



ELEKTROSTATICKÉ ZVLÁKŇOVÁNÍ DO KAPALINY

Ing. Jan KOVAČIČIN

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

Název disertační práce: **Elektrostatické zvlákňování do kapaliny**
Autor: **Ing. Jan Kovačičin**
Program doktorského studia: **Textilní inženýrství**
Forma studia: **Kombinovaná**
Školící pracoviště: **FT TUL, Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů**
Školitelka: **doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D.**

Složení komise pro obhajobu disertační práce:

předseda: prof. Ing. Jakub Wiener, Ph.D.	FT TUL, Katedra materiálového inženýrství
místopředseda: doc. Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.	FT TUL, Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů
prof. Ing. Grażyna Simha Martynková, Ph.D. (<i>oponentka</i>)	Centrum Nanotechnologií, VŠB – Technická univerzita Ostrava
prof. Ing. Josef Šedlbauer, Ph.D.	FP TUL, Katedra chemie
doc. RNDr. Jana Horáková, Ph.D.	FT TUL, Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů
doc. Ing. Radek Sedláček, Ph.D.	ČVUT, FS, Odbor biomechaniky
doc. Ing. Jan Valtera, Ph.D. (<i>oponent</i>)	FS TUL, Katedra textilních a jednoúčelových strojů

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

Liberec, 2024

Doktorské studium

Seznam zkoušek

KCH/D138 - Tkářové inženýrství, 12. 5. 2020

KAP/D02 - Matematická statistika a analýza dat, 29. 8. 2019

DFT/D33 - Experimentální technika oboru, 9. 1. 2018

KNT/D42 - Nanovlákná a nanotechnologie, 5. 9. 2017

KNT/D18 - Makromolekulární chemie, 9. 9. 2016

SDZ

Státní doktorská zkouška vykonána dne 14. 12. 2021 s celkovým hodnocením prospěl.

Výzkumné projekty

Projekt SGS, řešitel: Jana Bajáková, Výroba ojednocených nanovláken, 2012, Technická univerzita v Liberci, Textilní Fakulta

Projekt SGS. řešitel: Lukáš Stanislav, Vývoj zákrutového zařízení pro výrobu vícekomponentních nanopřízí a jejich následná analýza, Technická univerzita v Liberci, Strojní Fakulta

Projekt PURE-2020-4007- Study of physical networks in polymer materials, , řešitel: Eva Kuželová Košťáková, Technická univerzita v Liberci, Pedagogická Fakulta, 2020-2023

Anotace

Disertační práce se zaměřuje na elektrické zvlákňování do kapaliny jako inovativní metodu pro výrobu nano-mikrovláken. Práce se blíže zaměřuje na variantu mokrého elektrospinningu (wet elektrospinning), při kterém je kolektor tvořen kapalinou, do které vlákna dopadají a často se formují buď v kapalině nebo na její hladině. Kapalina může také sloužit pro zachycení či odtah již zformované vláknenné struktury, případně k dodatečné modifikaci, například dopováním, vymýváním atd. Právě použití kapalinového kolektoru přináší unikátní výhody této varianty procesu. Metoda umožňuje tvorbu třírozměrných objemných struktur s vysokou porozitou s velkými propojenými póry. Kapalina také může modifikovat vlastnosti samotného materiálu. Jedním z příkladů je vytváření houbovitých struktur výsledných vláken, což může zvýšit jejich porozitu, biodegradabilitu, buněčnou adhezi a proliferaci. V rámci této práce bylo provedeno testování, které prokázalo zvýšenou krystalinitu polymeru, který byl zvlákňován touto metodou do kapaliny.

Výzkum zahrnuje teoretický model, který se zabývá problematikou nošení cylindrických objektů do kapaliny. Práce také popisuje vývoj experimentálního zařízení pro elektrické zvlákňování, které bylo vytvořeno za pomoci technologie 3D tisku metodou Fused Deposition Modeling. Toto zařízení bylo následně testováno a aplikováno v různých experimentech.

Další část práce se věnuje vývoji speciálních vláknenných struktur, které jsou primárně určeny pro oblast tkáňového inženýrství. Tyto struktury zahrnují dutá a porézní vlákna, včetně jejich kombinací. Tyto vláknenné struktury mají unikátní vlastnosti, jež jsou vhodné pro aplikace, kde jejich zvýšený specifický povrch hraje klíčovou roli. Zajímavostí této vyvinuté metody výroby vláken je, že vhodnou kombinací rozpouštědla a polymeru lze vyrobit dutá vlákna i tradičním zvlákňováním bez použití kapaliny jako kolektoru. Použití kapaliny je však vhodné pro dosažení 3D objemných a vysoce porézních struktur.

Praktické testování vyrobených vláknenných struktur pro jejich použití, jako tkáňových nosičů (scaffoldů) v oblasti tkáňového inženýrství, je další významnou částí této disertační práce. Tyto struktury byly podrobeny testům viability a byla prověřena jejich vhodnost strukturálně i materiálově. Bylo prokázáno, že tyto specifické struktury jsou vhodné pro buněčnou proliferaci a nevykazují cytotoxické účinky. Výsledky byly následně porovnány s klasickými strukturami vyrobenými jinými metodami.

Disertační práce přináší důležité poznatky a příspěvky v oblasti elektrického zvlákňování do kapaliny a jeho aplikací v tkáňovém inženýrství.

Klíčová slova:

Elektrické zvlákňování do kapaliny (ESPIN), Nano-mikrovlákna, Teoretický model, Experimentální zařízení, 3D tisk, Mikropumpa, Porézní vlákna, Krystalinita materiálu, Tkáňové inženýrství, Scaffoldy, Viabilita buněk, Cytotoxicita

Abstract

Dissertation focuses on electrical spinning in a liquid as an innovative method for the production of nano-microfibers. Dissertation thesis takes a closer look at a type of wet electrospinning, where the collector is a liquid into which the fibres are deposited, often formed either in the liquid or on its surface. The liquid may also be used to collect or carry away the already formed fibre structure, or for additional modification, e.g. by doping, washing, etc. It is the use of a liquid collector that brings the unique advantages of this type of process. The method allows the formation of three-dimensional, bulky structures with reach high porosity and large interconnected pores. The liquid can also modify the properties of the material itself. One example is the formation of sponge-like structures in the volume of resulting fibers, which can increase their porosity, biodegradability, cell adhesion and proliferation. In this work, testing was carried out which demonstrated increased crystallinity of the polymer that was spun into liquid using this method.

The research includes a theoretical model that addresses the issue of immersing cylindrical objects in a liquid. The thesis also covers the development of an experimental device for wet electrospinning, which was created using 3D printing technology by Fused Deposition Modeling. This device was subsequently tested and applied in various experiments.

The next part of the thesis is directed towards the development of special fibre structures, which are primarily intended for the field of tissue engineering. These structures include hollow and porous fibres, including combinations of the two. These fiber structures have unique properties that are suitable for applications where their enhanced specific surface area plays a key role. An interesting feature of this developed method of fiber fabrication is that with a suitable combination of solvent and polymer, hollow fibers can be fabricated even by traditional wetting without the use of a liquid as a collector. The use of liquid, however, is suitable for achieving 3D bulky and highly porous structures.

Practical experiment of the fabricated fibre structures for their use as scaffolds (tissue scaffolds) in the field of tissue engineering is another important part of this thesis. These structures were subjected to viability tests and their suitability structurally and materially was examined. These specific structures have been shown to be suitable for cell proliferation and do not exhibit cytotoxic effects. The results were then compared with classical structures produced by other methods.

The dissertation provides important insights and contributions in the field of wet electrospinning and its applications in tissue engineering.

Keywords:

Electrospinning, Electric spinning, Wet electrospinning, Nano-microfibers, Theoretical model, Experimental device, 3D printing, Micro-pump, Porous fibers, Crystallinity of materials, Tissue engineering, Scaffolds, Cell viability, Cytotoxicity

Obsah

1	<i>Cíle disertační práce</i>	7
2	<i>Přehled o současném stavu problematiky</i>	7
1.1	Vytváření materiálů pro tkáňové inženýrství pomocí suchých technologií	9
1.2	Vytváření materiálů pro tkáňové inženýrství pomocí suchých technologií	11
1.3	Nanotopografické alterace.....	18
3	<i>Teoretický matematický model</i>	18
3.1	Závěr teorie matematického modelu.....	25
4	<i>Návrh a vytvoření zařízení pro wet elektrospinning</i>	25
4.1	Koncept hlavních principů zařízení	26
4.2	Konstrukce	26
4.3	Výroba	26
4.4	Testování a dokončení zařízení.....	29
5	<i>Výroba a testování 3D objemných struktur</i>	34
5.1	Výroba vzorků	34
5.2	Příprava vzorků a post processing	35
5.3	Test krystalinity vytvořených materiálů.....	36
5.4	Biologické testování vzorků in-vitro.....	36
5.5	Výsledky biologického testování	37
5.6	Vyhodnocení a závěry z výroby a testování vzorků.....	38
6	<i>Vývoj specifických materiálů pro tkáňové inženýrství</i>	39
6.1	Testování rozpouštědlových a kolektorových systémů	39
6.2	Experimentování s výrobou specifických vlákenných struktur	40
6.3	Analýza a hodnocení vzorků vytvořených materiálů.....	41
6.4	Měření porozity.....	44
6.5	Popis vyrobených materiálů	44
7	<i>Biologické testování specifických materiálů</i>	45
7.1	Testování cytotoxicity	45
7.2	Testování proliferace optickou analýzou	45
7.3	Výsledky závěrečného biologického otestování materiálů.....	45
8	<i>Výsledky a jejich uplatnění</i>	46
9	<i>Doporučení na pokračování práce v daném tématu a oboru</i>	47
10	<i>Seznam použitých zdrojů</i>	48
11	<i>Stručná charakteristika dosavadní odborné, výzkumné a vědecké činnosti autora</i>	58
	<i>Publikace související s tématem disertační práce</i>	58
	<i>Conference</i>	58
	<i>Další publikace autora</i>	58
	<i>Projekty, do kterých byl autor zapojen</i>	58
12	<i>Curriculum Vitae</i>	59
13	<i>Posudek školitelky doktoranda</i>	61
14	<i>Oponentské posudky disertační práce</i>	63

1 Cíle disertační práce

Tato disertační práce má následující hlavní čtyři cíle:

- Propojit teoretické poznatky a pokusit se zdokonalit teorii poznání o nošení vláknenných objektů – vláken do kapaliny reprezentované kapalným kolektorem ve zjednodušeném modelu a pokusem o následné experimentální ověření.
- Navrhnout, sestavit a optimalizovat relativně jednoduché přenosné experimentální laboratorní zařízení pro elektrické zvlákňování do kapaliny s možností výroby vzorků pro následné medicínské aplikace, zejména s ohledem na volbu materiálů a uspořádání jednotlivých částí.
- Otestování parametrů výroby a vyrobení speciálních vláknenných struktur se zaměřením na medicínské aplikace (scaffoldy s požadovanou 3D strukturou pro tkáňové inženýrství, například pro regeneraci kostí či chrupavek). Avšak tato práce se nezaměřuje na konkrétní medicínskou aplikaci. Tato část práce poskytla podmínky ovládnutí procesu elektrického zvlákňování do kapaliny, pomohla také odhalit možnosti „přidané hodnoty“ této technologie – možnost ovlivňovat výsledné vláknenné materiály pomocí volby kapaliny či směsi kapalin kolektoru. Součástí tohoto cíle je základní porovnání biologických vlastností (cytotoxicity a viability) vyrobených materiálů.

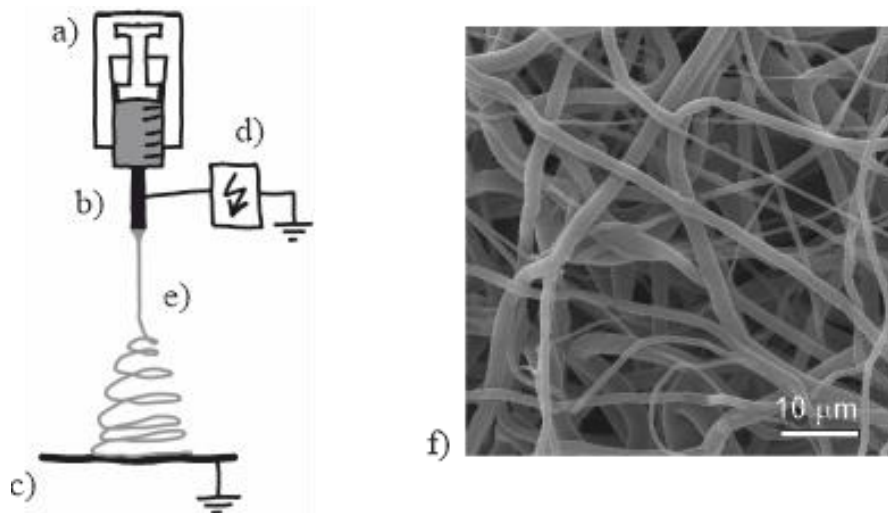
2 Přehled o současném stavu problematiky

Elektrické zvlákňování představuje fascinující a v současné době velmi atraktivní téma, a je široce využívanou metodou pro tvorbu nano a mikro vláknenných struktur [1–6]. Tato technika se stala základem pro výrobu široké škály materiálů, zejména v oblasti nano a mikro vláknenných materiálů. Důvodem masivního rozmachu této metody je její relativní jednoduchost, produktivita a spolehlivost. Tato metoda je zároveň relativně technologicky nenáročná. Některé varianty této metody zvlákňují bezjehlově, což může dále zvýšit jednoduchost zvlákňovacího zařízení a s tím i snížit konstrukční problémy a náklady na provoz a údržbu [7–12]. Takto vyrobené materiály mají unikátní fyzikální, chemické a biologické vlastnosti, zejména z velkým specifickým povrchem a porozitou, ta může přesahovat i 90%. Svou strukturou materiály také dokáží napodobovat extracelulární matrix (ECM) a tím se nabízejí jako vhodné pro použití v medicíně.

Průměr vytvořených vláken se pohybuje v rozmezí od desítek nanometrů až po desetiny milimetru. Princip elektrického zvlákňování a typické struktury touto technologií vytvořené jsou na obrázku (*Obr. 1*). Dle použitého zdroje elektrického napětí se dělí elektrické zvlákňování na stejnosměrné (DC) a střídavé (AC). U DC zvlákňování se využívá elektricky aktivního vodivého kolektoru, zpravidla kovového, na němž se zachytává vytvořená vláknenná struktura. Tato technologie je v současné době intenzivně rozvíjena a každý rok vychází mnoho vědeckých článků popisujících další modifikace či materiály vytvořené touto metodou. Velmi intenzivně zkoumanou oblastí je právě medicínské využití, tedy tkáňové inženýrství a využití farmaceutické. Dalším odvětvím s velkým potenciálem je filtrace a separace, ve kterém elektricky vyrobené vrstvy mají díky své unikátní struktuře velký specifický povrch a velkou porozitu.

Při klasické technologii využití elektrospinningu vznikají ploché vláknenné produkty. Tyto produkty jsou většinou o tloušťce v řádech stovek mikrometrů, vrstva ze zařízení Nanospider™ [14] mívá tloušťku obvykle okolo 0,25 mm. Jedná se tedy o relativně plochý produkt, jež je označován jako 2D nebo planární. Ploché vláknenné vrstvy jsou dobře využitelné například pro filtraci a jako polopropustné membrány, separátory a v medicíně třeba jako kryty ran. Pro použití v tkáňovém inženýrství, kde jsou vysoká porozita a specifický měrný povrch klíčové, je plochá struktura materiálu nevýhodou. Pro užití materiálu jako tkáňového nosiče je 2D struktura limitující i pro nahrazování tkání, jež nejsou ploché. Zatímco planární

porézní struktura umožňuje snadnější látkovou výměnu buněk, ale struktura s malými póry však neumožňuje buňkám migraci dovnitř materiálu. V oblasti regenerativní medicíny je žádoucí vytvořit 3D objemnou strukturu s vysokou porozitou a velikostí pórů umožňující proliferaci a migraci buněk v objemu materiálu. Současně musí polymerní materiál i výrobní proces zajišťovat vytvoření produktu, jež není cytotoxický. Naopak je vhodné, aby byl vyrobený produkt pro buňky stimulující. Vlákenná struktura elektrospinningových produktů do značné míry připomíná fibrilární strukturu ECM. Další funkcionalizací materiálů, například modifikací řízeného uspořádání a orientace, je možné více přizpůsobit strukturu konkrétní fibrilární ECM, jako je například hladká svalová tkáň nebo nervové tkáň.



Obr. 1 – Princip stejnosměrného elektrického zvlákňování - DC elektrospinningu. Obrázek převzat [13]. a) Zdroj polymeru s dávkováním, například injekční stříkačka. b) Jehla tvořící trysku. c) Uzemněný kolektor, na který se zachytávají vytvořená vlákna. d) Zdroj stejnosměrného vysokého napětí s kladným napětím přivedeným na zvlákňovací jehlu. e) Prostor vlákňování, polymer je elektrickými silami tažen směrem ke kolektoru, na trysce formuje kužel a poté je během takzvaného bičování dlužen a formován v nano-mikrovlákna. f) Snímek typické struktury nanovláken vytvořených pomocí elektrospinningu.

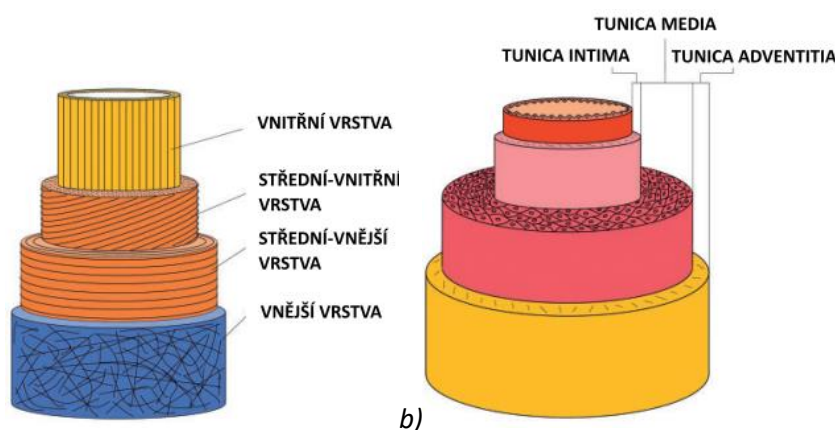
Přístupů k výrobě materiálů pro tkáňové inženýrství a zejména objemných 3D materiálů je mnoho. Někdy se jedná o kombinaci vícero metod nebo jsou do procesu navázány další kroky s metodami, které výsledné materiály modifikují. Přístupy k výrobě 3D materiálů se dají rozdělit na přímé metody a nepřímé metody s post procesní úpravou. Přímé metody jsou v podstatě jednoduché metody, které ideálně v jednom kroku, vždy však v jednom procesu, vyrobí výsledný materiál. Nepřímé metody jsou více stupňové metody kombinující více procesů, kdy po vyrobení materiálu dochází k dalším úpravám. Často jsou tyto metody časově a technologicky náročnější. Zdrojové materiály jsou používány jak syntetické, tak přírodní biopolymery. Přírodní polymerní materiály jsou vhodné, protože usnadňují interakci materiálu a buněk a při aplikaci in-vivo snižují riziko odmítnutí implantátu. Tyto materiály jsou například chitosan či kolagen. Oproti tomu materiály syntetické zase umožňují přesné sledování chemického složení, čistoty a přesně definovaný polymerační stupeň. Syntetické materiály využívané pro tkáňové inženýrství jsou například polyvinylalkohol (PVA), Poly(L-lactid) PLLA, kyselina polyglykolová (PGA), Polykaprolaton (PCL).

Rešeršní přehled o současných metodách výroby materiálů pro tkáňové inženýrství je rozdělen na suché metody a metody s kapalným kolektorem. Přehled je zároveň zaměřen na metody, jež jsou uváděny jako schopné produkovat jiné než ploché materiály, tedy například i cévní tkáňové nosiče. U těchto materiálů se nejedná vyloženě o objemný materiál, ale jeho struktura je 3D prostorová. Přehled měl za úkol zmapovat polymerní materiály a metody tak, aby výzkum v disertační práci neduplikoval jiné výzkumy, a zároveň, aby navazoval, případně se inspiroval, ve své snaze o vědecký přínos v oboru tvorby materiálů pro tkáňové inženýrství.

1.1 Vytváření materiálů pro tkáňové inženýrství pomocí suchých technologií

Tato část je zaměřena na metody, jež nevyužívají kapalnou kolektor, ale přesto produkují 3D materiály, které jsou pro obor tkáňového inženýrství perspektivní. Důvodem je získání přehledu o aktuálních metodách, způsobech testování a používaných vstupních polymerních materiálech včetně odkazů na zdroje.

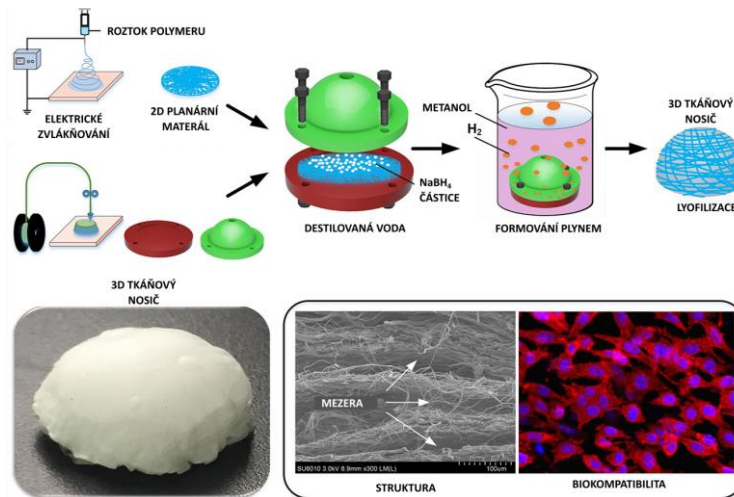
Vrstvení materiálu pomocí elektrospinningu - multi-vrstvený elektrospinning, kdy se při výrobě tkáňových nosičů postupně nanáší vrstvy materiálů. Vzniká takzvaný sendvič, kdy jsou jednotlivé vrstvy produkovány na sebe. Toto umožňuje vytvoření vrstvy, která napodobuje souvrství některých tkání [15]. Prakticky byly tímto způsobem testovány tkáňové nosiče pro léčení poruch lidských koronárních tepen [16] viz obrázek (Obr. 2).



Obr. 2 – Porovnání vrstev tkáňového nosiče a vrstev tepny. a) Ukázka orientace vláknenných vrstev zvlákněných na válec, tyto vrstvy mají poskytnout lepší mechanické vlastnosti a více přiblížit morfologickou strukturu tkáňového nosiče pro růst buněk tak, aby tato struktura věrněji napodobovala původní tkáň, b) Popis vrstev tepny ukazující různé typy tkání, ze kterých je stěna tepny složena. Obrázek převzat [16].

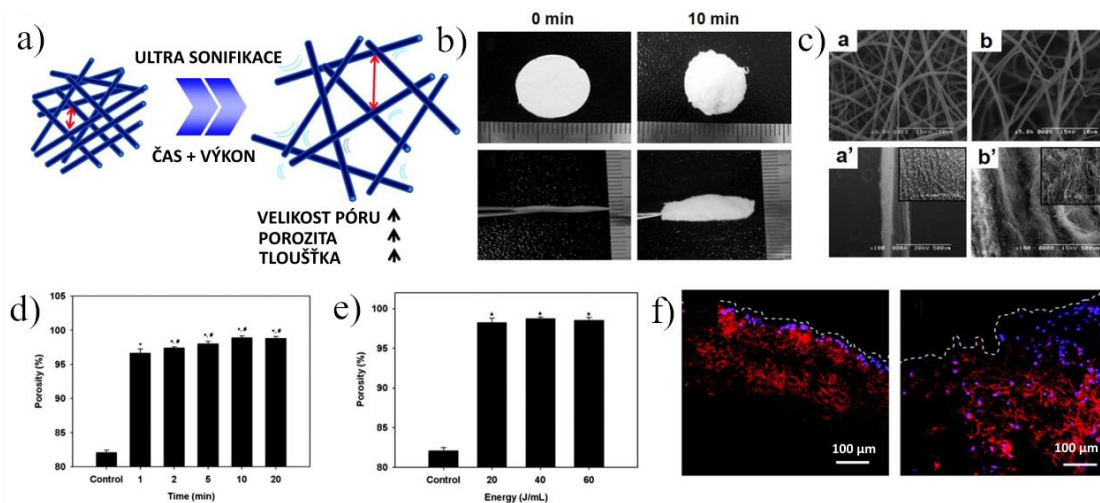
Multimateriálová výroba s post-procesním odstraněním jedné složky. Při tvorbě materiálu se používají další technické materiály, jež jsou posléze odstraněny. V odborné literatuře se metoda anglicky označuje jako „Sacrificial agent electrospinning“. Jako pomocné - rozpustné materiály se využívají například polymery polyethylenoxid (PEO) [17], polyvinylalkohol (PVA), polyvinylpyrrolidon, (PVP) ale i nepolymerní materiály jako je například chlorid sodný (NaCl) či cukr [18]. Ve struktuře zůstávají po procesu prázdná místa, která zvyšují celkovou porozitu. Velikost a tvar póru je ovlivněn pomocnou látkou, ta může být ve formě krystalků, vláken, ale i sférického tvaru.

Metody výroby 3D materiálu na principu plynové expanze. Metoda využívá post-procesingu, a je možné vyrobit vysoce objemné 3D struktury při využití procesních kroků aplikovaných na planární strukturu. Metoda – Gas forming využívá tvorby mikrobublin plynu v objemu materiálu, tyto mikrobublinky vznikají mezi vlákny a tím mění vnitřní uspořádání materiálu, zvyšují jeho objem a porozitu [11, 19]. Materiál lze formovat přímo v určité formě do konkrétního požadovaného tvaru [20, 21]. Výsledná struktura nebývá zcela homogenní – viz obrázek (Obr. 3 - Struktura). Touto metodou lze zvyšovat i porozitu hmoty vláken, pokud se mikrobublinky vytvoří ve hmotě polymeru [22]. Toto je způsob, jak výrazně zvýšit nejenom specifický měrný povrch, ale i zvýšení porozity povrchu vlákna. Existuje i varianta, kdy je elektrospinning prováděn přímo v tlakové komoře s oxidem uhličitým, čímž se efekt porézních vláken zesílí [23]. Tato varianta je technologicky náročná a je třeba speciální vysokotlaké zvláknovací komory.



Obr. 3 – Schématické znázornění postupu tvorby tkáňového nosiče do požadovaného tvaru. Základem je vytvoření 3D formy, planární tkáňový nosič je vložen do vytvořené formy a pomocí formovaných mikrobublin je zvětšován jeho objem až do požadovaného tvaru. Tvar je dán vnitřním tvarem formy. Obrázek převzat [21].

Metody výroby 3D materiálu na principu ultrasonického rozvolnění. Tato metoda mechanicky odděluje vlákna v planárním vlákněném materiálu tím, že na materiál působí parametry definovaným ultrazvukem. Tato metoda ultrasonifikace je velmi účinná pro rovnoměrné zvýšení velikosti pórů a tedy i porozity u materiálů vyrobených elektrospinningem a tyto 3D objemné materiály se ukazují jako vhodné pro tkáňové inženýrství [24], viz popis obrázku (Obr. 4).

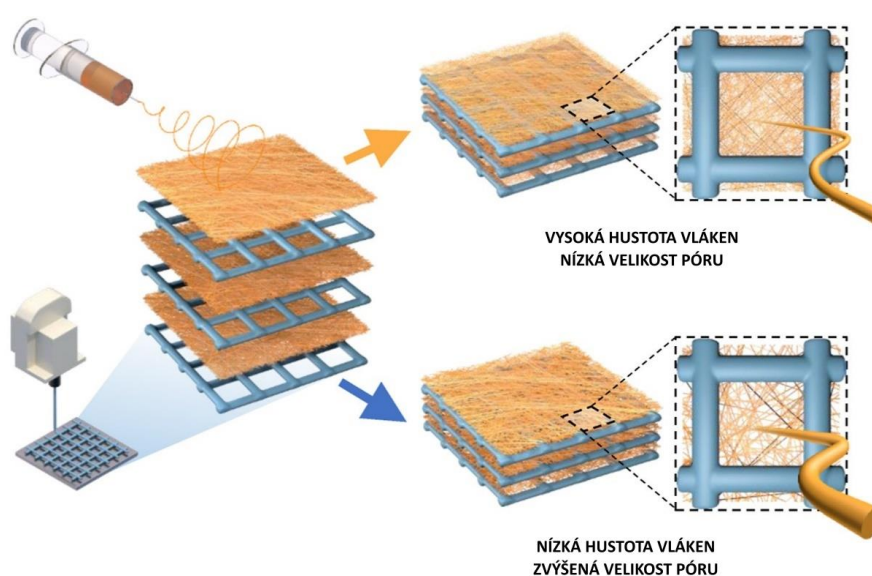


Obr. 4 – Série obrázků, jež popisují metodu výroby materiálů pomocí ultrasonifikace. a) znázornění principu ultrasonifikace. b) Planární vzorek před a po působení ultrazvuku. c) Snímky vnitřní struktury před a po působení ultrazvuku. d) Znázornění vlivu působení času ultrasonifikace na zvýšení výsledné porozity. e) Vlivu délky působení ultrasonifikace na porozitu materiálu. f) Snímek z fluorescenčního mikroskopu, porovnávající migraci buněk do objemu materiálu – vlevo nedomodifikovaný materiál, vpravo je rozvojněný materiál. Obrázek převzat [25].

Metody výroby 3D materiálu pomocí krátko-vlákněných matic. Metoda je založena na post procesním zpracování elektrospinningových vrstev na krátko-vlákněný materiál a jeho další formování do vhodného vlákněného útvaru s požadovanými vlastnostmi pro tkáňový nosič (Electrospinning with post-processing short fiber assembly). Příkladem postupu tvorby takového materiálu je vytvoření vlákněné vrstvy pomocí elektrospinningu a její následné nasekání na malé kousky. Druhým krokem je zajištění homogenní disperze vláken pomocí ultrazvuku. Posledním krokem je příprava materiálu pomocí freeze-drying technologie a sesítování [26]. Takto vytvořený tkáňový nosič vykazuje dobré mechanické vlastnosti, jako například

tvárovou stálost, stlačitelnost. Při chemickém sesítování je zpravidla třeba vymývat zbytky chemického činidla pro snížení cytotoxicity. Takto vyrobený tkáňový nosič poskytuje buňkám velmi podobné prostředí jako je originální ECM [27, 28].

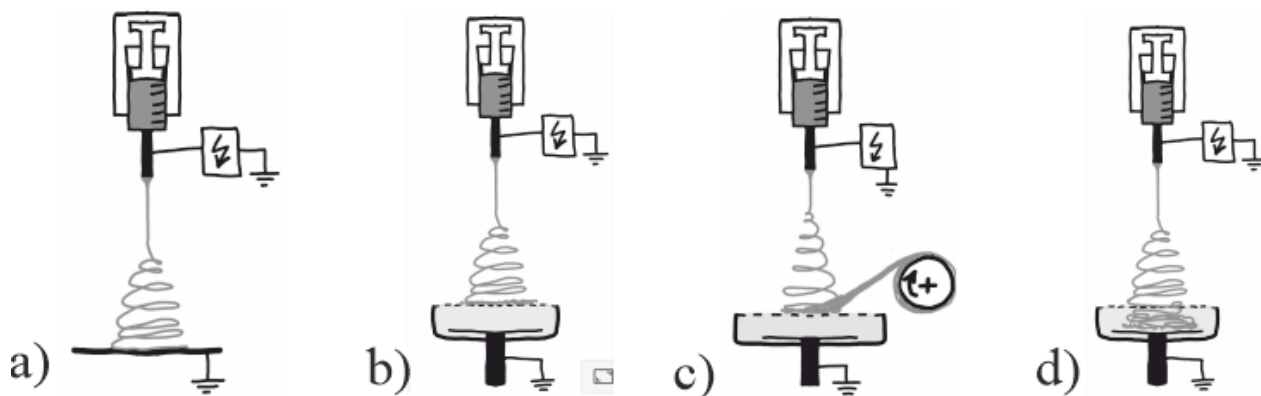
Metody výroby 3D materiálu na principu aditivního tisku. Zde se může jednat o přímý tisk materiálu s následnou funkční úpravou nebo o kombinaci s elektrickým zvlákněním. Vyrobený materiál může být vysoce porézní a vyrobený na míru požadavkům. Mnoho vytištěných struktur vykazuje i dobré biokompatibilní vlastnosti [29, 30]. Morfologie je přesně definována a řízena při výrobě, lze kombinovat více i vnitřních struktur. Obecně se však optimální velikost póru uvádí řádově menší než je velikost póru, jež technologie 3D tisku běžně produkuje [31], respektive vhodné velikosti pórů se pohybují na spodní hranici současných 3D tiskových možností například metody SLS [32]. Zajímavým řešením je kombinace 3D tisku a elektricky zvlákněných vrstev viz (Obr. 5). 3D vytištěná vrstva se pokryje vrstvou produkovanou elektrosponingem, tento proces se opakuje až do dosažení požadovaného tvaru a velikosti.



Obr. 5 – Výroba materiálu pomocí kombinace 3D tisku a elektrosponingu. Zde jsou vytvořeny dva materiály s rozdílnou elektrosponingovou vrstvou. První materiál s vysokou hustotou nanovláken (High density) a malými póry, druhý materiál byl vytvořen s nižší hustotou mikrovláken a většími póry (Low density). Obrázek převzat [33].

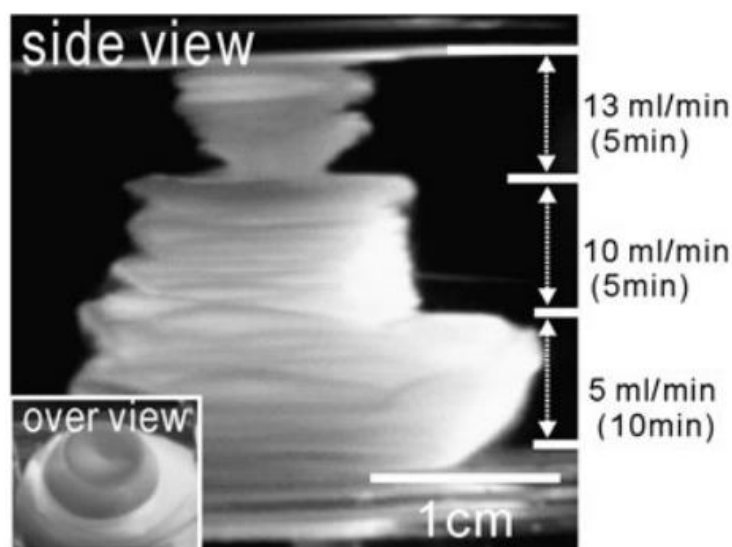
1.2 Vytváření materiálů pro tkáňové inženýrství pomocí suchých technologií

Z pohledu této disertační práce je nejdůležitější metodou výroby 3D tkáňových nosičů **wet elektrosponing**, neboli **elektrické zvláknění do kapaliny**. Metoda umožňuje výrobu pro elektrosponing klasických, vlákenných struktur, ale s větší porozitou, většími póry a 3D objemnou strukturou [34–42]. Právě tyto tři parametry jsou pro tkáňové nosiče velmi důležité. 3D objemná struktura umožňuje použití nosiče pro nahrazení objemných tkání, což jiné metody výroby tkáňových nosičů neumožňují. Zmíněné parametry, zejména velikost póru, jsou velmi důležité pro buněčnou migraci a proliferaci. Při wet elektrosponingu rozlišujeme zvláknění na hladinu a nebo do objemu kapaliny (Obr. 6), na obrázku jsou popsány základní druhy procesu. wet elektrosponing je v posledních letech velmi populárním tématem výzkumů. O jeho výjimečnosti svědčí statistika publikací prací na téma wet elektrosponingu, přičemž publikace zabývající se wet variantou elektrosponingu od roku 2021 výrazně rostou, a v současnosti si zachovávají ustálený trend nad hodnotou 5 000 publikací ročně. Wet proces výroby má také výhodu v možnosti modifikace během wet fáze, kde může kapalina sloužit nejen jako koagulační médium, ale i médium pro další modifikaci (utilizaci) produktu.



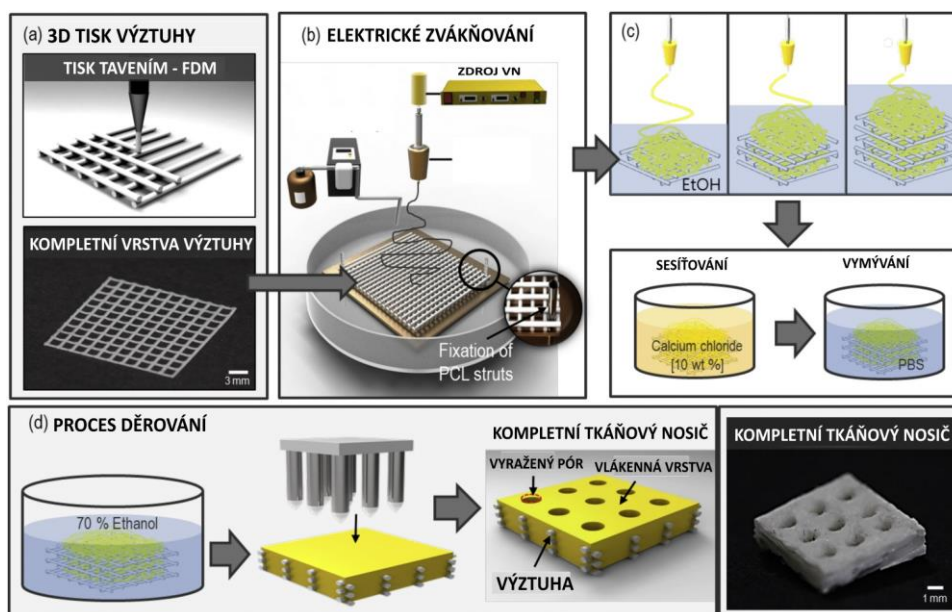
Obr. 6 – Zobrazení různých druhů konfigurace elektrického zvlákňování (elektrospinningu). a) Klasický elektrospinning zvlákňující na pevný kolektor, takto vznikají ploché (planární) vlákenné struktury. b) Wet elektrospinning, kdy kapalina slouží jako kolektor a vlákna se zachytávají na hladině kapaliny. c) Wet elektrospinning, kde je planární vlákenná struktura kontinuálně odváděna. d) Wet varianta, kdy se vlákna noří do objemu kapaliny, kde se formují do objemného 3D materiálu. Obrázek převzat [13].

Zajímavým principem je testování vlivu hydrodynamického parametru v procesu noření do kolektoru, kde byly různými hodnotami přítoku ethanolu do lázně ovlivňovány parametry výsledného vlákenného materiálu. Tímto způsobem byla ovlivňována výška a šířka výsledného 3D vlákenného materiálu [43]. Výsledek průběžné změny hydrodynamického parametru lze vidět na obrázku (Obr. 7).



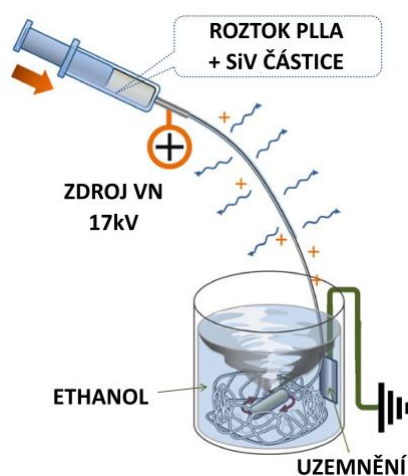
Obr. 7 – Obrázek materiálu vytvořeného pomocí wet elektrospinningové metody s modifikací procesu pomocí hydrodynamického principu. Obrázek převzat [43].

Také ve wet variantě elektrospinningu existuje snaha o kombinaci s 3D tiskem [44]. Vlákenná vrstva má poskytnout vhodný ECM imitující prostor, který svou porozitou, velkými a propojenými póry umožňuje buňkám proliferaci a migraci do materiálu. Principem výroby je více stupňový proces, ve kterém se 3D vytištěná matrice pokryje v kapalině elektrospinningovou vrstvou (např. PCL/alginát). Tímto postupem se postupně vytvoří vrstva objemného vlákenného materiálu. Takto vzniká sendvičová struktura, kombinace 3D tištěné PCL matrice a do kapaliny elektricky zvlákněné vrstvy. Vytvořený materiál je hluboce zmrazen, lyofilizován a následně do materiálu ve zmrazeném stavu vylisovány 800 μm velké otvory viz obrázek (Obr. 8).



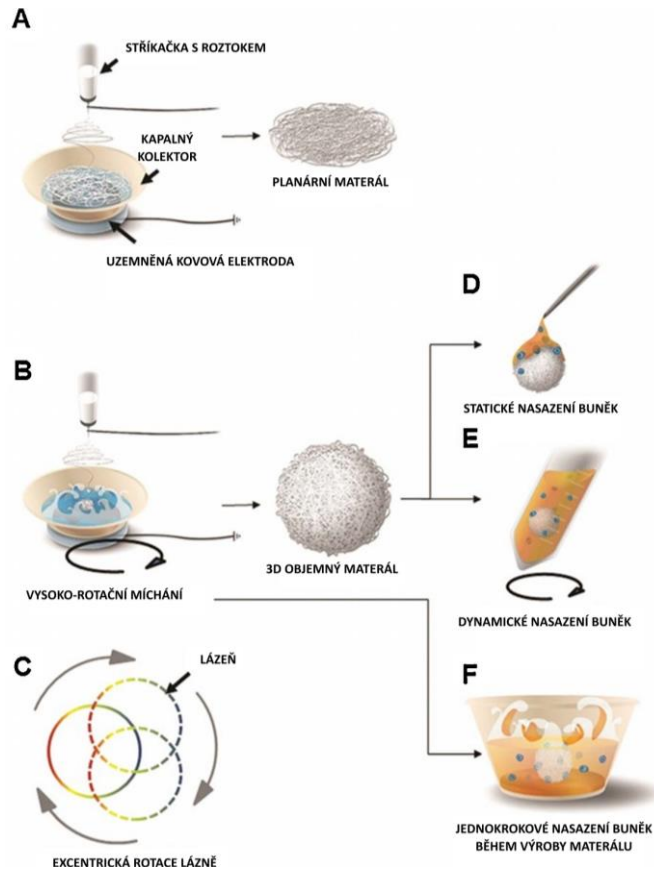
Obr. 8 – Metoda výroby tkáňového nosiče kombinující 3D aditivní tisk a wet elektrické zvláknění. a) Zobrazení procesu aditivní výroby matrice. b) Elektrické vláknění na matrici. c) Princip vrstvení a fixace se sesíťováním materiálu. d) Vyražení mikro-otvorů do materiálu. e) Snímek tkáňového nosiče. Obrázek převzat [44].

Existují také varianty s aktivně promíchávanou lázní kolektoru, ve které probíhá dopování materiálu [45]. Dopování má zlepšit biologické vlastnosti tkáňového nosiče. Vápenné a křemíkové ionty přidané k polymeru mají zlepšit proliferaci, diferenciaci a mineralizaci buněk formujících kostní tkáň [46–49].



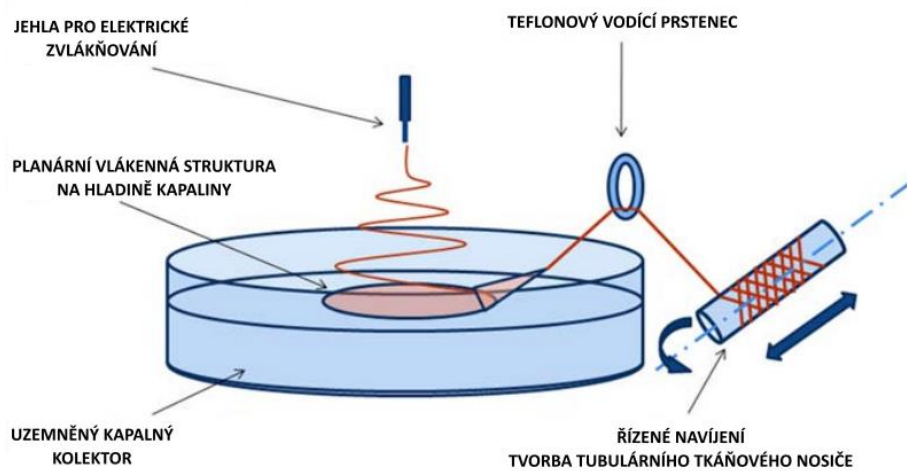
Obr. 9 – Uspořádání wet varianty tvorby materiálu s promícháváním kapalného kolektoru během vláknění. Lázeň zároveň slouží jako koagulační prostředí a zajišťuje dopování. Obrázek převzat [45].

Zajímavou metodou je také metoda míchání lázně pomocí excentrické rotace [50]. V tomto článku navíc kombinují dynamický wet elektrospinning s testováním přímého nasazení buněk. Tento dynamický způsob umožňuje spontánní osazení buněk do objemu materiálu díky vzájemnému pohybu buněk v médiu a vlákněného porézního vzorku. Vzorky osazené dynamicky přímo v kolektoru vykazují uniformitu v buněčné hustotě (Obr. 10). Výsledné testování potvrdilo výhodnost metody výroby objemných vzorků pomocí této metody a ukázalo, že osazení přímo při procesu výroby tkáňového nosiče má velké výhody, nejen procesní, ale i z pohledu buněčné proliferace a migrace do objemu materiálu.



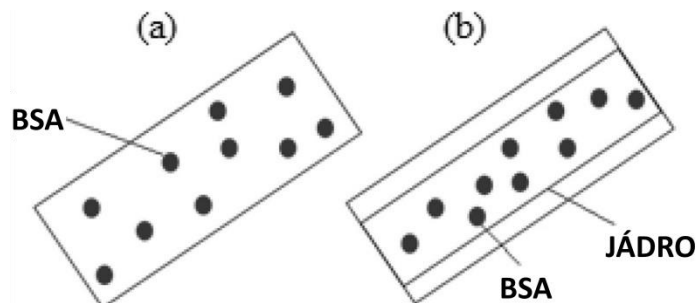
Obr. 10 – Hydrodynamický wet elektrosponing s excentrickou rotací kolektoru. a) Klasické schéma wet elektrosponingu. b) Tvorba kulovitého 3D materiálu v lázni která je excentricky rotována. Osazení buněčným materiálem: d) Statickým osazením. e) Dynamickým nasazením. f) V kolektorové lázni. V části obrázku c) je princip excentrické rotace. Obrázek převzat [50].

Častá je také snaha o vytváření orientovaných vlákněných struktur pomocí metody wet elektrosponingu. Základní uspořádání takových snah bývá na ponořený nebo částečně ponořený rotující kolektor [51] případně do kapaliny s kontinuálním odvodem (Obr. 11) a následným navíjením materiálu [52].



Obr. 11 – Princip tvorby směrově uspořádaných vlákněných struktur pro použití jako tkáňových nosičů šlach a vazů. Vlákněný materiál je odebrán z hladiny kapaliny a navíjen dle požadované orientace vláken. Obrázek převzat [78].

Kombinace wet elektrospinningu a koaxiálního zvlákňování je vhodná při užití bioaktivních látek [53]. Jsou dva přístupy k inkorporaci biomolekul do materiálu. Jeden přístup tvoří tzv. blend, kde jsou biomolekuly promíchány do materiálu a v objemu vlákna se vyskytují biomolekuly náhodně (Obr. 12 a). Druhý přístup je právě inkorporace a úplné obalení biomolekul další látkou. U verze s jádrem a pláštěm dochází k postupnému a setrvalému uvolňování biomolekul (Obr. 12 b).



Obr. 12 – Princip dvou různých metod enkapsulace biomolekul do materiálu. a) Blend - buňky jsou v promíchány v objemu materiálu. Biomolekuly mohou být i na povrchu vlákna a být v kontaktu s vnějším prostředím. b) Inkorporace biomolekul do jádra materiálu. Obrázek převzat [53].

Využití kapalného kolektoru k funkcionalizaci materiálu pro antibakteriální účely bylo testováno například přidáním butoxidu titaničitého k PU roztoku. PU roztok se vláknil do kyselé vodní lázně, kde došlo k reakci butoxidu titaničitého s kyselinou a vznikly tak nanočástice TiO_2 . Materiál s TiO_2 prokázal antibakteriální efekt. Obdobná varianta je collagen/PCL vlákna s přidavkem nanočástic stříbra (AgNP) [54]. Stříbro bylo nanášeno v lázni, kde bylo dispergováno v ethanolu.

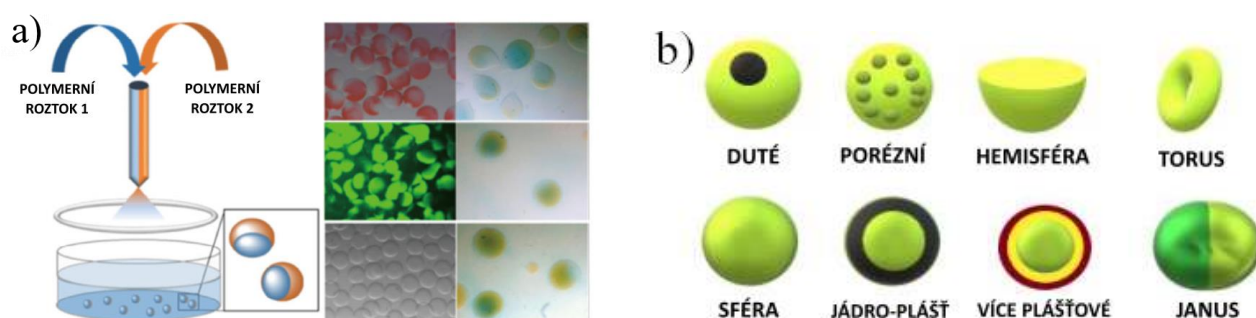
Velmi zvučným tématem u elektrického zvlákňování je použití iontových rozpouštědel – Ionic Liquid (IL). Tyto látky umožňují rozpouštění některých jinak obtížně rozpustných biomolekul (například celulóza, chitin [55–57]). Tato rozpouštědla jsou většinou relativně ekologická. Jejich nevýhodou je nízká volatilita, odstranění rozpouštědla je při použití iontových rozpouštědel výzvou. Jedním z funkčních řešení je použití wet elektrospinningu, který zajistí, že při koagulaci v lázni dojde k vyplavení rozpouštědla z formujícího se materiálu. Celulóza rozpouštěná v IL je například zvlákněná do kolektoru, kde dojde k odstranění iontového rozpouštědla z polymeru. Zároveň je z kolektorové kapaliny polymer modifikován nanočásticemi $\text{Mg}(\text{OH})_2$. Touto in-situ modifikací získává celulóзовý materiál nehořlavou úpravu [58].

V roce 2022 byl publikován článek, jež mluví o wet elektrospinningu v magnetickém poli. Magnetické vlastnosti polymerního roztoku byly zajištěny tzv. SPIONs – nanočásticemi super magnetických oxidů železa (superparamagnetic iron oxide nanoparticles). Výsledné vlákenné materiály jsou 3D objemné. Vytvořené materiály jsou zároveň magnetické, obsahují oxidy železa, což dle článku nezvyšuje cytotoxicitu.

Varianta wet elektrospinningu je i vlákňování do gelu, který lze posléze aktivovat a získat kompozitní materiál. Příkladem je vytvoření polymeru keramického materiálu, jenž je složen z polymerních vláken a keramické matrice [59]. Výsledný materiál je podobný ECM a vysoce porézní a keramická matrice mu dodává stabilitu.

Výzkumem bylo také prokázáno, že je možné vyrobit piezoelektrický vlákenný materiál pomocí zvlákňování do kapaliny, přičemž je materiál dále aditivně modifikován [38]. Příkladem dalšího technického využití je tvorba materiálu pomocí koaxiálního zvlákňování do kapaliny, kdy je lázni posléze část materiálu vymývána a vznikají vysoce specifická dutá vlákna pro super-kondenzátory (super kapacitory) [60]. Přehled v rešeršní části uvedených polymerních roztoků a kolektorů pro elektrospinning včetně jejich složení je uveden v tabulce (Tabulka 1).

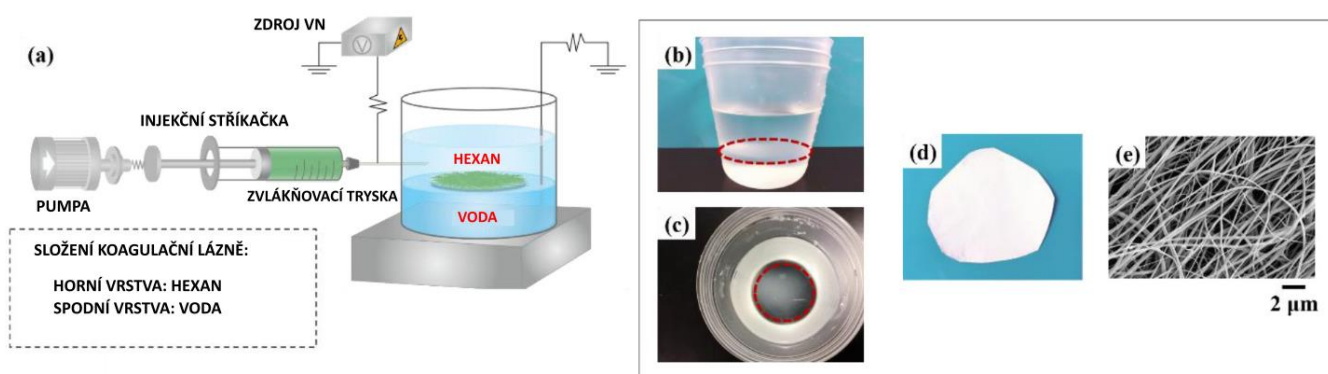
Obdobou elektrosprayingu je takzvaný elektrospraying. Je to v principu stejný proces jako elektrické zvláknění, ale nevznikají při něm vláknité útvary, vznikají nano/mikro kapičky. Proud polymeru se vlivem povrchového napětí rozpadá na sférické objekty (kapičky) a ty dále dopadají na kolektor [61]. Elektrospraying je pro medicínu také velmi zajímavý, protože dokáže vytvářet enkapsulované aktivní látky, které mohou sloužit k řízenému dodávání léčiv, či jiných bioaktivních látek. U elektrosprayingu je kapalný kolektor využíván k zachycení materiálu, jeho koagulaci nebo další modifikaci [62]. Elektrospraying může být kombinován s elektrosprayingem, vláknitý materiál je tedy kombinován s částicemi, které plní roli funkcionalizace materiálu [63]. Tkáňový nosič může být modifikován například o enkapsulované buňky [64], růstové faktory [65], léčivo či jinou aktivní látku [66].



Obr. 13 – a) Obrázek znázorňující princip tvorby bikomponentních sfér modifikovaných ve hmotě. Tyto sféry jsou sprejovány do kapalného kolektoru, tedy metodou wet elektrosprayingu. obrázek převzat [67]. b) Znárodnění a popis možných produktů (sfér-mikročástic) vytvořených pomocí elektrosprayingu, obrázek převzat [61].

Příkladem funkcionalizace–enkapsulace mikrosfér vytvořených elektrosprayingem je vytvoření enkapsulovaného léčiva, včetně živých buněk v alginátovém hydrogelu (Core-Shell) [64]. Hydrogel umožňuje difúzi kyslíku a živin k zapouzdřeným buňkám, zároveň dokáže uvolňovat léčebné proteiny vylučované buňkami. Hydrogel také chrání inkorporované buňky před interakcí s imunitním systémem.

V nedávné době se také začal objevovat tzv. immersion elektrospraying neboli elektrické zvláknění v kapalině [73–75], tedy zvláknění přímo v kolektorové kapalině pomocí vysokého napětí. Jedním ze zajímavých řešení je například dvousložkový kolektor, přičemž se kolektor skládá ze dvou nemísitelných kapalin. Zvláknovací tryska – jehla je umístěna v blízkosti nebo přímo na rozhraní těchto dvou kapalin. Příkladem je vlákenní CA – acetátu celulózy (Cellulose Acetate) v hexanu jako vláknitým médiem a vlákna se po zformování ukládají na rozhraní hexan-voda [75]. Tento způsob vlákenní přímo v kapalině lze použít i pro vytváření lineárních útvarů kontinuálním způsobem [76].



Obr. 14 – Immersion elektrospraying - elektrické zvláknění v kapalině vytváří vlákna přímo v objemu kapaliny. a) Znárodnění principu tvorby. b,c) Znárodnění rozhraní kapalin, kde vzniká. d) Vytvořený vláknitým materiálem. e) SEM snímek vláknité struktury vytvořeného materiálu. Obrázek převzat [75].

Tabulka 1 – Přehled vybraných materiálů a kolektorů, které jsou popsány jako zpracovatelné metodou wet electrospinningu.

Zvláknovaný Polymer	Kolektor a jeho složení	Účel/záměr experimentu	Výsledek/závěr	Zdroj
PCL 10 hm% v 4/1 MC/DMF	DMEM médium	Tkáňový nosič	Při dynamickém osazení přímo v kolektoru vykazuje uniformní osazení buňkami a výtečnou aktivitu i po delších časech 7-14 dní	[50]
PCL	95% ETH , 5mg/ml Dopamin, NaOH,	Tkáňový nosič	3D struktura, vlákna stužkují, hMSC se diferencují, není cytotoxický	[77]
PCL 17 hm% v 20/80 MC/DMF	ETH (In-flow – hydrodynamický kolektor)	Tkáňový nosič	Změnou hladiny výšky kolektoru lze ovlivnit strukturu a rozměr materiálu	[43]
PCL/algínát 10 hm% / 5% hm v 20/80 MC/DMF	ETH	Tkáňový nosič tvrdých tkání	Biologicky vhodný, dobrá proliferace a migrace, mnohastupňový proces	[44]
PCL/Colagen 1/1 10 hm% v HFIP (1,1,1,3,3,3,-hexafluoro-2-Propanol)	Ethanol + AgNP	Antibakteriální kryt ran	Porézní antibakteriální materiál, který není cytotoxický	[80]
PCL, želatina 7/3 15 hm% v 9/1obj kysel. Octová/ kysel. Mravenčí	Ethanol	Tkáňový nosič	Změnou intenzity magnetického pole se mění porozita a morfologie tkáňového nosiče, materiál vhodný pro TI	[99]
PCL/SF/PANI Hexaflorisopropanol, 10-kyselina gáforfónová	Voda/Ethanol 8/2 hm	Tkáňový nosič pro dlouhá svalová vlákna	Prokázána dobrá biokompatibilita, růst dlouhých buněk	[68]
PA6 15 hm% v FA PA6 15 hm% v FA/DCM	Voda	Testování vlivu surfaktantu na morfologii a vlastnosti materiálu se zaměřením na výrobu	Přidáváním surfaktantu do zvláknovaného materiálu lze ovlivnit některé parametry (průměr vláken, smáčivost, velikost pórů), experiment nebyl zaměřen na	[78]
PLGA/TFE 3/1 0,12g/ml v 2,2,2-trifluorethanol	ETH	Tkáňový nosič tvrdých tkání	Vytvořena rozsáhlá kostní tkáň	[79]
PLLA/Si-PVH TFE 7/3 6,5 hm% v chloroformu	ETH	Tkáňový nosič tvrdých tkání	Bioaktivní materiál	[45]
PLGA 20 hm/obj% v 60/40 Aceton/DMF	Voda	Tkáňový nosič pro šlachy nebo vyzy	Prokázána dobrá biokompatibilita, růst dlouhých buněk	[52]
PU 15 hm% v DMF s přísávkem tetrabutyl titanate	Voda + kyselina chlorovodíková	Antibakteriální kryt ran	Prodyšná membrána s antibakteriálními účinky	[80]
PVA/MA 1/1 9.1%hm ve vodě, PVA/MA 1/1 + 50 mg chitosan	Ethanol	Tkáňový nosič	Prokázání výhody přidání chitosanu to nosiče, lepší biokompatibilita	[81]
PGA 90mg/ml Hexafluoropropan-2-ol	1. – H ₂ O 2. – 50% Terc-butylalkohol 3. – 99% Terc-butylalkohol	Průmyslové použití	Porozita až 97%	[41]
PEO 5 hm% ve vodě	Draselný silicagel	Nespecifické materiálové použití jako kompozitu	Vytvoření kompozitního materiálu se škálovatelnými rozměry	[59]

PVDF 12 hm% v 1/4 Aceton/DMF	Ethanol/voda 5/1	Technické použití v elektronice	Vytvoření vláknenného separátoru pro super kondenzátor	[60]
PVDF 10 hm% v DMF	1.3 hm% Poly (3, 4- ethylenedioxythiophene) poly (styrene sulfonate) (PEDOT: PSS) ve vodě	Technické použití v elektronice	Vytvoření piezoelektrického vláknenného materiálu	[38]
Celulóza 1,55 hm% v IL	Voda + Mg(OH) ₂ + Orbitální třepačka	Technické použití, medicína	Prokázání možnosti tvorby vláknenného materiálu a in-situ modifikace v lázni	[58]
HAMS 12 hm/obj% v DMSO	Ethanol (100%. 80%.60% s vodou)	Testování morfologie při navíhnutí na WET rotující kolektor	Schopnost ovlivnění morfologie vláknenného materiálu dle rychlosti otáčení a stupně zanoření rotujícího kolektoru	[51]

1.3 Nanotopografické alterace

Při vlákňení do kapaliny je možné ovlivnit i nanotopografii povrchu materiálu vláken. Za tímto jevem stojí zejména oddělování fází rozpouštědel polymerního roztoku a mísení rozpouštědel/nerozpouštědel v kolektoru. Z teoretického pohledu procesu fázové separace lze jev rozdělit na několik druhů, tzv. TIPS, NIPS a VIPS. Tepelně vyvolaná fázová separace – TIPS (thermally induced phase separation), fázovou separaci vyvolanou nerozpouštědlem NIPS (non solvent induced phase separation) a fázovou separaci vyvolanou odpařováním – VIPS (vapor-induced phase separation) [82–84]. Příklad použití metody TIPS je zvlákňení polymerního roztoku, u něhož klesne teplota pod bod tání rozpouštědla. Rozpouštědlo přechází v oblastech s nižší koncentrací polymeru do pevné fáze, tak vytváří dutiny a tím morfologicky modifikuje materiál, čímž mohou vznikat póry a dutiny, nebo strukturovaný povrch. U metody NIPS dochází k interakci rozpouštědla a nerozpouštědla (například v kapalném kolektoru při koagulaci) a rozpouštědlo je naředěno nebo nahrazeno nerozpouštědlem. Tímto vznikají dutiny, póry a jiné morfologické změny v materiálu. Princip VIPS je v rychlém odpaření rozpouštědla (změna skupenství z kapaliny na plyn) z formovaného vláknenného materiálu za vzniku dutin a pórů. Pakliže dochází k rychlému odparu a současně se obvod vlákna již nezměňuje, makromolekuly polymeru v objemu materiálu formují oblasti s nižší koncentrací, kde dojde k vytvoření dutiny po kapalném rozpouštědle. Těmito metodami lze dosáhnout i vláken s neporézním povrchem, ale vnitřní porozitou (malými dutinami) [84, 85] a nebo jednou větší dutinou uprostřed vytvořeného vlákna [86, 87]. Při vhodných podmínkách mohou být tedy vlákna v materiálech pro tkáňové inženýrství upravena tak, aby jejich povrch či vnitřní porozita přinášely další přidané užité vlastnosti [88].

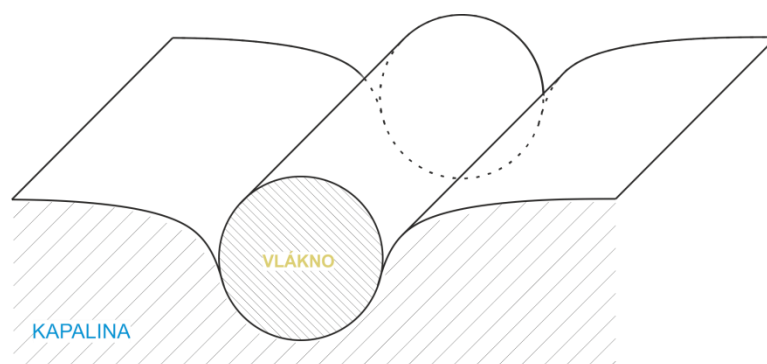
3 Teoretický matematický model

Tato část je zaměřena na popis teoretického modelu, zaměřeného na obecné porozumění principům noření vláken do kapaliny, tedy určení hlavních činitelů a vztahu mezi parametry (průměr vlákna, kontaktní úhel). Velmi důležitým výstupem je interpretace vztahů hlavních parametrů k silám působícím na rozhraní kapaliny a vlákna. Grafické interpretace umožňují relativně snadný přehled o vztahu sledovaných parametrů a vizuální zobrazení oblastí parametrů, jež indikují spontánní noření cylindrických těles do kapaliny.

Při elektrickém zvlákňování do kapaliny je zpravidla žádoucí, aby se zvlákňovaný materiál vnořil do objemu kapaliny. Mnohdy není možné tomuto procesu napomoci mechanicky, například nuceným odtahem materiálu, vodním vírem nebo mícháním. V takových případech je zpravidla nutné upravit fyzikálně – chemické parametry kapaliny – povrchové napětí a tím snížit povrchovou energii vlákna

v kolektorovém systému. Od jisté meze pak dominuje síla tíhová a ovlivňování povrchové energie postrádá význam. Tento rozměr je zhruba roven kapilární délce. Tento model je rozpracováním teoretické části článku „Study of Polycaprolactone Wet Electrospinning Process“ [35], ve které je základní popis geometrie, a základ matematického řešení sil vztakových a tíhových. Dále navazuje na práce Popova [89], který v knize řeší kapilární síly a uvádí příklad výpočtu maximální síly, kterou může systém na hladině unést, a práce autorů Landau – Lifshitz [90, 91], kde je popisováno chování hladiny kapaliny na rozhraní kapalina/pevná látka/plyn.

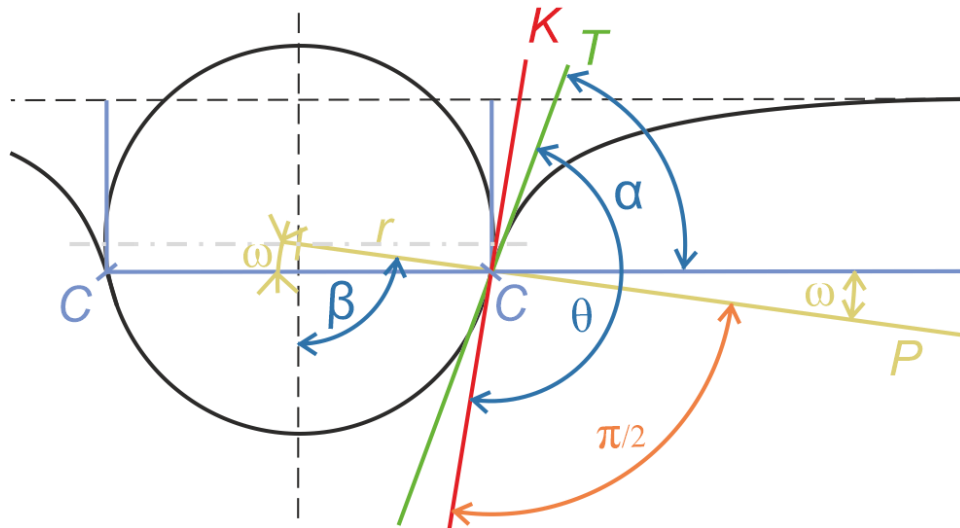
Podmínky matematického modelu – pro řešení problému noření vláken do kapaliny byl vytvořen jednoduchý model (Obr. 15). Obecně platný předpoklad je, že vlákna ve fázi bičování mají vysokou rychlost a dlužením se rychlost ještě zvyšuje. Většina délky vlákna dopadá v horizontálním položení nebo jemu blízkých úhlech [94, 95].



Obr. 15 – Model vlákna v podobě dokonalého válce na hladině kapaliny. Jeho délku považujeme za nekonečnou, vliv kapilární síly na rozdílné zakřivení na koncích cylindru není brán v potaz.

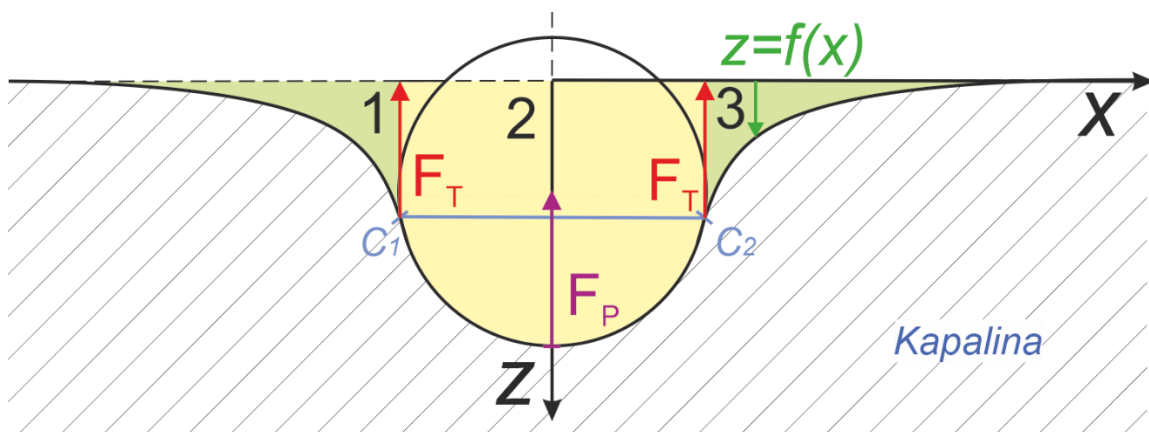
Charakteristický rozměr studovaného tělesa, tedy průměr nanovlákná, je menší, než je kapilární délka kapaliny, průměr vlákna d je menší, než kapilární délka a pro danou kapalinu $d < a$. Kapilární délka je dána vztahem $a = \sqrt{\frac{2\gamma}{\rho g}}$ [96].

Celková síla působící na částečně ponořený válec se skládá ze dvou komponent. První komponenta je celková vztaková síla F_L působící proti noření vlákna a je složena ze dvou sil, silou F_T způsobenou zakřivením povrchu kapaliny vyvolaným povrchovým napětím a silou vztakovou F_p . Druhá komponenta je síla F_G vyvolaná tíhou vlákna viz obrázek (Obr. 17) [97], tato síla působí proti první komponentě. Základní geometrie modelu se odvíjí od trojných kontaktních bodů C , které jsou v místě dotyku vzduchu, kapaliny a vlákna, viz obrázek (Obr. 16). V tomto kontaktním bodě je znázorněna také tečna k povrchu kapaliny T . Funkce $z(x)$ popisuje výchylku kapaliny v závislosti na pozici podél osy x . Kontaktním bodem prochází také tečna K k povrchu vlákna. Tento povrch se na kolmém řezu jeví jako kružnice. Úhel β je sevřen vertikální osou z a tzv. kontaktní přímkou P spojující střed vlákna S a kontaktní bod C . Tento úhel β nabývá teoreticky hodnoty $(0, \pi)$. Úhel θ je sevřený tečnami K a T a má význam úhlu smáčení. Úhel α je sevřen tečnou T a horizontální přímkou P procházející kontaktním bodem C .



Obr. 16 – Znázornění hlavních geometrických charakteristik definujících zjednodušený model cylindrického vlákna nořícího se do kapaliny.

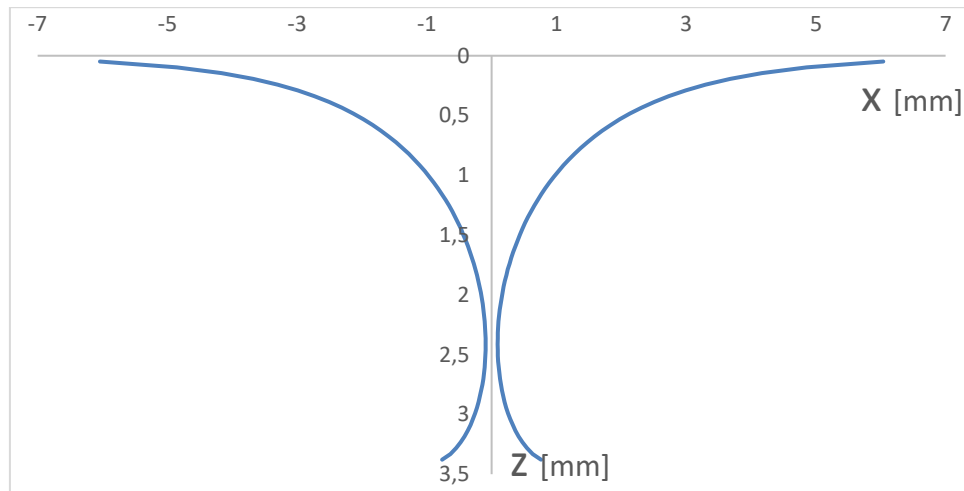
Vlákno je v řezu znázorněné kružnicí s poloměrem r . Nořící se vlákno deformuje hladinu kapaliny a stlačuje ji směrem dolů podél osy z v případě, že úhel smáčení je větší než $\pi/2$. Tuto deformaci vytváří snaha vlákna se ponořit a povrchové napětí kapaliny. Orientace osy je zvolena tak, že nabývá směrem nahoru záporných hodnot a směrem dolů hodnot kladných. Nořením vlákna vzniká v řezu kapaliny výchylka $z(x)$ od nulové hodnoty osy z . Kapalina vytlačena vlákem a zakřivení povrchu kapaliny se dají rozdělit do oblastí 1, 2 a 3 viz obrázek (Obr. 17). Vertikální komponenta síly F_T je rovna vertikální složce povrchového napětí γ násobeného celkovou délkou vlákna. Tato komponenta síly odpovídá Archimedovu vztlaku oblastí 1 a 3. Druhá vertikální síla F_P je úměrná hmotnosti kapaliny vytlačené nořením vlákna z oblasti 2 [97].



Obr. 17 – Znázornění jednotlivých oblastí 1, 2 a 3. Oblast 1 a 3 je ohraničena hladinou $z = f(x)$ a vertikálou vedenou z kontaktních bodů C . Oblast 2 je odspodu ohraničena valem, z boků opět vertikálou z kontaktních bodů C . Působení vertikálních složek sil povrchového napětí je značeno F_T . Vztlaková síla je označena F_P .

Pro rovnovážný stav každého elementárního úseku zakřivené hladiny z kapaliny platí $P_h = P_c$. Kde P_h je tlak hydrostatický a P_c značí kapilární tlak v důsledku zakřivení hladiny kapaliny.

Pro vyšetření tvaru výchylky hladiny kapaliny a po zavedení bezrozměrových veličin je postupně získána rovnice $\frac{x}{a} = \sqrt{2 - \zeta^2} - \frac{\log(\sqrt{4 - 2\zeta^2 + 2})}{\sqrt{2}} + \frac{\log(\zeta)}{\sqrt{2}} + A_1$. Bezrozměrná výchylka hladiny $\zeta = \frac{z}{a}$ tedy $z = a\zeta$. Výchylka hladiny kapaliny je popsána tímto matematickým vztahem, její průběh je znázorněn na grafu (Obr. 18), ve kterém je levá křivka zrcadlovým obrazem pravé křivky. Pro názornost si lze na ose z představit kruhový průřez vlákna, které se noří do kapaliny a způsobuje poruchu výchylky na hladině.



Obr. 18 – Graf výchylky $z(x)$ dle výše uvedeného modelu, modrá čára představuje poruchu na hladině způsobenou ponořeným vláknem, pravá část výchylky je zrcadlovým zobrazením levé části. Velikost konstanty A_1 posouvá křivku po ose x .

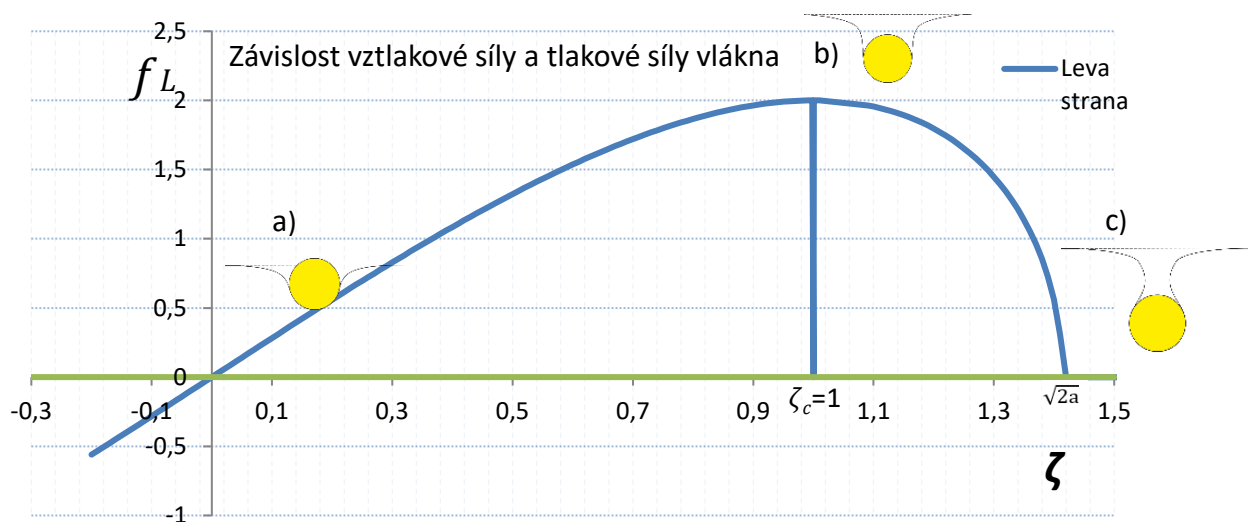
Dále jsou definovány bezrozměrové síly $f = \frac{F'}{\gamma l}$, a je zaveden bezrozměrový poloměr vlákna R , který je podílem poloměru ponořeného válce r a kapilární délky a , tj. $R = r/a$. Po provedených úpravách je celková bezrozměrná vztlaková síla, která působí na vlákno označována jako f_L . Tato síla f_L je součtem f_T a f_P , a je zapsána jako $f_L = f_T + f_P$. Po dosazení vztahu pro f_T a vztahu pro f_P je rovnice ve tvaru

$$f_L = 2\zeta_c \sqrt{2 - \zeta_c^2} + 2R^2(\beta - 1/2 \sin 2\beta) + 4R\zeta_c \sin \beta. \text{ Tento vztah je dále rozpracován do podoby}$$

$$2\zeta_c \sqrt{2 - \zeta_c^2} + 2R^2 \left\{ \pi - \theta + \arctan \left(\zeta_c \frac{\sqrt{2 - \zeta_c^2}}{1 - \zeta_c^2} \right) - 1/2 \sin \left[2\pi - 2\theta + 2 \arctan \left(\zeta_c \frac{\sqrt{2 - \zeta_c^2}}{1 - \zeta_c^2} \right) \right] \right\} +$$

$$4R\zeta_c \sin \left(\pi - \theta + \arctan \left(\zeta_c \frac{\sqrt{2 - \zeta_c^2}}{1 - \zeta_c^2} \right) \right) = 2\pi R^2 P.$$

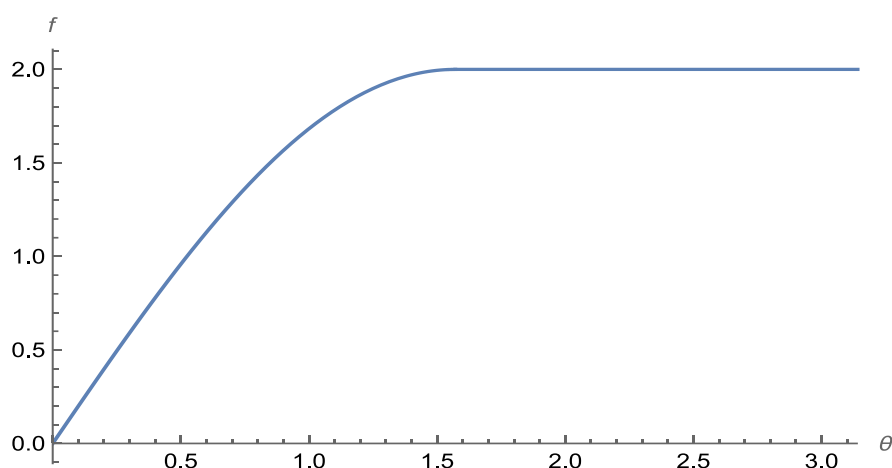
Tento vztah je použit pro grafické vyjádření závislosti vztlakové síly f_L na bezrozměrné výchylce kapaliny ζ modelové parametry polyakrylonitrilového (PAN) vlákna o průměru 500 nm, ponořeného do ethanolu.



Obr. 19 – Graf závislosti bezrozměrné vztlakové síly f_L na bezrozměrné výchylce hladiny kapaliny ζ . Ikony a,b,c ukazují předpokládaný stav rozhraní kapaliny, kdy a) je výchozí stav hladiny kapaliny při částečném zanoření válce do kapaliny. Maxima – kritické hodnoty nabývá síla f_L v místě bezrozměrové výchylky $\zeta_c = 1$, v tomto místě dochází k noření cylindru do kapaliny, stav hladiny kapaliny je na znázorněn ikonou b). S dalším nořením se maximální síla, kterou je systém schopen unést zmenšuje, protože levá a pravá hladina kapaliny se nad vláknem uzavírají a snižují tak vytlačený objem kapaliny viz ikona c).

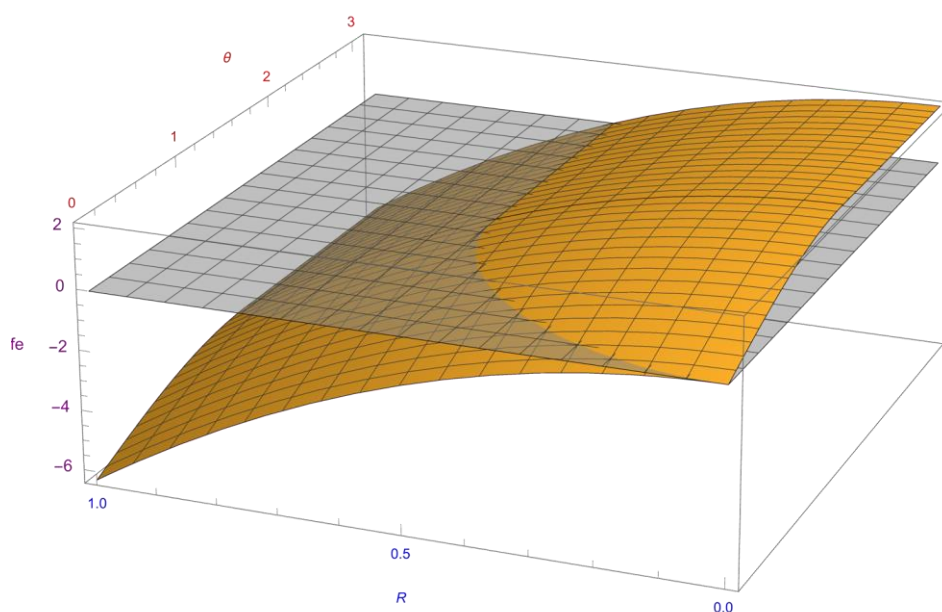
Na obrázku (Obr. 19) lze na modré křivce vidět vztah mezi maximální silou, kterou je systém schopen unést, a bezrozměrnou výchylkou hladiny kapaliny. Zelená příčka značí bezrozměrovou tíhovou sílu vyvolanou vláknem. Průsečík křivek v intervalu $\langle 0; 1 \rangle \zeta$ ukazuje stabilní stav systému a lze vyčíst výchylku hladiny kapaliny v kontaktním bodě C. Pokud tato zeleně značená tíhová síla překoná modrou křivku, dojde k ponoření vlákna vlivem překonání vztlakových sil pomocí síly tíhové. Při zkoumání průběhu grafu maximální síly lze říci, že v maximu tohoto grafu ($\zeta_c=1$) dojde k ponoření vlákna do objemu kapaliny. V místě o hodnotě bezrozměrové výchylky hladiny kapaliny $\zeta_c=1$ nelze f_L (levá strana rovnice) spočítat, platí podmínka $\zeta \leq \sqrt{2}a$. Za hodnotou $\zeta=1$ začne klesat hodnota vztlakové síly, toto je okamžik, kdy se začne vlákno nořit do kapaliny.

Řešení maximálních únosností kapaliny vzhledem k průměru vlákna. Takové řešení se zabývá případem, kdy dojde k ponoření vlákna do kapaliny v jeho maximálním možném zanoření do kapaliny. Je to tedy stav, kdy se oba dva kontaktní body C potkají na vrcholu vlákna a kapalina se spojí. Cílem je nalezení vztahu mezi bezrozměrnou výchylkou hladiny ζ a kontaktním úhlem θ . Pro zjednodušení je zaveden poměr hustoty vlákna - ρ_f a hustoty kapaliny ρ_l , $P = \frac{\rho_f}{\rho_l}$. Výsledný vztah představuje maximální sílu, kterou může studovaný systém unést, tedy jaký průměr vlákna (představovaný hodnotou R) je kapalina schopna unést, $f_E = 2\sqrt{1 - \cos\theta} \sqrt{2 - (\sqrt{1 - \cos\theta})^2} - 2\pi R^2 P$. Jakmile síla tíhová reprezentována částí rovnice $2\pi R^2 P$ překoná sílu vztlakovou dojde k ponoření vlákna do kapaliny. Tento vztah definuje maximální únosnost studovaného systému. Vztlaková síla je od 0 do $0 - \pi/2$ dána vztahem $2\sqrt{1 - \cos\theta} \sqrt{2 - (\sqrt{1 - \cos\theta})^2}$ po překonání $\pi/2$ je maximální síla považována za konstantní. Znázornění vztlakové síly, která je vyvolána povrchovým napětím je zobrazeno pomocí 2D grafu na obrázku (Obr. 20).

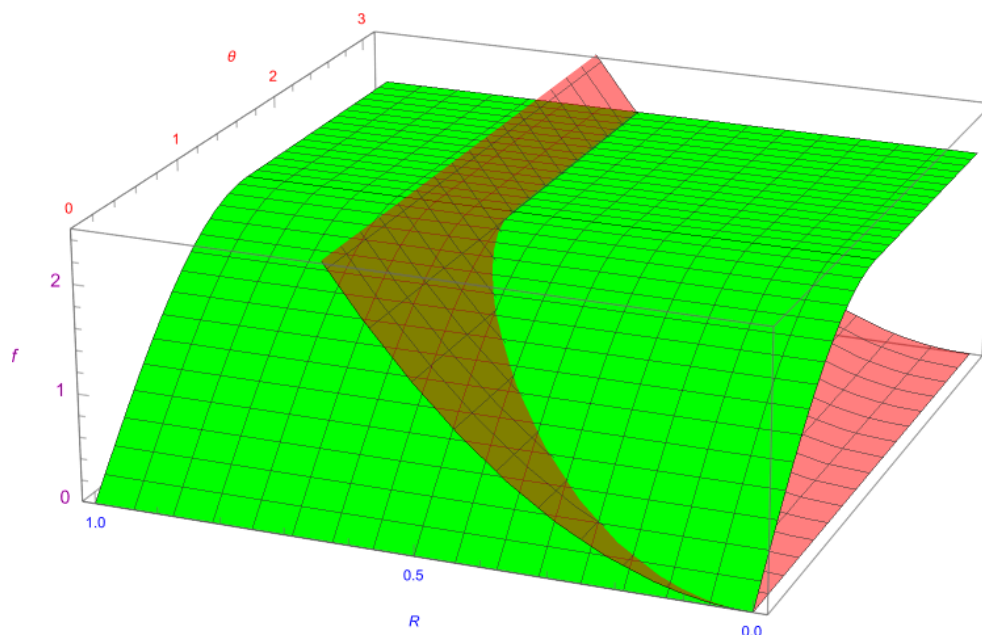


Obr. 20 – 2D graf závislosti bezrozměrné vztlakové síly f_E na kontaktním úhlu θ . Vztlaková síla je od kontaktního úhlu 0 od $0 - \pi/2$ rostoucí a definovaná vztahem $2\sqrt{1 - \cos\theta} \sqrt{2 - (\sqrt{1 - \cos\theta})^2}$, po překonání této hodnoty je konstantní.

Vizualizace obrázku (Obr. 22) na 3D grafu znázorňuje f_E dle vztahu pro maximální únosnost, plocha s kladnou hodnotou f_E značí oblast kde bude vlákno na hladině, naopak tam, kde je f_E záporná, dojde k ponoření vlákna. Vizualizace na obrázku (Obr. 22) ukazuje v 3D grafu prolnutí maximální vztlakové síly (zelená plocha) a síly tíhové (červená plocha). V místě, kde červený graf překoná zelenou plochu, predikuje ponoření cylindru do kapaliny, síla gravitační překonala sílu vztlakovou. Grafy na obrázcích (Obr. 21 a Obr. 22) ukazují jinak reprezentovanou stejnou situaci. První graf ukazuje výslednou sílu studovaného systému, zatímco graf na druhém obrázku ukazuje jednotlivé složky síly ve dvou plochách, kde sledujeme jejich vztah a převládající sílu v daném prostoru.

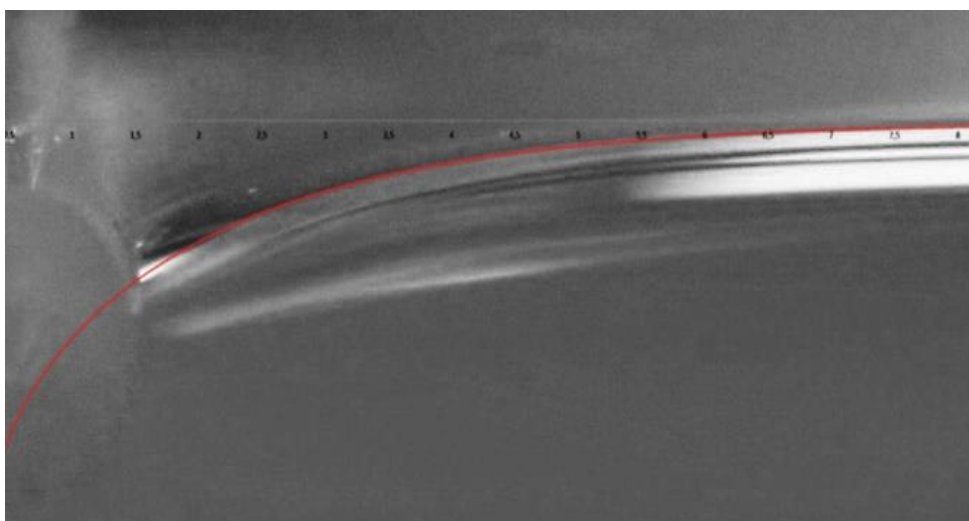


Obr. 21 – 3D graf kde je síla tíhová F_{tv} odečtena od síly vztlakové f_T . Kladná část reprezentuje stav, kdy bude síla vztlaková dominovat a nedojde k ponoření vlákna. Nulová hodnota je reprezentována šedou plochou.



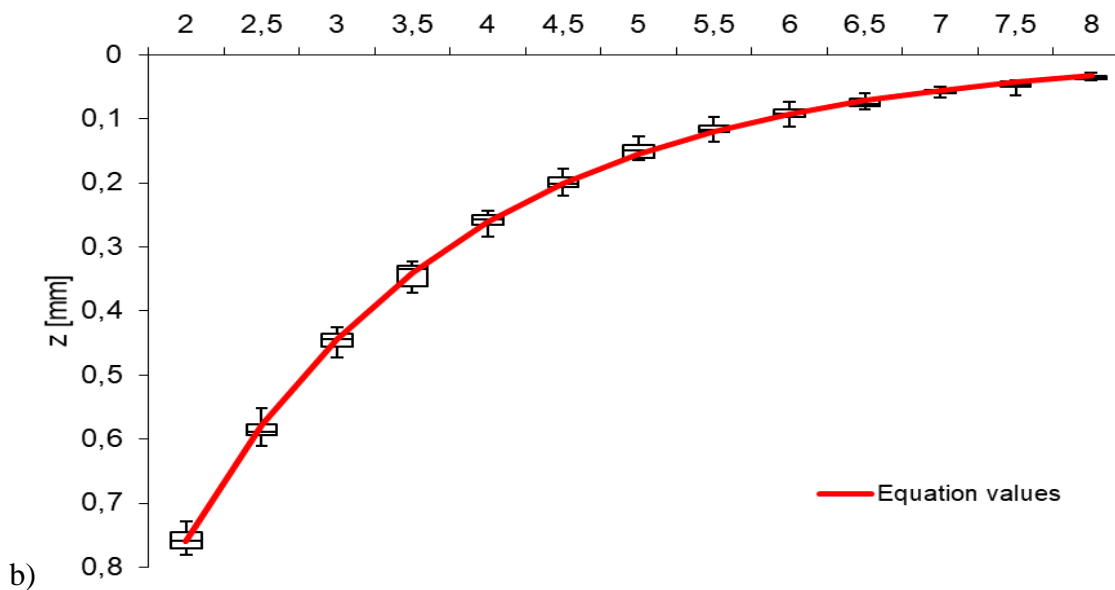
Obr. 22 – 3D graf závislosti bezrozměrné vztlakové síly f_E na kontaktním úhlu θ a bezrozměrného poloměru vlákna. Zelená je síla f_T vyvolaná povrchovým napětím, červená je tíhová část vyvolaná hmotností vlákna působící proti nadnášecí síle f_T . V místě, kde červeně označená složka protne a překoná zeleně označenou sílu, dojde k překonání síly f_T silou F_{tv} vyvolanou tíhou a dojde k ponoření vlákna.

Pro ověření modelu reprezentujícího výchylku hladiny kapaliny byly provedeny experimenty, jež umožnily nepřímé odečtení hodnot výchylky hladiny kapaliny ze snímků experimentu (Obr. 23 a). Fotografie tvaru výchylky hladiny kapaliny je na obrázku (Obr. 23a), do tohoto snímku je vložena křivka reprezentující teoretickou výchylku hladiny kapaliny. V předem daných vzdálenostech na ose x byly odečteny hodnoty výchylky hladiny na ose z . Měření byla opakována a z vybraného souboru dat byl proveden jednovýběrový T-test na každý z daných úseků měření. Test byl proveden na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ s konstatováním, že mezi naměřenými hodnotami a vypočtenou teoretickou hodnotou není statisticky významný rozdíl. Toto potvrzení indikuje správnost modelu v jeho základu.



a)

x [mm]



Obr. 23 – Porovnání teoretické a reálné zakřivení hladiny kapaliny. a) Obrázek ukazuje prolnutí fotografie hladiny kapaliny a červeně vykreslenou hodnotou výchylky vytvořenou pomocí matematického modelu. b) Graf ukazuje prolnutí červené hodnoty získané pomocí matematického modelu a černě vyjádřených hodnot získaných pomocí experimentu.

3.1 Závěr teorie matematického modelu

Závěrem lze konstatovat, že tento model značně rozšiřuje dosavadní teoretické modely, detailnější grafické zobrazení je věnováno zejména případům velmi malých cylindrických objektů. V porovnání s Popovem [89] je komplexnější a vyšetřuje dané téma s menším počtem podmínek. Model vizualizuje podmínky noření a je možné vyšetřit parametry, a tím lépe ukázat vztahy veličin, které vedou k noření vláken. Tento model je brán jako platný pro kontaktní úhly $\theta \geq 90^\circ$. Systémy vláken s menšími kontaktními úhly jsou pokládány za samovolně nořící se. Model je schopen vizualizovat tvar rozhraní hladiny kapaliny, což bylo potvrzeno experimentem. Praxe zvlákňování elektrickým způsobem z více důvodů teorii jednoznačně neodpovídá. Model je přesto důležitý pro pochopení principů a podmínek noření. Teorie predikovaná matematickým modelem při ověřování však neodpovídá praxi, vlákna se noří i při větších kontaktních úhlech. Hlavním důvodem, proč teorie v podmínkách elektrického zvlákňování do kapaliny neodpovídá praxi je zejména přítomnost zbytkového rozpouštědla ve vlákne, jež zásadně mění kontaktní úhel, a tedy povrchové napětí. V procesu noření jsou i jiní činitelé, kteří nejsou v teoretickém modelu zahrnuti, jako je například elektrokapilarita [99, 100], kinetická energie vlákna atd.

4 Návrh a vytvoření zařízení pro wet elektrospinning

Již pro první praktické experimenty s wet elektrospinningem byl vytyčen cíl neprovádět experimenty na improvizovaných zvlákňovacích sestavách a zařízeních složených z různých laboratorních pomůcek a jednotlivých dílů. Systémově vytvořené řešení kompletu zařízení umožní dodržení stejných a definovaných pracovních podmínek procesu. Při pečlivém sledování současného stavu, je patrné, že pokud jsou v publikovaných zdrojích zařízení vůbec popisována či znázorněna, jsou tato zařízení složena jednorázově z laboratorního vybavení nebo improvizovaných pomůcek. Při opakování experimentu se zařízení opět sestavují z jednotlivých částí a opět se musí řešit jejich osazení nástroji, úchyty atd. Časté skládání a opětovné rozkládání vede k různým odchylkám v použitých sestavách či dokonce jiným

konfiguracím a tím i změnám nastavení procesu vlákňení. Obecně jsou tedy všechny v člancích zdokumentované wet elektrospinning procesy zaměřené na tkáňové inženýrství tvořeny v improvizovaných podmínkách s laboratorním vybavením [60, 101].

4.1 Koncept hlavních principů zařízení

Koncept zvlákňovacího zařízení byl zamýšlen jako flexibilní modulární platforma umožňující široký rozsah prováděných experimentálních nastavení, včetně přípravy pro snadné výměny zdroje DC za AC. Takové zařízení má umožnit relativně rychlé a pohodlné nastavení parametrů procesu a modularitu při testování různých kolektorů. Snahou je taktéž minimalizace kovových částí, nejen z důvodu bezpečnosti, ale i z důvodu prevence nežádoucích vlivů při zvlákňování pomocí vysokého napětí (VN). Použitím 3D tisku nebo porízením běžných komerčních produktů na toto zařízení je zajištěn relativně snadný up-grade i opravy zařízení a jeho případná replikace. Při výrobě zařízení je tedy hlavním cílem minimalizace nestandardních dílů a dílů jež nejdou snadno replikovat pomocí 3D tisku nebo komerčně pořídit.

Primární myšlenkou bylo vytvořit zařízení, které by bylo flexibilní a snadno ovladatelné. Zvláštní pozornost byla věnována hygieně, zejména při práci s kapalinami. Zařízení bylo navrženo tak, aby umožňovalo dezinfekci a čištění povrchu od případných úniků kapaliny nebo odstranění zbytku roztoku polymeru, který by mohl zařízení znečistit. Dalšími důležitými aspekty bylo uložení kapalinového kolektoru tak, aby různé nádoby mohly být snadno připojeny a odpojeny, umožnění manipulace s celou nádobou bez potřeby zásahu do konfigurace nastavení parametrů komponent. Toto bylo důležité zejména pro obsluhu uzemňovací soustavy, která většinou bývá umístěna ve spodní části nádoby.

Základním požadavkem byla také flexibilita v možnosti uchycení různých trysek a funkčních zvlákňovacích celků. Zařízení bylo také konstruováno s ohledem na případnou možnost uchycení robustnější aparatury na AC elektrospinning [7].

Tento komplexní přístup k návrhu zařízení zajišťuje jeho univerzálnost, variabilitu použití a schopnost přizpůsobit se různým experimentálním potřebám v oblasti zvlákňování metodou wet elektrospinningu pro tkáňové inženýrství.

4.2 Konstrukce

Základním prvkem konstrukce byla navržena nosná platforma, jejíž základem je základní deska, jež má dobré mechanické vlastnosti, voděodolnost a lze ji dobře čistit a dezinfikovat roztokem alkoholu. Rozměr byl zvolen tak, aby umožňoval umístění a manipulaci v laboratorní digestoři. Platforma byla osazena protiskluzovými vyvýšenými podložkami, zajišťujícími nejen stabilitu, ale i prostor pro uložení zemnicí soustavy a zvýšení vzdálenosti od kovového povrchu digestoře a případných úniků kapalin. Boky platformy byly osazeny úchyty pro praktické a ergonomické uchycení při přenášení. Čelní strana byla vybavena úchytem pro jednoruční vertikální přenášení a usnadnění manipulace. Zadní strana byla vybavena protiskluzovými patkami pro vertikální skladování. Při návrhu dílů bylo již bráno v potaz, jakou metodou výroby a jakým typem 3D tiskárny bude díl vyráběn tak, aby byl co nejsnadněji a nejkvalitněji vyroben.

4.3 Výroba

Výroba zařízení byla rozdělena podle funkčních celků, s ohledem na maximální funkčnost a praktičnost. Cílem bylo kvalitní vyrobení dílu a jejich přesné sesazení dle nákresu. Výrobní proces byl navržen tak, aby v ideálním případě umožňoval snadnou replikovatelnost výroby. Zařízení se skládá z nosné desky,

platformy pro nádobu na kapalný kolektor, úchyt na zvlákňovací aparaturu s nastavitelným ramenem, zemnicí soustavu, nádoby kolektoru, hydraulické soustavy a příslušenství.

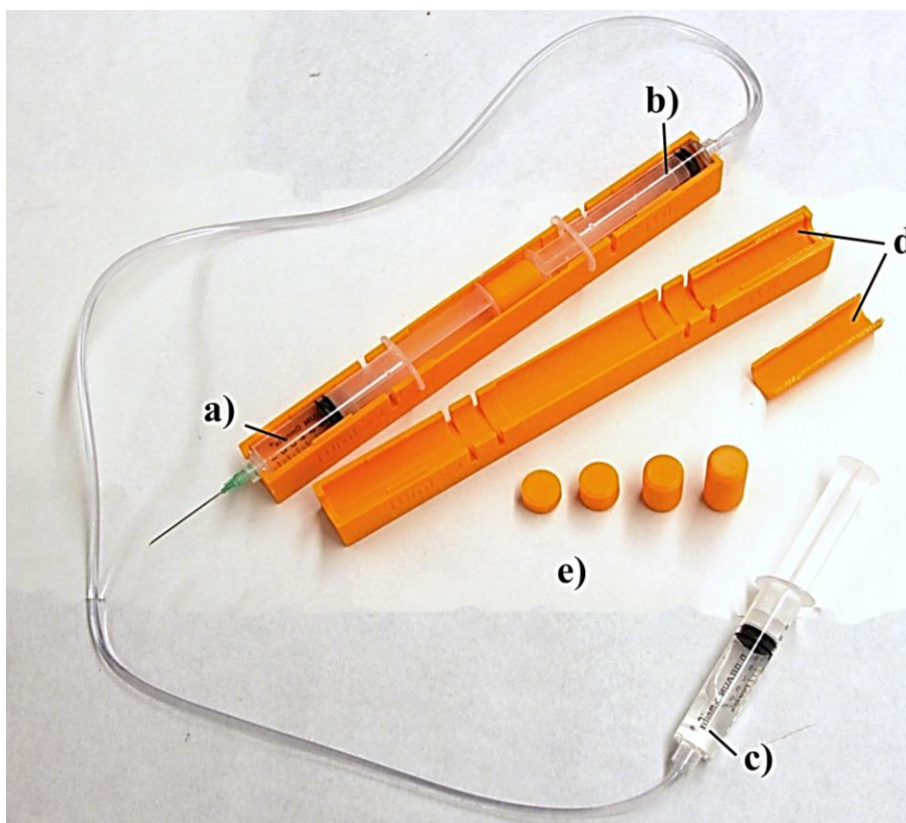
Prvním krokem bylo vyrobení nosné platformy – desky se základním funkčním příslušenstvím. Druhým krokem byla výroba vyvýšené platformy pro uložení nádoby kapalného kolektoru. Tato část byla již v konstrukci navržena s ohledem na nutnost manipulace s kapalným kolektorem a potřebu připevňovat uzemňovací svorku ke kolektoru. Z tohoto důvodu byla platforma kolektoru vyrobena jako čtyři jednotlivé podstavce, dávající prostor pro manipulaci s vodičem uzemnění. Prioritou tedy bylo umožnění prakticky snadné manipulace s uzemňovacím aparátem dle potřeb konkrétního kolektoru.

Jako třetí konstrukční prvek byl vyroben univerzální úchyt na zvlákňovací systém – trysku. Úmysl konstrukce úchytu byl v prvním konceptu jako elektronicky řízený úchyt kartézského typu, tak jako většina FFD tiskáren. To by umožňovalo přesný, elektronicky nastavitelný a programovatelný pohyb zvlákňovací soustavy. Vzhledem k nutnosti použití mnoha elektronických ovládacích prvků a kovových dílů, spolu s vysokým napětím a přehodnocení priorit konstrukce byl tento princip pro experimentální zařízení opuštěn. Na místo toho byl zvolen držák z izolačních materiálů tak, aby se minimalizovala rizika spojená s provozem vysokého napětí. Jako rameno manipulátoru byl zvolen článkový kloubový systém využívaný zejména pro nízkotlaké kapalinové aplikace. Konstrukčně byl držák navržěn jako dvojitý, stávající se ze dvou trubic, pro zvýšení únosnosti a stability. Jako samotný úchyt aparatury (gryp) byl zvolen úchyt poměrně jednoduché konstrukce, nicméně zajišťující pevné a stabilní uchopení zvlákňovací aparatury. Konstrukce je zcela vytisknutelná na 3D tiskárně, z důvodu snadné modifikace a reprodukce.

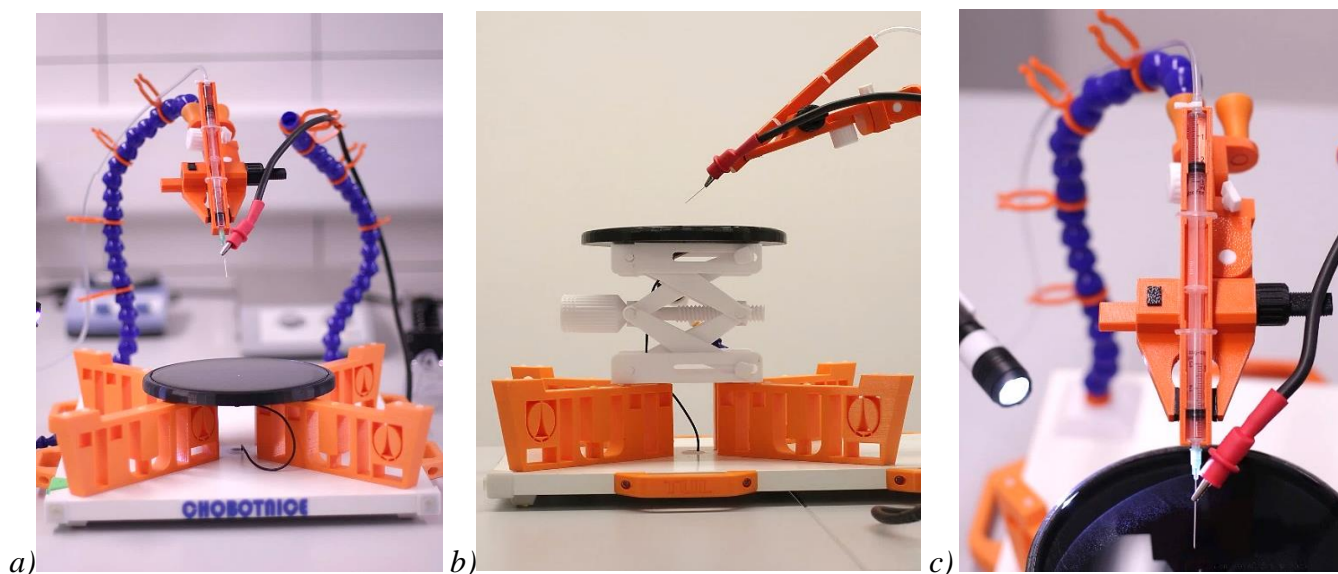
Principiálně velmi důležitým prvkem pro použití se stejnosměrným zdrojem napětí je zemnicí soustava, která slouží k přivedení záporného potenciálu od zdroje vysokého napětí až ke kolektoru. Z praktických důvodů je zemnicí část vedení integrovanou součástí zařízení.

Dalším prvkem konstrukce zařízení je kolektor. U wet elektrospinningu však kolektor musí obsahovat kapalinu, která slouží jako pracovní část kolektoru. Pro prvotní testování byla navržena široká nádoba s nízkým okrajem. Nádoba byla navržena jako výtisk 3D tiskárny o vnitřním průměru 180 mm. A hloubkou nádoby 10 mm. Dlouhodobými zkušenostmi se ukázaly nádoby vytištěné pomocí 3D tisku jako ne zcela vhodné pro některá rozpouštědla. Z praktických důvodů byla tedy poslední verze nádoby kolektoru vyrobena ze skleněné Petriho misky o průměru 200 mm [105]. Ve středu misky byl vytvořen otvor 3 mm, který byl osazen nerezovým šroubem M3 14 mm A2. Zespodu vyčnívající šroub slouží jako zemnicí bod pro připojení svorky záporného potenciálu.

Distribuce roztoku polymerního materiálu je zajištěna přímým dávkováním roztoku z injekční stříkačky a jehly. K přesnému dávkování byla naplánována a použita stříkačková pumpa. Byl zvolen princip hydraulického oddělení pumpy od roztoku polymeru, kde se přenosem kapaliny z plné stříkačky v pumpě (*c*) přenáší síla na stříkačku v přípravku (*b*), ta vytlačuje polymer ze stříkačky (*a*) (*Obr. 24*). Tímto krokem došlo nejen k elektrickému oddělení, ale i racionalizaci hospodaření s roztokem. Objem potřebného polymerního roztoku je pak udržen na nezbytném minimu.



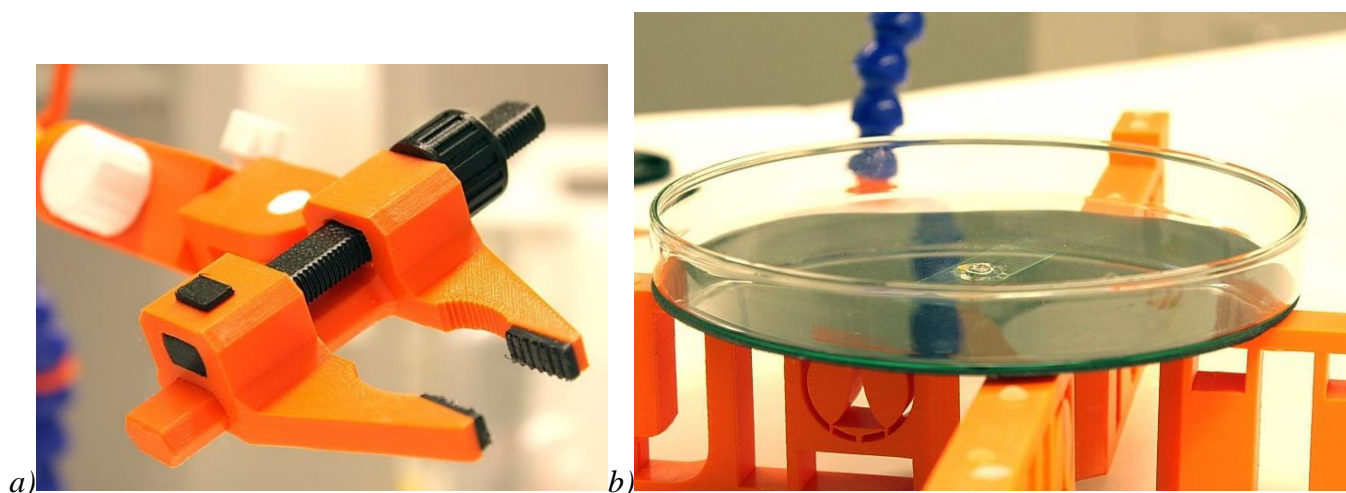
Obr. 24 – Fotografie hydraulické soustavy zajišťující dávkování polymerního roztoku. a) Stříkačka s polymerním roztokem. b) Stříkačka hydraulického systému předává tlak na stříkačku s polymerním roztokem. c) Stříkačka pro umístění do pumpy. d) Vložka přípravku pro vložení jiných velikostí stříkaček. e) Distanční sloupky pro kompenzaci rozdílu vzdáleností pístů v přípravku.



Obr. 25 – Fotografie experimentálního zařízení pro elektrické zvlákňování do kapaliny. a) Celkový pohled na zařízení zepředu, v zařízení je umístěn prototyp 3D tištěné nádoby se zaoblenými okraji. b) Boční pohled na část zařízení, kde je vidět platformu pro kolektor, na které je umístěn vytištěný laboratorní zvedák s černou vytištěnou nádobou na kapalinu kolektoru. c) Horní pohled na univerzální držák zvlákňovací aparatury a v něm uchycený přípravek pro přenos hydraulické síly na stříkačku s polymerním roztokem, červená svorka „krokosvorka“ přivádí vysoké napětí na zvlákňovací jehlu.

Pro snadnost obsluhy byla konstrukce vytvořena jako jeden kompaktní díl, který nepotřebuje v základu ani úchyty injekčních stříkaček.

Po prvních testech zařízení, při kterých se testovalo zvlákňování, se ukázala potřeba udělat další modifikace a výroby dalšího příslušenství. Prosvícení Taylorova kužele - ukázalo se, že je výhodné mít tmavou kolektorovou nádobu a tmavé pozadí při zvlákňování tak, aby bylo lépe pozorovatelné, jak se při procesu zvlákňování tvoří a pohybují vláknenné shluky. Pro testování byla identifikována potřeba přesného a snadno proveditelného modifikování vzdálenosti kolektoru a zvlákňovací jehly. Z tohoto důvodu byl modifikován a na 3D tiskárně vytištěn laboratorní zvedák [106].



Obr. 26 – Fotografie vybraných detailů experimentálního zařízení pro elektrické zvlákňování do kapaliny. a) Fotografie univerzálního úchytu zvlákňovací aparatury. b) Pohled na skleněnou misku se zemnicí elektrodou.

4.4 Testování a dokončení zařízení

Testování zařízení je rozděleno do tří částí, tyto části na sebe navazovaly, úzce spolu souvisely a někdy se i prolínaly. Jedná se o testování, při kterém se ověřila funkčnost principu, funkčnost navrženého zařízení a testování parametrů, které jsou pro proces zásadní. Zařízení bylo v různých fázích výroby testováno, jak mechanicky, tak funkčně. Toto testování sloužilo k ověření, zdokonalení konstrukce zařízení a jako základ budoucímu hledání materiálů vhodných pro tkáňové inženýrství.

Pro účel dalšího testování zvlákňování do kapaliny byly vytipovány polymerní roztoky, které se osvědčily v klasickém elektrospinningu, případně materiály vyzkoušené pro bez-jehlové elektrické zvlákňování. Souhrn materiálů je v tabulce (Tabulka 2). Důležité bylo také získat potřebné zkušenosti a návyky při používání a ovládání zařízení. Nutné bylo zejména nastavení procesu přípravy a manipulace s roztoky a kolektorem.

Tabulka 2 – Parametry polymerních roztoků použitých při testování procesu zvlákňování do kapalinového kolektoru pomocí elektrospinningu.

Řada	Polymer	Koncentrace	Rozpouštědlo		
A	PVA	10 % hm	Voda		
	PVA	10 % hm	8:2 hm	Voda	Ethanol
B	PCL	16 % hm	8:2 hm	Chloroform	Ethanol
D	PA 4.6	12 % hm	1:1 hm	Kyseliny octová	Kyselina mravenčí
E	PVB	10 % hm	Ethanol		

Každá série experimentů byla rozdělena do řad a označena dle latinské abecedy. První experimentální sada byla označena jako „Řada A“. Toto označení není závislé na konkrétních roztocích, označení rozděluje jednotlivé experimenty podle cílů za dodržení chronologického pořadí označování.

Tabulka 3 – Tabulka hodnocení zvláknitelnosti dle váženého průměru. Hodnocení procesu je od 0 „k noření nedochází“, 1 „špatně se noří“ až 10 „dokonale se noří“. Přijatelně zvláknitelný polymerní roztok je tedy hodnocen od čísla hodnocení procesu 5 a výše.

Hodnocení zvláknitelnosti - vážené	Váha kritéria [%]	Hodnocení procesu [1-10]
Viditelné tvoření vlákněné vrstvy (vrstva se tvoří souvislá, navazuje a nerozpadá se)	50	1
Stálé formování Taylorova kužele (kužel je stabilní, není přerušovaný a bez elektrických výbojů)	20	5
Směrování vlákněné vrstvy do jedné oblasti kolektoru (proud vláken je tvořen do stejných oblastí, tvoří se jeden útvar)	30	8
Vážená známka hodnocení procesu		3.9

Byla také nastavena kritéria hodnocení zvláknitelnosti roztoku (*Tabulka 3*) a kritéria hodnocení noření vlákněné vrstvy do kapaliny kolektoru (

Tabulka 4). Ideálně je zóna dopadu velká cca 10-40 mm, místo dopadu se může na hladině kolektoru přemísťovat, pokud je proces změny místa dopadu kontinuální a není rychlý, výsledný produkt je zpravidla homogenní.

Tabulka 4 – Tabulka hodnocení noření do kapalného kolektoru. Dle hodnotících kritérií se vlákněná vrstva začíná nořit do kapaliny kolektoru od hodnoty 5.

Hodnocení noření do kapaliny	Hodnocení procesu [1-10]
K noření nedochází, vlákna se jeví velmi hydrofobně, po celém obvodu vrstvy je vidět zakřivení hladiny	0
Vrstva spočívá na hladině, některé části začínají mít s hladinou prolnuté okraje	1
Vrstva spočívá na hladině, většina obvodu vlákněného útvaru se propojuje s kapalinou	2
Okraje vlákněného útvaru jsou spojené s kapalinou, útvar se nenoří do objemu kapaliny	3
Okraje vlákněného útvaru jsou spojené s kapalinou, útvar začíná mít tendenci částečně pronikat do objemu kapaliny	4
Vrstva se částečně noří, při vláknnění vždy zůstává na hladině část, která se jeví jako nesmočená	5
Vrstva se částečně noří do 2,5 mm hloubky, při vláknnění vždy zůstává na hladině část, která se jeví jako nesmočená	6
Vrstva se částečně noří do 5 mm hloubky, při vláknnění vždy zůstává na hladině část, která se jeví jako nesmočená	7
Vrstva se částečně noří do 5 mm hloubky, ze začátku se vlákna dobře noří po zformování struktury a po nějakém čase zůstává na hladině část, která se jeví jako plovoucí	8
Vrstva se noří i pod 5 mm hloubky, ze začátku se dobře noří, po zformování struktury či po nějakém čase zůstává na hladině malá část, která se jeví jako smočená, ale zůstává částečně na hladině	9
Materiál v objemu kapaliny tvoří strukturu, buďto samovolně nebo s přibývajícím tloušťkou materiálu	10

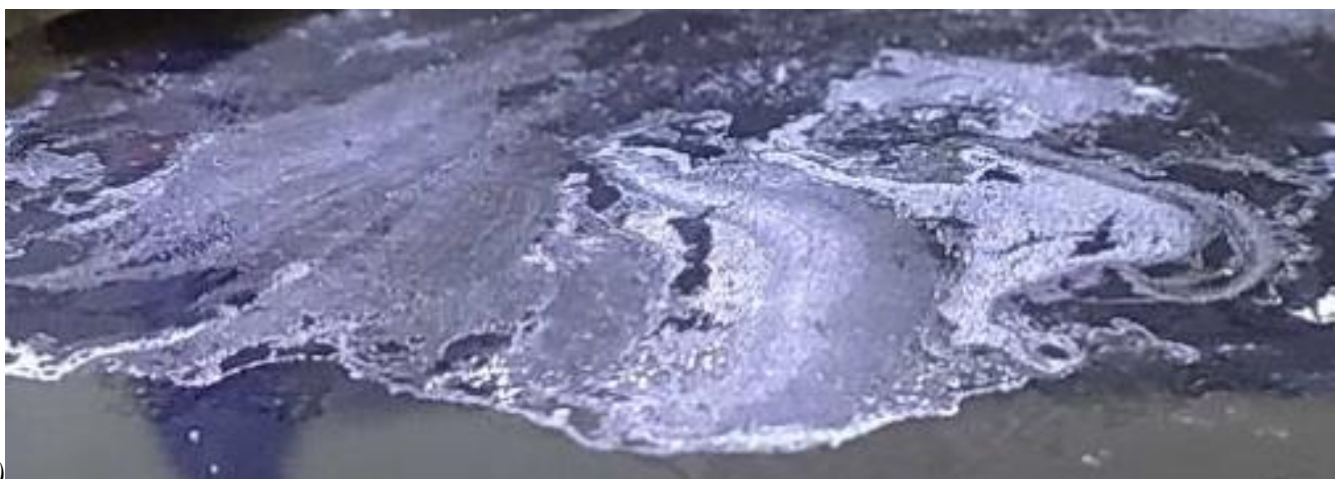
Pro kvantifikování toho, zda se kapalina noří do objemu kapaliny, byla vytvořena sada kritérií, dle kterých je možné proces hodnotit. Zanoření vrstvy a její chování na hladině parametrizuje schopnost materiálu se nořit do objemu kapalného kolektoru.

Po prvotních řadách testů, zaměřených k doladění zařízení (odstranění chyb) a zvládnutí procesu vláknnění, začaly být prioritou experimenty s polymerními roztoky PCL. PCL je běžně používaným materiálem pro medicínské aplikace [11, 35, 107–109]. Pro experimenty zaměřené na polymer PCL byly identifikovány konkrétní polymerní roztoky s různými rozpouštědly a zvlákněny v experimentální řadě „C“ viz tabulka (Tabulka 5). Zvláknitelnost a noření byly u každého experimentu hodnoceny dle stanovených parametrů hodnotících kritérií (Tabulka 3 a

Tabulka 4). Výsledky experimentu jsou společně s materiálovými parametry v tabulce (Tabulka 5).



a)



b)

Obr. 27 – Příklad noření vlákných vrstev do kolektoru. a) Fotografie pořízená skrze skleněnou boční stěnu kolektoru zachycující vzorek, který se „dokonale“ noří do ethanolu. b) Fotografie hladiny kapaliny s vlákným vzorkem, který se nenoří a zůstává na hladině, má ostře ohraničené okraje v kapalině.

Tabulka 5 – Přehled experimentální řady C - zvláknitelnosti polymerů do kapalného kolektoru pro různé koncentrace polymerního roztoku a různé molekulové hmotnosti. Nejlepší zvláknitelnost vykazovaly vzorky C8, C1 a C7.

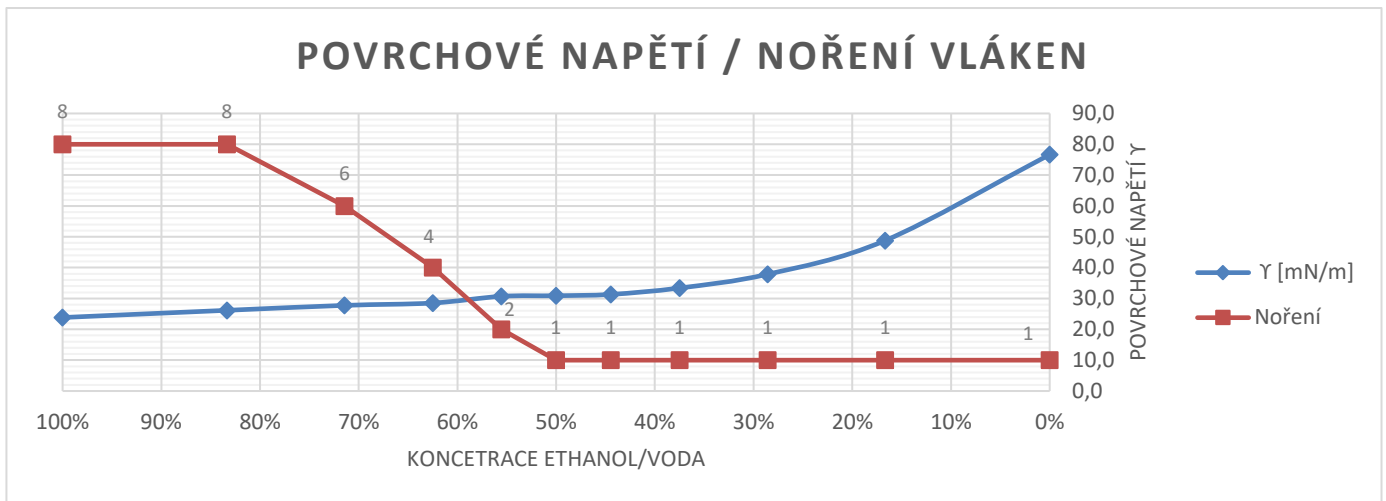
Vzorek	Polymer			Rozpouštědlo		Kolektor	Hodnocení		
	Materiál	c [hm%]	M _n [kDa]	Složka	Poměr [hm]		Zvláknitelnost	Noření	
C1	PCL	16	45k	Chloroform/Dimetylformamid		8:2	Ethanol	7	8
C2	PCL	16	45k	Chloroform			Ethanol	3	8
C3	PCL	20	45k	Chloroform			Ethanol	3	8
C4	PCL	10	80k	Aceton			Ethanol	3	8
C5	PCL	10	80k	Chloroform/Ethanol		8:2	Ethanol	4	8
C6	PCL	16	45k	Chloroform/Ethanol		8:2	Ethanol	4.5	8
C7	PCL	16	45k	Aceton			Ethanol	6	8
C8	PCL	10	45k/80k (1:3hm)	Kyselina mravenčí/Kyselina octová/Aceton		1:1:1	Ethanol	9	8

Dle hodnocení procesu zvláknování byly nejlépe hodnocenými materiály vzorky C8, C1 a C7, avšak jejich výsledné struktury se při studiu snímků z rastrovacího elektronového mikroskopu výrazně lišily. Materiál C8 vykazoval pohledově nejlepší zvláknitelnost do kapalného kolektoru, snímky ukázaly velmi jemná vlákna s malým množstvím defektů. Materiál C7 ukázal například větší množství defektů než předchozí materiál C8. Materiál C1 obsahoval velké množství kulovitých granulí mikronových rozměrů a velmi jemných nanovláken. Materiál C2, jenž nevykazoval dobrou zvláknitelnost, tvořil mikronová vlákna o průměrech cca 5μm spojená do stužkových vláken o průměru cca 40-100 μm.

Pro testování noření vlákenného materiálu byl vytvořen experiment, při kterém byl vybraný materiál vlákněn do řady kapalinových kolektorů s rozdílným poměrem ethanol/voda. Pro testování byl vybrán materiál C7, jež vykazoval nejlepší zvláknitelnost do kapaliny, při schopnosti tvořit vlákenný materiál bez velkého množství poruch. Kolektor byl připraven v 11 koncentracích, viz tabulka (Tabulka 6).

Tabulka 6 – Koncentrační řada kapalného ethanolového kolektoru s naměřeným povrchovým napětím. Hodnocení noření je 0 (extrémně špatně – vlákna zůstávala na povrchu kapalinového kolektoru) do 10 (výtečně – vlákna se nořila do kapalinového kolektoru) – viz. tabulka parametrů hodnocení noření do kapaliny (Tabulka 3).

Etanol	Voda	Ethanol [hm%]	γ [mN/m]	T [°C]	Hodnocení noření vzorku C8 - PCL
1	: 0	100%	23,8	22,6	8
10	: 2	83%	26,2	22,4	8
10	: 4	71%	27,8	22,5	6
10	: 6	63%	28,5	22,6	4
10	: 8	56%	30,7	22,7	2
10	: 10	50%	30,9	22,6	1
8	: 10	44%	31,3	22,6	1
6	: 10	38%	33,4	22,5	1
4	: 10	29%	37,9	22,4	1
2	: 10	17%	48,8	22,5	1
0	: 10	0%	76,7	22,7	1



Obr. 28 – Graf znázorňující hodnotu povrchového napětí koncentrační řady Ethanol/H₂O kolektorů (modrá křivka) a hodnocení schopnosti vlákenné vrstvy se nořit do kapalného kolektoru (červená křivka), hodnocení je provedeno dle parametrů z tabulky (Tabulka 3).

Z experimentu noření vlákenné vrstvy do kolektoru s rozdílnou koncentrací složek, tedy s měnícím se povrchovým napětím, a interpretace jeho výsledků, je patrné, že od koncentrace menší než 80% ethanol/voda začíná docházet k neochotě vláken se do objemu kapaliny nořit. Od 50 % koncentrace se již vlákenné vrstvy nenohří a setrvávají nad hladinou kapalného kolektoru. Grafické znázornění experimentu ukazuje, kdy dochází k bodu lomu a vlákenná vrstva se začíná do kapaliny nořit (Obr. 28).

4.5 Testování parametrů procesu

Velmi důležitou součástí testování zařízení bylo sledování a určení důležitých parametrů a jejich funkčních intervalů. Jedná se o parametry aparatury, jako je elektrické napětí, proud, vzdálenost konce zvláknovací elektrody od hladiny kapalného kolektoru, tvar hrotu zvláknovací elektrody, její délka, rozměr nádoby lázně – kapalinového kolektoru, tedy její průměr a hloubka, výška hladiny kapaliny, teplota lázně. Pro ověření vlivu vzdálenosti trysky od hladiny kapalného kolektoru byl proveden experiment řady „E“, při kterém se zvláknovalo 9 vzorků při výšce trysky v rozmezí 15 cm - 1 cm od hladiny kapalného kolektoru. Souhrn parametrů je v tabulce (Tabulka 7). Z výsledků je zřejmé, že tento typ procesu a materiálu lze teoreticky zvláknovat v relativně širokém rozmezí vzdáleností

Tabulka 7 – Experimentální řada E, ověřující vliv vzdálenosti kapalného kolektoru od konce zvláknovací elektrody. Hodnocení je 0 (extrémně špatně se noří – k noření nedochází) do 10 (výtečně se vlákna noří do objemu kapaliny) – viz.

Vzorek	Kolektor vzdálenost [cm]	Hodnocení		Průměr vláken [nm]	SD [nm]	Poznámka
		Zvláknitelnost	Noření			
E1	15	7,5	8	209	74,6	Zvláknuje dobře, tvoří souvislou vrstvu na ploše o průměru cca 7 cm
E2	12,5	7,5	8	155	36,5	Zvláknuje dobře, tvoří souvislou vrstvu na ploše o průměru cca 7 cm
E3	10	7,5	8	192	57,5	Zvláknuje dobře, tvoří souvislou vrstvu na ploše o průměru cca 6 cm
E4	7,5	7,5	8	181	30,3	Zvláknuje dobře, tvoří souvislou vrstvu na ploše o průměru cca 5cm, vrstva se dále rozšiřuje „odplováním“ hotové vrstvy
E5	5	7,5	8	165	35,5	Zvláknuje dobře, tvoří souvislou vrstvu na ploše o průměru cca 5cm, vrstva se dále rozšiřuje „odplováním“ hotové vrstvy
E6	4	7,5	8	168	29,8	Zvláknuje dobře, tvoří souvislou vrstvu na ploše o průměru cca 4cm, vrstva se dále rozšiřuje „odplováním“ hotové vrstvy
E7	3	7,5	8	197	34,4	Objevují se poruchy ve větším počtu, jinak stále dobrá vlákenná struktura
E8	2	6	8	247	148,3	Větší množství poruch
E9	1	2	8	447	428,7	Velké množství poruch, hrozí výboje

5 Výroba a testování 3D objemných struktur

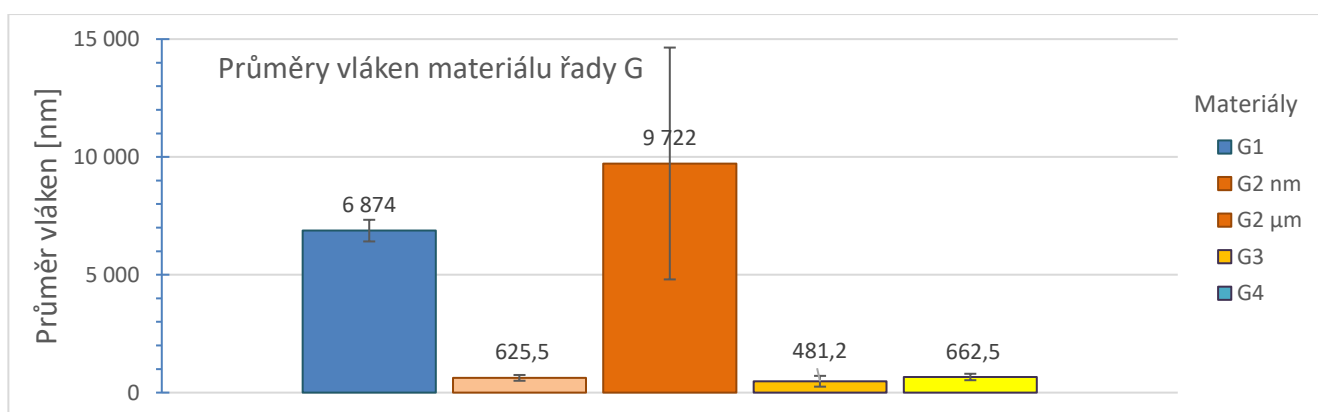
Po provedení počátečních experimentů byly identifikovány základní roztoky PCL pro testování s vytvářením 3D objemných vlákenných struktur pro aplikace v tkáňovém inženýrství. Prvním kritériem tedy bylo stanovení požadavku na schopnost materiálu a procesu zformovat požadovaný objemný vzorek. Dalším kritériem byla schopnost podpory růstu buněk ve struktuře vyrobeného vzorku. Ke kvantifikování vhodnosti materiálu bylo naplánováno biologické in-vitro testování.

5.1 Výroba vzorků

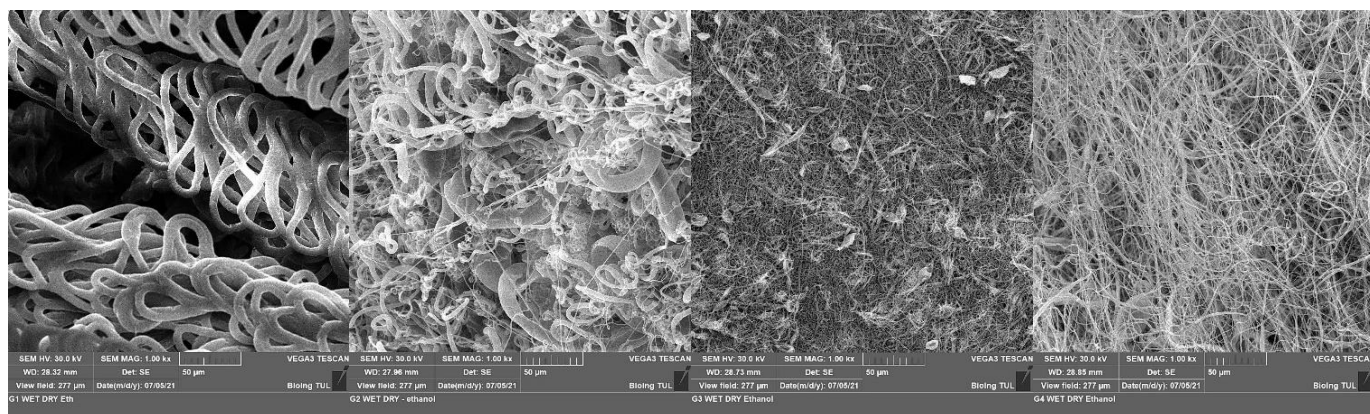
Pro testování výroby objemných 3D vzorků a biologické testování in-vitro byly vybrány 4 materiály označené G1-G4 (Tabulka 8, Obr. 30). Vizualizace naměřených hodnot průměrů vláken je na obrázku (Obr. 29). Testování je popsáno v kapitole 5.4. Cílem bylo porovnávat rozdílné vlákenné struktury, které jsou výjimečné oproti materiálům zvlákněným klasickým elektrickým zvlákněním.

Tabulka 8 – Experimentální řada G, přehled použitých materiálů a jejich parametrů pro tvorbu vzorků vybraných k in-vitro testování.

	G1	G2	G3	G4
Materiál	PCL	PCL	PCL	PCL
Koncentrace [% hm]	20	10	12	15
Rozpouštědlo	Chloroform	Chloroform/ethanol	Kyselina mravenčí/Kyselina octová/Aceton	Kyselina mravenčí/Kyselina octová/Aceton
Hmotnostní poměr rozpouštědel	-	8:2	1:1:1	1:1:1
Molekulová hmotnost [$M_n \cdot 10^3$ kDa]	45	80	45/80 hm. poměr 1:3	45/80 hm. poměr 1:3
Vzdálenost kolektoru [cm]	10	10	10	10
Kolektorová kapalina	Ethanol	Ethanol	Ethanol	Ethanol
Průměr vytvořených vláken	6,874 μm	směs 9.722 μm / 625,5 nm	481,5 nm	662,5 nm
Směrodatná odchylka	0,459 μm	4,919 μm / 123 nm	229,4 nm	136,9 nm



Obr. 29 – Graf ukazující průměrné hodnoty naměřených průměrů vláken ze vzorků materiálu řady G, které byly vybrány pro další testování. Materiál G1 a G2 obsahuje mikroválkna. Materiál G2 se skládá ze dvou typů vláken, označeny jako G2 nm a G2 μm jejich rozdělení je tzv bimodální.



a) G1

b) G2

c) G3

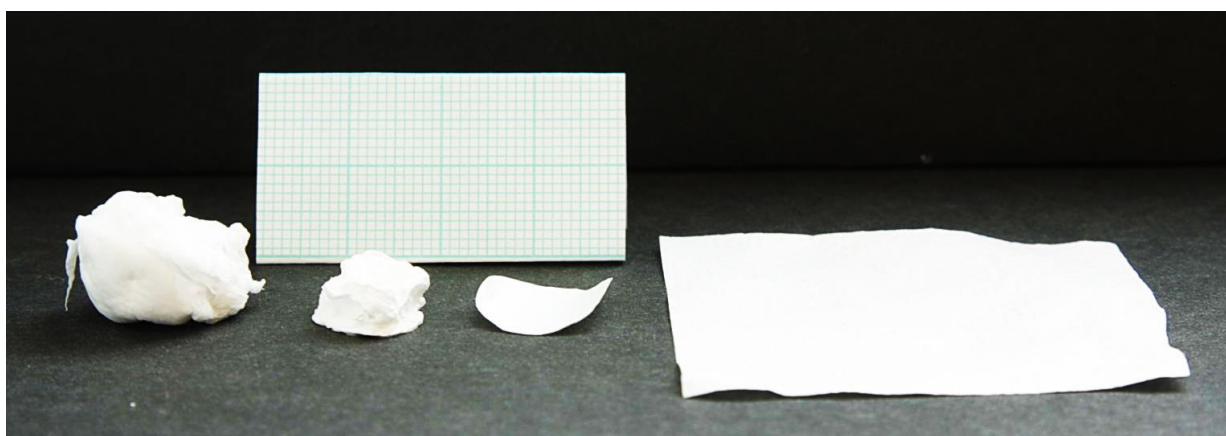
d) G4

Obr. 30 – Snímky SEM ukazující strukturu pro jednotlivé vybrané materiály pro in-vitro testování. Měřítka představuje 50 mikrometrů.

Materiál G1 vykazoval sice zhoršenou zvláknitelnost, nicméně jeho obrazová analýza ukázala mikrovláknenné stužky spojené do větších svazků (Obr. 30 a). Tato struktura byla vyhodnocena jako potenciálně vhodná pro uchycení buněk, buněčnou proliferaci a zároveň s předpokladem dobré tvarové pevnosti. Materiál G2 byl vybrán, protože tvořil kombinaci přijatelné zvláknitelnosti a strukturně tvořil bimodální směs mikrovláken (Obr. 30 b). Materiál G3 byl vybrán z důvodu vynikající zvláknitelnosti do kapalného kolektoru a jeho příznivě vypadající vláknenné struktury s jemnými vlákny (Obr. 30 c). Materiál G4 byl koncentračně modifikovaný materiál G3, který vykazoval výtečnou zvláknitelnost a homogenější vlákna s menším množstvím poruch (Obr. 30 d).

5.2 Příprava vzorků a post processing

Vysoušení vzorků zvlákněvaných do kapalinového kolektoru bylo nutné věnovat zvýšenou pozornost, postup sušení výrazně ovlivňuje výslednou strukturu viz. obrázek (Obr. 31). Pro zachování objemu vytvořeného vláknenného materiálu, je vhodné využít lyofilizaci (freeze-drying) [39, 107]. Při samovolném mokřím vysoušení se spolu se zmenšujícím objemem kapaliny deformuje-zmenšuje i objem vzorku. Deformace při samovolném vysoušení je patrná z obrázku (Obr. 31).



Obr. 31 – Fotografie ilustrující rozměry materiálů – vzorků pro testování in-vitro. Zleva je finální vzorek vytvořený metodou wet, vysušený lyofilizací – hmotnost vzorku 0,04g, druhý zleva je tentýž vzorek vysušený samovolným vysoušením – hmotnost vzorku 0,04g, třetí zleva je vzorek zvlákněný na pevný kolektor – hmotnost 0,003g. Poslední (vpravo) vzorek je materiál vytvořený klasickým bezjehlovým elektrospinningem – hmotnost 0,04g.

5.3 Test krystalinity vytvořených materiálů

Pro otestování vlivu způsobu zvláknění na vnitřní uspořádání makromolekulárních řetězců byl vytvořen test na porovnání stupně krystalinity. Testování bylo provedeno pomocí metody diferenciální skenovací kalorimetrie – DSC. Parametry zvláknovacího procesu jsou uvedeny v tabulce (

Tabulka 9). Pro potřeby testu DSC bylo stanoveno testování materiálu zvlákněného do kapalného kolektoru vysušeného lyofilizací, materiálu zvlákněného do kapaliny a vysušeného samovolným odparem a materiálu zvlákněného na pevný kolektor.

Tabulka 9 – Přehled parametrů zvláknovacího procesu pro analýzu krystalinity pomocí DSC.

Materiál	PCL
Molekulová hmotnost M_n [kDa]	45
Koncentrace [% hm]	15%
Rozpouštědlo	Kyselina mravenčí/Kyselina octová/Aceton
Poměr (hm)	1:1:1
MW	45/80 1:3
Vzdálenost jehly od kolektoru [cm]	12cm
Napětí [kV]	15
Kolektor	Etanol
Hodnocení noření	8

Nárůst krystalinity oproti suchému kolektoru je v průměru 2,4%. Výsledky DCS analýzy jsou shrnuty v tabulce (*Tabulka 11*). Výsledek ukazuje, že pro tento materiál a proces je krystalinita ovlivněna.

Tabulka 10 – Výsledky analýzy krystalinity materiálu řady „M“ zvlákněné do kapaliny - lyofilizované, zvlákněné do kapaliny - samovolně vysušené pomocí DSC a materiálu zvlákněného na pevný kolektor. Výsledný průměr stupně krystalinity je uveden spolu se směrodatnou odchylkou.

VZOREK	DH _m [J/g]	X _c [%]	
PCL45 wet elektrospinning - lyofilizováno	80.3	59.3	58.9±0.5
	80.3	59.3	
	78.9	58.3	
PCL45 wet elektrospinning - sušeno samovolným odparem	79.3	58.5	58.7±0.2
	79.3	58.5	
	79.9	59.0	
PCL45 klasický elektrospinning	76.4	56.4	56.3±0.1
	76.1	56.2	
	76.1	56.2	

5.4 Biologické testování vzorků in-vitro

Předem bylo stanoveno, že se bude testovat viabilita 1., 3. a 7. den od nasazení MEFs buněčného materiálu do vzorků. Pro každý materiál byla připravena forma vzorku „wet“ zvlákněním do kapaliny a vysušením lyofilizací, dále pak vzorky zvlákněné na pevný kolektor „dry“. Pro materiál G4 byla navíc vytvořena sada vzorků vysušených samovolným vysoušením „wet - self dry“ viz tabulka (*Tabulka 8*), a obrázek (*Obr. 30*), Přehled testovaných sérií vzorku je v tabulce (*Tabulka 11*). Celkem bylo vyrobeno a připraveno 135 vzorků.

Připravené sterilizované vzorky v mikrotitračních destičkách s průměrem jamky 16 mm byly zality 1 ml buněčného média s buňkami o koncentraci $1 \cdot 10^4$ buněk/1 ml.). Kultivace probíhala po dobu 1, 3 a 7 dní.

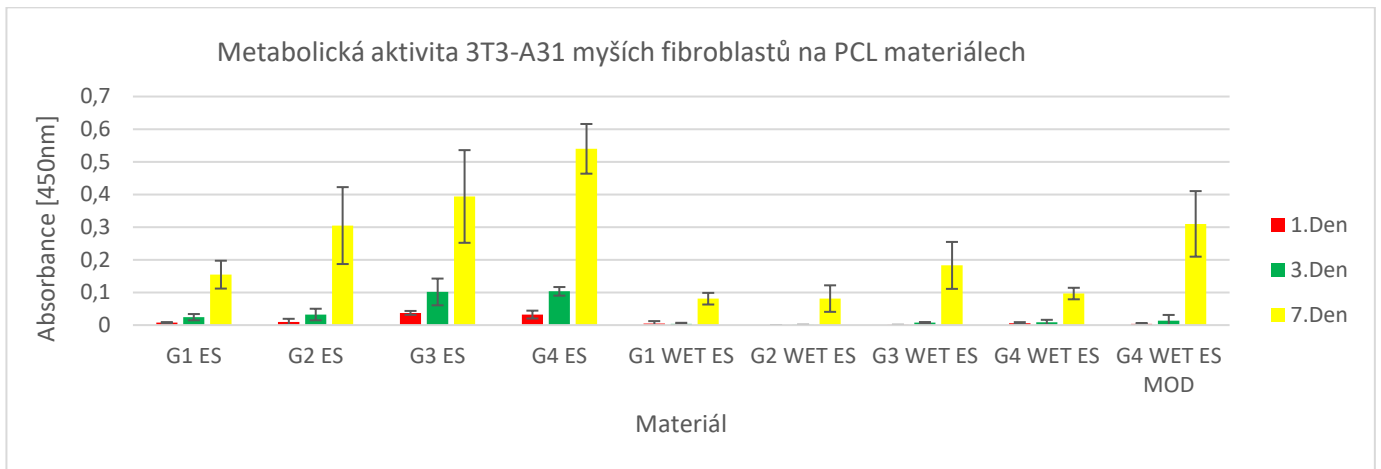
Tabulka 11 – Série vzorků vytvořených pro in-vitro biologické testování viability. Vzorky vyrobené vlákenním na klasický kolektor jsou označeny „dry“, vzorky vyrobené za stejných podmínek do kapaliny s 3D objemným uspořádáním jsou označeny „wet“. Série označená „wet - self dry“ byla zvlákněna do kapaliny, ale vysušena samovolným odparem.

Označení vzorku	Materiál	Molekulová hmotnost M_n [kDa]	Koncentrace [hm %]	Rozpouštědlo	Hmotnostní poměr rozpouštědel (obj)
G1 dry	PCL	45	20	Chloroform	-
G2 dry	PCL	80	10	Chloroform /ethanol	8:2
G3 dry	PCL	45/80 hm. poměr 1:3	12	Kyselina mravenčí /Kyselina octová/Aceton	1:1:1
G4 dry	PCL	45/80 hm. poměr 1:3	15	Kyselina mravenčí /Kyselina octová /Aceton	1:1:1
G1 wet	PCL	45	20	Chloroform	-
G2 wet	PCL	80	10	Chloroform /ethanol	8:2
G3 wet	PCL	45/80 hm. poměr 1:3	12	Kyselina mravenčí /Kyselina octová /Aceton	1:1:1
G4 wet	PCL	45/80 hm. poměr 1:3	15	Kyselina mravenčí /Kyselina octová /Aceton	1:1:1
G4 wet - self dry	PCL	45/80 hm. poměr 1:3	15	Kyselina mravenčí /Kyselina octová /Aceton	1:1:1

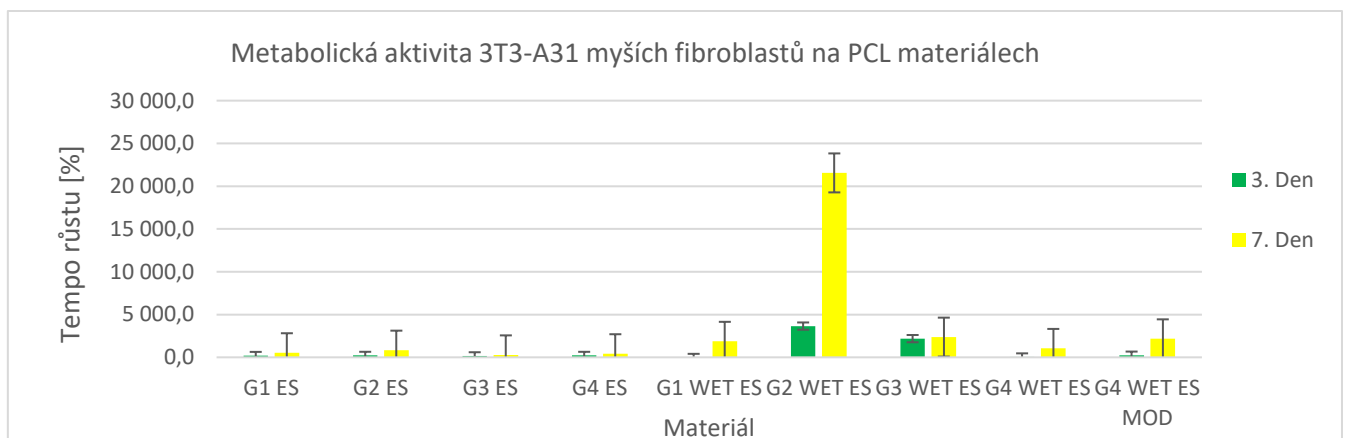
5.5 Výsledky biologického testování

Výsledky biologického testování jsou založeny na hodnocení absorbance s aplikovaným CCK-8 (Cell Counting Kit číslo 8), jenž je poměrně mnohostranný a umožňuje zkoumat chování buněčných kolonií na základě jejich metabolické aktivity. Je to ucelený relativně nenáročný a poměrně spolehlivý nástroj, který je jakýmsi světovým standardem. Naměřené hodnoty absorbance jsou zobrazeny na obrázku (Obr. 32). Údaje ukazují, že na všech materiálech buňky provedly buněčnou adhezi a následnou buněčnou proliferaci v čase a je patrný rostoucí trend. Data z testu jsou shrnuta v grafu na obrázku (Obr. 32). Ploché vzorky vykazují nejvyšší viabilitu, z toho materiál G3 a G4 nejvyšší. Následuje objemný vzorek materiálu G4 zvlákněný do kapaliny a vysušený samovolným odpařením ethanolu. Nejnižší viability vykazují objemné vzorky zvlákněné do kapaliny a vysušené lyofilizací, z této řady opět průměr převyšují materiály G3 a G4. Pro porovnání vhodnosti materiálu bylo vypočteno tempo růstu pro jednotlivé materiály, zde je vidět, že objemnější materiály vytvořené pomocí elektrického zvláknění do kapaliny vykazují v tomto experimentu naprostou převahu a z tempa růstu je zřejmé, že 3D struktura umožňuje buňkám výrazně vyšší proliferaci do materiálu, který jim poskytuje dostatečný prostor, velkou porozitu pro růst a migraci. Největší přírůstek od posledního testu viability v sedmém dni u planárních – klasicky vytvořených vzorků

je u materiálu G2 – 841% zatímco u 3D materiálu vytvořeného metodou wet je přírůstek u G2 21 553% viz. graf – (Obr. 33).



Obr. 32 – Graf znázorňující viabilitu pro testované materiály v 1., 3. a 7. dni. Přípona ES reprezentuje vzorek z klasického elektrosponingu na pevný rovný kolektor, tedy plochý vzorek. WET ES je wet elektrosponingem vytvořený vzorek zvlákněný do kapaliny a následně lyofilizovaný. WET ES MOD je modifikovaný do kapaliny zvlákněný vzorek, jenž byl vysušen samovolným odpařováním. Červená barva reprezentuje viabilitu v 1. den po nasazení, zelená 3. den a žlutá je 7. den.



Obr. 33 – Graf ukazující tempo růstu viability, tedy procentuální nárůst počtu nových buněk v materiálu v 3. a 7. den oproti dnu prvnímu. Je zde vidět, že tempo růstu nových 3T3 buněk je v 3D materiálech vytvořených pomocí technologie WET ES řádově vyšší než u plošných (planárních) vzorků. Nejvyšší přírůstek planárního vzorku v 7. dni je 422% oproti nejvyššímu přírůstku 21 553% 3D vzorku vyrobeného zvlákněním do kapaliny.

5.6 Vyhodnocení a závěry z výroby a testování vzorků

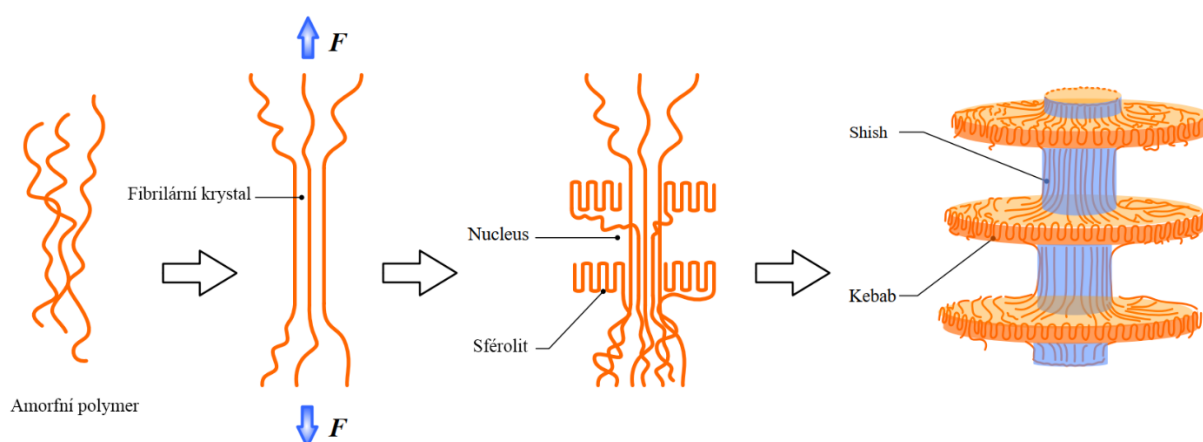
Na závěr této fáze testování lze prohlásit, že ačkoliv samotná viabilita je menší u 3D objemných vzorků, objemná struktura je pro růst buněk vhodná. Tempo růstu jasně ukazuje bezkonkurenční dynamiku růstu buněk. Takovéto velké tempo růstu je dáno porozitou a velkým objemem vzorku. Předpoklad pro menší viabilitu u objemných vzorku je malý prvotní záchyt buněk v materiálu při nasazení buněk. U plochých vzorků s malými póry je prvotní záchyt a následná adheze lepší než u vzorků s velkou porozitou. Vzorky s malou porozitou zachytí buňky jako filtr, zatímco objemné vzorky buňky propustí na dno kultivační jamky nebo se ve vzorku špatně zachytí, oproti plochým vzorkům, kde se z kapalného média na planární vzorek buňky usadí. Objemné 3D materiály vytvořené do kapalinového kolektoru vykazují vysokou

vhodnost pro buněčný růst, a zároveň dokazují, že lze vyrobit objemnou strukturu, kterou by bylo možné v tkáňovém inženýrství použít pro tkáňové náhrady.

6 Vývoj specifických materiálů pro tkáňové inženýrství

Po prokázání funkčnosti zařízení i schopnosti vytvářet 3D objemné vlákenné struktury vhodné pro použití v medicíně jako tkáňové nosiče, byl výzkum zaměřen na hledání specifických materiálů, které by byly výjimečné, jak z pohledu materiálových, tak i z pohledu tkáňového inženýrství

Jedním z principů tvorby povrchově specifických vláken je tvorba takzvaných „shish-kebab“ strukturovaných vláken [111, 112]. V tomto případě je vlákno ovlivněno tvarem krystalické části, která je právě formována podle tzv. shish-kebab typu krystalinity. Princip a typický tvar krystalické struktury shish-kebab krystalů v polymeru je znázorněn na obrázku (Obr. 34).



Obr. 34 – Princip a tvar shish-kebab krystalu v polymeru. Amorfní polymer začíná při dloužení tvořit dlouhé krystalické struktury. Poté se začnou oko těchto dlouhých středových krystalů tvořit krystalické disky. Obrázek převzat [113].

Tyto shish-kebab materiály jsou vyráběny v několika krocích. Nejprve dojde k elektrickému zvláknění samotného PCL na pevný kolektor, poté jsou aplikovány další samostatné kroky. Pro tvorbu shish-kebab struktur postprocesním postupem se používají zředěné roztoky slabého rozpouštědla (jako například pentylacetát či aceton) nebo směsi rozpouštědlo/nerozpouštědlo (jako například kyselina octová/destilovaná voda) [113–115].

Výše popsany postup tvorby povrchově strukturně modifikovaných elektricky zvlákněných materiálů je však poměrně složitý, má mnoho sledovaných parametrů a je časově náročný. Proto vznikla myšlenka vývoje podobné struktury, ale s mnohem jednodušším postupem tak, aby v ideálním případě vznikala povrchově specifická vlákna rovnou v kapalném kolektoru.

6.1 Testování rozpouštědlových a kolektorových systémů

Výběr vhodného polymerního roztoku a kapalného kolektoru je klíčový pro výrobu vláken se specifickými vlastnostmi. Různé roztoky polymeru mohou vytvářet vlákna s různými parametry. Výběr kapalného kolektoru může ovlivnit zejména morfologii a strukturu vláken. Základem testování navržených experimentálních řad bylo identifikování potenciálních PCL roztoků, včetně jejich rozpouštědlových

systemů a kolektorových systémů o dané koncentraci. Seznam vybraných polymerních roztoků je v tabulce (*Tabulka 12*). Seznam stěžejních kolektorových směsí je uveden v tabulce (*Tabulka 13*).

Tabulka 12 – Přehled roztoků PCL testovaných k výrobě specifických struktur zaměřených na tkáňové inženýrství.

	Mat 1	Mat 2	Mat 3	Mat 4
Materiál	PCL	PCL	PCL	PCL
Molekulová hmotnost M_n [kDa]	80	80	80	80
Koncentrace [hm %]	10	12	10	12
Rozpouštědlo	Chloroform /dimethylformamid	Chloroform /dimethylformamid	Chloroform /ethanol	Chloroform /ethanol
Hmotnostní poměr rozpouštědel	6:4	6:4	8:2	8:2

Důvodem zaměření se na různé kolektory, je nejen z důvodu testování výroby shish-kabab struktury, ale i testování specifických struktur vzniklých při změnách gradientů rozpouštědel a složek kapalin kolektorů. Pokud při koagulaci dochází k průniku kapaliny kolektoru do objemu vlákna rychleji, než je uvolnění rozpouštědla z vlákna do kolektoru, vznikají ve vláknu dutiny-póry. Toto platí za podmínky, že je kolektorová kapalina pro polymer nerozpouštědlem nebo jenom částečným rozpouštědlem. Při zvláknování byly hodnoceny parametry noření dle tabulky (*Tabulka 3*) a parametry zvláknitelnosti dle tabulky (

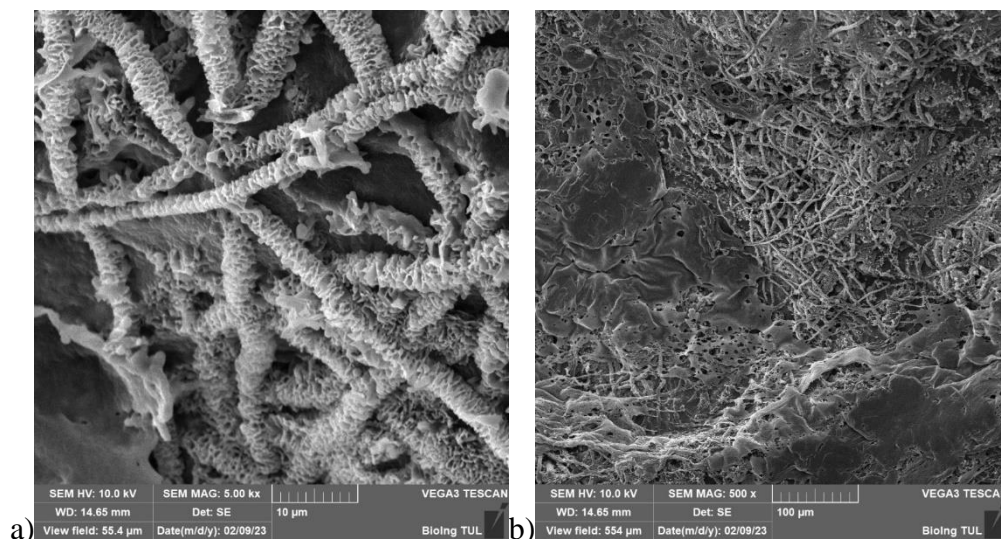
Tabulka 4).

Tabulka 13 – Přehled testovaných kapalin kolektoru Tabulka 14 – Přehled testovaných kapalin kolektoru pro testování tvorby specifických struktur vytvářených elektrickým zvláknováním do kapaliny.

Označení	Složka 1	Složka 2	Složka 3	Poměr	Označení	Složka 1	Složka 2	Složka 3	Poměr
Kol 1	Aceton				Kol 15	Aceton		Voda	10:2
Kol 2	Aceton	Ethanol	Voda	2:2:1	Kol 16	Aceton		Voda	10:3
Kol 3	Aceton	Ethanol		10:0	Kol 17	Aceton		Voda	100:1
Kol 4	Aceton	Ethanol		10:1	Kol 18	Aceton		Voda	100:4
Kol 5	Aceton	Ethanol		10:2	Kol 19	Aceton		Voda	100:6
Kol 6	Aceton	Ethanol		10:3	Kol 20	Aceton		Voda	100:7
Kol 7	Aceton	Ethanol		10:4	Kol 21	Aceton		Voda	100:8
Kol 8	Aceton	Ethanol		10:5	Kol 22	Aceton		Voda	100:9
Kol 9	Aceton	Ethanol		10:6	Kol 23	Aceton	Ethanol		100:1
Kol 10	Aceton	Ethanol		10:7	Kol 24	Aceton	Ethanol		100:2
Kol 11	Aceton	Ethanol		10:8	Kol 25	Aceton	Ethanol		100:3
Kol 12	Aceton	Ethanol		10:9	Kol 26	Aceton	Ethanol		100:4
Kol 13	Aceton	Ethanol		1:1	Kol 27	Aceton	Ethanol		100:5
Kol 14	Aceton		Voda	10:1	Kol 28	Aceton	Ethanol		100:6

6.2 Experimentování s výrobou specifických vláknenných struktur

Různé kapalně kolektory mohou vytvářet vlákna s různými povrchovými alteracemi a porozitou. Tyto vlastnosti mohou mít významný vliv na interakci vláken s buňkami v aplikacích tkáňového inženýrství. Experimenty zahrnují charakterizaci vlastností vláken pomocí některých analytických technik, například optická analýza a měření porozity. Materiál často obsahoval také defekty viz. obrázek (*Obr. 35*).



Obr. 35 – Shish-kebab vlákna vyrobená v testovací řadě M4, na obrázku b) vpravo je patrné velké množství defektů ve výsledném produktu.

6.3 Analýza a hodnocení vzorků vytvořených materiálů

Po rozsáhlém experimentování s materiály a druhy kolektorů byla provedena analýza vybraných materiálů za účelem hodnocení jejich vlastností a jejich vhodnosti k biologickým aplikacím. Analyzovaná data pro vybrané materiály jsou uvedena v tabulce (*Tabulka 15*). Po shrnutí výsledků lze říci, že shish-kebab struktury jsou vyrobitelné, ale proces není stabilní a vytvořené struktury se liší nejen parametry, ale množstvím defektů.

Některé snímky vytvořených materiálů indikovaly, že vlákna jsou porézní nejen na povrchu, ale i v objemu samotného vlákna, některá vlákna se dokonce jevila jako dutá. Pro analýzu vláken v řezu byly vybrány materiály a kombinace kolektorů dle tabulky (*Tabulka 16*). Obrazová analýza SEM snímků ukázala u vzorků *T1*, že vlákno je uvnitř plné a bez atypické ze snímků patrné struktury. Tento vzorek byl získán zvlákněním referenčního roztoku na pevný kolektor. Vzorek měl za cíl zejména vyzkoušet vliv procesu vláknění na vytvořeném zařízení na strukturu vláken a vytvořit referenční vzorek pro řez. Tedy zda roztok, vlákníci standartní plná vlákna s neporézním povrchem vytváří stejná vlákna i za podmínek vytvořených zvláknovacím zařízením a procesem se zvolenými parametry.

Druhým experimentem označeným *T2* již byl řezán vyšetřovaný materiál *Mat 2* – PCL 12% v CF/DMF, jenž byl předmětem zkoumání, protože tvoří vlákna, u kterých byl náznak nestandardního vnitřního uspořádání. Tato vlákna se místy jevila jako oválná, místy s propadlinami. Zvláknění proběhlo na pevný kolektor za stejných podmínek jako v předchozím případě. Řez materiálu potvrdil, že vlákna obsahují dutinu. V podstatě je vlákno tvořené pouze stěnou a uprostřed vlákna není žádný materiál.

Třetí experiment označený *T3*, který byl proveden s materiálem *Mat 2* – PCL 12% v CF/DMF zvlákněným do ethanolu, ukázal při analýze snímků SEM také dutá vlákna. Vlákna vytvořená v experimentu *T2* a *T3* jsou obdobná, tvorba dutiny je tedy způsobena rozpouštědlovým systémem a není způsobena vlákněním do kapaliny. V tomto případě není vliv kapaliny potřebný pro vytvoření dutých vláken.

Tabulka 15 – Souhrnný přehled vybraných testovaných materiálů s jejich hlavními charakteristikami.

Řada	Materiál		Kolektor		ø [nm]	SD [nm]
M1	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 1	AC	4 221	1 237
M2	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 13	AC/ETH 1:1	11 000	1 643
M2	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 2	AC/ETH/W 2:2:1	14 389	3 418
M3	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 1	AC	879	180
M3	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 4	AC/ETH 10:1	-	-
M3	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 5	AC/ETH 10:2	-	-
M3	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 8	AC/ETH 10:5	-	-
M3	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 9	AC/ETH 10:6	13 102	3 002
M3	Mat 3	PCL 10% CF/ETH 8:2	Kol 7	AC/ETH 10:4	6 258	3 020
M3	Mat 3	PCL 10% CF/ETH 8:2	Kol 8	AC/ETH 10:5	9 061	5 528
M3	Mat 3	PCL 10% CF/ETH 8:2	Kol 9	AC/ETH 10:6	5 467	2 430
M3	Mat 3	PCL 10% CF/ETH 8:2	Kol 10	AC/ETH 10:7	5 931	2 471
M3	Mat 3	PCL 10% CF/ETH 8:2	Kol 11	AC/ETH 10:8	6 134	3 327
M3	Mat 3	PCL 10% CF/ETH 8:2	Kol 12	AC/ETH 10:9	5 576	2 892
M4	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 1	AC	3 018	912
M4	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 14	AC/W 10:1	7 713	2 763
M4	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 15	AC/W 10:2	4 460	2 534
M4	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 16	AC/W 10:3	3 741	2 337
M5	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 19	AC/W 100:6	4 850	1 773
M5	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 20	AC/W 100:7	6 960	1 755
M5	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 21	AC/W 100:8	6 173	1 560
M5	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 22	AC/W 100:9	5 206	1 239
M5	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 16	AC/W 10:1	7 872	1 707
M6	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 26	AC/ETH 100:4	2 898	479
M6	Mat 2	PCL 12% CF/DMF 6:2	Kol 28	AC/ETH 100:6	5 189	1 453

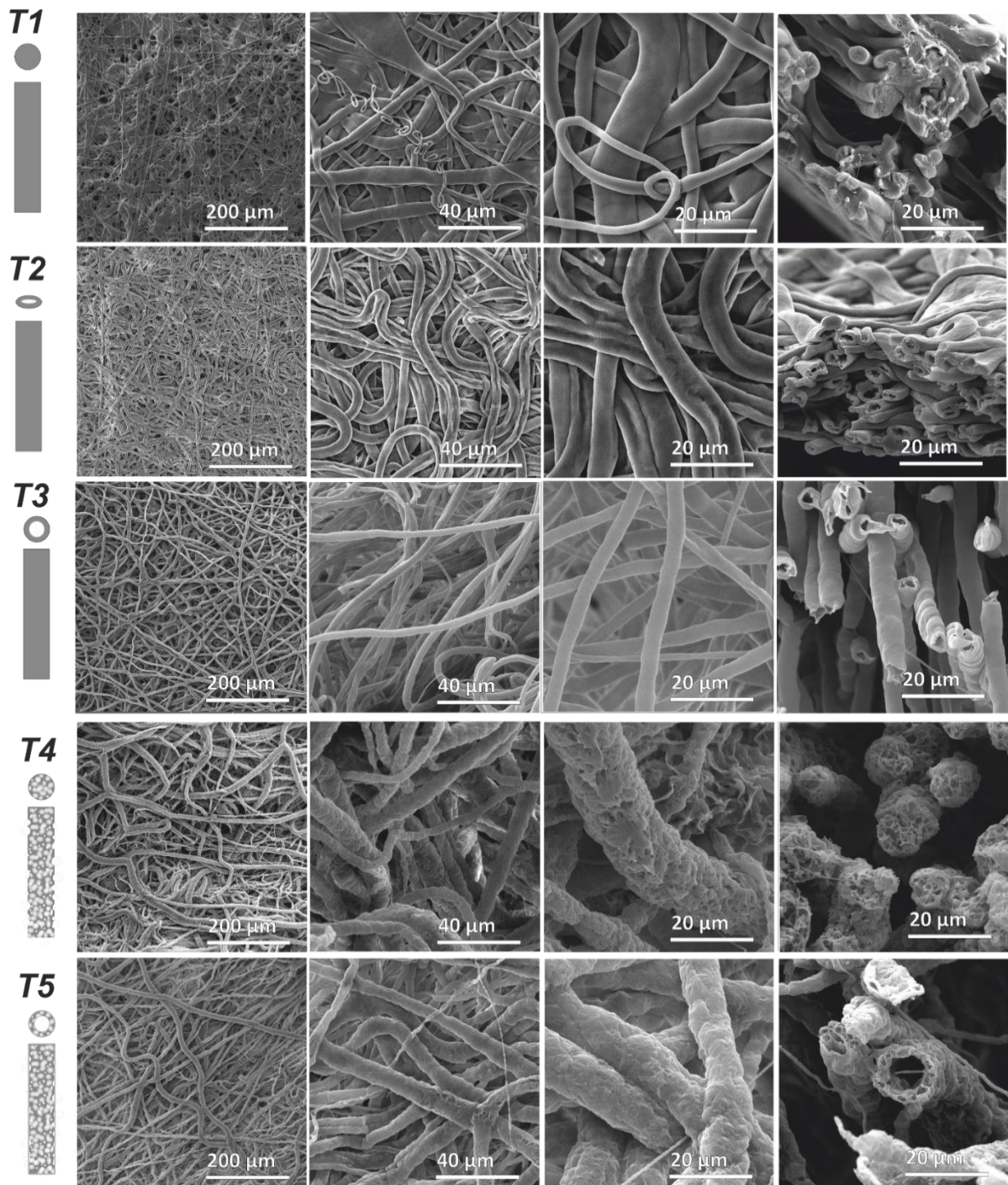
Tabulka 16 – Přehled kombinací materiálů a polymerních roztoků vybraných pro analýzu řezů materiálem.

Řada	Obr.	Roztok polymeru	Kolektor	DSC	ø [µm]
				Xc [%]	
T1	Obr. 36 A	PCL 10 hm% CF/ETH 8:2 hm (Mat 3)	Pevný kolektor	47,2 ± 1,7	4,3 ± 1,7
T2	Obr. 36 B	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	Pevný kolektor	53,2 ± 0,7	4,8 ± 1,1
T3	Obr. 36 C	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	Ethanol	56,1 ± 2,5	4,8 ± 1,2
T4	Obr. 36 D	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	AC/ETH 10:7 obj. (Kol 10)	71,3 ± 1,4	12,1 ± 2,6
T5	Obr. 36 E	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	AC/W 100:9 obj. (Kol 22)	68,4 ± 1,8	7,7 ± 1,8

Čtvrtý experiment označený *T4*, který byl proveden také s materiálem *Mat 2* – PCL 12% v CF/DMF zvlákněným do roztoku AC/ETH 10:7 (*Kol 10*). Analýza SEM snímků ukázala, že působením kolektoru se nevytvoří dutina ve vláknech, ale vysoce porézní vnitřní struktura. Celý objem materiálu vláken je „houbovitá“ struktura, která je pozorovatelná i na povrchu vláken.

Pátý experiment označený *T5*, který byl proveden také s materiálem *Mat 2* – PCL 12% v CF/DMF zvlákněným do roztoku AC/W 100:9 (Kol 22). Analýza SEM snímků ukázala, že vlivem kolektoru se vytvoří kombinace vysoce porézního vlákna s dutinou uprostřed. Porézní struktura materiálu je patrná i na stěnách vlákna.

Porovnání snímků SEM celé experimentální řady *T* je na obrázku (*Obr. 36*), vlevo je vždy přehledový snímek s měřítkem 200 μm , další je snímek s měřítkem 40 μm následovaný detailem s měřítkem 20 μm , poslední je vždy řez vláken s měřítkem 20 μm .



Obr. 36 – Snímky materiálů experimentální řady *T*, u kterých byl proveden řez s cílem analýzy vnitřní struktury vláken. Materiály a složení kolektoru jsou uvedeny v tabulce (*Tabulka 16*).

6.4 Měření porozity

Pro měření porozity vytvořených materiálů byla vybrána gravimetrická metoda, která zahrnuje všechny druhy pórů včetně uzavřených a zároveň je pro účely měření porozity tkáňových nosičů běžně využívána [116–119]. Porozita byla měřena dle vztahu $Porozita [\%] = \left(1 - \frac{Hmotnost\ vzorku [g]}{Hustota\ polymeru [\frac{g}{cm^3}] \times Objem\ vzorku [cm^3]}\right) \times 100$.

Porozita byla měřena u vzorků vyrobených pro biologické testy (*Kapitola 5.1 Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.*), materiály T 2-5 z obrázku (Obr. 36), T1 materiál je nahrazen planárním materiálem vyrobeným technologií Nanospider™ [14]. Přehled materiálů, složení roztoku, kolektoru a výsledná porozita jsou shrnuty v tabulce (Tabulka 17). Z výsledků vyplývá, že materiály vytvořené do kapaliny (L3-L5) mají porozitu nad 98 %, materiál L4 dokonce 99 %. Takto vysoká porozita je poměrně unikátní, vytvořené materiály lze nazvat ultra-porézními.

Tabulka 17 – Přehled materiálu a výsledků měření porozity gravimetrickou metodou pro vybrané vzorky zvlákněvané DC elektrickým zvlákněváním na pevný kolektor a do vybraných kapalinových kolektorů.

Řada	Obr.	Roztok polymeru	Kolektor	Průměrný objem vzorku [mm ³]	Porozita [%]	SD [%]
L1	-	PCL 10 hm% CF/ETH 8:2 hm (Mat 3)	Pevný kolektor	122	90,6	1,2
L2	Obr. 36 B	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	Pevný kolektor	29	64,6	8,5
L3	Obr. 36 C	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	Ethanol	1 097	99,0	0,2
L4	Obr. 36 D	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	AC/ETH 10:7 hm (Kol 10)	609	97,0	0,4
L5	Obr. 36 E	PCL 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2)	AC/W 100:9 hm (Kol 22)	723	98,2	0,03

6.5 Popis vyrobených materiálů

Z experimentů řady T byl vyvozen závěr, že rozpouštědlový systém PCL v roztoku 12 hm% CF/DMF 6:4 hm (Mat 2) vytváří dutá vlákna při vláknění na pevný i kapalný kolektor. Tvorba dutiny je způsobena rychlým odparem kapalného rozpouštědla, za vzniku dutin s těkavými parami (Obr. 36c). Princip tvorby začíná uplatněním Maragoniho efektu, kdy hraje roli gradient povrchového napětí, který zahájí oddělování dvou složek s rozdílným gradientem koncentrace rozpouštědla. Pomocí tohoto efektu se vytvoří místa s vyšší koncentrací rozpouštědla a místa s vyšší koncentrací polymeru. Zatímco polymer bude zvyšovat svou viskozitu a tuhnout, rozpouštědlo se v případě, že je těkavé, začne odpařovat za vzniku dutin. V případě koagulace dojde k mísení rozpouštědla s kapalinou kolektoru a dojde postupně k vyrovnání koncentrací na takovou míru, že vznikne pór – dutina, ve které je kapalina kolektoru se stejnou koncentrací rozpouštědla jako je ve zbytku kapaliny kolektoru. Tento zbytek kapaliny je v následném kroku výroby materiálu vysušen. V případě, že se vlákni na pevný kolektor, proběhne odpar rozpouštědla. Páry rozpouštědla jsou postupně naředěny okolní atmosférou až do praktického odstranění rozpouštědla z objemu kapaliny. V případě porézních vláken z experimentu T4 je vysvětlení v pronikání částečného rozpouštědla (směs AC/ETH) do prostoru vlákna, kde interaguje s polymerem i rozpouštědlem a vytváří více menších dutin – pórů. Při koagulaci, při které se koncentrace rozpouštědla v roztoku polymeru snižuje dochází k vytvrzování polymeru, který zároveň zachovává vnější tvar. Takto vzniklé póry jsou vzájemně propojeny. U posledního pátého experimentu této řady je výsledné vlákno duté s porézní stěnou, jde tedy o kombinaci efektů T3 a T4. Kombinace kolektoru chloroformu a vody dokáže vytvořit dutinu uvnitř vlákna a porézní stěny. Dutina začne vznikat již před dopadem do kapaliny, což je prokázáno zvlákněním na pevný

kolektor, kdy je dutina uprostřed vlákna vytvořena bez kapalného kolektoru. Následná porézní struktura stěny vznikne nahrazováním zbytků rozpouštědla kapalinou kolektoru.

7 Biologické testování specifických materiálů

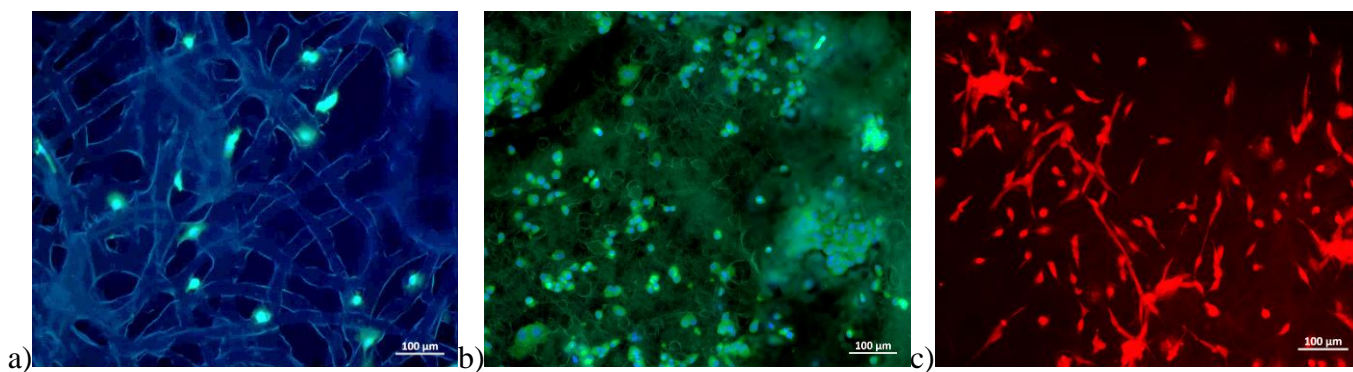
Předchozí biologické testování (*Kapitola 5.4*) prokázalo obecnou vhodnost objemných materiálů vyrobených vlákněním do kapaliny pro buněčnou proliferaci a viabilitu. Další biologické testování má za cíl ověřit cytotoxicitu a buněčnou proliferaci materiálu jako celku, tedy konkrétního produktu tvořeného specifickými vlákny v 3D objemné struktuře. K testování byly vybrány materiály *T2-T5* dle tabulky (*Tabulka 16*), tyto materiály jsou zobrazeny na obrázku (*Obr. 36*). Pro porovnání byl materiál *T1* nahrazen planárním materiálem vyrobeném na zařízení Nanospider™ [14]. Řada materiálů byla označena *L1-L5*.

7.1 Testování cytotoxicity

Velmi důležitou součástí vyhodnocení vhodnosti materiálu je testování cytotoxicity, tento test je relativně jednoduchý, ale má primární vypovídající hodnotu o materiálu a jeho vhodnosti pro medicínské aplikace a jeho další využití a výzkum. Testování cytotoxicity probíhalo dle standardních postupů statistického zpracování výsledků s konstatováním že cytotoxicita sledovaných materiálů není větší, než je cytotoxicita referenčního vzorku.

7.2 Testování proliferace optickou analýzou

Druhým způsobem otestování materiálu je sledování a analýza buněk pomocí fluorescenčního mikroskopu, kdy je sledováno umístění a tvar buněk na povrchu testovaného materiálu a povrchu blízkém prostředí. Buňky jsou na materiálu přichyceny a jejich tvar značí adhezenci na vlákna materiálu a přizpůsobení se morfologii vláknenného materiálu, což indikuje vhodnost materiálu pro účely tkáňového nosiče (*Obr. 37 b*).



Obr. 37 – Obrázky buněk pořízené fluorescenčním mikroskopem. a) na obrázku je 3D objemná struktura materiálu L4 s nasazenými myšími fibroblastními buňkami po 24 hodinách. Jádro buňky má modrou barvu a cytoplazma svítí zelenou jasnou barvou. Snímek pořízen fluorescenčním mikroskopem. Obrázek b) ukazuje buňky po 7 denním růstu, buňky v materiálu proliferují a migrují v objemu. Snímek c) ukazuje tvar buněk v 3D objemném materiálu, u buněk je patrné, že se podél vláknenné struktury tkáňového nosiče přizpůsobuje jejich tvar vláknennému prostředí.

7.3 Výsledky závěrečného biologického otestování materiálů

Testování na závěr potvrdilo, že proces ani materiál, ze kterého byly vzorky vyrobeny není cytotoxický. V materiálech tedy nezůstává problematické množství rozpouštědla a ani v průběhu výrobních kroků nedochází k jakémukoli kontaminačnímu kroku. Lze konstatovat, že zvlákněním do kolektoru s výše zmíněným složením (*Tabulka 16*) a vysušením dle daného postupu (*Kapitola 5.2*) se cytotoxicita nemění oproti nemodifikovaným planárním vzorkům. Materiál je možné nazvat biologicky kompatibilním

a teoreticky vhodným pro použití jako tkáňového nosiče. Fluorescenční snímky ukazují, že buňky mají tendenci adherovat na povrch materiálu a migrují ve struktuře materiálu.

8 Výsledky a jejich uplatnění

Teoretické vyšetření chování cylindrického objektu na hladině kapaliny ukázalo na důležité parametry, které hrají roli v procesu samovolného noření válcovitých vláken do kapaliny. Poskytlo náhled na vztahy mezi parametry procesu noření. Tento model je rozšířením dosavadních popisů procesu noření cylindrických objektů. Jedná se o teoretickou úvahu, která je pro poznání principů velmi důležitým nástrojem, nicméně praxe ukazuje, že v procesu noření je více činitelů, které ve většině případů ovlivňují samovolné noření vláken do kapaliny a tím mění podmínky procesu a model není schopen přesně simulovat reálný proces noření. Tento model je však pro teoretické pochopení podmínek a vztahů nezbytný.

Výsledkem výzkumu a vývoje je vytvořené zařízení, pro laboratorní i mikrosériové elektrické zvlákňování do kapaliny, které je relativně jednoduché na obsluhu, s intuitivním ovládním. Zařízení je vyrobeno z běžných komerčních dílů a 3D tisku. Jeho výroba a další upgrade či modifikace jsou tedy relativně jednoduché a snadno proveditelné. Případná další výroba zařízení není náročná. Zařízení je uzpůsobeno pro laboratorní použití v digestoři, což umožňuje snazší užití s těkavými rozpouštědly a kolektory za dodržení pravidel bezpečnosti práce. Zařízení je možné využít při výuce i školních laboratorních úlohách. Také se ukázalo jako funkční celek, který zcela nahrazuje improvizovaná nastavení pomocí laboratorních pomůcek, které nemohou snadno zaručit stejná nastavení, a hlavně nezajišťují vždy stejné podmínky. Toto zařízení přineslo značné zjednodušení, zrychlení a zkvalitnění elektrického zvlákňování do kapalného kolektoru. Je to funkční celek, který umožňuje zvlákňovat do kapaliny při zachování možnosti použití velké škály kolektorových nádob a uchycených trysek. Zařízení také umožňuje zvlákňování na suchý kolektor.

Na tomto zařízení bylo následně vyrobeno několik morfologicky specifických 3D vlákných materiálů, jejichž makroskopický tvar je vhodný pro tkáňové inženýrství. Vyrobené materiály jsou svými parametry koncipované jako případné tkáňové nosiče. Proces zvlákňování do kapaliny je schopen vyrobit relativně velmi objemný materiál. Tyto materiály dosáhly při biologickém testování buněčné viability vynikajících výsledků díky své 3D struktuře, která poskytuje buňkám dostatečný prostor pro proliferaci. Zároveň jsou tyto materiály dostatečně porézní pro zajištění látkové výměny a umožnění migrace buněk. Proto je důležité konstatování, že tímto procesem lze vyrobit různé morfologicky unikátní materiály. Biologické in-vitro testování viability ukázalo jejich výhodu nad planárními vzorky, jež nejsou vhodné zejména svými rozměry a také nejsou pro buněčnou proliferaci a migraci tak příznivé.

Další fáze experimentování ukázala, že unikátní kombinací rozpouštědel kolektoru a složení kapalného kolektoru je možné vyrobit v jednom kroku unikátní a velmi specifické materiály. Byly vyrobeny 3D objemné materiály, které jsou složeny z dutých vláken nebo z vláken porézních. Prokázáno bylo i možné zkombinování dutých vláken a porézních, byl tedy vyroben materiál, který je složen z dutých vláken, s vysoce porézní stěnou. Takováto možnost nano-topografické alterace zkombinovaná s výrobou vysoce objemných materiálů je opravdu jedinečná. Relativní jednoduchost procesu a jeho snadné jednostupňové provedení dává této metodě nové dimenze možných užití a možností dalšího rozvoje. Jedinečnost takovýchto modifikovaných 3D objemných struktur s kombinací s porézními a dutými vlákny je také ve velmi vysoké porozitě, která může přesahovat podle odhadů i 99 %. Pro popis takto vysoké porozity lze použít výraz ultra porézní materiál. Závěrem bylo testováním prokázáno, že materiál není cytotoxický, což je zejména formální potvrzení předchozích testů buněčné viability. Optickou analýzou pomocí fluorescenčního mikroskopu byla potvrzena dobrá buněčná adheze a buněčná proliferace ve vyrobených ultra porézních 3D objemných materiálech. Buňky jsou v materiálech schopny adheze a migrace v 3D struktuře.

9 Doporučení na pokračování práce v daném tématu a oboru

Doporučení pro další pokračování v tomto tématu a oboru nabízí možnosti dalšího rozvoje a zdokonalení v oblasti materiálů pro tkáňové inženýrství. Vyrobené materiály jsou svými vlastnostmi výjimečné a unikátní, proces výroby je relativně jednoduchý a nenáročný, pro další využití získaných poznatků jsou zde další doporučení po jednotlivých oblastech. Doporučení navrhuji jakým způsobem navázat a rozvinout výsledky této práce.

Modifikace materiálů pro zvýšení biologické funkcionalizace. Zkoumání možností modifikace materiálů přidáním biologicky aktivních látek nebo biopolymerů. Tento výzkum může vést ke zlepšení biologických vlastností materiálů. Biologickou funkcionalizací může dojít ke zvýšení schopnosti podporovat buněčnou adhezi, proliferaci a diferenciaci nebo stimulaci buněk.

Individualizace materiálů pro konkrétní použití. Dalším navrhovaným krokem je výzkum metod tvarování materiálů pro individuální použití, jako je vytváření specifických tvarů nebo rozměrů dle nahrazovaných tkání. Toto může vést k vývoji personalizovaných léčebných postupů a zakázkových náhrad tkání. Tyto náhrady by mohly být vyráběny přímo na míru dle aktuálních požadavků a tím zlepšit nejen funkci, ale i přijetí tkáňového nosiče. Možným řešením by bylo vytvoření formy, do které by se v kapalině vláknilo, případně by se vlákenný produkt po vytvoření do formy umístil. Přímo v této formě by probíhala lyofilizace a tím by byla zabezpečena fixace konkrétního tvaru.

Zvýšení mechanické pevnosti tkáňových nosičů. Pro aplikace, které vyžadují vyšší mechanickou stabilitu, by bylo zajímavé zkoumat možnosti zvýšení mechanické pevnosti vyrobených materiálů. Zvýšení pevnosti by mohlo být dosaženo například prostřednictvím optimalizace struktury nosiče nebo přidáním posilujících komponent.

Testování vlivu změn ve struktuře vláken PCL na rychlost degradace. Biodegradace je v těle řízena enzymaticky katalyzovanou hydrolýzou. Plná vlákna zřejmě budou degradovat pomaleji než vysoce porézní – pěnovitá vlákna či vlákna dutá. Ověření vlivu vlákenné struktury na rychlost degradace v in-vitro podmínkách by bylo velmi zajímavé pro další přesné směřování těchto materiálů v konkrétních aplikacích.

Rozšíření in-vitro testování s cílem zaměřením se na specifické tkáňové nosiče. Pro případný další vývoj je nezbytné provést in-vitro testování, tentokrát zaměřené na specifické typy tkání, které mají být regenerovány. Tímto způsobem lze získat důležité informace o interakci materiálu s konkrétními buněčnými typy a optimalizovat jeho biologickou kompatibilitu.

In-vivo testování a klinické studie. Po úspěšném in-vitro testování by měla být provedena in-vivo testování, aby byla ověřena účinnost a bezpečnost materiálů v živých organismech. Poté by mohly následovat klinické studie, které by poskytly důkazy o účinnosti materiálů u pacientů.

10 Seznam použitých zdrojů

- [1] BHARDWAJ, Nandana a Subhas C. KUNDU. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances* [online]. 2010, 28(3), 325–347. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2010.01.004
- [2] SILL, Travis J. a Horst A. VON RECUM. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials* [online]. 2008, 29(13), 1989–2006. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2008.01.011
- [3] LANNUTTI, J., D. RENEKER, T. MA, D. TOMASKO a D. FARSON. Electrospinning for tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2007, 27(3), 504–509. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2006.05.019
- [4] TEO, W E a S RAMAKRISHNA. A review on electrospinning design and nanofibre assemblies. *Nanotechnology* [online]. 2006, 17(14), R89–R106. ISSN 0957-4484, 1361-6528. Dostupné z: doi:10.1088/0957-4484/17/14/R01
- [5] RUTLEDGE, Gregory C. a Sergey V. FRIDRIKH. Formation of fibers by electrospinning. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2007, 59(14), 1384–1391. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2007.04.020
- [6] NAM, Jin, Yan HUANG, Sudha AGARWAL a John LANNUTTI. Materials selection and residual solvent retention in biodegradable electrospun fibers. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2008, 107(3), 1547–1554. ISSN 00218995, 10974628. Dostupné z: doi:10.1002/app.27063
- [7] POKORNY, P., E. KOSTAKOVA, F. SANETRNÍK, P. MIKES, J. CHVOJKA, T. KALOUS, M. BILEK, K. PEJCHAR, J. VALTERA a D. LUKAS. Effective AC needleless and collectorless electrospinning for yarn production. *Phys. Chem. Chem. Phys.* [online]. 2014, 16(48), 26816–26822. ISSN 1463-9076, 1463-9084. Dostupné z: doi:10.1039/C4CP04346D
- [8] PARTHENIADIS, Ioannis, Ioannis NIKOLAKAKIS, Ivo LAIDMÄE a Jyrki HEINÄMÄKI. A Mini-Review: Needleless Electrospinning of Nanofibers for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Processes* [online]. 2020, 8(6), 673. ISSN 2227-9717. Dostupné z: doi:10.3390/pr8060673
- [9] JIANG, Rui, Tao YAN, Yi-Qi WANG a Zhi-Juan PAN. The preparation of PA6/CS-NPs nanofiber filaments with excellent antibacterial activity via a one-step multineedle electrospinning method with liquid bath circling system. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2020, 137(36), 49053. ISSN 0021-8995, 1097-4628. Dostupné z: doi:10.1002/app.49053
- [10] JIRSAK, Oldrich a Stanislav PETRIK. Recent advances in nanofibre technology: needleless electrospinning. *International Journal of Nanotechnology* [online]. 2012, 9(8–9), 836. ISSN 1475-7435, 1741-8151. Dostupné z: doi:10.1504/IJNT.2012.046756
- [11] LI, Dawei, Tong WU, Nanfei HE, Jing WANG, Weiming CHEN, Liping HE, Chen HUANG, Hany A. EI-HAMSHARY, Salem S. AL-DEYAB, Qinfei KE a Xiumei MO. Three-dimensional polycaprolactone scaffold via needleless electrospinning promotes cell proliferation and infiltration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2014, 121, 432–443. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2014.06.034
- [12] WANG, Xin, Haitao NIU, Tong LIN a Xungai WANG. Needleless electrospinning of nanofibers with a conical wire coil. *Polymer Engineering & Science* [online]. 2009, 49(8), 1582–1586. ISSN 00323888. Dostupné z: doi:10.1002/pen.21377

- [13] LUKÁŠ, David. *Nanovlákná: teorie, technologie a použití*. Vydání první. Praha: Academia, 2023. ISBN 978-80-200-3400-7.
- [14] *Patentovaná bezjehlová technologie Nanospider | Elmarco* [online]. [vid. 2023-12-18]. Dostupné z: <https://www.elmarco.com/cs/nanospider>
- [15] WU, Tong, Chen HUANG, Dawei LI, Anlin YIN, Wei LIU, Jing WANG, Jianfeng CHEN, Hany EI-HAMSHARY, Salem S. AL-DEYAB a Xiumei MO. A multi-layered vascular scaffold with symmetrical structure by bi-directional gradient electrospinning. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2015, 133, 179–188. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2015.05.048
- [16] HU, Qingxi, Caiping SU, Zhaoxiang ZENG, Haiguang ZHANG, Rui FENG, Jiaxuan FENG a Shuai LI. Fabrication of multilayer tubular scaffolds with aligned nanofibers to guide the growth of endothelial cells. *Journal of Biomaterials Applications* [online]. 2020, 35(4–5), 553–566. ISSN 0885-3282, 1530-8022. Dostupné z: doi:10.1177/0885328220935090
- [17] ZHOU, Ming, Jinyuan ZHOU, Ruishan LI a Erqing XIE. Preparation of Aligned Ultra-long and Diameter-controlled Silicon Oxide Nanotubes by Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition Using Electrospun PVP Nanofiber Template. *Nanoscale Research Letters* [online]. 2010, 5(2), 279. ISSN 1556-276X. Dostupné z: doi:10.1007/s11671-009-9476-6
- [18] AGHAJANPOOR, Mahdiyeh, Sameereh HASHEMI-NAJAFABADI, Mohamadreza BAGHABAN-ESLAMINEJAD, Fatemeh BAGHERI, Seyyed MOHAMMAD MOUSAVI a Foruogh AZAM SAYYAHPOUR. The effect of increasing the pore size of nanofibrous scaffolds on the osteogenic cell culture using a combination of sacrificial agent electrospinning and ultrasonication. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2017, 105(7), 1887–1899. ISSN 1549-3296, 1552-4965. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.36052
- [19] CHEN, Yujie, Zihao JIA, Muhammad SHAFIQ, Xianrui XIE, Xianghao XIAO, Rita CASTRO, João RODRIGUES, Jinglei WU, Guangdong ZHOU a Xiumei MO. Gas foaming of electrospun poly(L-lactide-co-caprolactone)/silk fibroin nanofiber scaffolds to promote cellular infiltration and tissue regeneration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2021, 201, 111637. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2021.111637
- [20] CHEN, Yujie, Muhammad SHAFIQ, Mingyue LIU, Yosry MORSI a Xiumei MO. Advanced fabrication for electrospun three-dimensional nanofiber aerogels and scaffolds. *Bioactive Materials* [online]. 2020, 5(4), 963–979. ISSN 2452199X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioactmat.2020.06.023
- [21] GAO, Qing, Haibing GU, Peng ZHAO, Chunmei ZHANG, Mingyi CAO, Jianzhong FU a Yong HE. Fabrication of electrospun nanofibrous scaffolds with 3D controllable geometric shapes. *Materials & Design* [online]. 2018, 157, 159–169. ISSN 02641275. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2018.07.042
- [22] JIANG, Jiang, Shixuan CHEN, Hongjun WANG, Mark A. CARLSON, Adrian F. GOMBART a Jingwei XIE. CO₂-expanded nanofiber scaffolds maintain activity of encapsulated bioactive materials and promote cellular infiltration and positive host response. *Acta Biomaterialia* [online]. 2018, 68, 237–248. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2017.12.018
- [23] LIU, Jun, Zhihao SHEN, Sang-Ho LEE, Manuel MARQUEZ a Mark A. MCHUGH. Electrospinning in compressed carbon dioxide: Hollow or open-cell fiber formation with a single nozzle configuration. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. 2010, 53(1–3), 142–150. ISSN 08968446. Dostupné z: doi:10.1016/j.supflu.2010.02.016
- [24] LEE, Jung Bok, Sung In JEONG, Min Soo BAE, Dae Hyeok YANG, Dong Nyoung HEO, Chun Ho KIM, Eben ALSBERG a Il Keun KWON. Highly Porous Electrospun Nanofibers Enhanced by Ultrasonication for

Improved Cellular Infiltration. *Tissue Engineering Part A* [online]. 2011, 17(21–22), 2695–2702. ISSN 1937-3341, 1937-335X. Dostupné z: doi:10.1089/ten.tea.2010.0709

- [25] RAHMANI, Amin, Sameereh HASHEMI-NAJAFABADI, Mohamadreza Baghaban ESLAMINEJAD, Fatemeh BAGHERI a Forough Azam SAYAHPOUR. The effect of modified electrospun PCL-nHA-nZnO scaffolds on osteogenesis and angiogenesis. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2019, 107(9), 2040–2052. ISSN 1549-3296, 1552-4965. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.36717
- [26] CHEN, Weiming, Jun MA, Lei ZHU, Yosry MORSI, Hany -->EI-HAMSHARY, Salem S. AL-DEYAB a Xiumei MO. Superelastic, superabsorbent and 3D nanofiber-assembled scaffold for tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2016, 142, 165–172. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2016.02.050
- [27] SUTHERLAND, Amanda J., Gabriel L. CONVERSE, Richard A. HOPKINS a Michael S. DETAMORE. The Bioactivity of Cartilage Extracellular Matrix in Articular Cartilage Regeneration. *Advanced Healthcare Materials* [online]. 2015, 4(1), 29–39. ISSN 2192-2640, 2192-2659. Dostupné z: doi:10.1002/adhm.201400165
- [28] ALMEIDA, Henrique V., Yurong LIU, Gráinne M. CUNNIFFE, Kevin J. MULHALL, Amos MATSIKO, Conor T. BUCKLEY, Fergal J. O'BRIEN a Daniel J. KELLY. Controlled release of transforming growth factor- β 3 from cartilage-extra-cellular-matrix-derived scaffolds to promote chondrogenesis of human-joint-tissue-derived stem cells. *Acta Biomaterialia* [online]. 2014, 10(10), 4400–4409. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2014.05.030
- [29] WANG, Xiaoya, Meng ZHANG, Jingge MA, Mengchi XU, Jiang CHANG, Michael GELINSKY a Chengtie WU. 3D Printing of Cell-Container-Like Scaffolds for Multicell Tissue Engineering. *Engineering* [online]. 2020, 6(11), 1276–1284. ISSN 20958099. Dostupné z: doi:10.1016/j.eng.2020.08.001
- [30] ZHANG, Qiliang, Jian ZHOU, Peixuan ZHI, Leixin LIU, Chaozong LIU, Ao FANG a Qidong ZHANG. 3D printing method for bone tissue engineering scaffold. *Medicine in Novel Technology and Devices* [online]. 2023, 17, 100205. ISSN 25900935. Dostupné z: doi:10.1016/j.medntd.2022.100205
- [31] LOH, Qiu Li a Cleo CHOONG. Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size. *Tissue Engineering Part B: Reviews* [online]. 2013, 19(6), 485–502. ISSN 1937-3368, 1937-3376. Dostupné z: doi:10.1089/ten.teb.2012.0437
- [32] DENG, Fuyuan, Linlin LIU, Zhong LI a Juncai LIU. 3D printed Ti6Al4V bone scaffolds with different pore structure effects on bone ingrowth. *Journal of Biological Engineering* [online]. 2021, 15(1), 4. ISSN 1754-1611. Dostupné z: doi:10.1186/s13036-021-00255-8
- [33] NAGHIEH, Saman, Ehsan FOROOZMEHR, Mohsen BADROSSAMAY a Mahshid KHARAZIHA. Combinational processing of 3D printing and electrospinning of hierarchical poly(lactic acid)/gelatin-forsterite scaffolds as a biocomposite: Mechanical and biological assessment. *Materials & Design* [online]. 2017, 133, 128–135. ISSN 02641275. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2017.07.051
- [34] JIN, Shixin, Zhuoming CHEN, Binjie XIN, Tong XI a Na MENG. An investigation on the comparison of wet spinning and electrospinning: Experimentation and simulation. *Fibers and Polymers* [online]. 2017, 18(6), 1160–1170. ISSN 1229-9197, 1875-0052. Dostupné z: doi:10.1007/s12221-017-7026-x
- [35] KOSTAKOVA, E., M. SEPS, P. POKORNY a D. LUKAS. Study of polycaprolactone wet electrospinning process. *Express Polymer Letters* [online]. 2014, 8(8), 554–564. ISSN 1788618X. Dostupné z: doi:10.3144/expresspolymlett.2014.59
- [36] SOVINA, Jan. *Wet electrospinning* [online]. B.m.: TUL - Bakalářská práce. 2018. Dostupné z: <https://dspace.tul.cz/handle/15240/152431>

- [37] ŠEPS, Michal. *Wet Electrospinning*. B.m.: TUL - Bakalářská práce. 2013
- [38] HASSANIN, Ahmed H., Eman ELNABAWY, Mohammed SALAH, Remya NAIR, Mohammed GAMAL, Nada OMRAN, Anton POPELKA, Ishac KANDAS a Nader SHEHATA. Multi-functional wet-electrospun piezoelectric nanofibers sensing mat: Manufacturing, characterization, and applications. *Materials Science in Semiconductor Processing* [online]. 2023, 166, 107708. ISSN 13698001. Dostupné z: doi:10.1016/j.mssp.2023.107708
- [39] ZHANG, Mei, Han LIN, Yilong WANG, Guang YANG, He ZHAO a Dahui SUN. Fabrication and durable antibacterial properties of 3D porous wet electrospun RCSC/PCL nanofibrous scaffold with silver nanoparticles. *Applied Surface Science* [online]. 2017, 414, 52–62. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2017.04.052
- [40] PANT, Hem Raj, Madhav Prasad NEUPANE, Bishweshwar PANT, Gopal PANTHI, Hyun-Ju OH, Min Ho LEE a Hak Yong KIM. Fabrication of highly porous poly (ϵ -caprolactone) fibers for novel tissue scaffold via water-bath electrospinning. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2011, 88(2), 587–592. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2011.07.045
- [41] YOKOYAMA, Yoshiro, Shinya HATTORI, Chiaki YOSHIKAWA, Yoshihiro YASUDA, Hiroyuki KOYAMA, Tsuyoshi TAKATO a Hisatoshi KOBAYASHI. Novel wet electrospinning system for fabrication of spongiform nanofiber 3-dimensional fabric. *Materials Letters* [online]. 2009, 63(9–10), 754–756. ISSN 0167577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2008.12.042
- [42] YOUSEFZADEH, Maryam, Masoud LATIFI, Wee-Eong TEO, Mohammad AMANI-TEHRAN a Seeram RAMAKRISHNA. Producing continuous twisted yarn from well-aligned nanofibers by water vortex. *Polymer Engineering & Science* [online]. 2011, 51(2), 323–329. ISSN 00323888. Dostupné z: doi:10.1002/pen.21800
- [43] HONG, Soongee a GeunHyung KIM. Fabrication of size-controlled three-dimensional structures consisting of electrohydrodynamically produced polycaprolactone micro/nanofibers. *Applied Physics A* [online]. 2011, 103(4), 1009–1014. ISSN 0947-8396, 1432-0630. Dostupné z: doi:10.1007/s00339-011-6381-5
- [44] KIM, Min Seong a GeunHyung KIM. Three-dimensional electrospun polycaprolactone (PCL)/alginate hybrid composite scaffolds. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, 114, 213–221. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2014.08.008
- [45] KASUGA, Toshihiro, Akiko OBATA, Hirotaka MAEDA, Yoshio OTA, Xianfeng YAO a Kazuya ORIBE. Siloxane-poly(lactic acid)-vaterite composites with 3D cotton-like structure. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2012, 23(10), 2349–2357. ISSN 0957-4530, 1573-4838. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-012-4607-5
- [46] XYNOS, Ioannis D., Alasdair J. EDGAR, Lee D.K. BUTTERY, Larry L. HENCH a Julia M. POLAK. Ionic Products of Bioactive Glass Dissolution Increase Proliferation of Human Osteoblasts and Induce Insulin-like Growth Factor II mRNA Expression and Protein Synthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2000, 276(2), 461–465. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1006/bbrc.2000.3503
- [47] JONES, Julian R., Olga TSIGKOU, Emily E. COATES, Molly M. STEVENS, Julia M. POLAK a Larry L. HENCH. Extracellular matrix formation and mineralization on a phosphate-free porous bioactive glass scaffold using primary human osteoblast (HOB) cells. *Biomaterials* [online]. 2007, 28(9), 1653–1663. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2006.11.022
- [48] OBATA, A, S TOKUDA a T KASUGA. Enhanced in vitro cell activity on silicon-doped vaterite/poly(lactic acid) composites. *Acta Biomaterialia* [online]. 2009, 5(1), 57–62. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2008.08.004

- [49] WAKITA, Takashi, Akiko OBATA, Gowsihan POOLOGASUNDARAMPILLAI, Julian R. JONES a Toshihiro KASUGA. Preparation of electrospun siloxane-poly(lactic acid)-vaterite hybrid fibrous membranes for guided bone regeneration. *Composites Science and Technology* [online]. 2010, 70(13), 1889–1893. ISSN 02663538. Dostupné z: doi:10.1016/j.compscitech.2010.05.014
- [50] HEO, Joonseong, Hyoryung NAM, Dongha HWANG, Seong J. CHO, Sung-Young JUNG, Dong-Woo CHO, Jin-Hyung SHIM a Geunbae LIM. Enhanced cellular distribution and infiltration in a wet electrospun three-dimensional fibrous scaffold using eccentric rotation-based hydrodynamic conditions. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2016, 226, 357–363. ISSN 09254005. Dostupné z: doi:10.1016/j.snb.2015.11.030
- [51] WANG, Hui, Lingyan KONG a Gregory R. ZIEGLER. Aligned wet-electrospun starch fiber mats. *Food Hydrocolloids* [online]. 2019, 90, 113–117. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2018.12.008
- [52] DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, RADBOUD UNIVERSITY NIJMEGEN MEDICAL CENTRE, P.O. BOX 9101, 6500 HB NIJMEGEN, THE NETHERLANDS., S SHANG, F YANG, X CHENG, Xf WALBOOMERS a Ja JANSEN. The effect of electrospun fibre alignment on the behaviour of rat periodontal ligament cells. *European Cells and Materials* [online]. 2010, 19, 180–192. Dostupné z: doi:10.22203/eCM.v019a18
- [53] RAFIEI, Mehrnoosh, Elaheh JOOYBAR, Mohammad J. ABDEKHODAIE a Mansour ALVI. Construction of 3D fibrous PCL scaffolds by coaxial electrospinning for protein delivery. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2020, 113, 110913. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2020.110913
- [54] ZHANG, Mei, Han LIN, Yilong WANG, Guang YANG, He ZHAO a Dahui SUN. Fabrication and durable antibacterial properties of 3D porous wet electrospun RCSC/PCL nanofibrous scaffold with silver nanoparticles. *Applied Surface Science* [online]. 2017, 414, 52–62. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2017.04.052
- [55] BARBER, Patrick S., Chris S. GRIGGS, Jonathan R. BONNER a Robin D. ROGERS. Electrospinning of chitin nanofibers directly from an ionic liquid extract of shrimp shells. *Green Chemistry* [online]. 2013, 15(3), 601. ISSN 1463-9262, 1463-9270. Dostupné z: doi:10.1039/c2gc36582k
- [56] HOU, Lijuan, W. M. Ranodhi N. UDANGAWA, Anirudh POCHIRAJU, Wenjun DONG, Yingying ZHENG, Robert J. LINHARDT a Trevor J. SIMMONS. Synthesis of Heparin-Immobilized, Magnetically Addressable Cellulose Nanofibers for Biomedical Applications. *ACS Biomaterials Science & Engineering* [online]. 2016, 2(11), 1905–1913. ISSN 2373-9878, 2373-9878. Dostupné z: doi:10.1021/acsbomaterials.6b00273
- [57] VISWANATHAN, Gunaranjan, Saravanababu MURUGESAN, Victor PUSHPARAJ, Omkaram NALAMASU, Pulickel M. AJAYAN a Robert J. LINHARDT. Preparation of Biopolymer Fibers by Electrospinning from Room Temperature Ionic Liquids. *Biomacromolecules* [online]. 2006, 7(2), 415–418. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/bm050837s
- [58] ZHENG, Yingying, Jianjun MIAO, Noriko MAEDA, David FREY, Robert J. LINHARDT a Trevor J. SIMMONS. Uniform nanoparticle coating of cellulose fibers during wet electrospinning. *J. Mater. Chem. A* [online]. 2014, 2(36), 15029–15034. ISSN 2050-7488, 2050-7496. Dostupné z: doi:10.1039/C4TA03221G
- [59] XU, Yunzhi, Junior NDAYIKENGURUKIYE, Ange-Therese AKONO a Ping GUO. Fabrication of fiber-reinforced polymer ceramic composites by wet electrospinning. *Manufacturing Letters* [online]. 2022, 31, 91–95. ISSN 22138463. Dostupné z: doi:10.1016/j.mfglet.2021.07.017
- [60] YANG, Zhengpeng, Yuanheng JIA, Yutao NIU, Zhenzhong YONG, Kunjie WU, Chunjing ZHANG, Meng ZHU, Yongyi ZHANG a Qingwen LI. Wet-spun PVDF nanofiber separator for direct fabrication of coaxial

- fiber-shaped supercapacitors. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2020, 400, 125835. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2020.125835
- [61] SALATA, Oleg. Tools of Nanotechnology: Electrospray. *Current Nanoscience* [online]. 2005, 1(1), 25–33. ISSN 15734137. Dostupné z: doi:10.2174/1573413052953192
- [62] Electrospraying for Drug Delivery. *UKDiss* [online]. 2020, 2020. Dostupné z: <https://ukdiss.com/examples/electrospraying-for-drug-delivery.php>
- [63] KLÁPŠŤOVÁ, Andrea. *Využití elektrosprayingu pro cílené dodávání léčiv a funkcionalizaci scaffoldů*. Liberec, 2014. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci.
- [64] MA, Minglin, Alan CHIU, Gaurav SAHAY, Joshua C. DOLOFF, Nimit DHOLAKIA, Raj THAKRAR, Joshua COHEN, Arturo VEGAS, Delai CHEN, Kaitlin M. BRATLIE, Tram DANG, Roger L. YORK, Jennifer HOLLISTER-LOCK, Gordon C. WEIR a Daniel G. ANDERSON. Core–Shell Hydrogel Microcapsules for Improved Islets Encapsulation. *Advanced Healthcare Materials* [online]. 2013, 2(5), 667–672. ISSN 2192-2640, 2192-2659. Dostupné z: doi:10.1002/adhm.201200341
- [65] LIU, Zheng, Zhenchao XU, Xiyang WANG, Yilu ZHANG, Yunqi WU, Dingyu JIANG a Runze JIA. Preparation and Biocompatibility of Core-Shell Microspheres for Sequential, Sustained Release of BMP-2 and VEGF. *BioMed Research International* [online]. 2022, 2022, 1–15. ISSN 2314-6141, 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2022/4072975
- [66] ZAMANI, Maedeh, Molamma P. PRABHAKARAN, Eng San THIAN a Seeram RAMAKRISHNA. Protein encapsulated core–shell structured particles prepared by coaxial electrospraying: Investigation on material and processing variables. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2014, 473(1–2), 134–143. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.07.006
- [67] LAI, Wing-Fu, Andrei S. SUSHA a Andrey L. ROGACH. Multicompartment Microgel Beads for Co-Delivery of Multiple Drugs at Individual Release Rates. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2016, 8(1), 871–880. ISSN 1944-8244, 1944-8252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.5b10274
- [68] WANG, Ling, Yaobin WU, Baolin GUO a Peter X. MA. Nanofiber Yarn/Hydrogel Core–Shell Scaffolds Mimicking Native Skeletal Muscle Tissue for Guiding 3D Myoblast Alignment, Elongation, and Differentiation. *ACS Nano* [online]. 2015, 9(9), 9167–9179. ISSN 1936-0851, 1936-086X. Dostupné z: doi:10.1021/acsnano.5b03644
- [69] TEO, Wee-Eong, Ryuji INAI a Seeram RAMAKRISHNA. Technological advances in electrospinning of nanofibers. *Science and Technology of Advanced Materials* [online]. 2011, 12(1), 013002. ISSN 1468-6996, 1878-5514. Dostupné z: doi:10.1088/1468-6996/12/1/013002
- [70] KHIL, Myung-Seob, Shanta Raj BHATTARAI, Hak-Yong KIM, Sung-Zoo KIM a Keun-Hyung LEE. Novel fabricated matrix via electrospinning for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 2005, 72B(1), 117–124. ISSN 0021-9304, 1097-4636. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.b.30122
- [71] WU, Jinglei a Yi HONG. Enhancing cell infiltration of electrospun fibrous scaffolds in tissue regeneration. *Bioactive Materials* [online]. 2016, 1(1), 56–64. ISSN 2452199X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioactmat.2016.07.001
- [72] BROWN, Philip John a Kathryn Ann STEVENS. *Nanofibers and nanotechnology in textiles*. Boca Raton (Fla.): CRC press, 2007. Woodhead publishing in textiles. ISBN 978-1-4200-4449-2.
- [73] SHEPHERD, Larissa M., Margaret W. FREY a Yong Lak JOO. Immersion Electrospinning as a New Method to Direct Fiber Deposition. *Macromolecular Materials and Engineering* [online]. 2017, 302(10), 1700148. ISSN 14387492. Dostupné z: doi:10.1002/mame.201700148

- [74] WANG, Xushan a Koji NAKANE. Preparation of polymeric nanofibers via immersion electrospinning. *European Polymer Journal* [online]. 2020, 134, 109837. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2020.109837
- [75] WANG, Xushan a Koji NAKANE. Formation and morphological variation of electrospun cellulose acetate nanofibers via dual-bath immersion electrospinning. *Materials Letters* [online]. 2021, 284, 128968. ISSN 0167577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2020.128968
- [76] WANG, Ling, Meri J. LUNDAHL, Luiz G. GRECA, Anastassios C. PAPAGEORGIOU, Maryam BORGHEI a Orlando J. ROJAS. Effects of non-solvents and electrolytes on the formation and properties of cellulose I filaments. *Scientific Reports* [online]. 2019, 9(1), 16691. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-019-53215-0
- [77] TASKIN, Mehmet Berat, Ruodan XU, Hans GREGERSEN, Jens Vinge NYGAARD, Flemming BESENBACHER a Menglin CHEN. Three-Dimensional Polydopamine Functionalized Coiled Microfibrillar Scaffolds Enhance Human Mesenchymal Stem Cells Colonization and Mild Myofibroblastic Differentiation. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2016, 8(25), 15864–15873. ISSN 1944-8244, 1944-8252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.6b02994
- [78] BEIGMORADI, Raziieh, Abdolreza SAMIMI a Davod MOHEBBI-KALHORI. Fabrication of polymeric nanofibrous mats with controllable structure and enhanced wetting behavior using one-step electrospinning. *Polymer* [online]. 2018, 143, 271–280. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2018.04.025
- [79] YANG, Wanxun, Fang YANG, Yining WANG, Sanne K. BOTH a John A. JANSEN. In vivo bone generation via the endochondral pathway on three-dimensional electrospun fibers. *Acta Biomaterialia* [online]. 2013, 9(1), 4505–4512. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2012.10.003
- [80] YAN, Lidan, Shaoxiong SI, Yi CHEN, Tun YUAN, Haojun FAN, Yongyi YAO a Qiyi ZHANG. Electrospun in-situ hybrid polyurethane/nano-TiO₂ as wound dressings. *Fibers and Polymers* [online]. 2011, 12(2), 207–213. ISSN 1229-9197, 1875-0052. Dostupné z: doi:10.1007/s12221-011-0207-0
- [81] COBURN, Jeannine M., Matthew GIBSON, Sean MONAGLE, Zachary PATTERSON a Jennifer H. ELISSEEFF. Bioinspired nanofibers support chondrogenesis for articular cartilage repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2012, 109(25), 10012–10017. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1121605109
- [82] MEGELSKI, Silke, Jean S. STEPHENS, D. Bruce CHASE a John F. RABOLT. Micro- and Nanostructured Surface Morphology on Electrospun Polymer Fibers. *Macromolecules* [online]. 2002, 35(22), 8456–8466. ISSN 0024-9297, 1520-5835. Dostupné z: doi:10.1021/ma020444a
- [83] YIP, Y. a A.J. MCHUGH. Modeling and simulation of nonsolvent vapor-induced phase separation. *Journal of Membrane Science* [online]. 2006, 271(1–2), 163–176. ISSN 03767388. Dostupné z: doi:10.1016/j.memsci.2005.06.063
- [84] JUNG, Jun Tae, Jeong F. KIM, Ho Hyun WANG, Emanuele DI NICOLO, Enrico DRIOLI a Young Moo LEE. Understanding the non-solvent induced phase separation (NIPS) effect during the fabrication of microporous PVDF membranes via thermally induced phase separation (TIPS). *Journal of Membrane Science* [online]. 2016, 514, 250–263. ISSN 03767388. Dostupné z: doi:10.1016/j.memsci.2016.04.069
- [85] CASPER, Cheryl L., Jean S. STEPHENS, Nancy G. TASSI, D. Bruce CHASE a John F. RABOLT. Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers: Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process. *Macromolecules* [online]. 2004, 37(2), 573–578. ISSN 0024-9297, 1520-5835. Dostupné z: doi:10.1021/ma0351975

- [86] NAYANI, Karthik, Hari KATEPALLI, Chandra S. SHARMA, Ashutosh SHARMA, Sandip PATIL a R. VENKATARAGHAVAN. Electrospinning Combined with Nonsolvent-Induced Phase Separation To Fabricate Highly Porous and Hollow Submicrometer Polymer Fibers. *Industrial & Engineering Chemistry Research* [online]. 2012, 51(4), 1761–1766. ISSN 0888-5885, 1520-5045. Dostupné z: doi:10.1021/ie2009229
- [87] KOVACICIN, Jan, Sarka HAUZEROVA, Lubos BEHALEK, David LUKAS a Eva KUZELOVA KOSTAKOVA. *Sponge-Like Wet Electrospun Polycaprolactone Fibres* [online]. preprint. B.m.: SSRN. 2023 [vid. 2023-10-07]. Dostupné z: doi:10.2139/ssrn.4518371
- [88] THANGARAJU, Elakkiya, Sheeja RAJIV a T. S. NATARAJAN. Comparison of preparation and characterization of water-bath collected porous poly L –lactide microfibers and cellulose/silk fibroin based poly L-lactide nanofibers for biomedical applications. *Journal of Polymer Research* [online]. 2015, 22(2), 24. ISSN 1022-9760, 1572-8935. Dostupné z: doi:10.1007/s10965-015-0664-z
- [89] POPOV, Valentin L. Capillary Forces. In: Valentin L. POPOV *Contact Mechanics and Friction* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010 [vid. 2020-04-18], s. 41–54. ISBN 978-3-642-10802-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-10803-7_4
- [90] LANDAU, L. D a E. M LIFSHITZ. *Fluid Mechanics: Landau and Lifshitz: Course of Theoretical Physics, Volume 6*. [online]. Cambridge: Elsevier Science, 2014 [vid. 2020-04-21]. ISBN 978-1-4831-6104-4. Dostupné z: <http://qut.ebib.com.au/patron/FullRecord.aspx?p=1675155>
- [91] LANDAU, Lev Davidovič, Evgenij M. LIFŠIC a Lev Davidovich LANDAU. *Fluid mechanics. 2. engl. ed., rev. reprint. with corr.* Amsterdam [u.a]: Elsevier/Butterworth Heinemann, 2011. Course of theoretical physics, by L. D. Landau and E. M. Lifshitz ; Vol. 6. ISBN 978-0-7506-2767-2.
- [92] JAMES, David F. The meniscus on the outside of a small circular cylinder. *Journal of Fluid Mechanics* [online]. 1974, 63(4), 657–664. ISSN 0022-1120, 1469-7645. Dostupné z: doi:10.1017/S0022112074002126
- [93] LO, Lilian L. The meniscus on a needle – a lesson in matching. *Journal of Fluid Mechanics* [online]. 1983, 132, 65–78. ISSN 0022-1120, 1469-7645. Dostupné z: doi:10.1017/S0022112083001470
- [94] XUE, Jiajia, Tong WU, Yunqian DAI a Younan XIA. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *Chemical Reviews* [online]. 2019, 119(8), 5298–5415. ISSN 0009-2665, 1520-6890. Dostupné z: doi:10.1021/acs.chemrev.8b00593
- [95] SALEHHUDIN, Hanna Sofia, Edzrol Niza MOHAMAD, Wan Nor Liza MAHADI a Amalina MUHAMMAD AFIFI. Multiple-jet electrospinning methods for nanofiber processing: A review. *Materials and Manufacturing Processes* [online]. 2018, 33(5), 479–498. ISSN 1042-6914, 1532-2475. Dostupné z: doi:10.1080/10426914.2017.1388523
- [96] ADAMSON, Arthur W. a Alice Petry GAST. *Physical chemistry of surfaces. 6. ed.* New York: Wiley, 1997. A Wiley-Interscience publication. ISBN 978-0-471-14873-9.
- [97] KELLER, Joseph B. Surface tension force on a partly submerged body. *Physics of Fluids* [online]. 1998, 10(11), 3009–3010. ISSN 1070-6631, 1089-7666. Dostupné z: doi:10.1063/1.869820
- [98] D'AMATO, Anthony R., Michael T. K. BRAMSON, David T. CORR, Devan L. PUHL, Ryan J. GILBERT a Jed JOHNSON. Solvent Retention in Electrospun Fibers Affects Scaffold Mechanical Properties. *Electrospinning* [online]. 2018, 2(1), 15–28. ISSN 2391-7407. Dostupné z: doi:10.1515/esp-2018-0002
- [99] DE GENNES, Pierre-Gilles, Françoise BROCHARD-WYART a David QUÉRÉ. *Capillarity and Wetting Phenomena* [online]. New York, NY: Springer New York, 2004 [vid. 2024-03-10]. ISBN 978-1-4419-1833-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-387-21656-0

- [100] NARAYANAN, Ranga a D. SCHWABE. *Interfacial fluid dynamics and transport processes*. Berlin: Springer, 2003. ISBN 978-3-540-45095-5.
- [101] LI, Shichen a Bong-Kee LEE. Electrospinning of circumferentially aligned polymer nanofibers floating on rotating water collector. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2020, 137(22), 48759. ISSN 0021-8995, 1097-4628. Dostupné z: doi:10.1002/app.48759
- [102] FOUNDATION, Blender. blender.org - Home of the Blender project - Free and Open 3D Creation Software. *blender.org* [online]. [vid. 2023-10-12]. Dostupné z: <https://www.blender.org/>
- [103] CAD Sketcher | Blender Parametric Precision Modeling. *CAD Sketcher* [online]. [vid. 2023-10-12]. Dostupné z: <https://www.cadsketcher.com>
- [104] *FreeCAD: Your own 3D parametric modeler* [online]. [vid. 2023-10-12]. Dostupné z: <https://www.freecad.org/>
- [105] *Petriho miska | P-LAB = Potřeby pro laboratoř, Chemikálie, Life Science, Nábytek* [online]. [vid. 2023-10-30]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/petriho-miska>
- [106] *Platform Jack [Fully Assembled, No Supports] by Intentional3D - Thingiverse* [online]. [vid. 2021-09-18]. Dostupné z: <https://www.thingiverse.com/thing:925556>
- [107] KIM, Min Seong a Geun Hyung KIM. Highly porous electrospun 3D polycaprolactone/ β -TCP biocomposites for tissue regeneration. *Materials Letters* [online]. 2014, 120, 246–250. ISSN 0167577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2014.01.083
- [108] WOODRUFF, Maria Ann a Dietmar Werner HUTMACHER. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science* [online]. 2010, 35(10), 1217–1256. ISSN 00796700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002
- [109] HAJIALI, Faezeh, Saeid TAJBAKSHI a Akbar SHOJAEI. Fabrication and Properties of Polycaprolactone Composites Containing Calcium Phosphate-Based Ceramics and Bioactive Glasses in Bone Tissue Engineering: A Review. *Polymer Reviews* [online]. 2018, 58(1), 164–207. ISSN 1558-3724, 1558-3716. Dostupné z: doi:10.1080/15583724.2017.1332640
- [110] FANG, Jian, Hongxia WANG, Haitao NIU, Tong LIN a Xungai WANG. Evolution of Fiber Morphologies during Poly (acrylonitrile) Electrospinning. *Macromolecular Symposia* [online]. 2010, 287(1), 155–161. ISSN 10221360. Dostupné z: doi:10.1002/masy.201050122
- [111] JING, Xin, Hao-Yang MI, Travis M. CORDIE, Max R. SALICK, Xiang-Fang PENG a Lih-Sheng TURNG. Fabrication of shish-kebab structured poly(ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers that mimic collagen fibrils: Effect of solvents and matrigel functionalization. *Polymer* [online]. 2014, 55(21), 5396–5406. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2014.08.061
- [112] JING, Xin, Heng LI, Hao-Yang MI, Yue-Jun LIU a Yi-Min TAN. Fabrication of fluffy shish-kebab structured nanofibers by electrospinning, CO₂ escaping foaming and controlled crystallization for biomimetic tissue engineering scaffolds. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2019, 372, 785–795. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2019.04.194
- [113] DARGAZANY, Roozbeh, Vu Ngoc KHIÊM, Emad A. POSHTAN a Mikhail ITSKOV. Constitutive modeling of strain-induced crystallization in filled rubbers. *Physical Review E* [online]. 2014, 89(2), 022604. ISSN 1539-3755, 1550-2376. Dostupné z: doi:10.1103/PhysRevE.89.022604
- [114] JIANG, Lin, Liwei WANG, Nathan WANG, Shaoqin GONG, Lixia WANG, Qian LI, Changyu SHEN a Lih-Sheng TURNG. Fabrication of polycaprolactone electrospun fibers with different hierarchical structures

mimicking collagen fibrils for tissue engineering scaffolds. *Applied Surface Science* [online]. 2018, 427, 311–325. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2017.08.005

- [115] WANG, Xiaofeng, Max R. SALICK, Xiaodong WANG, Travis CORDIE, Wenjuan HAN, Yiyang PENG, Qian LI a Lih-Sheng TURNG. Poly(ϵ -caprolactone) Nanofibers with a Self-Induced Nanohybrid Shish-Kebab Structure Mimicking Collagen Fibrils. *Biomacromolecules* [online]. 2013, 14(10), 3557–3569. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/bm400928b
- [116] MA, Zuwei, M. KOTAKI a S. RAMAKRISHNA. Surface modified nonwoven polysulphone (PSU) fiber mesh by electrospinning: A novel affinity membrane. *Journal of Membrane Science* [online]. 2006, 272(1–2), 179–187. ISSN 03767388. Dostupné z: doi:10.1016/j.memsci.2005.07.038
- [117] CHEN, Rui, Chen HUANG, Qinfei KE, Chuanglong HE, Hongsheng WANG a Xiumei MO. Preparation and characterization of coaxial electrospun thermoplastic polyurethane/collagen compound nanofibers for tissue engineering applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2010, 79(2), 315–325. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2010.03.043
- [118] CHONG, E, T PHAN, I LIM, Y ZHANG, B BAY, S RAMAKRISHNA a C LIM. Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution☆. *Acta Biomaterialia* [online]. 2007, 3(3), 321–330. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2007.01.002
- [119] LIU, Li, Zhuo XIONG, Yongnian YAN, Yunyu HU, Renji ZHANG a Shenguo WANG. Porous morphology, porosity, mechanical properties of poly(α -hydroxy acid)–tricalcium phosphate composite scaffolds fabricated by low-temperature deposition. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2007, 82A(3), 618–629. ISSN 1549-3296, 1552-4965. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.31177

11 Stručná charakteristika dosavadní odborné, výzkumné a vědecké činnosti autora

Publikace související s tématem disertační práce

1. Jan Kovačičin, Šárka Hauserová, Luboš Běhálek, David Lukáš a Eva Kuželová Košťáková. Sponge-like wet electrospun polycaprolactone fibres. *Materials Letters*.2023, 135460. ISSN 0167577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2023.135460
2. Jan Kovačičin, Šárka Hauzerová, Lubos Běhálek, David Lukáš, Eva Kuželová Košťáková, Biodegradable Fibrous Materials Produced by Wet Electrospinning, *Nanocon 2021*, ISBN 978-80-88365-00-6.

Conference

1. Jan Kovacicin, Eva Kuzelova Kostakova, David Lukas, Partially submerged cylindrical body – theoretical and experimental model for wet electrospinning principle, Workshop DSP 2019 , Liberec.
2. Jan Kovačičin, Jan Sovina, David Lukáš, Eva Košťáková Kuželová, Wet electrospinning of Polycaprolactone; 1st Workshop on Mechanics of Nanomaterials, 978-80-7494-449-9, Česká společnost pro mechaniku, Technická univerzita v Liberci, University of Alabama - USA, 14. - 15. 6. 2018
3. Jan Kovačičin, Šárka Hauzerová, Luboš Běhálek, David Lukáš, Eva Kuželová Košťáková, Biodegradable Fibrous Materials Produced by Wet Electrospinning, *Nanocon 2021*.

Další publikace autora

1. David Lukáš, Petr Mikeš, Eva Košťáková Kuželová, Pavel Pokorný, Ondřej Novák, Filip Saneterník, Jiří Chvojka, Jiří Havlíček, Věra Jenčová, Jana Horáková, Lenka Blažková, Kateřina Pilařová, Jakub Erben, Jan Kovačičin, Užité vzor, Zařízení pro výrobu kompozitního textilního materiálu obsahujícího polymerní nanovlákná.
2. Nikifor Asatiani, Jan Valtera, Maxim Lisnenko, Kristýna Havlíčková, Jan Kovačičin, David Lukáš, Eva Kuželová Košťáková, Evaluation of Fiber Orientation of AC and DC Electrospun PLCL Nanofibrous Layers, *Nanocon 2021* - ISBN 978-80-88365-00-6.
3. Lukáš Stanislav, Jana Bajáková, Jan Kovačičin, David Lukáš, Multicomponent nano - yarns production – development of twisting device. 13th Autex World Textile Conference - May 22nd to 24th 2013, Dresden, Germany.

Projekty, do kterých byl autor zapojen

1. Projekt SGS, řešitel: Jana Bajáková, Výroba ojednocených nanovláken, 2012, Technická univerzita v Liberci, Textilní Fakulta.
2. Projekt SGS. řešitel: Lukáš Stanislav, Vývoj zákrutového zařízení pro výrobu vícekomponentních nanopřízí a jejich následná analýza, Technická univerzita v Liberci, Strojní Fakulta.
3. Projekt PURE-2020-4007- Study of physical networks in polymer materials, 2020-2023, řešitel: Eva Kuželová Košťáková, Technická univerzita v Liberci, Pedagogická Fakulta.

12 Curriculum Vitae

Jméno a příjmení: Ing. Jan KOVAČIČIN

Trvalé bydliště: Bezručova 51, Turnov

tel.: 605 414 149

e-mail: Jan.Kovacicin@gmail.com; jan.kovacicin@tul.cz

Rok narození: 1980

Státní příslušnost: česká

Rodinný stav: svobodný

Vzdělání:

- Středoškolské: Integrovaná střední škola Nová Paka, 1995-1999
 - Obor: Mechanik elektronik pro organizační a výpočetní techniku
 - Maturita
- Vysokoškolské: TUL Liberec
 - 2009–2012: Textilní inženýrství, netkané a nanovláknenné materiály, bakalářský studijní program
 - 2012–2015: Textilní inženýrství, netkané a nanovláknenné materiály, magisterský studijní program
 - 2015–dosud: Textilní inženýrství, Textilní technika a materiálové inženýrství, doktorské studium

Jazykové znalosti :

Anglický jazyk – STANAG 3 (3,3,3,3) – úroveň odpovídající C1

Technické znalosti a schopnosti:

- MS Office – pokročilý
- Pokročilé znalosti HW a SW na úrovni IT specialisty, znalost a pokročilá schopnost správy všech OS MS, včetně instalace a ladění,
- Znalosti grafických editorů (Adobe Photoshop, Corel Photo Paint), znalost vektorové grafiky, Základní znalost 3D prosoru a užití CAD software (Blender, FreeCAD, OenSCAD),
- Znalosti a schopnosti tvorby v oblasti 3D tisku a systému Arduino.

Řidičské oprávnění:

Skupina: A, B, C, E, T

Současné pracovní zařazení:

Ministerstvo obrany, AČR, Náčelník oddělení komunikačních a informačních systémů 31. pluku radiální, chemické a biologické ochrany v Liberci

Průběh zaměstnání /prac. zkušenosti, činnosti/:

- 2000 – 2003 AČR - Laborant skupiny speciální analýzy
- 2003 – 2003 AČR - Pracovník logistiky/správce KIS
- 2003 – 2005 AČR - Pracovník operační skupiny/správce KIS
- 2005 – 2013 AČR - Náčelník pracoviště KIS
- 2013 – 2016 AČR - Náčelník skupiny KIS – spojovací náčelník praporu
- 2016 – 2019 AČR - Starší důstojník oddělení KIS pluku – materialista 2.4, 6.1

- 2019 – 2022 AČR - Zástupce náčelníka štábu praporu chemické ochrany
- 2022 – AČR – Náčelník oddělení komunikačních a informačních systémů

Dovednosti, znalosti:

- Řízení týmu a koordinace činností
- Aktivní komunikace v angličtině
- Technická zdatnost a technické analytické myšlení
- Pokročilé znalosti OPZHN a chemické odbornosti
- Znalost a zájem o elektrotechniku a měřicí techniku
- Orientace v problematice 3D tisku
- Pokročilé znalosti a schopnosti 3D tisku metodou FFF včetně základního 3D modelování
- Spolehlivost, systematickosti a vytrvalost
- Loajalita, silná motivace a vášeň pro svůj obor

Vojenské mise:

- 18. 3. 2002 – 3. 9. 2002 - Mise Enduring freedom – Kuvajt - laborant
- 31. 1. 2003 – 26. 5. 2003 – Mise Enduring freedom – Kuvajt - laborant
- 21. 11. 2006 – 2. 12. 2006 – Zabezpečení summitu NATO – Lotyšsko – Správce KIS/operační skupina
- 6. 8. 2007 – 7. 12. 2007 – Mise ISAF – Afganistan – styčný důstojník/správce CIS na JOC velitelství ISAF
- 17. 2. 2010 – 5. 10. 2010 – Mise KFOR – Kosovo – Watchkeeper - operační skupina D-Coy
- 2024 – Příprava do mise NMI - Irák

Aktivity a zájmy:

Elektrotechnika, technika obecně, popularizace vědy, zahrada, včelaření, „kuřilství“, sport – běhání, power jóga a plavání. Stavba a profesionální využití dronů, problematiky ochrany proti dronům a jejich působení.

Plány osobního rozvoje:

Po dokončení doktorského studia mám v úmyslu začít více zapojovat do společenského života a přemýšlet o možné dovolené.

13 Posudek školitelky doktoranda



Stanovisko školitele k disertační práci / Hodnocení školitele

Jméno a příjmení doktoranda: **Ing. Jan Kovačičin**
Datum narození: 3.8.1980
Forma studia: kombinovaná
Školitel: doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D.

Disertační práce Ing. Jana Kovačičina s názvem Elektrostatické zvlákňování do kapaliny se zabývá velmi zajímavým a aktuálním tématem. Tato pokročilá metoda výroby vláknenných materiálů se specifickými vlastnostmi je jen velmi málo v odborné literatuře popisována, avšak nabízí díky vstupu kapaliny jako kolektoru do procesu elektrického zvlákňování zajímavé možnosti strukturálních změn vláknenných materiálů jako celku či jejich povrchů. Jedná se o velmi komplexní technologii s mnoha proměnnými, což dělá její studium a realizace velmi náročnými.

Ing. Jan Kovačičin zpracovával toto téma z obecného teoretického pohledu a snažil se na základě matematického modelu nastínit vyjimečnosti tohoto technologického postupu výroby zejména polymerních nanovláken. Vedle teoretického matematického modelu se věnoval zejména návrhu a realizaci zařízení pro tento typ elektrického zvlákňování a samozřejmě výrobě speciálních materiálů zaměřených na potenciální aplikaci v medicíně. Součástí teoretického základu byla podrobná literární rešerše popisující využívání technologie wet electrospinningu pro různé aplikace a také z různých technologických pohledů.

V disertační práci doktorand splnil své cíle. Sestavil náročný matematický model a pokusil se o jeho základní ověření. Navrhl, zkonstruoval a optimalizoval zařízení pro wet electrospinning tak, aby splnil požadavky na jeho přenositelnost, práci v digestoři či flowboxu v biologické laboratoři, jeho flexibilitu ve změnách nastavení i výměnách jednotlivých částí, snadné pozorovatelnosti vznikajících vláknenných útvarů i s ohledem na relativně jednoduchou obsluhu pro využití v dalším výzkumu i výuce. Na základě velkého množství experimentů (výroby vláknenných materiálů v různých kombinacích polymerní roztok – kapalinový kolektor) byl v této práci finálně vybrán a představován unikátní vláknenný materiál tvořený pěnovitými vlákny. Právě unikátní tvorba pěnovitých vláken byla pak součástí prvoautorské publikace doktoranda, kterou sestavil a doplnil o analýzy diskutované s kolegy z TUL.

Je třeba přiznat dlouhou dobu doktorského studia Ing. Jana Kovačičina, která však jednoznačně souvisí s jeho základním pracovním nasazením jako vojáka z povolání. Ing. Jan Kovačičin po celou dobu svého doktorského studia studuje v kombinované formě a musel reagovat na požadavky svého zaměstnavatele a to s ohledem na mise a jiné náročné pracovní podmínky. S ohledem na kombinovanou formu studia bylo pro Ing. Jana Kovačičina náročné se zapojit do výzkumných projektů, avšak i přesto se zapojil do řešení projektu PURE (2020-4007) grantového programu TUL a díky tomuto zapojení také mohl finančně zastřešit svou prvoautorskou publikaci.

Ing. Jan Kovačičin se v průběhu svého studia začlenil do týmu Bioinženýrství na Katedře chemie Fakulty přírodovědně-humanitní a pedagogické. Spravoval zejména 3D tisk a zařízení s ním spojená na tomto oddělení, věnoval se instruktáži a konzultacím se studenty v této oblasti, protože klasické výuky se



díky kombinované formě studia nemohl věnovat. Věnoval se také správě microtesimetry a dalších zařízení s náročnými softwarovými požadavky. Je třeba vyzdvihnout velkou pracovitost a smysl pro odpovědnost, díky čemuž byl schopen Ing. Kovačičin dlouho do noci či velmi brzy ráno provádět experimenty či analýzy v laboratořích. Po celou dobu doktorského studia prokazoval vědecký zápal obrovským množstvím vlastních nápadů nesouvisejících vždy jen s tématem jeho disertační práce. Naprostá samostatnost v nastavování a realizaci experimentů i konstrukci a vývoji zařízení pak jen podtrhuje jeho vyjímečné schopnosti a nasazení. Ing. Jan Kovačičin byl velkým přínosem pro oddělení Bioinženýrství na Katedře chemie a to nejen po odborné ale i osobnostní stránce.

Použité literární zdroje jsou správně citovány, a proto považuji práci po formální stránce zcela v pořádku. Kontrola plagiátorství proběhla dne 13.9.2024 a byla zde nalezena nejvyšší míra podobnosti 0 %. Předložená disertační práce splňuje všechny požadavky pro udělení titulu Ph.D.

Na základě výše uvedených skutečností doporučuji předloženou disertační práci k obhajobě.

.....
doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D.

V Liberci dne 13.9.2024

14 Oponentské posudky disertační práce



OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Název práce:	Elektrostatické zvlákňování do kapaliny
Studijní program:	P3106 Textilní inženýrství
Studijní obor:	Textilní technika a materiálové inženýrství
Autor práce:	Ing. Jan Kovačičin
Školitel práce:	doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D.
Oponent:	doc. Ing. Jan Valtera, Ph.D.

1. Stručný přehled práce

Předložená disertační práce se zabývá technologií elektrostatického zvlákňování polymerního roztoku do kapaliny (wet-electrospinning) a přípravě nanovlákněných struktur se specifickými vlastnostmi uplatnitelnými ve tkáňovém inženýrství.

Práce se podrobně zabývá popisem a hodnocením současného stavu techniky včetně dostupných metod přípravy bio-degradabilních materiálů s vysokým specifickým povrchem a vysokou porozitou pro optimální proliferaci buněk. Jako jedna z výhod wet-electrospinningu je podrobně analyzována možnost řídit výsledné vlastnosti vlákněných 3D struktur pomocí vhodně zvoleného roztoku kapalinového kolektoru. V rámci práce byl vytvořen a experimentálně ověřen matematický model popisující fyzikální jevy při noření vláken do kapaliny. Pro realizaci experimentální části bylo navrženo zařízení pro přípravu vzorků objemových vlákněných materiálů, které byly dále podrobeny biologickým testům. Jedná se o aktuální téma, které přispívá k výzkumu a vývoji nových pokročilých materiálů, zejména pro tkáňové inženýrství.

Práce v rozsahu 141 stran je logicky strukturována do 12 kapitol. Autor v této práci cíleně čerpá z celkem 179 bibliografických zdrojů, včetně jedné vlastní publikace.

Grafická stránka práce je na velmi dobré úrovni. Pro snazší orientaci čtenáře v textu by bylo vhodné používat standardní způsob číslování obrázků, tabulek a rovnic, podle kapitol, ve kterých se vyskytují. V práci se vyskytují gramatické chyby a překlepy. V textu chybí odkazy na obrázky 19 a 20.

2. Připomínky a komentáře k disertační práci

Matematický model popisuje fyzikální děje při noření vlákna do kapaliny. Vzhledem ke komplexnosti studovaného jevu, byly správně přijaty některé zjednodušující předpoklady. Ve většině případů je jako kapalina kolektoru zvolena látka obsahující příměsi, které zajistí její dostatečnou elektrickou vodivost v daných podmínkách. V matematickém modelu se tak tato kapalina považuje za dokonale vodivou a s nulovým rozdílem elektrického potenciálu na hladině kolektoru a na přívodu elektrického napájení. Použití kapaliny s dokonalou vodivostí by bylo vhodné uvést a komentovat jako další zjednodušující předpoklad.

Přínos nově navržené konstrukce zvlákňovacího zařízení není jednoznačný. Student se při návrhu nové konstrukce vymezuje vůči laboratorním sestavám (str. 70, Obr. 48). Při návrhu nového zařízení by bylo vhodné stanovit pracovní parametry (např. rozsah vzdálenosti kolektor – elektroda, rozsah pracovního napětí VN zdroje, požadovaná přesnost polohy elektrody, aj.), na základě kterých lze vyhodnotit jeho přínos vůči



předchozímu řešení. Při popisu konceptu zařízení by bylo také vhodné využít standardních postupů, např. schémat celého zařízení a dílčích subsystémů s následným popisem.

Jako jeden důvodů pro nutnost konstrukce nového zvlákňovacího zařízení byla uvedena přesnost, resp. možnost nastavení totožných podmínek při opakovaném sestavení laboratorní soustavy, pro realizaci experimentů. Při návrhu zařízení byly správně použity elektricky nevodivé materiály. Použité řešení pro instalaci jehlové elektrody pomocí článkových trubkovitých ramen pro nízkotlaké dávkování emulzí však není z pohledu přesnosti nastavení polohy optimální. Pro přesné a opakovatelné nastavení polohy by bylo vhodné použít jiné systémy, např. souřadnicové, které umožňují odečít přesné hodnoty polohy, kterou je možné opakovatelně nastavit.

Otázky k obhajobě:

1. V rešeršní části práce se hovoří o možných uspořádáních pro výrobu lineárních, plošných a objemových nanovlákných struktur metodou wet electrospinning. Vysvětlete možný koncept kontinuální výroby plošné struktury metodou zvlákňování do kapaliny.
2. Při řešení matematického modelu byl použit předpoklad, že k narovnáni funkce $z(x)$ od ponořeného vlákna zpět do horizontální polohy dojde v nekonečné vzdálenosti od vlákna. Jak se na základě Vašich experimentálních zkušeností liší schopnost nošení individuálního vlákna a větší skupiny vláken blízko sebe?
3. Jako jeden z důležitých požadavků na nové zařízení byla uvedena možnost přesného nastavení polohy jednotlivých součástí zařízení. Jakým způsobem a s jakou přesností se na nově zkonstruovaném zařízení natavuje vzájemná poloha jehly vůči středu kapalinového kolektoru?
4. Uvedené obrázky výsledného zvlákňovacího zařízení napovídají, že elektroda je při experimentech skloněna vůči rovině kapalinového kolektoru pod určitým úhlem. Jaký má úhel sklonu jehly elektrody vliv na proces zvlákňování a depozice do kapalinového kolektoru? S jakou přesností lze na zařízení tento úhel nastavit?

Závěrečné vyjádření:

Předložená práce je vypracována na dobré úrovni. Student touto prací prokázal přehled v problematice elektrického zvlákňování do kapalin a materiálového hodnocení vlákných struktur pro uplatnění ve tkáňovém inženýrství. Je třeba ocenit studentův tvůrčí přístup ve využívání dostupných konstrukčních prvků včetně 3D tištěných dílců při stavbě nového zvlákňovacího zařízení. Vytčené cíle předložené disertační práce byly splněny. Výsledky své práce publikoval v impaktovaném časopise a na mezinárodních konferencích. Získané poznatky, včetně navrženého experimentálního zařízení mohou pomoci k dalšímu rozvoji tohoto aktuálního tématu a přípravě nových pokročilých vlákných struktur pro lékařské a jiné aplikace.

Na základě výše uvedeného **DOPORUČUJI** disertační práci Ing. Jana Kovačičina k obhajobě.

V Liberci, dne **15. 8. 2024**

doc. Ing. Jan Valtera, Ph.D.
Katedra textilních a jed noučelových strojů
Fakulta strojní
Technická univerzita v Liberci



Technická Univerzita v Liberci

Fakulta textilní, Katedra Chemie

Studijní program: P3106 Textilní inženýrství

Student: Ing. Jan Kovačičin

Školitelka: doc. Ing. Eva Kuželová Košťalová, Ph.D.

Oponent: prof. Ing. Gražyna Simha Martynková, Ph.D.

Opinion on Doctoral Thesis „Elektrostatické zvlákňování do kapaliny“

Disertační práce je zaměřená na studium speciálního typu elektrostatického zvlákňování do kapaliny. Budoucnost elektrostatického zvlákňování je velmi slibná, a to díky možnostem vyrábět nanovlákná s jedinečnými vlastnostmi. V mnoha průmyslových a medicínských oblastech je díky rostoucí poptávce po pokročilých materiálech a zlepšení technologie samotného zvlákňování velký potenciál pro nanovlákná a další výrobky z nich připravených.

Předložená disertační práce si dala za cíl zabývat se a komplexně propojit teoretické poznatky a zdokonalit teorii poznání o nošení vláknenných objektů do kapaliny jako kapalného kolektoru. Na základě připraveného jednoduchého modelu bylo cílem experimentální ověření matematického modelu. Dále student měl v plánu navrhnout a uskutečnit jednoduché laboratorní zařízení pro zvlákňování do kapaliny. Připravené vlákná jsou určena především pro medicínské aplikace.

Elektrostatické zvlákňování bude hrát důležitou roli v medicíně díky možnosti vyrábět biokompatibilní a biodegradabilní nanovlákná. Tyto materiály mohou sloužit pro výrobu obvazových materiálů, kde nanovlákná mohou urychlit hojení ran díky své schopnosti řídit výměnu vlhkosti a propustnosti nebo regenerace tkání, kde elektrostaticky zvlákňované scaffoldy mohou být využity k růstu nových tkání nebo při výrobě umělých orgánů. Nanovlákná mohou být navržena tak, aby postupně uvolňovala léčiva v místě aplikace.

Téma práce bylo zvoleno na velmi aktuální tematiku v nanotechnologiích pro praktické využití v medicíně, ale nejen tam. Skloubení teoretického studia problematiky technologie zvlákňování do kapaliny, řešením materiálových a procesních parametrů, a praktického uskutečnění modelového funkčního zařízení je dosaženo komplexního přístupu k tématu.

Disertační práce je obsáhlá po stránce popisové i předmětné, celkově obsahuje 148 stran. Je složená z 9 kapitol s různým objemem popisu.

Po seznamu zkratk se nachází popis Současného stavu problematiky sepsané na 32 stranách. Tato kapitola popisuje různé metody výroby vláknitých materiálů pro tkáňové inženýrství. Následuje kapitola s vytýčenými cíli. V kapitole Teoretický matematický model je na 23 stranách popsán důsledně krok za krokem odvozování požadovaných parametrů technologie.

V další části se autor zaměřuje na konstrukci originálního laboratorního zařízení pro přípravu nanovláken do kapaliny. Je zde důkladně popsán postup konstrukce jednotlivých částí zařízení, jsou popsány výhody a nevýhody ověřovaných přístupů např. 3D tisku vs tradiční konstrukční přístup.

V závěrečné experimentální části je testováno zvlákňování na 4 druzích polymerů a sadou relevantních rozpouštědel a zvoleném hmotnostním poměru. Řadou pokusů bylo testováno noření vláken do kapaliny, a taky různé morfologické druhy vláken. V poslední části jsou připravené vláknité struktury testovány na buňkách a biologickém materiálu.

Práce obsahuje 179 referencí. Hlavní část práce obsahuje 96 obrázků a 18 tabulek.

Disertační práce je napsána srozumitelně s použitím příslušného odborného jazyka s adekvátními termíny. Práce obsahuje určité množství nejasných termínů a chyb.

Otázky k práci:

1. V práci nejsou použity jiné metody hodnocení materiálů kromě obrazových. Jaké metody hodnocení materiálů by byly vhodné použít pro zjištění kvality – složení vláken?
2. Jak bylo dosaženo finálního odstranění rozpouštědla ve výsledných vláknech, a jak to bylo ověřeno?
3. Jaká je stabilita vláken, jak dlouho je možné vlákna skladovat se zaručeným funkčním stavem?
4. Vplývá na tvorbu vláken nějakým způsobem teplota kapaliny, do které je zvlákňováno?
5. Máte v plánu publikovat výsledky v dalších člancích?

Komentáře k práci:

1. Některé obrázky nejsou přeloženy do češtiny (např. 15, 47,49) v obrázcích 33 a 34 by měly být označeny alespoň základní parametry, které obrázky popisují v rovnicích dále.
2. Některé kapitoly mají příliš stručné názvy např. výroba, podmínky, konstrukce...
3. V práci není celková tabulka vzorků, v tab3 jsou popsány řady A, B, D, E, později je řada C v tab6, pak přímo G a M. Celkové porovnání všech připravovaných vzorků chybí.

Celkové hodnocení práce:

Disertační práce Ing. Kovačičina je komplexní práce, kde praktické sestavení zařízení na základě matematických modelů je doplněno testováním biologické aktivity na připravených zvlákněných materiálech. Předkládaná práce poskytuje cenné výsledky související se základním experimentálním výzkumem s aplikační schopností pro oblast medicíny a biologie. Představenou metodou by bylo možno připravovat variabilní nanovlákná s řadou využití.

Výsledky předložené disertační práce jsou částečně publikovány nebo přijímány k publikaci. Kvalita práce byla kladně hodnocena odborníky v oboru. Autor disertační práce je spoluvůrcem užitého vzoru Zařízení pro výrobu kompozitního textilního materiálu. Až na několik připomínek k práci konstatuji, že experimentální práce disertační práce je kvalitní.

V práci doporučuji se zaměřit na intenzivnější hodnocení výsledného produktu.

Závěrečné hodnocení:

Předložená disertační práce Ing. Jana Kovačičina. splnila plánované cíle, po obsahové stránce splňuje požadavky doporučené pro disertační práci. Disertační práci doporučuji k závěrečné obhajobě a po úspěšné obhajobě oceněním adepta titulem "philosophiae doctor" (Ph.D.).

V Ostravě 20.09.2024

prof. Ing. Gražyna
Simha
Martynková, Ph.D.

Digitálně podepsal prof.
Ing. Gražyna Simha
Martynková, Ph.D.
Datum: 2024.10.01
11:41:44 +02'00'

prof. Ing . Gražyna Simha Martynková, Ph.D.

Centrum nanotechnologií, CEET ,

VŠB-Technická univerzita Ostrava,