

**TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
FAKULTA TEXTILNÁ**

BAKALÁRSKA PRÁCA



LIBEREC 2009

ADRIÁNA MICHALOVÁ

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
FAKULTA TEXTILNÁ

KATEDRA NETKANÝCH TEXTÍLIÍ
Obor: B 3107 Mechanická textilná technológia
Zameranie: Netkané textílie

**KOAXIÁLNE ZARIADENIE PRE ELEKTROSTATICKÉ
ZVLÁKŇOVANIE A JEHO UPLATNENIE PRE VÝVOJ
TKANIVOVÝCH NOSIČOV**

**COAXIAL DEVICE FOR ELECTROSPINNING AND HIS USE
FOR DEVELOPMENT TISSUE PORTERS**

Autor:	Adriána Michalová
Vedúci bakalárskej práce:	Prof. RNDr. David Lukáš, CSc.
Konzultant bakalárskej práce:	Ing. Kateřina Vodsed'álková

Počet strán textu:	51
Počet obrázkov:	24

P r e h l á s e n i e

Prehlasujem, že predložená bakalárska práca je pôvodná a spracovala som ju samostatne. Prehlasujem, že citácia použitých prameňov je úplná, že som v práci neporušila autorské práva (v zmysle zákona č. 121/2000 Zb. O práve autorskom a o právach súvisiacich s právom autorským).

Súhlasím s umiestnením bakalárskej práce v Univerzitnej knižnici TUL.

Bola som zoznámená s tým, že na moju bakalársku prácu sa plne vzťahuje zákon č.121/2000 Zb. o práve autorskom, najmä § 60 (školské dielo).

Beriem na vedomie, že TUL má právo na uzavretie licenčnej zmluvy o použití mojej bakalárskej práce a prehlasujem, že **s ú h l a s í m** s prípadným použitím mojej bakalárskej práce (predaj, zapožičanie apod.).

Som si vedomá toho, že použiť svoju bakalársku prácu či poskytnúť licenciu k jej využitiu môžem len so súhlasom TUL, ktorá má právo odo mňa požadovať primeraný príspevok na úhradu nákladov, vynaložených univerzitou na vytvorenie diela (až do ich skutočnej výšky).

V Liberci, dňa 30.12.2009

.....

Podpis

Pod'akovanie

Rada by som poďakovala vedúcemu bakalárskej práce prof. RNDr. Dávidovi Lukášovi, CSc., za jeho ochotu, trpezlivosť, potrebné rady a pripomienky pri vzniku tejto práce.

Ďalej by som chcela poďakovať svojmu konzultantovi Ing. Kateřine Vodsed'áľkovej za pomoc a čas, ktorý mi venovala. Ďakujem taktiež svojej rodine za všetku podporu behom celého štúdia.

Anotace

Táto práca sa zaoberá štúdiom koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania a jeho súvislosťou s využitím nanovláken v tkaninovom inžinierstve. V prvej časti práce sú popísané základné teoretické poznatky súvisiace s danou problematikou. Cieľom experimentálnej časti je navrhnutie konštrukcie koaxiálneho elektrospinera a taktiež samotný proces výroby bikomponentých nanovláken pomocou koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania.

Kľúčové slová: elektrostatické zvlákňovanie, koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie, nanovláčna, tkanivové inžinierstvo

Annotation

This final work deals with a research of coaxial electrostatic spinning and his connection with use nanofibers in tissue engineering. The first part of the final work describes basic theoretical findings associated with the existing subject. The experimental part of this thesis is focused with the construction of coaxial electrospinning and further on, it is oriented on the production of bi-component nanofibers by using electrostatic coaxial electrospinning.

Key words: electrospinning, coaxial electrospinning, nanofibers, tissue engineering

Zoznam symbolov a skratiek

AgNO ₃	dusičnan strieborný
apod.	a podobne
atď.	a tak ďalej
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FePt	zliatina železa a platiny
g.m ⁻²	gram na meter štvorcový
g/mol	gram na mol
kV	kilovolt
ml	mililiter
ml/h	mililiter za hodinu
napr.	napríklad
nm	nanometer
obr.	obrázok
PA	polyamid
PAA	polyakrylová kyselina
PAN	polyakrylonitril
PANi	polyaniline
PCL	polykaprolaktan
PEO	polyethylenoxid
PLA	poly(D,L-lactide)
PMMA	polymethakrylát
PS	polystyrén
PU	polyuretán
PVA	polyvinylalkohol
PVC	polyvinylchlorid
PVP	polyvinylpyrrolide
resp.	respektíve
SEM	rastrovací elektrónový mikroskop
TEM	transmisný elektrónový mikroskop
tzv.	takzvaný
%	percento hmotnostné

OBSAH

1. ÚVOD	10
2. TEORETICKÁ ČASŤ	11
2.1. Elektrostatické zvlákňovanie	11
2.1.1. História elektrostatického zvlákňovania	11
2.1.2. Princíp elektrostatického zvlákňovania	12
2.1.3. Parametre ovplyvňujúce elektrostatické zvlákňovanie	14
2.1.4. Spôsoby elektrostatického zvlákňovania	15
2.1.5. Moderné výskumy elektrostatického zvlákňovania	16
2.2. Nanovlákná	16
2.3. Koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie	18
2.3.1. História koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania	19
2.3.2. Princíp koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania	20
2.3.3. Zariadenia pre koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie	21
2.4. Tkanivové inžinierstvo	25
2.4.1. Základné pojmy	26
2.4.2. Bunková terapia a regeneratívna medicína	27
2.4.3. Kmeňové bunky	28
2.4.4. Potenciál využitia tkanivového inžinierstva	29
3. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	31
3.1. Cieľ experimentu	31
3.2. Výber zvlákňovacích roztokov pre experiment	31
3.2.1. Polyvinylalkohol	31
3.2.2. Polyetylenoxid	31
3.2.3. Dusičnan Strieborný	32
3.2.4. Uhlíkový nanoprášok	32
3.3. Použité experimentálne zariadenia	32
3.3.1. Injekčná pumpa IPC 2050	33
3.3.2. Infúzna pumpa KDS 100	34
3.3.3. Rastrovací elektrónový mikroskop VEGA	35
3.3.4. Transmisný elektrónový mikroskop	36
3.3.5. SEM Priechy rez	37
3.4. Konštrukcia laboratórnych elektrospinerov	38
3.4.1. Laboratórny elektrospiner č. 1	38
3.4.2. Laboratórny elektrospiner č. 2	39
3.5. Postup pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní	40
3.5.1. Experiment 1	40
3.5.2. Vyrobená nanovláknenná vrstva	41
3.5.3. Experiment 2	41

3.5.4. Vyrobená nanovláknenná vrstva	42
3.5.5. Experiment 3	42
3.5.6. Pričný rez	43
3.5.7. Experiment 4	44
3.5.8. Vyrobená nanovláknenná vrstva	44
4. DISKUSIA VÝSLEDKOV	45
5. ZÁVER	47
POUŽITÁ LITERATÚRA	48

1. ÚVOD

Výskum nanotechnológií sa naplno rozvinul až v posledných 10-tých rokoch. V súčasnej dobe stojí nanotechnológia v popredí záujmu vedeckého bádania. Odborníci z celého sveta vytvárajú programy, ktorých súčasťou sú plány pre ďalší rozvoj v jednotlivých oboroch nanotechnologického výskumu.

Nanotechnológia zahrňuje celé spektrum vedných disciplín, preto by sa o nich dalo hovoriť v podstate v každom z týchto oborov. Patrí do oblasti nanosveta, do oblasti atómov a štruktúr o rozmeroch 1 - 100 nanometrov (nm). Sústreďuje poznatky klasických vedných oborov (fyzika, chémia, biológia) a využíva ich pre tvorbu užitočných materiálov, štruktúr a zariadení, ktoré majú v dôsledku svojich veľmi malých rozmerov celkom nové a niekedy nečakané vlastnosti [1]. Ako jeden zo zakladateľov nanotechnológie je označovaný americký vedec a nositeľ Nobelovej ceny za fyziku Richard Feynman, ktorý základné myšlienky predstavil vo svojej slávnej prednáške nazvanej „*There's Plenty of Room at the Bottom*“, ktorú v roku 1959 predniesol na výročnej schôdzi Americkej spoločnosti fyzikov usporiadanej na Caltechu.

Ďalším možným uplatnením nanotechnológií, keďže nanovlákná patria medzi materiály budúcnosti, je použitie týchto nanovláken v tkanivovom inžinierstve. To sa v súčasnej dobe stáva veľmi populárnou oblasťou výskumu a vývoja. Spleť nanovláken má pri malom objeme veľký povrch a tak môže predstavovať vhodné lešenie (matrix, angl. *scaffold*), na ktorom sa uchyťí *ex vivo* kultivované bunky náhradného tkaniva. Pokiaľ je aj materiál nanovláken odbúrateľným organizmom, môžeme očakávať, že bude postupne nahradený vlastným extracelulárnym matrix. Skúšajú sa náhrady kostného tkaniva, kĺbových chrupaviek, šliach, svalov, kože a dokonca i nervového tkaniva. Medzi nanotechnologie využité v medicíne bude ale možné zaradiť i nanotechnologické stroje (či nanorobotov) využívajúci i iné než biochemické princípy, pokiaľ budú použité napríklad v rámci diagnostiky alebo chirurgického zásahu.

Vedecké práce ukazujú i na vážne zdravotné a ekologické riziká nanotechnológií. Skupina švajčiarskych vedcov uviedla, že nanočastice ľahko prenikajú do ľudského tela, sú biologicky aktívnejšie než väčšie častice, majú väčší merný povrch a schopnosť dlhodobo pretrvávajú v životnom prostredí a hromadiť sa tam [2].

2. TEORETICKÁ ČASŤ

2.1. Elektrostatické zvlákňovanie

Elektrostatické zvlákňovanie je považované za novú metódu ako zvlákniť veľmi jemné vlákna a jeho teória zahrňuje také vedecké oblasti ako sú elektrostatika, hydrodynamika, chémia polymérov, fyzika, termodynamika či materiálové inžinierstvo a iné. V procese sú využívané elektrostatické sily k vytvoreniu jemných vláken z polymérneho roztoku alebo polymérnej taveniny. Táto technológia umožňuje výrobu polymérnych vláken s priemerom od niekoľko nanometrov do 1 mikrónu [3]. Vďaka ich jedinečným vlastnostiam a aplikáciám boli predmetom mnohých intenzívnych výskumov v rôznych oblastiach.

2.1.1. História elektrostatického zvlákňovania

V roku 1934, bol patentovaný proces elektrostatického zvlákňovania teda electrospinning. Formhals použil polymérny roztok, konkrétne acetát celulózy a ten zaviedol do elektrického poľa. Medzi dvoma elektródami opačnej polaroty pomocou zvlákňovacích trysiek tak po prvýkrát zvláknil polymérny roztok v jemné filamenty, ktoré zachytil na uzemnenom kolektore [4]. Tento komplikovaný proces skúmal len v laboratórnom prostredí.

V 50-tych rokoch Vonnegut a Neubauer vynašli prístroj, ktorý fungoval na princípe elektrostatického rozprašovania (electrospraying). Týmto spôsobom boli schopní vyrábať prúd vysoko elektrizovaných kvapiek o priemere asi 0,1 milimetra (mm) [5].

V roku 1955 Drozin skúmal rozptyl mnohých kvapalín do aerosólov pod vysokými elektrickými potenciálmi [6]. V týchto začiatkoch elektrostatického zvlákňovania boli používané sklenené trubičky ukončené jemnou kapilárou, z ktorej vychádzala kvapalina ako vysoko rozptýlený aerosól skladajúci sa z kvapiek s úzkym rozptylom šírených častíc.

V roku 1966 Simons patentoval zariadenie elektrostatického zvlákňovania, ktoré slúžilo pre výrobu netkaných textílií. Tieto vyrobené textílie boli tenké, až ultra jemné. Kladná elektróda bola ponorená priamo do polymérneho roztoku a záporná bola pripojená ku kolektoru. Podľa Simonsa boli vlákna z nízko viskózných roztokov skôr kratšie a jemnejšie, zatiaľ čo vlákna z viskóznějších roztokov boli relatívne kontinuálne [7].

V 70-tych rokoch bolo skonštruované zariadenie na výrobu akrylových vláken s priemerom 0,05 – 1,1 mikrónov. Takto vyrobené vlákna dosahovali asi 100 krát menší priemer než bežné textilné vlákna, ich priemer sa pohybuje od niekoľkých nanometrov do 1 mikrometru [8]. Toto zariadenie pracovalo na princípe elektrostatického zvlákňovania. Zvlákňovaná kvapka konštantnej veľkosti, ktorá bola regulovaná rýchlosťou podávania

infúznym čerpadlom, visela z nerezovej oceľovej kapiláry. Ku kapilárnej trubičke bol pripojený vysoko pamäťový jednosmerný prúd a na uzemnenej kovovej stene boli snímané vlákna.

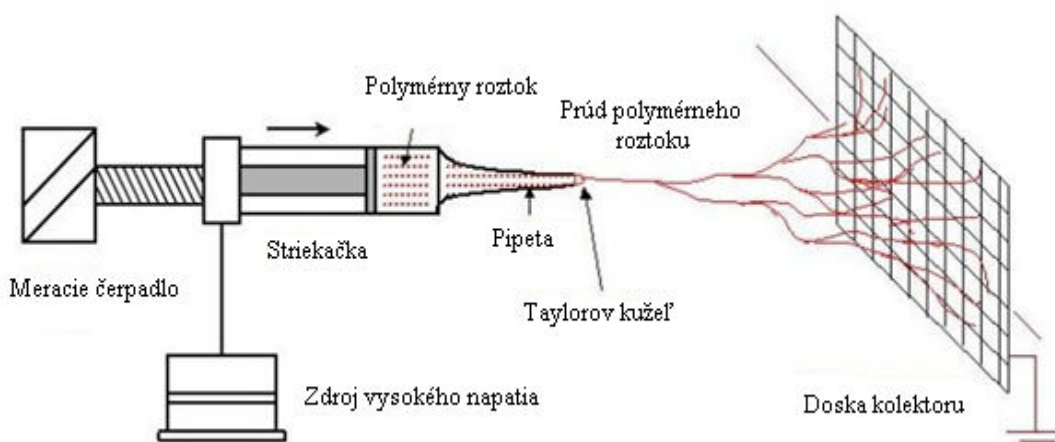
Začiatkom 90-tych rokov 20.storočia dokázali Reneker a Chun rozšíriť túto oblasť nového spôsobu výroby vlákien, o novú technológiu elektrostatického zvlákňovania, ktorú zároveň obohatili o široké spektrum rozsahu polymérnych roztokov, ktoré sa v tejto oblasti začali používať [9].

Elektrostatické zvlákňovanie teda elektrospinning sa teraz v niekoľkých posledných rokoch ďalej intenzívne rozvíja, vďaka novým výskumom v oblastiach nanotechnológií a nanomateriálov.

2.1.2. Princíp elektrostatického zvlákňovania

O elektrostatické zvlákňovanie sa pokúšali vedci už viac než pred 100 rokmi [10]. Je to priama a efektívna metóda výroby novej generácie vlákien, tzv. nanovláken.

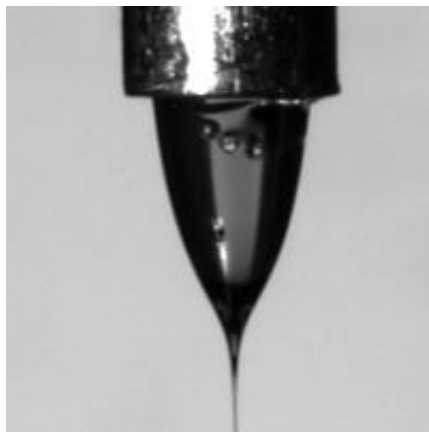
Zmienky o spôsobe elektrostatického zvlákňovania, ktorý je zobrazený na (Obr.1) boli objavené už v 19.storočí.



Obr.1: Schéma elektrostatického zvlákňovania. Prevzaté z [3].

Zariadenie (Obr.1), pracuje pomocou dávkovacieho čerpadla pripojeného k piestu striekačky a generuje konštantný tlak a tok taveniny cez pipetu. Hnacia sila je vytvorená zdrojom vysokého napätia. Je tu využité vysoké napätie k vytvoreniu elektricky nabitého prúdu polymérneho roztoku alebo taveniny.

Tento zdroj môže generovať napätie o výške 30kV, a nastaviť sa dá tak, aby bežal buď so zápornou, alebo kladnou polaritou. Elektrospriadanie polymérnej trysky sa takmer podobá stromu (*Obr.1*). Vďaka vysokému elektrickému napätiu medzi špičkou trysky a uzemneným kolektorom vzniká tzv. Taylorov kužeľ (*Obr.2*), z ktorého sú produkované submikrónové vlákna. Taylorov kužeľ sa tvorí na výstupe zo zvlákňovanej trysky a je následkom uvoľnenia indukovaného náboja na voľnom povrchu kvapaliny. Nasleduje vytlačovanie nadbytku kvapaliny.



Obr.2: Taylorov kužeľ. Prevzaté z [11].

Po odparení rozpúšťadla dochádza k tuhnutiu vlákien a vytvoreniu vláknennej vrstvy na povrchu kolektora. U kvapalín s nízkou molekulárnou hmotnosťou má počiatok nestability za následok spŕšku malých, nabitých kvapiek, ktoré sa vyskytujú v procese nazvanom elektrostatické rozprašovanie (electrospraying).

Polymérne kvapaliny obsahujú viskózne a viskoelastické sily, ktoré stabilizujú prúd, čo dovoľuje formovanie nabitých vlákien malého priemeru a ich následné stuhnutie na kolektore vo forme netkanej textílie [3].

Medzi elektródou a kolektorom je elektrické pole, dôsledkom ktorého je na povrchu kvapaliny indukovaný elektrický náboj. Náboje sú navzájom odpudivé a stiahnutie povrchových nábojov k opačnej elektróde spôsobí silu opačnú k povrchovému napätiu [4]. K predlžovaniu kvapaliny na špičke trysky dochádza so vzrastaním intenzity elektrického poľa.

Na špičke trysky sa vytvorí kužeľovitý tvar – Taylorov kužeľ, a ďalším zvýšením elektrostatického poľa sa dosiahne kritickej hodnoty – kritickej napätie V_k , pri ktorom odpudivá elektrostatická sila prekoná povrchové napätie a zo špičky Taylorovho kužeľa je

vypudený nabitý prúd kvapaliny. Vytiekajúci prúd polymérneho roztoku sa stane veľmi dlhým a tenkým. Medzitým sa odparí rozpúšťadlo a zostane po ňom nabité polymérne vlákno, ktoré sa nahromadí na kolektore.

V procese vznikajú veľmi jemné vlákna, ich priemer závisí na rozdieloch potenciálov medzi elektródami, na povrchovom napätí kvapaliny, viskozite a mnohých ďalších parametroch.

Základné zariadenie pre elektrostatické zvlákňovanie je síce jednoduché, zato má však veľmi malú produkciu a nie je možné toto zariadenie používať pre priemyslové aplikácie. Nízka produktivita je spôsobená relatívne pomalým dávkovaním polymérneho roztoku. Jednotlivé vedecké tímy začali pracovať na modifikácii tohto zariadenia, ktoré sa od základného zariadenia líšia predovšetkým typom a vlastnosťami elektród a kolektoru.

2.1.3. Parametre ovplyvňujúce elektrostatické zvlákňovanie

Zvlákňovateľnosť je schopnosť polyméru tvoriť vlákna. Proces elektrostatického zvlákňovania je ovplyvnený mnohými parametrami, ktoré sú najčastejšie rozdelené na procesné a systémové.

Medzi procesné charakteristiky majúce vplyv na tvorbu vlákien metódou elektrostatického zvlákňovania patrí:

- elektrická vodivosť a dielektrické vlastnosti polymérneho roztoku alebo taveniny,
- intenzita elektrického poľa a elektrický prúd procesu,
- vzdialenosť kolektora od zvlákňovanej trysky alebo kapiláry,
- okolité parametre (teplota, vlhkosť a rýchlosť vzduchu v komore),
- pohyb cieľovej plochy (ak je v pohybe).

Systémové parametre sú predovšetkým vlastnosti zvlákňovaného materiálu, medzi ktorými je zahrnuté:

- molekulová hmotnosť polyméru,
- distribúcia molekulovej hmotnosti polyméru a jeho architektúra (rozvetvený, lineárny apod.),
- koncentrácia polymérneho roztoku (zvlákňovanie polymérnych roztokov),
- viskozita a hustota,
- povrchové napätie a viskoelasticita roztoku,
- teplota zvlákňovania (dôležitá najmä pri zvlákňovaní polymérnych tavenín),
- rýchlosť odparovania rozpúšťadla u roztokov a rýchlosť tuhnutia polymérnej taveniny,

- prídavok aditív.

Hodnoty uvedených parametrov nie sú rovnaké pre rôzne druhy polymérov a pre každý nový materiál je nutné hľadať ideálne podmienky procesu.

Hodnotenými vlastnosťami získaného materiálu sú najmä priemer vlákien a ich distribúcia, hustota koráľkových defektov vlákien, morfológia vlákenej vrstvy vzniknutej z týchto vlákien, počet a veľkosť štruktúrnych defektov vrstvy, veľkosť a distribúcia medzi vlákenných pórov, s nimi sú spojené predovšetkým filtračné a separačné vlastnosti [3].

Pri procese zvlákňovania cez kapiláru sú priemery vlákien závislé na veľkosti trysky a množstva polyméru, z ktorých vlákna vznikajú. Bolo zistené, že v priebehu pohybu vlákien od kapiláry ku kovovému kolektoru, sa primárne vlákno môže [12] alebo nemusí [13] rozštiepiť na mnohonásobné sekundárne vlákna, majúce za následok rôzne priemery vlákien. Pokiaľ nedôjde k žiadnemu štiepeniu, je jedným z najvýznamnejších parametrov ovplyvňujúci priemer vlákien viskozita roztoku. Vyššia viskozita má za následok väčší priemer vlákien [8]. Ak je pevný polymér rozpustený v rozpúšťadle, viskozita roztoku je úmerná polymérnej koncentrácii. Vyššia polymérna koncentrácia je príčinou väčších výsledných priemerov nanovláken.

2.1.4. Spôsob elektrostatického zvlákňovania

Mechanizmus na (*Obr.1*) je len jednou z mnohých variantov rôznych typov zariadení pre elektrostatické zvlákňovanie. V niektorých prípadoch môže byť tryska umiestnená vertikálne a namiesto vstrekovania je potom k vytlačeniu roztoku použitá gravitačná sila. Tryska môže byť tiež naklonená pod definovaným uhlom, čo umožňuje kontrolovať prietok roztoku tryskou. Zariadenie sa často líši rôznymi variantmi uzemneného kolektoru, na ktorom sú vlákna ukladané. V bežných nastaveniach pre elektrostatické zvlákňovanie sú kolektory zhotovené z vodivých materiálov, väčšinou kovov ako hliník lebo meď. Štandardné kolektory sú homogénne, rovnako ako i elektrické pole v ich najbližšom okolí [14]. Nanovlákná takto vyrobené sú vo forme nanovlákennej vrstvy, v ktorej sú vlákna náhodne usporiadané. Existuje však niekoľko variant zariadení, ktoré produkujú jednotlivé nanovlákná, alebo nanovlákné jednoosé zväzky.

Zariadenie pre výrobu plošných útvarov metódou Nanospider je spôsob prípravy nanovláken elektrostatickým zvlákňovaním a bol vyvinutý na Katedre netkaných textílií Technickej univerzity v Liberci. Hlavným poznatkom tejto metódy je vytvorenie Taylorových kužeľov i na tenkej vrstve polymérneho roztoku. Metóda teda nevyužíva k formovaniu vlákien žiadnu zvlákňovaciu trysku ani kapiláru a jej produktivita je podstatne vyššia než produktivita

ostatných konvenčných spôsobov [15]. Vzhľadom k častej toxicite rozpúšťadiel je táto metóda určená pre spracovanie vodorozpustných systémov, čo ale nevylučuje možnosť vytvoriť nanovlákná i z iných polymérov ako len rozpustných vo vode. Vlákna vznikajúce vplyvom elektrostatického poľa z tenkej vrstvy polymérneho roztoku sú ukladané na kolektor vo forme netkanej textílie. Priemer vlákien sa pohybuje od 100 do 300 nm a plošná hmotnosť nanovláknenných vrstiev pripravených touto cestou je od 0,1 do 5g.m⁻² [3].

2.1.5. Moderné výskumy elektrostatického zvlákňovania

Moderné výskumy sa zaoberajú procesom elektrostatického zvlákňovania pomocou polymérneho roztoku. Hlavné ciele:

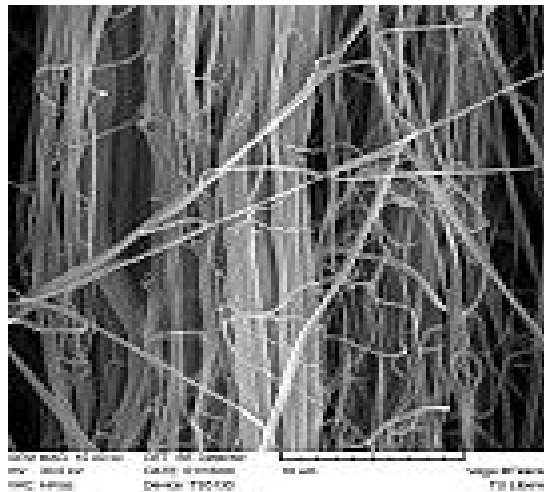
- ✓ Štúdium designu a konštrukcie komplexného elektrostatického zvlákňovania pre schopnú a kontrolovanú reprodukciu elektrostatického zvlákňovania.
- ✓ Sústavné skúmanie procesu elektrostatického zvlákňovania. Študovaný proces je založený na troch stupňoch: zahájenie elektrostatického zvlákňovania, preťahovanie vlákien vyletujúcich z Taylorovho kužeľa a formovanie.
- ✓ Objasnenie chovania polymérneho roztoku (viskozita, vodivosť, povrchové napätie, atď.) a procesných premenných parametrov (elektrostatické pole, prietoková rýchlosť, polarita, dodávky energie, atď.) práve tak ako podmienky prostredia (teplota, tlak, rozpúšťadlo, atď.) na elektrostaticky zvlákňujúce procesy a ich účinky na morfológiu a vlastnosti polymérnych nanovláken.
- ✓ Preskúmanie účinkov vonkajšieho elektromagnetického poľa na morfológiu a vlastnosti elektrostaticky zvlákňovaných polymérnych nanovláken.
- ✓ Výskum podporuje expandovanie, zhodnotenie a pripravenosť nových polymérnych materiálov na trhu, zapojenie polymérnych nanovláken do kompozitných materiálov a vysokú účinnosť polymérnych zariadení [16].

2.2. Nanovlákná

Nanovlákná (obecne nanomateriály) sú vlastne novým typom hmoty, ktoré sú až tisíckrát tenšie ako ľudský vlas. Sú to vlákna submikrónových priemerov, materiály s veľkou variabilitou vlastností určených štruktúrou a použitým polymérom.

Nanovlákná, vyrobené elektrostatickým zvlákňovaním (*Obr.3*), môžu poskytovať rozličné praktické vlastnosti. Tieto funkcie sú určené ich celkovým chemickým zložením alebo náročnou vnútornou morfológiou. Mnoho funkčne zložených nanovláken bolo priamo

vyrobených elektrostatickým zvlákňovaním miešaním polyméru/zmesi alebo roztokom polyméru s rôznymi ďalšími chemickými látkami [14].



Obr.3: Orientované elektrostaticky zvláknené nanovlákná. Prevzaté z [17].

Elektrostatickým zvlákňovaním bolo zvláknených už mnoho materiálov, ako sú prírodné a syntetické polyméry či anorganické látky. Bežné druhy polymérov, ktoré môžeme zvlákniť sú napríklad polyamid (PA 6, PA 6.6), polyakrylonitril (PAN), polyuretán (PU), polyvinylchlorid (PVC), polyvinylalkohol (PVA), polystyrén (PS), polyakrylová kyselina (PAA), polymethakrylát (PMMA). Koncentrácie polymérnych roztokov sa bežne pohybujú od 1 do 16 % hmotnostných, ale je odskúšané i zvlákňovanie roztoku o koncentrácii 30 % hmotnostných (zvlákňovanie polystyrénu, polyethylenoxidu) [18].

Špecifickou vlastnosťou nanovláken je to, že majú veľký merný povrch. Medzi ďalšie základné vlastnosti okrem merného povrchu patrí vysoká pórovitosť, tzv. že nanovlákná majú na svojom povrchu mnoho malých pórov. K ďalším vlastnostiam patria submikrónové priemery vláken, transparentnosť – priemery nanovláken sú výrazne menšie než vlnová dĺžka svetla, čo činí nanovlákná neviditeľné pod optickým mikroskopom, vynikajúce mechanické vlastnosti v pomere k ich váhe, vlákna môžu rozptýliť alebo udržať elektrostatický náboj v závislosti na elektrických vlastnostiach materiálu. Medzi geometrické vlastnosti nanovláken patrí priemer, štruktúra a orientácia nanovláken. Skúmanie týchto podmienok sa prevádza napríklad pomocou elektrónových mikroskopov SEM (scanning electron microscopy) či TEM (transmission electron microscopy) [19], ktoré sú vysvetlené v kapitolách 3.3.3. a 3.3.4.

Môžeme vyrobiť nanovlákná s rôznymi typmi štruktúr ako duté, pórovité či nanovlákná so štruktúrou jadro – plášť. Jednou z najvýznamnejších sú práve bikomponentné nanovlákná

(teda štruktúra jadro – plášť) vyrobené pomocou tzv. koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania, ktoré využíva špeciálne upravený elektrospiner. Štruktúra jadro – plášť je tvorená dvoma rôznymi druhmi nemiesiteľných polymérov. Materiál použitý na jadro poskytuje požadované vlastnosti očakávané od nanovláken, pričom plášť dodáva súdržnosť alebo požadované mechanické vlastnosti. Tam, kde materiál v jadre je vodivý polymér ako napríklad polyaniline (PANi) a plášť je izolovaný polymér, nanovlákná môžu vykonávať funkciu ako nejaké izolované nanovodiče pre nanoelektronické a senzorové aplikácie [20]. Takto vyrobené nanovlákná sa podobajú pavúčiemu hodvábu, ktorý predstavuje známy príklad zložených funkčných nanovláken, ktoré majú zvláštne kombinácie mechanických vlastností, ktoré nie sú videné v iných vláknach.

Nanovlákná, nanovlákná so štruktúrou jadro – plášť (*Obr.5,7*) ako aj duté nanovlákná (*Obr.9*) a nanotrúbice založené na polyméroch, sú základom pre veľké použitie v oblasti filtrov, textilného materiálu, vo fotónoch, senzoroch, katalýze, v medicíne či farmácii. Z technologického hľadiska plášť dutého nanovlákná musí vzniknúť z elektrostaticky zvlákniteľnej kvapaliny, zatiaľ čo kvapalina tvoriaca jadro môže a nemusí byť elektrostaticky zvlákniteľná [14].

Nanovláknenné vrstvy majú širokú škálu uplatnenia v mnohých odvetviach. Najčastejšie sú využívané ako súčasť najrôznejších kompozitných materiálov. K potenciálnym aplikáciám sa radí použitie v najrôznejších oblastiach, ako automobilový či letecký priemysel, ďalej sú to filtrácie, ochranné odevy pre armádu – chemická a mikrobiálna ochrana, bio-medicínske aplikácie ako sú obväzové materiály umožňujúci transport liečiv, solárne panely, svetelné panely, zrkadlá pre vesmírny výskum, aplikácie pesticídov, substráty pre imobilizáciu enzýmov, štruktúrne elementy pre umelé orgány a kompozity. Kompozity z karbonových nanovláken môžu v budúcnosti predstavovať supermateriály s doteraz neprekonateľnými pevnostnými charakteristikami. Pozitívne výsledky počiatkových testov karbonizácie nanovláken tak otvárajú ďalšie možnosti ich využitia ako katalyzátorov. Mnoho možností využitia nanovláken v bežnej praxi ale na svoje objavenie ešte stále čaká. Priemysel s nanovláknami je teda jedno z kľúčových odvetví budúcnosti [21].

2.3. Koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie

Koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie, ako jeden z variantov elektrostatického zvlákňovania, môžeme nazvať aj ako súosé elektrostatické zvlákňovanie. Ide o jedinečnú náročnú technológiu a alternatívnu metódu k tomu, aby vytvorila zložené funkčné nanovlákná s takmer naproste jasnou usporiadanou štruktúrou typu jadro – plášť. Plášť pozostáva zo

zvláknelného polymérneho materiálu, zatiaľ čo jadro sa môže skladať z iného polyméru alebo ďalšej uzavretej zmesi, vrátane kvapaliny.

Koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie môže byť taktiež prispôbené k príprave dutých nanovláken. Pre získanie dutých vláken z vlákna so štruktúrou jadro – plášť, jadrová časť použitá ako vzor musí byť následne selektívne odstránená buď tepelným rozkladom alebo voľbou vhodného rozpúšťadla, pričom materiál tvoriaci plášť musí byť stabilný napríklad proti použitému vybranému rozpúšťadlu [14]. V istom výskume sa veľmi efektívne využívala technika dekorovania interiéru práve dutými nanovláknami s nanočasticami.

2.3.1. História koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania

História koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania je mladšia ako štyri až päť rokov, no na druhej strane, proces ma prekvapivo hlboké historické korene.

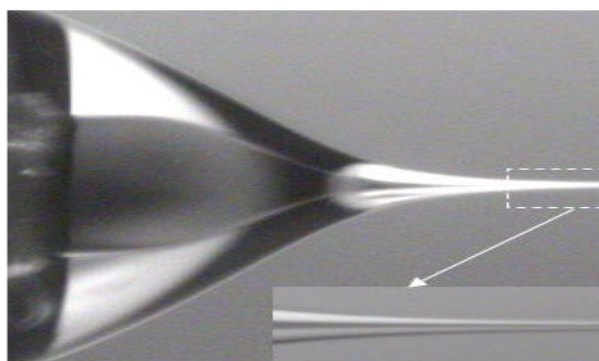
Locertales a iní najprv preukázali, že koaxiálna zvlákňovacia tryska by mohla byť použitá pre prípravu trysky so štruktúrou jadro – plášť [22]. Avšak, experimentálna nestálosť mala za následok rozpad tejto trysky a tvorbu nanočastíc. Taktiež študovali účinok usporiadania a parametre procesu koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania, vrátane viskozity, elektrickej vodivosti a povrchového napätia z elektrostaticky zvláknelných roztokov polyméru, použitého napätia a rýchlosti toku kvapaliny. Nakoniec boli úspešne vyprodukované ultra jemné vlákna so štruktúrou jadro – plášť, vyrobené z dvoch rovnakých polymérov a dvoch rôznych polymérov [23].

Yu a druhí [24] sa zase zaoberali vhodnými elektrostatickými podmienkami niekoľkých usporiadaných polymérov, pričom dospeli k výsledkom, že miesiteľnosť z dvoch roztokov by mohla znížiť povrchové napätie medzi vnútorným a vonkajším kvapalinovým tokom a tak by mohli byť vyprodukované ultra jemné vlákna s menšími priermi.

Naopak autori Li a Xia [25] považovali nemiesiteľnosť kvapaliny v jadre a plášti za najdôležitejšiu pri tvorbe rovnomerných vláken typu jadro – plášť alebo dutých vláken. Huang a ďalší [26] ukázali, že viskozita v plášti by mohla byť kontrolovaná meniacou sa koncentráciou vnútorného roztoku. Ramakrishna a jeho spolupracovníci pripravili ultra jemné vlákna so štruktúrou jadro – plášť z kolagénu pokrytého poly (-kaprolaktanom) a pomocou koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania ukázali, že zložené vlákna so štruktúrou jadro – plášť by mohli zlepšiť rozmnožovanie ľudských kožných fibroplastov [27].

2.3.2. Princíp koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania

Ako bežné elektrostatické zvlákňovanie, i jeho koaxiálny variant taktiež nastáva, keď elektrostatické sily na povrchu roztoku polyméru prekonajú povrchové napätie a spôsobí to vypudenie elektricky nabitej trysky, známej ako Taylorov kužel (*Obr.4*). V dôsledku ohybovej nestability, je tryska postupne značne natiahnutá k tvorbe nepretržitých, ultra jemných vlákien. Nevyhnutná podmienka v nespútanom pohybe trysky je, že jej usporiadanie so štruktúrou jadro – plášť musí byť zachované [28]. Táto štruktúra môže byť videná napríklad za pomoci TEM (transmission electron microscopy), ale i ďalších metód.



Obr.4: Taylorov kužel. Prevzaté z [29].

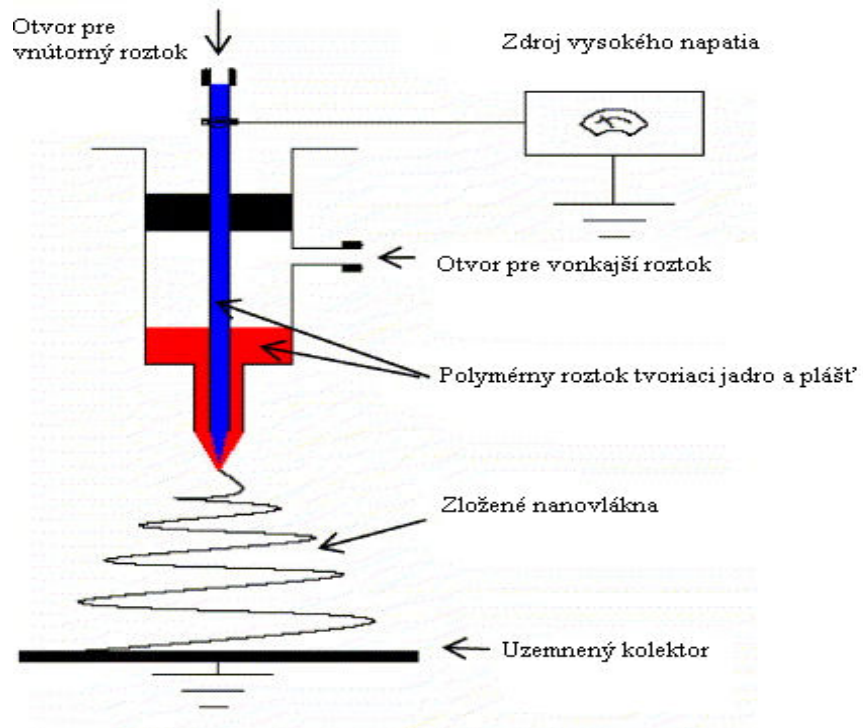
Pravidelné nanovlákná závisia od koncentrácie polyméru a pôsobiace elektrické pole predovšetkým určuje priemerné vlákenné priemery. Ak je pomer jadra v roztoku polyméru zvýšený, priemerné vlákenné priemery sa tiež zvýšia. Pomer jadra oproti plášťu obsiahnutých vo vlákne je riadený zmenou koncentrácie roztokov polyméru alebo dodávaným množstvom použitým pri zvlákňovaní. V prípade dvojice rôznych polymérov, ak sú oba rozpustené v rovnakom rozpúšťadle, vzájomná difúzia v priebehu formovania trysky, môže byť v podstate vylúčená. Ak polyméry použité v jadre a plášti sú rozpustené v rôznych rozpúšťadlách, musia byť vybraté tak, aby sa zabránilo vzájomnému zrážaniu. Použitie miesiteľných rozpúšťadiel v jadre a plášti všeobecne prispieva k vnútornej stabilite trysky [30]. Pre stabilné koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie musia byť obidva polymérne roztoky elektricky vodivé, len tak elektrické ťažné sily vytvoria zloženú trysku. Kvalita nanovláken, vyprodukovaných v elektrickom poli, závisí na viskozite roztoku. V niektorých prípadoch polymérne roztoky používané pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní môžu slúžiť ako

nosiče pre víry, baktérie či lieky. Takýmto nanovláknám môžeme tiež pripojiť DNA molekuly v ich jadre.

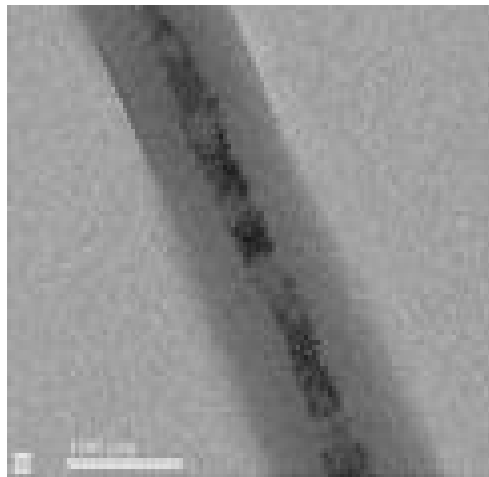
Tieto vyspelé technológie, elektrostatické zvlákňovanie i koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie nie sú obmedzené len na polyméry syntetického a prírodného pôvodu, ale sú schopné dodať nanovlákná a nanotrúbice taktiež zložené z kovu, skla, či keramiky. Navyše, tieto techniky prípravy dovoľia priamemu uvedeniu do týchto nanoštruktúr špecificky funkčným zlúčeninám ako sú polovodiče alebo katalytické nanočastice a chromofóry, k tomu ešte enzýmy, proteíny, mikroorganizmy, atď. v priebehu prípravy spracuje veľmi jemným spôsobom [31]. Môžeme vyrábať nanovlákná s vynikajúcimi vlastnosťami, pričom predpoklad využitia takto vyrobených nanovláken s týmto typom štruktúry je v oblasti tkanivového inžinierstva, ktoré je popísané v kapitole 2.4.

2.3.3. Zariadenia pre koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie

Jednou z verzie zariadenia pre koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie, ktoré umožňuje výrobu nanovláken so štruktúrou jadro – plášť, je znázornené na (*Obr.5*). Koaxiálny elektrospiner je tvorený dvoma otvormi pre prístup polymérnych roztokov. Jadro nanovláken tvorí polymérny roztok, ktorý je dodávaný vnútorným otvorom a plášť tvorí polymérny roztok, ktorý je plnený do vonkajšieho otvoru. Do oboch otvorov, ktoré obsahujú polymérne roztoky je pomocou zdroja vysokého napätia privádzané elektrické napätie. Pomocou elektrického poľa sa dávkovaný polymérny roztok medzi tryskou a kolektorom, ktorý musí byť uzemnený, formuje do jemných vlákien. Vzniknuté nanovlákná sú ukladané vo forme nanovlákennej vrstvy na uzemnený kolektor, ktorý tvorí kovová doska umiestnená v určitej vzdialenosti od vrcholu trysky. Na snímke (*Obr.6*) z transmisného elektrónového mikroskopu (TEM) je znázornené nanovláknó so štruktúrou jadro – plášť, kde jadro nanovlákná je tvorené z FePt (zliatina železa a platiny) a plášť je z polykaprolaktanu (PCL). PCL je ideálny biopolymér s dobrými biokompatibilnými a mechanickými vlastnosťami. Predpoklad takto vyrobených nanovláken s týmto typom štruktúry má potenciálne možnosti využitia v oblasti magnetických filtrov, senzorov, elektronických a magnetických zariadení [28].



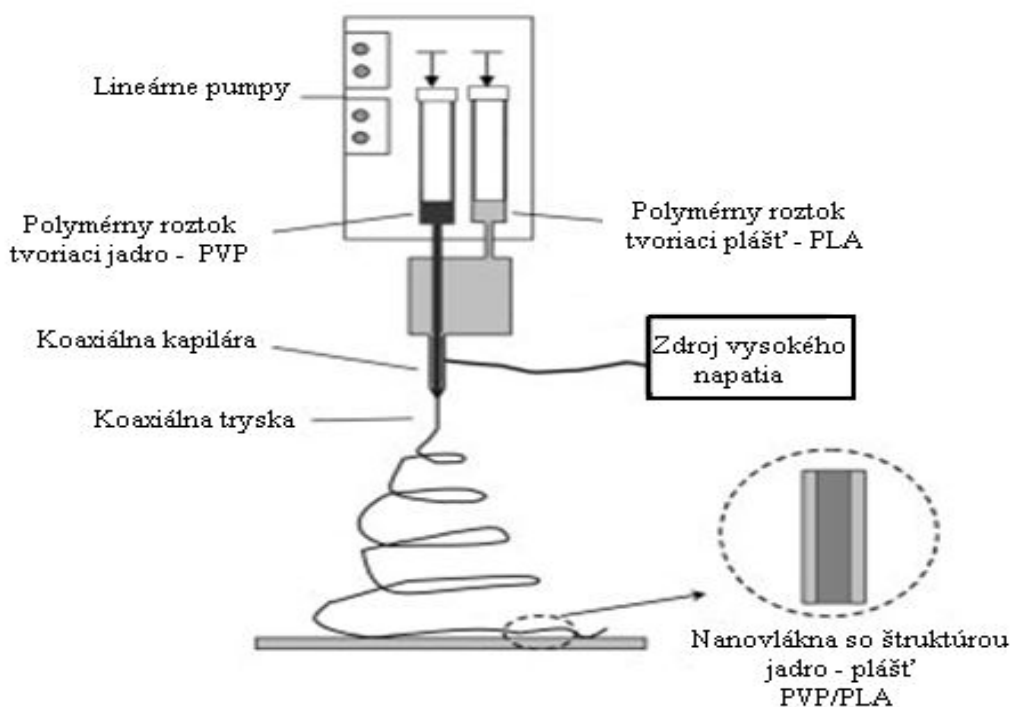
Obr.5: Schéma koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania pre výrobu FePt/PCL zložených nanovláken. Prevzaté z [28].



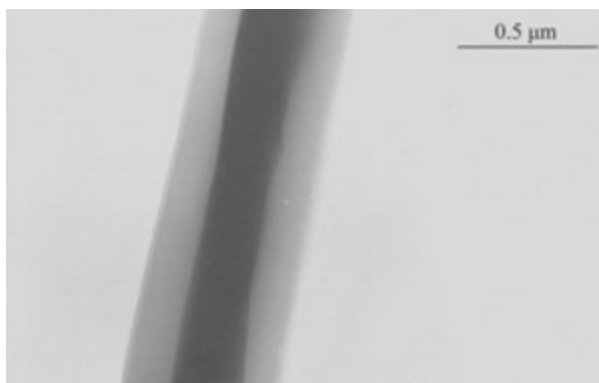
Obr.6: TEM snímka nanovlákná so štruktúrou jadro – plášť (FePt/PCL). Prevzaté z [28].

Ďalší variant koaxiálneho zariadenia na výrobu nanovláken so štruktúrou jadro - plášť je znázornená na (Obr.7). Samotná kapilára s koaxiálnou zvlákňovanou tryskou sa skladá z dvoch koncentricky usporiadaných kapilár. Určité množstvo dvoch polymérnych roztokov bolo samostatne dávkované dvoma lekárskeymi striekačkami pripojenými ku koaxiálnej

zvlákňovanej tryske. Rýchlosť toku v každej kapiláre bola prispôsobená pomocou dvoch lineárnych púmp. Obe kapiláry boli pripojené k zdroju vysokého napätia. Pod vrcholom trysky bol umiestnený uzemnený kolektor v podobe kusu hliníka, na ktorom sa zachytávali vytvorené nanovlákná. Vytvorená nanovlákná vrstva bola následne pozorovaná na transmisnom elektrónovom mikroskope (TEM), ktorá je zobrazená na (Obr.8), kde jadro nanovlákná je tvorené z polyvinylpyrrolide (PVP) a plášť je poly(D,L-lactide) (PLA). Použitie takýchto nanovláken je v oblasti tkanivového inžinierstva [32].

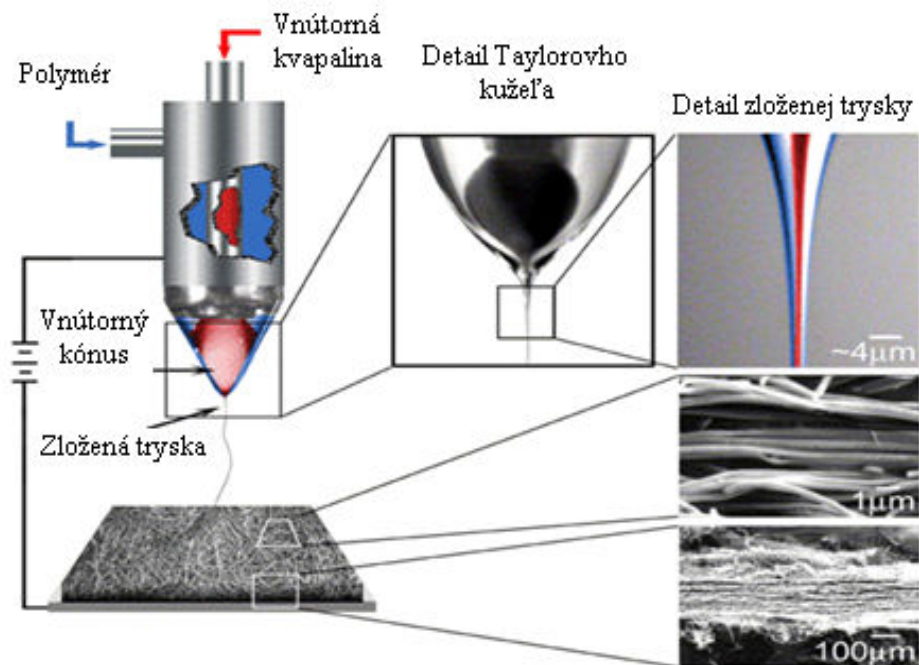


Obr.7: Schéma koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania. Prevzaté z [32].



Obr.8: TEM snímka nanovlákná so štruktúrou jadro – plášť (PVP/PLA). Prevzaté z [32].

V istom zaujímavom výskume od autorov Younan Xia a Dan Li, ktorí sa zaoberali elektrostatickým zvlákňovaním pomocou koaxiálneho elektrospineru, sa pracovalo na tom, aby vytvorili duté zložené nanovlákná z poly(vinylpyrrolidone) a oxidu titaničitého rovnako ako nanotrubičky vyrobené len z oxidu titaničitého. Na (Obr.9) je znázornená schéma, podľa ktorej pri tomto štúdiu pracovali. Použitie vysokého napätia, k dvojici koaxiálnych trysiek pre dávkovanie dvoch miesiteľných kvapalín (Obr.7 ako modrá a červená), vedie k vytvoreniu Taylorovho kužeľa z vrcholu koaxiálnej trysky, ktorá je umiestnená niekoľko centimetrov od uzemnenej elektródy (kolektoru). Vznikajú nanovlákná so štruktúrou jadro – plášť a po rozpustení a odstránení jednej zložky z týchto nanovláken sa získajú duté nanovlákná. Príklad takto vyrobených nanovláken je na (Obr.10) [33].



Obr.9: Schéma koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania. Prevzaté z [33].

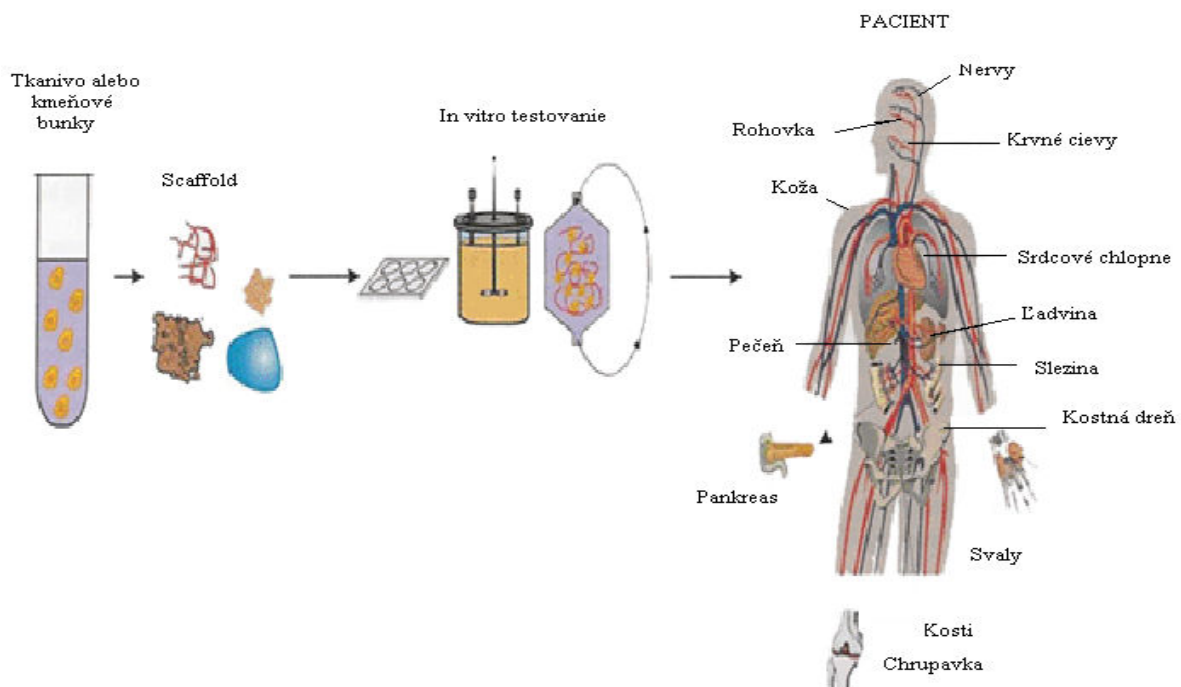


Obr.10: TEM snímka nanovláken s dutou štruktúrou. Prevzaté z [33].

2.4. Tkanivové inžinierstvo

Tkanivové inžinierstvo (*Obr.11*) je novo vznikajúcou biotechnologickou disciplínou na pomedzí medicíny, biológie bunkovej i molekulárnej, náuky o materiáloch a inžinierstva. Predstavuje jeden z najperspektívnejších oborov medicíny. Využíva totiž priamo ľudské bunky (alebo taktiež bioaktívne molekuly extrahované z ľudských buniek), ktoré sú cielene vytvorené pre výmenu, obnovu a tiež i regeneráciu živého ľudského tkaniva.

Už dnes tkanivoví inžinieri úzko spolupracujú s odborníkmi na nanotechnológiu a do budúcnosti sa má tento vzťah ďalej prehĺbovať. Použitie nanotechnológie by malo pomôcť pri vytváraní väčších a zložitejších tkanivových útvarov, akými raz môžu byť i celé orgány [34]. Najvyššou metou tkanivových inžinierov zostáva laboratórne „stvorenie“ srdca, ľadvín a pečene. Pečeň má pomerne zložitú vnútornú štruktúru, preto vedci stoja pred úlohou, donútiť bunky, aby na polymérovej kostre narástli do patričného priestorového tvaru. Rysujú sa možnosti umiestniť na polymérovú sieť molekulárne „nanoznačky“, ktoré by navigovali usádzanie a rast buniek na polymér tak, aby vytvorili orgán s požadovanou štruktúrou [35]. Riadený rast takto zložitých bunkových útvarov je stále hudbou vzdialenej budúcnosti.



Obr.11: Príklad tkanivového inžinierstva. Prevzaté z [36].

2.4.1. Základné pojmy

Tkanivové inžinierstvo - všeobecne sa pod tkanivovým inžinierstvom rozumie obvykle implantácia jednotlivých buniek a tkaniva, kombinácia buniek a tkaniva s biomateriálmi a aktívnymi substanciami a využitie biomateriálov pri reparácii podporných štruktúr tela.

Biokompatibilita – biokompatibilita je schopnosť implantovaného materiálu znášať sa s živým organizmom.

Biodegradabilita – biodegradabilita je vlastnosť daného materiálu vyjadrujúci schopnosť kompletnej biologickej rozložnosti a vstrebateľnosti v organizme.

Scaffold – slovo *scaffold* v preklade znamená lešenie, kostra, skelet a je kľúčovým prvkom tkanivového inžinierstva. Týmto výrazom je označovaná umelo vytvorená štruktúra, ktorá podporuje trojdimenzionálny tkanivový útvar pre obnovu napríklad kĺbových chrupaviek, ciev a šliach. Scaffold musí spĺňať tieto požiadavky [37]:

- biokompatibilita a bezpečnosť, scaffold sa musí znášať s ľudským organizmom
- dostatočná pevnosť a odolnosť voči tlaku, scaffold musí byť dostatočne pevný, aby odolal manipulácii pri úprave rozmerov pre postihnuté miesto
- dostatočná veľkosť pórov
- zaistiť prístup živín, póry musia byť navzájom prepojené
- scaffold si musí udržať svoju štruktúru tak dlho, pokiaľ nové bunky nie sú schopné udržať 3D usporiadanie bez opory
- potom, čo je vytvorený 3D systém sa scaffold musí rozložiť a vylúčiť z tela von, dochádza teda k jeho biodegradácii.

In vitro testovanie – výrazom *in vitro* označujeme experimentálne metódy, pri nich biochemické respektíve biologické deje prebiehajú mimo organizmus alebo bunku a to v skúmavke, banke apod. (z latinského „v skle“) [38].

In vivo testovanie – *In vivo* označuje deje, ktoré prebiehajú v celých organizmoch, orgánoch alebo bunkách. *In vivo* testovanie sa vzťahuje k experimentálnemu prevedeniu v alebo na živom tkanive alebo celom živom organizme (z latinského „v živom“) [39].

Produkty tkanivového inžinierstva si razia cestu už i do nemocníc. Na trhu sa objavila umelo vypestovaná ľudská koža, ktorú lekári používajú pri popáleninách a pomáha výrazne i pri hojení bércových vredov. Tie vznikajú v miestach, kde je tkanivo pacienta nedostatočne zásobované krvou. Poškodené kĺbové chrupavky môžeme zase „opraviť“ akou si „záplatou“,

ktorú lekári pacientovi vypestujú z buniek jeho chrupavky, opatrne odobranej z iného kĺbu. Pestovanie chrupaviek na vhodne tvarovaných polymérových „lešeniach“ dokáže stvoriť i nové ušné laloky alebo nos pre potreby plastickej chirurgie u pacientov, ktorí utrpeli ťažké poranenia alebo popáleniny [35].

Významným príspevkom do ďalších rokov bude využitie *in vitro* diferencovaných buniek derivovaných z embryonálnych alebo orgánovo špecifických kmeňových buniek. Tie sú vysvetlené v kapitole 2.4.3. Reálnejšie sa v súčasnej dobe ale javí umelý rast jednoduchších tkanív, ako sú napríklad cievy alebo vlákna srdcového svalu. Choroby kardiovaskulárneho systému sú v Európe jednou z najčastejších príčin úmrtia a práve v tejto oblasti sľubuje súčasný vývoj tkanivového inžinierstva úplne zásadný prielom [34].

2.4.2. Bunková terapia a regeneratívna medicína

Regeneratívna medicína je mladé odvetvie medicíny a ponúka úplne nové terapeutické metódy s cieľom nahradiť alebo regenerovať bunky a tkanivo (alebo v budúcnosti orgány), ktoré nie sú funkčné z dôvodu choroby, poranenia alebo vrodených chýb. Zahrňuje postupy bunkovej terapie a tkanivového inžinierstva a k regenerácii biologických tkanív sa využívajú bunky, podporné materiály a biomolekuly.

Bunková terapia predstavuje reálnu alternatívu k liečbe mnohých degeneratívnych a tzv. civilizačných chorôb, vrátane ochorení nervového systému. Metódy regeneratívnej medicíny využívajú novo prenos buniek pacienta za terapeutickým účelom a nanotechnológie. Pri bunkovej terapii je pacientovi odobrané malé množstvo buniek a tieto bunky sú v laboratóriu pomnožené, eventuálne roztriedené alebo vybavené novými vlastnosťami (gény), a implantované naspäť pacientovi.

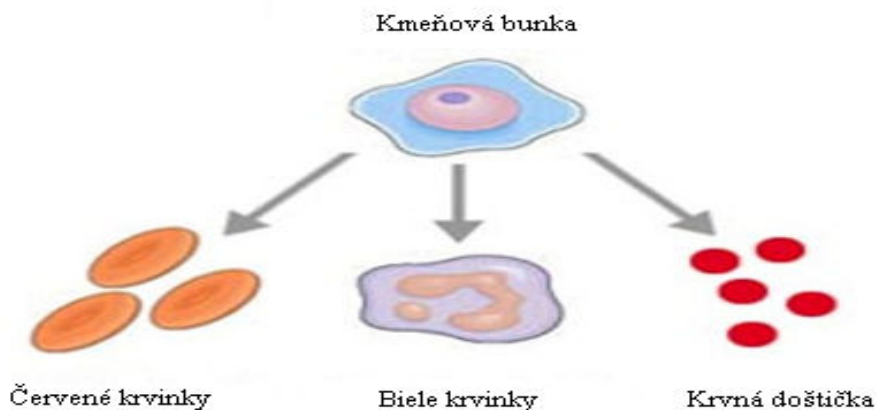
Tkanivové inžinierstvo ide ďalej a jeho metódy dovoľujú pripraviť z odobraných a pomnožených buniek v laboratóriu nové tkanivo (chrupavku, cievu). Nové tkanivo je potom implantované pacientovi a nahrádza pôvodné nefunkčné alebo chýbajúce tkanivo. Tkanivové inžinierstvo často využíva biomateriály, čo sú chemické látky, v mnohých prípadoch so štruktúrou založenou na bázi hydrogéllov, ktoré sú biokompatibilné (pacientovo telo nepoškodzuje a pacientovo tkanivo ich „neodmieta“). Ďalej regeneratívna medicína využíva nanotechnológie pre zobrazovanie, vnášanie podporných a liečebných látok do buniek a tkaniva.

Postupy bunkovej terapie, resp. transplantácie buniek a tkanivových náhrad môžeme v zásade rozdeliť na transplantácie autologné (vlastné bunky pacienta, ktorých prenos je spojený s minimálnymi zdravotnými rizikami) a allogenné (bunky iného pacienta, ktoré sú

implantované napríklad preto, že sú na rozdiel od vlastných buniek pacienta „zdravé“). Okrem vlastného terapeutického výkonu je nutné v rámci bunkovej terapie zabezpečiť mnoho činností spojených s darovaním tkaniva alebo buniek, odberom, testovaním, spracovaním vzoriek, prípravou preparátov, uložením, distribúciou a aplikáciou. To všetko so zabezpečením vysokej kvality a rôznych hľadísk bezpečnosti [40].

2.4.3. Kmeňové bunky

Objavom natoľko významným, že je porovnávaný s objavom antibiotík je v tomto obore využitie tzv. kmeňových buniek (*Obr.12*). Tieto bunky majú schopnosť zmeniť sa na všetky typy buniek, z ktorých sa skladá ľudské telo a poskytujú tak skvelý regeneračný potenciál. Treba ale zdôrazniť, že nie je nutné využívať bunky embryonálne, ale môžeme použiť bunky z dospelých jedincov, často vlastné bunky chorého jedinca [40].



Obr.12: Príklad kmeňovej bunky. Prevzaté z [41].

Ide o bunky, ktoré nie sú celkom špecializované a v našom tele ešte len čakajú na svoju príležitosť. Pokiaľ pocítíme nedostatok určitého funkčného tkaniva, dostanú tieto čakateľky chemický impulz, ktorý im povie, akému povolaniu sa využiť, aby mohli na potrebných miestach podať pomocnú ruku, prípadne nahradiť poškodené tkanivo. Vedci sa od 80-tych rokov snažia tieto bunkové polotovary využiť k príprave umelých orgánov. Pri správnych signáloch môže z masy kmeňových buniek vzniknúť funkčný komplex tkaniva, keďže tie už samy vedia, kam sa nechať zabudovať, ako pripraviť tkanivo pre ďalších prichádzajúcich osadníkov a ako sa v celom orgáne chovať. Všetko je zapísané v genetických plánoch [42].

Bunková terapia s využitím kmeňových buniek je v oblasti transplantácie kostnej drene v súčasnej dobe úspešne využívaná pri liečení ochorení krvi (leukémie) a obnovy krvotvorby u miliónov jedincov na celom svete. V súčasnej dobe sa ukazuje ďalší potenciál bunkovej terapie pri liečení závažných ochorení, ktoré často spôsobujú ťažkú invaliditu či smrť ako napríklad: poranenie kože, poškodenie chrupavkových častí kĺbov, zlyhanie pečene či ľadvín, diabetes, regenerácia tkaniva srdca po infarktu myokardu, poranenie miechy, Alzheimerova či Parkinsonova choroba, krvácanie do mozgu (iktus), dedičné choroby a vrodené chyby a iné.

Bunky môžeme v laboratórnych podmienkach pretvárať a smerovať (diferencovať) pre použitie u príslušného pacienta. Bunková terapia a tkanivové inžinierstvo, ako celkom nové biomedicínske obory, sú schopné liečiť niektoré patologické stavy s vyššou účinnosťou než klasické metódy, u iných patologických stavov môžu dosiahnuť výsledky, ktoré prekračujú hranice klasickej medicíny, terapie vrodených chorôb vrátane poranenie mozgu a miechy, pre ktoré dnes nemáme dostupnú liečbu [40].

2.4.4. Potenciál využitia tkanivového inžinierstva

Vysoký potenciál využitia tkanivového inžinierstva a regeneračnej medicíny vedie k záveru, že základný a aplikovaný výskum by sa mal v budúcnosti zamerať nielen na molekulárnu biológiu a kmeňové bunky, ale i na biomateriály. Riešenie tohto komplexného problému vyžaduje interdisciplinárny prístup. Predpokladajú sa výskumné práce v nasledujúcich smeroch:

- ✓ Vývoj „inteligentných“ multifunkčných biomateriálov
- ✓ Riadenie štruktúry materiálov v nanorozmeroch pri konštrukcii inteligentných kostier. To taktiež vyžaduje výskum v oblasti mikro – a nanovýroby pri vytváraní štruktúr s riadenou adhezi a bujenie buniek a s rôznymi funkciami.
- ✓ Technológie vývoja novej generácie syntetických polymérov, ktoré môžu meniť svoju molekulárnu konformáciu v závislosti na externých stimuloch (teplota, pH, elektrické pole apod.)
- ✓ Technológie bioaktívnych nanopovlakov
- ✓ Zariadenie obsahujúce nanodrôty a nanopóry pre stimuláciu a bioindikáciu buniek vo vnútri umelej matrix
- ✓ Výskum kmeňových buniek zameraný na porozumenie potenciálu a plasticity dospelých kmeňových buniek
- ✓ Vývoj technológií pre mininvazívnu, na dané miesto zameranú bunkovú terapiu

- ✓ Výskum prevádzaný v nanometrickom meradle zameraný na generáciu znalostí o interakciách rôznych typov buniek v ich danom prostredí
- ✓ Monitorovanie regenerácie tkaniva
- ✓ Skúšanie toxicity syntetických nanočastíc *in vitro* a *in vivo* [43].

3. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

3.1. Cieľ experimentu

Cieľom experimentálnej časti bolo navrhnúť konštrukciu elektród pre koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie a na základe experimentov previesť zvlákňovanie s koaxiálnym spinnerom za účelom dosiahnuť vytvorenie bikomponentnej štruktúry nanovláken. Ďalším zámerom bolo nájsť vhodnú metódu k detekcii štruktúry jadro - plášť.

3.2. Výber zvlákňovaných roztokov pre experiment

3.2.1. Polyvinylalkohol

V experimentálnej časti tejto práce bol pri tvorbe nanovláknenných vrstiev vyrobených elektrostatickým zvlákňovaním pomocou koaxiálneho elektrospinera použitý polyvinylalkohol (PVA) a to jeho 12% vodný roztok, ktorý bol pripravený zo 75ml 16% PVA a 25ml H₂O.

PVA je vo vode rozpustný syntetický polymér, ktorý môžeme pripraviť hydrolýzou alebo alkoholýzou polyvinylacetátu. Relatívna molekulová hmotnosť Sloviolu[®] R sa pohybuje v rozmedzí od 60 000-100 000 g/mol. Dodávateľom použitého polymérneho roztoku je firma SLOVIOL R - NCHZ Slovakia [44]. Pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní bol do koaxiálneho elektrospinera vo všetkých experimentoch dávkaný 12% PVA, ktorý tvoril plášť nanovláken. PVA bol vybraný z dôvodu už predošlých skúseností a jeho stability pri elektrostatickom zvlákňovaní.

V jednom z experimentov bol použitý 12% PVA zafarbený červeným farbivom, z dôvodu lepšieho rozlíšenia dvoch polymérnych roztokov pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní.

3.2.2. Polyethylenoxid

Ďalším materiálom, ktorý bol použitý pri elektrostatickom zvlákňovaní pomocou koaxiálneho elektrospinera je polyethylenoxid, s molekulovou hmotnosťou 200 000 g/mol od firmy Aldrich. Tento roztok bol pripravený o koncentrácii 5% hmotnostných zložený z 2,5ml 100% PEO a 47,5ml H₂O.

Roztok PEO ako jeden z vodorozpustných polymérov je veľmi dobre zvlákňiteľný ako čistý, tak i v zmesi s inými polymérmi. PEO je vo forme bieleho vysoko kryštalického prášku, teplota topenia 62-65 °C, teplota skleneného prechodu je – 55 °C. PEO je rozpustný vo vode

a v niekoľkých ďalších rozpúšťadlách (napr. acetonitril, benzen, ethanol apod.). Je rozpustný u väčšiny rozpúšťadiel pri pokojovej teplote, v aromatických rozpúšťadlách je pre rozpustenie účinnejšia zvýšená teplota. Je netoxický a nedráždivý, preto je veľmi vhodný pre farmaceutické a kozmetické produkty [45]. V ďalšom pokuse bol použitý PEO taktiež zafarbený červeným farbivom.

3.2.3. Dusičnan Strieborný

Pre experiment 3 bol použitý dusičnan strieborný (AgNO_3) ako aditívum vo forme častíc strieborného prášku dispergovaný s 5% hmotnostným roztokom PEO. AgNO_3 je strieborná soľ kyseliny dusičnej. Môžeme ho pripraviť rozpustením kovového striebra v kyseline dusičnej za horúca a následným odparením roztoku. Teplota topenia je $212\text{ }^\circ\text{C}$ a má korozívne vlastnosti [46].

3.2.4. Uhlíkový nanoprášok

V poslednom experimente bol použitý uhlíkový nanoprášok ako aditívum v podobe čiernych nanočastíc dispergovaný s 10% hmotnostným roztokom PVA. Uhlíkový nanoprášok bol pripravený na strojnjej fakulte Technickej univerzity v Liberci.

3.3. Použité experimentálne zariadenia

Elektrostatické zvlákňovanie pomocou koaxiálneho elektrospineru bolo prevedené na laboratórnom zvlákňovacom zariadení, ktoré je popísané a zobrazené na (*Obr.13*). Základnou časťou zvlákňovacieho zariadenia bol zdroj vysokého napätia s rozsahom od 0 do 50 kV. Pre dávkovanie polymérnych roztokov do koaxiálnej zvlákňovacej trysky boli použité dve striekačky zapojené do dávkovacích lineárnych púmp s nastaviteľnou rýchlosťou dávkovania, ktoré sú zobrazené a popísané na (*Obr.14,15*). Nad koaxiálnym elektrospinerom bol pripevnený kolektor, ktorý predstavovala kovová doska, pričom vzdialenosť medzi koaxiálnou zvlákňovacou tryskou a kolektorom bola 10 cm, ktorá sa pri pokusoch javila ako najvhodnejšia. Koaxiálny elektrospiner, ktorý bol uzemnený, bol pri zvlákňovacom procese umiestnený vertikálne a koaxiálna tryska smerovala kolmo na kolektor, ktorý bol umiestnený pod tryskou. Kolektor, na ktorý bolo privádzané napätie zo zdroja, prekryvala vrstva netkanej textílie označovaná ako spun bond. Táto textília bola použitá pre možnosť rýchlejšieho a ľahšieho zobrať vytvorených vzoriek. Vytvorené nanovlákné vrstvy koaxiálnym elektrostatickým zvlákňovaním boli ďalej skúmané na rastrovom a transmisnom elektrónovom mikroskope.



Obr.13: Schéma laboratórneho zariadenia pre elektrostatické zvlákňovanie pomocou koaxiálneho elektrospintera: 1. Lineárna pumpa A, 2. Polymérny roztok tvoriaci jadro, 3. Nabitý kolektor, 4. Uzemnený koaxiálny elektrospinner, 5. Polymérny roztok tvoriaci plášť, 6. Lineárna pumpa B, 7. Zdroj vysokého napätia.

3.3.1. Injekčná pumpa IPC 2050

Injekčná pumpa IPC 2050 (Obr.14) je tlačidlová injekčná lineárna pumpa, ktorá ponúka najširší užívateľský komfort. Je dodávaná firmou Polymed, ktorá sa zaoberá vývojom a výrobou zdravotníckych prostriedkov, importom, exportom a servisom prístrojov a spotrebného materiálu pre zdravotníctvo. Určená je pre dávkovanie pomocou jednorazových striekačiek o veľkosti 20 a 50 ml. K základným technickým údajom patrí rýchlosť dávkovania, ktorá sa pohybuje od 0,1 – 999,9 ml/h (krok 0,1), nastavenie limitného tlaku od 30 – 150 kPa, rýchlo posuv je 1000 ml/h do objemu 2 ml (krok 0,1), presnosť dávkovania je $\pm 2\%$, napájanie je sieťové 230V/50 Hz [47].



Obr.14: Injekčná pumpa IPC 2050. Prevzaté z [47].

3.3.2. Infúzna pumpa KDS 100

Infúzna pumpa KDS 100 (*Obr.15*) sa vyznačuje presnosťou a jednoduchosťou s ľahkým použitím a trvanlivosťou. Jednou z hlavných vlastností je uloženie posledného nastavenia v trvalej pamäti. Je určená taktiež k dávkovaniu pomocou jednorazových striekačiek o veľkosti 10 až 60 ml. K základným technickým parametrom prináleží rýchlosť toku. Minimálna rýchlosť toku sa pohybuje od 0,1 ml/h u striekačky s rozsahom 10 ml, pričom maximálna je 426 ml/h u striekačky o veľkosti 60 ml. Presnosť dávkovania je < 1% [48].



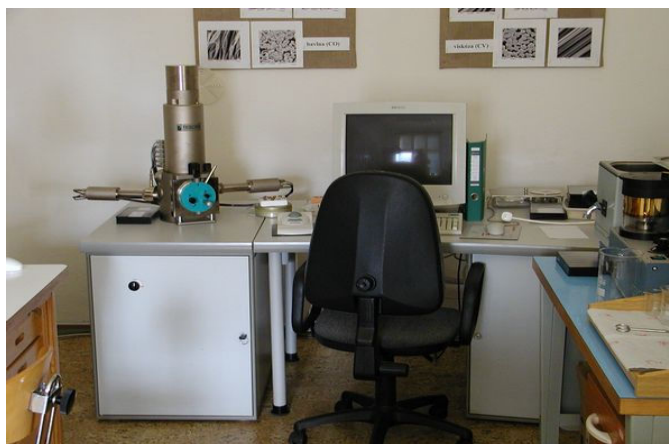
Obr.15: Infúzna pumpa KDS 100. Prevzaté z [48].

3.3.3. Rastrovací elektrónový mikroskop VEGA

Tento prístroj bol použitý pre zhotovenie snímku výsledných vlákenných vrstiev. VEGA je plne počítačom riadený rastrovací mikroskop (*Obr.16*). Služi k pozorovaniu povrchu pri veľkom zväčšení s veľkou hĺbkou ostrosti, k zaznamenávaniu a archivovaniu zväčšených obrazov v štandardnom obrazovom formáte na počítačové záznamové médiá.

Mikroskop sa skladá zo štyroch základných častí – fyzikálna časť, elektronika, počítač, software. Vo fyzikálnej časti mikroskopu vzniká obraz povrchu vzorky a je to taktiež miesto, kde vzniká a je formovaný a vychyľovaný fokusovaný elektrónový zväzok, ktorý dopadá na povrch skúmaného vzorku. Fyzikálna časť obsahuje: tubus, komoru s manipulátorom a detektory, vákuový systém. Elektronika mikroskopu zaisťuje napájanie a ovládanie fyzikálnej časti mikroskopu a zosilňovanie a predávanie užitočných signálov počítača. Počítač a príslušný software sú riadiacou jednotkou celého mikroskopického systému.

Rastrovací elektrónový mikroskop VEGA je typický vysokou rozlišovacou schopnosťou (3,5nm) a možným zväčšením: 20 až 500 000. Ďalšou vlastnosťou mikroskopu je jednoduchá príprava preparátu, ale zložitú pracovnú zariadenie. Príprava preparátu spočíva v pripevnení skúmaného vzorku na pracovný stolík, na ktorom je naprášená tenká vodivá vrstva (10-30nm) väčšinou Au (alebo Ag, Al). Základnou funkciou mikroskopu je získanie zväčšeného obrazu skúmaného objektu. Primárny lúč sa pohybuje po riadkoch po preparáte (rastruje) a vyráža sekundárne elektróny, ktoré sú snímané sondou, prevedené na videosignál a zobrazené na obrazovke monitoru počítača s riadiacim programom [49].



Obr.16: Rastrovací elektrónový mikroskop VEGA umiestnený na Katedre textilných materiálov Technickej univerzity v Liberci. Prevzaté z [50].

3.3.4. Transmisný elektrónový mikroskop

V materiálovom inžinierstve sa využíva okrem rastrovacieho elektrónového mikroskopu aj transmisný elektrónový mikroskop (*Obr.17*). Transmisný elektrónový mikroskop (TEM) je jednou z experimentálnych metód, bez ktorých si materiálový výskum dnes už nevieme predstaviť. Umožňuje zobraziť mikroštruktúru vo vnútri materiálu v meradle od niekoľko mikrónov až po atómové rozlíšenie, pomocou elektrónovej difrakcie určiť symetriu kryštálovej mriežky a pokiaľ je mikroskop vybavený príslušnými spektrometrami, previesť navyše lokálnu analýzu chemického zloženia [51].



Obr.17: Transmisný elektrónový mikroskop. Prevzaté z [52].

Transmisný elektrónový mikroskop (TEM) je možné popísať ako zložité technické zariadenie, ktoré umožňuje pozorovanie tenkých preparátov do hĺbky 100nm pri vysokom zväčšení a s veľkou rozlišovacou schopnosťou. V podstate funguje podobne, ako svetelný mikroskop, ale na rozdiel od neho využíva elektróny a nie viditeľné svetlo. Oba prístroje majú spoločných i mnoho súčastí – zdroje svetla alebo elektrónov, šošovky sklenené alebo elektromagnetické a v oboch sa preparát umiestňuje na mechanický stolček. TEM potrebuje k svojej činnosti i ďalšie systémy, ktoré u svetelného mikroskopu nie sú, napr. vysokonapäťové zdroje, elektroniku k riadeniu mikroskopu a výkonný vákuový systém pre vyčerpanie jeho vnútorných priestorov mikroskopu na hodnotu, ktorá zabezpečí strednú voľnú dráhu elektrónov aspoň v dĺžke 3 m [53].

V roku 2004 bol ako prvý v Českej republike v Ústave anorganickej chémie Akadémie vied v ČR v Řeži inštalovaný vysoko rozlišovací transmisný elektrónový mikroskop umožňujúci zobrazenie v atómovom rozlíšení „klasickou“ metódou interferenčného kontrastu [51].

3.3.5. SEM Priechny rez

SEM pozorovanie vzorky priecneho rezu moze poskytnut dolezitu informaciu pre vyskum a voj podobne ako napríklad analyza porúch. V mnohých prípadoch, samotné povrchové pozorovanie nemôže poskytovať správy vzťahujúce sa k štruktúre priecneho rezu zrnitých, vrstvených a vláknitých materiálov, či prachu. Príprava vysoko leštených priecnych rezov týchto materiálov je veda a umenie.

Typicky priecny rez je pripravený použitím mechanických spôsobov ako bežné mechanické leštiace metódy alebo mikrotom. Vzorka je najprv vložená do držadla alebo zariadenia, a potom leštená tak, aby dosiahla hladkého priecneho rezu. V niektorých prípadoch je procedúra používaná pre zdôraznenie špecifickej súčasti vzorky. Takéto spôsoby môžu byť zdĺhavé, keďže vyžadujú veľa schopností, a môžu uviesť výrobky do mäkkých materiálov, zmeniť materiál okolo prázdnych miest, alebo stlačiť vrstvy mäkkých a tvrdých materiálov v zložených vzorkách. Mechanické leštenie môže vynechať jemné detaily ako napríklad prítomnosť vlasových trhliniek.

Nový zreteľný argónový iontový lúč priecneho rezu zjednodušuje leštením prípravu vzorky a umožňuje pripraviť naozaj typické priecne rezy vzorky bez deformácie. Použitie širokého argónového iontového lúča odstraňuje problémy súvisiace s bežným leštením a poskytuje rozsiahlejšie vzorky, ktoré sú pripravené s presnosťou. Prístroj (*Obr.18*) je zostavený na časovači, umožňujúci bez obsluhy operáciu behom leštiaceho procesu.



Obr.18: Prístroj k získaniu priecneho rezu pomocou argónového iontového lúča. Prevzaté z [54].

Výhody :

- Vysoká kvalita priečných rezov zložených z mäkkých a tvrdých materiálov.
- Minimálne napätie a deformácia lešteného povrchu, umožňujúca sledovať kontrast vlákna ľahko a zreteľne.
- Veľké plochy priečného rezu (typicky jednoduchý rez je 1,5mm široký a niekoľko stoviek mikrónov hlboký).
- Žiadna častica vložená v leštenom povrchu v porovnaní s mechanickým leštením.
- Jednoduchosť práce.

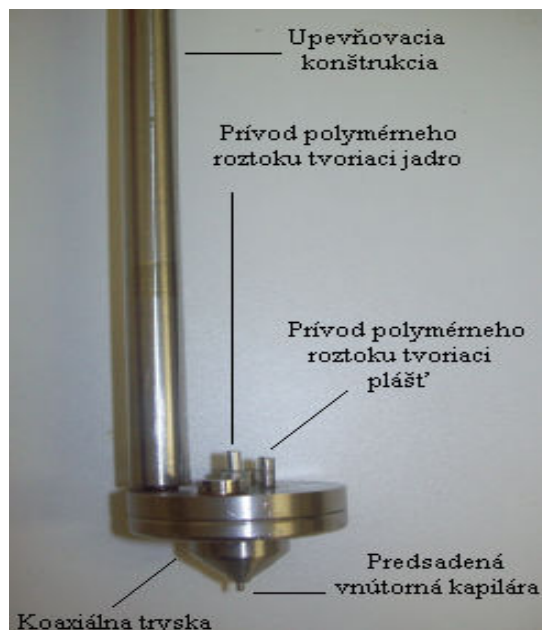
Vzorka priečného rezu pripravená metódou používania argónovým iontovým lúčom nám umožňuje, aby sme ľahko vytvorili priečne rezy širokého výberu materiálov vrátane polymérov, kovov, keramiky, a kompozitov s minimálnymi artefaktmi. Hodí sa to nielen pre obrazové pozorovanie, ale taktiež pre mikroanalýzu a stanovenie kryštalickej štruktúry [54].

3.4. Konštrukcia laboratórnych elektrospinerov

Koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie bolo prevádzané na laboratórnom zvlákňovacom zariadení (*Obr.13*). Obe použité koaxiálne elektrospiny boli vyvinuté na Katedre netkaných textílií Technickej univerzity v Liberci, u ktorých došlo k menšej zmene konštrukcie a líšili sa tvarom koaxiálnej trysky. Jednotlivé koaxiálne elektrospiny sú popísané v nasledujúcej časti.

3.4.1. Laboratórny elektrospiner č.1

Prvé experimenty boli realizované na koaxiálnom elektrospineri zobrazenom na (*Obr.19*), kde je uvedený aj popis jednotlivých častí. Koaxiálne elektrostatické zvlákňovanie bolo prevádzané za účelom vytvorenia bikomponentných nanovláken (štruktúra jadro – plášť). Bežným problémom, pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní s týmto typom koaxiálneho elektrospineru, bolo dávkovanie polymérneho roztoku, ktoré bolo prevádzané pomocou dvoch hadičiek s dvoma typmi lineárnych púmp. Miestami dochádzalo k vyradeniu púmp z prevádzky pri nabitom kolektore. Koaxiálna tryska bola vybavená tesnením, aby nedochádzalo k vytekaniu dávkovaného polymérneho roztoku. Pri vysunutí predsadenej vnútornej kapiláry o 1 mm pred koniec hrotu zvlákňovacej trysky, proces koaxiálneho elektrostatického zvlákňovania prebiehal plynulejšie. Čistenie tohto typu elektrospineru bolo v celku bezproblémové.



Obr.19: Koaxiálny elektrospiner č.1

3.4.2. Laboratórny elektrospiner č.2

Na základe skúseností pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní s použitím laboratórneho elektrospineru č.1 (*Obr.19*) bol navrhnutý nový súčasný laboratórny elektrospiner č.2 (*Obr.20*). Líšil sa predovšetkým veľkosťou koaxiálnej trysky, ktorá bola znova vybavená tesnením, aby sa zabránilo vytekaniu dávkovaného polyméru, ale mala menší priemer ako u laboratórneho elektrospineru č.1. Vnútorne predsavzatie kapiláry bolo zhotovené na pevno, pričom pri predchádzajúcom koaxiálnom elektrospineri kapilára nesmerovala presne do stredu. To mohlo spôsobiť, že zvlákňovanie na tomto druhu elektrospineru bolo nepretržité a prebiehalo bez problémov.



Obr.20: Koaxiálny elektrospiner č.2

3.5. Postup pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní

Celý proces pozostával z niekoľkých jednotlivých krokov. Najprv boli pripravené polymérne roztoky s určitými koncentraciami. Po ich príprave nasledoval samotný proces elektrostatického zvlákňovania pomocou koaxiálneho elektrospineru, ktorý bol prevedený na laboratórnom zvlákňovacom zariadení na (Obr.13) s využitím laboratórneho elektrospineru č.1 a č.2. Po vytvorení nanovlákných vrstiev sa pokračovalo v ich skúmaní na rastrovom a transmisnom elektrónovom mikroskope a prístroji k získaniu priečného rezu pomocou argónového iontového lúča.

Metóda elektrostatického zvlákňovania pomocou koaxiálneho elektrospineru je podobná elektrostatickému zvlákňovaniu na tryskových elektrospineroch. Koaxiálny elektrospiner pracuje na princípe vzniku elektrostatického poľa medzi dvoma elektródami, v tomto prípade medzi nabitým kolektorom a uzemneným koaxiálnym elektrospinerom.

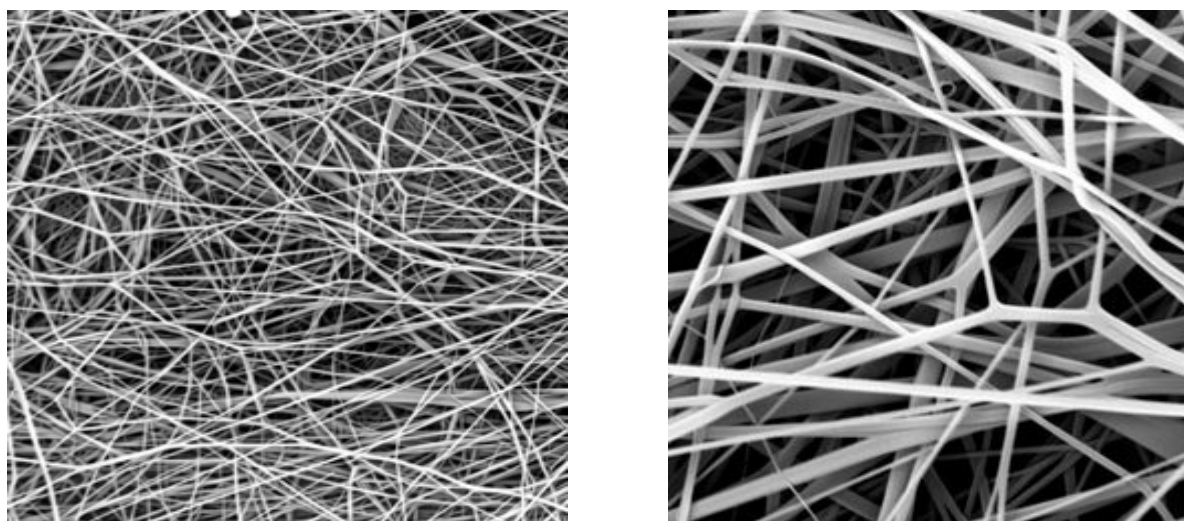
3.5.1. Experiment 1

V experimente 1 bol použitý koaxiálny laboratórny elektrospiner č.1, zobrazený a popísaný na (Obr.19). Pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní bol do elektrospineru dávkaný 12% PVA (polyvinylalkohol) tvoriaci plášť nanovláken a 12% PVA, zafarbený červeným farbivom, bol použitý k tvorbe jadra. Uzemnený koaxiálny elektrospiner bol pri zvlákňovacom procese umiestnený vertikálne a koaxiálna tryska smerovala kolmo na nabitý

kolektor. Vzdialenosť 10 cm sa javila ako najvhodnejšia z hľadiska toho, že pri menších vzdialenostiach koaxiálnej trysky od kolektoru dochádzalo k tvorbe mokrých miest na tvoriacej sa nanovlákennej vrstve na kolektore. Rýchlosť dávkovania bola riadená pomocou dvoch typov lineárnych púmp. S vytvorením jedného kónusu bol proces zvlákňovania stabilný pri napätí 25 kV, pričom rýchlosť dávkovania jednotlivých polymérov bola v jadre 0,3 ml/h a 0,5 ml/h v plášti. Tento pokus bol iba ukázkovým príkladom, ako dochádza k miešaniu polymérov pri zvlákňovaní, ktoré bolo vidieť na netkanej textílii označenej ako spun bond. Tá prekryvala kolektor, kde vytvorená nanovlákenná vrstva zmenila farbu, teda sa ukázalo, že zvlákňovalo jadro i plášť.

3.5.2. Vyrobená nanovlákenná vrstva

Vytvorená nanovlákenná vrstva v prvom experimente bola snímaná pomocou rastrovacieho elektrónového mikroskopu Vega. Zo zvlákňovanej vzorky boli vytvorené dva obrázky, kde jeden bol zväčšený 1 000 krát a druhý 5 000 krát. Príklad získaných snímok je na (Obr.21). Nie je dosť zreteľne spoznať bikomponentnú štruktúru nanovláken.



Obr.21: Vrstva nanovláken vyrobená na koaxiálnom elektrospineri č.1 a) zväčšená 1 000 krát, b) zväčšená 5 000 krát.

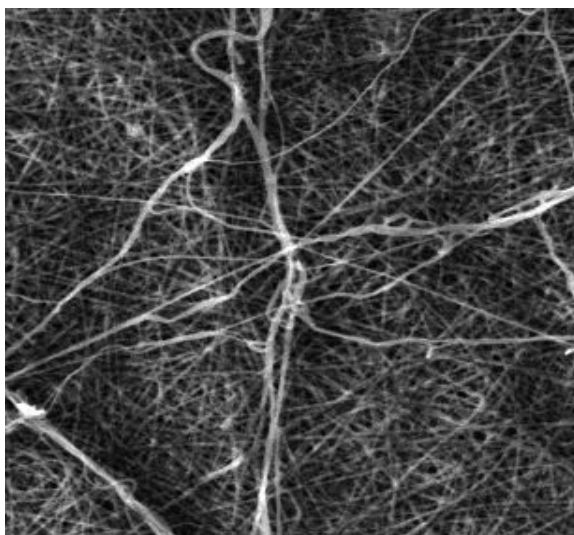
3.5.3. Experiment 2

Pri tomto experimente bol pokus opäť zopakovaný s použitím koaxiálneho laboratórneho elektrospineru č.1, pričom rozdiel spočíval v použitých polymérnych roztokoch. 5% PEO (polyethylenoxid) zmiešaný so strieborným práškom, ktorý bol zložený z dusičnanu strieborného (AgNO_3) tvoril jadro nanovláken a 12% PVA (polyvinylalkohol)

tvoriaci plášť. Umiestnenie uzemneného koaxiálneho elektrospineru od nabitého kolektoru bolo vertikálne, teda koaxiálna tryska smerovala hore vo vzdialenosti 10 cm. Zo začiatku bola rýchlosť dávkovania 0,2 ml/h v jadre a 0,5 ml/h v plášti, pričom dochádzalo k striedavému zvlákňovaniu pri napätí 28 kV a taktiež k vyradeniu lineárnych púmp z prevádzky. Ukázalo sa, že zvlákňovanie prebiehalo len do doby, kým sa vyčerpá celá kvapka polymérneho roztoku na hrotu kapiláry. Po nadávkovaní novej kvapky zvlákňovanie pokračovalo odznova. Aby sa dosiahol neprerušovaný proces, zvýšilo sa napätie a dávkovanie jednotlivých polymérov. Rýchlosť dávkovania sa upravila v jadre na 0,3 ml/h a v plášti 0,6 ml/h. Pri zvýšenom napätí 30 kV sa docielilo nepretržité zvlákňovanie a taktiež pri vysunutí vnútornej kapiláry o 1 mm pred koniec hrotu zvlákňovacej trysky, už nedochádzalo k nestálemu zvlákňovaniu a proces bol plynulejší.

3.5.4. Vyrobená nanovláknenná vrstva

Vytvorená nanovláknenná vrstva v tomto experimente bola opäť snímaná rastrovacím elektrónovým mikroskopom Vega. Príklad získanej snímky nanovláknenej vrstvy je na (Obr.22). Na základe výsledných snímok aj z predošlého experimentu nebolo dostatočne jasne rozpoznať štruktúru jadro – plášť. Tento typ mikroskopu nie je na to práve najvhodnejší, preto boli zvolené ďalšie metódy k detekcii bikomponentnej štruktúry nanovláken.



Obr.22: Vrstva nanovláken vyrobená na koaxiálnom elektrospineri č.1 zväčšená 2 000 krát.

3.5.5. Experiment 3

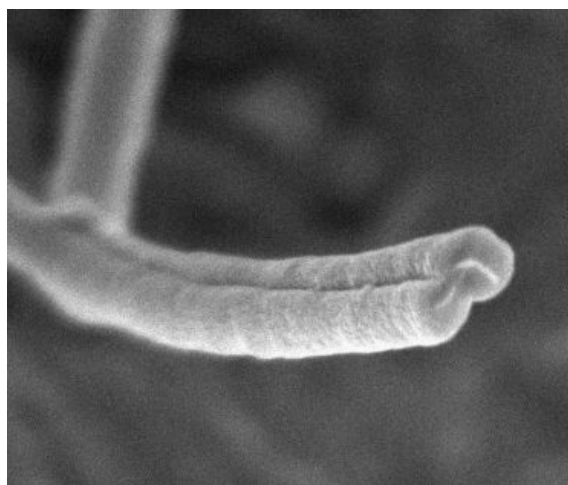
Nový súčasný koaxiálny laboratórny elektrospiner č.2, ktorý je popísaný na (Obr.20), bol použitý v experimente 3. Použité roztoky pri tomto koaxiálnom elektrostatickom

zvlákňovaní boli 12% PVA (polyvinylalkohol), ktorý tvoril plášť nanovláken a 5% PEO (polyetylenoxid), zafarbený červeným farbivom, tvoriaci jadro. Koaxiálny elektrospiner bol tak ako v predošlých experimentoch umiestnený vertikálne a vzdialenosť koaxiálnej trysky, ktorá smerovala kolmo na kolektor, bola 10 cm. Rýchlosť dávkovania bola opäť riadená pomocou lineárnych púmp. V priebehu zvlákňovania pri vysokých hodnotách elektrického napätia (nad 40 kV) dochádzalo k tomu, že i keď sa vytvorila stabilná kvapka, na základe ktorej sa dalo pozorovať dávkovanie plášťa a jadra súčasne, tak ako v predchádzajúcom pokuse aj tu došlo k jej rýchlemu vyzvlákneniu. Proces zvlákňovania síce prebiehal, ale nebol stabilný po celú dobu. Priebeh sa neustále opakoval, pričom zmena nastala pri regulovaní elektrického napätia a tým znížení jeho hodnôt. Stabilnejší postup sa dosiahol pri hodnote 30 kV, kde rýchlosť dávkovania pre jadro bola 0,1 ml/h a pre plášť 0,2 ml/h. Pri týchto nastavených hodnotách už nedochádzalo k ďalším problémom a s vytvorením jedného kónusu bolo zvlákňovanie plynulé po celú dobu.

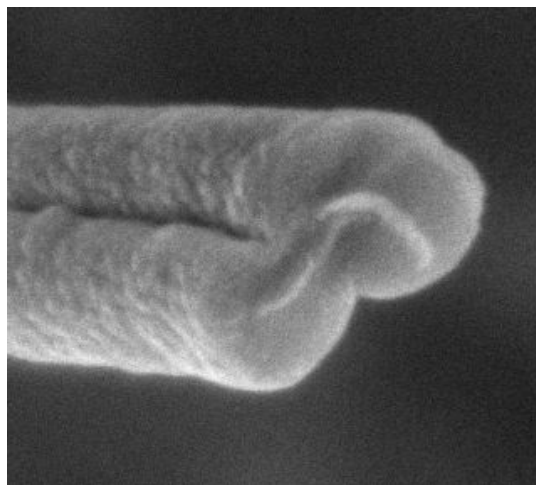
Zvlákňovanie s týmto typom elektrospineru sa ukázalo ako ľahšie nastaviteľné, rovnako aj samotný proces elektrostatického zvlákňovania bol stabilnejší.

3.5.6. Pričný rez

Pretože z výsledkov z predchádzajúcich experimentov sa nedala presne určiť bikomponentná štruktúra nanovláken, bol v tomto pokuse použitý pričný rez vyrobenej nanovlákennej vrstvy pomocou argónového iontového lúča. Príklad získaného pričného rezu nanovlákennej vrstvy je na (Obr.23), kde je vidieť nanovlátko so štruktúrou jadro – plášť. Naskytuje sa aj možnosť, že môže ísť taktiež o stopu po reze. Potrebovali by sme viac dôkazov pre určenie štruktúry bikomponentných nanovláken.



a)



b)

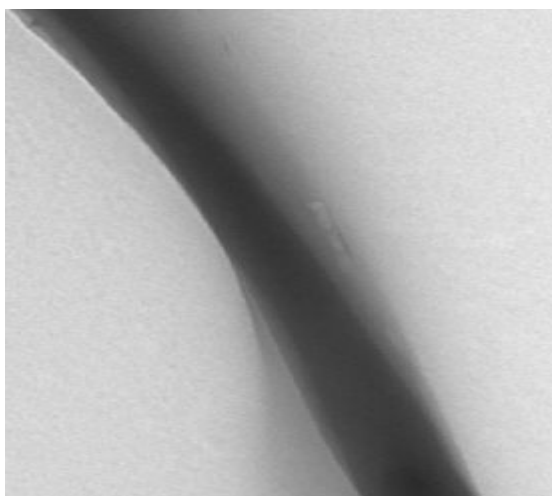
Obr.23: Priečny rez nanovlákennej vrstvy vyrobený na koaxiálnom laboratórnom elektrospineri č.2. a) priečny rez vrstvou zväčšený 65 000 krát, b) priečny rez vrstvou zväčšený 170 000 krát.

3.5.7. Experiment 4

V poslednom experimente pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní, bol použitý rovnaký koaxiálny laboratórny elektrospiner č.2, ako pri predošlom experimente. Líšil sa len druhom použitých polymérov. 10% PVA (polyvinylalkohol) zmiešaný s čiernymi nanočasticami, ktoré boli zložené z uhlíkového nanoprášku, tvoril jadro a 12% PVA bol použitý na tvorbu plášťa nanovláken. Umiestenie koaxiálnej trysky bola vo vzdialenosti 10 cm od nabitého kolektora. Rýchlosť dávkovania bola aj pri tomto pokuse riadená pomocou lineárnych púmp, kde rýchlosť dávkovania do jadra bola 0,3 ml/h a do plášťa 0,5 ml/h. Dávkovanie pri koaxiálnom elektrostatickom zvlákňovaní bolo rovnaké po celú dobu zvlákňovania a proces bol stabilný pri konštantnom napätí 32 kV s vytvorením jedného kónusu na špičke kapiláry. Kvapka bola po celú dobu nemenná a dalo sa presne spozorovať dávkovanie do jadra a plášťa zároveň.

3.5.8. Vyrobená nanovlákená vrstva

Vytvorená nanovlákená vrstva bola snímaná ďalšou metódou pre detekciu bikomponentnej štruktúry nanovláken a to pomocou transmisného elektrónového mikroskopu. Príklad získanej snímky je na (*Obr.24*), kde môžeme podobne ako v predposlednom experimente vidieť nanovlátko so štruktúrou jadro – plášť.



Obr.24: TEM snímka nanovlátkna so štruktúrou jadro – plášť (PVA s prídavkom uhlíkového nanoprášku/PVA) v rozsahu 500 nm.

4. DISKUSIA VÝSLEDKOV

Experiment 1

V experimente 1 bol použitý koaxiálny elektrospiner č.1 a problémy sa zo začiatku pri samotnom procese nevyskytovali. Zvlákňovanie bolo stabilné pri napätí 25 kV, pričom do koaxiálneho elektrospintera č.1 bol dávkovaný PVA a PVA zafarbený červeným farbivom. Tento pokus bol iba ukázkovým príkladom, kde dochádzalo k miešaniu polymérov. Vytvorená nanovlákná vrstva bola snímaná na rastrovacom elektrónovom mikroskope.

Experiment 2

V tomto experimente bol zvlákňovaný PVA a PEO dispergovaný s AgNO_3 vo forme malých častíc strieborného prášku, s použitím rovnakého elektrospinteru ako v experimente 1. Miestami dochádzalo k vyradeniu lineárnych púmp z prevádzky a k striedavému zvlákňovaniu. K tomu, aby sa dosiahol neprerušný proces, bolo potrebné upraviť napätie a hodnoty dávkovania jednotlivých polymérov. Regulovaním jednotlivých parametrov a vysunutím vnútornej kapiláry o 1 mm pred koniec hrotu zvlákňovacej trysky sa docielilo nepretržité zvlákňovanie. Vytvorená nanovlákná vrstva bola, ako v prvom experimente, snímaná na rastrovacom elektrónovom mikroskope, kde z výslednej snímky sa nepreukázala výroba bikomponentných nanovláken. V nasledujúcom experimente bol preto k identifikácii štruktúry jadro - plášť použitý priečny rez pomocou argónového iontového lúča.

Experiment 3

Na základe skúseností s koaxiálnym elektrospinerom č.1 bola navrhnutá konštrukcia elektrospinteru č.2, ktorý bol použitý v experimente 3. Rozdiel medzi koaxiálnym elektrospinerom č.1 a koaxiálnym elektrospinerom č.2 spočíval v zmenšenom priemere koaxiálnej trysky, čím dochádzalo k stabilnejšiemu zvlákňovaniu. V tomto experimente bol zvlákňovaný PVA a PEO, ktorý bol zafarbený červeným farbivom. Pri vysokých hodnotách elektrického napätia došlo k rýchlemu vyzvlákneniu kvapky a tým bol proces nestabilný. Upravením jednotlivých hodnôt napätia a na základe vnútorného predsavzatia kapiláry, ktoré bolo zhotovené na pevno, sa docielil nepretržitý proces. V druhej časti experimentu bol vyrobený priečny rez nanovlákennej vrstvy pomocou argónového iontového lúča, kde sa na jednej strane môžeme domnievať, že ide o nanovláknú štruktúru jadro – plášť, pričom na druhej strane môže ísť o stopu po reze. Z toho vyplýva, že by sme potrebovali viac dôkazov na preukázanie výroby bikomponentných nanovláken. V poslednom experimente bola preto

vytvorená nanovláknenná vrstva snímaná pomocou ďalšej metódy a to transmisným elektrónovým mikroskopom.

Experiment 4

Posledný experiment prebiehal na koaxiálnom elektrospinerom č.2 a k zvlákňovaniu bol použitý PVA a PVA dispergovaný s uhlíkovým nanopráškom vo forme malých nanočastíc čierneho prášku. Zvlákňovanie prebiehalo pomocou koaxiálneho elektrospineru č.2 a po celú dobu bolo stabilné. Dalo sa presne určiť dávkovanie do jadra a plášťa súčasne. V druhej časti experimentu bola vyrobená nanovláknenná vrstva analyzovaná pomocou transmisného elektrónového mikroskopu. Rovnako ako v predošlom experimente, aj tu sa naskytuje možnosť pozorovať nanovláknno s bikomponentnou štruktúrou.

5. ZÁVER

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo nielen navrhnúť konštrukciu koaxiálneho elektrospinnera, ale aj objasniť jeho použitie pri výrobe bikomponentných nanovláken v materiálovom inžinierstve. Čo sa týka konštrukcie koaxiálneho elektrospinnera, postupnými zmenami a vylepšeniami sa podarilo dosiahnuť najvyhovujúcejšiu funkčnosť. Vyrobené nanovláknenné vrstvy boli postupne skúmované vždy inou metódou pre detekciu bikomponentnej štruktúry nanovláken. Ako najefektívnejšou sa práve ukázalo vytvorenie priečného rezu pomocou argónového iónového lúča. Potrebovali by sme na to ale viac dôkazov. Po finančnej stránke je to veľmi nákladný proces, keďže vytvorené vzorky sú drahé.

Využitie koaxiálneho elektrospinnu je veľmi prospešné pre materiálové inžinierstvo, keďže bikomponentné nanovlákná majú veľmi široký okruh využitia. To v súčasnej dobe predstavuje najviac rozvíjajúcu sa oblasť nanotechnológií. Celkovo nanovlákná vďaka svojim špecifickým vlastnostiam majú mnoho využití. V medicíne ich možno použiť ku krytiu rán. Ich štruktúra je totiž veľmi podobná štruktúre bunkovej hmoty ľudského tkaniva. Látka prepúšťa kyslík, bráni vstupu baktériám, zaisťuje odtok zánetového výtoky z krvných ciest a môže na ich povrch naviazať antibakteriálne a hojenie urýchľujúce liečivá. Okrem toho môžu byť využité pre rekonštrukciu kože, kostí, ciev, svalov, ale aj nervového tkaniva, doručovania a riadeného uvoľňovania liečiv či buniek.

Nanomateriály resp. nanovlákná majú vedľa výhod taktiež jednu nevýhodu. Tou je práve skutočnosť, že nanovlákná zatiaľ nejde spracovávať na tkané textílie alebo pleteniny. Dopusiaľ vždy boli z nanovláken pripravené len netkané textílie s náhodným usporiadaním jednotlivých vláken. Pritom tkaniny s definovanou štruktúrou a v niektorých prípadoch i pleteniny môžu byť zaujímavé pre určité aplikácie v tkanivovom inžinierstve.

Táto bakalárska práca by mohla byť východnou pre ďalšie štúdium koaxiálneho zariadenia pre elektrostatické zvlákňovanie a jeho uplatnením pre vývoj tkanivových nosičov. Nasledujúca práca by mohla byť viac zameraná na ďalšie metódy detekcie štruktúry jadro – plášť. Ďalej by bolo vhodné zamerať sa na rôzne kombinácie polymérnych roztokov k vytvoreniu bikomponentnej štruktúry.

POUŽITÁ LITERATÚRA

- [1] Nanotechnologie, dostupné z www:
<http://csnmt.fme.vutbr.cz/OKO/2-6/>
- [2] Nanotechnologie, dostupné z www:
<http://cs.wikipedia.org/wiki/Nanotechnologie#Textiln.C3.ADnanotechnologie>
- [3] Růžičková, J., *Elektrostatické zvlákňování nanovláken*, Skripta TUL, 2006, ISBN 80-7083-867-1.
- [4] Acatay, K., Şimşek, E., Akel, M., Yusuf, Z., Menciloğlu, *Electrospinning of low surface energy quaternary ammonium salt containing polymers and their antibacterial activity*, Sabanci University, Material Science and Engineering Program, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Orhanli (34956), Turkey.
- [5] Vonnegut, B., Neubauer, R.L., Production of monodisperse liquid particles by electrical atomization, *Journal of Colloid Science*, **7**, Issue 6, 616-622 (1952).
- [6] Drozin, V.G., The electrical dispersion of liquids as aerosols, *Journal of Colloid Science*, **10**, Issue 2, 158–164 (1955).
- [7] Simons, H.L.: *US patent 3, 280, 299*, 1966.
- [8] Baumgarten, P.K., Electrostatic spinning of acrylic microfibers, *Journal of Colloid and Interface Science*, **36**, Issue 1, 71–79 (1971).
- [9] Reneker, D.H., Chun, I., Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning, *Nanotechnology*, **7**, Issue 3, 216–223 (1996).
- [10] Timothy, M. Grafe, Kristine, M. Graham, *Nanofiber Webs from Electrospinning*, Fifth International Conference, Stuttgart, Germany, 2003.
- [11] Electrospinnig, dostupné z www:
<http://web.mit.edu/rutledgegroup/projects/pastprojects/electrospinning.small.jpg>
- [12] Bergshoef, M.M., Vancso, G.J., Transparent Nanocomposites with Ultrathin, Electrospun Nylon–4,6 Fiber Reinforcement., *Advanced Materials*, **11**, Issue 16, 1362–1365 (1999).
- [13] Hohman, M.M., Shin, M., Rutledge, G., Brenner, M.P., Electrospinning and electrically forced jets. I. Stability theory, *Physics of Fluids*, **13**, Issue 8, 2201–2220 (2001).
- [14] Lukas, D. *et al.*, Physical Principles of electrospinning, Electrospinning as a Nano-scale Technology of the 21 st Century, *Textile Progress*, **41**, Issue 2, 59-140 (2009).

- [15] Jirsák, O., Růžičková, J., Lukáš, D., *Production and properties of nanofibres*, NANO 03, 2003, ISBN 80-214-2527-X.
- [16] Electrospinning and Polymer Nanofibers, dostupné z www:
<http://webpages.sdsmt.edu/~hfong/1.1.html>
- [17] Nanovlákná, dostupné z www:
<http://nano.tul.cz/assets/files/knt/thumb.html>
- [18] Huang, Z.M., Zhang, Y.Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S., A review on polymer nanofibers by elektrospinning and their applications in nanocomposites, *Composites Science and Technology*, **63**, Issue 15, 2223–2253 (2003).
- [19] Grafe, T., Graham, K., *Polymeric Nanofibers and Nanofiber Webs: A New Class of Nonwovens*, International Nonwovens Technical Conference, Atlanta, Georgia, 2002.
- [20] Formhals, A.: *US patent 1,975,504*, 1934.
- [21] Nanovlákná, dostupné z www:
<http://fyzmatik.pise.cz/83282-cesky-spiderman.html>
- [22] Loscertales, I.G., Barrero, A., Guerrero, I., Cortijo, R., Marquez, M., Gañán-Calvo, A.M., Mikro/Nano Encapsulation via Electrified Coaxial Liquid Jets, *Science Magazine*, **295**, Issue 5560, 1695-1698 (2002).
- [23] Sun, Z., Zussman, E., Yarin, A.L., Wendorff, J.H., Greiner, A., Compound core-shell polymer nanofibers by co-electrospinning, *Advanced Materials*, **15**, Issue 22, 1929-1932 (2003).
- [24] Yu, J.H., Fridrikh, S.V., Rutledge, G.C., Production of Submicrometer Diameter Fibers by Two-Fluid Electrospinning, *Advanced Materials*, **16**, Issue 17, 1562-1566 (2004).
- [25] Li, D., Xia, Y.N., Direct Fabrication of Composite and Ceramic Hollow Nanofibers by Electrospinning, *Nano Letters*, **4**, Issue 5, 933-938 (2004).
- [26] Zhang, Y., Huang, Z.M., Xu, X., Lim, C.T., Ramakrishna, S., Preparation of Core-Shell Structured PCL-r-Gelatin Bi-Component Nanofibers by Coaxial Electrospinning, *Chemistry of Materials*, **16**, Issue 18, 3406-3409 (2004).
- [27] Zhang, Y.Z., Venugopal, J.R., Huang, Z.M., Lim, C.T., Ramakrishna S., Characterization of the surface biocompatibility of the electrospun PCL-collagen nanofibers using fibroblasts, *Biomacromolecules*, **6**, Issue 5, 2583-2589 (2005).
- [28] Song T., Zhang Y.Z., Zhou T.J., Fabrication of magnetic composite nanofibers of poly(ϵ -caprolactone) with FePt nanoparticles by coaxial electrospinning, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **303**, Issue 2, 286-289 (2006).

- [29] Taylor cone, dostupné z www:
<http://yflow.com/?q=node/3>
- [30] Andradý A.L., *Science and Technology of Polymer Nanofibres*, Wiley, New Jersey, 2008.
- [31] Dersch, R., Graeser, M., Greiner, A., Wendorff, J.H., Electrospinnig of Nanofibres: Towards New Technique, Functions, and Applications, *Australian Journal of Chemistry*, **60**, Issue 10, 719-728 (2007).
- [32] Sun, B., Duan, B., Yuan X., Preparation of core/shell PVP/PLA ultrafine fibers by coaxial electrospinning, *Journal of Applied Polymer Science*, **102**, Issue 1, 39-45 (2006).
- [33] Jacoby, M., Hollow nanofibers in a single step, *Chemical & Engineering News*, **82**, Issue 17, 6 (2004).
- [34] Tkáňové inženýrství, dostupné z www:
<http://forum.czechmed.cz/?q=node/2089>
- [35] 21 století, dostupné z www:
<http://21století.cz/view.php?cisloclanku=2005100528>
- [36] Tkáňové inženýrství, dostupné z www:
http://bionova.com.au/Tissue_engineering_35.aspx
- [37] Smith, M., Fibrous scaffolds for tissue culturing, *Medical textiles*, Bolton Institute, UK, 173-174 (1999).
- [38] In vitro, dostupné z www:
http://en.wikipedia.org/wiki/In_vitro
- [39] In vivo, dostupné z www:
http://en.wikipedia.org/wiki/In_vivo
- [40] Regeneratívna medicína, dostupné z www:
<http://t3.ipmeadow.com/typo3/index.php?id=78>
- [41] Kuznetsov V., Some Background on the Russian Stem Cell Market, *Russia Blog*, Director of Equity Financing, FINAM Investment Company, Moscow (2007)
- [42] 21 století, dostupné z www:
<http://21století.cz/view.php?cisloclanku=2006072129>
- [43] Nanotechnologie, dostupné z www:
<http://nanotechnologie.cz/storage/nanotechnologie200610.pdf>
- [44] Sloviol[®] R, Datový list výrobku, Chemické závody a. s., Nováky, 2003.

- [45] Polyethylen glycol, dostupné z www:
http://en.wikipedia.org/wiki/Polyethylene_glycol
- [46] Dusičnan strieborný, dostupné z www:
http://cs.wikipedia.org/wiki/Dusi%C4%8Dnan_st%C5%99%C3%ADbrn%C3%BD
- [47] Injekčná pumpa, dostupné z www:
<http://polymed.cz/cz/pristrojova-technika/injekcni-pumpy/>
- [48] Infusion pump, dostupné z www:
<http://shellab.ca/catalog/en/kds100.html>
- [49] REM VEGA – dodatok k návodu
- [50] Rastrovací elektrónový mikroskop VEGA, dostupné z www:
http://www.ft.vslib.cz/depart/ktm/?q=cs/vyzkumna_cinnost
- [51] Transmisná elektrónová mikroskopia, dostupné z www:
http://rumcajs.fjfi.cvut.cz/fyzport/FT/2004/Difrakce/05_Karlik_CsCAsFyz_manu.pdf
- [52] Transmisný elektrónový mikroskop, dostupné z www:
http://www.labimex.cz/pristroje_a_zastoupeni_firem/hitachi.html
- [53] Transmisný elektrónový mikroskop, dostupné z www:
<http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/3.0.html#>
- [54] M. Shibata, S. Asahina, T. Negishi, *Proc. 8 APEM*, (Kanazawa, 2004) p. 258
W. Hauffe, *Electron Microscopy*, Vol. 2, EUREM 92, Granada, Spain, 1992