



# Příprava a charakteristika polyesterových orientovaných vláken metodou drawing

## Diplomová práce

*Studijní program:* N3106 – Textilní inženýrství  
*Studijní obor:* 3106T018 – Netkané a nanovláknenné materiály  
*Autor práce:* **Bc. Šárka Hauzerová**  
*Vedoucí práce:* Ing. Věra Jenčová, Ph.D.



# Preparation and characterization of polyester oriented fibers by the drawing method

## Master thesis

*Study programme:* N3106 – Textile Engineering  
*Study branch:* 3106T018 – Nonwoven and Nanomaterials  
*Author:* **Bc. Šárka Hauzerová**  
*Supervisor:* Ing. Věra Jenčová, Ph.D.



Technická univerzita v Liberci  
Fakulta textilní  
Akademický rok: 2017/2018

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Šárka Hauzerová**  
Osobní číslo: **T16000086**  
Studijní program: **N3106 Textilní inženýrství**  
Studijní obor: **Netkané a nanovláknenné materiály**  
Název tématu: **Příprava a charakteristika polyesterových orientovaných vláken metodou drawing**  
Zadávající katedra: **Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů**

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

1. Vypracování rešerše na dané téma
2. Příprava polymerních roztoků pro zvláknění a jejich charakteristika. Pro práci bude použit polykaprolakton (PCL) a kopolymer polykaprolaktonu a kys. polymléčné (PLCL).
3. Příprava jednotlivých orientovaných vláken metodou drawing: zvláknění z kapky a volné hladiny polymerního roztoku
4. Charakteristika připraveného materiálu z hlediska morfologie (průměry vláken, homogenita vláken, geometrie vláken) a mechanických vlastností (tahové zkoušky)
5. Zpracování výsledků

Rozsah grafických prací: **dle potřeby dokumentace**

Rozsah pracovní zprávy: **40-60 dle potřeby**

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. Ondarçuhu, T., & Joachim, C. (1998). Drawing a single nanofibre over hundreds of microns. *Europhysics Letters*, 42(2), 215220.
2. Yao, M., Spiegelberg, S. H., & McKinley, G. H. (2000). Dynamics of weakly strain-hardening fluids in filament stretching devices. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, Vol. 89. doi:10.1016/S0377-0257(99)00028-2
3. Mohammadzadehmoghadam, S., Dong, Y., & Jeffery Davies, I. (2015). Recent progress in electrospun nanofibers: Reinforcement effect and mechanical performance. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 53(17), 11711212.

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

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

Datum zadání diplomové práce: **13. října 2017**

Termín odevzdání diplomové práce: **4. května 2018**



Ing. Jana Drašarová, Ph.D.  
děkanka



prof. RNDr. David Lukáš, CSc.  
vedoucí katedry

V Liberci dne 13. října 2017

## Prohlášení

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

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

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

Diplomovou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

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

Datum: 4.5.2018

Podpis: S. Hanuš

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych tímto poděkovala své vedoucí diplomové práce Ing. Věře Jenčové, Ph.D. a své konzultantce Mgr. Kateřině Strnadové za podporu, trpělivost, odborné vedení, cenné rady a také za čas, který mi věnovaly během vypracování této práce. Velké díky patří také panu prof. RNDr Davidu Lukášovi, CSc. a ostatním členům Katedry netkaných textilií a nanovláknenných materiálů za podnětné nápady a spolupráci v laboratoři. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Lukášovi Stanislavovi, Ph.D. za vytvoření programu pro posun jehly určený pro tažení vláken metodou drawing z volné hladiny.

V neposlední řadě bych velmi ráda poděkovala své rodině a přátelům, kteří mě podporovali nejen při psaní této práce, ale také v průběhu celého mého studia.

## **ABSTRAKT**

Technologie drawing je založena na výrobě jednotlivých mikro až nanovláken, což má velký potenciál zejména pro tkáňové inženýrství, kdy je možné vyrábět vlákenné nosiče s přesně definovanou strukturou. Tato práce je zaměřena na přípravu vláken tažených metodou drawing a optimalizaci výrobního procesu.

V rámci experimentální části práce byl sledován vliv homogenizace polymerního roztoku na výrobní proces vláken. Pro přípravu roztoků a následnou výrobu vláken byly použity polymery polykaprolakton (PCL) a kopolymer polykaprolaktonu a kyseliny polymléčné (PLCL). Homogenizace roztoku byla experimentálně zjišťována pomocí viskozity a následné morfologie vyrobených vláken. Z jednotlivých roztoků byly v rámci optimalizace testovány i mechanické vlastnosti vlákenných svazků. Z výsledků vyplývá, že s rostoucím intervalem homogenizace polymerního roztoku se průměry vláken více přibližují Gaussovu rozdělení a jejich rozptyl se snižuje.

Dále byla práce zaměřena na jednu z možných modifikací výroby vláken metodou drawing. Konkrétně na tažení vláken z volné hladiny polymerního roztoku popřípadě taveniny místo z polymerní kapky. Vlákna vyrobená jednotlivými metodami byla následně morfologicky porovnána, kdy nejvyšší homogenitu po délce vykazovala vlákna tažená z volné hladiny polymerní taveniny.

## **Klíčová slova**

Drawing, polykaprolakton, poly(laktid-co- $\epsilon$ -kaprolakton), morfologie vláken, viskozita, mechanické vlastnosti vláken, tkáňové inženýrství, vlákenný nosič (scaffold)

## **ABSTRACT**

The drawing technology is based on the production of individual micro even nanofibers, which has great potential mainly for the tissue engineering, when it is possible to produce fiber scaffold with an accurately defined structure. This thesis is focused on preparation fibers by method called drawing and optimalization fiber production process.

In frame of the experimental part of this thesis there was monitored an influence of homogenisation the polymer solution on the production process of fibers. For the preparation of the solution and resulting fiber production there were used polycaprolactone (PCL) polymer and polycaprolactone and polylactic acid (PLCL) copolymer. Homogenization of the solution was experimentally determined with help of viscosity and subsequent morphology of the produced fibers. From the individual solutions there were in frame of the optimisation tested also the mechanical characteristics of fibers bundle. The results show, that in connection with a growing interim of homogenisation of polymer solution the fibers diameters approaching more closer of the Gaussian distribution and their scattering decreases.

Further, the thesis was focused on one of the possible modification in fiber production used by method drawing. The modification was specifically, of the draw the fibers from the free surface of the polymer solution or melt instead of a polymer droplet. The fibers produced by the individual methods were then morphologically compared, when the highest homogeneity along the length of the fibers drawn from the free-flowing polymer melt.

### **Keywords:**

Drawing, polycaprolactone, polycaprolactone, poly (lactide-co-caprolactone), fiber morphology, viscosity, mechanical characteristic of fibers, tissue engineering, scaffold



## Obsah

ÚVOD .....	12
TEORETICKÁ ČÁST .....	13
1 TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ.....	13
1.1 Materiály používané v medicíně a tkáňovém inženýrství .....	14
1.1.1 Využití polymerů ve tkáňovém inženýrství .....	15
1.1.2 Poly-ε-kaprolakton (PCL).....	17
1.1.3 Kopolymer kyseliny polymlečné a polykaprolaktanu (PLCL) .....	18
1.2 Rozdělení scaffoldů určených pro náhradu měkkých tkání .....	19
1.2.1 Hydrogely.....	19
1.2.2 Porézní scaffoldy.....	20
1.2.3 Vláknenné scaffoldy.....	20
2 METODY PŘÍPRAVY PROSTOROVĚ ORIENTO VANÝCH MIKRO A NANOVLÁKEN PRO TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ .....	22
2.1 Elektrostatické zvlákňování .....	23
2.1.1 Scaffoldy připravené elektrostatickým zvlákňováním .....	24
2.2 Odstředivé zvlákňování.....	25
2.2.1 Scaffoldy připravené odstředivým zvlákňováním.....	26
2.3 Technologie Drawing.....	27
2.3.1 Tvorba vláken metodou Drawing.....	28
2.3.2 Mikromanipulátor .....	29
2.3.3 Scaffoldy vyrobené technologií drawing .....	30
3 CHARAKTERIZACE VLÁKEN A JEJICH MECHANICKÉ VLASTNOSTI.....	32
3.1 Geometrické vlastnosti.....	32
3.2 Mechanické vlastnosti .....	32
3.2.1 Tahová zkouška.....	33
3.2.2 Experimentální metody testování mechanických vlastností jednotlivých nanovláken .....	34
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	36
4 MATERIÁLY A METODY .....	36
4.1 Polymery a rozpouštědla .....	36
4.2 Přístroje a programy .....	36
4.3 Metody a protokoly .....	37

4.3.1	Příprava roztoků PCL a PLCL .....	37
4.3.2	Měření viskozity.....	37
4.3.3	Výroba vláken technologie drawing .....	38
4.3.4	Skenovací elektronová mikroskopie .....	39
4.3.5	Řezy vláken.....	39
4.3.6	Mechanické vlastnosti vlákných svazků .....	40
5	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	41
5.1	Měření viskozity zvláknovacího roztoku .....	41
5.2	Vlákna tažená z polymerní kapky a jejich charakterizace .....	43
5.2.1	Morfologie vláken.....	44
5.2.2	Řez svazkem vláken.....	49
5.2.3	Mechanické vlastnosti vlákných svazků .....	50
5.2.4	Příprava křížených struktur pro buněčné <i>in vitro</i> testování .....	52
5.3	Modifikace technologie drawing – zvláknování z volné hladiny.....	55
5.3.1	Vlákna tažená z polymerní taveniny na rotující kolektor.....	60
	ZÁVĚR .....	67
	POUŽITÁ LITERATURA.....	69
	Seznam obrázků .....	72
	Seznam grafů.....	73
	Seznam tabulek .....	73
	PŘÍLOHY .....	74
A	Měření viskozity roztoků PCL a PLCL .....	74
B	Mechanické vlastnosti.....	76
C	Obsah příloženého CD .....	81

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

PCL	Polykaprolakton
PLCL	Poly(laktid-co- $\epsilon$ -kaprolakton) = kopolymer polykaprolakronu
PVA	Polyvinylalkohol
PLA	Kyselina polymléčná
PGA	Polyglykolid
PTFE	Polytertrafluoretylen
PUR	Polyuretan
PLLA	Poly(L-laktid)
PLGA	Kyselina poly(laktik-co-glykolová)
PEG	Polyetylenglykol
AFM	Mikroskop atomárních sil
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
DSC	Diferenciální skenovací kalorimetrie
hm%	Hmotnostní procenta
PEO	Polyethylenoxid
PMMA	Polymetylmetakrylát
M <sub>w</sub>	Molekulová hmotnost

## ÚVOD

V dnešní době existuje několik metod přípravy orientované vlákněné vrstvy, kdy průměry vzniklých vláken dosahují mikro až nano rozměrů. Ovšem výroba jednotlivých mikro/nanovláken je stále velmi komplikovaná. Jednou z metod výroby jednotlivých vláken je technologie drawing. Tato metoda je založena na tažení jednoho vlákna z kapky polymerního roztoku nebo taveniny, čímž umožňuje výrobu libovolně prostorově orientovaných struktur s definovaným počtem vláken. Výroba individuálních vláken otevírá mnohé možnosti potenciální aplikace těchto vláken, od elektroniky až po medicínu, kdy zvláště velký potenciál pro tyto vlákna představuje výroba scaffoldů pro tkáňové inženýrství.

Teoretická část práce se zabývá uplatněním prostorově orientovaných vlákněných struktur do tkáňového inženýrství. Dále se zabývá vybranými metodami zvláknění prostorově orientovaných mikro a nanovláken a podrobným popisem výrobního procesu tažených vláken metodou drawing. Jsou zde rozebrány vybrané charakteristiky vláken a metody jejich zjišťování.

Cílem této práce je bližší charakteristika vzniklých vláken a možné modifikace výrobního procesu. Experimentální část je zaměřena na charakterizaci polymerního roztoku PCL, tedy jeho viskozitní chování v průběhu přípravy ke zvláknění, morfologické vlastnosti vzniklých vláken a jejich mechanické chování ve svazku vláken. Druhá část se zabývá modifikací technologie drawing, kdy je polymerní kapka nahrazena volnou hladinou polymerního roztoku. V rámci tažení vláken z volné hladiny polymerního roztoku byl proveden experiment tažení nekonečného vlákna z polymerní taveniny.

## TEORETICKÁ ČÁST

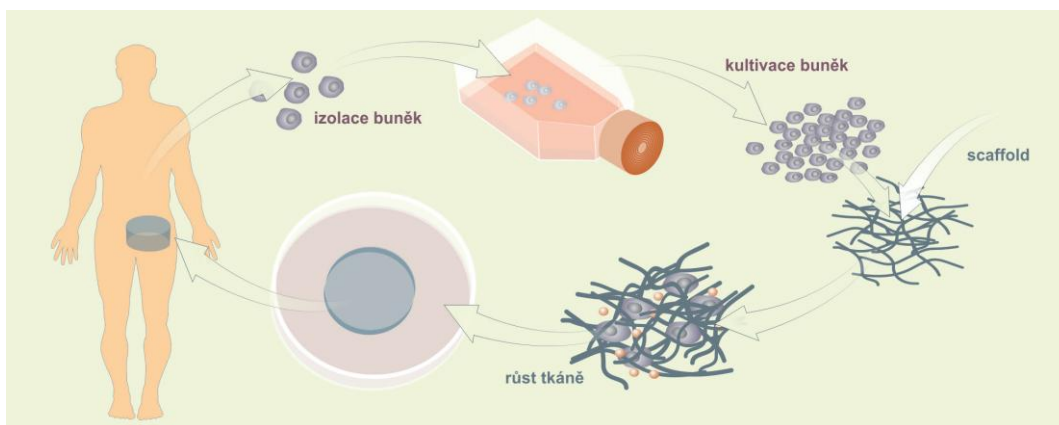
### 1 TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ

Lidský organismus je velmi složitý systém, v němž neustále dochází k regeneraci tkání. Pokud ovšem dojde k vyššímu poškození tkáně, vlivem nemoci či zranění, se kterým se organismus nedokáže vypořádat sám, je většinou nutné chirurgicky tkáň nahradit. Náhrady tkáně jsou většinou řešeny transplantacemi, ať už se jedná o autotransplantace (z vlastního těla), allotransplantace (z jiného těla stejného živočišného druhu) nebo xenotransplantace (z jiného živočišného druhu) (O'Brien, 2011). Allotransplantace a xenotransplantace ovšem přinášejí mnoho nevýhod jako např. reakce imunitního systému (zánět), nízká dostupnost transplantátů, přenos nemocí, apod. Tkáňové inženýrství je alternativním řešením těchto problémů (Chen, Liang and Thouas, 2013).

Tkáňové inženýrství je multidisciplinární obor, který spojuje hned několik odvětví z oblasti materiálových věd, biologie, medicíny, inženýrství, apod. Cílem tkáňového inženýrství je vývoj biologických náhrad, které slouží k podpoře a regeneraci poškozené tkáně za účelem obnovení funkce tkání, případně celých orgánů (Howard *et al.*, 2008).

Scaffold, tkáňový nosič, by měl svými vlastnostmi, materiálovým složením a strukturou, podporovat adhezi a proliferaci buněk, popř. jejich diferenciaci. Chemické složení a struktura materiálu je z pohledu buňky nejdůležitější charakteristikou. U struktury se jedná především o morfologii povrchu (členitost, pórovitost, atd.). Chemické složení určuje kompatibilitu s buňkami dané tkáně. Primární funkcí tkáňového nosiče je vytvoření vhodného prostředí, které co možná nejvíce napodobuje strukturu tkáně, póry umožňující prorůstání buněk, angiogenezi (novotvorba krevních kapilár) a difuzi potřebných živin a metabolitů v celém objemu nosiče (O'Brien, 2011; Chen, Liang and Thouas, 2013).

Vytvořený scaffold je do těla pacienta implantován dvěma způsoby, a to přímou implantací scaffoldu nebo je nejprve osazen příslušným typem buněk nahrazované tkáně a až poté implantován do těla pacienta, jak je znázorněno na obrázku 1. Přímou implantací vkládáme již vhodně vytvořený scaffold, který může obsahovat aktivní látky nebo léčiva, přičemž k regeneraci tkáně dochází vlivem prorůstání buněk na povrchu nebo do vnitřní struktury scaffoldu z okolní zdravé tkáně (Howard *et al.*, 2008).



Obrázek 1: Schéma procesu tkáňového inženýrství, převzato z (Vojtová *et al.*, 2015).

Pro implantaci scaffoldu s osazenými buňkami jsou v prvním kroku odebrány buňky od pacienta nebo dárce. Odebrané buňky jsou izolovány podle požadovaného typu a následně jsou kultivovány. Dalším krokem je osazení předem vytvořeného scaffoldu izolovanými buňkami a jejich následná kultivace na nosiči. Pro zlepšení růstu buněk se mohou přidávat podpůrné faktory (růstové faktory, nanočástice, léčiva). Poslední fází je implantace scaffoldu s osazenými buňkami do těla pacienta (Singh *et al.*, 2016).

## 1.1 Materiály používané v medicíně a tkáňovém inženýrství

V medicíně a tkáňovém inženýrství je využíváno biomateriálů, které můžeme rozdělit do několika základních skupin od kovů, keramiky a různorodých polymerů až po jejich libovolnou kombinaci. Kovy se využívají především pro náhrady tvrdých tkání, jako jsou kosti a chrupavky. Keramika je nejčastěji používána jako zubní implantáty díky svým dobrým mechanickým vlastnostem, chemickým stálostem a odolnostem a minimální tepelné roztažnosti. Polymerní materiály jsou v závislosti na použitém materiálu vhodné jak pro náhradu tvrdých tkání, např. kompozitní kloubní náhrady z uhlíkových vláken, tak i pro náhradu měkkých tkání, např. v podobě hydrogelu, porézní (houbovitě) nebo vlákně struktury (Ratner *et al.*, 2013; Turnbull *et al.*, 2017).

Výběr materiálu závisí prvotně na aplikaci a funkci tkáňové náhrady. Následně výběr závisí na biokompatibilitě materiálu s organismem, zejména pak materiál nesmí vyvolávat nežádoucí imunitní reakce (záněty). V závislosti na aplikaci v organismu musí být materiál biodegradabilní nebo inertní. Biodegradabilní materiál je v organismu plně rozložitelný, produkty degradace musí být netoxické a následně organismem

snadno vyloučené (Barnes *et al.*, 2007). Biodegradabilita je důležitá zejména pro scaffoldy určené k náhradě měkkých tkání, kdy nosič poskytuje buňkám možnost vytvořit si vlastní přirozenou extracelulární hmotu a regenerovanou tkáň není nutné následně chirurgicky narušovat z důvodů odstranění nosiče. Inertní materiál nemění své chemické a mechanické vlastnosti v průběhu času, neboli nepodléhá degradaci (Gunatillake, Adhikari and Gadegaard, 2003; O'Brien, 2011).

Další důležitou vlastností nosiče je mechanické chování daného materiálu, které by mělo přibližně odpovídat původní nahrazované tkáni (O'Brien, 2011).

Díky vysoké rozmanitosti materiálového složení, možnosti ovlivňování výsledných vlastností a různorodé zpracovatelnosti, jsou polymery nejvhodnějším vstupním materiálem. Pro výrobu scaffoldů určených pro náhradu měkkých tkání jsou využívány polymerní materiály ve formě vláknenných struktur, pěn nebo gelů (Vojtová *et al.*, 2015).

### **1.1.1 Využití polymerů ve tkáňovém inženýrství**

Syntetické polymery jsou uměle vyrobené látky s vysokou molekulovou hmotností. Přírodní polymery, biopolymery, jsou polymery biologického původu, jsou to převážně látky vzniklé v organismu syntézou nízkomolekulárních látek (Howard *et al.*, 2008).

Výhodou biopolymerů je tělu přirozenější struktura makromolekul, čímž výsledná vlákna poskytují přirozenější povrch pro buňky. Velkou nevýhodou je jejich obtížná dostupnost, nestabilita v kvalitě primárních zdrojů (nízká reprodukovatelnost=rozdílná molekulová hmotnost, rozdílné vlastnosti) a obtížná zpracovatelnost. Oproti tomu syntetické polymery mají výhodu především ve snazší reprodukovatelnosti materiálu a vyšší spektru modifikací od molekulové hmotnosti po výsledný tvar vláken (Vojtová *et al.*, 2015).

Mezi nejčastěji používané přírodní polymery v medicíně patří celulóza a její deriváty, alginát, chitosan, kolagen a kyselina hyaluronová (O'Brien, 2011). Mezi syntetické polymery určené pro tkáňové inženýrství patří polyvinylalkohol (PVA), kyselina polymléčná (PLA), polycaprolacton (PCL), polyglykolid (PGA) a další, viz tabulka 1 (Gunatillake, Adhikari and Gadegaard, 2003).

Tabulka 1: Nejběžněji používané polymery v medicíně a tkáňovém inženýrství (Gunatillake, Adhikari and Gadegaard, 2003; O'Brien, 2011; Vojtová et al., 2015).

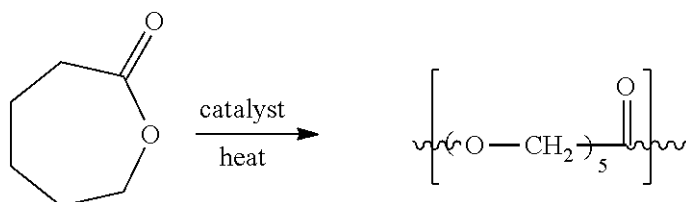
		Materiál	Použití
Přírodní polymery	Polysacharidy	Alginát	Obvazový a krycí materiál (pro akutní rány)
		Celulóza	Kožní kryty (popáleniny, akutní zranění),
		Kyselina Hyaluronová	Kožní kryty (antibakteriální účinky), oční kapky, pro farmaceutické účely
		Chitosan	Kožní kryty, kontrolovaný transport léčiv, separační membrány, antibakteriální nátěry
		Želatina	Gelové scaffoldy (hejení ran, nervů, zubů, kostí, měkkých tkání)
	Bílkoviny	Fibrin	Tkáňové inženýrství (kostní, srdeční, nervové a oční tkáně, cévní štěpy)
		Kolagen	Vstřebatelné šicí nitě, hemostatické plsti, pro farmaceutické účely, výroba gelů (TI)
Syntetické polymery	Polyestery	Poly( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL)	Šicí nitě, scaffoldy (pórezní-chrupavky, vláknenné-pro měkké svalstvo)
		Kopolymer (L-laktid-co-caprolakton) PLCL	Šicí nitě, vláknenné scaffoldy, řízené uvolňování léčiv
		Kyselina polymléčná (PLA)	Vstřebatelné šicí nitě, ortopedické implantáty (chrupavky, stenty, tyčinky, štítky, síťky, šroubů aj.), vláknenné nosiče (scaffoldy), transport léčiv
		Kyselina polyglykolová (PGA)	Vstřebatelné šicí nitě, řízené uvolňování léčiv, porézní scaffoldy
	Další	Polytertrafluoretylen (PTFE)	Cévní náhrady, síťky, srdeční pumpy, zubní výplně
		Polyvinylalkohol (PVA)	Vláknenné scaffoldy, v očních kapkách
		Polyuretan (PUR)	Obvazový materiál (absorpce tekutin), krátkodobé implantáty

V dalších kapitolách budou blíže přiblíženy polymery, jež byly použity v této práci.



### 1.1.2 Poly-ε-kaprolakton (PCL)

Syntetický polymer poly-ε-kaprolakton (PCL) je alifatický semikrystalický polyester, který je připravovaný z cyklického monomeru ε-kaprolaktonu polymerací za otevření cyklu, viz obrázek 2.



Obrázek 2: Schéma výroby polykaprolaktonu z ε-kaprolaktonu, převzato z (Vojtová *et al.*, 2015).

PCL má nízkou teplotu tání, která se pohybuje v rozmezí 59-64 °C, a nízkou teplotou skelného přechodu, který je -60 °C (Woodruff and Hutmacher, 2010). Charakteristické mechanické vlastnosti jsou nízká pevnost v tahu (cca 23 MPa) a vysoká hodnota při prodloužení do přetrhu (až 700 %) (Nair and Laurencin, 2007).

PCL je hydrofobní polymer. Jeho hydrofobní charakter přispívá k poměrně dlouhému časovému intervalu degradace (Patrício *et al.*, 2013). Degradace PCL probíhá hydrolytickým štěpením esterových vazeb v řetězci, čímž vznikají menší a menší fragmenty, které jsou pohlceny při fagocytóze. Při tomto procesu však vznikají kyselé produkty, které mohou vést v extrémních případech až k zánětlivým reakcím. PCL kompletně degraduje během 2-4 let v závislosti na molekulové hmotnosti polymeru. Se zvyšující se molekulovou hmotností se interval degradace prodlužuje. (Ali *et al.*, 1993; Woodruff and Hutmacher, 2010).

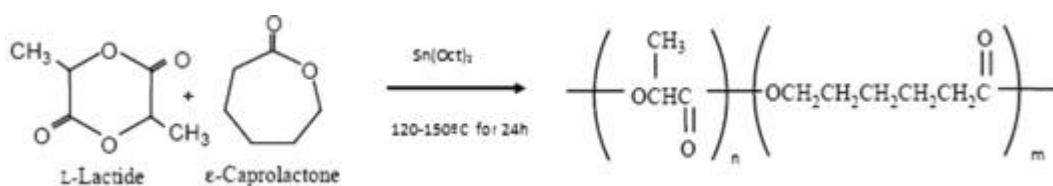
Využití PCL nachází díky své biokompatibilitě, biodegradabilitě a netoxickým účinkům jak materiálu, tak produktů degradace, především v tkáňovém inženýrství. Díky možnosti řízeně ovlivňovat degradaci je materiál vhodný pro kontrolované uvolňování léčiv (Woodruff and Hutmacher, 2010). Jedním z možných využití PCL ve tkáňovém inženýrství je příprava vláknenných scaffoldů. Vlákna lze vyrobit hned několika metodami a to jak z taveniny, např. technologií forcespinning, viz kapitola 2.2, tak i z roztoku, např. pomocí elektrostatického zvlákňování, viz kapitola 2.1 (Patrício *et al.*, 2013). Navíc je PCL schválený polymer FDA (Food and Drug Administration), jeho

uvvedení do praxe je tedy méně komplikované, než při zavádění nového polymeru (Woodruff and Hutmacher, 2010).

Materiály vyrobené z PCL je možné různě funkcionalizovat, např. pro zvýšení afinity buněk k materiálu se využívá povrchových modifikací, jako je potažení vhodnou vrstvou, úprava laserem nebo enzymy. Další možnou modifikací je možnost použití kopolymerů nebo výroba materiálů z polymerních směsí (tzv. blendy). Kopolymeru PCL vznikají kombinací monomerů  $\epsilon$ -kaprolaktonu s jinými monomery (např. kyseliny mléčné, etylenoxidu, etylenglykolu, vinylchloridu, aj.) (Nair and Laurencin, 2007).

### 1.1.3 Kopolymer kyseliny polymléčné a polykaprolaktonu (PLCL)

Polymery jako je PLLA (poly(L-laktid)) jsou díky svým mechanickým vlastnostem, především nižší tažnosti, nevhodné pro některé medicínské aplikace, kde jsou vyžadovány vysoce pružné a biodegradabilní materiály. Přesto je PLLA vhodný materiál pro tkáňové inženýrství vzhledem ke své biokompatibilitě v organismu a biodegradabilnímu chování. Z tohoto důvodu jsou vyráběny blendy (v poměrovém zastoupení dvou různých polymerů) nebo kopolymeru. Ve tkáňovém inženýrství se monomery L-laktidu často kombinují s monomery  $\epsilon$ -kaprolaktonu za vzniku kopolymeru PLCL (Woodruff and Hutmacher, 2010). Polymerací vzniká statistický kopolymer (monomery jsou v řetězci náhodně uspořádány). Použitím různého poměru monomerních jednotek lze ovlivnit např. mechanické vlastnosti nebo rychlost degradace (Fernández, Etxeberria and Sarasua, 2012).



Obrázek 3: Schéma vzniku kopolymeru PLCL, převzato z (Fernández, Etxeberria and Sarasua, 2012).

Kopolymer PLCL vzniká polymerací za otevření kruhu  $\epsilon$ -kaprolaktonu a L-laktidu, viz obrázek 3 (Fernández, Etxeberria and Sarasua, 2012). Struktura vzniklého kopolymeru závisí na podmínkách syntézy, poměru reagujících monomerů a použitím katalyzátoru (Fernández *et al.*, 2013).

Kopolymer PLCL stejně jako jeho složky patří mezi degradabilní polyestery. Náhodné uspořádání monomerů v kopolymeru PLCL má za následek nižší podíl krystalické fáze, než PLCL s pravidelnější strukturou, což vede zpravidla k rychlejší degradaci materiálu (Fernández *et al.*, 2013).

## **1.2 Rozdělení scaffoldů určených pro náhradu měkkých tkání**

Scaffoldy, vyrobené z polymerních materiálů, určené pro náhradu a regeneraci měkkých tkání jsou z pohledu struktury velmi rozmanité od gelů přes pěny (houbovitě struktury) po vlákněné struktury (Vojtová *et al.*, 2015).

### **1.2.1 Hydrogely**

Hydrogely jsou zesíťované polymery, jejichž vnitřní struktura je tvořena sítí vzájemně propojených makromolekul. Síť mezimolekulárních vazeb je tvořena buď chemickými vazbami (kovalentní a iontové vazby) nebo fyzikálními vazbami (vodíkové můstky a Van der Waalovy síly) (Saarai, 2012). Vlastnosti hydrogelů závisí především na použitém druhu polymeru a koncentraci, na polymerní struktuře, molekulové hmotnosti a stupně zesíťování (Vojtová *et al.*, 2015). V suchém stavu jsou hydrogely tvrdé a křehké a po kontaktu s vodným prostředím rychle bobtnají, čímž zvyšují svůj objem a stávají se měkkými. Míra bobtnání je dána chemickou podstatou polymeru a stupněm zesíťování, některé hydrogely bobtnají do takové míry, že zcela ztrácejí své mechanické vlastnosti. Míru bobtnání můžeme snadno ovlivňovat přidáním síťovacích látek, kdy vzniká hustší síť, která snižuje míru bobtnání (Lukáš *et al.*, 2008).

Běžné využití hydrogelů je pro výrobu kontaktních čoček a podkožních implantátů (Lukáš *et al.*, 2008). Hydrogely, jako buněčný scaffold, přirozeně podporují transport živin i odpadních látek a v jistých případech jsou schopny mechanicky stimulovat zabudované buňky ve vnitřní struktuře gelu a tak napodobovat jejich přirozené prostředí (Vojtová *et al.*, 2015).

Pro přípravu hydrogelových scaffoldů se využívá především biodegradabilních polymerů schopných síťovat ve vodném prostředí. Mezi nejrozšířenější syntetické polymery patří kyselina mléčná a její kopolymery (PLA a PLGA), polyetylen glykol (PEG) a polyvinylalkohol (PVA). U přírodních materiálů je to převážně kolagen, želatina, alginát chitosan nebo např. kyselina hyaluronová (Vojtová *et al.*, 2015).

### 1.2.2 Porézní scaffoldy

Porézní scaffoldy připomínají svou vnitřní strukturou pěny nebo houby. Vlastnosti porézních scaffoldů závisí na požitém polymerním materiálu, velikosti a hustotě pórů a na jejich vzájemném propojení (otevřené/uzavřené póry). Pórovitost materiálu určuje závislost velikosti povrchu scaffoldu a možnosti buněčné adheze. Velikost póru a jejich propojenost pak určuje možnost prorůstání buněk do vnitřní struktury nosiče, difuzi a transport látek nebo distribuci nově vzniklé mezibuněčné hmoty (Lukáš *et al.*, 2008; Vojtová *et al.*, 2015).

Pro přípravu porézních struktur existuje několik postupů, mezi které patří např. lyofilizace, odstranění (vymývání) porogenu, zpěňování apod. Zvolením vhodných postupů pro požadovaný materiál lze připravit materiál s orientovanými póry. Pro přípravu orientovaných struktur (pórů) se dají použít keramické materiály nebo směsi polymeru a keramických částic. Pro přípravu houbovitých struktur s náhodnou orientací pórů se používá např. chitosan, kyselina hyaluronová, polydioxan, polyuretany a jiné (Talukdar *et al.*, 2011).

### 1.2.3 Vlákenné scaffoldy

Vlákenné scaffoldy jsou charakteristické svou specifickou vlákennou strukturou která je dána způsobem zpracování a výroby mikro nebo nanovláken. Nejčastěji využívaná vlákenná struktura pro tkáňové inženýrství je ve formě nanovláken (buněčné scaffoldy), ale v medicínské praxi se běžně setkáváme i s tkanými nebo pletenými (cévní implantáty) tkáňovými náhradami (Vojtová *et al.*, 2015).

Tkané náhrady se vyznačují vysokou pevností, kdy omezujícími faktory jsou např. vazba (osnova/útek), materiál (nízké průměry přízi se hůře zpracovávají) atd. V dnešní době se nejčastěji využívá tkaných náhrad pro chrupavky, cévy a kloubní implantáty (v podobě kompozitního materiálu). Pletené scaffoldy se vyznačují vysokou tažností a uplatňují se např. jako kýlní síťky (osnovní pletenina s velkými póry), trubicové náhrady (cévy, hrtan, průdušnice atd.), náhrady svalů apod. Netkané textilie jsou charakteristické svým velkým měrným povrchem vláken s volnou strukturou a variabilní velikostí pórů, která je ovlivněna průměrem vláken a jejich hustotou v ploše, resp. v objemu scaffoldu (Lukáš *et al.*, 2008). Netkané textilie jsou velmi

rozmanité ať už z pohledu materiálů (přírodní i syntetické) tak technologií výroby (mechanicky, aerodynamicky, elektrostaticky atd). Každá technologie výroby netkaných scaffoldů zároveň udává vysokou rozmanitost výsledných struktur od ultratenkých nanovlákných po objemnější mikrovlákné 3D scaffoldy. V závislosti na vybrané technologii a jejích případných modifikacích je možné vyrábět prostorově orientované nebo nahodilé vlákné struktury (Lukáš *et al.*, 2008; Vojtová *et al.*, 2015).

Nejčastěji využívaná metoda přípravy netkaných vlákných nosičů pro tkáňové inženýrství je elektrostatické zvlákňování. Tato metoda je charakteristická pro výrobu vlákných vrstev, jejichž vlákna mají průměr od jednotek mikrometrů až po nanometry (Russell, 2006; O'Brien, 2011). Mimo elektrostatické zvlákňování se pro výrobu mikro a nanovlákných netkaných nosičů uplatňují i technologie odstředivého zvlákňování, melt-blown nebo například drawing. Každá metoda vyrábí vlákné vrstvy nebo vlákna, které jsou svými morfologickými vlastnostmi charakteristické pro danou technologii (Russell, 2006; Bajakova *et al.*, 2011).

Netkané scaffoldy nacházejí uplatnění především jako náhrady měkkých tkání, kožní kryty, náhrady svalové tkáně, náhrady rohovky, scaffoldy určené pro regeneraci nervové tkáně (experimentální výzkum) apod. (Lukáš *et al.*, 2008).

## 2 METODY PŘÍPRAVY PROSTOROVĚ ORIENTOVANÝCH MIKRO A NANOVLÁKEN PRO TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ

Mikro a nanovlákná našla díky svým specifickým vlastnostem uplatnění v mnoha odvětvích. V komerčním průmyslu jsou mikro/nano vlákna využívána jako speciální membrány do oděvů, střešních paropropustných membrán, antialergických lůžkovin, různých leštících utěrek, ručníků, apod. V průmyslovém využití se jedná především o filtry pro různé aplikace, ať už vzduchové nebo kapalinové. Velmi nadějným oborem je využití mikro/nano vláken v medicíně a tkáňovém inženýrství (O'Brien, 2011).

V dnešní době existuje hned několik metod zvlákňování, při kterých vznikají mikro/nano vlákna. Mezi nejrozšířenější metody patří elektrostatické zvlákňování, kdy je pro tvorbu vlákna využito elektrického pole. Tato metoda je jednou z nejproduktivnějších. Metody zvlákňování, při kterých se pro výrobu vláken nevyužívá elektrického pole, jsou odstředivé zvlákňování (forcespinning), zvlákňování z taveniny skrz trysku (melt-blown), technologie drawing nebo fázová separace, která je založena na rozpustné a nerozpustné složce bikomponentního vlákna (Russell, 2006). Další možností výroby vlákenných struktur je možná kombinace jednotlivých technologií.

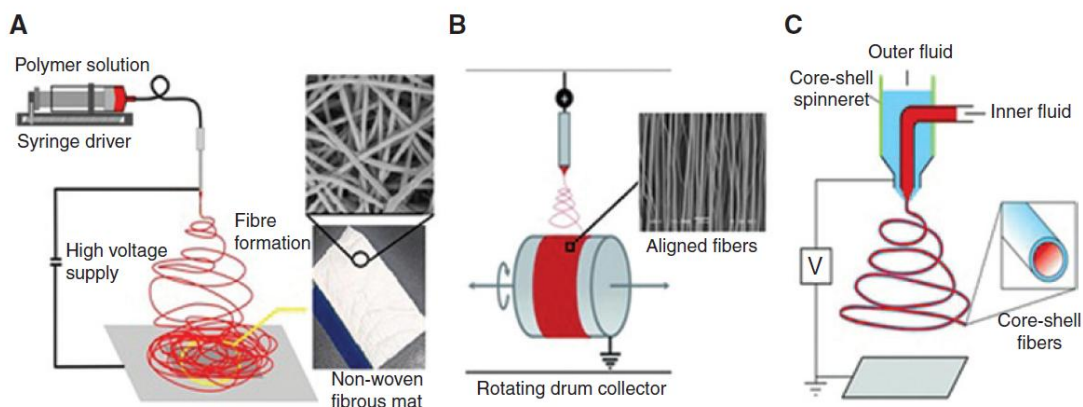
Průměry vláken jsou u každé metody ovlivněny především technologickým postupem při výrobě. U elektrostatického zvlákňování vznikají převážně nanovlákná, odstředivým zvlákňováním vznikají nano i mikrovlákna, technologií melt-blown jsou připravovány spíše mikrovlákna stejně jako fázovou separací. Technologií drawing vznikají mikro i nanovlákná v závislosti na použitém materiálu (Russell, 2006; O'Brien, 2011).

Vzniklé vlákenné vrstvy, připravené elektrostatickým zvlákňováním a technologií melt-blown, jsou spíše izotropního charakteru, resp. vlákna jsou prostorově neuspořádaně ukládána na sběrný kolektor během výroby. Modifikací těchto kolektorů můžeme u některých metod zvlákňování dosáhnout až téměř anizotropních, prostorově uspořádaných, vlákenných struktur (Bhardwaj and Kundu, 2010).

Oproti tomu odstředivé zvlákňování a metoda drawing vytváří vysoce orientovanou vlákennou strukturu vzniklé vrstvy. Technologie drawing je oproti ostatním metodám zcela jedinečná, při této metodě vzniká v jednom kroku jedno mikro/ nanovlákná (Bajakova *et al.*, 2011).

## 2.1 Elektrostatické zvlákňování

Pro přípravu vláken elektrostatickým zvlákňováním je využito vysokého napětí, kdy vlivem kapilárních sil a napětí vzniká elektricky nabitý proud polymerního roztoku nebo taveniny. Vlákna vyrobená touto metodou mají průměr od jednotek nanometrů až po několik mikrometrů. Polymery vhodné pro elektrostatické zvlákňování jsou velmi rozmanité, jak syntetické, tak i přírodní (Bhardwaj and Kundu, 2010).



Obrázek 4: Schéma elektrostatického zvlákňování z jehly-(A) konvenční metoda zvlákňování, (B) výroba orientovaných vláken na rotující kolektor a (C) výroba koaxiálních vláken jádro/plášť pomocí speciální zvlákňovací trysky, převzato z (Wang et al., 2016).

Na obrázku 4 jsou schematicky zakresleny některé metody elektrostatického zvlákňování. Obrázek 4(A) popisuje konvenční metodu zvlákňování. Z jehly, na kterou je přivedeno vysoké napětí, je vytlačena pomocí dávkovacího zařízení polymerní kapka, která je elektricky nabíjena, přičemž je tvořen tzv. Taylorův kužel. Taylorův kužel se tvoří vlivem rozdílu elektrických potenciálů vzniklých mezi nabitou kapkou a kolektorem, čímž dochází k deformaci kapaliny v podobě kužele. Ve chvíli kdy elektrické síly překonají povrchové napětí kapky polymeru je z Taylorova kuželu vytahován jeden či více proudů kapaliny, ze kterých se při průchodu prostorem mezi elektrodou a kolektorem odpařuje rozpouštědlo, čímž vznikají vlákna, která jsou následně ukládána na kolektor (Sill and von Recum, 2008; Bhardwaj and Kundu, 2010).

V dnešní době je několik variant zařízení pro elektrostatické zvlákňování, které se mohou lišit jak uspořádáním elektroda/kolektor tak tvarem jednotlivých komponent. Například změnou kolektoru můžeme ovlivňovat výsledné uspořádání vzniklých vláken, resp. při stacionárním kolektoru ve tvaru desky či struny se vlákna ukládají

na podkladový materiál nahodile. Modifikací na rotující kolektor ve tvaru válce či jeho podob mají vlákna tendenci se orientovat ve směru otáčení, viz obrázek 4(B) (Wang *et al.*, 2016).

Jako elektroda lze též využít mnoho rozmanitých tvarů a uspořádání, ať už se jedná o jehlu, rotující válec (hladký, tvarovaný, ojhlený) nebo strunu (jednu nebo více). Jednou z variant je i speciálně upravená jehlová elektroda pro koaxiální zvlákňování znázorněná na obrázku 4(C). Koaxiální vlákna jsou tvořena ze dvou nesourodých materiálů, přičemž vnější vrstva (plášť) slouží především jako ochrana a vnitřní fáze je nosič funkce dle požadované aplikace, kdy vnitřní složka může být jak v pevném stavu tak v kapalném (Sill and von Recum, 2008). Pro bezjehlové zvlákňování se využívá zvlákňování z volné hladiny, tedy elektrodou je rotující válec nebo struna.

Vzniklé nanovlákněné vrstvy lze využít v různých oblastech, jsou vhodné jako filtry, ochranné prvky (interakce s nebezpečnou látkou), scaffoldy pro tkáňové inženýrství, pro řízené uvolňování léčiv (biodegradabilní materiály), pro zdravotnické účely, apod. (Wang *et al.*, 2016).

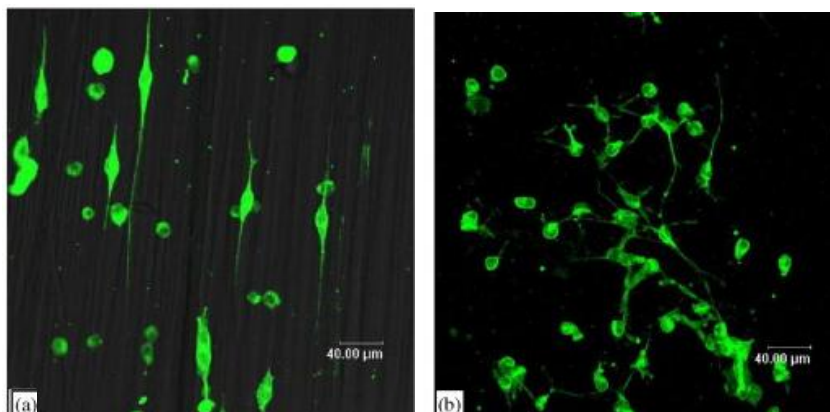
### **2.1.1 Scaffoldy připravené elektrostatickým zvlákňováním**

Elektrostaticky zvlákněné vrstvy s neuspořádanou strukturou jsou prakticky použitelné pro tkáň, jejichž buňky nemusí mít zcela uspořádanou a orientovanou strukturu aby dosáhla požadovaných vlastností zregenerované tkáň. Uplatnění je tedy především pro kožní poranění (popáleniny, akutní zranění) ve formě kožních vstřebatelných krytů (O'Brien, 2011).

Potenciální praktické využití vlákněných scaffoldů z prostorově orientovaných vláken bylo hlavně do oblasti neurochirurgie, zejména při poškození míšních nervů vlivem úrazu. Práce Yang *et al* (2005) se zabývá testováním a porovnáním chování kmenových buněk z myšího mozečku na PLLA vláknech. Předložené materiály k testování byly vyrobeny elektrostatickým zvlákňováním a vzájemně se od sebe lišily strukturou vlákněné vrstvy, a sice rozměrem vláken (mikro/nano vlákna) a orientací vláken (náhodná/uspořádaná vlákněná vrstva). Buňky dobře adherovaly na všechny typy jednotlivých testovaných materiálů. Studie prokázala, že u orientovaných struktur mají axony (výběžky nervové buňky) tendenci kopírovat směr vláken, kdežto u náhodně



uspořádaných struktur k žádné výraznější orientaci axonů nedocházelo (Yang *et al.*, 2005).

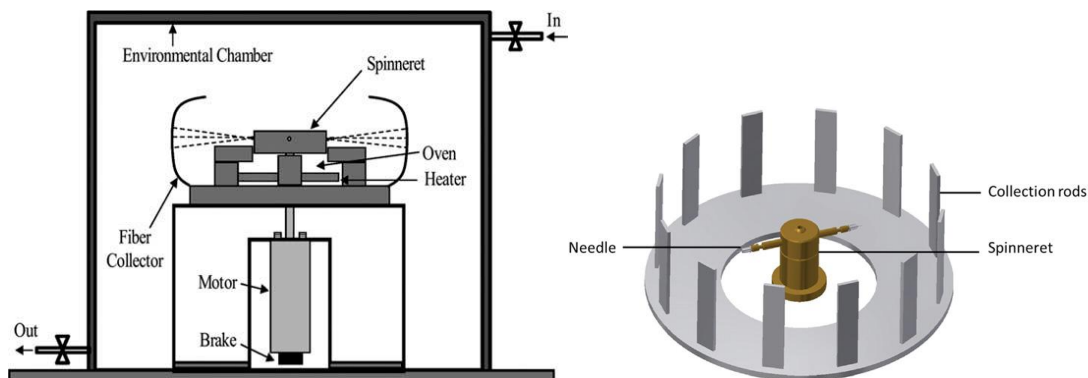


Obrázek 5: Snímky z fluorescenční mikroskopie nervových kmenových buněk na orientovaných (a) a neorientovaných (b) mikrovláknech, převzato z (Yang *et al.*, 2005).

## 2.2 Odstředivé zvlákňování

Odstředivé zvlákňování je metoda výroby vláken založená na principu odstředivé síly vyvolané vysokou rychlostí otáčení zvlákňovací hlavy (spinerety). Vlivem odstředivé síly je vlákno dluženo z polymerní kapky roztoku nebo taveniny a následně ukládáno na kolektor. Vlákna ve vzniklé vrstvě jsou převážně uspořádány do jednoho směru a jejich průměr se pohybuje od mikrometrů až po nanometry v závislosti na použitém polymeru a rychlosti otáčení spinerety (Sarkar *et al.*, 2010).

Rozlišují se dva typy odstředivého zvlákňování v závislosti na použité spineretě, jedná se o jehlové (tryskové) a bezjehlové zvlákňování. Spinereta pro jehlové zvlákňování má několik možných variant, skládá se ze zvlákňovacích trysek (jehel) nebo zvlákňovacích otvorů rozmístěných po obvodu spinerety a z rezervoáru s polymerním roztokem nebo taveninou. Schéma jehlového zvlákňování je znázorněno na obrázku 5. Pro bezjehlové zvlákňování má spinereta tvar plochého disku a polymerní roztok je po kapkách dávkován z rezervoáru přímo do středu na povrch disku (Sarkar *et al.*, 2010; Upson *et al.*, 2017).

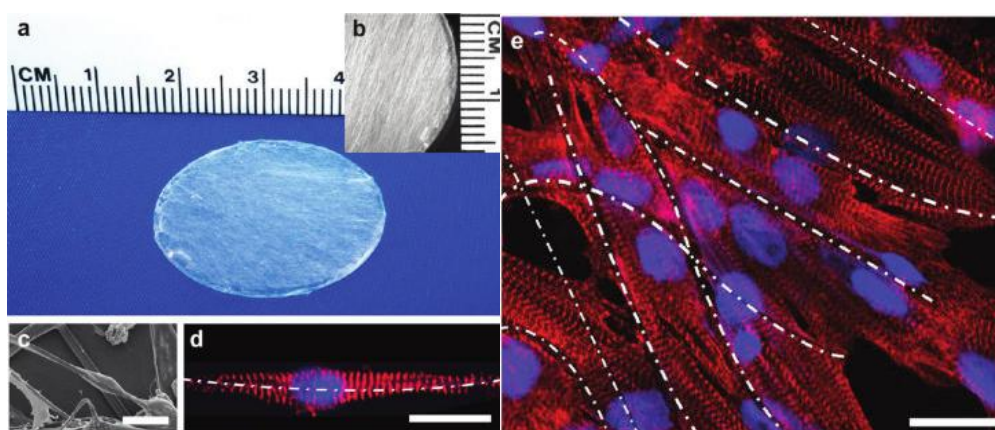


Obrázek 6: Schéma odstředivého zvlákňování, převzato z (McEachin and Lozano, 2013), a detail jehlové spinnerety, převzato z (Upton et al., 2017).

Vzniklá orientovaná struktura vlákněné vrstvy vyrobené technologií odstředivého zvlákňování je díky svým vlastnostem vhodná pro mnoho aplikací, např. pro filtrace, různé separátory, biomedicínské aplikace, řízené uvolňování léčiv, scaffoldy pro tkáňové inženýrství, atd. (Badrossamay et al., 2010; Sarkar et al., 2010).

### 2.2.1 Scaffoldy připravené odstředivým zvlákňováním

Práce (Badrossamay et al., 2010) se zabývá testováním vlákněného scaffoldu vyrobeného odstředivým zvlákňováním z roztoku PLA. Vzniklý vlákněný scaffold byl osazen buňkami, krysími kardiomyocyty (buňky srdeční svaloviny), a byl sledován trend orientace buněk dle předložených vláken, viz obr. 7 (Badrossamay et al., 2010).



Obrázek 7: Fotografický snímek testovaného scaffoldu PLA (a,b), SEM snímek PLA vláken s adherovanou buňkou (c), laserový skenovací konfokální snímek PLA scaffoldu s kardiomyocyty (d,e). Převzato z (Badrossamay et al., 2010).

Osazené buňky měly tendenci se orientovat v požadovaném směru, tedy ve směru vláken předloženého vlákenného nosiče. Výsledkem experimentu je vhodnost výroby orientovaných vlákenných scaffoldů technologií odstředivého zvlákňování.

### 2.3 Technologie Drawing

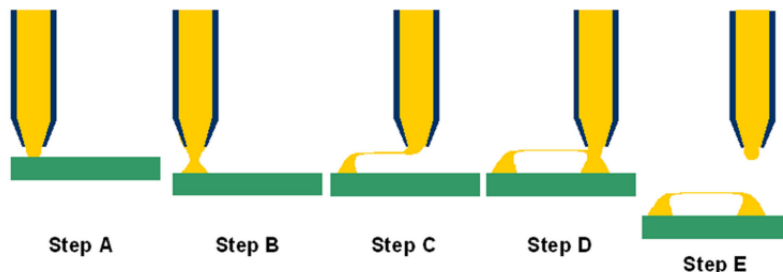
Princip tažení individuálního vlákna byl podrobně popsán roku 1998 v článku od autorů Ondarçuhu a Joachim. Ti zde popisují princip ručního tažení vláken z polymerní kapky pomocí mikropipety. Experiment realizovaly s vodným roztokem 0,01 hm% kyseliny chlorozlatité, který byl přiveden k varu a následně byl přidán citronan sodný. Průměr vzniklých vláken dosahoval až do oblasti nanometrů. Součástí experimentu bylo zjišťování, které parametry ovlivňují zvláknitelnost polymerních roztoků a co se děje s vlákny, u nichž dochází k přetrhu. Také bylo prokázáno, že vzniklé vlákno může být umístěno přesně na podklad při jeho zhotovení a může s ním být dále manipulováno pomocí hrotu AFM, aniž by docházelo k jeho mechanickému poškození (Ondarçuhu and Joachim, 1998).

Na začátku 21. století se výzkum technologie drawing začal objevovat častěji. Experimenty se zaměřovaly na testování různých polymerů, rozpouštědel a možnostech směrové orientace vláken do více směrů a jejich spojování za účelem vzniku mikro senzorů a nových (nano) optických vláken (Xing, Wang and Li, 2008; Bajakova *et al.*, 2011).

Technologie tažení vláken vyžaduje materiál s výrazným viskoelastickým chováním, který vydrží silné deformace a je přitom dostatečně soudržný pro udržení napětí, které je vyvolané vlivem mechanického tažení vlákna z polymerní kapky. Dalším důležitým parametrem pro tvorbu vlákna je tuhnutí ať už polymerního roztoku nebo taveniny. V případě taveniny je tuhnutí realizováno ochlazením polymerní taveniny, roztoku je to rychlost odpaření rozpouštědla v průběhu dloužení vlákna. Průměr vlákna je tedy velmi závislý na rychlosti dloužení, rychlosti chlazení nebo odpařování a na chemickém složení a vlastnostech polymeru (Nain *et al.*, 2006).

### 2.3.1 Tvorba vláken metodou Drawing

Princip tvorby vláken tažených z kapky polymeru pomocí mikropipety je znázorněn na obrázku 8.



Obrázek 8: Schematický postup tvorby vlákna metodou drawing, převzato z (Nain *et al.*, 2006)

Hrot jehly se přiblíží k podložce, následně je nadávkována kapka polymerního roztoku či taveniny, v níž je smočen hrot jehly (krok A). Jehla se následně začne od polymerní kapky oddalovat po dané trajektorii, čímž vzniká kužel (krok B). Dalším oddalováním hrotu od kapky polymeru vzniká vlákno, které vlivem malého průměru vlákna rychle chladne, resp. rychle se odpařuje rozpouštědlo (krok C) a zároveň je vlákno částečně dluženo. Na konci trajektorie se jehla opět přiblíží k podložce, ve vzdálenosti vzniklého vlákna, a je znovu dávkován polymer (krok D), čímž je vlákno uchyceno k podkladu. Rychlým pohybem se kapka od jehly oddělí (krok E) (Nain *et al.*, 2006).

Pokud je požadováno vyrobit více než jedno vlákno, pak po kroku D následuje krok B. Tímto způsobem lze vytvořit libovolný počet vláken.

Mezi polymery nejčastěji používanými pro přípravu vláken metodou drawing patří polymethylmetakrylát (PMMA), polykaprolakton (PCL), polyvinylalkohol (PVA), polyethylenoxid (PEO), atd. (Nain *et al.*, 2006). V závislosti na vlastnostech jednotlivých použitých polymerů je však nutné upravit podmínky zvlákňování, jako je množství vytlačeného polymeru (kapky), průměru hrotu (jehly) nebo rychlost posuvu jehly po dané trajektorii. Nejvíce rozhodujícím faktorem u zvlákňování metodou drawing je molekulová hmotnost polymeru a koncentrace polymerního roztoku (Stanislav and Bajáková, 2013).

Při použití těkavých rozpouštědel také velmi závisí na jednotlivých časových intervalech mezi dávkováním polymeru a posunem jehly, jelikož se rozpouštědlo

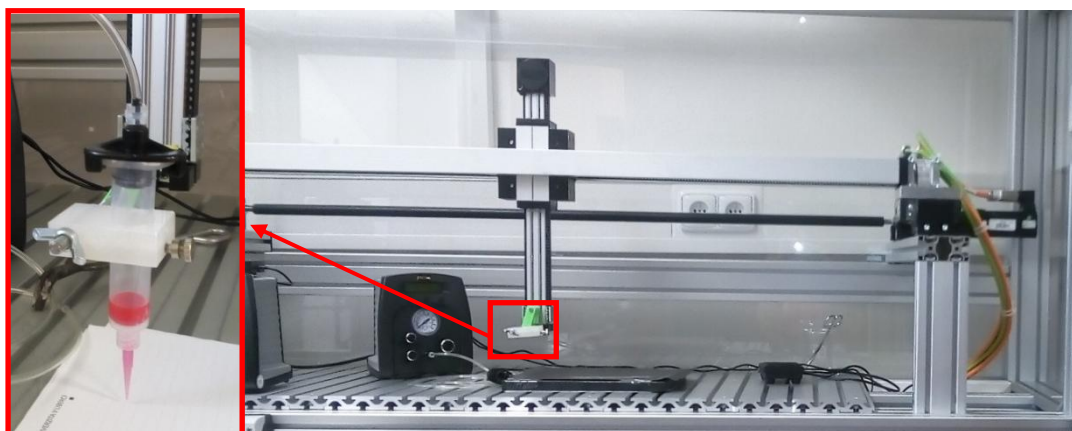
z kapky odpařuje průběžně, dochází během prodlevy k vzrůstu viskozity polymerní kapky, čímž vzrůstá také průměr vytaženého vlákna (Ondarçuhu and Joachim, 1998). Snížení průměru vláken lze dle článku (Bajakova *et al.*, 2011) dosáhnout použitím kratších molekul (nižší molekulová hmotnost) namísto dlouhých řetězců nebo snížením koncentrace polymerního roztoku.

Kromě širokého výběru polymerních materiálů má technologie drawing také výhodu ve vytvoření velkého množství různých struktur. Díky tomu že jsou vlákna tažená individuálně a po dané trajektorii, můžeme během výroby téměř přesně definovat počet vláken na jednotku délky a jejich délku. Dále je možné kombinovat různé materiály v přesně daném poměru (vlákno/vlákno) (Bajakova *et al.*, 2011).

Výhodou je rovněž možnost vytvářet vrstvené struktury s libovolnou orientací vláken v jednotlivých vrstvách (Stanislav and Bajáková, 2013).

### 2.3.2 Mikromanipulátor

Tažení vláken metodou drawing lze provádět ručně, což je velmi časově náročné a především nelze zajistit konstantní podmínky pro tažení jednotlivých vláken, jako je rychlost, trajektorie pohybu, apod. Z tohoto důvodu byl na Technické Univerzitě v Liberci ve spolupráci katedry netkaných textilií (FT) a katedry kybernetiky (FS) bylo vyvinuto strojní zařízení, mikromanipulátor, viz obrázek 7, který zajišťuje mechanizaci procesu zvlákňování (Stanislav, 2015).



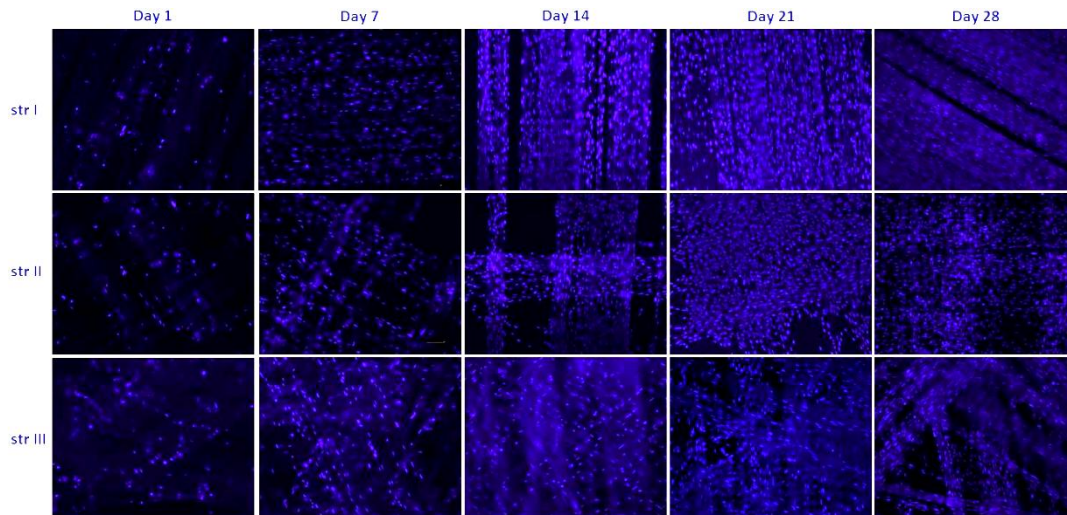
Obrázek 9: Snímek mikromanipulátoru II s detailním pohledem na dávkovací zařízení

Mikromanipulátor je schopný tvořit individuální pohyb jehly po definované trajektorii při dané rychlosti a zrychlení. Tento stroj má posun do tří os, kdy osa  $x$  je horizontální posun (udává délku vlákna), osa  $y$  je vertikální posun (trajektorie jehly) a osa  $z$  posouvá jehlu do třetího rozměru, čímž udává vzdálenost mezi jednotlivými vlákny. Maximální délka vlákna je omezena pracovní plochou stroje, zároveň však je hlavním ovlivňujícím faktorem samonosnost vlákna a tvorba defektů během zvlákňování. Vlákno o přílišné délce obsahuje statisticky vyšší procento defektů, které vedou vlivem dalšího namáhání v průběhu tažení k přetrhu vlákna. Prozatím se podařilo efektivně vyrobit vlákna dlouhá několik desítek centimetrů, aniž by docházelo k častějšímu přetrhu jednotlivých vláken (Stanislav, 2015).

### 2.3.3 Scaffoldy vyrobené technologií drawing

Výroba prostorově orientovaných individuálních vláken o průměru v rozsahu mikrometrů až nanometrů vyvolala značný zájem vzhledem k jejich možným aplikacím, jako je např. nano-elektronika a optické senzory. Tyto aplikace vyžadují jedno (1D), dvou (2D) či trojrozměrné (3D) sítě specificky orientovaných vláken (Bajakova *et al.*, 2011).

Velký potenciál mají vlákna ve tkáňovém inženýrství. Vlákna připravená metodou drawing mohou sloužit jako testovací modely a to zejména proto, že jsou definovatelné vstupní parametry, jako je průměr vláken, délka vláken a počet vláken na jednotku délky. Největší výhodou ovšem zůstává možnost rozmanitého směrového uspořádání vláken ve výsledném nosiči. Metodou drawing lze vytvořit strukturu jejíž vlákna jsou uložena v jednom nebo více směrech, popřípadě se skládají z jednoho či více typů materiálu. V práci Pilařová *et al.* (2014) je sledována adheze a viabilita (životaschopnost) vybraných buněčných kultur vzhledem k uspořádání jednotlivých vlákněných struktur připravených technologií drawing.



*Obrázek 10: Snímky pořízené pomocí fluorescenční mikroskopie během testovaných dnů: str I paralelní uspořádání vláken, str II křížená struktura (mřížka) a str III tři směry vzájemného uspořádání vláken. Převzato z (Pilařová et al., 2014)*

Využití směrové orientace vláknenných scaffoldů je vhodné pro všechny typy tkání, jejichž buňky jsou přirozeně směrově diferencované, jako je např. nervová nebo svalová tkáň.

V práci (Stanislav, 2015) jsou mimo jiné testovány mechanické vlastnosti jizvy vzniklé po abdominální incizi (chirurgický řez v břišní oblasti). Na polovinu testovaných subjektů (králíků) byla uplatněna kýlní síťka tvořená vlákny z PCL vyrobenými metodou drawing. Studie ukázala, že experimentální skupina (s implantovanou kýlní síťkou) vykazovala vyšší hodnoty mechanických parametrů (pevnost, modul pružnosti, mez kluzu, atd.) oproti kontrolní skupině.



*Obrázek 11: Kýlní síťka aplikovaná na chirurgicky vytvořenou řeznou ránu, převzato z (Stanislav, 2015).*

### **3 CHARAKTERIZACE VLÁKEN A JEJICH MECHANICKÉ VLASTNOSTI**

Každý vlákenný materiál má své specifické rysy, které ho odlišují od ostatních. Mimo chemické složení patří mezi základní rysy geometrické vlastnosti (délka, jemnost a tvar příčného řezu), mechanické vlastnosti (pevnost, tažnost, modul, tuhost, zotavení, atd.), termické a termomechanické vlastnosti (bod tání, zesklnění, přechodové teploty, atd.), elektrické vlastnosti (statický náboj, isolační schopnosti, atd.), povrchové vlastnosti (adheze, transportní chování), chemická odolnost apod. (Militký, 2002; Běhálek, 2014).

#### **3.1 Geometrické vlastnosti**

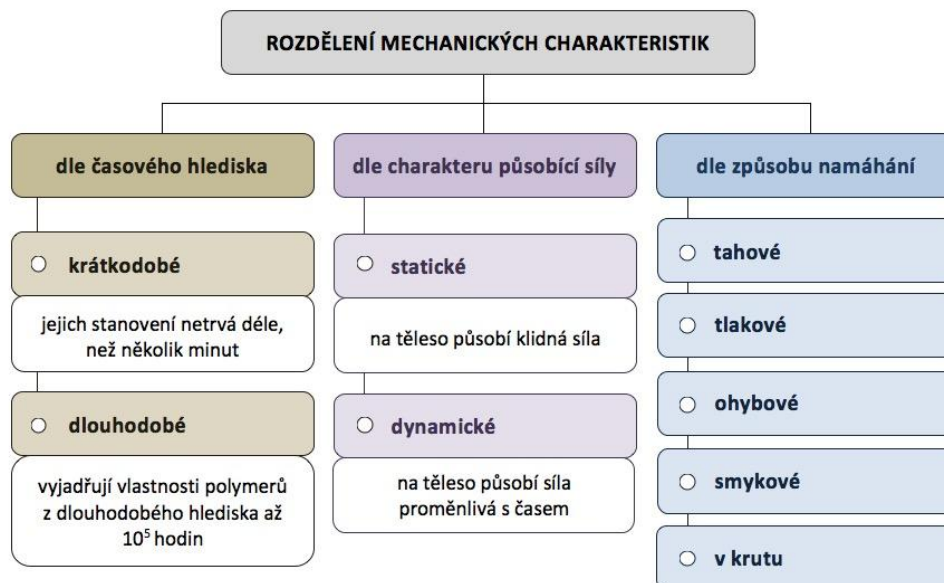
Jedním ze základních rysů jakýchkoli vláken je jejich tloušťka (průměr), která je vždy o několik řádů menší než jejich délka. U přírodních vláken se průměr a tvar průřezu ovlivňuje pouze nepřímo. U syntetických a chemických vláken je možno ovlivňovat délku vláken, průměr i tvar příčného řezu zcela záměrně např. pomocí tvarovaných zvláknovacích trysek (Militký, 2002).

Průměr jako jeden ze základních charakteristických vlastností vláken se obvykle experimentálně zjišťuje prostřednictvím obrazové analýzy snímků pořízených pomocí optické nebo elektronové mikroskopie. Statistickým vyhodnocením se určuje průměrná hodnota průměru vláken. Dále se pomocí obrazové analýzy hodnotí geometrie příčného řezu nebo charakteristický vzhled morfologie povrchu vláken, popřípadě vlákenné vrstvy (Militký, 2002).

#### **3.2 Mechanické vlastnosti**

Mechanické vlastnosti jsou charakteristické pro každý materiál ať už textilního nebo strojírenského charakteru. Tyto vlastnosti jsou ovlivněny jak materiálem, tak technologickým postupem výroby. Sledují se a experimentálně testují především následující mechanické vlastnosti: pevnost, tažnost, plasticita, houževnatost, práce do přetrhu, moduly pružnosti, chování materiálu při cyklickém namáhání, apod. Obrázek 12 zachycuje schematické rozdělení testování mechanických vlastností z pohledu času, charakteru působící síly a způsobu namáhání (Běhálek, 2014).





Obrázek 12: Schematické rozdělení mechanických charakteristik, převzato z (Běhálek, 2014).

### 3.2.1 Tahová zkouška

Tahové zkoušky polymerních materiálů jsou normalizované dle českých technických norem. Pevnost a tažnost jsou základními charakteristikami polymerních materiálů. Pro testování vláknenných vrstev se nejčastěji používá jednoosé namáhání v tahu, kdy je možné normálové napětí v závislosti na průběhu deformace, resp. poměrného prodloužení, experimentálně zjistit. Výstupem tahové zkoušky je deformační křivka, která poskytuje informace o vlastnostech testovaného vzorku (Běhálek, 2014).

Pevnost, resp. síla je základní fyzikální vektorovou veličinou se značkou  $\vec{F}$  a jednotkou Newton [N]. Působením síly na materiál v daném směru rozlišujeme tahovou sílu, kdy vektor působící síly směřuje mimo testovaný vzorek, a tzv. kompresi, při níž působící síla směřuje do středu testovaného vzorku. Každý materiál má určitou velikost normálové síly, které dokáže po určitou dobu odolávat. Tato hodnota je označována jako maximální pevnost materiálu  $F_{max}$  [N<sub>max</sub>] (Neckář, 2012; Běhálek, 2014).

U textilních materiálů je komplikované porovnávat hodnoty síly u různých druhů materiálů, z tohoto důvodu byly zavedeny smluvní veličiny jako napětí, specifické napětí, relativní prodloužení (deformace) a počáteční moduly. Tyto veličiny umožňují porovnání různorodých materiálů.

Napětí  $\sigma$  je síla  $\vec{F}$  vztažená na plochu  $s$  [mm<sup>2</sup>] a její jednotkou je [N\*mm<sup>-2</sup>=MPa]. U testování vlákenný materiálů (vlákna, příze atd.) je častěji používáno specifické napětí, kdy je síla  $\vec{F}$  vztažená k jemnosti vláken  $t$  [tex],  $\sigma_s$  [N\*tex<sup>-1</sup>].

$$\sigma = \frac{\vec{F}}{s} \quad \sigma_s = \frac{\vec{F}}{t}$$

*Vzorec 1: Napětí a specifické napětí testovaného vzorku, převzato z (Neckář, 2012).*

Tažnost, resp. deformace, je přírůstek délky vzorku  $\Delta l$  (prodloužení) z jeho počáteční (upínací) délky  $l_0$  [mm]. Relativní prodloužení  $\varepsilon$  vzorku je pak podílem přírůstku a počáteční délky.

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0}$$

*Vzorec 2: Relativní prodloužení vzorku, převzato z (Neckář, 2012).*

Modul  $E$  je určitá lineární oblast křivky v určitém úhlu. Jednotka modulu je závislá na parametrech os  $x$  a  $y$ , přičemž základní jednotkou je Pascal [Pa=N\*m<sup>-2</sup>]. Existuje několik modulů tahové křivky, přičemž pro textilní materiály je nejvíce využíván Yongův počáteční modul. Youngův modul je měřítkem tuhosti materiálu, resp. jedná se o odpor vůči prodloužení materiálu. Čím vyšší je počáteční modul, tím méně je materiál deformovatelný danou silou, jedná se především o malé deformace. Počáteční modul je zjišťován pomocí sklonu přímky, která je vedena pomocí metody nejmenších čtverců počáteční lineární oblastí grafu. Přímka je obvykle vedena z počátku tahové křivky. Vzorec 3 popisuje výpočet počátečního Yongova modulu přes napětí a relativní prodloužení testovaného materiálu.

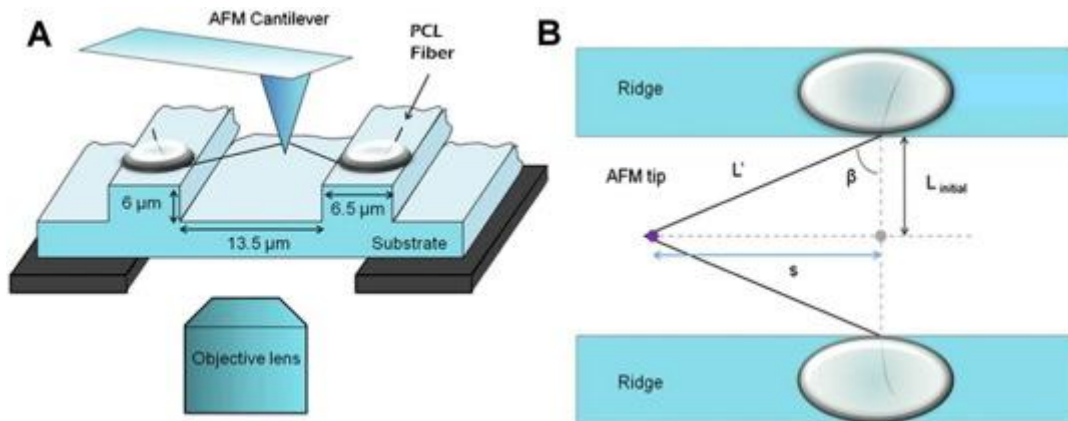
$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

*Vzorec 3: Počáteční Yongův modul pružnosti, převzato z (Neckář, 2012).*

### **3.2.2 Experimentální metody testování mechanických vlastností jednotlivých nanovláken**

Mechanické testování jednotlivých mikro a nanovláken je v dnešní době stále velmi komplikované. Důvodem je extrémní jemnost vláken, kdy i přes velké množství a rozmanitost senzorů pro trhací stroje nejsou tyto senzory dostatečně citlivé, aby

zaznamenaly přírůstky sil potřebných k přetrhu takto jemných vláken. Tento problém byl řešen v práci (Baker *et al.*, 2016), kde byl navržen postup testování PCL nanovláken, získaných elektrostatickým zvlákňováním, pomocí hrotu AFM (mikroskop atomárních sil).



Obrázek 13: Schéma manipulace s jednotlivými PCL nanovláčky během mechanického testování pomocí hrotu AFM: A) Vlákno je zafixováno pomocí speciálního lepidla do držáku a hrot AFM se pohybuje konstantní rychlostí v kolmém směru k vláknu. Poté dochází k prodloužení vlákna až do přetrhu, kdy současně hrot zaznamenává přírůstek sil. Celý proces je sledován zespu pomocí optického mikroskopu. B) Popisuje výpočet tažnosti materiálu, kdy je počáteční délka  $L_{initial}$  podělena dvěma a pomocí pravouhého trojúhelníku vzniklého při přetrhu vlákna (Pythagorova věta) je vypočítána polovina protažení vlákna  $L'$  a po následných úpravách (vynásobení dvěma) získáme hodnotu  $\Delta l$ . Převzato z (Baker *et al.*, 2016).

## EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4 MATERIÁLY A METODY

#### 4.1 Polymery a rozpouštědla

Chloroform (CHCL <sub>3</sub> )	Penta
PCL (M <sub>w</sub> = 80 000)	Sigma – Aldrich
PCL (M <sub>w</sub> = 45 000)	Sigma – Aldrich
PCL (M <sub>w</sub> = 50 000)	Perstorp – Capa™ 6506
PLCL (70 L-lactide/ 30 Caprolactone)	Purasorb
Tekutý dusík	

#### 4.2 Přístroje a programy

Rastrovací elektronový mikroskop	Vega 3 SB – Easy Probe
Reometr	HAAKE RotoVisco 1 (Thermo Scientific)
Zlatička	Quorum Q50 ES
Mikromanipulátor II	FS TUL
NIS Elements AR	
Microsoft Excel 2010	

## **4.3 Metody a protokoly**

### **4.3.1 Příprava roztoků PCL a PLCL**

Pro testování viskozity a přípravu vláken pro morfologické a mechanické testování byly použity 12% roztoky PCL a PLCL v chloroformu. Tato koncentrace byla vybrána na základě výsledků experimentů zpracovaných v práci Bc. Sabola (2017).

Pro přípravu 20g roztoku polymeru bylo použito 2,4 g granulovaného polymeru (PCL nebo PLCL) a 17,6 g čistého chloroformu. Roztok byl míchán v uzavřené lahvičce na magnetickém míchadle při pokojové teplotě. Nastavené otáčky byly pro všechny roztoky stejné, 150 ot./min. Byly nastaveny jednotlivé intervaly míchání a prostřednictvím měření na reometru byly zjišťovány změny viskozity v jednotlivých intervalech.

### **4.3.2 Měření viskozity**

Viskozita roztoků byla měřena pomocí souosých válců (adaptér DG41 Ti), na rotačním reometru (Thermo Scientific™ HAAKE RotoVisco 1). Každý roztok byl pomocí stříkačky aplikován do spodního (statického) válce a po zapnutí zkoušky přístroj nejprve automaticky zasunul druhý válec (dynamický) do prvního a poté bylo zahájeno měření.

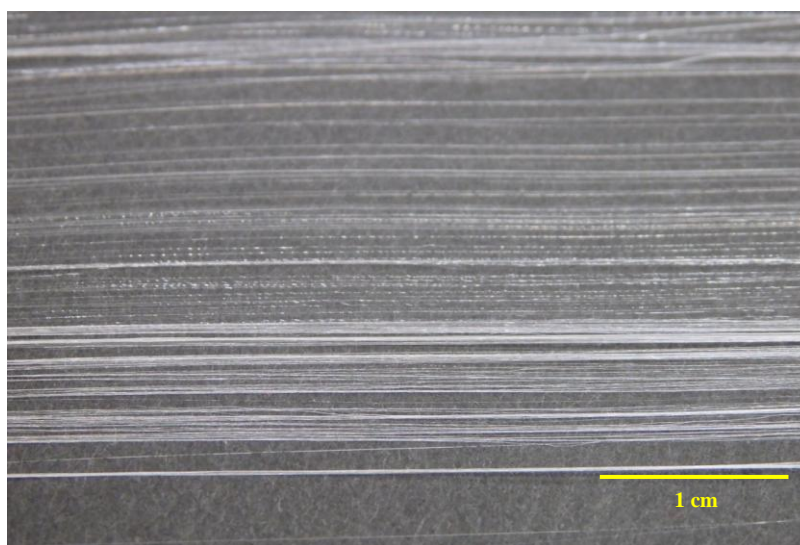
Z testovaného polymerního roztoku bylo odebráno 8 ml roztoku, ze kterých byla experimentálně zjištěna jejich viskozita. Polymerní roztok je umístěn do mezikruží jednoho válce, který je umístěn uvnitř druhého válce. Jeden z válců se otáčí lineárně rostoucí rychlostí, což určuje smykovou rychlost uvnitř prstence. Roztok vyvolává odpor proti směru otáčení a přístroj měří měnící se sílu působící na mezikruží válců (točivý moment), který je následně přístrojem přepočítán na smykové napětí a dynamickou viskozitu ( $\eta$ ). (Cech, Se and Pharma, 2008)

Pro měření byly pomocí programu Job Manager nastaveny následující parametry zkoušky: Lineárně rostoucí smyková rychlost od 10 do 300 s<sup>-1</sup>, doba trvání 300 s, počet naměřených bodů 100. Každý vzorek byl vždy proměřen třikrát a z jednotlivých naměřených dat byla spočítána průměrná hodnota viskozity testovaného vzorku. Po

ukončení měření byly válce vyjmuty z přístroje, rozebrány, důkladně vyčištěny pomocí etanolu a následně opět sestaveny pro měření dalšího vzorku.

### 4.3.3 Výroba vláken technologie drawing

Z jednotlivých připravených roztoků pro testování viskozity (viz kapitola 4.3.2) byla vyráběna vlákna pomocí stroje Mikromanipulátor II. Stroj je tvořený posuvným ramenem, na kterém je připevněna jehla s polymerním zásobníkem (stříkačka s kónickou jehlou). Pohyb ramene je možný do všech 3 os, čímž je možné vyrobit vlákna s definovanými rozestupy. Jehla je umístěna cca 1 mm nad podložku, tak aby byl zajištěn snadný průchod polymerního roztoku a vytlačená kapka se snadno přichytila k podložce. Celý proces výroby vláken je řízen programem IsicControl, ve kterém je možné nastavovat různé technologické parametry, jako např. rychlost posuvu jehly, zrychlení, trajektorii (dána kartézskými souřadnicemi), dobu čekání po vytlačení kapky polymeru, délku vláken, počet vláken na 1mm a celkový počet vláken. Dávkovací zařízení je složeno ze stříkačky s kónickou jehlou a pístem, který je připojen na dávkovací pumpu. Parametry dávkování (tlak [bar] a doba stlačení pístu [s]) se nastavují ručně na dávkovací pumpě. Je nutné nastavit dávkování tak, aby polymer samovolně nevytékal a zároveň byl vytlačen dostatečný objem kapky, ze které je taženo vlákno. Dávkovat lze ručně pomocí spínače, nebo automaticky, kdy je dávkování součástí programu se všemi ostatními proměnnými (rychlost, zrychlení, trajektorie atd.).



Obrázek 14: Fotografický snímek tažených PCL vláken z polymerní kapky

#### 4.3.4 Skenovací elektronová mikroskopie

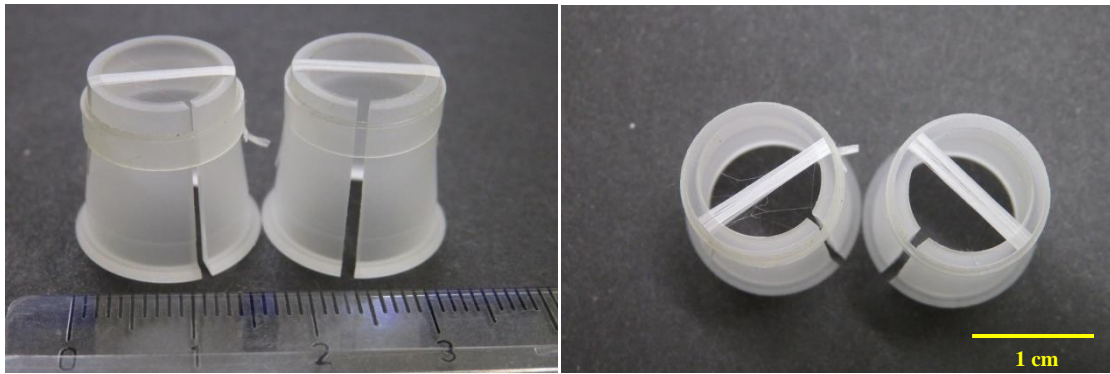
Pro sledování a zkoumání morfologie vláken byly využity snímky pořízené skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM) Vega 3 SB – Easy Probe. U elektronového mikroskopu je obraz tvořen pomocí sekundárního signálu elektronů, který je výsledkem interakce dopadajících elektronů s materiálem (dopadající paprsek se mění podle charakteru povrchu). Mikroskop Vega 3 SB – Easy Probe má zdroj primárních elektronů žhavené wolframové vlákno.

Kovový terč (držák vzorků) byl před každým zvlákňováním opatřen oboustrannou lepicí páskou a umístěn do otvoru v podložce. Jednotlivá vlákna, se díky lepicí pásce, fixovala na terčik průběžně během zvlákňování. Kovový terč s vyrobenými vlákny byl vložen do zlatičky, Quorum Q50 ES, kde na ně byla nanесena vrstva zlata (7 nm). Takto připravený vzorek byl vložen do komory SEM a následně byla pořízena sada snímků. Snímky byly pořízeny při použití vysokého napětí 20 kV v různých zvětšeních.

Morfologie vláken byla hodnocena prostřednictvím měření průměrů jednotlivých vláken pomocí programu NIS Elements a jejich statistickým vyhodnocením. Z každé sady pořízených snímků bylo proměřeno 100 vláken, při zvětšení 1 000x.

#### 4.3.5 Řezy vláken

Řezy vláken byly tvořeny ze svazků vláken zafixovaných v kónických držácích z polymethylmetakrylátu (PMMA), viz obrázek 15. Počet vláken ve svazku se pohyboval od 800 do 1 000 vláken připravených technologií drawing. Kónický držák se zafixovanými vlákny byl ponořen do tekutého dusíku po dobu cca 5 min a spolu s vlákny byl chlazen i skalpel. Poté byl proveden jeden plynulý řez skrz vlákenný svazek. Obě poloviny svazku byly následně přilepeny pomocí oboustranné lepicí pásky k upravenému kovovému terči tak aby plochy řezů vláken byly kolmo postavené (vzhledem k ploše terče). Vzorek byl následně pozlacen 7 nm vrstvou zlata a pomocí SEM byly pořízeny snímky vzniklých řezů při zvětšení 1 000x a 5 000x.



*Obrázek 15: Obrázek svazku vláken zafixovaných na kónických PMMA držácích*

#### **4.3.6 Mechanické vlastnosti vlákenných svazků**

Mechanické chování bylo realizováno na trhacím stroji Lab Test 2.010 (Laborator Tech), na kterém byla použita snímací hlava 1N. Průběh tahové zkoušky se řídil normou ČSN EN ISO 5079 (Textilie - Vlákna - Zjišťování pevnosti a tažnosti jednotlivých vláken při přetrhu). Tahová zkouška byla nastavena do přetrhu a pro každý materiál bylo naměřeno alespoň 15 až 20 vzorků.

Pro testování pevnosti a tažnosti vláken byly připraveny svazky o 200 vláknech a délce 20 cm na podložný materiál (eurofolie). Vlákenný svazek byl nejprve pomocí pinzety a nůžek sejmут z podložného materiálu a poté byl upnut do horní odnímatelné čelisti trhacího stroje. Poté bylo ve vzdálenosti cca 3 cm od čelisti umístěno předpětí o váze 0,1 g, aby se svazek vyrovnal. Následovalo přestřížení svazku těsně za předpětím a připevnění vrchní čelisti zpět do stroje. Posledním krokem před samotnou zkouškou bylo otevření spodních čelistí, opatrné upnutí spodní části svazku a odstranění předpětí.

V programu LabTest byly nastaveny všechny proměnné parametry průběhu zkoušky. Před každou zkouškou byly nejprve vynulovány jednotlivé senzory (síla a posun příčnicku) a poté byla zkouška spuštěna, kdy program zaznamenával její průběh.

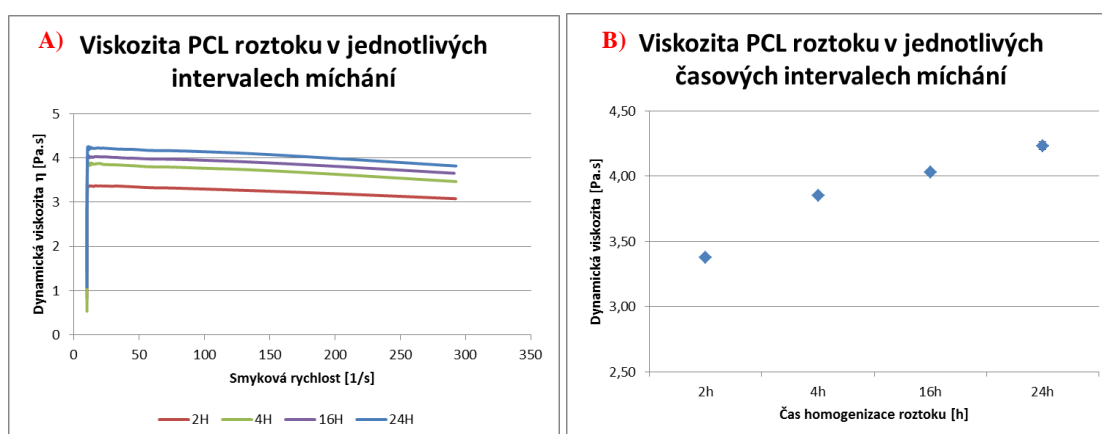


## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Měření viskozity zvláknovacího roztoku

V předchozích experimentech byl studován vliv koncentrace polymerního roztoku (PCL a PLCL) a rychlost tažení vlákna z polymerní kapky metodou drawing. (Sabol, 2017) Vlákna vyrobená v rámci těchto experimentů vykazovala značnou nestabilitu z pohledu morfologie, jak po délce vlákna, střídání slabých a silných míst, tak v rozptylu průměrů vláken. V této práci byl proto sledován jeden z možných faktorů ovlivňující výrobní proces vláken tažených metodou drawing, a to doba homogenizace polymerního roztoku pomocí testování viskozity v jednotlivých časových intervalech. V rámci optimalizace byla sledována i morfologie vláken a jejich mechanické vlastnosti v každém intervalu.

Pro sledování viskozity (dle kapitoly 4.3.2) a jejího chování v závislosti na čase homogenizace polymerního roztoku byl zvolen polymer PCL. Byly zvoleny čtyři časové intervaly, 2, 4, 16 a 24 hodin míchání roztoku na magnetických míchadlech. Z každého polymerního roztoku v daném intervalu homogenizace bylo odebráno 8 ml roztoku, ze kterých byla experimentálně zjištěna jejich viskozita. Výstupem měření je graf závislosti dynamické viskozity  $\eta$  [Pa.s] na rostoucí smykové rychlosti [1/s]. Každý vzorek byl proměřen třikrát, přičemž byly sledovány minimální odchylky mezi jednotlivými křivkami právě testovaného vzorku (viz příloha A). Minimální odchylky jednotlivých křivek vypovídá o stabilitě viskozity v daném vzorku.

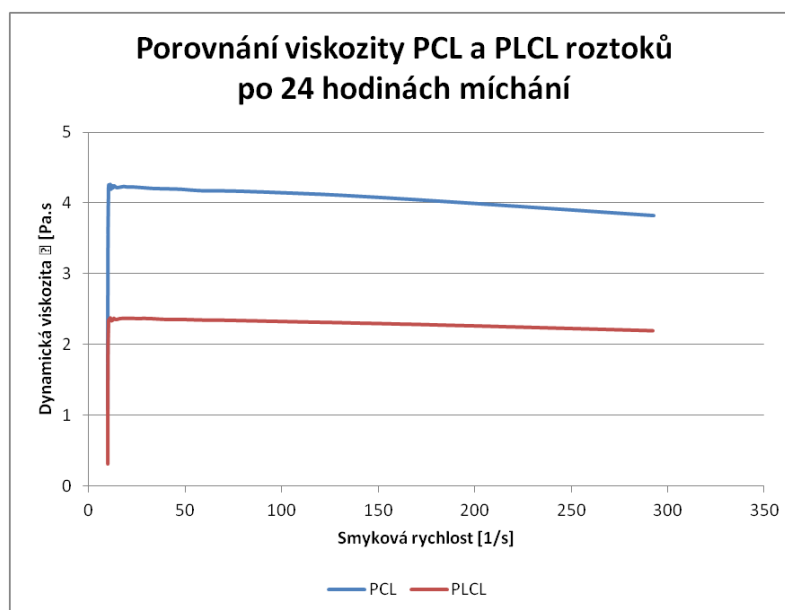


*Graf 1: Porovnání viskozity polymerního roztoku PCL v závislosti na smykové rychlosti v jednotlivých časových intervalech homogenizace: (A) porovnání křivek průběhu zkoušky a (B) porovnání průměrných hodnot viskozity ve zvoleném bodě smykové rychlosti*

Z každého měření, v jednotlivých intervalech homogenizace, byla vybrána jedna naměřená křivka. Tyto křivky byly následně porovnány mezi sebou a byl sledován trend změny viskozity v závislosti na smykovém napětí v jednotlivých intervalech míchání, viz graf 1(A).

Pro porovnání jednotlivých viskozit ve zvolených časových intervalech homogenizace roztoku byla zvolena hodnota smykové rychlosti  $22,55 \pm 0,05$  [1/s], kdy křivka nadále nevykazovala nárůst viskozity, ke které byla následně dohledána v jednotlivých datech křivky odpovídající hodnota dynamické viskozity. Pro každý interval byla vypočítána průměrná hodnota viskozity z dohledaných dat a jejich směrodatná odchylka, viz graf 1(B). Měření vykazovalo téměř kontinuální nárůst viskozity, přičemž nejvyšší nárůst byl zaznamenán mezi 16 a 24 hodinami homogenizace. Průměrná hodnota viskozity se pohybovala v rozmezí  $3,85 \pm 0,1$ .

U roztoku PLCL je předpokládáno obdobné chování polymerního roztoku, a proto byl následně zvolen jen jeden interval míchání podle výsledků PCL roztoku. Zvolený interval homogenizace roztoku PLCL byl 24 hodin.



Graf 2: Porovnání viskozity PCL a PLCL roztoků po 24 hodinách homogenizace

Z důvodů poškození souosých válců nebylo možné experiment zopakovat, přesto je možné říci, že se zvyšujícím se intervalem míchání polymerního roztoku se zvyšuje jeho homogenizace. Jako vhodná doba homogenizace je 16 až 24 hodin. Toto tvrzení

vyplývá i z vyhodnocení SEM snímků vláken vyrobených z jednotlivých roztoků, viz kapitola 5.2.1 (morfologie vláken).

## 5.2 Vláknatažená z polymerní kapky a jejich charakterizace

Z každého časového intervalu homogenizace polymerního roztoků (2, 4, 16 a 24 hodin) byla připravena vláknatažená metodou drawing. Tažení jednotlivých vláken bylo realizováno z polymerní kapky pomocí kónické jehly s polymerním zásobníkem (stříkačka) na Mikromanipulátoru II, viz kapitola 4.3.3.

Nejprve byla vláknatažená pro SEM analýzu, dle kapitoly 4.3.4. Z pořízených snímků byla následně hodnocena morfologie vláken v závislosti na intervalu homogenizace roztoku, prostřednictvím měření průměrů vláken a porovnání jednotlivých snímků. Ze stejného zásobníku s polymerním roztokem bylo vždy připraveno alespoň 10 jednotlivých svazků vláken po 200 vláknech pro testování mechanických vlastností.

Z práce Bc. Sabola (2017) vyplývá, jako nejvhodnější rychlost tažení vláken z polymerní kapky 2 000 až 3 000  $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , resp. 2 až 3  $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , kdy vzniklá vláknatažená vykazovala nejvyšší homogenitu v rozptylu průměrů vzniklých vláken. Pro přípravu vláken a jejich testování byla tedy v závislosti na předešlých výsledcích zvolena rychlost tažení vláken z polymerní kapky 3  $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ .

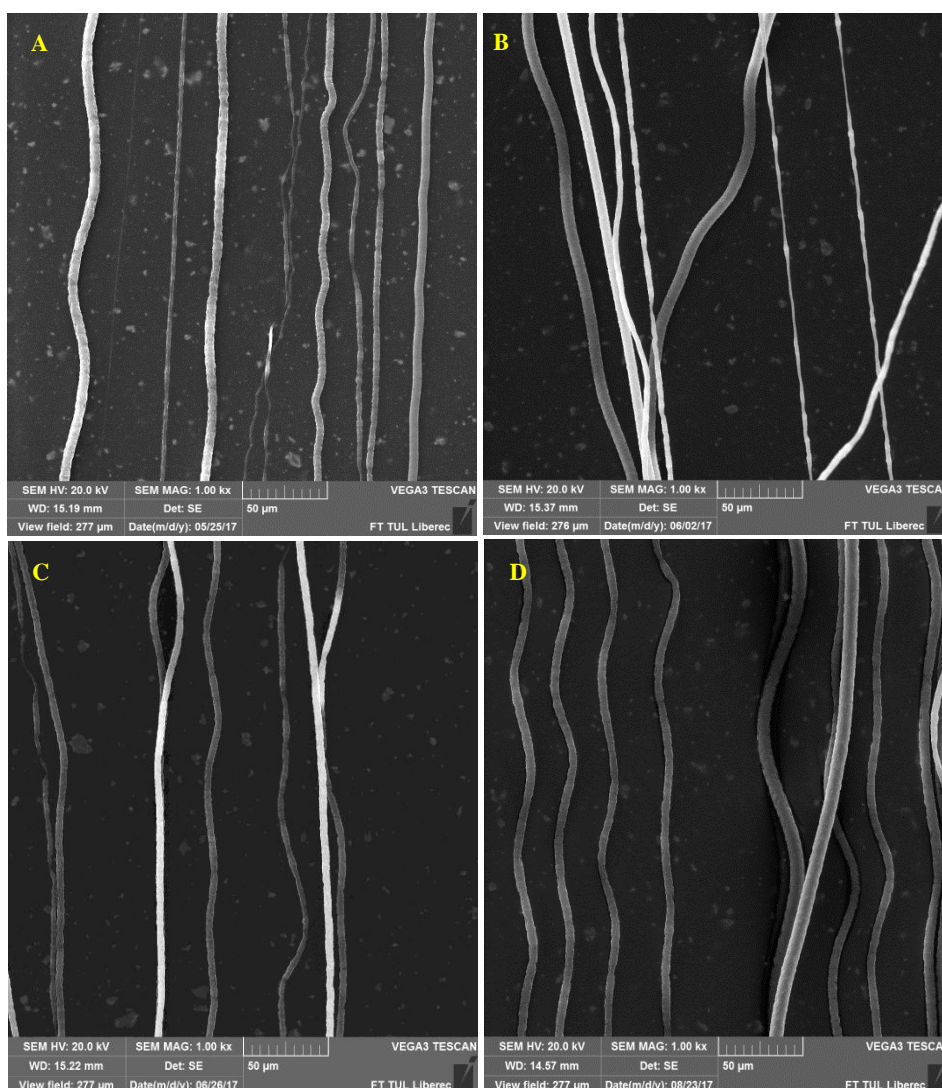
Jednotlivé parametry výroby vláken jsou znázorněny v tabulce 2.

Tabulka 2: Parametry výroby vláken tažených z polymerní kapky

Parametry/analýza	SEM	Tahová zkouška
Počet vláken [1]	800	200
Hustota vláken [ $\text{mm}^{-1}$ ]	30	500
Rychlost tažení [ $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ]	3	
Zrychlení [ $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ ]	3	
Dráha [mm]	200	
Tlak [bar]	$0,75 \pm 0,15$	
Doba pulsu [s]	0,5	

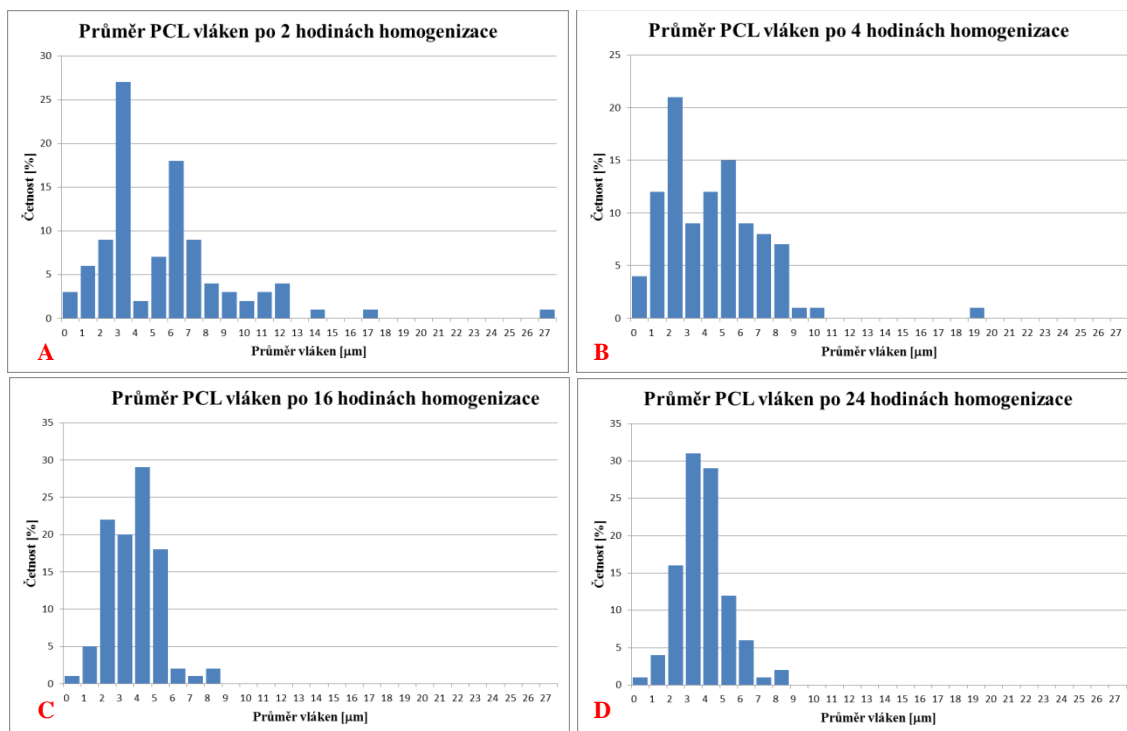
### 5.2.1 Morfologie vláken

Pro zkoumání morfologie vláken byly vlákna zafixována během výroby na kovový nosič pomocí oboustranné lepicí pásky a vzorky byly následně pozlacené 7 nm vrstvou zlata. Z každého vzorku byla pořízena sada snímků pomocí SEM při zvětšení 1 000x a 5 000x. Ze snímků pořízených při zvětšení 1 000x byly následně pomocí softwaru NIS Elements AR měřeny průměry vláken. U každého vzorku bylo proměřeno 100 vláken, ze kterých byla statisticky vyhodnocena průměrná hodnota průměru vláken daného roztoku. Pro porovnání jsou vybrané snímky při zvětšení 1 000x PCL vláken v jednotlivých fázích homogenizace (2, 4, 16 a 24 hodin míchání) zobrazeny na obrázku 16.



Obrázek 16: SEM snímky PCL vláken tažených z kapky v jednotlivých fázích homogenizace roztoku při zvětšení 1 000x (měřítko 50 μm): (A) 2 hodiny, (B) 4 hodiny, (C) 16 hodin a (D) 24 hodin homogenizace (míchání) roztoku

Ze snímků na obrázku 16 je patrné, že při kratší době homogenizace vznikají vlákna s nižší homogenitou průměru (vyšší rozptyl dat) a více defekty na vlákně (střídání slabých a silných míst). Toto tvrzení je podpořeno naměřenými průměry vláken z jednotlivých roztoků. Histogramy znázorňující rozložení průměrů vláken z jednotlivých roztoků jsou znázorněny v grafu 3.



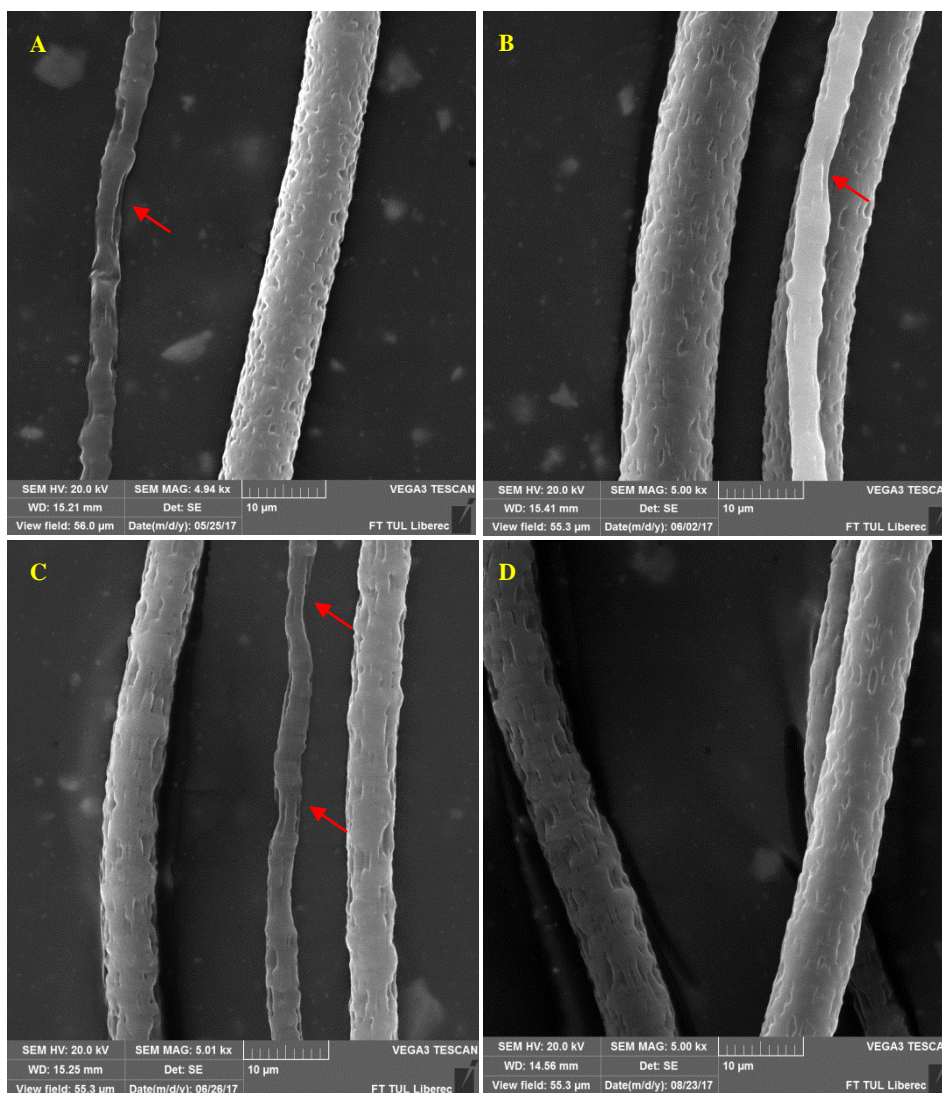
*Graf 3: Histogramy průměrů PCL vláken tažených z polymerní kapky v jednotlivých fázích homogenizace roztoku: A) 2 hodiny, B) 4 hodiny, C) 16 hodin a D) 24 hodin homogenizace (míchání) roztoku*

Z jednotlivých histogramů je patrné, že se zvyšujícím se intervalem míchání roztoku se snižuje rozptyl naměřených průměrů a data se přibližují Gaussovu normálnímu rozložení. Tabulka 3 pak statisticky popisuje jednotlivá naměřená data graficky znázorněná v grafu 3 spolu s vyhodnocením průměrů PLCL, kdy vlákna vykazovala obdobný trend jako vlákna PCL po 16 hodinách (viz graf 4).

*Tabulka 3: Statistické vyhodnocení naměřených průměrů vláken z roztoků v jednotlivých fázích homogenizace*

		Průměr vláken [ $\mu\text{m}$ ]	Směrodatná odchylka [ $\mu\text{m}$ ]	Minimum [ $\mu\text{m}$ ]	Maximum [ $\mu\text{m}$ ]
PCL	2h	5,87	3,89	0,94	27,04
	4h	5,58	2,8	1,25	20,75
	16h	3,99	1,37	0,98	8,18
	24h	4,05	1,38	0,96	8,36
PLCL	24h	3,46	1,32	0,67	6,45

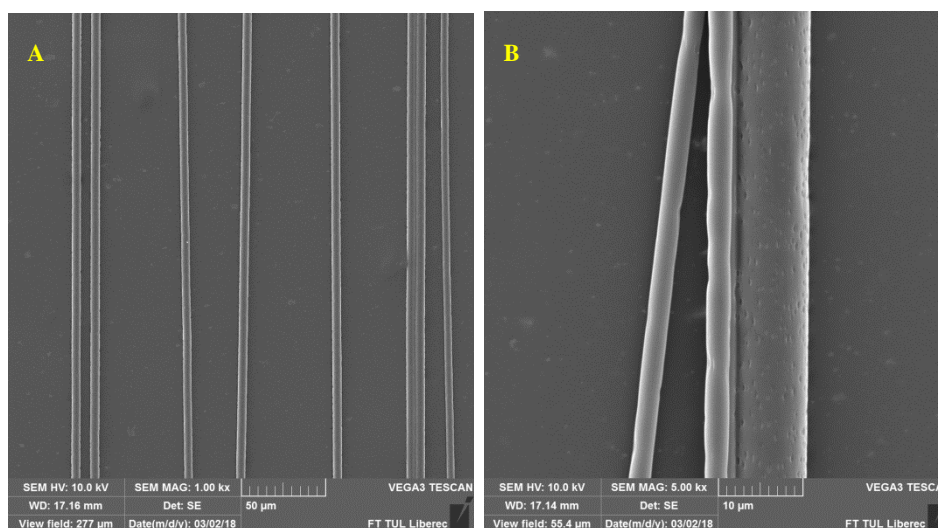
Průměr vláken se s rostoucím intervalem homogenizace snižuje, přičemž mezi 16 a 24 hodinami je rozdíl minimální.



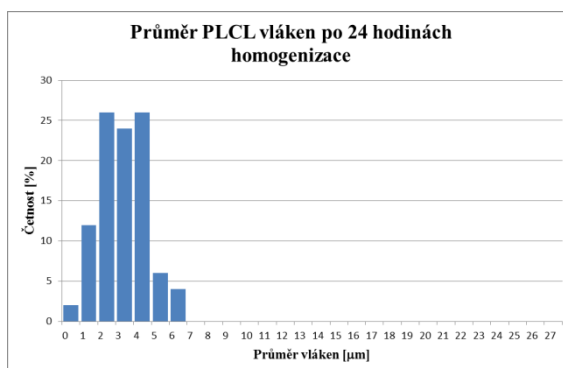
Obrázek 17: SEM snímky PCL vláken tažených z kapky v jednotlivých fázích homogenizace roztoku při zvětšení 5 000x (měřítko 10 μm): (A) 2 hodiny, (B) 4 hodiny, (C) 16 hodin a (D) 24 hodin homogenizace (míchání) roztoku. Červené šipky ukazují na defekty (slabá místa) vyskytující se po délce vlákna.

Z obrázků 16 a 17 je patrné že během zvlákňování dochází k tvorbě defektů ať už po délce vlákna, kdy se střídají silná a slabá místa, tak ve struktuře vlákna, kde dochází ke vzniku mikro až nano pórů na povrchu vlákna. U roztoků s nižší homogenitou (2 a 4 hodiny míchání) byly defekty po délce vlákna pozorovány častěji než u vláken připravených z roztoků s vyšší homogenitou (16 a 24 hodin míchání), kde se objevovaly méně často. U obrázku 17 (A-D) jsou zvýrazněny defekty, slabá místa, vyskytující se po délce vlákna (červené šipky). Ze snímků je patrný náhodný vznik těchto defektů. Pórovitá struktura vláken zřejmě vzniká rychlým odpařením těkavého rozpouštědla,

v tomto případě chloroformu, ze vznikajícího vlákna. Na obrázku 17 jsou znázorněny detailní snímky morfologie povrchu PCL vláken připravených z jednotlivých roztoků. Vliv homogenizace na tvorbu pórovitého povrchu vlivem homogenizace roztoku není patrný. Póry jednotlivých vláken jsou bez zřejmé závislosti na homogenizaci roztoku. Vznikají náhodně na povrchu všech vláken vyrobených z jednotlivých testovaných roztoků PCL.



Obrázek 18: SEM snímky PLCL vláken tažených z kapky po 24 hodinách homogenizace pořízené při zvětšení (A) 1 000x (měřítko 50 µm) a (B) 5 000x (měřítko 10 µm)



Graf 4: Histogram průměrů PLCL vláken tažených z polymerní kapky po 24 hodinách homogenizace roztoku

Obrázek 18 znázorňuje snímky PLCL vláken tažených z polymerní kapky a je patrné, že vlákna vykazují vyšší homogenitu po délce a menší vznik defektů, než je tomu u PCL vláken (viz obrázek 16, 17). PCL vlákna vykazují kolísavý průměr v rámci jednoho vlákna, nestejnornost průměru po délce (střídání silných a slabých míst), ve všech intervalech homogenizace roztoku. PLCL vlákna oproti PCL vláknům vykazují vysokou homogenitu průměru po délce vlákna.

Vznik defektů po délce pravděpodobně souvisí s vnitřní strukturou, krystalinitou, polymeru. PLCL je amorfní polymer, u kterého vzniklá vlákna vykazovala vyšší homogenitu po délce a nižší průměry vláken, než u PCL, který je semikrystalický. Tento předpoklad by bylo vhodné potvrdit např. měřením krystalinity, pomocí DSC (diferenciální skenovací kalorimetrie).

Povrch PLCL vláken je méně členitý, resp. vzniklé póry jsou menší a u slabých vláken ( $< 3\mu\text{m}$ ) se póry objevují jen ojediněle, povrch vlákna je tedy spíše hladký nežli členěný. Vliv na tvorbu pórů mají do jisté míry i okolní podmínky, jako je teplota či vlhkost vzduchu. Vlhkost vzduchu při výrobě PCL vláken se pohybovala okolo  $44 \pm 2\%$  a u PLCL  $48 \pm 2\%$ . Teplota se při výrobě PCL i PLCL vláken pohybovala v rozmezí  $24 \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ . Podrobnější sledování vlivu okolních podmínek na vznik defektů ve struktuře vlákna by mohlo být zahrnuto do dalších případných experimentů věnujícím se výrobě a charakterizaci vláken tažených metodou drawing.

Z experimentálního měření viskozity a následné porovnání morfologie vláken je patrné, že s rostoucím intervalem homogenizace roztoku PCL pro zvlákňování se nejen snižuje rozptyl dat (distribuce průměrů vláken) ale i průměr vláken. Z testování viskozity (kapitola 5.1) i z morfologického vyhodnocení SEM snímků vyplývá, že rozdíl mezi 16 a 24 hodinami homogenizace polymerního roztoku PCL je minimální. Proto byl zvolen interval míchání roztoku 24 hodin pro následující experimenty, zejména pak pro řezu vláken a tvorbu křížených struktur pro in vitro testování (viz kapitola 5.2.4).

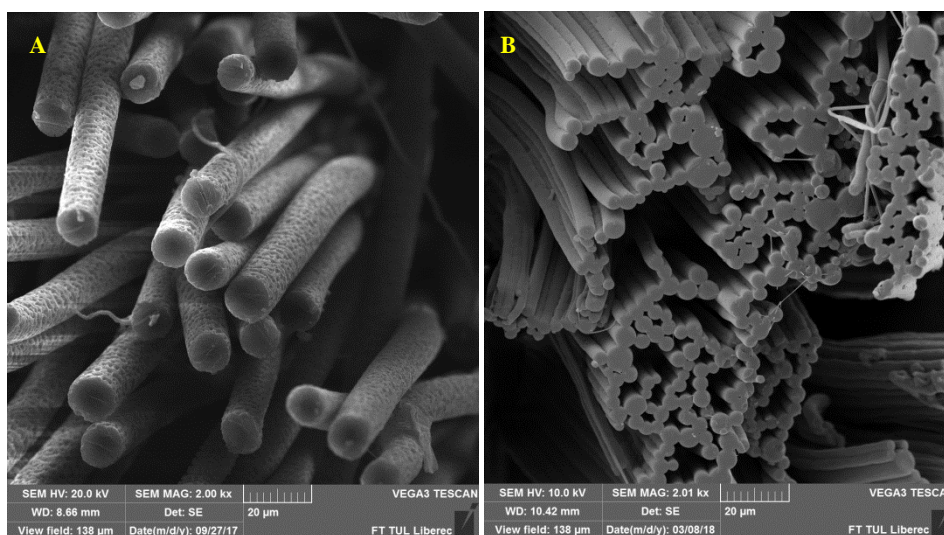
Porovnáním PCL a PLCL vláken bylo zjištěno, že u vláken PLCL vznikají, při stejných výrobních podmínkách, homogennější vlákna ať už po délce nebo v distribuci průměru. U PCL vláken byl sledován vyšší výskyt defektů a povrch vláken byl oproti PLCL vláknům členitější (póry byly viditelnější).



### 5.2.2 Řez svazkem vláken

Řezy jednotlivými svazky vláken byly prováděny za účelem zjištění tvarového charakteru jednotlivých průřezů PCL a PLCL vláken. Plocha řezů vlákna je důležitým parametrem pro vyhodnocení mechanických vlastností vláken, resp. pro výpočet tahového napětí svazku vláken.

Řezy byly provedeny v tekutém dusíku pomocí skalpelu, kdy vlákenný svazek byl zafixován v kónickém držáku, viz kapitola 4.3.5. Vlákenný svazek byl poté upnut plochou řezu kolmo vzhůru na speciální kovový terč a pozlacen 7 nm vrstvou zlata. Z jednotlivých svazků vláken byly pořízeny SEM snímky při zvětšení 2 000x, viz obrázek 19.



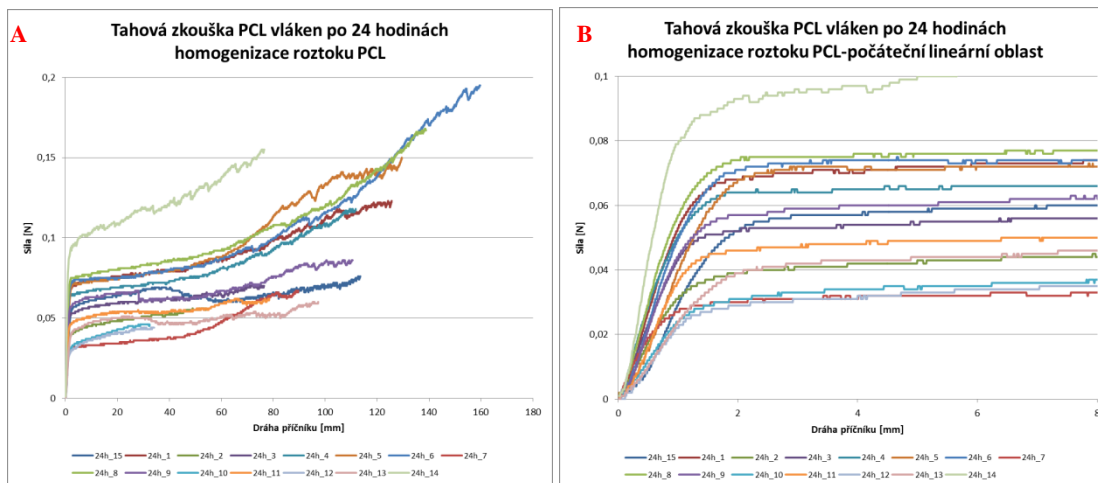
Obrázek 19: SEM snímky řezu svazkem (A) PCL a (B) PLCL vláken při zvětšení 2 000x (měřítko 20 µm)

Vzniklé řezy prokázaly, že vzniklá vlákna mají průřez kruhového charakteru jak pro polymer PCL tak PLCL. U PCL vláken jsou jednotlivé řezy vláken zřetelné, PLCL vlákna oproti tomu mají tendenci se v řezu částečně natavit a spojit se do sebe. Z obrázku 19 (B) není ovšem zcela jednoznačné jestli ke „slepení“ PLCL vláken dochází během výroby, jak by tomu snímek mohl napovídat, nebo během samotného řezu. Z obrázku je dále patrná i charakteristická morfologie povrchu, PCL vlákna mají více členěný, pórovitý, povrch než vlákna PLCL, která jsou spíše hladká.

Na snímku 19(A) je dále patrné, že vzniklé póry PCL vláken zasahují do malé hloubky vlákna, tedy tvoří pouze členitý povrch. U PLCL vláken jsou vzniklé póry minimální i na povrchu vláken.

### 5.2.3 Mechanické vlastnosti vlákenných svazků

Mechanické vlastnosti byly testovány na svazcích 200 vláken tažených technologií drawing. Průběh testu se řídil normou a byl proveden dle kapitoly 4.3.6. Výstupem měření je pracovní graf zachycující průběh zkoušky, kdy je měřená síla [N] v závislosti na posunu příčnicku [mm], viz graf 5.



Graf 5: Pracovní graf (A) tahové zkoušky PCL vláken po 24 hodinách homogenizace roztoku a výřez počáteční oblasti grafu (B)

Z naměřených dat jednotlivých křivek pracovního grafu byly nalezeny hodnoty síly [N] a dráhy příčnicku [mm] v lineární oblasti grafu viz graf 5(B) pro výpočet počátečního Youngova modulu  $E$  [MPa], dle vzorce 3 (viz kapitola 3.2.1), a hodnoty síly a dráhy při přetrhu pro výpočet napětí  $\sigma$  [MPa], dle vzorce 1, a relativního prodloužení  $\varepsilon$  [%], dle vzorce 2, při přetrhu svazku vláken. Pracovní grafy jednotlivých zkoušek vlákna tažená z roztoků s různým intervalem homogenizace jsou znázorněny v příloze B. Průměrné hodnoty jednotlivých měření mechanických vlastností jsou znázorněny v tabulce 4.

Tabulka 4: Průměrné hodnoty mechanického testování jednotlivých vzorků PCL a PLCL vlákenných svazků

		Počáteční Youngův modul $E$ [MPa]	Síla při přetrhu [N]	Napětí při přetrhu $\sigma$ [MPa]	Relativní prodloužení $\varepsilon$ [%]
PCL	2h	137,68	0,06	24,30	383,73
	4h	153,11	0,16	33,11	615,11
	16h	240,73	0,10	41,08	527,89
	24h	267,05	0,10	38,17	476,30
PLCL	24h	8,84	0,08	44,39	282,63

Testování mechanických vlastností nevykazuje žádný jednoznačný trend v závislosti na homogenizaci polymerního roztoku, resp. na distribuci průměrů vzniklých vláken. Počáteční Yongův modul vykazoval nárůst s rostoucí homogenizací roztoku ovšem modul při přetrhu a relativní prodloužení jednotlivých vzorků tento trend již nepotvrdily.

V předchozích experimentech byla naměřena průměrná hodnota tažnosti PCL vláken 739% (Sabol, 2017) a 730% (Krabicová, 2017), kdy se této hodnotě přibližovala pouze hodnota 615% odpovídající 4 hodinám homogenizace roztoku. Ostatní hodnoty relativního prodloužení svazku vláken jsou téměř poloviční než v předešlých experimentech. Rozdílné hodnoty relativního prodloužení zřejmě souvisí s přípravou vláken v daných experimentech a pravděpodobně na rozdílných okolních podmínkách, které nebyly jednoznačně sledovány. Napětí při přetrhu v předešlých experimentech bylo 42 MPa (Sabol, 2017) a 32,18 MPa (Krabicová, 2017), kdy těmto hodnotám odpovídají hodnoty naměřeným v rámci této práce.

Z výsledků měření a průběhu jednotlivých křivek zobrazených v grafu 4 je patrné, že tato metoda testování mechanických vlastností není vyhovující. Křivky nemají ani v jednom případě měření hladký průběh jaký je pro testování vláken typický. Nestálost tahové křivky a kolísavý průběh je pravděpodobně dán nehomogenitou jednotlivých svazků. Průměry jednotlivých vláken jsou značně nehomogenní jak po délce, tak v distribuci (rozptylu) průměrů. Mechanické vlastnosti jednotlivých vláken jsou pravděpodobně také značně rozdílné, což je viditelné i na některých křivkách kdy je zaznamenán pokles síly a následně hodnota síly narůstá. Dalším ovlivňujícím faktorem mechanického testování je problematické upnutí svazku vláken do čelistí trhacího stroje. Je zde vysoká pravděpodobnost prokluzu jednotlivých vláken, které pak ovlivňují výsledné chování celého svazku během tahové zkoušky.

Další možností testování mechanických vlastností jednotlivých vláken je např. pomocí AFM hrotu. Testování pomocí AFM hrotu není však vhodné pro vlákna připravené v rámci tohoto experimentu. Vlákna PCL i PLCL jsou v řádech mikrometrů a jednotlivé publikace (Baker *et al.*, 2016; Neugirg *et al.*, 2016) se shodují, že testování pomocí AFM hrotu je ideální pro vlákna v rozměrech nanometrů. Pro následující charakteristiku mechanických vlastností vláken tažených metodou drawing by bylo vhodné zařízení,

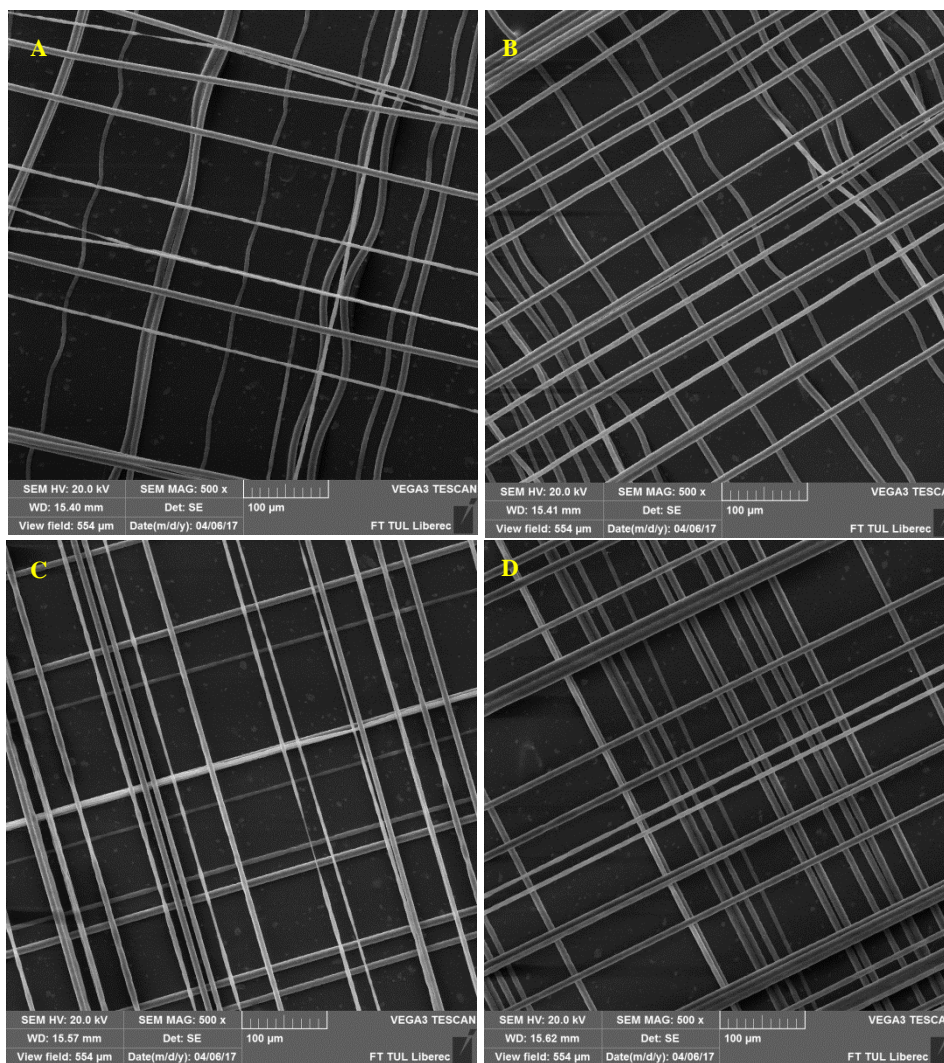
kteřé obsahuje senzor síly v rozsahu mN až  $\mu$ N. Tyto senzory by mohly být schopné proměřit i jednotlivá vlákna.

#### **5.2.4 Příprava křížených struktur pro buněčné *in vitro* testování**

V rámci testování vlivu homogenizace polymerního roztoku na výrobu vláken tažených metodou drawing byly připraveny vlákenného nosiče pro *in vitro* testování.

Většina buněčných kultur je na vlákenném materiálu obtížně detekovatelná pomocí optické mikroskopie bez použití fluorescenčních barviv. Tyto barviva ovšem mohou ovlivňovat buněčnou linii a interakci buněk s předloženým materiálem. Z tohoto důvodu jsou stále hledány nové způsoby přípravy testovacích modelů. Metoda drawing poskytuje jedinečnou možnost pro výrobu modelových systémů s možností libovolné orientace vzájemně položených vláken. Velikost pórů je možné předem odvodit počtem vláken na jednotku délky, kdy je známá průměrná hodnota průměrů vláken daného polymeru.

Vlákenný scaffold byl připraven ve formě 2D struktury, resp. mřížky, z PCL i PLCL tažených vláken. Polymerní mřížka by měla sloužit jako modelový systém pro studiu interakce vlákenných materiálů s buněčnými kulturami. Z předešlých experimentů byla zvolena doba homogenizace roztoku na 24 hodin pro roztoky PCL i PLCL. Cílem práce bylo vytvořit vlákennou mřížku s různým počtem vláken na jednotku délky a tím ovlivňovat tvorbu, a především velikost, jednotlivých pórů. Jednotlivé mřížky byly připravovány na kónické držáky s fixačním kroužkem z PMMA, které byly použity i v kapitole 4.3.5 na tvorbu řezů vlákenným svazkem (PCL i PLCL).

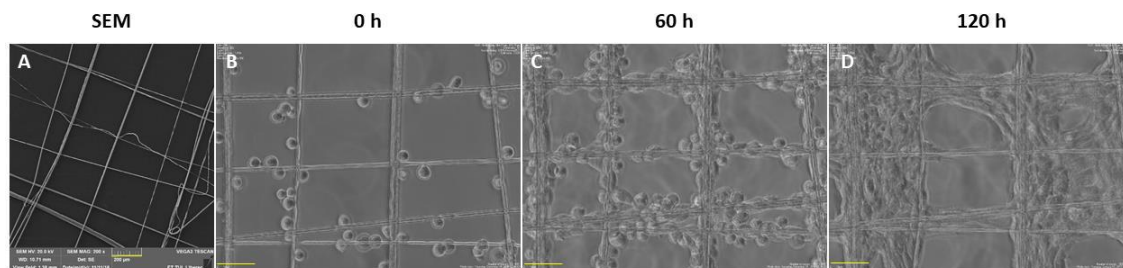


Obrázek 20: SEM snímky křížených struktur s definovaným počtem vláken při zvětšené 500x (měřítko 100  $\mu\text{m}$ ): (A) PCL (150 vl/mm), (B) PCL (200 vl/mm), (C) PLCL (150 vl/mm) a (D) PLCL (200 vl/mm)

Na obrázku 20 jsou zachyceny SEM snímky připravených vlákenných nosičů. Ze snímků je patrné, že nebylo možné připravit zcela přesně definované velikosti ok mřížky. Posun a nestejnomyernost mezer mezi jednotlivými vlákny je způsoben buď vlivem okolních podmínek při výrobě (nestálost proudění vzduchu) nebo při následné manipulaci s fixačním kroužkem. Nicméně připravené mřížky byly pro úvodní experiment, kdy je pozorováno především chování buněk v interakci s materiálem, dostačující.

*In vitro* testování bylo realizováno ve spolupráci s Jihočeskou univerzitou, kde byly materiály osazeny vybranou buněčnou kulturou. Testování bylo zaměřeno na biokompatibilitu předloženého materiálu pomocí metody live cell imaging a následné vyhodnocení dynamického zarůstání definovaných pórů tvořených mřížkou. Metoda

live cell imaging je založená na pořizování snímků daného místa v určitém časovém intervalu. Snímky jsou pořizovány pomocí optického mikroskopu (viz obrázek 21).



*Obrázek 21: Testování polymerní mřížky pro studium biokompatibilitu materiálu: (A) SEM snímek (měřítko 200  $\mu\text{m}$ ), (B-D) sledování postupného zarůstání mřížky buněčnou kulturou pomocí live cell imaging, (B) v čase 0, (C) po 16 hodinách a (D) po 120 hodinách od nasazení*

Byly provedeny první experimenty pro testování biokompatibilitu PCL a PLCL vláknenných mřížek pomocí live cell imaging. Průběh experimentu je znázorněn na obrázku 21. Z doposud získaných dat je zřejmé, že tento modelový systém má potenciál pro testování interakce buněčné kultury s předloženým materiálem.

V rámci dalších experimentů bude měřena rychlost zarůstání pórů a bude sledováno chování buněk na vláknenných strukturách připravených metodou drawing z různých polymerních materiálů.

### 5.3 Modifikace technologie drawing – zvlákňování z volné hladiny

Cílem hledání optimalizací výrobního procesu je výroba vláken s vysokou homogenitou a malou distribucí vláken a zvýšení produktivity. Dalším cílem je možnost řízeně ovlivňovat průměry připravovaných vláken z jednoho druhu polymeru nastavením jednotlivých parametrů výrobního procesu.

Modifikace výrobního procesu metody drawing spočívala v nahrazení polymerní kapky za volnou hladinu. Cílem modifikace bylo především snížení distribuce průměrů vláken a příprava vláken s vyšší homogenitou po délce vlákna.

Polymerní roztok PCL byl umístěn do dvou kádínek o objemu 4 ml a každá kádinka byla umístěna na opačný konec trajektorie jehly, viz obrázek 22. Každá kádinka s polymerním roztokem byla umístěna na magnetických míchadlech, aby byla zajištěna nepřetržitá homogenizace roztoku. Každá kádinka byla opatřena víčkem s předem vyříznutou štěrbinou, aby se částečně zamezilo rychlému odpařování rozpouštědla (chloroformu) z volné hladiny polymerního roztoku.

Jehla v každém kroku byla nejprve smočena v roztoku polymeru. Hrot jehly vždy protne hladinu 1-2 mm pod hladinu, poté je jehla vodorovně zdvižena do výšky 10 mm nad hladinu a následně je vlákno taženo po kruhové trajektorii, jako je tomu při tažení z polymerní kapky, viz kapitola 2.3.1 (Tvorba vláken metodou drawing), kde je podrobně popsán princip tažení vláken z polymerní kapky.

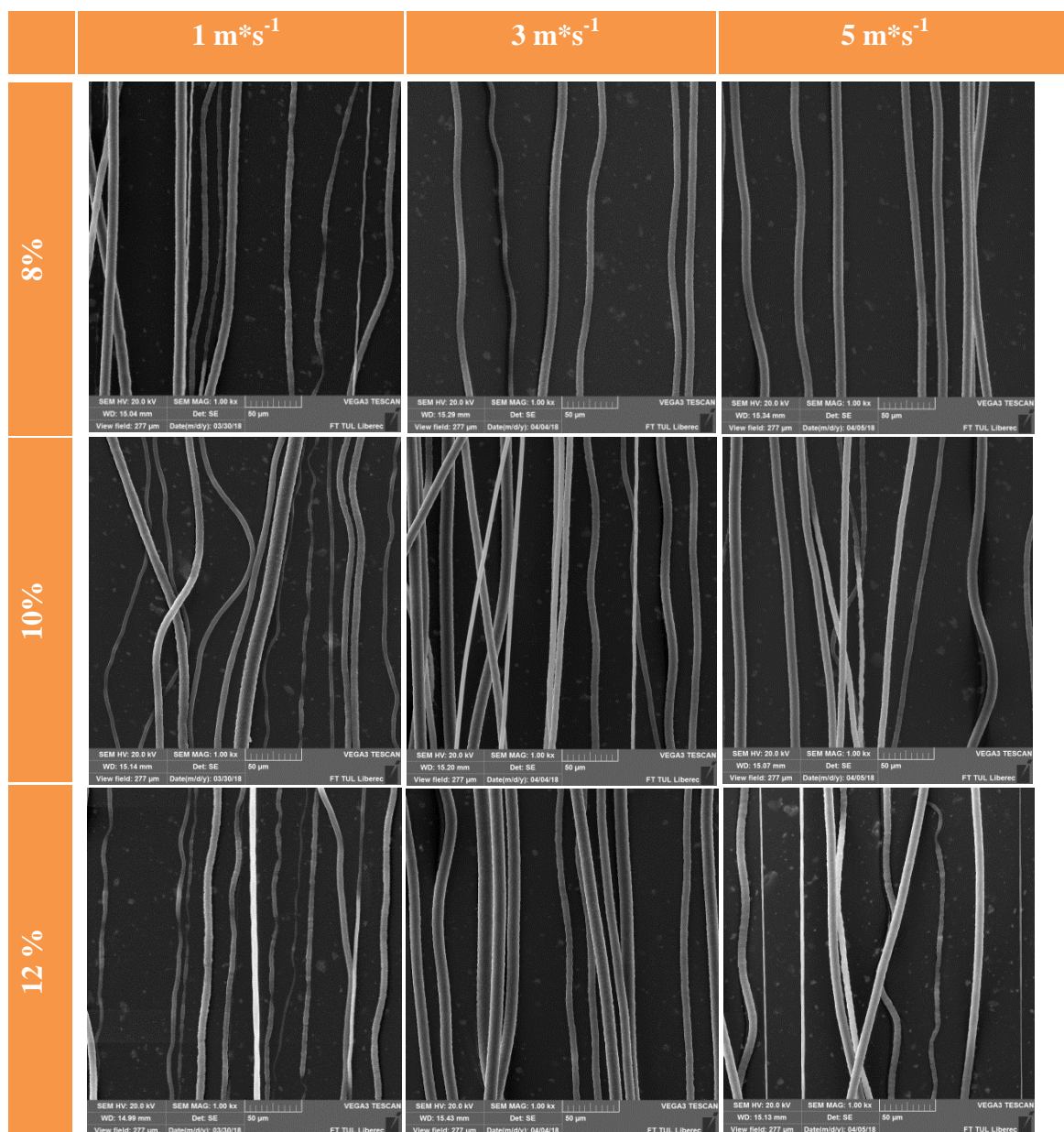


*Obrázek 22: Mikromanipulátor II s modifikací tažení vláken z volné hladiny*

V rámci experimentu byl sledován vliv koncentrace polymerního roztoku PCL ( $M_w = 80\,000$ ), byly zvoleny koncentrace 8, 10 a 12 hm%. Každý roztok byl míchán po dobu 24 hodin. Tento interval vychází z testování homogenity roztoku v kapitole 5.1

(Měření viskozity) a 5.2.1 (Morfologie vláken). Pro přípravu vláken byla zvolena jehla s vnějším průměrem 0,25 mm.

Dále byl sledován vliv rychlosti tažení vlákna (posunu jehly) v těchto koncentracích, při rychlostech 1, 3 a 5  $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Vlákna vzniklá v jednotlivých částech experimentu byla dále analyzována pomocí obrazové analýzy pořízených SEM snímků.

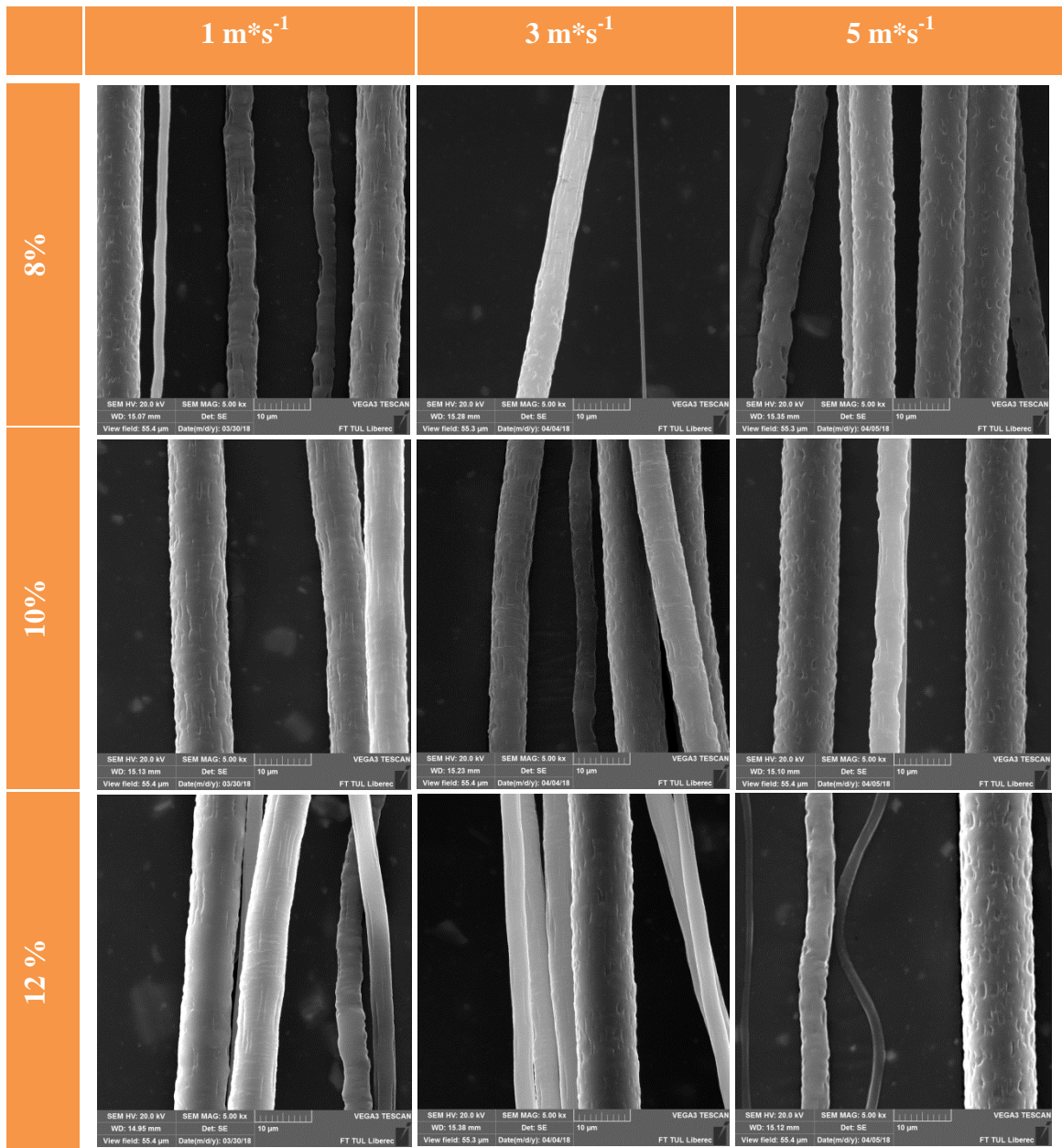


*Obrázek 23: SEM snímky PCL vláken tažených z volné hladiny při různých koncentracích polymerního roztoku a různých rychlostech tažení, zvětšení 1 000x (měřítko 50  $\mu\text{m}$ ).*

Z jednotlivých snímků na obrázku 23 není patrná, viditelná závislost vlivu koncentrace nebo rychlosti tažení na vznik jednotlivých vláken. Vlákna tažená z volné hladiny polymerního roztoku vykazují vyšší homogenitu po délce než vlákna tažená

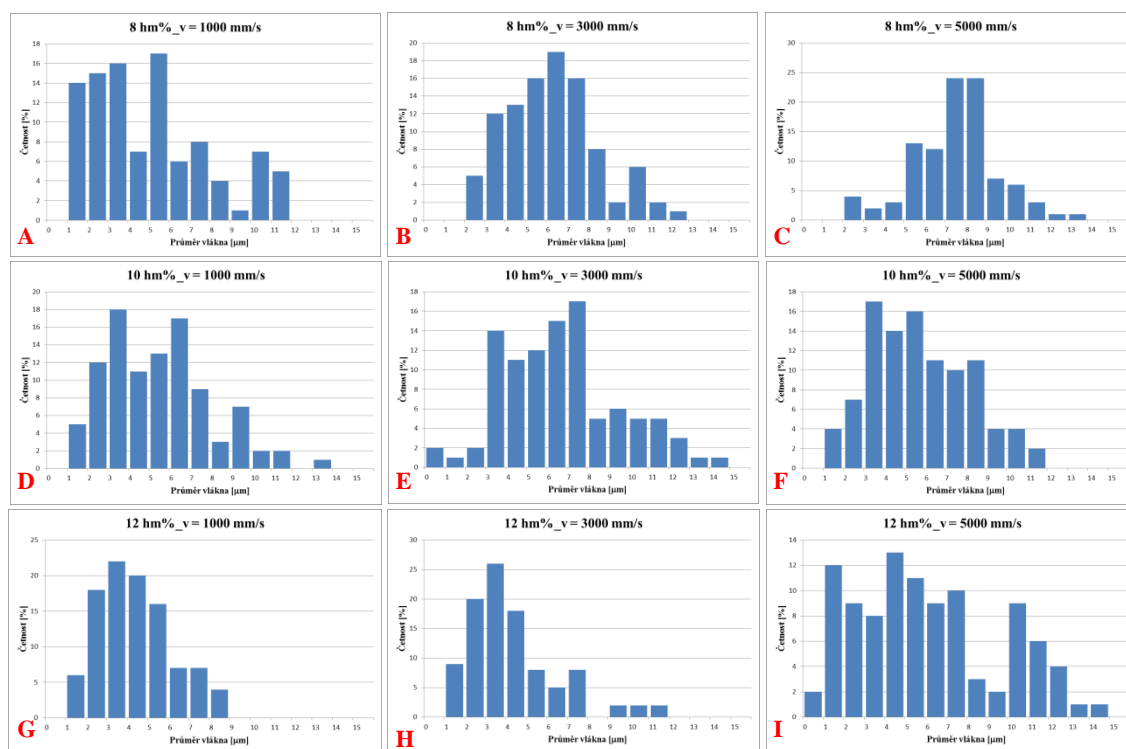


z polymerní kapky. Přesto byl pozorován náhodný vznik defektů po délce, střídání silných a slabých míst, u všech testovaných roztoků i při všech rychlostech. Vznik defektů je tedy zřejmě ovlivněn především okolními podmínkami, jako je vlhkost vzduchu a teplota. Tyto ovlivňující faktory by mohly být předmětem pro další výzkum a optimalizaci výrobního procesu vláken tažených metodou drawing ať už z polymerní kapky nebo volné hladiny.



Obrázek 24: SEM snímky PCL vláken tažených z volné hladiny při různých koncentracích polymerního roztoku a různých rychlostech tažení, (měřítko  $10 \mu\text{m}$ ).

Morfologie povrchu vláken je srovnatelná s povrchem vláken vzniklých tažením z polymerní kapky. I u vláken tažených z volné hladiny vzniká značně členěný povrch vláken (viz obrázek 24).



*Graf 6: Histogramy průměrů vláken tažených z volné hladiny z různých koncentrací roztoků PCL tažených při různých rychlostech: 8 hm% (A)  $1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , (B)  $3 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$  a (C)  $5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , 10 hm% (D)  $1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , (E)  $3 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$  a (F)  $5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , 12 hm% (G)  $1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , (H)  $3 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$  a (I)  $5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$*

Distribuce průměrů vláken z jednotlivých roztoků nevykazuje žádný významný trend v závislosti na koncentraci polymerního roztoku ani na rychlosti tažení vláken. Gaussovu rozdělení se nejvíce přibližují průměry vláken tažených z 12 hm% roztoku při rychlostech 1 a  $3 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ . Nehomogenní rozložení průměrů vláken tažených z volné hladiny je pravděpodobně dáno nesteromným odpařováním rozpouštědla z hladiny polymerního roztoku nebo nanesením různého množství polymeru na smočenou jehlu. V rámci počátečního experimentu tažení vláken z volné hladiny bylo pozorováno zasychání polymerní kapky na hrotu jehly a postupné zvětšování naneseného polymeru na jejím hrotu. Tento efekt byl částečně odstraněn prodloužením intervalu smočení jehly v polymerním roztoku.

Dalším předpokladem pro výrobu vláken tažených z volné hladiny je vliv průměru jehly. Se snižujícím se průměrem hrotu jehly by se měly snižovat průměry vzniklých

vláken. Tento předpoklad by mohl být zdrojem pro další zkoumání a optimalizaci výrobního procesu vláken tažených metodou drawing.

Statistické vyhodnocení naměřených průměrů vláken tažených z volné hladiny v jednotlivých koncentracích polymerního roztoku a různých rychlostech je znázorněno v tabulce 5.

*Tabulka 5: Statistické vyhodnocení naměřených průměrů vláken tažených z volné hladiny*

Koncentrace roztoku	Rychlost tažení vláken [m*s <sup>-1</sup> ]	Průměrná hodnota průměru vláken [μm]	Směrodatná odchylka [μm]	Minimum [μm]	Maximum [μm]
8%	1	5,10	2,90	1,04	11,85
	3	6,30	2,21	2,20	12,27
	5	7,52	2,05	2,17	13,54
10%	1	5,48	2,57	1,08	13,22
	3	6,73	2,83	0,80	14,49
	5	5,79	2,35	1,75	11,59
12%	1	4,37	1,78	1,04	8,43
	3	4,36	2,22	1,52	11,91
	5	6,09	3,43	0,84	14,35

Byl předpokládán vliv snižující se koncentrace polymerního roztoku a rychlosti tažení na snižující se hodnotě průměru vláken. Tento předpoklad nebylo možné z naměřených dat zobrazených v tabulce 5 potvrdit.

Průměry PCL vláken tažených z 12 hm% roztoku PCL, který byl homogenizován po dobu 24 hodin a vlákna byla tažena při rychlosti 3 m\*s<sup>-1</sup>, byly srovnatelné s vlákna taženými z volné hladiny tažená při stejných podmínkách. V porovnání s vlákny taženými z volné hladiny mají vlákna tažená z polymerní kapky obecně nižší průměr i směrodatnou odchylku (viz tabulka 3). Distribuce vláken tažených z volné hladiny byla srovnatelná s vlákny taženými z polymerní kapky, ale vyšší homogenita průměru vláken po délce byla zaznamenána u vláken tažených z volné hladiny.

### 5.3.1 Vlákna tažená z polymerní taveniny na rotující kolektor

V rámci modifikace výrobního procesu byl proveden experiment výroby vláken tažených z taveniny polymeru PLC na rotující kolektor. Průměr kolektoru byl 58 mm. Polymerní granulát byl umístěn do vyrobené hliníkové kádinky, ve které byl polymer taven při teplotách 180 až 230°C. Kádinka byla vyrobena ze silné hliníkové fólie.

Prvním krokem výroby nekonečného vlákna z polymerní taveniny bylo smočení hrotu laboratorní lžičky v tavenině a následné přenesení vlákna taženého lžičkou na rotující kolektor (kontaktem taveniny na lžičce s povrchem kolektoru). Po kontaktu lžičky s povrchem kolektoru bylo vznikající vlákno dále navíjeno na povrch kolektoru do doby přetrhu vlákna. Přetrh vlákna byl nejčastěji pozorován u hladiny polymerní taveniny, resp. v nejslabším místě vzniklého zvláknovacího kuželu. Přetrh vlákna byl pravděpodobně způsoben nestabilním ochlazováním vlákna. Dále docházelo k přetrhu při kontaktu vlákna se stěnou kádinky.

Kontinuální výrobu vlákna bylo možné udržet po velmi krátkou dobu, většinou se jednalo o několik vteřin (10 - 30 s). Na stabilitu výroby vlákna má pravděpodobně nevyšší vliv okolní teplota. Pokud by bylo zajištěno například postupné ochlazování vlákna (snižující se teplota) v prostoru mezi hladinou a kolektorem byl by pravděpodobně výrobní proces stabilnější.

V rámci experimentu byly použity tři druhy polymeru PCL, kteří se od sebe vzájemně lišili molekulovou hmotností. Konkrétně bylo použito PCL o molekulové hmotnosti 45 000 (Sigma-Aldrich), 50 000 (Sigma-Aldrich) a 80 000 (Perstorp – Capa<sup>TM</sup> 6506). Jednotlivé parametry experimentu, jako je teplota zahřívání, otáčky kolektoru a přepočtená obvodová rychlost, jsou znázorněny v tabulce 6.

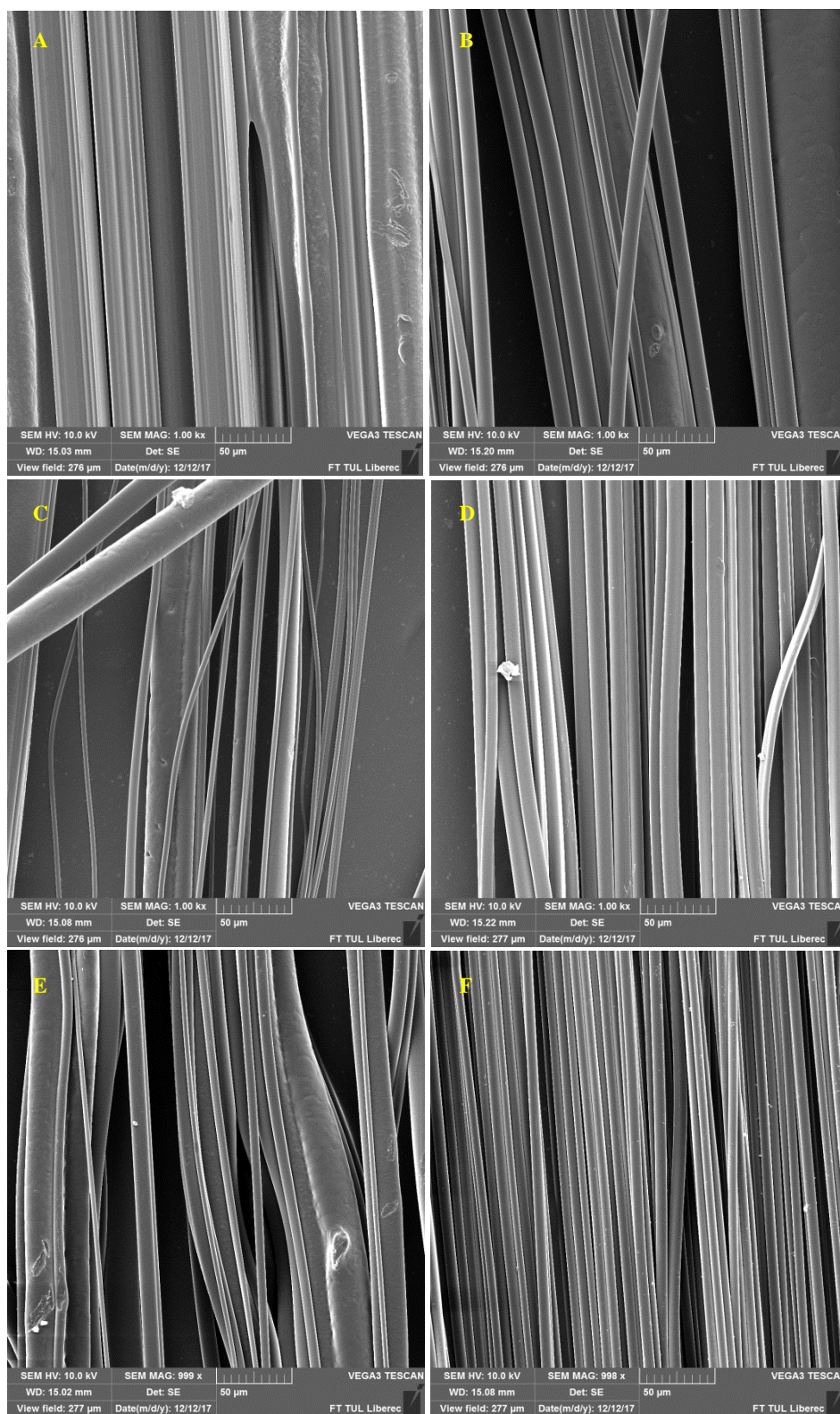
Tabulka 6: Jednotlivé nastavené parametry experimentu přípravy vláken tažených z volné hladiny polymerní taveniny

	Teplota zahřívání [°C]	Otáčky kolektoru [ot*min <sup>-1</sup> ]	Obvodová rychlost kolektoru [m*s <sup>-1</sup> ]
PCL (M <sub>w</sub> =80000)	230	3000	9,11
PCL (M <sub>w</sub> =45000)	180	2000	6,07
PCL (M <sub>w</sub> =45000)	200	6000	18,22
PCL (M <sub>w</sub> =50 000)	150	3000	9,11
PCL (M <sub>w</sub> =50 000)	250	6000	18,22
PCL (M <sub>w</sub> =50 000)	250	12000	36,44

Každý polymer byl před samotným zvlákňováním taven cca po dobu 10 až 20 minut na vyhříváném magnetickém míchadle za teploty uvedené v tabulce. Míchadlo s hliníkovou kádinkou bylo vždy umístěno pod rotující kolektor. Míchadlo udržovalo stálou teplotu taveniny při tažení vlákna.

Kolektor byl před každým experimentem obalen černým papírem, na který se ukládalo vzniklé vlákno. Po skočení zvlákňování byla vlákna zafixována ve směru osy kolektoru a poté byl papír i s vlákny přestřižen a sejmuto z kolektoru. Vzniklá vlákna byla přenesena na kovový terč (nalepena na oboustrannou lepicí pásku), který byl následně vložen do elektronového mikroskopu (SEM). Snímky pořízené z jednotlivých vzorků byly následně morfologicky analyzovány a naměřené průměry statisticky vyhodnoceny, viz tabulka 7.

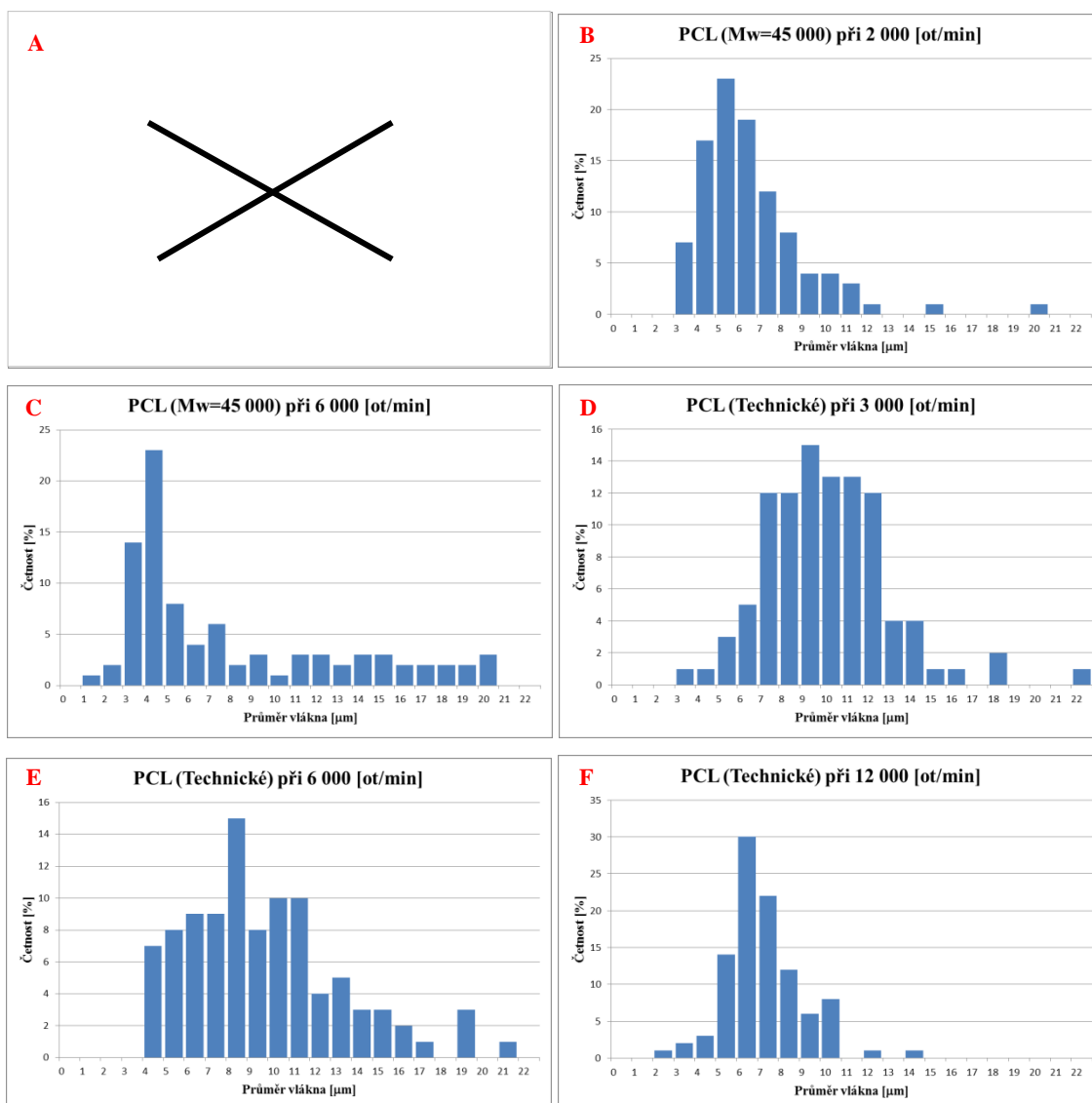
Prvním testovaným polymerem byl PCL o molekulové hmotnosti 80 000, který byl použit u předešlých experimentů této práce, tažení vláken z polymerní kapky (kapitola 5.2) a volné hladiny polymerního roztoku (kapitola 5.3). Tento polymer byl ovšem těžko tavitelný i při vysokých teplotách. Vlákna vznikala velmi neochotně a stabilní proces tažení nebylo možné udržet. Z tohoto důvodu byl zvolen polymer o nižší molekulové hmotnosti, 45 000. Polymer o nižší molekulové hmotnosti byl snáze tavitelný a proces tažení déle udržitelný. V rámci experimentu bylo použito i technické PCL s molekulovou hmotností 50 000, jakožto další možný materiál pro výrobu vláken tažených z taveniny metodou drawing.



Obrázek 25: SEM snímky PCL vláken tažených z volné hladiny polymerní taveniny při různých otáčkách kolektoru, zvětšení snímků 1 000x (měřítko 50  $\mu\text{m}$ ): (A) PCL ( $M_w=80\,000$ ) při 3 000  $[\text{ot} \cdot \text{min}^{-1}]$ , (B) PCL ( $M_w=45\,000$ ) při 2 000  $[\text{ot} \cdot \text{min}^{-1}]$ , (C) PCL ( $M_w=45\,000$ ) při 6 000  $[\text{ot} \cdot \text{min}^{-1}]$ , (D) PCL ( $M_w=50\,000$ ) při 3 000  $[\text{ot} \cdot \text{min}^{-1}]$ , (E) PCL ( $M_w=50\,000$ ) při 6 000  $[\text{ot} \cdot \text{min}^{-1}]$ , (F) PCL ( $M_w=50\,000$ ) při 12 000  $[\text{ot} \cdot \text{min}^{-1}]$ .

Ze snímků zobrazených na obrázku 24 je patrná široká distribuce průměrů vláken, s výjimkou u vzorku PCL (80 000) kde nebylo možné jednotlivá vlákna jednoznačně detekovat. Široká distribuce vláken je pravděpodobně dána opětovným manuálním nanášením nově vznikajícího vlákna na kolektor, kontakt povrchu kolektoru se lžičkou smočenou v polymerní tavenině. Distribuce vláken by se pravděpodobně dala dále snížit použitím slabé tyčinky popřípadě jehly namísto laboratorní lžičky jakožto prostředku pro prvotní nanášení vlákna na rotující kolektor.

Ze snímků je dále patrná hladká struktura povrchu vlákna u všech testovaných polymerů PCL. Tento výsledek do jisté míry podporuje teorii vzniku členité struktury (póry na povrchu vlákna) vlivem odpařování rozpouštědla ze vznikajícího vlákna.



Graf 7: Histogramy průměrů PCL vláken tažených z taveniny: (A) PCL ( $M_w=80\ 000$ ) při 3 000 [ot $\cdot$ min $^{-1}$ ], (B) PCL ( $M_w=45\ 000$ ) při 2 000 [ot $\cdot$ min $^{-1}$ ], (C) PCL ( $M_w=45\ 000$ ) při 6 000 [ot $\cdot$ min $^{-1}$ ], (D) PCL ( $M_w=50\ 000$ ) při 3 000 [ot $\cdot$ min $^{-1}$ ], (E) PCL ( $M_w=50\ 000$ ) při 6 000 [ot $\cdot$ min $^{-1}$ ], (F) PCL ( $M_w=50\ 000$ ) při 12 000 [ot $\cdot$ min $^{-1}$ ].



Tabulka 7: Statistické vyhodnocení naměřených průměrů vláken tažených z polymerní taveniny

	Otáčky kolektoru [ot*min <sup>-1</sup> ]	Průměrná hodnota průměru vláken [μm]	Směrodatná odchylka [μm]	Minimum [μm]	Maximum [μm]
PCL (M <sub>w</sub> =80 000)	3000	-	-	-	-
PCL (M <sub>w</sub> =45 000)	2000	5,72	2,63	2,44	19,78
PCL (M <sub>w</sub> =45 000)	6000	9,96	9,53	0,87	40,41
PCL (M <sub>w</sub> =50 000)	3000	9,38	3,04	2,06	21,36
PCL (M <sub>w</sub> =50 000)	6000	9,19	4,42	3,23	27,47
PCL (M <sub>w</sub> =50 000)	12000	6,31	1,81	1,99	13,95

Z jednotlivých snímků bylo naměřeno 100 průměrů vláken a jednotlivá data byla následně statisticky vyhodnocena. Výsledky měření jsou znázorněny v tabulce 7 a jednotlivé grafy (histogramy) četností vláken jsou v příloze C.

V porovnání s vlákny taženými z volné hladiny polymerního roztoku vykazují vlákna tažená z taveniny obdobný trend jak v distribuci vláken, tak v jejich naměřených průměrech. Průměrná hodnoty průměru vláken tažených z volné hladiny je  $6 \pm 2 \mu\text{m}$ , zatím co u taveniny je  $7 \pm 2 \mu\text{m}$ . U PCL vláken tažených z polymerní kapky se průměrné hodnoty průměrů vláken pohybují v rozmezí  $5 \pm 1 \mu\text{m}$ . Vlákna tažená z polymerní taveniny ovšem vykazují vysokou homogenitu po délce, resp. kolísání průměrů v rámci jednoho vlákna bylo minimální, oproti vláknům vzniklým z polymerního roztoku. Lze se tedy domnívat, že vznik různých defektů na vláknech je pravděpodobně způsoben nerovnoměrným odpařováním rozpouštědla ze vzniklých vláken, které je silně závislé na okolních podmínkách.

Tažení vláken z volné hladiny polymerní taveniny bylo prvotním experimentem pro ověření dalších možných modifikací výrobního procesu vláken tažených metodou drawing. Tažení vláken z polymerní taveniny představuje řadu výhod, ať už materiálově nebo z pohledu morfologie vzniklých vláken. Z pohledu tkáňového inženýrství je možnost ovlivňovat výslednou morfologii povrchu vláken velmi žádoucí, především pak z pohledu možných specifických aplikací hladkých a členitých vláken.

Další výhodou vláken vzniklých z taveniny je absence jakýchkoli rozpouštědlových systémů, které by mohly případně ovlivňovat interakci buněk s materiálem.

Nevýhodou však zůstává nízká produkce, obtížná stabilizace výroby nekonečného vlákna a široká distribuce vzniklých vláken.

## ZÁVĚR

Cílem této práce byla optimalizace výrobního procesu vláken tažených z polymerní kapky a další vývoj metody drawing (tažení z volné hladiny).

První část práce byla zaměřena na sledování vlivu homogenizace roztoku (doby míchání) na distribuci vláken připravených z jednotlivých roztoků, jejich průměrů, a na vznik defektů na vláknech. Pro sledování homogenity roztoku byl zvolen polymer PCL. Homogenizace roztoku byla hodnocena prostřednictvím viskozitního chování. Vlákná připravená z různě dlouho homogenizovaných roztoků byla dále hodnocena z hlediska morfologie a mechanických vlastností. Z výsledků jednotlivých měření vyplývá jako nejvhodnější interval homogenizace (míchání) roztoku 16 až 24 hodin. V těchto intervalech naměřená morfologická data vykazovala největší homogenitu jak z pohledu distribuce průměrů vláken, tak z hlediska nejmenšího výskytu defektů. U roztoků PLCL bylo předpokládáno obdobné chování, jak z pohledu viskozity, tak distribuce vláken. Proto byl pro porovnání s PCL vlákny zvolen jeden interval homogenizace roztoku, 24 hodin. Vlákná tažená z roztoku PLCL vykazovala ve srovnání s vlákny z PCL nižší průměry, vyšší homogenitu a menší četnost defektů (střídání silných a slabých míst) po délce vláken. Mechanické vlastnosti připravených vláken z jednotlivých intervalů homogenizace byly měřeny tahovou zkouškou. Vzhledem k detekčnímu rozsahu trhacího přístroje nebylo možné testovat jednotlivá vlákna. Proto byl testován svazek 200 vláken. Při testování pevnosti v tahu bylo pozorováno několika násobné protažení vláken při velmi malých přírůstcích sil. Tažnost svazků PCL vláken byla cca 500 % při maximální naměřené síle cca 0,1 N. U svazků PLCL vláken byla naměřena tažnost cca 280 % při maximální naměřené síle cca 0,08 N. V rámci měření nebyl pozorován žádný vliv homogenizace roztoku na mechanické vlastnosti svazku vláken. Při testování pevnosti v tahu byla sledována vysoká nestabilita, kolísání měřené síly, v rámci jedné tahové zkoušky PCL i PLCL svazku vláken. Tento efekt je pravděpodobně způsoben nehomogenní distribucí průměrů vláken v jednotlivých testovaných svazcích. Dále byla z výsledků patrná vysoká variabilita jednotlivých měření. Domnívám se, že na základě průběhu měření a získaných dat je použitá metoda testová mechanických vlastností nevhodná pro testování vláken připravených metodou drawing. Možným řešením pro další testování je nalezení metody, která je schopná detekovat změny pevnosti jednoho vlákna v jednotkách mN až  $\mu$ N.

V rámci experimentů tažení vláken z polymerní kapky byl rovněž vyroben modelový systém v podobě vláknenné mřížky určené pro studium interakce buněk s materiálem. Byly provedeny prvotní experimenty modelového systému testovaného metodou live cell imaging, které prokázaly, že mikrovláknenné mřížky jsou pro tuto metodu vhodné a systém bude dále rozvíjen.

Druhá část práce byla zaměřena na modifikaci výrobního procesu vláken tažených metodou drawing. Modifikace spočívala v nahrazení polymerní kapky za volnou hladinu polymerního roztoku nebo taveniny. Cílem modifikace byla snaha snížit distribuci průměrů vláken a připravit vlákna s menším výskytem defektů. Z výsledků jednotlivých experimentů vyplývá, že vlákna tažená z volné hladiny vykazují vyšší homogenitu vláken, nejvyšší pak u vláken tažených z polymerní taveniny, kdy vznikalo hladké homogenní vlákno u všech testovaných vzorků PCL. Defekty na vláknech tvořených z polymerního roztoku pravděpodobně vznikají vlivem nerovnoměrného odpařování rozpouštědla. Toto tvrzení bylo podpořeno analýzou vláken připravených z polymerní taveniny, kdy vzniklá vlákna vykazovala minimální nehomogenitu po délce vlákna.

Další možný výzkum optimalizace výroby vláken tažených z polymerního roztoku metodou drawing by se mohl zabývat studiem vlivu okolních podmínek, teploty a vlhkosti vzduchu, na vznik členité struktury vláken popřípadě defektů vznikajících po délce vlákna. Dále by bylo vhodné pokračovat ve výzkumu tažení vláken z volné hladiny polymerního roztoku a v přípravě nekonečného vlákna z polymerní taveniny. U zvlákňování z volné hladiny roztoku by bylo dále vhodné sledovat např. vliv průměr jehly spolu s rychlostí tažení na morfologii a distribuci vláken. Výroba nekonečného vlákna z polymerní taveniny by se pak mohla zaměřit na stabilizaci tažení vlákna a faktory ovlivňující zvlákňování, jako je polymerní materiál, teplota zahřívání, rychlost tažení, apod.

## POUŽITÁ LITERATURA

- Ali, S. A. M. *et al.* (1993) 'Mechanisms of polymer degradation in implantable devices. I. Poly(caprolactone)', *Biomaterials*, 14(9), pp. 648–656. doi: 10.1016/0142-9612(93)90063-8.
- Badrossamay, M. R. *et al.* (2010) 'Nanofiber assembly by rotary jet-spinning', *Nano Letters*, 10(6), pp. 2257–2261. doi: 10.1021/nl101355x.
- Bajakova, J. *et al.* (2011) "'Drawing"- the Production of Individual Nanofibers By Experimental Method', *Nanocon*, 9(1), pp. 21–23.
- Baker, S. R. *et al.* (2016) 'Determining the mechanical properties of electrospun poly- $\epsilon$ -caprolactone (PCL) nanofibers using AFM and a novel fiber anchoring technique', *Materials Science and Engineering C*. The Authors, 59, pp. 203–212. doi: 10.1016/j.msec.2015.09.102.
- Barnes, C. P. *et al.* (2007) 'Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(14), pp. 1413–1433. doi: 10.1016/j.addr.2007.04.022.
- Běhálek, L. (2014) *Polymery*. Pardubice: © Code Creator, s.r.o. Available at: <https://publi.cz/books/180/Impresum.html>.
- Bhardwaj, N. and Kundu, S. C. (2010) 'Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique', *Biotechnology Advances*, 28(3), pp. 325–347. doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.01.004.
- Cech, T., Se, B. and Pharma, E. (2008) 'Improvement of the pharmaceutical coating process by rotational rheological characterization', pp. 1–4. Available at: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/376-0001>.
- Fernández, J. *et al.* (2013) 'Synthesis and characterization of poly (l-lactide/ $\epsilon$ -caprolactone) statistical copolymers with well resolved chain microstructures', *Polymer (United Kingdom)*. Elsevier Ltd, 54(11), pp. 2621–2631. doi: 10.1016/j.polymer.2013.03.009.
- Fernández, J., Etxeberria, A. and Sarasua, J. R. (2012) 'Synthesis, structure and properties of poly(L-lactide-co- $\epsilon$ -caprolactone) statistical copolymers', *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. Elsevier Ltd, 9, pp. 100–112. doi: 10.1016/j.jmbbm.2012.01.003.
- Gunatillake, P. A., Adhikari, R. and Gadegaard, N. (2003) 'Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering', *European Cells and Materials*, 5, pp. 1–16. doi: 10.22203/eCM.v005a01.

- Howard, D. *et al.* (2008) 'Tissue engineering: Strategies, stem cells and scaffolds', *Journal of Anatomy*, 213(1), pp. 66–72. doi: 10.1111/j.1469-7580.2008.00878.x.
- Chen, Q., Liang, S. and Thouas, G. A. (2013) 'Elastomeric biomaterials for tissue engineering', *Progress in Polymer Science*. Elsevier Ltd, 38(3–4), pp. 584–671. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003.
- Lukáš, D. *et al.* (2008) *Lékařské textilie*. Praha: Asociace inovačního podnikání ČR.
- Militký, J. (2002) *Textilní vlákna klasická a speciální*. Liberec.
- Nain, A. S. *et al.* (2006) 'Drawing suspended polymer micro-/nanofibers using glass micropipettes', *Applied Physics Letters*, 89(18), pp. 3–5. doi: 10.1063/1.2372694.
- Nair, L. S. and Laurencin, C. T. (2007) 'Biodegradable polymers as biomaterials', *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 32(8–9), pp. 762–798. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017.
- Neckář, B. (2012) *Theory of Structure and Mechanics of Fibrous Assemblies*. Woodhead P. India. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/book/9781845697914#browse-content>.
- Neugirg, B. R. *et al.* (2016) 'AFM-based mechanical characterization of single nanofibres', *Nanoscale*. Royal Society of Chemistry, 8(16), pp. 8414–8426. doi: 10.1039/C6NR00863A.
- O'Brien, F. J. (2011) 'Biomaterials & scaffolds for tissue engineering', *Materials Today*. Elsevier Ltd, 14(3), pp. 88–95. doi: 10.1016/S1369-7021(11)70058-X.
- Ondarçuhu, T. and Joachim, C. (1998) 'Drawing a single nanofibre over hundreds of microns', *Europhysics Letters*, 42(2), pp. 215–220. doi: 10.1209/epl/i1998-00233-9.
- Patrício, T. *et al.* (2013) 'Characterisation of PCL and PCL/PLA scaffolds for tissue engineering', *Procedia CIRP*. Elsevier B.V., 5, pp. 110–114. doi: 10.1016/j.procir.2013.01.022.
- Ratner, B. D. *et al.* (2013) *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. Third edit. EBSCO Publishing (firma). Available at: [http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=485462&lang=cs&site=ehost-live&ebv=EB&ppid=pp\\_Cover](http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=485462&lang=cs&site=ehost-live&ebv=EB&ppid=pp_Cover).
- Russell, S. J. (2006) *Handbook of Nonwovens, Handbook of Nonwovens*. doi: 10.1533/9781845691998.
- Saarai, A. (2012) *Hydrogels for biomedical applications Hydrogely pro použití v biomedicině, Doctoral Thesis*. Zlín.

- Sarkar, K. *et al.* (2010) ‘Electrospinning to Forcespinning<sup>TM</sup>’, *Materials Today*, 13(11), pp. 12–14. doi: 10.1016/S1369-7021(10)70199-1.
- Sill, T. J. and von Recum, H. A. (2008) ‘Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering’, *Biomaterials*, 29(13), pp. 1989–2006. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.01.011.
- Singh, R. S. *et al.* (2016) ‘Recent insights on applications of pullulan in tissue engineering’, *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 153, pp. 455–462. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.07.118.
- Stanislav, L. (2015) *Produkce nanovláken metodou tažení, Disertační práce.*
- Stanislav, L. and Bajáková, J. (2013) ‘MULTICOMPONENT NANO-YARNS PRODUCTION DEVICE’, pp. 6–10.
- Talukdar, S. *et al.* (2011) ‘Biomaterials Effect of initial cell seeding density on 3D-engineered silk fi broin scaffolds for articular cartilage tissue engineering’, *Biomaterials*. Elsevier Ltd, 32(34), pp. 8927–8937. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.08.027.
- Turnbull, G. *et al.* (2017) ‘3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering’, *Bioactive Materials*, p. 37. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.10.001.
- Upton, S. J. *et al.* (2017) ‘Centrifugally spun PHBV micro and nanofibres’, *Materials Science and Engineering C*, 76, pp. 190–195. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.101.
- Vojtová, L. *et al.* (2015) *Úvod do tkáňového inženýrství*. Brno: MediaBros s.r.o.
- Wang, S. X. *et al.* (2016) ‘Electrospinning: A facile technique for fabricating functional nanofibers for environmental applications’, *Nanotechnology Reviews*, 5(1), pp. 51–73. doi: 10.1515/ntrev-2015-0065.
- Woodruff, M. A. and Hutmacher, D. W. (2010) ‘The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century’, *Progress in Polymer Science (Oxford)*. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002.
- Xing, X., Wang, Y. and Li, B. (2008) ‘Nanofibers drawing and nanodevices assembly in poly(trimethylene terephthalate)’, *Optics express*, 16(14), pp. 10815–10822. doi: 10.1364/OE.16.010815.
- Yang, F. *et al.* (2005) ‘Electrospinning of nano/micro scale poly(l-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering’, *Biomaterials*, 26(15), pp. 2603–2610. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.06.051.

## Seznam obrázků

<i>Obrázek 1: Schéma procesu tkáňového inženýrství.....</i>	14
<i>Obrázek 2: Schéma výroby polykaprolaktonu z <math>\epsilon</math>-kaprolaktonu, převzato. ....</i>	17
<i>Obrázek 3: Schéma vzniku kopolymeru PLCL .....</i>	18
<i>Obrázek 4: Schéma elektrostatického zvlákňování z jehly .....</i>	23
<i>Obrázek 5: Snímky z fluorescenční mikroskopie nervových kmenových buněk.....</i>	25
<i>Obrázek 6: Schéma odstředivého zvlákňování .....</i>	26
<i>Obrázek 7: Snímky testovaného PLA scaffoldu .....</i>	26
<i>Obrázek 8: Schematický postup tvorby vlákna metodou drawing.....</i>	28
<i>Obrázek 9: Snímek mikromanipulátoru II .....</i>	29
<i>Obrázek 10: Snímky pořízené pomocí fluorescenční mikroskopie .....</i>	31
<i>Obrázek 11: Kýlní síťka aplikovaná na chirurgicky vytvořenou řeznou ránu.....</i>	31
<i>Obrázek 12: Schematické rozdělení mechanických charakteristik.....</i>	33
<i>Obrázek 13: Schéma manipulace s jednotlivými PCL nanovlákný během mechanického testování pomocí hrotu AFM .....</i>	35
<i>Obrázek 14: Fotografický snímek tažených PCL vláken z polymerní kapky .....</i>	38
<i>Obrázek 15: Obrázek svazku vláken zafixovaných na kónických PMMA držácích.....</i>	40
<i>Obrázek 16: SEM snímky PCL vláken tažených z kapky v jednotlivých fázích homogenizace roztoku při zvětšení 1 000x .....</i>	44
<i>Obrázek 17: SEM snímky PCL vláken tažených z kapky v jednotlivých fázích homogenizace roztoku při zvětšení 5 000x .....</i>	46
<i>Obrázek 18: SEM snímky PLCL vláken tažených z kapky.....</i>	47
<i>Obrázek 19: SEM snímky řezu svazkem .....</i>	49
<i>Obrázek 20: SEM snímky křížených struktur.....</i>	53
<i>Obrázek 21: Testování polymerní mřížky pro studium biokompatibility materiálu: (A) SEM snímek (měřítko 200 <math>\mu</math>m), (B-D) sledování postupného zarůstání mřížky.....</i>	54
<i>Obrázek 22: Mikromanipulátor II s modifikací tažení vláken z volné hladiny.....</i>	55
<i>Obrázek 23: SEM snímky PCL vláken tažených z volné hladiny (měřítko 50 <math>\mu</math>m).....</i>	56
<i>Obrázek 24: SEM snímky PCL vláken tažených z volné hladiny (měřítko 10 <math>\mu</math>m).....</i>	57
<i>Obrázek 25: SEM snímky PCL vláken tažených z volné hladiny polymerní taveniny ....</i>	62



## Seznam grafů

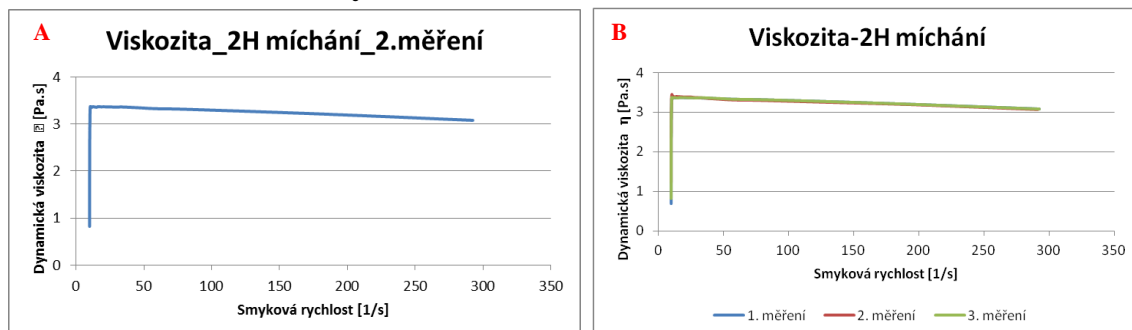
<i>Graf 1: Porovnání viskozity roztoku PCL v závislosti na smykové rychlosti .....</i>	41
<i>Graf 2: Porovnání viskozity PCL a PLCL roztoků po 24 hodinách homogenizace .....</i>	42
<i>Graf 3: Histogramy průměrů PCL vláken tažených z polymerní kapky .....</i>	45
<i>Graf 4: Histogram průměrů PLCL vláken tažených z polymerní kapky.....</i>	47
<i>Graf 5: Pracovní graf tahové zkoušky PCL vláken .....</i>	50
<i>Graf 6: Histogramy průměrů vláken tažených z volné hladiny .....</i>	58
<i>Graf 7: Histogramy průměrů PCL vláken tažených z taveniny .....</i>	64

## Seznam tabulek

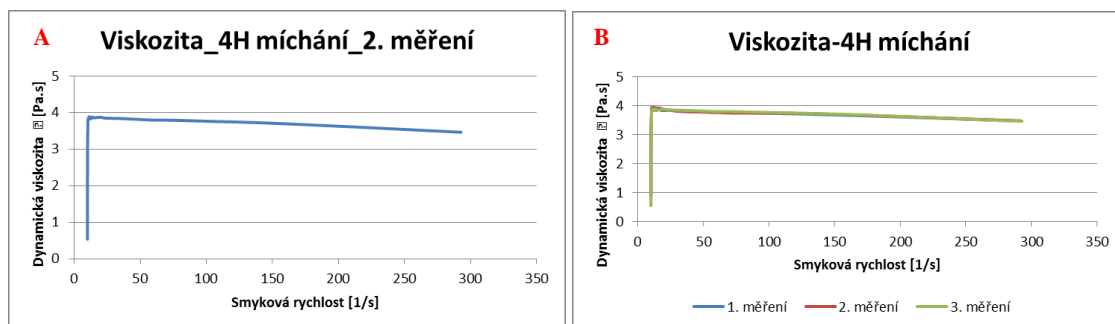
<i>Tabulka 1: Nejběžněji používané polymery v medicíně a tkáňovém inženýrství. ....</i>	16
<i>Tabulka 2: Parametry výroby vláken tažených z polymerní kapky .....</i>	43
<i>Tabulka 3: Statistické vyhodnocení naměřených průměrů vláken tažených z polymerní kapky .....</i>	45
<i>Tabulka 4: Průměrné hodnoty mechanického testování .....</i>	50
<i>Tabulka 5: Statistické vyhodnocení naměřených průměrů vláken tažených z volné hladiny .....</i>	59
<i>Tabulka 6: Jednotlivé nastavené parametry experimentu přípravy vláken tažených z volné hladiny polymerní taveniny .....</i>	61
<i>Tabulka 7: Statistické vyhodnocení průměrů vláken tažených z polymerní taveniny.....</i>	65

## PŘÍLOHY

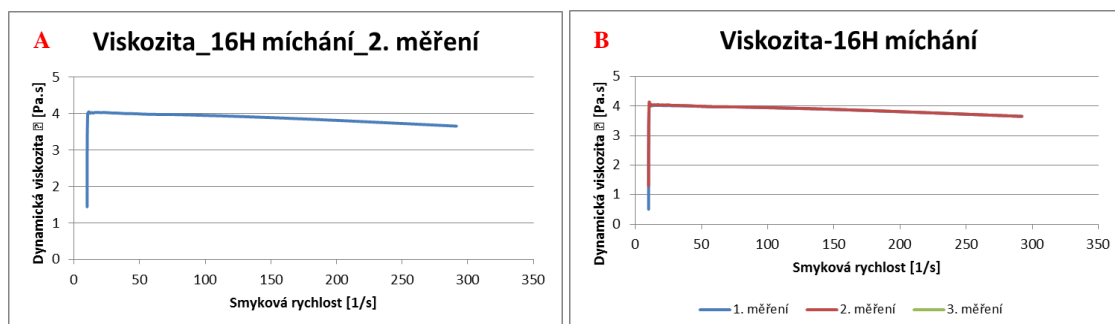
### A Měření viskozity roztoků PCL a PLCL



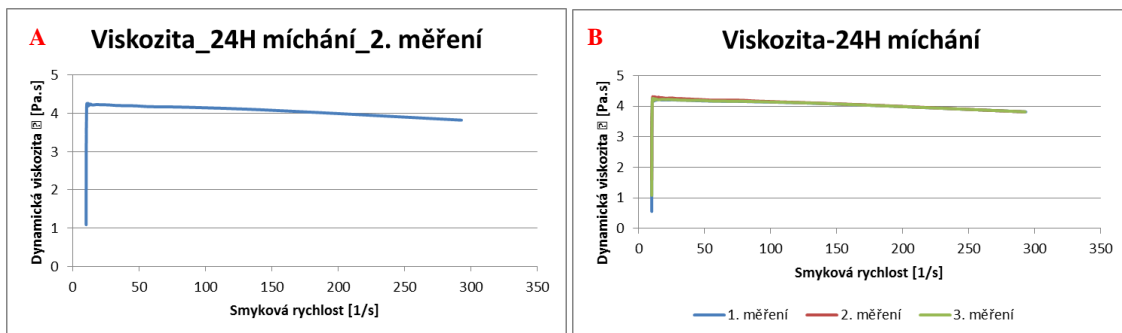
Graf A-1: Měření viskozity roztoku 12% PCL po 2 hodinách míchání: (A) křivka druhého měření vzorku a (B) porovnání třech měření viskozity pro jeden časový interval



Graf A-2: Měření viskozity roztoku 12% PCL po 4 hodinách míchání: (A) křivka druhého měření vzorku a (B) porovnání třech měření viskozity pro jeden časový interval

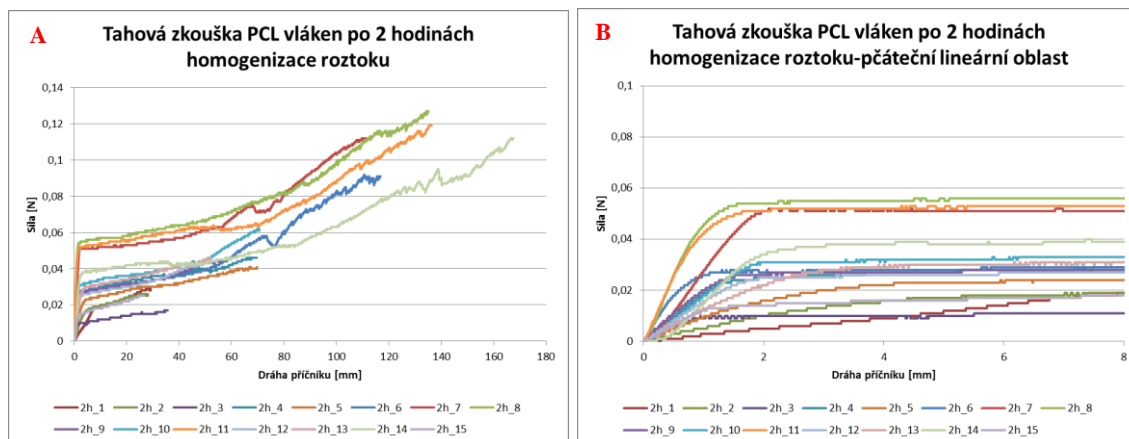


Graf A-3: Měření viskozity roztoku 12% PCL po 16 hodinách míchání: (A) křivka druhého měření vzorku a (B) porovnání třech měření viskozity pro jeden časový interval



*Graf A-4: Měření viskozity roztoku 12% PCL po 24 hodinách míchání: (A) křivka druhého měření vzorku a (B) porovnání třech měření viskozity pro jeden časový interval*

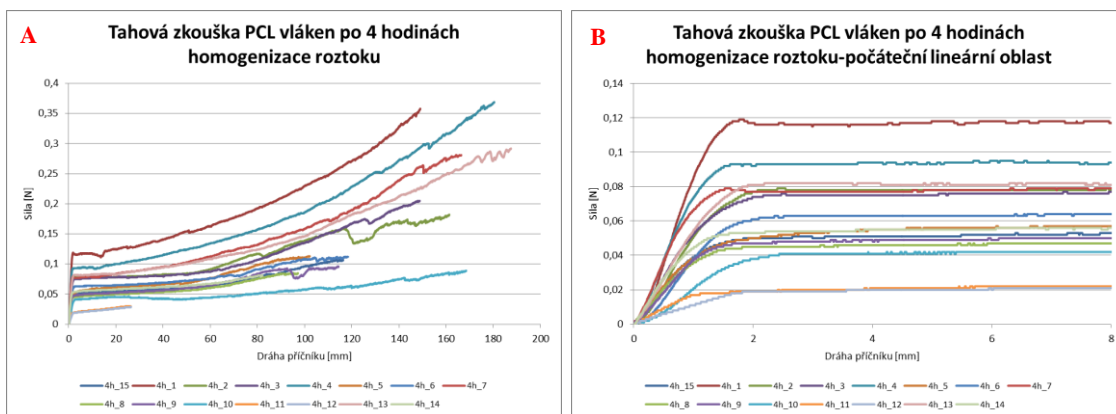
## B Mechanické vlastnosti



Graf B-1: Pracovní graf (A) tahové zkoušky PCL vláken po 2 hodinách homogenizace roztoku a výřez počáteční lineární oblasti grafu (B)

Tabulka B-1: Naměřené a vypočítané hodnoty mechanických vlastností PCL vláken tažených z polymerní kapky z roztoku po 2 hodinách homogenizace roztoku

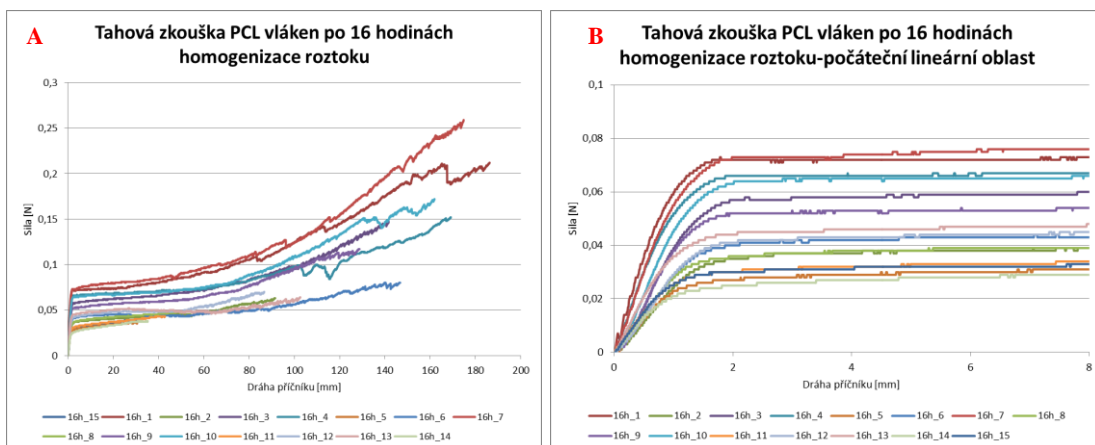
Zkouška	$F_{\max}$ [N]	Dráha příčniku $l$ [mm]	Napětí při přetrhu $\sigma$ [MPa]	Deformace $\varepsilon$ [%]	Počáteční modul $E$ [MPa]
1	0,03	29,18	5,18	145,91	20,57
2	0,03	28,12	4,81	140,59	40,82
3	0,02	35,63	3,15	178,13	81,97
4	0,05	69,59	8,51	347,95	138,83
5	0,04	69,72	7,59	348,60	69,40
6	0,09	116,82	16,84	584,09	225,13
7	0,11	111,28	20,72	556,39	214,63
8	0,13	135,04	23,50	675,21	317,22
9	0,05	55,96	8,33	279,82	132,95
10	0,06	70,59	11,47	352,96	132,81
11	0,12	136,32	22,02	681,62	295,89
12	0,04	46,92	7,77	234,58	109,85
13	0,05	52,03	8,51	260,14	74,54
14	0,11	167,49	20,72	837,47	135,62
15	0,03	26,52	4,63	132,58	74,95
<b>Průměr</b>	<b>0,06</b>	<b>76,75</b>	<b>11,58</b>	<b>383,73</b>	<b>137,68</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>0,04</b>	<b>45,43</b>	<b>7,13</b>	<b>227,15</b>	<b>88,82</b>



Graf B-2: Pracovní graf (A) tahové zkoušky PCL vláken po 4 hodinách homogenizace roztoku a výřez počáteční lineární oblasti grafu (B)

Tabulka B-2: Naměřené a vypočítané hodnoty mechanických vlastností PCL vláken tažených z polymerní kapky z roztoku po 4 hodinách homogenizace roztoku

Zkouška	$F_{\max}$ [N]	Dráha příčnicku $l$ [mm]	Napětí při přetrhu $\sigma$ [MPa]	Deformace $\varepsilon$ [%]	Počáteční modul $E$ [MPa]
1	0,36	149,04	73,20	745,18	329,58
2	0,18	161,36	37,21	806,82	167,27
3	0,21	148,80	41,91	744,02	152,29
4	0,37	180,41	75,45	902,03	267,95
5	0,11	102,21	23,10	511,05	117,59
6	0,11	118,42	22,90	592,08	126,56
7	0,28	166,42	57,45	832,10	230,17
8	0,09	97,15	17,38	485,74	125,96
9	0,10	114,37	19,63	571,85	124,99
10	0,09	168,50	18,20	842,52	76,09
11	0,03	26,29	6,13	131,45	66,13
12	0,03	26,37	5,93	131,87	40,58
13	0,29	187,52	59,70	937,62	193,15
14	0,08	82,14	16,56	410,71	150,38
15	0,11	116,34	21,88	581,69	128,04
<b>Průměr</b>	<b>0,16</b>	<b>123,02</b>	<b>33,11</b>	<b>615,11</b>	<b>153,11</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>0,11</b>	<b>50,59</b>	<b>23,17</b>	<b>252,94</b>	<b>76,70</b>



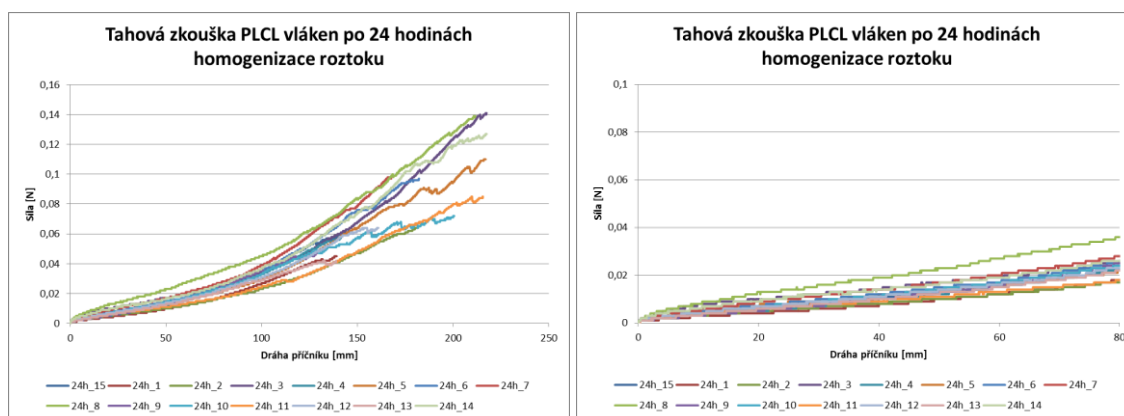
Graf B-3: Pracovní graf (A) tahové zkoušky PCL vláken po 16 hodinách homogenizace roztoku a výřez počáteční lineární oblasti grafu (B)

Tabulka B-3: Naměřené a vypočítané hodnoty mechanických vlastností PCL vláken tažených z polymerní kapky z roztoku po 16 hodinách homogenizace roztoku

Zkouška	$F_{\max}$ [N]	Dráha příčnicku $l$ [mm]	Napětí při přetrhu $\sigma$ [MPa]	Deformace $\varepsilon$ [%]	Počáteční modul $E$ [MPa]
1	0,21	186,27	84,78	931,36	422,92
2	0,06	91,52	25,19	457,61	149,93
3	0,15	141,66	58,78	708,32	264,47
4	0,15	169,12	60,78	845,60	333,46
5	0,04	30,53	14,40	152,64	178,89
6	0,08	146,75	31,99	733,76	171,53
7	0,26	174,77	103,57	873,86	379,47
8	0,05	54,43	19,59	272,16	202,24
9	0,12	128,79	46,79	643,97	251,50
10	0,17	161,91	68,78	809,53	293,01
11	0,04	42,85	17,20	214,25	170,66
12	0,07	86,67	27,99	433,35	196,14
13	0,06	102,63	25,59	513,13	247,48
14	0,04	35,19	15,20	175,97	163,67
15	0,04	30,59	15,60	152,94	185,53
<b>Průměr</b>	<b>0,10</b>	<b>105,58</b>	<b>41,08</b>	<b>527,89</b>	<b>240,73</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>0,07</b>	<b>56,93</b>	<b>28,19</b>	<b>284,64</b>	<b>83,97</b>

Tabulka B-4: Naměřené a vypočítané hodnoty mechanických vlastností PCL vláken tažených z polymerní kapky z roztoku po 24 hodinách homogenizace roztoku

Zkouška	$F_{\max}$ [N]	Dráha příčniku $l$ [mm]	Napětí při přetrhu $\sigma$ [MPa]	Deformace $\varepsilon$ [%]	Počáteční modul $E$ [MPa]
1	0,12	125,619	47,74	628,10	330,74
2	0,06	54,158	21,73	270,79	197,53
3	0,07	76,5	27,17	382,50	271,90
4	0,12	111,731	45,80	558,66	311,50
5	0,15	129,516	58,22	647,58	285,03
6	0,20	159,68	75,68	798,40	322,45
7	0,07	89,747	26,00	448,74	211,64
8	0,17	138,844	64,82	694,22	324,18
9	0,09	110,594	33,38	552,97	264,25
10	0,05	32,398	17,85	161,99	157,75
11	0,06	78,528	24,06	392,64	230,42
12	0,04	34,137	17,08	170,69	152,54
13	0,06	97,324	23,29	486,62	166,50
14	0,16	76,569	60,16	382,85	570,36
15	0,08	113,546	29,50	567,73	209,04
<b>Průměr</b>	<b>0,10</b>	<b>95,26</b>	<b>38,17</b>	<b>476,30</b>	<b>267,05</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>0,05</b>	<b>37,20</b>	<b>19,03</b>	<b>186,02</b>	<b>104,37</b>



Graf B-5: Pracovní graf (A) tahové zkoušky PLCL vláken po 24 hodinách homogenizace roztoku a výřez počáteční lineární oblasti grafu (B)

Tabulka B-5: Naměřené a vypočítané hodnoty mechanických vlastností PLCL vláken tažených z polymerní kapky z roztoku po 24 hodinách homogenizace roztoku

Zkouška	$F_{\max}$ [N]	Dráha příčnicku l [mm]	Napětí při přetrhu $\sigma$ [MPa]	Deformace $\varepsilon$ [%]	Počáteční modul E [MPa]
1	0,05	46,34	24,03	231,68	2,89
2	0,06	60,85	34,20	304,23	5,37
3	0,14	73,14	74,87	365,68	12,10
4	0,06	47,60	30,13	238,00	3,76
5	0,11	72,81	58,63	364,03	6,86
6	0,10	61,44	51,39	307,20	8,89
7	0,10	56,44	52,11	282,20	11,23
8	0,14	71,53	73,74	357,67	20,31
9	0,05	44,60	26,49	223,00	3,53
10	0,07	67,55	38,43	337,74	6,18
11	0,08	70,79	45,08	353,95	4,80
12	0,06	54,45	34,18	272,26	5,97
13	0,04	44,99	22,12	224,96	3,62
14	0,13	73,67	67,71	368,34	27,34
15	0,06	49,38	32,83	246,89	9,72
<b>Přůměr</b>	<b>0,08</b>	<b>59,70</b>	<b>44,39</b>	<b>298,52</b>	<b>8,84</b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>0,03</b>	<b>11,31</b>	<b>17,84</b>	<b>56,54</b>	<b>6,84</b>



## **C Obsah příloženého CD**

Text práce:

- DP\_Hauzerová.pdf

Naměřená data jednotlivých zkoušek:

- Měření viskozity\_homogenizace roztoku.xls
- Průměry PCL a PLCL vláken tažených z polymerní kapky při různých intervalech homogenizace roztoku.xls
- Tahová zkouška\_PCL\_po 2h homogenizace.xls
- Tahová zkouška\_PCL\_po 4h homogenizace.xls
- Tahová zkouška\_PCL\_po 16h homogenizace.xls
- Tahová zkouška\_PCL\_po 24h homogenizace.xls
- Tahová zkouška\_PLCL\_po 24h homogenizace.xls
- Průměry PCL vláken tažených z volné hladiny polymerního roztoku.xls
- Průměry PCL vláken tažených z volné hladiny polymerní taveniny.xls