



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

ŘÍZENÁ HYDROLÝZA POLYAMIDOVÝCH (PA66) NANOVLÁKEN PRO IMOBILIZACI ENZYMŮ

Bakalářská práce

Studijní program: B3942 – Nanotechnologie
Studijní obor: 3942R002 – Nanomateriály

Autor práce: **Tomáš Vaněk**
Vedoucí práce: doc. Ing. Lenka Martinová, CSc.
Konzultant: Ing. Ondřej Kolek, Ph.D.





TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC
Faculty of Mechatronics, Informatics
and Interdisciplinary Studies ■

CONTROLLED HYDROLYSIS OF NYLON 66 NANOFIBERS FOR ENZYME IMMOBILIZATION

Bachelor thesis

Study programme: B3942 – Nanotechnology
Study branch: 3942R002 – Nanomaterials

Author: **Tomáš Vaněk**
Supervisor: doc. Ing. Lenka Martinová, CSc.
Consultant: Ing. Ondřej Kolek, Ph.D.



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Tomáš Vaněk**
Osobní číslo: **M12000100**
Studijní program: **B3942 Nanotechnologie**
Studijní obor: **Nanomateriály**
Název tématu: **Řízená hydrolýza polyamidových (PA66) nanovláken pro imobilizaci enzymů**
Zadávací katedra: **Ústav nových technologií a aplikované informatiky**

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

1. Seznamte se se základními charakteristikami polyamidu 6,6 (PA66) a způsobem jeho přípravy.
2. Vypracujte rešerši týkající elektrostatického zvlákňování PA66 a možností jeho využití pro imobilizaci enzymů po řízené hydrolýze.
3. Připravte laboratorně nanovláčennou vrstvu z PA66 metodou elektrostatického zvlákňování a popište její morfologii.
4. Proveďte řízenou hydrolýzu nanovláčenné vrstvy z PA66 v kyselém prostředí, studujte vliv reakčních podmínek na množství - NH₂ skupin a mechanickou stabilitu vláken.
5. Výsledky shrňte a diskutujte.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **cca 50-60 stran**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**
Seznam odborné literatury:

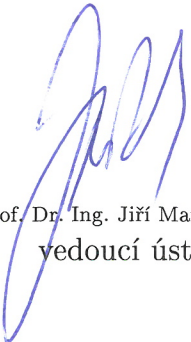
- [1] Mleziva J, (1993), **Polymery - struktura, vlastnosti a použití**, Sobotáles, Praha.
[2] Hladík V a kol, (1970), **Textilní vlákna**, SNTL, Praha.
[3] Ramakrishna S et al, (2005), **Electrospinning and Nanofibers**, World Scientific Publishing CO. Pte. Ltd.
[4] Abbasi A, Nasef M M et al, (2014), **Electrospinning of Nylon 6,6 Solution into Nanofibers: Rheology and Morphology Relationships**, Chinese Journal of Polymer Science, Vol. 32, No. 6,793-804.
[5] Osgrove F H, Williams R J H et al, (2001), **Enzyme immobilization on nylon-optimalization and the steps used to prevent enzyme leakage from the support**, Enzyme and Microbial Technology, 28, 225-232.
[6] Svec F, Gemeiner P, (1996), **Engineering Aspects of Carriers for Immobilized Biocatalysts**, Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, 13:1, 217-236, [online 6.8.2014]

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Lenka Martinová, CSc.**
Ústav nových technologií a aplikované informatiky

Datum zadání bakalářské práce: **20. října 2014**
Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2015**


prof. Ing. Václav Kopecký, CSc.
děkan




prof. Dr. Ing. Jiří Maryška, CSc.
vedoucí ústavu

V Liberci dne 20. října 2014

Prohlášení

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

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

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

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

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

Datum: 12. 5. 2015

Podpis: 

Poděkování

Rád bych poděkoval mé vedoucí práce Doc. Ing. Lence Martinové, CSc za možnost pracovat na této práci, za její odborné rady a výpomoc při úpravě práce. Dále patří velké poděkování všem lidem, kteří mi s vypracováním práce pomáhali, obzvláště Kláře Kučerové za přípravu vrstev na Nanospideru a pomoc při práci s elektronovým mikroskopem, Ing. Martinu Stuchlíkovi za pomoc při vyhodnocování dat z FTIR spektroskopie a Ing. Ondřeji Novákovi Ph.D. za pomoc při práci na elektromechanickém zkušebním stroji. V neposlední řadě bych rád poděkoval mým nejbližším, kteří mně při práci podporovali a snažili se udržovat dobrou náladu.

Abstrakt

Hydrolyzovaná nanovláknenná vrstva polyamidu 6,6 by pro svůj velký specifický povrch, mechanické, chemické a fyzikální vlastnosti měla být velice dobrým nosičem pro imobilizaci enzymů. Práce se zaměřuje na vytvoření kvalitní nanovláknenné vrstvy polyamidu 6,6 a v druhém kroku na řízenou hydrolýzu této vrstvy s cílem navýšit počet aminoskupin v polymeru.

Nanovláknenné vrstvy byly nejdříve zvlákňovány z tyčky pro zjištění optimální konfigurace procesních a materiálových podmínek, k nimž patřily např. použité rozpouštědlo a jeho koncentrace, vlhkost vzduchu, teplota atd. Finální vrstvy byly po zohlednění výsledků experimentů připravovány Nanospidrem a jejich morfologie byla hodnocena pomocí SEM.

Řízená hydrolýza byla prováděna pomocí kyseliny chlorovodíkové a zkoumala se při ní závislost změny koncentrace kyseliny, doby hydrolýzy a vliv teploty na změnu počtu aminoskupin ve vrstvě a její morfologii. Vlastnosti hydrolyzovaných vrstev byly vyhodnoceny pomocí FTIR spektroskopie, SEM a spektrofotometrickou metodou pomocí navázání methyloranže pro zjištění počtu aminoskupin ve vrstvě.

Klíčová slova: nanovláknena PA66, zvlákňování z tyčky, nanospider, řízená hydrolýza, určení počtu aminoskupin.

Abstract

The hydrolysed nanofiber layer of polyamide 6,6 should be a very good scaffold for an enzyme immobilization because of its big specific surface area, mechanical, chemical and physical properties. The main goal of this work is to create the quality nanofiber layer of polyamide 6,6 and the second step is controlled hydrolysis of this layer, due to increase the number of amino groups in the polymer

Nanofiber layers were electrospun from a stick at first for optimization material and process conditions which are for example the used solvent and its concentration, relative humidity of air, temperature etc. Final layers were prepared, after checking of experimental results, by Nanospider and their morphology was evaluated by SEM.

Controlled hydrolysis was done by hydrochloric acid and I researched dependence of a change concentration the acid, time of the hydrolysis and the influence of temperature, on the change the number of amino groups in the layer and its morphology. Properties of hydrolysis layers were evaluated by FTIR spectroscopy, SEM and a spectrophotometric method using a treating with methyl orange for determination the number of amino groups.

Keywords: nanofiber of PA66, electrospinning from the stick, nanospider, controlled hydrolysis, determination of amino groups.

Obsah

Prohlášení	4
Poděkování.....	5
Abstrakt	6
Abstract.....	7
Seznam obrázků.....	10
Seznam tabulek	12
Seznam grafů	13
1 Úvod	14
2 Polyamid 6,6 (PA66).....	15
2.1 Surovinová základna	15
2.2 Výroba	15
2.2.1 Heteropolykondenzace dikarboxylových kyselin a diaminů	15
2.2.2 Schotten-Baumannova reakce.....	16
2.3 Fyzikální a chemické vlastnosti.....	17
2.4 Struktura	18
3 Elektrostatické zvlákňování	20
3.1 Zvlákňování z kovové tyčky	22
3.2 Zvlákňování z válce	22
3.3 Podmínky ovlivňující zvlákňování	23
3.3.1 Procesní podmínky	23
3.3.2 Materiálové parametry	25
4 Hydrolýza nanovlákněné vrstvy PA66	27
4.1 Chemikálie používané pro hydrolýzu	27
4.2 Faktory ovlivňující hydrolýzu	27
5 Využití hydrolyzované nanovlákněné vrstvy PA66 pro imobilizaci enzymů	29
6 Shrnutí teorie	31
7 Plán experimentu	32
8 Příprava nanovlákněné vrstvy polyamidu 6,6	33
8.1 Použité chemikálie.....	33
8.2 Použité laboratorní pomůcky a zařízení.....	33

8.3	Příprava vrstvy PA66 zvlákňováním z tyčky a pomocí nanospideru	34
8.3.1	Roztok PA66 ve směsi AA/FA zvlákňovaný z tyčky	34
8.3.2	Roztok polyamidu 6,6 ve směsi FA zvlákňované z tyčky	39
8.3.3	Zvlákňování pomocí Nanospideru	41
9	Závěr z přípravy nanovlákné vrstvy PA66	45
10	Diskuze z přípravy nanovlákné vrstvy PA66	47
11	Řízená hydrolýza nanovlákné vrstvy PA66	48
11.1	Použité chemikálie	48
11.2	Postup přípravy hydrolyzovaných vzorků	48
11.3	Výsledky hydrolýzy PA66	48
11.4	Důkaz provedené hydrolýzy u vzorků PA66	54
11.4.1	Použité chemikálie	54
11.4.2	Použité laboratorní pomůcky a zařízení	55
11.4.3	Metody pro zjištění úrovně hydrolýzy PA66 vzorků	55
11.4.4	Měření počtu aminoskupin ve vzorcích PA66	56
12	Závěr z řízené hydrolýzy nanovlákné vrstvy PA66	62
13	Diskuze z řízené hydrolýzy nanovlákné vrstvy PA66	64
	Závěr	65
	Použitá literatura	66
	Přílohy	68

Seznam obrázků

Obr. 2.1: Schéma výroby polyamidu 6,6.....	16
Obr. 2.2: Struktura polyamidu 6,6 s hodnotami periody identity a úhly vazeb, které jsou vypsány v tabulce.....	18
Obr. 3.1: Proces bičování při elektrospinningu.....	21
Obr. 3.2: Schéma zvlákňování z tyčky.....	22
Obr. 3.3: Zvlákňování z válce.....	23
Obr. 3.4: Závislosti procesních parametrů elektrospinningu.....	24
Obr. 3.5: Závislost průměru vznikajících vláken na zvyšujícím se napětí...25	
Obr. 3.6: Závislost průměru vláken a defektních jevů na vzrůstající koncentraci roztoku.....	26
Obr. 4.1: Závislost vzrůstajícího počtu karboxylových skupin na době hydrolyzace.....	28
Obr 8.1: Použité laboratorní pomůcky.....	34
Obr. 8.2: Uspořádání tzv. „kytka (KT)“.....	36
Obr. 8.3: Snímky nanovláknenných vrstev ze SEM při zvětšení 1 kx. A- 8 % roztok zvlákňovaný při T= 70 °C. B- 8 % roztok zvlákňovaný při T= 21 °C.....	37
Obr. 8.4: Snímek ze SEM, zvětšení obrázku „8.3 A“. Zvětšení 15 kx.....	37
Obr. 8.5: Snímek ze SEM. 10 % koncentrace roztoku PA66 ve směsi AA/FA zvlákňovaná po zchladnutí při zvětšení 25 kx.....	37
Obr. 8.6: Snímky ze SEM při zvětšení 1 kx. A- 10 % roztok zvlákňovaný při T= 70 °C. B- 10 % roztok zvlákňovaný po zchladnutí.....	38
Obr. 8.7: Snímky ze SEM při zvětšení 1 kx. PA66 rozpuštěný v FA. A- 13 %, B- 15 %.....	40
Obr. 8.8: Snímky ze SEM při zvětšení 10 kx. PA66 rozpuštěný v FA při laboratorní teplotě. A- 13 %, B- 15 % a C- 20 %.....	40
Obr. 8.9: Snímky ze SEM. Vzorky zvlákněných roztoků PA66, které byly nechány týden „stárnout“ při laboratorní teplotě. A- 15 % roztok při zvětšení 1 kx, B- 17,5 % roztok při zvětšení 10k.....	41
Obr. 8.10: Snímky vzorků z tabulky 5.5 ze SEM při zvětšení 20 kx. A- vzorek 11, B- vzorek 8.....	43
Obr. 8.11: Snímky ze SEM vzorku č. 1 z Tab 8.5 při zvětšení 20 kx. A- vzorek při RH= 8,8% a T= 24,1°C, B- vzorek při RH= 18,7% a T= 24,4°C...44	
Obr. 8.12: Snímek ze SEM vzorku č. 2 při zvětšení 20 kx.....	44

Obr. 11.1: Snímek PA66 ze SEM při zvětšení 20 kx. Porovnání morfologie nanovlákněné vrstvy před a po hydrolýze.....	51
Obr. 11.2: Použité laboratorní přístroje. Vlevo FTIR spektrometr, vpravo UV/VIS spektrometr.....	55
Obr 11.3: Snímky ze SEM při zvětšení 20 kx. A- je vzorek hydrolyzovaný 3,8 M HCl po dobu 15 minut při laboratorní teplotě a B- vzorek hydrolyzovaný 4 M HCl za stejných podmínek.....	60

Seznam tabulek

Tab. 8.1: Výsledky zvlákňování z tyčky roztoků PA66 rozpuštěných ve směsi kyselin.....	35
Tab. 8.2: Výsledky zvlákňování roztoku polyamidu rozpuštěného ve směsi kyselin.....	35
Tab. 8.3: Průměr vláken v nanovlákně vrstvě polyamidu 6,6.....	38
Tab. 8.4: Výsledky zvlákňování z tyčky roztoků PA66 rozpuštěných v kyselině mravenčí.....	39
Tab. 8.5: Výsledky zvlákňování PA66 v FA na Nanospideru.....	42
Tab. 9.1: Procesní parametry nanovlákně vrstvy bez defektů.....	46
Tab. 11.1: Tabulka vyjadřující úbytek plochy vzorku v závislosti na molární koncentraci kyseliny použité pro hydrolyzu.....	49
Tab. 11.2: Porovnání průměrů vláken a specifického povrchu referenčního vzorku, který byl namočen do vody se vzorky, které byly hydrolyzovány různě koncentrovanou HCl za laboratorní teploty.....	52
Tab. 11.3: Počet aminoskupin v testovaných vzorcích a jejich procentuální nárůst oproti referenčnímu vzorku v závislosti na koncentraci HCl při hydrolyze.....	58

Seznam grafů

- Graf 11.1: Závislost poklesu plochy vzorků PA66 po hydrolýze v HCl o různých molárních koncentracích. Hydrolýza probíhala 15 minut při laboratorní teplotě.....50*
- Graf 11.2: Závislost poklesu plochy vzorků PA66 na době hydrolýzy. Molární koncentrace použité kyseliny byla 3,8 mol/dm³. Vzorky byly hydrolyzovány při různých teplotách, a to 20 °C (laboratorní teplota) a 37 °C.....51*
- Graf 11.3: Závislost změny specifického povrchu testovaných vzorků PA66 na použité koncentraci HCl při hydrolýze za laboratorní teploty.....53*
- Graf 11.4: Závislost změny specifického povrchu testovaných vzorků PA66 na době hydrolyzace při dvou různých teplotách. Hydrolýza byla prováděna 3,8 M HCl.....54*
- Graf 11.5: Závislost procentuálního zvýšení aminoskupin ve vzorku PA66 při hydrolýze různě koncentrovanými HCl. Doba hydrolýzy 15 minut při laboratorní teplotě. Počítáno podle rovnice [9].....59*
- Graf 11.6: Závislost procentuálního zvýšení aminoskupin ve vzorku PA66 při hydrolýze různě koncentrovanými HCl. Doba hydrolýzy 15 minut při laboratorní teplotě. Počítáno podle rovnice [10].....60*
- Graf 11.7: Procentuální zvýšení počtu aminoskupin, oproti nehydrolyzovanému vzorku, v závislosti na době hydrolýzy u vzorků, které byly hydrolyzovány 3,8 M HCl při různých teplotách, 37 °C a 20 °C.....61*

1 Úvod

Motivací pro vznik této práce je potřeba vytvořit hydrolyzovanou nanovláknennou vrstvu PA66, která by mohla být dále použita pro výzkum v oblasti imobilizace enzymů. Konkrétně navázání enzymu lakáza, který by se mohl používat pro odstranění organických disruptorů v čističkách odpadních vod.

Cílem je nejdříve za využití Nanospideru vytvořit kvalitní nanovláknennou vrstvu PA66, popsat její morfologii za použití elektronového mikroskopu, a poté tuto vrstvu řízeně hydrolyzovat. Řízená hydrolýza je velice důležitá, protože pro navázání enzymu je potřeba určit optimální množství aminoskupin ve vrstvě, přes které se enzym váže.

Bakalářská práce má několik hlavních částí: (i) optimalizování procesních a materiálových podmínek pro vytvoření PA66 vrstvy pomocí Nanospideru, (ii) hydrolýza vrstvy za různých podmínek, (iii) zjištění nárůstu počtu aminoskupin v závislosti na podmínkách hydrolýzy.

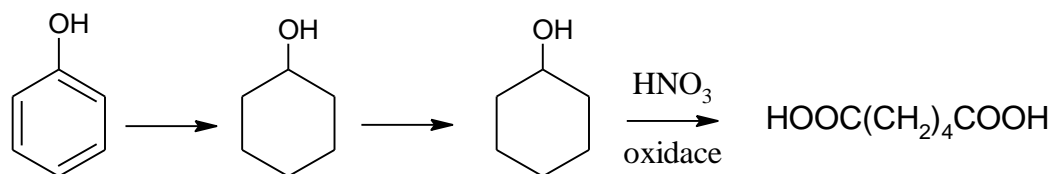
2 Polyamid 6,6 (PA66)

2.1 Surovinová základna

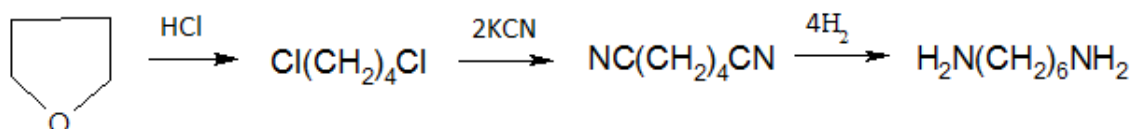
Polyamid 6,6 byl poprvé syntetizován doktorem Wallacem Humem Carothersem, který si ho roku 1935 nechal patentovat pod obchodním názvem Nylon pro jeho výborné mechanické fyzikální a chemické vlastnosti (DuPont 2015).

Základními surovinami pro výrobu polyamidu 6,6 jsou kyselina adipová (hexandiová) a hexametyléndiamin. Obě sloučeniny se dají syntetizovat několika různými způsoby např.:

Kyselina adipová

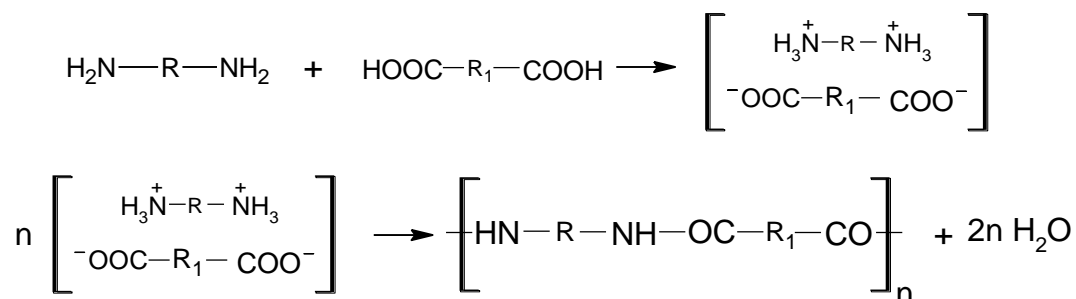


Hexametyléndiamin



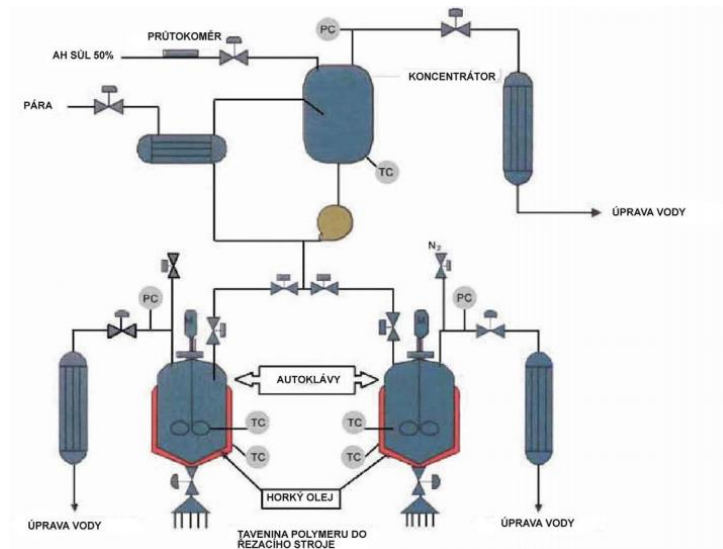
2.2 Výroba

2.2.1 Heteropolykondenzace dikarboxylových kyselin a diaminů



Nejdříve se připraví AH-sůl, která se poté rozpustí ve vodě a zahřeje v autoklávu na teplotu mezi 260- 270 °C. Zároveň se odvede vzdušný kyslík a přetlak způsobovaný vodní parou se, odpouštěním vodní páry, udržuje mezi 10 až 20 atmosférami. Poté, co teplota klesne na vhodnou

teplotu pro kondenzaci, se vodní pára vypouští a udržuje se vakuum kvůli odstranění vody. Zároveň probíhá polymerizační reakce a vzniká polyamidová tavenina.

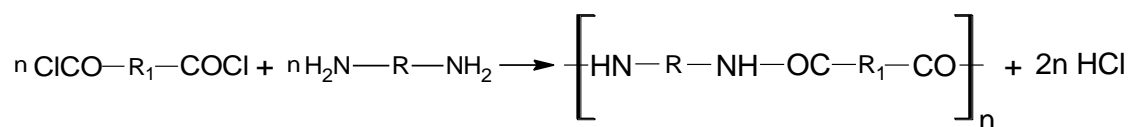


Obr. 2.1: Schéma výroby polyamidu 6,6 (Lederer 2013)

Tato reakce je převážně rovnovážná. Rovnovážná konstanta se zde pohybuje v řádech 10^1 až 10^2 . U této polyreakce rovnováha směsi zároveň limituje maximální polymerizační stupeň (molární hmotnost) vytvářeného produktu. Takto vzniklý produkt by tedy měl poměrně nízký polymerizační stupeň, proto k dosažení vyššího polymerizačního stupně musíme zvýšit přeměnu funkčních skupin, což lze udělat plynulým odstraňováním nízkomolekulárního podílu, který se při reakci vytváří. Dalšími nezbytnými faktory pro dosažení vysokomolekulárního podílu jsou například: zajištění ekvimolárního poměru mezi reagujícími funkčními skupinami, vyloučení nečistot schopných blokovat reagující funkční skupiny a v neposlední řadě je také potřeba vyloučit možnost reakcí, které by vedly ke změnám reagujících funkčních skupin (Hladík a kolektiv 1970).

2.2.2 Schotten-Baumannova reakce

Je to reakce chloridů dikarboxylových kyselin s diaminem.



Tato reakce má podstatně vyšší rovnovážnou konstantu $K > 10^4$. Proto bývá spíše označována jako nerovnovážná reakce. Polyreakce probíhá na fázovém rozhraní směsi chloridu kyseliny adipové a hexandiaminu. Proto bývá označována jako mezifázová polykondenzace. Výhodou je, že může být prováděna za podstatně nižších teplot 0-50 °C, takže je vhodná pro laboratorní přípravu. Tato reakce je zároveň výhodná tvorbou vysokomolárních polymerů, což je dáno tím, že rychlost reakce monomerů s rostoucím řetězcem polymeru je vyšší než difúze monomerů přes polymerní film na fázovém rozhraní, čímž je zpomalen vznik nových řetězců. Tím pádem také není nutné dodržovat přesný ekvimolární poměr jako v případě polyreakce z taveniny. Zároveň je potřeba zabránit neutralizační reakci vznikající HCl, což se v praxi provádí buď přidáním vhodné báze, nebo použitím přebytku diaminu, ze kterého vznikne aminhydrochlorid.

2.3 Fyzikální a chemické vlastnosti

Stejně jako ostatní polyamidová vlákna je polyamid 6,6 nasákavý, což velmi ovlivňuje jeho fyzikální vlastnosti, jako jsou například pevnost, tažnost, teplota skelného přechodu, a to z důvodu, že molekuly vody se přes vodíkové můstky vážkou k peptidické vazbě uvnitř řetězce PA66, a tím ji oslabují. Přesto se ale jedná o polymer s velmi dobrými mechanickými vlastnosti, který má kvůli vysoké krystalinitě vysokou pevnost, tvrdost, tuhost, houževnatost a je odolný proti oděru, zároveň je taktéž dobrým elektroizolantem. Amorfni část v makromolekule PA66 je naopak zodpovědná za jeho elasticitu, ohebnost, tažnost a již zmiňovanou sorpci vody. Z toho plyne, že výsledné mechanické vlastnosti jsou dány podílem krystalické a amorfni části.

Chemicky je PA66 poměrně odolná látka. Přestože je polární, tak odolává olejům, acetonu, alkoholům, mazivům, alkáliím nebo třeba také ropným produktům jako jsou pohonné hmoty. Na druhou stranu je ale

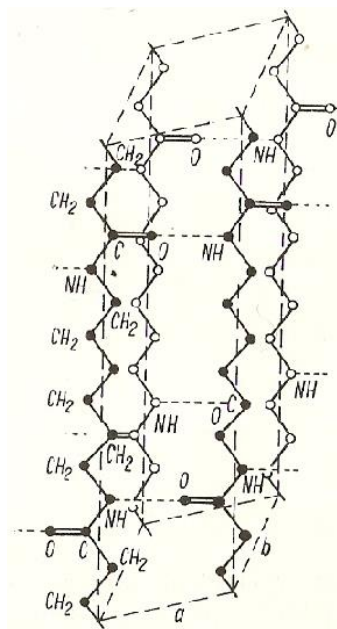
rozpuštěný v středně silných až silných kyselinách (kyselina mravenčí, kyselina chlorovodíková), čehož se využívá při zvláknování a následně při hydrolyze. Kromě toho je PA66 také citlivý vůči UV záření, které způsobuje jeho zažloutnutí. Z tohoto důvodu není příliš vhodný pro použití ve venkovních aplikacích, kde je právě vystaven nejen UV záření, ale také dalším atmosférickým vlivům jako jsou kyselé deště, ozon, vzdušná vlhkost atd., jejichž účinkem dochází k trhlinám a poruše materiálu.

Teplé vlastnosti závisí na podílu krystalické fáze. Oproti například kovům má PA66 velmi dobrou rozměrovou stálost při zahřívání. Podle zatížení a tvaru výrobku je možná provozní teplota v rozmezí od -40 do 125 °C. Teplotu tání má 264 °C. (Abbasi et al. 2014; Pospíšil 2013; Valenta 2013).

2.4 Struktura

PA66 obsahuje ve své struktuře, podobně jako jiné typy vláken, jak amorfni tak krystalickou část.

Osy a úhly os	Polyamid 6	Polyamid 66
a	$9,66 \cdot 10^{-7}$ mm	$4,83 \cdot 10^{-7}$ mm
b	$17,00 \cdot 10^{-7}$ mm	$17,20 \cdot 10^{-7}$ mm
c	$8,32 \cdot 10^{-7}$ mm	$8,32 \cdot 10^{-7}$ mm
bc	90°	48°30'
ab	90°	77°
ac	65°	65°



Obr. 2.2: Struktura polyamidu 6,6 s hodnotami periody identity a úhly vazeb, které jsou vypsány v tabulce (Hladík a kolektiv 1970).

Podíl krystalické fáze je určen lineárností a symetrií výstavby makromolekul polyamidu. Krystalinita se pohybuje od 30 do 50% a má dalekosáhlé nežádoucí důsledky pro zvlákňování. Teplota skelného přechodu T_g je v rozmezí 45-65°C (Abbasi et al. 2014). Zároveň se také mezi jednotlivými vlákny objevují vodíkové můstky v důsledku příznivé vzdálenosti (asi 2,8 Å) mezi atomy kyslíku a dusíku jednotlivých vláken (Hladík a kolektiv 1970).

3 Elektrostatické zvlákňování

Elektrospinning (El-spin) je proces, kterým lze vytvořit nanovláknennou vrstvu z polymerního roztoku.

Hlavní iniciační a hnací silou procesu je velmi silné elektromagnetické pole, které se vytvoří mezi elektrodou, na níž je nanesen polymerní roztok, a uzemněným kolektorem. Chování roztoku při elektrospinningu z volné hladiny se při zjednodušení problému na jednodimenziální problém v ose x dá popsat, podle Lukáše et al. (Lukas et al. 2008), zderivovanou Eulerovou rozptylovou rovnicí:

$$\omega^2 = (\rho g + \gamma k^2 - \epsilon E_0^2 k) * \frac{k}{\rho} \quad [1]$$

Kde ω je úhlová frekvence, ρ hustota kapaliny, k vlnové číslo, g gravitační zrychlení, γ povrchové napětí roztoku, ϵ permitivita a E_0 je intenzita elektrického pole.

Po přivedení napětí, menšího než kritické napětí, na elektrodu dochází ke shlukování elektrického náboje v určitých bodech, což se dá odvodit z rovnice [1]. Při zvyšování napětí (zároveň intenzity elektrického pole v okolí elektrody) se na povrchu roztoku v důsledku akumulace nábojů začínají vytvářet Taylorovy konusy. Když intenzita elektrického pole mezi elektrodou a kolektorem přesáhne kritické hodnoty, tak roztok z vrcholu Taylorova konusu vytryskne do prostoru směrem ke kolektoru. Po pár milimetrech se proud roztoku začne v důsledku ohybové nestability ohýbat a stáčet do spirálovitého kužele, čemuž se říká bičování. Zároveň dochází k prodlužování a ztenčování vytrysknutého polymeru v důsledku pohybu jednotlivých segmentů polymeru po sobě (Thompson et al. 2007). Nakonec se původní polymerní roztok zhmotní na kolektoru jako tuhé vlákno. Hodnota kritické intenzity elektrického pole, odvozená z rovnice [1], je:

$$Ec = \sqrt[4]{\frac{4\gamma\rho g}{\varepsilon^2}} \quad [2]$$

Po zderivování této rovnice lze dojít ke vztahu, který vystihuje závislost výše zmíněných parametrů na vlnové délce, jenž udává vzdálenost mezi jednotlivými sousedními Taylorovými konusy, viz rovnice [3],[4].

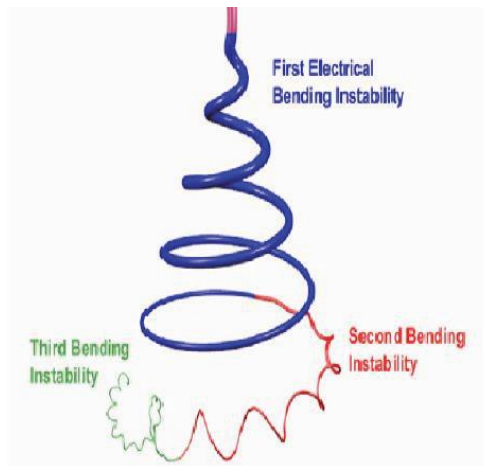
$$\lambda = \frac{12\pi\gamma}{2\varepsilon E_0^2 + \sqrt{(2\varepsilon E_0^2)^2 - 12\gamma\rho g}} \quad [3]$$

a kritická vlnová délka:

$$\lambda_c = \frac{2\pi}{k_c} = 2\pi a \quad [4]$$

a je kapilární délka, která je dána vztahem:

$$a = \sqrt{\frac{\gamma}{\rho g}} \quad [5]$$



Obr. 3.1: Proces bičování při elektrospinningu (Courtesy of Darrell Reneker, University of Akron)

Dalším velmi důležitým vztahem při zvlákňování z volné hladiny je klasický vztah mezi napětím a intenzitou elektrického pole ve statickém elektrickém poli, který je dán rovnicí:

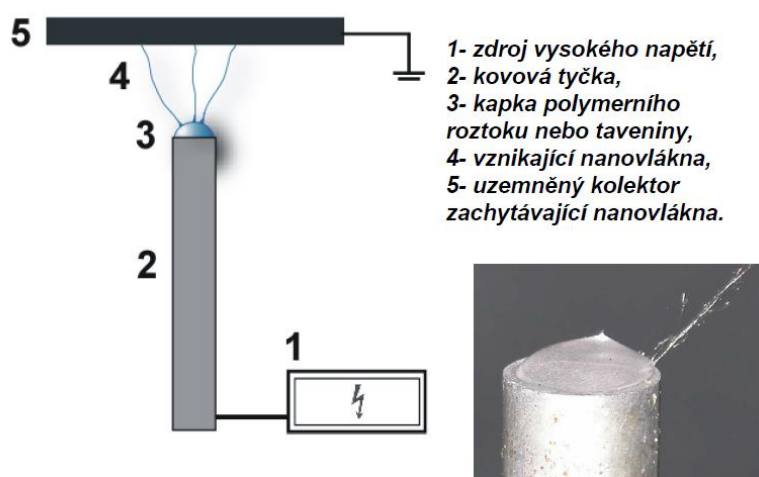
$$E = -\nabla V \quad [6]$$

Z této rovnice plyne, že důležitým faktorem je také tvar zvlákňovací hlavice, na které je zvlákňovaný roztok. V důsledku gradientu napětí bude vyšší koncentrace elektrického náboje v místech zakřivení zvlákňovací hlavice, tudíž se zde začnou vytvářet Taylorovy konusy dřívě, a při nižším napětí, než na zbytku volné hladiny (Lukas et al. 2008; Lin 2011).

3.1 Zvlákňování z kovové tyčky

Vzhledem ke své nenáročnosti, co se týče množství polymerního roztoku, je tento způsob zvlákňování vhodný pro laboratorní přípravu vrstev.

Základem aparatury je zdroj napětí, na který je připojena kovová tyčka s plochým hrotem jako elektroda. Na hrot tyčky se nanáší roztok polymeru, ze kterého se po přivedení napětí, obvykle v řádech desítek kilovoltů, začnou vytahovat vlákna na kolektor. Ten bývá vzdálený asi 10 centimetrů od kovové tyčky a má funkci uzemnění.



Obr. 3.2: Schéma zvlákňování z tyčky (Košťáková 2010)

3.2 Zvlákňování z válce

Metoda je uzpůsobena tak, že se válcová elektroda částečně ponoří do vany s polymerním roztokem. Otáčením válce vzniká na neponořené části válce tenká vrstva polymerního roztoku, kde se po přivedení kritického

napětí začnou vytvářet Taylorovy konusy a jsou generovány zvlákňovací trysky. Tyto trysky jsou rozmístěny spontánně po povrchu válce tam, kde je podle rovnice [2] dostatečná intenzita elektrického pole. Vzdálenost jednotlivých trysek od sebe je dána rovnicí [3], což při správné konfiguraci zajišťuje dostatečný počet polymerních trysek, aby byla tato metoda vhodná pro průmyslovou výrobu. Obchodní název stroje zvlákňujícího touto metodou je Nanospider.



Obr. 3.3: Zvlákňování z válce (Nanospider) (Lin 2011)

3.3 Podmínky ovlivňující zvlákňování

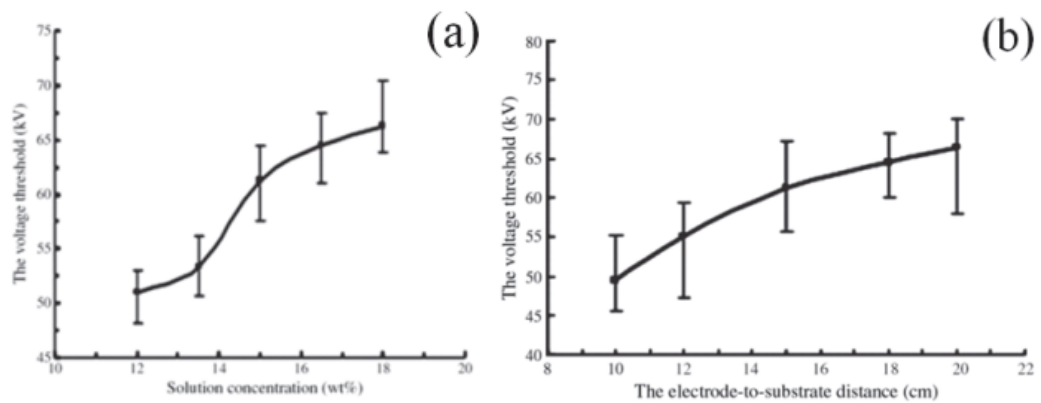
Elektrostatické zvlákňování je velice komplexní proces, který ovlivňuje mnoho podmínek, jež se dají rozdělit do dvou hlavních skupin. Procesní a materiálové podmínky. Aby došlo ke zvláknění roztoku, je třeba optimalizovat řadu procesních i materiálových parametrů.

3.3.1 Procesní podmínky

- Napětí
- Teplota okolí
- Vlhkost vzduchu
- Parametry aparatury

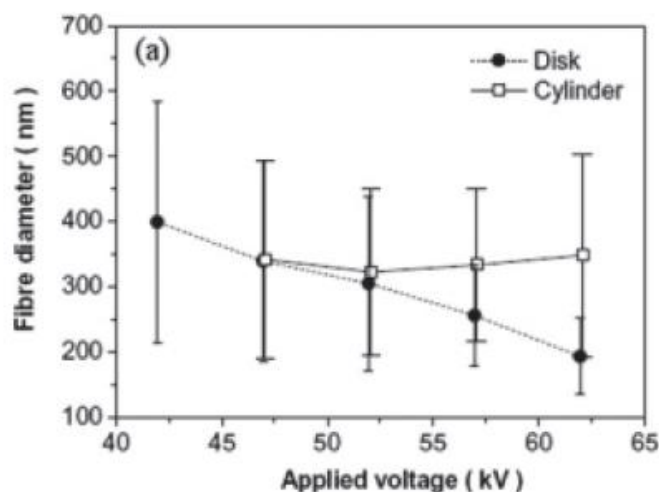
Napětí na elektrodě je jedním z nejdůležitějších parametrů, protože jak již bylo výše uvedeno, je to hlavní hnací síla celého procesu a zároveň ovlivňuje i vlastnosti vznikajících vláken. Pro vzestupné zvlákňování z volné

hladiny je potřeba vyvinout vysoké napětí, které bývá v řádech 10^4V . Napětí při zvlákňování polymerního roztoku je dále ovlivněno vlastnostmi materiálu, teplotou při které proces probíhá, vlhkostí okolního vzduchu nebo také vzdáleností kolektoru od elektrody. Se zvyšující se koncentrací a rostoucí vzdáleností kolektoru od elektrody roste i napětí potřebné pro iniciaci elektrospinningu, viz obr 2.3. To je dáno tím, že se vzrůstající koncentrací roztoku se zároveň zvyšuje jeho viskozita, čímž je potřeba větší množství energie pro vytvoření Taylorova konusu.



Obr. 3.4: (a) Závislost potřebného napětí pro elektrospinning na koncentraci roztoku, (b) závislost potřebného napětí na vzdálenosti elektrody od kolektoru (Lin 2011)

Samotné napětí při elektrospinningu má také vliv na vznikající vlákna. Přestože rozdíl není tak výrazný, tak se zvyšujícím se napětím mírně klesá průměr vznikajících vláken u zvlákňování z disku a u válcového Nanospideru je vliv už téměř zanedbatelný viz obr. 3.5 (Lin 2011; Košťáková 2010).



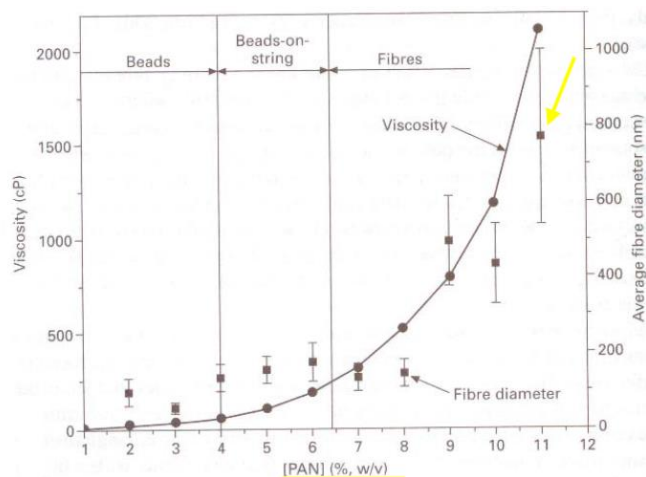
Obr. 3.5: Závislost průměru vznikajících vláken na zvyšujícím se napětí (Lin 2011)

3.3.2 Materiálové parametry

- Koncentrace roztoku
- Rozpouštědlo nebo jejich směs
- Povrchové napětí, viskozita
- Aditiva
- Typ polymeru (molekulová hmotnost, zapletení polymeru)
- Elektrická vodivost roztoku

Významnou roli hraje koncentrace roztoku. Při zvlákňování příliš zředěných roztoků dochází místo elektrospinningu k elektrospayingu a na kolektoru se vytvářejí kapičky tuhého polymeru. Naopak když použijeme příliš vysokou koncentraci, tak kritická hodnota intenzity elektrického pole pro vytvoření Taylorových konusů je příliš vysoká, v důsledku zvyšující se viskozity a tím i povrchového napětí, takže nedochází ke zvlákňování, ale roztok zgelovatí a ztuhne.

Zároveň má koncentrace roztoku významný vliv na průměr vznikajících vláken, přičemž se zvyšující se koncentrací roste průměr vláken (Abbasi et al. 2014).



Obr. 3.6: Závislost průměru vláken a defektních jevů na vzrůstající koncentraci roztoku (Košťáková 2010)

Proces elektrospinningu můžeme také ovlivnit přidáním vhodných aditiv, jako jsou například různé soli. Přidáním určitého množství soli do roztoku můžeme zvýšit hustotu náboje roztoku, čímž se zvýší také celková vodivost roztoku, což má při zvlákňování znatelný vliv například na průměr vláken nebo produktivitu (Cengiz a Jirsak 2009).

Dalšími významnými faktory jsou molekulová hmotnost a zapletení řetězce. Zapletení řetězce makromolekuly může přesně určit, jestli při zvlákňování budou na kolektoru vznikat kapky nebo vlákna. Pokud je tato hodnota menší než koncentrace zapletení c_e , jednotlivé makromolekuly polymeru jsou v roztoku mezi sebou příliš vzdálené na to, aby při zvlákňování došlo k vytvoření stabilního tryskajícího proudu roztoku. Z tohoto důvodu dochází namísto elektrospinningu k elektrospayingu a na zvlákněné vrstvě se vytváří kapky. Hodnota c_e pro polyamid 6,6 je podle předchozích výzkumů 15% (Abbasi et al. 2014). Podobnou vlastnost z hlediska zvlákňování má molekulová hmotnost polymeru, přičemž při určitých molekulových hmotnostech polymeru proces zvlákňování neprobíhá. Přestože při jiných je možné zvlákňovat (Lin 2011).

4 Hydrolýza nanovláknenné vrstvy PA66

Hydrolýzou nanovláknenné vrstvy polyamidu 6,6 dochází ke štěpení peptidických vazeb v makromolekule polymeru. Tento proces se dá vystihnout rovnicí:



4.1 Chemikálie používané pro hydrolýzu

Ke štěpení peptidické vazby se obvykle používají silné anorganické kyseliny. V dřívějších studiích byly hydrolýzy prováděny například pomocí kyselin sírové a chlorovodíkové. Kyselina sírová se ukázala být natolik silná, že polyamidový film rapidně rozpouštěla, z tohoto důvodu byla dána přednost kyselině chlorovodíkové, která se v reakci s filmem chovala šetrněji (Isgrove et al. 2001).

4.2 Faktory ovlivňující hydrolýzu

- Koncentrace kyseliny
- Teplota při reakci
- Doba trvání hydrolýzy

Nejdůležitějším faktorem při štěpení polyamidové vrstvy je koncentrace kyseliny. Se zvyšující se koncentrací kyseliny se podle očekávání zvyšuje hydrolyzovanost vrstvy, to platí, dokud nedosáhneme kritické koncentrace kyseliny, při které již dojde k úplné hydrolýze, neboli k úplnému rozpuštění vrstvy. Podle Isgrove et al. (Isgrove et al. 2001) dochází k hydrolýze PA66 při koncentraci kolem 3·3,1M v případě polymerního filmu.

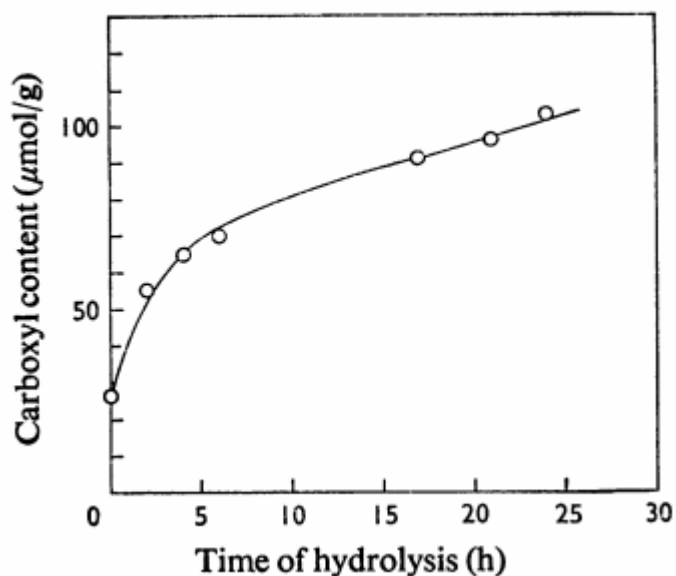
Dalším faktorem ovlivňující průběh hydrolýzy je teplota, při které proces probíhá. Podle klasické Arrheniovy rovnice:

$$k = A * e^{-\frac{E}{RT}}, \ln k = \ln A - \frac{E}{RT} \quad [7]$$

k je rychlostní konstanta, E aktivační energie, T teplota, A je frekvenční faktor a R je univerzální plynová konstanta

se zvyšující se teplotou také zvyšuje rychlost reakce a tím rychlost hydrolýzy. Stejně jako v případě koncentrace se toto děje až do kritické teploty, která se snižuje se vzrůstající koncentrací kyseliny. Při této teplotě již dojde k úplnému rozpuštění filmu (Isgrove et al. 2001).

V neposlední řadě je zde významným faktorem doba hydrolýzy. Se vzrůstajícím reakčním časem můžeme sledovat nárůst karboxylových skupin, které indikují vzrůstající počet rozštěpených peptidických vazeb.



Obr. 4.1: Závislost vzrůstajícího počtu karboxylových skupin na době hydrolýzy (Goldstein et al. 1974)

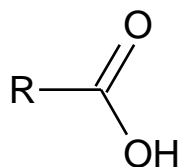
Jak můžeme vidět na obrázku, tak se vzrůstající dobou trvání reakce klesá rychlost přibývání karboxylových skupin, což je vysvětleno tím, že se ze vzorku začnou uvolňovat nízkomolekulární podíly polyamidu vzniklé hydrolýzou (Goldstein et al. 1974).

5 Využití hydrolyzované nanovláknenné vrstvy PA66 pro imobilizaci enzymů

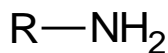
Enzymy jsou bílkoviny s katalytickou aktivitou. Využívají se pro katalýzu reakcí v mnoha průmyslových odvětvích např.: v potravinářství při výrobě piva, vína, při čištění odpadních vod, ve farmacii, v medicíně.

Výhodou imobilizace je, že uchycený enzym, na určitém pevném nosiči, může být opakovaně použit v různých prostředích, pokud neztratí svou enzymatickou aktivitu.

V případě nanovláknenné vrstvy PA66 jsou dvě možnosti uchycení enzymu a to na konci polymerního řetězce přes karboxylovou skupinu nebo přes aminoskupinu.



Karboxylová skupina



Aminoskupina

Tato práce by měla mít návaznost v imobilizaci enzymů využívající uchycení enzymu přes aminoskupinu. Postup uchycení enzymů β -glukosidasy a Trypsinu přes aminoskupinu již například popsal ve své práci Isgrove et al. (Isgrove et al. 2001). Proces navázání enzymu byl proveden skrze několikastupňovou syntézu. Celá syntéza probíhala při pH 8, které zajišťoval fosforečnan sodný, a po každém kroku byl vzorek důkladně promyt vodou. V prvním kroku byl hydrolyzovaný vzorek nylonu vložen na 15 minut do 2,5 % roztoku glutaraldehydu při pokojové teplotě. Glutaraldehyd slouží jako aktivátor aminoskupin. Z důvodu navýšení počtu vazebných míst pro enzym se vzorek nechá 60 minut inkubovat v 37 °C lázni, v roztoku s 1 % (v/v) polyethyleniminem. Ten vzhledem ke své rozvětvené struktuře velmi znásobí počet možných skupin pro navázání enzymu. Dalším krokem je omezení vlivu volných COOH skupin, které skrze elektrostatické síly zvyšují výskyt nevazebných interakcí, jako jsou třeba hydrofobní interakce mezi hydrofobními částmi ligandu a relativně

hydrofobními částmi nehydrolyzovaného povrchu nylonu. To se provede například 2 h inkubací v roztoku 2,5 mg/ml caseinu při teplotě 4 °C. Po tomto kroku se reaktivují aminoskupiny navázáním glutaraldehydu jako v prvním kroku. Na takto připravený vzorek je již možno navázat enzym, a to tím, že ho při 4 °C vložíme nejméně na 2 h do roztoku enzymu. Ideální množství enzymu v roztoku pro navázání je 1 mg/ml, ale pokud necháme reakci probíhat delší dobu (třeba i 24 h a víc), získáme srovnatelné výsledky i s méně koncentrovaným roztokem enzymu. Dalším krokem je vložení do 0,1 M roztoku NaBH₄ při pokojové teplotě, který stabilizuje Schiffovu vazbu mezi aldehydem a primárním aminem enzymu. Nakonec je vzorek s navázaným enzymem důkladně promyt nejen ve vodě, ale i v dalších roztocích (NaCl, Tween 80, Triton X-100), které zajistí odplavení zbytků nekovalentně vázaného enzymu.

Přes karboxylové skupiny v nylonu je možné navázat například enzymy pepsin a papain, které se váží čtyř stupňovou syntézou v prostředí acetaldehydu a triaminu (Goldstein et al. 1974).

6 Shrnutí teorie

Teoretická část práce se skládá z několika hlavních oblastí

- Polyamid 6,6
 - Popis výroby, struktury, fyzikálních a chemických vlastností PA66.
- Elektrostatické zvlákňování
 - Teoretický úvod do El-spinu, popis zvlákňovacích aparatur, podmínky ovlivňující zvlákňování.
- Hydrolýza nanovláknenné vrstvy PA66
 - Chemikálie používané pro hydrolýzu, faktory ovlivňující hydrolýzu.
- Využití hydrolyzované nanovláknenné vrstvy PA66 pro imobilizaci enzymů
 - Úvod do problematiky imobilizace enzymů a postup přípravy imobilizovaných vzorků.

7 Plán experimentu

Experimentální část se zaměřuje na několik hlavních oblastí

- Vytvořit kvalitní nanovláknennou vrstvu polyamidu 6,6
- Popsat morfologii vrstvy
- Řízeně hydrolyzovat tuto vrstvu
- Určit nárůst počtu aminoskupin ve vrstvě

8 Příprava nanovlákněné vrstvy polyamidu 6,6

8.1 Použité chemikálie

Polyamid 6,6

Pro zvlákňování byl použit granulovaný Ultramid A27E vyrobený firmou BASF Corporation, který má hustotu 1,12- 1,15 g/cm³ podle ISO 1183. Teplotu tání má určenou na 260°C podle ISO 3146, viskozitní číslo 142- 158 cm³/g podle normy ISO 307, relativní viskozita je podle stejné normy 2,62- 2,83 a nasákavost má 8,5 % při úplném nasycení vodou a teplotě 23 °C. Dodávaný je ve formě malých bílých granulí.

Kyselina mravenčí

Pro pokusy byla použita 98 % kyselina mravenčí vyráběna firmou Penta s.r.o. Číslo šarže 1808070813, indexové číslo 607-001-00-0. Molární hmotnost kyseliny je 46,03 g/mol a hustota 1,22 g/cm³

Kyselina octová

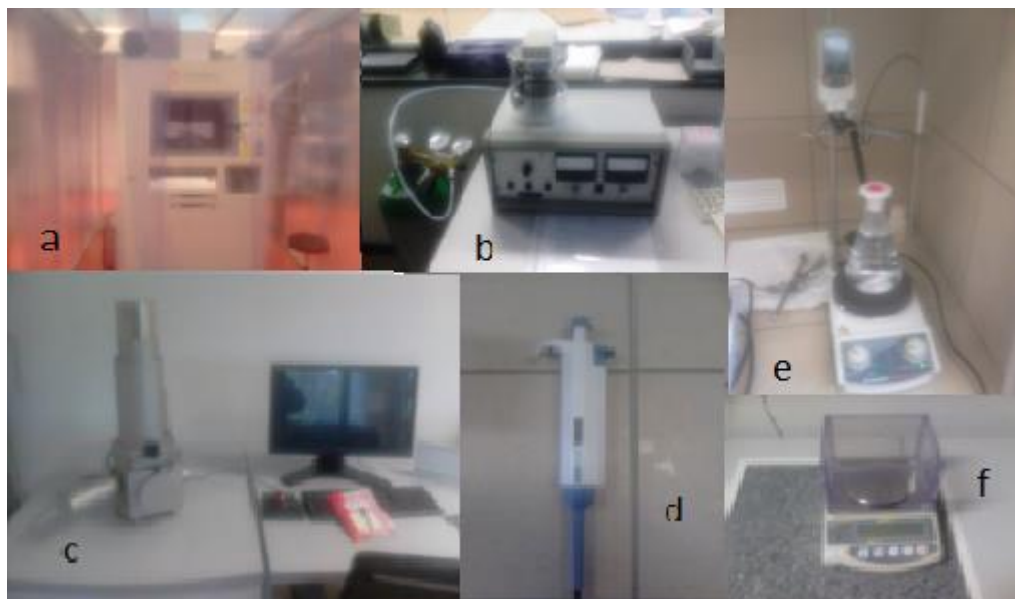
99 % kyselina dodávaná firmou Penta s.r.o. Číslo šarže 1904100414, indexové číslo 607-002-00-6. Molární hmotnost kyseliny je 60,05 g/mol a její hustota je 1,05 g/cm³.

8.2 Použité laboratorní pomůcky a zařízení

Veškeré pokusy a příprava vzorků byly prováděny v laboratořích na Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace v Liberci.

Laboratorní testovací vzorky byly zvlákňovány z tyčky pomocí přístroje, jehož schéma je popsáno v teoretické části práce a konkrétní přístroj byl vyroben přímo výzkumníky Ústavu. Obsahuje nastavitelnou vzdálenost kolektoru od elektrody a nastavitelný zdroj vysokého napětí.

Nanovlákněné vrstvy používané posléze v dalších experimentech byly vyrobeny přístrojem NS 1WS500U vyráběným firmou Elmarco.



Obr 8.1: Použité laboratorní pomůcky. (a) Nanospider NS 1WS500U, (b) Naprašovačka SC 7620 „MINI“, (c) skenovací elektronový mikroskop VEGA3 TESCAN, (d) mechanická pipeta BIOHIT, (e) magnetické míchadlo Heidolph MR Hei-Standard s teplotním senzorem, (f) laboratorní váhy KERN EW 620-3NM

8.3 Příprava vrstvy PA66 zvlákňováním z tyčky a pomocí nanospideru

Pro počáteční zkoušky byly vrstvy, z důvodu úspory materiálu, připravovány laboratorně pomocí zvlákňování z tyčky. Pro tuto metodu bylo potřeba připravit několik gramů polymerního roztoku polyamidu, který byl rozpuštěn v organické kyselině. Vzhledem k rozpustnosti polyamidu 6,6 byly zkoušeny dvě organické kyseliny, a to kyselina mravenčí (FA) a směs kyseliny octové s kyselinou mravenčí v objemovém poměru 2:1 (AA/FA).

8.3.1 Roztok PA66 ve směsi AA/FA zvlákňovaný z tyčky

Vzorky byly připravovány vždy v množství 5 g roztoku. Při prvním testu byly namíchány různé hmotnostní koncentrace roztoku do malých plastových lahviček, ve kterých byl posléze roztok 24 hodin míchán pomocí magnetického míchadla. Míchání probíhalo při laboratorní teplotě, která se

pohybovala od 18,9 °C do 21 °C. Po uplynutí 24 hodin byly roztoky odstraněny z míchadel a zvlákňovány z tyčky.

Tab. 8.1: Výsledky zvlákňování z tyčky roztoků PA66 rozpuštěných ve směsi kyselin

AA/FA	t= 18,9 °C	RH= 59± 0,2 %
w _c [%]	U [kV]	výsledek
13	56	nezvlákňovalo
15	56	nezvlákňovalo
17,5	56	nezvlákňovalo
20	56	nezvlákňovalo

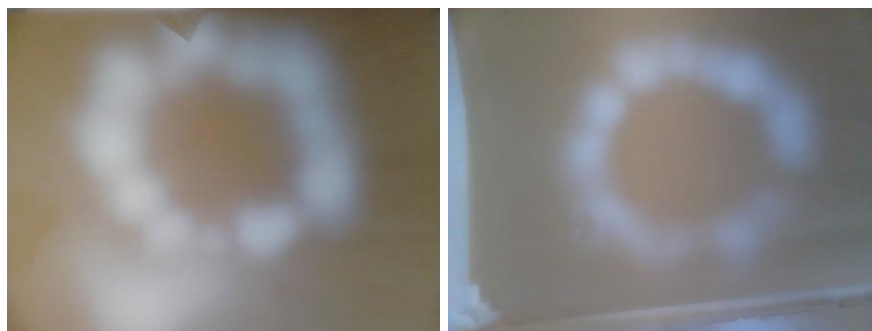
t je teplota při zvlákňování a RH je relativní vlhkost vzduchu při zvlákňování.

Jak je vidět v tabulce 8.1, zvlákňování nebylo úspěšné, což bylo pravděpodobně způsobeno tím, že se polyamid při pokojové teplotě zcela nerozpustil, takže skutečná koncentrace zvlákňovaného roztoku byla mnohem menší než teoretická a zároveň nedostatečná pro zvlákňování.

Z tohoto důvodu jsem při přípravě dalších vzorků zvýšil teplotu při míchání na 70 °C a použil nižší škálu hmotnostních koncentrací, aby se docílilo úplného rozpuštění polyamidu v roztoku. Zároveň je tato teplota vyšší než teplota skelného přechodu polyamidu, která se pohybuje v rozmezí 45-65 °C, což také může působit pozitivním efektem při zvlákňování.

Tab. 8.2: Výsledky zvlákňování roztoku polyamidu rozpuštěného ve směsi kyselin

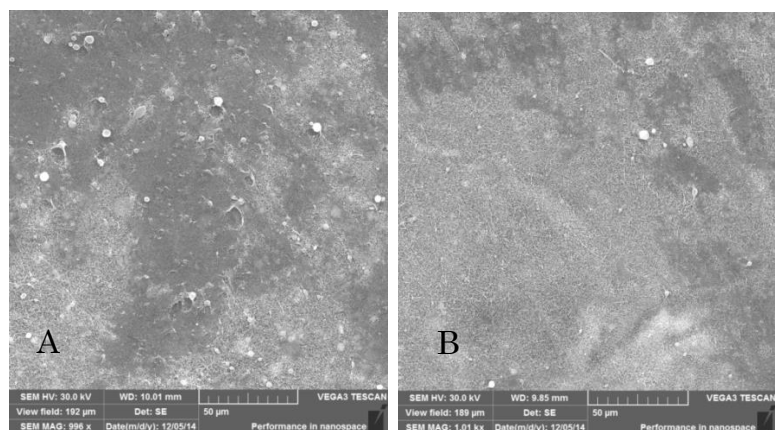
AA/FA				
w _c [%]	U [kV]	t [°C]	RH [%]	výsledek
8	38-40	21	48	KT*
10	38-40	21	48	KT
13	48-50	20	42	KT
15	48-50	20	42	KT



** Obr. 8.2: Uspořádání tzv. „kytka (KT)“ - charakteristický tvar zvlákněné vrstvy PA66 daný tvarem spinneru a podmínkami při zvláknění.*

Teplota 70 °C byla dostatečná pro úplné rozpuštění polyamidu v roztoku, v důsledku čehož bylo možné roztok zvláknit. Zároveň si můžeme z tabulky 8.1 a 8.2 všimnout závislosti teploty při zvláknění vzhledem k potřebnému zvláknovacímu napětí, kde se vzrůstající teplotou klesá napětí potřebné pro iniciaci zvláknovacího procesu. Výsledný kytkovitý tvar rozmístění vláken na podkladovém papíře je dán hlavně tvarem hlavice spinneru, který je plochý s kruhovou podstavou. Taylorovy konusy se jako první vytvářejí v místech s největší intenzitou elektrického pole a ta je, podle rovnice [6], na hranách kruhové podstavy.

Tabulka 8.2 je výsledkem okamžitého zvláknění roztoku poté, co byl odebrán z míchadla, takže roztok byl ještě zahřátý. Po vychladnutí roztoků zpět na laboratorní teplotu roztoky o hmotnostní koncentraci 13 a 15 % ztuhly, ale roztoky o koncentracích 8 a 10% zůstaly v tekutém stavu. Výsledek zvláknění těchto roztoků byl podobný jako u zahřátých roztoků, ale byl znát vyšší výtěžek než v předchozím případě. To mohlo být způsobeno tím, že po zchladnutí roztoku při této hraniční koncentraci docházelo méně intenzivně k elektro sprayingu. To je vidět i na obrázku 8.3, kde jsou snímky z elektronového mikroskopu a při porovnání zvlákněného roztoku před a po zchladnutí je pozorovatelný znatelný úbytek defektů, které jsou způsobeny právě elektro sprayingem. Zároveň je na obou snímcích vidět, že na velké části vzorku nedochází k zvláknění, ale vytváří se polymerní film, což bývá způsobeno příliš nízkou koncentrací polymeru. Při vyšším zvětšení je znát, že kvalita vláken není příliš dobrá, viz Obr. 8.4.

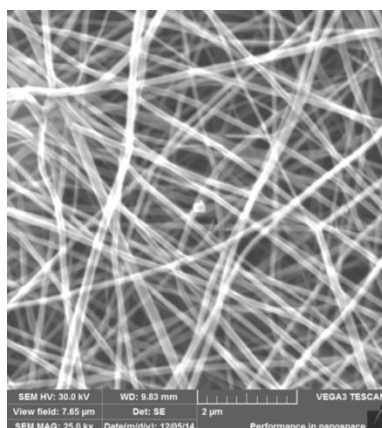


Obr. 8.3: Snímky nanovláknenných vrstev ze SEM při zvětšení 1 kx. (A)- 8 % roztok zvlákňovaný při $T=70\text{ }^{\circ}\text{C}$. (B)- 8 % roztok zvlákňovaný při $T=21\text{ }^{\circ}\text{C}$.



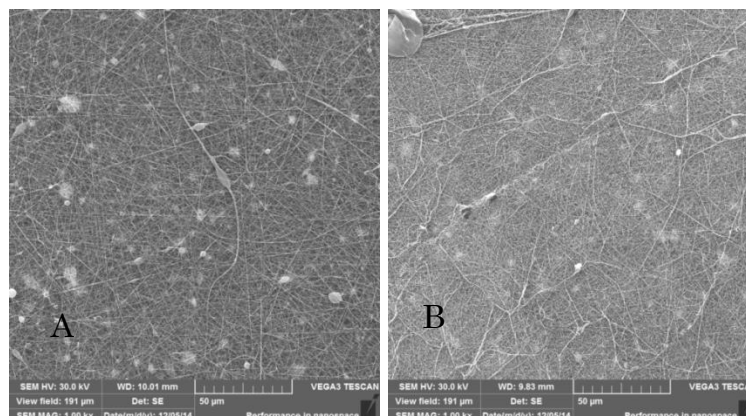
Obr. 8.4: Snímek ze SEM, zvětšení obrázku „8.3 A“. Zvětšení 15 kx.

Při zvyšování koncentrace roztoku mizí polymerní film a už se vytváří jen vlákna. Tento trend je pozorovatelný již u 10 % koncentrace roztoku, kde jsou vlákna při vyšším zvětšení již velmi kvalitní, viz Obr. 8.5



Obr. 8.5: Snímek ze SEM. 10 % koncentrace roztoku PA66 ve směsi AA/FA zvlákňovaná po zchlazení při zvětšení 25 kx

a zároveň je i opět pozorovatelný velký úbytek defektů na nanovláknenné vrstvě viz Obr. 8.6.



Obr. 8.6: Snímky ze SEM při zvětšení 1 kx. (A)- 10 % roztok zvlákněvaný při $T=70\text{ }^{\circ}\text{C}$. (B)- 10 % roztok zvlákněvaný po zchlazení

Úbytek defektů je pozorovatelný nejen v porovnání vychlazený a nevychlazený roztok, ale také v porovnání různých koncentrací roztoku, přičemž je dán trend, že se vzrůstající koncentrací ubývají defekty. Naopak nevýhodou zvyšování koncentrace je skutečnost, že s ní roste i průměr vláken viz Tab. 8.3.

Tab. 8.3: Průměr vláken v nanovláknenné vrstvě polyamidu 6,6

Průměr vláken	
w_c [%]	d [nm]
10	94,12
13	121,84
15	203,83

Po zhodnocení výše uvedených výsledků byly roztoky o koncentraci 10 a 13% použity k přípravě nanovláknenné vrstvy na Nanospideru. Ukázalo se však, že oba roztoky jsou po zchlazení velmi nestálé a i 10 % roztok během přibližně jedné hodiny ztuhl. Z tohoto důvodu by pro časově dlouhodobější zvlákněvaní musely být roztoky průběžně zahřívány, což v podmínkách Nanospideru není technicky možné.

8.3.2 Roztok polyamidu 6,6 ve směsi FA zvlákňované z tyčky

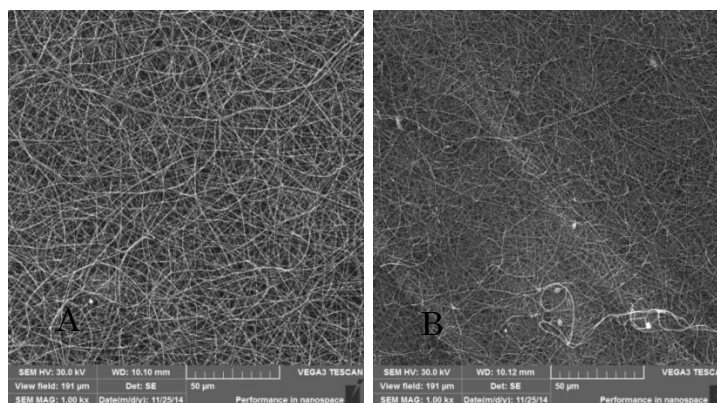
Jako při přípravě roztoku PA66 v AA/FA byly namíchány 5 g roztoky o různých hmotnostních koncentracích polyamidu, které byly ponechány 24 hodin na magnetickém míchadle při laboratorní teplotě.

Tab. 8.4: Výsledky zvlákňování z tyčky roztoků PA66 rozpuštěných v kyselině mravenčí

FA	t= 18,9 °C	RH= 59± 0,2 %
w _c [%]	U [kV]	výsledek
13	53- 54	kytka
15	56	kytka
17,5	57	zvlákňovalo na celém povrchu
20	55- 56	kytka

Všechny roztoky byly po míchání na magnetickém míchadle zcela rozpuštěné, což ukazuje, že kyselina mravenčí je lepším rozpouštědlem PA66 než směs kyselin. Výsledek zvlákňování byl také znatelně lepší, což je vidět v tabulce 8.4. Všechny roztoky bylo možné zvlákňovat, přičemž roztok o koncentraci 17,5 % zvlákňoval dokonce na celém povrchu kolektoru, což je způsobeno optimálním nastavením procesních parametrů, zejména viskozity a zvlákňovacího napětí.

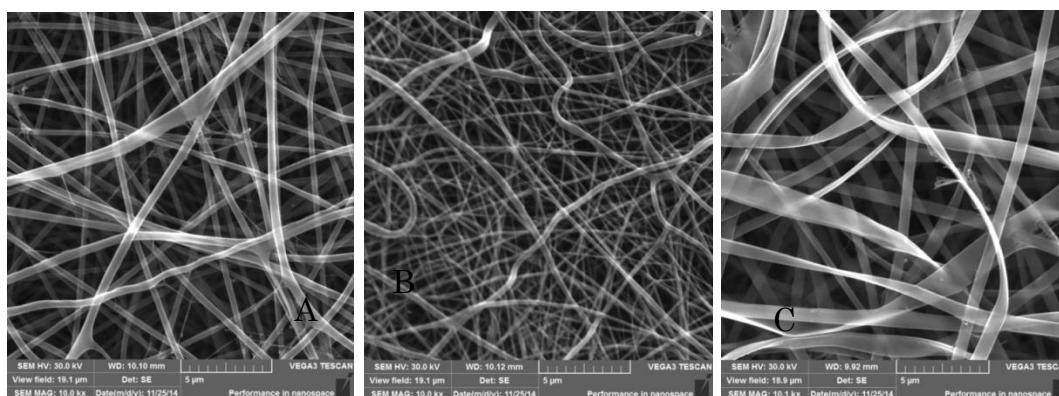
Při pohledu na snímky těchto vrstev pomocí elektronového mikroskopu vidíme, že se téměř nevyskytují artefakty vzniklé elektrosprayingem viz Obr. 8.7. Zároveň při pohledu na kvalitu vláken a velmi malé množství defektů vzniklých elektrosprayingem na snímku (A) můžeme usuzovat, že kritická koncentrace roztoku pro zvlákňování, při daných podmínkách, je výrazně nižší.



Obr. 8.7: Snímky ze SEM při zvětšení 1 kx. PA66 rozpuštěný v FA. (A)- 13 %, (B)- 15 %

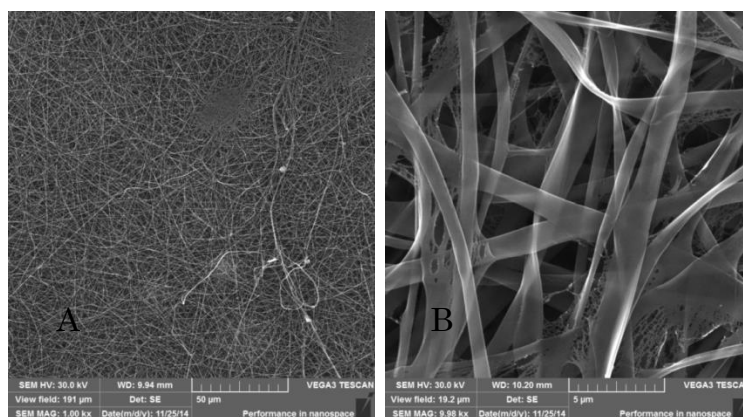
Při vyšším zvětšení je patrné, že 13 % vzorek stále obsahuje defekty, které jsou ve formě „pavučinek“ mezi vlákny viz Obr. 8.8 (A). Příklad pavučinového defektu je zvýrazněn v příloze C. U vyšších koncentrací zvlákněvaného roztoku tyto defekty mizí. Zároveň ale opět narůstá průměr vláken. Z tohoto důvodu bude vhodnější pro vymizení těchto defektů změnit jiný parametr zvláknování.

Tímto vyzkoušeným parametrem bylo přidání tří kapek vody, které by měly ovlivnit disociaci kyseliny v polymerním roztoku. Snímky z elektronového mikroskopu ovšem ukázaly, že mezi vzorky zvlákněnými s kapkami vody a bez nich není žádný znatelný rozdíl.



Obr. 8.8: Snímky ze SEM při zvětšení 10 kx. PA66 rozpuštěný v FA při laboratorní teplotě. (A)- 13 %, (B)- 15 % a (C)- 20 %.

U těchto vzorků byl zároveň zkoumán vliv stárnutí roztoku, přičemž byly nechány jeden týden v uzavřených lahvičkách při laboratorní teplotě. Po týdnu byl roztok stále stabilní a tekutý. Přesto kvalita vláken zvlákněné vrstvy velmi klesla, což je vidět na Obr. 8.9. Nanovláknenná vrstva obsahuje velké množství defektů a při vyšším zvětšení je vidět, že na mnoha místech se mezi vlákny vytvářejí pavučinky.



Obr. 8.9: Snímky ze SEM. Vzorky zvlákněných roztoků PA66, které byly nechány týden „stárnout“ při laboratorní teplotě. (A)- 15 % roztok při zvětšení 1 kx, (B)- 17,5 % roztok při zvětšení 10k.

8.3.3 Zvláknování pomocí Nanospideru

Pomocí zvláknování z tyčky není možné vytvořit ani dostatečně velkou, ani dostatečně rovnoměrnou vrstvu, která je potřeba pro další testování. Z tohoto důvodu byly větší vrstvy připravovány pomocí Nanospideru, který tyto nároky splňuje. Vzhledem k předchozím testům byla jako rozpouštědlo pro přípravu polymerních roztoků použita kyselina mravenčí. Hlavním důvodem bylo, že roztok FA s PA66 je mnohem stálejší než roztok PA66 ve směsi AA/FA. Další důvod byl, že v prostředí Nanospideru byla mnohem nižší vlhkost vzduchu, což mohlo působit kladným efektem na odstranění pavučinových defektů, které byly pozorovány např. na Obr. 8.9.

Parametry nastavení Nanospideru při zvláknování:

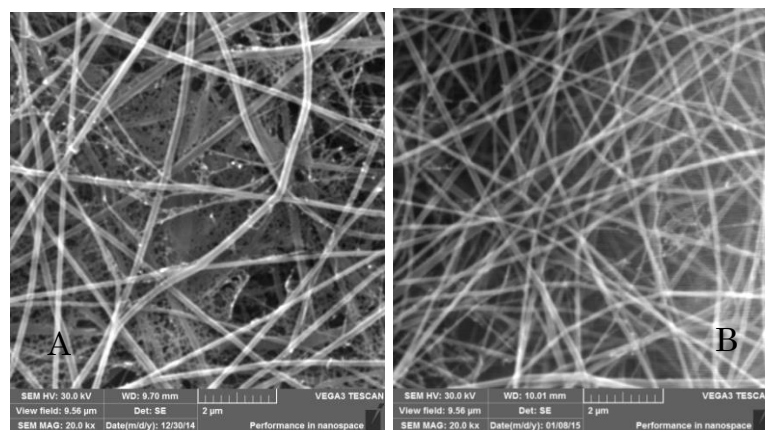
- Vzdálenost elektrod: 175 mm
- Rychlost posuvu struny: 0,2 mm/s

- Rychlost posuvu hlavy: 350-450 mm/s na 500 mm/s
- Podkladový materiál: BP se silikonem
- Napětí: -30/60 kV
- Odtahy: 90/100 m³/h

Tab. 8.5: Výsledky zvlákňování PA66 v FA na Nanospideru.

Vzorek	wc [%]	Počet vrstev	GSM [g/m ²]	Rychlost posuvu podkladu [mm/min]	Velikost průvlaku [mm]	Průměr vláken [nm]	Výsledek
1	11	1	1,13	30	0,5	104,44	velmi kvalitní vlákna téměř bez defektů
2		1	1,83	15	0,5	95,93	velmi kvalitní vlákna bez defektů
3		3	5,54	15	0,6	93,5	velmi tenká vlákna s malým množstvím pavučinkových defektů
4		3	6,43	15	0,5	135,3	velké množství pavučinkových defektů mezi vlákny
5	13	1	1,2	30	0,5	138,84	velmi kvalitní vlákna s malým množstvím pavučinkových defektů
6		1	2,16	15	0,5	149,34	velmi podobné jako u vzorku 5, ale vlákna méně kvalitní
7		2	3,89	15	0,5	119,43	kvalitní vrstva s minimálním počtem pavučinových defektů
8		3	5,82	15	0,5	108,8	kvalitní vlákna s malým množstvím pavučinových defektů
9	15	1	0,97	30	0,5	154,68	velmi kvalitní vlákna s malým množstvím pavučinkových defektů
10		1	2,85	15	0,5	173,91	téměř stejné jako vzorek 9, ale více pavučinových defektů
11	14	1	1,13	30	0,5	147,7	kvalitní vlákna, ale místy husté sítě pavučinek mezi nimi
12		1	2,18	15	0,5	147,89	stejná kvalita vrstvy jako u vzorku 11
13	17,5	1	1,38	30	0,6	484,3	roztok gelovatěl na struně, zploštěná vlákna
14		1	3,17	15	0,6	420,46	roztok zasychal na struně, zploštělá vlákna ale téměř bez defektů
15	20	1	-	15	0,7 a 1	1046,1	nepovedená vrstva, roztok zasychal na struně a ucpal ji

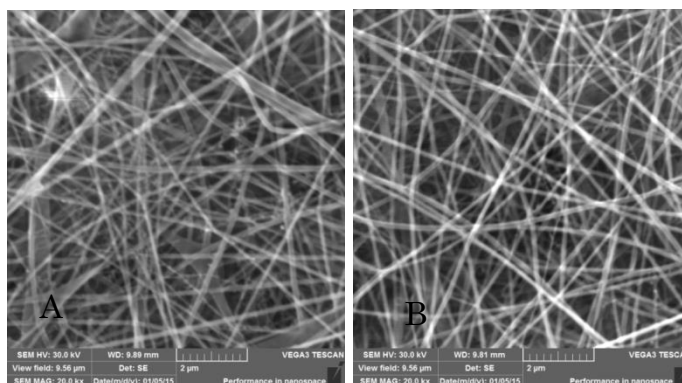
V tabulce 8.5 jsou zaznamenány výsledky jednotlivých zvláknovacích testů. V této tabulce nejsou zaznamenány další dvě velmi důležité proměnné, které také měly obrovský vliv na výslednou podobu zvlákněné vrstvy, a těmi jsou teplota při zvláknování a vlhkost vzduchu, které se pohybovaly v rozmezí $HR = 10-31 \%$ a $T = 22-25 \text{ }^\circ\text{C}$. Přesto i bez diskutování těchto dvou proměnných z této tabulky můžeme vyčíst mnoho jednotlivých závislostí. Například, že s klesající rychlostí posuvu podkladu roste nelineárně výtěžek vláken. U 13 % roztoku je vidět, že s přibývajícemi vrstvami mírně průměr vláken klesá, což je dáno tím, že přibývajícemi vrstvami působí jako dielektriku, a tím mírně snižují zvláknovací napětí. To má za následek mírný úbytek v průměru vláken. Tento efekt není pozorovaný u vzorku 4, což ovšem způsobila vysoká vlhkost vzduchu. Na obrázku 8.10 je ukázán pro porovnání příklad pavučinových defektů, které byly zmíněny v části výsledků tabulky 8.5. Na obrázku (A) je velké množství defektů a na obrázku (B) je malé množství.



Obr. 8.10: Snímky vzorků z tabulky 5.5 ze SEM při zvětšení 20 kx. (A)- vzorek 11, (B)- vzorek 8.

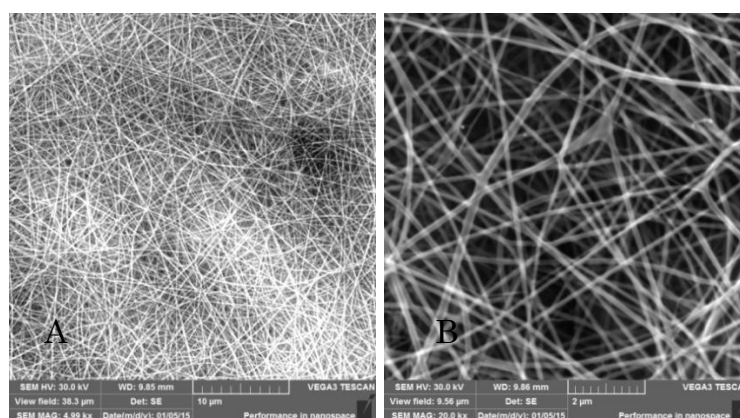
Jak již bylo psáno výše, obrovský vliv na tvorbu těchto pavučinových defektů má vlhkost vzduchu. Na obrázku 8.11, kde je zvláknovaný vzorek číslo 1, můžeme tento vliv pozorovat. Při zvláknování bylo nejdříve na začátku pomocí sušárny docíleno $RH = 8,8\%$. V tu chvíli můžeme pozorovat, že na nanovlákněné vrstvě se mezi vlákny mírně tvořily pavučinky. Po 11

minutách zvlákňování byla sušárna vypnuta, díky čemuž postupně začala vlhkost narůstat až na $RH= 18,7\%$ a na snímku ze SEM můžeme pozorovat, že defekty téměř úplně vymizely. K tomu mohla částečně přispět i teplota vzduchu během procesu, ale ta se výrazně neměnila, z $24,1^{\circ}C$ vzrostla na $24,4^{\circ}C$.



Obr. 8.11: Snímky ze SEM vzorku č. 1 z Tab. 8.5 při zvětšení 20 kx. (A)- vzorek při $RH= 8,8\%$ a $T= 24,1^{\circ}C$, (B)- vzorek při $RH= 18,7\%$ a $T= 24,4^{\circ}C$.

Jak je již patrné z hodnocení kvality vrstvy v tabulce 8.5. Nejlépe se podařilo optimalizovat procesní i materiálové parametry zvlákňování u vzorku číslo 2, tedy 11% hmotnostní koncentrace PA66 v FA. Při výše uvedených procesních parametrech byla $RH= 18,8\%$ a teplota vzduchu $T= 24,5^{\circ}C$. Mikroskopické snímky této nanovlákněné vrstvy jsou v různých přiblíženích na obrázku 8.12.



Obr. 8.12: Snímek ze SEM vzorku č. 2 z Tab. 8.5. (A)- při zvětšení 5 kx, (B)- při zvětšení 20 kx

9 Závěr z přípravy nanovlákněné vrstvy PA66

Pro přípravu nanovlákněné vrstvy byly používány roztoky PA66 rozpuštěné ve dvou různých rozpouštědlech, a to kyselině mravenčí (FA) a směsi kyselin octové a mravenčí v poměru 2:1 (AA/FA). Z pokusů vyplynulo, že směs kyselin není vhodné rozpouštědlo pro PA66, protože roztok vytvořený tímto rozpouštědlem je velice nestálý za laboratorní teploty (18-21°C), a proto by musel být zvlákněn za vyšší teploty, což je v podmínkách použitého Nanospideru nemožné. Přesto je možné i pomocí tohoto rozpouštědla vytvořit kvalitní vrstvy s dobrým výtěžkem.

Pro PA66 je vhodnější rozpouštědlo FA než směs FA/AA, dokonce ho při laboratorní teplotě bylo možné zvláknit i po týdenním odstavení. Vzniklá vrstva ovšem obsahovala mnohem větší množství defektů než vrstva vzniklá zvlákněním hned po odebrání z míchačky a vychladnutí na laboratorní teplotu. To nás přivádí k tomu, že se pro zvláknění ukázalo výhodným rozpouštět PA66 při vyšší teplotě, v našem případě 70 °C. V obou případech rozpouštědel to vedlo ke zmenšení počtu defektů na nanovlákněné vrstvě.

Vzhledem k možnosti zvláknit roztok PA66 v FA při laboratorní teplotě byly tedy různé hmotnostní koncentrace tohoto roztoku použity k vytvoření nanovlákněné vrstvy pomocí Nanospideru. Ukázalo se, že na kvalitu vrstvy má vliv mnoho parametrů, z nichž některé byly stále pro všechny pokusy např.: napětí při zvláknění, vzdálenost elektrod, rychlost posuvu struny atd. a některé byly proměnné, jako například koncentrace roztoku, vlhkost vzduchu, teplota při zvláknění, počet vrstev, rychlost posuvu podkladu, průměr průvlaku. Při změnách těchto proměnných bylo pozorováno mnoho závislostí např.: se zvyšující se koncentrací roztoku roste nelineárně průměr vláken a roztoky nad 17,5% se již těžce zvláknují, s navyšujícím se počtem vrstev naopak mírně klesá průměr vláken a výtěžek narůstá také nelineárně. Pokud jde o kvalitu zvlákněné vrstvy, je třeba optimalizovat všechny výše uvedené proměnné, a to zejména vlhkost vzduchu a teplotu, které mají velký vliv na množství defektů, s koncentrací. Optimalizované hodnoty procesních parametrů, které vedly k vytvoření kvalitní vrstvy bez

defektů, jsou uvedeny v tabulce 9.1. Průměr průměrů vláken této vrstvy byl 95,9 nm, což splňuje definici nanočástic.

Tab. 9.1: Procesní parametry nanovlákněné vrstvy bez defektů

w_c [%]	Počet vrstev	Rychlost posuvu podkladu [mm/min]	Velikost průvlaku [mm]	T [°C]	RH [%]
11	1	15	0,5	24,5	18,8

10 Diskuze z přípravy nanovláknenné vrstvy PA66

Kladný efekt rozpouštění PA66 za vyšší teploty může být vysvětleno tím, že snižuje krystalinitu PA66, čím větší je podíl krystalické fáze, tím hůře se roztok zvlákňuje. Teplota 70 °C je vyšší než teplota skelného přechodu PA66, která je v rozmezí 45-60 °C.

Zvýšení počtu defektů způsobené stárnutím roztoku je možné vysvětlit tím, že postupem času kyselina mravenčí štěpí makromolekuly polymeru, čímž zhoršuje vlastnosti roztoku pro zvlákňování.

Nárůst průměrů vláken s koncentrací roztoku, je dán tím, že se polymerní makromolekuly více, a ve větším množství, překrývají. Roztoky s koncentrací vyšší než 17,5 % se při daných podmínkách, hlavně vlhkosti vzduchu a teploty, v Nanospideru špatně zvlákňují, protože viskozita roztoku začíná být již příliš vysoká pro vytvoření Taylorových konusů a polymerních trysek, takže roztok zasychá na struně. S vyšším počtem vrstev mírně klesá průměr vláken. Děje se to v důsledku snižování napětí při zvlákňování. Již nanesené vrstvy PA66 odstiňují elektromagnetické pole vytvořené mezi elektrodami. Je to také důvod, proč výtěžek vrstvy nenarůstá lineárně s přibývajícím počtem vrstev.

11 Řízená hydrolýza nanovláknenné vrstvy PA66

11.1 Použité chemikálie

Kyselina chlorovodíková

35 % kyselina dodávaná firmou Penta s.r.o. Číslo šarže 1812181213, indexové číslo 017-002-01-X. Molární hmotnost kyseliny je 36,46 g/mol a hustota 1,18 g/cm³.

Hydroxid sodný

Použitý hydroxid v čisté formě byl dodán firmou Penta s.r.o. Číslo šarže má 1704190412, indexové číslo 011-002-00-6. Molární hmotnost má 40 g/mol.

11.2 Postup přípravy hydrolyzovaných vzorků

Pro hydrolýzu byly používány čtvercové vzorky nanovláknenné vrstvy se stranou o rozměrech 2 cm. Tyto vzorky byly vloženy do Erlenmeyerovy baňky, kde byla kyselina chlorovodíková o určité koncentraci. Hydrolýza probíhala určitou dobu, po kterou byly roztoky míchány elektromagnetickým míchadlem. Po uplynutí doby hydrolýzy byly vzorky vyjmuty z roztoku a pro zastavení další hydrolýzy byly neutralizovány pomocí 0,1 M hydroxidu sodného. Vzorek byl promyt destilovanou vodou a poté testován.

11.3 Výsledky hydrolýzy PA66

Pro výpočet počtu aminoskupin, viz odstavec 11.4.3, v hydrolyzované vrstvě je podle vzorce nejdříve nutné zjistit plochu testovaného vzorku. Z toho důvodu jsem zjišťoval, jak se plocha vzorku mění v závislosti na koncentraci použité kyseliny a na celkové době hydrolýzy.

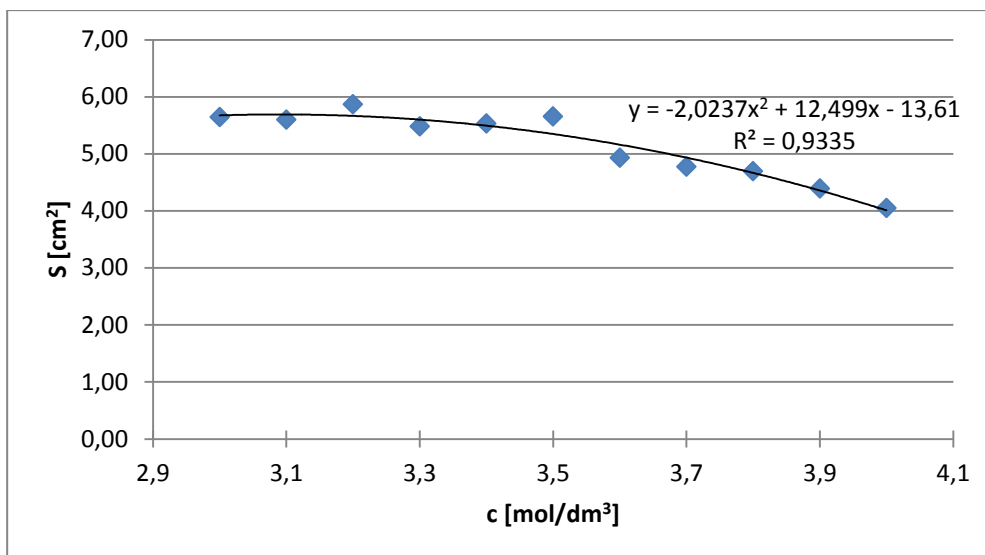
Molární koncentrace HCl byly od 3 M do 4 M kyseliny. Rozdíly mezi jednotlivými koncentracemi byly 0,1 M. Jak můžeme vidět v tabulce 11.1, se zvyšující se koncentrací kyseliny klesá plocha vzorku po hydrolýze, což je

dáno tím, že HCl postupně rozpouští nanovlákná PA66. V tabulce je pro porovnání také uveden referenční vzorek, který byl vložen do vody a vysušen. Je spočítán průměrem z pěti vzorků. Snížení plochy u tohoto vzorku je dáno smršťováním vláken PA66 ve vodě. Plocha vzorku S se spočítá $2 \cdot a \cdot b$, protože hydrolýza probíhá v ploše.

Tab. 11.1: Tabulka vyjadřující úbytek plochy vzorku v závislosti na molární koncentraci kyseliny použité pro hydrolýzu

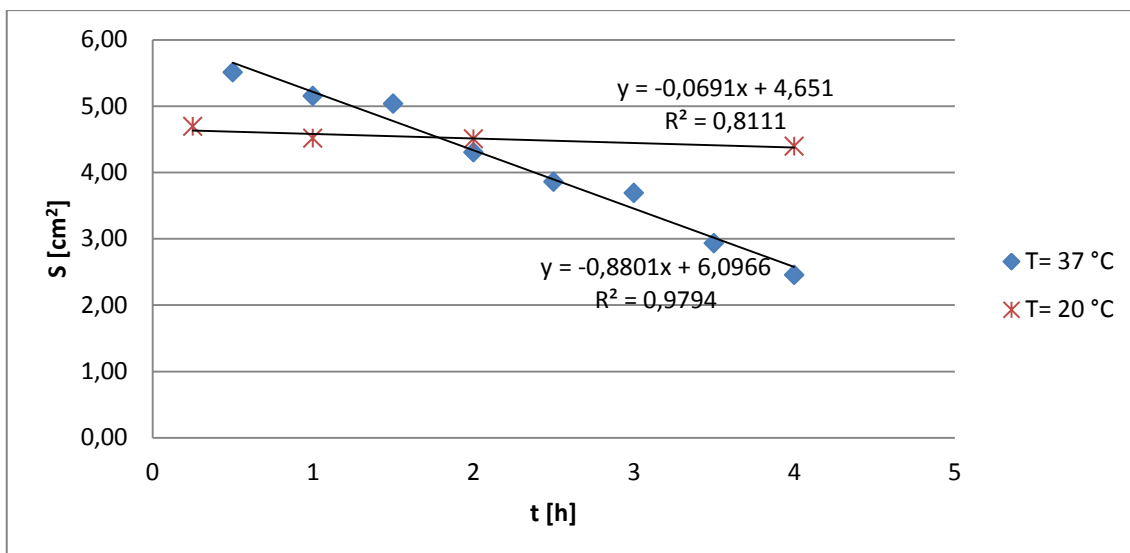
c [mol/dm ³]	strana a [cm]					strana b [cm]					ϕ_a [cm]	ϕ_b [cm]	S [cm ²]
Ref	1,85	1,82	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,82	1,81	1,80	6,54
3	1,71	1,7	1,7	1,73	1,75	1,65	1,7	1,66	1,6	1,6	1,72	1,64	5,64
3,1	1,7	1,62	1,6	1,6	1,6	1,71	1,75	1,73	1,71	1,72	1,62	1,72	5,60
3,2	1,7	1,7	1,7	1,68	1,68	1,77	1,75	1,8	1,7	1,65	1,69	1,73	5,87
3,3	1,65	1,65	1,65	1,65	1,7	1,7	1,65	1,65	1,65	1,6	1,66	1,65	5,48
3,4	1,65	1,61	1,62	1,65	1,65	1,66	1,69	1,7	1,7	1,7	1,64	1,69	5,53
3,5	1,69	1,7	1,7	1,7	1,7	1,62	1,67	1,66	1,68	1,69	1,70	1,66	5,65
3,6	1,6	1,59	1,51	1,5	1,5	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,54	1,60	4,93
3,7	1,6	1,6	1,6	1,55	1,55	1,49	1,5	1,5	1,51	1,55	1,58	1,51	4,77
3,8	1,5	1,5	1,55	1,51	1,51	1,6	1,6	1,55	1,5	1,5	1,51	1,55	4,69
3,9	1,5	1,48	1,42	1,45	1,5	1,5	1,5	1,5	1,49	1,48	1,47	1,49	4,39
4	1,45	1,4	1,4	1,45	1,47	1,41	1,4	1,4	1,4	1,45	1,43	1,41	4,05

Všechny vzorky byly hydrolyzovány po dobu 15 minut. Pro názornost byly plochy jednotlivých hydrolyzovaných vzorků vyneseny do grafu 11.1. Výsledné hodnoty se s poměrně dobrou přesností dají proložit kvadratickou křivkou, jejíž rovnice je také v grafu. Z této rovnice vyplývá, že vzorek vrstvy PA66 by měl být zcela rozpuštěn při koncentraci kyseliny 4,76 mol/dm³. Při experimentech byl vzorek úplně rozpuštěn HCl o koncentraci 4,8 mol/dm³, což potvrzuje správnost regresní křivky. Druhý kořen křivky nemá praktický význam, protože má koncentraci HCl příliš nízkou, aby došlo k hydrolýze PA66.



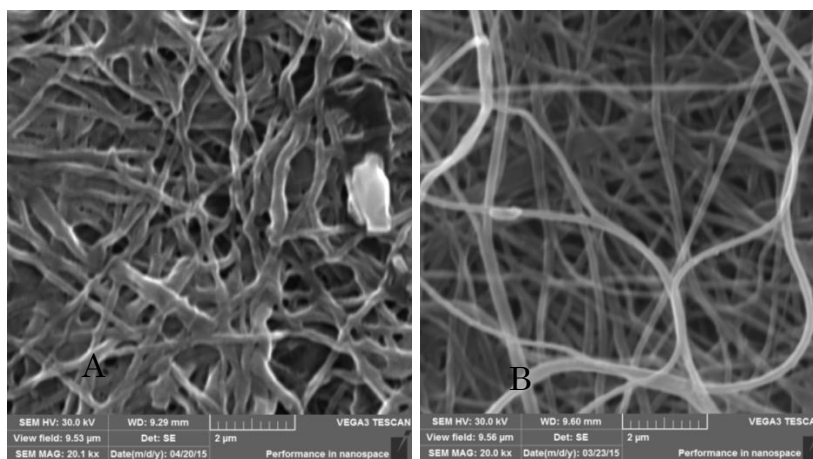
Graf 11.1: Závislost poklesu plochy vzorků PA66 po hydrolýze v HCl o různých molárních koncentracích. Hydrolýza probíhala 15 minut při laboratorní teplotě.

Kromě sledování účinku změny koncentrace na změnu plochy vzorku bylo třeba zjistit časový vliv. Časový vliv hydrolýzy na plochu vzorků byl zkoumán od 0,5 do 4 hodin. Koncentrace kyseliny použité pro hydrolýzu byla 3,8 mol/dm³. Tato koncentrace byla použita, protože se ukázala pro hydrolýzu jako optimální, což bude podrobněji vysvětleno dále. Zároveň byly vzorky testovány při různých teplotách, laboratorní (cca 20 °C) a 37 °C. Jak můžeme vidět na grafu 11.2, s postupem času hydrolýzy lineárně klesá plocha zkoumaných vzorků. Počáteční plochy vzorků se liší, což je dáno tím, že pro tyto pokusy byly použity různé nanovlákněné vrstvy s různými GSM a různou morfologií. Pro teplotu 20 °C byla použita vrstva 8 z tabulky 8.5, kde GSM je 5,82 a pro teplotu 37 °C byla použita vrstva 4 z téže tabulky, která má GSM 6,43. Z regresních rovnic je vidět, že rychlost reakce se zvýšenou teplotou vzrostla 12,74 krát, to je přibližně ve shodě s Arrheniovou rovnicí.



Graf 11.2: Závislost poklesu plochy vzorků PA66 na době hydrolyzy. Molární koncentrace použité kyseliny byla 3,8 mol/dm³. Vzorky byly hydrolyzovány při různých teplotách, a to 20 °C (laboratorní teplota) a 37 °C.

V závislosti na účincích hydrolyzy byla také zkoumána změna morfologie nanovlákněné vrstvy. Na obrázku 11.1 můžeme vidět porovnání snímků ze SEM pro hydrolyzovanou vrstvu v 3,8 M HCl a nehydrolyzovaný referenční vzorek, který byl na 15 minut ponořen do vody. Je vidět, že vlákna jsou po hydrolyze silnější, což způsobuje nasákavost polyamidu. Zároveň je vidět změna morfologie vláken účinkem HCl.



Obr. 11.1: Snímek PA66 ze SEM při zvětšení 20 kx. Porovnání morfologie nanovlákněné vrstvy před a po hydrolyze. (A)- hydrolyzovaný vzorek v 3,8 M HCl, doba hydrolyzace 2,5 hodiny. (B)- nehydrolyzovaný vzorek, který byl na 15 minut namočen do vody a vysušen

Jak již bylo výše uvedeno, hydrolýza ovlivňuje průměr vláken testovaných PA66 vrstev a tím i specifický povrch, který se spočítá:

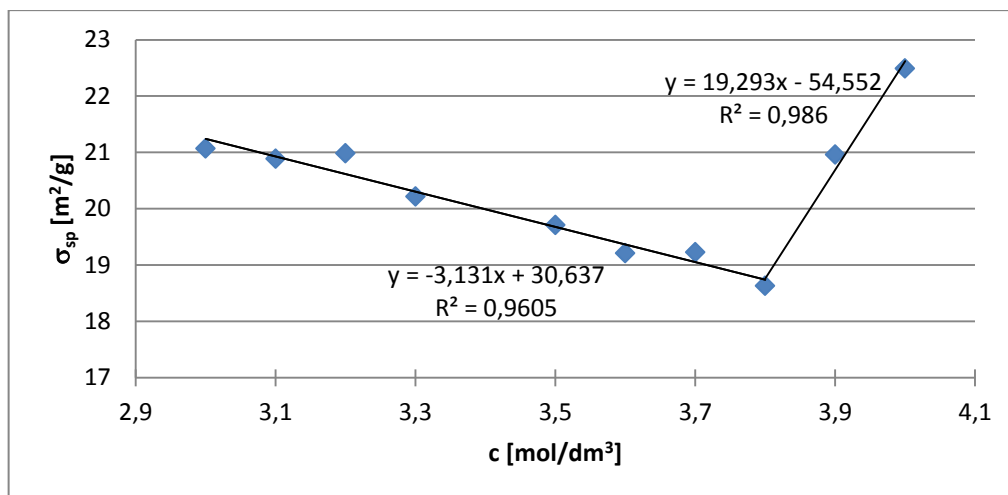
$$\sigma_{sp} = \frac{4}{D * \rho * 1000} \quad [8]$$

Kde σ_{sp} [m^2/g] je specifický povrch vrstvy, D [m] je průměr vláken a ρ [kg/m^3] je hustota PA66. V tabulce 11.2 je vidět vliv molární koncentrace HCl na průměr vláken PA66 při hydrolýze.

Tab. 11.2: Porovnání průměrů vláken a specifického povrchu referenčního vzorku, který byl namočen do vody se vzorky, které byly hydrolyzovány různě koncentrovanou HCl za laboratorní teploty.

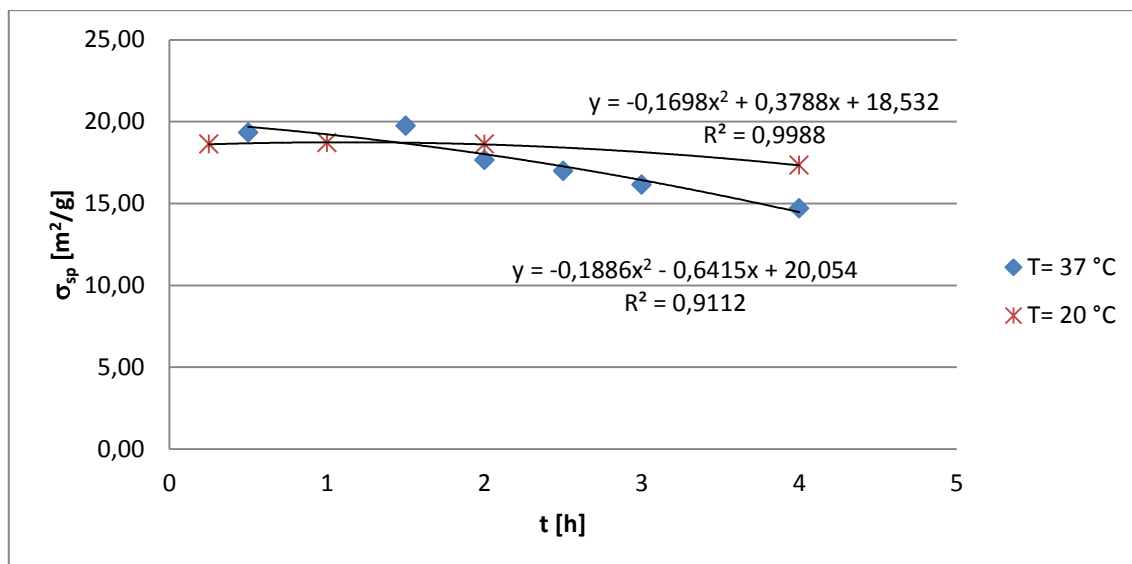
c [mol/dm^3]	Ref	3	3,1	3,2	3,3	3,5	3,6	3,7	3,8	3,9	4
Počet objektů	49	50	50	50	50	49	50	50	50	50	50
Min. hodnota	74,7	79,7	105,5	107	99,2	123,2	98,6	97,8	134,7	112,9	111,3
Max. hodnota	279,6	378,3	370,8	391	249,6	301,3	343,4	379,1	326,8	390,1	269,2
Průměr	169,2	168	169,5	169	175,1	179,6	184,3	184,1	190	168,9	157,4
Směrodat. odchylka	42,2	70,1	41	52,9	33,3	38,8	57	52,7	45,9	55	32,8
Specifický povrch	19,75	19,89	20,88	20,98	20,22	19,71	19,21	19,23	18,63	20,96	22,49

Změna specifického povrchu vzorků byla vynesena do grafu 11.3. Jak můžeme vidět, při nižších koncentracích HCl klesá specifický povrch vzorků, což může být zapříčiněno nasákavostí PA66, která je až 8,5 %. Naproti tomu však působí naleptávání vláken způsobené kyselinou, přičemž při vyšší koncentraci HCl tento efekt převládá a vlákna se začínají rychle štěpit. Regresní křivky v grafu 11.3 nám říkají, že zlom nastává okolo koncentrace HCl 3,8 M, pravděpodobně však nebude tak ostrý, jak je ukázáno v grafu.



Graf 11.3: Závislost změny specifického povrchu testovaných vzorků PA66 na použité koncentraci HCl při hydrolýze za laboratorní teploty.

Specifický povrch nezávisí jen na použité koncentraci HCl při hydrolýze, ale jeho změna je pozorovatelná i v závislosti na době hydrolýzy viz graf 11.4. Specifický povrch byl měřen pro hydrolýzu 3,8 M HCl při teplotách 20 °C a 37 °C. Pokud by pokles specifického povrchu byl v důsledku nasákavosti PA66, tak nám regresní křivky říkají, že specifický povrch bude kvadraticky klesat až do určitého bodu nasycení a zvýšením teploty tento proces urychlíme. Pro měření při jednotlivých teplotách byly použity vrstvy PA66 s různou morfologií stejně jako u grafu 11.2. To je důvod počátečního rozdílů ve specifickém povrchu, který je vidět na grafu. Použité vzorky při jednotlivých teplotách jsou shodné se vzorky z grafu 11.2.



Graf 11.4: Závislost změny specifického povrchu testovaných vzorků PA66 na době hydrolyzace při dvou různých teplotách. Hydrolyza byla prováděna 3,8 M HCl.

Důležitým faktorem pro další použití hydrolyzovaných vzorků je jejich mechanická pevnost po hydrolyze. Z testů mechanické pevnosti v tahu vyplynulo, že po 15 minutové hydrolyze v 3,8 M HCl se pevnost v tahu testovaného vzorku, oproti pevnosti nehydrolyzovaného vzorku, téměř nezmění, viz příloha A. F_{\max} nehydrolyzovaného vzorku byla 15,5 N a hydrolyzovaného 14,24 N, což ukazuje, že vzorky mají po hydrolyze dostatečnou pevnost pro další manipulaci. Testy probíhaly podle normy Edana 20.1-89 na stroji LabTest 2.050 společnosti LaborTech.

11.4 Důkaz provedené hydrolyzy u vzorků PA66

11.4.1 Použité chemikálie

Roztok 0,05 % methylované s 0,1 M NaH₂PO₃

Byl použit laboratorně připravený roztok z chemikálií, které dodala firma Lachema N.P. Brno. Molární hmotnost methylované je 327,33 g/mol a dihydrogenfosforečnanu sodného je 119,98 g/mol.

K_2CO_3

Použit byl čistý uhličitan draselný dodaný firmou Lachema N.P. Brno, jehož molární hmotnost je 138,21 g/mol.

11.4.2 Použité laboratorní pomůcky a zařízení

FTIR spektrometr

Použitý spektrometr vyrobila firma Thermo scientific pod názvem Smart™ iTX Accessory for the Nicolet™ iS™10 FT-IR Spectrometer. Je určen pro široké spektrum pevných materiálů. Měřicí aparatura obsahuje diamantový krystal s možností výměny za ZnSe nebo Ge krystal, což umožňuje širokospektrou analýzu vzorku.

UV/VIS spektrometr

Byl použit spektrometr firmy GBC Scientific Equipment Ltd, která ho vyrábí pod názvem Cintra 202 UV Visible Spectrometer. Rozsah vlnových délek pro měření má od 190- 1200 nm.



Obr. 11.2: Použité laboratorní přístroje. Vlevo FTIR spektrometr, vpravo UV/VIS spektrometr.

11.4.3 Metody pro zjištění úrovně hydrolýzy PA66 vzorků

FTIR spektroskopie

FTIR je kvalitativní i kvantitativní analytická technika využívající infračervené záření k excitaci rotačních a vibračních stavů molekul ve zkoumané látce. Excitací látky se sníží energie dopadajícího záření a tento úbytek je roven rozdílů v energiích určitých rotačních nebo vibračních stavů

ve zkoumané látce. Analýzou energie výstupního signálu dostáváme charakteristické údaje o zkoumané látce. Citlivost vystupujícího signálu je v této metodě dále zvýšena Fourierovou transformací, která je realizována modulací výstupního signálu interferometrem (Vodičková 2014).

Určení počtu aminoskupin v látce pomocí methylovanž

Metoda využívá methylovanž jako kyselého barviva, které se naváže na aminoskupiny obsažené v polyamidu 6,6. Poté se vzorek promyje vodou, aby se odstranila veškerá nenavázaná methylovanž. Posléze se navázaná methylovanž v bazickém prostředí, pomocí uhličitanu draselného, zase uvolní. Vzhledem k tomu, že se jedna molekula methylovanže váže na jednu aminoskupinu, tak roztok vzniklý reakcí uhličitanu nese informaci o počtu aminoskupin ve vzorku. U tohoto roztoku je následně změřena absorbance metodou UV/VIS při vlnové délce 465 nm, při které má methylovanž absorpční maximum. Výsledný vztah pro určení počtu aminoskupin ve vzorku je dán rovnicí:

$$C' = 1300 * \frac{A}{F} \quad [9]$$

C' [1/nm²] je počet aminoskupin na nanometr čtvereční, *A* je absorbance a *F* [cm²] je povrch látky (HARTWIG et al. 1994).

11.4.4 Měření počtu aminoskupin ve vzorcích PA66

FTIR spektroskopie

Hydrolyzované vzorky byly nejdříve testovány pomocí FTIR spektroskopie. Spektrograf, porovnávající křivky získané z referenčního vzorku PA66 a vzorků PA66 hydrolyzovaných v 3,8 M HCl a 4 M HCl po dobu 15 minut při laboratorní teplotě, je k nahlédnutí v příloze B. Je na nich pozorovatelná zvýšená intenzita v 2. amidickém píku (1530 cm⁻¹), který je dán valenční vibrací C=O a deformační vibrací N-H, u hydrolyzovaných vzorků oproti referenčnímu. Zároveň i zvýšená intenzita valenční vibrace N-H, která je na reciproké vlnové délce 3300 cm⁻¹. Také můžeme pozorovat

změnu v intenzitě záření, co se týče struktury CH₂ skupin, které vyzařují okolo reciproké vlnové délky 2860 cm⁻¹. 1. amidický pík (1640 cm⁻¹), který je dán valenční vibrací C=O a deformační vibrací N-H, zůstal u vzorků neměnný. Ze změny intenzit 2. amidického píku oproti 1. amidickému píku můžeme usuzovat, že nastala určitá změna karbonylové skupiny oproti amidické skupině v peptidické vazbě PA66. Tato změna ovšem není rozštěpení vazby, protože v tom případě by byl pozorovaný vznik píku okolo 3500 cm⁻¹, který by poukazoval na výskyt vazby NH₂. Z tohoto důvodu je změna podílu intenzit 1. a 2. amidického píku způsobena spíše změnou konformace v peptidické vazbě. Na změnu konformace v makromolekule ukazuje i již výše zmíněná změna intenzity záření u CH₂ vazeb. Záření, pomocí kterého FTIR detekuje, je schopné proniknout přibližně 2 μm do materiálu. Detekční limit u FTIR spektroskopie je 1-2 %. Vzhledem k tomu, že testujeme vlákna, jejichž průměr je přibližně 100- 200 nm a hydrolýza by měla poškodit jen povrch těchto vláken, tak změna provedená na povrchu vláken vlivem hydrolýzy bude pravděpodobně pod detekčním limitem FTIR spektroskopie.

Určení počtu aminoskupin pomocí methylované

V případě zkoušky na zjištění počtu aminoskupin ve vzorku pomocí methylované se vzorky vložily na 1 hodinu do 10 ml roztoku 0,05% methylované s 0,1 M NaH₂PO₄. To způsobilo kovalentní navázání methylované na aminoskupiny obsažené v PA66. Po uplynutí jedné hodiny byly vzorky vyjmuty z roztoku a promyty deionizovanou vodou, aby se odstranily zbytky nekovalentně vázané methylované. Poté se vzorky nechaly reagovat s 10 ml roztokem K₂CO₃ po dobu 15 minut, který způsobil odváznutí kovalentně vázaných skupin methylované, což se projevilo zbarvením roztoku do žlutooranžové. Takto vzniklý roztok byl odsát do skleněné lahvičky a použit pro změření absorbance pomocí UV/VIS spektroskopie.

Za předpokladu, že hydrolýza nanovlákných vzorků PA66 probíhá jen na povrchu těchto vzorků, můžeme pro výpočet počtu aminoskupin ve

vzorcích použít rovnici [9]. V tabulce 11.3 jsou zobrazeny výsledné hodnoty počtu aminoskupin ve vzorcích, které byly hydrolyzovány v různých koncentrované HCl po dobu 15 minut a při laboratorní teplotě. Reálně neprobíhá hydrolyza jen na povrchu, ale také ani v celém objemu vzorku. Pokud by se vzorec přepočítal přes specifický povrch, dostali bychom vztah pro hydrolyzu v celém vzorku:

$$C' = 1300 * \frac{A}{\sigma_{sp} * GSM * S * 10^{-8}} \quad [10]$$

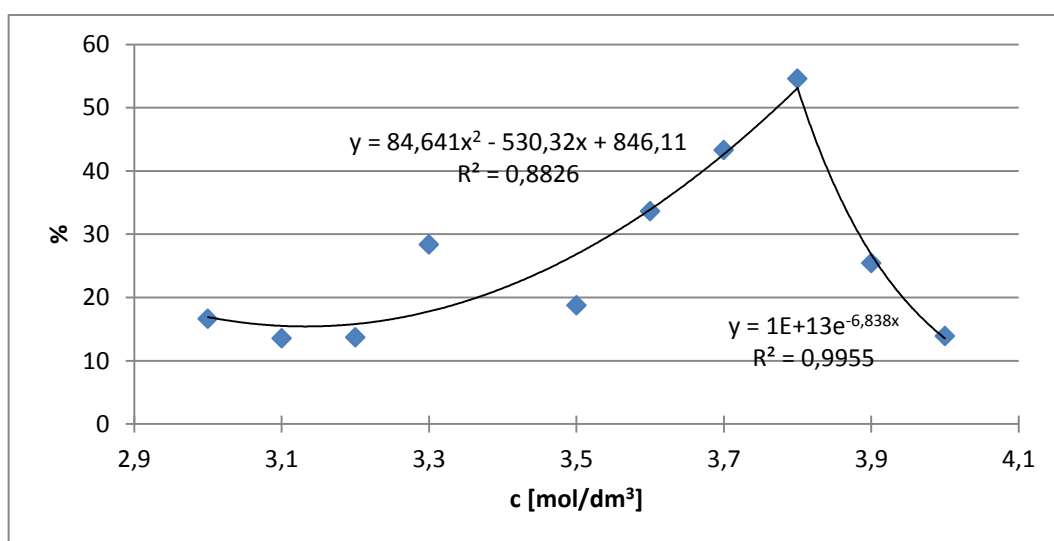
Kde σ_{sp} [m^2/g] je specifický povrch vzorku, GSM [g/m^2] je hmotnost nanovlákněné vrstvy na metr čtvereční a S [cm^2] je plocha vzorku.

Výsledné počty aminoskupin na jeden nm^2 by podle této rovnice [10] vycházely v řádu 10^7 - 10^8 , což je také prakticky nemožné. Reálně tedy bude hydrolyza probíhat jen do určité hloubky vrstvy, která závisí na pórovitosti vzorku. Vzhledem k tomu, že v důsledku nasákavosti při hydrolyze nanovláknena zvyšují svůj průměr, tak hloubka hydrolyzované oblasti nebude tak velká oproti průměru vzorku a výsledný počet aminoskupin bude více odpovídat výsledkům, které získáme z rovnice [9] viz Tab. 11.3.

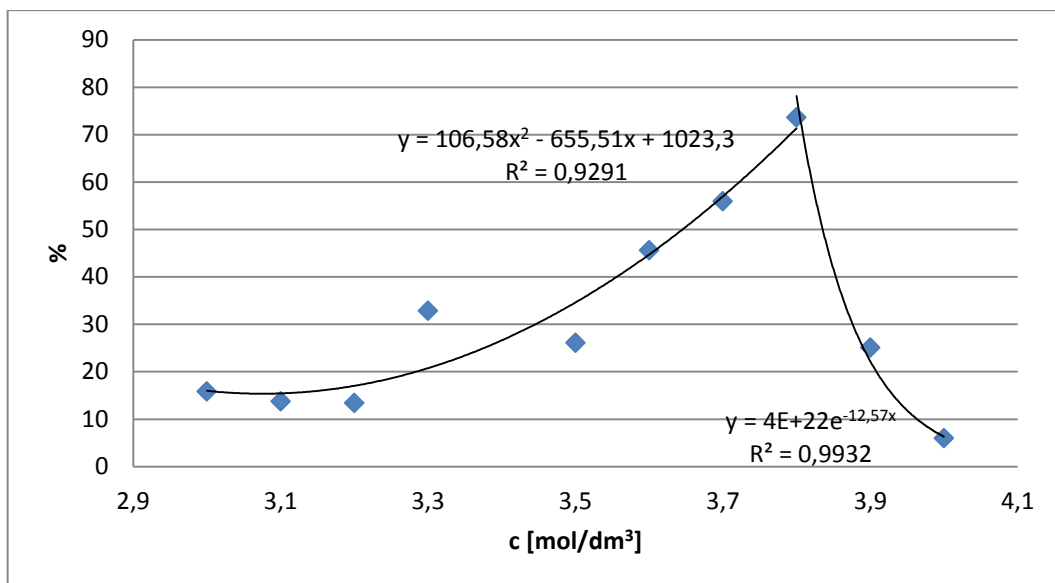
Tab. 11.3: Počet aminoskupin v testovaných vzorcích a jejich procentuální nárůst oproti referenčnímu vzorku v závislosti na koncentraci HCl při hydrolyze.

c [mol/dm ³]	S [cm ²]	Absorbance	C' [1/nm ²]	Procentuální zvýšení C' [%]
Ref	6,54	0,2232	44,33	-
3	5,64	0,2244	51,71	16,63
3,1	5,60	0,2168	50,33	13,53
3,2	5,87	0,2275	50,40	13,69
3,3	5,48	0,2398	56,91	28,36
3,5	5,65	0,2289	52,66	18,78
3,6	4,93	0,2246	59,25	33,64
3,7	4,77	0,2332	63,53	43,31
3,8	4,69	0,2474	68,53	54,57
3,9	4,39	0,1879	55,61	25,44
4	4,05	0,1573	50,50	13,90

Přesto pokud porovnáme procentuální zvýšení aminoskupin oproti referenčnímu vzorku, který nebyl hydrolyzován, tak zjistíme, že křivky získané výpočtem z jednotlivých rovnic jsou velmi podobné, viz graf 11.5 a 11.6. Regresním křivkám, kterými jsou závislosti na grafech proloženy, dokonce více odpovídá graf vzniklý výpočtem z rovnice [10], což je způsobeno tím, že v této rovnici je zohledněn i specifický povrch vzorků (tím i částečně změna velikosti pórů vzorku), který se mění v závislosti na koncentraci HCl při hydrolyze, viz graf 11.3.

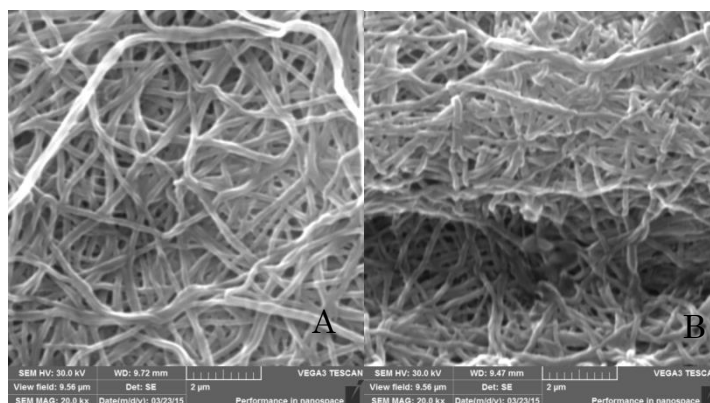


Graf 11.5: Závislost procentuálního zvýšení aminoskupin ve vzorku PA66 při hydrolyze různě koncentrovanými HCl. Doba hydrolyzy 15 minut při laboratorní teplotě. Počítáno podle rovnice [9].



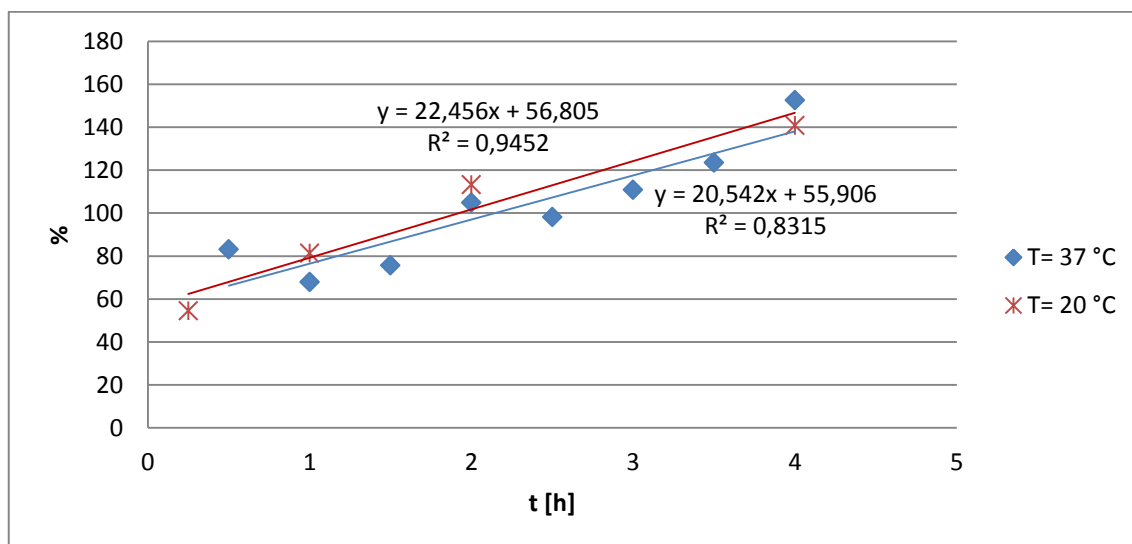
Graf 11.6: Závislost procentuálního zvýšení aminoskupin ve vzorku PA66 při hydrolýze různě koncentrovanými HCl. Doba hydrolýzy 15 minut při laboratorní teplotě. Počítáno podle rovnice [10].

Rozdíl mezi grafy 11.5 a 11.6 ohledně procentuálního zvýšení aminoskupin je dán rozdílem specifických povrchů referenčního vzorku a testovaných vzorků. Procentuální maxima, která jsou při hydrolýze 3,8 M HCl, opět nebudou ostrá, ale zlom který v nich nastává, bude pravděpodobně způsoben tím, že jednotlivá vlákna se vlivem silného poškození začínají spojovat a tím velmi snižují reaktivní povrch. Tento efekt můžeme pozorovat na obrázku 11.3.



Obr 11.3: Snímky ze SEM při zvětšení 20 kx. (A)- je vzorek hydrolyzovaný 3,8 M HCl po dobu 15 minut při laboratorní teplotě a (B)- vzorek hydrolyzovaný 4 M HCl za stejných podmínek.

Časový vývoj procentuálního zvýšení počtu aminoskupin při hydrolýze 3,8 M HCl můžeme sledovat na grafu 11.7. Zde vidíme dvě křivky pro hydrolýzu při různých teplotách. Při teplotě 20 °C je procentuální nárůst aminoskupin mírně vyšší než při teplotě 37 °C, což může být vysvětleno stejně jako v předchozím případě snížením reaktivního povrchu.



Graf 11.7: Procentuální zvýšení počtu aminoskupin, oproti nehydrolyzovanému vzorku, v závislosti na době hydrolýzy u vzorků, které byly hydrolyzovány 3,8 M HCl při různých teplotách, 37 °C a 20 °C.

12 Závěr z řízené hydrolýzy nanovláčenné vrstvy PA66

Závěr jsem rozdělil do dvou hlavních oblastí. V první části jsem řízeně hydrolyzoval vrstvu PA66 a zkoumal její vlastnosti. Při zjišťování kritické koncentrace HCl, při které se vrstva ještě nerozpustí, jsem zjistil, že se nanovláčenné vzorky okamžitě rozpouští až při koncentraci HCl 4,8 mol/dm³, což je mnohem více než hodnota udávaná v literatuře nebo v článku, např. 3-3,1 M (Isgrrove et al. 2001). U nižších koncentrací bylo zjištěno, že plocha vzorků se se vzrůstající koncentrací HCl kvadraticky snižuje. Kromě koncentračního vlivu HCl na hydrolýzu byl sledován také časový vliv na průběh hydrolýzy při teplotách 20 °C a 37 °C. Bylo zjištěno, že v průběhu 4 hodin, při hydrolýze 3,8 M HCl, rozpouštěním lineárně klesá plocha vzorků. Zvýšením teploty při hydrolýze docílíme urychlení rozpouštění, což potvrzuje Arrheniovu rovnici. Kromě plochy vzorků jsem pomocí SEM zkoumal i vliv hydrolýzy na průměr vláken, a tím i specifický povrch vrstvy. Z testů vyplynulo, že s přibývajícím koncentrací HCl při hydrolýze se snižuje specifický povrch vzorků, až do koncentrace 3,8 M. Při vyšší koncentraci se specifický povrch začíná opět zvyšovat. Prodloužení doby hydrolýzy při koncentraci HCl 3,8 M způsobilo další pokles specifického povrchu a zvýšení teploty mělo stejný účinek jako v předchozím případě neboli urychlení reakce. Zároveň jsem testoval mechanickou pevnost v tahu u vzorku, který byl hydrolyzován 15 minut v 3,8 M HCl při laboratorní teplotě. Nehydrolyzovaný referenční vzorek měl maximální pevnost $F_{max} = 15,5$ N, hydrolyzovaný $F_{max} = 14,24$ N, takže hydrolýzou zůstane dostatečná pevnost vzorku pro další manipulaci.

V druhé části jsem se snažil dokázat úroveň hydrolýzy vrstvy a hlavně zvýšení počtu aminoskupin oproti nehydrolyzovanému vzorku PA66. Pro dokazování jsem vyzkoušel dvě metody: FTIR spektroskopii a důkaz aminoskupin pomocí methylovaného. V jiných pracích byly vyzkoušeny i jiné metody např. titrační dokázání COOH skupiny methanolátem sodným (Goldstein et al. 1974). FTIR spektroskopie prokázala jen konformační

změnu v nanovláčkové vrstvě, ale zvýšení počtu aminoskupin bylo pod detekčním limitem této metody.

Pro určení počtu aminoskupin pomocí navázání methylovaných, jsme museli učinit předpoklad, že hydrolyza probíhala jen na povrchu vzorku. Z důvodu tohoto předpokladu nejsou výsledné hodnoty počtu aminoskupin na jeden nm^2 reálné, ale procentuální zvýšení počtu aminoskupin reálné je. Procentuální nárůst počtu aminoskupin ve vzorku PA66 je až do hodnoty 3,8 M HCl kvadratický v závislosti na zvyšující se koncentraci HCl při hydrolyze. Hydrolyzy probíhaly 15 minut při laboratorní teplotě. Při dalším zvýšení koncentrace HCl závislost exponenciálně klesá. Při čtyř hodinové hydrolyze 3,8 M HCl za teplot 20 °C a 37 °C jsme pozorovali lineární procentuální nárůst až do hodnot okolo 150 % nárůstu aminoskupin ve vzorku PA66 oproti nehydrolyzovanému vzorku. Vzorky při 20 °C byly v důsledku změny morfologie o trochu více hydrolyzované než při 37 °C.

13 Diskuze z řízené hydrolýzy nanovláknenné vrstvy PA66

Vysoká kritická hodnota koncentrace pro rozpuštění testovaných vzorků PA66 bude pravděpodobně dána vlastnostmi použitého polymeru a tím, že jsme oproti ostatním pracím hydrolyzovali nanovláknennou vrstvu. Snižující se plocha vzorků při hydrolýze je způsobena částečným rozpouštěním PA66 v kyselině, avšak částečně i smrštěním vláken, které nastane, už když vzorek ponoříme do vody. Zvyšující se průměr vláken při hydrolýze by se dal vysvětlit jednak nasákavostí PA66, která je ve vodném prostředí až 8,5 % a jednak tím, že molekuly HCl se v tomto případě chovají jako rozpouštědlo, takže polymer botná. Botnáním polymerních makromolekul se dá vysvětlit i změna konformace pozorovaná FTIRem, kde zvýšená intenzita výše popsaných píků ukazuje na větší volnost pro kmitání CH₂ a NH skupin. Při vyšších koncentracích než je 3,8 M, už začínají molekuly HCl polymer trhat, v důsledku čehož průměr vláken exponenciálně klesá. Snižuje se i počet aminoskupin na povrchu, protože vlákna jsou již tak poškozená, že se začínají spojovat a tím klesá reaktivní plocha s aminoskupinami. Tomuto tvrzení napovídá snímek ze SEM z Obr 11.3.

Určení počtu aminoskupin v nanovláknenné vrstvě přináší určité komplikace oproti aplikaci výše uvedené metodiky na polymerním filmu. Důvodem je obtížné definování reakčního povrchu, protože (i) vlákna botnají intenzivněji než film, (ii) vlákna se v kyselině srážejí a (iii) v neposlední řadě je obtížné odhadnout, zdali vlákno zreaguje jen na povrchu nebo v celém svém objemu.

Závěr

Cílem této práce bylo vytvořit kvalitní nanovláknennou vrstvu PA66 a poté ji řízeně hydrolyzovat pro budoucí využití v oblasti imobilizace enzymů.

V první části práce se nám pomocí Nanospideru podařilo tuto vrstvu vytvořit, přičemž hodnoty parametrů zvláknění jsou popsány výše. Přestože průměry vláken vrstvy u ní byly již nižší než 100 nm, tak pokračováním v optimalizaci podmínek by, podle mého názoru, bylo možné vytvořit ještě tenčí vlákna.

Pro řízenou hydrolyzu PA66 lze považovat, na základě provedených experimentů, za optimální koncentraci 3,8 M HCl při teplotě 20 °C a dobu hydrolyzy 2-3 hodiny. Při delší době hydrolyzy nebo vyšší teplotě se už výrazně mění morfologie vláken, což ovlivňuje jak mechanické vlastnosti, tak pravděpodobně i přesnost výsledků získaných výpočtem z rovnice [9]. V porovnání s titrační metodou jsem pomocí spektrofotometrické metody nedokázal určit přesný počet aminoskupin na povrchu. K měření přesného počtu aminoskupin na povrchu nanovláknenné vrstvy, bych doporučoval zaměřit se na zpřesnění stanovení povrchu, který je ovlivněný hydrolyzou. Přesto jsme pomocí použitých metod získali velmi dobrou představu o chování PA66 při hydrolyze, na kterou by mělo být možno navázat v dalších výzkumech.

Tato práce by měla sloužit jako pomoc při určení správných reakčních parametrů pro imobilizaci enzymů.

Použitá literatura

- ABBASI, Ali, Mohamed Mahmoud NASEF, Matsuura TAKESHI a Reza FARIDI-MAJIDI, 2014. Electrospinning of nylon-6,6 solutions into nanofibers: Rheology and morphology relationships. *Chinese Journal of Polymer Science* [online]. 30.4., roč. 32, č. 6, s. 793–804 [vid. 21. březen 2015]. ISSN 0256-7679, 1439-6203. Dostupné z: doi:10.1007/s10118-014-1451-8
- CENGIZ, F. a O. JIRSAK, 2009. The effect of salt on the roller electrospinning of polyurethane nanofibers. *Fibers and Polymers* [online]. 6.5., roč. 10, č. 2, s. 177–184 [vid. 17. březen 2015]. ISSN 1229-9197, 1875-0052. Dostupné z: doi:10.1007/s12221-009-0177-7
- DUPONT, 2015. *1935 Nylon* [online], [vid. 12. dubna 2015]. Dostupné z: <http://www.dupont.com/corporate-functions/our-company/dupont-history.html>
- GOLDSTEIN, Leon, Amihay FREEMAN a Mordechai SOKOLOVSKY, 1974. Chemically modified nylons as supports for enzyme immobilization. Polyisocyanate-nylon. *Biochemical Journal*. 12., roč. 143, č. 3, s. 497–509. ISSN 0264-6021.
- HARTWIG, Andreas, Marcel MULDER a Cees A SMOLDERS, 1994. Surface amination of poly (acrylonitrile). *Advances in colloid and interface science* [online]. roč. 52, s. 65–78 [vid. 10. květen 2015]. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/0001-8686(94)80040-5
- HLADÍK A KOLEKTIV, Vladimír, 1970. *Textilní vlákna*. B.m.: Praha : SNTL, 1970. 1. vyd.
- ISGROVE, F. H., R. J. H. WILLIAMS, G. W. NIVEN a A. T. ANDREWS, 2001. Enzyme immobilization on nylon—optimization and the steps used to prevent enzyme leakage from the support. *Enzyme and Microbial Technology* [online]. 1.2., roč. 28, č. 2–3, s. 225–232 [vid. 15. prosinec 2014]. ISSN 0141-0229. Dostupné z: doi:10.1016/S0141-0229(00)00312-4
- KOŠŤÁKOVÁ, Eva, 2010. *Úvod do elektrostatičké zvlákňování*. 31. březen 2010. B.m.: Eva Košťáková.
- LEDERER, Jaromír, 2013. *POLYAMIDY (NYLONY)* [online], [vid. 6. ledna 2015]. 2. červenec 2013. Dostupné z: <http://chemistry.ujep.cz/userfiles/files/POLYAMIDY07022013.pdf>
- LIN, Tong, 2011. *Nanofibers - production, properties and functional applications* [online]. B.m.: InTech [vid. 3. březen 2015]. ISBN 9789533074207. Dostupné z: <http://dro.deakin.edu.au/view/DU:30044990>

LUKAS, David, Arindam SARKAR a Pavel POKORNY, 2008. Self-organization of jets in electrospinning from free liquid surface: A generalized approach. *Journal of Applied Physics* [online]. 15.4., roč. 103, č. 8, s. 084309 [vid. 3. března 2015]. ISSN 0021-8979, 1089-7550. Dostupné z: doi:10.1063/1.2907967

POSPÍŠIL, Ladislav, 2013. *Polyamidy* [online]. [vid. 1. března 2015]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/jaro2013/C3805/POLYMERY_A_PLASTY_V_PRA XI_MU_jaro_2013_C3805_POLYAMIDY_6_08042013.pdf

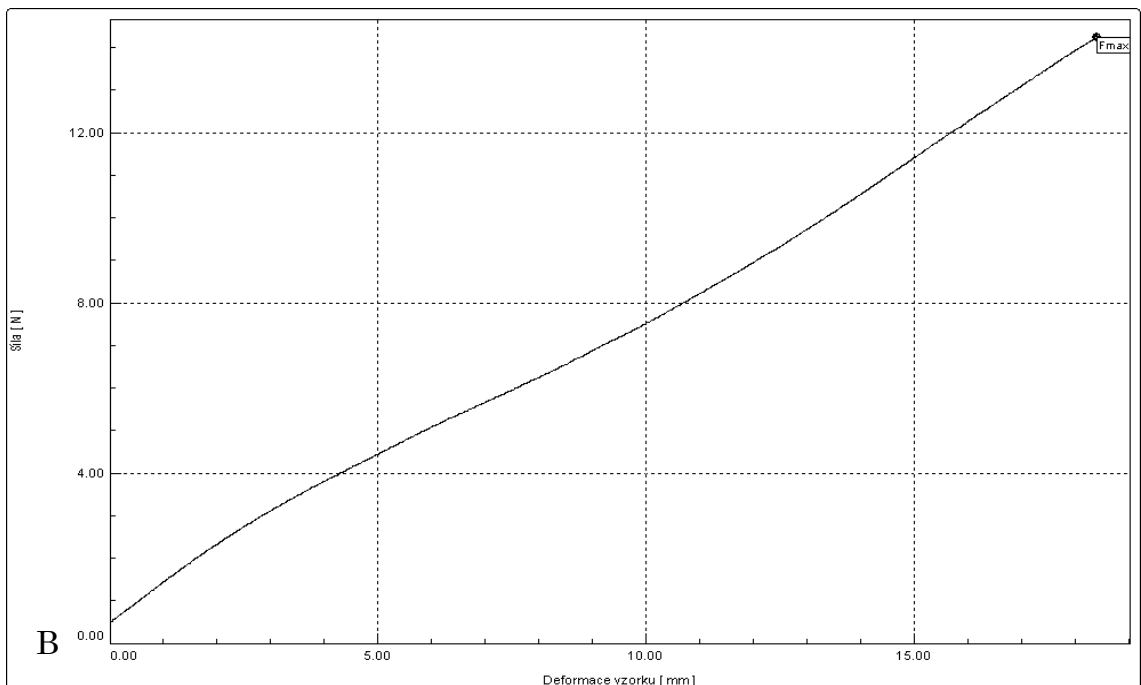
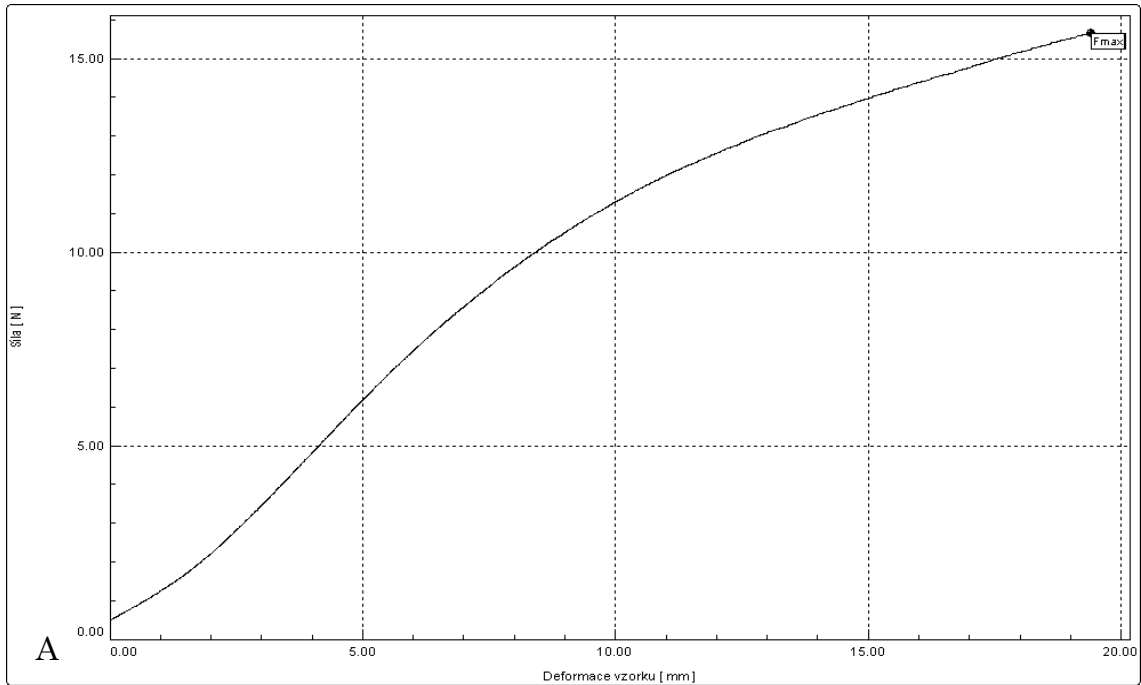
THOMPSON, C. J., G. G. CHASE, A. L. YARIN a D. H. RENEKER, 2007. Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. *Polymer* [online]. 2.11., roč. 48, č. 23, s. 6913–6922 [vid. 16. března 2015]. ISSN 0032-3861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2007.09.017

VALENTA, Tomáš, 2013. *Měření mikrotvrdosti modifikovaného PA6* [online]. [vid. 29. dubna 2015]. 5. říjen 2013. B.m.: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Dostupné z: http://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/24386/valenta_2013_dp.pdf?sequence=1

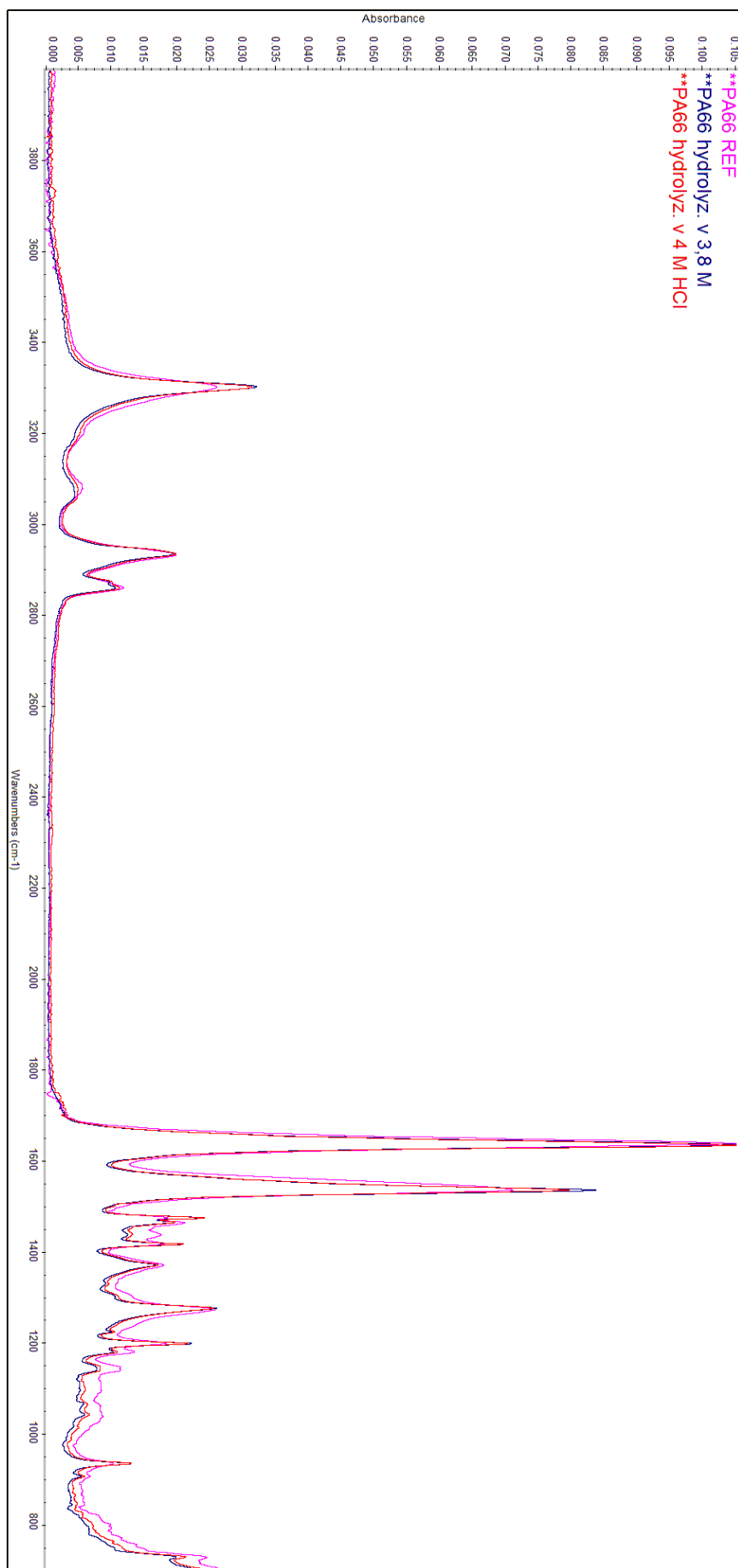
VODIČKOVÁ, Věra, 2014. *Vybrané metody spektrální analýzy* [online]. [vid. 30. března 2015]. Dostupné z: https://nanoed.tul.cz/pluginfile.php/3550/mod_resource/content/1/MNI_8_SpektroII_N.pdf

Přílohy

Příloha A: (A)- Grafy trhání nehydrolyzované vrstvy PA66,
(B)- hydrolyzované v 3,8 M HCl po dobu 15 minut a laboratorní teploty.



Příloha B: Spektrograf získaný pomocí FTIR spektroskopie



Příloha C: Pavučinový defekt tvořící se při elektrospinningu

