



# Výroba a testování nanovláknenných vrstev ze směsi biokompatibilních materiálů

## Bakalářská práce

*Studijní program:*

B3107 Textil

*Studijní obor:*

Textilní technologie, materiály a nanomateriály

*Autor práce:*

**Yegor Kadatskiy**

*Vedoucí práce:*

Ing. Radek Jirkovec, PhD.

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů





## Zadání bakalářské práce

# Výroba a testování nanovláknenných vrstev ze směsi biokompatibilních materiálů

*Jméno a příjmení:* **Yegor Kadatskiy**  
*Osobní číslo:* T17000001  
*Studijní program:* B3107 Textil  
*Studijní obor:* Textilní technologie, materiály a nanomateriály  
*Zadávací katedra:* Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů  
*Akademický rok:* **2020/2021**

### Zásady pro vypracování:

1. Vypracování literární rešerše na dané téma.
2. Výběr vhodných polymerních materiálů a rozpouštědlového systému.
3. Příprava polymerních roztoků a vláknenných vrstev.
4. Analýza vyrobených vláknenných vrstev.
5. Zpracování výsledků.



*Rozsah grafických prací:*  
*Rozsah pracovní zprávy:*  
*Forma zpracování práce:*  
*Jazyk práce:*

dle potřeby dokumentace  
40-60 dle potřeby  
tištěná/elektronická  
Čeština



### **Seznam odborné literatury:**

1. Ramakrishna, S., et al. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. Singapore: World Scientific Publishing, 2005. 396 s. ISBN 981-256-415-2.
2. Hanumantharao, S., et al. Multi-Functional Electrospun Nanofibers from Polymer Blends for Scaffold Tissue Engineering. *Fibers*, 2019, vol. 7.
3. Zha, F., et al. Electrospun natural polymer and its composite nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2020, vol. 31, p. 519-548.

*Vedoucí práce:*

Ing. Radek Jirkovec, PhD.  
Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

*Datum zadání práce:*

1. listopadu 2020

*Předpokládaný termín odevzdání:*

16. května 2022

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

L.S.

doc. Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Liberci dne 1. listopadu 2020

## Prohlášení

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

Jsem si vědom toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

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

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

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

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

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

2. května 2022

Yegor Kadatskiy

## **Poděkování**

Za poskytnutou odbornou i jazykovou pomoc a projevenou trpělivost v průběhu vypracování zadání této práce děkuji panu Ing. Radku Jirkovcovi, PhD., vedoucímu mé bakalářské práce. Zároveň děkuji oběma svým rodičům za jejich podporu po celou dobu mého dosavadního studia.

## **Anotace**

Tato bakalářská práce se věnuje výrobě a testování nanovláknenných vrstev ze směsi biokompatibilních materiálů za pomoci elektrostatického zvlákňování. Teoretická část popisuje princip elektrostatického zvlákňování a důležité parametry, které je třeba zohlednit při výrobě vláken bez defektu. Zároveň jsou v ní popsány také biokompatibilní materiály, použité v experimentální části. Experimentální část podává souhrnný popis výroby nanovláken z PCL a želatiny v různých poměrech za pomoci elektrostatického zvlákňování v zařízení Nanospider<sup>TM</sup> se strunovou elektrodou. V návaznosti na získané znalosti a poznatky je vyhodnocena a interpretována výsledná vlákenná vrstva.

### **Klíčová slova:**

Elektrostatické zvlákňování, Nanospider<sup>TM</sup>, poly- $\epsilon$ -kaprolakton, želatina, směs biokompatibilních materiálů, kontaktní úhel.

## **Annotation**

This bachelor thesis deals with the fabrication and testing of nanofibrous layers from a blend of biocompatible materials by electrospinning. The theoretical part describes electrospinning and important parameters that must be taken into account in the production of defect-free fibres. Furthermore, this section deals also with the biocompatible materials used in the experimental part. The experimental part provides the overview and results of the production of nanofibres from PCL and gelatine in various proportions by electrospinning Nanospider<sup>TM</sup> using a string electrode. Following the acquired knowledge and findings, the resulting fibre layer is evaluated and interpreted.

### **Key words:**

Electrospinning, Nanospider<sup>TM</sup>, poly- $\epsilon$ -caprolactone, gelatin, blend of biocompatible materials, contact angle.

## Obsah

Seznam obrázků .....	9
Seznam tabulek .....	12
Seznam použitých zkratk a symbolů .....	13
1. Úvod .....	14
2. Teoretická část .....	15
2.1 Tkáňové inženýrství .....	15
2.2 Biodegradabilní polymery .....	16
2.2.1 Biomateriály .....	16
2.2.2 Poly-ε-kaprolakton (PCL) .....	17
2.2.3 Želatina .....	19
2.3 Elektronový mikroskop .....	21
2.4 Elektrostatické zvlákňování .....	22
2.5 Faktory ovlivňující proces elektrostatického zvlákňování .....	25
2.5.1 Vliv molekulové hmotnosti a viskozity .....	25
2.5.2 Vliv elektrického napětí .....	27
2.5.3 Vliv vlhkosti .....	30
2.5.4 Vliv koncentrace polymerního roztoku .....	32
2.5.5 Vliv rozpouštědla .....	33
2.5.6 Vzdálenost mezi kolektorem a koncem jehly .....	36
2.6 Elektrostatické zvlákňování želatiny .....	37
2.7 Elektrostatické zvlákňování PCL .....	39
2.8 Elektrostatické zvlákňování směsi PCL/želatiny .....	41
3. Experimentální část .....	44
3.1 Použité chemikálie .....	45
3.2 Použitá zařízení .....	45
3.2.1 Měření vodivosti .....	45
3.2.2 Měření viskozity .....	46
3.2.3 Stejnoseměrné elektrostatické zvlákňování - Nanospider™ .....	47
3.2.4 Skenovací elektronové mikroskopie (SEM) .....	48
3.2.5 Měření kontaktního úhlu .....	49
3.2.6 Síťování .....	50
3.2.7 Rozpustnost PCL a želatiny v různých rozpouštědlech .....	51

3.3	Příprava vzorků polymerních roztoků, výroba a testování vlákných vrstev .....	53
3.3.1	Příprava vzorků polymerních roztoků a výroba vlákných vrstev	53
3.3.2	Průměr vláken .....	54
3.3.3	Kontaktní úhel .....	59
4.	Závěr .....	62
5.	Seznam použitých zdrojů .....	64

## Seznam obrázků

Obr. 1A a B	Kontaktní úhel větší než $90^\circ$ - nedostatečné smáčení (A); úhel menší než $90^\circ$ - dobré smáčení (B) .....	16
Obr. 2	Monomerní jednotka PCL .....	17
Obr. 3	Syntéza poly- $\epsilon$ -kaprolaktonu .....	18
Obr. 4	Chemická struktura želatiny .....	20
Obr. 5	Schéma celého světelného mikroskopu a elektronových mikroskopů SEM a TEM .....	21
Obr. 6	Schéma principu elektrostatického zvlákňování – horizontální kapilára .....	23
Obr. 7	Nanospider <sup>TM</sup> - Bezjehlové elektrostatické zvlákňování z válce .....	24
Obr. 8	SEM snímky ukazující účinek molekulární hmotnosti na PCL (a) Mn 80 000 g/mol, (b) Mn 45 000 g/mol, (c-d) Mn 14 000 g/mol), vzdálenost kolektoru 15 cm .....	26
Obr. 9	SEM snímky ukazující účinek molekulární hmotnosti PCL (Mn 80 000 g/mol) připravené pomocí rozpouštědlového systému na bázi aceton/kyselina octová v poměru 3:7, elektrické napětí 15 kV, vzdálenost kolektoru 20 cm .....	27
Obr. 10	SEM snímky PCL nanovláken, elektrické napětí (a) 7,5 kV, (b) 10 kV, (c) 15 kV, (d) 20 kV, konečná koncentrace 9 hm. %, rozpouštědlový systém dichlormethan, vzdálenost kolektoru 7 cm .....	28
Obr. 11	Vliv elektrického napětí (a) 10 kV, (b) 15 kV a (c) 20 kV na průměry vláken PCL .....	29
Obr. 12	SEM snímky vytvořených vlákenných vrstev z PVA (a) 28 kV, (b) 35 kV, (c) 40 kV a (d) 45 kV, vzdálenost kolektoru 9 cm, koncentrace 6 hm. % .....	30
Obr. 13	SEM snímek vlákna PCL při vlhkosti 5 % .....	31
Obr. 14	SEM snímky vláken PCL při různé vlhkosti: (a) 40 %, (b) 60 % .....	31
Obr. 15	SEM snímky vytvořených vlákenných vrstev z PCL, rozpouštědlový systém aceton, vzdálenost kolektoru 10 cm, elektrické napětí 15 kV a konečná koncentrace (a) 5, (b) 7,5 a (c) 10 hm. % .....	32

Obr. 16	SEM snímky vytvořených vlákných vrstev z PCL v různých koncentracích: (a) 5, (b) 10, (c) 15, a (e) 20 hm. %, rozpouštědlový systém kyselina octová .....	34
Obr. 17	SEM snímky PCL nanovláken připravené za pomoci rozpouštědlového systému na bázi FA/AC v poměru 4:1 v různých koncentracích (a) 5 hm. %, (b) 10 hm. %, (c) 15 hm. %, (d) 20 hm. % .....	35
Obr. 18	SEM snímky morfologie a hodnoty průměru PCL vláken při vzdálenosti kolektoru (a) 10, (b) 12,5 a (c) 15 cm .....	36
Obr. 19	SEM snímky vlákných vrstev želatiny, připravených jehlovým elektrostatickým zvlákňováním, konečná koncentrace 8 hm. %, rozpouštědlový systém kyselina octová/voda v poměru (A) 50:50, (B) 60:40, (C) 70:30, (D) 80:20, vzdálenost kolektoru 15 cm a elektrické napětí bylo 25 kV .....	38
Obr. 20	SEM snímky vlákných vrstev připravených jehlovým elektrostatickým zvlákňováním v různých koncentracích (A) 4, (B) 8, (C) 10, (D) 12, (E) 16 hm. %, rozpouštědlový systém kyselina octová/voda v poměru 70:30, vzdálenost kolektoru 15 cm a elektrické napětí 25 kV .....	39
Obr. 21	SEM snímky vlákných vrstev PCL připravených jehlovým elektrostatickým zvlákňováním v různých koncentracích (a) 10, (b) 15, (c) 20, hm. %, rozpouštědlový systém dimethylformamid/chloroform, vzdálenost kolektoru 12,5 cm a elektrické napětí 15 kV .....	40
Obr. 22	Scaffold PCL o koncentraci 15 hm. %, naočkované kmenovými buňkami po dobu 21 dnů .....	41
Obr. 23	SEM snímky (A) náhodných a orientovaných vláken PCL/želatiny v poměru 50:50 a (B) náhodných a orientovaných vláken 70:30 připravených jehlovým elektrostatickým zvlákňováním, konečná koncentrace 6 hm. %, rozpouštědlový systém hexafluoro-2-propanol (HFP), elektrické napětí 12 kV a průměr jehly byl 0,4 mm .....	42
Obr. 24	Morfologie buněk C17.2 na náhodných (A) PCL/želatina a orientovaných vláken (B) PCL/želatina v poměru 70:30 po 6 dnech buněčné kultury .....	43



Obr. 25	Postup experimentální práce .....	44
Obr. 26	Laboratorní zařízení pro měření vodivosti Eutech Instruments CON 510 .....	46
Obr. 27	Viskozimetr Haake Rotovisco 1 .....	47
Obr. 28	Laboratorní zařízení Nanospider <sup>TM</sup> se strunovou elektrodou: 1. strunový kolektor; 2. podkladný materiál (spun-bond); 3. strunová elektroda; 4. pumpa s polymerním roztokem .....	48
Obr. 29	Skenovací elektronový mikroskop Vega Tescan 3 SB Easy Probe .....	49
Obr. 30	Laboratorní zařízení See System E pro měření kontaktního úhlu a povrchové energie .....	50
Obr. 31	Hansenův 2D graf rozpustnosti PCL a želatiny sestavený na základě $\partial h$ , $\partial p$ a R .....	52
Obr. 32A a B	SEM snímky vrstvy z PCL. Měřítka snímků A je 100 $\mu\text{m}$ a B je 5 $\mu\text{m}$ .....	55
Obr. 33A a B	SEM snímky vrstvy ze želatiny. Měřítka snímků A je 100 $\mu\text{m}$ a B je 10 $\mu\text{m}$ .....	55
Obr. 34A a B	SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 1:1. Měřítka snímků A je 100 $\mu\text{m}$ a B je 10 $\mu\text{m}$ .....	56
Obr. 35A a B	SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 2:1. Měřítka snímků A je 100 $\mu\text{m}$ a B je 10 $\mu\text{m}$ .....	57
Obr. 36A a B	SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 3:1. Měřítka snímků A je 100 $\mu\text{m}$ a B je 10 $\mu\text{m}$ .....	57
Obr. 37A a B	SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 1:2. Měřítka snímků A je 100 $\mu\text{m}$ a B je 10 $\mu\text{m}$ .....	58
Obr. 38A a B	SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 1:3. Měřítka snímků A je 100 $\mu\text{m}$ a B je 10 $\mu\text{m}$ .....	58
Obr. 39	Kontaktní úhel vlákných vrstev PCL, želatiny (GA) a jejich směsí v různých poměrech: (A) PCL/GA v poměru 1:0, (B) PCL/GA v poměru 3:1, (C) PCL/GA v poměru 2:1, (D) PCL/GA v poměru 1:1, (E) PCL/GA v poměru 1:2, (F) PCL/GA v poměru 1:3, (G) PCL/GA v poměru 0:1 .....	59
Obr. 40	Kwok-Neumannova rovnice .....	60

## Seznam tabulek

Tab. 1	Vlastnosti rozpouštědel .....	45
Tab. 2	Technické parametry zařízení Nanospider <sup>TM</sup> .....	48
Tab. 3	Hansenovy parametry rozpustnosti (HSP) pro rozpouštědla, PCL a želatinu .....	51
Tab. 4	Hodnoty vodivosti a viskozity naměřené u 16 hm. % roztoku želatiny (GA), PCL a jejich směsi .....	53
Tab. 5	Hodnoty průměrů vláken vyrobených za pomoci zařízení Nanospider <sup>TM</sup> : $\bar{x}$ [nm] – střední hodnota průměru vláken, min [nm] – minimální hodnota průměru, max [nm] – maximální hodnota průměru, s [nm] – směrodatná odchylka průměru vláken .....	54
Tab. 6	Hodnoty povrchové energie, které byly vypočítány podle Kwok-Neumannovy rovnice .....	60

## Seznam použitých zkratek a symbolů

Symbol	Popis	Jednotka
AA	kyselina octová	
AC	aceton	
C	koncentrace polymerního roztoku	[hm. %]
DCM	dichlormethan	
FA	kyselina mravenčí	
GA	želatina	
HFP	hexafluorpropan-2-ol	
Mn	číselně střední molární hmotnost	[g/mol]
PCL	poly- $\epsilon$ -kaprolakton	
PET	polyethylentereftalát	
PGA	kyselina polyglykolová	
PLGA	kyselina polymléčná	
PVA	polyvinylalkohol	
R	interakční poloměr	[MPa <sup>1/2</sup> ]
RGD motiv	arginin, glycin a aspartát	
S	vodivost polymerního roztoku	[ $\mu$ S]
s	směrodatná odchylka	[nm]
SEM	rastrovací elektronový mikroskop	
TEM	transmisní elektronový mikroskop	
TFA	kyselina trifluoroctová	
T <sub>g</sub>	teplota skelného přechodu	[°C]
T <sub>m</sub>	teplota tání	[°C]
U	elektrické napětí	[kV]
$\gamma$	povrchová energie	[mJ/m <sup>2</sup> ]
$\delta_d$	složka disperzních sil	[MPa <sup>1/2</sup> ]
$\delta_h$	složka vodíkových vazeb	[MPa <sup>1/2</sup> ]
$\delta_p$	složka polárních sil	[MPa <sup>1/2</sup> ]
$\theta$	kontaktní úhel	[°]
$\mu$	viskozita polymerního roztoku	[Pa.s]
$\sigma$	povrchové napětí	[mN/m]
$\bar{x}$	střední hodnota průměru vláken	[nm]

## 1. Úvod

Vláknenné materiály jsou nedílnou součástí většiny moderních kompozitních materiálů, které nalézají široké praktické uplatnění. V současné etapě technického rozvoje jsme schopni získávat vlákna z různých materiálů. Tato vlákna ve výsledku vykazují rozdílné chemické a fyzikální vlastnosti, čehož se využívá v nejrůznějších aplikacích. Dynamický rozvoj chemie a technických věd vede k tomu, že se průběžně objevují nová chemická vlákna, která se svými vlastnostmi významně odlišují od charakteristik komerčně dostupných vláken.

Nanovlákna a materiály na nich založené si jsou podobné svou jedinečnou strukturou a vlastnostmi ve srovnání s klasickými vlákny a materiály. Spojují je také velké vyhlídky na uplatnění v mnoha oblastech moderního života. Nanovlákna je přitom možné získávat různými způsoby. Proces výroby vláken však vždy zahrnuje tři základní kroky: (a) převedení polymeru do stavu viskózního toku, (b) formování nanovlákna a (c) jeho vytvrzování. [1]

Výhodou nanovláken je jejich velký specifický měrný povrch, vysoká pórovitost nízká hmotnost, velmi malý průměr a také široká škála použitelných materiálů. Snadná výroba činí z nanovláken jeden z nejdůležitějších materiálů v takových oblastech jako je například automobilový průmysl, filtrace vody a vzduchu, výroba ochranných oděvů nebo léčiv. Vysoké hodnoty specifického povrchu materiálů vyrobených z nanovláken určují jejich využití zejména při filtrování v systémech čištění vzduchu a plynů, například při ochraně dýchacích orgánů. Středem zájmu urgentní a invazivní medicíny je využití nanovláknenných materiálů zejména při hojení poškozených tkání. Chitosan získávaný metodou elektrostatického zvlákňování napomáhá hojení ran a urychluje proces regenerace kůže. [2 – 3] Jednou z rozhodujících vlastností těchto materiálů, zejména ve tkáňovém inženýrství, je jejich smáčivost.

## 2. Teoretická část

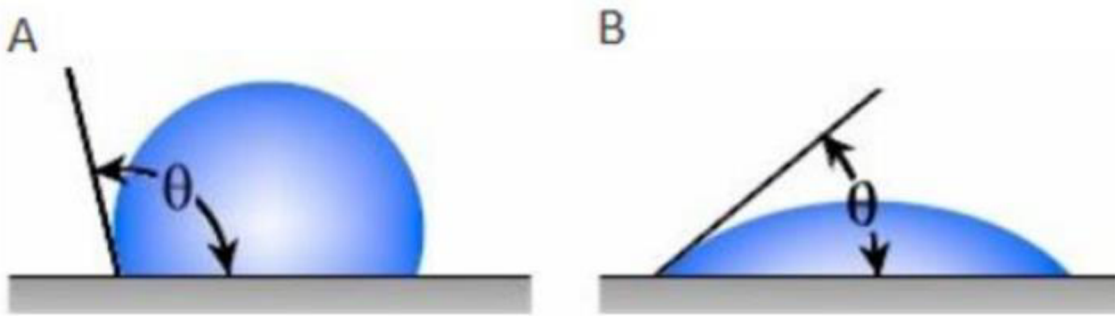
Teoretická část této práce je věnována popisu biomateriálů jako je poly- $\epsilon$ -kaprolakton a želatina, jejich výhodách, nevýhodách a výrobních metodách. Dále je pak věnována metodám výrobě nanovláken a důležité technické parametry, které mohou ovlivnit konečný výsledek výsledných nanovláken.

### 2.1 Tkáňové inženýrství

Tkáňové inženýrství je kombinací biologických a inženýrských oborů s účelem vytvoření biomateriálu, tzv. Scaffold. [4] Scaffold je 3D porézní struktura, která díky své biokompatibilitě, biodegradabilitě a mechanickým vlastnostem slouží k náhradě nebo urychlení regenerace tkání. [5 – 6] Navíc scaffold nevede k imunitní odezvě organismu (reakce organismu na cizí těleso, které proniklo do tkáně).

Jedním z hlavních parametrů materiálů pro tkáňové inženýrství je smáčitelnost materiálu. Kontaktní úhel nebo také úhel smáčení charakterizuje interakci kapky (např. vody) s povrchem různých pevných materiálů (např. poly- $\epsilon$ -kaprolakton), to znamená spojení mezi kapalnou a pevnou fází. Zvýšení smáčivosti materiálu nebo naopak její redukci, s ohledem na to, kde bude tento materiál použit, můžeme docílit jeho povrchovou úpravou. [7]

Povrchy materiálů můžeme rozdělit na hydrofobní a hydrofilní, pokud se jako kapalina použije voda. V případě jiných kapalin používáme obecné označení lyofilní nebo lyofobní povrch. [8] Obecně platí, že pokud kontaktní úhel kapky vody má hodnotu v rozmezí  $0^\circ$  až  $90^\circ$ , pak je materiál hydrofilní, a pokud je kontaktní úhel větší než  $90^\circ$ , lze materiál považovat za hydrofobní. Jestliže kontaktní úhel činí  $150^\circ$  a více stupňů, označujeme povrch materiálu za superhydrofobní. Naopak v případě, že tento úhel nepřesáhne  $10^\circ$ , lze sledovaný povrch považovat za superhydrofilní. [9 – 10] Měření statického kontaktního úhlu je jedna z běžných metod pro určení kontaktního úhlu. Obr. 1 ukazuje porovnání hydrofobního a hydrofilního materiálu.



Obr. 1 A a B: Kontaktní úhel větší než  $90^\circ$  - nedostatečné smáčení (A); úhel menší než  $90^\circ$  - dobré smáčení (B). [9]

Přesnost měření kontaktního úhlu může být ovlivněna nerovností materiálu, nečistotami, chemickou reakcí nebo teplotou vodní kapky. Proto je potřeba věnovat zvýšenou pozornost podmínkám měření.

Základní metodou měření kontaktního úhlu je goniometr, resp. tenziometr. Další metodou měření kontaktního úhlu může být například:

- metoda dynamického sesazení kapky
- metoda přívěskového přetažení
- metoda statického sesazení kapky
- metoda jednovláknového menisku.

## 2.2 Biodegradabilní polymery

### 2.2.1 Biomateriály

Biomateriály jsou nepostradatelné pro medicínu, díky svým fyzikálním, mechanickým a chemickým vlastnostem se používají jako implantáty k nahrazení nebo ošetření určité části těla, nebo mohou být použity jako spotřební materiál pro chirurgické operace. [12]

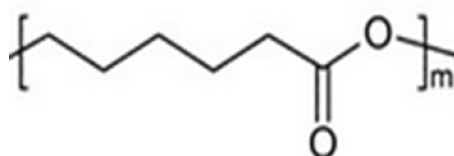
Základní skupiny biomateriálů jsou:

- kovy: nerezová ocel, kobalt, titan
- keramika: oxid hlinitý, oxid zirkoničitý, vápník fosfáty
- polymery: polyestery, polyurethany, polyamidy, polyvinylalkoholy
- přírodní polymery: proteiny a polysacharidy. [13]

Biomateriály interagují se živými tkáněmi po dlouhou dobu, proto je jedním z důležitých kritérií pro biomateriály jejich biokompatibilita. Biokompatibilita je kompatibilita biomateriálu s lidskými nebo zvířecími tkáněmi, protože tkáně živého organismu jsou citlivé; materiál by neměl být toxický nebo způsobit zánět, narušit fungování buněk nebo vést k buněčné smrti. [14] K hodnocení biokompatibility se používá test *in vivo*. Materiál se chirurgicky umístí do ovce nebo myši, pokud organismus nevyvolává imunitní odpověď na biomateriál, lze jej považovat za biokompatibilní, jinak bude materiál považován za nekompatibilní. [12] *In vivo* testy mohou být zpochybňovány, protože člověk má jiné biologické prostředí a může ukázat úplně jiný výsledek reakce těla na materiál. Kromě vlivu biologického prostředí živého organismu na materiál má vliv věk i životní styl pacienta, například kouření nebo jeho fyzická aktivita, což může vést ke zpomalení regenerace tkání. Dalším aspektem biomateriálu je jeho degradace. Materiál se během implantace může začít rozkládat bez toxických fragmentů a při reakcích s biologickým prostředím netvoří nežádoucí produkty. Zbytky prvků po degradaci musí být vylučovány játry a biomateriál lze také odstranit chirurgicky, ale v tomto případě nesmí být biodegradacním. [15]

### 2.2.2 Poly-ε-kaprolakton (PCL)

Poly-ε-kaprolakton (PCL) je lineární syntetický alifatický hydrofobní polyester, s nízkou teplotou tání okolo  $T_m \sim 59-64$  °C a s nízkou teplotou skelného přechodu  $T_g \sim -60$  °C. [16] Z obr. 2 je zřejmé, že díky pěti  $\text{CH}_2$  se polymer bude rozkládat pomaleji. [17]



Obr. 2 Monomerní jednotka PCL. [17]

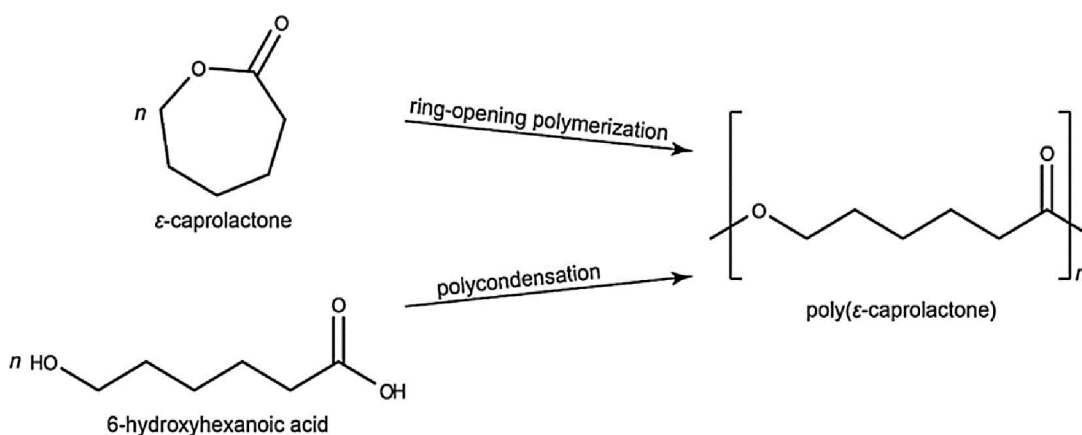
Je známo, že na rozdíl od jiných alifatických polyesterů, jako jsou polylaktid, kyselina polyglykolová a kyselina polylaktid-co-glykolová, se PCL získává z neobnovitelných zdrojů, i přesto, že tento materiál se získává z neobnovitelných zdrojů, PCL je biologicky odbouratelný a netoxický materiál pro lidské tělo, který se používá pro medicínské aplikace (např. chirurgické).

PCL je hydrofobní polymer s určitou krystalinitou 50-55 % a molekulovou hmotností obvykle od  $M_n$  530 do  $M_n$  80 000 g/mol. [18 – 20]

Rychlost degradace PCL závisí jak na obsahu krystality, tak i na molekulové hmotnosti, čím vyšší je molekulová hmotnost, tím nižší je obsah krystalinity. [21]

PCL je rozpustné v benzenu, chloroformu, anisolu, acetyl chloridu, cyclohexanonu, dichloromethanu, toluenu, 2,2,2-trifluoroethanolu, má nízkou rozpustnost v acetonu, ethyl benzoatu, 2-butanonu, dimethylformamidu, propylaminu, 3-pentanonu, ethyl acetatu, a je nerozpustný ve vodě, ethyl alcohol, diethyl ether a petroleum ether, ethanol, methanol, isopropylalkohol, isopropanol, limonene, heptane. [22–24]

Na následujícím obr. 3 je uveden způsob syntézu poly- $\epsilon$ -kaprolaktonu. První způsob je polymerizací s otevřením kruhu, tento způsob je výhodný, protože můžeme získat produkt s vyšší molekulovou hmotností než druhým způsobem. Druhý způsob je polykondenzací 6-hydroxykapronové kyseliny.



Obr. 3 Syntéza poly- $\epsilon$ -kaprolaktonu. [25]

Degradace polymeru je nejdůležitější faktor pro medicínské aplikace, pokud je rychlost degradace pomalejší, než rychlost růstu tkáně, vede k tomu že materiál



může bránit růstu tkáně, pokud to je naopak, tak v důsledku ztráty vazby mezi tkání a polymerem, mohou zpozdit nebo bránit hojení ran. [26]

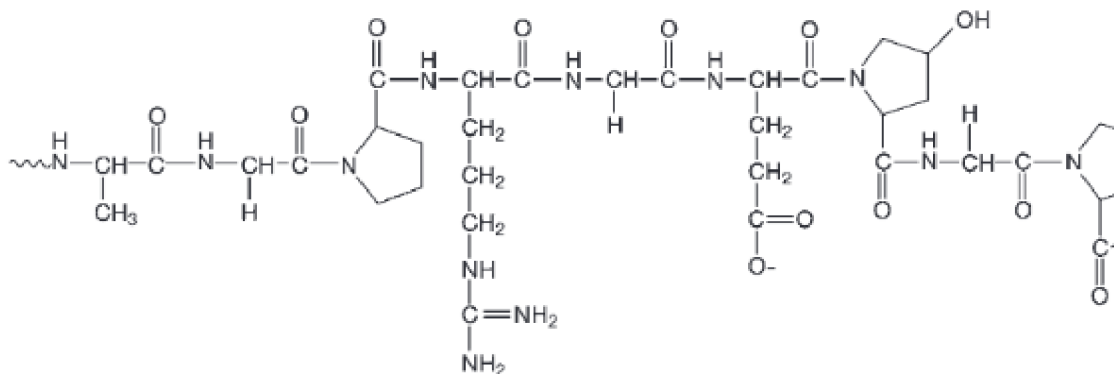
Navzdory skutečnosti, že jeho biokompatibilita je poměrně nízká, PCL má dobré mechanické vlastnosti, snadno tvoří směsi, kompozity a kopolymery. [16] PCL je vhodný pro použití v šlachách, chrupavkách, kostech a dalších biomedicínských aplikacích, které vyžadují mechanickou pevnost.

Čistý poly- $\epsilon$ -kaprolakton bez příměsí může být pro některé biomedicínské aplikace nedostatečný, proto z poly- $\epsilon$ -kaprolaktonu můžeme vytvářet směsi s jinými polymery (přírodními nebo syntetickými) nebo s keramikou (oxid hlinitý). Jak bylo řečeno výše, PCL má nízkou biokompatibilitu, a za účelem zvýšení biokompatibility můžeme připravit směs PLC například s želatinou, čím je vyšší obsah želatiny v polymeru, tím je vyšší biokompatibilita polymeru a urychluje buněčnou proliferaci. [27]

### 2.2.3 Želatina

Želatina (GA) je přírodní polymer, která se získává hydrolyzou kolagenu (obvykle buď kyselou hydrolyzou typu A nebo alkalickou hydrolyzou typu B) a obsahuje všechny potřebné aminokyseliny, díky nimž má želatina některé vlastnosti, jako je biokompatibilita (typ B vykazuje nejlepší biokompatibilitu), netoxičita, absorpce vody a biologická rozložitelnost ve fyziologickém prostředí. Materiály ze želatiny nebo kompozity na jejím základě se využívají pro hojení ran, nervů, chrupavek, kostí a tkání kůže. [28 – 29]

Typická struktura želatiny je -Ala-Gly-Pro-ArgGly-Glu-4Hyp-Gly-Pro- a je zobrazena na obr. 4.



Obr. 4 Chemická struktura želatiny. [30]

Želatina typu B se skládá z 18 aminokyselin: glycin 26,9-27,5 %, prolin 14,8-16,35 %, hydroxyprolin 14,0-14,5 %, kyselina glutamová 11,1-11,4 %, alanin 9,3-11,0 %, arginin 8,55-8,8 %, kyselina asparagová 6,6-6,9 %, lysin 4,5-4,6 %, serin 3,2-4,2 %, leucin 3,1-3,4 %, valin 2,6-3,4 %, fenylalanin 2,2-2,5 %, threonin 2,2 %, izoleucin 1,7-1,8 %, hydroxylyzin 0,91-1,2 %, methionin 0,8-0,9 %, histidin 0,74-0,78 % a tyrozin 0,2-1,0 %. [31]

Existuje mnoho zdrojů želatiny, jako jsou kosti nebo kůže skotu, chrupavek, šlach, hmyzu a ryb; rostlinný zdroj želatiny neexistuje. [32] Aminokyselinové složení rybí želatiny a želatiny savců je významně odlišné. Aminokyseliny v savčí želatině mohou poskytnout stabilní strukturu, vyšší teplotu tání a vyšší viskoelasticitu než rybí želatina. [33]

Kolageny různého původu poskytují želatinu s různými vlastnostmi, které závisí na struktuře, složení aminokyselin a také na molekulové hmotnosti fragmentů kolagenových proteinů, které tvoří její složení. [34]

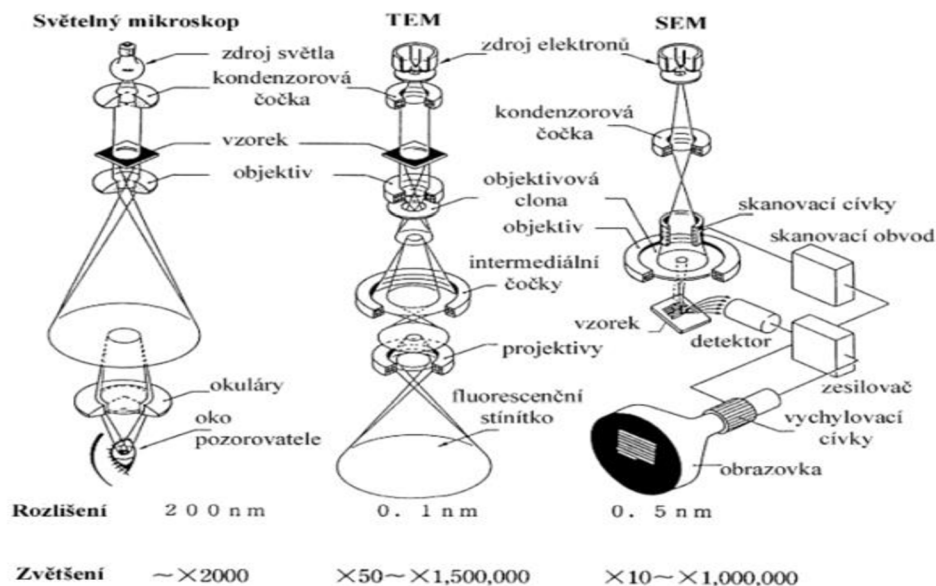
Želatina je rozpustná v glycerolu, kyselině octové a kyselině mravenčí. Želatina je také rozpustná ve vodě. Ve studii od D. S. Pandya a kolektivu byla připravená želatina (typ B) v rozpouštědlovém systému složeného z vody, vzdálenost kolektoru 13-16 cm, elektrické napětí 22-24 kV a konečná koncentrace 24 hm. %. [35] V průběhu studie bylo zjištěno, že rozpuštěná želatina ve vodě tvoří při teplotě 28 °C gel, takže v této práci byl vytvořen mechanismus umožňující zvláknovaný roztok zahřívát při vysokých teplotách (45–55 °C). Vznikla hladká vlákna bez korálových defektů a průměr vzniklých vláken byl od 0,45 μm do 3 μm.

Želatina může být použita místo kolagenu, protože je ekonomicky levnější, neimunogenní (má sekvence RGD motiv), denaturována a také podporuje adhezi, migraci, diferenciaci a proliferaci buněk v oblasti tkáňového inženýrství. [36]

Nevýhodou želatiny je však to, že má špatné mechanické vlastnosti a degradace je relativně rychlá. Tato omezení však lze překonat, pokud se použijí v kombinaci s biologicky odbouratelnými syntetickými polymery (např. PCL). [29]

## 2.3 Elektronový mikroskop

Dalším důležitým parametrem pro analýzu nanostruktury získaných vláken je elektronový mikroskop (obr. 5). Rozdíl mezi elektronovými mikroskopy a běžným světelným mikroskopem je ten, že elektronové mikroskopy využívají k pořízení obrazu elektronový paprsek, zatímco světelné mikroskopy využívají světelný paprsek. [37 – 38] Díky tomu má elektronový mikroskop přibližně cca 250x větší zvětšení než světelný mikroskop, což nám umožňuje lépe analyzovat strukturu materiálu. Také materiál pro elektronové mikroskopy musí být ve vakuu, aby molekuly vzduchu nezabraňovaly průchodu elektronového paprsku k materiálu a nedošlo k ionizaci vzduchu.



Obr. 5 Schéma celého světelného mikroskopu a elektronových mikroskopů SEM a TEM. [37]

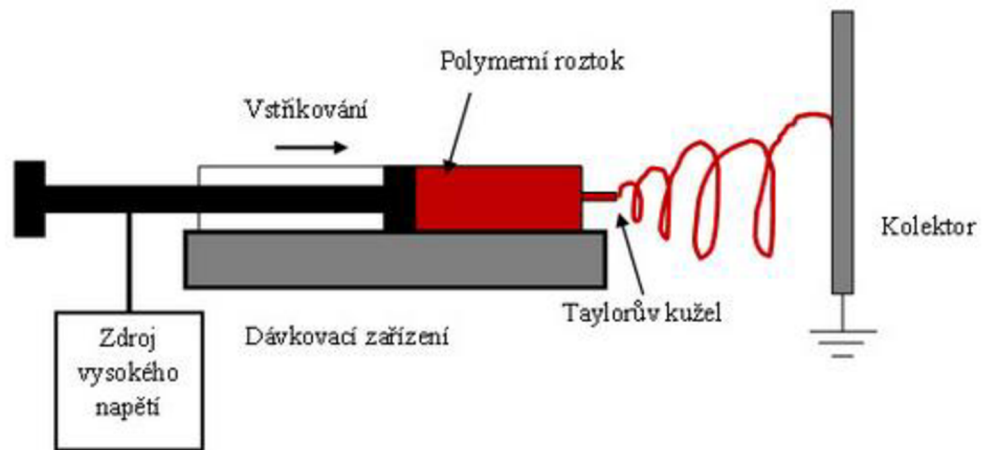
Skenovací elektronový mikroskop (SEM) fokusuje řádek po řádku elektrický paprsek na povrch materiálu, následně se od materiálu odrážejí sekundární elektrony, které jsou následně přitahovány k detektoru, díky sekundárním elektronům je generován obraz povrchu testovaného materiálu. [39-40]

Transmisní elektronový mikroskop (TEM) na rozdíl od SEM ukazuje vnitřní strukturu materiálu o tloušťce do cca 100 nm, proto testovaný materiál musí být tenčí (obvykle 10–200 nm) než vzorek pozorovaný na mikroskopu SEM. [39 – 40] Paprsek elektronů prochází skrz materiál, poté elektrony, které prochází skrz materiál, dopadají na fluorescenční stínítko. [41]

## **2.4 Elektrostatické zvlákňování**

Nejnámější interdisciplinární metodou výroby nanovláken je elektrostatické zvlákňování, neboli elektrospinning. [42] Vlákna o průměru v řádu nanometrů (obvykle v rozmezí 1 až 500 nm) se v průmyslovém měřítku získávají nejčastěji právě touto metodou. Ta totiž v současnosti představuje ekonomicky nejvýhodnější způsob výroby ultratenkých vláken.

Elektrostatické zvlákňování je fyzikální proces, při kterém je elektrický potenciál používán k překonání povrchového napětí polymerního roztoku a následně k vytvoření jeho elektricky nabitého proudu. Tenký proud, paprsek polymerního roztoku se pohybuje směrem k opačně nabitému kolektoru. Během jeho pohybu v prostoru mezi kapilárou a kolektorem dochází k postupnému odpařování rozpouštědla a dalšímu ztenčování paprsku. Materiál tvrdne a vzniklá nanovlákna se shromažďují na kolektoru (obr. 6). Elektrostatické zvlákňování, které se na první pohled jeví jako jednoduchý postup, je ve skutečnosti poměrně komplikovaným procesem, jehož výsledek závisí na řadě technických parametrů. [43]



Obr. 6 Schéma principu elektrostatického zvlákňování – horizontální kapilára. [44]

Nejvýznamnější faktory ovlivňující konečný výsledek procesu elektroformování nanovláken a vlastnosti výsledného materiálu (membrány) lze rozdělit do tří skupin:

1) Vlastnosti polymerního roztoku nebo taveniny, například:

- molekulová hmotnost polymeru
- povrchové napětí
- elektrická vodivost
- teplota roztoku
- viskozita
- permitivita
- topologie polymeru.

2) Technologické parametry procesu elektroformování, například:

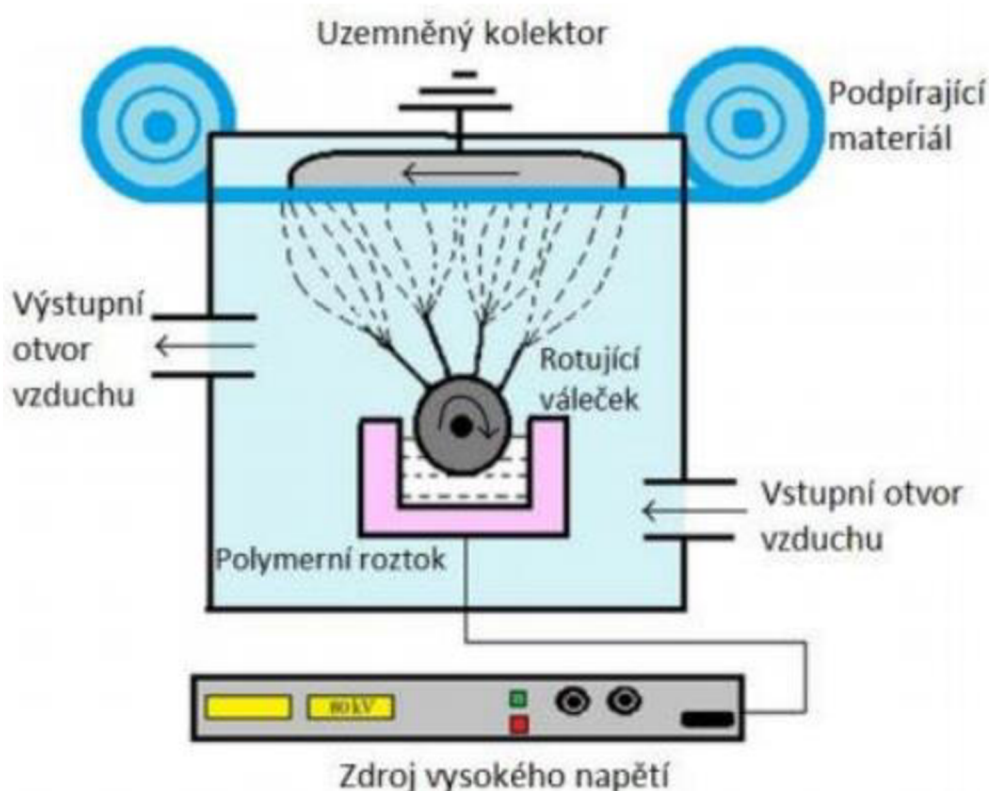
- vzdálenost mezi formovací elektrodou a kolektorem
- elektrická intenzita a potenciál elektrostatického pole
- rychlost dávkování
- tvar emitoru a kolektoru.

3) Parametry prostředí, například:

- vlhkost
- teplota
- složení atmosféry
- proudění vzduchu.

Vlastnosti polymerního roztoku nebo taveniny určují viskózní tok použitého materiálu. Viskózní tok přitom určuje schopnost materiálu vytvářet vlákna a je charakterizován jeho úrovní viskozity a povrchového napětí. Nejužívanější a zároveň aktuálně nejperspektivnější technologií v oblasti produkce nanovláken je jejich elektroformování právě z polymerních roztoků. Při formování vláken závisí hodnoty viskozity a povrchového napětí použitého roztoku nejen na jeho teplotě a koncentraci, ale případně také na druhu a koncentraci přidaných povrchově aktivních látek. Vytvrzování vlákna pak odpovídá způsobu, jakým byl polymer převeden do stavu viskózního toku. Dochází k němu buď ochlazením pod teplotu tání polymeru, nebo odstraněním rozpouštědla jeho odpařením z polymerního roztoku. [45]

V současnosti nejprogressivnějším způsobem formování nanovláken je tzv. bezjehlové elektrostatické zvlákňování technologií Nanospider™ (obr. 7).



Obr. 7 Nanospider™ - Bezjehlové elektrostatické zvlákňování z válce. [46]

Jedná se zároveň o nejrozšířenější technologii průmyslové výroby hladkých a tenkých vláken o průměru 100-300 nm. Je založena na principu získávání nanovláken z vrstvy polymerního roztoku, do něhož je zčásti ponořen rotující válec. Na rotujícím válcovitém povrchu ulpívá tenká vrstva polymerního roztoku, na které se vlivem působením elektrického napětí vysokých hodnot vytváří větší množství Taylorových kuželů. [47] Technologie Nanospider<sup>TM</sup> tak pro tvorbu nanovláken nepotřebuje žádné kapiláry nebo trysky. Vznikající vlákna se pak obdobně jako u jehlového zvlákňování usazují na kolektoru. Čím více Taylorových kuželů na válečku vznikne, tím více vláken se současně vytvoří. Uvedené bezjehlové zvlákňování vykazuje v porovnání s původními výrobními postupy podstatně vyšší produktivitu.

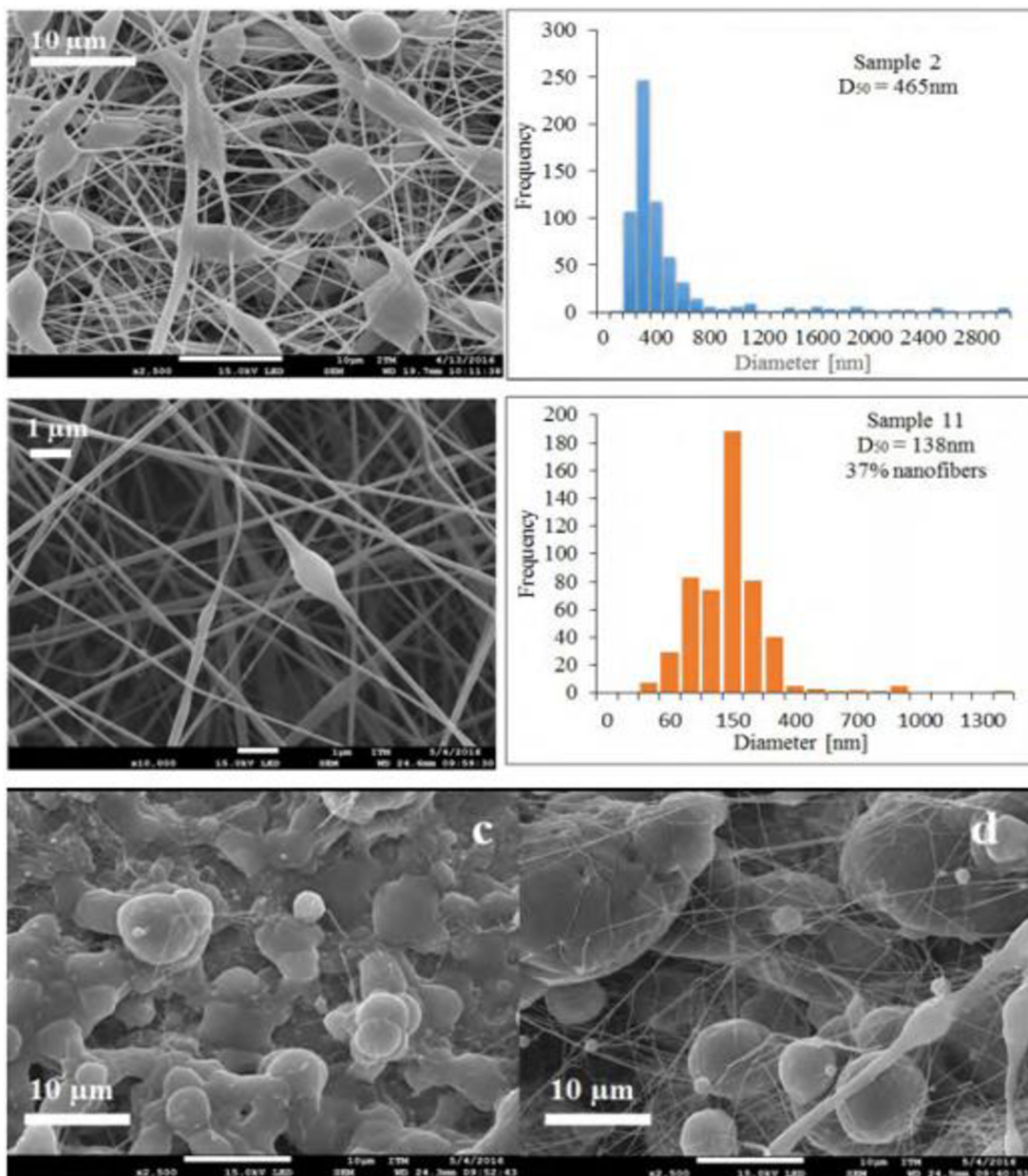
## **2.5 Faktory ovlivňující proces elektrostatického zvlákňování**

### **2.5.1 Vliv molekulové hmotnosti a viskozity**

Molekulární hmotnost polymeru ovlivňuje parametry, jako je viskozita, průměr vláken a morfologie vlákenné vrstvy. Molekulární hmotnost polymeru odráží míru zapletení polymerních řetězců do roztoku, tedy viskozitu roztoku. [15]

Vlivem molekulové hmotnosti na morfologii vyrobených vláken z PCL za pomoci elektrostatického zvlákňování se zabývá studie od G. J. Colmenares-Roldána a kolektivu, kde PCL byl rozpuštěn v acetonu, s konečnou koncentrací 15 hm. %. [48] Polymerní roztoky PCL byly připraveny s různými molekulovými hmotnostmi ((a) Mn 80 000 g/mol, (b) Mn 45 000 g/mol a (c) Mn 14 000 g/mol), elektrické napětí pro všechny vzorky bylo 15 kV.

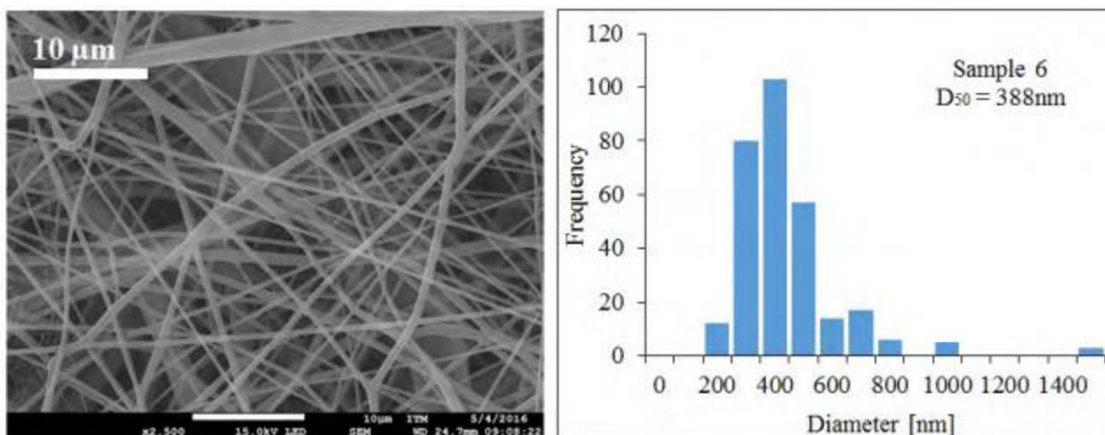
Obr. 8 ukazuje, že při Mn 14 000 g/mol molekulové hmotnosti jsou pozorovány koráلكové defekty. Čím vyšší je molekulová hmotnost, tím je vlákno stabilnější, koráلكové defekty mizí, při Mn 45 000 g/mol se vytvoří vlákna s hladkým povrchem a zmenšeným průměrem, ale při molekulové hmotnosti Mn 80 000 se kromě zvětšení průměru vláken zvyšuje i počet koráلكových defektů.



Obr. 8 SEM snímky ukazující účinek molekulární hmotnosti na PCL ((a) Mn 80 000 g/mol, (b) Mn 45 000 g/mol, (c-d) Mn 14 000 g/mol), vzdálenost kolektoru 15 cm. [48]

Dále v této práci byl zkoumán vliv rozpouštědla na morfologii vláken, u kterého bylo zjištěno, že při použití směsi rozpouštědel aceton/kyselina octová bylo možné eliminovat koráلكové defekty z PCL s molekulovou hmotností Mn 80 000 g/mol. Bylo rovněž poznamenáno, že kyselina octová má vyšší bod varu než aceton, vzhledem k tomuto faktoru byla vzdálenost mezi jehlou a kolektorem změněna z 15 na 20 cm (obr. 9).





Obr. 9 SEM snímky ukazující účinek molekulární hmotnosti PCL ( $M_n$  80 000 g/mol) připravené pomocí rozpouštědlového systému na bázi aceton/kyselina octová v poměru 3:7, elektrické napětí 15 kV, vzdálenost kolektoru 20 cm. [48]

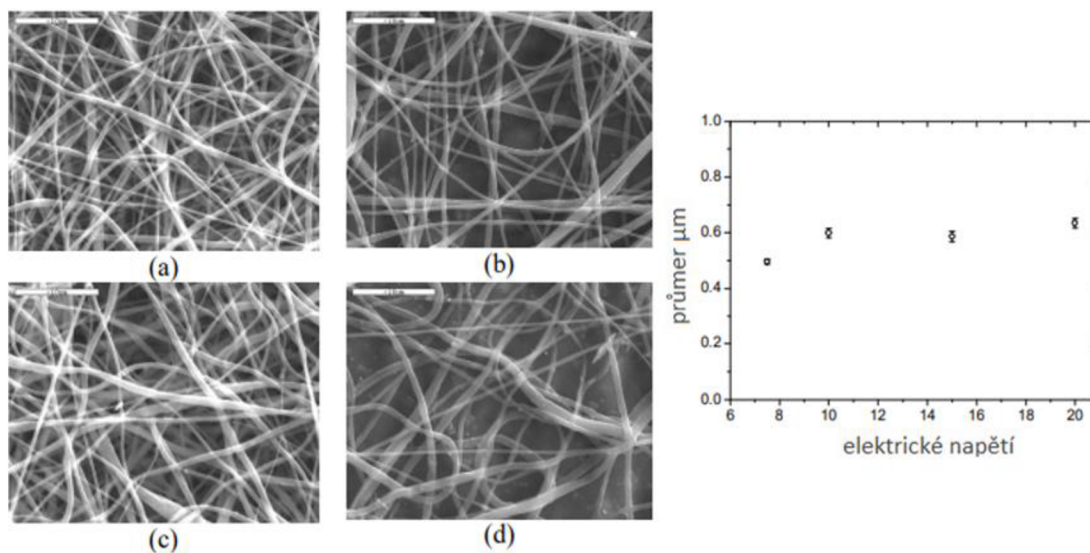
Při molekulové hmotnosti  $M_n$  14 000 g/mol se tvoří koráلكové defekty s použitím acetonu/kyseliny octové jako rozpouštědla. Molekulová hmotnost polymeru ovlivňuje průměr a morfologii vláken, s nárůstem molekulové hmotnosti roste průměr vláken, se snížením molekulové hmotnosti se průměr zmenšuje. Pro každou molekulovou hmotnost existuje vhodná koncentrace a rozpouštědlový systém, díky kterým je možné získat vlákna bez defektu, jak je uvedeno v práci. Použitím směsi rozpouštědel je možné eliminovat koráلكové defekty. [48]

### 2.5.2 Vliv elektrického napětí

Jedním z důležitých parametrů elektrostatického zvlákňování je elektrické napětí. Působením vysokého napětí se kapka roztoku natáhne do kontinuálního proudu, který se nanáší na elektrodu ve formě již vytvrzeného vlákna. Elektrické napětí musí odpovídat viskozitě a povrchovému napětí polymerního roztoku, aby umožnilo vytvoření a udržování stabilního proudu, například při nízkých viskozitách roztoku má vysoké napětí tendenci vytvářet vlákna s malým průměrem. Elektrostatické napětí ovlivňuje zrychlení polymerní trysky, což může ovlivnit konečný výsledek výsledných vláken, tzn. čím vyšší je elektrické napětí, tím rychleji se rozpouštědlo z polymeru odpaří a průměr vláken bude menší. Stejně důležitým parametrem je vzdálenost mezi kolektorem a jehlou; čím menší je vzdálenost, tím nižší elektrické napětí lze použít, což může vést k nedostatečnému času na odpaření rozpouštědla z polymeru a vysušení vlákna. [49]

Neexistuje jednoznačný názor na to, jak elektrické napětí ovlivňuje morfologii vrstev. Některé zdroje uvádějí, že s růstem napětí se průměr vláken zmenšuje, v jiných s růstem napětí se průměr vláken zvětšuje.

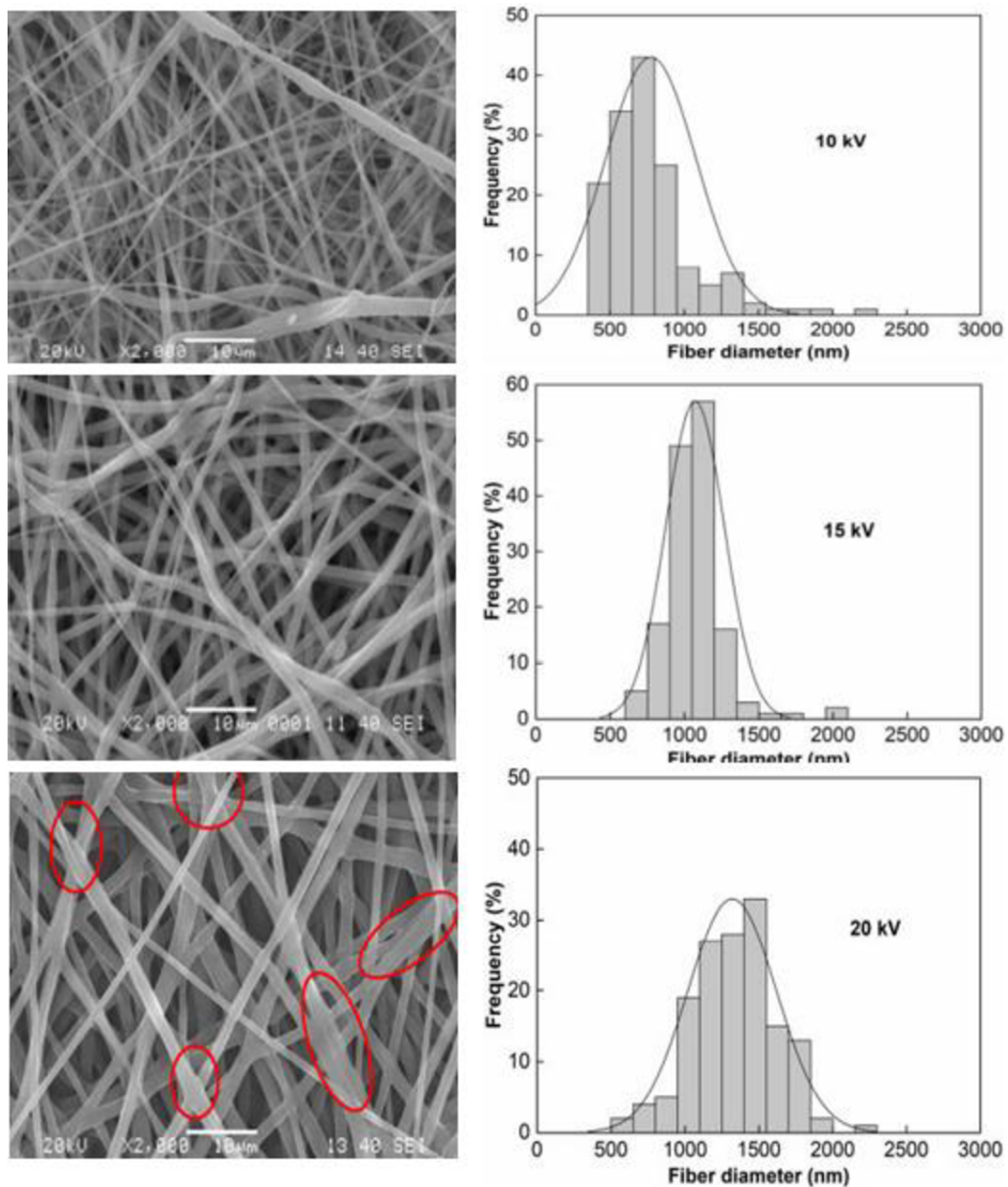
Studie K. P. Kladi a kolektivu se zabývá výrobou vláknenných vrstev PCL, změnami aplikovaného napětí. [50] Obr. 10 ukazuje, že s rostoucím napětím se průměr vláken mírně zvětšuje.



Obr. 10 SEM snímky PCL nanovláken, elektrické napětí (a) 7,5 kV, (b) 10 kV, (c) 15 kV, (d) 20 kV, konečná koncentrace 9 hm. %, rozpouštědlový systém dichlormethan, vzdálenost kolektoru 7 cm. [50]

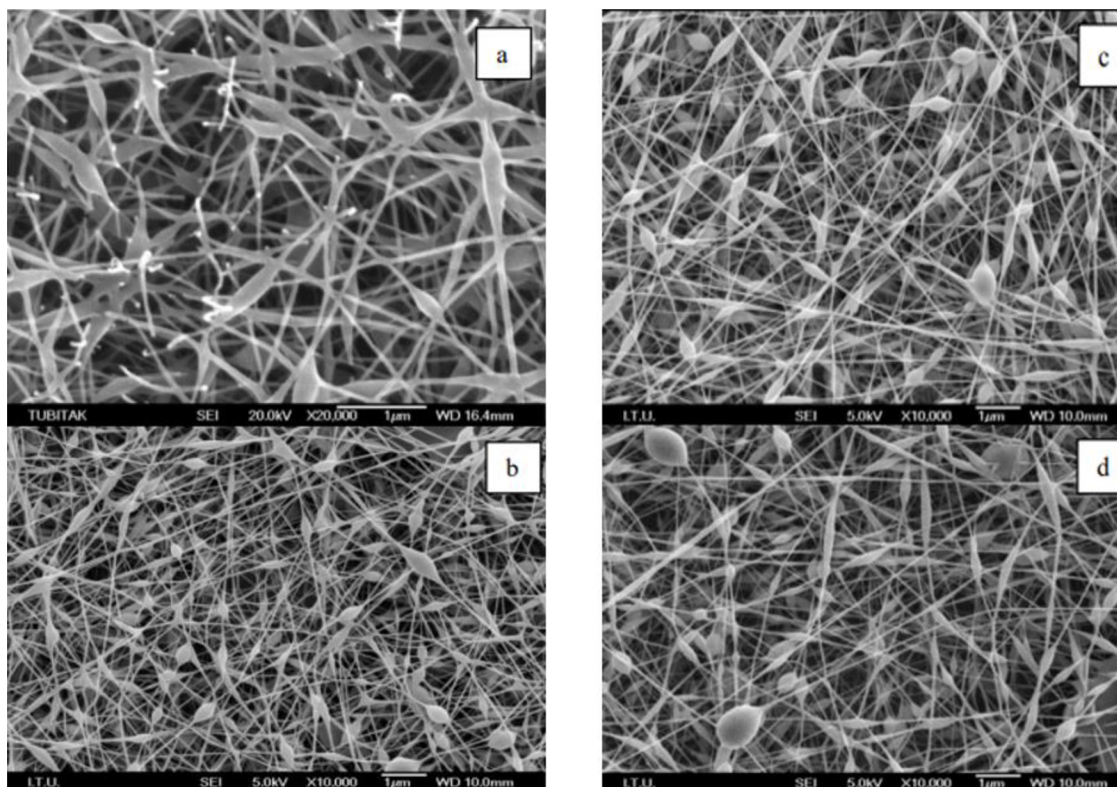
Studiemi bylo zjištěno, že při použití vyššího elektrického napětí se roztok zrychluje ve směru ke kolektoru, zkrátí se doba letu roztoku, což vede ke zvětšení průměru vláken.

Další studie od L. A. Can-Herrery a kolektivu se zabývá výrobou vláknenných vrstev z PCL. [51] Jak je patrné z obr. 11, čím je aplikované napětí vyšší, tím je průměr vláken větší. Je pozorováno, že při napětí 20 kV byl Taylorův kužel nestabilní a vede ke tvorbě spojených vláken, tvorba vláken byla optimální při aplikovaném napětí 10 a 15 kV. Rozdíl oproti předchozí studii spočívá v tom, že se jako rozpouštědlo použije methanol/chloroform v poměru 3:1 a vzdálenost mezi elektrodami je 12 cm, což vedlo k tak významnému rozdílu v průměru PCL.



Obr. 11 Vliv elektrického napětí (a) 10 kV, (b) 15 kV a (c) 20 kV na průměry vláken PCL. [51]

Tvorbou koráلكových defektů s rostoucím napětím (obr. 12) se zabývá studie A. G. Senera a kolektivu. [52] V této studii se říká, že se zvyšujícím napětím se zvyšuje objem koráلكů. Bylo také poznamenáno, že zvětšení vzdálenosti mezi jehlou a kolektorem může eliminovat koráلكové defekty.



Obr. 12 SEM snímky vytvořených vlákněných vrstev z PVA (a) 28 kV, (b) 35 kV, (c) 40 kV a (d) 45 kV, vzdálenost kolektoru 9 cm, koncentrace 6 hm. %. [52]

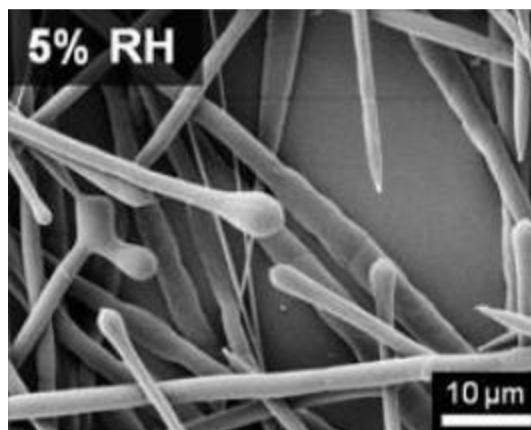
Studiemi bylo zjištěno, že při použití vyššího elektrického napětí se roztok zrychluje ve směru kolektoru, zkrátí se doba letu roztoku, což vede ke zvětšení průměru vlákna. Na základě těchto údajů můžeme říct, že elektrické napětí je jeden z faktorů při výrobě vláken, ale při získávání hladkých vláken hraje významnou roli koncentrace, rozpouštědla a vzdálenost mezi kolektorem a jehlou.

### 2.5.3 Vliv vlhkosti

Dalším z parametrů ovlivňujících proces zvlákňování je vlhkost prostředí. Bylo zjištěno, že vlhkost prostředí elektrostatického zvlákňování ovlivňuje tvorbu koráلكových vláken (obr. 14).

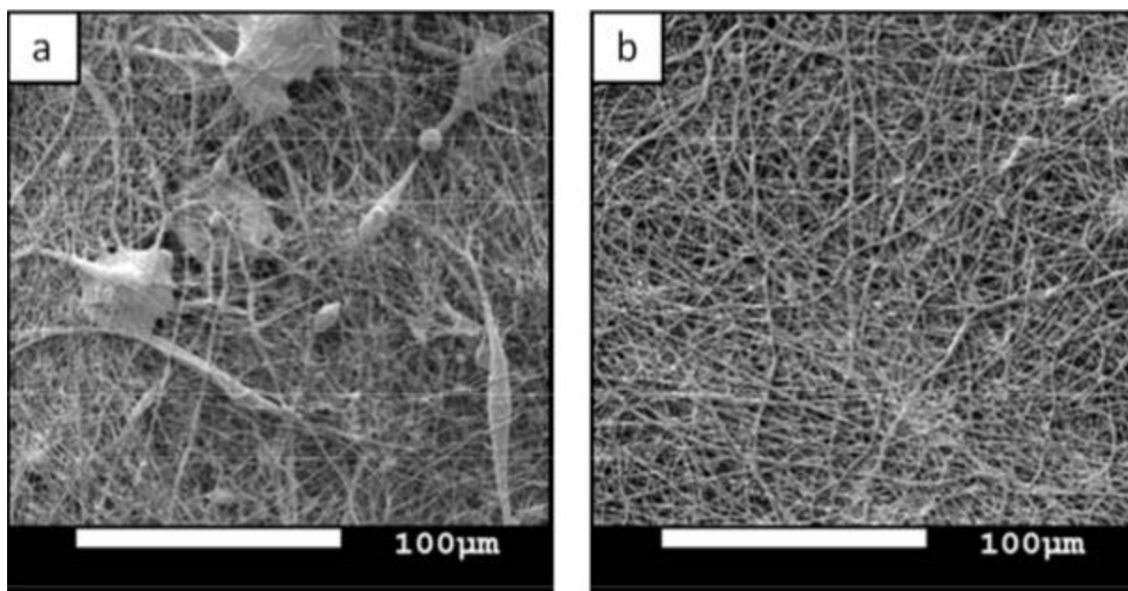
Při velmi nízké vlhkosti rozpouštědlo zaschne, což může vést k ucpání jehly a zabránit vzniku nových vláken. Podle studie R. M. Nezaratiho a kolektivu se však podařilo vyrobit vlákna z PCL s obsahem vlhkosti 5 %, přičemž PCL byl rozpouštěn v chloroformu/dimethylformamidu v poměru 4:1. [53]





Obr. 13 SEM snímek vlákna PCL při vlhkosti 5 %. [53]

Ve své práci se R. Ramakrishnan a kolektiv zabývá výrobou vlákenných vrstev z PCL, který byl rozpuštěn pomocí dichlormethanu. [54]



Obr. 14 SEM snímky vláken PCL při různé vlhkosti: (a) 40 %, (b) 60 %. [54]

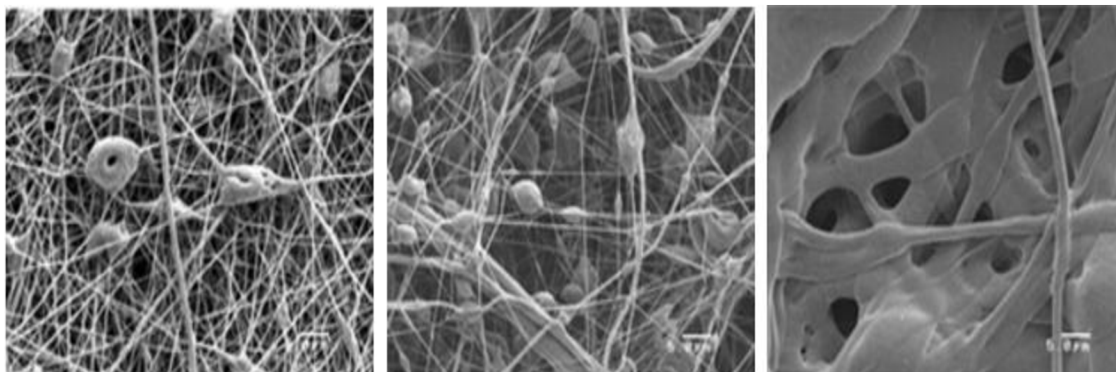
Z obr. 14 (a-b) je zřejmý vliv vlhkosti na morfologii vláken, při obsahu vlhkosti 40 % vznikají korálkové defekty, se zvýšením vlhkosti do 60 % jsou korálkové defekty eliminovány. Bylo zjištěno, že rozpouštědlo dichlormethan se rychle odpařuje při nízké vlhkosti, takže byla zvolena optimální vlhkost 60 %, protože k odpaření rozpouštědla dochází, když polymer dosáhne kolektoru, díky čemuž byla získána vlákna s menším průměrem. [54] Při správném výběru vlhkosti je možné získat vlákna s nízkým průměrem.

#### 2.5.4 Vliv koncentrace polymerního roztoku

Při získávání hladkých vláken bez korálkových defektů hraje jednu z nejdůležitějších funkcí koncentrace roztoku. Vlákná se získávají odpařováním rozpouštědla a vytvrzováním, což znamená, že průměr vláken bude záviset na množství polymeru v paprsku. [55] Pro získání vláken musí mít polymer minimální hodnotu koncentrace, může to záviset od molekulové hmotnosti polymerů nebo od použitých rozpouštědel. Při nízké hodnotě koncentrace mohou být vlákna přerušena a vytvářet kapky. Aby se tomu zabránilo, je nutné experimentálně najít optimální koncentraci pro získání hladkých vláken bez defektů pro požadovanou aplikaci. Koncentrace roztoku nemůže být příliš vysoká - pokud je koncentrace příliš vysoká, nemohou se tvořit vlákna.

Ze svého dosavadního studia bylo zjištěno, že viskozita roztoku závisí od jeho koncentrace: čím vyšší je koncentrace roztoku, tím vyšší je viskozita. Viskozita se může lišit v závislosti od použitého rozpouštědla nebo molekulové hmotnosti polymeru a konečné koncentrace polymeru. [56]

Ve své práci se L. A. Bosworth a kolega zabývá výrobou vlákenných vrstev z PCL, který byl rozpuštěn pomocí acetonu. [57] Z obr. 15 vidíme, že se zvyšováním koncentrace mizí korálkové defekty. Kvůli nedostatečné vzdálenosti kolektoru vznikají mokrá vlákna (obr. 15 (c)).



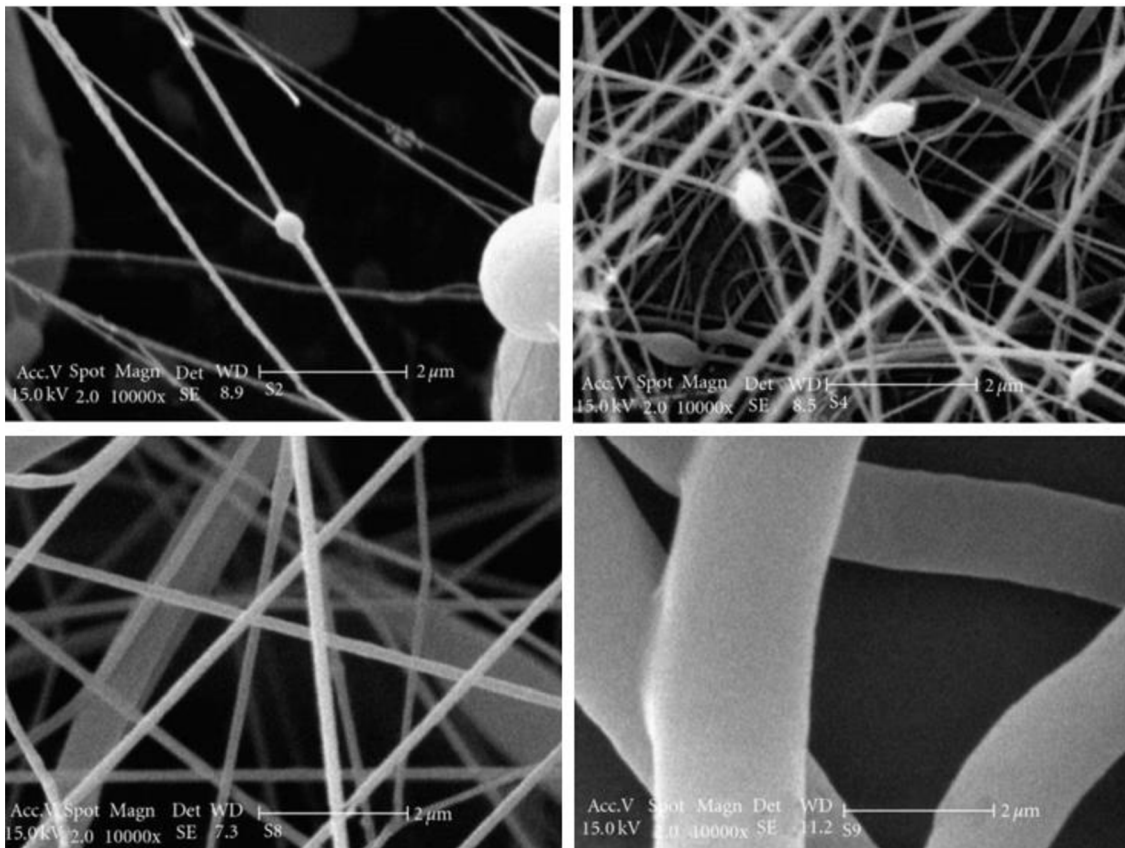
Obr. 15 SEM snímky vytvořených vlákenných vrstev z PCL, rozpouštědlový systém aceton, vzdálenost kolektoru 10 cm, elektrické napětí 15 kV a konečná koncentrace (a) 5, (b) 7,5 a (c) 10 hm. %. [57]

Poté v práci byla upravena vzdálenost konce jehly z 10 cm na 15 cm a elektrické napětí z 15 kV na 25 kV. Bylo poznamenáno, že nebylo možné získat vlákna bez koráلكových defektů pro PCL 5 hm. % a 7,5 hm. %, ale při 10 hm. % byl výsledkem kruhový tvar vláken a bez koráلكových defektů. Vezmeme-li v úvahu toto, můžeme říct, že nízká koncentrace roztoku může přispívat k tvorbě koráلكových defektů. Čím je koncentrace vyšší, zvyšuje se průměr vláken a koráلكové defekty mizí.

### **2.5.5 Vliv rozpouštědla**

Nejdůležitějším stupněm pro elektrostatické zvlákňování je volba vhodného rozpouštědlového systému pro přípravu hladkých nanovláken. Tato volba je obvykle založena na řadě chemických a mechanických faktorů, například na rozpustnosti polymeru v daném rozpouštědle, bodu varu, elektrické vodivosti, povrchovém napětí a viskozitě výchozího materiálu či na dielektrické konstantě rozpouštědla. [42]

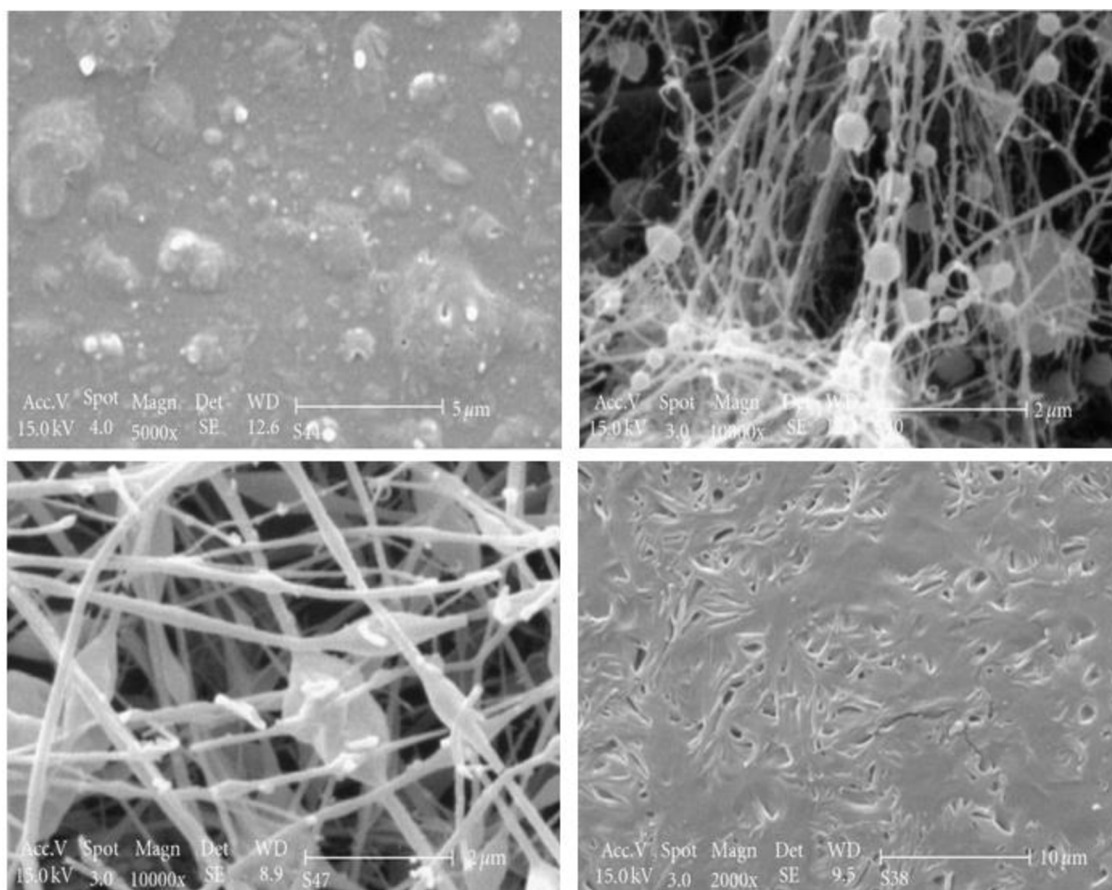
Volbou vhodného rozpouštědla a jeho koncentrace v roztoku můžeme eliminovat koráلكové defekty a zvýšit průměr výsledných nanovláken (obr. 16).



Obr. 16 SEM snímky vytvořených vlákněných vrstev z PCL v různých koncentracích: (a) 5, (b) 10, (c) 15, a (e) 20 hm. %, rozpouštědlový systém kyselina octová. [58]

Z obr. 16 (a-e) je zřejmé, že průměr vláken získaných elektrostatickým zvlákňováním se zvyšuje. Je známo, že ke vzniku vláken zvlákňováním z roztoku polymeru dochází po odpaření rozpouštědla. Ideálně, pokud se rozpouštědlo vypaří z vláken úplně před tím, než se tato vlákna usadí na kolektoru. Pokud k odpaření rozpouštědla nedojde nebo je nedostatečné (například při použití málo těkavého rozpouštědla), může dojít k naneseným morkým vláknům. [59] Naopak příliš těkavé rozpouštědlo může způsobit přerušované zvlákňování v důsledku tuhnutí polymeru na špičce zvlákňovací trysky. [58] U dalších vzorků jsou SEM snímky PCL nanovláken připraveny v rozpouštědlovém systému kyselina mravenčí/acetón (FA/AC) v poměru 4:1 v různých koncentracích.



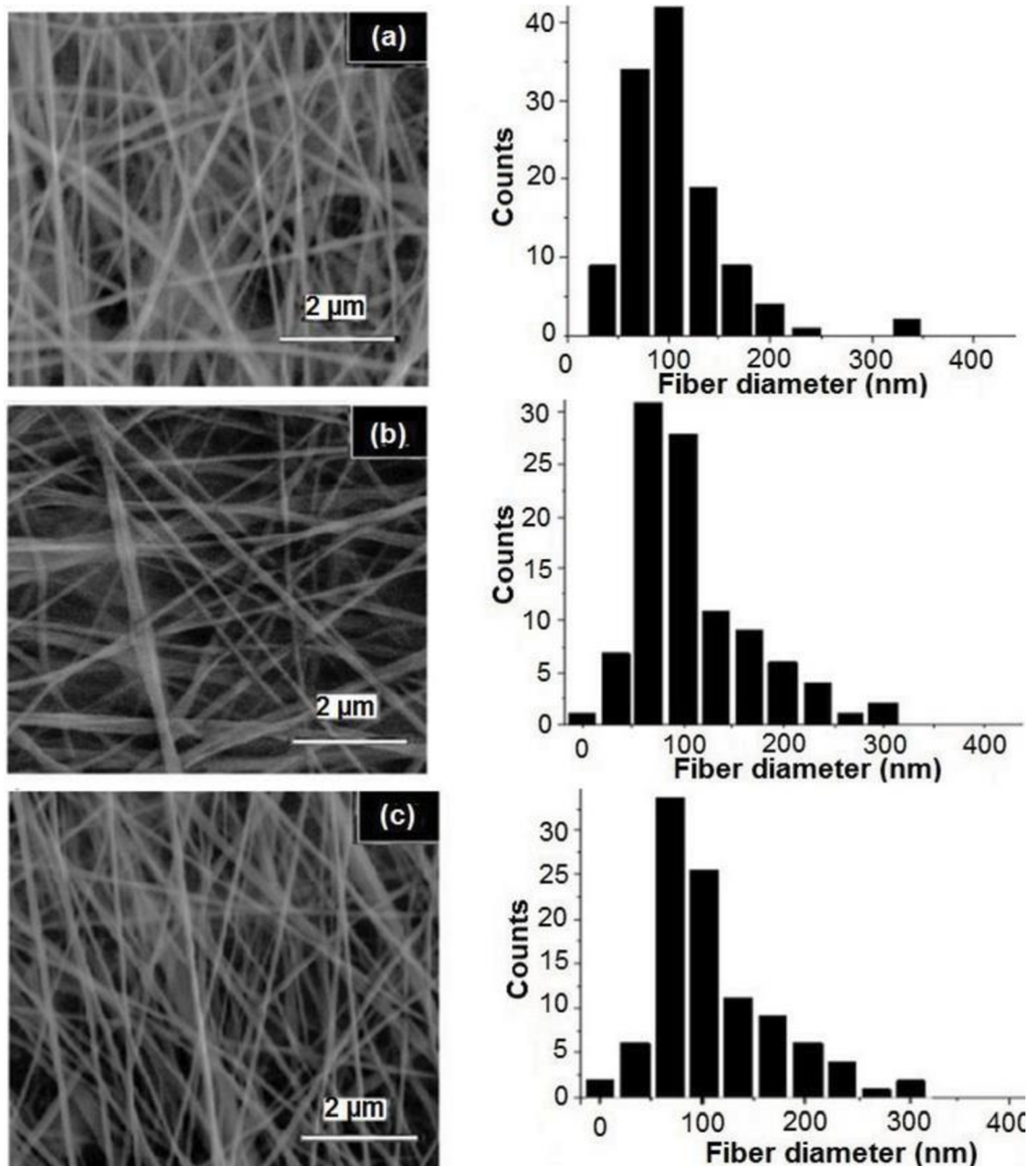


Obr. 17 SEM snímky PCL nanovláken připravené za pomoci rozpouštědlového systému na bázi FA/AC v poměru 4:1 v různých koncentracích (a) 5 hm. %, (b) 10 hm. %, (c) 15 hm. %, (d) 20 hm. %. [58]

Na obr. 17 (a) kvůli nízké koncentraci se na kolektoru vytvářely pouze kapičky. Při koncentraci 10 hm. % se vytvořila vlákna s mnoha korálovými defekty. Se zvýšením koncentrace na 15 hm. % korálové defekty se změnily z kulatého na oválný a současně se zlepšila morfologie vláken. Při PCL o koncentraci 20 hm. % byla na kolektor uložena mokrá vlákna, která se na kolektoru slepují dohromady. Je to kvůli vysoké koncentraci a nedostatečné vzdálenosti mezi kolektorem a jehlou, což má za následek nedostatečný čas pro odpaření rozpouštědla. [58] Z uvedených dat vyplývá, že kromě rozpouštědla stojí za zvážení faktory, jako je koncentrace. V každém rozpouštědle jsou zvýšením koncentrace roztoku odstraněny korálové defekty a střední průměr vláken se zvyšuje. Dalším, stejně důležitým parametrem pro rozpouštědla, je bod varu rozpouštědla, vzdálenost mezi kolektorem a zvláknovací jehlou.

### 2.5.6 Vzdálenost mezi kolektorem a koncem jehly

Dalším významným procesním parametrem je vzdálenost mezi kolektorem a jehlou. Tento parametr významně ovlivňuje průměr a morfologii vznikajících vláken. B. Ekram a kolektiv se zabývá vlivem procesní vzdálenosti mezi kolektorem a jehlou pro výrobou vlákněných vrstev z PCL (obr. 18). [60]



Obr. 18 SEM snímky morfologie a hodnoty průměru PCL vláken při vzdálenosti kolektoru (a) 10, (b) 12,5 a (c) 15 cm. [60]

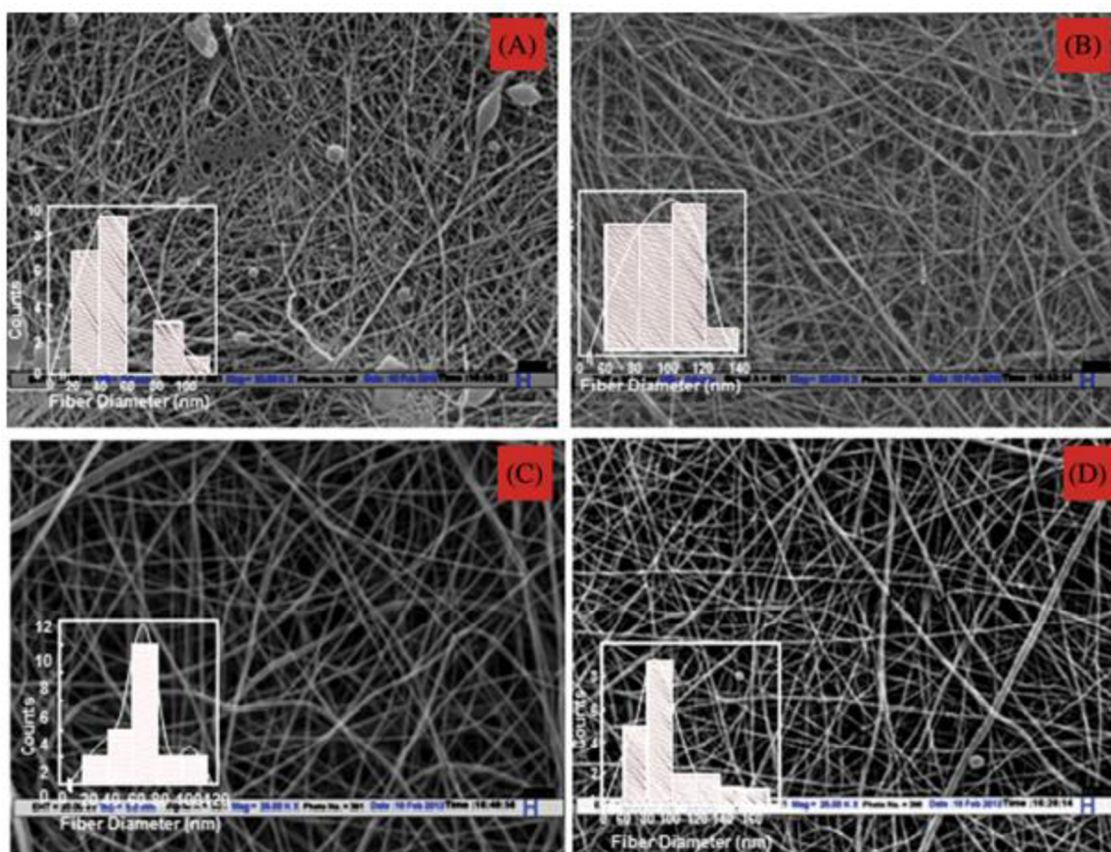
Ze snímků vyplývá, že při malé vzdálenosti jehly od kolektoru vznikají vlákna s velkým průměrem a defekty. Důvodem je, že se snížením vzdálenosti dochází ke zvýšení elektrického pole. To má za následek nedostatečné odpaření rozpouštědla. Z obr. 18 je zřejmé, že se zvyšující se vzdáleností mezi kolektorem a elektrodou bude průměr vláken klesat, ale reprodukovatelnost vláken se snížila.

## **2.6 Elektrostatické zvlákňování želatiny**

Studie J. Joy a kolektiv se ve své práci zabývá výrobou nanovláken ze želatiny (typ A) z vepřové kůže s molekulovou hmotností  $M_n$  50 000 až  $M_n$  1 000 000 g/mol. [61]

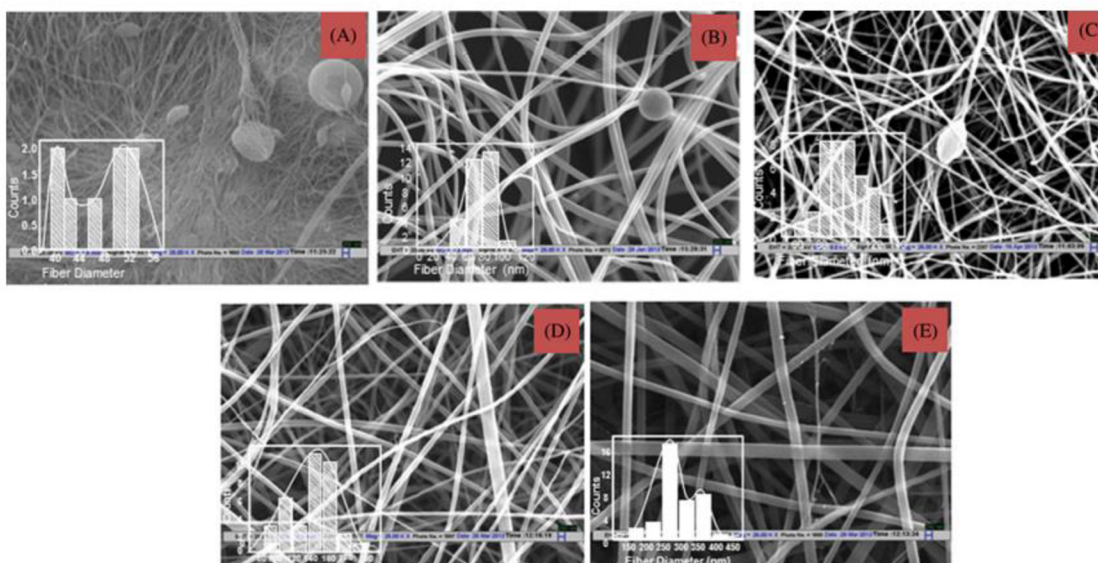
Pro elektrostatické zvlákňování byly připraveny roztoky želatiny, které byly rozpuštěny v kyselině octové a vodě v poměru 50:50, 60:40, 70:30, 80:20. Želatina byla rozpuštěna během 2 hodin při teplotě 40 °C s konečnou koncentrací 8 hm. %. K získání vláken byla použita jehlová technologie E-Spin Nano Pvt. Ltd, průměr jehly byl 2 mm, vzdálenost byla 15 cm a elektrické napětí bylo od 15 do 30 kV.

V této práci bylo zjištěno, že k vytvoření hladkých vláken s nejmenším průměrem a bez defektů (obr. 19) je optimální poměr rozpouštědla 70:30 a napětí 25 kV.



Obr. 19 SEM snímky vlákných vrstev želatiny, připravených jehlovým elektrostatickým zvláknováním, konečná koncentrace 8 hm. %, rozpouštědlový systém kyselina octová/voda v poměru (A) 50:50, (B) 60:40, (C) 70:30, (D) 80:20, vzdálenost kolektoru 15 cm a elektrické napětí bylo 25 kV. [61]

Další studie v této práci spočívaly v nalezení optimální koncentrace, k tomu byly připraveny želatinové roztoky o koncentraci od 4 do 16 hm. %. Další parametry, jako je vzdálenost kolektorů, rozpouštědla a napětí, se nezměnily.



Obr. 20 SEM snímky vlákných vrstev připravených jehlovým elektrostatickým zvlákňováním v různých koncentracích (A) 4, (B) 8, (C) 10, (D) 12, (E) 16 hm. %, rozpouštědlový systém kyselina octová/voda v poměru 70:30, vzdálenost kolektoru 15 cm a elektrické napětí 25 kV. [61]

Obr. 20 ukazuje, že se zvýšením koncentrace želatiny se zvětšuje průměr vláken a zmenšují se koráلكové defekty. Jak vidíme na obr. 20 (A, B a C), vlákna obsahují koráلكové defekty, obr. 20 (D) ukazuje, že koráلكové defekty byly eliminovány, ale byla vytvořena vlákna nepravidelného tvaru. Obr. 20 (E) nám ukazuje hladká vlákna bez defektu.

Konečné optimalizované podmínky pro výrobu želatinových nanovláken bez defektů jsou tedy: koncentrace želatiny 16 hm. %, elektrické napětí 25 kV, poměr směsi rozpouštědel 70:30 kyselina octová a voda, vzdálenost kolektoru 15 cm.

Želatinová nanovláknenná vrstva získaná za těchto optimalizovaných podmínek byla tedy dále analyzována na její biokompatibilitu. Implantace této vláknenné vrstvy podpořila produkci kolagenu a snížila zánět během týdne, což naznačuje její účinnost a bezpečnost v tkáňovém inženýrství. [61]

## 2.7 Elektrostatické zvlákňování PCL

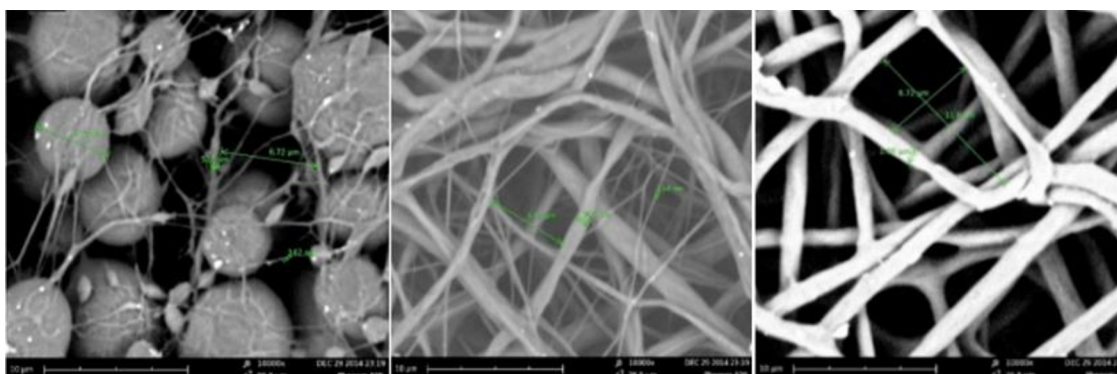
Další studie od A. R. Jabura a kolektivu se ve své práci zabývá výrobou scaffoldů z PCL pro růst kmenových buněk pro aplikaci v měkkých tkáních. [62] Pro elektrostatické



zvlákňování byly připraveny roztoky PCL o molekulové hmotnosti  $M_n$  80,000, které byly rozpuštěny v dimethylformamidu/chloroformu.

PCL bylo rozpuštěno během 6 hodin při pokojové teplotě s různými koncentracemi 10, 15 a 20 hm. %. Zařízením pro tuto studii byl systém Bio-elektrospinning/Electrospray ESB-200, aplikované elektrické napětí 15 kV, vzdálenost kolektoru 12,5 cm, průměr jehly byl 0,7 mm.

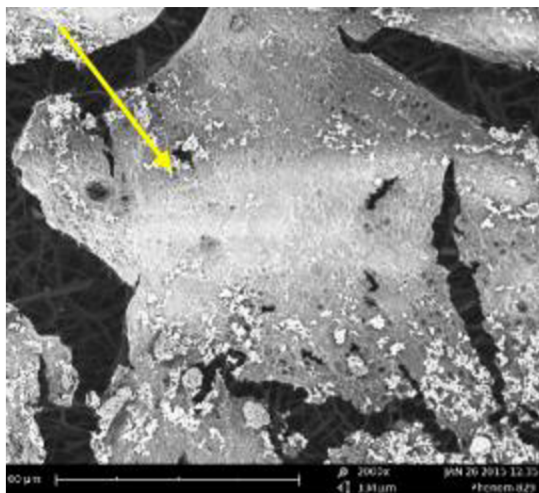
Na obr. 21 (a) vidíme, že při nízké koncentraci PCL se získají menší průměry vláken (259 nm), což vede k lepší buněčné proliferaci, současně se objevují koráلكové defekty s nízkou koncentrací. Na následujícím obr. 21 (b) již PCL neobsahuje žádné koráلكové defekty, ale existuje mnoho vláken s nízkým průměrem 100-300 nm, střední průměr vláken je 740 nm, což může vést k nerovnoměrnému růstu buněk na povrchu. Obr. 21 (c) ukazuje, že střední průměr vlákna je 1252 nm, vlákna menší než 700 nm nejsou pozorována.



Obr. 21 SEM snímky vláknenných vrstev PCL připravených jehlovým elektrostatickým zvlákňováním v různých koncentracích (a) 10, (b) 15, (c) 20, hm. %, rozpouštědlový systém dimethylformamid/chloroform, vzdálenost kolektoru 12,5 cm a elektrické napětí 15 kV. [62]

Dále byla provedena analýza růstu kmenových buněk na nanovláknenných vrstvách PCL připravených z koncentrací 10, 15 a 20 hm. %. In-vitro testování trvalo 21 dnů. Nejvyšší buněčná viabilita byla pozorována na vláknenné vrstvě z 15 hm. % díky hladkým vláknům a střednímu průměru o 740 nm podporovala rychlý růst (obr. 22). Vlákenná vrstva PCL o koncentraci 10 hm. % vykazovala nízký růst buněk spojený s koráلكovými defekty, které brání buněčnému růstu. Vlákenná vrstva PCL z koncentrace 20 hm. % vykazovala vyšší rychlost růstu buněk než vláknenná vrstva z 15 hm. % PCL,

ale vzhledem k vysokému průměru vláken to přispělo ke snížení schopnosti scaffoldů PCL potřebných pro připojení buněk.

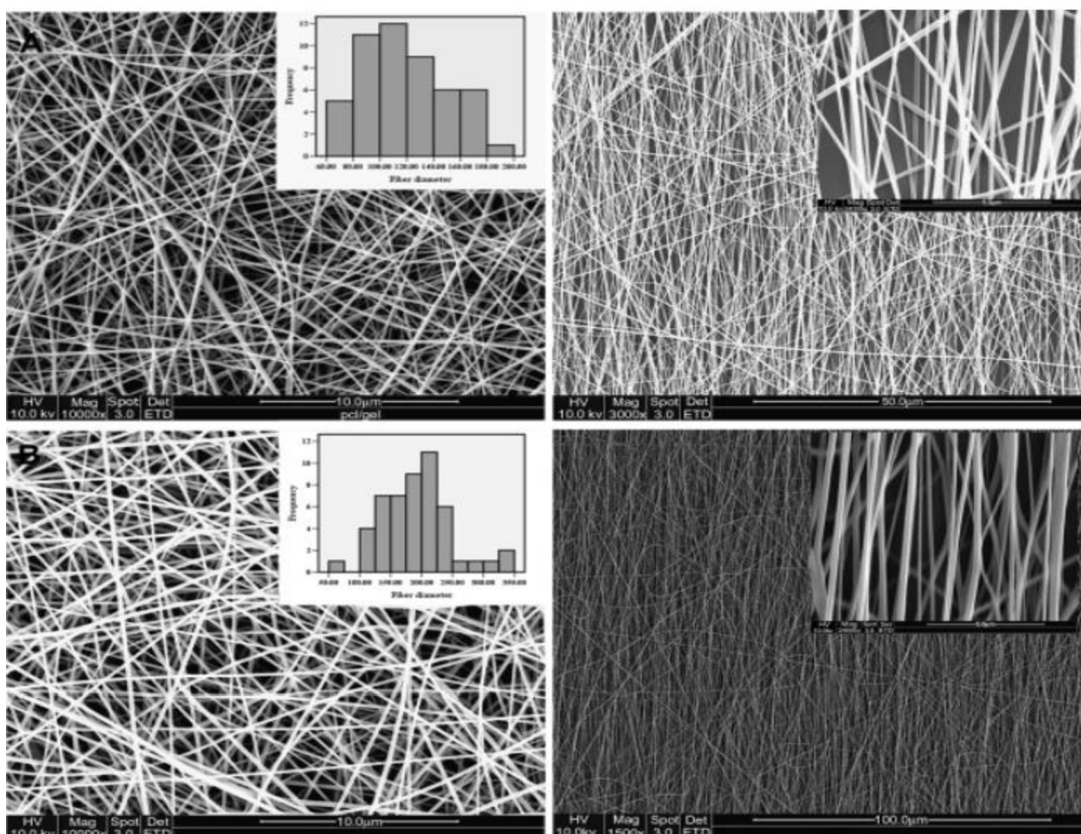


Obr. 22 Scaffold PCL o koncentraci 15 hm. %, naočkované kmenovými buňkami po dobu 21 dnů. [62]

## 2.8 Elektrostatické zvlákňování směsi PCL/želatiny

Výrobou biodegradabilních nanovláknenných scaffoldů ze směsi PCL a želatiny pro nervové tkáňové inženýrství se ve své studii zabývala L. Ghasemi-Mobarakeh a kolektiv. [63] Ke studii použili PCL o molekulové hmotnosti  $M_n$  80,000 g/mol a želatinu typu A z prasečí kůže. Rozpouštědlem byl hexafluoro-2-propanol (HFP).

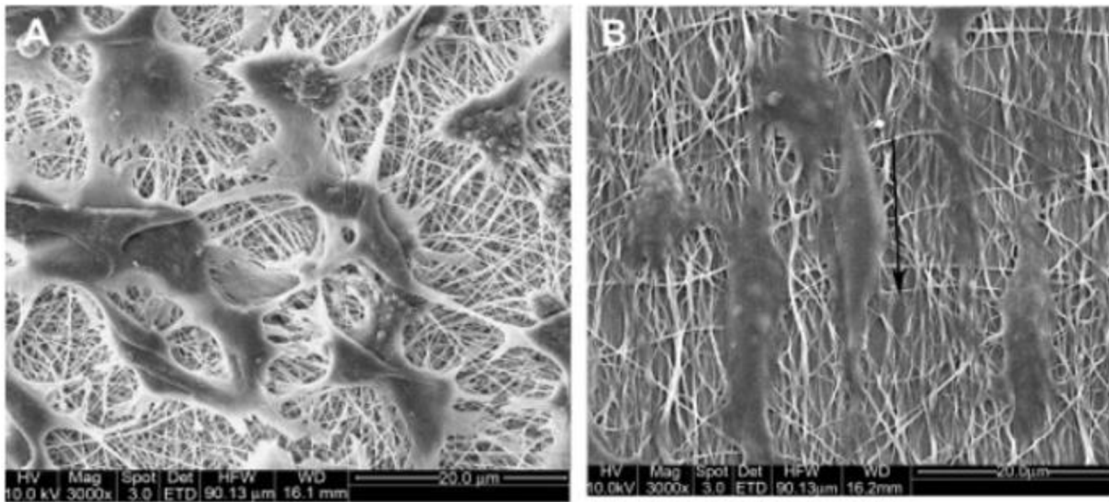
Pro zvlákňování byly připraveny roztoky ze směsi polymerů PCL a želatiny rozpuštěné v HFP s konečnou koncentrací 6 hm. % v poměru PCL/želatiny 50:50 a 70:30. Ve studii došlo k porovnání orientovaných vláken a náhodných vláken. K získání orientovaných vláken byl použit rotující disk s rychlostí 1000 ot/min. Pro tvorbu náhodných vláken byla využita hliníková deska. Zvlákňování v obou případech probíhalo při elektrickém napětí 12 kV a dávkování roztoku 1 ml/h, průměr jehly byl 0,4 mm. Bylo zjištěno, že se zvýšením koncentrace želatiny v roztoku se průměr vláken zmenšuje a snižuje se stupeň vyrovnání vláken (obr. 23). [63]



Obr. 23 SEM snímky (A) náhodných a orientovaných vláken PCL/želatiny v poměru 50:50 a (B) náhodných a orientovaných vláken 70:30 připravených jehlovým elektrostatickým zvlákňováním, konečná koncentrace 6 hm. %, rozpouštědlový systém hexafluoro-2-propanol (HFP), elektrické napětí 12 kV a průměr jehly byl 0,4 mm. [63]

Dále byla ve studii sledována degradace vlákněných vrstev, a to po dobu dvou týdnů. Během studie bylo zjištěno, že došlo k rychlejší degradaci směsi PCL/želatiny v poměru 50:50 v důsledku zvýšení obsahu želatiny ve srovnání se směsí PCL/želatiny v poměru 70:30. Dále byl proveden in vitro test. K testu byly využity nervové kmenové buňky a byla vybrána směs PCL/želatiny v poměru 70:30 kvůli dobrým mechanickým vlastnostem a delší době degradace, vhodné pro tkáňové inženýrství.



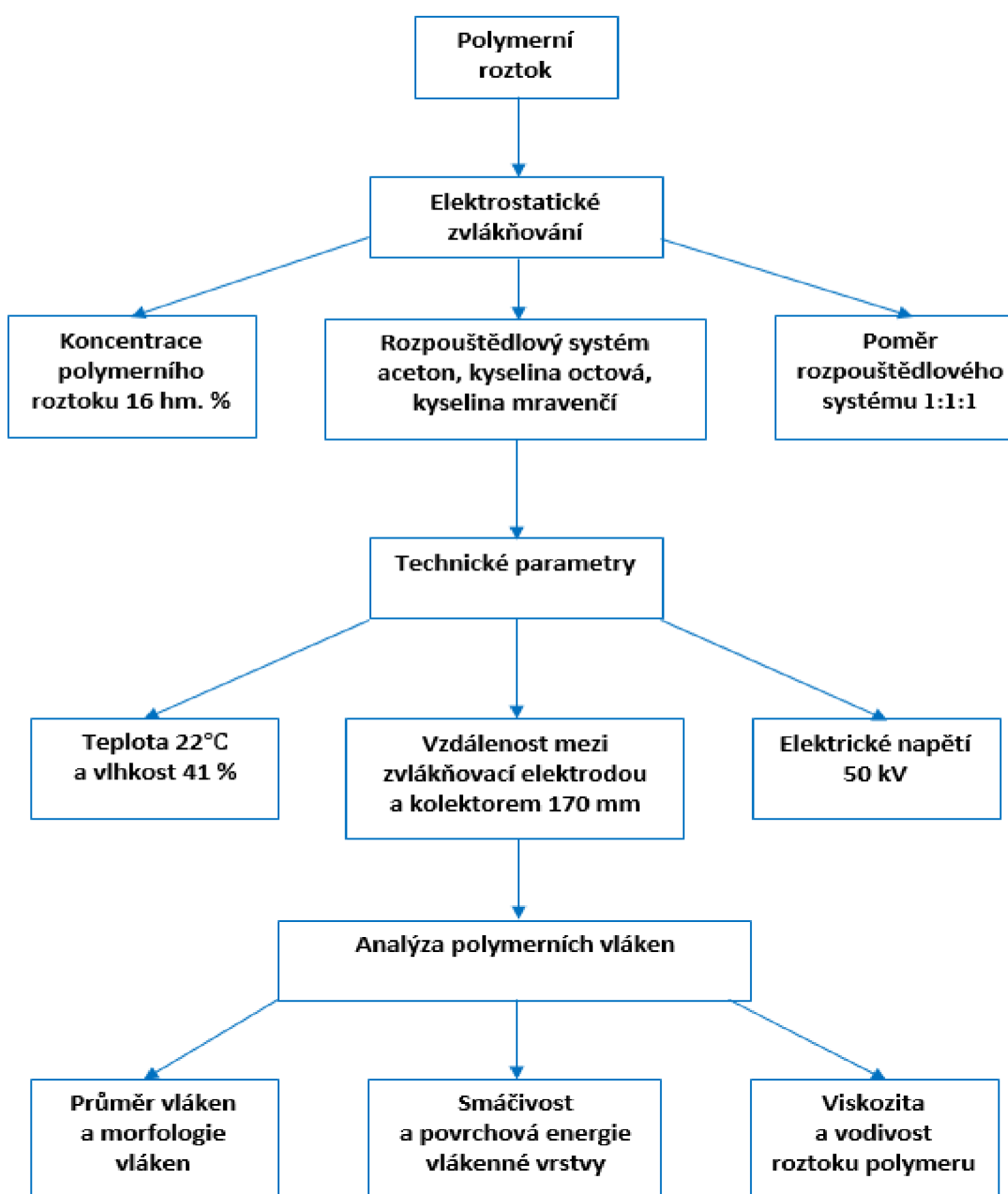


Obr. 24 Morfologie buněk C17.2 na náhodných (A) PCL/želatina a orientovaných vláken (B) PCL/želatina v poměru 70:30 po 6 dnech buněčné kultury. [63]

Obr. 24 (B) ukázal, že nervové buňky mohou řídit růst neuritů ve směru orientace vláken, díky čemuž je reprodukce nervových buněk vyšší než na obr. 24 (A), kde je vyšší buněčná proliferace (tvorba buněčných skupin). Obr. 24 ukazují, že směs PCL/želatina dobře podporuje růst neuritů, což z ní činí slibný biomateriál vhodný pro regeneraci nervů.

### 3. Experimentální část

Experimentální část této bakalářské práce je věnována výrobě biokompatibilních nanovláken z polymerních roztoků za pomoci zařízení Nanospider™ se strunovou elektrodou. Dále byla analyzována morfologie vláken, průměr vláken, kontaktní úhel vláken, viskozita a vodivost roztoků. Použitými biokompatibilními materiály pro výrobu nanovláknenných vrstev byly poly-ε-kaprolakton a želatina. Biokompatibilní materiály byly rozpuštěny v rozpouštědlovém systému složeného z acetonu, kyseliny octové a kyseliny mravenčí v poměru 1:1:1.



Obr. 25 Postup experimentální práce.

### 3.1 Použité chemikálie

Pro tuto práci byl použit PCL od společnosti Sigma-Aldrich s Mn 45 000 g/mol ve formě granulí a želatina (GA) typu B ve formě prášku od společnosti Sigma-Aldrich, oba materiály jsou netoxické biodegradabilní materiály pro použití v tkáňovém inženýrství. Biokompatibilní materiály jsou podrobněji popsány v kapitolách 2.2.2 a 2.2.3. Aceton, kyselina octová, kyselina mravenčí od společnosti Penta, byly použity jako rozpouštědlový systém pro biokompatibilní polymerní materiály. Jejich technické parametry jsou popsány v tab. 1.

Tab. 1 Vlastnosti rozpouštědel.

Rozpouštědlo	Bod varu [°C]	Hustota [kg/m <sup>3</sup> ]	Molární hmotnost [g/mol]	Chemický vzorec	Parametr rozpustnosti	Dipolový moment
Aceton	56,53	0,79	58,08	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	20,3	2,91
Kys.octová	117,9	1,05	60,057	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	21,36	1,74
Kys. mravenčí	100,8	1,22	46,024	CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	27,9	1,41

### 3.2 Použitá zařízení

#### 3.2.1 Měření vodivosti

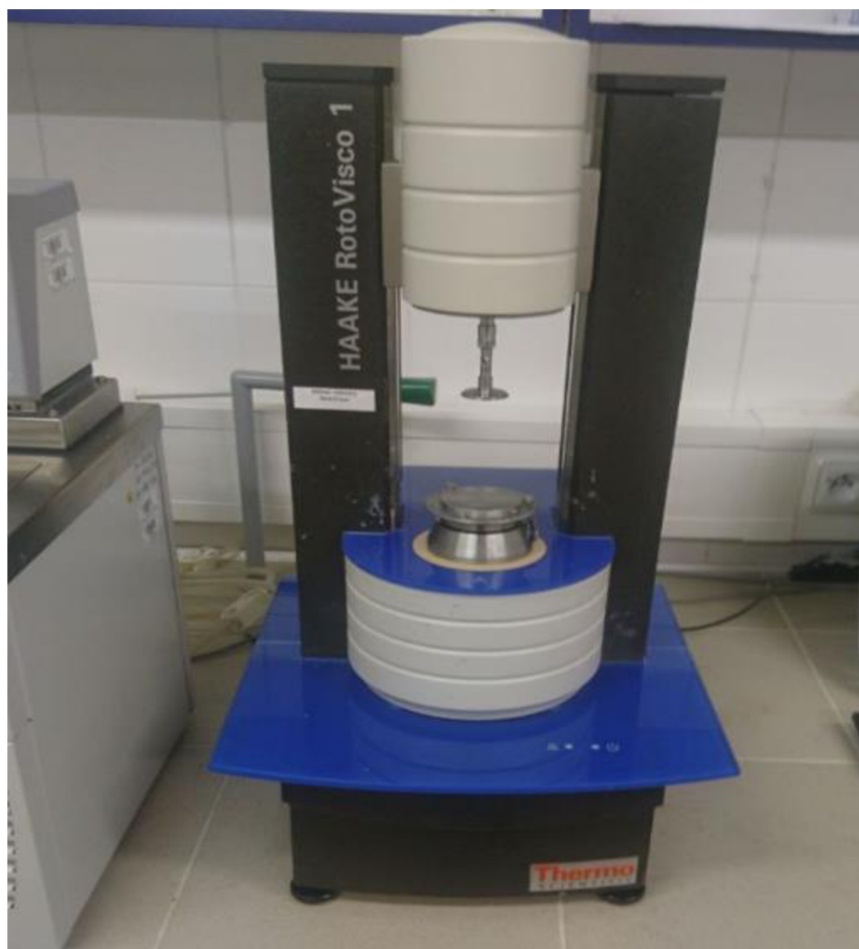
Vodivost byla stanovována za pomoci laboratorního zařízení Eutech Instruments CON 510 (obr. 26). Měření vodivosti se provádělo pomocí dvou elektrod, které byly umístěny na spodní části vodivostního čidla. Tyto elektrody byly ponořeny do každého polymerního roztoku na 10 sekund, během nichž byly výsledky zobrazeny na displeji měřicího zařízení a zapsány.



Obr. 26 Laboratorní zařízení pro měření vodivosti Eutech Instruments CON 510.

### 3.2.2 Měření viskozity

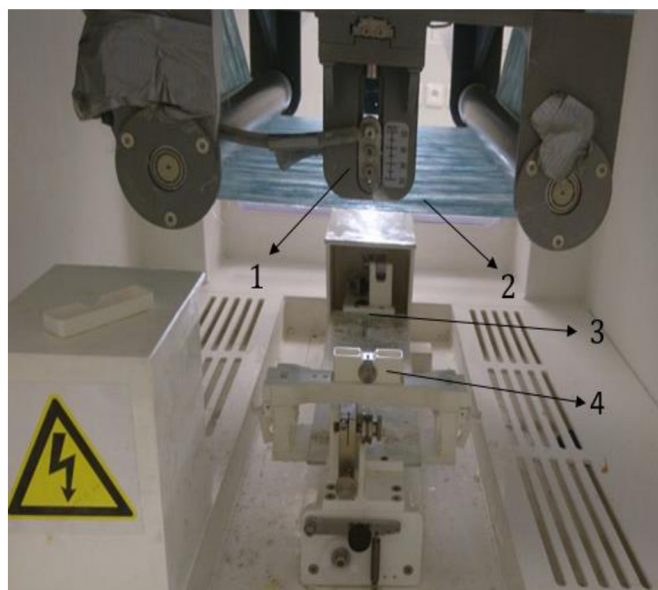
Viskozita byla měřena za pomoci laboratorního zařízení Haake Rotovisco 1 (obr. 27). Pro každý polymerní roztok byla provedena tři měření, a to z toho důvodu, aby se minimalizovala možnost chyby, protože konečný výsledek viskozity může být ovlivněn nečistotami nebo bublinkami. Maximální počet otáček byl stanoven na 3000 ot/min po dobu 30 sekund. Polymerní roztok byl umístěn mezi dvěma válci. Dolní válec je umístěn staticky, na který je umístěn roztok. Horní válec je postupně ponořen do roztoku, horní část se začne otáčet a stanovuje se viskozita roztoku na základě měření krouticího momentu.



Obr. 27 Viskozimetr Haake Rotovisco 1.

### 3.2.3 Stejnoseměrné elektrostatické zvlákňování - Nanospider™

Pro výrobu vlákných vrstev metodou stejnosměrného zvlákňování byl použit Nanospider™ se strunovou elektrodou (obr. 28). Jeho princip je popsán v kapitole 2.4.



Obr. 28 Laboratorní zařízení Nanospider™ se strunovou elektrodou: 1. strunový kolektor; 2. podkladný materiál (spun-bond); 3. strunová elektroda; 4. pumpa s polymerním roztokem.

Tab. 2 Technické parametry zařízení Nanospider™.

Technické parametry	
Vzdálenost elektrody a kolektoru [mm]	170
EMW [mm/min]	20
Velikost průvlaku [mm]	1
Rychlost odtahového materiálu [mm]	100
Napětí elektrody [kV]	50
Napětí kolektoru [kV]	-10
Vlhkost vzduchu [%]	41
Pokožová teplota [°C]	22

### 3.2.4 Skenovací elektronové mikroskopie (SEM)

Snímky morfologie vláken byly provedeny pomocí skenovací elektronové mikroskopie Tescan Vega3 (obr. 29), při urychlovacím napětí 20 kV. V kapitole 2.3 byl popsán základní princip skenovací elektronové mikroskopie a jeho schéma. Pro každou vláknennou vrstvu získanou metodou Nanospider™ bylo vyfoceno několik

snímků při různých zvětšeních od 100x do 10 000x za pomoci SEM. Před vyfocením byla vlákenná vrstva pokryta tenkou vrstvou zlata pro lepší odraz sekundárních elektronů.

Další zkoušky byly pro stanovení středních, maximálních, minimálních hodnot průměrů a směrodatné odchyly vláken za pomoci software ImageJ (Wayne Rasband). Bylo provedeno 100 měření pro každou vlákennou vrstvu. Směrodatná odchylna byla vypočítána ze znalosti počtu měření a středních průměrů vláken.



Obr. 29 Skenovací elektronový mikroskop Vega Tescan 3 SB Easy Probe.

### 3.2.5 Měření kontaktního úhlu

Za pomoci laboratorního zařízení See System E (obr. 30) a kapky glycerolu, byl měřen kontaktní úhel. Metoda spočívá v nanesení kapky glycerolu pomocí pipety

na povrch daného materiálu, v našem případě nanovlákněné vrstvy, fixovaného na podložce, pořízení jejího snímku a následného změření kontaktního úhlu.

Povrchové napětí glycerolu je 64 mN/m. Na každou vlákněnou vrstvu vyrobenou za pomoci zařízení Nanospider™, bylo nanášeno 10x kapek glycerolu na jejich povrch. Následně pomocí laboratorního zařízení See System E byl změřen kontaktní úhel a povrchová energie.



Obr. 30 Laboratorní zařízení See System E pro měření kontaktního úhlu a povrchové energie.

### 3.2.6 Síťování

Síťování je stabilizační proces, který vede k tvorbě trojrozměrné struktury vlivem zvětšení polymerních řetězců, následně vede ke spojování řetězců mezi sebou kovaletními vazbami. Výsledek síťování je: růst odolnosti rozpouštění, chemikálií a teploty, pokles filtrační schopnosti a rychlost degradace. Vlákněná vrstva získávána za pomoci strunového zařízení Nanospider™ byla následně zesíťována parami glutaraldehydu kvůli rozpustnosti želatiny ve vodě. Na spodní části exsikátoru bylo nalito 100 ml glutaraldehydu a na horní část bylo umístěno sedm vzorků vlákněných vrstev v různých poměrech, následně byl exsikátor zavřen na dobu 24 hodin. Mezi vlákněnými vrstvami a glutaraldehydem byla umístěna deska s několika malými otvory. Deska slouží k tomu, aby vzorek nespádl do kapaliny, a otvory desky slouží k nerušenému průchodu



páry glutaraldehydu do vlákněné vrstvy. Zesíťována vlákněná vrstva parami glutaraldehydu byla následně analyzována v rámci kontaktního úhlu a povrchové energie.

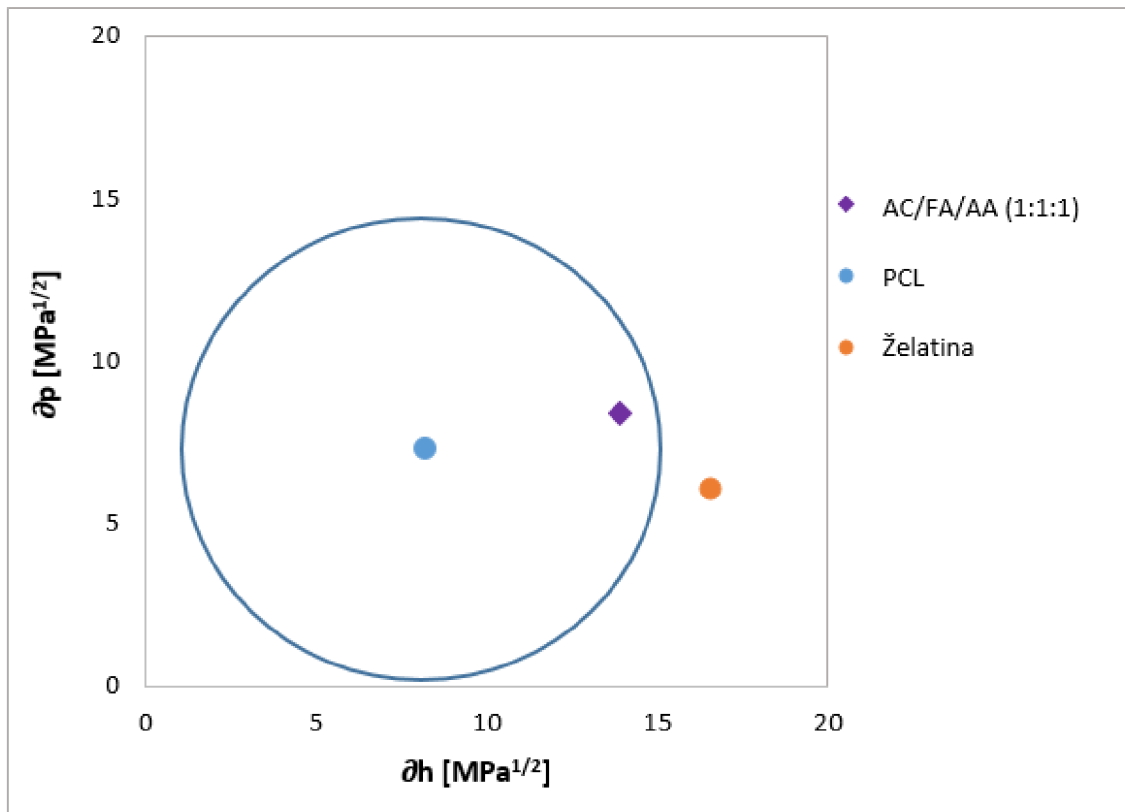
### 3.2.7 Rozpustnost PCL a želatiny v různých rozpouštědlech

Aceton (AC), kyselina octová (AA) a kyselina mravenčí (FA) byly použity jako rozpouštědlový systém v poměru 1:1:1 pro biokompatibilní polymerní materiály. K určení, jak dobře se daný polymer rozpustí v různých použitých rozpouštědlech, byl vytvořen Hansenův 2D graf. K sestavení tohoto grafu je třeba vzít v úvahu takové parametry jako složka disperzních sil  $\delta_d$ , složka polárních sil  $\delta_p$ , složka vodíkových vazeb  $\delta_h$  a interakčního poloměru R. V následující tab. 3 jsou uvedeny parametry pro rozpouštědla a polymery. Poly- $\epsilon$ -kaprolaktonový interakční poloměr z dostupné literatury je 7,1, pro želatinu v dostupné literatuře nebyl uveden, pouze složka disperzních sil  $\delta_d$ , složka polárních sil  $\delta_p$  a složka vodíkových vazeb  $\delta_h$ . [64]

Tab. 3 Hansenovy parametry rozpustnosti (HSP) pro rozpouštědla, PCL a želatinu. [24], [64 – 66]

	$\delta_h$	$\delta_p$	$\delta_d$
Kyselina octová	13,5	8,0	14,5
Kyselina mravenčí	16,6	11,9	14,3
Aceton	11,7	5,3	15,7
PCL	8,2	7,3	17,7
Želatina	16,57	6,08	22,99

Všechny tři parametry ( $\delta_h$ ,  $\delta_p$ ,  $\delta_d$ ) a interakční poloměr se používají k vytvoření 3D Hansenova grafu, ale pouze pomocí  $\delta_p$  a  $\delta_h$  a interakčního poloměru R můžeme vytvořit 2D Hansenův graf. HSP pro aceton/kyselinu octovou/kyselinu mravenčí (v poměru 1:1:1):  $\delta_h=13,9 \text{ MPa}^{1/2}$ ;  $\delta_p=8,38 \text{ MPa}^{1/2}$ .



Obr. 31: Hansenův 2D graf rozpustnosti PCL a želatiny sestavený na základě  $\delta h$ ,  $\delta p$  a R.

Obr. 31 představuje 2D model, který byl sestaven na základě dvou parametrů: složka polárních sil a složka vodíkových vazeb. Parametr složka disperzních sil je použit pro sestavení 3D modelu. Interakční poloměr R se používá k označení oblasti. Pokud do této oblasti vstoupí rozpouštědlo, rozpustí tento polymer. Z výsledného grafu vidíme, že kyselina octová, kyselina mravenčí a aceton v poměru 1:1:1 jsou schopny rozpustit poly- $\epsilon$ -kaprolakton. Poloměr želatiny nebyl uveden, protože jeho poloměr se v dostupné literatuře neuvádí, ale lze předpokládat, že tento systém rozpouštědel želatinu rozpustí, protože uvedena rozpouštědla jsou umístěna vedle ní. [66]

### 3.3 Příprava vzorků polymerních roztoků, výroba a testování vláknenných vrstev

#### 3.3.1 Příprava vzorků polymerních roztoků a výroba vláknenných vrstev

Byly vybrány dva polymerní materiály (želatina a PCL) a jejich směs v poměru 1:0, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 a 0:1. Tyto polymery se používají v tkáňovém inženýrství, zejména pro regeneraci kostí. Poly-ε-kaprolakton ve formě granulí,  $M_n$  45 000 g/mol od společnosti Sigma-Aldrich, druhý polymerní materiál, želatina (GA) typu B ve formě prášku byla také od společnosti Sigma-Aldrich. Tyto polymerní materiály byly rozpuštěny v rozpouštědlovém systému z kyseliny octové, kyseliny mravenčí a acetonu (od společnosti Penta) v poměru 1:1:1 na magnetickém míchadle po dobu 24 hodin. Během zvlákňování polymerních roztoků o koncentraci 10, 12, 14 a 16 hm. % ze směsi PCL/želatiny v poměru 1:1, se podařilo vyrobit vláknennou vrstvu s různým počtem kapek roztoku na povrchu. Ze srovnání vrstev vyplynulo, že nejvhodnější pro další experimenty je koncentrace odpovídající 16 hm. %. Následně byla u polymerních roztoků s konečnou koncentrací 16 hm. % a různými poměry PCL a želatiny měřena viskozita a vodivost. Viskozita namíchaného roztoku byla měřena na zařízení Haake Rotovisco 1 a vodivost byla měřena na zařízení Eutech Instruments CON 510, výsledky v tab. 4..

Tab. 4 Hodnoty vodivosti a viskozity naměřené u 16 hm. % roztoku želatiny (GA), PCL a jejich směsi.

Testované vzorky	PCL/GA 1:0	PCL/GA 3:1	PCL/GA 2:1	PCL/GA 1:1	PCL/GA 1:2	PCL/GA 1:3	PCL/GA 0:1
Viskozita [Pa.s]	0,0071	0,0796	0,1026	0,0977	0,1088	0,1251	0,1371
Vodivost [ $\mu$ S]	36,06	464	549	722	985	1558	1975

Následně probíhalo zvlákňování za pomoci zařízení Nanospider<sup>TM</sup> (obr. 28), princip zařízení byl popsán již v kapitole 2.4. Z tab. 1 je patrné, že bod varu kyseliny octové a kyseliny mravenčí je vyšší než 100 stupňů, protože kyselina octová a kyselina mravenčí jsou netěkavé látky díky svým vodíkovým vazbám a karboxylovým skupinám. Vysoký bod varu mají netěkavější látky, z čehož lze usoudit, že stojí

za to použít vyšší napětí, aby se snadněji odpařily z polymerního roztoku pro výrobu suchých vláken.

Z toho důvodu bylo během zvlákňování polymerního roztoku elektrické napětí elektrody 50 kV, ostatní technické parametry zařízení Nanospider<sup>TM</sup> jsou uvedeny v tab. 2.

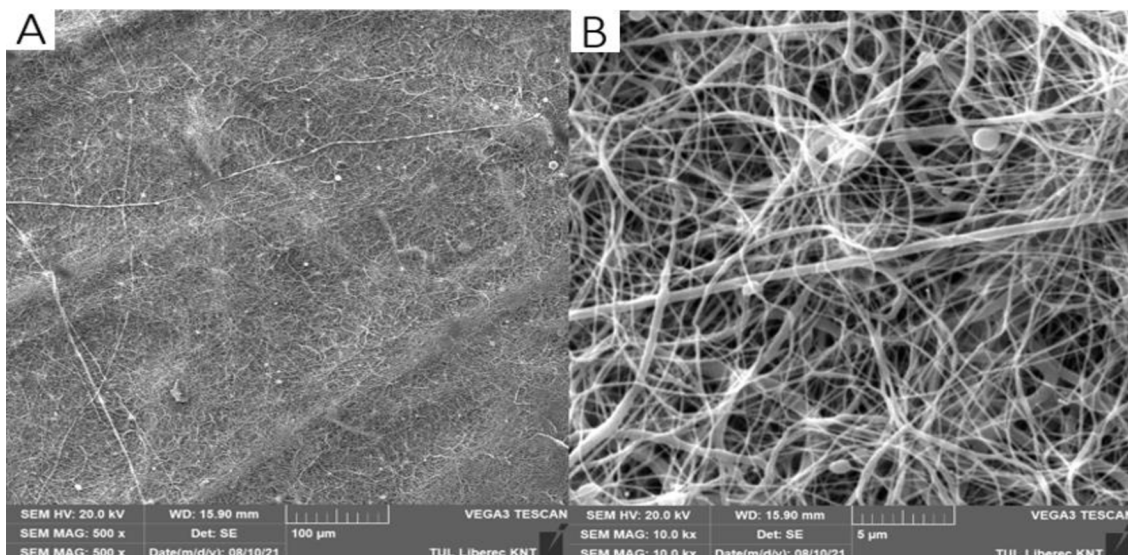
Dále v experimentální části pomocí mikroskopu SEM a software ImageJ (Wayne Rasband) byla analyzována výsledná vlákna na morfologii a průměr. Následně vlákenná vrstva byla zesíťována párami glutaraldehydu, poté za pomoci kapek glycerolu a mechanismu pro měření kontaktního úhlu byly získány hodnoty kontaktního úhlu a povrchové energie povrchů. Všechny získané výsledky jsou pro lepší pochopení zobrazeny ve formě obrázků a tabulek.

### 3.3.2 Průměr vláken

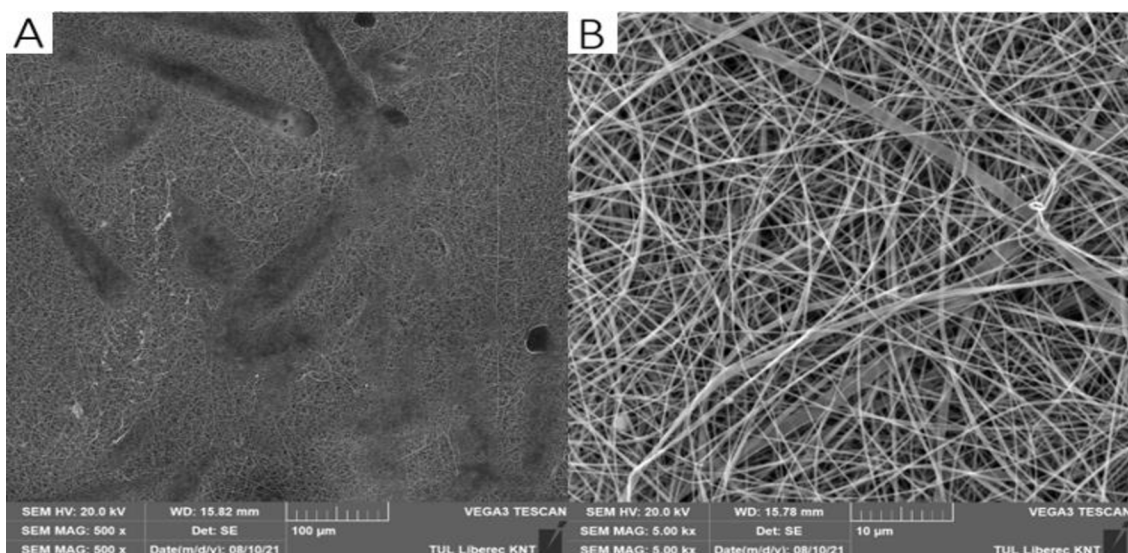
Pomocí mikroskopu Vega Tescan 3 bylo naměřeno 100 měření pro každou vlákennou vrstvu ke stanovení průměrného, minimálního a maximálního průměru získaných vláken. Byla také stanovena směrodatná odchylka naměřených hodnot (tab. 5).

Tab. 5 Hodnoty průměrů vláken vyrobených za pomoci zařízení Nanospider<sup>TM</sup>:  $\bar{x}$  [nm] – střední hodnota průměru vláken, min [nm] – minimální hodnota průměru, max [nm] – maximální hodnota průměru, s [nm] – směrodatná odchylka průměru vláken.

Vzorek	Poměr	$\bar{x}$ [nm]	min [nm]	max [nm]	s [nm]
PCL/GA	1:0	262	72	635	126
PCL/GA	3:1	285	127	708	159
PCL/GA	2:1	298	158	715	154
PCL/GA	1:1	319	126	821	127
PCL/GA	1:2	338	110	780	117
PCL/GA	1:3	346	80	1009	108
PCL/GA	0:1	387	156	1511	247

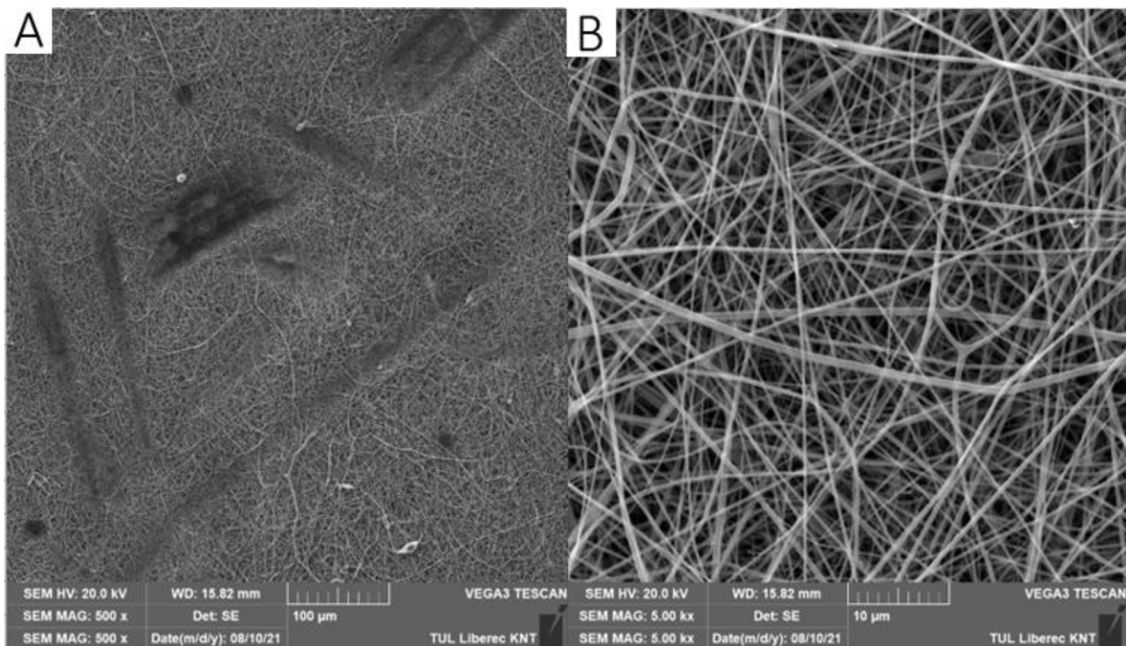


Obr. 32 A a B: SEM snímky vrstvy z PCL. Měřítka snímků A je 100 µm a B je 5 µm.



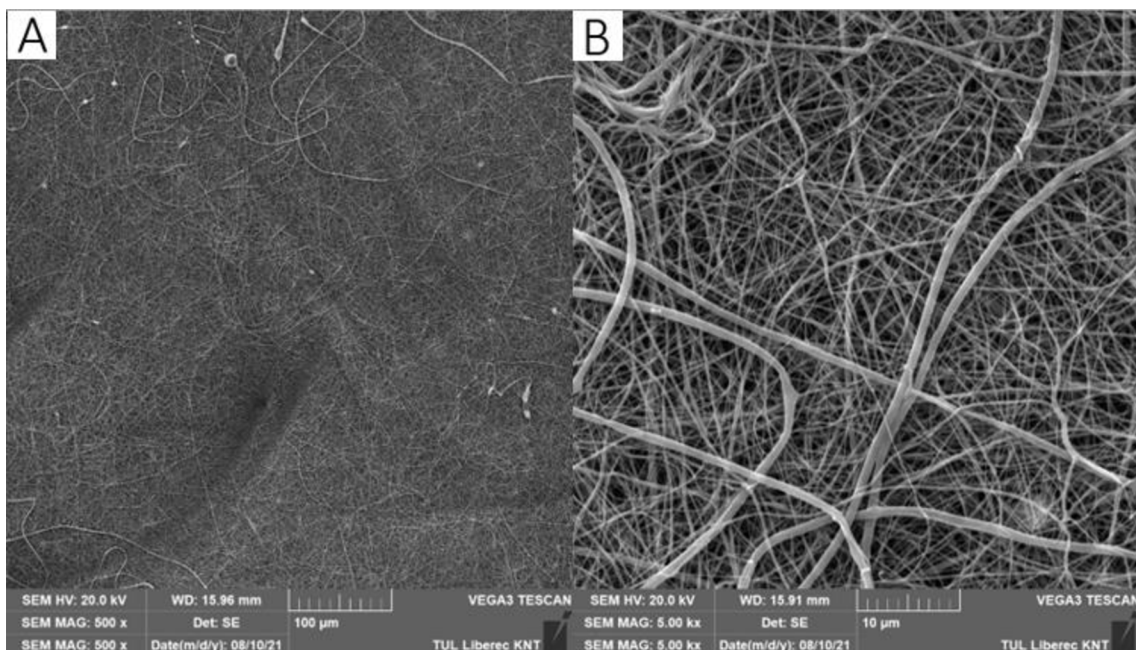
Obr. 33 A a B: SEM snímky vrstvy ze želatiny. Měřítka snímků A je 100 µm a B je 10 µm.

Nejprve byly analyzovány čisté roztoky polymerů želatiny a PCL připravené pomocí technologie Nanospider™. Z obr. 32 a 33 lze vypožorovat rozdíly v morfologii a průměru vláken, čistý PCL má velké množství defektů, ale středný průměr vláken je menší než u čisté želatiny, což je způsobeno nízkou viskozitou roztoku čistého PCL (tab. 4).

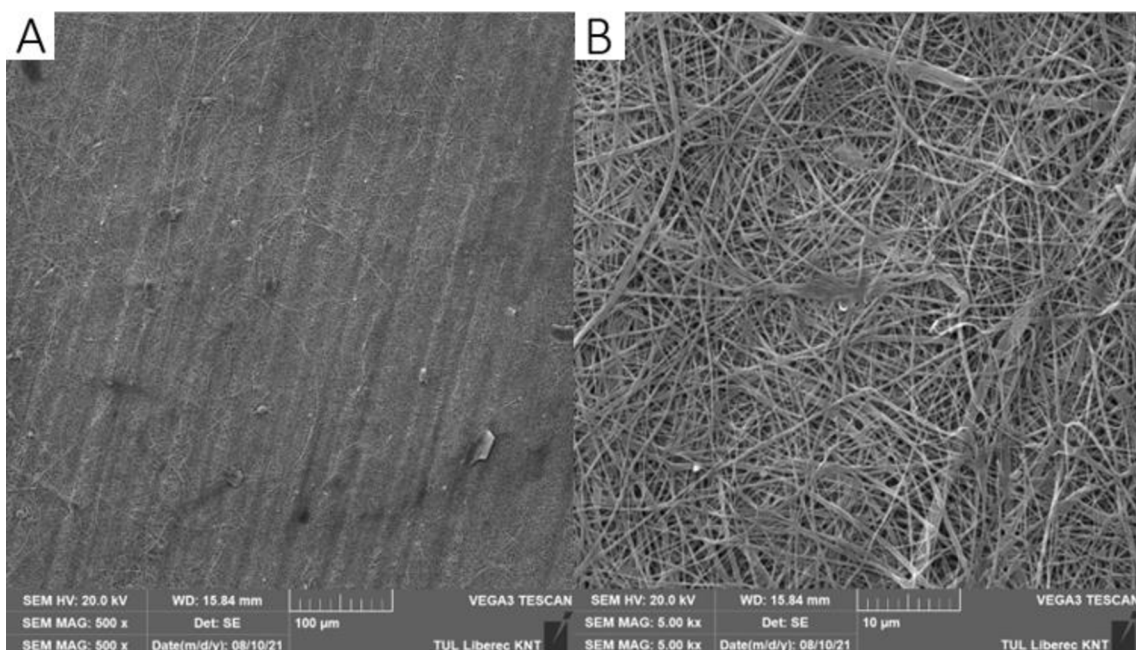


Obr. 34 A a B: SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 1:1. Měřítka snímků A je 100 µm a B je 10 µm.

Druhá část experimentu jsou vlákna, která vznikla ze směsi PCL/GA v poměru 1:0, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 a 0:1. Obr. 34 (A-B) prezentuje hladká vlákna bez defektů, ale při zvětšení 500x na povrchu materiálu můžeme vidět několik korálkových defektů a několik malých kráterů, důvodem musí být neodpařený roztok. Střední hodnota vláken vzniklých ze směsi PCL/GA v poměru 1:1 má podobný průměr jako vlákna z čisté želatiny (tab. 4).



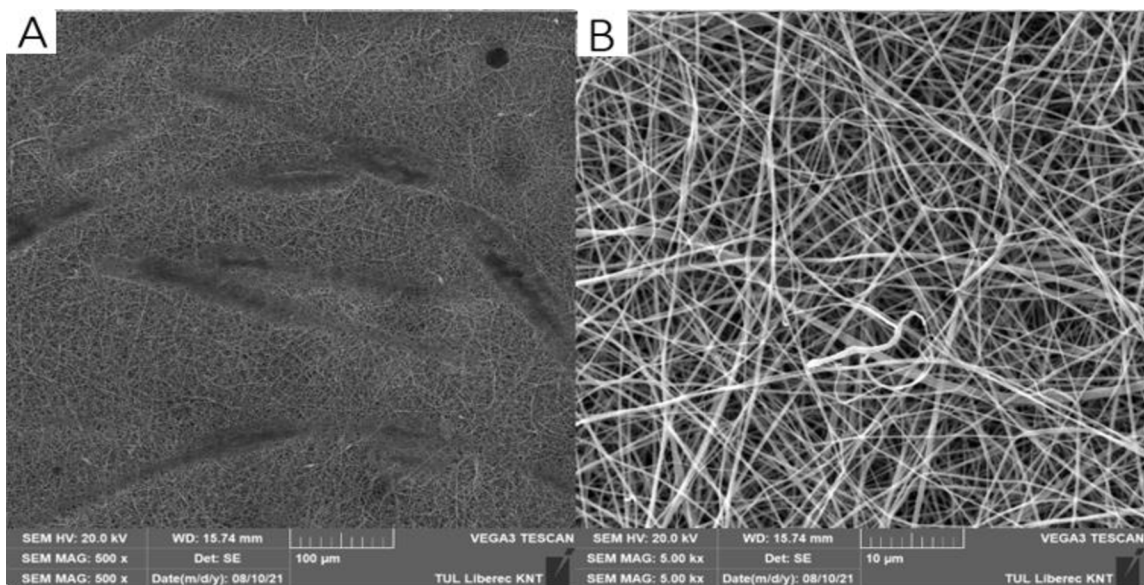
Obr. 35 A a B: SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 2:1. Měřítka snímků A je 100  $\mu\text{m}$  a B je 10  $\mu\text{m}$ .



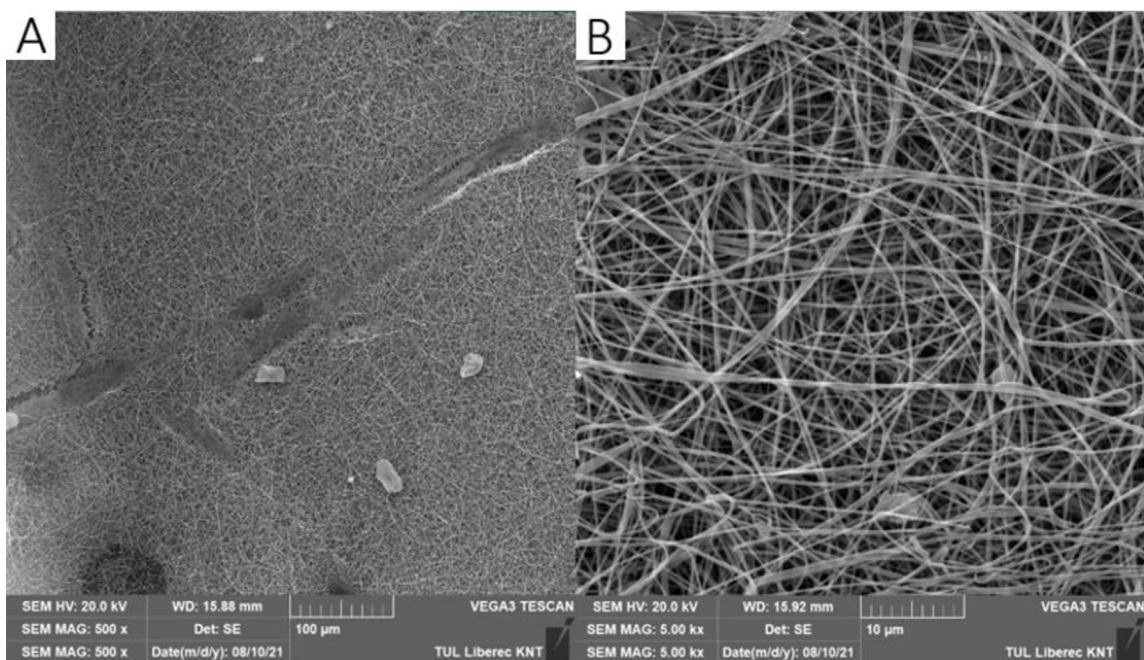
Obr. 36 A a B: SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 3:1. Měřítka snímků A je 100  $\mu\text{m}$  a B je 10  $\mu\text{m}$ .

V následujících snímcích SEM jsou vlákna ze směsi PCL/GA v poměru 2:1 a 3:1. Z tab. 4 je patrné, že při zvyšujícím se zastoupení PCL ve směsi došlo u střední hodnoty vláken a viskozity roztoku k poklesu. Dále snímky neukázaly žádné koráلكové defekty a krátery, ale došlo ke slepení vláken mezi sebou místo kapek, důvodem zvyšujícím se zastoupení PCL ve směsi roztoku (obr. 36 (A a B)).





Obr. 37 A a B: SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 1:2. Měřítka snímků A je 100 µm a B je 10 µm.



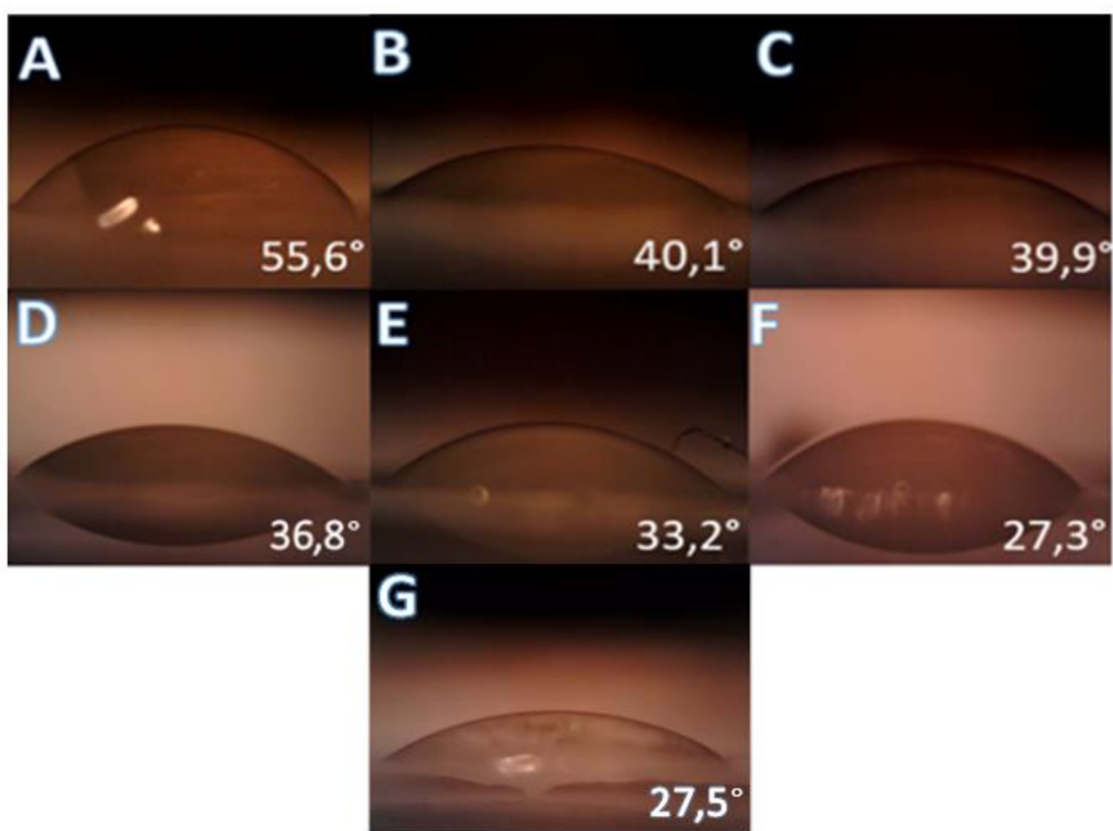
Obr. 38 A a B: SEM snímky vrstvy ze směsi PCL/GA v poměru 1:3. Měřítka snímků A je 100 µm a B je 10 µm.

Následující snímky SEM ukazují směs PCL/GA v poměru 1:2 a 1:3. Z tab. 5 je patrné, že střední hodnota získaných vláken je stejná, liší se pouze maximální průměr vláken v důsledku zvyšujícího se zastoupení želatiny, také se zvyšuje viskozita roztoku. Na obr. 38 (B) je možné pozorovat koráلكové defekty, a na obr. 38 (A) vidíme na povrchu vláken krátery. Důvodem je to, že část roztoku se neodpařila.



### 3.3.3 Kontaktní úhel

Kontaktní úhel vláknenných vrstev byl měřen 10x pro každou vláknennou vrstvu pomocí See System E, díky němuž můžeme kontaktní úhel změřit. Metoda spočívá v nanesení kapky glycerolu (v našem případě) pomocí pipety na povrch daného materiálu, v našem případě nanovláknenné vrstvy, fixovaného na podložce, pořízení jejího snímku a následného změření kontaktního úhlu. Před měřením kontaktního úhlu probíhal proces síťování párami glutaraldehydu po dobu 24 hodin. Důvodem pro to je fakt, že želatina je rozpustná ve vodě, proto jsme potřebovali změnit morfologii získaných vláken.



Obr. 39 Kontaktní úhel vláknenných vrstev PCL, želatiny (GA) a jejich směsí v různých poměrech: (A) PCL/GA v poměru 1:0, (B) PCL/GA v poměru 3:1, (C) PCL/GA v poměru 2:1, (D) PCL/GA v poměru 1:1, (E) PCL/GA v poměru 1:2, (F) PCL/GA v poměru 1:3, (G) PCL/GA v poměru 0:1.

Získané výsledky ukazují, že se zvyšujícím se zastoupením želatiny klesá kontaktní úhel v důsledku aminoskupin a karboxylových skupin. Čistý PCL má průměrný kontaktní úhel 55,6 °, nejvyšší ze všech vzorků.

Dalším faktorem, který ovlivňuje kontaktní úhel, je povrchová energie. Povrchová energie je rozložení molekul a jejich interakce s povrchem. Existuje mnoho rovnic pro výpočet povrchové energie. Jednou z nejběžnějších je Li-Neumannova a Kwok-Neumannova. Důvodem je, že pro tuto rovnici se používá jedna kapalina, na rozdíl od jiných rovnic, jako například Acido-Bazická. [68] Výsledky povrchové energie byly získány pomocí softwaru, který byl použit k získání výsledků kontaktního úhlu. Rovnice použita tímto softwarem byla Kwok-Neumannova (obr. 40).

$$\gamma_{sl} = \gamma_{lv} + \gamma_{sv} - 2\sqrt{\gamma_{lv}\gamma_{sv}}(1 - 0,0001057(\gamma_{lv} - \gamma_{sv})^2)$$

Obr. 40 Kwok-Neumannova rovnice. [67]

K získání výsledků byly použity znalosti o kontaktních úhlech a povrchovém napětí kapaliny. Výsledky kontaktních úhlů na vlákenných vrstvách jsou zobrazeny na obr. 39. Povrchové napětí glycerolu z dostupné literatury je 64 mN/m. Vypočítané hodnoty povrchové energie jsou uvedeny v tab. 6.

Tab. 6 Hodnoty povrchové energie, které byly vypočítány podle Kwok-Neumannovy rovnice.

Hodnoty povrchové energie							
Testované vzorky	PCL/GA 1:0	PCL/GA 3:1	PCL/GA 2:1	PCL/GA 1:1	PCL/GA 1:2	PCL/GA 1:3	PCL/GA 0:1
Povrchová energie [mJ/m <sup>2</sup> ]	43,34	48,11	48,21	49,27	52,97	56,09	55,46

Získané hodnoty povrchové energie pomocí Kwok-Neumannova modelu ukazují, že vlákenné vrstvy vyrobeny za pomoci stejnosměrného zvlákňování jsou hydrofilní. Výsledek toho, že vlákenná vrstva má hydrofilní charakter, potvrzuje i kontaktní úhel. Z tab. 5 vyplývá, že střední hodnota průměru vláken ze směsi PCL/GA v poměru 1:2 a 1:3 je podobný, ale kontaktní úhel obou vzorků se liší, z čehož lze usoudit, že průměr vláken nevede ke změně kontaktního úhlu.

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.2.2, PCL je hydrofobní, ale v experimentální části byla získaná vlákenná vrstva s hydrofilním povrchem. V našem případě vlákenná vrstva PCL měla kontaktní úhel  $55,6^\circ$ , následně vlákenná vrstva PCL byla zesíťována parami glutaraldehydu, protože bylo potřeba zjistit, jak ovlivňuje glutaraldehyd kontaktní úhel. Po síťování měla vlákenná vrstva kontaktní úhel  $53,9^\circ$ , což znamená, že glutaraldehyd neovlivňuje kontaktní úhel.

I. Tiyek a kolektiv se ve své práci věnovali vlivu elektrického napětí a koncentrace roztoku na změnu kontaktního úhlu vlákenné vrstvy z PCL. Pro výrobu vlákenných vrstev z PCL byly použity polymerní roztoky o koncentraci 4-24 hm. %, rozpuštěny v rozpouštědlovém systému chloroform/etanol. Pro zvláknění každého polymerního roztoku byla použita tři elektrická napětí 20 kV, 25 kV a 30 kV. PCL o koncentraci 4 hm. % měl hydrofobní charakter s kontaktním úhlem  $112^\circ$ , PCL o koncentraci 24 hm. % změnil hydrofobní na hydrofilní charakter s kontaktním úhlem  $68^\circ$ . Získané výsledky ukazují, že se zvyšující se koncentrací polymerního roztoku se podařilo kontaktní úhel výrazně zmenšit. [68]

A. Manakhov a S. Permyakova se se svými skupinami věnovali výrobě PCL pomocí zařízení Nanospider<sup>TM</sup> NSLAB 500. V obou pracích byly použity stejné parametry pro zvláknování PCL. PCL byl připraven v rozpouštědlovém systému složeném z kyseliny octové a kyseliny mravenčí v poměru 2:1, konečná koncentrace PCL dosahovala 9 hm. %. Pro výrobu nanovláken PCL bylo použito zařízení Nanospider<sup>TM</sup> NSLAB 500 firmy ELMARCO (Česká republika), přičemž vzdálenost zvláknovací elektrody od kolektoru činila 20 cm a elektrické napětí 55 kV. Kontaktní úhel vodní kapky v práci Manakhov byl  $120^\circ$ , v práci Permyakova byl  $104^\circ$ . Nanospider<sup>TM</sup> je stejnosměrné zvláknování, díky němuž může povrch materiálu měnit orientaci svých molekul, čímž vznikají polární skupiny, které ochotně interagují s vodou nebo jinou kapalinou. [11], [69]

Dalším parametrem, který mění kontaktní úhel, jsou rozpouštědla. J. Dias a P. Bártolo ve své studii popsali dvě rozpouštědla aceton a kyselinu octovou s triethylaminem. Výsledky ukázaly, že při použití acetonu měl poly- $\epsilon$ -kaprolakton kontaktní úhel  $101^\circ$ , při změně rozpouštědla se kontaktní úhel snížil na  $83^\circ$ . [70]

## 4. Závěr

Předložené bakalářské práce se zabývá výrobou a fyzikálními vlastnostmi nanovláknenných vrstev ze směsi biokompatibilních materiálů – poly-ε-kaprolaktonu (PCL) a želatiny (GA), tedy vrstev potenciálně použitelných v tkáňovém inženýrství. PCL je biodegradabilní polymerní materiál, s dobrými mechanickými vlastnostmi. Jeho dlouhá doba rozkladu a hydrofobní charakter však omezují jeho použití, jmenovitě v tkáňovém inženýrství. GA má na rozdíl od PCL opačné vlastnosti, nízkou dobu degradace a horší mechanické vlastnosti, a zároveň je superhydrofilní. Vhodná kombinace PCL a GA umožňuje využít výhod i nevýhod obou látek a vyrobit scaffold s hydrofilním charakterem, kontrolovanou dobou rozkladu a dobrými mechanickými vlastnostmi, který zároveň nevyvolává imunitní odezvu organismu.

V rámci hledání nejvhodnějšího poměru obou látek v polymerním roztoku byly připraveno několik laboratorních vzorků. Konkrétně se jednalo polymerní roztoky s konečnou koncentrací 16 hm. % lišící se různým podílem PCL a GA ve směsi. Zvolené hmotnostní poměry PCL/GA odpovídaly hodnotám 1:0, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 0:1. Získané laboratorní vzorky byly zvlákněny pomocí zařízení Nanospider<sup>TM</sup>. Následně jsme za pomoci skenovacího elektronového mikroskopu pořídili snímky vláknenných vrstev za účelem analýzy morfologie a průměru vláken. Ze analýzy snímků a hodnot vláken vyplynulo, že čím vyšší je zastoupení PCL v roztoku, tím více defektů má vláknenná vrstva. S obdobnou situací jsme se ale setkali i u želatiny. Čím vyšší bylo zastoupení GA v roztoku, tím vyšší byl průměr vláken a počet defektů. Nejlepších hodnot sledovaných parametrů bylo dosaženo při poměrech PCL/GA daných hodnotami 1:1 a 1:2.

Předmětem dalšího zkoumání byly kontaktní úhel a povrchová energie vláknenných vrstev. Vzhledem k tomu, že želatina je rozpustná ve vodě, zesítňovali jsme vláknennou vrstvu působením par glutaraldehydu po dobu 24 hodin. Výsledné hodnoty kontaktního úhlu a povrchové energie ukázaly, že čím vyšší je zastoupení želatiny, tím menší je kontaktní úhel a vyšší povrchová energie. Je to důsledek přítomnosti amino a karboxylových skupin želatiny.

Všechny vláknenné vrstvy získané z roztoků s posledně uvedenými poměry mají hydrofilní charakter, díky čemuž jsou schopny podpořit adhezi buněk. Hydrofilnost povrchů může souviset s metodou stejnosměrného zvláknování, rozpouštědlovým systémem a koncentrací polymerního roztoku. Zlepšení morfologie vláken je možné

potenciálně získat změnou systému rozpouštědel, koncentrace roztoku, elektrického napětí, případně vzdálenosti mezi elektrodou a kolektorem.

Pro další experimenty je vhodné vybrat vlákenné vrstvy vyrobené ze směsi PCL a GA v poměru 1:1 a 1:2, protože mají nejmenší počet defektů. Na těchto vrstvách tak lze provádět reprezentativní toxikologické testy a měření porozity.

## 5. Seznam použitých zdrojů

- [1] DZENIS, Y.: Spinning continuous fibers for nanotechnology. *Science*, 2004, 304(5679), 1917-1919. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1099074
- [2] FANG, J., et al.: Applications of electrospun nanofibers. *Chinese Science Bulletin*, 2008, 53, 2265-2286. Dostupné z: doi:10.1007/s11434-008-0319-0
- [3] PROKOPCHUK, N. a kol.: Innovacionnye ranevye pokrytiia s nanovoloknami khitozana. *Trudy BGTU*, Seria 2: Khimicheskie technologii, biotechnologii, geoekologii, 2017, 1(193), 15-22. ISSN 2520-2669.
- [4] ČERNÁ, K.: Materiály pro kultivace buněk. *Bakalářská práce*. Pardubice: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2019. Dostupné z: [https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/74175/CernaK\\_Materialy\\_pro\\_kultivaci\\_TR\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/74175/CernaK_Materialy_pro_kultivaci_TR_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [5] O'BRIEN, F. J.: Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials today*, 2011, 14(3), 88-95. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136970211170058X>
- [6] MAHELOVÁ, L.: Biomimetika. *Bakalářská práce*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2018. [vid. 2022-03-27]. Dostupné z: [https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/42409/mahelov%C3%A1\\_2018\\_dp.pdf?sequence=1](https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/42409/mahelov%C3%A1_2018_dp.pdf?sequence=1)
- [7] IHRACZKÁ, J.: Nanovláknenné membrány jako nosiče léčiv. 4. Polyethylentetrafluorethylen, polyamid 6/12, polyamid, želatina. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické technologie, 2009. [online]. [vid. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/27669>
- [8] KOLÁŘOVÁ, V.: Modifikace nanočástic stříbra pomocí neionických surfaktantů. *Bakalářská práce*. Olomouc: Palacký University Olomouc, Přírodovědecká fakulta, 2010 [vid. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://theses.cz/id/hhec3u/?lang=en>
- [9] RAMÉ-HART-INSTRUMENT.CO.: *Information on contact angle*. Dostupné z: <http://www.ramehart.com/contactangle.htm>.
- [10] YUAN, Y., LEE, T. R.: Contact angle and wetting properties. In *Surface science techniques*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013, 3-34.
- [11] PERMYAKOVA, E. S., et al.: Comparison of different approaches to surface functionalization of biodegradable polycaprolactone scaffolds. *Nanomaterials*, 2019, 9(12), 1769. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano9121769
- [12] POOVATHIKKAL, S., NAIR, N.: Biomaterials and biocompatibility. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, vol. 7, issue 10, 161-171. Dostupné z: doi:10.20959/wjpr201810-12253
- [13] STEJSKAL, P.: Kovové biokompatibilní materiály. *Bakalářská práce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2011. Dostupné z: <https://docplayer.cz/47121497-Kovove-biokompatibilni-materialy.html>

- [14] KIRADZHIYSKA, D., MANTCHEVA, R.: Overview of biocompatible materials and their use in medicine. *Folia Medica*, 2019, vol. 61, 34-40. Dostupné z: doi:10.2478/folmed-2018-0038
- [15] PATEL, G. C., JOSHI, S. A.: Chapter 8 - Targeting aspects of hydrogels in drug delivery. In A. M. GRUMEZESCU, ed. *Biomedical applications of nanoparticles*. B.m.: William Andrew Publishing, 2019, 195-231. [vid. 2021-02-27]. ISBN 978-0-12-816506-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816506-5.00010-3
- [16] CHRISTEN, M.-O., VERCESI, F.: Polycaprolactone: Or how a well-known and futuristic polymer has become an innovative collagen-stimulator in esthetics. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2020, 13, 30. [vid. 2021-02-13]. Dostupné z: doi:10.2147/CCID.S229054
- [17] COHN, D., et al.: Biodegradable poly(ethylene oxide)/poly( $\epsilon$ -caprolactone) multiblock copolymers: Biodegradable PEO/PCL Multiblock Copolymers. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, 59(2), 273-281. ISSN 00219304. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.1242
- [18] SALT, D.: Making packaging greener – biodegradable plastics. *Chemistry in Australia*, 2002, 69(5), 15-17.
- [19] GUANG-MEI, C., et al.: Crystallization properties of polycaprolactone induced by different hydroxyapatite nano-particles. *Asian Journal of Chemistry*, 22(8), 5902-5912.
- [20] WOODRUFF, M. A., HUTMACHER, D.W.: The return of a forgotten polymer—polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, 2010, 35(10), 1217-1256. ISSN 0079-6700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002
- [21] KUZELOVA KOSTAKOVA, E., et al.: Crystallinity of electrospun and centrifugal spun polycaprolactone fibers: A comparative study. *Journal of Nanomaterials*, 2017, 1-9. ISSN 1687-4110, 1687-4129. Dostupné z: doi:10.1155/2017/8952390
- [22] MALIKMAMMADOV, E., et al.: PCL and PCL-based materials in biomedical applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2018, 29(7-9), 863-893. ISSN 0920-5063, 1568-5624. Dostupné z: doi:10.1080/09205063.2017.1394711
- [23] BORDES, C., et al.: Determination of poly( $\epsilon$ -caprolactone) solubility parameters: Application to solvent substitution in a microencapsulation process. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, 383(1-2), 236-243. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2009.09.023
- [24] SEDLÁČKOVÁ, Z.: Vliv složení roztoku na průběh elektrostatického zvlákňování biodegradabilního polymeru  $\epsilon$ -kaprolaktonu [online]. *Diplomová práce*. [vid. 2021-02-27] Liberec: Technická Univerzita v Liberci, 2009. Dostupné z: <https://dspace.tul.cz/handle/15240/4025>

- [25] BARTNIKOWSKI, M., et al.: Degradation mechanisms of polycaprolactone in the context of chemistry, geometry and environment. *Progress in Polymer Science*, 2019, 96, 1-20. ISSN 0079-6700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2019.05.004
- [26] TVERDOCHLEBOV, S. I. a kol.: *Razrabotka tekhnologii izgotovleniia biodegradiruyemykh izdelii dlia meditsiny na osnove polimera polimolochnoy kisloty i melkodispersnykh fosfatov kaltsiia*. Otchet o nauchno-issledovatel'skoy rabote. Dostupné z: <https://gap.biofizpribor.ru/grants/reports/technology/>
- [27] HIEP, N. T., LEE, B. T.: Electro-spinning of PLGA/PCL blends for tissue engineering and their biocompatibility. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2010, 21(6), 1969-1978. ISSN 0957-4530, 1573-4838. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-010-4048-y
- [28] NARAYANASWAMY, R., et al.: Chapter 4 - Basics to different imaging techniques, different nanobiomaterials for image enhancement. In A. M. GRUMEZESCU, ed. *Nanobiomaterials in medical imaging*. B.m.: William Andrew Publishing, 2016, 101-129 [vid. 2021-02-26]. ISBN 978-0-323-41736-5. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-41736-5.00004-2
- [29] FUKUNISHI, T., et al.: Nanofiber composites in vascular tissue engineering. In *Nanofiber composites for biomedical applications*. B.m.: Woodhead Publishing, 2017, 455-481 [vid. 2021-02-26]. ISBN 978-0-08-100173-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100173-8.00018-1
- [30] KOMMAREDDY, S., et al.: Gelatin nanoparticles and their biofunctionalization. In *Nanotechnologies for the life sciences*. B.m.: American Cancer Society, 2007. [vid. 2021-02-26]. ISBN 978-3-527-61041-9. Dostupné z: doi:10.1002/9783527610419.ntls0011
- [31] HRDOVÁ, L.: Želatína - vlastnosti, metody charakterizace a její použití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. *Bakalářská práce*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav potravinářského inženýrství, 2008. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10563/7731>
- [32] MARIOD, A. A., FADUL, H.: Gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 2013, 12(2), 135-147. Dostupné z: [https://www.food.actapol.net/pub/1\\_2\\_2013.pdf](https://www.food.actapol.net/pub/1_2_2013.pdf)
- [33] SIREGAR, G. R. M., SUPRAYITNO, E.: Amino acid composition of gelatin from ephinephelus sp. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 2019, 12(4), 51-54. Dostupné z: <https://www.iosrjournals.org/iosr-javs/papers/Vol12-issue4/Series-1/I1204015154.pdf>
- [34] YAKUBOVA, O., BEKESHEVA, A.: Nauchnoe obosnovanie fizicheskikh svoystv rybnogo zhelatina. *Vestnik Astrakhanskogo gos. universiteta*, Seriya: Rybnoe khoziaystvo, 2018, vol. 3. ISSN 2073-5529. Dostupné z: <https://cyberleninka.ru/article/n/nauchnoe-obosnovanie-fizicheskikh-svoystv-rybnogo-zhelatina>



- [35] PANDYA, D. S., ARINZEH, T., COLLINS, G.: Elevated temperature electrospinning of aqueous gelatin solution and crosslinking for tissue engineering applications. In *Proceedings of the 2010 IEEE 36th Annual Northeast Bioengineering Conference (NEBEC)*, 2010, 1-2. ISSN 2160-7028. Dostupné z: doi:10.1109/NEBEC.2010.5458180.
- [36] SAFONOVA, L.: Razrabotka i issledovanie 2D i 3D biodegraduemykh skaffoldov na osnove fibroina shelka dlia regenerativnoi meditsiny. *Dissertatsiia na soiskanie uchenoy stepeni*. Moskva, 2019. 125s.
- [37] BURDA, V.: Využití elektronové mikroskopie k posouzení struktur a vlastností laserových návarů. *Bakalářská práce*. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, 2016. [vid. 2022-03-27] Dostupné z: <http://dspace5.zcu.cz/handle/11025/25234>
- [38] NOCAROVÁ, P.: Využití elektronové mikroskopie v biologii. *Bakalářská práce*. Hradec Králové: Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta, 2015. Dostupné z: <https://theses.cz/id/up5t3y/STAG84703.pdf>
- [39] MAŇKA, T.: Srovnání zobrazovacích možností transmisního a rastrovacího elektronového mikroskopu. *Bakalářská práce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2014. Dostupné z: [https://www.vut.cz/www\\_base/zav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php?file\\_id=88504](https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=88504)
- [40] ŠUŠKIN, N. G.: *Elektronový mikroskop*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1954. 257s.
- [41] HRUBÁ, K.: Metodologie přípravy vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii. *Bakalářská práce*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2015. Dostupné z: <https://docplayer.cz/36545541-Metodologie-pripravy-vzorku-pro-transmisni-elektronovou-mikroskopii-katerina-hruba.html>
- [42] KUNDRÁT, V.: Příprava nanovláken pomocí elektrostatického zvlákňování. *Diplomová práce*. B.m. [vid. 2021-02-27]. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2016. Dostupné z: [https://is.muni.cz/th/393759/prif\\_m/](https://is.muni.cz/th/393759/prif_m/)
- [43] PROKOPCHUK, N. a kol.: Innovatcionnye ranevye pokrytiia s nanovloknami khitozana. *Trudy BGTU, Seria 2: Khimicheskie technologii, biotehnologii, geoekologiiia*, 2017, 1 (193), 15-22. ISSN 2520-2669.
- [44] NANOPHARMA.: *Technologie. Eletrostatické zvlákňování*, 2015. Dostupné z: <https://www.nanopharma.cz/cs/produkty-a-technologie/technologie>
- [45] PAPKOV, S.: *Fiziko-khimicheskie osnovy obrabotki rastvorov polimerov*. Moskva: Khimiya, 1971. 362s.
- [46] YENER F., JIRSÁK, O.: Comparison between the needle and roller electrospinning of polyvinylbutyral. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 1 Jan, 1-6. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2012/839317>

- [47] ZEMANOVÁ, M.: Dynamická mechanická analýza elektroizolačních materiálů. *Disertační práce*. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta elektrotechnická, 2018. Dostupné z: <https://dspace5.zcu.cz/handle/11025/33656>
- [48] COLMENARES-ROLDÁN, G. J., et al.: Influence of the molecular weight of polymer, solvents and operational condition in the electrospinning of polycaprolactone. *Revista Facultad de Ingenieria*, 2017, (84), 35–45. Dostupné z: doi:10.17533/udea.redin.n84a05
- [49] NETŘEBSKÁ, K.: Vliv elektrické vodivosti kapalinových kolektorů na elektrostatické zvlákňování do kapaliny. *Bakalářská práce*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, 2018 [vid. 2021-02-26]. Dostupné z: <https://dspace.tul.cz/handle/15240/25475>
- [50] KLADI, K. P., et al.: Fibrous scaffolds by electrospinning of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/layered silicate nanocomposites. In *Proceedings of the 3rd International Symposium on Nanomanufacturing*. Limassol, 2005. Dostupné z: [https://scholar.google.gr/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=el&user=dcSmgeQAAAAJ&citation\\_for\\_view=dcSmgeQAAAAJ:UebtZRa9Y70C](https://scholar.google.gr/citations?view_op=view_citation&hl=el&user=dcSmgeQAAAAJ&citation_for_view=dcSmgeQAAAAJ:UebtZRa9Y70C)
- [51] CAN-HERRERA, L. A., et al.: Morphological and mechanical properties of electrospun polycaprolactone scaffolds: Effect of applied voltage. *Polymers*, 2021, 13(4), 662. Dostupné z: doi:10.3390/polym13040662
- [52] ŞENER, A. G., ALTAY, A. S., ALTAY, F.: Effect of voltage on morphology of electrospun nanofibers. In *2011 7th International Conference on Electrical and Electronics Engineering (ELECO)*, 2011, I-324. Dostupné z: [https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/6140204?casa\\_token=kWONvivwO8sAAAAA:EHE27pZt\\_1ja2\\_YDCt2TgWI41-XZ1Cgg3rtyq5WWFgR2LoXmlve3T4ePzPXeTkTYsOzU0SjW7s](https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/6140204?casa_token=kWONvivwO8sAAAAA:EHE27pZt_1ja2_YDCt2TgWI41-XZ1Cgg3rtyq5WWFgR2LoXmlve3T4ePzPXeTkTYsOzU0SjW7s)
- [53] NEZARATI, R. M., EIFERT, M. B., COSGRIFF-HERNANDEZ, E.: Effects of humidity and solution viscosity on electrospun fiber morphology. *Tissue Engineering. Part C, Methods*, 2013, 19(10), 810–819. ISSN 1937-3384. Dostupné z: doi:10.1089/ten.tec.2012.0671
- [54] RAMAKRISHNAN, R., et al.: Effect of humidity on formation of electrospun polycaprolactone nanofiber embedded with curcumin using needleless electrospinning. *Materials Today: Proceedings*, 2019, 19, 1241–1246. ISSN 2214-7853. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.11.128>
- [55] ARMAND, S. B., et al.: The effect of polymer concentration on electrospun PVDF membranes for desalination by direct contact membrane distillation. *European Water*, 2017, 58, 21-26. [vid. 2021-02-26]. Dostupné z: [https://www.ewra.net/ew/pdf/EW\\_2017\\_58\\_04.pdf](https://www.ewra.net/ew/pdf/EW_2017_58_04.pdf)
- [56] WANG, D.: Polymer flooding practice in daqing. In J. J. SHENG, ed. *Enhanced oil recovery field case studies*. Boston: Gulf Professional Publishing, 2013, 83-116 [vid. 2021-02-26]. ISBN 978-0-12-386545-8. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386545-8.00004-X>

- [57] BOSWORTH, L. A., DOWNES, S.: Acetone, a sustainable solvent for electrospinning poly( $\epsilon$ -caprolactone) fibres: Effect of varying parameters and solution concentrations on fibre diameter. *Journal of Polymers and the Environment*, 2012, 20(3), 879–886. ISSN 1566-2543, 1572-8900. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-012-0436-3
- [58] GHOLIPOUR KANANI, A., BAHRAMI, S. H.: Effect of changing solvents on poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous webs morphology. *Journal of Nanomaterials*, 2011, 1-10. ISSN 1687-4110. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/jnm/2011/724153/>
- [59] HSU, C. M., SHIVKUMAR, S.: N,N-Dimethylformamide additions to the solution for the electrospinning of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibers. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2004, 289(4), 334-340. ISSN 1439-2054. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mame.200300224>
- [60] EKRAM, B. et al.: Optimum parameters for the production of nano-scale electrospun polycaprolactone to be used as a biomedical material. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 2017, 8(4), 045018. Dostupné z: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2043-6254/aa92b4>
- [61] JOY, J., et al.: Fabrication of smooth electrospun nanofibrous gelatin mat for potential application in tissue engineering. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2015, 64(10), 509–518. ISSN 0091-4037. Dostupné z: doi:10.1080/00914037.2014.977898
- [62] JABUR, A. R, et al.: Evaluation of stem cells' growth on electrospun polycaprolactone (PCL) scaffolds used for soft tissue applications. *Energy Procedia*, 2017, 119, 61-71. ISSN 1876-6102. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.07.048>
- [63] GHASEMI-MOBARAKEH, L. et al.: Electrospun poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *Biomaterials*, 2008, 29(34), 4532–4539. ISSN 0142-9612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2008.08.007
- [64] ZHANG, S., CAMPAGNE, C., SALAÜN, F.: Influence of solvent selection in the electrospinning process of polycaprolactone. *Applied Sciences*, 2019, 9(3), 402. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2076-3417/9/3/402>  
DOI: <https://doi.org/10.3390/>
- [65] HANSEN, C. (ed.): Hansen solubility parameters: a user's handbook. Second edition. CRC press, 2007. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/9781420006834>
- [66] YANEZ, E.: The effects of low molecular weight polar molecules on the physical and chemical properties of hard gelatin capsule shells. *Doctoral dissertation*. Kansas: University of Kansas, 2017. Dostupné z: <https://kuscholarworks.ku.edu/handle/1808/27578>
- [67] PAVLŮ, B.: Studium volné povrchové energie polymerních tenkých vrstev připravených metodou PECVD. *Bakalářská práce*. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2016 [vid. 2022-03-28]. Dostupné z: <https://theses.cz/id/lhdscw/>

- [68] TIYEK, I., et al.: Influence of electrospinning parameters on the hydrophilicity of electrospun polycaprolactone nanofibres. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2019, 19(11), 7251-7260. Dostupné z: <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16605>
- [69] MANAKHOV, A., et al.: Carboxyl-anhydride and amine plasma coating of PCL nanofibers to improve their bioactivity. *Materials & Design*, 2017, 132, 257-265. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.06.057>
- [70] DIAS, J., BÁRTOLO, P.: Morphological characteristics of electrospun PCL meshes—the influence of solvent type and concentration. *Procedia CIRP*, 2013, 5, 216-221. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.procir.2013.01.043>