

**TVORBA POLYKAPROLAKTONOVÝCH
VLÁKENNÝCH STRUKTUR TECHNOLOGIÍ
MELTBLOWN A STUDIUM JEJICH NÁSLEDNÝCH
APLIKACÍ**

Ing. Jakub Erben

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

Název disertační práce: Tvorba polykaprolaktonových vlákných struktur technologií meltblown a studium jejich následných aplikací

Autor: Ing. Jakub Erben

Obor doktorského studia: Textilní technika a materiálové inženýrství

Forma studia: Prezenční

Školící pracoviště: Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů

Školitel: doc. Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.

Složení komise pro obhajobu disertační práce:

| | |
|--|--|
| předseda: prof. RNDr. Oldřich Jirsák, CSc. | FT TUL, katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů |
| místopředseda: prof. Ing. Jakub Wiener, Ph.D. | FT TUL, katedra materiálového inženýrství |
| prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D. (oponent) | UTB Zlín, Fakulta technologická |
| doc. Ing. Vladimír Bajzík, Ph.D. | FT TUL, katedra hodnocení textilií |
| doc. Ing. Lukáš Čapek, Ph.D. | FT TUL, katedra technologií a struktur |
| doc. Ing. Zdeněk Horák, Ph.D. (oponent) | VŠP Jihlava, katedra technických studií |
| doc. Mgr. Irena Šlamborová, Ph.D. | FP TUL, katedra chemie |

S disertační prací je možno seznámit se na studijním oddělení doktorského studia Fakulty textilní Technické univerzity v Liberci.

Liberec, 2023

ABSTRAKT

Disertační práce je koncipována jako komentovaný soubor vědeckých publikací členěný do tří vzájemně navazujících částí. Představuje světově první zveřejněný výzkum zabývající se zpracováním samotného biodegradabilního polycaprolaktonu technologií meltblown do podoby mikrovláken tvořících základní složku unikátního vlákenného kompozitu a následným studiem jeho využití ve vybraných aplikacích. První část práce popisuje především výzkum vedoucí ke stanovení optimálních procesních podmínek spolu s jejich vlivem na výsledný vlákenný produkt po stránce strukturální, mechanické i chemické. Další část práce shrnuje možnosti využití polycaprolaktonových vlákenných struktur v regenerativní medicíně jako tkáňových nosičů především pro kostní aplikace. Poslední část se zabývá využitím polycaprolaktonových vlákenných struktur v analytické chemii jako sorbentů pro úpravu vzorků metodou extrakce na tuhé fázi v kapalinových chromatografiích

Klíčová slova: meltblown, polycaprolakton, biodegradabilní polymer, tkáňové inženýrství, analytická chemie

ABSTRACT

The dissertation is designed as an annotated collection of scientific publications divided into three interrelated parts. It represents the world's first published research dealing with the processing of biodegradable polycaprolactone itself by meltblown technology into microfibrils forming the basic component of a unique fibre composite, and the subsequent study of its use in selected applications. The first part describes mainly research leading to the determination of optimal process conditions together with their influence on the resulting fibre product in terms of structural, mechanical and chemical aspects. The next section summarizes the possibilities of using polycaprolactone fibre structures in regenerative medicine as tissue carriers, especially for bone applications. Experiments focus on testing the micro-nanofibrous composite against different fibre structures. The last part deals with the use of polycaprolactone fiber structures in analytical chemistry as sorbents for sample treatment by solid-phase extraction in liquid chromatography.

Keywords: meltblown, polycaprolactone, biodegradable polymer, tissue engineering, analytical chemistry

OBSAH

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | ÚVOD | 5 |
| 2 | CÍL PRÁCE | 6 |
| 3 | PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU PROBLEMATIKY..... | 7 |
| | 3.1 <i>Technologie meltblown</i> | 7 |
| | 3.2 <i>Biodegradabilní polymery.....</i> | 9 |
| | 3.3 <i>Tkáňové inženýrství</i> | 11 |
| | 3.4 <i>Analytická chemie.....</i> | 13 |
| | 3.5 <i>Shrnutí současného stavu a stanovení tezí.....</i> | 15 |
| 4 | DOSAŽENÉ VÝSLEDKY A JEJICH UPLATNĚNÍ | 18 |
| | 4.1 <i>Publikované práce</i> | 18 |
| | 4.2 <i>Studium zpracovatelnosti polykaprolaktonu technologií meltblown</i> | 22 |
| | 4.3 <i>Komentář č. 1</i> | 27 |
| | 4.4 <i>Komentář č. 2</i> | 31 |
| | 4.5 <i>Komentář č. 3</i> | 33 |
| | 4.6 <i>Komentář č. 4</i> | 35 |
| | 4.7 <i>Komentář č. 5</i> | 38 |
| | 4.8 <i>Komentář č. 6</i> | 41 |
| | 4.9 <i>Komentář č. 7</i> | 44 |
| | 4.10 <i>Komentář č. 8.....</i> | 46 |
| | 4.11 <i>Komentář č. 9.....</i> | 49 |
| 5 | ZÁVĚR..... | 51 |
| 6 | PERSPEKTIVY BUDOUCÍHO VÝZKUMU | 53 |
| 7 | SEZNAM VĚDECKÝCH VÝSTUPŮ KANDIDÁTA | 54 |
| 8 | STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA DOSAVADNÍ ODBORNÉ, VÝZKUMNÉ A VĚDECKÉ ČINNOSTI | 59 |
| | SEZNAM LITERATURY | 62 |
| | CURRICULUM VITAE | 64 |
| | VYJÁDŘENÍ ŠKOLITELE | 66 |
| | OPONENTSKÉ POSUDKY | 67 |

1 ÚVOD

V posledních letech rapidně vzrůstá zájem o produkty na bázi biologicky rozložitelných polymerů. Tento trend vyvolává zejména snaha světových vlád o politiku udržitelného rozvoje v kombinaci se snížením negativních vlivů na životní prostředí po stránce hromadění plastového odpadu. Biologicky rozložitelné polymery pocházejí v mnoha případech z obnovitelných zdrojů a mají schopnost se po čase rozpadnout na biologicky šetrné látky. Z těchto důvodů roste trh s biodegradabilními materiály o 15–20 % ročně. Biodegradabilní polymery nejsou pro své unikátní vlastnosti žádané pouze v masové produkci běžných výrobků, ale i pro tvorbu specializovaných produktů s vysokou přidanou hodnotou v biotechnologickém a medicínském sektoru. Masivnější rozšíření biodegradabilních plastů prozatím omezuje často nedostatečný nebo chybějící výzkum možností jejich využití pro různé zpracovatelské technologie a jejich koncové aplikace.

Z celosvětové roční produkce plastových výrobků zaujímají 10% podíl netkané textilie. Jedním z jejich hlavních způsobů výroby je technologie meltblown, která je schopna produkovat z termoplastických polymerů vlákna nejen o mikrometrických, ale i nanometrických průměrech. Struktury tvořené takovými vlákny z biodegradabilních polymerů jsou pro své unikátní strukturní a materiálové vlastnosti velmi perspektivní v mnoha oborech. Nicméně výzkumů zabývajících se zpracováním biodegradabilních polymerů touto technologií je v současnosti omezené množství.

Polymerní nanovlákna mají mimo jiné pro svou porozitu a vysoký měrný povrch vhodné předpoklady pro využití ve tkáňovém inženýrství nebo analytické chemii, protože progrese v těchto oblastech spočívá především ve vývoji a implementaci nových forem materiálových struktur. Ty přinášejí ve formě buněčných nosičů účinnější léčebné postupy v regeneraci tkání nebo jako extrakční sorbenty zvyšují rychlost a přesnost chemických analýz. Avšak nanovlákna konvenčně produkovaná metodou elektrického zvlákňování, která byla v těchto oblastech zejména využívána, přináší celou řadu limitací. Jsou jimi kombinace nedostatečné porozity, objemnosti a mechanické odolnosti, přítomnost zbytkových rozpouštědel a nízká produktivita výroby, která neúměrně zvyšuje výrobní náklady, a tím iracionalizuje případnou komercializaci. Současným trendem v obou oblastech je tak snaha o vývoj a využití vlákenných kompozitů potlačujících zmíněné limitace nanovláken při zachování jejich výhod tak, aby výroba byla zároveň produktivní a cenově přijatelná.

Perspektivní možností vývoje takovýchto kompozitních vlákenných materiálů je využití technologie meltblown v kombinaci s biodegradabilním polymerem ve formě polykaprolaktonu.

2 CÍL PRÁCE

Tato práce má ambici skrze stanovené cíle přispět k vědnímu posunu v oblastech s vysokým celospolečenským dopadem, jakou jsou regenerativní medicína různých tělních tkání, enviromentální chemická analýza nebo produkce nových materiálů umožňující snížování množství nerozložitelného plastového odpadu. Fundamentálními cíli práce tedy jsou studium tvorby biodegradabilních polykaprolaktonových vláknenných struktur technologií meltblown a následný návrh způsobu výroby kompozitního materiálu využívající tato vlákna jako svou základní složku. Dalším cílem je pak využití tohoto kompozitu jako základu pro vývoj tkáňových nosičů i extrakčních sorbentů a studium jejich využití v regeneraci kostní tkáně, respektive v předúpravě vzorků pro kapalinové chromatografie.

Popsané výzkumné fundamenty práce lze rozdělit do dílčích cílů následovně:

- Vypracování teoretické části shrnující základní principy a dosavadní stav poznání v oblastech definujících tematicky tuto práci.
- Na základě poznatků teoretické části definovat teze stanovujících metodický přístup k tvorbě vláknenného kompozitu a vývoji buněčných nosičů / extrakčních sorbentů.
- Studium zpracovatelnosti polykaprolaktonu technologií meltblown, stanovení podmínek zpracovatelnosti a vlastností výsledných vláknenných struktur.
- Experimentální tvorba vláknenného kompozitu obsahujícího vlákna produkovaná technologií meltblown.
- Studium aplikace vláknenného kompozitu ve vývoji buněčného nosiče pro regeneraci kostní tkáně metodou *in situ*.
- Testování *in vitro* a *in vivo* biokompatibility a schopnosti podpory buněčného růstu.
- Studium aplikace vláknenného kompozitu ve vývoji sorbentu pro úpravu vzorků metodou extrakce na tuhé fázi v kapalinových chromatografiích.
- Testování způsobu použití a stanovení extrakční účinnosti pro jednotlivé skupiny analytů.

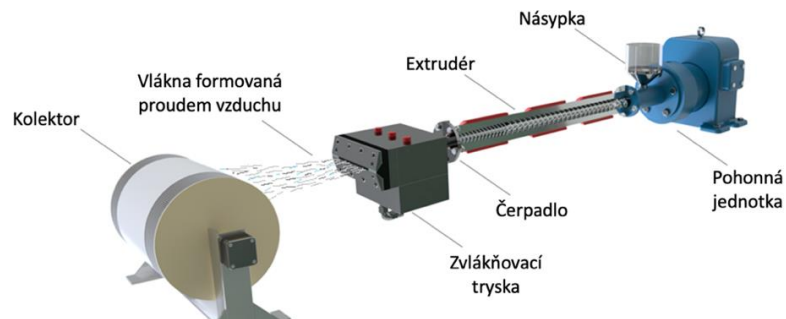
3 PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU PROBLEMATIKY

3.1 Technologie meltblown

Syntetická vlákna mikrometrických a submikrometrických průměrů jsou pro své užité vlastnosti velmi žádaným artiklem napříč průmyslovými i vědními obory. Dominantní metodou pro výrobu těchto vláken je technologie meltblown, která zahrnuje realizaci styku polymerního roztoku nebo polymerní taveniny s vysokorychlostním proudem vzduchu, který umožňuje rychlé převedení polymerní taveniny do podoby náhodně kladených mikrovláken (Malkan and Wadsworth, 1991). Meltblown textilie představují 10 % současné hodnoty trhu s netkanými textiliemi při jejich roční produkci v řádu více jak milionu tun. V dalších pěti letech poroste trh s meltblown textiliemi průměrným tempem 15,3 % za rok (Kalil, 2022).

Technologie meltblown zahrnuje energeticky náročný termický proces skládající se z pěti základních částí (obr. 3.1) – extrudéru, dávkovacího čerpadla, zvlákňovací trysky, formovací zóny a záchytného kolektoru následovaného navíjecím zařízením. Polymer ve formě granulí, pelet nebo prášku je gravitačně dodáván do extrudéru, rozděleného do tří zón reflektujících svou rozdílnou geometrií teplotní gradient ohřevu polymerní taveniny doprovázený změnou reologie. Zóny lze rozdělit na plnicí, homogenizační a vytlačovací. Tavenina je dále protlačována z extrudéru k zubovému čerpadlu, které konzistentně dávkuje její přesné množství přes soustavu ocelových sít k zvlákňovací trysce. Tryska je samostatně vyhřívaná ocelová zápusťková sestava, zahrnující rozvodné systémy polymerní taveniny i horkého vzduchu a takzvaný nos, který obsahuje zvlákňovací otvory o průměru 0,1–0,8 mm. Rozvodný systém rybinového, trapézového nebo T-typu zajišťuje homogenní distribuci polymerní taveniny směrem ke zvlákňovacím otvorům na čele nosu (Lin *et al.*, 2013).

Otvory o typickém poměru jejich délky a průměru v rozmezí 10–100 mohou být uloženy v jedné nebo několika řadách o hustotě 10–35 otvorů/cm. Polymerní tavenina vytlačovaná těmito otvory je strhávána konvergentními proudy vzduchu o teplotě totožné s teplotou taveniny a rychlosti v rozmezí 150–300 m/s. Vysoký hmotnostní poměr vzduchu a polymerní taveniny (~ 100) zajišťuje dostatečné formativní síly umožňující vznik mikrovláken, typicky o průměru 1–7 μm , která jsou dále unášena chladnoucím proudem vzduchu a nahodile ukládána na kolektor do podoby netkané textilie, která je kontinuální rychlostí odtahována. Nejdůležitější částí celého systému je sestava zvlákňovací trysky. Rozšířenějším typem je slotová konstrukce v podobě typického ostrého nosu s jednou řadou otvorů s přívody primárního vzduchu v horní a dolní části čela. Druhou, méně rozšířenou, je prstencová konstrukce disponující plochýmnosem s otvory v podobě kapilár uložených v několika řadách, které homogenně obtéká primární vzduch (Hassan, Khan and Pourdeyhimi, 2016).



Obrázek 3.1: Základní schéma technologie meltblown.

Vlákna vykazují také termické větvení, které nastává při vyšší rychlosti proudu taveniny oproti rychlosti vzduchu a při kolizi štěpících se vláken s dalšími takovými vlákny. Ve vrstvě vytvořené technologií meltblown jsou vlákna držena pohromadě pouze kombinací jejich vzájemného zapletení a materiálové koheze, protože vlákna jsou tvářena do svých průměrů a ukládána na kolektor v částečně roztaveném stavu. Obecně jsou tyto textilie typické svou měkkostí, objemností, strukturální homogenitou a dobrou nasákavostí. Výsledná vlákenná struktura poskytuje póry v mikroměřítku, což má za následek vysokou poréznost, vysoký měrný povrch na jednotku hmotnosti, vynikající bariérové vlastnosti, vysoký faktor krytí a dobré izolační účinky. Vlastnosti meltblownových textilií mohou být ovlivněny výběrem vhodného polymeru, nastavením procesních proměnných a zařazením pojicích a dalších dokončovacích procesů. Hlavními charakteristickými vlastnostmi těchto struktur jsou (Bhat and Malkan, 2007):

- náhodná orientace vláken spojitě délky s výjimkou oblastí shotů,
- průměr vláken kolísající po jejich délce,
- vlákna s hladkou topografií povrchu a typicky kruhovým průřezem,
- nízká až střední pevnost vrstvy,
- průměr vláken v rozsahu 0,5–30 μm , typicky 2–7 μm ; plošná hmotnost se pohybuje v rozmezí 10–2000 g/m^2 , typicky 20–350 g/m^2 .

Pro meltblown lze použít celou řadu polymerů. Jedná se zpravidla o termoplastické polymery nižších molekulových hmotností s úzkou distribuční křivkou a z toho vycházející nízkou polydisperzitou. Dalšími nezbytnými vlastnostmi jsou nízká viskozita polymerní taveniny s indexem toku v rozmezí 100–2000 $\text{g}/10 \text{ min}$. Typicky jsou zvlákňovány polyolefiny, především izotaktický polypropylen s velmi dobrými užitnými a zpracovatelskými vlastnostmi, který představuje až 75 % celkové spotřeby. Dále se využívají polyestery, polyethyltereftalát a především polybutyltereftalát, které musí být před samotným procesem vysoušeny. Polyamid 6 tvoří velmi málo defektů, ovšem je náchylný k termooxidativní degradaci. Dalšími minoritně zpracovávanými polymery jsou termoplastický polyuretan, polykarbonát a polyvinylalkohol (Dutton, 2008).

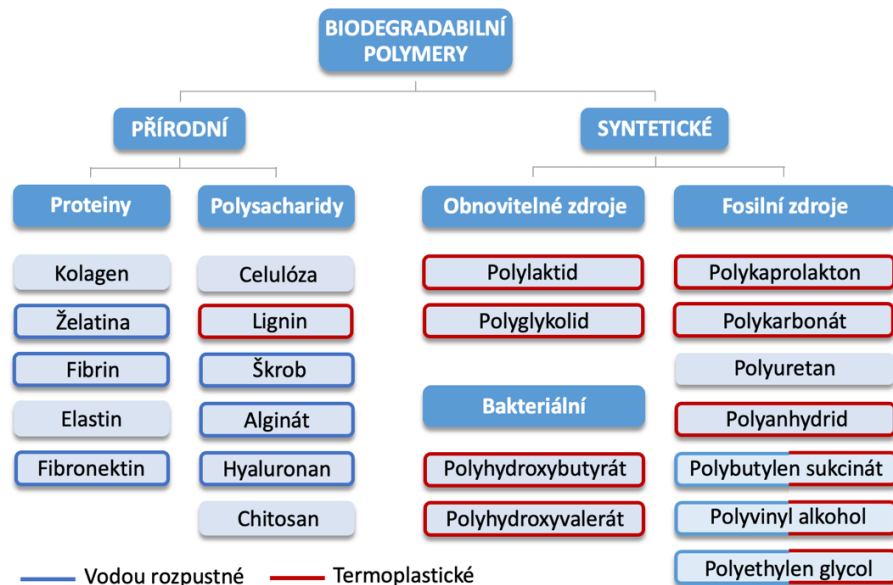
3.2 Biodegradabilní polymery

Biodegradabilní nebo také biologicky odbouratelné polymery (BP) představují progresivní skupinu polymerních materiálů, které jsou po určité době rozložitelné v živočišných nebo environmentálních systémech na nízkomolekulární deriváty netoxické pro dané prostředí (Samir *et al.*, 2022). Celosvětová produkce plastů dosáhla v roce 2022 téměř 400 milionů tun při celkové hodnotě trhu přesahující 800 miliard USD. Z tohoto objemu představovaly v daném roce BP s 1,5 milionem tun méně než 0,5 %. Predikce však předpokládají, že objem produkce této skupiny polymerů poroste ročním tempem 7–15 % a v roce 2030 bude představovat přibližně 5% podíl celkově vyrobených plastů (Shen *et al.*, 2023).

Biodegradabilní polymery se dají obecně rozdělit (obr. 3.2) dle procesu výroby na přírodní a syntetické, nebo dle výchozí suroviny pro jejich výrobu na polymery fosilního původu či z obnovitelných zdrojů. Přírodní BP, pocházející z živočišných nebo rostlinných zdrojů, jsou přirozeně se vyskytující polymery. Přírodní BP se dělí podle struktury na proteiny a polysacharidy. Mezi BP na bázi proteinů se řadí kolagen, želatina, elastin a přírodní hedvábí. Polysacharidy představují celulóza, škrob, alginát, chitin a kyselina hyaluronová. Přírodní BP vykazují vysokou míru biokompatibility a přirozené degradace. Avšak nevýhodami jsou jejich nízká reprodukovatelnost výroby, omezené možnosti optimalizace jejich parametrů a mnohdy nedostatečné mechanické vlastnosti. Jejich degradace probíhá převážně enzymaticky (Samir *et al.*, 2022).

Syntetické BP jsou vyráběny konvenčními polymeračními postupy z monomerů vycházejících z ropných derivátů nebo obnovitelných zdrojů. Mezi syntetické BP z obnovitelných zdrojů řadíme kyseliny polyglykolovou a polymléčnou vycházející ze škrobových monomerů nebo polyhydroxyalkanoáty produkované rekombinantními postupy. Z fosilních zdrojů vychází polykaprolakton, polydioxanon, některé variace polybutylenů či polykarbonátů, polyuretany a další. Syntetické BP lze velmi dobře funkcionalizovat širokou škálou postupů, nebo definovat jejich vlastnosti vycházející přímo ze způsobu jejich syntézy. Z toho vychází také dobrá reprodukovatelnost vlastností mezi výrobními šaržemi a ve srovnání s přírodními BP lepší mechanické vlastnosti. Jejich biodegradace probíhá převážně hydrolytickými mechanismy (Vroman and Tighzert, 2009).

Pro technologii meltblown je perspektivní zejména skupina syntetických BP, která obsahuje ve srovnání s těmi přírodními celou řadu termoplastů, které jsou zastoupeny nejčastěji alifatickými polyestery. Ty jsou vzhledem k relativně snadné syntéze a poměrně nízké ceně také tržně nejdostupnější skupinou BP. Při jejich syntéze je možné velmi dobře kontrolovat hodnotu i distribuci jejich molekulové hmotnosti, vedoucí k příznivému tokovému chování, které je nezbytné pro danou technologii (Manavitehrani *et al.*, 2016).



Obrázek 3.2: Klasifikace vybraných BP podle způsobu výroby, termoplastického chování a rozpustnosti ve vodném prostředí

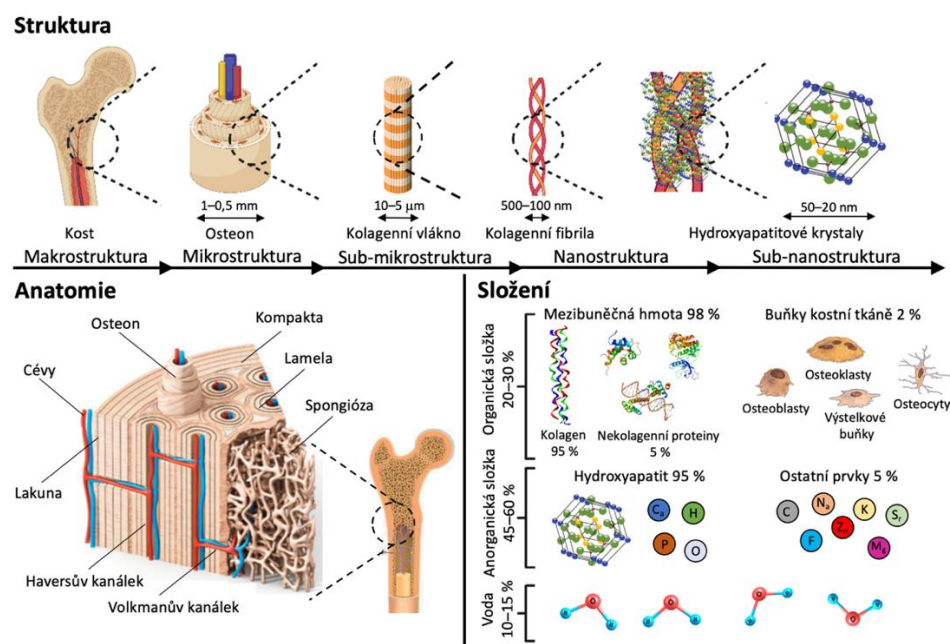
Lineární alifatické polyestery jsou převážně termoplastické hydrofobní polymery v podobě kyseliny polymléčné (PLA), kyseliny polyglykolové (PGA), polyhydroxyalkanoátů (PHA) a polykaprolaktonu (PCL). Představují nejrozšířenější formu syntetických BP pro jejich variabilní fyzikální a mechanické vlastnosti. Lze je poměrně snadno zpracovávat různými technologiemi do požadovaných struktur s minimálním rizikem imunogenicity a přenosu infekce. Alifatické polyestery obsahují ve svém řetězci alifatickou esterovou vazbu náchylnou k hydrolytickému štěpení, což zaručuje jejich biodegradaci (Gunatillake, Mayadunne and Adhikari, 2006).

První popsané experimentální využití BP pro technologii meltblown pochází až z přelomu tisíciletí. Studie shrnuje možnosti využití v té době dostupných polymerů – PLA, PEA, PVA, PCL, termoplastický škrob (TPS) a celulózu-diacetát (CDA). (Müller and Krobjilowski, 2001). Vědeckými studiemi je nejčastěji popisované právě využití PLA, které představuje doposud společně s PBS také jediný komerčně využívaný BP pro technologii meltblown. Viskoelastických vlastností srovnatelných s PLA dosahuje také PCL, avšak dosavadní studie popisují využití tohoto polymeru pro technologii meltblown téměř vždy v podobě minoritní složky směsi s jinými polymery. Například ve směsi PLA/PCL 85/5 (Yu *et al.*, 2014). Tento stav představuje dosud nepopsanou oblast výzkumu, jejíž zaplnění je jedním z cílů této práce.

3.3 Tkáňové inženýrství

Tkáňové inženýrství je od roku 1993 definováno jako interdisciplinární obor využívající znalostí inženýrství a přírodních věd k vývoji biologických náhrad sloužících k obnově, zachování nebo zlepšení funkcí tkání nebo orgánů (Langer and Vacanti, 1993). Tento obor synergicky kombinuje dva dosud používané principy regenerativní medicíny, spočívající v transplantaci orgánů nebo jejich nahrazení umělou náhradou. Proces tkáňového inženýrství spočívá ve využití tkáňových nosičů - scaffoldů, buněčného materiálu a podpůrných signálů.

Kostní tkáň je hierarchicky uspořádaný kompozitní systém skládající se z anorganické složky, organické složky a vody. Vnější struktura nativní kosti – kompakta (~ 10 %) se skládá z Haversových kanálků a osteonů, zatímco její vnitřní část – spongióza (~ 90 %) má trabekulární strukturu s porozitou 75–85 %. ECM je tvořena vláknitou složkou v podobě fibril z kolagenu typu I a amorfní složkou tvořenou proteoglykany spolu se strukturálními glykoproteiny (Robinson and Watson, 1952).



Obrázek 3.3: Schematické znázornění základní struktury, anatomie a složení kostní tkáně

Ve srovnání s jinými tkáněmi disponuje při navození určitých podmínek kostní tkáň markantně vyšším potenciálem seberegenerace. To je velmi dobrý předpoklad pro využití *in situ* tkáňového inženýrství, které řeší nedostatky tradičních přístupů. *In situ* koncept využívá zejména bioaktivní scaffoldy, podobné svou strukturou kostní ECM, pro implantaci do místa defektu, kde vyvolají proces primární seberegenerace kostní tkáně pomocí infiltrace endogenních buněk pacienta (Sengupta, Waldman and Li, 2014).

In situ scaffoldy pro regeneraci kostní tkáně musí mít kromě nezbytné biokompatibility také schopnost osteokonduktivity a osteoindukce. Pokud jsou účinně využity zejména materiálové a strukturo-mechanické vlastnosti scaffoldu k vyvolání osteoindukce, může být snížena nebo zcela potlačena závislost na přítomnosti dalších složek v podobě exogenních buněk, osteogenních faktorů nebo bioreaktorových jednotek. Zejména *in situ* scaffoldy musí splňovat celou řadu nároků, kterými jsou: vysoký stupeň celkové porozity a příznivé velikosti jednotlivých pórů, potřebné mechanické vlastnosti vyvažované schopností řízené resorpce. Zároveň musí být schopny zcela vyplnit prostor kostních defektů,

Je zřejmé, že vzhledem k mnoha protichůdným požadavkům na materiály pro TIK neexistuje žádný univerzální design ani materiál, který by byl považován za ideální pro tvorbu scaffoldů. Přes některé základní požadavky mohou být další vlastnosti voleny podle konkrétní aplikace, a to i v případě tak kritických požadavků pro TIK, jakými jsou mechano-strukturní vlastnosti. Je třeba vzít v úvahu, že mechanické charakteristiky lidské kosti se výrazně liší v závislosti na typu kosti. Pro výběr materiálu je třeba brát v potaz také povahu defektu, například v případě nenosného defektu mohou být vybrány méně pevné materiály přinášející jiné benefity (Olszta *et al.*, 2007).

S ohledem na organické a anorganické složení přirozené kostní tkáně jsou nejběžnějšími biomateriály používanými pro kostní scaffoldy biopolymery, biokeramika a kompozitní materiály. Každá z těchto materiálových i technologických variant přináší nejen výhody, ale i nevýhody při jejich využití ve tkáňovém inženýrství. Ukazuje se, že jednosložkové scaffoldy nejsou schopny plnit nároky kladené na jejich vlastnosti, proto je trendem vývoj kompozitních řešení, které kombinují nejen biomateriály, ale i výrobní technologie (O'Brien, 2011). Z tohoto důvodu je stále atraktivnější vývoj kompozitů obsahujících kombinace polymer–polymer a polymer–biokeramika.

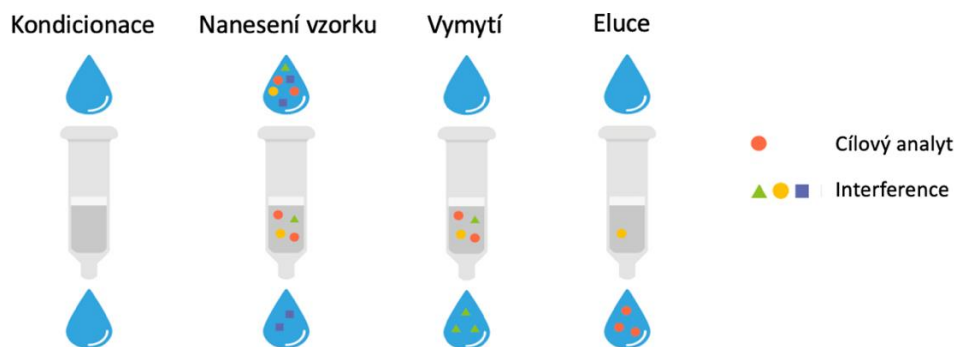
Velmi slibnou skupinou pro TIK jsou vláknenné kompozity na bázi netkaných textilií. Tyto materiály, složené z polymerních vláken o průměrech v řádech stovek nanometrů nebo jednotek mikrometrů, tvoří díky své morfologii vysoce porézní struktury trojrozměrného charakteru, které jsou podobné kostní ECM. Zároveň poskytují vysoký měrný povrch pro snadnou adici bioaktivních látek v podobě molekul, povlaků nebo nanočástic. Výběrem vhodného polymeru a technologie výroby lze řídit jejich strukturu, fyzikální i mechanické vlastnosti (Chen *et al.*, 2017). Polymerní nanovláknenné scaffoldy, vyrobené elektrickým zvlákněním, mohou být kombinovány s inkorporovanými nanočásticemi, *in situ* povlaky nebo hydrogely (Li *et al.*, 2019).

3.4 Analytická chemie

Analytická chemie je obor, který využívá analytických metod a technik k separaci, identifikaci a kvantifikaci hmoty od jednoduchých molekul až po složité směsi. Látky, které zkoumá, se nazývají analyty. Tento obor využívá, podle povahy cílové informace, kvalitativní a kvantitativní analýzu. Nejvýznamnější zástupci zde využívaných metod jsou chromatografické, spektroskopické, spektrometrické a rezonanční (Skoog *et al.*, 2014). Jednou z nejpoužívanějších je dnes vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).

Ve většině chemických analýz není odebraný vzorek vhodný pro přímou analýzu a musí být upraven do vhodné formy. Převod jakéhokoli vzorku do formátu ideálního pro měření analytu se nazývá úprava vzorku. Jejím cílem je transformace vzorku do formy vhodné pro měření pomocí čištění, zjednodušení a předkoncentrování. Strategie přípravy kapalných vzorků obvykle využívá metodu extrakce na tuhou fázi (SPE), která je v současnosti díky řadě výhod, včetně snadné adaptability na HPLC, upřednostňována. Metoda využívá k extrakci sorbenty - tuhé porézní struktury, které lze variabilně měnit podle povahy analytů (Płotka-Wasyłka *et al.*, 2015).

Mechanismus účinku SPE je založen na interakci mezi pevnou fází sorbentu a kapalným vzorkem obsahujícím analyty, který je autonomně nebo za tlakového gradientu perkolován přes jeho strukturu. Na základě fyzikálně-chemických vlastností pevného sorbentu, matrice a molekul analytu dochází k interakcím typu π - π , dipól-dipól a vodíkových můstků (Ötles and Kartal, 2016).



Obrázek 3.4: Jednotlivé kroky SPE při použití neselektivního sorbentu

Sorbenty hrají klíčovou roli při kvalitní úpravě vzorků metodou SPE a představují oblast s vysokým vývojovým potenciálem. Extrakční sorbenty musí splňovat chemickou, termickou i strukturální stabilitu a také selektivitu, spojenou s dostatkem vazebných míst. Ze strukturálního hlediska je kladen důraz na homogenitu, vysokou porozitu, členitost povrchu, a míru měrného povrchu poskytující dostatečnou plochu extrakčních interakcí.

Nejpoužívanější skupinou jsou oxidy křemíku v podobě částic nebo monolitických struktur, které jsou velmi heterogenní a mechanicky odolné. Disponují vysokou extrakční účinností a univerzálností pro nepolární analyty. Naopak extrakci nepolárních analytů umožňují křemičitany s povrchově navázanými uhlíkovými řetězci. Limitace křemičitanů překonávají do určité míry polymerní sorbenty (Buszewski and Szultka, 2012). Obecně je jedním z problémů chemické analýzy úprava vzorků s obsahem směsi polárních složek a analytů s vysokou molekulovou hmotností. Z tohoto důvodu je trendem vývoj nových sorbentů s vysokou selektivitou/specifitou vůči cílovým analytům. Selektivními sorbenty jsou například molekulárně vtištěné polymerní sorbenty (MIP) nebo takzvaná (RAM) média s omezeným přístupem (Souverain, Rudaz and Veuthey, 2004).

Nanovlákná disponují pro SPE celou řadou výhod. Stejně jako nanočástice vykazují vysoký měrný povrch k jejich objemu, širokou škálou využitelných polymerů a snadnou funkcionalizaci povrchu i hmoty celou řadou technik. Nanovlákná ovšem na rozdíl od nanočástic umožňují tvorbu kompaktních vlákenných struktur s vysokým stupněm celkové porozity a snadnou manipulovatelností. Zejména objemnější formy polymerních nanovláknenných struktur, díky celkové porozitě v kombinaci s elasticitou a tuhostí, umožňují uniformní průtok vzorku s minimálním zpětným tlakem (Chigome and Torto, 2011).

Napříč studii jsou nejčastěji používaná polystyrenová nebo polyamidová nanovlákná vyrobená metodou elektrického zvláknování na bázi stejnosměrného proudu, umístěná zejména v kolonkách, discích a pipetovacích špičkách při off-line extrakcích. (Proskurina *et al.*, 2007). Avšak nanovlákná v základní formě nedokáží vyhovět všem vývojovým požadavkům moderní úpravy, proto jsou dále funkcionalizována do podoby vícesložkových kompozitů. Nejčastěji se jedná o kombinace vláken s různými nanočásticemi inkorporovanými ve hmotě, tak aby nedocházelo k jejich uvolňování a vzniku nežádoucích interferencí (Asiabi, Mehdinia and Jabbari, 2015).

Nicméně trendem jsou další miniaturizace a zrychlování procesu SPE, spojené s on-line metodami a využitím vyšších tlaků, jsou kladeny náročnější požadavky i na samotné nanovláknenné sorbenty. Nanovláknenné struktury vyráběné běžným elektrickým zvláknováním na principu stejnosměrného proudu nemají potřebný stupeň celkové porozity na zajištění uniformního průtoku vzorku za vysokých tlaků bez toho, aniž by docházelo k nárůstu protitlaku nebo kolapsu jejich struktury. Dalším požadavkem je potřeba nejenom vysoce porézních, ale také objemných a mechanicky odolnějších vlákenných materiálů, využitelných pro účinnější systémy plnění extrakčních kolonek, nebo pro formy takzvaných „stand-alone“ sorbentů (Vazquez, Vasquez and Lozano, 2012).

3.5 Shrnutí současného stavu a stanovení tezí

Na základě poznatků uvedených v teoretické části lze potvrdit širokou škálu možností využití BP. Zejména skupina syntetických alifatických polyesterů představuje vhodné kandidáty pro využití v technologii meltblown. Příznivá využitelnost spočívá v jejich termoplastickém chování a v přijatelném stupni polydisperzity (< 2) z kterého se odvíjí vhodné hodnoty MFR (100–200) taveniny. **Polymery s těmito vlastnostmi jsou zejména PLA a PCL.**

Ovšem jak dokládají dostupné studie, testováno bylo do současných dnů ve většině případů PLA a existuje pouze několik málo studií popisujících využití vysokomolekulárního PCL ve směsích s jinými polymery. **Neexistují tak v současnosti žádné dostupné zdroje popisující využití samotného PCL.**

Avšak na základě dostupných dat lze usuzovat, že samotné PCL je technologií meltblown zpracovatelné. Tento polymer je v současné době dostupný o molekulových hmotnostech v rozmezí 25 000–80 000 g/mol. Z publikovaných dat gradientu hodnot MFR pro vyšší molekulové hmotnosti je možné vyvodit předpoklad, že PLC v rozmezí 20 000–30 000 g/mol disponuje hodnotami MFR > 200 při minimálním poklesu mechanických vlastností. V porovnání s PLA disponuje tavenina tohoto polymeru termickou stabilitu v širším teplotním rozmezí, což v kombinaci s nízkou teplotou tání potenciálně snižuje energetickou náročnost zpracování. Další výhodou PCL je jeho velmi dobrá elasticita, která tak vylučuje jednu z hlavních nevýhod PLA, kterou je přílišná rigidita výsledných vláken. Současná tržní cena dostupného granulátu je 500 € za kilogram, tedy v porovnání s PLA nebo dokonce technickými polymery výrazně vyšší. Tato cena je ale již racionální právě pro speciální maloobjemové produkty v takzvaných „high cost“ aplikacích, kterými se práce zabývá.

S ohledem na široké rozpětí termické stability a nízké teploty tání bude pravděpodobně třeba dosahovat vysokých poměrů tavenina/vzduch a vyšších vzdáleností tryska-kolektor pro dostatečnou míru chladnutí taveniny. Při zhodnocení technologických možností dostupného zařízení bude možné parametrické testování procesu především skrze změny teplotního nastavení a vzdálenosti tryska-kolektor. Na základě předpokládaného tokového chování PCL taveniny lze očekávat průměry výsledných vláken zejména v mikrometrických rozměrech s minimem vláken o průměru pod hranicí jednoho mikrometru.

Z výzkumů zabývajících se vývojem *in situ* scaffoldů pro regeneraci kostní tkáně vyplývá jasný trend směrem k využití kompozitních materiálů, které jsou schopny vyhovět mnoha požadavkům kladeným na tyto nosiče. **Dané požadavky jsou převážně mechano-strukturní povahy s cílem vyplnit stabilně kostní defekt, zajistit dostatečnou stimulaci okolní tkáně, a tím migraci buněk do scaffoldu.** Jeho struktura musí následně moderovat vnitřní proliferaci a dostatečnou diferenciaci buněk doprovázenou mineralizací, vaskularizací a inervací vznikající tkáně. Nedávné výzkumy ukazují, že scaffoldy nemusí za určitých podmínek nezbytně dosahovat pevností kostní tkáně, a to zejména jsou-li využívány pro nenosné defekty kavitózní povahy a jejich degradace postupuje spolu s nárůstem a mineralizací vznikající tkáně. Za těchto podmínek má význam použití polymerních vláknenných scaffoldů z dlouhodobě degradujícího PCL.

Konkrétními požadavky jsou:

- celková objemnost,
- tvarová variabilita a dobrá dělitelnost materiálu,
- vysoký stupeň celkové porozity,
- průměry pórů v rozmezí 100–200 μm ,
- interkonektivita jednotlivých pórů,
- homogenní zastoupení mikro i nanostrukturních prvků,
- strukturální stabilita,
- Youngův modul >100 kPa, dostatečná schopnost vratných deformací,
- biokompatibilita,
- dlouhodobá *in vivo* degradace nastupující po 12 měsících od implantace.

V případě sorbentů pro úpravy vzorků metodou extrakce na tuhé fázi je uplatňován podobný trend, spočívající ve využití vícesložkových kompozitních sorbentů. **Nároky na mechano-strukturální vlastnosti extrakčních sorbentů jsou do velké míry shodné se scaffoldy pro regeneraci kostní tkáně.** V případě sorbentů je však kladen větší důraz na celkovou míru porozity, hodnotu měrného povrchu a jeho chemicko-fyzikální vlastnosti. Ty pak umožňují nízký odpor proti průtoku mobilní fáze, vysokou míru extrakční účinnosti danou potřebnou plochou a potřebnou selektivitou spojenou s počtem i jednoznačností vazebných míst v podobě funkčních skupin. Většina komerčně používaných selektivních sorbentů, keramických i polymerních, je poměrně rigidních a křehkých, což je spojeno vysokou citlivostí při nešetrné manipulaci nebo nesprávném použití. Dalším požadavkem na nové extrakční sorbenty je tak vyšší míra odolnosti při manipulaci a různých podmínkách využití, daná potřebnou mírou houževnatosti a schopnosti vratné deformace. To jsou opět nároky, kterých lze docílit využitím polymerních vláknenných struktur.

Konkrétními požadavky jsou:

- celková objemnost,
- tvarová variabilita a dobrá dělitelnost materiálu,
- vysoký stupeň celkové porozity,
- vysoká míra měrného povrchu,
- strukturální homogenita,
- chemická, termická i strukturální stabilita,
- schopnost vratných deformací, houževnatost,
- vysoká hustota vazných míst a jejich jednoznačnost,
- prvotní odolnost proti hydrolytické degradaci.

Je zřejmé, že pro docílení takto komplexního souboru požadavků není možné využít pouze jednosložkový materiál v podobě mikrovlákněné struktury vytvořené technologií meltblown, ale bude zapotřebí využití vícenosložkového kompozitního systému. Na základě těchto podmínek je definována teze, popisující princip tvorby základního kompozitu za využití dvou rozdílných vlákněných složek směsovaných v lineárním proudu vzduchu bezprostředně po jejich zformování, kterým jsou následně unášeny a ukládány na zachytném kolektoru do podoby netkané textilie.

První ze složek tohoto kompozitu jsou PCL mikrovlákna produkovaná technologií meltblown. Ta reprezentují hlavní objemovou složku dodávající kompozitu potřebné mechanické vlastnosti. Technologie meltblown také zajistí potřebnou produktivitu výrobního procesu.

Druhou složku představují nanovlákna produkovaná elektrickým zvlákněním z téhož polymeru, která přináší potřebnou míru podpory buněčné adheze a současně zvyšuje specifický měrný povrch výsledného kompozitu.

Samotný způsob výroby je navržen jako kombinace technologie meltblown a elektrického zvláknění, jehož části jsou orientovány tak, aby se formovaná nanovlákna unášená elektrickým větrem v prostoru mezi spinneretou a protielektrodou střetávala s příčně procházejícím lineárním proudem primárního vzduchu za následného promísení s mikrovláknem. Lineární proudění vzduchu ukládající promísená nanovlákna a mikrovlákna na kolektor představuje nezbytný faktor pro zajištění vysoké míry celkové porozity a požadovaných průměrů pórů.

4 DOSAŽENÉ VÝSLEDKY A JEJICH UPLATNĚNÍ

Popis dosažených výsledků je koncipován jako komentovaný soubor devíti publikovaných prací, zaměřujících se na zpracování biodegradabilního PCL technologií meltblown a následné využití vytvořených vlákenných struktur ve tkáňovém inženýrství a analytické chemii. Soubor spolu s komentáři je tak rozčleněn na technologicko-materiálovou část a část aplikační, která se dále dělí na dvě oblasti. První z těchto oblastí popisuje využití vlákenných struktur ve tkáňovém inženýrství jako scaffoldů nepomáhajících regeneraci. Oblast druhá popisuje jejich využití jako extrakčních sorbentů pro předúpravu vzorků v analytické chemii.

4.1 Publikované práce

Soubor prací je tvořen jedním patentem a osmi vědeckými články publikovanými v impaktovaných časopisech prvního decilu/kvartilu a druhého kvartilu podle WOS-JCR, jejichž seznam přináší následující kapitola. Tyto práce jsou členěny do jedné technologické a dvou aplikačních částí tak, jak popisuje tabulka 4.1. Technologická část obsahuje před samotným komentářem patentu kapitolu představující studii zpracovatelnosti PCL technologií meltblown, na jejímž základě patent vznikl. Aplikační části začínají vždy jednou pilotní studií, která tvoří základ pro všechny následující zařazené články.

Tabulka 4.1: Členění jednotlivých prací podle příslušných částí

| Technologicko-materiálová část | |
|--------------------------------|-------------------|
| Lukáš, 2016 | |
| Tkáňové inženýrství | Analytická chemie |
| Erben, 2015 | Háková, 2018 |
| Erben, 2016 | Háková, 2019 |
| Rampichová, 2018 | Šrámková, 2020 |
| Erben, 2022 | Raabová, 2020 |

Publikované práce jsou výsledkem mezioborové kooperace se skupinami Ústavu experimentální medicíny AV a Katedry analytické chemie Farmaceutické fakulty UK, se kterými autor úzce spolupracoval a využíval jejich zpětné vazby k vývoji materiálů, na jejichž testování se v rámci daných pracovišť částečně podílel. **Samotný významný přínos autora spočívá v návrhu a realizaci veškerých experimentálních prací spojených s technologií meltblown, kombinaci této technologie s elektrickým zvlákňováním a vývojem finálního vlákenného kompozitu.** Autor také vykonával převážnou část všech testů realizovaných na svém pracovišti, a to včetně testů biologických. **Stejně tak byl zodpovědný za návrh a realizaci veškerých funkcionalizačních procesů a koncových úprav testovaného kompozitu směrem k aplikačním oblastem.** Podíl autora v rámci jednotlivých prací je uveden v následující kapitole.

Seznam publikovaných prací:

Lukáš, D., Mikeš, P., Kuželová Košťáková, E., Pokorný, P., Novák, O., Sanetrník, F., Chvojka, J., Havlíček, J., Jenčová, V., Horáková, J., Pilařová, K., **Erben, J.**, Kovačičin, J.

Způsob a zařízení pro výrobu textilního kompozitního materiálu obsahujícího polymerní nanovláknna, textilní kompozitní materiál obsahující polymerní nanovláknna

Patent (2016), CZ 306018 B6

- Podíl autora: formulace tezí, návrh konstrukce, experimentální práce – vývoj metodiky a optimalizace podmínek, příprava podkladů pro podání přihlášky

Erben, J., Pilařová., Sanetrník, F., Chvojka, J., Jenčová, V., Blažková, L., Havlíček, J., Novák, O., Mikeš, P., Prosecká, E., Lukáš, D., Kuželová Košťáková, E.

The combination of meltblown and electrospinning for bone tissue engineering

Materials Letters (2015), 143, 172 - 176 (IF₂₀₁₅: **2,437 – Q1**)

Citační ohlas: **29**

- Podíl autora: řešerše, návrh experimentu, výroba a charakterizace materiálů, biologické testování, příprava a revize publikace

Erben, J., Jenčová, V., Chvojka, J., Blažková, L., Strnadová, K., Modrák, M., Kuželová Košťáková, E.

The combination of meltblown technology and electrospinning – the influence of the ratio of micro and nanofibers on cell viability

Materials Letters (2016), 173, 153 - 157 (IF₂₀₁₆: **2,572 – Q2**)

Citační ohlas: **14**

- Podíl autora: řešerše, návrh experimentu, výroba a charakterizace materiálů, příprava a revize publikace

Rampichová, M., Chvojka, J., Jenčová, V., Kubíková, T., Tonar, Z., **Erben, J.**, Buzgo, M., Daňková, J., Litvinec, A., Vocetková, K., Plecner, M., Prosecká, E., Sovková, V., Lukášová, V., Králíčková, M., Lukáš, D., Amler, E.

The combination of nanofibrous and microfibrinous materials for enhancement of cell infiltration and in vivo bone tissue formation

Biomedical Materials (2018), 13(2), (IF₂₀₁₈: **2,897** – **Q2**)

Citační ohlas: **18**

- Podíl autora: návrh, výroba a charakterizace materiálů, návrhu metodiky použití implantátů, částečná příprava publikace

Erben, J., Jirkovec, R., Kalous, T., Klíčová, M., Chvojka, J.

The combination of hydrogels with 3d fibrous scaffolds based on electrospinning and meltblown technology

Bioengineering (2022), 9(11), (IF₂₀₂₂: **4,600** – **Q2**)

Citační ohlas: –

- Podíl autora: řešerše, návrh experimentu, výroba a charakterizace materiálů, příprava a revize publikace

Háková, M., Chocholoušová Havlíková L., Chvojka, J., **Erben, J.**, Solich, P., Švec, F., Šatínský, D.

A comparison study of nanofiber, microfiber, and new composite nano/microfiber polymers used as sorbents for on-line solid phase extraction in chromatography system

Analytica Chimica Acta (2018), 1023, 44-52 (IF₂₀₁₈: **5,256** – **Q1**)

Citační ohlas: **26**

- Podíl autora: návrh, výroba a charakterizace materiálů, podíl na návrhu metodiky využití sorbentů, částečná příprava publikace

Háková, M., Chocholoušová Havlíková L., Chvojka, J., **Erben, J.**, Solich, P., Švec, F., Šatínský, D.

Polycaprolactone nanofibers functionalized with a dopamine coating for on-line solid phase extraction of bisphenols, betablockers, nonsteroidal drugs, and phenolic acids

Microchimica Acta (2019), 186, (IF₂₀₁₉: 6,232 – D1)

Citační ohlas: 17

- Podíl autora: návrh, výroba a charakterizace materiálů, vývoj funkcionalizačních postupů, částečná příprava publikace

Šrámková, H. I., Horstkotte, B., **Erben, J.**, Chvojka, J., Švec, F., Solich, P., Šatínský, D.

3D-printed magnetic stirring cages for semidispersive extraction of bisphenols from water using polymer micro- and nanofibers

Analytical Chemistry (2020), 92, 5, 3964-3971 (IF₂₀₂₀: 6,986 – D1)

Citační ohlas: 18

- Podíl autora: návrh, výroba a charakterizace materiálů, návrh způsobů kombinace s 3D tiskem, částečná příprava publikace

Raabová, H., Háková, M., Chocholoušová Havlíková, L., **Erben, J.**, Chvojka, J., Solich, P., Švec, F., Šatínský, D.

Poly- ϵ -caprolactone nanofibrous polymers: a simple alternative to restricted access media for extraction of small molecules from biological matrixes

Analytical Chemistry (2020), 92, 10, 6801–6805 (IF₂₀₂₀: 6,986 – D1)

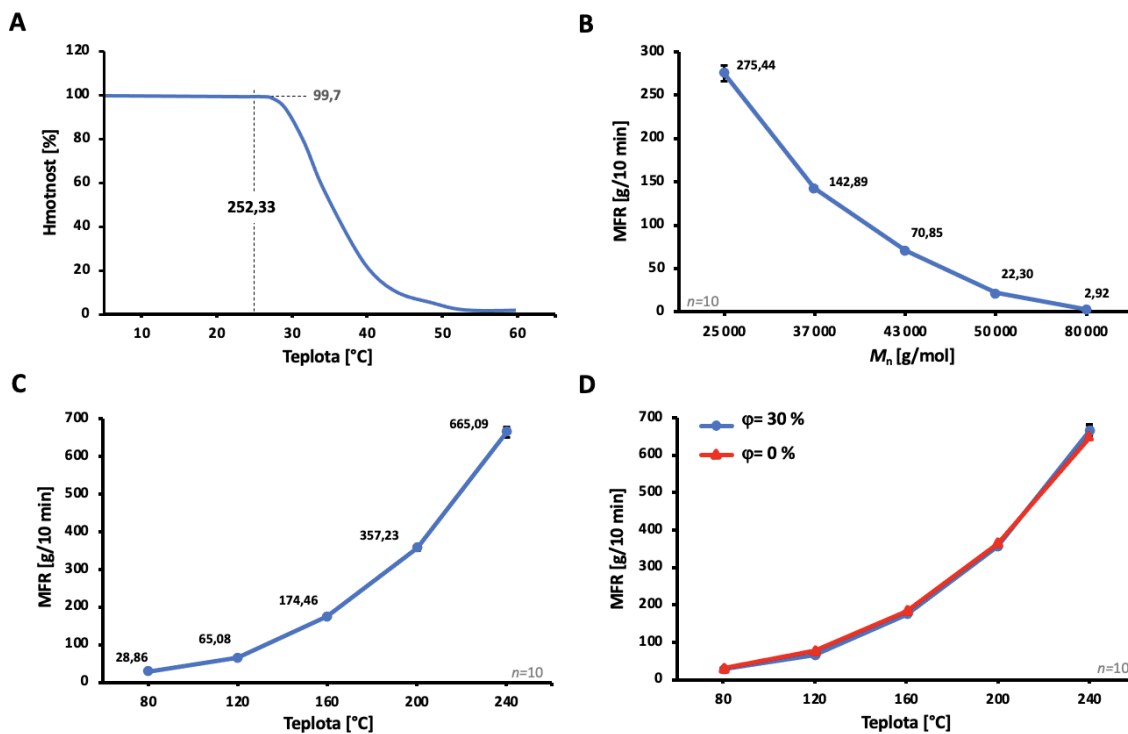
Citační ohlas: 7

- Podíl autora: návrh, výroba a charakterizace materiálů, částečná příprava publikace

4.2 Studium zpracovatelnosti polykaprolaktonu technologií meltblown

V rámci technologicko-materiálové části předchází samotnému komentáři patentu shrnutí výsledků zpracovatelnosti PCL pro technologii meltblown. Tyto výsledky představují testování portfolia PCL granulátů různých molekulových hmotností s následným výběrem vhodného typu granulátu pro další experimentální práce. Samotné studium zpracovatelnosti pomocí technologie meltblown spočívalo ve stanovení základních procesních a technologických podmínek zpracování spolu s popisem vlivu vybraných parametrů na výslednou vlákennou strukturu. Vzhledem k vysokým nárokům na materiálovou stabilitu vyplývajícím z koncových aplikací je na závěr provedena kontrola případného nežádoucího vlivu zpracovatelských podmínek na vybrané charakteristiky vlákenných vrstev. Popis metodiky jednotlivých testů a měření je uveden jako příloha této práce.

Pro testování vybraných vlastností a následný výběr finálního polymeru byly použity PCL granuláty jedné výrobní řady (Polysciences, Inc.) s různými hodnotami číselné molární hmotnosti (M_n) v rozmezí 25 000–80 000 g/mol.



Obrázek 4.1: Termické vlastnosti PCL taveniny: A) TGA analýza termické degradace v závislosti na teplotě, B) hodnoty MFR v závislosti na číselné molární hmotnosti granulátu, C) hodnoty MFR v závislosti na teplotě, D) hodnoty MFR v závislosti na teplotě a podmínkách skladování granulátu

Index toku (MFR) těchto granulátů byl testován při teplotě 180 °C, která reprezentuje střed intervalu termické stability PCL taveniny, stanovený pomocí termogravimetrické analýzy (TGA) na obrázku 4.1A. Pouze granuláty s M_n 25 000 a 37 000 g/mol, s hodnotami MFR 275,44 respektive 142,89 g / 10 min (obr. 4.1B), dosáhly tokových vlastností potřebných pro zpracování danou technologií. Na základě těchto hodnot byl pro další testování vybrán granulát s M_n 25 000 g/mol. Stanovení dalších tokových vlastností vybraného polymeru proběhlo v rozmezí teplot 80–240 °C, který odpovídal intervalu termické stability taveniny (obr. 4.1A). Dostatečných tokových hodnot dosáhl granulát v teplotním rozmezí 160–240 °C, kde se hodnoty jeho MFR pohybovaly v rozmezí 174,46–665,09 g/10 min. Toto rozmezí tak předběžně vymezilo teplotní interval zpracovatelnosti vybraného PCL, potřebný pro následné parametrické studie.

Další sledovanou vlastností vybraného granulátu byl obsah vody vázané v polymeru, nezbytný pro případné stanovení sušicího procesu před zvlákněním. Nicméně granulát dlouhodobě kondiciovaný při 30% vlhkosti vzduchu obsahoval pouze 0,06 hm. % vody. Což bylo pravděpodobně způsobeno hydrofobní povahou PCL. Následné porovnání hodnot MFR granulátu kondiciovaného 48 hodin při 30% a vakuově při 0% vzdušné vlhkosti přineslo téměř shodné hodnoty se zanedbatelnými odchylkami měření (obr. 4.1D). Případné sušení nebude mít vliv na zvláknovací proces, tuto operaci tak lze oproti jiným biodegradabilním polymerům vyřadit, což výrazně zjednodušuje proces přípravy granulátu.

V další části této práce jsou představeny výsledky parametrických testů, které ověřovaly vliv třech vybraných procesních parametrů na proces zvláknění a zejména změnu strukturálních parametrů výsledných vlákněných vrstev. Těmito parametry byly objemový tok polymeru a z toho vycházející hmotnostní poměr polymer/vzduch, vzdálenost tryska–kolektor a teplota vyhřívacích zón. Konstantními parametry byly objemový průtok primárního vzduchu: 10 m³/min, tlak taveniny v přechodové části: 30 bar, obvodová rychlost kolektoru: 1,5 m/min. Prvotní stanovení všech parametrů bylo provedeno na základě analýzy polymerního granulátu (obr. 4.1) a předběžných testů.

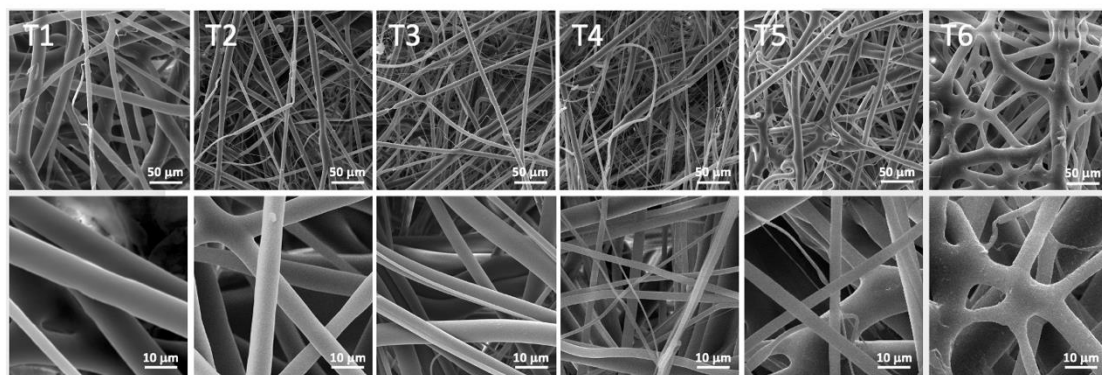
Závěrečná parametrická studie popisovala závislost strukturálních parametrů vlákněných vrstev na změnu teplotního nastavení vyhřívacích zón, zejména zvláknovací trysky. Bylo otestováno šest rozdílných teplotních nastavení s teplotou trysky v rozmezí 150–210 °C, jak je uvedeno spolu s ostatními hodnotami nastavení v tabulce 4.4. Z předchozích parametrických testů byla zachována vzdálenost T–K 60 cm a hmotnostní průtok polymeru 2 g/min.

Tabulka 4.2: Procesní parametry tvorby vrstev při změně teplotního nastavení

| Procesní parametry | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Teplotní zóna 1 [°C] | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |
| Teplotní zóna 2 [°C] | 120 | 120 | 120 | 130 | 130 | 130 |
| Teplotní zóna 3 [°C] | 140 | 150 | 150 | 160 | 160 | 170 |
| Teplotní zóna 4 [°C] | 150 | 160 | 170 | 180 | 190 | 200 |
| Teplota trysky [°C] | 150 | 160 | 170 | 180 | 200 | 210 |
| Teplota vzduchu [°C] | 150 | 165 | 180 | 190 | 205 | 210 |
| Objem vzduchu [m ³ /hod] | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Průtok polymeru [g/min] | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Vzdálenost T-K [cm] | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |

Výsledky závěrečného parametrického testu ukázaly zásadní vliv teplotního nastavení na vláknennou strukturu (obr. 4.2). Lze tak potvrdit přímý vliv teplotně závislé hodnoty MFR taveniny (obr. 4.1C) na výsledné průměry vláken, jak uvádí (Jones, 1987). Se zvyšující se teplotou trysky klesaly průměry vláken až na hodnotu $4,28 \pm 0,8 \mu\text{m}$ při teplotě 190 °C, avšak již při širším rozpětí mezních hodnot průměrů vláken v porovnání s teplotou 180 °C.

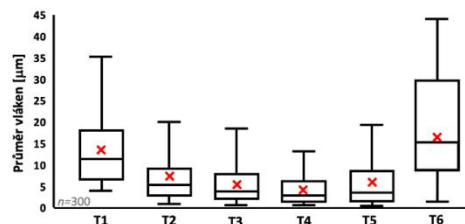
A



B

| Hodnota | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| \bar{X} | 13,56 | 7,19 | 6,07 | 4,28 | 6,76 | 16,55 |
| 95% IS | 2,09 | 0,96 | 0,86 | 0,8 | 1,44 | 3,72 |
| Min. | 4,67 | 0,67 | 0,52 | 0,56 | 0,45 | 1,56 |
| Max. | 41,49 | 29,08 | 24,77 | 31,17 | 37,28 | 43,53 |

C



Obrázek 4.2: Hodnocení morfologie: A) SEM snímky vláknenné struktury, B) tabulka statistických hodnot průměrů vláken, C) statistické hodnoty průměrů vláken vyjádřené krabicovým grafem (\bar{X} – aritmetický průměr; 95% IS – 95% interval spolehlivosti)

Výskyt vyšších průměrů vláken při teplotě trysky 150 °C vyplýval z nedostatečných tokových vlastností taveniny při dané teplotě. Na druhé straně, slitá vlákna vyšších průměrů v případě teploty 210 °C lze spojovat s nedostatečnou mírou ochlazení formující se taveniny za daných podmínek. Tento jev se částečně projevoval také při teplotě 190 °C. Na základě výsledků všech parametrických testů bylo možné sestavit technologický rámec zvláknitelnosti PCL, vymezený teplotami trysky v rozmezí 160–200 °C, vzdáleností T–K v rozmezí 60–100 cm a hmotnostním průtokem polymeru 2 g/min, od kterého se odvíjí hmotnostní poměr vzduch/polymer ~100. Zejména při využití výkonnějšího kompresoru, umožňujícího dosažení vyššího poměru vzduch/polymer, by bylo reálné zvýšit horní limit teplotního rozsahu i celkovou produktivitu procesu.

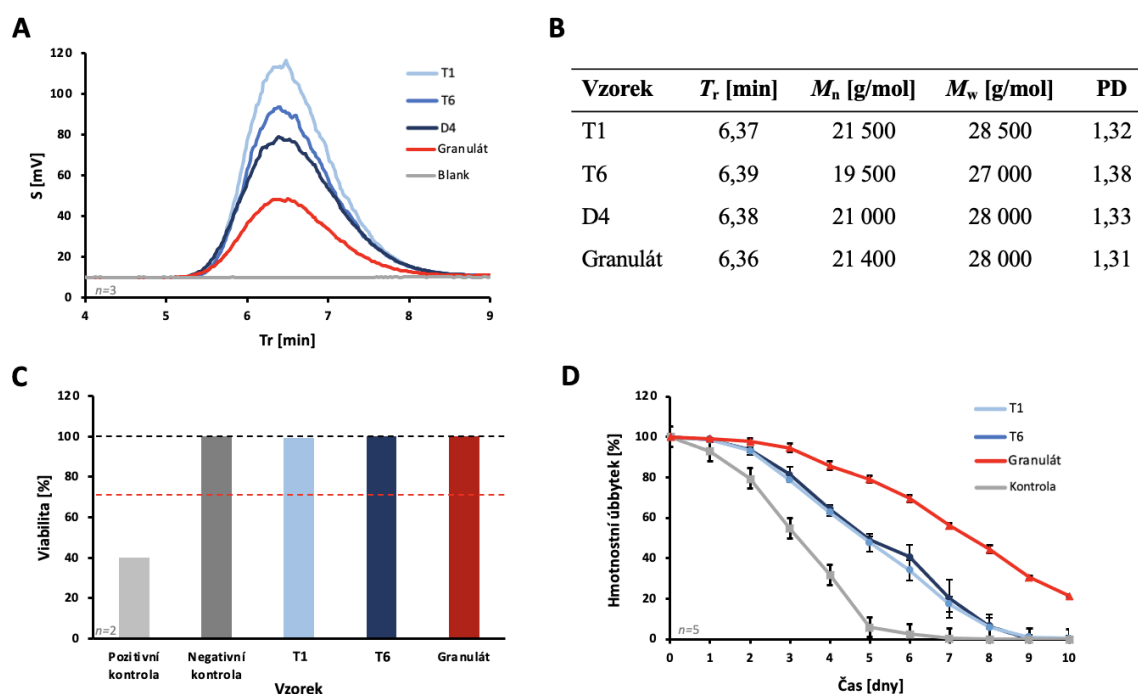
Zpracování PCL technologií meltblown bylo při všech variacích nastavení doprovázeno vznikem nezanedbatelného množství odletů vláken. Vznik odletů bývá v literatuře spojován s přílišnou mírou objemu a rychlosti primárního vzduchu. Avšak jak ukazují výsledky parametrických testů, v případě PCL nelze tyto hodnoty snížit, aniž by docházelo k výraznému poklesu kvality strukturálních charakteristik vlákenných vrstev. V případě PCL lze přisuzovat vznik odletů také číselné molární hmotnosti granulátu o hodnotě 25 000 g/mol (polydisperzita 1,33), která je v porovnání s číselnými molárními hmotnostmi jiných polymerů využívaných pro technologii meltblown výrazně nižší (například PLA s M_n 66 000 g/mol). Lze vyslovit hypotézu, že délky makromolekul při této molární hmotnosti neumožňují dostatečnou míru zapletení zprostředkovávající potřebnou integritu vznikajícího vlákna, zamezující odtrhu některých fragmentů.

Charakteristickým rysem výsledných vlákenných vrstev byla poměrně široká distribuce průměrů vláken asymetrického průběhu. Na jedné straně byl charakteristický výskyt vláken s odlehlými hodnotami průměrů v desítkách mikrometrů. Na druhé straně jsou hodnoty průměrů vláken nalézající se v prvním a druhém kvartilu distribuovány na velmi krátkém intervalu v porovnání s dalšími kvartily. Tyto distribuční charakteristiky PCL vláken představují poměrně výrazný rozdíl v porovnání s polypropylenem, který vykazuje úzkou a symetrickou distribuci. Nicméně samotná střední hodnota průměrů PCL vláken oscillovala kolem 5 μm , což v kombinaci s absencí výrazných defektů na makro a mikroskopické úrovni a hladkým povrchem představuje typický produkt technologie meltblown.

S ohledem na aplikační oblasti využití vlákenných vrstev, kde jsou kladeny vysoké nároky na materiálovou stabilitu, biologickou nezávadnost a predikovatelnost degradačního profilu, byly vlákenné vrstvy podrobeny vybraným testům těchto vlastností. Jednotlivé vzorky vlákenných vrstev byly vybírány pro dané testy na základě rozdílného parametru výroby, který byl shledán pro danou vlastnost materiálu jako kritický.

Hodnoty získané z prvního ohřevu ukazovaly, že vlákna produkovaná technologií meltblown byla schopna dosáhnout podílu krystalické fáze v rozmezí 62,44–63,34 %. S ohledem na fakt, že tato hodnota korespondovala s podílem krystalické fáze polymerního granulátu, lze konstatovat, že samotná technologie neměla na hodnotu krystalického podílu vliv. Zároveň tak nedocházelo z výraznému prodloužení vláken během jejich formování, které by se projevilo právě zvýšením této hodnoty.

Případný pokles molární hmotnosti totožných vzorků, který by značil nežádoucí degradaci polymeru při procesu zvlákňování, byl testován pomocí gelové permeační chromatografie (GPC). Jak ukazují křivky chromatogramu (obr. 4.3A) i odvozené hodnoty hmotnostní a početní molární hmotnosti (obr. 4.3B), u žádného vzorku nedocházelo k signifikantní změně těchto hodnot, značící degradační procesy. Ověření cytotoxicity bylo realizováno *in vitro*, za využití výluhů vzorků T1 a T6. V případě obou vzorků přesáhla buněčná viabilita nádorových osteoblastů hranici 70 % (obr. 4.3C), což charakterizuje oba materiály jako netoxické. Finální test enzymaticky katalyzované biodegradace *in vitro* vyloučil rozdílné degradační profily u vzorků T1 a T6, jejichž křivky hmotnostního úbytku se téměř shodují (obr. 4.3D).

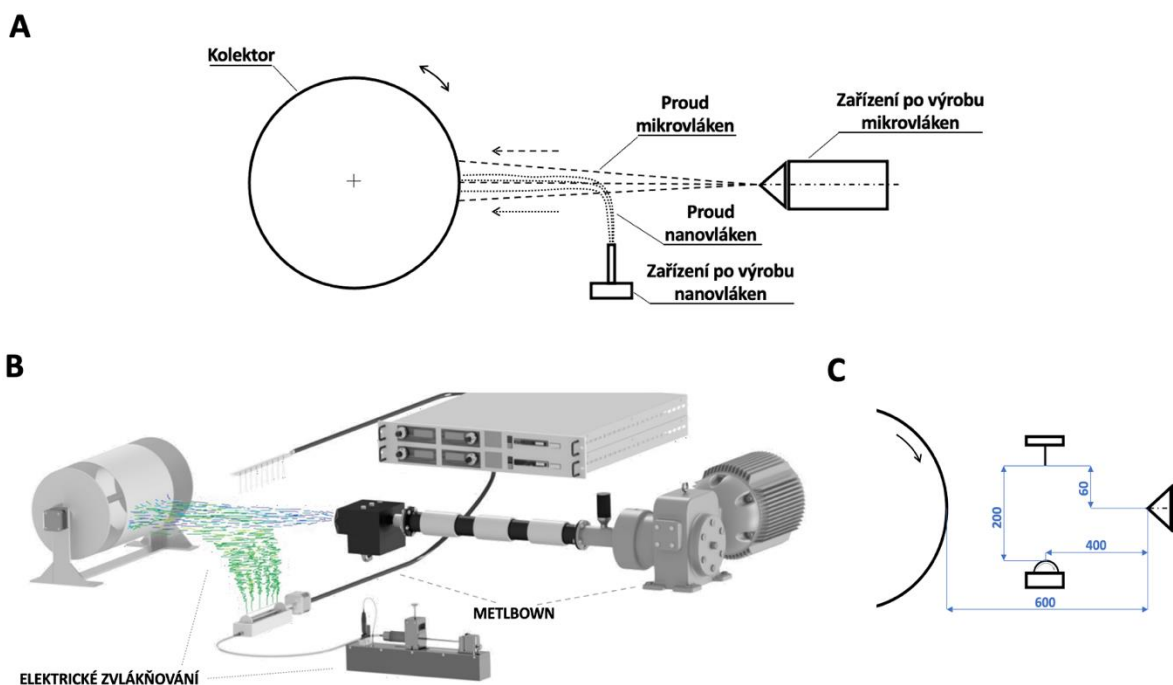


Obrázek 4.3: GPC analýza a základní biologické testy vybraných vzorků: A) křivky chromatogramů, B) hodnoty retenčního času (T_r); číselné molární hmotnosti (M_n); hmotnostní molární hmotnosti (M_w) a polydisperzity (PD), C) test cytotoxicity, D) křivky hmotnostního úbytku na základě enzymaticky katalyzované degradace

4.3 Komentář č. 1 – Způsob a zařízení pro výrobu textilního kompozitního materiálu obsahujícího polymerní nanovlákná, textilní kompozitní materiál obsahující polymerní nanovlákná

Výzkumný cíl směřující k následnému vytvoření patentu spočíval v návrhu způsobu výroby textilního kompozitního materiálu, který bude obsahovat nanovlákná a další vláknennou složku/ky poskytující tomuto materiálu mechanické vlastnosti a objemnost, aniž by svou přítomností omezovaly specifické vlastnosti a využití nanovláken. Dalším cílem bylo navrhnout zařízení k provádění tohoto způsobu výroby, které by dosahovalo řádově vyšší produktivity ve srovnání s klasickými technologiemi výroby nanovláken v podobě elektrického či odstředivého zvlákňování.

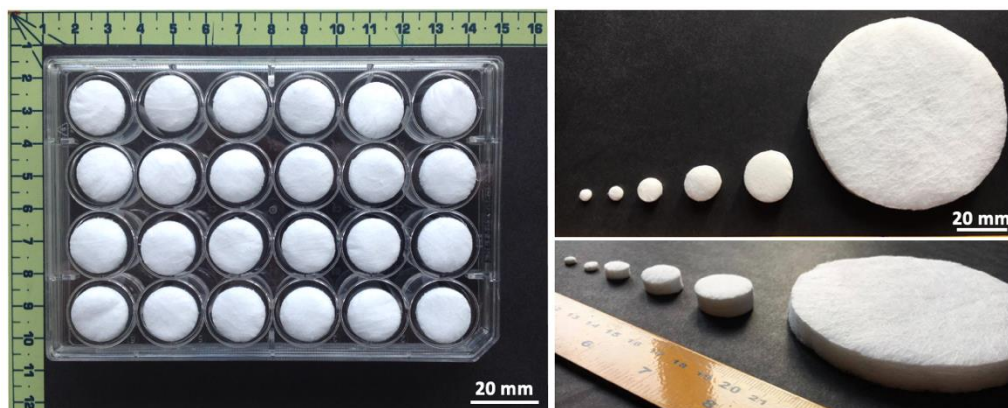
Navržený způsob výroby představoval proces, při kterém byl alespoň jedním zvlákňovacím prvkem (na principu odstředivého nebo elektrického zvlákňování) vytvářen objemový útvar tvořený polymerními nanovlákná a ukládaný na povrch kolektoru, na který byla současně ukládána polymerní mikrovlákná produkovaná technologií meltblown, spunbond nebo jinou technologií výroby mikrovláken (obr 4.4A). Pohyb, ukládání a promísení všech vláknenných složek zajišťoval usměrněný pohyb vzduchu či jiného plynu nebo usměrněný pohyb elektronů. Způsob popisoval ukládání vláknenné směsi na bubnový nebo pásový kolektor, který mohl být s výhodou elektricky aktivní nebo podsávaný pro účinnější ukládání vláken.



Obrázek 4.4: Zařízení pro výrobu vláknenného kompozitu: A) schéma principu, B) vizualizace reálné konfigurace zařízení, C) kotace rozmístění jednotlivých prvků

Praktická realizace způsobu a zařízení na výrobu textilního kompozitu ze směsi mikro a nanovláken spočívala v kombinaci technologií meltblown a elektrického zvlákňování nabázi stejnosměrného proudu (obr. 4.4B–C) za využití biodegradabilního polykaprolaktonu. Konfigurace technologického řešení využívala prvek elektrického zvlákňování skládající se z kladně polarizované, strunové – rotující nebo stacionární – vícejehlové spinnerety, které byl dávkován polymerní roztok pomocí počítačem řízené lineární pumpy. Proces tvorby nanovláken byl podpořen umístěním záporně polarizované hrotové protielektrody. Spinnereta a protielektroda byly vzájemně umístěny tak, aby se formovaná nanovlákná unášena elektrickým větrem v prostoru mezi spinneretou a protielektrodou střetávala s kolmo procházejícím lineárním proudem vzduchu. Proud tvořil ohřátý primární vzduch unášející a formující mikrovlákná z extrudované polymerní taveniny protlačované přes otvory zvlákňovací trysky technologie meltblown. V místě střetu obou vláknenných složek docházelo ke strhávání nanovláken lineárním prouděním, jejich následným promísením s mikrovlákná a závěrečné deposici na rotující bubnový kolektor. Samotné zařízení prodělalo v čase několik vývojových úprav, z nichž nejvýraznější byla změna spinnerety elektrického zvlákňování z rotujícího strunového válce na jehlové pole. Tato změna eliminovala nežádoucí odpařování rozpouštědla polymerního roztoku z otevřeného zásobníku strunového válce.

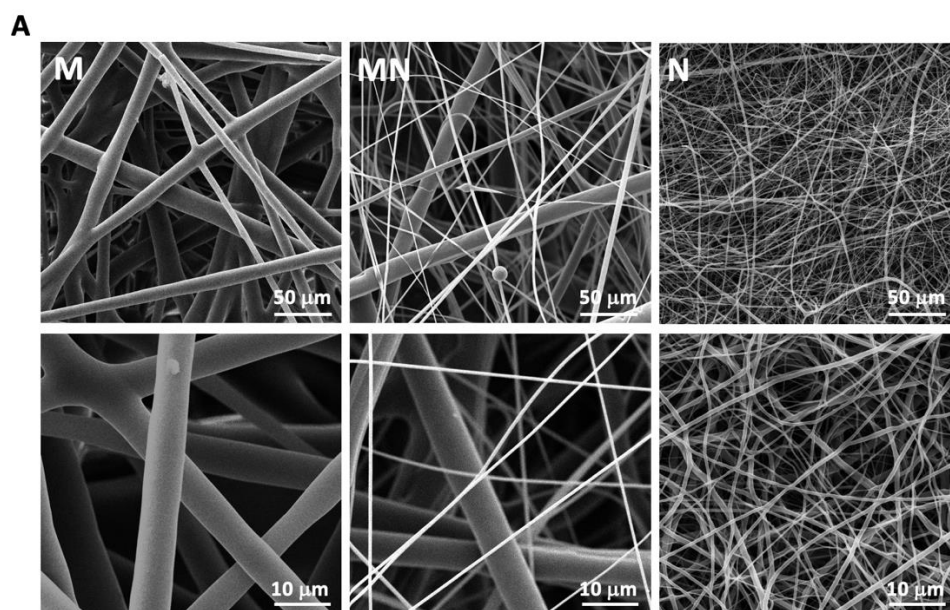
Lineární proud vzduchu umožnil deposici náhodně orientovaných ojednocených vláken do podoby objemné, vysoceporézní kompozitní struktury s homogenně promísenými vlákny obou složek. Popsaným způsobem výroby bylo možné připravit vrstvu vláknenného kompozitu v podobě pásu o šíři 100 mm bez limitované tloušťky a plošné hmotnosti v rozmezí od jednotek po stovky g/m^2 . Takto připravená struktura disponovala dostatečnou mechanickou odolností umožňující snadnou manipulaci i dělení do různých tvarů bez následné deformace, jak ukazuje obrázek 4.5.



Obrázek 4.5: Proporční variace disků vyřezaných z vláknenného kompozitu

Typický proces výroby využíval k produkci mikrovláknenné složky zařízení meltblown za procesních podmínek stanovených pro výrobu vzorku T3. Nanovláknenná složka byla produkována za využití kladně polarizované spinnerety v podobě válce (35 × 150 mm) osazeného čtveřicí ocelových strun o průměru 0,1 mm při napětí 35 kV, který rotoval rychlostí 50 ot/min. Polymerní roztok (16 hm % PCL ve směsi chloroformu a ethanolu o hmotnostním poměru 9:1) byl pumpami dávkován do prostoru spinnerety rychlostí 50 ml/hod. Formovaná nanovláknna putovala směrem k záporně polarizované elektrodě osazené ocelovými hroty (4 × 50 mm) při napětí 20 kV. Přesné rozmístění jednotlivých prvků elektrického zvlákňování popisuje obrázek 4.4C. Elektrické zvlákňování v této konfiguraci dosahovalo produktivity 1 g/hod.

Proces výroby trvající 60 minut umožnil tvorbu vrstvy vláknenného kompozitu o tloušťce 4 mm při produktivitě 100 g/hod. Obrázek 4.6A představuje SEM snímky struktury výsledného kompozitu – MN, samotné mikrovláknenné – M a nanovláknenné složky – N.



B

| | M | MN | N |
|---|--------------|--------------|------------|
| Průměr vláken [μm] | 6,07 ± 0,9 | 3,86 ± 1,5 | 0,71 ± 0,1 |
| Průměr pórů [μm] | 89,57 ± 41,1 | 48,85 ± 16,2 | 1,27 ± 0,2 |
| Celková porozita [%] | 96,41 | 95,62 | 74,88 |
| Specifický měrný povrch [g/m ²] | 0,3 | 0,3 | 2,5 |
| Četnost zastoupení nanovláken [%] | 2 | 30 | 85 |

Obrázek 4.6: Struktura a vlastnosti výsledného vláknenného kompozitu i jednotlivých složek, A) SEM snímky struktury, B) vybrané strukturní parametry

SEM snímky ukazovaly výrazný rozdíl v morfologii struktury samotné mikrovlákenné i nanovlákné složky a finálního kompozitu, kde byla jasně patrná přítomnost obou složek v podobě kompaktní směsi ojednocených, náhodně orientovaných nanovláken a mikrovláken. Výsledný kompozit si zachovával vysoce porézní charakter mikrovlákenné složky (obr. 4.6B) při 30% početním zastoupení nanovláken ve struktuře. Přítomnost nanovlákné složky snížila střední hodnotu průměrů pórů z $89,75 \pm 41,1 \mu\text{m}$ pro mikrovlákennou složku na $48,85 \pm 16,2 \mu\text{m}$ v případě výsledného kompozitu. Avšak kompozit neobsahoval nanovlákná v takové míře, aby měla vliv na zvýšení hodnoty specifického měrného povrchu, která byla stejně jako v případě mikrovláken $0,3 \text{ g/m}^2$.

Patent tak představuje v porovnání s konvenčními metodami tvorby samotných nanovláken řádově produktivnější způsob výroby polymerního vlákenného kompozitu, který obsahuje směs mikrovláken a nanovláken při zachování užitných vlastností obou složek. Další nespornou výhodou je materiálová variabilita elektrického zvlákňování, která umožňuje zpracování širokého spektra polymerů různých vlastností pro tvorbu vlákenné složky. To lze využít k tvorbě mnoha materiálových kombinací jednotlivých složek se specifickými vlastnostmi. Otevřená konstrukce výrobního zařízení navíc poskytuje dostatečný prostor k případnému začlenění nového prvku pro tvorbu další složky.

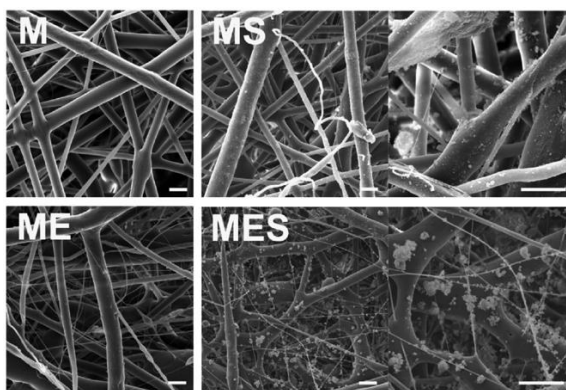
Výsledný vlákenný kompozit, vyrobený z biodegradabilního polykaprolaktonu, představuje velmi perspektivní materiálovou základnu, která díky kombinaci vhodných strukturních, mechanických a materiálových vlastností splňuje ve velké míře nároky kladené na materiály pro tvorbu scaffoldů ve tkáňovém inženýrství kosti i extrakčních sorbentů v analytické chemii.

4.4 Komentář č. 2 – The combination of meltblown and electrospinning for bone tissue engineering

Tato práce byla pilotní studií využití PCL mikrovláken vyrobených technologií meltblown jako scaffoldů pro tkáňové inženýrství kosti (TIK). Do té doby nebyla publikována žádná studie popisující využití vláken v dané oblasti, i pouze s minoritním podílem PCL produkovaných touto technologií. Cíl spočíval v základním *in vitro* testování připravených scaffoldů při kontaktu s buňkami linie lidských nádorových osteoblastů MG 63. Testy byly zaměřené na stanovení míry buněčné viability a proliferace v závislosti na zastoupení jednotlivých vlákenných složek v připravených scaffoldech a jejich funkcionalizovaných variant. Dílčí cíl této práce tak spočíval ve vývoji metody funkcionalizace vlákenných scaffoldů.

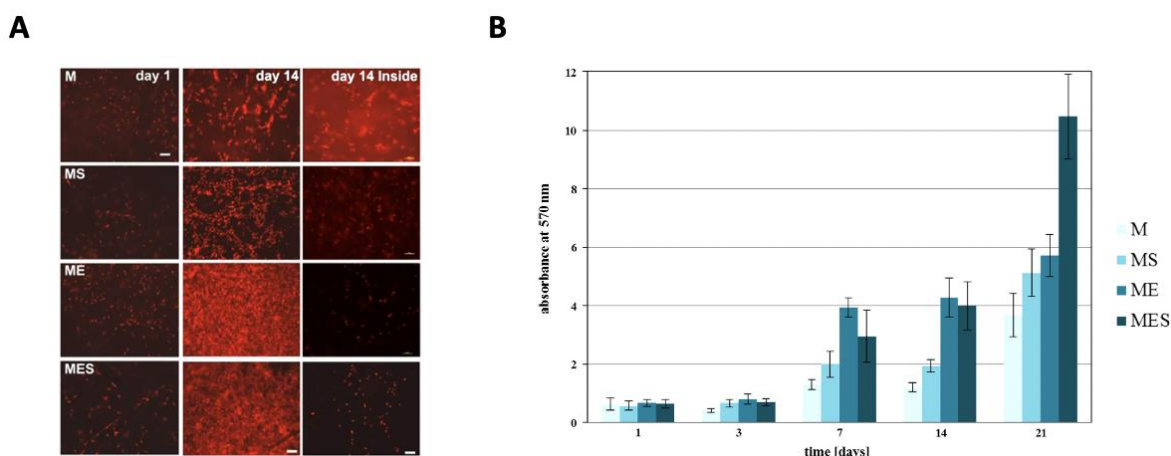
Na základě současných vývojových trendů a nároků na scaffoldy pro TIK byl navržen způsob funkcionalizace spočívající v adici bioaktivní složky zvyšující míru osteoindukce nejen svou chemickou podstatou, ale také schopností vytvářet nanostrukturní topografické prvky. Samotná realizace spočívala v pokrytí povrchu vláken nanočásticemi biokeramické složky nativní kostní tkáně na bázi hydroxyapatitu (HA), realizované v průběhu výroby scaffoldu rovnoměrným vibračním uvolňováním nanočástic do proudu primárního vzduchu. Nízká hmotnost nanočástic umožňovala jejich plynulé unášení proudem vzduchu, homogenní promísení s vlákny a rovnoměrnou depozici na povrchu vláken v celém objemu výsledné struktury (obr 4.7). Výsledný podíl nanočástic HA ve struktuře scaffoldu byl stanoven na 10 hm. %.

Pro testování byly připraveny čtyři strukturálně rozdílné skupiny vlákenných PCL scaffoldů (obr. 4.11) v podobě disků o průměru 15 mm a tloušťce 5 mm. První skupinu představovaly scaffoldy tvořené pouze mikrovláknami produkovanými technologií meltblown – M. Druhou skupinou byly mikrovlákná s HA nanočásticemi – MS. Další skupinou byl kompozitní scaffold ze směsi mikrovláken a nanovláken – ME a jako poslední kompozitní scaffold s HA nanočásticemi – MES.



Obrázek 4.7: SEM snímky struktury testovaných scaffoldů, měřítko 20 μm

Výsledky biologického testování jednoznačně prokázaly biokompatibilitu i schopnost podpory buněčné proliferace u všech testovaných skupin. Míra buněčné adheze bezprostředně po začátku kultivace scaffoldů dosahovala podobných hodnot pro všechny testované skupiny. Jasně prokazatelný byl vliv jednotlivých složek scaffoldu na buněčnou viabilitu a proliferaci. Nicméně od 7. dne testování se začal projevovat vliv jednotlivých složek. Kompozitní scaffoldy, obsahující nanovláknna, vykazovaly signifikantní zvýšení buněčné viability (obr. 4.8B) ve srovnání se scaffoldy obsahující pouze mikrovlákna. Zejména na základě výsledků metabolického MTT testu byl také od 7. testovacího dne prokazatelný příznivý vliv nanočástic HA na buněčnou viabilitu. Fluorescenční mikroskopie ukázala, že všechny čtyři skupiny scaffoldů umožňovaly díky své porozitě určitou míru proliferace buněk do své vnitřní struktury i při statické kultivaci, a tím splnily základní předpoklad umožňující vznik objemného tkáňového celku. Během samotné kultivace scaffoldů ve vodném médiu nedocházelo k deformaci základní geometrie ani mikroskopické struktury, což bylo potvrzeno následným SEM snímkováním.



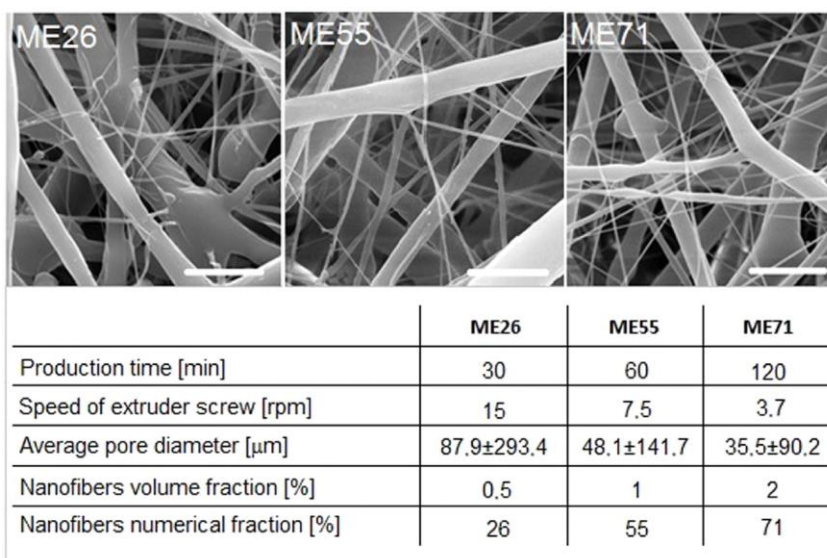
Obrázek 4.8: Výsledky biologického testování, A) fluorescenční mikroskopie, B) hodnoty MTT testu buněčné viability

Výsledky této práce potvrdily základní předpoklady kompozitních vláknenných scaffoldů pro jejich využití při regeneraci kostní tkáně, kterými byly vyloučená cytotoxicita a zároveň prokázaná biokompatibilita, schopnost podpory buněčné adheze, viability a proliferace. Dosaženými výsledky byla také potvrzena funkčnost stanoveného konceptu tvorby vícesložkového vláknenného kompozitu, který vykazoval synergickou kombinaci unikátních vlastností mikrovláknenné i nanovláknenné složky pro tkáňové inženýrství. Spolu s tím byl vyvinut a úspěšně otestován jednoduchý a rychlý postup funkcionalizace, který prokazatelně zvyšoval bioaktivitu testovaných scaffoldů.

4.5 Komentář č. 3 – The combination of meltblown technology and electrospinning – the influence of the ratio of micro and nanofibers on cell viability

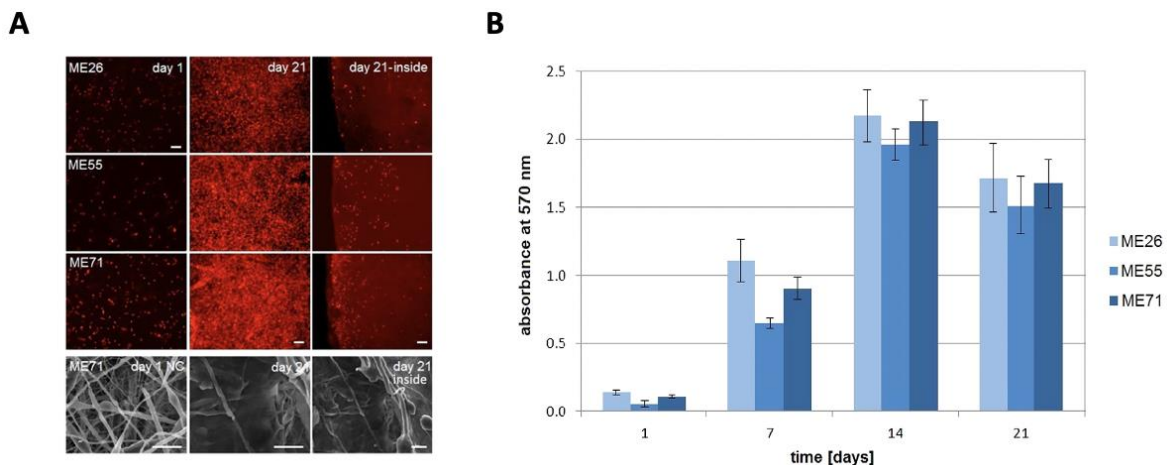
Náplní této práce, která přímo navazovala na přechodí pilotní studii, bylo parametrické testování změny poměru mikrovláken a nanovláken kompozitního scaffoldu na míru viability a vnitřní proliferace lidských nádorových osteoblastů.

Pro testování byly připraveny tři totožné skupiny scaffoldů, lišící se pouze obsahem nanovláken, kterého bylo docíleno změnou hmotnostního průtoku PCL taveniny zvláknovací tryskou technologie meltblown při procesu výroby vláknenného kompozitu. Scaffoldy určené k testování obsahovaly nanovláknna o četnostním zastoupení 26 % – ME26, 55 % – ME55 (strukturně totožný se vzorkem ME z předešlé studie) a 71 % – ME71. Obsah nanovláken zásadně ovlivňoval velikost pórů, kdy se zvyšujícím obsahem nanovláken klesala střední hodnota průměrů pórů jednotlivých skupin (obr. 4.9). V případě vzorku ME26 docházelo k částečné delaminaci testovacích disků, způsobené pravděpodobně depozicí příliš ochlazených vláken v důsledku vysokého hmotnostního poměru tavenina/vzduch v kombinaci s vysokou objemností vrstev.



Obrázek 4.9: SEM snímky struktury scaffoldů s různým obsahem nanovláken a hodnoty vybraných strukturních charakteristik, měřítko 20 μm

Biologické testování proběhlo podle stejné metodiky jako v případně pilotní studie a prokázalo vliv obsahu nanovláken v kompozitním scaffoldu. Jak ukazují snímky fluorescenční mikroskopie a výsledky metabolického MTT testu, vyšší obsah nanovláken měl příznivý vliv na míru buněčné viability a proliferace, projevující se výrazněji od 7. dne testování (obr. 4.10). Výsledky MTT testu byly ovšem zkráceny dekompozicí vzorků ME26, které pak poskytovaly větší plochu pro povrchovou buněčnou proliferaci.



Obrázek 4.10: Výsledky biologického testování, A) fluorescenční a SEM mikroskopie, B) hodnoty MTT testu buněčné viability

Podle snímků fluorescenční mikroskopie došlo 21. den kultivace k pokrytí povrchové struktury scaffoldu konfluentní vrstvou buněk, což potvrdily také SEM snímky s dobře patrnou kompaktní vrstvou buněk na povrchu. Vzorky ME71 umožňovaly přes nejnižší střední hodnoty průměrů pórů také nejvyšší míru povrchové proliferace ale také proliferace vnitřní. 21. den bylo patrné významné množství buněk proliferujících od okraje do vnitřní struktury scaffoldu.

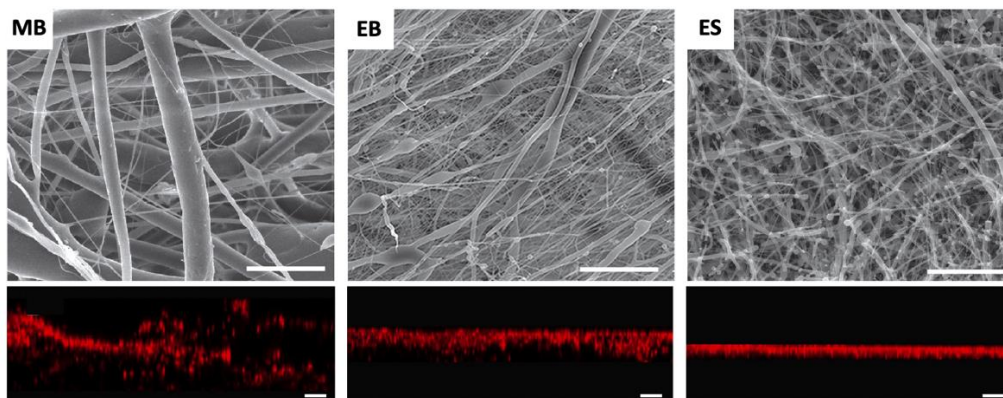
Výsledky vyšší míry vnitřní buněčné proliferace póry o průměru v řádech nižších desítek mikrometrů v porovnání se vzorky ME26, ME55 a M z předešlé studie, které disponovaly vyššími průměry pórů, jsou v rozporu s publikovanými výzkumy, které uvádějí jako optimální póry o průměru v rozsahu 100–200 μm . Pozorovaný jev může být důsledkem vysokého stupně celkové porozity scaffoldu (~ 95 %) s množstvím pórů vymezených pouze jednotlivými nanovláknky, které nepředstavují pro buňky výraznou prostorovou překážku, ale naopak adhezní bod.

Tato práce tak s ohledem na dosažené výsledky prokázala příznivý vliv vyššího obsahu nanovláken v kompozitním scaffoldu na buněčnou viabilitu a povrchovou i vnitřní proliferaci. Na základě výsledků tak bylo možné optimalizovat strukturální parametry scaffoldu pro dosažení vyšší účinnosti podpory tkáňové obnovy.

4.6 Komentář č. 4 – The combination of nanofibrous and microfibrinous materials for enhancement of cell infiltration and in vivo bone tissue formation

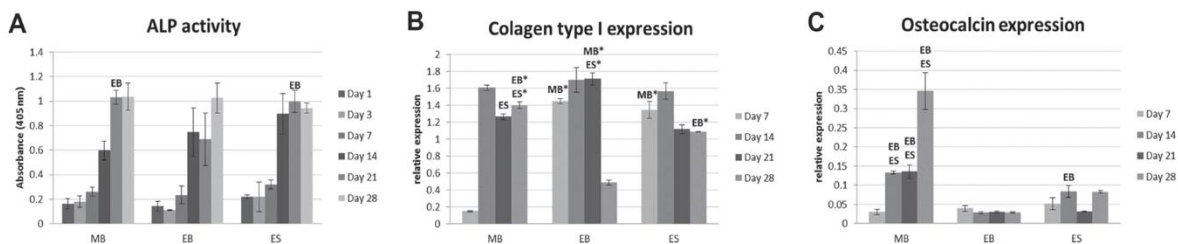
V rámci tohoto článku bylo provedeno komplexní *in vitro* testování kompozitních scaffoldů v kombinaci s mezenchymálními kmenovými buňkami, které, na rozdíl od již diferencovaných osteoblastů, umožňovaly detailnější studium osteogenních vlastností. Na *in vitro* testy navazovala dlouhodobá *in vivo* studie účinnosti kompozitních scaffoldů pro *in situ* regeneraci kostní tkáně v uměle vytvořeném, nenosném defektu hlavice femuru králíka.

Pro *in vitro* testy byly kromě PCL kompozitních scaffoldů ze směsi mikrovláken a nanovláken – MB, připraveny dvě srovnávací skupiny PCL scaffoldů s rozdílnou strukturální morfologií (obr. 4.11). Tyto skupiny byly zvoleny tak, aby oproti předchozím studiím umožnily srovnání kompozitu se scaffoldy obsahujícími čistě nanovláčennou složku. Jednu skupinu představovala nanovláčna ukládaná proudem vzduchu – EB a druhou byla nanovláčenná struktura vyrobená klasickým elektrickým zvlákňováním (technologie Nanospider) – ES.



Obrázek 4.11: SEM snímky struktury testovaných scaffoldů a snímky z fluorescenční konfokální mikroskopie zobrazující vnitřní proliferaci buněk, měřítko 50 μm

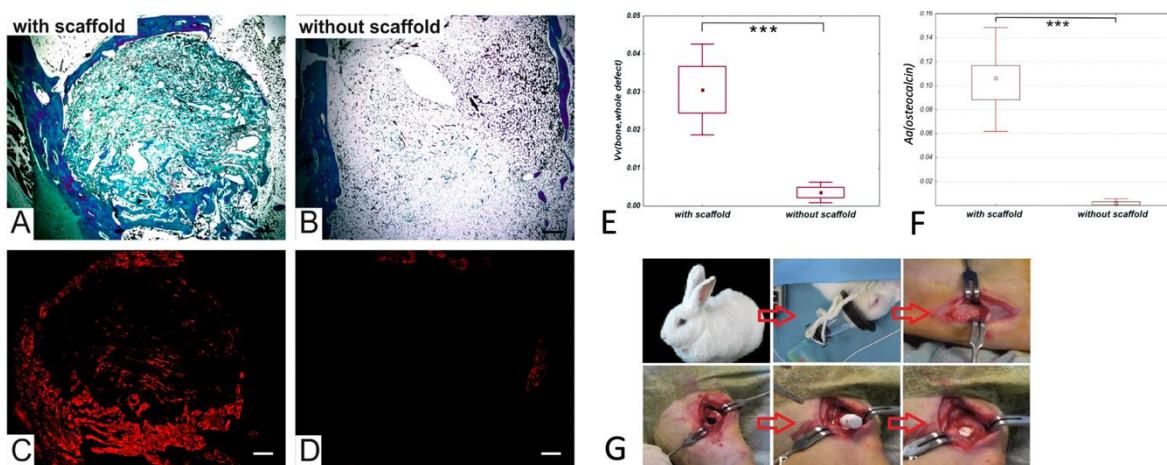
Hodnota buněčné viability a proliferace byla během 28 dnů kultivace pro všechny tři skupiny velmi podobná. Pouze MB scaffoldy vykazovaly s ohledem na větší průměry pórů nejnižší míru počáteční adheze. Na druhou stranu MB scaffoldy umožňovaly nejvyšší míru vnitřní proliferace, při které hloubka buněčné penetrace dosahovala 14. den testování 200 μm , oproti 50 μm v případě EB. Míra osteogenní diferenciace kmenových buněk, stanovená na základě aktivity alkalické fosfatázy – ALP, dosahovala v průběhu 28 dnů velmi podobných hodnot u všech tří skupin (Obr. 4.12A). Osteoindukční schopnost scaffoldů byla stanovena mírou exprese kolagenu typu I a osteokalcinu jako hlavních proteinových markerů kostní ECM.



Obrázek 4.12: Výsledky *in vitro* testů osteogenity, A) aktivita alkalické fosfatázy, B) exprese kolagenu I, C) exprese osteokalcinu

Maximálních hodnot exprese kolagenu dosahovaly buňky bez významnějších rozdílů u scaffoldů MB a EB (obr. 4.12B). Avšak míra exprese osteokalcinu kompozitního MB dosahovala od 14. dne několikanásobně vyšších hodnot v porovnání s ostatními skupinami (obr. 4.12C). Výsledky *in vitro* testů tak prokázaly nesporné výhody kompozitních scaffoldů plynoucí zejména z jejich mechano-strukturních charakteristik.

Stanovení *in situ* regeneračního potenciálu kompozitního scaffoldu proběhlo na základě *in vivo* testu, spočívajícího v implantaci scaffoldu (6×10 mm) do kostního defektu kritické velikosti (6×10 mm) v kondylu femuru králíka (obr. 4.13G) po dobu 70 dnů. Zvířecí modely byly rozdělené na dvě skupiny po osmi jedincích. První skupině byl defekt vyplněn scaffoldem, druhá – kontrolní skupina zahrnovala jedince s defektem bez implantovaného scaffoldu. Kompozitní scaffoldy vykazovaly během implantace velmi dobrou stabilitu a manipulovatelnost. Během 70 dnů po implantaci nebyly u žádného ze zvířecích modelů zaznamenány známky zánětu nebo jiné komplikace spojené s hojením. Jedinci obou skupin dosáhly během 70 dnů srovnatelných hmotnostní přírůstků.



Obrázek 4.13: Histologické vyhodnocení, A–D) histologické řezy explantované tkáně, měřítko $500 \mu\text{m}$, E–F) kvantitativní vyhodnocení regeneračního potenciálu, G) postup implantace

Zatímco kostní defekty kontrolní skupiny nevyplněné scaffoldem obsahovaly pouze tukovou tkáň, u druhé skupiny byla pozorována tvorba nové kostní tkáně (obr. 4.16A–D). Ve skupině s vyplněným defektem došlo k preferenční depozici kostní tkáně v zevním kompartmentu defektu, reprezentované kolagenem typu I (obr. 4.16C). Regenerace kostní tkáně tak postupovala dle očekávání od okraje defektu, což potvrzovalo osteokonduktivní schopnost scaffoldu vyvolat migraci endogenních buněk z okolní tkáně do své struktury. Navíc byla zaznamenána přítomnost nově vytvořených kapilár, nezbytných pro tvorbu plnohodnotné kostní tkáně.

Objemová frakce nové kostní tkáně (obr. 4.16E) byla větší u defektů vyplněných scaffoldem – 2,8 %, než u nevyplněných defektů – 0,2 % ($p < 0,001$). Nově vytvořená kostní trámčina reprezentovaná osteokalcinem byla také preferenčně tvořena kolem vláken scaffoldu ve vnějším kompartmentu defektu (obr. 4.16A). Plošná frakce osteokalcinu (obr. 4.16F) v defektu byla větší ve vzorcích se scaffoldem – 10,4 %, než u nevyplněných defektů – 0,2 % ($p < 0,001$). Navíc byla zaznamenána přítomnost nově vytvořených kapilár, nezbytných pro tvorbu plnohodnotné kostní tkáně.

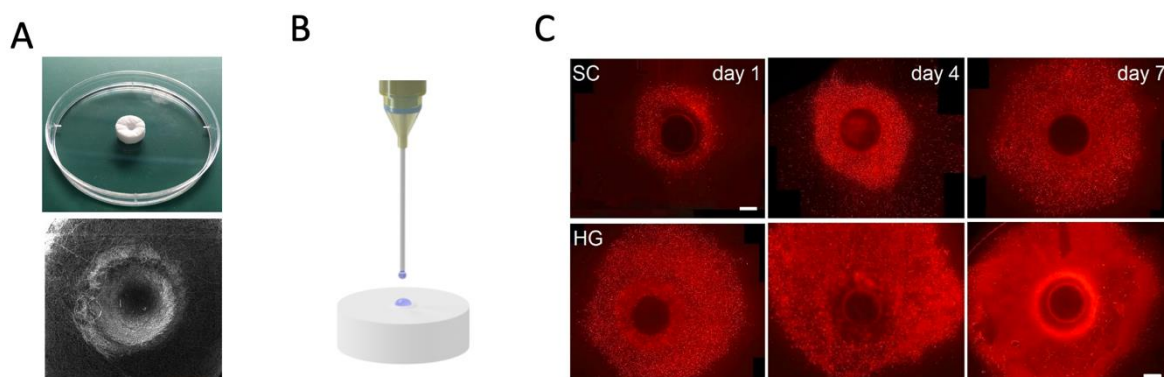
Výsledky této studie ukázaly, že kompozitní scaffoldy vykazují všechny literaturou popisované vlastnosti nezbytné pro vyvolání účinné regenerace kostní tkáně. *In vitro* testy prokázaly z těchto vlastností vysokou míru osteoindukce a vnitřní proliferace buněk do vlákně struktury. V případě *in vivo* studie prokázaly implantované scaffoldy schopnost osteokondukce, která vedla k novotvorbě plnohodnotné, vaskularizované kostní tkáně.

4.7 Komentář č. 5 – The combination of hydrogels with 3D fibrous scaffolds based on electrospinning and meltblown technology

Závěrečná práce z oblasti tkáňového inženýrství studovala možnosti kombinace kompozitních vlákenných scaffoldů s hydrogelovou složkou, která by vedla ke zvýšení regenerační účinnosti. Studie tak reflektovala jeden z vývojových trendů v podobě tvorby kompozitního scaffoldu, jehož tuhá porézní struktura je prosycena hydrogelovou maticí. Hlavním cílem této studie bylo zhodnocení benefitů, které přináší kombinace kompozitní scaffold-hydrogel-biotisk pro podporu buněčné adheze, viability a proliferace *in vitro*. Dílčí cíl představovala identifikace nejvhodnějšího hydrogelu z testovaného portfolia.

V rámci této práce bylo využito portfolio komerčně dostupných hyaluronanových hydrogelů (ESI.BIO), síťovaných thiol-reaktivním PEG činidlem: základní hydrogel bez dalších přísad – GH, hydrogel obohacený heparinem – HP nebo kolagenem typu I – C. Portfolio doplňoval referenční polyethylenglykolový hydrogel síťovaný UV – PEG. Samotný experiment spočíval v povrchové i vnitřní injektáži definovaného množství vybraných hydrogelů obsahujících suspenzi lidských nádorových osteoblastů. Injektáž definovaného objemu hydrogelu při konstantní rychlosti, tlaku a teplotě byla zajištěna díky využití CNC biotiskárny s vyhřívanou hlavou.

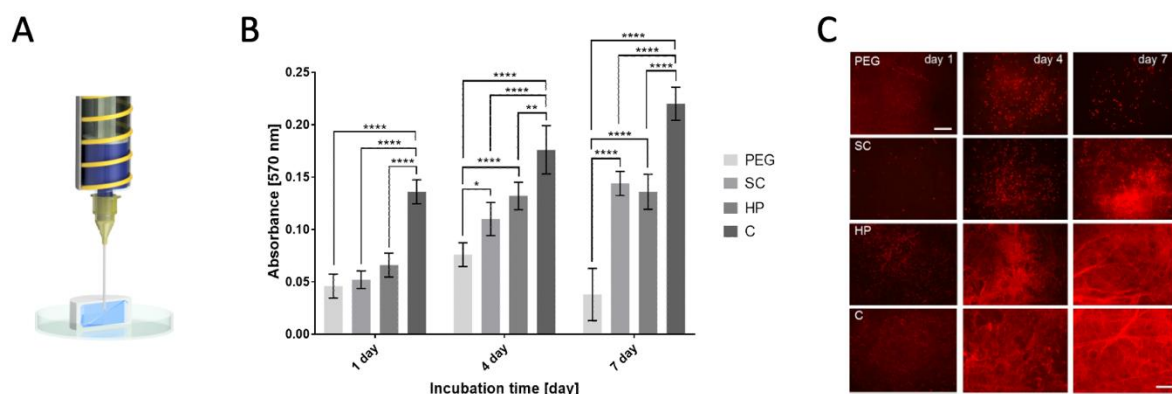
V první fázi byl porovnáván konvenční způsob povrchového osazení scaffoldu (disk 15×5 mm) buňkami – SC se způsobem povrchové injektáže stejného množství buněk suspendovaných v hydrogelu – HG (obr. 4.14). Osazení oběma způsoby probíhalo na normované ploše vymezené středovou kavitou o průměru 3,5 mm.



Obrázek 4.14: Porovnání osazení scaffoldu buňkami konvenčním způsobem a s využitím hydrogelu, A) testovací disk scaffoldu a detail středové kavity, B) vizualizace povrchové injektáže, C) fluorescenční mikroskopie proliferujících buněk, měřítko 1 mm

V případě hydrogelu docházelo k vyšší míře buněčné adheze bezprostředně po osazení. Hydrogel také příznivě podporoval povrchovou proliferaci reprezentovanou širším migračním rádiusem buněk od středové kavity 4. i 7. testovací den (obr. 4.14C). Bylo patrné, že hydrogel s buněčnou suspenzí bezprostředně po injektáži smáčel strukturu a migroval podél vláken, napomáhal tak počáteční konsolidaci a širší distribuci buněk rovnoměrně po struktuře scaffoldu.

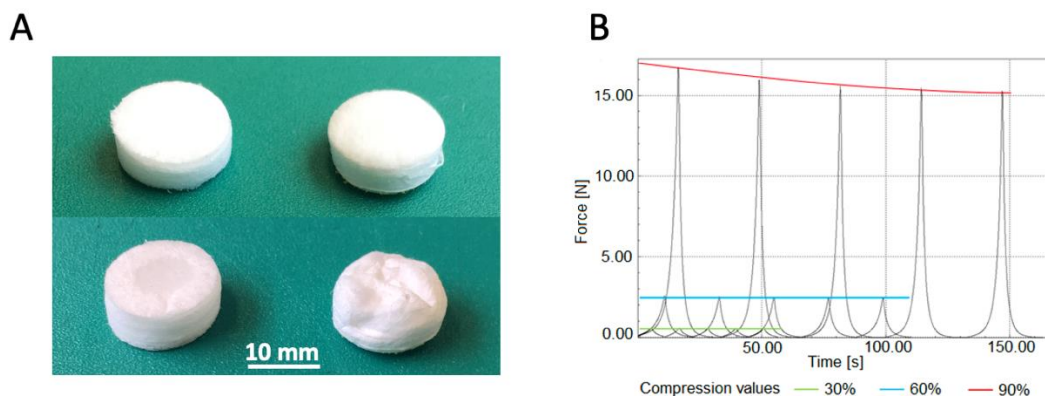
Mezi jednotlivým hydrogely, injektovanými společně s buněčnou suspenzí do vnitřní struktury scaffoldu, byly pozorovány výrazné rozdíly v podpoře buněčné viability a vnitřní proliferace (obr. 4.15). Jako naprosto nevhodný byl vyhodnocen hydrogel PEG s nejnižšími hodnotami dosahované viability. Naopak nejvyšší míru buněčné viability a vnitřní proliferace poskytoval hydrogel C, který umožňoval 7. den téměř konfluentní vyplnění vnitřní struktury scaffoldu.



Obrázek 4.15: Porovnání účinku jednotlivých hydrogelů A) vizualizace vnitřní injektáže, B) hodnoty MTT testu buněčné viability, C) fluorescenční mikroskopie vnitřní proliferace buněk, měřítko 500 μm

V průběhu dalších *in vitro* testů, které zahrnovaly již pouze hydrogel C a referenční skupinu, bylo 7. den kultivace pozorováno jen minimum mrtvých buněk ve vnitřní struktuře scaffoldu, jejichž podíl dosahoval 10 %. Hydrogel tedy umožňoval potřebnou saturaci buněk kyslíkem i nutrienty v celém objemu. Následná mikrotomografická analýza prokázala homogenní prosycení vlákněné struktury hydrogelem bez vniku nežádoucích kavit.

Jedním ze základních parametrů, které umožňovaly účinnou kombinaci kompozitních scaffoldů s hydrogelem, byla jejich mechanická odolnost. Kompozitní scaffoldy nepodléhaly při kontaktu s hydrogelem tvarovému kolapsu, který byl naopak jasně patrný u scaffoldů tvořených pouze vzduchem ukládanými nanovláknky z téhož polymeru.



Obrázek 4.16: Stabilitní testy, A) tvarová stálost po injektáži hydrogelu (kompozitní scaffold vlevo, nanovláknenný scaffold vpravo), B) schopnost vratné deformace v závislosti na míře cyklického namáhání

Potřebná míra mechanických vlastností byla demonstrována také cyklickými testy vratných deformací, která prokázaly, že kompozitní scaffoldy jsou schopné plného zotavení při opakovaném 60% stlačení (obr. 4.16B).

Výsledky této práce prokázaly, že zakomponování vhodné hydrogelové složky do struktury kompozitních scaffoldů zvyšuje jejich bioaktivní potenciál, v podobě vyšší míry počáteční buněčné adheze a proliferace v dalším průběhu *in vitro* kultivace. Benefit hydrogelové složky se projevoval vyšší buněčnou aktivitou zejména ve vnitřní struktuře, která bývá v případě objemných scaffoldů kritickým faktorem z důvodu obtížné saturace dostatečným množstvím kyslíku a nutrientů. Hydrogel, který byl schopný homogenně vyplnit vláknennou strukturu v celém průřezu, tuto saturaci zajišťoval díky vysokému obsahu vodné složky a nízké hustotě vnitřních vazeb. Nejlepších výsledků dosahoval hyaluronanový hydrogel s obsahem kolagenu typu I, tedy jedné ze základních složek kostní ECM. Ukázalo se, že tento přístup umožňuje dostatečná mechanická stabilita kompozitních scaffoldů, které se na rozdíl od čistě nanovláknenných scaffoldů při kontaktu s hydrogolem nedeformovaly. Práce představila benefity plynoucí z tohoto přístupu, avšak pouze na základě elementárních *in vitro* testů, a bude tak nezbytné tyto výsledky verifikovat další sérií podrobnějších experimentů.

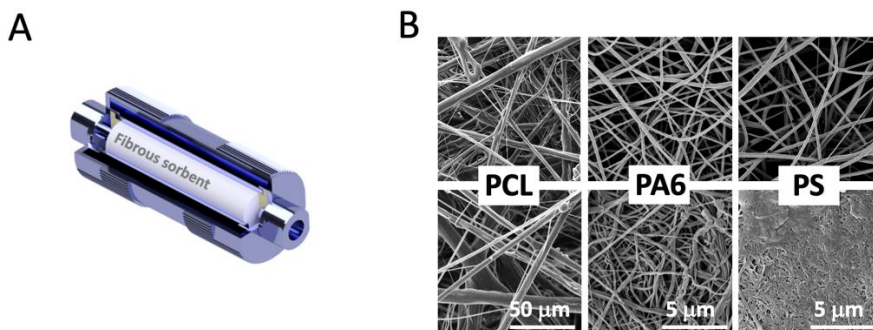
4.8 Komentář č. 6 – A comparison study of nanofiber, microfiber, and new composite nano/microfiber polymers used as sorbents for on-line solid phase extraction in chromatography system

Zcela první využití vlákenného kompozitu ze směsi mikrovláken a nanovláken jako sorbentu pro úpravu vzorků v analytické chemii bylo realizováno v rámci pilotní studie, kterou představuje tato práce. Cílem bylo studium využitelnosti kompozitu v úpravě vzorků metodou extrakce na tuhé fázi (SPE) pro kapalinové chromatografie při porovnání s dalšími vlákennými sorbenty. Velmi malé množství do té doby publikovaných studií zabývajících se využitím nanovláken jako extrakčních sorbentů se však z důvodu velmi nedostatečných mechanických vlastností nanovláken omezovalo pouze na oblast klasických nízkotlakých off-line metod. Jak již bylo popsáno, současným standardem v SPE se však stávají on-line vysokotlaké metody, pro které byl testovaný kompozit navržen. Proto probíhalo zcela nově toto testování ve vysokotlakém on-line režimu přepínání kolon, který byl součástí vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC).

Studie se skládala ze dvou na sebe navazujících fází. Pro jednotlivé fáze byly používány různé sady vlákenných sorbentů. V rámci první fáze proběhlo pro jednotlivé sorbenty stanovení základních procesních charakteristik on-line extrakce (složení mobilní fáze, rychlosti průtoku, extrakční časy) různých druhů analytů s rozdílnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. V této fázi byl vlákenný kompozit – PCL porovnáván s polyamidovými – PA6, polystyrenovými – PS, polyvinylidenfluoridovými – PVDF nanovláknými vyrobenými elektrickým zvlákňováním a s komerčním monolitickým sorbentem – C18.

Prvním krokem bylo ověření stability sorbentů umístěných po dobu 24 hodin v ultrazvukové lázni o teplotě 35 °C, obsahující organická rozpouštědla mobilní fáze, kterými byly methanol, etanol, acetonitril a voda. Kompozitní sorbent vykazoval výraznou nestabilitu v acetonitrilu, která však zanikla při snížení teploty na 20 °C.

Při plnicích testech extrakčních kolonek (10 × 4,6 mm) se výrazně projevila mechanická odolnost v kombinaci s objemností kompozitního sorbentu, která umožňovala velmi dobrou manipulovatelnost, rychlost procedury a homogenní vyplnění prostoru bez nežádoucích mrtvých objemů. Naproti tomu PA6 a PS sorbenty bylo nutné zdlouhavě skládat a pěstovat, což stejně nezaručilo homogenní vyplnění prostoru. Další limitací nanovláken spojenou s nedostatečnou hodnotou jejich celkové porozity bylo přílišný nárůst zpětného tlaku při zapojení do systému, který překračoval maximální pracovní limit 10 MPa. Z tohoto důvodu musel být pro další testování snížen objem zaplnění kolonky nanovláknými sorbenty na mez, která dostatečně snížila pracovní tlak.



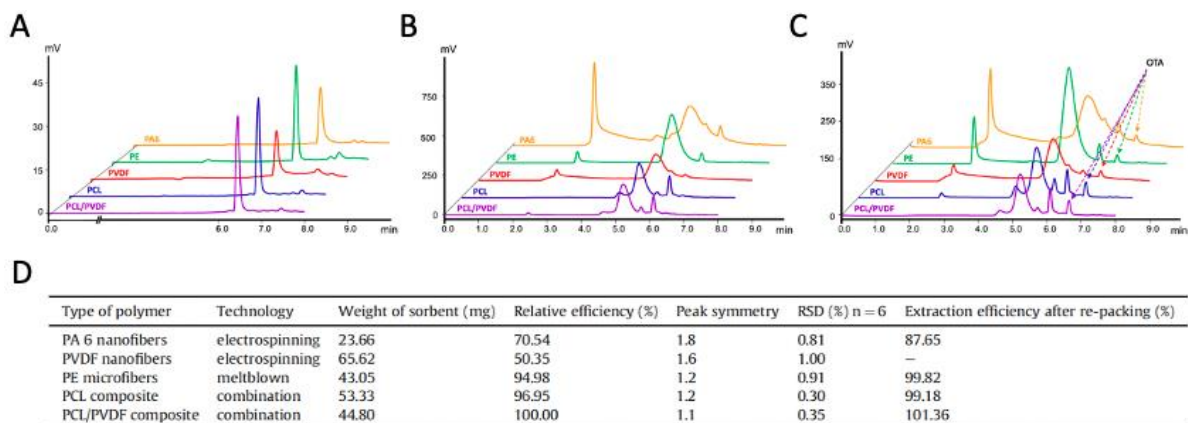
Obrázek 4.17: Plnicí testy, A) vizualizace umístění sorbentu v extrakční kolonce), B) SEM snímky struktury jednotlivých sorbentů před a po extrakci

Ovšem i při snížení tlaku docházelo k částečné (PA6) nebo kompletní deformaci vlákenné struktury. Naproti tomu se hodnota zpětného tlaku u kompozitního sorbentu pohybovala v rozmezí 4–5 MPa a nedocházelo k žádným změnám vlákenné struktury (obr. 4.17).

Pro předběžný test základních extrakčních vlastností byly vybrány modelové analyty na bázi pyretroidů a insekticidů s rozdílnými hodnotami disociační konstanty i rozdělovacího koeficientu. Nanovláknenný sorbent PA6 i kompozitní sorbent vykazovaly srovnatelnou extrakční účinnost a vyšší selektivitu v případě lipofilních analytů. Nicméně kompozitní sorbent dosahoval vyšší reprodukovatelnosti výsledků mezi jednotlivými náplněmi a delší životnost. Při následném porovnání kompozitního sorbentu s komerčním monolitem C18 na reálných vzorcích říční vody a půdy vykazoval kompozitní sorbent srovnatelnou extrakční účinnost a lepší separaci interferencí.

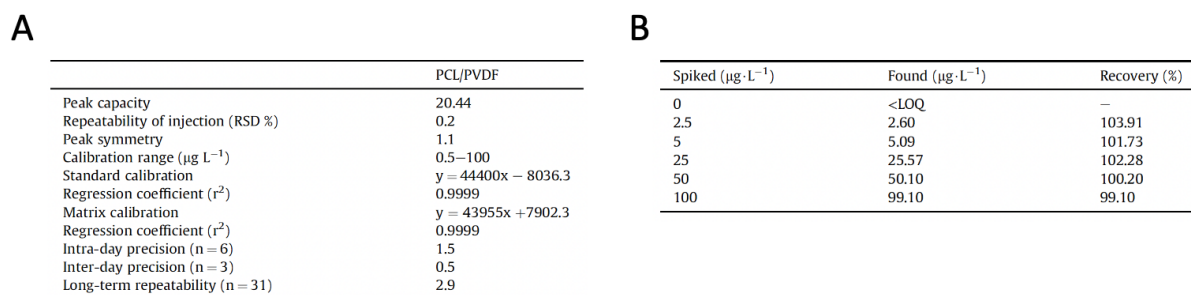
Druhá fáze spočívala v testování pěti druhů vlákenných sorbentů pro stanovení mykotoxinu ochratoxinu – OTA v reálných vzorcích piva, na které navazovala validace metody za využití nejúčinnějšího sorbentu. Oproti první fázi byly připraveny dva druhy kompozitních sorbentů. Klasický, s mikrovláknennou i nanovláknennou složkou z PCL – PCL/PCL, a druhý, obsahující nanovláknennou složku z polyvinylidenfluoridu – PCL/PVDF. Dále byla jako referenční sorbenty použita PA6 a PVDF nanovláknena a polyethylenová mikrovláknena – PE.

Obě varianty kompozitního sorbentu dosahovaly v porovnání s ostatními sorbenty výrazně lepších extrakčních vlastností (obr. 4.18). Avšak kompozitní sorbent PCL/PVDF dosahoval díky lipofilnější nanovláknenné složce vyšších extrakčních účinností a symetrie píku. Zároveň umožňoval nevyšší míru přečistění balastní matrice. Naproti tomu kompozitní sorbent PCL/PCL vykazoval lepší opakovatelnost. Hodnoty extrakčních vlastností nanovláknenných sorbentů byly opět negativně ovlivněny jejich kolabující strukturou. Pro finální validaci metody byl zvolen kompozitní sorbent PCL/PVDF.



Obrázek 4.18: Porovnání extrakční vlastností, A) chromatogramy standardizovaného roztoku OTA, B) chromatogramy pivní matrice, C) chromatogramy pivní matrice s OTA, D) hodnoty extrakčních vlastností

Během validačních testů byla stanovena relativní směrodatná odchylka (RSD %) opakovatelnosti nástřiku při relativní směrodatné odchylce (RSD %) 0,2 % pro 10 po sobě jdoucích analýz. Dlouhodobá opakovatelnost při 31 analýzách realizovaných v různé dny byla stále pouze 2,9 %, tedy výrazně pod hranicí 5 %, která umožňuje standardizovanou validovatelnost analytické metody. Struktura kompozitního sorbentu nevykazovala patrné změny ani po 230 analýzách. Vysoká míra opakovatelnosti i při extrémně dlouhém využití byla významným benefitem ve srovnání s klasickými komerčními sorbenty, které jsou určeny pouze pro jednu analýzu.



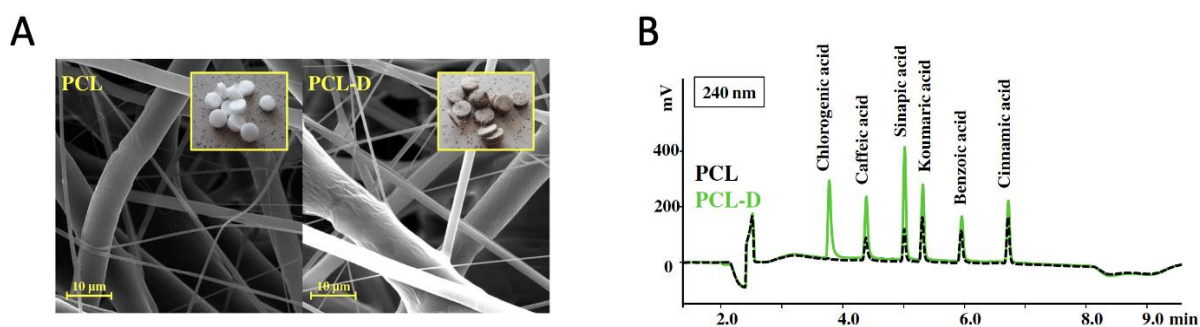
Obrázek 4.19: Validace metody, A) validační charakteristiky, B) extrakční účinnost v závislosti na koncentraci kalibračního rozsahu

Výsledky pilotní studie prokázaly nesporné výhody kompozitního sorbentu ve srovnání s klasickými nanovláčnými materiály, spočívající zejména v jejich mechano-strukturních vlastnostech. Kompozitní sorbent dosahoval srovnatelných extrakčních vlastností jako komerční C18 sorbent při prokazatelně lepší dlouhodobé stabilitě a schopnosti zadržování interferencí.

4.9 Komentář č. 7 – Polycaprolactone nanofibers functionalized with a dopamine coating for on-line solid phase extraction of bisphenols, betablockers, nonsteroidal drugs, and phenolic acids

Předchozí pilotní studie ukázala, že kompozitní sorbenty mají velmi dobré extrakční vlastnosti v případě nepolárních analytů. To bylo dáno hydrofobním charakterem PCL. Cílem této práce bylo stanovit jednoduchou metodu funkcionalizace kompozitních sorbentů, vedoucí ke zvýšení jejich hydrofility, která umožní efektivnější extrakci polárnějších analytů. V rámci práce byl vyvinut funkcionalizační postup spočívající v tvorbě souvislé vrstvy polydopaminu na povrchu vláken sorbentu. Dopamin byl vybrán z řady polyfenolických sloučenin schopných velmi účinně tvořit hydrofilní povlaky pro svou silnou afinitu k aminovým, esterovým a thiolovým skupinám substrátu. Samotný protokol tvorby povlaku spočíval v takzvaném „*in situ* dip coatingu“ vzorků v mírně alkalické polymerační lázni.

Pro testování v on-line SPE HPLC systému byly připraveny dva typy kompozitního sorbentu: klasický kompozitní sorbent – PCL a kompozitní sorbent funkcionalizovaný polydopaminem, označený jako – PCL-D (obr. 4.20A). Základní extrakční vlastnosti byly testovány pro několik skupin modelových analytů z řad lipofilních bisfenolů hydrofilních fenolových kyselin, nesteroidních antiflogistik kyselého charakteru a betablokátorů alkalického charakteru. Následně byly podrobněji analyzovány extrakční opakovatelnosti na reálných vzorcích říční vody, lidského séra a moči.



Obrázek 4.20: Porovnání extrakčních vlastností, A) struktura kompozitních sorbentů, B) porovnání chromatogramů obou sorbentů pro vybrané fenolové kyseliny

Hydrofilní dopaminový povlak sorbentu podle očekávání zvýšil schopnost extrakce polárnějších analytů ze skupiny fenolových kyselin. Nejmarkantnější rozdíl byl v případě kyseliny chlorogenové, u které byl pozorován záchyt pouze na funkcionalizovaném sorbentu (obr. 4.20B). Naopak rozdílná acidobazicitata analytů neměla na extrakci výrazný vliv.

Oba testované sorbenty vykazovaly podobnou stabilitu a opakovatelnost pro všechny analyty, která dosahovala hodnot RSD pod 5 % při deseti 10 po sobě jdoucích analýzách. Nicméně doplňkové testy opakovatelnosti v závislosti na stáří sorbentů prokázaly, že sorbenty dosahovaly požadované přesnosti extrakce do 18 měsíců od data výroby při skladování za běžných atmosférických podmínek. Závěrečné testování na reálných vzorcích prokázalo benefity v případě betablokátorů v moči, kde funkcionalizovaný sorbent dosahoval vyšší extrakční účinnosti i přečištění od interferencí.

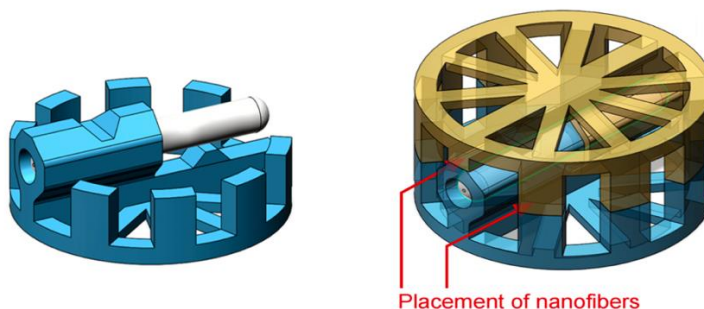
Práce potvrdila významné benefity funkcionalizace kompozitních sorbentů polydopaminovým povlakem pro skupiny polárnějších analytů. Navržená funkcionalizační metoda představuje jednoduchý a relativně levný způsob zvýšení extrakčních vlastností kompozitních sorbentů. Zároveň představuje univerzální platformu, která může být v budoucnu modifikovaná změnou nebo začleněním dalších molekul přinášejících specifické vlastnosti.

4.10 Komentář č. 8 – 3D-printed magnetic stirring cages for semidispersive extraction of bisphenols from water using polymer micro- and nanofibers

Analýza environmentálních vzorků bývá často spojena s nutností jejich úpravy při obsahu analytů v koncentracích pod detekčními limity současných metod. V těchto případech musí být za účelem předkoncentrování a čištění upraveno poměrně velké množství vzorku, což vylučuje použití vysokotlakých on-line technik. Jedním z přístupů úpravy velkoobjemových vzorků metodou SPE bývá extrakce míchací tyčinkou potaženou sorpční vrstvou. Tento přístup je ale obtížně kombinovatelný s vláknými sorbenty. Cílem této práce byl vývoj míchací klece vyrobené pomocí 3D tisku, která umožňovala integraci vlákného sorbentu pro nízkotlakou off-line úpravu vzorků pro analýzu bisfenolů z říčních vod.

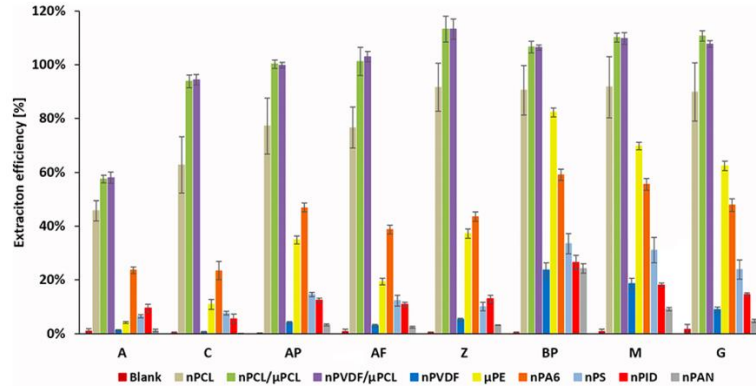
Pro testy byl použit klasický kompozitní sorbent s mikrovláknou i nanovláknou složkou z PCL – PCL/PCL a kompozitní sorbent obsahující nanovláknou složku z PVDF – PCL/PVDF. Dále byly jako referenční sorbenty použity nanovlákné vrstvy z polyamidu – PA6, polyvinylidenfluoridu – PVDF, polykaprolaktonu – PCL, polyimidu – PID, polyakrylonitrilu – PAN, polystyrenu – PS a polyethylenová mikrovlákna – PE.

Míchací klec byla navržena v podobě pouzdra z dvou identických rotačních protikusů spojených vloženou míchací tyčinkou, které obsahovalo dva oddělené prostory pro vložení vlákného sorbentu (obr. 4.21). Klec byla vyrobena technologií FDM 3D tisku z různých polymerních materiálů, které v průběhu výzkumu podléhaly další selekci. Optimální míra rotace klece ve vodných vzorcích byla s ohledem na její stabilitu stanovena na 300 ot/min.



Obrázek 4.21: Konstrukční model míchací klece

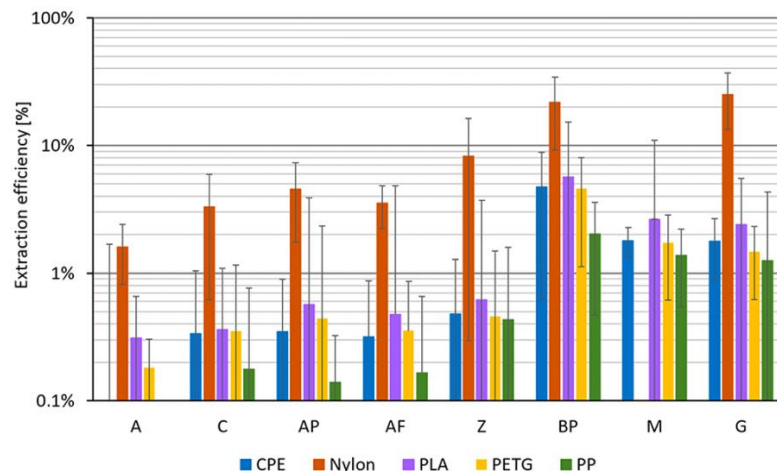
Nejprve bylo provedeno stanovení extrakční účinnosti jednotlivých sorbentů ze směsného standardu bisfenolů. Sorbenty byl umístěny v míchací kleci vyrobené z PLA. Nejvyšší extrakční účinnosti dosahovaly oba kompozitní sorbenty, následované nanovlákným PCL a pak dalšími sorbenty v pořadí podle hodnot extrakční účinnosti na obrázku 4.22.



Obrázek 4.22: Porovnání extrakčních účinností jednotlivých sorbentů

Oba kompozitní sorbenty a mikrovláknový sorbent PE jako jedině během extrakce nepodléhaly výraznější deformaci a kompletně vyplňovaly příslušný prostor. Celkově byly výsledky extrakční účinnosti příznivější pro kompozitní sorbent PCL/PCL, který tak byl vybrán pro další testy.

Dalším kritickým faktorem byla identifikace vhodného tiskového polymeru, který vykazoval nejmenší extrakční kapacitu bisfenolů z vysoce koncentrovaného směsného standardu. U všech testovaných materiálů byla pozorována významná retence bisfenolu BP. Nejnižší extrakční kapacitou bisfenolů vykazovaly klece z PP s max. 2 % (obr. 4.23). S ohledem na vysokou úroveň koncentrace použitého standardu bylo možné PP považovat za inertní. PP byl po následném vyloučení přítomnosti obsahu dalších interferenčních látek v tiskové struně vybrán pro další výzkum.



Obrázek 4.23: Míra extrakce jednotlivých bisfenolů tiskovými materiály

Finální testy extrakčních vlastností ukázaly, že potřebná extrakce analytů ze 100 ml vzorku trvala při použití 50 mg sorbentu 50 minut a následná eluce v methanolu 35 minut, což bylo výrazně méně než časy potřebné v případě klasických extrakčních tyčinek. Míchací pouzdro s totožnou náplní bylo možné použít pro pět extrakčních cyklů při procedurální opakovatelnosti po 5 % RSD. Tato metoda umožňovala limity detekce a kvantifikace bisfenolů v rozsahu 0,1–2,1 respektive 0,4–7,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Míchací klec vytvořená metodou 3D tisku tak v kombinaci s kompozitním sorbentem představovala výhodný technologicko-materiálový koncept pro tvorbu účinné metody úpravy velkoobjemových environmentálních vzorků pro následné analýzy. Představená metoda umožňuje využití v rozmanité řadě aplikací včetně stanovení dalších analytů a potenciálně také pro manipulaci s jinými kapalnými matricemi.

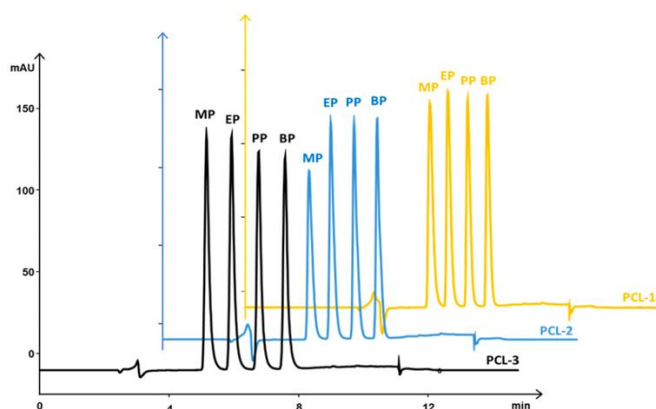
4.11 Komentář č. 9 – Poly- ϵ -caprolactone nanofibrous polymers: a simple alternative to restricted access media for extraction of small molecules from biological matrixes

Dosavadní práce byly zaměřeny převážně na studium extrakčních vlastností kompozitních sorbentů pro úpravu potravinářských a environmentálních vzorků v podobě jednodušších vodných matric. Dalším logickým krokem bylo ověření jejich využitelnosti pro biologické vzorky představované komplexními matricemi s vysokým obsahem vysokomolekulárních lipidových a proteinových interferencí. V současné době jsou pro tyto typy matric používány vysoce selektivní RAM sorbenty s omezeným přístupem. Tento druh sorbentů je však finančně nákladný a omezený svou chemickou stabilitou i nízkou univerzálností. Cílem této práce tak bylo studium využitelnosti kompozitních vláknenných sorbentů pro extrakci analytů z komplexní biologické matrice v podobě kravského mléka a lidského séra s modelovými analyty v podobě methyl-, ethyl-, propyl- a butylparabenu.

Studium spočívalo v testování extrakčních vlastností klasického PCL kompozitního sorbentu umístěného do tří rozdílných typů extrakčních kolonek, lišících se rozměry vnitřní kavity: $4,6 \times 25$ mm – PCL 1; $4,6 \times 10$ mm – PCL 2 a $2,3 \times 20$ mm – PCL 3. Různé typy kolonek byly porovnávány s komerčním RAM sorbentem ADS RP-C18.

Před testováním reálných matric byl základní princip separace nízkomolekulární analytů a vysokomolekulárních proteinových interferencí testován na modelovém vzorku sérového albuminu. V tomto případě se potvrdil základní předpoklad spočívající v rozdílné intenzitě navázání analytů a proteinů na povrch sorbentu. Proteinové interference tak mohly být velmi účinně vymyty ze sorbentu před závěrečnou elucí analytů na kolonu. Účinnost a rychlost separace proteinových interferencí byla srovnatelná s komerčním RAM sorbentem.

Podle výsledků testování reálných matric v on-line systému byly kompozitní sorbenty účinnější v případě lidského séra. U mléka vykazovaly kolonky PCL 1 a PCL 3 přítomnost zbytkových interferencí spojených s nárůstem zpětného tlaku, což bylo spojeno s vyšším obsahem proteinů v porovnání se sérem. Nedokonalé přečištění od interferencí vedlo zejména k prodloužení času zadržení a celkové analýzy, avšak celková symetrie a ojednocení píků jednotlivých parabenů tím nebyla ovlivněna (obr. 4.24). Geometrie PCL 2 tedy vykazovala nejlepší výsledky, dané dostatečným průřezem a minimalizací kapilárního jevu, zabráňující nadměrnému nárůstu zpětného tlaku. Kolonka PCL 2 dosahovala v případě obou matric extrakční účinnosti v rozmezí 90–100 %.



Obrázek 4.24: Symetrie píků jednotlivých parabenů po extrakci testovanými kolonkami

Opět byla potvrzena vysoká stabilita kompozitního sorbentu, který i po provedení více než 300 extrakcí vykazoval totožnou symetrii píků a opakovatelnost extrakce s hodnotou RSD pod 5 %.

Dosažené výsledky potvrdily, že je možné v případě některých matric nahradit RAM levnější variantou v podobě vlákenného kompozitního sorbentu, který je navíc díky svým mechanickým vlastnostem méně náchylný k poškození při nešetrné manipulaci.

5 ZÁVĚR

Předložená disertační práce reprezentuje ucelený soubor výsledků zabývajících se zpracováním biodegradabilního PCL technologií meltblown do podoby mikrovláken a následným návrhem způsobu výroby vlákenného kompozitu využívající tato vlákna jako svou základní složku. Další výsledky popisují využití těchto vlákenných kompozitů jako základu pro vývoj tkáňových nosičů i extrakčních sorbentů a studium jejich využití v regeneraci kostní tkáně a v předúpravě vzorků pro kapalinové chromatografie. Konkrétní výsledky, které přinesla tato práce, jsou:

- **První zveřejněný výzkum dokládající zpracovatelnost samotného PCL technologií meltblown do podoby mikrovlákněné struktury** s vlastnostmi typickými pro tuto technologii. Zpracovatelnost PCL byla přímo závislá na hodnotě jeho molekulové hmotnosti a s úspěchem bylo možné využít PCL s M_n 25 000 g/mol, které dosahovalo tokových vlastností vhodných pro tuto technologii. Na základě výsledků jednotlivých parametrických testů byl stanoven technologický rámec vymezující procesní podmínky, které umožnily produkci mikrovláken s průměry v rozmezí 4–7 μm . Mikrovlákna vyrobená za těchto podmínek nevykazovala projevy degradačních procesů v podobě změny molekulové hmotnosti nebo krystalinity.
- Na základě těchto poznatků byl vyvinut a patentován způsob výroby polymerního vlákenného kompozitu, založený na kombinaci elektrického zvláknování a technologie meltblown. **Tento způsob umožňuje tvorbu vysoce porézní struktury z homogenně dispergované směsi mikrovláken a nanovláken při zachování užitečných vlastností obou složek.** Vysoká porozita, objemnost a homogenita promísení vlákenných složek byla v souladu s tezemi zajištěna depozicí vláken pomocí usměrněného proudu vzduchu. Patent tak představuje v porovnání s konvenčními metodami tvorby samotných nanovláken řádově produktivnější způsob výroby polymerního vlákenného kompozitu se srovnatelnými nebo lepšími vlastnostmi.
- Vlákenný kompozit obsahující obě složky z PCL vykazuje i při 95% porozitě dobrou strukturální stabilitu a schopnost vratných deformací, které umožňují snadnou manipulaci. Kompozit zaručuje snadnou dělitelnost a lze jej velmi jednoduše a rychle tvarově přizpůsobovat s ohledem na koncové využití, což je nezbytná vlastnost například pro augmentaci kostních defektů různých tvarů a velikostí. Výsledná struktura dosahuje četnostního obsahu nanovláken 55 % a středních hodnot průměrů jednotlivých pórů v rozmezí 50–80 μm .

- Základní *in vitro* experimenty s nádorovými osteoblasty ukazují, že vlákenný kompozit s obsahem mikrovláken a nanovláken je schopen jako scaffold podporovat buněčnou adhezi, viabilitu a proliferaci účinněji v porovnání se strukturami tvořenými pouze jednou ze složek. Tato schopnost lze dále podpořit jednoduchou funkcionalizací spočívající v homogenním pokrytí povrchu jednotlivých vláken nanočásticemi hydroxyapatitu nebo prosycením celého objemu struktury vhodným hydrogelem. V případě *in vitro* kultivace s mezenchymálními kmenovými buňkami prokázal kompozitní scaffold osteoindukční vlastnosti v podobě podpory osteogenní diferenciaci a exprese kostní extracelulární matrix.
- **Scaffold implantovaný do kostního defektu v kondylu femuru králíka po dobu 70 dnů umožnil *in situ* novotvorbu plnohodnotné, vaskularizované kostní tkáně.** Dosažení takto příznivých výsledků v regeneraci kostní tkáně umožnily zejména mechano-strukturní vlastnosti vlákenného kompozitu.
- Vlákenný kompozit byl testován v analytické chemii jako sorbent pro úpravu vzorků metodou extrakce na tuhé fázi v kapalinových chromatografiích. Při zapojení ve vysokotlakém on-line okruhu přepínání kolon prokazoval na rozdíl od nanovláken potřebnou míru strukturální stability a dosahoval lepších extrakčních vlastností. Výsledky ukazují velmi dobré extrakční účinnosti, zejména pro nepolární skupiny analytů z jednodušších environmentálních i komplexních biologických matic.
- **Kompozitní sorbent dosahoval srovnatelných extrakčních vlastností jako komerční C18 i RAM sorbenty při prokazatelně lepší dlouhodobé stabilitě a schopnosti zadržování interferencí.** Tyto výsledky, spolu s opakovatelností jednotlivých cyklů pod 5 % RSD, vyhovují mezinárodním standardům pro využití v reálných analytických metodách.
- Pro kompozitní sorbent byla navržena metoda funkcionalizace na principu potažení povrchu vláken polydopaminem *in situ* v polymerační lázni. Výsledky potvrdily pozitivní vliv polydopaminového povlaku na účinnost extrakce polárnějších analytů.

Tato práce přinesla soubor inovativních procesů, vedoucí k tvorbě vlákenného kompozitního materiálu s vysokým užitným potenciálem ve tkáňovém inženýrství i analytické chemii. Tento materiál poskytl doposud základ pro vznik téměř tří desítek vědeckých publikací, patentů a užitných vzorů. Prokázané vlastnosti a dosažené výsledky se setkávají s velmi dobrým přijetím vědecké i průmyslové sféry, na základě kterého již probíhá intenzivní snaha o komercializaci v oblasti analytické chemie.

6 PERSPEKTIVY BUDOUCÍHO VÝZKUMU

Charakter této práce, spočívající v novosti technologicko-materiálových kombinací, výsledných struktur i jejich následných aplikací, přinesl převážně výsledky fundamentálního charakteru. Tyto výsledky je třeba v budoucnu dále rozvíjet nebo objasnit některé principy vzniku pozorovaných jevů. Budoucí výzkumy vycházející z této práce by se tak měly věnovat těmto tématům:

- Doposud realizované testy zpracovatelnosti polykaprolaktonu technologií meltblown byly limitované celou řadou faktorů a je třeba provést další parametrické studie při vyšším rozsahu průtokového objemu primárního vzduchu a stabilnějších dodávkách polymerní taveniny. V budoucnu by měl být prověřen také vliv změny geometrie trysky a průměrů zvlákňovacích otvorů či možnost zpracování jiným typem technologie, nabízí se například prstencová konstrukce technologie BIAX.
- Samotné kompozitní vlákenné struktury poskytují možnosti budoucího výzkumu spočívající v širokém portfoliu využitelných materiálů a koncových aplikací. Další výzkum by tak měl být zaměřen na nové kombinace polymerních materiálů jednotlivých složek kompozitu, a to biodegradabilních i nedegradabilních. Nové varianty vlákenného kompozitu přinášející rozdílné specifické vlastnosti by mohly být slibnými materiály nejen pro nové typy scaffoldů nebo sorbentů, ale také biologických a průmyslových filtrů.
- V případě tkáňového inženýrství je třeba realizovat další *in vitro* a *in vivo* testy v rámci kterých bude popsáno degradační chování kompozitních scaffoldů v závislosti na podmínkách kultivace nebo implantace. V rámci testů by měl být kladen důraz na analýzu změn mechanických i materiálových vlastností a jejich dopad na okolní tkáň.
- Část práce věnující se analytické chemii prokázala, že kompozitní sorbenty s hodnotou měrného povrchu $0,3 \text{ m}^2/\text{g}$ jsou schopné dosahovat srovnatelných extrakčních vlastností jako komerční monolitické sorbenty s měrným povrchem $\sim 250 \text{ m}^2/\text{g}$. Budoucí výzkum by měl směřovat k objasnění tohoto fenoménu a cílit zejména na porovnání hustoty vazných bodů i kvality vznikajících vazeb na povrchu jednotlivých sorbentů.

7 SEZNAM VĚDECKÝCH VÝSTUPŮ KANDIDÁTA

Publikace ve vztahu k předložené práci

Erben, J., Pilarova, K., Sanetnik, F., Chvojka, J., Jencova, V., Blazkova, L., Havlicek, J., Novak, O., Mikes, P., Prosecka, E., Lukas, D., Kuzelova Kostakova, E. (2015) *The combination of meltblown and electrospinning for bone tissue engineering*. *Materials Letters*, 143, 172 - 176, DOI: 10.1016/j.matlet.2014.12.100

Erben, J., Jencova, V., Chvojka, J., Blazkova, L., Strnadova, K., Modrak, M., Kuzelova Kostakova, E. (2016) *The combination of meltblown technology and electrospinning – The influence of the ratio of micro and nanofibers on cell viability*. *Materials Letters*, 173, 153 - 157, DOI: 10.1016/j.matlet.2016.02.147

Rampichova, M., Chvojka, J., Jencova, V., Kubikova, T., Tonar, Z., Erben, J., Buzgo, M., Dankova, J., Litvinec, A., Vocetkova, K., Plecner, M., Prosecka, E., Sovkova, V., Lukasova, V., Kralickova, M., Lukas, D., Amler, E. (2018) *The combination of nanofibrous and microfibrous materials for enhancement of cell infiltration and in vivo bone tissue formation*. *Biomedical Materials*, 13(2), DOI: 10.1088/1748-605X/aa9717

Hakova, M., Chocholousova Havlikova, L., Chvojka, J., Erben, J., Solich, P., Svec, F., Satinsky, D. (2018) *A comparison study of nanofiber, microfiber, and new composite nano/microfiber polymers used as sorbents for on-line solid phase extraction in chromatography system*. *Analytica Chimica Acta*, 1023, 44 - 52, DOI: 10.1016/j.aca.2018.04.023

Sramkova, H. I., Rozas, C. L., Horstkotte, B., Hakova, M., Erben, J., Chvojka, J., Svec, F., Solich, P., Garcia-Campana, A., Satinsky, D. (2019) *Screening of extraction properties of nanofibers in a sequential injection analysis system using a 3D printed device*. *Talanta*, 197, DOI: 10.1016/j.talanta.2019.01.050

Hakova, M., Chocholousova Havlikova, L., Svec, F., Solich, P., Erben, J., Chvojka, J., Satinsky, D. (2019) *Novel nanofibrous sorbents for the extraction and determination of resveratrol in wine*. *Talanta*, 206, DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120181

Hakova, M., Chocholousova Havlikova, L., Solich, P., Svec, F., Chvojka, J., Erben, J., Satinsky, D. (2019) *Polycaprolactone nanofibers functionalized with dopamine coating: A new sorbent for on-line solid phase extraction of bisphenols, betablockers, nonsteroidal drugs, and phenolic acids*. *Microchimica Acta*, 186, DOI: 10.1007/s00604-019-3846-2

Sramkova, H. I., Horstkotte, B., Erben, J., Chvojka, J., Svec, F., Solich, P., Satinsky, D. (2020) *3D-printed magnetic stirring cages for semi-dispersive extraction of bisphenols from water using polymer micro- and nanofibers*. *Analytical Chemistry*, 92, 5, 3964-3971 DOI: 10.1021/acs.analchem.9b05455

Raabova, H., Hakova, M., Chocholousova Havlikova, L., Erben, J., Chvojka, J., Solich, P., Svec, F., Satinsky, D. (2020) *Poly- ϵ -caprolactone nanofibrous polymers: A simple alternative to restricted access media for extraction of small molecules from biological matrixes*. Analytical Chemistry, 92, 10, 6801–6805, DOI:10.1021/acs.analchem.0c00544

Hakova, M., Valachovic, A., L., Erben, J., Chvojka, J., Solich, P., Svec, F., Satinsky, D. (2020) *On-line polydopamine coating as a new way to functionalize fibrous sorbent for solid phase extraction*. Talanta, 219, DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121189

Raabova, H., Erben, J., Chvojka, J., Solich, P., Svec, F., Satinsky, D. (2021) *The role of pKa, log P of analytes, and protein matrix in solid-phase extraction using native and coated nanofibrous and microfibrinous polymers prepared via meltblowing and combined meltblowing / electrospinning technologies*. Talanta, 232, DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122470

Kholova, A., Lhotska, I., Erben, J., Chvojka, J., Svec, F., Solich, P., Satinsky, D. (2021) *Comparison study of nanofibers, composite nano/microfiber materials, molecularly imprinted polymers, and core-shell sorbents used for on-line extraction-liquid chromatography of ochratoxins in Tokaj wines*. Microchemical Journal, 170(13), DOI: 10.1016/j.microc.2021.106680

Raabová, H., Chocholoušová Havlíková, L., Erben, J., Chvojka, J., Švec, F., Šatínský, D., Chvojka, J. (2021) *Polycaprolactone Composite Micro/Nanofibrous Material as an Alternative to Restricted Access Media for Direct Extraction and Separation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs from Human Serum Using Column-Switching Chromatography*. Nanomaterials, 11(10):2669, DOI: 10.3390/nano11102669

Kholova, A., Lhotska, I., Erben, J., Chvojka, J., Svec, F., Solich, P., Satinsky, D. (2022) *Comparing adsorption performance of microfibers and nanofibers with commercial molecularly imprinted polymers and restricted access media for extraction of bisphenols from milk coupled with liquid chromatography*. Talanta, 252, DOI: 10.1016/j.talanta.2022.123822

Erben, J., Jirkovec, R., Kalous, T., Klicova, M., Chvojka, J. (2022) *The Combination of Hydrogels with 3D Fibrous Scaffolds Based on Electrospinning and Meltblown Technology*. Bioengineering, 9(11):660, DOI: 10.3390/bioengineering9110660

Kholova, A., Lhotska, I., Erben, J., Chvojka, J., Svec, F., Solich, P., Satinsky, D. (2023) *Comparison of nanofibers, microfibers, nano/microfiber graphene doped composites, molecularly imprinted polymers, and restricted access materials for on-line extraction and chromatographic determination of citrinin, zearalenone, and ochratoxin A in plant-based milk beverages*. Microchemical Journal, 191, 108937, DOI: 10.1016/j.microc.2023.108937

Ostatní publikace

- Pogorielov, M., Hapchenko, A., Deineka, V., Rogulska, L., Oleshko, O., Vodsedalkova, K., Berezkinova, L., Vyslouzilova, L., Klapstova, A., Erben, J. (2018) *In vitro degradation and in-vivo toxicity of NanoMatrix3D® PCL and PLA nanofibrous scaffolds*. Journal of Biomedical Materials Research – Part A, 106(8), DOI: 10.1002/jbm.a.36427
- Horakova, J., Klicova, M., Erben, J., Klapstova, A., Novotny, V., Behalek, L. Chvojka, J. (2020) *Impact of various sterilization and disinfection techniques on electrospun poly-ε-caprolactone*. ACS Omega, 5, 15, 8885-8892, DOI: 10.1021/acsomega.0c00503
- Martinek, J., Dolezel, R., Walterova, B., Kollar, M., Juhas, S., Juhasova, J., Vackova, Z., Hustak, R., Erben, J. (2020) *Stenting in preventing esophageal stricture after circumferential endoscopic submucosal dissection – an experimental study*. Endoscopy International Open, 08(11), E1698-E1706, DOI: 10.1055/a-1261-3103
- Erben, J., Kalous, T., V., Chvojka, J. (2020) *The AC bubble electrospinning technology for preparation of nanofibrous mats*. ACS Omega, 5, 14, 8268-8271, DOI: 10.1021/acsomega.0c00575
- Klapstova, A., Horakova, J., Tunak, M., Shynkarenko, A., Erben, J., Hlavata, J., Bulir, D., Chvojka J. (2020) *A PVDF electrospun antifibrotic composite for use as a glaucoma drainage implant*. Materials Science and Engineering: C, 119 (40), DOI: 10.1016/j.msec.2020.111637
- Jirkovec, R., Erben, J., Sajdl, P., Chaloupek, J., Chvojka, J. (2021) *The effect of material and process parameters on the surface energy of polycaprolactone fibre layers*. Materials & Design, 205 (48):109748, DOI: 10.1016/j.matdes.2021.109748
- Kalous, T., Holec, P., Erben, J., Bílek, M., Batka, O., Pokorny, P., Chaloupek, J., Chvojka, J. (2021) *The Optimization of Alternating Current Electrospun PA 6 Solutions Using a Visual Analysis System*. Polymers, 13(13), 2098, DOI: 10.3390/polym13132098
- Erben, J., Klíčová, M., Klápšřová, A., Háková, M., Lhotská, I., Zatrochová, S., Satinsky, D. (2021) *New Polyamide 6 Nanofibrous Sorbents Produced Via Alternating Current Electrospinning For The On-Line Solid Phase Extraction Of Small Molecules In Chromatography Systems*. Microchemical Journal, 174:107084, DOI: 10.1016/j.microc.2021.107084
- Jirkovec, R., Erben, J., O., Samkova, A., Chaloupek, J., Chvojka, J. (2022) *The effect of the electrospinning setup on the surface energy of polycaprolactone nanofibre layers*. Journal of Industrial Textiles, DOI: 10.1177/15280837221086894
- Klicova, M., Oulehlova, Z., Klapstova, A., Hejda, M., Krejčik, M., Novak, O., Erben, J., Mullerova, J., Rosendorf, J., Palek, R., Liska, V., Fucikova, A., Chvojka, J., Zvercova, I., Horakova, J. (2022) *Biomimetic hierarchical nanofibrous surfaces inspired by superhydrophobic lotus leaf structure for preventing tissue adhesions*. Materials & Design, 217, DOI: 10.1016/j.matdes.2022.110661

Šrámková, I., Horstkotte, B., Carbonell-Rozas, L., Erben, J., Chvojka, J., Lara, F.J., García-Campaña, A.M., Satinsky, D. (2022) *Nanofibrous Online Solid-Phase Extraction Coupled with Liquid Chromatography for the Determination of Neonicotinoid Pesticides in River Waters*. *Membranes*, 12(7), DOI: 10.3390/membranes12070648

Erben, J., Blatonova, K., Kalous, T., Capek, L., Behalek, L., Boruvka, M., Chvojka, J. (2022) *THE INJECTION MOLDING OF BIODEGRADABLE POLYDIOXANONE – a study of the dependence of the structural and mechanical properties on thermal processing conditions*. *Polymers*, 14(24):5528, DOI: 10.3390/polym14245528

Zatrochova, A., Lhotska, I., Erben, J., Chvojka, J., Svec, F., Chocholous, P., Satinsky, D. (2023) *Small nanofibrous disks for preconcentration of environmental contaminants followed by direct in-vial elution and chromatographic determination*. *Talanta*, 263:124688, DOI: 10.1016/j.talanta.2023.124688

Klicova, M., Rosendorf, J., Erben, J., Horakova, J. (2023) *Antiadhesive Nanofibrous Materials for Medicine: Preventing Undesirable Tissue Adhesions*. *ACS OMEGA*, 8(23), DOI: 10.1021/acsomega.3

Lhotska, I., Hakova, M., Erben, J., Chvojka, J., Svec, F., Solich, P., Satinsky, D. (2023) *Stirred discs from polycaprolactone nanofibers highly doped with graphene for straightforward preconcentration of pollutants in environmental waters*. *Talanta*, 266(Pt 1):124975, DOI: 10.1016/j.talanta.2023.124975

Klicova, K., Mullerova, S., Rosendorf, J., Klapstova, A., Jirkovec, R., Erben, J., Petrzilkova, M., Raabová, H., Satinsky, D., Melicherikova, J., Palek, R., Liska, V., horakova, J. (2023) *Large-Scale Development of Antibacterial Scaffolds: Gentamicin Sulfate-Loaded Biodegradable Nanofibers for Gastrointestinal Applications*. *ACS OMEGA*, DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05924>

Patenty a užité vzory

Chvojka, J., Lukáš, D., Kuželová Košťáková, E., Mikeš, P., Klápšťová, A., Erben, J., Zálešáková, D. *Kryt kůže nebo rány, který obsahuje canabidiol a/nebo jeho derivát/deriváty, polymerní nanovlákná a/nebo mikrovlákná obsahující canabidiol a/nebo jeho derivát/deriváty, a způsob výroby polymerních nanovláken a/nebo mikrovláken obsahujících canabidiol a/nebo jeho derivát/deriváty*. Patent, PS4029CZ, 16.6.2015

Chvojka, J., Mikeš, P., Sanetník, F., Erben, J., Lukáš, D. *Způsob výroby prostorově tvarované vrstvy polymerních nanovláken a způsob pokrývání prostorově tvarovaného povrchu tělesa prostorově tvarovanou vrstvou polymerních nanovláken*. Patent, CZ 305569 B6, 4.11.2015

Lukáš, D., Mikeš, P., Kuželová Košťáková, E., Pokorný, P., Novák, O., Sanetník, F., Chvojka, J., Havlíček, J., Jenčová, V., Horáková, J., Blažková, L., Pilařová, K., Erben, J., Kovačičin, J. *Způsob a zařízení pro výrobu textilního kompozitního materiálu obsahujícího polymerní nanovlákná, textilní kompozitní materiál obsahující polymerní nanovlákná*. Patent, CZ 306018 B6, 11.5.2016

Mentlík, V., Trnka, P., Matějka, L., Ponyrko, S., Vodseďáková, K., Erben, J. *Elektroizolační kompozitní materiál a způsob jeho přípravy*. Patent, CZ 306866 B6, 7.7.2017

Lukáš, D., Beran, J., Kalous, T., Pokorný, P., Valtera, J., Mikeš, P., Chvojka, J., Kuželová-Košťáková, E., Horáková, J., Jenčová, V., Holec, P., Jirkovec, R., Erben, J. *Roztok pro přípravu nanovláken polyamidu, zejména metodou střídavého elektrického zvlákňování*. Patent, CZ 309047, 11.11.2021

Chvojka, J., Novák, O., Lukáš, D., Pokorný, P., Sanetník, F., Erben, J., Jirkovec, R. *Způsob pro výrobu vláknenného nosiče obsahujícího biokompatibilní hydrogel a nosič obsahující biokompatibilní hydrogel připravený tímto způsobem*. Patent, CZ 309728 B6, 23.8.2023

Lukáš, D., Mikeš, P., Kuželová Košťáková, E., Pokorný, P., Novák, O., Sanetník, F., Chvojka, J., Havlíček, J., Jenčová, V., Horáková, J., Blažková, L., Pilařová, K., Erben, J., Kovačičin, J. *Zařízení pro výrobu kompozitního textilního materiálu obsahujícího polymerní nanovlákná*. Užité vzor, CZ 28190 U1, 13.5.2015

Mentlík, V., Trnka, P., Havránek, L., Erben, J., Vysloužilová, L., Vodseďáková, K., Berezkinová, L. *Kompozitní elektroizolant*. Užité vzor, CZ 30832 U1, 11. 7. 2017

Chvojka, J., Lukáš, D., Mikeš, P., Jenčová, V., Horáková, J., Havlíčková, K., Jirkovec, R., Nevyhoštěný, S., Hlavatá, J., Erben, J., Klápšřová, A. *Kryt akutní nebo chronické rány*. Užité vzor, CZ 34641 U1, 24. 4. 2018

Prezentace výsledků na mezinárodních konferencích

NANOCON – international conference on nanomaterials: 3D micro-nano fibrous scaffold prepared by meltblown in combination with electrospinning for the bone tissue engineering. Poster presentation, Brno, Czech Republic, 2014

Summer school of regenerative Nano-Medicine – From Advanced Delivery Systems to Electronic-Based Devices: Three-dimensional micro- nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering. Poster presentation, Tel Aviv, Israel, 2016

Hydra XII Summer School on Stem Cells Biology: Fibrous three dimensional scaffolds for preparation of thymus organoid, Poster/oral presentation, Hydra, Greece, 2016

NART – international conference of nanofibers, applications and related technologies: Fibrous three dimensional scaffolds for creation of thymus organoid – T cells immunotherapy. Poster presentation, Liberec, Czech Republic, 2017

NANOCON – international conference on nanomaterials: Polyphenols using for increasing utility properties of nanofibrous structures for tissue engineering, Brno, Czech Republic, 2018

NANOCON – international conference on nanomaterials: High-rich graphene doped polymer nanofibers prepared via alternating current electrospinning for simple preconcentration from large-volume samples followed by liquid chromatography, Brno, Czech Republic, 2022

Citační ohlasy a vědecká metrika kandidáta

Citace WoS: 302

Citace SCOPUS: 331

Citace RG: 346

h-index: 12

h5-index: 10

Počet vědeckých článků v impaktovaných časopisech: 32

Mediální výstupy

Televize: 4

Rozhlas: 3

Tištěná média: 29

Internet: 53

8 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA DOSAVADNÍ ODBORNÉ, VÝZKUMNÉ A VĚDECKÉ ČINNOSTI

Doktorské studium

Seznam zkoušek

KNT/D25 Chemické a termické technologie výroby NT, 28.06.2016

KAP/D41 Vybrané partie z řešení dif. rovnic, 08.09.2016

KNT/D40 Tkářové inženýrství, 14.03.2017

KNT/ D18 Makromolekulární chemie, 22.06.2017

DFT/D33 Experimentální technika v oboru, 19.08.2019

SDZ

Státní doktorská zkouška vykonána dne 13.11.2019 s celkovým hodnocením prospěl.

Pedagogická činnost

| | |
|----------------|---|
| Výuka | KNT/PPO Polymery, 2014–2018, cvičící KNT/TCT, Chemické a termické metody výroby netkaných textilií, 2017–2020, cvičící KNT/TCTI, Chemické a termické metody výroby netkaných textilií, 2020–2023, přednášející KNT/VMT a KNT/MAT, Vláknenné materiály pro tkáňové inženýrství, 2020-2023, cvičící a přednášející |
| Vedení BP a DP | Kateřina Blatoňová, Studie využití chirurgického monofilamentu z polydioxanonu pro 3D tisk vstřebatelných ortopedických implantátů, DP, 2019 Natália Kepičová, Funkcionalizace nanovláknenných struktur katecholaminy, DP, 2023 Jana Vimmerová, Polymerní nanovláknenné sorbenty s vysokým obsahem grafenu pro analýzu bisfenolů v říčních vodách, DP, 2023 |

Výzkumné projekty

Nanovláknenné materiály pro tkáňové inženýrství, MPO CZ.1.05 / 3.1.00 / 14.0308, student spoluřešitel, 2013–2015

THYMISTEM - Development of stem cell - based therapy for thymic regeneration, 7th framework program No. 602587, spoluřešitel, 2014–2017

Nanovláknenné polymery jako perspektivní sorbenty pro on-line extrakci v chromatografických systémech, GAČR 17-08738S, student spoluřešitel, 2017–2019

Inteligentní textilie proti CBRN látkám, MO VI2VS/464, Student spoluřešitel, 2017–2020

NEMOSINE - Innovative packaging solutions for storage and conservation of 20th century cultural heritage of artefacts based on cellulose derivate, HORIZON 2020-2.1.3. No. 760801, spoluřešitel, 2018–2022

Prevence střevního anastomotického leaku a pooperačních adhezí pomocí nanovláknenných biodegradabilních materiálů, AZV NU20J-08-00009, spoluřešitel, 2020–2023

Nanovláknenné polymery s funkcí materiálů s omezeným přístupem pro on-line chromatografické extrakce komplexních matic, GAČR 20-19297S, spoluřešitel, 2020–2023

Nanovláknena jako pokročilé extrakční materiály v chromatografické analýze, GAČR 23-05586S, spoluřešitel, 2023–2025

Nanovláknenné extrakční sorbenty pro chromatografické analýzy, TAČR-TREND FW06010698, spoluřešitel, 2023–2026

Ocenění

1st Prize of The International Théophile Legrand Textile Innovation Award: Fibrous three dimensional scaffolds for preparation of thymus organoid – T cells immunotherapy. 2019

Hvězda časopisu REFLEX: ocenění pro osobnosti s významným společenským přínosem. 2019

Cena ministra pro vynikající studenty a absolventy: Za vývoj nanovláknenných kompozitů pro tkáňové inženýrství a analytickou chemii. 2022

SEZNAM LITERATURY

- Asiabi, M., Mehdinia, A. and Jabbari, A. (2015) 'Preparation of water stable methyl-modified metal-organic framework-5/polyacrylonitrile composite nanofibers via electrospinning and their application for solid-phase extraction of two estrogenic drugs in urine samples', *Journal of Chromatography A*, 1426, pp. 24–32. doi:10.1016/j.chroma.2015.11.036.
- Bhat, G. and Malkan, S. (2007) 'Polymer-laid web formation', in *Handbook of Nonwovens*, pp. 143–200. doi:10.1533/9781845691998.143.
- Buszewski, B. and Szultka, M. (2012) 'Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review', *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(3), pp. 198–213. doi:10.1080/07373937.2011.645413.
- Chen, X. *et al.* (2017) 'Hierarchically ordered polymer nanofiber shish kebabs as a bone scaffold material', *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 105(6), pp. 1786–1798. doi:10.1002/jbm.a.36039.
- Chigome, S. and Torto, N. (2011) 'A review of opportunities for electrospun nanofibers in analytical chemistry', *Analytica Chimica Acta*, 706(1), pp. 25–36. doi:10.1016/j.aca.2011.08.021.
- Dutton, K. (2008) 'Overview and Analysis of the Meltblown Process and Parameters', *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*, 6.
- Gunatillake, P., Mayadunne, R. and Adhikari, R. (2006) 'Recent developments in biodegradable synthetic polymers', *Biotechnology Annual Review*, 12, pp. 301–347. doi:10.1016/S1387-2656(06)12009-8.
- Hassan, M.A., Khan, S.A. and Pourdeyhimi, B. (2016) 'Fabrication of micro-meltblown filtration media using parallel plate die design', *Journal of Applied Polymer Science*, 133(7). doi:https://doi.org/10.1002/app.42998.
- Jones, A.M. (1987) *A Study of Resin Melt Flow Rate And Polydispersity Effects On The Mechanical Properties of Melt Blown Polypropylene Webs*, *Book of Papers*. Nottingham, England (Fourth International Conference on Polypropylene Fibers and Textiles).
- Kalil, B. (2020) 'Meltblown Nonwovens Markets: COVID-19 Impact Analysis An Overview, Review, and Forecast of the Global Stand-Alone Meltblown Markets'. INDA -Association of the Nonwoven Fabrics Industry.
- Langer, R. and Vacanti, J.P. (1993) 'Tissue Engineering', *Science*, 260(5110), pp. 920–926. doi:10.1126/science.8493529.
- Li, L. *et al.* (2019) 'Biomimetic Scaffolds: 3D Molecularly Functionalized Cell-Free Biomimetic Scaffolds for Osteochondral Regeneration (Adv. Funct. Mater. 6/2019)', *Advanced Functional Materials*, 29(6), p. 1970036. doi:10.1002/adfm.201970036.
- Lin, Y.-Y. *et al.* (2013) 'Coating die design for suspensions: A NOVEL IDEA TO THE DESIGN OF A COATING DIE FOR SUSPENSIONS', *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 8(1), pp. 115–129. doi:10.1002/apj.1636.
- Malkan, S. and Wadsworth, L. (1991) 'Review on melt blowing technology', *International Nonwovens Bulletin*, 2, pp. 46–52.

- Manavitehrani, I. *et al.* (2016) 'Biomedical Applications of Biodegradable Polyesters', *Polymers*, 8(1), p. 20. doi:10.3390/polym8010020.
- Müller, D.H. and Krobjilowski, A. (2001) 'Meltblown Fabrics from Biodegradable Polymers', *International Nonwovens Journal*, os-10(1), pp. 1558925001os-1000106. doi:10.1177/1558925001os-1000106.
- O'Brien, F.J. (2011) 'Biomaterials & scaffolds for tissue engineering', *Materials Today*, 14(3), pp. 88–95. doi:10.1016/S1369-7021(11)70058-X.
- Olszta, M.J. *et al.* (2007) 'Bone structure and formation: A new perspective', *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 58(3), pp. 77–116. doi:10.1016/j.mser.2007.05.001.
- Ötles, S. and Kartal, C. (2016) 'Solid-Phase Extraction (SPE): Principles and Applications in Food Samples', *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 15(1), pp. 5–15. doi:10.17306/J.AFS.2016.1.1.
- Plotka-Wasyłka, J. *et al.* (2015) 'Miniaturized solid-phase extraction techniques', *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 73, pp. 19–38. doi:10.1016/j.trac.2015.04.026.
- Proskurina, N.A. *et al.* (2007) 'A combination of solid-phase extraction on hypercrosslinked polystyrene with HPLC determination of furan derivatives in transformer oils', *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 81(3), pp. 424–427. doi:10.1134/S0036024407030235.
- Robinson, R.A. and Watson, M.L. (1952) 'Collagen-crystal relationships in bone as seen in the electron microscope', *The Anatomical Record*, 114(3), pp. 383–409. doi:10.1002/ar.1091140302.
- Samir, A. *et al.* (2022) 'Recent advances in biodegradable polymers for sustainable applications', *npj Materials Degradation*, 6(1), pp. 1–28. doi:10.1038/s41529-022-00277-7.
- Sengupta, D., Waldman, S.D. and Li, S. (2014) 'From In Vitro to In Situ Tissue Engineering', *Annals of Biomedical Engineering*, 42(7), pp. 1537–1545. doi:10.1007/s10439-014-1022-8.
- Shen, M. *et al.* (2023) 'Are biodegradable plastics a promising solution to solve the global plastic pollution?', *Environmental Pollution*, 263, p. 114469. doi:10.1016/j.envpol.2020.114469.
- Skoog, D.A. *et al.* (2014) *Fundamentals of analytical chemistry*. 9th ed. [instructions ed.]. Belmont: Brooks/Cole : Cengage Learning.
- Souverain, S., Rudaz, S. and Veuthey, J.-L. (2004) 'Restricted access materials and large particle supports for on-line sample preparation: an attractive approach for biological fluids analysis', *Journal of Chromatography B*, 801(2), pp. 141–156. doi:10.1016/j.jchromb.2003.11.043.
- Vazquez, B., Vasquez, H. and Lozano, K. (2012) 'Preparation and characterization of polyvinylidene fluoride nanofibrous membranes by forcespinningTM', *Polymer Engineering & Science*, 52(10), pp. 2260–2265. doi:10.1002/pen.23169.
- Vroman, I. and Tighzert, L. (2009) 'Biodegradable Polymers', *Materials*, 2(2), pp. 307–344. doi:10.3390/ma2020307.
- Yu, B. *et al.* (2014) 'Effects of Poly(ϵ -caprolactone) on Structure and Properties of Poly(lactic acid)/Poly(ϵ -caprolactone) Meltblown Nonwoven', *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 53(17), pp. 1788–1793. doi:10.1080/03602559.2014.935396.

CURRICULUM VITAE

Jméno: Ing. Jakub Erben
Datum narození: 18. 03. 1987
Adresa: Aloise Jiráska 1653, Vrchlabí, 453 01
Emailová adresa: erben.jaakub@gmail.com

VZDĚLÁNÍ

2014–dosud Doktorské studium, Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, disertační práce - *Tvorba polykaprolaktonových vláknenných struktur technologií meltblown a studium jejich následných aplikací*

2012–2014 Magisterské studium, Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, diplomová práce – *Vývoj a stádium struktury objemných mikro-nanovláknenných vrstev pro medicínské aplikace*

2010–2012 Bakalářské studium, Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, bakalářská práce – *Vývoj a testování technologie pro pokrývání třídimeznionálních struktur nanovláknny*

STÁŽE

2020 Harvard University - Wyss Institute, Boston, 2,5 měsíce

2018 Northeastern University, Boston, 3 měsíce

2017 Summer school of regenerative Nano-Medicine, Teal Aviv, 1 týden

2016 Hydra XII Summer School on Stem Cells Biology, Hydra, 1 týden

PRACOVNÍ ZKUŠENOSTI

| | |
|------------|--|
| 2018–dosud | Akademický pracovník, Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů |
| 2014–dosud | Manažer produktového vývoje, Nanopharma, a.s. |
| 2013–2014 | Projektant procesních armatur, Uniarch, s.r.o. |

OSOBNÍ SCHOPNOSTI A DOVEDNOSTI

| | |
|----------------|--|
| Anglický jazyk | Pokročilý |
| Programy | Microsoft office pack, Adobe pack, Autodesk pack, Corel Draw, NIS Elements, Cura/Prusa, Image J, Matlab |
| Lab. techniky | Technologie meltblown – EXXON/BIAX, AC/DC elektrické zvláknování, FDM/SLA 3D tisk, Biotisk, Elektronová-fluorescenční-světelná mikroskopie |

VYJÁDŘENÍ ŠKOLITELE

Posudek školitele na doktoranda: **Ing. Jakuba Erbena**

Posudek disertační práce na téma:

TVORBA POLYKAPROLAKTONOVÝCH VLÁKENNÝCH STRUKTUR TECHNOLOGIÍ MELTBLOWN A STUDIUM JEJICH NÁSLEDNÝCH APLIKACÍ

Disertační práce je sepsána jako komentovaný soubor vědeckých publikací. Představuje přístup technologa zabývajícího se biodegradabilním polymerem polykaprolaktonem, který je formován metodou extruze polymerní taveniny do vláknenných struktur.

Disertační práce Jakuba Erbena, reflektuje současný stav problematiky, autor detailně popsal technologický proces, podmínky a možné produkty nebo materiály. Disertační práce je propojena s regenerativní medicínou, která popisuje možnosti využití vláknenných materiálů. Poslední třetí část disertační práce je spojena s analytickou chemií a materiály, které jsou vhodné jako sorbenty pro separaci a extrakci v kapalinových chromatografích.

Z pohledu školitele musím zohlednit délku studia, která je nadstandardní z pohledu Ph.D. studia. Na druhou stranu musím jako školitel podotknout, že student Jakub Erben absolvoval stáže na prestižních zahraničních univerzitách jako např.: Northeastern University – Boston a Harvard University – Wyss Institute, Boston. Student Jakub Erben byl také oceněn jako Hvězda časopisu REFLEX: ocenění pro osobnosti s významným společenským přínosem v roce 2019. Následně získal prestižní cenu udělovanou nadací Theofila Legranda a také získal cenu ministra ČR pro vynikající studenty: Za vývoj nanovláknenných kompozitů pro tkáňové inženýrství a analytickou chemii v roce 2022. Všechny dosažené výsledky považuji za nadstandardní a z pohledu TUL za unikátní.

Závěrem je hodnocení vedení studentských prací kdy student Jakub Erben v rámci povinností Ph.D. studia vedl 3 diplomové práce. V neposlední řadě musím jako školitel také zmínit samostatnost a orientaci v dané problematice. Na základě výsledků disertační práce Jakuba Erbena jsou v současnosti řešeny projekty GAČR a TAČR – Sorbenty pro extrakci v kapalinových chromatografích.

Použité literární zdroje jsou správně citovány, a proto považuji práci po formální stránce zcela v pořádku. Kontrola plagiátorství proběhla dne 13.10.2023 byla zde nalezena relevantní podobnost pod 3%. Předložená práce splňuje všechny požadavky pro udělení titulu Ph.D.

Předloženou práci **Doporučuji** k obhajobě

.....
doc. Ing. Jiří Chvojka Ph.D.
V Liberci dne 13.10.2023

OPONENTSKÉ POSUDKY



Vysoká škola polytechnická Jihlava

Tolstého 16, 586 01 Jihlava | e-mail: zdenek.horak@vspj.cz | tel.: +420 567 141 102

IČ: 71226401 | DIČ: CZ71226401 | www.vspj.cz

Posudek oponenta disertační práce

Název práce: Tvorba polykaprolaktonových vláknenných struktur technologií meltblown a studium jejich následných aplikací
Studijní obor: Textilní technika a materiálové inženýrství
Autor práce: Ing. Jakub Erben
Školitel: doc. Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.

Předložená disertační práce je psána českým jazykem, obsahuje 206 stran textu (z toho je 89 stran vlastního textu disertační práce), je členěna do devíti kapitol a deseti příloh. Disertační práce byla koncipována jako komentovaný soubor vědeckých publikací členěný do tří vzájemně navazujících částí. Hlavním cílem práce bylo studium tvorby biodegradabilních polykaprolaktonových vláknenných struktur technologií meltblown a následný návrh způsobu výroby kompozitního materiálu využívající tato vlákna jako svou základní složku. Dalším cílem předložené práce bylo využití tohoto kompozitu jako základu pro vývoj tkáňových nosičů i extrakčních sorbentů a studium jejich využití v regeneraci kostní tkáně, respektive v předúpravě vzorků pro kapalinové chromatografie. Téma disertační práce považuji za velmi aktuální se zaměřením na vysoce specifickou oblast s možnou aplikací do tkáňového inženýrství pro klinickou praxi.

Teoretická část disertační práce byla členěna do čtyř tematických kapitol, popisující výrobní technologii, skupinu materiálů a aplikační oblasti, využitě v experimentální části této práce. V této části své práce doktorand Ing. Erben provedl velmi podrobnou literární rešerši, kdy bohatě citoval z relevantních a aktuálních literárních zdrojů, které provázal s technologickými znalostmi a možnostmi pro využití v praxi. Čtenář tak může z této části disertační práce získat základní teoretické znalosti, které byly použity v experimentální části předložené práce. Experimentální část práce byla koncipována jako komentovaný soubor devíti publikovaných prací, zaměřujících se na zpracování biodegradabilního PCL technologií meltblown a následné využití vytvořených vláknenných struktur ve tkáňovém inženýrství a analytické chemii.

Formát předložené disertační práce, která byla koncipována jako komentovaný soubor vědeckých publikací disertanta považuji za velmi vhodný a příkladně zpracovaný. Ing. Erben publikoval jako první autor 3 články, jako člen autorského kolektivu pak 6 článků. Všechny články byly publikovány ve velice kvalitních odborných časopisech s IF (3 x D1, 3 x Q1 a 3 x Q2), kdy rozsah a kvalitu takové publikační činnosti u doktoranda považuji za vysoce nadstandardní. O kvalitě publikačních výstupů svědčí také jejich velmi vysoká citovanost odbornou komunitou. Disertant se jako člen řešitelského kolektivu také podílel na vývoji zařízení pro výrobu textilního kompozitního materiálu obsahujícího polymerní nanovlákná, z kterého vzešel národní patent CZ 306018 B6.

Je obtížné vyjadřovat se více k odborné kvalitě jednotlivých částí realizovaného výzkumu, kdy každá z publikací již prošla velmi kvalitním oponentním řízením redakce jednotlivých odborných časopisů. Jako oponent nemám k žádné významné připomínky, kdy disertant zvolil vhodné metody a potupy svého výzkumu, stejně tak dokázal výsledky svého výzkumu podrobit podrobné diskusi. Dále je v disertační práci naznačen možný směr dalšího výzkumu.

Předložená disertační práce reprezentuje ucelený soubor výsledků zabývajících se zpracováním biodegradabilního PCL technologií meltblown do podoby mikrovláken a následným návrhem způsobu výroby vláknenného kompozitu využívající tato vlákna jako svou základní složku. Disertant Ing. Erben ve své práci prezentoval soubor inovativních procesů, vedoucí k tvorbě vláknenného kompozitního materiálu s vysokým užitným potenciálem ve tkáňovém inženýrství i analytické chemii.

Formální zpracování textu disertační práce je na velmi vysoké úrovni, která odpovídá standardům obvyklým pro tento typ kvalifikační práce. Disertant Ing. Erben prokázal při svém studiu schopnost řešit dané téma samostatně, na velmi dobré odborné i formální úrovni, kdy vše dokázal vtělit do textu odborných článků a své disertační práce. Předloženou disertační práci doporučuji k obhajobě a navrhuji její hodnocení stupněm

A - výborně

Otázky oponenta

Při obhajobě disertační práce prosím o zodpovězení následujících dotazů:

1. Jednou z možných aplikací je využití vláknenných struktur jako kompozitních scaffoldů pro využití v medicíně. Ke klinickému využití ještě vede „dlouhá cesta“, kdy bude nezbytné prokázat zdravotní nezávadnost. S tím se pojí má otázka týkající se opakovatelnosti a zajištění standardů kvality výroby scaffoldů. Je možné u výroby těchto vláken dodržet unifikovanost výroby resp. výrobní technologie tak, aby byla použitelná i pro výrobu *medical device*, nebo léčiv?
2. Ve své práci navrhuje provést další parametrické studie při vyšším rozsahu průtokového objemu primárního vzduchu a stabilnějších dodávkách polymerní taveniny, resp. zhodnocení vlivu geometrie trysky či otvorů zvláknovacích otvorů. Tento výzkum je nezbytné provádět pouze experimentálně metodou „pokus - omyl“, nebo lze využít např. možnosti numerických simulací či analytických modelů? Pokud ano, uveďte některé z možností.
3. Podle Vašeho vyjádření by měl být další výzkum zaměřen na nové kombinace polymerních materiálů jednotlivých složek kompozitu, a to biodegradabilních i nedegradabilních. Máte v tomto směru na mysli nějaké konkrétní kombinace či materiály, které se jeví jako potenciálně „nadějně“?

V Praze dne 13. listopadu 2023

.....
doc. Ing. Zdeněk Horák, Ph.D.

Oponentní posudek disertační práce

Předkladatel: **Ing. Jakub Erben**

Oponent: **prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**

Název: **Tvorba polykaprolaktonových vláknenných struktur technologií meltblown a studium jejich následných aplikací**

Polymerní materiály obecně na základě své molekulární struktury splňují předpoklady pro tvorbu vláknenných útvarů, které mohou mít díky svému specifickému tvaru celou škálu pozoruhodných vlastností využitelných pro řadu unikátních aplikací. Nicméně, nalezení vhodné technologie zpracování a podmínek, které by umožnily výrobu vláken z daného polymerního materiálu, není zdaleka triviální záležitostí. Dosud proto existuje jen omezená skupina polymerních materiálů, které lze ve formě vláken nalézt na trhu. Samotnou kapitolou je pak příprava netkaných textilií, tedy plošných vláknenných struktur z náhodně orientovaných a propletených vláken. Předložená disertační práce se zabývá právě takovými vláknennými strukturami a rozšiřuje materiálové portfolio o polykaprolakton, spolu s návrhy aplikací vytvořených netkaných polykaprolaktonových textilií do oblasti tkářového inženýrství a analytické chemie.

Student zvolil jako formu svojí disertační práce soubor uveřejněných vědeckých a inženýrských prací doplněný komentářem, což je plně v souladu s čl. 23 odst. 4 Studijního a zkušebního řádu Technické univerzity v Liberci.

Úvod spolu s Cíly práce velmi srozumitelně na dvou stranách představuje problematiku, které se uchazeč hodlá v práci věnovat a definuje jednoznačné cíle, jejichž naplnění lze posoudit jak po kvalitativní, tak i kvantitativní stránce.

Teoretická část v rozsahu 37 stran představuje zejména shrnutí současného stavu poznání v oblastech, které mají být dále rozvinuty v rámci experimentální osy disertační práce. S patřičným detailem je zde popsána technologie meltblown sloužící k přípravě netkaných

textilií, spolu s požadavky na vlastnosti zpracovávaných polymerních materiálů a jejich vztahu k technologickým proměnným a výsledným vlastnostem produktu. V kratším rozsahu je rešerše doplněna o technologie pro přípravu nanovlákněných struktur. Dále se tato část věnuje biodegradabilním polymerním materiálům, zejména alifatickým polyesterům a polykaprolaktonu jako jejich významnému představiteli. Zhodnocen je zde i současný stav v možnosti zpracování biopolymerních materiálů technologií meltblown. S patřičnou pozorností jsou zde diskutovány možnosti aplikací netkaných textilií do dvou principiálních oblastí, tkáňového inženýrství, zejména kostního, a analytické chemie, kde mohou netkané textilie představovat vhodné sorbenty pro kapalinovou chromatografii. Teoretická část ústí do shrnutí a stanovení tezí pro experiment. Celý text Teoretické části je srozumitelný, jasně strukturovaný a tvoří výbornou výchozí pozici pro experimentální práci. Nicméně, některé pojmy, zřejmě vlivem překladu, se značně odchyľují od zavedeného pojmosloví ve vědecké a technické praxi. Zejména mechanické vlastnosti, stejně tak interpretace molárních hmotností, jsou zde uváděny velmi neobratně a v rozporu s ustálenou praxí. Očekávám, že v rámci obhajoby disertační práce budou dané materiálové vlastnosti nazývány v souladu s příslušnými normami.

Experimentální část pokrývá 39 stran předložené práce. Jelikož samotná disertační práce představuje soubor uveřejněných vědeckých a inženýrských prací (jednoho patentu a osmi článků v kvalitních impaktovaných časopisech), je zde podrobně stanoven studentův přínos pro každou zařazenou práci. Z uvedeného výčtu vyplývá, že student přispěl ke všem pracím esenciálním způsobem a je až s podivem, že je jako první a/nebo korespondenční autor uveden pouze u třech z nich. Ke všem pracím student zpracoval velmi kvalitně komentář a shrnutí, na základě čehož lze jednoznačně konstatovat, že disertační práce přispívá významným způsobem k dané vědní oblasti a výsledky jsou nositelem značné originality s rozsáhlým aplikačním potenciálem. Velmi oceňuji srozumitelný popis optimalizace přípravy netkaných textilií z polykaprolaktonu pomocí technologie meltblown a mám k této části následující otázky:

1. Na str. 59 je vyslovena hypotéza vzájemného vztahu mezi délkou makromolekul a vznikem vlákněných fragmentů při výrobě netkané textilie. Reologie zná pojem „pevnost taveniny“ a její vztah

k molekulární struktuře polymerního materiálu. Lze na základě tohoto fenoménu potvrdit uvedenou hypotézu?

2. Na str. 60 jsou uvedeny výsledky z DSC, ze kterých je patrné, že připravené vlákenné struktury měly teplotu tání a krystalinitu srovnatelnou s granulátem, který byl na jejich přípravu použit. Nicméně, druhý ohřev, kde se již neprojevuje zpracovatelská historie, ukázal na podstatně nižší hodnoty teploty tání i krystalinity. Jak lze tyto rozdíly vysvětlit?
3. Na str. 61 je uvedeno, že při výrobě vlákenných struktur „nedocházelo k výraznému dloužení vláken během jejich formování“, neboť se nezvyšovala jejich krystalinita oproti vstupnímu granulátu. Lze toto tvrzení opřít o některou z obecných teorií fyziky polymerů?

Závěr práce přináší jednoznačné shrnutí teoretických východisek a experimentální a publikační činnosti studenta spolu s perspektivami pro další možný vědecký rozvoj získaných poznatků. Stejně jako v předešlém textu, i zde je znát značná vyzrállost studenta a můžu vyslovit jen naději, že student bude i nadále spojovat svůj profesní život s vědou a výzkumem, neboť jeho přístup k řešené problematice vykazuje patřičný zápal, mimořádnou originalitu a schopnost organizace práce s jasnou orientací na kvalitní výsledek.

Domnívám se, že Ing. Jakub Erben je vyzrálou vědeckou a inženýrskou osobností schopnou definovat problémy, jejichž řešení je zajímavé pro vědu užitečné pro společnost. Disertační práci proto doporučuji k obhajobě.

Ve Zlíně, 19. 11. 2023

Román Čermák