povrchového napětí a viskozity jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Hodnoty vodivosti, pH, povrchového napětí a viskozity naměřené u 6 hm. % roztoků PEO.

Použitý PEO	Vodivost [ $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]	pH	povrchové napětí [ $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ ]	Viskozita [ $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ]
400 Meisei	27,4	6,51	61,3	3,917
400 Sp <sup>2</sup>	86,5	8,34	61,0	7,863
300 Sp <sup>2</sup>	105,3	8,20	60,7	0,989

Z hodnot uvedených v této tabulce je patrný vliv deklarované molární hmotnosti rozpuštěných PEO, kdy roztok obsahující 300 Sp<sup>2</sup> má prokazatelně vyšší vodivost než 400 Sp<sup>2</sup>. Tato skutečnost byla očekávána a je standardním projevem snižování molární hmotnosti polymerů. Mimo to byl pozorován rozdíl ve vodivostech roztoků obsahujících PEO o stejné molární hmotnosti ale od různých výrobců. Roztok obsahující 400 Sp<sup>2</sup> má vyšší vodivost než ten se 400 Meisei. PEO dodané společností Sp<sup>2</sup> mají laboratorní kvalitu, která by měla být nižší než kvalita 400 Meisei, která je deklarovaná jako kosmetická. Nižší kvalita znamená nižší procentuální obsah PEO ve vzorku a tedy vyšší obsah nečistot. Podle Certifikátů analýzy obsahuje vzorek 400 Meisei > 99 % PEO, zatímco vzorek 400 Sp<sup>2</sup> obsahuje  $\geq 95$  % PEO. Jako nečistoty jsou v Certifikátu analýzy uvedeny hydroxid hlinitý, amorfni oxid křemičitý a vápenaté soli. A právě tyto nečistoty jsou pravděpodobně příčinou vyšší vodivosti.

Povrchové napětí se u všech tří roztoků měnilo jen nepatrně a není u něj patrný vliv molární hmotnosti. Naměřené hodnoty pH roztoků se u 300 a 400 Sp<sup>2</sup> lišily jen minimálně. Dramatický pokles byl ale pozorován u 400 Meisei, což by později mohlo mít za následek snížení pH finálního produktu po rozpuštění při aplikaci. Vyšší hodnoty pH u PEO dodaných Sp<sup>2</sup> mohou být způsobeny vyšším obsahem mírně alkalických nečistot, jak bylo zmíněno výše.

Nyní budou porovnány hodnoty zkoumaných parametrů naměřené pro 8 hm. % (tabulka 2) a 6 hm. % (tabulka 3) roztoky. Z těchto tabulek je patrné, že se se změnou koncentrace PEO v roztoku nijak výrazně nezměnily hodnoty vodivosti, pH ani povrchového napětí. Snižováním hmotnostní koncentrace roztoků o 2 % však ve všech třech případech poklesla hodnota viskozity přibližně o polovinu. Tím byl tedy odstraněn hlavní faktor bránící zvláknění 8% roztoků a 6% roztoky PEO tak mohly být elektrostaticky zvlákněny.

Elektrostatickým zvlákněním roztoků PEO se zabývalo mnoho vědeckých skupin. Např. Janković a kol. zvlákněval vodný roztok PEO ( $M_w$  400 kg/mol) o hmotnostní koncentraci 3 %. Vlákna byla z tohoto roztoku vytvořena nastavením rychlosti dávkování na 1,8 ml/h, vzdálenosti mezi elektrodami 17 cm a vložením elektrického napětí o velikosti 20 kV [29]. Stejný roztok zvlákněval také Rošic a kol. a vlákna z něj autoři připravili nastavením stejné rychlosti dávkování i vzdálenosti mezi elektrodami. Jedině vkládané elektrické napětí mělo vyšší hodnotu, a to 25 kV [31]. Posledním příkladem může být již několikrát diskutovaná studie, kterou publikoval Son a kol. Ta se zabývá mj. zvlákněním vodných roztoků PEO ( $M_w$  300 kg/mol) o hmotnostních koncentracích 3–10 %. Rychlost dávkování roztoku byla



nastavena na 3 ml/h, vzdálenost elektrod na 6–24 cm a hodnota vkládaného elektrického napětí na 13 kV. Z roztoků o koncentraci 5 a 6 hm. % pak vznikly vlákna s korálky; z 3, 4, 7 a 8% roztoků se vytvořila nanovlákna [30].

Námi připravené roztoky s koncentrací PEO 6 hm. % byly zvlákňovány za použití jehlového emitoru a deskového kolektoru a vzdálenosti mezi nimi 20 cm. V tabulce 4 jsou uvedeny základní parametry, které byly nastaveny při zvlákňování těchto roztoků. Rychlost dávkování roztoku a velikost vkládaného napětí byly v průběhu zvlákňování měněny se snahou o dosažení co nejvyšší produktivity a efektivity vláknění. Rychlost proudění vzduchu byla volena tak, aby byl obsah relativní vlhkosti v komoře přibližně 20 % RH.

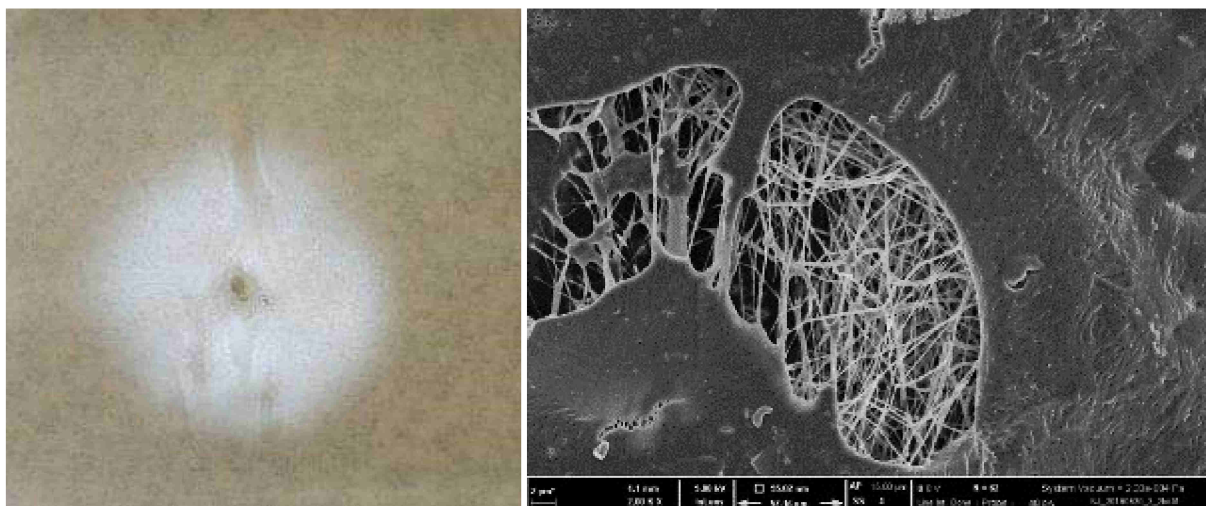
Tabulka 4: Vybrané parametry nastavené při zvlákňování 6 hm. % roztoků PEO.

Použitý PEO	Rychlost dávkování roztoku [ $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	Vkládané napětí [kV]	Proudění vzduchu [ $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ ]
400 Meisei	80–110	45–58	80
400 Sp <sup>2</sup>	101	53	49
300 Sp <sup>2</sup>	101	54	50

Při elektrostatickém zvlákňování roztoku obsahujícího 400 Meisei se z jehly emitoru vytahoval pouze jeden proud polymerního roztoku, který se neštěpil. Na kolektoru se usazovaly jen kapky roztoku. Ani úpravami velikosti vkládaného elektrického napětí a rychlosti dávkování se z tohoto roztoku nevytvořila vlákna. Zvlákňování roztoku se 400 Sp<sup>2</sup> pak bylo velmi podobné. Produkty těchto dvou procesů vláknění nebyly dále analyzovány, neboť se na ploše kolektoru tvořily jen kapky roztoku a produkce nanovláken, vláken, částic ani nanočástic nebyla pozorována.

Pouze z roztoku se 300 Sp<sup>2</sup> se v souladu s literaturou [30] vytvořila vlákna. Průběh tohoto vláknění však také nebyl ideální. Z jehly se vytahoval pouze jeden Taylorův kužel, který se cestou ke kolektoru štěpil, a tak se na kolektoru kromě kapek roztoku ukládala i vlákna o průměrné tloušťce 188 nm. Z pohledu průměrů vytvořených vláken tedy bylo dosaženo lepšího výsledku v porovnání se zmiňovanou studií, neboť v té autoři připravili vlákna o průměru 360 nm [30].





Obrázek 9: Fotografie produktu vlákňení 6 hm. % roztoku obsahujícího 300 Sp<sup>2</sup> a příslušný snímek ze SEM.

Na obrázku 9 se nachází fotografie produktu vlákňení tohoto roztoku obsahujícího 300 Sp<sup>2</sup> a jeho snímek ze SEM. Jak je patrné z tohoto snímku, kvalita nanovlákněné vrstvy je velmi špatná. Průměrná tloušťka vláken byla získána z té části, kde vlákna nebyla spleená nebo slitá v jednolitý film. Pokud by měly být elektrostatičticky vlákňěny čisté roztoky PEO bez ohledu na molární hmotnost nebo zdroj suroviny, bylo by třeba celý proces optimalizovat. To však nebylo cílem této práce.

#### 4.4 Studium vlivu přítomnosti HA na sledované parametry roztoků

V minulé kapitole bylo popsáno chování roztoků připravených z čistého PEO. Tato kapitola bude zaměřena na směsné roztoky HA/PEO, protože právě při zvláknění těchto dnes již klasických směsí byly poprvé pozorovány rozdíly mezi roztoky obsahujícími různé druhy PEO. Vliv molární hmotnosti PEO na proces zvláknění byl popsán již mnohokrát. Poprvé však byl pozorován vliv zdroje PEO se stejnou molární hmotností na průběh elektrospinningu. Proto byly tyto experimenty zopakovány se snahou objasnit příčiny rozdílů mezi procesy zvláknění směsných roztoků HA/PEO obsahujících různé vzorky PEO.

Byly připraveny směsné roztoky o koncentraci 6 hm. % obsahující HA/PEO v hmotnostním poměru 80/20. Stejně jako v případě roztoků čistého PEO byly i u těchto roztoků proměřeny roztokové parametry. Stanovené průměrné hodnoty vodivosti, pH, povrchového napětí a viskozity jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5: Hodnoty vodivosti, pH, povrchového napětí a viskozity naměřené u 6 hm. % roztoků HA/PEO.

Použitý PEO	Vodivost [ $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]	pH	povrchové napětí [ $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ ]	Viskozita [ $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ]
400 Meisei	4 700,0	6,59	59,2	0,689
400 Sp <sup>2</sup>	4 746,7	6,97	56,7	0,873
300 Sp <sup>2</sup>	4 756,7	7,20	59,5	0,482

V této tabulce si lze povšimnout, že se hodnoty každé z uvedených veličin pro jednotlivé roztoky vzájemně nijak významně neliší. Jsou určeny kyselinou hyaluronovou, která v roztoku převažuje nad PEO a tvoří 80 hm. % roztoku. Pro přípravu všech tří roztoků byla použita stejná HA, proto také uvedené hodnoty veličin jsou si vzájemně blízké. Všechny tři tyto roztoky mají přibližně stejnou hodnotu vodivosti i povrchového napětí. Roztoky obsahující PEO od Sp<sup>2</sup> mají (stejně jako v případě 6 hm. % roztoků PEO (viz tabulka 3)) mírně vyšší pH v porovnání se 400 Meisei. Také viskozita těchto směsných roztoků vykazuje stejnou tendenci, jako u čistých 6 hm. % PEO, kdy její hodnota roste v řadě 300 Sp<sup>2</sup> < 400 Meisei < 400 Sp<sup>2</sup>.

Mnohem větší jsou však rozdíly mezi hodnotami jednotlivých veličin (zejm. vodivosti a viskozity) naměřenými pro roztoky s přídavkem HA (tabulka 5) a bez něj (tabulka 3). Pro zjištění vlivu koncentrace HA na hodnoty sledovaných parametrů roztoku byl připraven a proměřen ještě čistý roztok HA o hmotnostní koncentraci 6 %. Hodnoty jeho vodivosti, pH a viskozity jsou uvedeny v tabulce 6.

*Tabulka 6: Hodnoty vodivosti, pH a viskozity naměřené u 6 hm. % roztoku HA.*

<b>Parametr</b>	<b>Hodnota</b>
Vodivost	6 320,0 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$
pH	6,13
Viskozita	0,294 Pa · s

Bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací HA v roztoku klesá viskozita i pH roztoku a velmi výrazně roste vodivost. V porovnání s čistými 6 hm. % roztoky PEO mají směsné roztoky HA/PEO asi 50krát (a v případě 400 Meisei až 170krát) větší vodivost. To je způsobeno přítomností karboxylových skupin, vodíkových a sodných iontů ve struktuře HA, přesněji hyaluronanu sodného. Směsné roztoky HA/PEO také mají v porovnání s čistými roztoky 400 kg/mol PEO podstatně menší viskozitu, protože, jak již bylo popsáno v kapitole 2.6.1.4, viskozita roztoku je určena molární hmotností polymerů. Molární hmotnost HA, která tvoří 80 hm. % roztoku, je pak 82 kg/mol a tedy podstatně menší než molární hmotnosti PEO. Roztok obsahující 300 Sp<sup>2</sup> pak má jako jediný z čistých roztoků PEO hodnotu viskozity srovnatelnou s viskozitami směsných roztoků HA/PEO.

Směsné roztoky HA/PEO s koncentrací 6 hm. % byly (stejně jako čisté 6 hm. % roztoky PEO) zvlákněny za použití jehlového emitru a deskového kolektoru a vzdálenosti mezi nimi 20 cm. V tabulce 7 jsou uvedeny základní parametry, které byly nastaveny při zvláknění těchto roztoků. Stejně jako při zvláknění roztoku PEO byla i v těchto případech vždy na začátku procesu optimalizována rychlost dávkování roztoku, velikost vkládaného napětí i rychlost proudění vzduchu.

Tabulka 7: Vybrané parametry nastavené při zvlákňování 6 hm. % roztoků HA/PEO.

Použitý PEO	Rychlost dávkování roztoku [ $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	Vkládané napětí [kV]	Proudění vzduchu [ $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ ]
400 Meisei	110	50	80
400 Sp <sup>2</sup>	105	50	73
300 Sp <sup>2</sup>	81	50	52

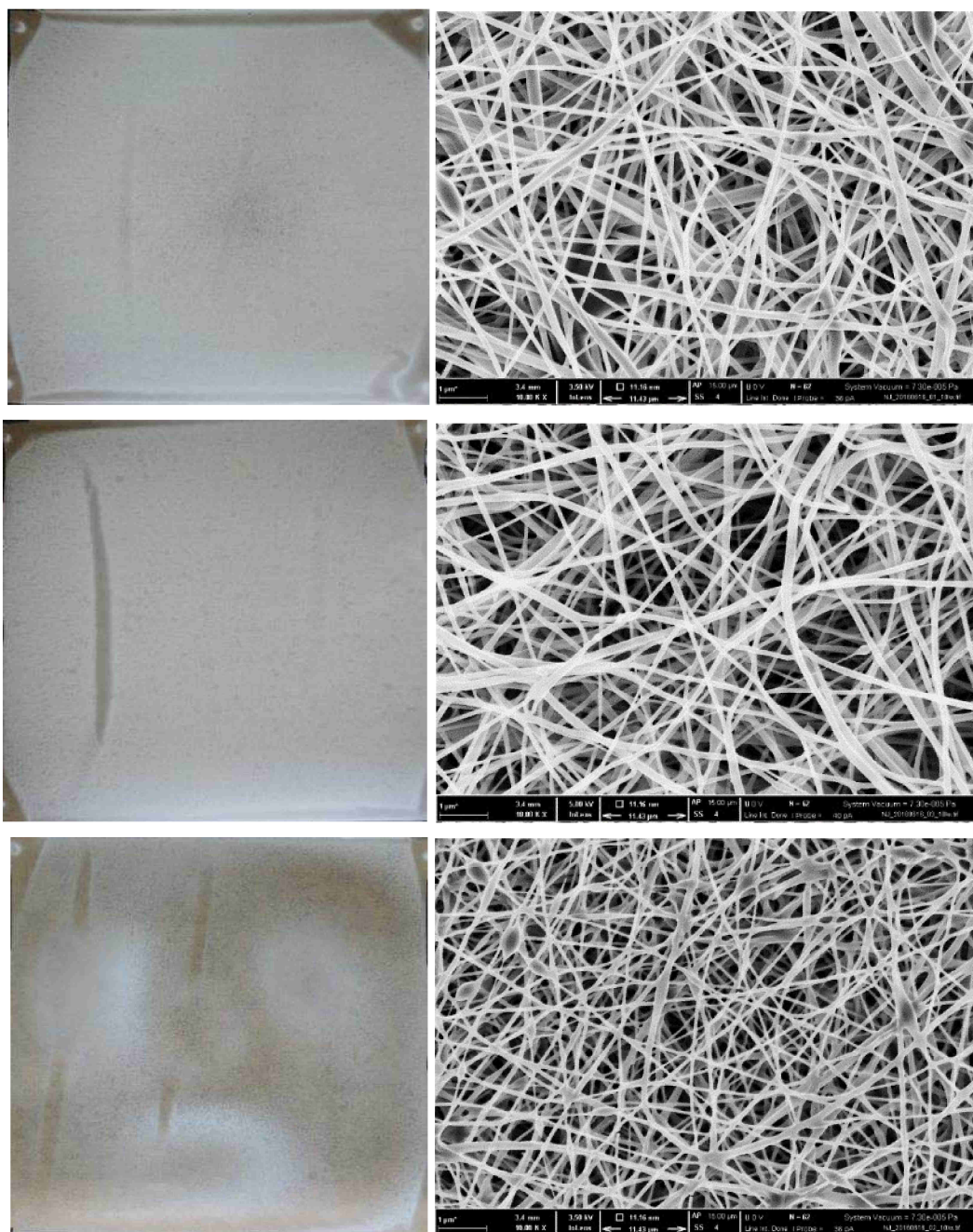
Elektrostatické zvlákňování roztoků HA/PEO obsahujících 400 Meisei a 400 Sp<sup>2</sup> probíhalo po celou dobu ideálním způsobem. Na špičce emitoru se tvořilo několik Taylorových kuželů, proudy polymerního roztoku se cestou ke kolektoru štěpily a na kolektoru vznikala souvislá vrstva nanovláken. Obě připravené vrstvy byly vyfotografovány (viz obrázek 10), zváženy a jejich vzorky byly analyzovány pomocí SEM. Ze zjištěných hmotností pak byla vypočtena produktivita každého z procesů vlákňování a ze získaných SEM snímků byly odečteny průměrné hodnoty tloušťky vytvořených vláken. Výsledné hodnoty těchto stanovení jsou uvedeny v tabulce 8, kde je patrné, že v porovnání obou PEO s molární hmotností 400kg/mol vykazují vyšší produktivitu 400 Meisei.

Vlákňování roztoku HA/PEO obsahujícího 300 Sp<sup>2</sup> bylo o poznání horší. Ne všechna vlákna dopadající na kolektor byla dostatečně suchá a tak na kolektoru vznikaly i mokré skvrny. Důvodem této snížené schopnosti vlákňování pak mohla být např. menší viskozita, kterou tento roztok se 300 Sp<sup>2</sup> měl v porovnání s dalšími dvěma směsnými roztoky. Také produkt tohoto vlákňování byl vyfotografován, zvážen a zobrazen pomocí SEM. Následně pak byla stanovena průměrná tloušťka vytvořených vláken a produktivita zvlákňovacího procesu. Výsledky jsou uvedeny opět v tabulce 8.

Porovnáme-li schopnost vlákňování čistých a směsných roztoků, zjistíme, že čistý 6 hm. % roztok obsahující 300 Sp<sup>2</sup> má přibližně stejnou viskozitu jako všechny směsné roztoky HA/PEO, jejichž elektrostatické zvlákňování probíhalo takřka bez problémů. Tento čistý roztok 300 Sp<sup>2</sup> měl také v porovnání s ostatními dvěma čistými roztoky největší schopnost vlákňování, i když kvalita vláken nebyla dostačující. Z toho lze usuzovat, že viskozita polymerního roztoku zásadním způsobem ovlivňuje průběh zvlákňování a že další dva 6 hm. % roztoky PEO mají sníženou schopnost vlákňování kvůli jejich příliš vysoké viskozitě. Oba tyto závěry pak jsou v souladu s tvrzeními Pelipenka a kol. [5] a Bhardwaje a kol. [4], které byly popsány v teoretické části.

Zdá se však, že kromě viskozity roztoku průběh zvlákňování významně ovlivňuje i jeho vodivost. Jak bylo popsáno výše, čistý 6 hm. % roztok obsahující 300 Sp<sup>2</sup> má díky své viskozitě ze všech připravených čistých 6 hm. % roztoků PEO nejvyšší schopnost vlákňování. V porovnání se směsnými roztoky HA/PEO je však tato jeho schopnost, jak již bylo řečeno, výrazně nižší a ani kvalita vláken není vysoká. Příčinou této nižší schopnosti vlákňování pak může být hodnota jeho vodivosti, která je asi 50krát menší v porovnání s průměrnými hodnotami vodivosti stanovenými u směsných roztoků HA/PEO. I tato teze je pak v souladu s literaturou, neboť vliv vodivosti na schopnost vlákňování polymerních roztoků byl již

mnohokrát studován se závěrem, že roztoky s nízkou vodivostí nemohou být elektrostaticky zvlákněny [4; 36].



Obrázek 10: Fotografie a snímky ze SEM produktů vláknění roztoků HA/PEO. Shora: s obsahem 400 Meisei; 400 Sp<sup>2</sup>; 300 Sp<sup>2</sup>.

Tabulka 8: Výsledky vláknění roztoků HA/PEO

Použitý PEO	Průměr vláken [nm]	Výrobnost [g · min <sup>-1</sup> ]	Plošná hmotnost [g · m <sup>-2</sup> ]	Produktivita [g · min <sup>-1</sup> · m <sup>-2</sup> ]
400 Meisei	119	0,0080	4,44	0,148
400 Sp <sup>2</sup>	101	0,0066	3,64	0,122
300 Sp <sup>2</sup>	87	0,0053	2,96	0,099

## 4.5 Charakterizace zdrojového materiálu

Při měření základních roztokových parametrů (viskozity, pH, povrchového napětí a vodivosti) byly mezi jednotlivými roztoky pozorovány rozdíly ve stanovených hodnotách. Dosud jsme se zabývali především vlivem těchto rozdílů na proces elektrostatického zvláknování. V následující kapitole se však pokusíme nalézt příčiny těchto rozdílů. Za tímto účelem byly studované vzorky PEO charakterizovány množstvím analytických, termických a spektrálních metod.

### 4.5.1 Ověření molární hmotnosti

Základním parametrem ovlivňujícím rheologické i elektrické vlastnosti polymeru je molární hmotnost. Její vliv na elektrostatické zvláknování je rozebrán v kapitole 2.6.1.1. Protože jsme při dosavadních měřeních pozorovali významné rozdíly mezi roztoky studovaných vzorků PEO bez přítomnosti HA (tabulka 3), byla u jednotlivých PEO ověřena jejich molární hmotnost metodou HPLC (vysokotlaké kapalinové chromatografie).

Touto metodou bylo zjištěno, že studované vzorky PEO mají přibližně stejnou hodnotu polydisperzity. Ve všech třech případech se stupeň polydisperzity pohyboval okolo 1,6 a disperzita tedy nemohla mít vliv na chování PEO v roztoku a průběh zvláknování.

Molární hmotnost deklarovaná pro oba vzorky PEO od Sp<sup>2</sup> byla potvrzena (400 kg/mol a 270 kg/mol). U PEO dodaného společností Meisei však bylo zjištěno, že tato látka nemá molární hmotnost 400 kg/mol, jak uvádí výrobce, ale pouze 294 kg/mol. Proto budou od této chvíle vzájemně porovnávány výsledky zjištěné u roztoků obsahujících PEO od Meisei s těmi příslušejícími roztokům se 300 Sp<sup>2</sup>. Protože však vzorek PEO od Meisei byl doposud označován jako 400 Meisei, bude takto označován i nadále, aby nedocházelo ke zmatkům.

Ve světle zjištěných skutečných molárních hmotností se můžeme vrátit k rozdílným hodnotám viskozit 6 hm. % roztoků PEO. Tyto stanovené hodnoty původně nedávaly smysl. Nyní však, když známe skutečnou molární hmotnost 400 Meisei, tato data potvrzují skutečnost, že s rostoucí hodnotou molární hmotnosti polymeru roste i hodnota viskozity jeho roztoku [4]. Viskozita roztoků pak úzce souvisí s jejich schopností vláknění, jak bylo popsáno již v kapitole 2.6.1.4. Na druhou stranu, reálná molární hmotnost nevysvětluje výrazně vyšší viskozitu čistého roztoku obsahujícího 400 Meisei v porovnání s 300 Sp<sup>2</sup> a z toho vyplývající neschopnost vláknit. U směsných roztoků HA/PEO není rozdíl v hodnotách viskozit tolik výrazný, neboť hodnotu viskozity určuje především HA, a 400 Meisei vykazuje nejvyšší produktivitu.

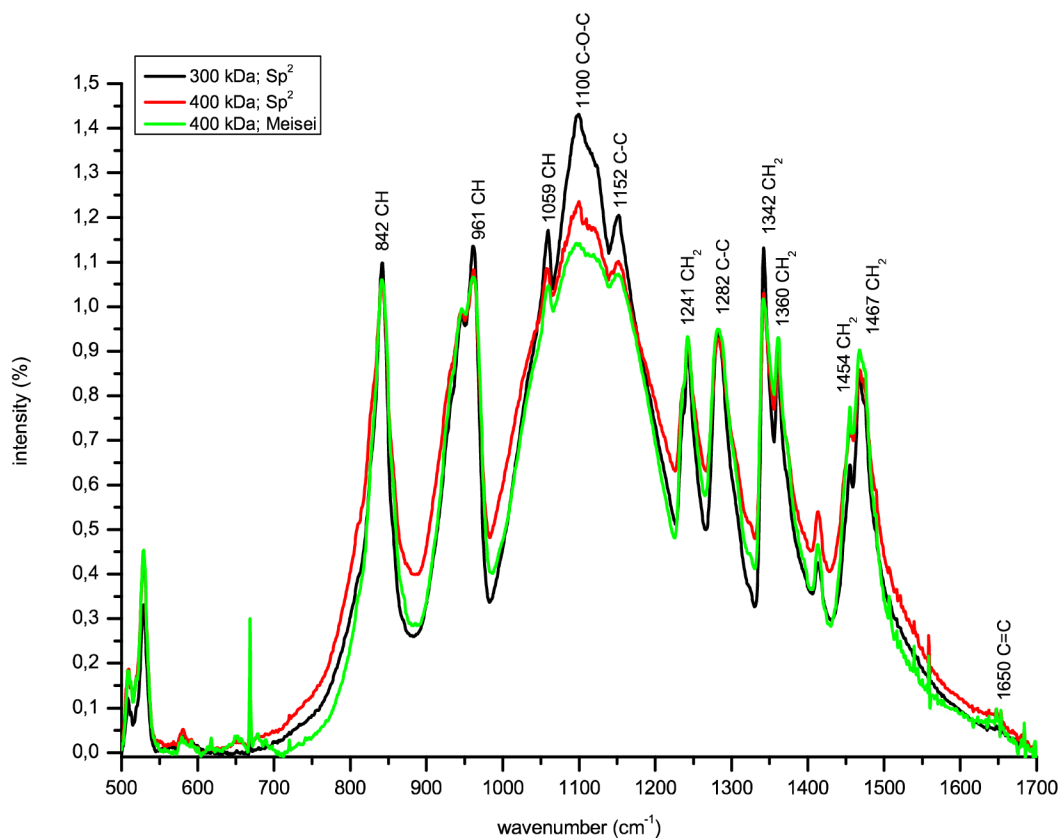


#### 4.5.2 Analýza infračervených a Ramanových spekter

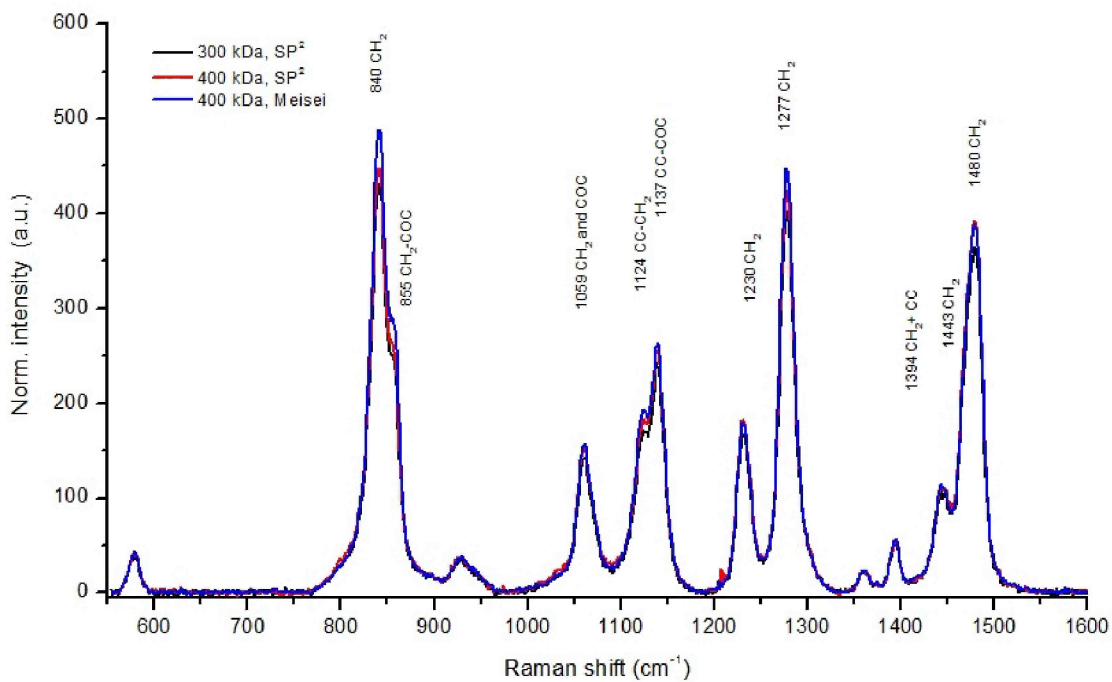
FTIR a Ramanova spektroskopie jsou metody vhodné k ověření chemické struktury látek a případně k detekci nečistot, jestliže jsou obsaženy ve větším množství. Tyto metody jsou používány k sobě navzájem jako doplňkové a patří k metodám, které jsou levné, poměrně rychlé a především v případě Ramanovy spektroskopie často nedestruktivní [56; 72].

FTIR analýza studovaných vzorků PEO byla provedena technikou KBr tablet. Ramanova spektra byla sejmuta také z tablet. Ty však byly vylisovány pouze ze studovaných vzorků PEO bez jakýchkoliv dalších přísad. Získaná FTIR i Ramanova spektra byla následně upravena a popsána pomocí počítačového programu Origin a vzájemně porovnávána. Jak je možno vidět na obrázku 11 a 12, ani jednou z těchto metod nebyl zjištěn významný rozdíl mezi studovanými vzorky PEO. Pásky ve spektrech mají stejné umístění a liší se pouze v intenzitách. Hlavní pásky v infračerveném spektru byly připsány následujícím vazbám:  $1\ 100\ \text{cm}^{-1}$  C-O-C;  $1\ 152$  a  $1\ 282\ \text{cm}^{-1}$  C-C;  $842$ ,  $961$ , a  $1\ 059\ \text{cm}^{-1}$   $\gamma(\text{CH})$ ;  $1\ 342$  a  $1\ 360\ \text{cm}^{-1}$   $\delta(\text{CH})$ ;  $1\ 241$ ,  $1\ 454$  a  $1\ 467\ \text{cm}^{-1}$   $\delta(\text{CH}_2)$ ;  $1\ 560\ \text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{C})$ . V Ramanském spektru pak byly vlnočty  $840$ ,  $1\ 230$ ,  $1\ 277$ ,  $1\ 443$  a  $1\ 480\ \text{cm}^{-1}$  připsány vazbě  $\text{CH}_2$ ;  $855\ \text{cm}^{-1}$   $\text{CH}_2\text{-COC}$ ;  $1\ 059\ \text{cm}^{-1}$   $\text{CH}_2$  a  $\text{COC}$ ;  $1\ 124\ \text{cm}^{-1}$   $\text{CC-CH}_2$ ;  $1\ 137\ \text{cm}^{-1}$   $\text{CC-COC}$  a  $1\ 394\ \text{cm}^{-1}$  vazbám  $\text{CH}_2$  a  $\text{CC}$ .

Malé rozdíly v intenzitách pásků mohly být způsobeny odlišnými molárními hmotnostmi vzorků nebo nestejnými experimentálními podmínkami, přestože jsme se je snažili co nejvíce zachovat. V těchto spektrech také nejsou patrné žádné nečistoty. Otázkou však zůstává, zda ve vzorcích opravdu nejsou žádné nečistoty přítomny nebo zda jsou přítomné nečistoty pod hranicí detekce těchto metod.



Obrázek 12: FTIR spektra sejmá pro studované vzorky PEO: černě 300  $\text{Sp}^2$ ; červeně 400  $\text{Sp}^2$ ; zeleně 400 Meisei.



Obrázek 11: Ramanova spektra sejmá pro studované vzorky PEO: černě 300  $\text{Sp}^2$ ; červeně 400  $\text{Sp}^2$ ; modře 400 Meisei

### 4.5.3 Stanovení krystalinity, bodu tání a termooxidační stability

Z chromatogramu, infračervených ani Ramanových spekter nelze stanovit krystalinitu, bod tání a termooxidační stabilitu, tedy parametry, které je nutné znát, aby byla charakterizace studovaného vzorku kompletní. Např. krystalinita může mít vliv na samouspořádávání nebo uspořádávání pod vlivem vysokého elektrického napětí a tedy na tvorbu vláken. Tyto parametry lze stanovit metodami termické analýzy (např. TGA a DSC), které sledují změny složení a vlastností vzorku při tepelném zatížení.

Metodou DSC byly analyzovány vzorky PEO ve formě jejich prášků i lyofilizované 6 hm. % roztoky PEO. Jak je uvedeno v tabulce 9, mezi studovanými vzorky PEO ve formě prášku byly zjištěny jen poměrně malé rozdíly v krystalinitě, kdy prášek 400 Meisei má asi o 4 % vyšší podíl krystalinity v porovnání s 300 Sp<sup>2</sup>. Podíly krystalinity stanovené pro jednotlivé lyofilizáty se vzájemně neliší a jsou nižší v porovnání s hodnotami stanovenými pro stejné vzorky PEO, ale ve formě prášků. Zdá se, že rozdíl v krystalinitě mezi práškem a lyofilizátem může být způsoben formou sušení. Dá se předpokládat, že jsou všechny prášky nezávisle na výrobci a molární hmotnosti vyrobeny stejně. V roztoku může dojít k přeuspořádání a snížení krystalinity, která se pak mění ještě formou sušení, za kterou mohou být považovány at' lyofilizace nebo tvorba nanovláken elektrostatickým zvlákňováním. Nicméně je patrné, že krystalinita nebude v tomto případě zásadně ovlivňovat chování roztoku a jeho schopnost vlákňit.

Teplota tání byla u všech vzorků PEO v práškové formě stanovena na  $68 \pm 1$  °C a u všech lyofilizovaných roztoků na  $66 \pm 1$  °C. Krystalinita i teplota tání je u lyofilizovaných vzorků nižší. Zdá se tedy, že spolu tyto dva parametry souvisí. Při teplotě tání dochází k rozpadu krystalické struktury polymeru. Jestliže je tedy podíl krystalické části v polymeru menší, stačí na její rozpad nižší teplota.

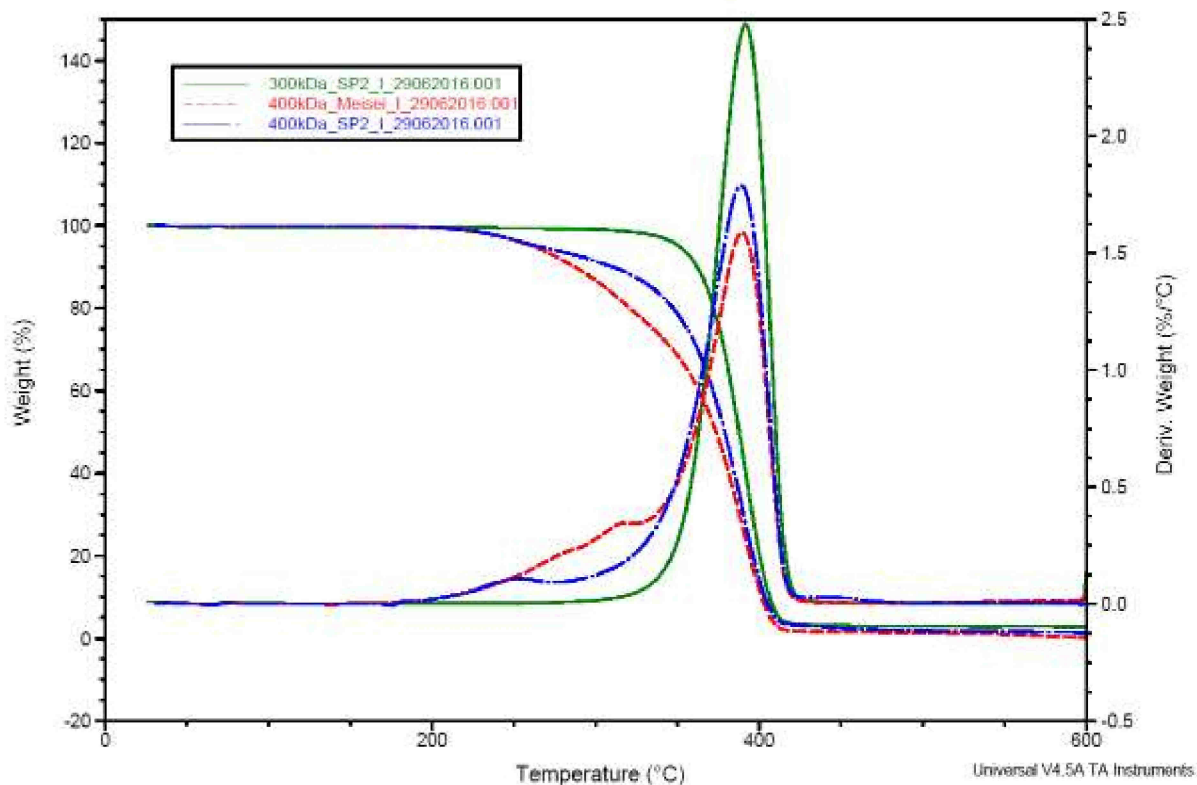
Tabulka 9: Podíl krystalinity stanovený pro studované vzorky PEO v jejich různých formách.

Typ PEO	Prášek/lyofilizát/vlákna	Podíl krystalinity [%]
400 Meisei	prášek	89,5
	lyofilizát	69,5
400 Sp <sup>2</sup>	prášek	81,2
	lyofilizát	69,7
	vlákna	65,6
300 Sp <sup>2</sup>	prášek	85,7
	lyofilizát	70,0

Termogravimetrickou analýzou (TGA) bylo zjištěno, že největší termooxidační stabilitu v dusíkové atmosféře měl vzorek 300 Sp<sup>2</sup>, který degradoval při teplotě 352 °C. Druhý v pořadí pak byl vzorek 400 Sp<sup>2</sup> a nejmenší termooxidační stabilitu měl vzorek 400 Meisei s počáteční teplotou degradace 237 °C. Z termických křivek (viz obrázek 13) je patrné, že 400 Sp<sup>2</sup> může obsahovat látky, které se začínají degradovat na stejné teplotě jako u 400 Meisei, nicméně jejich obsah je menší ve srovnání právě se 400 Meisei, kde degradace probíhá už u nižších teplot. Z HPLC vyplynulo, že polydisperzita je u všech použitých PEO



stejná, a podle certifikátů analýzy obsahují PEO od Sp<sup>2</sup> více nečistot. Křivky ale ukazují, že i 400 Meisei obsahuje látky, které se rozpadají, ve větší koncentraci.



Obrázek 13: Analýza termooxidační stability metodou TGA: zeleně 300 Sp<sup>2</sup>; červeně 400 Meisei; modře 400 Sp<sup>2</sup>.

#### 4.5.4 Stanovení sušiny a popela

Dalšími dvěma důležitými parametry charakterizujícími vzorek jsou sušina a popel. Obsah sušiny je důležitý např. při navažování vzorku a následném kvantitativním vyhodnocení. Jestliže je vzorek sušší, navažíme jej více (jeho navážka obsahuje více polymeru a méně vody) a vzniklý polymerní roztok pak má vyšší viskozitu atd. Popel organických polymerů je tvořen pouze nečistotami. Jeho obsah je tedy roven obsahu nečistot ve vzorku.

Sušina byla u vzorků PEO stanovena dvěma způsoby. Jedno stanovení bylo provedeno metodou, která není certifikovaná a kterou laboratoř Nanovláken společnosti Contipro používá spíše k orientačnímu stanovení sušiny. Druhé stanovení pak bylo zadáno Kontrolní analytické laboratoři společnosti Contipro. Pro toto stanovení byla zvolena certifikovaná, avšak nevhodná metoda, která je primárně určena pro vzorky HA, a studovaný materiál se během sušení roztekl. Naměřené hodnoty sušiny a popela se proto musí brát s velkou rezervou. Výsledky stanovené oběma metodami jsou uvedeny v tabulce 10, kde je patrný značný rozdíl mezi hodnotami sušiny stanovenými certifikovanou a necertifikovanou metodou. Certifikované metodě však ubírá na důvěryhodnosti tání vzorků a záporná hodnota popela stanovená u vzorku 400 Meisei. Naopak necertifikované metodě na věrohodnosti přidává Certifikát analýzy, který ke svému produktu dodala společnost Meisei a ve kterém je

uvedeno, že by tento vzorek 400 Meisei měl mít sušinu  $\geq 98$  %. Tato data podporují také výsledky z TGA, kdy při ověřování metody byla stanovena sušina prášku 400 Sp<sup>2</sup> 99,2 %. Metoda pro stanovení sušiny ve vzorcích HA není pro polyethylenoxydy vyhovující. Necertifikovanou metodou však nelze stanovit popel. Výsledky stanovení sušiny a popela nebudou brány v potaz, protože nedávají relevantní data.

Tabulka 10: Hodnoty sušiny a popela stanovené pro vzorky PEO dvěma odlišnými metodami.

PEO	Metoda	Sušina [%]	Popel [%]
400 Meisei	Certifikovaná	90,7	- 0,2
	Necertifikovaná	99,7	x
400 Sp <sup>2</sup>	Certifikovaná	94,7	1,5
	Necertifikovaná	99,7	x
300 Sp <sup>2</sup>	Certifikovaná	92,7	1,8
	Necertifikovaná	99,8	x

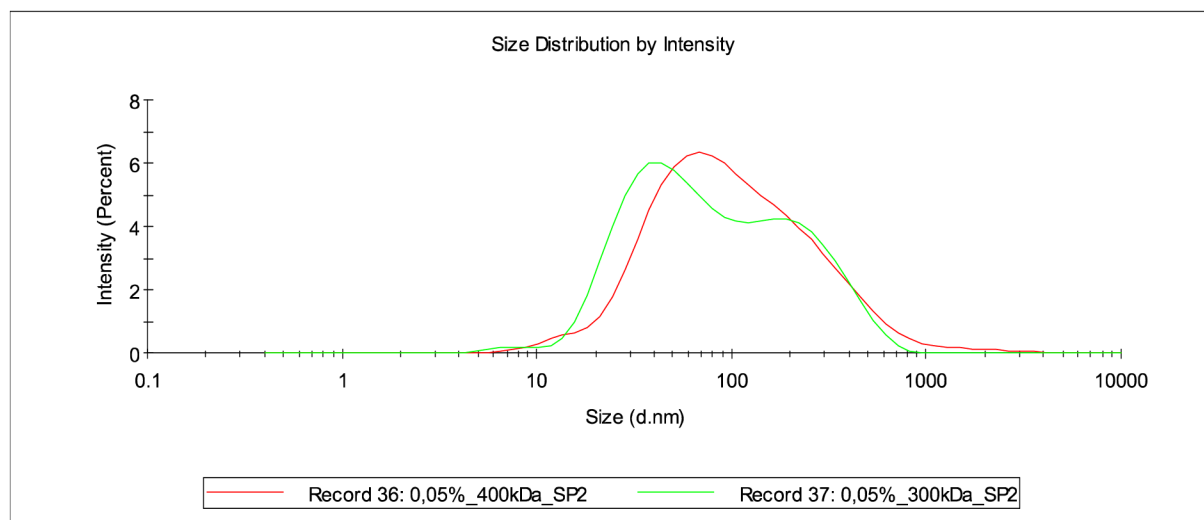
#### 4.5.5 Stanovení velikosti částic a zeta potenciálu

Posledními dvěma parametry, které byly stanoveny pro charakterizaci zdrojového materiálu, byla velikost částic a zeta potenciál. Oba tyto parametry ovlivňují vlastnosti roztoku – velikost částic ovlivňuje viskózní chování kapalin (s rostoucí velikostí částic roste viskozita roztoku) [73] a zeta potenciál určuje především stabilitu roztoku.

Pro stanovení zeta potenciálu a velikosti částic na přístroji Zetasizer Nano bylo nutno připravit roztoky PEO o hmotnostní koncentraci 0,5 %, neboť doposud studované 6 hm. % roztoky byly pro toto měření příliš viskózní. Při analýze velikosti částic obsažených v 0,5 hm. % roztocích vzorků však bylo zjištěno, že mají tyto roztoky velmi vysokou polydisperzitu. Na stupnici od 0 do 1 měly zkoumané vzorky polydisperzitu 0,8–1, což značí, že roztok obsahuje velké množství různě velkých částic s rozměry od nejmenších po největší. Kvantitativní vyhodnocení by bylo nemožné a naměřené výsledky tedy byly nepoužitelné. Proto byly roztoky o hmotnostní koncentraci 0,5 % postupně naředěny až na konečnou koncentraci 0,05 hm. %, kdy bylo dosaženo lepších, avšak zdaleka ne ideálních výsledků. Ve výsledcích analýzy DLS studovaných polymerních roztoků by měl být v případě úzké distribuce velikostí ideálně jeden pás příslušející molekulám PEO a případně ještě jeden malý pás prachu o velikosti okolo 500 nm. Ve výsledcích naměřených pro oba roztoky PEO (Sp<sup>2</sup>) byly pozorovány široké a dvojité pásy (viz obrázek 14), kdy 400 Sp<sup>2</sup> vykazuje přítomnost částic převážně okolo 70 nm, přestože je z obrázku patrná přítomnost dalšího pásu na 220 nm projevující se jako rameno na hlavním pásu a malý pás na 13 nm. Vzorek 300 Sp<sup>2</sup> pak již zřetelně vykazuje dva pásy, a tedy minimálně dva rozměry částic s maximem na 42 nm a opět na 220 nm. U tohoto vzorku byl také detekován malý pás na cca 7 nm. Oba roztoky PEO od Sp<sup>2</sup> tedy obsahují minimálně tři velikosti částic.

Roztok obsahující 400 Meisei byl metodou DLS neměřitelný, protože v něm plavaly drobné částice nerozpustného podílu, které rušily měření a způsobovaly příliš vysokou polydisperzitu. Tyto částice jsou pozorovatelné pouze u velmi zředěných roztoků, a proto dříve nebyly pozorovány u studovaných 8 ani 6 hm. % roztoků. Tím, že zvláknovací roztoky

musely být 120krát naředěny (z 6 hm. % na 0,05 hm. %), nedá se z chování naředěných roztoků odvozovat nic o koncentrovaných. Dalším problémem je, že u zpracování DLS se předpokládá kulový tvar částic, což je možné předpokládat u částic nízkomolekulárních nikoli u dlouhých polymerních řetězců.



Obrázek 14: DLS křivky naměřené pro 0,05 hm. % roztoky PEO: červeně 400 Sp<sup>2</sup>; zeleně 300 Sp<sup>2</sup>.

Pro měření zeta potenciálu mohly být použity dvakrát větší koncentrace než u měření metodou DLS. V 0,1 hm. % roztoku obsahujícím 400 Meisei však byly opět pozorovány drobné částičky, které v roztoku plavaly a nesedimentovaly, a proto u něj zeta potenciál nemohl být stanoven.

Obvykle se hodnota zeta potenciálu pohybuje v rozmezí mezi 0–200 mV a jsou možné kladné i záporné hodnoty v závislosti na převažujícím náboji částice [74]. Jako dělicí čára mezi stabilní a nestabilní suspenzí se většinou uvádí +30 nebo –30 mV. Jestliže mají všechny částice v suspenzi velký kladný nebo záporný potenciál zeta (tedy mimo uvedené meze), inklinují ke vzájemnému odpuzování, nemají tendenci flokulovat (vločkovat) a daný roztok je stabilní. Naopak jestliže mají částice hodnoty zeta potenciálu nízké, neexistuje žádná síla k tomu, aby jim zabránila se shlukovat a flokulovat [69; 75]. Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím potenciál zeta je pak pH.

Pro 0,1 hm. % roztok 300 Sp<sup>2</sup> byl stanoven zeta potenciál o hodnotě přibližně –7 mV (při pH = 8,79) a pro roztok 400 Sp<sup>2</sup> přibližně –3 mV (pH = 8,44). Zeta potenciály obou roztoků tedy nabývají mírně záporných hodnot, což může být způsobeno nepatrně záporným nábojem PEO obsahujícího na konci polymerního řetězce hydroxylovou skupinu. Podle výše uvedených mezí stability jsou pak tyto roztoky nestabilní.

Popsané metody stanovení velikosti částic a zeta potenciálu, podobně jako stanovení sušiny a popela, neposkytly data, která by byla relevantní ke zvláknovaným roztokům. Tyto dvě metody jsou totiž primárně určeny pro analýzu nízkomolekulárních látek, u kterých se dá předpokládat stejné chování jejich zředěných i koncentrovaných roztoků. Polymerní látky se však chovají jinak. Pro vzorek 400 Meisei se velikost částic ani zeta potenciál nepodařilo naměřit, a proto nemohou být všechny tři studované vzorky PEO vzájemně porovnávány. Pro elektrostatické zvláknování musí roztok obsahovat dostatečný počet zapletení

polymerních řetězců a ten zpravidla roste s koncentrací polymeru v roztoku. Studované 6 hm. % roztoky vzorků však musely být 60krát, resp. 120krát naředěny a tudíž nám nepodávají informaci o schopnosti vláknění.

#### 4.6 Studium vlivu sterilizace roztoků vzorků

Dosud byly roztoky vybraných polyethylenoxidů studovány za standardních laboratorních podmínek. Jestliže však v budoucnosti najdou produkty vláknění těchto roztoků využití např. v medicíně, bude nutné zajistit jejich sterilitu. Z tohoto důvodu je nutné zjistit, jaký vliv má sterilizace na schopnost vláknění studovaných roztoků. A protože se tyto roztoky za standardních podmínek laboratoře vzájemně lišily, lze se domnívat, že tyto rozdíly budou patrné i po sterilizaci. Možností sterilizace je několik – parní sterilizace, gama záření a ethylenoxid. Poslední dvě jmenované techniky bývají aplikovány na závěr celého výrobního procesu. Oproti tomu parní sterilizace může být použita již v průběhu jeho přípravy, kdy je za účelem snížení kontaminace mikroorganismy vysterilizován zvláknovací roztok a po zbytek času je s ním pracováno v čistém režimu.

Výzkum byl tedy rozšířen o studium vlivu parní sterilizace připravených roztoků PEO, resp. směsných roztoků HA/PEO na jejich základní roztokové vlastnosti a (především) jejich zvláknovací proces. V rámci tohoto studia byly vzájemně porovnávány hodnoty naměřené pro 6 hm. % roztoky PEO před sterilizací a po ní a dále 6 hm. % roztoky HA/PEO před a po sterilizaci. Roztoky byly sterilizovány horkou parou pomocí autoklávu. Protože by však HA vysokou teplotou degradovala (a tím by mohla vzrůst polydisperzita), byly sterilizovány nejdříve roztoky obsahující pouze PEO, a to v takovém množství, aby až se k nim po vysterilizování a vychladnutí přidá HA s nízkým obsahem mikroorganismů, vznikly 6 hm. % roztoky HA/PEO v hmotnostním poměru 80/20.

Stejně jako dříve byly u všech sterilních roztoků proměřeny 4 základní parametry (viskozita, pH, vodivost a povrchové napětí), dále byly tyto roztoky elektrostaticky zvlákněny a u vytvořených vrstev byla stanovena produktivita a průměrná tloušťka vzniklých nanovláken. U každého ze vzorků pak byly vzájemně porovnávány výsledky těchto měření pro sterilní a nesterilní roztok; tedy tabulka 11 s tabulkou 3 a tabulka 11 s tabulkou 5.

*Tabulka 11: Hodnoty vodivosti, pH, povrchového napětí a viskozity naměřené u sterilních 6 hm. % čistých roztoků PEO a směsných roztoků HA/PEO.*

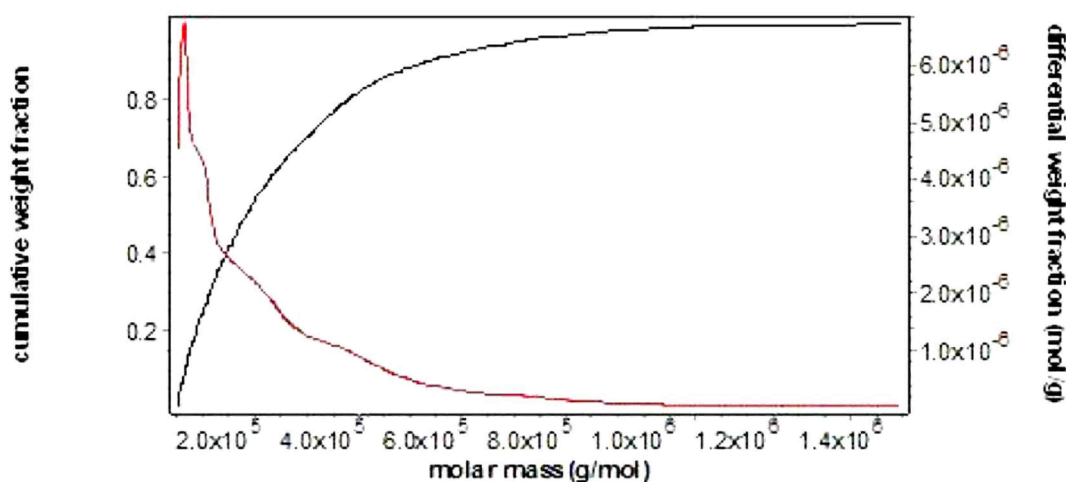
Typ roztoku	Použitý PEO	Vodivost [ $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]	pH	povrchové napětí [ $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ ]	Viskozita [ $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ]
čistý	400 Meisei	49,1	6,38	60,9	1,674
	400 Sp <sup>2</sup>	22,2	8,97	59,8	9,318
	300 Sp <sup>2</sup>	85,9	8,83	60,1	0,958
směsný	400 Meisei	4 378,00	6,14	58,3	0,352
	400 Sp <sup>2</sup>	4 004,00	7,78	59,4	0,793
	300 Sp <sup>2</sup>	4 322,00	7,57	60,8	0,421

Tak bylo zjištěno, že parní sterilizace zásadně neovlivňuje povrchové napětí ani pH studovaných roztoků. Jejím působením se však výrazně snížila hodnota viskozity čistých i směsných roztoků obsahujících 400 Meisei a to z 3,9 na 1,7 Pa·s u čistých roztoků PEO a z 0,7 na 0,4 Pa·s u směsných roztoků HA/PEO. Viskozita roztoku tedy vlivem sterilizace klesla téměř na polovinu původní hodnoty. Tento dramatický pokles pak sám o sobě může mít za následek sníženou schopnost vláknit.

Vodivost čistých 6 hm. % roztoků 400 Sp<sup>2</sup> po sterilizaci rapidně poklesla (z původních 87 na 22 μS·cm<sup>-1</sup>). V případě směsných roztoků HA/PEO obsahujících 400 Sp<sup>2</sup> vodivost vlivem sterilizace poklesla také, avšak rozdíl mezi vodivostmi stanovenými před sterilizací a po ní není tolik výrazný (ze 4 747 na 4 004 μS·cm<sup>-1</sup>). Jak již bylo zmíněno výše, hodnota vodivosti je ve směsných roztocích určena kyselinou hyaluronovou, která v těchto roztocích hmotnostně převažuje nad PEO a která má sama o sobě mnohem vyšší vodivost v porovnání s PEO (hodnota vodivosti byla u 6 hm. % roztoků PEO stanovena nejvýše na 105 μS·cm<sup>-1</sup> a u 6 hm. % roztoků HA na 6 320 μS·cm<sup>-1</sup>). Výrazné snížení vodivosti PEO se tak na celkové vodivosti směsného roztoku HA/PEO projeví jen minimálně.

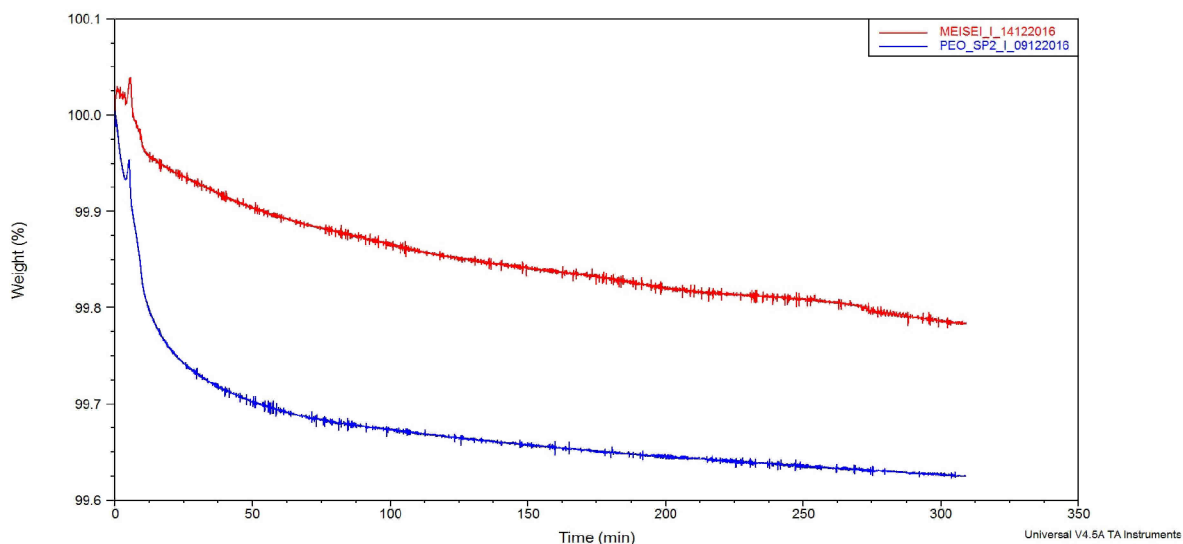
U sterilních roztoků PEO byla znovu stanovena molární hmotnost PEO metodou HPLC. U směsných sterilních roztoků HA/PEO toto měření nemělo smysl, neboť byly do autoklávu vloženy pouze roztoky PEO a HA v nich byla rozpuštěna až dodatečně. Metodou HPLC bylo zjištěno, že se u všech zkoumaných vzorků po sterilizaci snížila jejich molární hmotnost. V případě PEO od Meisei klesla z původních 294 kg/mol na 262 kg/mol a v případě PEO od Sp<sup>2</sup> z 270 kg/mol na 253 kg/mol, resp. ze 400 kg/mol na 383 kg/mol. Největší pokles molární hmotnosti byl tedy pozorován u 400 Meisei. U roztoků tohoto vzorku také došlo k největšímu poklesu viskozity vlivem sterilizace. Opět je tedy potvrzeno, že molární hmotnost a viskozita spolu vzájemně úzce souvisí. Snížení molární hmotnosti 400 Meisei také může být důvodem, proč u čistého roztoku tohoto vzorku po sterilizaci vzrostla vodivost, neboť, jak již bylo popsáno výše, s klesající molární hmotností roste vodivost roztoku.

Z výsledků HPLC dále vyplývá, že polydisperzita vzrostla vlivem sterilizace asi o jednu desetinu a zůstala u všech tří roztoků přibližně stejná, tedy v rozmezí 1,7–1,8. Ze zvýšení polydisperzity pak lze usuzovat, že se v autoklávu PEO degraduje a ve směsi je přítomno větší rozpětí molárních hmotností.



Obrázek 15: Distribuční analýza sterilního roztoku 300 Sp<sup>2</sup>.

Pro simulaci procesu sterilizace byla použita TGA. Vzorky 400 Meisei a 400 Sp<sup>2</sup> byly ve formě prášků ohřáty na teplotu 121 °C, která byla použita při sterilizaci jejich roztoků. Tato teplota pak byla udržována po dobu 300 minut. Z obrázku 16, který je výsledkem této analýzy, je patrné, že k většímu úbytku hmotnosti dochází u vzorku 400 Sp<sup>2</sup> v porovnání se 400 Meisei. Rozdíl mezi nimi je však v řádu desetin procenta a tudíž zanedbatelný. Zdá se tedy, že je PEO ve formě prášku stabilní, avšak po rozpuštění svou stabilitu ztrácí. Vlivem vysoké teploty a rozpouštědla tedy dochází k jeho degradaci.

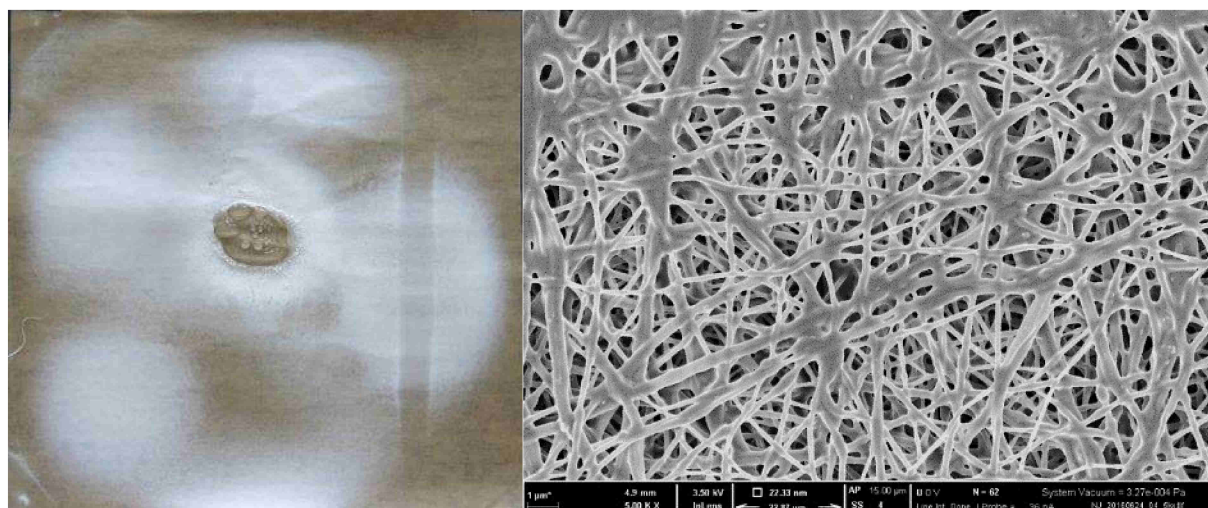


Obrázek 16: Úbytek hmotnosti vzorku PEO při stálé teplotě 121°C: červeně 400 Meisei; modře 400 Sp<sup>2</sup>.

Z čistých 6 hm. % roztoků PEO po sterilizaci byl elektrostaticky zvlákňován pouze vzorek obsahující 300 Sp<sup>2</sup>. Zbylé dva vzorky nevláknily už před sterilizací a je velmi nepravděpodobné, že by sterilizace významným způsobem zvýšila jejich schopnost vlákňování.

Zvlákňování sterilního 6 hm. % roztoku 300 Sp<sup>2</sup> se velmi podobalo zvlákňování jeho nesterilního protějšku. Na špičce emitoru se vytvořil pouze jeden Taylorův kužel a na kolektoru vznikala skvrna, která měla uprostřed mokré kapky roztoku a po obvodu vlákna. Asi v polovině zvlákňovacího procesu pak místo jednoho proudu polymerního roztoku vznikly asi čtyři slabší, takže se u okrajů kolektoru vytvořily skvrny suchých vláken. Vzniklý produkt vlákňování pak byl analyzován pomocí SEM a na získaném snímku (viz obrázek 17) byla odečtena průměrná tloušťka připravených vláken 168 nm.





Obrázek 17: Fotografie produktu vláknnění 6 hm. % roztoku obsahujícího 300 Sp<sup>2</sup> po sterilizaci a příslušný snímek ze SEM.

Elektrostatické zvlákňování sterilních roztoků HA/PEO probíhalo o poznání lépe. Směsný roztok obsahující 400 Sp<sup>2</sup> po sterilizaci vláknil hned od začátku perfektně. Stejně jako tomu bylo při zvlákňování tohoto vzorku před sterilizací, i nyní se z jehly vytahovalo množství proudů polymerního roztoku a po celé ploše kolektoru se rovnoměrně ukládala suchá vlákna.

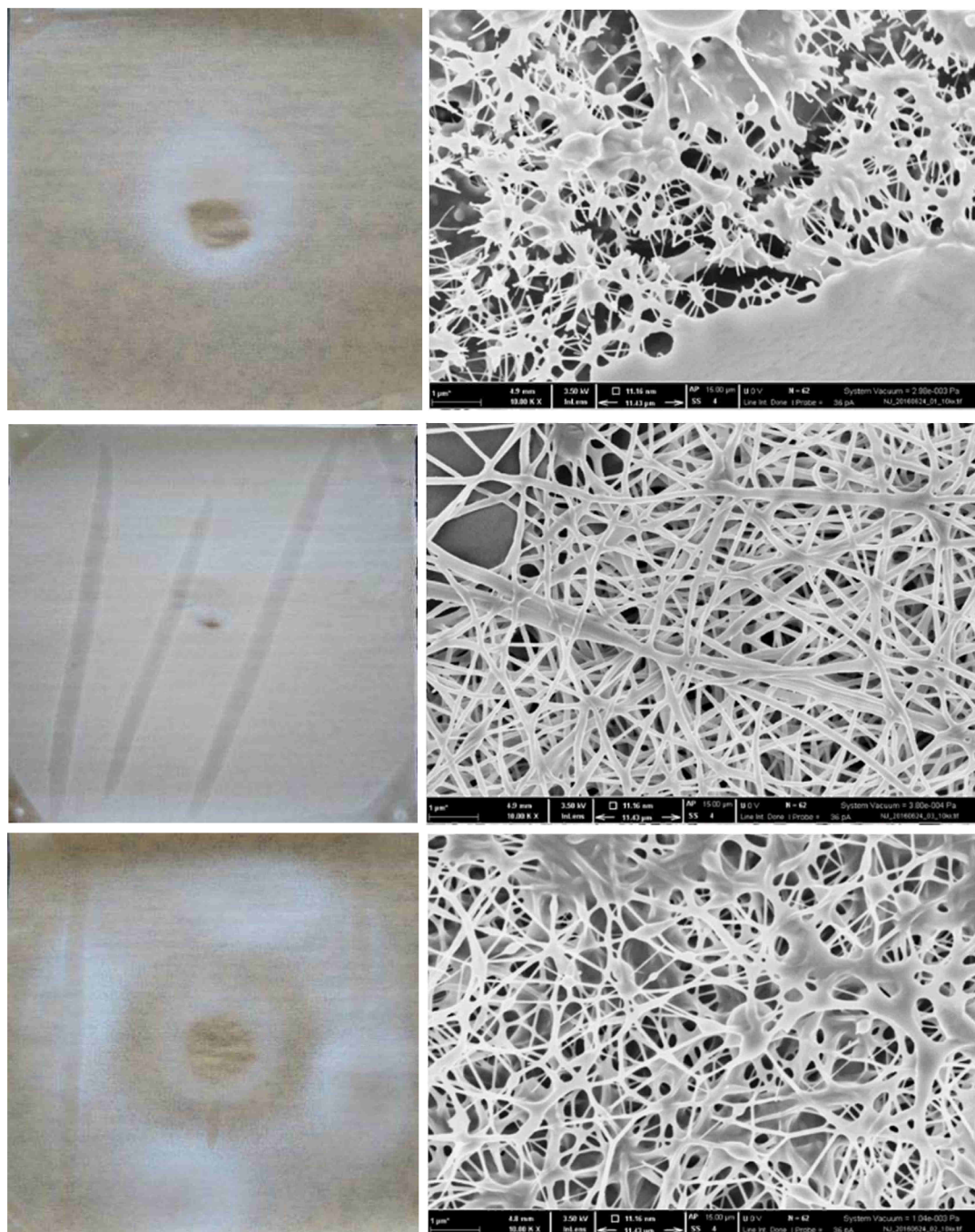
Také sterilní roztok HA/PEO obsahující 300 Sp<sup>2</sup> si i po sterilizaci zachoval stejnou míru schopnosti vláknnění. Stejně jako při vláknnění nesterilního směsného roztoku 300 Sp<sup>2</sup>, i tentokrát se z jehly emitore vytahovaly nejdříve čtyři proudy polymerního roztoku a po zvýšení elektrického napětí jen jeden proud a na kolektoru se kromě vláken usazovaly i kapky roztoku.

K velké změně ve schopnosti vláknnění vlivem sterilizace však došlo u směsného roztoku obsahujícího 400 Meisei. Zatímco před sterilizací probíhalo vláknnění tohoto roztoku ideálním způsobem, po sterilizaci schopnost vláknnění tohoto roztoku rapidně klesla. Na špičce emitore se tvořil pouze jeden Taylorův kužel, kolektor pokrývala velmi tenká vrstva suchého produktu vláknnění a uprostřed plochy kolektoru se nacházely kapky roztoku. Ze suché části produktu vláknnění byl odebrán vzorek a zobrazen pomocí SEM. Získané snímky pak ukázaly, že se na ploše kolektoru vytvořily pouze skvrny PEO a mezi nimi velmi krátká vlákna. U tohoto směsného roztoku HA/PEO obsahujícího 400 Meisei tedy sterilizací výrazně klesla schopnost vláknnění. Příčinou tohoto poklesu pak může být nižší viskozita sterilních roztoků v porovnání s těmi nesterilními. Jak bylo již několikrát popsáno výše, viskozita polymerního roztoku koreluje s molární hmotností polymeru. Pokles schopnosti vláknnění tohoto sterilního směsného roztoku tedy můžeme vysvětlit tak, že parní sterilizace snížila molární hmotnost PEO, a proto klesla viskozita jeho polymerního roztoku a následně i schopnost vláknnění.

Na obrázku 18 se nachází fotografie produktů vláknnění všech sterilních směsných roztoků HA/PEO a příslušné snímky ze SEM. Stanovené produktivity vláknnění sterilních směsných roztoků a průměrné tloušťky z nich vytvořených vláken jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12: Výsledky vláknění roztoků HA/PEO po sterilizaci.

Použitý PEO	Průměr vláken [nm]	Výrobnost [ $\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$ ]	Plošná hmotnost [ $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ]	Produktivita [ $\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ]
400 Meisei	x	0,0027	1,52	0,051
400 Sp <sup>2</sup>	102	0,0066	3,66	0,122
300 Sp <sup>2</sup>	91	0,0041	2,26	0,075



Obrázek 18: Fotografie a snímky ze SEM produktů vláknění roztoků HA/PEO po sterilizaci. Shora: s obsahem 400 Meisei; 400 Sp<sup>2</sup>; 300 Sp<sup>2</sup>.



## ZÁVĚR

Vlastnosti polymeru ovlivňují jeho chování v elektrostatickém poli a potažmo chování v jeho směsném roztoku s jiným polymerem. Tato skutečnost byla potvrzena také experimenty provedenými před touto diplomovou prací, kdy bylo zjištěno, že vlastnosti polyethylenoxidu zásadním způsobem ovlivňují průběh elektrostatického zvlákňování směsného roztoku polyethylenoxidu s kyselinou hyaluronovou.

Cílem této diplomové práce bylo porovnat vlastnosti polyethylenoxidů ve vztahu ke zvlákňování kyseliny hyaluronové, najít mezi nimi rozdíl za použití dostupných analytických, termických a spektrálních metod a definovat vliv jednotlivých vlastností na chování roztoků polymerů během zvlákňování. Studované vzorky polyethylenoxidu jsou reálnými surovinami používanými pro výrobu. Výsledky této práce jsou pak pro poloprovozní testování a výrobu klíčové, neboť je nutné vědět, co se stane při použití té které suroviny, jaká bude produktivita vláknění a jak bude celý proces vláknění probíhat.

Pro elektrostatické zvlákňování je klíčových několik roztokových vlastností, jako je viskozita, vodivost a povrchové napětí. U roztoků studovaných vzorků PEO proto byly zmíněné vlastnosti proměřeny a poté byly tyto roztoky zvlákňeny. Tak bylo ověřeno, že se PEO ze dvou různých zdrojů chovají v elektrostatickém poli odlišně, přestože mají deklarovanou stejnou molární hmotnost. Tyto dva PEO mají odlišnou míru schopnosti vláknění a tím i odlišnou produktivitu procesu zvlákňování jejich roztoků. Dále bylo potvrzeno, že proces vláknění polymerních roztoků ovlivňuje především jejich viskozita a vodivost. Tyto dvě vlastnosti jsou pak určeny zejména molární hmotností polymeru a dále obsahem nečistot, popř. obsahem jiného polymeru při zvlákňování směsného roztoku.

K výrobě kosmetických nebo farmaceutických produktů se nepoužívá pouze čisté polyethylenoxidu, ale často také jeho směsi s jiným polymerem. Společnost Contipro, ve které byla tato diplomová práce měřena, je výrobcem kyseliny hyaluronové, a proto se také zaměřuje na přípravu nanovláken primárně z HA. Čisté roztoky HA je však velmi těžké elektrostaticky zvláknit. Jejich schopnost vláknění se pak zvyšuje přidáním jiného polymeru, např. PEO. Proto byly do výzkumu zahrnuty také směsné roztoky HA/PEO. U nich pak byly proměřeny roztokové parametry a následně byly tyto směsné roztoky elektrostaticky zvlákňeny. Bylo zjištěno, že kyselina hyaluronová zásadně ovlivňuje vodivost i viskozitu směsného roztoku HA/PEO a tím i průběh zvlákňování. Pro přípravu všech směsných roztoků se používala stejná kyselina hyaluronová a měnil se pouze zdroj PEO. Zjištěné rozdíly mezi jednotlivými směsnými roztoky jsou tedy způsobeny odlišným zdrojem PEO.

Část této práce se zabývá také příčinami rozdílných vlastností (viskozity, vodivosti a pH) studovaných vzorků PEO. Metodou HPLC bylo zjištěno, že vzorek PEO od Meisei má asi o 100 kg/mol menší molární hmotnost, než deklaruje výrobce. Analýzou infračervených a Ramanových spekter nebyly nalezeny žádné rozdíly ve strukturách vzorků ani žádné příměsi. Metodou DSC byly zjištěny malé rozdíly v krystalinitách vzorků, které pravděpodobně ovlivnily také teplotu tání vzorků PEO. Z výsledků TGA vyplývá, že je PEO ve formě prášku stabilní, avšak po rozpuštění svou stabilitu ztrácí. Vlivem vysoké teploty a rozpouštědla pak dochází k jeho degradaci. Nejnižší termostabilitu z použitých PEO pak má 400 Meisei a ze získaných TGA křivek lze usuzovat, že obsahuje příměsi.

Součástí této práce je také studium vlivu parní sterilizace na základní roztokové vlastnosti i na samotný zvlákňovací proces. Bylo zjištěno, že vlivem parní sterilizace vzorky PEO mírně degradují a klesá jejich molární hmotnost. Největší pokles molární hmotnosti pak byl pozorován u vzorku 400 Meisei, u kterého také výrazně klesla viskozita roztoku a tím i jeho schopnost vlákňení.

Všechny nalezené rozdíly v produktivitě vlákňení tří studovaných vzorků PEO tedy mohou být v konečném důsledku vysvětleny rozdílnou molární hmotností a obsahem nečistot, neboť molární hmotnost polymeru určuje viskozitu jeho roztoku a přítomností mírně alkalických nečistot ve vzorku roste jeho vodivost i pH. Viskozita a vodivost pak zásadně ovlivňují schopnost vlákňení polymerních roztoků.

## SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] KOLÁŘOVÁ, Lucie. *Úvod do nanovědy a nanotechnologií*. 1. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-4179-5.
- [2] Co je to nanotechnologie?. *NanoConcept* [online]. Brno, 2017 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <https://www.nano-concept.cz/co-je-to-nanotechnologie/>
- [3] BEACHLEY, Vince a Xuejun WEN. Polymer nanofibrous structures: Fabrication, biofunctionalization, and cell interactions. *Progress in Polymer Science*. Elsevier, 2010, 35(7), 868-892. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.03.003. ISSN 00796700. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670010000328>
- [4] BHARDWAJ, Nandana a Subhas KUNDU. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. Elsevier, 2010, 28(3), 325-347. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.01.004. ISSN 07349750. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975010000066>
- [5] PELIPENKO, J., P. KOCBEK a J. KRISTL. Critical attributes of nanofibers: Preparation, drug loading, and tissue regeneration. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier B.V., 2015, 484(1-2), 57-74. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.02.043. ISSN 03785173. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517315001520>
- [6] ROŠIC, Romana, Jan PELIPENKO, Julijana KRISTL, Petra KOCBEK, Marija BEŠTER-ROGAČ a Saša BAUMGARTNER. Physical characteristics of poly (vinyl alcohol) solutions in relation to electrospun nanofiber formation. *European Polymer Journal*. Elsevier, 2013, 49(2), 290-298. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.11.013. ISSN 00143057. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305712003825>
- [7] REIN, D., L. SHAVIT-HADAR, R. KHALFIN, Y. COHEN, K. SHUSTER a E. ZUSSMAN. Electrospinning of ultrahigh-molecular-weight polyethylene nanofibers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2007, 45(7), 766-773. DOI: 10.1002/polb.21122. ISSN 0887-6266. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/polb.21122>
- [8] YU, Deng-Guang, Wei CHIAN, Xia WANG, Xiao-Yan LI, Ying LI a Yao-Zu LIAO. Linear drug release membrane prepared by a modified coaxial electrospinning process. *Journal of Membrane Science*. Elsevier B.V., 2013, 428, 150-156. DOI: 10.1016/j.memsci.2012.09.062. ISSN 0376-7388. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738812007995>
- [9] UM, In, Dufei FANG, Benjamin HSIAO, Akio OKAMOTO a Benjamin CHU. Electro-Spinning and Electro-Blowing of Hyaluronic Acid. *Biomacromolecules*. American Chemical Society, 2004, 5(4), 1428-1436. DOI: 10.1021/bm034539b. ISSN 1525-7797. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bm034539b>

- [10] VASITA, Rajesh a Dharendra KATTI. Nanofibers and their applications in tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*. Dove Medical Press, 2006, 1(1), 15-30. ISSN 1176-9114. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2426767/>
- [11] PINHO, E.D., A. MARTINS, J.V. ARAÚJO, R.L. REIS a N.M. NEVES. Degradable particulate composite reinforced with nanofibres for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. Elsevier, 2009, 5(4), 1104-1114. DOI: 10.1016/j.actbio.2008.11.018. ISSN 1742-7061. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S174270610800370X>
- [12] JANG, Jun-Hyeog, Óscar CASTAÑO LINARES a Hae-Won KIM. Electrospun materials as potential platforms for bone tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier, 2009, 61(12), 1065-1083. DOI: 10.1016/j.addr.2009.07.008. ISSN 0169-409X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X09002336>
- [13] CENGİZ-CALLIOĞLU, F., O. JIRSAK a M. DAYIK. Investigation into the relationships between independent and dependent parameters in roller electrospinning of polyurethane. *Textile Research Journal*. SAGE Publications, 2013, 83(7), 718-729. DOI: 10.1177/0040517512447587. ISSN 0040-5175. Dostupné také z: <http://trj.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/0040517512447587>
- [14] CENGİZ-ÇALLIOĞLU, Funda, Oldrich JIRSAK a Mehmet DAYIK. Electric current in polymer solution jet and spinnability in the needleless electrospinning process. *Fibers and Polymers*. Heidelberg: The Korean Fiber Society, 2012, 13(10), 1266-1271. DOI: 10.1007/s12221-012-1266-6. ISSN 1229-9197. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s12221-012-1266-6>
- [15] LIU, Yang, Hélène ANTAYA a Christian PELLERIN. Characterization of the stable and metastable poly(ethylene oxide)-urea complexes in electrospun fibers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2008, 46(18), 1903-1913. DOI: 10.1002/polb.21523. ISSN 1099-0488. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/polb.21523>
- [16] GENSHEIMER, M., M. BECKER, A. BRANDIS-HEEP, J. H. WENDORFF, R. K. THAUER a A. GREINER. Novel Biohybrid Materials by Electrospinning: Nanofibers of Poly(ethylene oxide) and Living Bacteria. *Advanced Materials*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2007, 19(18), 2480-2482. DOI: 10.1002/adma.200602936. ISSN 0935-9648. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adma.200602936>
- [17] LI, Wai-Kit a Yuen-Wah WONG. Electrical properties of electrospun nanofibers of PEO/carbon black composite. In: *Solid State Phenomena* [online]. Switzerland: Trans Tech Publications Ltd, 2009, 151, s. 67-71 [cit. 2017-01-05]. DOI: 10.4028/www.scientific.net/SSP.151.67. ISSN 1662-9779.
- [18] *Apparatus for electrically dispersing fluids*. b.r. USA. US692631, A. Uděleno 4.2.1902. Dostupné také z: <http://lurl.cz/b0dk>
- [19] *Method of dispersing fluids*. b.r. USA. US705691, A. Uděleno 29.7.1902.

- [20] ZELENY, John. The Electrical Discharge from Liquid Points, and a Hydrostatic Method of Measuring the Electric Intensity at Their Surfaces. *Physical Review*. 1914, 3(2), 69-91. DOI: 10.1103/PhysRev.3.69.
- [21] TAYLOR, Geoffrey. Electrically Driven Jets. *Proceedings of the Royal Society A*. 1969, 313(1515), 453-475. DOI: 10.1098/rspa.1969.0205.
- [22] ARAYANARAKUL, Kunawan, Nuanchan CHOKTAWESAP, Duangdao AHT-ONG, Chidchanok MEECHASUE a Pitt SUPAPHOL. Effects of Poly(ethylene glycol), Inorganic Salt, Sodium Dodecyl Sulfate, and Solvent System on Electrospinning of Poly(ethylene oxide). *Macromolecular Materials and Engineering*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2006, 291(6), 581-591. DOI: 10.1002/mame.200500419. ISSN 1438-7492. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mame.200500419>
- [23] KADAJJI, Veeran a Guru BETAGERI. Water Soluble Polymers for Pharmaceutical Applications. *Polymers*. 2011, 3(4), 1972-2009. DOI: 10.3390/polym3041972. ISSN 2073-4360. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/3/4/1972/>
- [24] MANSOUR, Heidi, MinJi SOHN, Abeer AL-GHANANEEM a Patrick DELUCA. Materials for Pharmaceutical Dosage Forms: Molecular Pharmaceutics and Controlled Release Drug Delivery Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*. Basel: MDPI AG, 2010, 11(9), 3298-3322. DOI: 10.3390/ijms11093298. ISSN 1422-0067. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/11/9/3298/>
- [25] LI, Junxing, Aihua HE, Charles HAN, Dufei FANG, Benjamin HSIAO a Benjamin CHU. Electrospinning of Hyaluronic Acid (HA) and HA/Gelatin Blends. *Macromolecular Rapid Communications*. 2006, 27(2), 114-120. DOI: 10.1002/marc.200500726. ISSN 1022-1336. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/marc.200500726>
- [26] JI, Yuan, Kaustabh GHOSH, Xiao SHU, et al. Electrospun three-dimensional hyaluronic acid nanofibrous scaffolds. *Biomaterials*. Elsevier, 2006, 27(20), 3782–3792. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.02.037. ISSN 0142-9612. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961206001700>
- [27] ZALIPSKY, Samuel. Chemistry of polyethylene glycol conjugates with biologically active molecules. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier Science B.V., 1995, 16(2-3), 157-182. DOI: 10.1016/0169-409X(95)00023-Z. ISSN 0169-409X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0169409X9500023Z>
- [28] Poly(ethylene oxide). *Sigma-Aldrich* [online]. Sigma-Aldrich Co. LLC, 2017 [cit. 2017-01-05]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/polyethyleneoxide123452532268311?lang=en&region=CZ>
- [29] JANKOVIĆ, Biljana, Jan PELIPENKO, Miha ŠKARABOT, Igor MUŠEVIČ a Julijana KRISTL. The design trend in tissue-engineering scaffolds based on nanomechanical properties of individual electrospun nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier B.V., 2013, 455(1-2), 338-347. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.06.083. ISSN 0378-5173.

- [30] SON, Won, Ji YOUK, Taek LEE a Won PARK. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers. *Polymer*. Elsevier, 2004, 45(9), 2959-2966. DOI: 10.1016/j.polymer.2004.03.006. ISSN 0032-3861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003238610400223X>
- [31] ROŠIĆ, R., J. PELIPENKO, P. KOCBEK, S. BAUMGARTNER, M. BEŠTER-ROGAČ a J. KRISTL. The role of rheology of polymer solutions in predicting nanofiber formation by electrospinning. *European Polymer Journal*. Elsevier, 2012, 48(8), 1374-1384. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.05.001. ISSN 0014-3057. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305712001516>
- [32] HUANG, Lei, Karthik NAGAPUDI, Robert APKARIAN a Elliot CHAIKOF. Engineered collagen-PEO nanofibers and fabrics. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. Taylor, 2001, 12(9), 979-993. DOI: 10.1163/156856201753252516. ISSN 0920-5063. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1163/156856201753252516>
- [33] ZHANG, Yuchuan, Jiasheng QIAN, Zhuo KE, et al. Viscometric study of poly(vinyl chloride)/poly(vinyl acetate) blends in various solvents. *European Polymer Journal*. Elsevier, 2002, 38(2), 333-337. DOI: 10.1016/S0014-3057(01)00109-4. ISSN 0014-3057. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305701001094>
- [34] ROSIĆ, R., J. PELIPENKO, J. KRISTL, P. KOCBEK a S. BAUMGARTNER. Properties, engineering and applications of polymeric nanofibers: Current research and future advances. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*. 2012, 26(4), 417-425. ISSN 03529568.
- [35] RENEKER, Darrell a Iksoo CHUN. Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology*. IOP Publishing, 1996, 7(3), 216-223. DOI: <https://doi.org/10.1088/0957-4484/7/3/009>.
- [36] PELIPENKO, Jan, Julijana KRISTL, Biljana JANKOVIĆ, Saša BAUMGARTNER a Petra KOCBEK. The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier B.V., 2013, 456(1), 125-134. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.07.078. ISSN 0378-5173. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517313007254>
- [37] GUPTA, Pankaj, Casey ELKINS, Timothy LONG a Garth WILKES. Electrospinning of linear homopolymers of poly(methyl methacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer*. Elsevier, 2005, 46(13), 4799-4810. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.04.021. ISSN 00323861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386105004167>
- [38] DEITZEL, J.M., J. KLEINMEYER, D. HARRIS a N.C. BECK TAN. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*. Elsevier, 2001, 42(1), 261-272. DOI: 10.1016/S0032-3861(00)00250-0. ISSN 0032-3861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386100002500>

- [39] HAGHI, A. a M. AKBARI. Trends in electrospinning of natural nanofibers. *Physica status solidi (a)*. Berlin: WILEY-VCH Verlag, 2007, 204(6), 1830-1834. DOI: 10.1002/pssa.200675301. ISSN 1862-6300. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pssa.200675301>
- [40] ZUO, Weiwei, Meifang ZHU, Wen YANG, Hao YU, Yanmo CHEN a Yu ZHANG. Experimental study on relationship between jet instability and formation of beaded fibers during electrospinning. *Polymer Engineering & Science*. 2005, 45(5), 704-709. DOI: 10.1002/pen.20304. ISSN 0032-3888. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pen.20304>
- [41] MCKEE, Matthew, John LAYMAN, Matthew CASHION a Timothy LONG. Phospholipid Nonwoven Electrospun Membranes. *Science*. American Association for the Advancement of Science, 2006, 311(5759), 353-355. DOI: 10.1126/science.1119790. ISSN 0036-8075. Dostupné také z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1119790>
- [42] MCKEE, Matthew, Casey ELKINS a Timothy LONG. Influence of self-complementary hydrogen bonding on solution rheology/electrospinning relationships. *Polymer*. Elsevier, 2004, 45(26), 8705-8715. DOI: 10.1016/j.polymer.2004.10.049. ISSN 0032-3861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386104010316>
- [43] SUKIGARA, Sachiko, Milind GANDHI, Jonathan AYUTSEDE, Michael MICKLUS a Frank KO. Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning—part 1: processing parameters and geometric properties. *Polymer*. Elsevier, 2003, 44(19), 5721–5727. DOI: 10.1016/S0032-3861(03)00532-9. ISSN 0032-3861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386103005329>
- [44] KI, Chang, Doo BAEK, Kyung GANG, Ki LEE, In UM a Young PARK. Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin–formic acid solution. *Polymer*. Elsevier, 2005, 46(14), 5094-5102. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.04.040. ISSN 0032-3861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386105004763>
- [45] PHAM, Quynh, Upma SHARMA a Antonios MIKOS. Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review. *Tissue Engineering*. Larchmont: Mary Ann Liebert, 2006, 12(5), 1197-1211. DOI: 10.1089/ten.2006.12.1197. ISSN 10763279. Dostupné také z: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ten.2006.12.1197>
- [46] YARIN, A.L. a E. ZUSSMAN. Upward needleless electrospinning of multiple nanofibers. *Polymer*. Elsevier, 2004, 45(9), 2977-2980. DOI: 10.1016/j.polymer.2004.02.066. ISSN 0032-3861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386104002034>
- [47] LI, Dan a Younan XIA. Direct Fabrication of Composite and Ceramic Hollow Nanofibers by Electrospinning. *Nano Letters*. 2004, 4(5), 933-938. DOI: 10.1021/nl049590f. ISSN 1530-6984. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nl049590f>

- [48] WANG, Xuefen, In UM, Dufei FANG, Akio OKAMOTO, Benjamin HSIAO a Benjamin CHU. Formation of water-resistant hyaluronic acid nanofibers by blowing-assisted electro-spinning and non-toxic post treatments. *Polymer*. Elsevier, 2005, 46(13), 4853-4867. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.03.058. ISSN 0032-3861. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003238610500323X>
- [49] SUNDARAY, Bibekananda, V. SUBRAMANIAN, T. NATARAJAN, Rong-Zheng XIANG, Chia-Cheng CHANG a Wun-Shain FANN. Electrospinning of continuous aligned polymer fibers. *Applied Physics Letters*. American Institute of Physics, 2004, 84(7), 1222-1224. DOI: 10.1063/1.1647685. ISSN 0003-6951. Dostupné také z: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1647685>
- [50] XU, C., R INAI, M KOTAKI a S RAMAKRISHNA. Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials*. Elsevier, 2004, 25(5), 877-886. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00593-3. ISSN 0142-9612. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961203005933>
- [51] KI, Chang, Jong KIM, Jin HYUN, Ki LEE, Masahiro HATTORI, Dong RAH a Young PARK. Electrospun three-dimensional silk fibroin nanofibrous scaffold. *Journal of Applied Polymer Science*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2007, 106(6), 3922-3928. DOI: 10.1002/app.26914. ISSN 0021-8995. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.26914>
- [52] SUBRAMANIAN, Anuradha, Uma KRISHNAN a Swaminathan SETHURAMAN. Fabrication, Characterization and In Vitro Evaluation of Aligned PLGA-PCL Nanofibers for Neural Regeneration. *Annals of Biomedical Engineering*. Boston: Springer US, 2012, 40(10), 2098-2110. DOI: 10.1007/s10439-012-0592-6. ISSN 0090-6964. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10439-012-0592-6>
- [53] DE VRIEZE, S., T. VAN CAMP, A. NELVIG, B. HAGSTRÖM, P. WESTBROEK a K. DE CLERCK. The effect of temperature and humidity on electrospinning. *Journal of Materials Science*. 2009, 44(5), 1357-1362. DOI: 10.1007/s10853-008-3010-6. ISSN 0022-2461. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10853-008-3010-6>
- [54] MEDEIROS, Eliton, Luiz MATTOSO, Richard OFFEMAN, Delilah WOOD a William ORTS. Effect of relative humidity on the morphology of electrospun polymer fibers. *Canadian Journal of Chemistry*. Ottawa, Canada: NRC Research Press, 2008, 86(6), 590-599. DOI: 10.1139/v08-029. ISSN 0008-4042. Dostupné také z: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/v08-029>
- [55] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.
- [56] *Základy vibrační spektroskopie. Vybrané instrumentální metody analýzy materiálů a nanomateriálů*. Vyd. 1. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2012, s. 86 - 131. ISBN 978-80-7204-810-6.
- [57] JANDERA, Pavel. *Atomová a molekulová spektroskopie se zaměřením na stopovou analýzu kontaminantů: Díl B - Molekulová spektroskopie v organické analýze*. 1. Pardubice: Univerzita Pardubice, 1999. ISBN 80-7194-201-4.



- [58] KLOUŽKOVÁ, A., P. ZEMENOVÁ, J. KLOUŽEK a W. PABST. *Termická analýza*. Praha: VŠCHT, 2012, 44 s. Dostupné také z: <http://tresen.vscht.cz/sil/sites/default/files/Termick%C3%A1%20anal%C3%BDza.pdf>
- [59] ŠTARHA, Pavel a Zdeněk TRÁVNÍČEK. *Termická analýza*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011, 64 s. Dostupné také z: [http://agch.upol.cz/userfiles/file/pdf/Termicka\\_analyza.pdf](http://agch.upol.cz/userfiles/file/pdf/Termicka_analyza.pdf)
- [60] JENČÍK, Josef a Jaromír VOLF. *Technická měření*. 1. Praha: Vydavatelství ČVUT, 2000, 212 s. ISBN 80-01-02138-6.
- [61] OPEKAR, František, Ivan JELÍNEK, Petr RYCHLOVSKÝ a Zbyněk PLZÁK. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2002. ISBN 978-80-246-1775-6.
- [62] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie: 1. díl*. 1. Praha: VŠCHT Praha, 2016, 224 s. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [63] HOLUBOVÁ, Renata. *Základy reologie a reometrie kapalin*. 1. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-4178-8.
- [64] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: Bakalářský a magisterský kurz*. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008, 506 s. ISBN 978-8070806753.
- [65] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 6. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010, 262 s. ISBN 978-80-7080-745-3.
- [66] KVÍTEK, Libor. *Metody studia koloidních soustav: Prozatímní učební text 2006*. Katedra fyzikální chemie PřF UP Olomouc, 2006.
- [67] ŠEVČÍKOVÁ, Petra, Věra KAŠPÁRKOVÁ, Jiří KREJČÍ a Pavlína VLTAVSKÁ. Dynamický rozptyl světla v analýze koloidních systémů. *Chemické listy*. 2014, 108(5), 479-482. ISSN 1213-7103. Dostupné také z: [http://www.chemicke-listy.cz/common/content-issue\\_5-volume\\_108-year\\_2014.html](http://www.chemicke-listy.cz/common/content-issue_5-volume_108-year_2014.html)
- [68] XU, Renliang. *Particle characterization: Light scattering methods*. 1. Springer Netherlands, 2000. ISBN 978-0-7923-6300-2.
- [69] POLČÍK, M. Sledování nanášení barviva pomocí měření zeta-potenciálu. *Chemmagazin*. 2010, 20(4), 28-29. Dostupné také z: [http://www.chemmagazin.cz/userdata/chemmagazin\\_2010/file/CHXX\\_4\\_cl9.pdf](http://www.chemmagazin.cz/userdata/chemmagazin_2010/file/CHXX_4_cl9.pdf)
- [70] ČECH BARABASZOVÁ, Karla, Sylva HOLEŠOVÁ, Kateřina MAMULOVÁ KUTLÁKOVÁ, Grażyna SIMHA MARTYNKOVÁ a Michal RITZ. *Vybrané instrumentální metody analýzy materiálů a nanomateriálů*. 1. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2012, 194 s. ISBN 978-80-7204-810-6.
- [71] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie: 2. díl*. 1. Praha: VŠCHT Praha, 2016, 221 s. ISBN 978-80-7080-951-8.
- [72] MATĚJKA, Pavel a Marcela DENDISOVÁ. *Ramanova a infračervená spektrometrie vzorků v pevné fázi: Pracovní text pro Podzemní výukové středisko JOSEF*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2010. Dostupné také z: <http://old.vscht.cz/anl/josef/LabMolSpek/RamanIR%202010.pdf>

- [73] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. 1. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. ISBN 978-80-244-1669-4.
- [74] DONGQING, Li. *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*. 1. USA: Springer US, 2008. ISBN 978-0-387-32468-5. DOI 10.1007/978-0-387-48998-8.
- [75] MALVERN INSTRUMENTS LTD., [www.malvern.com](http://www.malvern.com) (zastoupen ANAMET s.r.o., [www.anamet.cz](http://www.anamet.cz)). Stabilita suzpenzí a disperzí – proč jsou parametry jako velikost částic, zeta potenciál a reologické vlastnosti tak důležité?. *Chemagazín*. CHEMAGAZÍN s.r.o., 2011, (4), 14-16. ISSN 1210-7409. Dostupné také z: [http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin\\_2010/file/CHEMAGAZIN\\_XXI\\_4\\_cl\\_3.pdf](http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin_2010/file/CHEMAGAZIN_XXI_4_cl_3.pdf)

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ECM	extracelulární matrix (mezibuněčná hmota)
HA	kyselina hyaluronová/ hyaluronan
DTPH	3,3'-dithiobis(propionodihydrazid)
PEO	polyethylenoxid
DMF	dimethylformamid
$M_w$	molární hmotnost $[\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}]$
PAH	polyallylaminhydrochlorid
PAA	polyakrylová kyselina
$c^*$	koncentrace, při níž se polymerní řetězce v roztoku začínají překrývat
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
KBr	bromid draselný
TGA	termogravimetrická analýza
DTG	derivační termogravimetrie
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
$G$	elektrická vodivost $[\text{S}]$
$R$	elektrický odpor $[\Omega]$
$S$	plocha elektrod $[\text{m}^2]$
$l$	vzdálenost elektrod $[\text{m}]$
$\kappa$	měrná vodivost (konduktivita) $[\text{S} \cdot \text{m}^{-1}]$
$\tau$	tečné (tangenciální) napětí
$dw/dx$	gradient rychlosti
$\eta$	dynamická viskozita $[\text{Pa} \cdot \text{s} = \text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}]$
$\rho$	hustota tekutiny $[\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}]$
$\nu$	kinematická viskozita $[\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}]$
DLS	dynamický rozptyl světla
$\zeta$	elektrokinetický (zeta) potenciál $[\text{V}]$
SEM	rastrovací elektronová mikroskopie