

Syntetické polymery pro využití v biomedicíálních aplikacích - využití při léčbě chronických ran

Martin Parkán DiS.

Bakalářská práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav výrobního inženýrství

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martin PARKÁN, DiS.**

Osobní číslo: **T080109**

Studijní program: **B 3909 Procesní inženýrství**

Studijní obor: **Technologická zařízení**

Téma práce: **Syntetické polymery pro využití v biomedicíálních aplikacích, jejich využití při léčbě chronických ran**

Zásady pro vypracování:

Definice obecných požadavků (zejména fyzikálně-chemických vlastností) na materiály používané při léčbě chronických ran a pro styk s tkání. Zpracování přehledu způsobů využití pro tuto medicínskou aplikaci s důrazem na současné trendy (např. využití biodegradabilních syntetických polymerů)

Experimentální část:

Zhodnocení reálnosti přípravy nanovláknenných vrstev z vybraných syntetických biodegradabilních nebo biokompatibilních polymerů.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

C. Bastioli, Handbook of Biodegradable Polymers, Rapra Technology Limited 2005, ISBN 1859573894

J.Y. Wong, J.D. Bronino, Biomaterials, Boca Raton, FL: CRC Press 2007, ISBN 0849378885

J.V. Edwards, G. Buschle-Diller, S.C. Goheen, Modified Fibers with Medical and Specialty Applications, Springer 2006, ISBN 101402037937(HB)

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Berenika Hausnerová, Ph.D.
Centrum polymerních materiálů

Datum zadání bakalářské práce:

14. února 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

3. června 2011

Ve Zlíně dne 6. ledna 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Maňas, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 26.5.2011



¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídá k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato práce má za úkol shrnout informace v oblasti biologicky rozložitelných syntetických polymerů a jejich biomedicínských aplikací, a zaměřuje se především na realizaci a uplatnění nanovláknenných útvarů pro krytí ran. Teoretická část se zabývá představením biomateriálů a možnostmi jejich degradace v biologickém prostředí, a uvádí i základní požadavky, které jsou na polymery určené pro zdravotnické aplikace kladeny. Dále jsou představeny technologické procesy zvlákňování materiálů pomocí nanotechnologie, kde je hlavní pozornost věnována procesu elektrostatického zvlákňování. Stěžejní je pak část hodnocení biologicky rozložitelných materiálů z hlediska chemických a fyzikálních vlastností s ohledem na potřeby pro vyhodnocení nanovláknenných struktur. Praktická část se zabývá hodnocením reálnosti přípravy nanovláknenných struktur, měřením jejich fyzikálních vlastností (viskozity a elektrické vodivosti) a též kvalitativní analýzou vyrobených vzorků skenovací elektronovou mikroskopií doplněnou zhodnocením mechanických vlastností tahovou zkouškou nanovláknenných vrstev z biologicky rozložitelných polymerů.

Klíčová slova: biodegradabilní polymery, nanovláknena, elektrostatické zvlákňování, polylaktid, polyetylénavinylalkohol

ABSTRACT

The aim of the bachelor thesis is to provide the information concerning biodegradable synthetic polymers and their possible medical applications focused on nanofibers used for wounds covering. Theoretical part describes biomaterials and their degradation in the biological environment as well as fundamental requirements on polymers for medical applications. Technological processes to attain fibers, especially electrospinning, are discussed. The quality of prepared biodegradable materials is concerned via their physical properties (viscosity and electrical conductivity) and structural analysis performed with scanning electron microscopy combined with mechanical behaviour in terms of tensile strength of the produced nanofibers.

Keywords: biodegradable polymers, nanofibers, electrospinning, polylactid, polyethylene alcohol

Rád bych poděkoval vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Berenice Hausnerové Ph.D. za odborné vedení při vypracování této práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně dne 26.5.2011

.....

Martin Parkán DiS.

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 DEFINICE POJMŮ	12
2 BIODEGRADABILNÍ POLYMERY	15
2.1 DĚLENÍ PODLE PŮVODU	15
2.1.1 Přírodní biodegradabilní polymery	15
2.1.2 Syntetické biodegradabilní polymery	15
2.2 DĚLENÍ PODLE TYPU BIODEGRADACE	16
3 BIODEGRADACE MATERIÁLŮ	17
3.1 MECHANISMY DEGRADACE POLYMERŮ	17
3.1.1 Nebiologická degradace polymerů	17
3.1.2 Biologická degradace polymerů	17
3.1.3 Hodnocení biodegradability polymerů	18
3.2 MECHANISMY BOKOMPATIBILITY POLYMERŮ	18
3.2.1 Testování biokompatibility materiálů	19
4 POYMERNÍ NANOKOMPOZITY	20
4.1 NANOVLÁKNA	20
4.1.1 Formy nanovláken	20
4.2 METODY PŘÍPRAVY NANOVLÁKEN	22
4.2.1 Elektrostatické zvlákňování	22
4.2.1.1 Materiály vhodné k procesu zvlákňování	23
4.2.2 Příklady dalších metod výroby nanovláken	24
5 VYUŽITÍ NANOKOMPOZITŮ VE ZDRAVOTNICTVÍ	25
5.1 NEJČASTĚJI VYUŽÍVANÉ MEDICÍNSKÉ APLIKACE	25
5.1.1 Kostní aplikace	25
5.1.2 Cévní aplikace	25
5.1.3 Tkáňové aplikace	25
5.1.4 Aplikace cíleného doručení léčiv.	25
5.1.5 Obvazové aplikace	26
6 VLASTNOSTI NANOKOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ PRO MEDICÍNSKÉ APLIKACE	27
6.1 MECHANICKÉ VLASTNOSTI BIOMATERIÁLŮ	27
6.1.1 Dělení mechanických zkoušek	27
6.1.2 Zkouška pevnosti v tahu	28
6.2 ZKOUŠKY FYZIKÁLNÍCH VLASTNOSTÍ VZORKŮ PRO ZVLÁKŇOVÁNÍ	30
6.2.1 Viskozita a její měření	30
6.2.2 Elektrická vodivost a její měření	30
6.3 ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE	31
6.3.1 Dělení elektronových mikroskopů	31
II PRAKTICKÁ ČÁST	33
7 STANOVENÍ CÍLŮ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE	34
8 PŘÍPRAVA VZORKŮ	35

8.1	POLYETYLENVINYLA KOHOL (PEVA).....	35
8.1.1	Výchozí chemikálie.....	35
8.1.2	Zkouška rozpustnosti v řadě rozpouštědel	35
8.1.3	Příprava výchozího roztoku PEVA	36
8.2	KYSELINA POLYMLÉČNÁ (PLA1)	37
8.2.1	Výchozí chemikálie.....	37
8.2.2	Příprava výchozího roztoku	37
8.3	KYSELINA POLYMLÉČNÁ (PLA2)	37
8.3.1	Výchozí chemikálie.....	37
8.3.2	Zkouška rozpustnosti v řadě rozpouštědel	38
8.3.3	Příprava výchozího roztoku	38
9	ELEKTROSTATICKÉ ZVLÁKŇOVÁNÍ.....	40
9.1	ELEKTROSTATICKÉ ZVLÁKŇOVÁNÍ PEVA	40
9.2	ELEKTROSTATICKÉ ZVLÁKŇOVÁNÍ PLA1	41
9.1	ELEKTROSTATICKÉ ZVLÁKŇOVÁNÍ PLA2	42
9.1.1	Příprava folie PLA2	43
10	VYHODNOCENÍ VZORKŮ.....	44
10.1	VYHODNOCENÍ VZORKU PEVA.....	44
10.1.1	SEM analýza a stanovení střední hodnoty průměru vláken	44
10.1.2	Zátěžová zkouška tahem	45
10.1.3	Zhodnocení vzorku.....	45
10.2	VYHODNOCENÍ VZORKU PLA1.....	45
10.2.1	SEM analýza a stanovení střední hodnoty průměru vláken	45
10.2.2	Zátěžová zkouška tahem	47
10.2.3	Zhodnocení vzorku.....	50
10.3	VYHODNOCENÍ VZORKU PLA2.....	51
10.3.1	SEM analýza a stanovení příčiny neúspěšného pokusu zvláknění	51
10.3.2	Zátěžová zkouška tahem	51
10.3.3	Zhodnocení vzorku.....	51
	ZÁVĚR	52
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	54
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	56
	SEZNAM OBRÁZKŮ	57
	SEZNAM TABULEK.....	58
	SEZNAM PŘÍLOH.....	59

ÚVOD

Polymery se za více než 170 let od chvíle, kdy byl laboratorně připraven první zcela syntetický polymer (PVC, 1839, H. V. Regnault) staly naprosto nedílnou součástí každodenní technické i běžné praxe. Za posledních sto let byla objevena celá řada plně syntetických polymerů, které mají zcela vyjmečné vlastnosti. Takovým je například polytetrafluoretylén se zcela unikátní tepelnou a chemickou odolností, polyamidy a zejména polyamid 6 s vynikajícími mechanickými vlastnostmi nebo třeba rodina polyuretanů s nesmírnou variabilitou vlastností. Jistě bychom dokázali vzpomenout mnoho dalších. Je stálým trendem dále syntetizovat nové polymery s dalšími potřebnými vlastnostmi a proto se neustále v odborných publikacích uvádějí objevy nových polymerů a jejich aplikací pro vědecké i komerční účely. Rychlost výzkumu a vývoje v této oblasti umožňuje polymerním aplikacím pronikat do stále širšího spektra lidských činností. Dnes již známe aplikace polymerů i tam, kde si ještě před několika lety nikdo nedovedl toto využití představit. Takovou oblastí jsou bezesporu polymery v oblasti medicíny, kde dnes mohou plně syntetické polymery jako jsou polylaktid, polyvinylalkohol nebo polykaprolakton, nahrazovat přírodní makromolekulární látky, jakými je například kolagen, celuloza atd. Nevýhodou těchto přírodních surovin je jejich obtížné získávání, nestabilita ve výchozích surovinách, riziko autoimunních reakcí a v neposlední řadě mnohdy i komplikovaná zpracovatelnost.

V posledních dvaceti letech dochází ještě k jednomu posunu získávání nových užitečných vlastností materiálů a polymery nevyjímaje. Touto oblastí jsou nanostruturní materiály, kde původní látky získávají často zcela nové makroskopické vlastnosti. Velkou nadějí v oblasti využití polymerů jsou kompozity, elektricky vodivé plasty a v neposlední řadě opět materiály pro medicínu, kde se jedná zejména o struktury plnicí funkci velmi sofistikovaných nosičů a dávkovačů léčiv a dále nosiče buněk pro velmi perspektivní a prudce se rozvíjející obor tkáňového inženýrství. Do oblasti medicíny jistě spadá i vývoj speciálních krytů ran na bázi polymerních nanostruktur.

V rámci objektivity je ale nutné připomenout, že tak jak nanoútvary vzbuzují plno oprávněného očekávání ve smyslu nových materiálových vlastností, tak stejně tak vzbuzují neméně oprávněné obavy možných a velmi závažných environmentálních rizik. Nejvíce obávanou skupinou nanostruktur jsou nanostruktury z anorganických materiálů vláknitého charakteru, přičemž nelze podceňovat ale i podobné struktury ze syntetických, v přírodě a organismu velmi stabilních polymerů jako je například polystyren. Kolem těchto materiá-

lů s obsahem nanostruktur, čímž u polymerů myslíme především nanočástice, nanovlákna a nonotrubičky, bylo již napsáno a publikováno velké množství studií a tezí, kdy je mnohdy velmi obtížné rozlišit, co je objektivní vědecká pravda a co marketingová proklamace rádo by vědeckých studií na objednávku různých ekonomických skupin, pro které by případné zavedení konkrétní nanostruktury do reálné praxe bylo příslibem nemalých zisků. Toto je závažný problém a bohužel běžná veřejnost prakticky nemá šanci se těmto případným dezinformacím bránit. Dokud nebudou vyloučeny nebo potvrzeny veškeré vlivy konkrétních nanostruktur na lidské zdraví a životní prostředí, je nutné k těmto aplikacím přistupovat s principem předběžné opatrnosti.

Jedním z řešení je používat v aplikacích pro přípravu submikronových částic a vláken materiály, které mají schopnost se v organismu nebo v přírodě po ukončení jejich aplikačního cyklu dostatečně rychle odbourávat anebo alespoň nevyvolávat nežádoucí změny a efekty. Tyto materiály obecně nazýváme biomateriály a jejich hlavní předností jsou především biokompatibilita, tedy vlastnost materiálu nevyvolávat v organickém prostředí žádné změny svojí přítomností a druhou vlastností je biodegradabilita, tedy schopnost materiálu se rozložit v organickém prostředí.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 DEFINICE POJMŮ

Z důvodu rozdílné definice základních pojmů v dostupné literatuře, je nezbytné nejprve unifikovat a ujasnit základní pojmy vyskytující se v následujícím textu.

Biodegradace

Biodegradace čili biologický rozklad je speciálním případem fyzikální a chemické degradace, při níž dochází k rozkladu dané látky - materiálů působením biologických činitelů. Známa je biodegradace např. mikroorganismy, hlodavci a hmyzem. Při biodegradaci dochází vždy ke zjednodušení a rozpadu původních struktur, které mohou, ale také nemusí být biokompatibilní. Organismy, které se na biologickém rozkladu podílí, se nazývají dekompozitoři (rozkladači). [2]

Biokompatibilita

Biokompatibilita všech biomateriálů (i pro medicínské aplikace) je definována jako schopnost materiálu vyvolávat přijatelnou odezvu hostitele při dané aplikaci. Biokompatibilita není tedy jednoznačně definovaná vlastnost, ale vícespektrální pojem jenž může být definován jako například vzájemná snášenlivost umělých implantátů s hostitelskou tkání, kde biokompatibilní materiál nebudí žádnou patologickou odezvu. Zkráceně tedy lze říci, že se jedná o látkovou snášenlivost, především materiálů v biologickém prostředí. [2]

Biomateriál

Za biomateriál je považována látka, která spolupracuje s biologickými systémy a je tedy definován jako látka, která je určena pro kontakt s živou tkání při zamýšlené aplikaci a pro předpokládaný časový úsek. Uměle připravené materiály s širokým spektrem vlastností se v klinické praxi delší dobu používají pro náhrady poškozené, nemocné či nevyvinuté části skeletu, pro náhrady chybějících částí těla, pro korekci vrozených a patologických deformací a traumatických poškození. [4]

Za počátek vědního oboru biomateriálů lze považovat rok 1938, kdy byla prvně do těla pacienta aplikována slitina oceli, chromu a kobaltu pro fixaci zlomené kosti. Studium biomateriálů je obecně nazýváno vědou o biomateriálech. V dnešní době mnoho společností a

institucí investuje nemalé prostředky do rozvoje této disciplíny. Věda o biomateriálech zahrnuje témata z medicíny, biologie, chemie, tkáňového inženýrství a vědy o materiálech, a jedná se tedy o multidisciplinární obor. [4]

Targeting

Targeting (z anglického *target* = cíl) je řízená terapie pomocí cíleného dávkování léčiv přímo k postiženému místu. V souvislosti s targetingem jsou dnes velmi intenzívně vyvíjeny sofistikované syntetické biomateriály v kombinaci s nanotechnologií – zejména speciální nanostruktury.

Biopolymer

Biopolymery jsou polymery produkované buď živými organismy (např. kolagen, škrob, chitin), nebo jsou to polymery vzniklé částečnou syntetickou modifikací původně přírodních biopolymerů (např. želatina, chitosan) nebo se jedná o zcela syntetické látky (např. polylaktid). Většinou bývají biodegradabilní a biokompatibilní. [1]

Elektrostatické zvlákňování

Elektrostatické zvlákňování (*Electrospinning*) představuje nejběžnější metodu pro přípravu všech typů submikronových vláken. Podstatou postupu je využití účinku elektrostatického pole na elektricky nabitě viskoelastické kapaliny (obvykle roztok polymeru), kdy za příznivých podmínek dojde k vytvoření velmi tenkých vláken. K tvorbě vláken dochází mezi dvěma opačně nabitými elektrodami, z nichž jedna je v kontaktu s kapalinou, které tak předává část svého náboje. Nabitá kapalina je vystavena na přitažlivým elektrostatickým silám opačné elektrody, je k ní přitahována, čímž dojde ke vzniku velmi tenkých vláken. [18]

Nanovlákná

Nanovlákná se vyznačují tloušťkou menší než 1 mikrometr, jeho délka je zpravidla o dva a více řádů vyšší a v případě nanovláken vzniklých při electrospinningu lze považovat délku za nekonečnou. Nanovlákná je tedy specifickou strukturou, která představuje spojení mezi

světem částic s rozměry v nanometrech s oblastmi běžných mikronových a větších celků. Podobně jako jiná vlákna (např. mikrovlákna) se nanovlákna v praxi téměř nikdy nevyskytují samostatně, ale jsou uspořádána do vyšších strukturních a prostorových celků, se kterými lze reálně manipulovat [16]

2 BIODEGRADABILNÍ POLYMERY

2.1 Dělení podle původu

2.1.1 Přírodní biodegradabilní polymery

Zde jsou uvedeny některé přírodní polymery využívané v medicínských aplikacích:

Kolagen

Celulóza

Fibrin

Chitosan

Želatina

Kyselina hyaluronová

Přírodní polymery jsou v porovnání se syntetickými polymery výhodnější v některých oblastech. Například poskytují přirozenější povrch pro lepší připojení buňky v oblasti tkáňového inženýrství. Velkou nevýhodou je jejich mnohdy obtížná dostupnost, nestabilita v kvalitě jejich primárních zdrojů a obtížná zpracovatelnost. Nelze také opomenout zvýšené riziko auto-imunitních odezev a možností přenosů chorob. Další nevýhodou je však tendence přírodních polymerů k zásadní přeměně v biologickém prostředí. Právě z těchto důvodů se tyto polymery jen velmi omezeně využívají do konstrukčních prvků v medicínských aplikacích z toho důvodu nejsou v této práci nadále zmiňovány. [7]

2.1.2 Syntetické biodegradabilní polymery

Výhodou syntetických polymerů, je větší spektrum uplatnění. Na rozdíl od přírodních polymerů, jsou více flexibilní a jejich vlastnosti mohou být modifikovány tak, aby vyhovovaly požadavkům dané aplikace. Velkou výhodou z hlediska chemických vlastností, především biodegradability je možnost, že mohou degradovat kontrolovaně, což je výhodnější než nestabilita enzymatické degradace u přírodních polymerů. K výrobě a ke zpracování syntetických polymerů je možno využít velkého množství technologií. [2]

2.2 Dělení podle typu biodegradace

Biodegradabilní plasty se na trhu dělí na dva hlavní druhy:

Oxo-biodegradabilní plasty (OBP)

Hydro-biodegradabilní plasty (HBP)

Oxo-biodegradabilní plasty jsou vyráběny přidáváním malého podílu směsí specifických přechodných kovů (např. železo, mangan, kobalt a nikl) do konvenčních polyolefinů jako jsou polyetylén (PE) nebo polypropylén (PP). Tyto příměsi přechodných kovů působí jako katalyzátory, které urychlují oxidační biodegradaci. OBP jsou odbourávány oxidačními reakcemi.

Hydro-biodegradabilní plasty (HBP) jsou naopak odbourávány hydrolytickými reakcemi. Je tedy zřejmé, že v tomto případě biodegradace se jedná o chemickou degradaci. Tento typ degradace má za následek drastické snížení jejich molekulové hmotnosti, což v konečném důsledku vede i k fyzickému rozpadu materiálu. Toto snížení molekulové hmotnosti je hlavním biodegradačním jevem.

Rozklad HBP materiálů je obvykle rychlejší než u OBP materiálů. Konečný výsledek je však stejný – oba druhy materiálu jsou ve finále přeměněny na oxid uhličitý (CO_2), vodu (H_2O) a popřípadě dále již nerozložitelný podíl. [2]

3 BIODEGRADACE MATERIÁLŮ

Nejdůležitější vlastností biodegradabilních materiálů je chemická odolnost. Chemické zatížení může být krátkodobé a slabé, nebo naopak permanentní a silné. Právě schopnost materiálu podléhat vlivům prostředí chemických látek v organismu říkáme *biodegradabilita*.

3.1 Mechanismy degradace polymerů

Při práci s biologicky rozložitelnými materiály se nabízí otázka, proč jsou některé polymery biologicky rozložitelné a jiné ne. Abychom to pochopili, je třeba znát mechanismy, jejichž prostřednictvím jsou polymerní materiály biologicky rozloženy. [7] Ačkoliv biologický rozklad je obvykle definován jako degradace prostřednictvím biologické aktivity (zejména působení enzymů), mohou se vyskytnout, a někdy dokonce zahájit proces degradace, složité abiotické degradace jako je například fotodegradace a nebo jednoduché procesy jako je třeba již zmíněná hydrolýza, [2]

3.1.1 Nebiologická degradace polymerů

Velké množství polymerů (polyestery, polyamidy, polykarbonáty, polyuretany a polyacetyly) podléhá hydrolýze. Různé mechanismy hydrolýzy byly do značné míry revidovány; a to nejen pro základní skupiny hydrolýzy, ale také pro doplňující skupiny hydrolýz. Prvky nezbytné pro širokou škálu katalýzy, jako jsou kyseliny a zásady, kationty, nukleofily, jsou obvykle přítomny ve většině prostředí. V kontrastu k enzymové degradaci, kde materiál degraduje postupně od povrchu dovnitř (především proto, že se makromolekulární enzymy nemohou šířit do vnitřku materiálu), chemická hydrolýza pevného materiálu může probíhat v celém průřezu, s výjimkou velmi hydrofobních polymerů. [2]

3.1.2 Biologická degradace polymerů

Existuje mnoho různých biodegradačních mechanismů, které v přírodě synergicky kombinují degradaci polymerů. Mikrobiologická degradace může probíhat prostřednictvím působení enzymů, nebo produktů (kyseliny a peroxidy) vylučovanými mikroorganismy (bakterie, kvasinky, plísně atd.). Také makroorganismy mohou metabolovat polymery a způsobit tak mechanické, chemické nebo enzymatické stárnutí.

V procesu mikrobiální degradace polymeru se vyskytují dva klíčové kroky:

1. krok depolymerizace neboli řetězového štěpení
2. krok mineralizace.

První krok se běžně vyskytuje mimo buňku vzhledem k velikosti polymerního řetězce a nerozpustné povaze mnoha polymerů. Za tento krok jsou odpovědné extracelulární enzymy, dělí se na *endo* (náhodné štěpení na vnitřní vazby polymerního řetězce) nebo *exo* (sekvenční štěpení na monomerní jednotky v hlavním řetězci).

Ve druhém kroku, poté, co se dostatečně malé rozměry oligomerních nebo monomerních částic zformují, jsou transportovány do buňky, kde jsou mineralizovány. V této fázi buňka obvykle čerpá metabolickou energii z mineralizačního procesu. Produkty tohoto procesu, kromě adenosintrifosfátu (ATP), jsou plyny, (např. CO₂, CH₄, N₂, H₂), voda, soli a minerály, a také biomasa. [2]

3.1.3 Hodnocení biodegradability polymerů

Jak si lze představit z různých uvedených mechanismů, biodegradace nezávisí jen na chemii polymerů, ale také na přítomnosti biologických systémů, které jsou zapojeny do tohoto procesu. Při zkoumání biologické rozložitelnosti materiálu, by vliv prostředí neměl být opomíjen. [9]

Mikrobiální aktivita, a tudíž biodegradace, je ovlivněna:

přítomností mikroorganismů

typem atmosféry

množstvím vody

teplotou

chemickým prostředím (pH, elektrolytů, apod.)

Na základě vědeckých poznatků a zkoušek biodegradabilních materiálů byly nakonec stanoveny čtyři hlavní kritéria pro hodnocení biodegradability a to sledování:

mikrobiálního růstu

vyčerpávání substrátů

reakcí materiálů

změn vlastností substrátů

3.2 Mechanismy biokompatibility polymerů

Druhou chemickou vlastností biomateriálů je způsob reakce a chování v chemicky zatíženém prostředí. Reakce a chování polymeru v prostředí může být nesnášenlivé neboli nekompatibilní, kdy prostředí reaguje na přítomnost materiálu. Nebo naopak v prostředí ne-

dochází k žádné reakci na přítomnost materiálu a to ani v dlouhodobém časovém horizontu a pak mluvíme o snášenlivosti materiálu s prostředím, tedy kompatibilitě. Pro snášenlivost v organickém prostředí, používáme výraz *biokompatibilita*.

Hlavní problém při návrhu implantátů spočívá ve volbě vhodného materiálu. Prioritně posuzovaným kritériem je kompatibilita zvoleného materiálu s fyziologickým prostředím, tedy stav, kdy živá tkáň nemá tendenci ohraničit cizí hmotu vazivem, nebo dokonce ji z organismu vyloučit. Selektivní materiál nesmí být toxický, mutagenní či karcinogenní. Žádný cizí materiál implantovaný do živého organismu s ním není nikdy zcela kompatibilní. Skutečně kompatibilní jsou pouze ty látky, které živý organismus sám „vyprodukuje“ nebo vyloučí (autogenní látky). Snahou je tedy volit materiál, který budí pouze minimální nepříznivé biologické odezvy. [8]

3.2.1 Testování biokompatibility materiálů

Biokompatibilita materiálů je komplexní vlastnost a musí být vždy hodnocena individuálně pomocí řady laboratorních testů. Testy jsou prováděny buď *in vitro* anebo *in vivo*. Zkoumá se zejména reakce tkáně na materiál.

Pro snížení počtu proměnných je lepší testovat kompatibilitu *in vitro*. Při této metodě je tkáň nebo kultura vystavena vlivu fyziologické tekutiny mimo organismus. Tato metoda je vhodná k pozorování specifických druhů reakcí, nicméně nezohledňuje některá důležitá hlediska. Při testování *in vitro* není například možné namodelovat činnosti různých typů enzymů, hormonů a jiných chemických látek. [9]

Při testování *in vivo* jsou malé vzorky materiálu implantovány do kosti, svalu nebo kůže hostitele a tam jsou ponechány po určitou dobu. Velmi důležitý pro hodnocení je postup implementace vzorků, zacházení s nimi a metody zaměřené k určení jejich charakteristik (histologických, histopatologických, cytologických). Materiál testovaný metodou *in vivo* je vystaven odmítnutí nebo zapouzdření a histologicky můžeme pozorovat tkáňové reakce, které se liší podle pacienta a druhu použitého materiálu, který je implantován do živého organismu. [9]

Pro samotné vyhodnocování se používají nejrůznější metody a přístroje. Ze zobrazovacích metod jsou to například elektronová mikroskopie, mikroradiologie nebo mikrosonda. [9]

4 POYMERNÍ NANOKOMPOZITY

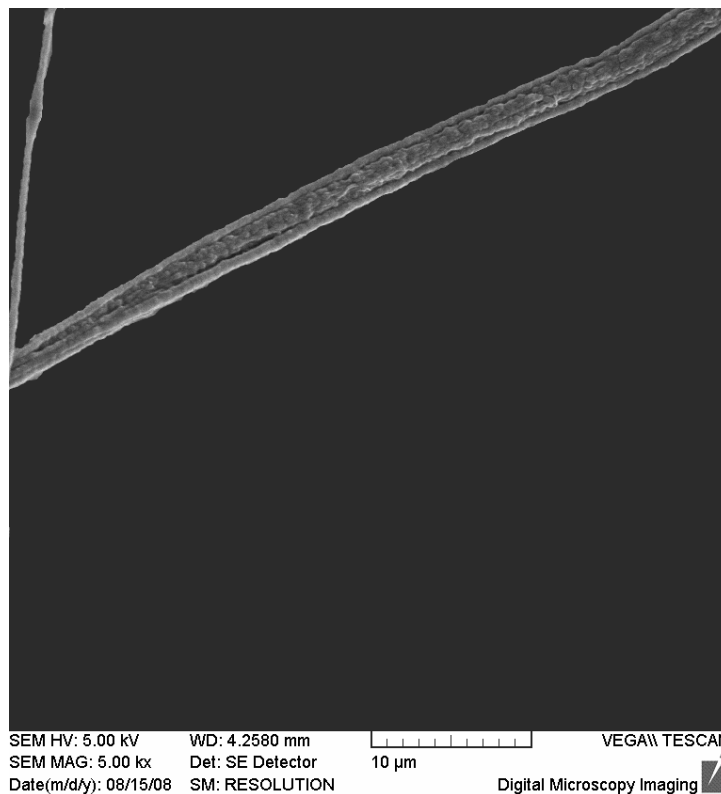
4.1 Nanovlákná

Nanovlákná jsou vlákna, jejichž průměr se pohybuje v submikronovém rozsahu. Elektrostaticky zvlákněná nanovlákná mají řadu významných vlastností, které je činí výbornými kandidáty pro širokou škálu aplikací jako vysoce účinné filtry, separační membrány, výztuhy pro kompozitní materiály, biologické aplikace, tkáňové inženýrství, ale i jako nanoelektrická zařízení a vodíkové nádrže pro palivové články. Je možné tvrdit, že nanovlákná patří mezi materiály budoucnosti. [16]

4.1.1 Formy nanovláken

Lineární nanovlákná - nitě, příze

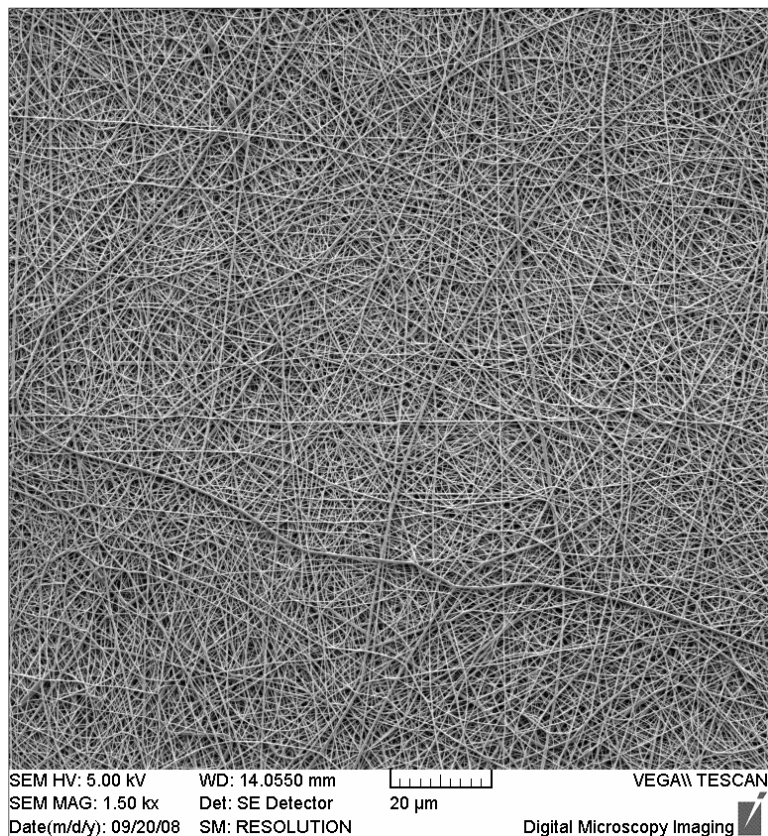
Nitě a příze tvořené v celém objemu z nanovláken (Obr. 1) jsou doposud málo běžnými útvary z důvodu technologických obtíží spojených s jejich přípravou. Předpokládá se, že takové útvary by mohly mít velmi dobré mechanické vlastnosti [16]



Obr. 1. Nanovláknenná polymerní nit

Nanovláknno v plošných strukturách – vrstvy

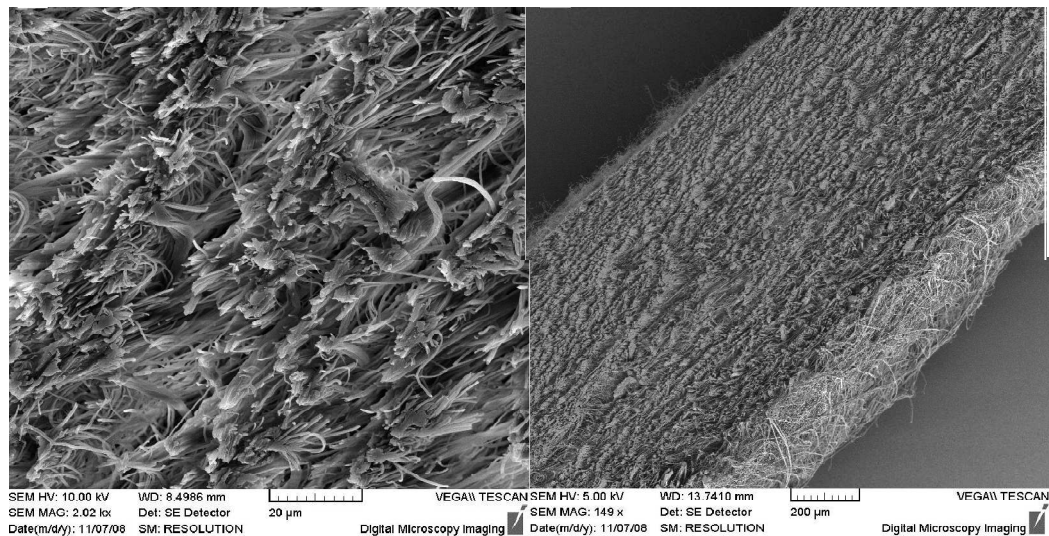
Nanovláknno ve vrstvě představuje standardní textilní útvar (Obr. 2). V principu se mohou vyskytovat dva základní typy nanovláknenných vrstev, a to tzv. netkané textilní útvary a tkané textilní útvary. Společným znakem obou je, že nanovláknna jsou položena přes sebe a prakticky nevystupují z roviny, kterou vytvářejí. [16]



Obr. 2. Plošná struktura polymerních nanovláken [16]

Nanovláknno v objemových strukturách - objemné útvary, vaty

Jedná se o strukturu se značnou podobností s předcházející formou, avšak v tomto případě nanovláknna již plnohodnotně vystupují do třetího rozměru. I zde lze očekávat celky s uspořádanými a neuspořádanými vlákny. Útvary se strukturně uspořádanými vlákny nejsou doposud běžné a častější jsou celky s nahodile rozmístěnými vlákny, přičemž žádný ze směrů nepřevládá. [16]



Obr. 3. Příklad objemové struktury polymerních nanovláken [16]

4.2 Metody přípravy nanovláken

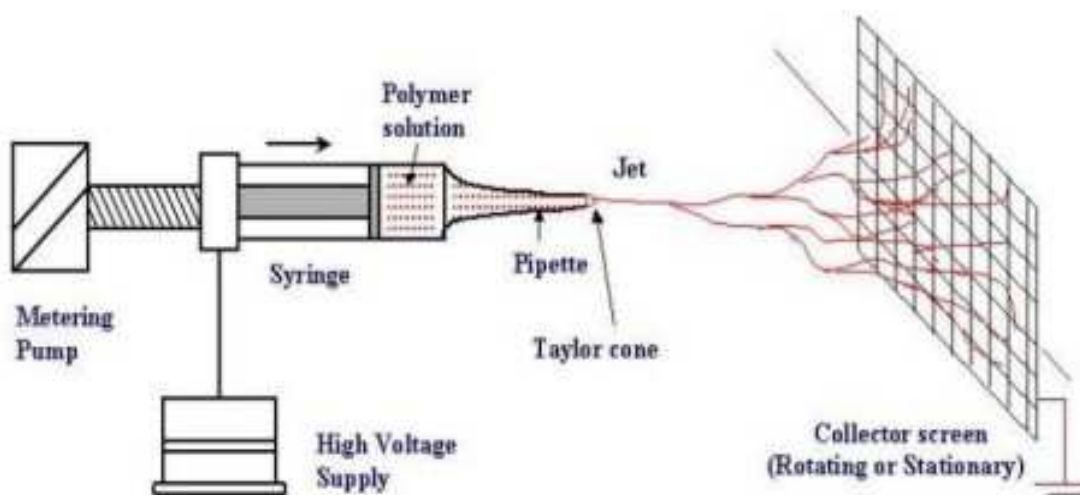
Při přípravě nanovláken jsou sledovány běžné parametry, které se zpravidla neodlišují definičně od obdobných parametrů používaných pro popis makroskopických vláken. Mezi tyto veličiny patří tloušťka a průměrná délka vlákna (případně distribuce délek), plošná nebo objemová hmotnost, porozita, distribuce pórů a měrný povrch. V současnosti existuje řada postupů pro přípravu nanovláken.

4.2.1 Elektrostatické zvlákňování

Mechanismus vzniku nanovláknů je poměrně složitý a nejedná se o prosté dloužení viskoelastického útvaru v silovém poli. Této problematice se podrobně věnuje řada vědeckých prací a rozvoj v této oblasti je velmi progresivní [16].

V procesu elektrostatického zvlákňování je využito vysoké napětí k vytvoření elektricky nabitého proudu polymerního roztoku nebo taveniny. Elektroda vysokého napětí je spojena přímo s polymerním roztokem (Obr. 4). Roztok je následně zvlákňován kapilárou (zvlákňovací tryskou). Díky vysokému elektrickému napětí mezi špičkou kapiláry a uzemněným kolektorem vzniká tzv. Taylorův kužel na špičce kapiláry, z kterého jsou produkována submikronová vlákna. Taylorův kužel je následkem relaxace indukovaného náboje k volnému povrchu kapaliny na výstupu ze zvlákňovací trysky. Následuje vytlačování nabitě kapaliny. Vlákna ztuhnou po odpaření rozpouštědla a vytvoří vláknennou vrstvu na povrchu

kolektoru. Nabitý proud se zrychluje a ztenčuje v elektrickém poli, nakonec narazí na uzemněnou protielektrodu kolektoru, na které se usadí. Za jistých podmínek operace, se kapalinový proud stává nestabilním před dosažením kolektoru. U kapalin nízké molekulární hmotnosti má počátek nestability za následek spršku malých, nabitých kapiček, v procesu známém jako elektrostatické rozprašování. Polymerní kapaliny jsou viskóznější a viskoelastické síly stabilizují proud, což dovoluje formaci nabitých vláken malého průměru, které ztuhnou a uloží se na kolektoru ve formě netkané textilie.



Obr. 4. Schéma principu elektrostatického zvlákňování [3]

V závislosti na konstrukci zařízení se vlákna mohou vytvářet kontinuálně (nekonečné vlákno) a jejich délka je zpravidla v řádu desítek centimetrů. Z hlediska vnějšího uspořádání se jedná o plošné nebo objemové útvary. [3]

4.2.1.1 Materiály vhodné k procesu zvlákňování.

Elektrostatické zvlákňování je vhodné pro široký okruh polymerů stejný jako pro konvenční zvlákňování.

Elektrostatické zvlákňování je vhodné pro zpracování zejména obvykle dobře rozpustných polymerů (např. polyamidy, polyuretany). Jak už bylo zmíněno, je poněkud hůře využitelné pro zpracovávání taveniny.

V současnosti převažuje názor, že nanostruktury mohou představovat zvýšené riziko ohrožení zdraví a životního prostředí. Pokud nebude jednoznačně prokázán opak, je třeba k

těmto útvarům a produktům tyto útvary obsahující přistupovat s principem předběžné opatrnosti. Jedním z řešení je proto používat pro jejich přípravu materiály, které se v organismu dostatečně rychle a bez vedlejších negativních efektů odbourávají. Mezi tyto materiály patří řada přírodních a syntetických polymerů. [18]

Jak bylo již uvedeno, ze syntetických polymerů v současné době dominují kyselina polymléčná a její kopolyestery, kyselina polyglykolová, případně polykaprolakton a polyuretany.

4.2.2 Příklady dalších metod výroby nanovláken

Foukání taveniny

Druhou velmi rozšířenou metodou s nadějnou možností nejen přípravy, ale i výroby nanovláken je postup foukání taveniny, který je dnes používán především k výrobě standardních polymerních mikrovláken s průměrem 2 až 7 μm. Postup je takový, že je tavenina polymeru přiváděna do trysky s mnoha otvory a současně je k nim přiváděn ohřátý a stlačený vzduch. Po vytlačení z otvorů je tavenina vzduchem zachycena, dále unášena a dloužena. [17]

Dloužení

Při postupu dloužení je k povrchu kapky prekursoru (roztok nebo tavenina polymeru) na pevné podložce přiložena kapilára. Ta se následně odtahuje definovaným způsobem a konstantní rychlostí (obvykle $\sim 10^{-4}$ m/s). Mezi kapkou a ústím kapiláry vzniká vlákno, které při vhodných parametrech kapaliny může dosáhnout submikronových tlouštěk. [16]

Fázová separace

Metoda využívající oddělení dvou fyzikálně odlišných fází. Jako první se připraví homogenní fáze a ochladí se na teplotu, při níž dojde k vytvoření gelu. Následující krok je postupné odstranění a nahrazení původního rozpouštědla ze struktury gelu rozpouštědlem novým, které má naprosto odlišné vlastnosti (např. voda a tetrahydrofuran). V průběhu tohoto stupně se vytvoří vláknité nanoporézní struktury v původním gelu. Materiál se pak chladí na teplotu tuhnutí druhého rozpouštědla a to je následně za sníženého tlaku odstraněno sublimací. Výsledkem je objemný útvar obsahující nanovláknennou vnitřní strukturu, které říkáme nanovláknenná pěna. [18]

5 VYUŽITÍ NANOKOMPOZITŮ VE ZDRAVOTNICTVÍ

5.1 Nejčastěji využívané medicínské aplikace

5.1.1 Kostní aplikace

Materiál, který napodobuje kost a otevírá dveře k umělým kostním náhradám je dnes již znám. Kost je kompozit vytvořený tak, že proteiny v kolagenových vláknech vyloučí vápník, fosforečnan, a hydroxydové ionty v roztoku ke kondenzaci na povrchu vláken a rostou do tuhé konstrukce malých krystalitů z hydroxyapatitu, všechny uspořádané ve stejném směru. [11]

5.1.2 Cévní aplikace

Tradiční bypassové operace srdce vyžadují použití žil z nohou pro nahrazení poškozených krevních cév. Nanotechnologie by mohla být použita v umělých, laboratorně vyrobených krevních cévách. Poté co je trojrozměrná konstrukce elektrostaticky zvlákněna, měkké svalové buňky jsou nasazeny nebo umístěny na její povrch v laboratoři. Buňky rostou a během tří až šesti týdnů jsou tyto zkonstruované tkáňové krevní cévy připravené k implantaci. [12]

5.1.3 Tkáňové aplikace

Lidské buňky se mohou připojit a organizovat dobře kolem vláken s průměry menšími než je velikost buněk. V důsledku toho mohou nanorozměrné vláknité konstrukce poskytnout optimální podložku pro osazení, přesun, a růst buněk. Úspěšná regenerace biologických tkání a orgánů vyžaduje rozvoj vláknenných struktur s vláknennými architekturami prospěšnými pro depozici a bujení buněk, tedy vytvoření reprodukce schopných a biokompatibilních trojrozměrných konstrukcí pro buňčenné vrůstání mající za následek biomatriční kompozity pro různé tkáňové opravy a nahrazovací procedury. [10]

5.1.4 Aplikace cíleného doručení léčiv.

Jde o doručení léčiv pacientům fyziologicky přijatelnějším způsobem. Systém cílené dávky léku (*targeting*) polymerními nanovláknny je založený na principu, že rychlost rozpustění částičky léku se zvyšuje s rostoucí plochou povrchu léku i odpovídajícího nosiče. Pro tyto systémy mohou být obecně použity biokompatibilní a biodegradabilní polymery.

5.1.5 Obvazové aplikace

Polymerní nanovlákna mohou být také užívána pro ošetření zranění, popálenin kůže, ale i pro hemostatická zařízení s jedinečnými charakteristikami (Obr. 5). Pomocí elektrického pole mohou být jemná vlákna z biodegradabilních polymerů stříkána přímo na zraněné místo kůže, aby tvořila vláknitý podložný obvaz, který zranění hojí povzbudivým utvářením normálního růstu kůže a vyloučí formaci jizvové tkáně, která by se vyskytovala při tradičním ošetření. [6]



Obr. 5. Tvorba obvazové vrstvy přímo na kůži.

6 VLASTNOSTI NANOKOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ PRO MEDICÍNSKÉ APLIKACE

Mechanických a fyzikálních vlastností polymerů lze charakterizovat mnoho, ale my se nadále v práci zabýváme především nanovláknými strukturami biodegradabilních materiálů, proto je vhodné vybrat pouze takové fyzikální a mechanické vlastnosti, které přímo souvisejí s touto aplikací.

Z tohoto hlediska jsou to především tyto vlastnosti:

pevnost, pružnost

viskozita

elektrická vodivost

Pro hodnocení nanovlákné vrstvy je z hlediska vlastností nejvíce transparentní pevnost a pružnost vzorku, která se provádí zátěžovou zkouškou tahem, a která je také dále v práci podrobněji rozvedena.

6.1 Mechanické vlastnosti biomateriálů

U biomateriálů je důležité, aby vykazovaly fyzikálně-mechanické vlastnosti, odpovídající koncové aplikaci. Jsou-li použity jako náhrada tkání, musí být jejich mechanické vlastnosti podobné a to bez ohledu na to, je-li jejich funkce dočasná nebo trvalá. Keramické a kovové materiály jsou daleko pevnější než lidské kosti a mají vyšší Youngův modul pružnosti. U kosti je Youngův modul pružnosti kolem 20 GPa, kdežto například u kovových biomateriálů se pohybuje v rozmezí 110 až 220 GPa, a u keramických biomateriálů dokonce o až dvacetinásobek hodnot kortikální kosti, tedy na hodnotách v rozmezí 200 až 400 GPa. Taková nesourodost elasticity mezi kostí a implantátem z biomateriálu vede k nesourodé deformaci kosti při jejím mechanickém namáhání. [12]

6.1.1 Dělení mechanických zkoušek

Testy mechanických vlastností mají svou roli při kontrolách technologie výroby, při kontrolách jakosti nebo při přejímkách polotovarů či výrobků, a jsou též nezbytnou součástí při vývoji nových materiálů. Máme celou řadu mechanických zkoušek. Některé z nich se

uplatňují obecně pro testy křehkých nebo houževnatých materiálů a jiné mají uplatnění jen ve speciálních případech. Tyto zkoušky se využívají pro posouzení vhodnosti materiálu k určitému speciálnímu způsobu.

Mechanické zkoušky lze rozdělit na:

statické zkoušky

dynamické zkoušky

únavové zkoušky cyklické

Dále je možno mechanické zkoušky dělit podle teploty na:

zkoušky při laboratorní teplotě

zkoušky při zvýšené teplotě

zkoušky při snížené teplotě

Podle druhu namáhání :

tahem

tlakem

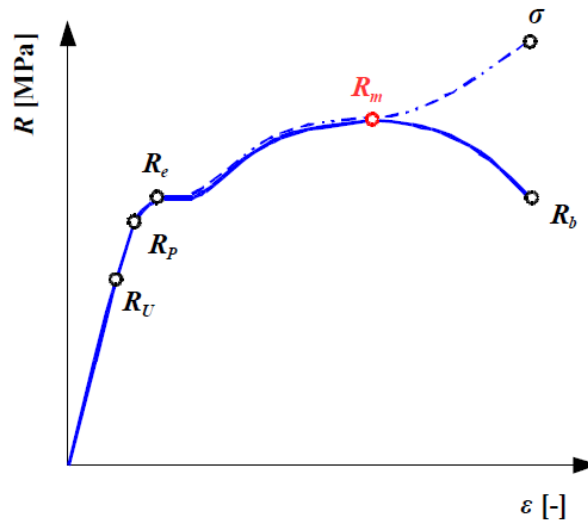
krutem

smykem - stříhem

ohybem

6.1.2 Zkouška pevnosti v tahu

Jednou ze základních a vůbec nejdůležitějších zkoušek je zkouška tahem (popsána normou ISO EN 10002-1). Při tahovém namáhání dochází k deformaci zkušebního tělesa až do přetržení. Zjišťují se přitom napěťové a deformační charakteristiky, kterými jsou pevnost v tahu, mez kluzu, tažnost a kontrakce. Kromě těchto základních mechanických vlastností lze z hodnot získaných během zkoušky stanovit též modul pružnosti, mez úměrnosti a smluvní mez pružnosti.



Obr. 6. Pracovní diagram tahové zkoušky

Počáteční přímkový úsek diagramu vyjadřuje úměrnost napětí a deformace podle *Hookeova zákona*

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \text{ [MPa]}$$

Modul pružnosti v tahu E (Youngův modul) – materiálová konstanta. Směrnice počáteční přímkové části diagramu (tangenta úhlu α) odpovídá modulu pružnosti v tahu *E*. Čím je *E* vyšší, tím je materiál pevnější.

$$E = \operatorname{tg} \alpha = \frac{\sigma}{\varepsilon} \text{ [MPa]}$$

Mez úměrnosti σ_U (R_u) – je mezní napětí při němž je prodloužení ještě přímo úměrné napěči

Mez pružnosti σ_E (R_p) – smluvně se určuje jako napětí vyvolávající trvalou deformaci $\varepsilon = 0,005\%$ původně naměřené délky l_0

Mez kluzu σ_K (R_e) – je viditelná jen u některých tvárných materiálů. Jde o počátek trvalé deformace. Smluvně se určuje pro trvalou deformaci $\varepsilon = 0,2\%$ ($\sigma_{0,2}$)

Mez pevnosti σ_P (R_m) – tyč se prodlužuje při dalším zvyšování zátěže po celé délce l_0 rovnoměrně. V bodě P kde je zatěžovací síla maximální se stanoví mez pevnosti v tahu.

Mez přetržení σ_S (R_b) – po R_m dochází k tvorbě krčku a zatěžující síla klesá

Poměrné prodloužení ε – je poměr změny délky l k původní délce zkušebního tělesa l_0

Tažnost A - je poměrné prodloužení vyjádřené v procentech

6.2 Zkoušky fyzikálních vlastností vzorků pro zvlákňování

6.2.1 Viskozita a její měření

Viskozita polymeru vyjadřuje jeho odpor pro toku (smykovému namáhání).

Viskozita roztoku (kinematická či dynamická) je velmi důležitá fyzikální veličina, z níž lze určit i molekulovou hmotnost polymeru. a odhadnout chování makromolekul v roztoku.

Vztah mezi základními viskozitními veličinami lze vyjádřit

kinematická viskozita [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$] ν

dynamická viskozita [Pa.s] $\eta = \nu \cdot \rho$

a dále odvodit vztahy pro relativní, specifickou, či redukovanou viskozitu a též limitní viskozitní číslo.

Běžné je určování kinematické viskozity pomocí kapilárních viskozimetrů různé konstrukce. Princip této metody spočívá v měření doby, za kterou určité množství kapaliny, jejíž viskozitu určujeme, proteče kapilárou definovaných rozměrů. Kinematická viskozita je pak úměrná zjištěné době. [13]

Pro měření viskozity polymeru v tavenině pak lze využít reometry rotační (pro měření při nízkých rychlostech smykových deformací) a kapilární (pro měření v oblasti středních až vysokých rychlostí smykových deformací). [13]

6.2.2 Elektrická vodivost a její měření

Elektrická vodivost je fyzikální veličina, popisující schopnost materiálu vést elektrický proud. Elektrická vodivost udává jak velký je elektrický proud procházející vodičem při jednotkovém napětí na jeho koncích. Čím větší je vodivost, tím silnější elektrický proud prochází vodičem při stejném napětí. [15]

Elektrická vodivost se nazývá též konduktance a k jejímu měření používáme přístroj nazvaný konduktometr. Konduktometrie je elektroanalytická metoda, při níž se využívá elektrické vodivosti (v našem případě v roztoku) ke zjišťování koncentrace stanovované látky. [15]

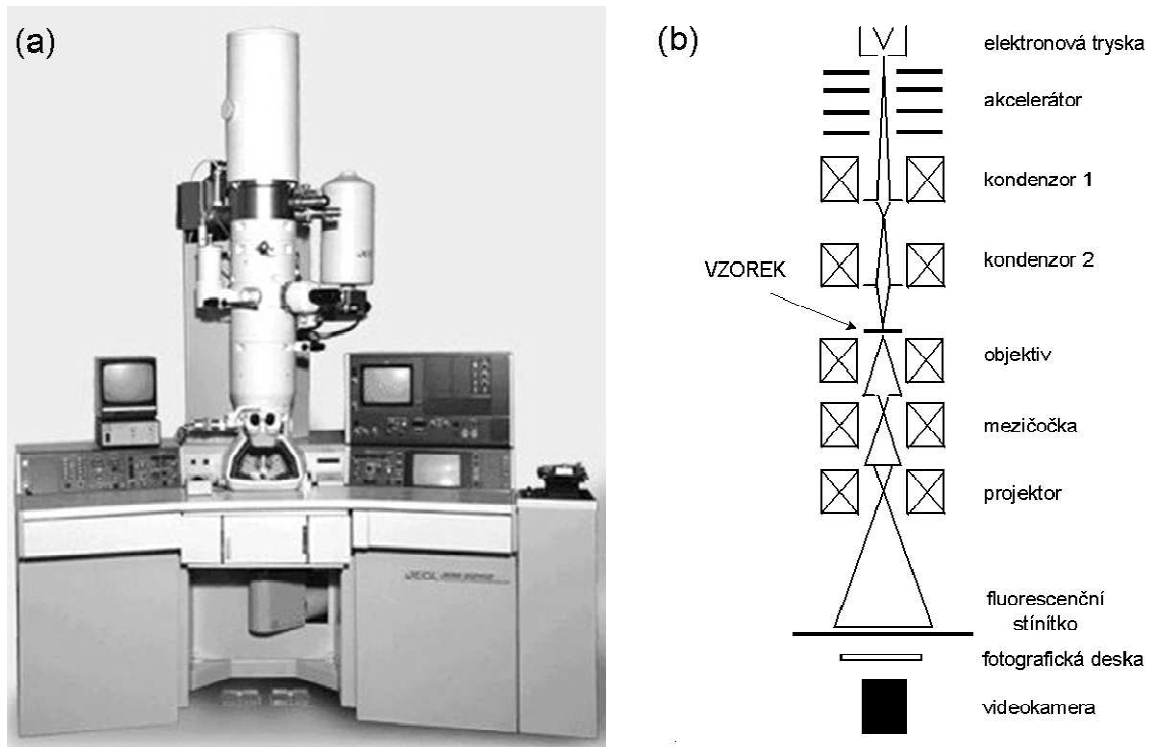
6.3 Elektronová mikroskopie

V roce 1931 na základě tehdejších poznatků fyziky a předchozího zkoumání magnetického pole sestavil německý vědec Ernst Ruska se svým kolegou Maxem Knollem první dvoučočkový elektronový mikroskop. Ruskův mikroskop nejprve dosahoval jen desetkrát větších zvětšení než mikroskop optický. V následujících letech ale zdokonalil mikroskop natolik, že dosahoval zvětšení třicetitisícového a společně s optickým mikroskopem i stotisícového. Již před druhou světovou válkou elektronový mikroskop začala sériově vyrábět firma Siemens. [20]

6.3.1 Dělení elektronových mikroskopů

Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) je experimentální metoda, která je dnes běžně rozšířena. Umožňuje zobrazit mikrostrukturu uvnitř materiálu v měřítku od několika mikronů až po atomové rozlišení, pomocí elektronové difrakce určit symetrii krystalové mříže, a pokud je mikroskop vybaven příslušnými spektrometry, provést navíc lokální analýzu chemického složení. [19]

Transmisní elektronový mikroskop s běžným urychlovacím napětím pro materiálový výzkum (Obr. 7a). V základní skříni výšky pracovního stolu je umístěn vakuový systém mikroskopu a řídicí elektronika. Napájecí skříň a vysokonapěťový tank jsou umístěny odděleně. Ve svislém tubusu jak je uvedeno na schéma (Obr. 7b) je elektronová tryska, akcelerator elektronů, magnetické čočky osvětlovací a zobrazovací soustavy, pozorovací a fotografická komora. Celý tento systém je neustále udržován ve vakuu 10^{-3} až 10^{-5} Pa. Nejvyšší vakuum je potřeba kolem elektronové trysky a v prostoru vzorku, který se vkládá do prostředí tubusu. [19]



Obr. 7. a) Vizualizace a b) schéma transmisního elektronového mikroskopu [14]

Skenovací elektronový mikroskop (SEM) je přístroj určený k pozorování povrchů nejrůznějších objektů. Považujeme jej za analogii světelného mikroskopu v dopadajícím světle, ale na rozdíl od něho je výsledný obraz tvořen pomocí sekundárního signálu - odražených nebo sekundárních elektronů. Proto je zobrazení v SEM považováno za nepřímou metodu. Hlavní předností SEM proti světelnému mikroskopu je jeho velká hloubka ostrosti, v důsledku které lze z dvojrozměrných fotografií ze SEM odčítat nepřímý trojrozměrný aspekt. Další výhodou skenovacích elektronových mikroskopů je, že v komoře preparátů vzniká při interakci urychlených elektronů s hmotou vzorku kromě výše zmíněných signálů ještě řada dalších, např. rtg. záření, Augerovy elektrony, katodoluminiscence, které nesou mnoho dalších informací o vzorku. Jejich detekcí je možné určit například prvkové složení preparátu v dané oblasti a při porovnání s vhodným standardem určit i kvantitativní zastoupení jednotlivých prvků. V literatuře se kromě názvu skenovací používá i označení rastrovací nebo český název řádkovací elektronový mikroskop, který naznačuje, že při práci mikroskopu se primární svazek pohybuje po určité ploše preparátu. [21]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 STANOVENÍ CÍLŮ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Na základě literární rešerše a záměru bakalářské práce byl stanoven experimentální cíl zhodnotit reálnost přípravy nanovlákných vrstev z vybraných syntetických biodegradabilních nebo biokompatibilních polymerů v následujících krocích:

- příprava vzorku pro proces elektrostatického zvlákňování;
- stanovení fyzikálních veličin důležitých pro zvlákňovací proces;
- proces elektrostatického zvlákňování a popis jeho průběhu;
- strukturní analýza s využitím skenovacího elektronového mikroskopu;
- zátěžová zkouška tahem;
- zhodnocení vzorku z hlediska reálnosti přípravy nanovlákných vrstev.

Z důvodu ekonomické nedostupnosti čistých laboratorních nebo medicínských vzorků biodegradabilních nebo biokompatibilních polymerů, bylo cílem testovat nejpoužívanější polymery dostupné komerčně.

8 PŘÍPRAVA VZORKŮ

8.1 Polyetylenvinylalkohol (PEVA)

Protože se nepodařilo v odborné literatuře nalézt žádné informace o přípravě nanovláken z PEVA, byl nejdříve proveden základní test rozpustnosti PEVA v řadě rozpouštědel.

8.1.1 Výchozí chemikálie

Polyetylenvinylalkohol (IDES Prospector, granulát), kyselina octová (Penta Chemicals, p.a.), kyselina mravenčí (Penta Chemicals, p.a.), etanol (Penta Chemicals, p.a.), isopropanol (Penta Chemicals, p.a.), chlorbenzen (Penta Chemicals, p.a.), toluen (Penta Chemicals, p.a.), tetrahydrofuran (Penta Chemicals, p.a.), destilovaná voda

8.1.2 Zkouška rozpustnosti v řadě rozpouštědel

Do 20 ml uzavíratelných zkumavek bylo naváženo po 10 ml každého rozpouštědla a do každé z nich přidány 4 g PEVA. Nejprve byla provedena zkouška za laboratorní teploty (22°C) a míchání magnetickým míchadlem, které bylo součástí každé zkumavky. Jednotlivé vzorky byly kontrolovány v intervalu 10 minut, při čemž bylo sledováno zda dochází k postupnému bobtnání a rozpouštění. Při takto definovaných podmínkách došlo k rozpouštění granulí PEVA pouze v kyselině mravenčí a to způsobem, že prvních 30 minut granule postupně bobtnaly a k úplnému rozpouštění granulí došlo při kontrole v 50. minutě. U ostatních rozpouštědel byla tato zkouška provedena opakovaně za zvýšené teploty 40°C. Teplota byla dosažena pomocí termostaticky vyhřívané plotýnky magnetického míchadla. I zde byla zkouška negativní i po 120 minutách, pouze kyselina octová jevila náznaky povrchového bobtnání PEVA granulí. Výsledek výše popsanych zkoušek je uveden v tabulce I.

Tabulka I. Rozpustnost granulátu PEVA ve vybraných rozpouštědlech

Rozpouštědlo	Rozpustnost při 22°C	Rozpustnost při 40°C
kyselina octová	Ne	Slabý náznak bobtnání (120
kyselina mravenčí	Ano (50 min)	Nebylo testováno
etanol	Ne	Ne
isopropanol	Ne	Ne
chlorbenzen	Ne	Ne
toluen	Ne	Ne
tetrahydrofuran	Ne	Ne
destilovaná voda	Ne	Ne

8.1.3 Příprava výchozího roztoku PEVA

Do 400 g čisté kyseliny mravenčí (Penta Chemicals, p.a.) bylo za laboratorní teploty a intenzivního míchání mechanickým míchadlem přidáno postupně (v cca v pěti stejných dávkách) 100 g polyethylenvinylalkoholu (IDES Prospector). Vzniklá směs byla následně stejným způsobem míchána za laboratorní teploty ještě 90 minut, kdy vznikl zcela čirý, homogenní roztok slabě nažloutlé barvy.

U tohoto roztoku byly změřeny hodnoty viskozity a elektrické vodivosti, což jsou pro elektrostatické zvlákňování klíčové fyzikální parametry. Viskozita byla měřena na množství 150 ml rotačním viskozimetrem Brookfield DV-I Prima. Elektrická vodivost byla měřena na vzorku 50 ml roztoku konduktometrem Elteca 3100. Stejně přístrojové vybavení a postup pro stanovení viskozity a elektrické vodivosti byl použit i u všech následujících roztoků. Výchozí roztok, který byl v následujících krocích použit pro přípravu koncentrační řady pro elektrostatické zvlákňování, měl při teplotě 22 °C parametry uvedené v tabulce II.

Tabulka II. Fyzikální parametry výchozího roztoku PEVA

Značení	Koncentrace PEVA [% hm.]	Viskozita [Pa.s]	Vodivost [mS.cm ⁻¹]
VR11	20	0,38	0,167

8.2 Kyselina polymléčná (PLA1)

Z odborné literatury je známo, že polylaktidy jsou rozpustné v kyselině octové, trifluorocetové, chlorovaných uhlovodících nebo fluorovaných jednoduchých alkoholech. Z pohledu elektrostatického zvlákňování bývá v závislosti na konkrétním polylaktidu výhodné použít kyselinu trifluoroctovou. [3]

8.2.1 Výchozí chemikálie

D,L - polylaktid (biorane, granulát), kyselina trifluoroctová (Sigma-Aldrich, p.a.)

8.2.2 Příprava výchozího roztoku

Do 400 g čisté kyseliny trifluoroctové bylo za laboratorní teploty a intenzivního míchání mechanickým míchadlem přidáno postupně (v cca v pěti stejných dávkách) 100 g polylaktidu. Vzniklá směs byla následně způsobem popsaným v kapitole 8.1.2 míchána za laboratorní teploty další 2 h, kdy vznikl zcela čirý, homogenní roztok. U roztoku byla opět stanovena viskozita a elektrická vodivost. Roztok PLA1, který byl v následujících krocích použit jako výchozí pro koncentrační řadu pro elektrostatické zvlákňování, měl při teplotě 22 °C parametry uvedené v tabulce III.

Tabulka III. Fyzikální parametry výchozího roztoku PLA1

Značení	Koncentrace PEVA [% hm.]	Viskozita [Pa.s]	Vodivost [mS.cm ⁻¹]
VR21	20	0,76	0,125

8.3 Kyselina polymléčná (PLA2)

U vzorku polylaktidu PLA2 nebylo dostatečné množství uvedených informací o vlastnostech v materiálovém listě, který byl ke vzorku materiálu přiložen. Proto byla zvolena zkouška rozpustnosti v řadě rozpouštědel.

8.3.1 Výchozí chemikálie

polylaktid (Nature Works, granulát), kyselina trifluoroctová (Sigma-Aldrich, p.a.), kyselina octová (Penta Chemicals, p.a.), kyselina mravenčí (Penta Chemicals, p.a.), chloroform (Penta Chemicals, p.a.)

8.3.2 Zkouška rozpustnosti v řadě rozpouštědel

Do 20 ml uzavíratelných zkumavek bylo naváženo po 10 ml každého rozpouštědla a do každé z nich přidány 4 g PLA2. Nejprve byla provedena zkouška za laboratorní teploty 22°C a míchání magnetickým míchadlem, které umístěno do každé zkumavky. Jednotlivé vzorky byly kontrolovány v intervalech po 10 minutách, při čemž bylo sledováno, zda dochází k postupnému bobtnání až rozpouštění. Při takto definovaných podmínkách došlo k rozpouštění granulí PLA2 v kyselině trifluoroctové a chloroformu a to způsobem, že během prvních 10 minut v případě u kyseliny trifluoroctové granule postupně bobtnaly, a jejich úplné rozpouštění bylo zaznamenáno při kontrole ve 30. minutě. Granule PLA2 v chloroformu začaly bobtnat po 20 minutách a k úplnému rozpouštění po 50 minutách. Oba roztoky byly nejdříve mléčně zakalené, ale kal postupně sedimentoval. U zbylých dvou rozpouštědel, došlo za výše uvedených podmínek k bobtnání, ale nikoli k rozpouštění granulí, a proto byla tato zkouška provedena stejným způsobem za zvýšené teploty (40°C), kdy došlo u obou sledovaných vzorků k částečnému rozpouštění. V kyselině octové došlo k rozpouštění přibližně 25% vzorku po 120 minutách, u kyseliny mravenčí byla míra rozpouštění cca 50% po 120 minutách. K úplnému rozpouštění však nedošlo. Výsledky výše popsaných zkoušek je uveden v tabulce IV.

Tabulka IV. Rozpustnost granulátu PLA2 ve vybraných rozpouštědlech

Rozpouštědlo	Rozpustnost při 22°C	Rozpustnost při 40°C
kyselina octová	botná	cca 25 % rozpuštěno, rozpuštěná fáze nevykazuje bělavý zákal
kyselina mravenčí	botná	cca 50 % rozpuštěno, rozpuštěná fáze nevykazuje bělavý zákal
kyselina trifluoroctová	ano, mléčný zákal, postupně sedimentuje (30 min)	netestováno
chloroform	ano, mléčný zákal, postupně sedimentuje (50 min)	netestováno

8.3.3 Příprava výchozího roztoku

Do 400 g čisté kyseliny trifluoroctové (Penta Chemicals, p.a.) bylo za laboratorní teploty a intenzivního míchání mechanickým míchadlem přidáno postupně (v cca v pěti stejných

dávkách) 100 g polylaktidu (Biorane, granulát). Vzniklá směs byla následně stejným způsobem míchána za laboratorní teploty ještě 2 h, kdy vznikl homogenní, ale mléčně zakalený roztok. Stejně jako u předchozích roztoků byla i zde měřena viskozita a elektrická vodivost. Výchozí roztok, který byl v následujících krocích použit pro koncentrační řadu pro elektrostatické zvlákňování, měl při teplotě 22 °C parametry uvedené v tabulce V.

Tabulka V. Fyzikální parametry výchozího roztoku PLA1

Značení	Koncentrace PLA2 [% hm.]	Viskozita [Pa.s]	Vodivost [mS.cm ⁻¹]
VR31	20	0,45	0,076

9 ELEKTROSTATICKÉ ZVLÁKŇOVÁNÍ

9.1 Elektrostatické zvlákňování PEVA

Čerstvě připravený výchozí roztok 20 % hm. PEVA v kyselině mravenčí byl ihned testován na proces elektrostatického zvlákňování. Následně byl tento roztok postupně ředěn kyselinou mravenčí v koncentračním kroku 2,5 % hm. Byla tak připravena koncentrační řada roztoků PEVA. U všech roztoků koncentrační řady byla stanovena viskozita a elektrická vodivost jak již bylo popsáno výše. Parametry roztoku jsou uvedeny v tabulce VI.

Tabulka VI. Klíčové fyzikální parametry roztoků koncentrační řady PEVA v kyselině mravenčí při 22 °C

Značení	Koncentrace PEVA [% hm.]	Viskozita [Pa.s]	Vodivost [mS.cm ⁻¹]
VZ11	20	0,38	0,167
VZ12	17,5	0,24	0,159
VZ13	15	0,14	0,152
VZ14	12,5	0,08	0,138
VZ15	10	0,07	0,131
VZ16	7,5	0,06	0,117

Každým roztokem byl pomocí 2 ml injekční stříkačky plněn dávkovač laboratorního zařízení pro elektrostatického zvlákňování (SPUR a.s.). Materiál byl dávkován do zvlákňovací elektrody v podobě tenké jehly s tupým koncem s průtokem 0,5 μl.s⁻¹. Na elektrodu bylo následně vloženo napětí +70 kV. Jako nosný materiál byl použit polypropylén (spunbond) s antistatickou úpravou a plošnou hmotností 20 g.m⁻² (Pegas nonvowens a.s.). Doba experimentu byla 2 minuty, teplota 22°C a relativní vlhkost v rozmezí 30 – 35 %.

V rozmezí koncentrací 20 – 12,5 % hm. PEVA nedošlo vůbec k přenosu hmoty na nosný materiál vyjma ojedinělých ústříků do stran. K přenosu došlo pouze u nižších koncentrací 10 a 7,5 % hm. Proces byl ale nestabilní, a nanesená vrstva byla značně nehomogenní. Takto získané vzorky byly podrobeny SEM analýze.

9.2 Elektrostatické zvlákňování PLA1

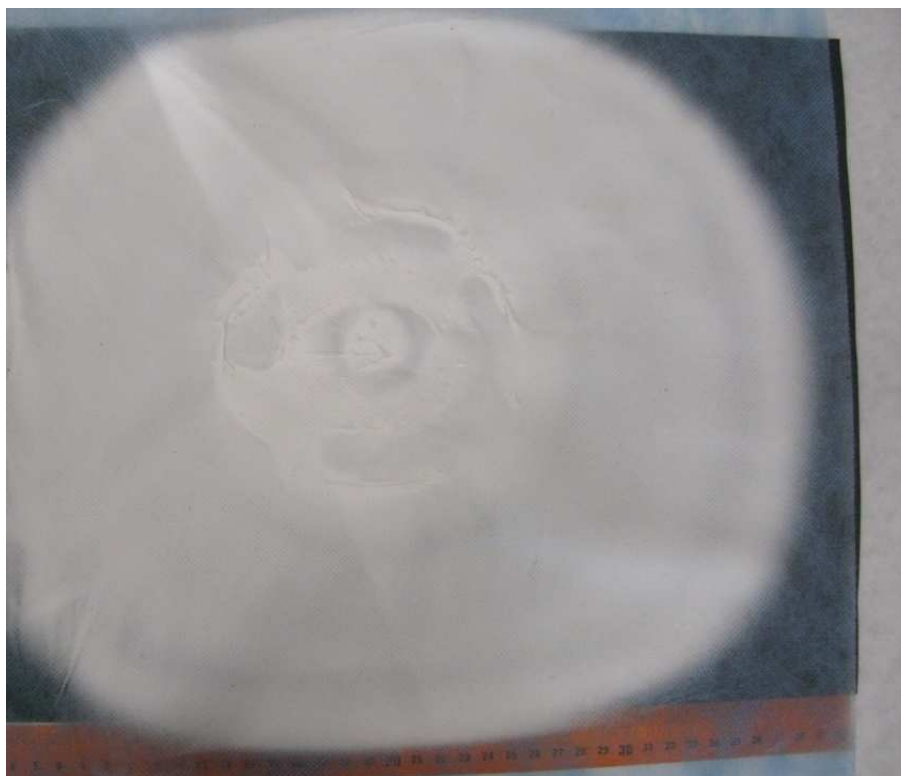
Čerstvě připravený výchozí roztok 20 % hm. PLA1 v kyselině trifluoroctové byl ihned testován na proces elektrostatického zvlákňování. Následně byl tento roztok vždy ředěn kyselinou trifluoroctovou s koncentračním krokem PLA1 2,5 % hm. Byla tak připravena koncentrační řada roztoků PLA1. U všech roztoků koncentrační řady byla stanovena viskozita a elektrická vodivost, jak již bylo popsáno výše. Parametry roztoků jsou uvedeny v tabulce VII.

Tabulka VII. Klíčové fyzikální parametry roztoků koncentrační řady PLA1 v kyselině trifluoroctové při 22 °C

Značení	Koncentrace PEVA [% hm.]	Viskozita [Pa.s]	Vodivost [mS.cm ⁻¹]
VZ21	20	0,76	0,125
VZ22	17,5	0,53	0,132
VZ23	15	0,41	0,139
VZ24	12,5	0,29	0,141
VZ25	10	0,15	0,139
VZ26	7,5	0,10	0,140

Každým roztokem byl pomocí 2 ml injekční stříkačky plněn dávkovač laboratorního zařízení pro elektrostatického zvlákňování (SPUR a.s.). Materiál byl dávkován do zvlákňovací elektrody v podobě tenké jehly s tupým koncem s průtokem 0,5 $\mu\text{l}\cdot\text{s}^{-1}$. Na elektrodu bylo následně vloženo napětí +70 kV. Jako nosný materiál byl použit polypropylén (spunbond) s antistatickou úpravou a plošnou hmotností 20 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ (Pegas nonvowens a.s.). Doba experimentu byla 2 minuty, teplota 22°C a relativní vlhkost v rozmezí 36 – 40 %. Relativní vlhkost byla odlišná než při zvlákňování vzorku PEVA, a to z důvodu, že vlhkost v místnosti kde je laboratorní zvlákňovací zařízení umístěno nelze regulovat.

V celém koncentračním rozsahu došlo k přenosu hmoty. Proces byl stabilní a nanesené vrstvy vykazovaly vizuálně dobrou homogenitu (Obr. 8). Takto získané vzorky byly podrobeny SEM analýze.



Obr. 8. Homogenní nanovláknenná vrstva vzorku PLA1

9.1 Elektrostatické zvlákňování PLA2

Čerstvě připravený výchozí roztok 20 % hm. PLA2 v kyselině trifluoroctové byl ihned testován na proces elektrostatického zvlákňování. Následně byl tento roztok vždy ředěn kyselinou trifluoroctovou s koncentračním krokem PLA1 2,5 % hm. Byla tak připravena koncentrační řada roztoků PLA1 parametrů uvedených v tabulce 8.

Roztoky byly pomocí 2 ml injekční stříkačky plněny do dávkovače laboratorního zařízení pro elektrostatického zvlákňování (SPUR a.s.). Materiál byl dávkován do zvlákňovací elektrody v podobě tenké jehly s tupým koncem s průtokem $0,5 \mu\text{l}\cdot\text{s}^{-1}$. Na elektrodu bylo následně vloženo napětí +70 kV. Jako nosný materiál byl opět použit polypropylén (spunbond) s antistatickou úpravou a plošnou hmotností $20 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ (Pegas nonvowens a.s.). Doba experimentu byla 2 minuty, teplota 22°C a relativní vlhkost se pohybovala v rozmezí 31 – 38 %.

Ani v jednom případě u PLA2 nedošlo k přenosu hmoty.

Tabulka VIII. Fyzikální parametry roztoků koncentrační řady PLA1 v kyselině trifluoroctové při 22 °C

Značení	Koncentrace PEVA [% hm.]	Viskozita [Pa.s]	Vodivost [mS.cm ⁻¹]
VZ31	20	0,45	0,076
VZ32	17,5	0,35	0,079
VZ33	15	0,28	0,081
VZ34	12,5	0,21	0,078
VZ35	10	0,16	0,079
VZ36	7,5	0,11	0,065

9.1.1 Příprava folie PLA2

Protože v průběhu zvlákňovacího procesu nedošlo u PLA2 k vůbec žádnému přenosu hmoty, bylo nutno určit příčinu. Pro určení příčiny byla zvolena SEM analýza vzorku na folii následujícím způsobem.

Výchozí roztok PLA2 v kyselině trifluoroctové byl nanesen na polyetylenovou folii, rovnoměrně rozvrstven po celé ploše, a umístěn do sušárny při teplotě 50°C po dobu 12 hodin. Folie byla podrobena SEM analýze.

10 VYHODNOCENÍ VZORKŮ

Předpokladem k vyhodnocení vzorků bylo provedení:

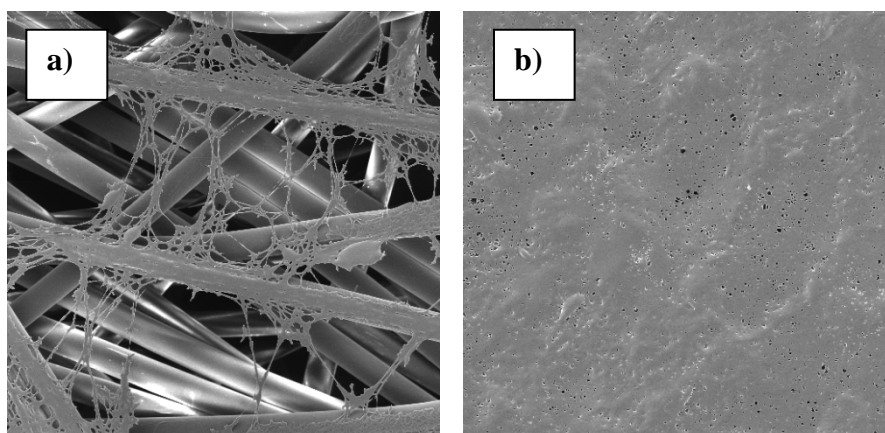
strukturní analýzy elektronovým mikroskopem a stanovení střední hodnoty průměru vláken tahové zkoušky vzorku.

Bylo nutné dodržet toto pořadí, protože z analýzy elektronovým mikroskopem jsme zjistili úspěšnost zvláknění jednotlivých materiálů při stanovených koncentracích. Pokud nebylo dosaženo vlákenné struktury, nebylo ani možné provést tahovou zkoušku. Pořadí pro vyhodnocení vzorků bylo dodrženo stejné jako u jejich přípravy.

10.1 Vyhodnocení vzorku PEVA

10.1.1 SEM analýza a stanovení střední hodnoty průměru vláken

Pro SEM analýzu byl použit skenovací elektronový mikroskop FEI Quanta 200. Vzorky byly před analýzou kvůli zvýšení elektrické vodivosti pokoveny cca 5nm vrstvou zlata. Pro základní posouzení procesu elektrostatického zvláknování byly použity SEM snímky se zvětšením 500x. Toto rozlišení odhalilo, že nedošlo k vytvoření nanovláken, ale až o několik řádů vyšších hodnot průměru vláken. Menší zvětšení umožňuje komplexnější náhled na vzorek a odhalí tak přítomnost nežádoucích defektů vzniklých při procesu elektrostatického zvláknování.



Obr. 8. SEM snímky se zvětšením 500x vzorku PEVA po procesu elektrostatického zvláknění: a) koncentrace PEVA 10 % hm a b) koncentrace PEVA 7,5 % hm.

10.1.2 Zátěžová zkouška tahem

Tahová zkouška nebyla u vzorku PEVA provedena, neboť se nepodařilo připravit nanovláknennou vrstvu.

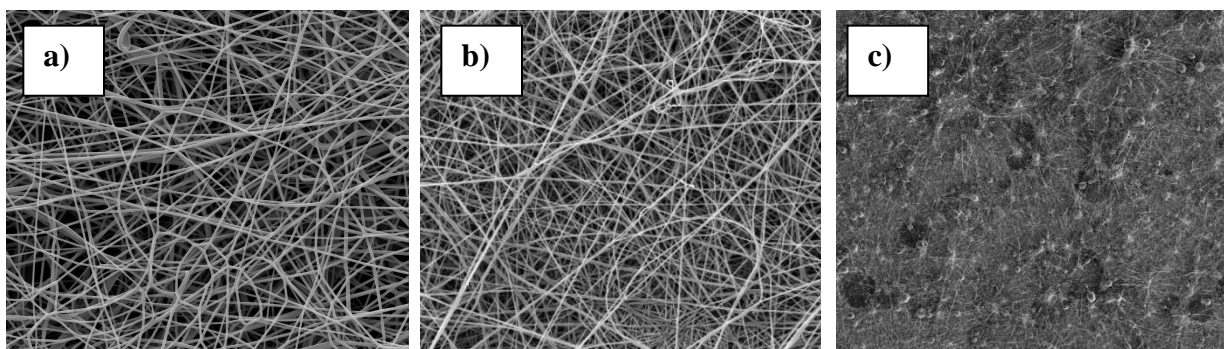
10.1.3 Zhodnocení vzorku

V odborné literatuře dosud zvláknění PEVA nebylo popsáno. PEVA je jedním z komerčně nejvyužívanějších syntetických biodegradabilních polymerů. Proto jsem vzorek zařadil do této práce, abych ověřil reálnou možnost tohoto materiálu tvořit nanovláknna případně nanovláknenné vrstvy. Analýzou bylo zjištěno, že dostupný PEVA není schopen při běžném zvláknovacím procesu dosáhnout nanovláknenných struktur.

10.2 Vyhodnocení vzorku PLA1

10.2.1 SEM analýza a stanovení střední hodnoty průměru vláken

Pro SEM analýzu byl opět použit skenovací elektronový mikroskop FEI Quanta 200. Vzorky byly před analýzou kvůli zvýšení elektrické vodivosti pokoveny cca 5nm vrstvou zlata. Pro základní posouzení procesu elektrostatického zvláknování byly použity SEM snímky se zvětšením 500x.

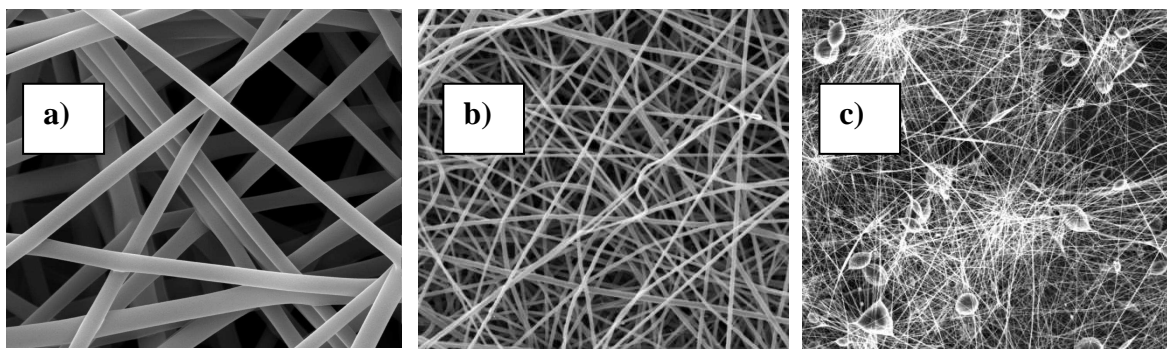


Obr. 9. SEM snímky se zvětšením 500x vzorků PLA1 vrstev po procesu elektronického zvláknění: a) koncentrace PLA1 20 % hm a b) koncentrace PLA1 12,5 % hm. a c) koncentrace PLA1 7,5 %.

Jestliže jsem pomocí SEM analýzy při rozlišení 500x (Obr. 9) zhodnotil, že u vzorků o koncentraci 20% hm PLA1 a 12,5% hm PLA1 a 7,5% hm PLA1 bylo dosaženo vlákněné struktury, zvolil jsem jako další zkoumání struktury SEM analýzu rozlišení 5000x (Obr. 10). Toto rozlišení je empiricky stanoveno jako optimálnější pro hodnocení nanovlákněných struktur z běžných polymerů, pro stanovení a výpočet střední hodnoty průměru vlákna.

Výpočet střední hodnoty průměru vláken lze provádět dvěma způsoby:

- SEM je vybaven vyhodnocovacím systémem pro výpočet střední hodnoty vláken;
- manuálně je třeba vlákna na snímku proměřit a odečíst jejich průměr.

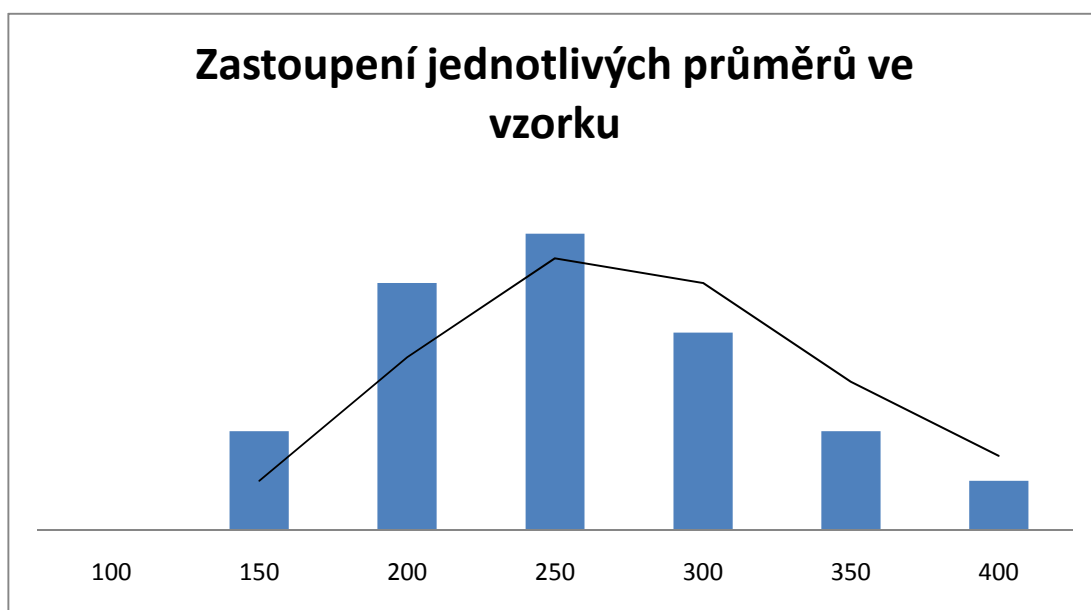


Obr. 10. SEM snímky se zvětšením 5000x vzorků PLA1 vrstev po procesu elektronického zvláknění: a) koncentrace PLA1 20 % hm a b) koncentrace PLA1 12,5 % hm. a c) koncentrace PLA1 7,5 %.

Po analýze vzorků při rozlišení 5000x jsem zjistil, že jediný vzorek, který vytvořil nanovlákněnou strukturu je vzorek o koncentraci 12,5% hm PLA1. Vzhledem k tomu, že mnou využívaný SEM nebyl vybaven vyhodnocovacím systémem, vyhodnotil jsem průměr vláken vzorků PLA1 manuálně ze dvaceti hodnot uvedených v tabulce IX a graficky znázorněných v Obr. 11. U snímků ze SEM analýzy je patrný jistý trojrozměrný aspekt. Pro určení střední hodnoty se však snažíme vybrat vždy pouze vlákna v popředí snímku, abychom tak eliminovali chybu naměřených průměrů na upozaděných vláknech snímku. Střední hodnota průměru vláken u vzorku PLA1 o koncentraci 12,5% hm je 255 ± 50 nm.

Tabulka IX. Hodnoty průměru nanovláken ve vzorku PLA1 o koncentraci 12,5% hm.

Vlákno č.	Průměr vlákna [nm]	Vlákno č.	Průměr vlákna [nm]
1	150	11	250
2	250	12	300
3	350	13	350
4	400	14	300
5	250	15	150
6	300	16	200
7	300	17	200
8	200	18	250
9	200	19	300
10	250	20	250



Obr. 11. Grafické znázornění průměrů vláken zastoupených ve vzorku 12,5% hm PLA1

10.2.2 Zátěžová zkouška tahem

Nanovláknenná vrstva byla ze všech stran ořezána do pravidelného obdélníku 50 x 40 mm způsobem, aby nám zůstala nejsilnější vrstva vytvořená proti trysce zvláknovacího laboratorního zařízení. Dále byl tento obdélník rozdělen na 5 zkušebních tělísek 10 x 40 mm. Tělíska byla označena jako SP1 – SP5 a to způsobem, že tělíska SP1 a SP5 byly krajní tělíska a tělísko SP3 bylo tělísko prostřední. Tělíska byla postupně upevňována do čelistí

trhacího stroje TIRA test 2710 (TIRA GmbH.), a byly natahovány až do přetržení. Na stroji byly nastaveny následující parametry:

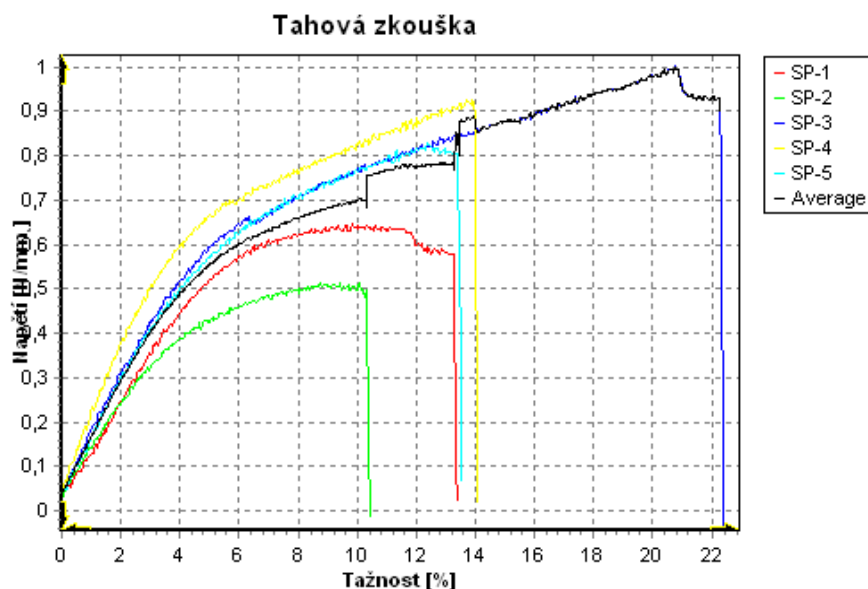
<i>snímač síly</i>	$20N$
<i>zkušební rychlost</i>	$V_0 = 20\text{mm/min}$ a $V_1 = 50\text{mm/min}$
<i>přepínací body</i>	$F_0 = 0,02 N$
<i>kritérium ukončení zkoušky</i>	$F = 20N$; $dF = 90\%$

Po ukončení zkoušky byl zajištěn grafický výstup z trhacího stroje za pomoci vyhodnocovacího softwaru TIRAsystem (TIRA GmbH.). Tento systém poskytl porovnání všech pěti vzorků v grafickém i číselném výstupu ve formě protokolu, který je součástí této práce jako Příloha P1.



Obr. 13. Trhací stroj TIRA Test 2710 (SPUR a.s.)

Grafické porovnání průběhu tahové zkoušky naznačuje, jak se mění tažnost vzorku [%] v závislosti na napětí [$\text{N}\cdot\text{mm}^{-1}$]. Šlo především o porovnání chování zkušebních tělísek na krajích nanovlákněné vrstvy a v jejím středu. Dle předpokladu byla nejvíce odolná vrstva SP3, tedy prostřední vrstva, kde se tvoří proti trysce největší koncentrace nanovláken. Jak nám znázorňuje grafický výstup průběhu zátěžové zkoušky (Obr. 14), průměrné dosažené napětí při maximální síle $0,78 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ a průměrné dosažené poměrné prodloužení při přetržení (tažnost) 14,65%. Všechny výsledky pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny v tabulce X. V tabulce XI je uvedena střední hodnota všech pěti vzorků pro sledované veličiny a jejich směrodatné odchylky, tak jak ji vypočítal vyhodnocovací systém TIRAsystem (TIRA GmbH).



Obr. 14. Průběh zátěžové zkoušky tahem na pěti zkušebních tělíscích

Tabulka X. Výsledky zátěžové zkoušky tahem vzorků SP1 – SP5

Zk. tělísko	FH [N]	RH [N/mm]	AH [%]	FB [N]	RB [N/mm]	AB [%]	M [N/mm]	PHm [g/m^2]
SP1	0,30	0,64	9,84	0,26	0,57	13,28	9,33	0,46
SP2	0,26	0,51	8,77	0,25	0,50	10,30	5,20	0,50
SP3	0,50	1,00	20,74	0,46	0,93	22,27	12,06	0,50
SP4	0,39	0,93	13,70	0,39	0,92	13,96	13,18	0,42
SP5	0,40	0,83	12,36	0,38	0,79	13,42	11,13	0,48

Tabulka XI. Střední hodnoty a směrodatné odchylky měřených hodnot

	FH	RH	AH	FB	RB	AB	M	PHm
	[N]	[N/mm]	[%]	[N]	[N/mm]	[%]	[N/mm]	[g/m ²]
Střední hodnota	0,37	0,78	13,08	0,35	0,74	14,65	10,18	0,47
Směrodatná odchylka	0,10	0,20	4,71	0,09	0,20	4,50	3,12	0,03

Uvedené zkratky měřených hodnot:

FH – maximální síla

RH – napětí při maximální síle

AH – poměrné prodloužení při maximální síle

FB – síla při přetržení

RB – napětí při přetržení

AB – poměrné prodloužení při přetržení (tažnost)

M – modul pružnosti 0,05 – 0,25% v [N/g/m²]

PHm – plošná hmotnost

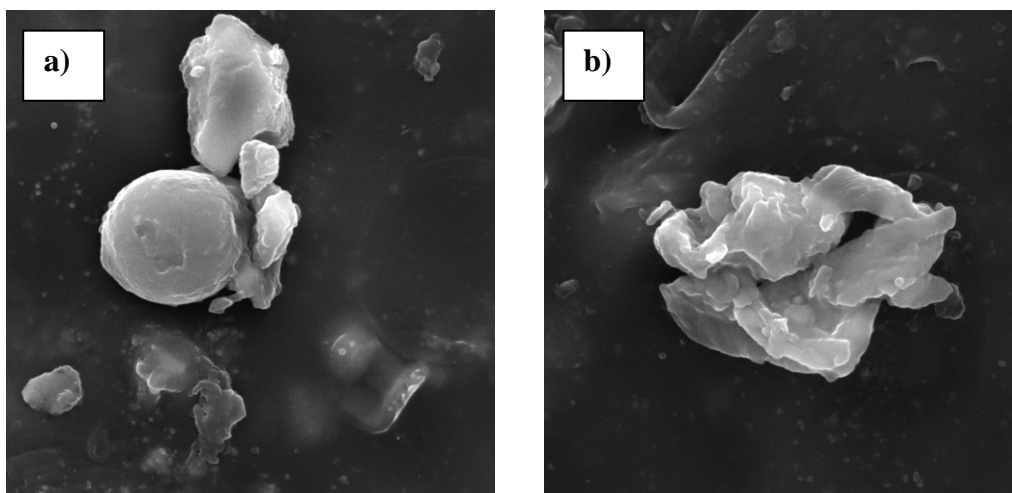
10.2.3 Zhodnocení vzorku

Vzorek PLA1 byl jako jediný biodegradabilní polymer z mnou zkoušených vzorků polymerů dostupných na běžném trhu schopen při koncentracích 20% hm až 7,5% hm tvořit nanovláknennou strukturu. Jako optimální byla vyhodnocena koncentrace 12,5% hm z důvodu, že nanovláknenná struktura byla čistá bez náznaků elektrostatického sprejování. Střední hodnota vlákna tohoto vzorku byla na 255 ± 50 nm. Tahová zkouška prokázala odolnost napětí nanovláknenné struktury do průměrné hodnoty 1 N/mm. Výsledky tahové zkoušky u jednotlivých zkušebních tělísek se lišily v závislosti na poloze tělíska ve vzorku.

10.3 Vyhodnocení vzorku PLA2

10.3.1 SEM analýza a stanovení příčiny neúspěšného pokusu zvláknění

Pro SEM analýzu vzorku PLA2 byl použit skenovací elektronový mikroskop FEI Quanta 200. Vzorky byly před analýzou kvůli zvýšení elektrické vodivosti pokoveny cca 5nm vrstvou zlata. Pro základní posouzení folie byly použity snímky se zvětšením 500x a 5000x.



Obr. 15. SEM snímky vzorků PLA2 folie se zvětšením: a) 500x b) 5000x

Při SEM analýze bylo jasně patrné už při menším rozlišení 500x, že vzorek PLA2 je kontaminován látkou, respektive plnivem, který nebyl uveden v materiálovém listě. Jednalo se z největší pravděpodobností o polyetyléntereftalát. Toto plnivo zabránilo vytvoření nanovlákněné vrstvy z důvodu, že materiál, kterým byl vzorek PLA2 kontaminován má za stanovených podmínek zvláknovacího procesu naprosto odlišné vlastnosti.

10.3.2 Zátěžová zkouška tahem

Nebyla provedena, neboť se nepodařilo připravit nanovlákněné vrstvy.

10.3.3 Zhodnocení vzorku

Vzorek PLA2 – polylaktid (Nature Works) byl navzdory deklarovaným údajům kontaminován jiným materiálem a pro proces elektrostatického zvláknování byl proto nepoužitelný.

ZÁVĚR

Používání biodegradabilních a biokompatibilních polymerních materiálů v biomedicínských aplikacích je výsledkem spolupráce odborníků se znalostmi polymerních materiálů a lékaři. Tato spolupráce se v posledních několika desetiletích prohloubila a byl v této oblasti učiněn významný pokrok.

Biologicky rozložitelné polymery, především ze skupiny polyesterů, což jsou například kyselina polyléččná (PLA) nebo polyetylénavinylalkohol (PEVA) jsou stále více využívány v oblasti kostních náhrad. Tyto a mnohé další biologicky rozložitelné materiály se používají i pro výrobu prostředků zlepšujících hojící proces, cílené podávání léků a fixační a ochranné pomůcky jako jsou chirurgické nitě, šrouby k vnitřnímu použití, zpevňující destičky, atd. Materiály používané v těchto aplikacích musí splňovat mnoho specifických požadavků. Jeden z hlavních je biokompatibilita.

Mechanické vlastnosti a degradace biopolymerů jsou závislé na molekulární struktuře (a v případě kopolymerů i na poměru jednotlivých složek), a též na teplotě, čase a prostředí. Protože požadavky v biomedicínském odvětví jsou stále více konkrétní, je nutná především optimalizace zpracovatelnosti biomateriálů, ale tak, aby nebyla narušena jejich biokompatibilita a biodegradabilita.

Zpracování a zkoumání biologicky rozložitelných polymerů ve formě nanočástic, nanovláken nebo nanokompozitů je dnes jedna z nejvíce rozvíjejících se oblastí využití polymerů v biomedicíně, především v oboru tkáňového inženýrství, kde jsou biopolymery využity jako porézní lešení pro dopravu buněk. V současnosti jsou mnohé nanotechnologie již implementovány do praxe, nicméně většina vývojových postupů na své reálné využití teprve čeká.

Cílem práce bylo zhodnotit reálnost přípravy nanovláknenných vrstev z vybraných biodegradabilních a biokompatibilních polymerů - PLA (dva typy) a PEVA.. Pro výrobu nanovrstev byla zvolena metoda elektrostatického zvlákňování. V některých případech bylo nutné nejdříve nalézt vhodné činidlo pro přípravu roztoku, v ostatních případech bylo využito poznatků publikovaných v odborné literatuře.

Každý materiál byl hodnocen z hlediska fyzikálních vlastností; na rotačním viskozimetru byla zjišťována viskozita vzorku a konduktometrem byla měřena elektrická vodivost.

U každého vzorku byla vytvořena koncentrační řada, která pak byla postupně zvlákněována na laboratorním zařízení pro elektrostatické zvlákněování. Vyrobené vrstvy pak byly podrobeny analýze na skenovacím elektronovém mikroskopu.

SEM analýzou bylo nejprve nutné určit, zda vznikla vlákenná vrstva. V případě pozitivního výsledku bylo dále hodnoceno, zda jsou vrstvy tvořeny nanovláknny, popřípadě mikrovláknny či objemově většími typy vláken. Na vybraných vzorcích byla změřena střední hodnota průměru vláken. Na vzorcích zvlákněnné struktury byla následně provedena mechanická tahová zkouška.

Při použití běžných postupů pro zvlákněování materiálů se zdařilo vytvořit nanovláknennou vrstvu u zkoumaného materiálu PLA1. Vzorek PLA2 vykazoval kontaminaci jiným materiálem, který byl identifikován jako polyetyléntereftalát a který zapříčinila jeho vyhodnocení coby nevhodného pro tento způsob zvlákněnní. PEVA se při použití daného zařízení zvláknit nepodařilo, i když materiál vykázal jistý potenciál pro zvlákněnní jiným postupem, který byl však již nad rámec možností dané práce. Na závěr lze konstatovat, že vytvoření nanovláknenných vrstev u komerčně dostupných biologicky rozložitelných polymerů je závislé především na čistotě vstupního materiálu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KIRCHELDORF H.R., NUYKEN O., SWIFT G.: *Handbook of Polymer Synthesis*. 2nd ed. CRC Press 2004, ISBN 9780824754730
- [2] BASTIOLI, C: *Handbook of Biodegradable Polymers*. RAPRA Technology Limited 2005, ISBN 1-85957-389-4
- [3] EDWARDS J. V., BUSCHLE – DILLER G., GOHEEN S. C.: *Modified Fibers with Medical and Specialty Application*. Springer. 2006. ISBN-101402037937 (HB)
- [4] WONG J. Y., BRONINO J. D: *Biomaterials*. Boca Raton, FL: CRC Press 2007, ISBN 0849378885
- [5] RAAB Miroslav: *Plasty a lidé* [online]. Ústav makromolekulární chemie. Akademie věd ČR [citace 2010 - 2 - 15]. Dostupné z WWW: <http://archiv.otevrenaveda.cz/users/Image/default/C1Kurzy/Chemie/33raab.pdf>
- [6] HELLER J., BAKER R. W. *Controlled Release of Bioactive Materials*. New York, Academic Press 1980
- [7] HNÁTKOVÁ E. *Využití biologicky rozložitelných polymerů pro konstrukční prvky v oblasti medicíny*. Bakalářská práce, UTB Zlín 2010
- [8] SHALABY W. S., BURG K. J. L. *Absorbable and Biodegradable Polymers*. Florida CRC Press 2004. ISBN 0849314844
- [9] *Biomaterial Degradation/Erosion* [online] [citace 2009 - 12 - 20]. Dostupný z WWW: <http://www.bioen.illinois.edu/course/bioe498/SM/lectures/BioEng%20498%20lecture%2011.ppt>
- [10] HELEBRANT, A., et al. *Příprava a testování bioaktivních povrchů a materiálů - chemický pohled* [online]. 2006 [cit. 2008-04-14]. Dostupný z WWW: <http://www.ceramics.silikaty.cz/biomaterialy/pdf/biomaterialy%20AH.pdf>
- [11] URBAN, K. SPONER, P. Možnosti náhrady kostní tkáně. *Lék. Zpr. LF UK* 2004, roč. 49, č. 7–8, s. 259–267.
- [12] RAVAGLIOLI A., KRAJEWSKI A. *Bioceramics: Materials, Properties, Applications*, London: Chapman and Hall, 1992. 422s ISBN:0 412 34960 4
- [13] HAUSNEROVÁ B., PAVLÍNEK V. *Fyzika polymerů: Laboratorní cvičení*, Učební texty vysokých škol, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně (2003)

- [14] LABÍK S., BUREŠ M., CHUCHVALEC P., KOLAFA J., NOVÁK J., ŘEHÁK K.: *Příklady z fyzikální chemie*. [online]. VŠCHT Praha 2008, [cit. 2010-3-26]. Dostupný z WWW: <http://www.vscht.cz/fch/prikladnik/prikladnik/p.12.1.html>
- [15] BLAHOVEC A. *Elektrotechnika 1*. Informatorium 2008, ISBN 8073330431
- [16] PETRÁŠ D., KIMMER D., SOUKUP K., KLUSOŇ P. *Bezpečná nanovlákná* [online]. Chemické listy [cit. 2010-9-3-26]. Dostupný z WWW. http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_12_1009-1016.pdf
- [17] HAYNES, B. MILLIGAN, M.: Experimental Investigation of Melt Blowing, *Journal of Nonwovens Research*, 3 (4), 20-25 (1991)
- [18] ANDRADY A. L.: *Science and Technology of Polymer Nanofibers*. Wiley Hardcover 2008, ISBN: 978-0-471-79059-4
- [19] WILLIAMS D. B. *Transmission Electron Microscopy*. Springer 2009. ISBN 0387765026
- [20] GOLDSTEIN J.. *Scanning Electron Microscopy*. Springer 2003. ISBN 0306472929
- [21] JURAČKA P. J., NEBESÁŘOVÁ J. *Skenovací elektronový mikroskop ve službách biologie*. PřF. OU 2010 Dostupný z WWW <http://www.microscopy.cz/>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PE	Polyetylén, polymer
PP	Polypropylén, polymer
PEVA	polyetylénvinylalkohol
PLA	Polylaktid, kyselina mléčná
CO ₂	Oxid uhličitý
H ₂ O	Voda
CH ₄	Metan
N ₂	Dusík
H ₂	Vodík
ATP	Adenotrifosfát
OBP	Oxo – biodegradabilní plasty
HBP	Hydro – biodegradabilní plasty
E	Modul pružnosti v tahu E (Youngův modul)
σ_U (R _u)	Mez úměrnosti [MPa]
σ_E (R _p)	Mez pružnosti [MPa]
σ_K (R _e)	Mez kluzu [MPa]
σ_P (R _m)	Mez pevnosti [MPa]
σ_S (R _b)	Mez přetržení [MPa]
ε	Poměrné prodloužení
A	Tažnost
VR	Výchozí roztok
VZ	Vzorek
σ	Napětí [MPa]
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
TEM	Transmisní elektronový mikroskop

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Nanovláknenná polymerní nit	20
Obr. 2. Plošná struktura polymerních nanovláken [16]	21
Obr. 3. Příklad objemové struktury polymerních nanovláken [16]	22
Obr. 4. Schéma principu elektrostatického zvláknování [3].....	23
Obr. 5. Tvorba obvazové vrstvy přímo na kůži.	26
Obr. 6. Pracovní diagram tahové zkoušky	29
Obr. 7. a) Vizualizace a b) schéma transmisního elektronového mikroskopu [14].....	32
Obr. 8. Homogenní nanovláknenná vrstva vzorku PLA1	42
Obr. 8. SEM snímky se zvětšením 500x vzorku PEVA po procesu elektrostatického zvláknění: a) koncentrace PEVA 10 % hm a b) koncentrace PEVA 7,5 % hm.	44
Obr. 9. SEM snímky se zvětšením 500x vzorků PLA1 vrstev po procesu elektronického zvláknění: a) koncentrace PLA1 20 % hm a b) koncentrace PLA1 12,5 % hm. a c) koncentrace PLA1 7,5 %	45
Obr. 11. Grafické znázornění průměrů vláken zastoupených ve vzorku 12,5% hm PLA1 .	47
Obr. 13. Trhací stroj TIRA Test 2710 (SPUR a.s.)	48
Obr. 14. Průběh zátěžové zkoušky tahem na pěti zkušebních tělískách.....	49
Obr. 15. SEM snímky vzorků PLA2 folie se zvětšením: a) 500x b) 5000x	51

SEZNAM TABULEK

Tabulka I. Rozpustnost granulátu PEVA ve vybraných rozpouštědlech.....	36
Tabulka II. Fyzikální parametry výchozího roztoku PEVA	36
Tabulka III. Fyzikální parametry výchozího roztoku PLA1	37
Tabulka IV. Rozpustnost granulátu PLA2 ve vybraných rozpouštědlech.....	38
Tabulka V. Fyzikální parametry výchozího roztoku PLA1	39
Tabulka VI. Klíčové fyzikální parametry roztoků koncentrační řady PEVA v kyselině mravenčí při 22 °C	40
Tabulka VII. Klíčové fyzikální parametry roztoků koncentrační řady PLA1 v kyselině trifluoroctové při 22 °C	41
Tabulka VIII. Fyzikální parametry roztoků koncentrační řady PLA1 v kyselině trifluoroctové při 22 °C	43
Tabulka IX. Hodnoty průměru nanovláken ve vzorku PLA1 o koncentraci 12,5% hm.....	47
Tabulka X. Výsledky zátěžové zkoušky tahem vzorků SP1 – SP5	49
Tabulka XI. Střední hodnoty a směrodatné odchylky maněřených hodnot.....	50

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI. Protokol zkoušky tahovým zatížením

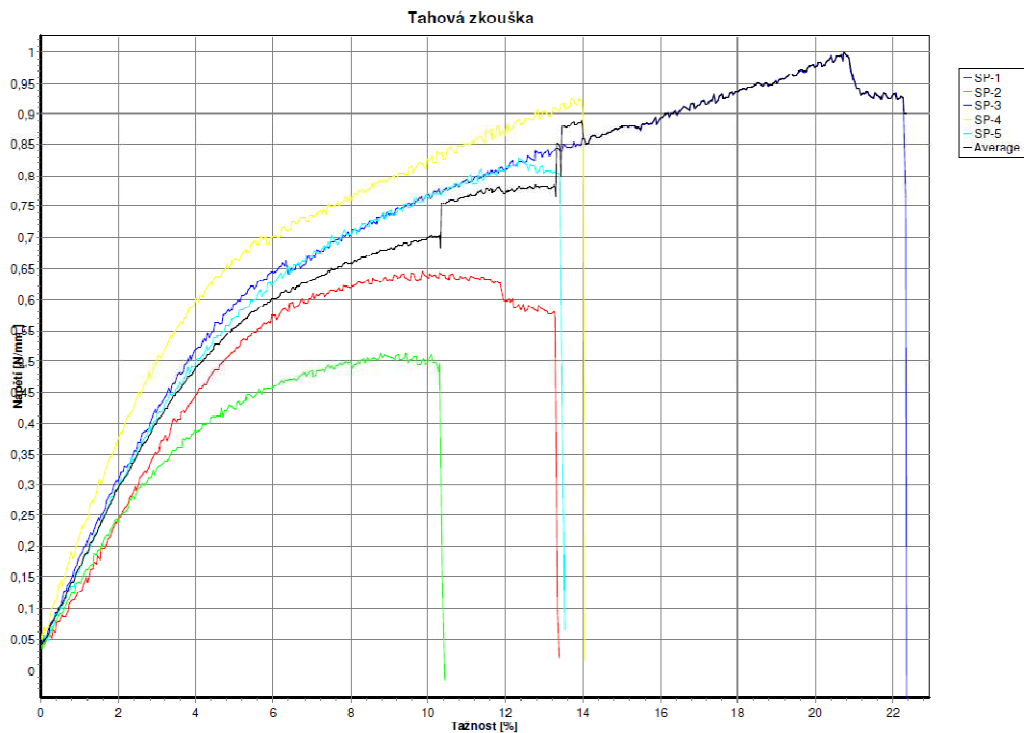
PŘÍLOHA PI: PROTOKOL ZKOUŠKY TAHOVÝM ZATÍŽENÍM

Pracoviště:
Zkouška: Tahová
Zkoušející:

Datum zkoušky:
Materiál: PLA
Označení série: SP

Zkušební parametry

Snímač síly: 20 N
Zkušební rychlosti: V0 = 20 mm/min; V1 = 50 mm/min
Přepínací body: F0 = 0,02 N
Kriterium ukončení zkoušky: F = 20 N; dF = 90 %



Výsledky zkoušky

		FH N	RH N/mm	AH %	FB N	RB N/mm	AB %	M N/mm	Ploš. hmot. mm
1	x	0,30	0,64	9,84	0,26	0,57	13,28	9,33	0,46
2	x	0,26	0,51	8,77	0,25	0,50	10,30	5,20	0,50
3	x	0,50	1,00	20,74	0,46	0,93	22,27	12,06	0,50
4	x	0,39	0,93	13,70	0,39	0,92	13,96	13,18	0,42
5	x	0,40	0,83	12,36	0,38	0,79	13,42	11,13	0,48

Statistika a = 5

	FH N	RH N/mm	AH %	FB N	RB N/mm	AB %	M N/mm	Ploš. hmot. mm
Střední hodnota	0,37	0,78	13,08	0,35	0,74	14,65	10,18	0,47
Standardní odchylka	0,10	0,20	4,71	0,09	0,20	4,50	3,12	0,03

FH - maximální síla
AH - pom. prodloužení při max. síle
FB - síla při přetržení
AB - pom. prodloužení při přetržení (tažnost)

RH - napětí při max. síle
RB - napětí při přetržení
M - modul pružnosti 0.05 - 0.25% v [N/g/m²]
Ploš. hmotnost v [g/m²]