

Příprava a charakterizace vláknenných struktur na bázi elektroaktivního polymeru

Bc. Tereza Mejtská

Diplomová práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav fyziky a mater. inženýrství

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Tereza Mejtská**
Osobní číslo: **T22326**
Studijní program: **N0711A130023 Materiálové inženýrství a nanotechnologie**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Příprava a charakterizace vlákných struktur na bázi elektroaktivního polymeru**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši na téma využití a zpracování elektroaktivních polymerů.
2. Připravte roztoky na bázi elektroaktivního polymeru a zaměřte se zejména na použití různých rozpouštědel.
3. Připravené roztoky zpracujte pomocí 3D tisku a electrospinningu.
4. Vzniklé vlákné produkty charakterizujte a výsledky diskutujte.

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

Seznam doporučené literatury:

1. NING, Chengyun, Zhengnan ZHOU, Guoxin TAN, Ye ZHU a Chuanbin MAO. Electroactive polymers for tissue regeneration: Developments and perspectives. Progress in Polymer Science. 2018, 81, 144-162. ISSN 00796700. DOI:10.1016/j.progpolymsci.2018.01.001
2. KOCHERVINSKII, Valentin V., Oleg GRADOV a Margarita GRADOVA. Fluorine-containing ferroelectric polymers and their application in engineering and biomedicine. Russian Chemical Reviews. 2022, (91). ISSN 1468-4837. DOI: doi:10.57634/RCR5037
3. GRYSHKOV, Oleksandr, Fedaa AL HALABI, Antonia Isabel KUHN, et al. PVDF and P(VDF-TrFE) Electrospun Scaffolds for Nerve Graft Engineering: A Comparative Study on Piezoelectric and Structural Properties, and In Vitro Biocompatibility. International Journal of Molecular Sciences. 2021, 22(21). ISSN 1422-0067. DOI:10.3390/ijms222111373

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Markéta Kadlečková, Ph.D.**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2024**
Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Petr Smolka, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2024

Příloha č. 4 – Prohlášení autorky DP

**PROHLÁŠENÍ AUTORKY
DIPLOMOVÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou 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);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové 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.

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studentky:

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

Práce je zaměřena na přípravu strukturovaných vlákněných vrstev z roztoků syntetického elektroaktivního polymeru poly(vinylidenfluorid-tetrafluoroethylen-chlorotrifluorethylenu) pro možné využití v regenerativní medicíně. Pro přípravu scaffoldů byla použita metoda 3D tisku v kombinaci s fázovou separací, kdy byly optimalizovány procesní parametry tisku pro vznik vícevrstevných scaffoldů s hierarchickou strukturou. Pro zvýšení elektroaktivity terpolymeru, byly provedeny experimenty s tepelným a rozpouštědlovým žiháním. Pro přípravu tenkých samonosných vlákněných vrstev byla použita metoda elektrospinnu. Charakterizace připravených struktur probíhala pomocí skenovací elektronové mikroskopie, infračervené spektroskopie a konfokální mikroskopie. Vybrané vzorky byly podrobeny testu buněčné interakce s myšimi embryonálními fibroblasty, které prokázaly možné využití připravených scaffoldů v tkáňovém inženýrství.

Klíčová slova: elektroaktivní polymer, poly(vinylidenfluorid-tetrafluoroethylen-chlorotrifluoroethylen), strukturované povrchy, fázová separace, 3D tisk, elektrospinning

ABSTRACT

The work is focused on the preparation of structured fibrous layers from solutions of synthetic electroactive polymer poly(vinylidene fluoride-tetrafluoroethylene-chlorotrifluoroethylene) for possible use in regenerative medicine. A 3D printing method combined with phase separation was used to prepare the scaffolds, where the printing process parameters were optimized to produce multilayered scaffolds with a hierarchical structure. To increase the electroactivity of the terpolymer, thermal and solvent annealing experiments were performed. The electrospinning method was used to prepare thin self-supporting fiber layers. Characterization of the prepared structures was carried out by scanning electron microscopy, infrared spectroscopy and confocal microscopy. The selected samples were subjected to cellular interaction assay with mouse embryonic fibroblasts, which demonstrated the potential use of the prepared scaffolds in tissue engineering.

Keywords: electroactive polymer, poly(vinylidene fluoride-tetrafluoroethylene-chlorotrifluoroethylene), structured surface, phase separation, 3D printing, elektrospinning

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych tímto poděkovat vedoucí diplomové práce paní Ing. Markétě Kadlečkové, PhD. za odborné vedení, obrovskou trpělivost, nedocenitelné rady a názory, věnovaný čas a podporu při práci. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za obrovskou podporu a trpělivost při studiích a v životě, bez kterých by tuto práci nebylo možné udělat.

Na závěr bych chtěla poděkovat svým kamarádům ze studijní skupiny materiálového inženýrství a nanotechnologie, kde jsme se navzájem podporovali a vytvořili výborný kolektiv.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ELEKTROAKTIVNÍ POLYMERY	11
1.1 HISTORICKÝ BACKGROUND	11
1.2 VLASTNOSTI.....	12
1.3 ROZDĚLENÍ.....	13
1.4 VYUŽITÍ	16
1.5 POLYVINYLIDENFLUORID (PVDF)	16
1.5.1 Struktura.....	17
1.5.2 Zpracování.....	18
1.5.3 Vlastnosti.....	19
1.5.4 Využití.....	20
1.6 POLYVINYLIDENFLUORID-TETRAFLUOROETHYLEN- CHLOROTRIFLUOROETHYLEN (PVDF-TrFE-CTFE).....	22
1.6.1 Vlastnosti.....	23
1.6.2 Využití.....	25
2 PŘÍPRAVA VLÁKENNÝCH STRUKTUR	26
2.1 3D TISK	26
2.1.1 3D biotisk na bázi extruze.....	27
2.1.2 Tvorba hierarchické struktury při tisku.....	28
2.2 ELEKTROSTATICKÉ ZVLÁKŇOVÁNÍ.....	29
2.3 VYUŽITÍ VLÁKENNÝCH STRUKTUR	31
3 METODY CHARAKTERIZACE POVRCHU	33
3.1 SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (SEM).....	33
3.2 INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE S FOURIEROVOU TRANSFORMACÍ (FTIR).....	34
3.3 KONFOKÁLNÍ MIKROSKOPIE	36
II PRAKTICKÁ ČÁST	38
4 MATERIÁLY A METODY	39
4.1 POPIS EXPERIMENTU.....	39
4.2 POUŽITÉ MATERIÁLY	39
4.3 POUŽITÉ PŘÍSTROJE PRO PŘÍPRAVU VLÁKENNÝCH STRUKTUR.....	40
4.3.1 Bio 3D tiskárna	40
4.3.2 Elektrospining	40
4.4 BUNĚČNÁ PROLIFERACE	41
4.5 METODY CHARAKTERIZACE VLÁKENNÝCH STRUKTUR.....	41
4.5.1 Skenovací elektronový mikroskop.....	41

4.5.2	FTIR	41
4.5.3	Konfokální mikroskop	42
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	43
5.1	3D TISK.....	43
5.1.1	Vliv dobrého rozpouštědla na tisk směsi	43
5.1.2	Vliv špatného rozpouštědla na tisk směsi	45
5.1.3	Vliv tisku vybraných směsí do lázní na strukturu výtisku	49
5.1.4	Proliferace fibroblastů na vybraném vzorku	53
5.2	ELEKTROSPINING	55
5.2.1	Vliv koncentrace polymeru a vzdálenosti kolektoru.....	55
5.2.2	Vliv rychlosti otáčení kolektoru.....	57
5.3	ŽÍHÁNÍ	58
5.3.1	Tepelné žíhání	59
5.3.2	Žíhání rozpouštědlem.....	60
	ZÁVĚR	62
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	64
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	73
	SEZNAM OBRÁZKŮ	77
	SEZNAM TABULEK.....	79

ÚVOD

Elektroaktivní polymery (EAP) představují inovativní třídu materiálů s širokým spektrem potenciálních aplikací v různých oblastech vědy a průmyslu, včetně regenerativní medicíny, soft robotiky, sensoriky a energetiky. Tyto polymery mají schopnost reagovat na elektrické pole a přeměňovat elektrickou energii na mechanickou, což umožňuje vytvářet adaptivní a funkční výrobky. V rámci výzkumu a vývoje se uplatňují moderní techniky zpracování jako je 3D tisk a elektrospinning, které umožňují formovat EAP do požadovaných tvarů a struktur. 3D tisk ve spojení s fázovou separací například umožňuje vytvářet složité vícevrstvé scaffoldy s hierarchickou strukturou, což je klíčové pro regenerativní medicínu a tkáňové inženýrství.

Regenerace poškozené tkáně je iniciována růstem a proliferací buněk. Bylo potvrzeno již mnoha výzkumy, že stimulace způsobená elektroaktivními materiály může mít vliv na usměrnění buněčné migrace, adheze, růstu a diferenciaci, které mohou vést ke zlepšení regenerace. Mezi využívané biokompatibilní elektroaktivní materiály patří zejména polyvinylidenfluorid (PVDF). Kombinací metod zpracování polymeru a postprocesních postupů je možné modifikovat povrchovou strukturu a množství krystalické β -fáze terpolymeru zvyšující elektroaktivitu polymeru.

Hlavním cílem diplomové práce je optimalizovat procesní parametry zpracování roztoků syntetického terpolymeru poly(vinylidenfluorid-tetrafluoroethylen-chlorotrifluoroethylenu) pomocí metod 3D tisku a elektrospinningu. Využitím fázové separace vytvořit hierarchicky strukturované 3D tištěné scaffoldy a na vybraném vzorku poté provést test buněčné proliferace myších embryonálních fibroblastů, aby mohla být vyloučena cytotoxicita zpracovávaného polymeru. Pomocí procesu žíhání bude sledováno zastoupení β -fáze terpolymeru, která pozitivně ovlivňuje elektroaktivní vlastnosti.

Dalším sledovaným cílem bude zpracování polymeru pomocí elektrospinningu, a to konkrétně vytvoření samonosných vlákných vrstev s alespoň částečně orientovanou strukturou vláken. Přípravené vzorky budou charakterizovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie, infračervené spektroskopie a konfokální mikroskopie.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ELEKTROAKTIVNÍ POLYMERY

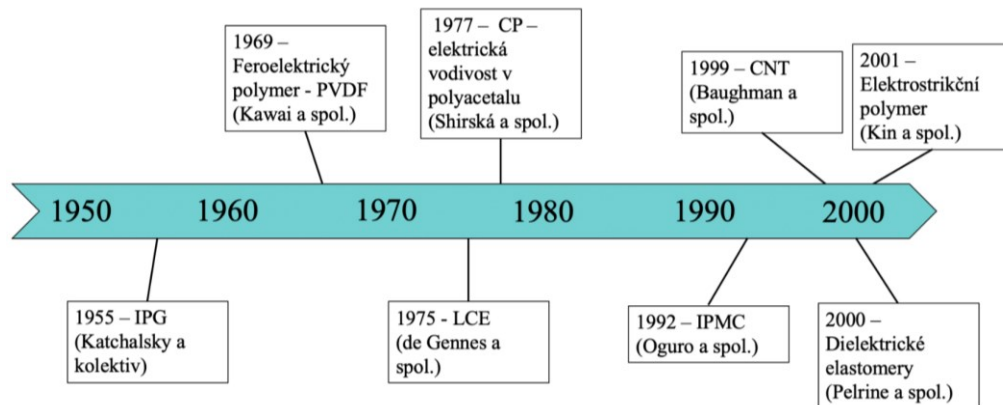
Zvláštní typy polymerů, které vlivem elektrické stimulace mění své rozměry a naopak, se řadí mezi tzv. elektroaktivní polymery (EAP – electroactive polymer). Rozměrová změna se může pohybovat od jednotek až po stovky procent vůči původnímu tvaru. EAP vynikají v oblasti „aktivních materiálů“ svojí rychlou odezvou, nízkou hustotou, velkým aktivním deformačním potenciálem a zvýšenou odolností [1]. Nejčastější využití elektroaktivních materiálů je v oblasti elektronických aplikací jako aktuátory (akční členy) nebo senzory [2]. V poslední době jsou tyto materiály středem zájmu s ohledem na využití pro výzkum v oblasti mechanoelektroniky [3] nebo v biomedicině a v tkáňovém inženýrství [4, 5].

1.1 Historický background

V roce 1880 bratři Pierre a Jacques Curie provedli experiment, kde na krystal turmalínu, vykazující nesymetrickou strukturu, aplikovali napětí. Zjistili, že materiály obsahující asymetrii vykazují piezoelektrický jev [6].

Nezávisle na bratry Curie byl proveden experiment Wilhelmem Röntgenem. Jeden konec kaučukové pásky o rozměrech 16×100 cm byl pevně upevněn a na druhý konec byl aplikován elektrický proud. Při použití různých velikostí proudu se měnila délka pásky [7]. Následně profesor Sacerdote formuloval teorii o deformačních reakcích (odezva napětí) na přikládaném elektrickém poli [8]. O pár let později Motatorô Eguchi v roce 1925 objevil první piezoelektrický polymer nazývaný elektret [9]. Jedná se o dielektrický materiál, který obsahuje kvazi-trvalé elektrické náboje nebo dipolární polarizaci. Elektret může generovat napětí, ale pod podmínkou deformace vlivem elektrického napětí. Vzniklá deformace je malá a omezuje jeho použití jako aktuátor. Proto je ve velké míře užíván jako snímač nebo převodník. Japonskému fyzikovi Heijimu Kawai se v roce 1969 podařilo dokázat, že velmi dobrými piezoelektrické vlastnosti vykazuje polyvinylidenfluorid (PVDF) [10]. Intenzivněji byly elektrické vlastnosti zkoumány (piezoelektrické [11], pyroelektrické [12], feroelektrické [13], elektrostriční [14]) a přechodové chování [15]) až ve 20. století v 70. a 80. letech.

Postupně byly objevovány či vyvíjeny další EAP (Obr. 1). Až od 90. let 20. století vědci a průmyslové firmy začaly řádně studovat elektricky stimulované polymery pro průmyslové aplikace, které jsou stále středem pozornosti.



Obr. 1 Historický vývoj EAP [částečně převzato z 16]

1.2 Vlastnosti

EAP jsou unikátní skupinou, která vykazuje jedinečné mechanické, elektrické a elektromechanické vlastnosti. Každá ze zmíněných vlastností hraje významnou roli v jednotlivých aplikacích (aktuátory, elektronika, robotika, ...) [17]. Tyto materiály, díky elektromechanickým vlastnostem v kombinaci s výhodami polymerních materiálů, přitahují stále větší pozornost vědeckých pracovníků a inženýrů [18].

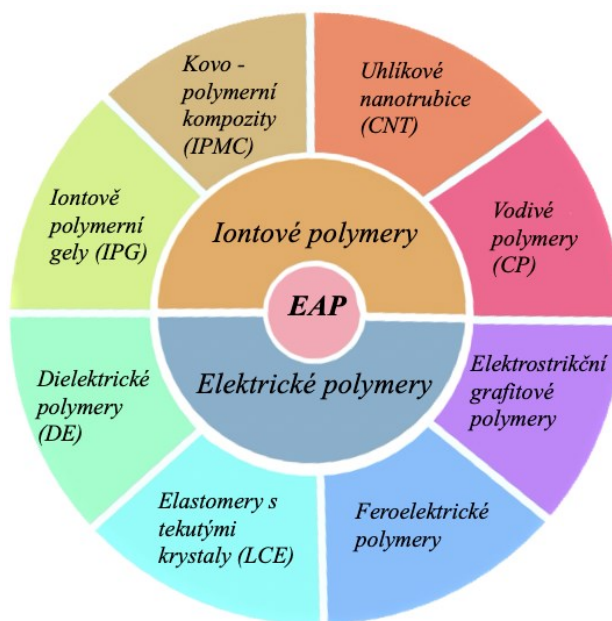
Mechanické vlastnosti jsou takové, které vykazuje polymer při působící síle. Tyto vlastnosti jsou důležité zejména při použití v oblasti aktuátorů. Řadí se mezi ně např. modul pružnosti, pevnost v tahu, pružnost a tvrdost.

Elektrické vlastnosti jsou významné při sledování výkonu aktuátorů. Do této skupiny patří např. všechny elektrické jevy (feroelektrický, piezoelektrický, pyroelektrický, elektrostriktce), kapacita, dielektrická konstanta, impedance, elektrická vodivost. Zmíněné vlastnosti mají vliv na mechanické a chemické vlastnosti [19].

Feroelektrický jev vykazují látky, které v nepřítomnosti elektrického pole mají permanentní polarizaci. Těmto látkám se říká feroelektrika. Tradiční feroelektrika jsou anorganické keramiky. **Piezoelektrický jev** vykazují takové látky, které při mechanickém namáhání generují elektrické napětí. Pokud při aplikaci elektrického napětí dochází k deformaci dielektrika nastává **elektrostriktce**. **Pyroelektrický jev** je děj, při kterém vlivem změny teploty dochází ke generaci elektrického potenciálu.

1.3 Rozdělení

Elektroaktivní materiály se mohou rozdělovat do několika skupin podle různých hledisek. Nejvíce používané (tedy i nejznámější) rozdělení je založeno na podstatě vytvoření elektrické aktivace ve struktuře polymeru, jejíž hlavní skupiny jsou iontové nebo elektrickým polem ovládané (zkráceně elektrické) (viz. Obr. 2). Tyto dvě skupiny se liší hodnotami aplikovaného napětí, na které reagují [1].



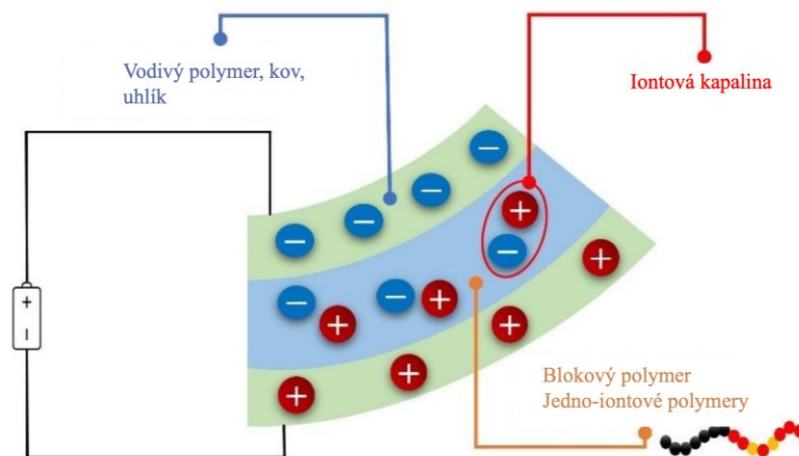
Obr. 2 Schéma znázorňující rozdělení elektroaktivních materiálů [20]

Iontové polymery

Iontové polymery jsou jednou ze dvou hlavních skupin rozdělení EAP jejichž výhody a nevýhody jsou uvedeny v Tab. 1. Pro svoji aktivaci potřebují velmi nízké napětí (jednotky voltů). Ve struktuře materiálu dochází k přeuspořádání iontů, dochází ke změně jejich hustoty, což je příčinou aktivace. Na níže zobrazeném Obr. 3 je znázorněn princip třívrstvého aktuátoru. Při aplikaci elektrického napětí se uvnitř aktuátoru přemístí kationty k záporné elektrodě, čímž se změní lokální objem, který se projeví deformací materiálu [5].

Do iontových polymerů se řadí iontově polymerní gely (IPG), kovo – polymerní iontové kompozity (IPMCs – ionic polymer – metal composites), karbonové (uhlíkové) nanotrubičky (CNTs – carbon nanotubes), vodivé polymery (CPs – conductive polymers). **IPG** jsou složeny ze zesíťovaného polymerního gelu, který vyplňuje volná místa v matici. K aktivaci IPG dochází vlivem změny vnějšího prostředí (např. změna hodnoty pH, teploty, intenzita elektrického pole) kdy dochází k chemickým reakcím, které zapříčiňují tuhnutí nebo botnění

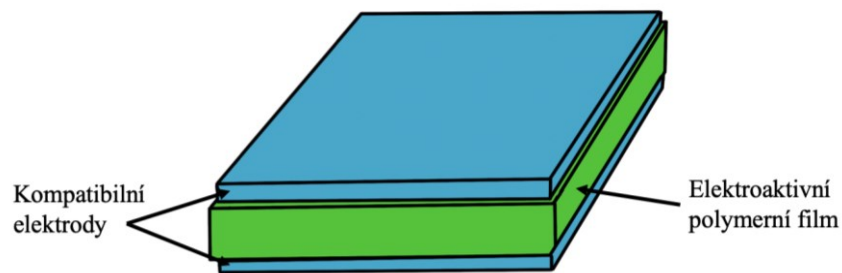
gelu [21]. **IPMC** mají iontovou membránu vloženou mezi dvě elektrody, které jsou složeny z tenké pružné kovové vrstvy (z nanočástic zlata nebo platiny) [22]. Botnutí a ohyb materiálu je způsoben nahromaděním kationtů na jedné straně a chybějícími kationty na druhé straně. Tato reakce je vyvolána pomocí elektrického proudu. **CNT** byly poprvé objeveny a popsány fyzikem Iijima v roce 1991 [23]. Osm let na to (v roce 1999) byly poprvé představeny uhlíkové nanotrubičky s velmi podobnými vlastnostmi jako EAP [1]. Uhlíkové nanotrubičky jsou charakteristické malým průměrem (1–100 nm) a délkou do 100 μm [24]. Vazba uhlík – uhlík v elektrolytu je působením elektrického napětí zodpovědná za změnu délky [1]. **CP** se řadí mezi organické polymery obsahující uhlík, vodík a heteroatomy dusík a síry, které zodpovídají za přenos elektrického proudu [17]. Za přechod mezi vodivým a nevodivým stavem polymeru podněceného elektrickým proudem je zodpovědný konjugovaný systém vazeb. Působením elektrického proudu dochází ke přeuspořádání molekul, tím pádem k jejich hustotě náboje [22].



Obr. 3 Princip iontového EAP aktuátoru [17]

Elektrické polymery

Jak již bylo výše zmíněno elektrické polymery se přesněji označují jako elektrickým polem ovládané. Tyto jsou poháněny Coulombovskými silami a elektrickým polem, díky čemuž mění svůj tvar či velikost. Na spuštění reakce je zapotřebí velmi vysoké napětí (řádově stovek až tisíce voltů). Na Obr. 4 je znázorněna typická struktura složeného elektrického polymeru. Mezi elektrody je vložen materiál, který se při přiložení elektrického pole deformuje. Největší uplatnění nachází u robotických aplikací díky svým vynikajícím vlastnostem [5].



Obr. 4 Typická struktura elektrických polymerů

Mezi elektrické polymery patří dielektrické polymery (DEs – Dielectric elastomer), elastomery s tekutými krystaly (LCE – Liquid crystal elastomers), feroelektrické polymery, elektrostriční grafitové polymery. Podstatou **DE** je působení elektrostatických sil v polymeru, který je vložen mezi dvě elektrody. Přivedení elektrického proudu na elektrody se současně zvětší jejich plocha a zároveň se smrští v tloušťce [17]. Jejich předností je, že nepotřebují velké množství energie (některé dokonce nepotřebují žádnou), aby setrvaly ve stabilním stavu. Jakmile jsou tyto materiály vystaveny vysokým hodnotám napětí ($100 \text{ V}/\mu\text{m}$), jejich rozměry se změni o desítky až stovky procent oproti původním rozměrům [25]. Na základě typu použití aktuátoru nebo potřebných vlastností, jsou vybírány takové dielektrické polymery, které mají specifické vlastnosti pro daný typ [26]. **LCE** jsou elektroaktivní polymery, které kombinují vlastnosti elastomerů a tekutých krystalů (mesogenů). Elasticky zesíťovaný polymer je jednoduchými vazbami vázán s krystaly. Při působení elektrického pole na elastomery s tekutými krystaly dochází ke smrštění nebo roztahení. Tento jev je přisuzován uspořádání mesogenních jednotek v elastomeru, které mohou za změnu vnitřního napětí a deformace [27]. **Feroelektrické polymery** mají stejné chování a vlastnosti v elektrickém poli jako feromagnetické materiály v magnetickém poli. Přivedením elektrického pole do polymeru dochází k natočení polárních skupin, vzniká tzv. elektrická polarizace. Po odpojení elektrického napětí zůstává polymer ve stavu polarizace. Pro zrušení tohoto stavu je potřebné vratné elektrické pole či zvýšení teploty nad Curieovu teplotu (T_c) [28]. Nejznámější feroelektrický polymer je polyvinylidenfluorid (PVDF). **Elektrostriční grafitové polymery** využívají fyzikální jev elektrostriktce. To je jev kdy vlivem změny vnějšího elektrického pole nastává deformace materiálu (elektrické dipóly jsou taženy nebo stlačeny polem) [29]. Vložením polymeru do elektrického pole, dochází k usměrnění dipólů, tzn. všechny přítomné dipóly se nasměřují jedním směrem. Elektrostriční polymery se skládají ze dvou částí, z páteře (flexibilní základní

makromolekuly) a naroubovaného polymeru. Naroubovaný polymer zde vytváří krystalickou formu a vlastní dipóly, které se mohou po aktivaci přeorientovat. Tímto způsobem vzniká již zmíněná deformace materiálu [1].

Tab. 1 Výhody a nevýhody iontových a elektrických polymerů [5]

	Výhody	Nevýhody
Iontové polymery	<ul style="list-style-type: none"> • obousměrný pohyb iontů v závislosti na polaritě, • nízké napětí pro aktivaci, • bistabilní – vykazují dva rovnovážné stavy. 	<ul style="list-style-type: none"> • použití v přítomnosti elektrolytu, • pomalá odezva (v řádu jednotek sekund), • malá napěťová odezva, • některé typy neudrží napětí pod stejnosměrným elektrickým napětím.
Elektrické polymery	<ul style="list-style-type: none"> • velmi rychlá odezva (řádově milisekund), • vysoká hustota mechanické energie, • výrazná akтуace, • nízká spotřeba elektrické energie, • při laboratorních podmínkách mohou pracovat po dlouhou dobu. 	<ul style="list-style-type: none"> • potřebují vysoké hodnoty elektrického napětí (ve 100 MV/m), • vykazují pouze monopolární odezvy.

1.4 Využití

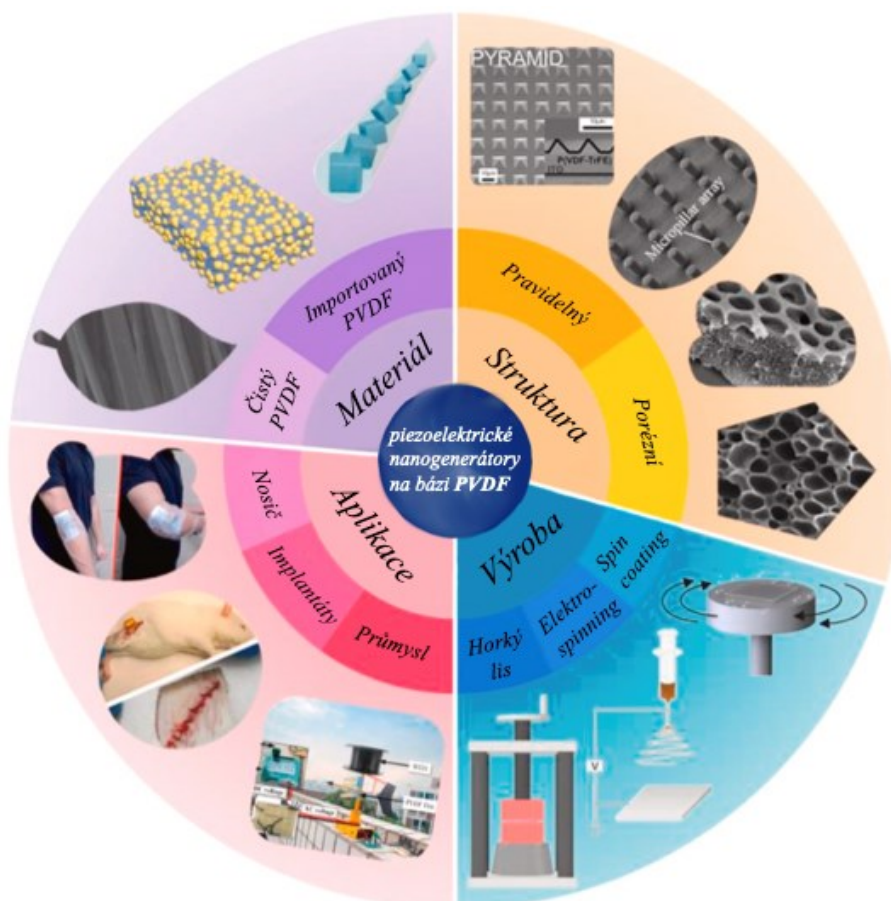
Elektroaktivní materiály díky schopnosti přeměně elektrické energie na mechanickou nebo naopak jsou používány zejména jako akční členy v oblasti robotiky. EAP jako aktuátory jsou například použity v zařízení spojených se zvukem (sluchátka potlačující hluk, měniče nebo rezonátory) [30, 31]. Některé typy mohou být využity jako umělé svaly. Používají se všude, kde je potřebná přeměna elektrické energie na mechanickou (např. různé senzory, dotykové obrazovky, ...) [32].

1.5 Polyvinylidenfluorid (PVDF)

Polyvinylidenfluorid je polymer, který patří do skupiny fluoropolymerů. Je součástí skupiny specializovaných polymerních materiálů se specifickými vlastnostmi, mezi které patří zejména vysoká piezoaktivita, dále například odolnost vůči rozpouštědlům, kyselinám, uhlovodíkům a nízká hustota. Vyniká jedinečnou chemickou strukturou, která zahrnuje střídání atomů fluoru a uhlíku. Díky této struktuře je PVDF schopno polarizace při působení

elektrického pole, což ho činí užitečným materiálem pro různé elektrické aplikace, včetně senzorů, aktuátorů a elektrostatických zařízení.

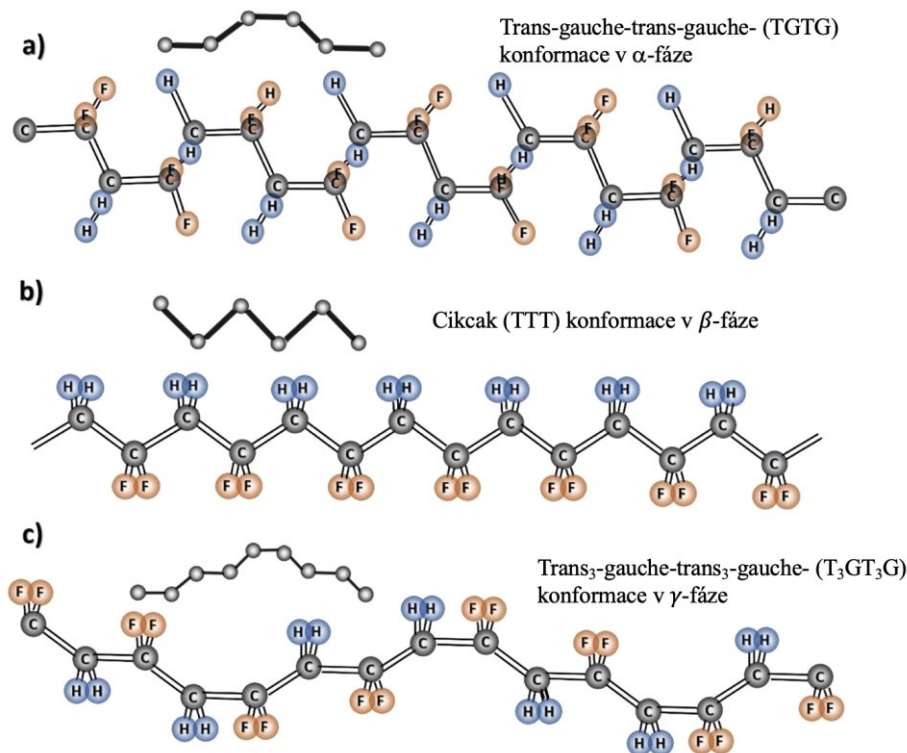
Na Obr. 5 jsou znázorněny některé možnosti výroby PVDF, jeho možné morfologie povrchu, formy a aplikace.



Obr. 5 Schéma znázorňující strukturu, výrobu a použití PVDF [33]

1.5.1 Struktura

Polyvinylidenfluorid se řadí mezi semikrystalické polymery, obsahuje amorfni i krystalickou část. Stupeň krystalinity PVDF se pohybuje v rozmezí 35–70 % a to v závislosti na způsobu přípravy. Jeho základní stavební jednotkou je $\text{CH}_2\text{-CF}_2$. PVDF krystalizuje do sférické struktury s rovinnými řetězci. Při určitých podmínkách zpracování může polymer krystalizovat do různých krystalických struktur – fází (α -fáze, β -fáze, γ -fáze, δ -fáze a ε -fáze). α -fáze je termodynamicky stabilní pouze v případě, když se získá ochlazením z taveniny [34]. Každá fáze má odlišnou konformaci. Nejdůležitější konformace jsou zobrazeny na Obr. 6.

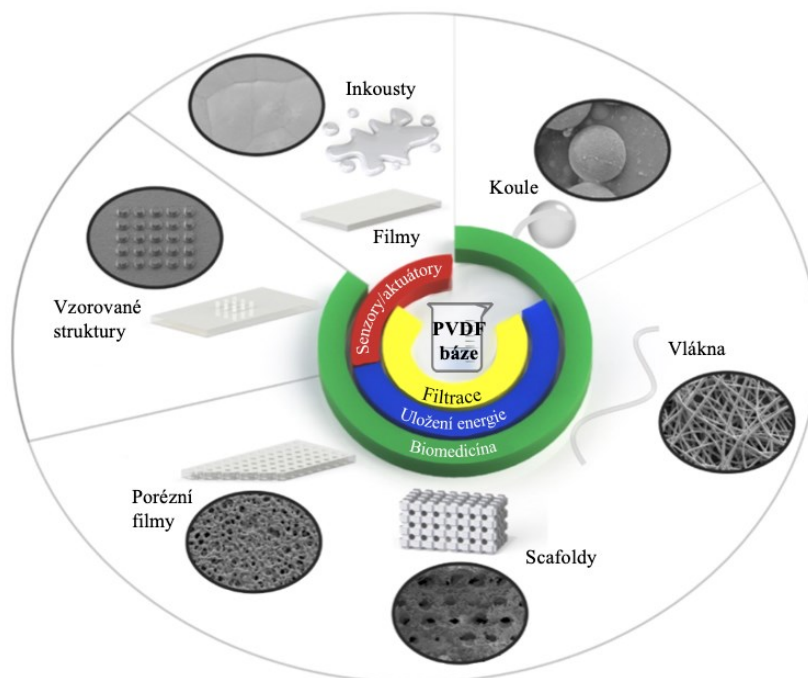


Obr. 6 Struktura jednotlivých fází PVDF a jejich konformace [34]

U α -fáze se polymerní řetězec uspořádává do ortorombické krystalické mřížky s konformací trans-gauche (TGTG). Fáze β se rovněž jako α -fáze skládá do ortorombické mřížky ale s konformací cikcak (TTT). U této fáze jsou stejným směrem naorientovány atomy fluoru. Díky tomu je β -fáze silně polární a poskytuje elektroaktivní vlastnosti (piezoelektrické, pyroelektrické a feroelektrické) [34, 35]. δ -fáze má stejnou konformaci jako α -fáze, trans-gauche (TGTG), ale je polární. Polyvinylidenfluorid ve fázi γ je pouze přechodovou konformací (T₃GT₃G) mezi α -fází a β -fází. Nejvíce obtížně lze získat ε -fáze jejíž konformace je velmi podobná fázi γ (T₃GT₃G) [34].

1.5.2 Zpracování

PVDF lze zpracovat pomocí běžných technologií, jako jsou vytlačování, vstřikování nebo vyfukování [36]. Pro specifické aplikace je potřeba sledovat nejen obsah β -fází, ale také specifickou morfologii/strukturu výrobku jako jsou například filmy, porézní vrstvy, 3D scaffoldy, vlákna, atd. Možnosti různých morfologií PVDF a jejich aplikace jsou znázorněny na Obr. 7.



Obr. 7 Schématické znázornění morfologií na bázi PVDF, které byly vyvinuté různými metodami [37]

Metody pro tvorbu PVDF **filmů** jsou různé a záleží na požadovaných vlastnostech příslušného výrobku a aplikaci. Vzniklé filmy mají dobrou elektroaktivní odezvu a vysokou uniformitu. Takové filmy lze připravovat pomocí techniky stírání, spin-coatingem nebo tiskovými technikami (zde se řadí inkoustový tisk, sítotisk a sprejový tisk). **Porézní struktury** (jako jsou např. porézní filmy, scaffoldy či vzorované struktury) se dají připravovat vícero metodami (např. extrakcí mrazem s 3D PVA šablonou, replikační lisování, TIPS, NIPS, ...). Pro vznik **vláken** se používá zejména metoda elektrospinningu. Při zpracování touto metodou vznikají vlákna o průměru nano – mikrometrů. Struktury obsahující **kulovité útvary** lze vyrábět metodami jako je odpařování a srážení, atomizací plynem, emulzní polymerací nebo úpravou parametrů při procesu elektrospinningu [37].

1.5.3 Vlastnosti

PVDF se řadí do skupiny fluoropolymerů s velmi charakteristickými vlastnostmi (nízká hustota, dobrá mechanická pevnost, lehký, měkký a pružný). Svými vlastnostmi se podobá polytetrafluoretylenu. Mezi jeho přední vlastnosti se řadí odolnost vůči UV záření, tepelná stabilita nebo odolnost opotřebení a stárnutí. Má nízkou propustnost pro většinu plynů a kapalin. Díky této vlastnosti je vysoce odolný hydrolyze [38]. Polyvinylidenfluorid také vykazuje vysoký stupeň biokompatibility [39]. PVDF má velmi vysokou hodnotu

dielektrické konstanty. Vykazuje piezoelektrické, pyroelektrické a feroelektrické chování, kterému vděčí své rozmanité krystalové modifikaci a morfologii [38]. Jak již výše bylo zmíněno PVDF má velmi dobrou tepelnou stabilitu díky vysoké elektronegativitě fluoru v řetězci polymeru [40].

1.5.4 Využití

PVDF má specifické vlastnosti a podobné všestranné použití jako běžné termoplasty. V podobě vlákněných struktur, ale i filmech se hojně používá v zařízení pro získávání energie, dále jako akční členy, senzory mimo jiné i v biomedicínských aplikacích. Níže v Tab. 2 jsou popsány jednotlivá průmyslová odvětví, kde je PVDF používáno [41].

Tab. 2 Tabulka využití PVDF v různých průmyslových odvětví [41]

Průmysl	Využití
Chemický / petrochemický	Tam, kde je nebezpečí požáru či výbuchu. Dále se v tomto odvětví využívá pro filtraci agresivních médií od mikročástic.
Jaderná energetika	V místech, kde jsou vysoké teploty nebo horké kyseliny se používá ve formě trubek, desek či obložení.
Letecký průmysl	Jako součástky zajištění těsnění, obložení do míst, kde je potřeba zajistit pružnost a odolnost proti korozi.
Kosmický průmysl	V tomto odvětví se využívá v nátěrech elektroinstalace jako tepelná bariéra.
Elektrotechnika a radiotechnika	Je velmi žádaný pro výrobu komplexních elektrod pro lithium-iontové baterie. Také se používá jako ochranný obal pro speciální nadzemní kabely a elektrická zařízení.
Stavebnictví	Zde se uplatňuje jako protierozní a antikoroziční nátěry odolné povětrnostním vlivům.
Automobilový průmysl	Vícevrstvé fólie z PVDF se používají na dekoraci vnějších povrchů (díly okolo zadních světel, kryty bočních zrcátek nárazníky, kliky dveří atd.)
Farmaceutický průmysl	Materiály zajišťující čistotu a sterilitu (např. obaly pro lékařské účely).
Biomedicína	Chirurgické stehy z PVDF jsou odolné vůči chemikáliím a mají vysokou pevnost v tahu.

Membrány

Polyvinylidenfluoridové membrány se ve velké míře používají díky svým unikátním vlastnostem (vysoká tepelná a chemická stabilita). Membrány z PVDF se používají pro úpravu vody, např. mikrofiltrace (MF), ultrafiltrace (UF) a další. Pomocí PVDF MF membrán se odstraňují prvoci a bakterie, takové membrány se připravují metodou TIPS. Membrány UF se pak využívají na odstranění virů nebo vysokomolekulárních materiálů z vody. Tyto membrány se připravují metodou NIPS [42].

Biomedicínské aplikace

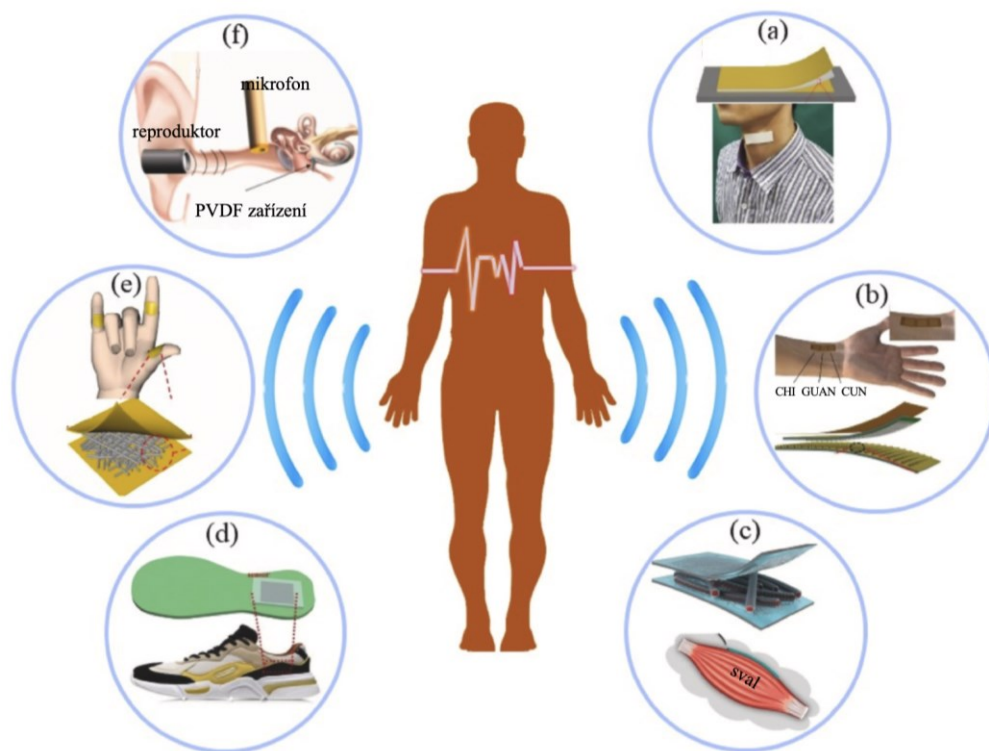
Díky svým piezoelektrickým vlastnostem se PVDF hojně využívá v biomedicínských vědách. Valná převaha studií se zabývá aplikací polymeru jako nosiči léčiv či proteinů [43, 44]. Níže budou popsány některé aplikace tohoto polymeru v biomedicině.

Senzory

V poslední době se těší velkém zájmu PVDF senzory pro monitorování lidského zdraví. Doposud byly provedeny výzkumy na monitorování lidských gest, ohýbání zápěstí, srdeční tep, pohyb hrdla při pití vody a mnoho dalších (viz Obr. 8). PVDF senzory pro monitorování mají několik výhod. Lze je snadno připravit, jsou biokompatibilní, chemicky odolné a mají vysokou tepelnou stabilitu [45]. Dále se PVDF senzory používají pro aktivní snímání a detekci poškození. U těchto sensorů se využívá nárazové síly. Existuje mnoho studií, které se zabývají využitím PVDF v kombinaci s dalšími materiály jako kompozity pro použití jako akustické senzory [46].

Tkáňové inženýrství

PVDF a jeho kopolymery jsou hojně používány jako piezoelektrické biomateriály v tkáňovém inženýrství pro regeneraci různých tkání. Polyvinylidenfluorid poskytuje elektrickou stimulaci buněk a tím podporuje tvorbu nové tkáně [47].



Obr. 8 Schematické znázornění použití piezoelektrických senzorů pro monitorování zdraví [45]

1.6 Polyvinylidenfluorid-tetrafluoroethylen-chlorotrifluoroethylen (PVDF-TrFE-CTFE)

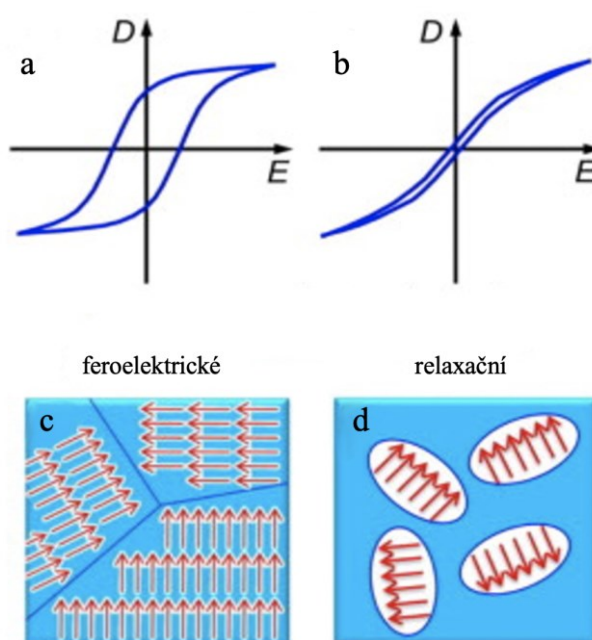
Zpracování samotného PVDF je velmi složité (je vysoce krystalický), tento fakt vede k menšímu potenciálu praktického využití. Také má nízkou deformaci vyvolanou elektrickým polem a slabé elektromechanické vazebné chování. Tyto vyjmenované nevýhody lze eliminovat použitím kopolymerů PVDF, které jsou lépe zpracovatelné než samotné PVDF. Kopolymer PVDF se vytváří chemickou modifikací, a vynikají výbornými elektrickými a dielektrickými vlastnostmi [48]. Kopolymer s obsahem PVDF vykazuje přímo vytvořenou feroelektrickou β -fázi, kterou nelze žádným tepelným zpracováním přeměnit na α -fázi [49].

Kopolymer PVDF mají výborné piezoelektrické vlastnosti, nízké dielektrické ztráty a vysokou elektromechanickou odezvu při změně energie [50]. Vysoká polarizovatelnost závisí i na orientaci dipólových momentů. Maximální dipólové polarizace se dosáhne tehdy, kdy jsou všechny dipólové momenty naorientovány ve směru elektrického pole [51]. Vysoká deformace vyvolaná zmíněným přechodem je vždy doprovázena relativně velkou hysterezi

(viz Obr. 9 a). Široká hystereze je způsobena velkou energetickou bariérou při dipólových orientacích [50].

Pro lepší vlastnosti a užší hysterezní smyčku se používají relaxované feroelektrické polymery, kam se řadí i terpolymer PVDF. Aby mohly vzniknout tyto materiály je potřeba do struktury zavést objemný monomer, který způsobí strukturní defekty v polymeru a změní molekulární konformaci [50, 52]. Zmíněná změna vyvolá tzv. pinning efekt (změna z feroelektrického kopolymeru na relaxační feroelektrický terpolymer), což se projeví zúženou hysterezní smyčkou (viz Obr. 9 b) [53].

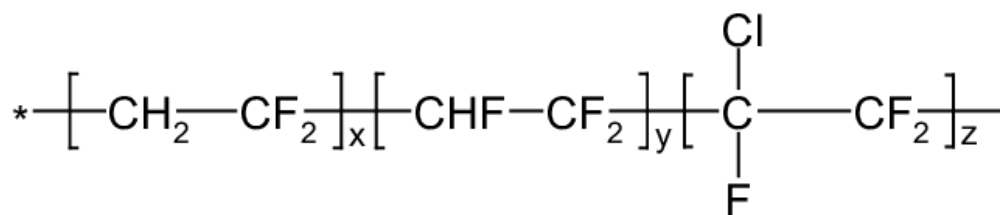
Jak již bylo zmíněno, PVDF-TrFE-CTFE se řadí do skupiny terpolymerů PVDF a patří mezi relaxační feroelektrika (feroelektrikum vykazující vysokou elektrostrikci) [54].



Obr. 9 Hysterezní smyčka - a,c pro feroelektrické polymery; b,d pro relaxační feroelektrické terpolymery [55]

1.6.1 Vlastnosti

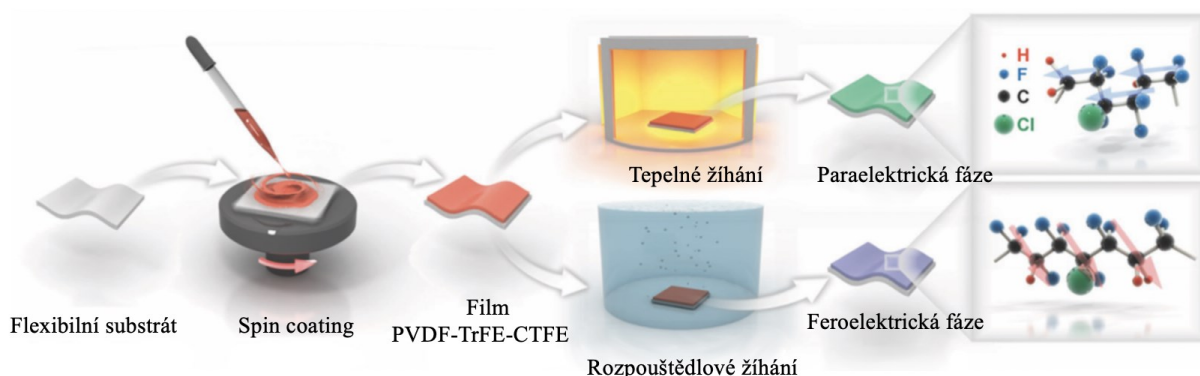
Na Obr. 10 je znázorněn strukturní vzorec PVDF-TrFE-CTFE. Zavedením objemného monomeru (CTFE) do páteře polymeru vznikají strukturní defekty, které zlepšují vlastnosti daného polymeru. Dalším důsledkem pak je snížení krystalinity, snižuje se teplota tání, Curieho teplota a dochází ke snížení modulu pružnosti [54].



Obr. 10 Strukturální vzorec PVDF-TrFE-CTFE

Jak bylo již výše zmíněno PVDF-TrFE-CTFE vykazuje vysokou elektrostriktci, má úzkou hysterezní smyčku a vyšší polarizaci v porovnání s PVDF a jeho kopolymery. Tyto vlastnosti jsou připisovány atomům chloru ve třetím monomeru, který znemožňuje tvorbu trans konformace kvůli sterickému bránění [54]. PVDF-TrFE-CTFE je jedním z mála polymerů na bázi PVDF, která vykazuje velmi vysoké hodnoty dielektrických konstant a vysoké elektromechanické odezvy.

Jelikož má terpolymeru nízkou krystalinitu, je potřeba pro zvýšení krystalické fáze zavést proces žíhání (annealing). Při tepelném žíhání se molekulární řetězce přeskupí do uspořádané krystalické fáze [56]. Další možností zvýšení krystalické fáze terpolymeru je rozpouštědlové žíhání (solvent annealing), které probíhá při pokojové teplotě. Pomocí této metody je snaha vytvořit feroelektrickou β -fázi v terpolymeru krystalizací pod teplotou fázového přechodu (F-P) (tj. Curieova teplota). Výsledný terpolymer má dominantní β -fázi a vykazuje zvýšenou feroelektricitu. Největší rozdíl těchto dvou žíhání je v dominanci fází při žíhání. U tepelného žíhání nad teplotou F-P převládá stabilní paraelektrická fáze α a u rozpouštědlového žíhání pod teplotou F-P převládá vznik feroelektrické β -fáze (viz Obr. 11) [57].



Obr. 11 Schéma znázornění tvorby paraelektrické a feroelektrické fáze při tepelném žíhání a rozpouštědlovém žíhání [57]

1.6.2 Využití

Polymer PVDF-TrFE-CTFE nachází díky svým jedinečným vlastnostem rozmanité využití. Terpolymer je díky své dobré flexibilitě a snadnému zpracování široce používán v ohebných displejích, kondenzátorech a zařízeních pro ukládání energie, což z něj činí univerzální materiál v elektronickém průmyslu [57].

Jedním z využití je díky vynikajícím dielektrickým vlastnostem v oblasti kondenzátorů s vysokou hustotou ukládané energie využívaných pro aplikace uchovávání energie [58]. Dále je využíván v oblasti elektroaktivních aktuátorů pro robotiku, kde vyniká citlivými aktuálními mechanismy [59]. Největší uplatnění získává polymer v elektronice a energetice, kde jsou velmi vyžadovány feroelektrické vlastnosti.

V poslední letech jsou EAP pro své vlastnosti v popředí zájmu v endovaskulární chirurgii. Tento druh odvětví chirurgie je alternativou otevřené operace, která nabízí mnoho výhod (kratší doba rekonvalescence, lokální nebo regionální anestezii, menší řezy, menší zátěž na srdce atd.). K navigaci cílových tepen jsou používány intravaskulární vodička a katetry, které mohou být právě na bázi terpolymeru PVDF-TrFE-CTFE. Jelikož se jedná o zdravotnické pomůcky je nutné, aby vydržely sterilizaci. Tento proces probíhá pod β - i γ -zářením. Bylo prokázáno, že terpolymer si po procesu zachovává svoje chemické i fyzikální vlastnosti, takže je vhodný pro medicínské aplikace [60].

2 PŘÍPRAVA VLÁKENÝCH STRUKTUR

2.1 3D tisk

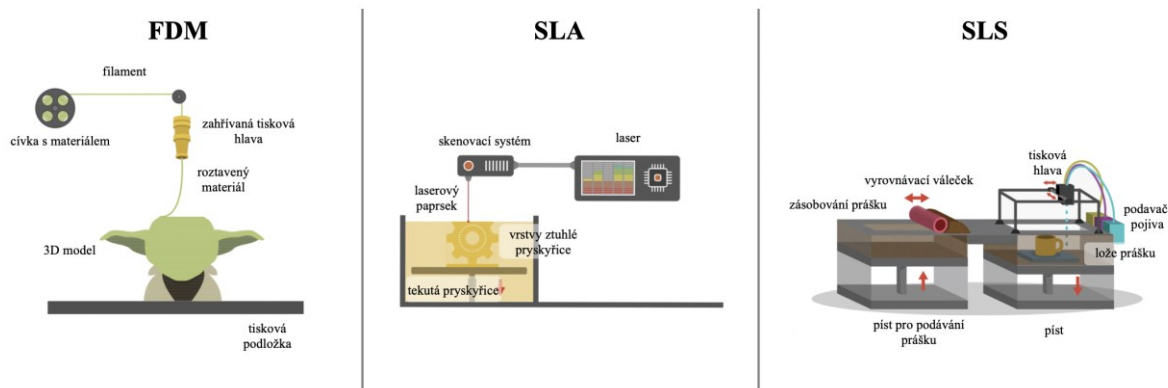
3D tisk se řadí mezi aditivní výrobu, díky které je možné zhotovit konstrukci trojrozměrného objektu z CAD modelu nebo digitálního 3D modelu [61, 62]. Toho lze dosáhnout různými způsoby, kde se materiál nanáší, spojuje nebo tuhne pod kontrolou počítače tak, že se materiál spojuje dohromady vrstvu po vrstvě.

V roce 1984 Charles Hull vymyslel techniku pro tisk fyzických 3D objektů z digitálních dat, tzv. stereolitografii, kterou později patentoval. Následně založil společnost „3D Systems“, kde vyrobil první komerční stroj pro 3D tisk. V této době pojem „3D tiskárna“ nebyl znám, a tak se stroji říkalo „stereolitografické zařízení“. Jelikož technika stereolitografie byla zcela nová, společnost 3D Systems vyhotovila první verzi stroje pouze několika vybraným zákazníkům. Díky zpětné vazbě poté firma vyrobila vylepšenou verzi 3D tiskárny nazvanou SLA-250, která byla oznámena v roce 1988 [63].

Od roku 2019 vzrostla u 3D tisku přesnost, reprodukovatelnost a výběr materiálů do té míry, že lze některé procesy považovat za průmyslovou výrobní technologii. V této souvislosti lze pojem aditivní výroba považovat za synonymum pro 3D tisk.

Mezi klíčové vlastnosti 3D tisku patří možnost vyrábět velmi složité tvary nebo geometrie, které by nebylo možné vyrobit ručně, například duté díly s vnitřní mřížkovou strukturou, která snižuje hmotnost výrobku a tím se snižuje množství materiálového odpadu [64]. V současné době existuje celé množství přístupů k technologii 3D tisku. Tyto techniky se od sebe liší jednak použitými materiály, ale i způsobem vzniku vrstev, kdy se jednotlivé vrstvy na sebe pokládají nebo se postupně vytvrzují. Z pohledu použitého materiálu lze 3D tisk rozdělit do tří skupin (viz Obr. 12) [65]:

- strunný materiál (materiál je vytlačován přes rozehřátou trysku),
např. FDM – Fusion Deposition Modeling
- tekutý materiál (materiál je vytvrzen ve vrstvách na předem definovaných místech za pomoci záření),
např. SLA - Stereolitografie
- materiál ve formě jemného prášku (prášek je spékán laserem do požadovaného tvaru),
např. SLS – Selective Laser Sintering; SDL – selective Deposition Lamination



Obr. 12 Jednotlivé typy 3D tisku podle použitého materiálu (zleva FDM, SLA a SLS) [66]

Princip metody

3D tisk je technologie využívající digitální data z 3D modelů. Tyto informace jsou následně zpracovány a vytištěny do požadovaného fyzického 3D modelu.

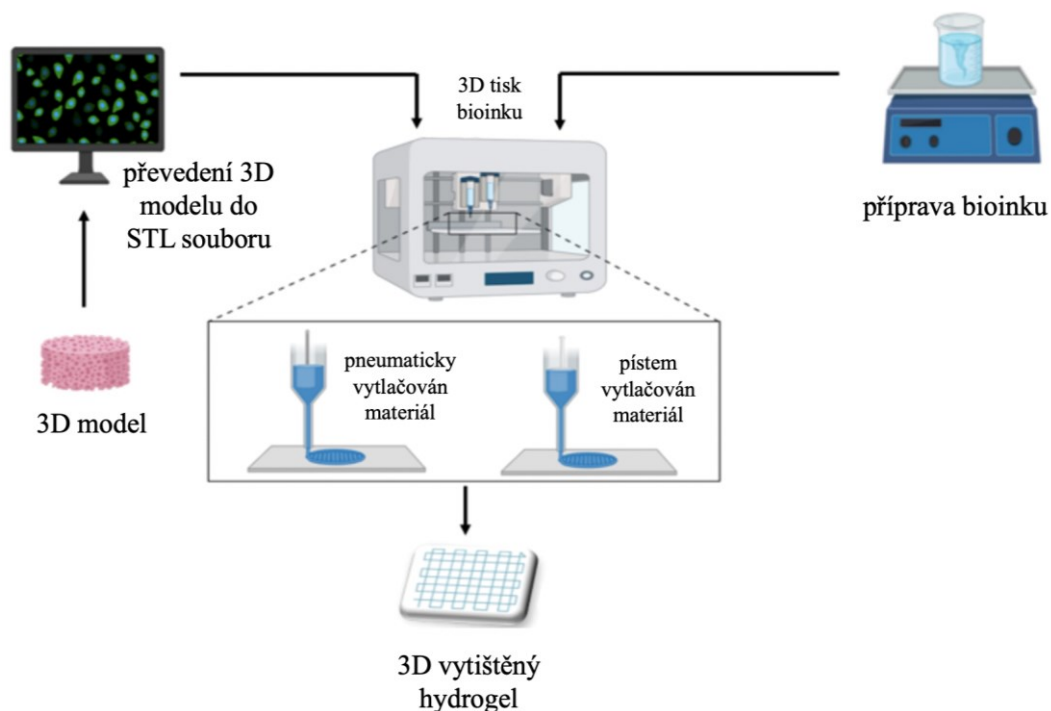
Před samotným tiskem je potřeba vytvořit model. Ten lze vytvořit pomocí CAD (Computer – Aided Design), 3D skeneru nebo pomocí digitálního fotoaparátu a fotogrammetrického softwaru. Připravené modely se převedou do formátu STL (Standard Triangle Language). Již připravený soubor se upraví v tzv. slicer softwaru, pomocí kterého se model vytiskne. Ve zvoleném sliceru se nastaví celý proces tisku výtisku (např. vhodně zvolený rozměr, výška jednotlivé vrstvy, ...) [62, 67].

Takto připravený model se převede do tiskárny, kde probíhá samotný tisk. V případě FDM tisku je filament (na cívce namotaný materiál ve tvaru struny) přiváděn do vyhřívání trysky v tiskové hlavě, kde dochází k tavení materiálu. Tekutý filament se po jednotlivých vrstvách nanáší na tiskovou desku, kde dochází k postupnému tuhnutí vrstev, které nakonec vytváří požadovaný 3D objekt. Vše probíhá za pomoci krokových motorů, které řídí pohyb tiskové hlavy [65].

2.1.1 3D biotisk na bázi extruze

3D biotisk je založený na podobném principu jako FDM, s tím rozdílem, že místo strunného materiálu je tisknut hydrogel, který je vytlačován přes trysku na tiskovou podložku. Tento druh biotisku je nadějným přístupem v tvorbě 3D tištěných konstrukcí (scaffoldů) s adekvátní velikostí a tvarem a s možností zakomponování živých buněk do tiskového

materiálu. Obr. 13 znázorňuje schéma biotisku založené na vytlačování biologických materiálů [68].



Obr. 13 Schéma procesu biotisku [69]

Mezi hlavní výhody extruzního biotisku patří tvorba složitých struktur s velkou hustotou buněk a urychlenou organizací tkání. Hlavním stále řešeným problémem biotisku je ztráta životaschopnosti buněk následkem použitého tlaku při vytlačování [68].

2.1.2 Tvorba hierarchické struktury při tisku

Při tvorbě scaffoldů pro použití v regenerativní medicíně je potřebné zaměřit se na možnost tvorby hierarchicky strukturovaných výtisků. Textura materiálu, který by měl být použit jako tkáňový nosič, je velmi důležitým parametrem. Pro pozitivní interakce buněk se scaffoldem je vhodné napodobit přirozené prostředí tkání, které vykazují právě hierarchickou strukturu v rozmezí nano – mikrometrů.

Tvorbu hierarchické struktury při 3D tisku je potřeba zohlednit již při samotném návrhu modelu. Právě z tohoto důvodu se velmi často přistupuje k 3D tisku vícevrstevných mřížek. Oka vznikající mezerami mezi ukládajícími vlákny udávají první stupeň porozity. Tato oka lze zařadit mezi makropóry, které jsou vhodné zejména pro přívod živin a odvod odpadních látek a metabolitů. Sekundární struktura pak vzniká přímo na tištěných vláknech a může

ovlivňovat buněčné interakce jako jsou proliferace, adheze, diferenciací [70]. Mezi jeden z mnoha způsobů tvorby sekundární struktury patří metoda fázové separace, která je jedním z řešených přístupů v experimentální části této práce. Fázová separace je založena na procesu fázové inverze, tedy přechodu mezi dvěma fázemi vyvolaném změnou rozpustnosti polymeru.

Proces fázové separace může být zjednodušeně popsán následovně. Prvním krokem je příprava polymerního roztoku z polymeru, který bude později sloužit jako základní matrice scaffoldu. V této fázi jsou polymerní řetězce rozptýleny a obklopeny molekulami rozpouštědla. Následuje krok odpařování rozpouštědla, při kterém se koncentrace polymeru v roztoku zvyšuje. Když koncentrace překročí určitou mez, začnou polymerní řetězce interagovat silněji mezi sebou než s molekulami rozpouštědla. Poté se polymerní řetězce, které jsou nyní v důsledku zvýšené koncentrace méně rozpustné, začnou shlukovat a oddělovat od zbývajícího rozpouštědla. Jakmile dojde k oddělení fází, rozpouštědlo se zcela odpaří a zanechá po sobě polymerní matici s dutinami nebo póry. Velikost a rozložení těchto pórů závisí na faktorech, jako je systém polymer-rozpouštědlo, koncentrace a podmínky sušení [70, 71].

Velmi používanou metodou pro výrobu mikroporézních polymerních membrán je speciální typ fázové separace **srážení ponořením**. Během procesu precipitace (srážení) ponořením je polymerní roztok vložen do lázně špatného rozpouštědla. Porézní produkt vzniká vysrážením polymeru, ke kterému dochází při postupné difúzní výměně mezi dobrým a špatným rozpouštědlem v důsledku změn koncentrace. Tato výměna se nazývá „demixování kapalina-kapalina“ [72–74].

2.2 Elektrostatické zvlákňování

Elektrostatické zvlákňování neboli elektrospinning je proces výroby nano- či mikro-vlákien z polymerní taveniny či roztoku při využití elektrostatických sil. Většinou jsou zvlákňovány polymerní roztoky, protože mají nízkou viskozitu. U polymerní taveniny, která vykazuje vyšší viskozitu než roztoky není možné připravovat tenká vlákna v porovnání se spinováním z roztoku [75].

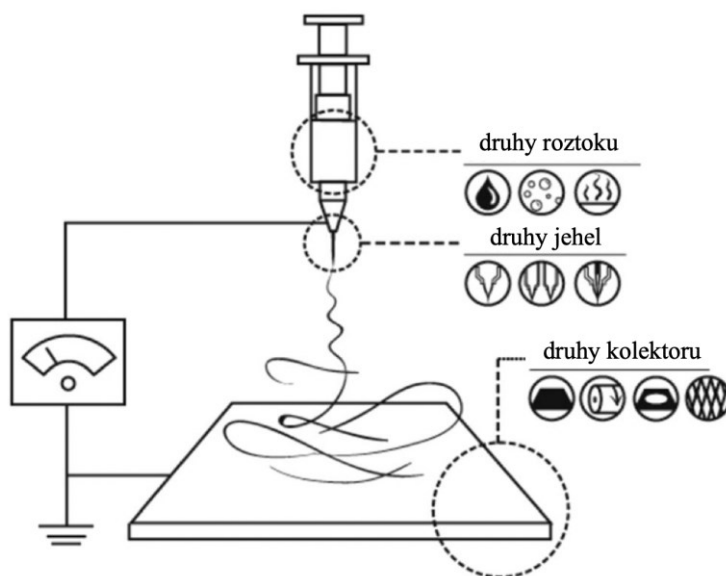
V období 1934 až 1944 začaly vznikat první ochranné známky charakterizující nové zařízení pro výrobu polymerních vláken pomocí elektrostatické síly. To se týkalo polymerních roztoků vyrobených z acetátu celulózy, které byly vystaveny elektrickému poli. Při použití

dvou elektrod s různou polaritou a zvlákňovacích trysek vznikaly jemná vlákna, která byla zachycena na uzemněném sběrači [75].

Jemná struktura těchto vláken se hodí pro širokou škálu použití – filtry, biologické aplikace, tkáňové inženýrství, separační membrány a další. Kromě toho mají vlákna další pozoruhodné vlastnosti. Může to být například vysoký specifický povrch (poměr povrchu vlákna k jeho objemu), malá velikost pórů nebo vysoká pórovitost.

Princip metody

Pro získání vláken malých průměrů z polymeru potřebujeme tři klíčové prvky. Vysoké napětí, kapiláru nebo jehlu a kolektor. V průběhu procesu je vysoké napětí využíváno k vytvoření elektricky nabitého proudu polymeru nebo taveniny, který vychází ze zvlákňovací trysky. Jedna elektroda je připojena ke spinovací jehle, ze které vychází polymer a druhá je připojena ke kolektoru. Působením vysokého napětí se povrch kapaliny na špičce kapiláry postupně protahuje, až do vytvoření kónického tvaru, známého jako tzv. Taylorův kužel [76, 77]. Ten se vytváří v důsledku relaxace náboje na volném povrchu kapaliny na výstupu ze zvlákňovací trysky. Elektrostatická síla postupně překoná povrchové napětí a proud nabité kapaliny „vystřelí“ z Taylorova kužele. Tento proud se mění ze stabilní na nestabilní fázi (jednotlivá tenká vlákna začnou z proudu „šlehat“) a podléhají procesu prodlužování. Použité rozpouštědlo se před dopadem na kolektor odpaří z vlákna a po dopadu vytvoří na kolektoru velmi jemnou vrstvu vláken [78, 79]. Na Obr. 14 je vyobrazen princip elektrostatického zvlákňování.



Obr. 14 Schéma znázorňující princip elektrostatického zvlákňování [80]

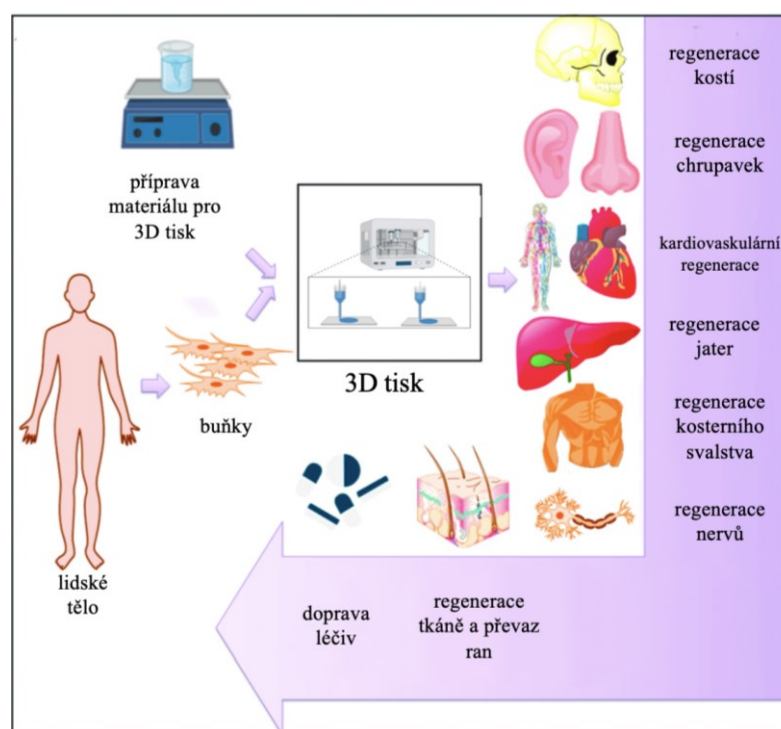
Důležité parametry

Při procesu zvláknování je potřeba mnoho parametrů zajistit tak, aby daný proces probíhal podle předem daných předpokladů. Tyto parametry lze rozdělit do tří skupin:

- parametry roztoku – viskozita, koncentrace, vodivost, povrchové napětí atd.
- parametry zařízení – přiložené napětí, tvar kolektoru, vzdálenost elektrod atd.
- vlastnosti prostředí – vlhkost vzduchu, teplota, tlak atd.

2.3 Využití vláknenných struktur

3D tisk je velkým příslibem pro tkáňové inženýrství (viz Obr. 15), díky kterému lze potenciálně vytvořit modely tkání in vitro. Funkční makrotkáň požaduje určitý soubor mikroarchitektury, která poskytuje strukturní a mechanickou podporu, dostatečný přísun živin, potřebné typy buněk a schopnost aktivní regenerace po implantaci. Pomocí 3D tisku lze sestavit všechny výše zmíněné vlastnosti pomocí biomateriálů, tiskových technik a metod dodávání buněk. 3D tištěné scaffoldy by měly mít schopnost pozitivně ovlivňovat migraci a proliferaci buněk a zároveň poskytovat dostatečnou mechanickou oporu pro úspěšnou regeneraci funkční tkáně [81].

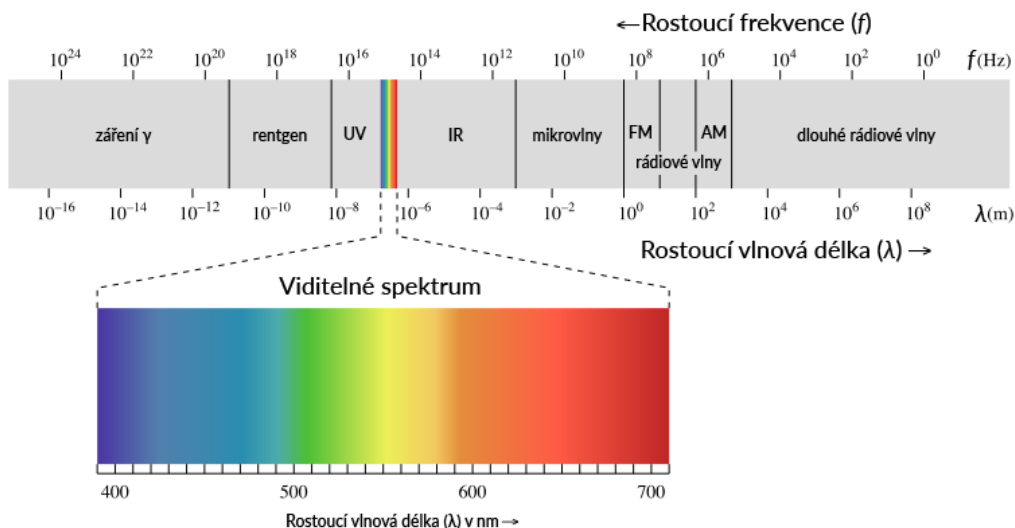


Obr. 15 Využití 3D biotisku v tkáňovém inženýrství [69, 82]

Elektricky zvlákňované scaffoldy mají několik výhodných vlastností, mezi které řadíme například vysoký specifický povrch, strukturu napodobující extracelulární matici, porézní strukturu a další. Díky těmto vlastnostem se scaffoldy hojně uplatňují v biomedicínských oborech. Elektrospínované vlákenné vrstvy jsou tvořeny nanovlákný s propojenými póry o nastavitelných velikostech vhodnými pro použití v tkáňovém inženýrství. Díky velké škále zvláknitelných materiálů a možnosti řídit vlastnosti vznikajících vrstev (orientace vláken – zarovnaná nebo náhodná; pórovitost a velikost pórů) se elektrosvláknované scaffoldy používají v nejrůznějších oblastech tkáňového inženýrství (vaskulárních, nervových, kostních a dalších aplikacích) [83].

3 METODY CHARAKTERIZACE POVRCHU

Pro úspěšnou charakterizaci povrchu polymeru je potřeba správně zvolit metodu charakterizace. Mnoho charakterizačních metod v různých oblastech vědy a techniky je založeno na interakci materiálů s elektromagnetickým zářením (Obr. 16).



Obr. 16 Spektrum elektromagnetického záření [84]

3.1 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Skenovací nebo také rastrovací elektronová mikroskopie se řadí mezi metody pro charakterizaci povrchu materiálů. Při této technice jsou poskytovány informace zejména o topografii povrchu [85].

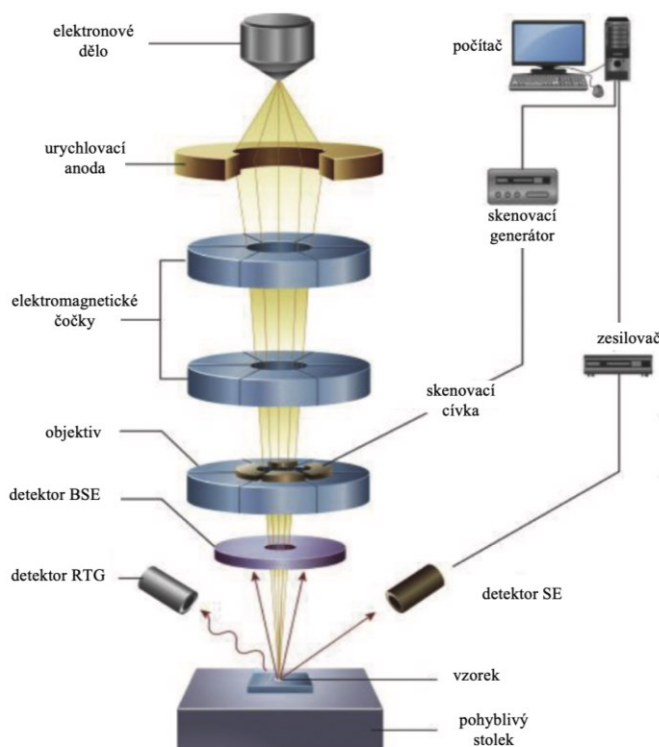
Princip metody

Skenovací elektronová mikroskopie pracuje s interakcí elektronového svazku se zkoumaným vzorkem. Na povrch vzorku dopadají elektrony urychlené vysokým napětím, které pronikají do vrchní struktury zkoumaného vzorku, kde dochází k interakci s dopadajícími elektrony (např. k emisi fotonů a elektronů z materiálu). Pro zobrazení vzorku jsou odražené signály z povrchu zachycovány na detektoru. V závislosti na použitém režimu SEM (např. zobrazení zpětně odražených elektronů, sekundárních elektronů, rentgenového mapování ...), jsou používány různé typy detektorů [86, 87]. Pro nejlepší možné zobrazení povrchu materiálu je potřeba, aby byl vzorek vodivý. Nevodivé vzorky je

pak možné ošetřit procesem pokovení tenkou kovovou vrstvou (zlata, palladia), čímž se stávají dostatečně vodivé pro možnost lepšího zobrazení pomocí SEM [88].

Instrumentace SEM

Na Obr. 17 je znázorněna sestava SEM. SEM se skládá ze dvou hlavních částí (elektronový sloup a ovládací konzole). Elektronový sloup se skládá z elektronového děla, které zajišťuje přísun primárních elektronů, které jsou jím urychleny na energetickou hladinu až 30 keV. Následně se skládá z elektromagnetických čoček a aparatury usměrňující elektronový paprsek na vzorek. Poté následují snímací cívky elektronového paprsku, detektory signálu a systém pro zpracování záznamu topografie vzorku. Pomocí ovládací konzole se ovládá pohyb elektronového svazku. Prostředí elektronového mikroskopu se udržuje ve vakuu, které zabraňuje nežádoucí srážky elektronů s jinými atomy [86–89].



Obr. 17 Schématické znázornění SEM [90]

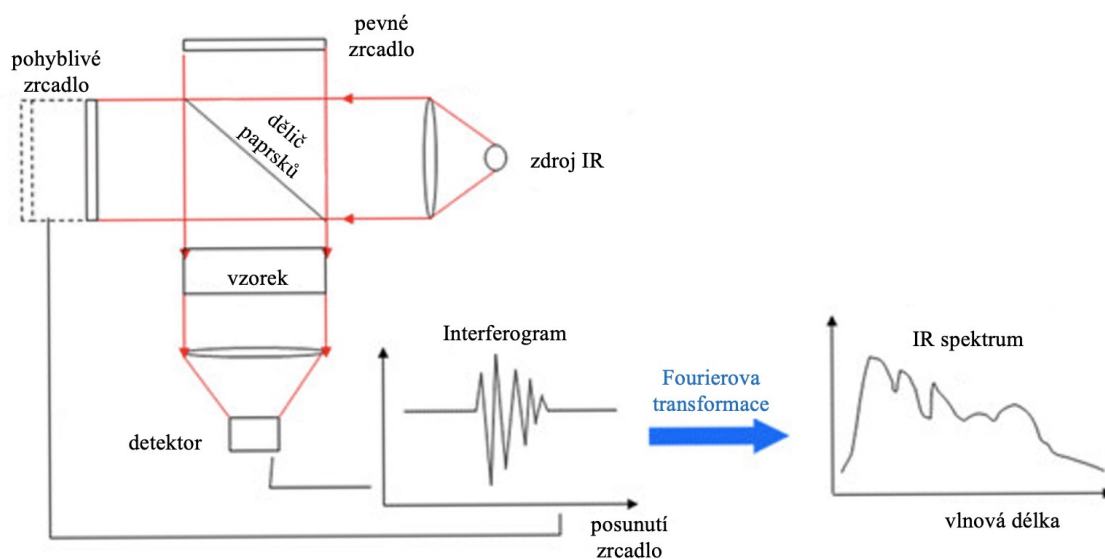
3.2 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací se značí pod zkratkou FTIR (původ je z anglického názvu fourier transform infrared spectroscopy) [91]. Metoda se řadí mezi nedestruktivní analytické metody, která identifikuje struktury anorganických a organických

sloučenin. Její pracovní oblast se pohybuje v rozsahu 700 nm – 100 μm (vlnčet 14 000 – 10 cm^{-1}), jejíž název je infračervená oblast [92]. Schéma metody je znázorněno na Obr. 18.

Princip metody

Základem FTIR analýzy je propustnost elektromagnetického záření materiálem. Polarita chemických vazeb, tj. dipólový moment, interaguje s daným zářením. Pokud chybí molekule dipólový moment, je v daném spektru neaktivní [93, 94]. Z toho vyplývá, že aby bylo možné určit funkční skupiny molekuly, musí být aktivní v infračervené oblasti. Pro určení samotných atomů není možné používat infračervené záření, jelikož atomy nemají chemickou vazbu, a ani symetrické molekuly s nulovým dipólem [94]. Každá molekula v základním stavu má vlastní energii, to znamená že chemické vazby vibrují na určitých frekvencích. Při dopadu IR záření na zkoumaný vzorek molekula pohltí záření o stejné frekvenci, která odpovídá příslušné funkční skupině. Tento děj nastane tehdy, kdy je splněna podmínka změny dipólového momentu [95]. Výsledkem metody je IR spektrum dané sloučeniny s charakteristickými absorpčními píky, které jsou totožné s frekvenčními vibracemi chemických vazeb. Pro jednotlivé funkční skupiny jsou tyto oblasti jedinečné, proto žádné dvě molekuly s jinou strukturou nemohou vlastnit stejná infračervená spektra [94, 95].



Obr. 18 Schéma popisující princip FTIR [96]

Instrumentace FTIR spektrometru

Základní komponenty FTIR spektrometru jsou: zdroj IR záření, Michelsonův interferometr, detektor, zesilovač signálu, počítač. Michelsonův interferometr je základní součást přístroje, který je ze tří částí (děliče paprsků, statického a pohyblivého zrcadla).

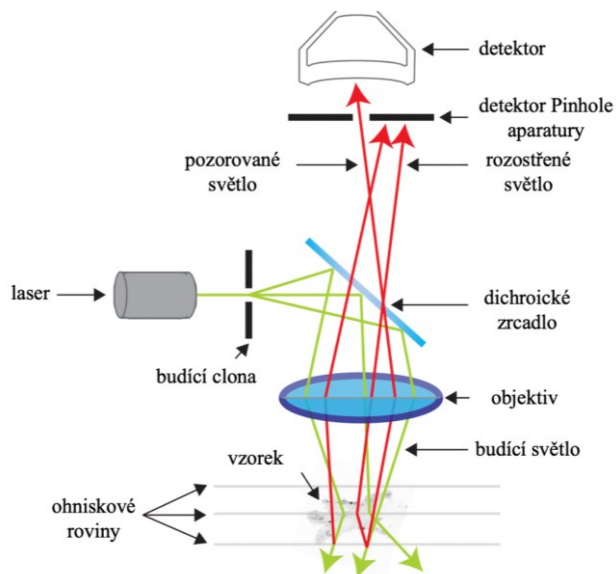
Infračervené záření je vyzařováno přes Michelsonův interferometr a následně přes vzorek do detektoru. Signál zaznamenaný na detektor se nazývá tzv. interferogram (závislost napětí na detektoru na pozici pohyblivého zrcadla). Získaný interferogram je poté pomocí Fourierovy transformace převeden na požadovaný výsledek (graf závislosti záření na vlnočtu). Pro samotnou analýzu vzorku je potřeba na začátku měření změřit spektrum pozadí pro normalizaci spektra měřeného vzorku [94, 97].

3.3 Konfokální mikroskopie

Konfokální mikroskopie, známá také jako konfokální laserová skenovací mikroskopie (CLSM) nebo také laserová skenovací konfokální mikroskopie (LSCM), se řadí mezi optické zobrazovací techniky. Konfokální mikroskopie zvyšuje optické rozlišení a kontrast mikrofotografie pomocí prostorové apertury k blokování neostrého světla během vytváření obrazu [98].

Princip metody

Principem konfokálního mikroskopu je zobrazení emitovaného světla (viz Obr.19). Z excitačního zdroje vychází koherentní světlo (laser – ultrafialové, infračervené nebo viditelné spektrum), které prochází přes clonu, která je umístěna na konjugované rovině (konfokálně) s detekčním bodem na vzorku a následně druhou clonou umístěnou před detektorem (fotonásobičem). Fluorofory na vzorku absorbují dopadající světlo a následně jej vyzařují na delší vlnové délce, které dichroické zrcadlo ohýbá do fotonásobiče. Signál je následně zesílen a převeden z intenzity fotonů na pixely [99].



Obr. 19 Schématické znázornění principu konfokálního mikroskopu [100]

Instrumentace konfokálního mikroskopu

Základním prvkem mikroskopu je laser, který excituje fluorescenci fluoroforů používaných k označení různých podskupin vzorku. Fluorescenční dichroické filtry odráží excitační světlo na vzorek a propouštějí sekundární fluorescenci vyzařovanou vzorkem do detekčního systému. Clona sloužící jako prostorový filtr, zabraňuje průchodu světla, které není konfokální vůči ohniskové rovině objektivu. Předposlední součástí jsou krokové motory, které umožňují laserovému paprsku postupný průchod vzorkem a sbírají trojrozměrná data, ze kterých se následně vytváří 3D obraz. Poslední částí konfokálního mikroskopu je objektiv, pomocí kterého se dosahuje vysokého rozlišení [101].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 MATERIÁLY A METODY

4.1 Popis experimentu

Cílem experimentální práce byla příprava roztoků na bázi syntetického polymeru PVDF-TrFE-CTFE a jejich zpracování pomocí 3D tisku a elektrospiningu. S ohledem na možné budoucí využití tohoto materiálu v regenerativní medicíně byly polymerní roztoky připraveny pomocí 3D tisku do tvaru mřížek. Struktura mřížky poskytuje porézní lešení (scaffold), které napodobuje přirozenou extracelulární matici, podporuje přichycení buněk, proliferaci a difuzi živin [102].

Mřížky byly připravovány pomocí extruzního tisku směsi do lázně špatného rozpouštědla, kde docházelo ke srážení polymeru. Zde byly sledovány změny v povrchové struktuře vzorků v závislosti na lázni špatného rozpouštědla. Dalším sledovaným parametrem byla β -fáze PVDF-TrFE-CTFE ve vzorcích, které prošly procesem žháním teplem a žháním rozpouštědlem. Při elektrospiningu byl sledován vliv koncentrace polymerní směsi na vznik vláken.

4.2 Použité materiály

V experimentální části byly použity následující materiály.

Syntetický terpolymer poly(vinylidenfluorid-trifluoroethylen-chlorotrifluoroethylen) PVDF-TrFE-CTFE (**tpVDF**), jehož obchodní název je PIEZOTECH RT-TS® byl zakoupen od firmy Arkema ve formě bílého prášku. Obsah jednotlivých monomerů v terpolymeru: vinylidenfluorid (VDF) – 60,8 mol %; trifluoroethylen – 30,7 mol %; chlorotrifluoroethylen – 8,5 mol %).

Pro přípravu roztoků polymeru byla použita následující rozpouštědla: dimethylsulfoxid (**DMSO**, 99,8 %, $M = 78,13 \text{ g/mol}$) a aceton (**Ac**, 100 %, $M = 58,08 \text{ g/mol}$) od firmy VWR Chemicals; N-N-dimethylformamid (**DMF**, 99 %, $M = 73,09 \text{ g/mol}$), methanol (**Metol**, 99,8 %, $M = 58,08 \text{ g/mol}$), ethanol (**Etol**, 70 %, $M = 46,07 \text{ g/mol}$) a isopropylalkohol (**IPA**, 99,8 %, $M = 60,10 \text{ g/mol}$) od firmy Sigma-Aldrich; ultračistá voda (H_2O , UV sterilizovaná deionizovaná voda připravená pomocí přístroje Millipore Direct-Q® 3 UV s odporem $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$).

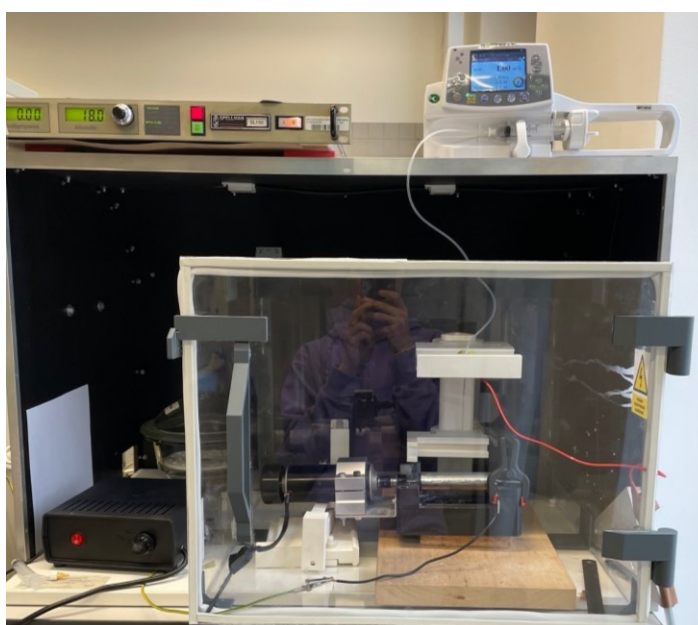
4.3 Použité přístroje pro přípravu vláknenných struktur

4.3.1 Bio 3D tiskárna

Polymerní roztoky byly zpracovány pomocí 3D tisku na 3D tiskárně Bio X od společnosti Cellink. Pro jejich tisk byla použita tisková hlava s pneumatickou extruzí, která je vhodná pro tisk méně viskózních roztoků. Pneumatickou extruzní hlavu, do které se umísťuje injekční stříkačka s tisknoucí směsí, lze vyhřívat v teplotním rozsahu 30–65 °C s možným připojením externího tlaku až do 700 kPa. K dispozici je široká škála výběru tiskových jehel a špiček. Pro samotný tisk byly vybrány 3D tiskové modely ve formátu STL, které jsou součástí softwaru samotné tiskárny. Konkrétní zvolené tiskové parametry jsou uvedeny u jednotlivých experimentů.

4.3.2 Elektrospining

Elektrospínovací zařízení použité pro přípravu vláken tPVDF bylo sestaveno na Ústavu fyziky a materiálového inženýrství, Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Zařízení se skládá z vysokonapěťového zdroje, uzemněného kolektoru a dávkovací pumpy (Obr. 20). Elektrostatické zvlákňování probíhalo z roztoku polymeru umístěném v injekční stříkačce s kovovou jehlou o průměru 15G (vnitřní průměr cca 1,38 mm), na kterou byl přiveden zdroj vysokého napětí. Rychlost dávkování roztoku byl 1 ml/hod. Proces zvlákňování probíhal při pokojové teplotě a relativní vlhkosti vzduchu cca 50 %. Vzdálenost kolektoru od jehly byla 5–7 cm a použité napětí bylo v rozmezí 18–20 kV.



Obr. 20 Elektrospinner s rotačním kolektorem

4.4 Buněčná proliferace

Na vybraném strukturovaném vzorku byl proveden test buněčné proliferace myších embryonálních fibroblastů (ATCC CRL-1658 NIH/3T3). Scaffoldy byly sterilizovány 20 minut v 70 % ethanolu a následně 30 minut z každé strany pomocí UV záření. Koncentrace buněčné suspenze byla 5×10^4 buněk/ml. Jako kultivační médium bylo použito Dulbecco's Modified Eagle's Medium, telecí sérum o koncentraci 10 % a antibiotika Penicillin/Streptomycin s koncentrací $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Buněčná proliferace běžela 3 dny. Poté byly buňky obarveny pomocí fluorescenčních barviv ActinRed 555 (značení buněčného cytoskeletu) a Hoechst 33258 (značení buněčných jader) a nafoceny pomocí konfokálního mikroskopu. Testy buněčné proliferace byly provedeny ve spolupráci s Centrem polymerních systémů FT UTB Ing. Kateřinou Skopalovou, Ph.D.

4.5 Metody charakterizace vláknenných struktur

4.5.1 Skenovací elektronový mikroskop

Pro sledování struktury povrchu jednotlivých vzorků na mikro úrovni byl použit skenovací elektronový mikroskop (SEM) Phenom Pro od společnosti Phenom World. Každý vzorek byl upevněn na terčík pomocí uhlíkové oboustranné lepící pásky a následně byl pokoven v naprašovacím zařízení SC7620 Mini od společnosti Quorum Technologies směsí zlata a paladia po dobu 45 s při 18 mA za přítomnosti argonu. Pokovené vzorky byly následně upevněny do držáku pro vodivé vzorky. Pozorování pomocí SEM bylo prováděno v režimu zpětně odražených elektronů a při urychlovacím napětí 10 kV. Vzorky byly foceny při zvětšení $1000\times$ a $5000\times$.

4.5.2 FTIR

Pro určení množství β -fáze ve vybraných vzorcích tPVDF byla využita metoda infračervené spektroskopie pomocí spektrometru Nicolet iS5, od firmy Thermo Scientific a pro zobrazení výsledných spekter byl použit software Omnic. Měření byla provedena na krystalu germania pomocí techniky ATR (Attenuated Total Reflection – zeslabený úplný odraz). Před provedením analýzy je nutné zvolit základní parametry měření, kterými lze ovlivnit rychlost spektrálního měření a jeho kvalitu. Rozlišení spektra bylo nastaveno na 4 cm^{-1} , tento parametr udává, jak jsou od sebe odlišitelná dvě pásma, tzn. že musí být od sebe vzdálená alespoň 4 cm^{-1} . Dalším důležitým parametrem je počet skenů, který značí počet měření jednoho vzorku. Pro měření vzorků byl tento parametr nastaven na 32 skenů.

Tento parametr ovlivňuje kvalitu spektra, tj. zvyšuje odstup signálu od šumu. Výsledkem měření je spektrum ukazující závislost absorpance na vlnočtu.

4.5.3 Konfokální mikroskop

Na vybraných strukturách byla provedena proliferace myších fibroblastů. Snímky vzorků, na kterých byl proveden test proliferace myších fibroblastů byly pořízeny pomocí konfokálního mikroskopu Fluoview FV 3000 od společnosti Olympus. Měření probíhalo s pomocí softwaru FV31S – SW, obrázky byly pořízeny s rozlišením 2048×2048 pixelů a byla využita možnost skládání obrazu v ose Z. Byly sledovány čtyři kanály: 1) zobrazení buněčného cytoskeletu, 2) buněčných jader, 3) průchozí světlo, 4) složení předchozích tří kanálů v jeden výsledný obraz.

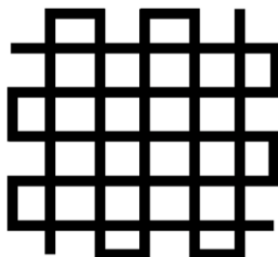
5 VÝSLEDKY A DISKUZE

V následujících kapitolách budou shrnuty dosažené výsledky pro splnění stanovených cílů diplomové práce.

5.1 3D Tisk

Pro přípravu roztoků pro 3D tisk byla zvolena varianta přípravy kombinace navážení polymeru a odměření objemu rozpouštědla pomocí mikropipety (w/v – weight/volume). Jako dobrá rozpouštědla byla zvolena dimethylsulfoxid a N-N-dimethylformamid. Jako špatná rozpouštědla pak byla v této práci použity voda, methanol, ethanol a isopropylalkohol.

Při tisku všech mřížek byly použity následující tiskové parametry (pokud nebude uvedeno jinak): vytlačovací tlak 200 kPa; rychlost tisku 1 mm/s; průměr špičky 0,21 mm; laboratorní teplota. Velikost tiskového modelu mřížky byl 10×10×0,4 mm (šířka×délka×výška) (Obr.21).



Obr. 21 Navržený 3D model pro tisk

5.1.1 Vliv dobrého rozpouštědla na tisk směsi

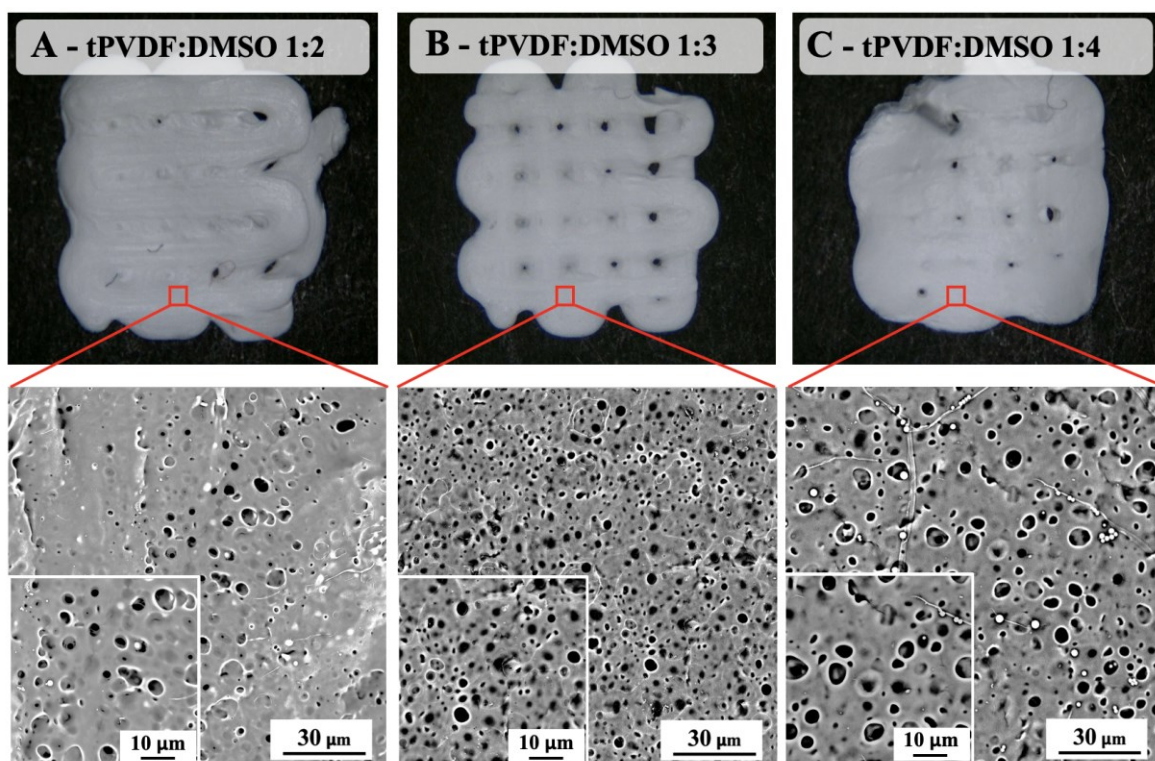
Experimentální část byla započata tiskem roztoku polymeru s dobrým rozpouštědlem. Cílem bylo zjistit při jaké koncentraci vzniká mřížka s porézní strukturou povrchu. Roztoky polymeru byly míchány v poměru (w/v) 1:2, 1:3 a 1:4 (tPVDF:DMSO nebo DMF). Tyto koncentrace byly následně tisknuty na mikroskopické sklíčko.

Výsledné snímky tištěných mřížek roztoku tPVDF:**DMSO** zobrazeny digitálním mikroskopem a pomocí SEM jsou uvedeny na Obr. 22. Podobně jsou zobrazeny finální snímky výtisků roztoku tPVDF:**DMF** na Obr. 23.

Při pohledu z makroskopického hlediska není zřejmý rozdíl mezi jednotlivými použitými koncentracemi roztoku polymeru. Jednotlivé mřížky vykazují podobné roztékání při tisku (Obr. 22 horní řada). U snímků pořízených pomocí SEM (Obr. 22 spodní řada) jsou již patrné

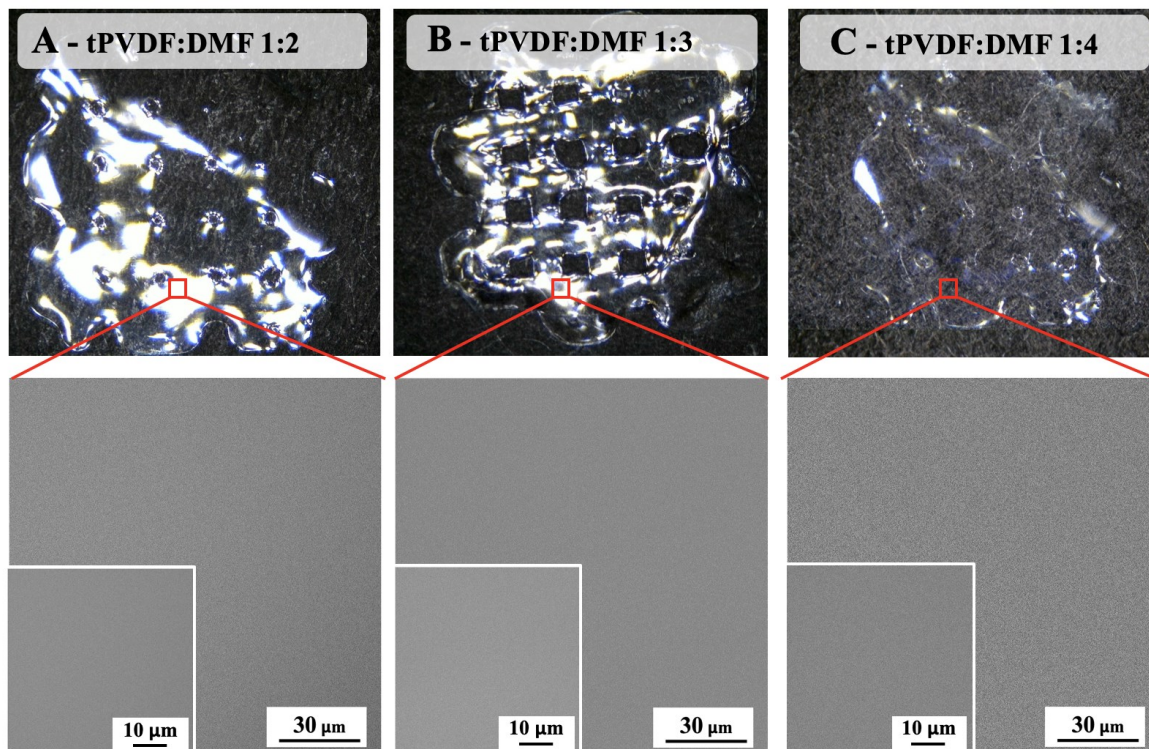
rozdíly mezi koncentracemi. Výtisky vykazují porézní povrchovou strukturu s rozdílnou četností a velikostí pórů. Přítomnost pórů pak je nejspíše zodpovědná za bílé zbarvení mřížek, kdy dochází k lomu dopadajícího světla na strukturovaný povrch. Vznik porézní struktury je pak spojen s procesem fázové separace.

S vyšší koncentrací tPVDF ve směsi (1:2, tPVDF:DMSO, Obr. 22 A) se snižuje četnost pórů, což může být spojeno s nižší koncentrací rozpouštědla, jehož přítomnost ve formě kapiček funguje jako šablona pro budoucí póry. Koncentrace 1:4 (tPVDF:DMSO, Obr. 22 C) vykazuje nižší četnost pórů než koncentrace 1:3 (tPVDF:DMSO), což může být zapříčiněno větším množstvím DMSO ve směsi, které se spojuje do menšího počtu větších kapek. Nejvíce pórů o různých velikostech bylo dosaženo při použití koncentrace 1:3 tPVDF:DMSO (Obr. 22. B).



Obr. 22 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMSO při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada).

Při tisku roztoků polymeru s DMF nejsou zřejmé žádné povrchové struktury (Obr. 23). U mřížek dochází k deformaci a roztékání výsledného výtisku. Není zde ani zjevné žádné zbarvení jako tomu bylo u rozpouštědla DMSO. Snímky ze SEM nevykazují žádnou strukturu, což může být způsobeno tím, že ve směsi tPVDF:DMF nedochází k fázové separaci a dochází tak k v podstatě k tvorbě hladkého filmu (Obr. 23).



Obr. 23 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMF při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada).

5.1.2 Vliv špatného rozpouštědla na tisk směsi

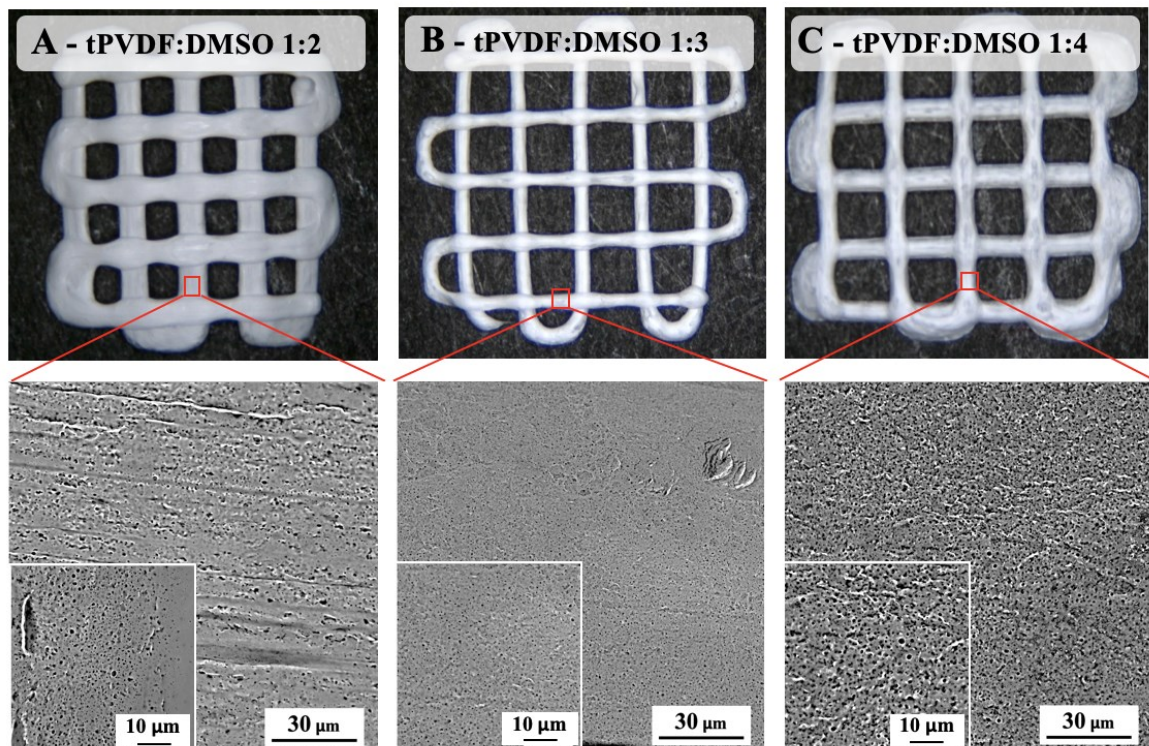
Z výše uvedených výsledků vyplývá, že polymerní směs s dobrým rozpouštědlem se při tisku roztéká. Zároveň však bylo zjištěno, že volbou dobrého rozpouštědla je možné ovlivnit povrchovou strukturu výtisku a vytvářet tak porézní strukturu. Dalším cílem tedy byla snaha vyladění procesu tisku tak, aby bylo možné vytvářet vrstvené, definované výtisky. Byl proveden experiment, kde bylo využito srážení polymeru ve vodě, což by mohlo mít pozitivní vliv na tisknutelnost 3D objektů.

V rámci experimentu byly použity stejné koncentrace polymeru a rozpouštědla jako u předchozích výtisků: 1:2; 1:3 a 1:4 (tPVDF:dobré rozpouštědlo). Tiskové parametry byly použity stejné (vytlačovací tlak 200 kPa; rychlost tisku 1 mm/s; průměr špičky 0,21 mm; laboratorní teplota) až na tisk koncentrace 1:4, kde byla použita jehla o průměru 0,34 mm kvůli zlepšení tisknutelnosti.

Prvním krokem byl tisk roztoků na vlhčený filtrační papír. Při dotyku roztoku s vodou vlhčeným podkladem (voda – špatné rozpouštědlo) došlo k okamžitému srážení polymeru,

keré se projevilo zpevněním tisknutého vlákna. Výsledný výtisk dostává okamžitý tvar (Obr. 24) a lze s ním následně snadno manipulovat.

Na Obr. 24 jsou zobrazeny výsledné výtisky směsi tPVDF:DMSO v různých koncentracích na vodou vlhčený podklad.

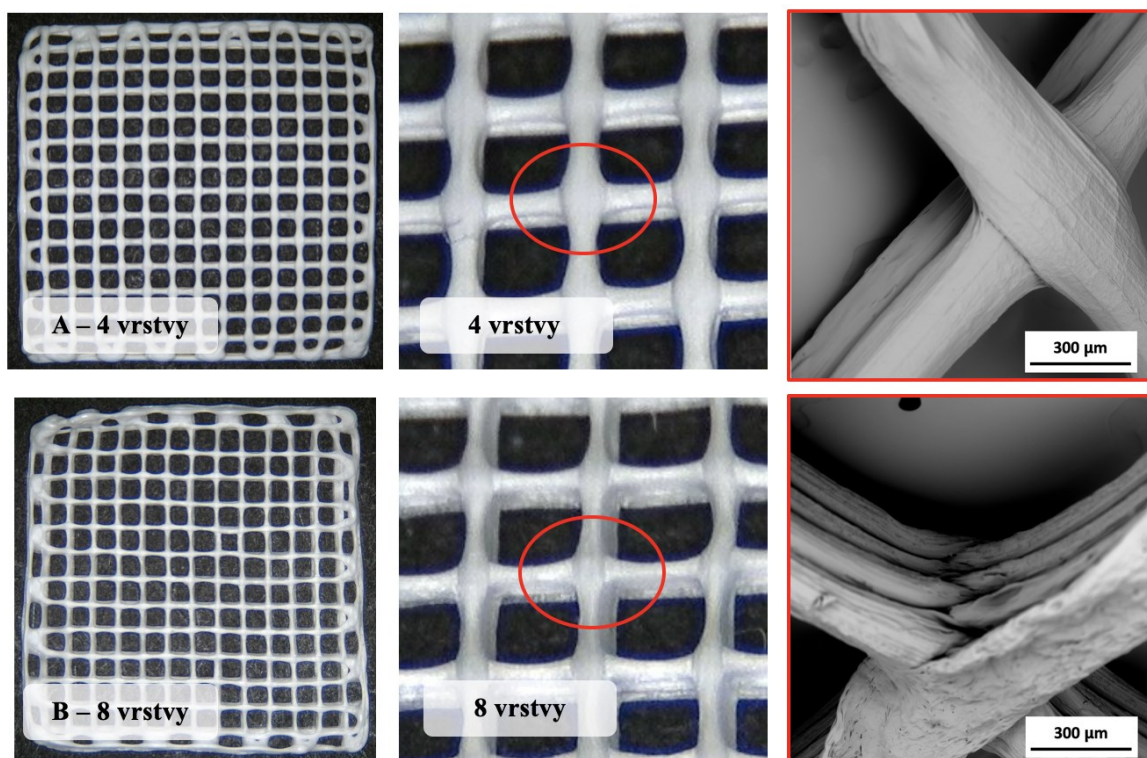


Obr. 24 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMSO na vodou vlhčený podklad při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada).

V rámci optimalizace tisku polymeru bylo prokázáno, že lze tisknout mřížky s hierarchickou strukturou.

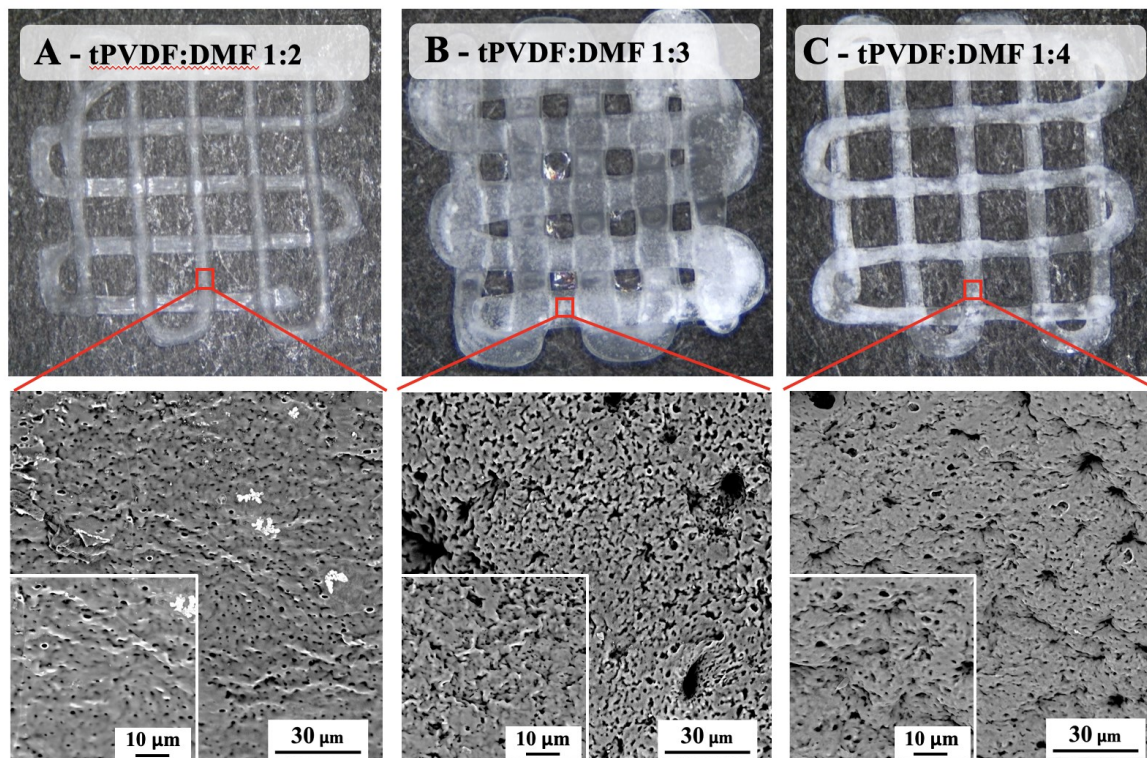
Na Obr. 24, jsou zobrazeny snímky výsledných tištěných struktur, ze kterých je patrné, že při vyšší koncentraci polymeru ve směsi stále dochází k mírnému roztékání tištěných vláken, ale stále jsou viditelné mezery mezi jednotlivými vlákny mřížky. S nižší koncentrací polymeru ve směsi už je roztékání vrstev minimální. Z pořízených snímků na Obr. 24 B si lze povšimnout, že ideální mřížka s porézní strukturou vzniká při poměru 1:3 tPVDF:DMSO. Jsou zde viditelné póry o velikosti stovek nanometrů s homogenní distribucí. Takto připravené výtisky byly použity pro testování proliferace myších embryonálních fibroblastů (kapitola 5.1.4).

Pomocí optimalizovaného tisku za použití dobrého rozpouštědla DMSO a tisku na vodou vlhčený podklad byly ze směsi tPVDF:DMSO (1:3) připraveny vícevrstvé mřížky o rozměrech 2×2 cm. Snahou bylo získat vícevrstvý 3D objekt (scaffold), se kterým bude možné snadno manipulovat, aniž by se deformoval. Výsledné vícevrstvé scaffolds jsou zobrazeny na Obr. 25. Ze snímků pořízených pomocí SEM (Obr. 25 vpravo) jsou viditelné jednotlivé vrstvy výtisku. Bylo tedy prokázáno, že tiskem směsi tPVDF:DMSO na vodou vlhčený podklad je možné pomocí 3D tisku připravit vícevrstvé hierarchicky strukturované scaffolds.



Obr. 25 Vícevrstvá mřížka tištěná pomocí optimalizovaného tisku roztoku tPVDF:DMSO (1:3) na vodou vlhčený podklad. Vrchní řada – scaffold se čtyřmi vrstvami. Spodní řada – scaffold s osmi vrstvami vláken. Snímky pořízeny pomocí digitálního mikroskopu a SEM.

Po optimalizaci tisku polymeru s DMSO, následovala optimalizace tisku roztoku polymeru s DMF. Stejně jako u předchozího rozpouštědla byly použity stejné koncentrace (1:2, 1:3 a 1:4; tPVDF:DMF). Tiskové parametry byly použity stejné (vytlačovací tlak 200 kPa; rychlost tisku 1 mm/s; průměr špičky 0,21 mm; laboratorní teplota) až na tisk koncentrace 1:4, kde byla použita jehla o průměru 0,34 mm kvůli zlepšení tisknutelnosti. Bylo sledováno při kterém poměru tPVDF:DMF vzniká ideální mřížka s porézní strukturou.



Obr. 26 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMF na vodou vlhčený podklad při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada).

Z Obr. 26 je patrné, že k většímu roztékání tištěné směsi dochází při tisku koncentrace 1:3 (tPVDF:DMF), vliv na roztékání může mít průměr použité špičky (0,21 mm). Pro tisk směsi 1:4, která by měla vykazovat vyšší roztékání tak byla zvolena jehla o průměru 0,34 mm. Průměr použité jehly byl sice větší než použité špičky u roztoku 1:3 avšak vzhledem k rozdílným tokovým podmínkám v tiskové špičce kónického tvaru a jehle se podařilo roztékání tištěných vláken částečně odstranit.

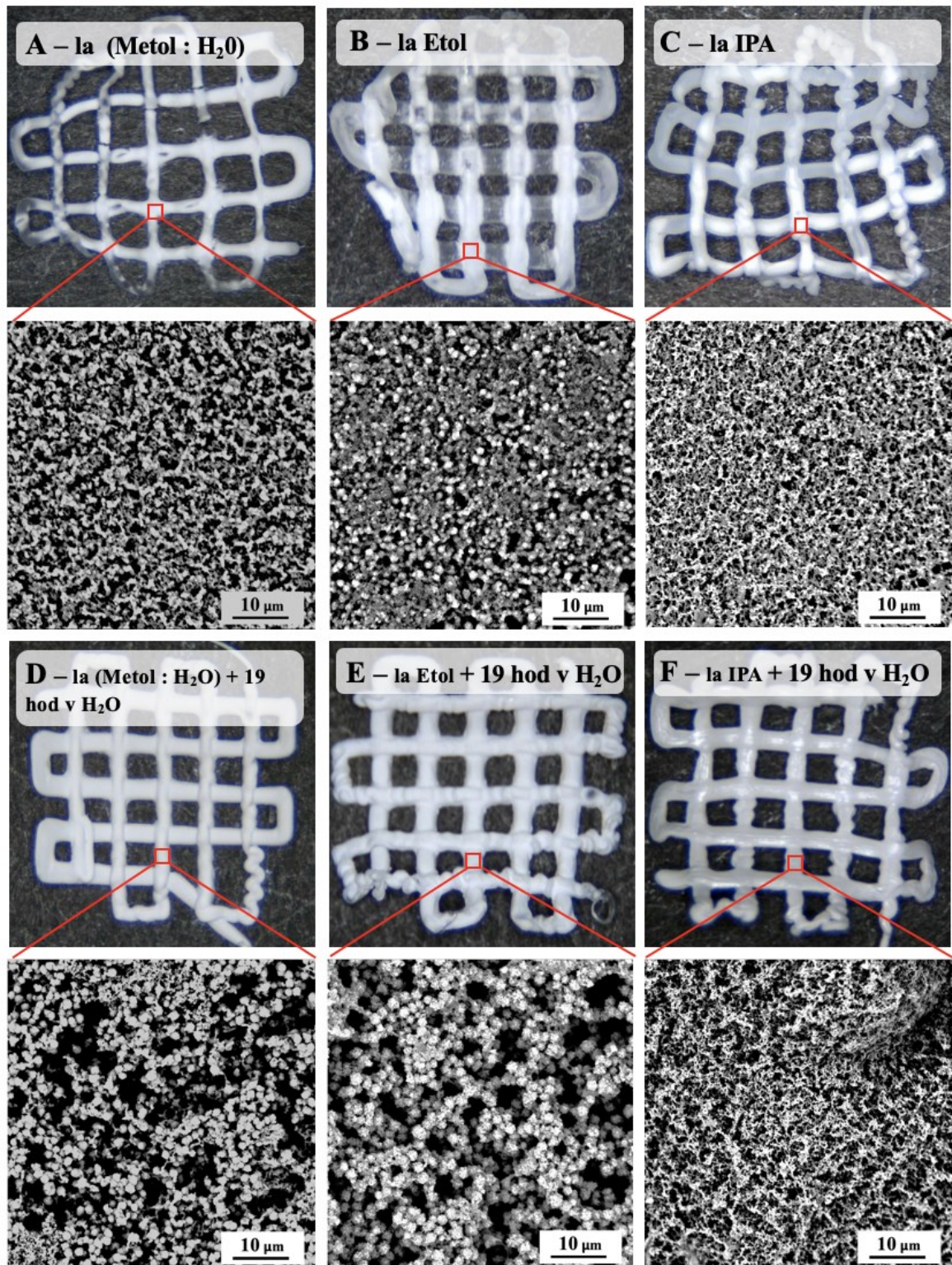
Ze snímků z digitálního mikroskopu (Obr. 26 horní řada) je patrné, že mřížky již nejsou kompletně transparentní jako v případě tisku tPVDF:DMF bez použití špatného rozpouštědla (Obr. 23). Snímky z elektronového mikroskopu (Obr. 26 spodní řada) pak zobrazují vznik rozdílné porézní struktury tištěných vláken závislé na použité koncentraci směsi. V případě použití směsi s nižší koncentrací polymeru je možné pozorovat přítomnost i větších pórů, které mohou být způsobeny separací větší koncentrace rozpouštědla do větších kapek.

5.1.3 Vliv tisku vybraných směsí do lázní na strukturu výtisku

S ohledem na dosažené výsledky uvedené v předchozích kapitolách byl pro další experimenty vybrán poměr směsi 1:3 (tPVDF:dobrému rozpouštědлу), při kterém vznikal tvarově nedeformovaný výtisk mřížky. Experiment s použitím špatného rozpouštědla jako srážecího činidla pro směs polymeru byl v následujících krocích modifikován pro sledování vlivu použití dalších typů špatných rozpouštědel. Pro tyto účely byl roztok polymeru tPVDF:DMSO a tPVDF:DMF tisknut do lázní methanolu:vody (22:1, v/v), ethanolu a isopropanolu.

Na Obr. 27 jsou snímky mřížek tisknutých ze směsi tPVDF:DMSO (1:3) do různých lázní pořízené pomocí digitálního mikroskopu a SEM. Vzorke A-C byly tisknuty do lázně špatného rozpouštědla a poté byly vyjmuty a byly ponechány volně při laboratorních podmínkách, dokud nedošlo k jejich samovolnému vysušení. Vzorke D-E byly tištěny do lázní špatných rozpouštědel, ihned po vytištění však byly přesunuty do vodní lázně, ve které byly ponechány 19 hodin při laboratorní teplotě. Poté byly vyjmuty a byly ponechány v laboratorních podmínkách, dokud nedošlo k jejich samovolnému dosušení.

Při pohledu na snímky pořízené pomocí digitálního mikroskopu je vidět, že při tisku do lázně špatného rozpouštědla a následném vyjmutí výtisku došlo k deformaci (kroucení) tištěných mřížek (Obr. 27 A-C). Při zařazení kroku ponoření výtisku do vody po dobu 19 hodin došlo k snížení deformace (Obr. 27 D-F). Vodní lázeň může zpomalovat difuzi rozpouštědla z výtisku a polymer tak má delší čas k relaxaci. Při pohledu na snímky ze SEM je zřejmé, že typ použité lázně špatného rozpouštědla má vliv na výslednou strukturu tištěné mřížky.



Obr. 27 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMSO (1:3, w/v) tištěné do různých lázních (methanol: H₂O – 22:1 v/v; ethanol; IPA). Vzorok A-C byly tištěny do lázní špatného rozpouštědla. Vzorok D-F byly po tisku do špatného rozpouštědla vloženy na 19 hodin do vody.

Každá lázeň způsobuje srážení polymeru do různé podoby.

Tisk směsi do lázně methanolu s vodou v poměru 22:1 (v/v) vykazuje texturovaný povrch v podobě vysráženého polymeru (Obr. 27 A). Avšak po ponoření výtisku do vody po dobu 19 hodin je patrné, že se polymer přeskupil do částic podobným zrnům, které patří agregátům sférolitů polymeru (Obr 27 D) [103, 104].

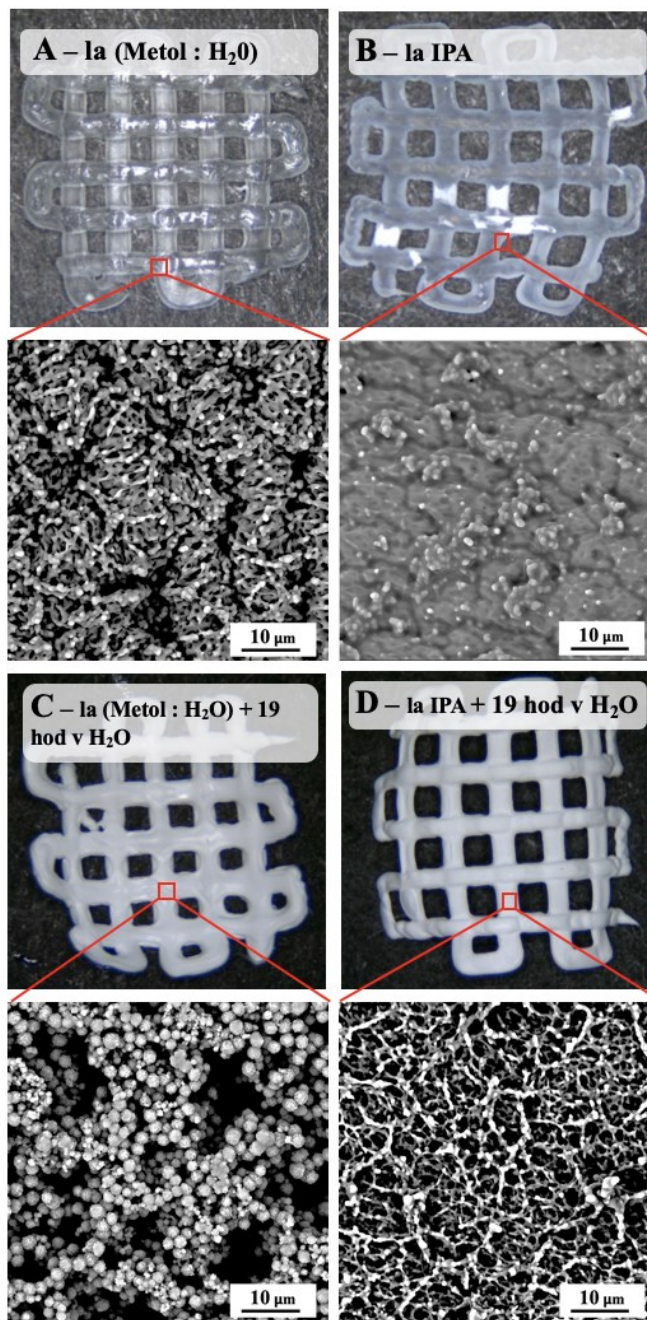
Při tisku směsi do lázně ethanolu je patrné, že se polymer nachází ve stavu drobných kulovitých částic menších než v případě tisku do lázně methanolu:vody a následném ponoření do vody (Obr. 27 B). Po ponoření tohoto výtisku do vody po dobu 19 hodin je možné pozorovat, že se kulovité útvary krystalické fáze polymeru zvětšily (Obr. 27 E).

V lázni isopropylalkoholu (Obr. 27 C) došlo k podobnému vysrážení polymeru jako v případě tisku do lázně směsi methanolu a vody (Obr. 27 A). Jsou zde však patrnější póry o desítek nanometrů až jednotek mikrometrů. Po vložení výtisku do vody po dobu 19 hodin lze pozorovat zvětšení pórů.

Stejný experiment byl proveden i pro směs tPVDF:DMF (1:3) kromě tisku směsi do lázně ethanolu, kdy se výtisk silně deformoval. I zde dochází ke vzniku různých typů povrchových struktur výtisků v závislosti na použité lázni špatného rozpouštědla (Obr. 28). Jsou zde však zásadní rozdíly v případě vložení výtisku po tisku do lázně vody.

Tisk směsi tPVDF:DMF (1:3) do lázně methanolu a vody se projevuje vznikem zvrásněného povrchu s přítomností větších povrchových prohlubní (Obr. 28 A). Přítomnost prohlubní se pak zdůrazňuje při vložení výtisku do vody na 19 hodin, zároveň dochází k transformaci zvrásněného povrchu do podoby kulovitých částic (Obr. 28 C).

Při tisku tPVDF:DMF (1:3) do lázně isopropylalkoholu je patrné, že dochází ke vzniku pouze menšího množství kulovitých částic polymeru na zvrásněném polymerním povrchu (Obr. 28 B). Po ponoření výtisku do vody se však povrchová struktura výrazně mění a dochází ke vzniku výrazného porézního strukturovaného povrchu (Obr. 28 D).



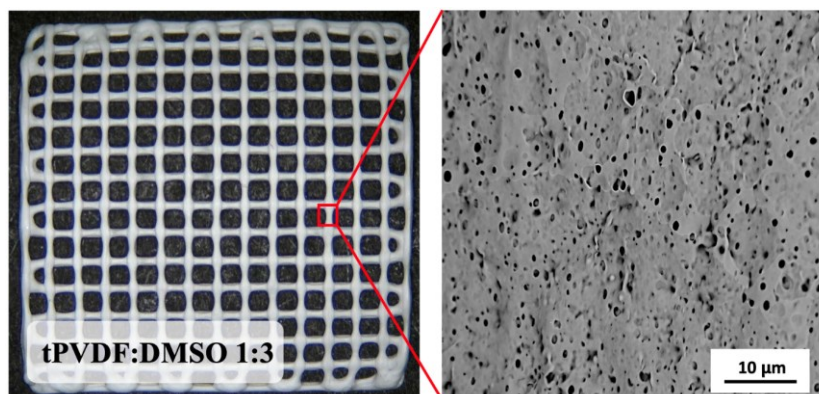
Obr. 28 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMF (1:3, w/v) tištěné do různých lázních (methanol: H₂O – 22:1 v/v; ethanol; IPA). Vzorke A-C byly tištěny do lázně špatného rozpouštědla. Vzorke D-F byly po tisku do špatného rozpouštědla vloženy na 19 hodin do vody.

Výsledkem této části experimentální práce je zjištění, že je možné tisknout roztoky tPVDF s dobrým rozpouštědlem (DMSO, DMF) do lázní špatných rozpouštědel. Volbou lázně a následné postprocesní modifikace (ponoření výtisku do vody na 19 hodin) lze tisknout požadované modely, které vykazují hierarchickou texturu. Povrchová struktura je pak silně závislá na volbě rozpouštědel.

5.1.4 Proliferace fibroblastů na vybraném vzorku

S ohledem na možné uplatnění syntetického terpolymeru PVDF v oblasti regenerativní medicíny byl na vybraném vzorku proveden test buněčné proliferace myších embryonálních fibroblastů. Hlavním cílem bylo zjistit, zda použitý terpolymer není cytotoxický vzhledem k tomu, že v tuto chvíli není dohledatelná žádná odborná publikace, která by potvrdila jeho možné použití s buňkami.

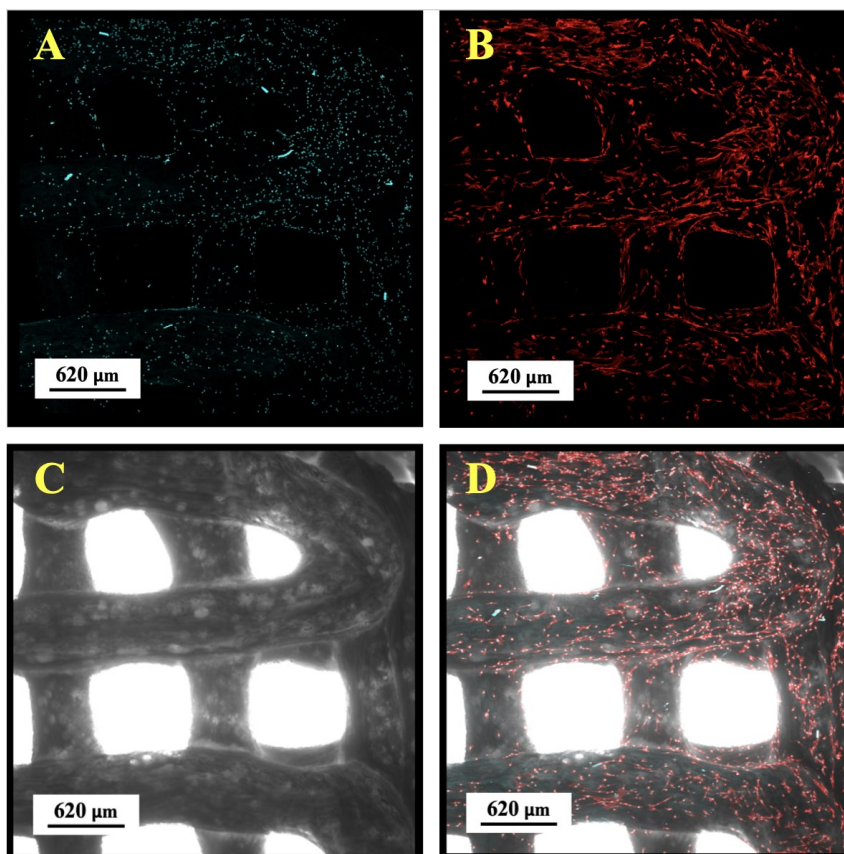
Pro tyto účely byl vybrán scaffold ve formě vícevrstvé mřížky připravený pomocí 3D tisku roztoku polymeru tPVDF:DMSO (1:3) tištěného na vodou vlhčený podklad (Obr. 29). Tento scaffold byl vybrán s ohledem na velmi dobrou tisknutelnost, možnost tisku více vrstev a vzniku porézního strukturovaného povrchu, který může pozitivně ovlivňovat buněčnou proliferaci [70].



Obr. 29 Vybraná mřížka pro proliferaci připravená 3D tiskem z roztoku tPVDF:DMSO (1:3 w/v). Snímky pořízeny pomocí digitálního mikroskopu a SEM.

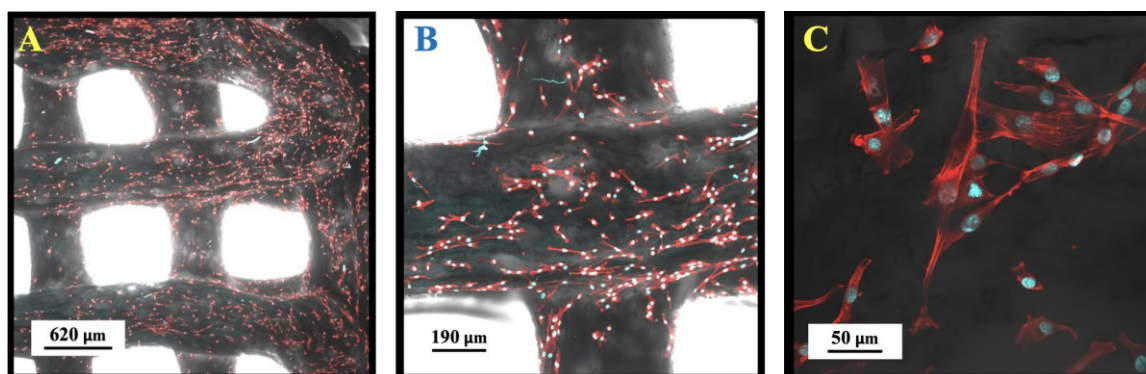
Na Obr. 30 je možné pozorovat jednotlivé kanály pořízené konfokálním mikroskopem. Na Obr. 30 A jsou zvláště jasně viditelná jádra buněk myších embryonálních fibroblastů, Obr. 30 B zobrazuje buněčný cytoskelet a Obr. 30 C zobrazuje vzorek v transmisním módu (bez fluorescenčních barev).

Složení jednotlivých kanálů vzniká výsledný obraz zobrazující povrch vzorku, jádra a cytoskelet obarvených buněk (Obr. 30 D). Z výsledného obrázku je také možné pozorovat směrovou orientaci buněk, která odpovídá směru tisku jednotlivých vrstev scaffoldu. Tato směrovost může souviset s mírným protažením pórů (patrné ze snímku SEM na Obr. 29), které s velkou pravděpodobností souvisí s protahováním tištěného vlákna ve směru tisku.



Obr. 30 Snímky proliferace buněk získaných z konfokálního mikroskopu. A) zobrazení značených jádra buněk, B) zobrazení označených buněčných skitoskeletů, C) zobrazení v procházejícím světle, D) složený obraz.

Ze snímků lze usoudit, že buňky pokrývají téměř homogenně celý povrch mřížky. Při přiblížení vybraného místa je možné pozorovat protahování buněčného cytoskeletu což značí, že scaffold není cytotoxický a jeho struktura podporuje růst buněk myších fibroblastů (Obr. 31).



Obr. 31 Snímky proliferace buněk pořízené pomocí konfokálního mikroskopu A) zvětšení 4x, B) zvětšení 10x, C) zvětšení 40x

5.2 Elektrospining

Druhou částí experimentální části týkající se metod přípravy vlákných vrstev byl elektrospining. Pro přípravu vláken pomocí této metody byly použity různé koncentrace roztoků tPVDF s dobrými rozpouštědly (DMSO, DMF a aceton).

U elektrospiningu byl sledován vliv koncentrace roztoku a vzdálenosti kolektoru na vznik vláken. Při optimalizaci těchto podmínek byl následně sledován vliv rychlosti otáčení rotačního kolektoru na tvorbu orientovaných vlákných vrstev na bázi tPVDF.

5.2.1 Vliv koncentrace polymeru a vzdálenosti kolektoru

Byl sledován vliv koncentrace polymeru v dobrém rozpouštědle (DMSO) na vznik vláken. V souvislosti s tímto experimentem byla zároveň i sledována vzdálenost kolektoru od spinovací jehly a její případný vliv na tloušťku a vzhled vznikajících vláken. Testované koncentrace polymeru a vzdálenost kolektoru od jehly jsou uvedeny v Tab. 3. V Tab. 4 jsou pak pro lepší přehlednost uvedeny označení jednotlivých snímků pořízených SEM.

Tab. 3 Hodnoty použitých napětí pro jednotlivé koncentrace a vzdálenosti

vzdálenost	koncentrace		
	5 %	15 %	25 %
5 cm	napětí 18 kV		
6 cm	napětí 19 kV		
7 cm	napětí 20 kV		

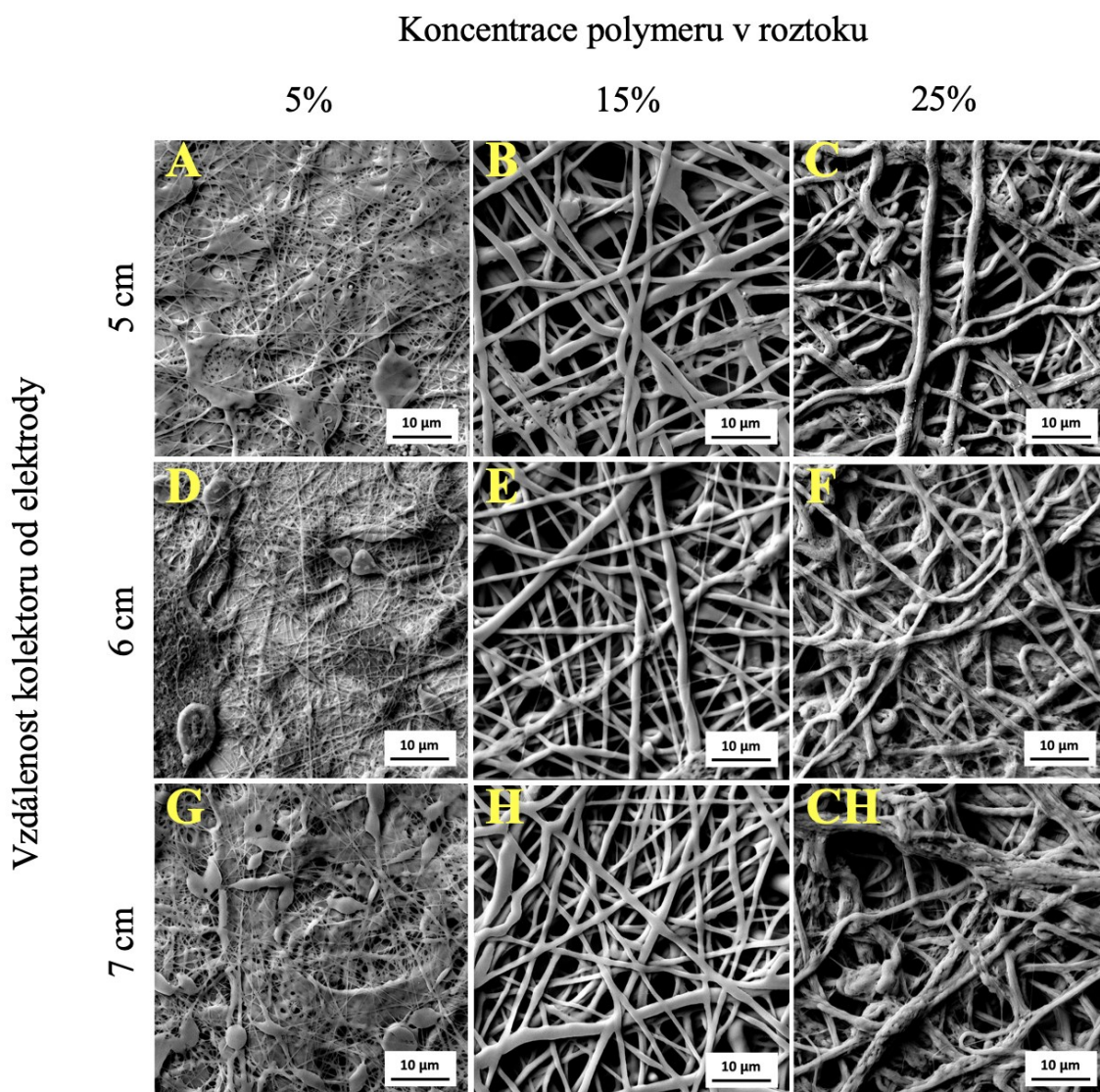
Tab. 4 Tabulka označení snímků SEM

vzdálenost	koncentrace		
	5 %	15 %	25 %
5 cm	A	B	C
6 cm	D	E	F
7 cm	G	H	CH

Z porovnání snímků ze SEM zobrazených na Obr. 32 je patrné, že koncentrace polymeru v roztoku má zásadní vliv na vzhled vláken. Se zvyšující se koncentrací polymeru se zvětšuje i tloušťka vláken. Průměr vláken spinovaných z roztoku polymeru o koncentraci 5 % v dobrém rozpouštědle DMSO se pohybuje v řádu desítek až stovek nanometrů, zároveň však dochází k vzniku tzv. bead-on-string (korálků), které mohou být způsobeny mnoha faktory např. viskozitou roztoku, velikostí zvláknovacího napětí nebo rychlostí dávkování roztoku, ale také třeba povrchovým napětím roztoku [105].

Při srovnání vláken spinovaných při různých vzdálenostech kolektoru od jehly nelze tvrdit, že by měl tento parametr v testovaném rozsahu (5–7 cm) nějaký významný vliv. Jen u vzorku z koncentrace 5 % a vzdálenosti 7 cm lze pozorovat větší výskyt korálků oproti menším vzdálenostem kolektoru (Obr. 32 A, D, G) a v případě vzorku roztoku o koncentraci 25 % lze při vzdálenosti kolektoru 7 cm (Obr. 32 CH) pozorovat vlákna s větším průměrem a strukturovanějším povrchem oproti menším vzdálenostem (Obr. 32 C, F, I).

Z provedených experimentů vyplývá, že při použití 15 % koncentrace tPVDF v rozpouštědle DMSO dochází v porovnání s nižší a vyšší koncentrací ke vzniku poměrně homogenní vláknité struktury.

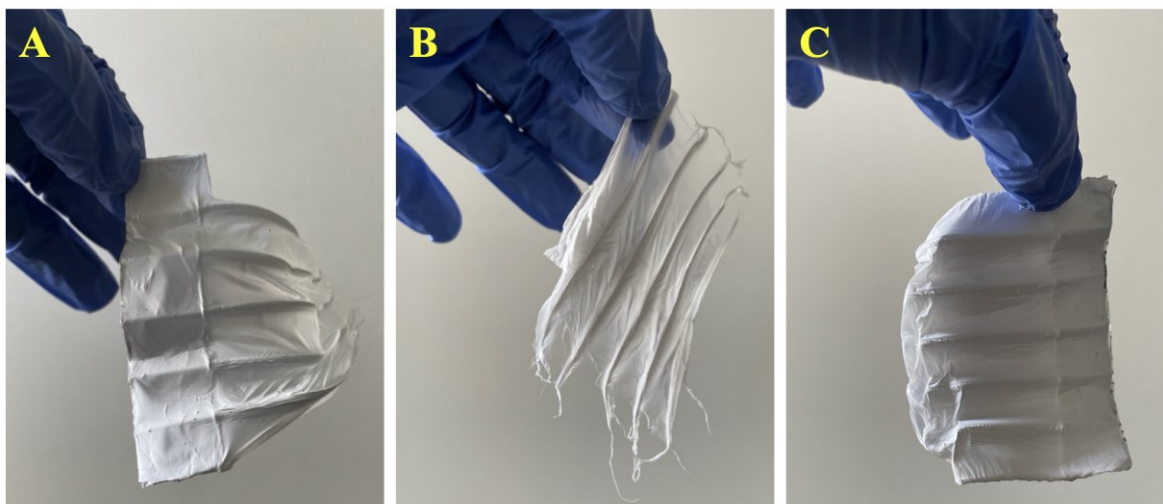


Obr. 32 Snímky spinovaných vláken tPVDF:DMSO při různých koncentracích (Sloupce – zleva 5%, 15%, 25%) a při různých vzdálenostech (řádky – shora 5, 6, 7 cm). Snímky pořízeny pomocí SEM.

5.2.2 Vliv rychlosti otáčení kolektoru

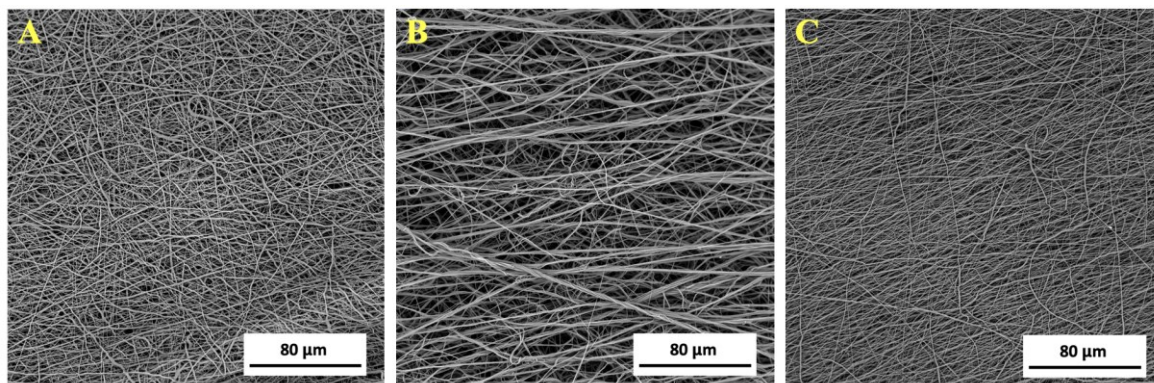
Pro experimenty spojené s tvorbou samonosných vlákenných vrstev byl na základě předchozích experimentů vybrán 15 % roztok tPVDF v kombinaci rozpouštědel DMF a acetonu v poměru 6:4 (v/v). Složení rozpouštědel bylo vybráno na základě odborné literatury [106], kde bylo cílem pomocí elektrosponingu kopolymeru PVDF-TrFE v kombinaci rozpouštědel DMF a acetonu vytvořit produkt použitelný v oblasti získávání energie.

Pro získání samonosného vlákenného substrátu byl roztok spinován na rotační kolektor 3 hodiny. Po uplynutí této doby bylo možné vzniklou vrstvu vláken sundat z kolektoru, aniž by docházelo k výraznému poškození. Na Obr. 33 jsou zobrazeny výsledné vzniklé samonosné vlákenné substráty připravené při různých rychlostech otáčení kolektoru. U otáčení rychlostí 1000 otáček za minutu (Obr. 33 B) je vidět, že vzorek se více trhá, nicméně stále s ním lze manipulovat.



Obr. 33 Naspinovaná vlákna 15% roztoku PIEZO RT: (DMF:Aceton – 6:4) při rozdílných rychlostech otáček, A – 60 RPM; B – 1000 RPM a C – 2000 RPM.

Při porovnání snímků ze SEM je možné pozorovat, že při nízké rychlosti otáčení kolektoru 60 ot/min (Obr. 34 A) jsou vlákna nahodile orientována a tento stav více odpovídá běžnému zvlákňování na statický kolektor. Při zvýšení otáček kolektoru na 1000 ot/min je vidět, že vlákna jsou orientovaná, ale zároveň tu dochází k jejich spojování do tlustších svazků (Obr. 34 B). U rychlosti otáčení 2000 ot/min (Obr. 34 C) lze pozorovat zvýšenou orientaci vláken, která zůstávají oddělená, i přes to se zde objevují nahodile orientovaná vlákna.



Obr. 34 Naspínovaná vlákna 15% roztoku PIEZO RT: (DMF:Ac – 6:4) při rozdílných rychlostech otáček, A – 60 RPM; B – 1000 RPM a C – 2000 RPM. Snímky pořízené SEM.

5.3 Žihání

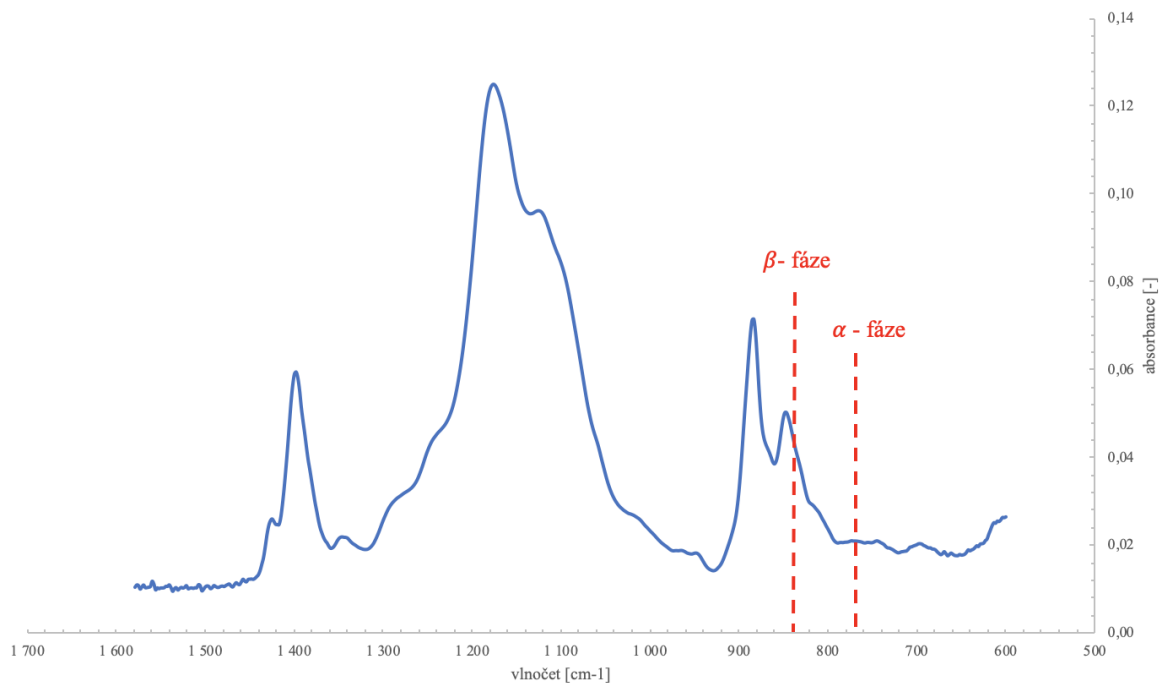
Pro možnou budoucí aplikaci tištěných mřížek jako elektroaktivní scaffoldy, byly tištěné mřížky z tPVDF podrobeny procesu žihání (annealing). Díky tomuto postprocesnímu kroku by mělo docházet k zvýšení procentuálního zastoupení β -fáze ve vzorku. Tato fáze je zodpovědná za nejlepší možné elektroaktivní vlastnosti (piezoelektrické, pyroelektrické, feroelektrické) polymeru. Žihání lze provést dvěma způsoby, tepelné žihání a žihání rozpouštědlem. Oba dva způsoby byly v této práci provedeny.

Na Obr. 35 je zobrazeno spektrum čistého polymeru tPVDF. Následně jsou zde vytyčeny hodnoty vlnočtů pro jednotlivé fáze (α -fáze – 765 cm^{-1} a β -fáze – 840 cm^{-1}). Při těchto hodnotách byly odečteny jednotlivé hodnoty absorbance, které byly následně dosazeny do vzorce (1) pro výpočet zastoupení β -fáze ve vzorku: [107]

$$F(\beta) = \frac{A_{\beta}}{1,26A_{\alpha} + A_{\beta}} \quad (1)$$

Kde:

- $F(\beta)$ je relativní zastoupení β -fáze;
- A_{β} je absorbance β -fáze při 840 cm^{-1} ;
- A_{α} je absorbance α -fáze při 765 cm^{-1} .



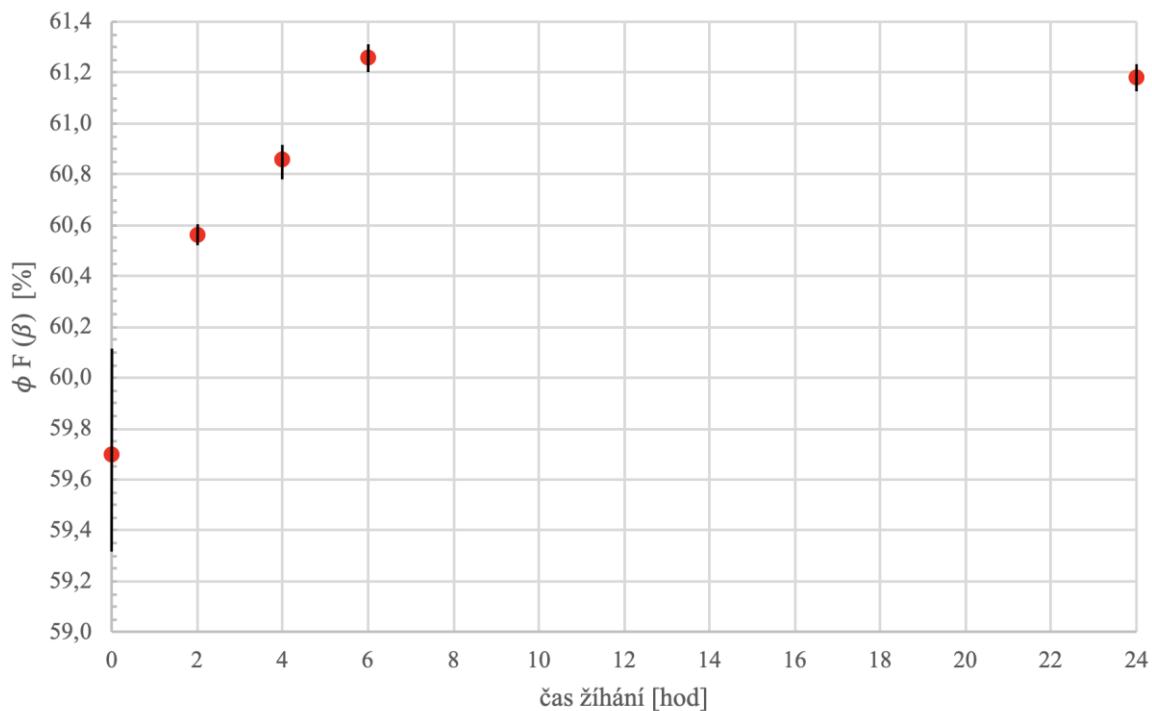
Obr. 35 Spektrum čistého polymeru tPVDF

5.3.1 Tepelné žihání

Za teploty 125 °C, která je doporučena výrobcem polymeru, byly mřížky podrobeny tepelnému žihání. V Tab. 5 jsou vypsány výsledné hodnoty zastoupení β -fáze ve vzorku vypočtené dle vztahu (1). Z těchto hodnot vyplývá, že s delší dobou trvání žihání se zvyšuje procentuální zastoupení β -fáze (Obr. 36). Po 24 hodinách žihání hodnota mírně klesá.

Tab. 5 Vypočtené hodnoty procentuálního zastoupení β -fáze ve vzorku při různé době žihání vzorku

čas žihání	$\phi F (\beta)$ [%]
bez žihání	(59,7 ± 0,4)
2 hod	(60,56 ± 0,04)
4 hod	(60,86 ± 0,09)
6 hod	(61,26 ± 0,06)
8 hod	(61,18 ± 0,04)

Obr. 36 Graf závislosti zastoupení β -fáze na době žihání

5.3.2 Žihání rozpouštědlem

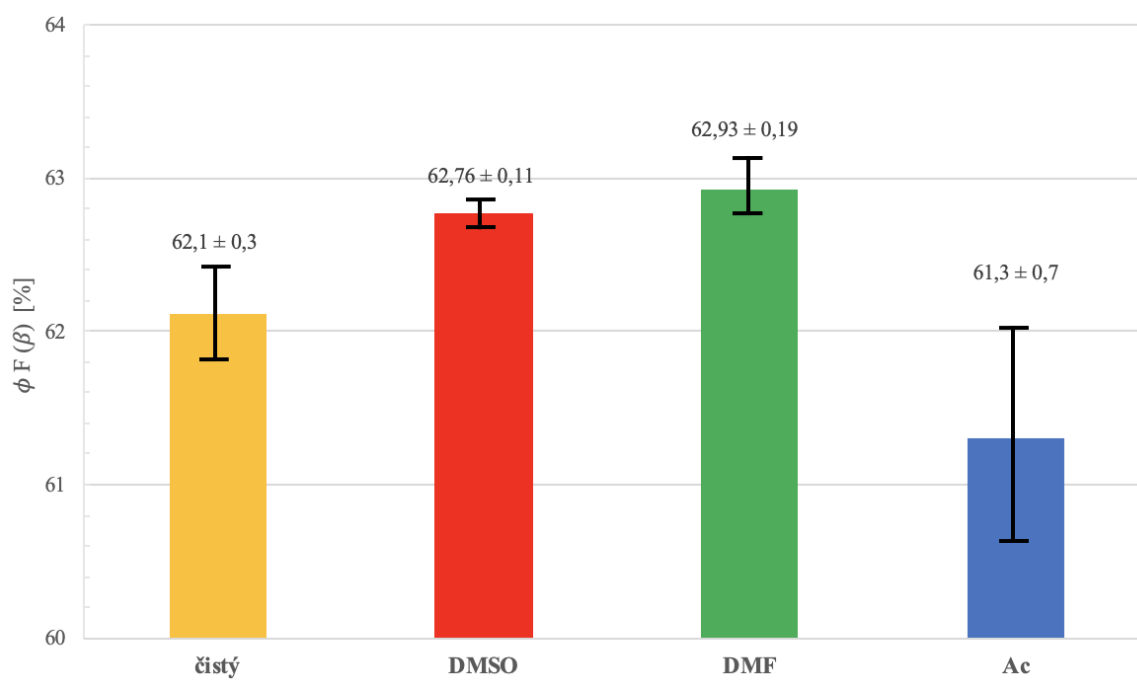
Druhou možností, kterou lze polymer podrobit žihání je vystavit polymer působení rozpouštědel [108]. Kde dochází ke zvýšení či snížení procentu zastoupení β -fáze ve vzorku při použití různých rozpouštědel. Výhodou tohoto procesu je možnost žihání polymeru za laboratorní teploty a také dosažení většího zastoupení β -fáze než u tepelného žihání [57].

V Tab. 6 jsou vypsány průměrné hodnoty zastoupení β -fáze, při použití různých rozpouštědel, které jsou následně graficky zobrazeny na Obr. 37. U použití rozpouštědel je patrné, že dochází k zvýšení podílu β -fáze v polymeru. U rozpouštědel DMSO a DMF lze v rámci přihlídnutí k chybě průměru usoudit, že dochází k podobným výsledkům a podíl β -fáze je vyšší než v případě použití acetonu jako žihacího činidla.

V porovnání s výsledky z tepelného žihání (Tab. 5, Obr. 37) lze potvrdit, že rozpouštědlové žihání je pro tvorbu β -fáze efektivnější.

Tab. 6 Vypočtené hodnoty procentuálního zastoupení β -fáze ve vzorku pro jednotlivá rozpouštědla

rozpouštědlo	$\phi F (\beta)$ [%]
čistý PVDF	$(62,1 \pm 0,3)$
DMSO	$(62,76 \pm 0,11)$
DMF	$(62,93 \pm 0,19)$
Ac	$(61,3 \pm 0,7)$

Obr. 37 Graf znázorňující zastoupení β -fáze ve vzorku při použití rozdílných rozpouštědlech

ZÁVĚR

V rámci experimentální části této diplomové práce byly optimalizovány podmínky 3D tisku a elektrospiningu pro přípravu struktur z roztoků elektroaktivního syntetického terpolymeru poly(vinylidenfluorid-trifluoroethylenu-chlorotrifluoroethylenu). Z tohoto polymeru byly připravovány tiskové a elektrospínovací roztoky ze směsi polymeru a dobrého rozpouštědla (dimethylsulfoxid, N-N-dimethylformamid). Připravené roztoky byly tisknuty do lázně špatného rozpouštědla (voda, methanol, ethanol a isopropylalkohol) do tvaru vícevrstevných mřížek, které byly poté charakterizovány pomocí skenovacího elektronového mikroskopu, infračervené spektroskopie a konfokální mikroskopie.

Prvním krokem při 3D tisku byla optimalizace koncentrace polymeru v rozpouštědle, která ovlivňuje tvar a strukturu výtisku. Bylo zjištěno, že v případě použití dimethylsulfoxidu jako dobrého rozpouštědla, vzniká ve všech případech testovaných koncentrací porézní struktura. Homogenita, počet a velikost pórů je pak ovlivněna koncentrací polymeru v roztoku. Nevýhodou však je roztékání výtisků. Tento problém byl odstraněn zavedením tisku roztoku na vodou vlhčený podklad, čímž docházelo k okamžitému srážení polymeru při tisku a bylo možné tisknout vícevrstvé 3D objekty, které by již byly použitelné jako scaffoldy v tkáňovém inženýrství. Při tisku roztoku polymeru s NN-dimethylformamidem docházelo k roztékání výtisků, které nevykazovaly žádnou povrchovou strukturu, což bylo částečně eliminováno tiskem na vodou vlhčený podklad.

Ideální pro tisk scaffoldu se ukázal tisk roztoku polymeru s dimethylsulfoxidem v poměru 1:3 na vodou vlhčený podklad. Tento vzorek byl následně testován s ohledem na buněčné interakce myších embryonálních fibroblastů, kde bylo prokázáno, že materiál není cytotoxický a dochází k protahování buněčného cytoskeletu, což je u fibroblastů pozitivní zjištění.

U elektrospiningu byla zkoumána ideální koncentrace polymeru ve směsi rozpouštědel NN-dimethylformamidu a acetonu pro tvorbu vláken, která byla stanovena na 15 %. Různé rychlosti otáčení kolektoru pak ovlivňovaly orientaci vláken ve směru otáčení, kdy se zvyšující se rychlostí otáčení docházelo k směrové orientaci spinovaných vláken. Tato orientace má potenciál pro další studium buněčného chování.

Pro zvýšení zastoupení β -fáze v tištěných vzorcích polymeru bylo provedeno žíhání indukované teplem nebo rozpouštědly polymeru s použitím rozpouštědel DMSO a DMF.

Podíl β -fáze byl stanoven pomocí infračervené spektroskopie. Bylo zjištěno, že žíhání indukované rozpouštědlem je efektivnější než tepelné.

Tato práce přináší nové poznatky v oblastech 3D tisku a elektrospiningu elektroaktivního syntetického terpolymeru PVDF. Zásadní zjištění zahrnují využití špatného rozpouštědla pro přípravu stabilních vícevrstevných struktur a možnost vytvářet orientovaná vlákna s potenciálem pro aplikace v tkáňovém inženýrství. Budoucí experimenty budou zaměřeny na studium buněčné proliferace na těchto strukturách a využití jejich piezoelektrických vlastností pro regenerativní medicínu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BAR-COHEN YOSEPH. *Electroactive Polymer (EAP) Actuators as Artificial Muscles - Reality, Potential and Challenges*, [online]. Second edition. B.m.: Spie Press, 2004 [vid. 2021-11-14]. ISBN 0-8194-5297-1. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=uxqgkdqE9FIC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- [2] WANG, Tiesheng, Meisam FARAJOLLAHI, Yeon Sik CHOI, I. Ting LIN, Jean E. MARSHALL, Noel M. THOMPSON, Sohini KAR-NARAYAN, John D.W. MADDEN a Stoyan K. SMOUKOV. *Electroactive polymers for sensing*. B.m.: Royal Society of London. 6. srpen 2016. ISSN 20428901. Doi:10.1098/rsfs.2016.0026
- [3] KHUYEN, Nguyen Quang, Rudolf KIEFER, Fred ELHI, Gholamreza ANBARJAFARI, Jose G. MARTINEZ a Tarmo TAMM. A biomimetic approach to increasing soft actuator performance by friction reduction. *Polymers*. 2020, **12**(5). ISSN 20734360. Doi:10.3390/POLYM12051120
- [4] PALZA, Humberto, Paula Andrea ZAPATA a Carolina ANGULO-PINEDA. *Electroactive smart polymers for biomedical applications*. B.m.: MDPI AG. 16. leden 2019. ISSN 19961944. Doi:10.3390/ma12020277
- [5] BAR-COHEN, Yoseph. *Artificial Muscles using Electroactive Polymers (EAP) Artificial Muscles using Electroactive Polymers (EAP): Capabilities, Challenges and Potential* [online]. 2005. Dostupné z: <http://eap.jpl.nasa.gov>].
- [6] CURIE, Jacques a Pierre CURIE. Développement par compression de l'électricité polaire dans les cristaux hémihédres à faces inclinées. *Bulletin de la Société minéralogique de France*. 1880, **3**(4), 90–93. ISSN 0150-9640. Doi:10.3406/bulmi.1880.1564
- [7] RÖNTGEN, W.C. Ueber die durch Electricität bewirkten Form- und Volumenänderungen von dielectricischen Körpern. *Annalen der physik*. 1880, **247**(13). Doi:10.1002/andp.18802471304
- [8] SACERDOTE, P. Déformations électriques des diélectriques solides isotropes. *J. Phys. Theor. Appl.* 1899, **8**(1). Doi:10.1051/jphystap:018990080045700i
- [9] EGUCHI, Mototarô. XX. On the permanent electret. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*. 1925, **49**(289), 178–192. ISSN 1941-5982. Doi:10.1080/14786442508634594
- [10] KAWAI, Heiji. The Piezoelectricity of Poly(vinylidene Fluoride). *The Japan Society of Applied Physics*. 1969, **8**, 975–976.
- [11] TAMURA, Masahiko, Kiyohide OGASAWARA, Nobuyuki ONO a Sumio HAGIWARA. Piezoelectricity in uniaxially stretched poly(vinylidene fluoride). *Journal of Applied Physics*. 1974, **45**(9), 3768–3771. ISSN 00218979. Doi:10.1063/1.1663857
- [12] BERGMAN, J. G., J. H. MCFEE a G. R. CRANE. Pyroelectricity and optical second harmonic generation in polyvinylidene fluoride films. *Applied Physics Letters*. 1971, **18**(5), 203–205. ISSN 00036951. Doi:10.1063/1.1653624
- [13] YAMADA, Takeshi, Toshinobu UEDA a Toyoki KITAYAMA. Ferroelectric-to-paraelectric phase transition of vinylidene fluoride-trifluoroethylene copolymer. *Journal of Applied Physics*. 1981, **52**(2), 948–952. ISSN 00218979. Doi:10.1063/1.328783
- [14] OSHIKI, Mitsumasa a Eiichi FUKADA. *Inverse piezoelectric effect and electrostrictive effect in polarized poly(vinylidene fluoride) films*. nedatováno.

- [15] FURUKAWA, Takeo. Ferroelectric properties of vinylidene fluoride copolymers. *Phase Transitions*. 1989, **18**(3–4), 143–211. ISSN 10290338. Doi:10.1080/01411598908206863
- [16] INAMUDDIN, Mohd Imran AHAMED, Rajender BODDULA a Adil A. GOBOURI. *Electroactive Polymeric Materials*. first. New York: CRC Press, 2022. ISBN 9781003173502. Doi:10.1201/9781003173502
- [17] RAHMAN, Md Hafizur, Harmony WERTH, Alexander GOLDMAN, Yuki HIDA, Court DIESNER, Logan LANE a Pradeep L. MENEZES. Recent Progress on Electroactive Polymers: Synthesis, Properties and Applications. *Ceramics*. 2021, **4**(3), 516–541. Doi:10.3390/ceramics4030038
- [18] SHANKAR, Ravi, Tushar K. GHOSH a Richard J. SPONTAK. Mechanical and actuation behavior of electroactive nanostructured polymers. *Sensors and Actuators, A: Physical*. 2009, **151**(1), 46–52. ISSN 09244247. Doi:10.1016/j.sna.2009.01.002
- [19] BAR-COHEN1, Yoseph, Stewart SHERRIT1 a Shyh-Shiuh LIH'. *Characterization of the Electromechanical Properties of EAP materials* [online]. 2001. Dostupné z: <http://ndea.jpl.nasa.gov>
- [20] DONG, Yuqing, Ka Wai YEUNG, Chak Yin TANG, Wing Cheung LAW, Gary Chi Pong TSUI a Xiaolin XIE. *Development of ionic liquid-based electroactive polymer composites using nanotechnology*. B.m.: De Gruyter Open Ltd. 1. leden 2021. ISSN 21919097. Doi:10.1515/ntrev-2021-0009
- [21] BROCHU, Paul a Qibing PEI. *Advances in dielectric elastomers for actuators and artificial muscles*. 4. leden 2010. ISSN 10221336. Doi:10.1002/marc.200900425
- [22] KHAN, Muhammad, Tiehu LI, Asif HAYAT, Amir ZADA, Tariq ALI, Ikram UDDIN, Ashiq HAYAT, Majid KHAN, Azeem ULLAH, Amjad HUSSAIN a Tingkai ZHAO. *A concise review on the elastomeric behavior of electroactive polymer materials*. B.m.: John Wiley and Sons Ltd. 1. srpen 2021. ISSN 1099114X. Doi:10.1002/er.6747
- [23] IJIMA, S. Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature*. 1991, **354**, 56–58. Doi:10.1038/354056a0
- [24] HARIK, Vasyl. Chapter 1 - Nanotechnology of Carbon Nanotubes: Sensors, Transistors and Nanocomposites. In: *Mechanics of Carbon Nanotubes*. B.m.: Academic press, 2018, s. 1–24. Doi:10.1016/B978-0-12-811071-3.00001-9
- [25] HAYAT, Asif, Fazal RAZIQ, Muhammad KHAN, Javid KHAN, Sunil Kumar Baburao MANE, Akhlaq AHMAD, Mati Ur RAHMAN a Wasim Ullah KHAN. Fusion of conjugated bicyclic co-polymer within polymeric carbon nitride for high photocatalytic performance. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2019, **554**, 627–639. ISSN 10957103. Doi: 10.1016/j.jcis.2019.07.048
- [26] MICHEL, Silvain, Xuequn Q. ZHANG, Michael WISSLER, Christiane LÖWE a Gabor KOVACS. A comparison between silicone and acrylic elastomers as dielectric materials in electroactive polymer actuators. *Polymer International*. 2010, **59**(3), 391–399. ISSN 09598103. Doi:10.1002/pi.2751
- [27] MADDEN, John D.W., Nathan A. VANDESTEEG, Patrick A. ANQUETIL, Peter G.A. MADDEN, Arash TAKSHI, Rachel Z. PYTEL, Serge R. LAFONTAINE, Paul A. WIERINGA a Ian W. HUNTER. Artificial muscle technology: Physical principles and naval prospects. *IEEE Journal of Oceanic Engineering*. 2004, **29**(3), 706–728. ISSN 03649059. Doi:10.1109/JOE.2004.833135
- [28] AKBARI, S. a H. R. SHEA. Microfabrication and characterization of an array of dielectric elastomer actuators generating uniaxial strain to stretch individual cells. *Journal of Micromechanics and Microengineering*. 2012, **22**(4). ISSN 13616439. Doi:10.1088/0960-1317/22/4/045020

- [29] TRUJILLO, R., J. MOU, P. E. PHELAN a D. S. CHAU. Investigation of electrostrictive polymers as actuators for mesoscale devices. *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*. 2004, **23**(3–4), 176–182. ISSN 02683768. Doi:10.1007/s00170-003-1580-7
- [30] ABBAD, Ahmed, Kanty RABENOROSOA, Morvan OUISSE a Nouredine ATALLA. Adaptive Helmholtz resonator based on electroactive polymers: Modeling, characterization, and control. *Smart Materials and Structures*. 2018, **27**(10). ISSN 1361665X. Doi:10.1088/1361-665X/aad939
- [31] ZARRABI A., HITCHCOCK R. N. a BIGGS S. J. Audio devices having electroactive polymer actuator. 2012.
- [32] KIM, J. K. a S. TADOKORO. *Electroactive Polymers for Robotic Applications* [online]. London: Springer, 2007 [vid. 2023-11-19]. ISBN 978-1-84628-371-0. Dostupné z: http://rs1.sze.hu/~molnarka/EAP_ANYAGOK/Springer%20-%20Electroactive%20Polymers%20for%20Robotic%20Applications%20-%20Artificial%20Muscles.pdf
- [33] LU, Lijun, Wenqing DING, Jingquan LIU a Bin YANG. *Flexible PVDF based piezoelectric nanogenerators*. B.m.: Elsevier Ltd. 1. prosinec 2020. ISSN 22112855. Doi:10.1016/j.nanoen.2020.105251
- [34] COSTA, Carlos M., Vanessa F. CARDOSO, Pedro MARTINS, Daniela M. CORREIA, Renato GONÇALVES, Pedro COSTA, Vitor CORREIA, Clarisse RIBEIRO, Margarida M. FERNANDES, Pedro M. MARTINS a Senentxu LANCEROS-MÉNDEZ. *Smart and Multifunctional Materials Based on Electroactive Poly(vinylidene fluoride): Recent Advances and Opportunities in Sensors, Actuators, Energy, Environmental, and Biomedical Applications*. B.m.: American Chemical Society. 11. říjen 2023. ISSN 15206890. Doi:10.1021/acs.chemrev.3c00196
- [35] MARTINS, P., A. C. LOPES a S. LANCEROS-MÉNDEZ. *Electroactive phases of poly(vinylidene fluoride): Determination, processing and applications*. B.m.: Elsevier Ltd. 2014. ISSN 00796700. Doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.07.006
- [36] KNOTT, Matthew C., Ashton W. CRAIG, Rahul SHANKAR, Sarah E. MORGAN, Scott T. IACONO, Joseph E. MATES a Jena M. MCCOLLUM. Balancing processing ease with combustion performance in aluminum/PVDF energetic filaments. *Journal of Materials Research*. 2021, **36**(1), 203–210. ISSN 20445326. Doi:10.1557/s43578-020-00063-8
- [37] RIBEIRO, Clarisse, Carlos M. COSTA, Daniela M. CORREIA, João NUNES-PEREIRA, Juliana OLIVEIRA, Pedro MARTINS, Renato GONÇALVES, Vanessa F. CARDOSO a Senentxu LANCEROS-MÉNDEZ. Electroactive poly(vinylidene fluoride)-based structures for advanced applications. *Nature Protocols*. 2018, **13**(4), 681–704. ISSN 17502799. Doi:10.1038/nprot.2017.157
- [38] SAHA, Shubhanwita, V YAUVANA, Sandip CHAKRABORTY a Dipayan SANYAL. *Synthesis and Characterization of Polyvinylidene-fluoride (PVDF) Nanofiber for Application as Piezoelectric Force Sensor*. 2019. Dostupné z: www.sciencedirect.com/www.materialstoday.com/proceedings
- [39] HOLLINSKY, C. 7.40 Biomaterials for hernia repair. In: *Comprehensive Biomaterials II*. B.m.: Elsevier, 2017, s. 777–792. ISBN 9780081006924. Doi:10.1016/B978-0-08-100691-7.00037-9
- [40] MOHAMMADPOURFAZELI, Soha, Shabnam ARASH, Afshin ANSARI, Shengyuan YANG, Kaushik MALLICK a Roohollah BAGHERZADEH. *Future prospects and recent developments of polyvinylidene fluoride (PVDF) piezoelectric polymer; fabrication methods, structure, and electro-mechanical properties*. B.m.:

- Royal Society of Chemistry. 9. leden 2023. ISSN 20462069. Doi:10.1039/d2ra06774a
- [41] DALLAEV, Rashid, Tatiana PISARENKO, Dinara SOBOLA, Farid ORUDZHEV, Shikhgasan RAMAZANOV a Tomáš TRČKA. *Brief Review of PVDF Properties and Applications Potential*. B.m.: MDPI. 1. listopad 2022. ISSN 20734360. Doi:10.3390/polym14224793
- [42] KANG, Guo dong a Yi ming CAO. *Application and modification of poly(vinylidene fluoride) (PVDF) membranes - A review*. B.m.: Elsevier. 1. srpen 2014. ISSN 18733123. Doi:10.1016/j.memsci.2014.03.055
- [43] ZUO, Jian, Tai Shung CHUNG, Gregory S. O'BRIEN a Walter KOSAR. Hydrophobic/hydrophilic PVDF/Ultem® dual-layer hollow fiber membranes with enhanced mechanical properties for vacuum membrane distillation. *Journal of Membrane Science*. 2017, **523**, 103–110. ISSN 18733123. Doi:10.1016/j.memsci.2016.09.030
- [44] KHAYET, M. a T. MATSUURA. Preparation and characterization of polyvinylidene fluoride membranes for membrane distillation. *Industrial and Engineering Chemistry Research* [online]. 2001, **40**(24), 5710–5718. ISSN 08885885. Doi:10.1021/ie010553y
- [45] MOKHTARI, Fatemeh, Bahareh AZIMI, Maryam SALEHI, Samaneh HASHEMIKIA a Serena DANTI. *Recent advances of polymer-based piezoelectric composites for biomedical applications*. B.m.: Elsevier Ltd. 1. říjen 2021. ISSN 18780180. Doi:10.1016/j.jmbbm.2021.104669
- [46] GHAFARI, Ehsan a Na LU. Self-polarized electrospun polyvinylidene fluoride (PVDF) nanofiber for sensing applications. *Composites Part B: Engineering*. 2019, **160**, 1–9. ISSN 13598368. Doi:10.1016/j.compositesb.2018.10.011
- [47] SAMADI, Ali, Mohammad Amin SALATI, Amin SAFARI, Maryam JOUYANDEH, Mahmood BARANI, Narendra Pal SINGH CHAUHAN, Elias Ghaleh GOLAB, Payam ZARRINTAJ, Saptarshi KAR, Farzad SEIDI, Aleksander HEJNA a Mohammad Reza SAEB. *Comparative review of piezoelectric biomaterials approach for bone tissue engineering*. B.m.: Taylor and Francis Ltd. 2022. ISSN 15685624. Doi:10.1080/09205063.2022.2065409
- [48] ZHANG, Xin, Yang SHEN, Zhonghui SHEN, Jianyong JIANG, Longqing CHEN a Ce Wen NAN. Achieving High Energy Density in PVDF-Based Polymer Blends: Suppression of Early Polarization Saturation and Enhancement of Breakdown Strength. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2016, **8**(40), 27236–27242. ISSN 19448252. Doi:10.1021/acsami.6b10016
- [49] YAGI, Toshiharu, Masayoshi TATEMOTO a Jun-Ichi SAKO. *Transition Behavior and Dielectric Properties in Trifluoroethylene and Vinylidene Fluoride Copolymers*. 1980.
- [50] LAM, Tu Ngoc, Chia Yin MA, Po Han HSIAO, Wen Ching KO, Yi Jen HUANG, Soo Yeol LEE, Jayant JAIN a E. Wen HUANG. Tunable mechanical and electrical properties of coaxial electrospun composite nanofibers of P(VDF-TRFE) and P(VDF-TRFE-CTFE). *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**(9). ISSN 14220067. Doi:10.3390/ijms22094639
- [51] GUAN, Fangxiao, Jilin PAN, Jing WANG, Qing WANG a Lei ZHU. Crystal orientation effect on electric energy storage in Poly(vinylidene fluoride-co-hexafluoropropylene) copolymers. *Macromolecules*. 2010, **43**(1), 384–392. ISSN 00249297. Doi:10.1021/ma901921h
- [52] CHO, Yuljae, Docheon AHN, Jong Bae PARK, Sangyeon PAK, Sanghyo LEE, Byoung Ok JUN, John HONG, Su Yong LEE, Jae Eun JANG, Jinpyo HONG,

- Stephen M. MORRIS, Jung Inn SOHN, Seung Nam CHA a Jong Min KIM. Enhanced Ferroelectric Property of P(VDF-TrFE-CTFE) Film Using Room-Temperature Crystallization for High-Performance Ferroelectric Device Applications. *Advanced Electronic Materials*. 2016, **2**(10). ISSN 2199160X. Doi:10.1002/aelm.201600225
- [53] YANG, Lianyun, Xinyu LI, Elshad ALLAHYAROV, Philip L. TAYLOR, Q. M. ZHANG a Lei ZHU. *Novel polymer ferroelectric behavior via crystal isomorphism and the nanoconfinement effect*. B.m.: Elsevier Ltd. 22. březen 2013. ISSN 00323861. Doi:10.1016/j.polymer.2013.01.035
- [54] BUCKLEY, G. S., C. M. ROLAND, R. CASALINI, A. PETCHSUK a T. C. CHUNG. Electrostrictive properties of poly(vinylidene fluoride-trifluoroethylene-chlorotrifluoroethylene). *Chemistry of Materials*. 2002, **14**(6), 2590–2593. ISSN 08974756. Doi:10.1021/cm0116471
- [55] YANG, Lianyun, Xinyu LI, Elshad ALLAHYAROV, Philip L. TAYLOR, Q. M. ZHANG a Lei ZHU. *Novel polymer ferroelectric behavior via crystal isomorphism and the nanoconfinement effect*. B.m.: Elsevier Ltd. 22. březen 2013. ISSN 00323861. Doi:10.1016/j.polymer.2013.01.035
- [56] LIU, Qing, Claude RICHARD a Jean Fabien CAPSAL. Control of crystal morphology and its effect on electromechanical performances of electrostrictive P(VDF-TrFE-CTFE) terpolymer. *European Polymer Journal*. 2017, **91**, 46–60. ISSN 00143057. Doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.03.046
- [57] CHO, Yuljae, Docheon AHN, Jong Bae PARK, Sangyeon PAK, Sanghyo LEE, Byoung Ok JUN, John HONG, Su Yong LEE, Jae Eun JANG, Jinpyo HONG, Stephen M. MORRIS, Jung Inn SOHN, Seung Nam CHA a Jong Min KIM. Enhanced Ferroelectric Property of P(VDF-TrFE-CTFE) Film Using Room-Temperature Crystallization for High-Performance Ferroelectric Device Applications. *Advanced Electronic Materials*. 2016, **2**(10). ISSN 2199160X. Doi:10.1002/aelm.201600225
- [58] ZHANG, Zhicheng a T. C. Mike CHUNG. Study of VDF/TrFE/CTFE Terpolymers for High Pulsed Capacitor with High Energy Density and Low Energy Loss. *Macromolecules*. 2007, **40**(4), 783–785. ISSN 0024-9297. Doi:10.1021/ma0627119
- [59] TECHNISCHE UNIVERSITEIT DELFT a INSTITUTE OF ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERS. *ICCMA 2019: 2019 IEEE 7th International Conference on Control, Mechatronics and Automation: November 6-8, 2019, TU Delft, Netherlands*. nedatováno. ISBN 9781728137872.
- [60] DELLA SCHIAVA, Nellie, Francesco PEDROLI, Kritsadi THETPRAPHI, Annalisa FLOCCINI, Minh Quyen LE, Patrick LERMUSIAUX, Jean Fabien CAPSAL a Pierre Jean COTTINET. Effect of beta-based sterilization on P(VDF-TrFE-CFE) terpolymer for medical applications. *Scientific Reports*. 2020, **10**(1). ISSN 20452322. Doi:10.1038/s41598-020-65893-2
- [61] GAO, Wei, Yunbo ZHANG, Devarajan RAMANUJAN, Karthik RAMANI, Yong CHEN, Christopher B. WILLIAMS, Charlie C.L. WANG, Yung C. SHIN, Song ZHANG a Pablo D. ZAVATTIERI. The status, challenges, and future of additive manufacturing in engineering. *CAD Computer Aided Design*. 2015, **69**, 65–89. ISSN 00104485. Doi:10.1016/j.cad.2015.04.001
- [62] NGO, Tuan D., Alireza KASHANI, Gabriele IMBALZANO, Kate T.Q. NGUYEN a David HUI. *Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges*. B.m.: Elsevier Ltd. 15. červen 2018. ISSN 13598368. Doi:10.1016/j.compositesb.2018.02.012
- [63] HULL, Charles W. The birth of 3D printing. *Research Technology Management* [online]. 2015, **58**(6), 25–29. ISSN 19300166. Doi:10.5437/08956308X5806067

- [64] KHALIFA UNIVERSITY a INSTITUTE OF ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERS. *Proceedings of 2016 IEEE Global Engineering Education Conference (EDUCON): date and venue: 10-13 April 2016, Abu Dhabi, UAE*. nedatováno. ISBN 9781467386333.
- [65] PRŮŠA, Josef. *Základy 3D Tisku*. První. Praha: Prusa Research a.s., 2019.
- [66] *3D Printing Industry*. [vid. 2024-01-29]. Dostupné z: <https://3dprintingindustry.com/3d-printing-basics-free-beginners-guide#04-processes>
- [67] JACOBS, Paul Francis. *Rapid Prototyping & Manufacturing: Fundamentals of Stereolithography*. B.m.: Society of Manufacturing Engineers, 1992. ISBN 978-0-87263-425-1.
- [68] MANI, Mohan Prasath, Madeeha SADIA, Saravana Kumar JAGANATHAN, Ahmad Zahran KHUDZARI, Eko SUPRIYANTO, Syafiqah SAIDIN, Seeram RAMAKRISHNA, Ahmad Fauzi ISMAIL a Ahmad Athif Mohd FAUDZI. A review on 3D printing in tissue engineering applications. *Journal of Polymer Engineering*. 2022, **42**(3), 243–265. ISSN 03346447. Doi:10.1515/polyeng-2021-0059
- [69] CHOUDARY, Rohit, Neha SAINI, Dimple Sethi CHOPRA, Dhandeep SINGH a Nirmal SINGH. *A comprehensive review of 3D bioprinting biomaterials: Properties, strategies and wound healing application*. B.m.: Springer Nature. 14. červenec 2023. ISSN 20445326. Doi:10.1557/s43578-023-01078-7
- [70] LOH, Qiu Li a Cleo CHOONG. Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2013, **19**(6), 485–502. ISSN 1937-3368. Doi:10.1089/ten.teb.2012.0437
- [71] VAN DE WITTE, P., P.J. DIJKSTRA, J.W.A. VAN DEN BERG a J. FEIJEN. Phase separation processes in polymer solutions in relation to membrane formation. *Journal of Membrane Science*. 1996, **117**(1–2), 1–31. ISSN 03767388. Doi:10.1016/0376-7388(96)00088-9
- [72] BOTTINO, A, G CAMERA-RODAB, G CAPANNELLI a S MUNARI. The formation of microporous polyvinylidene difluoride membranes by phase separation. *Journal of Membrane Science*,. 1991, **57**(1). Doi:10.1016/S0376-7388(00)81159-X
- [73] ZHANG, Mei, Ai Qing ZHANG, Bao Ku ZHU, Chun Hui DU a You Yi XU. Polymorphism in porous poly(vinylidene fluoride) membranes formed via immersion precipitation process. *Journal of Membrane Science*. 2008, **319**(1–2), 169–175. ISSN 03767388. Doi:10.1016/j.memsci.2008.03.029
- [74] LIN, Dar-Jong, Cheng-Liang CHANG, Tzung-Chin CHEN a Liao-Ping CHENG. Microporous PVDF membrane formation by immersion precipitation from water/TEP/PVDF system. *Desalination*. 2002, **145**(1–3), 25–29. ISSN 00119164. Doi:10.1016/S0011-9164(02)00340-5
- [75] RŮŽIČKOVÁ, Jana. *Elektrostatické zvláknování nanovláken*. 2. vydání. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2006. ISBN 80-7372-066-3.
- [76] RAMAKRISHNA, Seeram. *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*. B.m.: World Scientific, 2005 [vid. 2022-03-10]. ISBN 981-256-415-2. Dostupné z: https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=1MBgDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=electrospinning&ots=U2fT527yxc&sig=CMg_VJO1JspFOtD3W2M-wjHNBfK&redir_esc=y#v=onepage&q=electrospinning&f=false
- [77] WENDORFF, Joachim H., Seema AGARWAL a Andreas GREINER. *Electrospinning: materials, processing, and applications*. Weinheim: John Wiley & Sons, 2021. ISBN 9783527320806.
- [78] HUANG, Zheng Ming, Y. Z. ZHANG, M. KOTAKI a S. RAMAKRISHNA. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in

- nanocomposites. *Composites Science and Technology*. 2003, **63**(15), 2223–2253. ISSN 02663538. Doi:10.1016/S0266-3538(03)00178-7
- [79] LI, Dan a Younan XIA. *Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel?*. 19. červenec 2004. ISSN 09359648. Doi:10.1002/adma.200400719
- [80] GUO, Yajin, Xinyu WANG, Ying SHEN, Kuo DONG, Linyi SHEN a Asmaa Ahmed Abdullah ALZALAB. Research progress, models and simulation of electrospinning technology: a review. *Journal of Materials Science*. 2022, **57**(1), 58–104. ISSN 0022-2461. Doi:10.1007/s10853-021-06575-w
- [81] RICHARDS, Dylan Jack, Yu TAN, Jia JIA, Hai YAO a Ying MEI. *3D printing for tissue engineering*. 2013. ISSN 00212148. Doi:10.1002/ijch.201300086
- [82] PAHLEVANZADEH, Farnoosh, Hamidreza MOKHTARI, Hamid Reza BAKHSHESHI-RAD, Rahmatollah EMADI, Mahshid KHARAZIHA, Ali VALIANI, S. Ali POURSAMAR, Ahmad Fauzi ISMAIL, Seeram RAMAKRISHNA a Filippo BERTO. Recent trends in three-dimensional bioinks based on alginate for biomedical applications. *Materials*. 2020, **13**(18). ISSN 19961944. Doi:10.3390/ma13183980
- [83] LIU, Haifeng, Xili DING, Gang ZHOU, Ping LI, Xing WEI a Yubo FAN. *Electrospinning of nanofibers for tissue engineering applications*. 2013. ISSN 16874110. Doi:10.1155/2013/495708
- [84] SYSOP. Elektromagnetické zařízení. *Multimediaexpo.cz*. 2020 [vid. 2023-12-15]. Dostupné z: http://www.multimediaexpo.cz/mmecz/index.php/Elektromagnetické_záření
- [85] VERNON-PARRY, K D. Scanning Electron Microscopy: an introduction. *Elsevier Science*. 2000, **13**, 40–44.
- [86] OMIDI, Meisam, Atena FATEHINYA, Masomeh FARAHANI, Zahra AKBARI, Saleheh SHAHMORADI, Fatemeh YAZDIAN, Mohammadreza TAHRIRI, Keyvan MOHARAMZADEH, Lobat TAYEBI a Daryoosh VASHAEE. Characterization of biomaterials. In: *Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering*. B.m.: Elsevier, 2017, s. 97–115. ISBN 9780081009611. Doi:10.1016/B978-0-08-100961-1.00007-4
- [87] GOLDSTEIN, Joseph. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Third Edition. B.m.: Springer Science + Business, 2003. ISBN 978-1-4613-4969-3. Doi:10.1007/978-1-4615-0215-9
- [88] ZHOU, Weilie, Robert P APKARIAN, Zhong LIN WANG a David JOY. *Fundamentals of Scanning Electron Microscopy*. nedatováno.
- [89] ERDMAN, Natasha; Bell, David C.; Reichelt, Rudolf. *Springer Handbook of Microscopy Hawkes Spence Editors - Scanning Electron Microscopy*. 2019. Doi:10.1007/978-3-030-00069-1_5
- [90] SALMAN ALI, Ali. Application of Nanomaterials in Environmental Improvement. In: *Nanotechnology and the Environment*. B.m.: IntechOpen, 2020. Doi:10.5772/intechopen.91438
- [91] *Biologie a genetika pro bakaláře*. 2014 [vid. 2022-03-15]. Dostupné z: https://cit.vfu.cz/opvk2014/?title=teorie-svetelne_mikroskopy&lang=cz&goonpage=
- [92] BERTHOMIEU, Catherine a Rainer HIENERWADEL. *Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy*. září 2009. ISSN 01668595. Doi:10.1007/s11120-009-9439-x
- [93] THEOPHANIDES, Theophile. *Introductory Chapter Introduction to Infrared Spectroscopy*. Dostupné z: www.intechopen.com
- [94] KHAN, Shahid Ali, Sher Bahadar KHAN, Latif Ullah KHAN, Aliya FAROOQ, Kalsoom AKHTAR a Abdullah M. ASIRI. Fourier transform infrared spectroscopy:

- Fundamentals and application in functional groups and nanomaterials characterization. In: *Handbook of Materials Characterization*. B.m.: Springer International Publishing, 2018, s. 317–344. ISBN 9783319929552. Doi:10.1007/978-3-319-92955-2_9
- [95] DUTTA, Aastha. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*. B.m.: Elsevier, 2017, s. 73–93. ISBN 9780323461467. Doi:10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2
- [96] MEZZETTI, Alberto a Winfried LEIBL. Time-resolved infrared spectroscopy in the study of photosynthetic systems. *Photosynthesis Research*. 2017, **131**(2), 121–144. ISSN 0166-8595. Doi:10.1007/s11120-016-0305-3
- [97] BIKNER, Nancy a Quin WANG. How an FTIR Spectrometer Operates. *Chemistry, LibreText*. 2020 [vid. 2022-03-30]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/How_an_FTIR_Spectrometer_Operates](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/How_an_FTIR_Spectrometer_Operates)
- [98] PAWLEY, James B., ed. *Handbook of biological confocal microscopy*. Third edition. B.m.: Springer, 2006. ISBN 0-387-25921-X.
- [99] AUTY, M. A.E. Confocal microscopy: Principles and applications to food microstructures. In: *Food Microstructures: Microscopy, Measurement and Modelling*. B.m.: Elsevier Ltd, 2013. ISBN 9780857095251. Doi:10.1533/9780857098894.1.96
- [100] *Confocal Microscopes*. [vid. 2024-04-11]. Dostupné z: <https://imb.uq.edu.au/facilities/microscopy/hardware-software/confocal-microscopes>
- [101] ROBINSON, J Paul. Principles of Confocal I. Brief History of Microscope Development. *METHODS IN CELL BIOLOGY*. 2001, **63**.
- [102] BOFFITO, Monica, Franca DI MEGLIO, Pamela MOZETIC, Sara Maria GIANNITELLI, Irene CARMAGNOLA, Clotilde CASTALDO, Daria NURZYNSKA, Anna Maria SACCO, Rita MIRAGLIA, Stefania MONTAGNANI, Nicoletta VITALE, Mara BRANCACCIO, Guido TARONE, Francesco BASOLI, Alberto RAINER, Marcella TROMBETTA, Gianluca CIARDELLI a Valeria CHIONO. Surface functionalization of polyurethane scaffolds mimicking the myocardial microenvironment to support cardiac primitive cells. *PLOS ONE*. 2018, **13**(7), e0199896. ISSN 1932-6203. Doi:10.1371/journal.pone.0199896
- [103] DASH, Swagatika, R.N.P. CHOUDHARY a M.N. GOSWAMI. Enhanced dielectric and ferroelectric properties of PVDF-BiFeO₃ composites in 0–3 connectivity. *Journal of Alloys and Compounds*. 2017, **715**, 29–36. ISSN 09258388. Doi:10.1016/j.jallcom.2017.04.310
- [104] PATRANABISH, Sourav, Sameer DHAWAN, V. HARIDAS a Aloka SINHA. Designer Peptide-PVDF Composite Films for High-Performance Energy Harvesting. *Macromolecular Rapid Communications*. 2022, **43**(23). ISSN 1022-1336. Doi:10.1002/marc.202200493
- [105] KORYCKA, Paulina, Adam MIREK, Katarzyna KRAMEK-ROMANOWSKA, Marcin GRZECZKOWICZ a Dorota LEWIŃSKA. Effect of electrospinning process variables on the size of polymer fibers and bead-on-string structures established with a 2³ factorial design. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2018, **9**, 2466–2478. ISSN 2190-4286. Doi:10.3762/bjnano.9.231
- [106] REN, Kailiang, Yue SHEN a Zhong Lin WANG. Piezoelectric Properties of Electrospun Polymer Nanofibers and Related Energy Harvesting Applications.

- Macromolecular Materials and Engineering*. 2024, **309**(3). ISSN 1438-7492. Doi:10.1002/mame.202300307
- [107] WU, Liangke, Zhaonan JIN, Yaolu LIU, Huiming NING, Xuyang LIU, ALAMUSI a Ning HU. *Recent advances in the preparation of PVDF-based piezoelectric materials*. B.m.: De Gruyter Open Ltd. 1. leden 2022. ISSN 21919097. Doi:10.1515/ntrev-2022-0082
- [108] KALIMULDINA, Gulnur, Nursultan TURDAKYN, Ingkar ABAY, Alisher MEDEUBAYEV, Arailym NURPEISSOVA, Desmond ADAIR a Zhumabay BAKENOV. *A review of piezoelectric pvdf film by electrospinning and its applications*. B.m.: MDPI AG. 2. září 2020. ISSN 14248220. Doi:10.3390/s20185214

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

μm	mikrometr
EAP	electroactive polymer – elektroaktivní polymery
cm	centimetr
CP	conductive polymers – vodivé polymery
CNT	carbon nanotubes – uhlíkové (karbonové) nanotrubičky
IPG	iontové polymerní gely
LCE	liquid crystal elastomer – elastomery s tekutými krystaly
IPMC	ionic polymer-metal composites – kovo-polymerní kompozity
DE	dielectric elastomer – dielektrické polymery
MV/m	megavolt na metr
V/ μm	volt na mikrometr
T_c	Curieho teplota
PVDF	polyvinylidenfluorid
C	uhlík
H	vodík
F	fluor
TGTG	trans-gauche-trans-gauche
TTT	trans-trans-trans
T_3GT_3G	trans 3-gauche-trans 3-gauche
TIPS	temperature-induced phase separation – teplotně indukovaná separace fází
NIPS	non-solvent-induced phase separation – fázová separace bez rozpouštědel
UV	ultrafialové světlo
MF	mikrofiltrace
UF	ultrafiltrace

PVDF-TrFE-CTFE	poly(vinylidenfluoride-trifluoroethylenu-chlorotrifluoroethylenu)
PVDF-TrFE	poly(vinylidenfluoride-trifluoroethylenu)
CAD	computer aided desing
SLA	stereolitografie
FDM	fusion deposition modeling
SLS	selective laser sintering
SDL	selective deposition laminatice
STL	standard triangle language
m	metr
FM	frekvenční modulace
AM	amplitudová modelace
F	frekvence
λ	vlnová délka
IR	infračervené spektrum
SEM	skenovací elektronový mikroskop
keV	kiloelektronvolt
FTIR	fourier transform infrared spectroscopy – infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
NIR	blízká infračervená oblast
MIR	střední infračervená oblast
FIR	vzdálená infračervená oblast
CLSM	konfokální laserový skenovací mikroskop
LSCM	laserový skenovací konfokální mikroskop
tPVDF	terpolymer polyvinylidenfluoridu
VDF	vinylidenfluorid
DMSO	dimethylsulfoxid

DMF	N-N-dimethylformamid
H ₂ O	voda
Ac	aceton
Metol	methanol
Etol	ethanol
IPA	isopropylalkohol
M	molární hmotnost
g/mol	gram na mol
MΩ . cm ⁻¹	megaohm na centimetr
°C	stupňů Celsia
kPa	kilopascal
ml/hod	mililitr za hodinu
buněk/ml	buněk na mililitr
μg.ml ⁻¹	mikrogram na mililitr
mA	miliampér
kV	kilovolt
ATR	attenuated total reflection – zeslabený úplný odraz
w/v	weight/volume – hmotnost/objem
mm	milimetr
mm/s	milimetr za sekundu
cm	centimetr
v/v	volume/volume – objem/objem
la	lázeň
hod	hodina
ot/min	otáčky za minutu
F(β)	relativní zastoupení β-fáze

A_{β} absorbance β -fáze

A_{α} absorbance α -fáze

ϕ průměr

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Historický vývoj EAP [16].....	12
Obr. 2 Schéma znázorňující rozdělení elektroaktivních materiálů [20].....	13
Obr. 3 Princip iontového EAP aktuátoru [17].....	14
Obr. 4 Typická struktura elektrických polymerů.....	15
Obr. 5 Schéma znázorňující strukturu, výrobu a použití PVDF [33].....	17
Obr. 6 Struktura jednotlivých fází PVDF a jejich konformace [34].....	18
Obr. 7 Schématické znázornění morfologii na bázi PVDF, které byly vyvinuté různými metodami [37].....	19
Obr. 8 Schematické znázornění použití piezoelektrických senzorů pro monitorování zdraví [45].....	22
Obr. 9 Hysterezní smyčka - a,c pro feroelektrické polymery; b,d pro relaxační feroelektrické terpolymery [55].....	23
Obr. 10 Strukturní vzorec PVDF-TrFE-CTFE.....	24
Obr. 11 Schéma znázornění tvorby paraelektrické a feroelektrické fáze při tepelném žhání a rozpouštědlovém žhání [57].....	24
Obr. 12 Jednotlivé typy 3D tisku podle použitého materiálu (zleva FDM, SLA a SLS) [66].....	27
Obr. 13 Schéma procesu biotisku [69].....	28
Obr. 14 Schéma znázorňující princip elektrospiningu [80].....	30
Obr. 15 Využití 3D biotisku v tkáňovém inženýrství [69, 82].....	31
Obr. 16 Spektrum elektromagnetického záření [84].....	33
Obr. 17 Schématické znázornění SEM [90].....	34
Obr. 18 Schéma popisující princip FTIR [96].....	35
Obr. 19 Schématické znázornění principu konfokálního mikroskopu [100].....	37
Obr. 20 Elektrospiner s rotačním kolektorem.....	40
Obr. 21 Navržený 3D model pro tisk.....	43
Obr. 22 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMSO při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada).	44
Obr. 23 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMF při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada)... ..	45
Obr. 24 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMSO na vodou vlhčený podklad při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada).	46
Obr. 25 Vícevrstvá mřížka tištěná pomocí optimalizovaného tisku roztoku tPVDF:DMSO (1:3) na vodou vlhčený podklad. Vrchní řada – scaffold se čtyřmi vrstvami. Spodní řada – scaffold s osmi vrstvami vláken. Snímky pořízeny pomocí digitálního mikroskopu a SEM.	47

Obr. 26 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMF na vodou vlhčený podklad při rozdílných koncentracích: A) 1:2; B) 1:3; C) 1:4 pořízené pomocí digitálního mikroskopu (horní řada) a SEM (spodní řada).	48
Obr. 27 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMSO (1:3, w/v) tištěné do různých lázních (methanol: H ₂ O – 22:1 v/v; ethanol; IPA). Vzorky A-C byly tištěny do lázni špatného rozpouštědla. Vzorky D-F byly po tisku do špatného rozpouštědla vloženy na 19 hodin do vody.	50
Obr. 28 Snímky vytištěných struktur tPVDF:DMF (1:3, w/v) tištěné do různých lázních (methanol: H ₂ O – 22:1 v/v; ethanol; IPA). Vzorky A-C byly tištěny do lázni špatného rozpouštědla. Vzorky D-F byly po tisku do špatného rozpouštědla vloženy na 19 hodin do vody.	52
Obr. 29 Vybraná mřížka pro proliferaci připravená 3D tiskem z roztoku tPVDF:DMSO (1:3 w/v). Snímky pořízeny pomocí digitálního mikroskopu a SEM.	53
Obr. 30 Snímky proliferace buněk získaných z konfokálního mikroskopu. A) zobrazení značených jader buněk, B) zobrazení označených buněčných skitoskeletů, C) zobrazení v procházejícím světle, D) složený obraz.	54
Obr. 31 Snímky proliferace buněk pořízené pomocí konfokálního mikroskopu A) zvětšení 4x, B) zvětšení 10x, C) zvětšení 40x	54
Obr. 32 Snímky spinovaných vláken tPVDF:DMSO při různých koncentracích (Sloupce – zleva 5%, 15%, 25%) a při různých vzdálenostech (řádky – shora 5, 6, 7 cm). Snímky pořízeny pomocí SEM.	56
Obr. 33 Naspínané vlákna 15% roztoku PIEZO RT: (DMF:Aceton – 6:4) při rozdílných rychlostech otáček, A – 60 RPM; B – 1000 RPM a C – 2000 RPM.	57
Obr. 34 Naspínané vlákna 15% roztoku PIEZO RT: (DMF:Ac – 6:4) při rozdílných rychlostech otáček, A – 60 RPM; B – 1000 RPM a C – 2000 RPM. Snímky pořízené SEM.	58
Obr. 35 Spektrum čistého polymeru tPVDF	59
Obr. 36 Graf závislosti zastoupení β -fáze na době žíhání	60
Obr. 37 Graf znázorňující zastoupení β -fáze ve vzorku při použití rozdílných rozpouštědlech	61

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Výhody a nevýhody iontových a elektrických polymerů [5]	16
Tab. 2 Tabulka využití PVDF v různých průmyslových odvětví [41]	20
Tab. 3 Hodnoty použitých napětí pro jednotlivé koncentrace a vzdálenosti	55
Tab. 4 Tabulka označení snímků SEM.....	55
Tab. 5 Vypočtené hodnoty procentuálního zastoupení β -fáze ve vzorku při různé době žihání vzorku	59
Tab. 6 Vypočtené hodnoty procentuálního zastoupení β -fáze ve vzorku pro jednotlivá rozpouštědla	61

