

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JERNEJ PAČNIK

**VPLIV VISKOZNOSTI POLIMERNIH RAZTOPIN IN RELATIVNE  
VLAŽNOSTI OKOLJA NA MORFOLOGIJO NANOVLAKEN,  
IZDELANIH Z METODO ELEKTROSTATSKEGA SUKANJA**

**THE EFFECT OF POLYMER SOLUTIONS VISCOSITY AND  
RELATIVE HUMIDITY OF THE ENVIRONMENT ON THE  
MORPHOLOGY OF ELECTROSPUN NANOFIBERS**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2016

Magistrsko nalogo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom doc. dr. Petre Kocbek, mag. farm. SEM analize je izvedla doc. dr. Petra Kocbek na Kemijskem inštitutu.

### **Zahvala**

Najprej bi se želel zahvaliti prof. dr. Saši Baumgartner, mag. farm., da mi je omogočila raziskovalno delo na področju nanovlaken. Hvala tudi mentorici doc. dr. Petri Kocbek, mag. farm., za strokovno pomoč, nasvete, hitro odzivnost in potrpežljivost pri izdelavi magistrske naloge.

Hvala staršema, da sta mi omogočila študij in me med študijem podpirala.

Velik hvala tebi, Eva, za vse besede in dejanja podpore in predvsem za tvoje potrpljenje.

### **Izjava**

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom doc. dr. Petre Kocbek, mag. farm.

Jernej Pačnik

# VSEBINA

<b>VSEBINA</b> .....	<b>III</b>
<b>POVZETEK</b> .....	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VI</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	<b>VII</b>
<b>1 UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1 Nanovlakna .....	1
1.2 Metode za izdelavo nanovlaken.....	1
1.2.1 Samozdruževanje.....	2
1.2.2 Ločitev faz .....	2
1.2.3 Elektrostatsko sukanje .....	3
1.3 Polimeri za izdelavo nanovlaken .....	6
1.3.1 Hitosan (CS) .....	7
1.3.2 Polivinilalkohol (PVA).....	8
1.3.3 Polietilenoksid (PEO).....	9
1.4 Uporaba nanovlaken .....	10
1.4.1 Tkivno inženirstvo.....	10
1.4.2 Celjenje ran.....	11
1.4.3 Dostava učinkovin .....	11
1.4.4 Vezava encimov .....	12
1.4.5 Izdelava zaščitnih oblačil.....	13
1.4.6 Filtracija.....	13
1.5 Viskoznost polimernih raztopin in izdelava nanovlaken .....	14
1.5.1 Reologija.....	14
<b>2 NAMEN DELA</b> .....	<b>17</b>
<b>3 MATERIALI IN METODE</b> .....	<b>18</b>
3.1 Materiali .....	18
3.1.1 Polimeri za izdelavo nanovlaken.....	18
3.1.2 Topila za pripravo polimernih raztopin .....	18
3.2 Naprave .....	18
3.3 Metode .....	19
3.3.1 Priprava polimernih raztopin .....	19
3.3.2 Merjenje reoloških lastnosti.....	20
3.3.3 Elektrostatsko sukanje .....	21

3.3.4	Vrednotenje izdelanih nanovlaken .....	22
<b>4</b>	<b>REZULTATI IN RAZPRAVA .....</b>	<b>23</b>
4.1	Polietilenoksid (PEO) .....	23
4.1.1	Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PEO .....	23
4.1.2	Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PEO .....	25
4.2	Polivinilalkohol (PVA) .....	27
4.2.1	Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PVA.....	27
4.2.2	Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PVA.....	29
4.3	Polietilenoksid/hitosan (PEO/CS).....	31
4.3.1	Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PEO/CS .....	31
4.3.2	Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PEO/CS .....	35
4.4	Polivinilalkohol/hitosan (PVA/CS) .....	38
4.4.1	Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PVA/CS.....	38
4.4.2	Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PVA/CS .....	42
<b>5</b>	<b>SKLEP.....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>46</b>

## POVZETEK

Nanovlakna so vlakna, katerih premer se giblje v nanometrskem velikostnem razredu, njihova dolžina pa je teoretično neomejena. Izdelana so iz različnih polimerov in imajo zaradi majhnega premera zelo veliko specifično površino na enoto volumna, majhno velikost por in večjo prožnost v primerjavi z istimi materiali večjih dimenzij. Na njihove lastnosti lahko vplivamo z izbiro različnih polimerov in procesnih spremenljivk.

Namen magistrske naloge je bil proučiti vpliv viskoznosti polimernih raztopin in relativne vlažnosti okolja na morfologijo polimernih nanovlaken, izdelanih z metodo elektrostatskega sukanja. Pri eksperimentalnem delu smo uporabili tri različne hidrofilne polimere; hitosan, polivinilalkohol in polietilenoksid. Kot topilo smo pri pripravi polimernih raztopin uporabili razredčeno raztopino očetne kisline (3 %, v/v). V prvem delu naloge smo pripravili polimerne raztopine posameznih polimerov in raztopine iz kombinacij dveh različnih polimerov v masnem razmerju 1:1. Tako pripravljene raztopine smo nato reološko ovrednotili z rotacijskimi testi. V nadaljevanju smo polimerne raztopine elektrostatsko sukali pri različnih vrednostih relativne vlažnosti okolja in ovrednotili morfologijo nastalega produkta z vrstičnim elektronskim mikroskopom.

Rezultati so pokazali, da oba proučevana parametra (viskoznost in relativna vlažnost) vplivata na morfologijo produkta elektrostatskega sukanja. Ugotovili smo, da v primeru vseh pripravljenih polimernih raztopin viskoznost polimernih raztopin narašča z večanjem masnega deleža polimera v raztopini. V primeru raztopin, sestavljenih iz zmesi dveh različnih polimerov (polietilenoksid/hitosan in polivinilalkohol/hitosan), smo ugotovili, da je viskoznost polimernih raztopin, ki vsebujejo kombinacijo dveh polimerov, večja kot vsota viskoznosti posameznih polimerov. Ta trend se je izrazito pokazal v primeru raztopin polietilenoksid/hitosan, pri raztopinah polivinilalkohol/hitosan pa je bil manj izrazit. Z večanjem viskoznosti polimernih raztopin se je večala tudi debelina nastalih nanovlaken, izjema so bila le nanovlakna, pripravljena iz raztopin zmesi polietilenoksid/hitosan. Prav tako smo v primeru vseh izdelanih nanovlaken ugotovili, da se debelina nastalih nanovlaken z višanjem relativne vlažnosti okolja v katerem izvajamo elektrostatsko sukanje manjša, saj topilo pri nižjih vrednostih relativne vlažnosti okolja hitreje izpareva, posledica tega pa so debelejša nanovlakna.

**Ključne besede:** polimerna nanovlakna, elektrostatsko sukanje, viskoznost, relativna vlažnost

## **ABSTRACT**

Nanofibers are fibers with diameters within the nanometer-size range, while their length is theoretically unlimited. They are produced from various polymers and, due to their small diameter, have a very large specific surface area per volume unit, a small pore size and higher elasticity as compared to the same materials of larger dimensions. Their properties can be affected by selecting various different polymers and process variables.

The purpose of this Master's thesis was to explore the effect of polymer solution viscosity and relative humidity of the environment on the morphology of polymer nanofibers produced by electrospinning. Three different hydrophilic polymers have been used in our research, namely chitosan, polyvinyl alcohol and polyethylene oxide. A dilute solution of acetic acid (3%, v/v) was used as the solvent in the preparation of polymer solutions. In the first part, we prepared polymer solutions of individual polymers, and solutions from combinations of two different polymers in a weight ratio of 1:1. Polymer solutions were rheologically evaluated by rotational tests. Further on, we electrospun the polymer solutions at different relative humidities of the environment and assessed the morphology of the product using scanning electron microscopy.

Results have shown that both examined parameters (viscosity and relative humidity) affect the morphology of the electrospun product. We have established that in all investigated polymer solutions the viscosity of the solutions increases with the increased mass fraction of the polymer in the solution. As to the solutions of polymer blends (polyethylene oxide/chitosan and polyvinyl alcohol/chitosan), we have established that the viscosity of polymer blend solutions is higher than the sum of the viscosities of the solutions of individual polymers. This trend could distinctly be observed in the case of the polyethylene oxide/chitosan solutions, but was less pronounced in case of the polyvinyl alcohol/chitosan solutions. By increasing the viscosity of the polymer solutions, the thickness of the electrospun nanofibers also increased, the only exception being nanofibers prepared from polyethylene oxide/chitosan solutions. We have also established that thickness of the prepared nanofibers decreased with the increasing relative humidity of the environment, in which the spinning was conducted. This is due to the fact that at low relative humidity of the environment the solvent evaporates more quickly, which results in thicker nanofibers.

**Keywords:** polymer nanofibers, electrospinning, viscosity, relative humidity

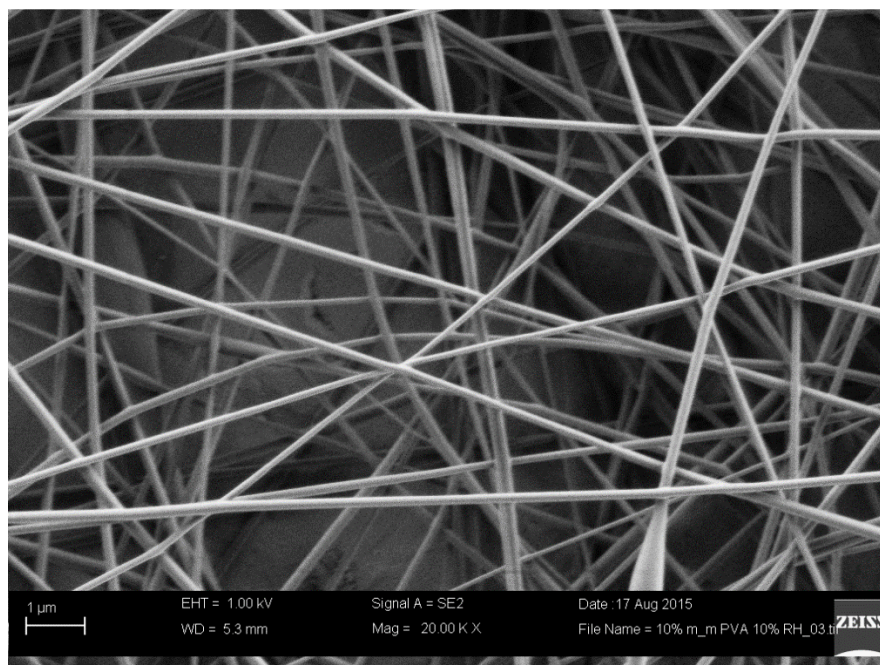
## SEZNAM OKRAJŠAV

SEM	vrstični elektronski mikroskop
3D	tridimenzionalno
CS	hitosan
PVA	polivinilalkohol
PEO	polietilenoksid
$M_r$	molekulska masa
RH	relativna vlažnost
SD	standardni odklon
DNA	deoksiribonukleinska kislina
PLA	polimlečna kislina
PCL	poli( $\epsilon$ - kapro) lakton
kV	kilovolt
Pas	Pascal sekunda

# 1 UVOD

## 1.1 Nanovlakna

Izraz nanovlakna (primer izdelanih nanovlaken je prikazan na Sliki 1) označuje vlakna, katerih premer se giblje v nanometrskem velikostnem razredu, njihova dolžina pa je teoretično neomejena. Zaradi izjemno majhnega premera imajo značilne lastnosti, kot so zelo velika površina na enoto volumna, majhna velikost por (velika poroznost nanovlaken) in specifične mehanske lastnosti (prožnost/togost). Na lastnosti nanovlaken lahko vplivamo z izbiro različnih polimerov in procesnih spremenljivk. Zaradi vseh naštetih lastnosti se nanovlakna vse bolj uporabljajo na številnih področjih, kot so kemija, tekstilna industrija, farmacija in biomedicina (1-4).



**Slika 1:** Nanovlakna, slikana z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).

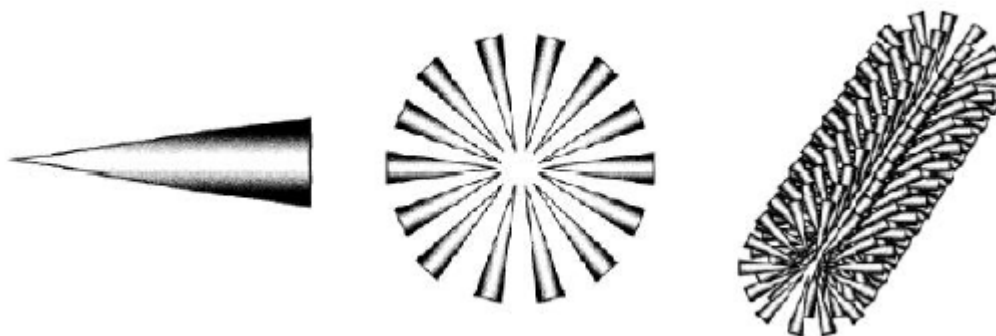
## 1.2 Metode za izdelavo nanovlaken

Običajne metode za predelavo polimerov ne omogočajo izdelave nanovlaken. Zaradi tega je prišlo do raziskav in razvoja novih metod za izdelavo nanovlaken, ki so se izkazale kot uspešne za uporabo v praksi (7) in so predstavljene v nadaljevanju: samozdruževanje, ločitev faz in elektrostatsko sukanje.



### 1.2.1 Samozdruževanje

Samozdruževanje je spontana organizacija posameznih komponent v urejeno in stabilno strukturo (slika 2). Gre za precej zapleten laboratorijski postopek, omejen na malo konfiguracij polimerov (diblok kopolimeri, triblok kopolimeri, amfifilni peptidi in dendrimeri). Najpogosteje se za izdelavo nanovlaken s to metodo od navedenih polimerov uporabljajo amfifilni peptidi.



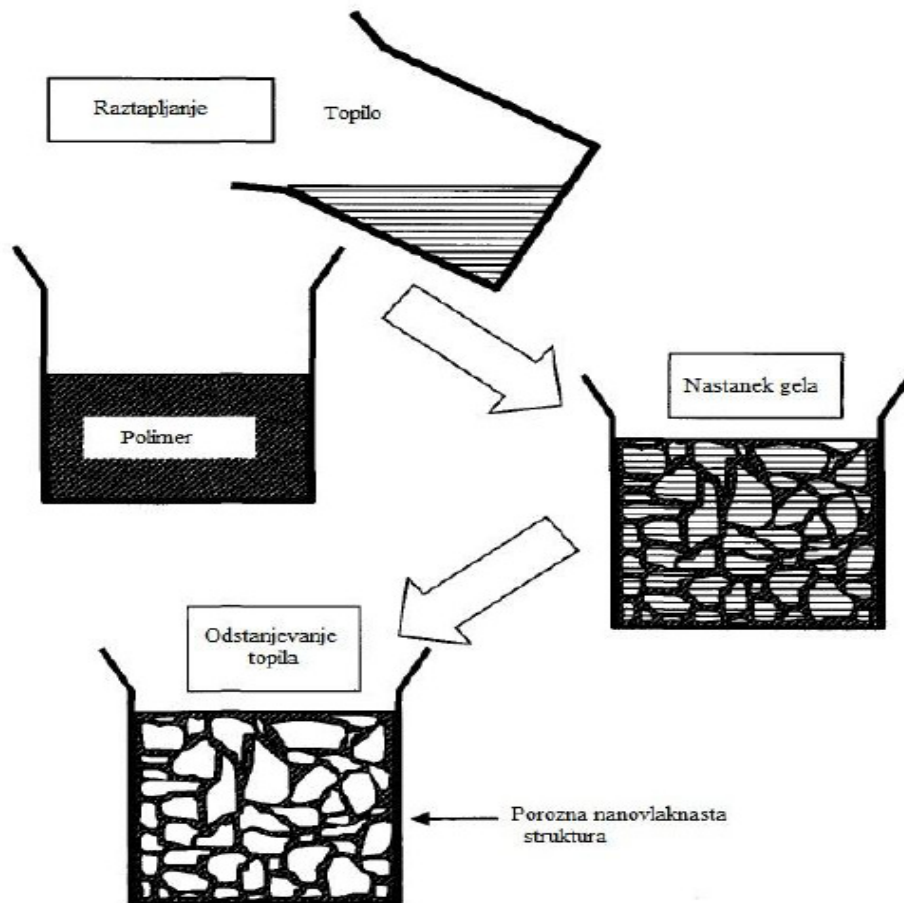
**Slika 2:** Nastanek nanovlaken (na sliki desno) s samozdruževanjem monomerov (na sliki levo). Na sliki v sredini je predstavljen prečni prerez zgradbe nanovlakna (8).

### 1.2.2 Ločitev faz

Ločitev faz je metoda, ki se že vrsto let uporablja za izdelavo poroznih polimernih membran. Gre za termodinamsko ločitev polimerne raztopine na dve fazi: fazo, bogato s polimerom in fazo, revno s polimerom. Ločitev faz lahko sprožimo z dovajanjem toplote (najpogostejša metoda) ali pa z dodatkom netopila polimerni raztopini, da nastane gel. Za ekstrakcijo (odstranjevanje) topila iz gela se nato uporabi voda; gel ohladimo pod temperaturo steklastega prehoda polimera in liofiliziramo, da dobimo nanovlakna (7).

Poroznost tako izdelane mreže nanovlaken lahko uravnavamo z dodajanjem različnih porogenov (npr. anorganske soli, parafinske sfere) polimernim raztopinam med postopkom ločitve faz (7). To omogoča učinkovit nadzor velikosti por med posameznimi nanovlakni, ki tvorijo mrežo, in medsebojnih povezav med nanovlakni.

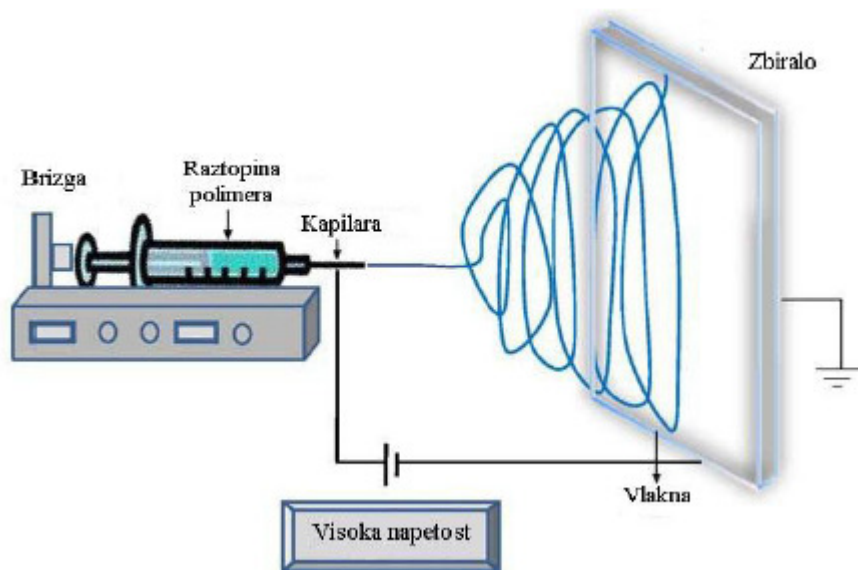
Metoda ločitve faz je prikazana na sliki 3. Gre za enostavno metodo, ki ne zahteva veliko specializirane opreme. Omogoča enostavno ponovljivost serij in vplivanje na lastnosti vlaken s spreminjanjem koncentracij polimera in porogena. Metoda je omejena le na majhno število polimerov in je primerna samo za laboratorijsko uporabo (7).



**Slika 3** Izdelava nanovlaken z metodo ločitve faz (prirejeno po (8)).

### 1.2.3 Elektrostatsko sukanje

Proces, ki za izdelavo vlaken izkorišča elektrostatske sile, je poznan že več kot 100 let (4). Področje elektrostatskega sukanja je prvi podrobneje proučeval Zeleny (leta 1914), temelje procesa, kot ga poznamo in uporabljamo danes in je predstavljen v nadaljevanju, pa je postavil Taylor (leta 1969) (2).

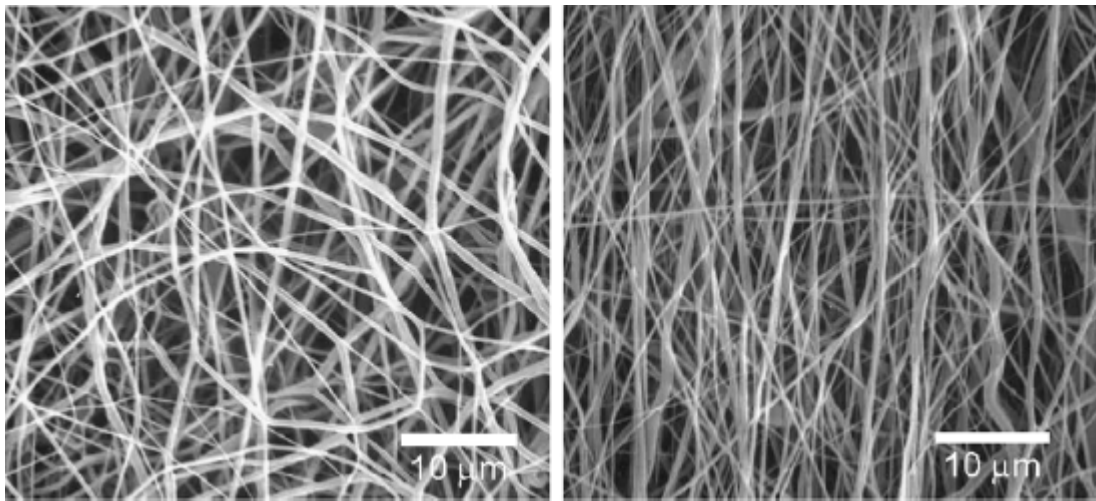


**Slika 4:** Shematski prikaz naprave za elektrostatsko sukanje (prirejeno po (2)).

Elektrostatsko sukanje (ang. *electrospinning*) je proces uporabe elektrostatske sile, s pomočjo katere raztopino/talino polimera pretvorimo v fina vlakna, ki jih zbiramo na ozemljenem zbiralu. Tekočo fazo polimera iztisnemo skozi konico igle s konstantno hitrostjo, ki jo zagotavlja črpalka. Na konici igle nastanejo kapljice, ki prosto kapljajo iz igle. Ko v raztopino polimera potopimo elektrodo visoke napetosti (ali pa jo priklopimo neposredno na iglo, če je ta kovinska) se v raztopini polimera pojavi naboj. Dvig jakosti električnega polja povzroči odbojne sile med enakimi naboji v raztopini in hkrati privlačne sile z nasprotno nabitim zbiralom, kar vodi v raztezanje curka tekočine in podaljševanje kapljice na konici igle. Z nadaljnjim večanjem jakosti električnega polja dosežemo točko, ko se vpliv elektrostatskih sil izenači s površinsko napetostjo tekočine, pri čemer nastane tako imenovani Taylorjev stožec. Če dvignemo električno napetost nad to točko se z vrha stožca odcepi curek, ki potuje proti ozemljenemu zbiralu. Na poti od igle do zbirala je curek izpostavljen velikim nestabilnostim, ki jih povzročajo elektrostatske sile, sila zračnega upora, teža, površinska napetost, odbojne sile med enakimi naboji v curku in viskoelastične sile. Zaradi tega se podaljšata čas in dolžina poti curka, hkrati pa ravno to omogoča tanjšanje curka in izparevanje topila. Na ozemljenem zbiralu se nalagajo trdna polimerna nanovlakna debeline od nekaj mikrometrov do nekaj deset nanometrov (4, 9, 10).

Trenutno obstajata dva standardna načina za izvedbo elektrostatskega sukanja, navpičen in vodoraven (2, 9). V osnovi za elektrostatsko sukanje potrebujemo tri glavne komponente:

generator visoke napetosti, šobo (kapilaro) in ozemljeno zbiralo (slika 4). Za potiskanje tekočine skozi majhen premer kapilare najpogosteje uporabljamo črpalko, redkeje pa tudi gravitacijsko silo (v primeru navpične izvedbe procesa) ali stisnjen plin. Različna so tudi zbirala na katera se nalagajo nanovlakna. Največ se uporablja stacionarna plošča, na kateri se nanovlakna naključno razporedijo. Od drugih zbiral velja omeniti še vrteči boben, na katerem se zberejo urejena nanovlakna (slika 5) (4).



**Slika 5:** Neurejena (naključno urejena) (levo) in urejena (desno) nanovlakna (7).

Kljub temu, da je metoda elektrostatskega sukanja relativno enostavna, obstajajo številni procesni dejavniki, ki so podrobneje predstavljeni v preglednici I in lahko bistveno vplivajo na nastanek in strukturo vlaken. Najpomembnejši med njimi so uporabljena napetost, hitrost pretoka raztopine, razdalja med kapilaro in zbiralom, vrsta zbirala in pogoji okolja (temperatura, relativna vlažnost). Poleg procesnih dejavnikov pa na lastnosti dobljenih vlaken vplivajo tudi lastnosti polimerne raztopine, kot so koncentracija, molekulska masa polimera, viskoznost, površinska napetost in prevodnost (2, 4).

**Preglednica I:** Dejavniki elektrostatskega sukanja (lastnosti raztopine, procesa in okolja) in njihovi vplivi na lastnosti nanovlaken (2)

<b>Dejavnik</b>	<b>Vpliv na lastnosti vlaken</b>
<i>Lastnosti raztopine</i>	
Viskoznost	Manj tvorbe vozlov, povečanje premera vlaken z naraščanjem viskoznosti raztopin
Koncentracija	Povečanje premera vlaken z dvigom koncentracije
Molekulska masa	Zmanjšanje števila vozlov in kapljic s povečanjem molekulske mase polimera
Prevodnost	Zmanjšanje premera vlaken s povečanjem prevodnosti
Površinska napetost	Ni prepričljivih dokazov o vplivu na lastnosti vlaken, povečanje površinske napetosti pa povzroča nestabilen curek
<i>Proces</i>	
Napetost	Zmanjšanje premera vlaken s povečanjem napetosti
Razdalja med kapilaro in zbiralom	Nastanek vozlov, če je razdalja premajhna ali prevelika, za enotna vlakna je potrebna minimalna razdalja, ki omogoča, da se nastala vlakna na poti od kapilare do zbirala posušijo
Hitrost pretoka	Zmanjšanje premera vlaken z zmanjšanjem hitrosti pretoka, nastanek vozlov pri preveliki hitrosti pretoka
<i>Okolje</i>	
Vlažnost	Z višanjem vlažnosti se poveča tudi pojavnost majhnih por na površini vlaken, z nadaljnjim višanjem vlažnosti pa se lahko majhne pore pričnejo tudi združevati; zelo nizka vlažnost lahko v kombinaciji s povišano temperaturo povzroči tudi zelo hitro izparevanje topila, kar lahko vodi v zamašitev kapilare.
Temperatura	Povišanje temperature vpliva na zmanjšanje premera vlaken

### 1.3 Polimeri za izdelavo nanovlaken

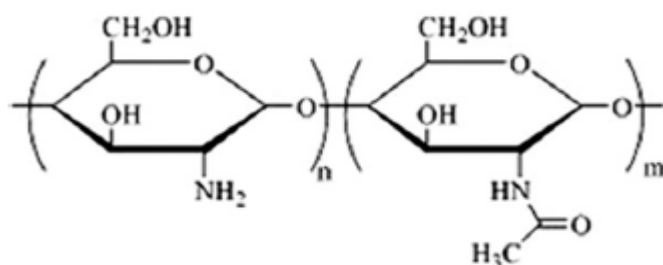
Za izdelavo nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja se uporabljajo različni polimeri, naravni, sintezni in zmesi obojih. Sintezni polimeri omogočajo več modifikacij, saj imajo v primerjavi z naravnimi polimeri boljše lastnosti, ki so pomembne za izdelavo nanovlaken z

elektrostatskim sukanjem (viskoelastičnost, trdnost), hkrati pa omogočajo lažje doseganje želene hitrosti razgradnje. Njihova glavna pomanjkljivost v primerjavi z naravnimi polimeri pa je manjša afiniteta do celic, saj jih celice ne prepoznajo. Med naravne polimere na primer sodijo tudi proteini, zaradi česar lahko imajo lastno sposobnost za vezavo celic. Naravni polimeri v primerjavi s sinteznimi izkazujejo manjšo imunogenost in so zato primernejši za uporabo v klinični praksi, glavni problem pri njihovi uporabi pa je lahko delna denaturacija, ki nastopi v postopku pridobivanja vlaken z elektrostatskim sukanjem (2, 11). Tipični naravni polimeri, ki se uporabljajo za izdelavo nanovlaken so polisaharidi (npr. celuloza, hitin, hitosan, dekstroza), proteini (npr. kolagen, želatina, svila), DNA in tudi nekateri derivati biopolimerov (11). Sintezni polimeri, zlasti biorazgradljivi, so pritegnili posebno pozornost predvsem zato, ker se z njihovo uporabo lahko izognemo drugemu kirurškemu posegu, ki je namenjen odstranitvi vsajenega bionerazgradljivega nadomestka. Med najpogosteje uporabljane sintezne polimere uvrščamo polimlečno kislino (PLA), poli( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL) in polietilenoksid (11), uporablja pa se tudi polivinilalkohol (12).

V nadaljevanju so podrobneje predstavljeni polimeri, ki smo jih uporabljali pri našem raziskovalnem delu.

### 1.3.1 Hitosan (CS)

CS je glavni derivat hitina (13). Je biokompatibilen, biorazgradljiv, naraven polimer, ki se uporablja v biomedicini in kozmetiki (2). Osnovna gradnika CS sta glukozamin in N-acetilglukozamin (slika 6). Gre za kationski polimer, ki ima eno amino skupino in dve hidroksilni skupini v ponavljajočem glikozidnem ostanku (14). Nastaja z delno deacetilacijo hitina, ki je gradnik celičnih sten nekaterih gliv in zunanje ogrodje škampov, jastogov in rakovic (14, 15, 16).



**Slika 6:** Kemijska struktura CS (14).

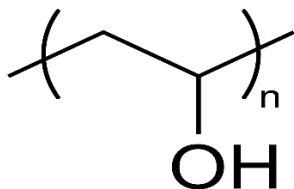
Kot naravni poliaminosaharid ima številne lastnosti, ki so značilne za biomateriale: fiziološka inertnost, antibakterijske lastnosti, velika afiniteta do proteinov, ugodne lastnosti za tvorbo gela in učinkovito keliranje ionov težkih kovin (13).

CS omogoča nadzorovano sproščanje zdravilnih učinkovin, obenem pa zaradi svoje topnosti v šibko kislem mediju med procesom izdelave ne zahteva uporabe nevarnih organskih topil. Zaradi tega se veliko uporablja v razvoju sistemov za dostavo zdravilnih učinkovin. Uporablja se tudi za pripravo mukoadhezivnih formulacij, izboljšanje topnosti težko topnih učinkovin, ciljano dostavo zdravilnih učinkovin in za izboljšanje absorpcije peptidov (14).

Izdelava nanovlaken iz čistega CS z metodo elektrostatskega sukanja je izredno zahtevna. Šele po letu 2004 so nekateri znanstveniki uspeli narediti takšna nanovlakna, pri čemer pa so uporabili relativno visoke koncentracije polimerne raztopine in CS z nizko molekulsko maso, raztopljen v organskih topilih kot sta trifluoroocetna kislina ali 1,1,1,3,3,3-heksafluoro-2-propanol. Žal pa lahko CS z nizko molekulsko maso vpliva na manjšo biološko aktivnost vgrajenih zdravilnih učinkovin, prisotnost ostankov organskih topil pa omejuje uporabo takšnih nanovlaken v farmaciji. Znanstveniki se zaradi tega bolj osredotočajo na razvoj nanovlaken iz zmesi CS z drugimi kompatibilnimi polimeri, kot sta PVA in PEO (2, 17).

### 1.3.2 Polivinilalkohol (PVA)

PVA je semi-kristalni, hidrofilni, sintezni polimer z dobro kemijsko in termično stabilnostjo. Sestavljajo ga enostavne monomerne enote vinilalkohola (slika 7). Zaradi njegovih pozitivnih lastnosti je predmet številnih raziskav (20). Je biokompatibilen, nestrupen in ima veliko prepustnost za vodo. Enostavno se lahko obdeluje, saj je topen v vodi, kjer takoj reagira s premreževalnimi sredstvi in tvori gel (12, 26). Do tvorbe gela prihaja zaradi ločitve faz in kristalizacije PVA v razredčenih raztopinah (18).



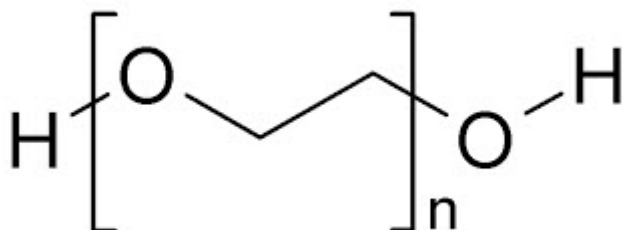
**Slika 7:** Kemijska struktura PVA.

Kemijska odpornost in fizikalne lastnosti PVA so pripeljale do njegove široke uporabe v industriji. Uporablja se na področjih kot so medicina, kozmetika, prehrambena, farmacevtska in pakirna industrija, izdelava tekstila, lepil, premazov in barv. Lastnosti PVA lahko z dodatkom drugih sestavin tudi izboljšamo ali spremenimo. Fizikalne lastnosti PVA pa so za razliko od drugih polimerov v veliki meri odvisne od metode priprave. Na končne lastnosti tako vplivajo pogoji polimerizacije polivinilacetata, pogoji hidrolize, sušenje in mletje (19, 20, 26).

Pozitivne lastnosti PVA omogočajo njegovo uporabo v kombinaciji z drugimi materiali, predvsem z namenom izboljšati njihove fizikalne lastnosti. Omogoča enostavno izdelavo vlaken in se veliko uporablja v raziskovalne namene. Številni avtorji poročajo o uspešni izdelavi nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja raztopin PVA ali raztopin PVA v kombinacijah z drugimi polimeri (4, 9, 15, 26).

### 1.3.3 Polietilenoksid (PEO)

PEO je neionski polimer, sestavljen iz etilenoksidnih skupin (slika 8). PEO smole se pridobivajo s katalitično polimerizacijo etilenoksida, običajno ob prisotnosti kovinskih katalizatorjev (21, 22, 23).



**Slika 8:** Kemijska struktura PEO.

PEO se uporablja na številnih področjih, natančno področje njegove uporabe pa je odvisno od njegove molekulske mase, ki se giblje od 200 do  $7 \times 10^6$  g/mol. Tisti z nižjimi molekulskimi masami so pri sobni temperaturi viskozne tekočine, ki se pogosto uporabljajo pri oblikovanju zdravil (mazila, supozitориjske podlage, kot maziva pri oblikovanju in proizvodnji tablet), v kozmetiki (kreme, losjoni) in kot vlažilci. Z naraščanjem molekulske mase so lastnosti PEO vse bolj podobne lastnostim voskov. Uporabljajo se kot flokulanti za fino razpršene trdne snovi v vodi, glavno področje njihove



uporabe pa je priprava hidrofilnih ogrodnih sistemov in hidrogelov, ki se lahko uporabljajo kot obloge za rane (21, 22).

PEO je polimer, ki ima dobre lastnosti za izdelavo nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja. Je eden od najpogosteje uporabljenih polimerov za izdelavo nanovlaken; pogosto se dodaja drugim polimerom, ki sami ne omogočajo izdelave nanovlaken (npr. CS, alginat, hialuronska kislina). Nanovlakna iz PEO imajo elastične lastnosti in so ustrezna za uporabo pri regeneraciji mehkih tkiv, kot je koža (1, 24, 25).

## 1.4 Uporaba nanovlaken

Zaradi ugodnih lastnosti se nanovlakna lahko uporabljajo na številnih področjih, kar nazorno prikazuje slika 9.



**Slika 9:** Področja uporabe nanovlaken (prirejeno po (2)).

### 1.4.1 Tkivno inženirstvo

Tkivno inženirstvo je interdisciplinarna veda, ki združuje področje biologije, kemije in tehnike z namenom razvoja novih metod in načinov za obnovo tkiv. Pri tem gre za uporabo bioloških materialov, celic in rastnih dejavnikov, bodisi samostojno ali v kombinacijah, pri čemer želimo doseči obnovo, ohranitev ali pa izboljšanje funkcije tkiva (2, 5).

Postopek vključuje izolacijo zdravih celic in njihovo *in vitro* namnožitve. Namnožene celice nato nasadijo na tridimenzionalni (3D) biorazgradljiv tkivni nadomestek, ki zagotavlja strukturno podporo namnoženim celicam, lahko pa služi tudi kot rezervoar za bioaktivne molekule, kot so rastni dejavniki. Tak tkivni nadomestek se postopoma razgradi, nadomesti pa ga novo tkivo, ki nastane z razrastom nasajenih celic (5).

Ključnega pomena pri tkivnem inženirstvu so biomateriali, ki služijo kot 3D sintezna ogrodja (bolj poznani kot nadomestki ali matrice), namenjeni pritrjevanju, širjenju in rasti celic, kar postopoma vodi do tvorbe novega tkiva. Razvili so številne pristope za izdelavo 3D tkivnih nadomestkov na osnovi biomaterialov; v zadnjem času pa se v ta namen vse bolj proučujejo tudi nanovlakna (5).

Razvoj nanovlaken je odprl številne nove možnosti za izdelavo tkivnih nadomestkov, ki lahko posnemajo zgradbo človeškega tkiva. Velika površina glede na enoto mase skupaj s poroznostjo mreže nanovlaken omogoča celicam pritrjevanje, širjenje, in razmnoževanje, kar so glavni cilji tkivnega inženirstva. Trenutne raziskave na tem področju so usmerjene v procese izdelave, vrednotenja in uporabe nanovlaken kot nadomestkov v tkivnem inženirstvu (4, 5).

#### **1.4.2 Celjenje ran**

Idealna obloga za rane naj bi zmanjšala bolečino in možnost okužbe, preprečila prevelike izgube tekočine, vzdrževala vlažno okolje v rani, spodbujala obnovo epitelija; hkrati pa mora biti biokompatibilna. Ustrezno se mora prilagati področju rane in zagotavljati enostavno uporabo in odstranjevanje z namenom zagotoviti pacientu čim večje udobje (6).

Kot material za takšne obloge se proučujejo tudi polimerna nanovlakna. S pomočjo električnega polja lahko fina biorazgradljiva polimerna vlakna nanesimo na nosilec, ki predstavlja sodobno oblogo za rano. Pri tem nastane obloga iz vlaken, ki spodbuja normalno celjenje kože in prepreči nastanek brazgotine, ki bi nastala ob uporabi tradicionalnih metod zdravljenja (1). Obloge za rane na osnovi nanovlaken imajo običajno pore velikosti 500 nm, pa vse tja do enega  $\mu\text{m}$ , kar je dovolj, da preprečijo vdor bakterij iz zraka v rano; velika površina nanovlaken pa omogoča učinkovito absorpcijo tekočine iz rane (1).

#### **1.4.3 Dostava učinkovin**

Dostava zdravil bolnikom na zanje čimbolj prijazen način je od nekdaj zelo pomembno vodilo v razvoju zdravil. V splošnem velja, da manjša kot je velikost delcev zdravilne

učinkovine, bolje se takšno zdravilo absorbira. Dostava zdravil s polimernimi nanovlakni temelji na načelu, da se hitrost raztapljanja določene učinkovine povečuje z večanjem njene površine in površine dostavnega sistema (v našem primeru so to polimerna nanovlakna) (1).

Velika površina, ki jo zagotavljajo nanovlakna, omogoča hitro in učinkovito izparevanje topila pri samem procesu izdelave. Omejen čas za rekristalizacijo učinkovine tako omogoča tvorbo amorfnih disperzij ali trdnih raztopin učinkovine v polimernem ogrodju, kar običajno vodi v večjo hitrost raztapljanja vgrajene zdravilne učinkovine (2).

Nadzorovano sproščanje učinkovin, z določeno hitrostjo in v določenem času, lahko dosežemo z biokompatibilnimi polimernimi dostavnimi sistemi. Polimerna nanovlakna se tako pogosto uporabljajo kot nosilci za dostavo učinkovin, saj omogočajo doseganje sproščanja zdravil na nadzorovan način (2).

Elektrostatsko sukanje kot najpogosteje uporabljena metoda izdelave nanovlaken omogoča širok izbor materialov za izdelavo nanovlaken za dostavo zdravilnih učinkovin. Uporabimo lahko biorazgradljive ali bionerazgradljive materiale, s katerimi vplivamo tudi na način sproščanja učinkovine. Le-ta se lahko sprošča le z difuzijo ali z difuzijo in razgradnjo polimernega ogrodja. S širokim naborom materialov, iz katerih lahko izdelujemo nanovlakna, lahko omogočimo dostavo različnih učinkovin, kot so na primer antibiotiki, protitumorne učinkovine, proteini in DNA. Z različnimi tehnikami elektrostatskega sukanja lahko učinkovino vgradimo v nanovlakna na različne načine (v polimerno ogrodje nanovlaken, v jedro ali v oblogo nanovlaken), kar omogoča tudi nadzor kinetike sproščanja učinkovine iz nanovlaken (4).

#### **1.4.4 Vezava encimov**

Vezava encimov na inerten in netopen material je področje, ki se aktivno proučuje z namenom izboljšanja funkcionalnosti in učinkovitosti encimov za uporabo na različnih področjih (npr. biokataliza). Izkazalo se je, da imajo vezani encimi številne prednosti, kot so možnost ponovne uporabe, boljši nadzor nad reakcijami in večja stabilnost. Učinkovitost vezanih encimov je odvisna predvsem od lastnosti in strukture nosilnih materialov. Porozni nosilci omogočajo večjo vezavo encimov na nosilec, hkrati pa omogočajo boljšo difuzijo substratov in produktov ter povečajo katalitično sposobnost vezanih encimov. Nosilci z naštetimi lastnostmi so lahko nanovlakna (2).

Encime lahko vežemo na dva načina: bodisi na površino nanovlaken ali v nanovlakna z metodo elektrostatskega sukanja. Kljub raziskavam na tem področju pa težave še vedno

povzročajo predvsem nizka katalitična učinkovitost in stabilnost encimov, težave pri proizvodnji večjih serij in majhno število metod za vrednotenje kakovosti nanovlaken z encimi (2).

#### **1.4.5 Izdelava zaščitnih oblačil**

Idealna zaščitna obleka naj bi imela lastnosti kot so majhna masa, zračnost tkanine, prepustnost za zrak in vodno paro, netopnost v vseh topilih in velika odpornost proti strupenim kemikalijam (2)

Nanovlakna, izdelana z metodo elektrostatskega sukanja, omogočajo izdelavo zaščitnih oblek z zgoraj navedenimi lastnostmi. Velika poroznost nanovlaken omogoča zračnost in filtracijo škodljivih delcev iz ozračja, zaradi velike specifične površine pa so takšna nanovlakna odporna na prodiranje škodljivih kemičnih snovi v obliki aerosolov. Razvoj takšnih zaščitnih oblačil poteka v smeri, da bi bila sposobna nevtralizirati kemična sredstva brez vpliva na prepustnost zaščitne obleke za zrak in vodno paro (2).

#### **1.4.6 Filtracija**

Uporaba filtrov je zelo pomembna na številnih tehničnih področjih. Tkani materiali, ki se uporabljajo za izdelavo filtrov, zagotavljajo visoko učinkovitost filtracije in nizek zračni upor. Bistvenega pomena za učinkovitost filtracije je velikost vlaken, ki sestavljajo membrano filtra. V industriji se proučujejo in razvijajo filtri, ki bodo sposobni zadržati vse oljne kapljice in zagotavljati čist zrak. Nanovlakna so se pri razvoju filtrov izkazala kot učinkovit material za izdelavo takšnih filtrov (1).

Polimerna nanovlakna se na področju izdelave filtrov uporabljajo že več kot desetletje. Kanali in strukturni elementi filtrov morajo za učinkovito filtracijo ustrezati velikosti delcev ali kapljic, ki jih želimo v filtru zadržati. Pri zagotavljanju tega pogoja so v veliko pomoč edinstvene lastnosti nanovlaken, izdelanih z metodo elektrostatskega sukanja, ki omogoča izdelavo nanovlaken zelo majhnega premera (2).

Velika specifična površina na enoto volumna v filtrih iz nanovlaken zagotavlja zelo gost preplet vlaken, ki preprečuje prehod drobnim delcem velikostnega razreda manj od 0,5 milimetra. Takšna nanovlakna se tako uspešno uporabljajo pri izdelavi visoko zmogljivih zračnih filtrov (2).

## 1.5 Viskoznost polimernih raztopin in izdelava nanovlaken

Viskoznost polimernih raztopin je eden od najpomembnejših dejavnikov pri procesu izdelave nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja. Pomembno namreč vpliva na velikost in morfologijo nastalih nanovlaken. Višja kot je viskoznost polimernih raztopin, manj vozlov nastane (9), obenem pa sta premer nastalih vozlov in razdalja med njimi pri večji viskoznosti polimernih raztopin večja (10).

Raztopine z zelo nizko viskoznostjo zaradi nestabilnosti oz. »razpada« curka polimerne raztopine na kapljice zaradi vpliva površinske napetosti (še preden le-ta doseže zbiralo) ne omogočajo izdelave nanovlaken. Po drugi strani tudi zelo viskozne polimerne raztopine onemogočajo izdelavo nanovlaken, saj takšne raztopine povzročajo mašenje kapilare. Za izdelavo nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja je zato zahtevana optimalna viskoznost polimernih raztopin (2, 4).

Viskoznost polimernih raztopin je v tesni povezavi z njihovo koncentracijo (4, 10), zato smo v okviru magistrske naloge pripravili polimerne raztopine različnih koncentracij, da bi natančno proučili povezavo med viskoznostjo polimernih raztopin in produktom elektrostatskega sukanja.

### 1.5.1 Reologija

Reologija je veda o obnašanju tokov in deformaciji materiala pod vplivom delovanja strižne sile (27). Začetki segajo v 17. stoletje, ko je bil izpeljan Hookov zakon, ki določa, da je strižna napetost linearno sorazmerna strižni deformaciji, pri čemer je proporcionalni faktor med strižno napetostjo in strižno deformacijo elastični strižni modul ( $G$ ). Kmalu za tem je Newton izpeljal zakon, ki pravi, da je odpor tekočine proti toku pri enostavnem strigu linearno sorazmeren hitrosti strižnega toka oziroma hitrosti strižne deformacije. Faktor proporcionalnosti v tem primeru je »newtonska« viskoznost (27). Definicija reologije je torej podana kot proučevanje obnašanja snovi (tekočine, poltrdne ali trdne) pod vplivom strižne sile v območju delovanja Newtonovega in Hookovega zakona (27).

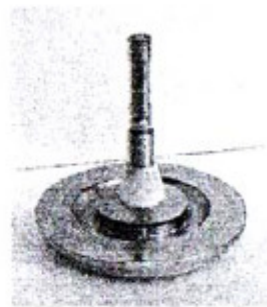
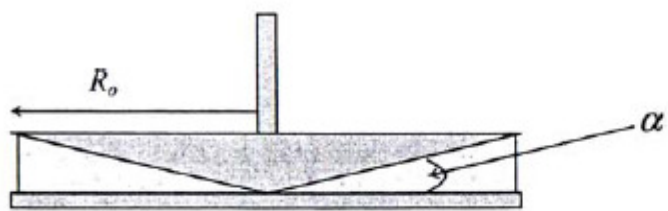
Reologija omogoča vrednotenje mehanskih lastnosti predvsem tekočin in poltrdnih snovi ter viskoelastičnih trdnih snovi. S poznavanjem reoloških lastnosti snovi lahko sledimo kemijskim reakcijam, omogočen je vpogled v strukturo različnih polimerov. Razlagamo lahko tudi različne pojave koloidnih sistemov. Reološke lastnosti snovi so pomembne v vseh fazah različnih industrijskih procesov (27).

Pri proučevanju reoloških lastnosti sistemov merimo naslednje količine: (i) strižna napetost – velikost sile, s katero delujemo na določeni površini vzorca. (ii) strižna deformacija – stopnja, do katere se material deformira. (iii) razmerje med strižno napetostjo in strižno deformacijo, ki opredeljuje elastični strižni modul ( $G$ ) za trdne snovi oziroma razmerje med strižno napetostjo in hitrostjo strižne deformacije (ali pretok), ki opredeljuje viskoznost za tekočino. Velik zaplet predstavlja dejstvo, da ima večina materialov tako viskozne kot elastične lastnosti. Posledično so lastnosti materialov, kot sta elastični modul in viskoznost nekonstantne, ampak so funkcije časa, sile, smeri, v kateri sila deluje itd. (27, 28).

Večina realnih tekočin, med katere uvrščamo tudi polimerne raztopine, izkazuje tako viskozne kot tudi elastične lastnosti – take realne tekočine imenujemo viskoelastične. Z merjenjem mehanskih lastnosti takšnih snovi lahko določimo delež viskoznega in elastičnega doprinosa k viskoelastičnemu odzivu tekočine ali poltrdne snovi. Pri teh meritvah je pomembno, da jih izvajamo pri pogojih majhnih strižnih deformacij, saj lahko tako zagotovimo, da se bo snov na delovanje strižne sile odzvala v območju linearnega viskoelastičnega odziva. Reološke količine so v tem primeru relativno enostavno merljive. Meritve torej izvajamo pri t.i. nedestruktivnih strižnih pogojih (27).

Informacije o viskoznosti proučevanega sistema nam dajejo rotacijski testi. Merilni sistem je sestavljen iz dveh delov, od katerih lahko eden miruje in drugi rotira ali pa oba dela rotirata. Poznamo reometre z nastavljivo strižno hitrostjo in z nastavljivo strižno napetostjo. Novejši so reometri z nastavljivo strižno napetostjo, ki omogočajo tudi natančnejše meritve v širšem območju delovanja striga. Rotirajoči del senzorskega sistema poganja motor s predhodno nastavljeno vrednostjo navora, električni vnos moči pa je z vrednostjo navora linearno povezan. Odpor vzorca med senzorskim sistemom proti uporabljeni strižni napetosti povzroča odmik rotorja od začetne lege, ali pa, da se rotor vrti z določeno kotno hitrostjo. Na osnovi geometrijskih karakteristik senzorskega sistema lahko izračunamo strižno deformacijo ali strižno hitrost (27).

Eden najpogosteje uporabljenih senzorskih sistemov je sistem stožca in plošče (slika 10), pri katerem se vzorec nahaja v reži med njima. Sistem omogoča enostaven nanos vzorca in čiščenje merilnega sistema, prav tako pa so za meritve potrebne majhne količine vzorca. Strižna hitrost in napetost sta ob majhnem kotu stožca ( $\alpha < 4^\circ$ ) po celotni reži enaki (27).



**Slika 10:** Senzorski sistem stožca in plošče.

## 2 NAMEN DELA

Kljub številnim raziskavam na področju izdelave nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja, sam proces še vedno ni v celoti poznan. Na lastnosti izdelanih nanovlaken vplivajo številni procesni parametri in tudi lastnosti samih polimernih raztopin. V okviru magistrske naloge bomo proučili vpliv viskoznosti polimernih raztopin in relativne vlažnosti okolja na morfologijo polimernih nanovlaken, izdelanih z metodo elektrostatskega sukanja. Pri eksperimentalnem delu bomo uporabili tri različne hidrofilne polimere: CS, PVA in PEO. Kot topilo pri pripravi polimernih raztopin bomo uporabili razredčeno raztopino očetne kisline (3 %, v/v). Viskoznost polimernih raztopin bomo spreminjali s spreminjanjem koncentracije polimerov v raztopinah, saj je le-ta v tesni povezavi z njihovo viskoznostjo. V prvem delu naloge bomo pripravili polimerne raztopine posameznih polimerov v določenem koncentracijskem območju in raztopine iz kombinacij dveh različnih polimerov v različnih masnih razmerjih. Tako pripravljene raztopine bomo nato reološko ovrednotili.

V nadaljevanju bomo poskušali proučiti vpliv izmerjenih parametrov na tvorbo nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja. Nanovlakna bomo poskusili izdelati pri različnih vrednostih relativne vlažnosti ter nato ovrednotili morfologijo produkta elektrostatskega sukanja in uspešnost procesa elektrostatskega sukanja s pomočjo vrstične elektronske mikroskopije.



## 3 MATERIALI IN METODE

### 3.1 Materiali

#### 3.1.1 Polimeri za izdelavo nanovlaken

- hitosan nizke molekulske mase, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija
- polietilenoksid (PEO)  $M_r = 900.000$  g/mol, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija
- polivinilalkohol (PVA), Mowiol 20-98<sup>®</sup>,  $M_r = 125.000$  g/mol, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija

#### 3.1.2 Topila za pripravo polimernih raztopin

- prečiščena voda, pripravljena na UL – Fakulteti za farmacijo
- očetna kislina, koncentrirana, Merck, Darmstadt, Nemčija

### 3.2 Naprave

- analitska tehtnica, Mettler toledo AG245, Schwerzenbach, Švica
- magnetno mešalo, IKA WERKE, Nemčija
- magnetno mešalo z grelcem, IKA WERKE, Nemčija
- vrstični elektronski mikroskop, Supra 35 VP, Carl Zeiss, Švica
- reometer Physica MCR 301, Anton Paar<sup>®</sup>, Graz, Avstrija
- naprava za elektrostatsko sukanje, predstavljena na sliki 11:
  - generator visoke napetosti, HVG-P60-R-EU, Linari Engineering s.r.l., Italija
  - črpalka, model R-99-E, Razel Scientific, ZDA
  - kovinska igla, notranji premer 0,8 mm
  - plastična brizga, 20 mL, B. Braun
  - zbiralo: plastičen nosilec, ovit v aluminijasto folijo
  - plastična komora za vzdrževanje relativne vlažnosti v prostoru



**Slika 11:** Aparatura za elektrostatsko sukanje. 1 – generator visoke električne napetosti, 2 – plastična komora, 3 – črpalka, 4 – kovinska igla, 5 – zbiralo (povzeto po (29)).

### 3.3 Metode

#### 3.3.1 Priprava polimernih raztopin

Pripravili smo polimerne raztopine izbranih polimerov v različnih koncentracijskih območjih, ki smo jih določili na podlagi literaturnih podatkov in predhodnih eksperimentov.

Pripravili smo 1 %, 2 %, 3 %, 8 % in 10 % (m/m) raztopino PVA. Natehtali smo preračunano količino PVA z molekulsko maso 125.000 g/mol in jo prenesli v na 90 °C segreti 3 % (v/v) raztopino očetne kisline. V njej se je PVA ob konstantnem mešanju in segrevanju postopoma v celoti raztopil. Tako pripravljene raztopine PVA smo nato ohladili in jih pustili mešati še nadaljnjih 24 h pri sobni temperaturi.

Pripravili smo tudi polimere raztopine zmesi PVA in CS, kjer smo najprej na enak način kot je opisano zgoraj pripravili raztopine PVA. Ko so se raztopine PVA ohladile, smo jim dodali preračunano količino CS. Pripravljene raztopine smo pustili mešati na magnetnem mešalu še 24 h pri sobni temperaturi. Pripravili smo 4 %, 5 % in 6 % (m/m) polimerne raztopine zmesi PVA/CS v enakih masnih razmerjih obeh polimerov (50 %/50 %, m/m).

Raztopine PEO in CS smo pripravili tako, da smo v čašo z magnetnim mešalom natehtali ustrezno količino 3 % (v/v) raztopine očetne kisline, kateri smo nato med mešanjem dodajali preračunano količino PEO ali CS. Tako pripravljene raztopine smo pustili mešati na magnetnem mešalu še 24 h pri sobni temperaturi.

Pripravili smo 1 %, 2 %, 3 % in 4 % (m/m) raztopine PEO ter 1 %, 2 % in 3 % (m/m) raztopine CS. Na enak način smo pripravili tudi polimerne raztopine zmesi PEO in CS.

Natehtani količini 3 % (v/v) raztopine očetne kisline smo postopoma dodajali natehtano zmes PEO in CS, dokler se nista v celoti raztopila. Tako pripravljene raztopine smo pustili mešati na magnetnem mešalu še 24 h pri sobni temperaturi. Pripravili smo 4 % in 5 % (m/m) raztopino PEO/CS v enakem masnem razmerju obeh polimerov.

### 3.3.2 Merjenje reoloških lastnosti

Reološke lastnosti polimernih raztopin smo merili z reometrom Physica MCR 301 – senzorski sistem stožec – plošča (slika 12). Delali smo s polimernimi raztopinami, ki smo jih pripravili 24 h pred meritvami. Meritve viskoznosti smo opravili v dveh paralelkah. V obeh paralelkah smo pripravljenim polimernim raztopinam trikrat pomerili viskoznost in kot rezultat podali povprečne vrednosti šestih meritev.

Pri meritvah viskoznosti smo izvajali rotacijske teste za vrednotenje viskoznosti. Meritve smo izvajali pri konstantni temperaturi 20 °C z merilnim sistemom stožec – ploščica CP50-2 (kot stožca 2.001°, polmer stožca 24,981 mm). Na spodnjo ploščo smo nanесли približno 1,5–2 mL proučevane polimerne raztopine in približali stožec do merilnega položaja – razmik med ploščo in stožcem je znašal 0,209 mm.



**Slika 12:** Reometer Anton Paar, Physica MCR 301 (30)

Merili smo viskoznost v odvisnosti od strižne hitrosti. Strižna hitrost se je spreminjala od  $1-100 \text{ s}^{-1}$  v časovnem intervalu 200 sekund in nato v naslednjem 200 sekundnem intervalu nazaj od  $100-1 \text{ s}^{-1}$ . Med seboj smo primerjali vrednosti viskoznosti v začetnih točkah, saj je pri nižjih strižnih hitrostih vpliv obremenitve na sistem minimalen. Iz oblike viskoznostnih krivulj smo dobili vpogled v reološko obnašanje sistemov.

### 3.3.3 Elektrostatsko sukanje

Pri elektrostatskem sukanju smo uporabili plastično brizgo s prostornino 20 mL na katero smo pritrdili kovinsko iglo z notranjim premerom 0,8 mm. Brizgo smo približno do polovice napolnili z vzorcem polimerne raztopine in iz nje odstranili vse zračne mehurčke. Napolnjeno brizgo smo nato vstavili v črpalko, na kateri smo uravnali hitrost pretoka polimerne raztopine. Na kovinsko iglo smo pritrdili visokonapetostni kabel, ki je bil povezan z generatorjem visoke napetosti. S pomočjo lepilnega traku smo na plastični nosilec pritrdili aluminijasto folijo, kar je predstavljalo zbiralo za nanovlakna. Zbiralo smo postavili na ustrezno razdaljo od konice igle in ga ozemljili. Tik pred vklopom generatorja visoke napetosti smo obrisali kapljico na konici kovinske igle, da ne bi prišlo do motenj pri procesu elektrostatskega sukanja. Nastajanje nanovlaken smo opazovali s pomočjo svetilke; videli smo razpršen curek polimerne raztopine, na aluminijasti foliji pa nastajanje bele lise, ki je predstavljala nastala nanovlakna. Postopek smo izvajali v zaprti komori in pri pogojih, ki smo jih prilagodili posamezni polimerni raztopini in so prikazani v preglednici II.

**Preglednica II:** Pogoji izdelave nanovlaken.

Polimerna raztopina	Pretok (mL/h)	Razdalja od konice igle do zbirala (cm)	Napetost (kV)
2 % m/m PEO	0,637	18	20
4 % m/m PEO	0,637	18	20
4 % m/m PEO / CS	0,707	18	21
5 % m/m PEO / CS	0,495	18	21
8 % m/m PVA	0,637	15	15
10 % m/m PVA	0,637	15	15
4 % m/m PVA / CS	1,63	18.5	25
5 % m/m PVA / CS	1,63	18.5	25
6 % m/m PVA / CS	1,63	18.5	25

### **3.3.4 Vrednotenje izdelanih nanovlaken**

Izdelana nanovlakna smo ovrednotili s SEM. Iz področja na foliji, kjer so se zbrala nanovlakna, smo izrezali majhen košček folije z nanovlakni in ga s pomočjo pincete in obojestranskega prevodnega lepilnega traku prilepili na nosilec za SEM. Slike smo posneli pri pospeševalni napetosti 1 kV z uporabo detektorja za sekundarne elektrone. Dobljene slike smo analizirali s pomočjo računalniškega programa ImageJ (1.51a, National Institutes of Health, ZDA). Premer nanovlaken smo izmerili na vzorcu minimalno 50 naključno izbranih nanovlaken na sliki posneti pri 50.000–kratni povečavi. Prav tako smo na slikah posnetih pri isti povečavi in na vsaj 20 različnih nanovlaknih pomerili tudi premer vozlov. Premer nanovlaken in vozlov smo merili pravokotno na potek vlakna.

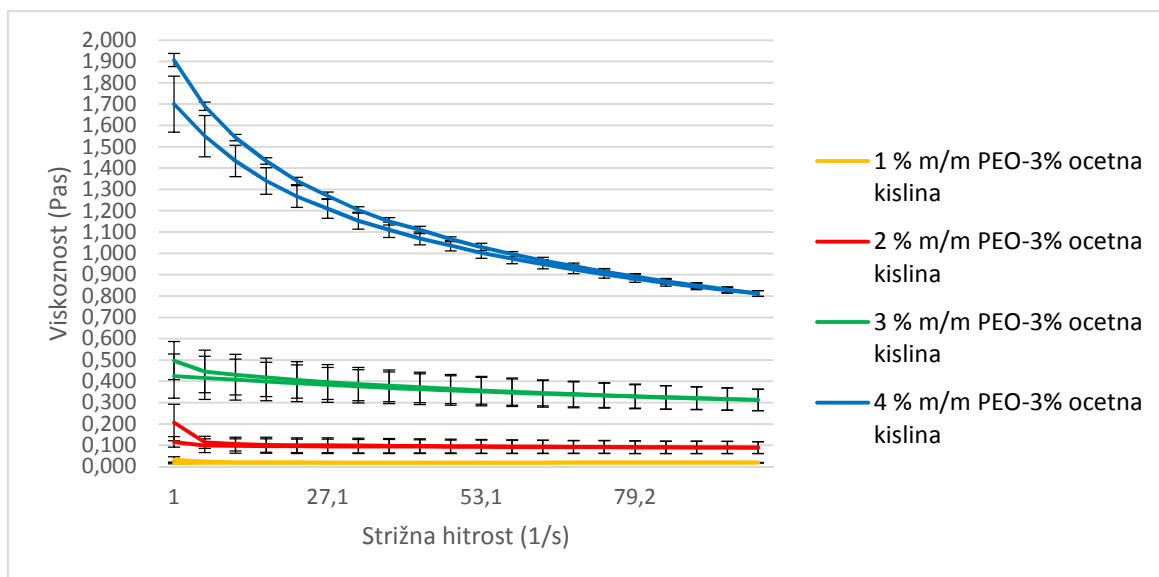
## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Pripravljenim polimernim raztopinam različnih polimerov in v različnih koncentracijskih območjih smo najprej izmerili viskoznost z rotacijskimi testi. Viskoznost polimernih raztopin je namreč eden od najpomembnejših parametrov pri izdelavi nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja, saj pomembno vpliva na morfologijo nastalih nanovlaken (2, 4). Če viskoznost polimernih raztopin ni ustrezna (prenizka ali previsoka), z metodo elektrostatskega sukanja ni mogoče pripraviti nanovlaken, zato smo poskušali z meritvami ugotoviti, kakšna viskoznost polimernih raztopin omogoča izdelavo nanovlaken. Da bi se izognili vplivu staranja vzorcev na lastnosti polimernih raztopin oz. da bi bil vpliv staranja na vse vzorce enak, smo vsem pripravljenim polimernim raztopinam viskoznost izmerili 24 h po njihovi pripravi.

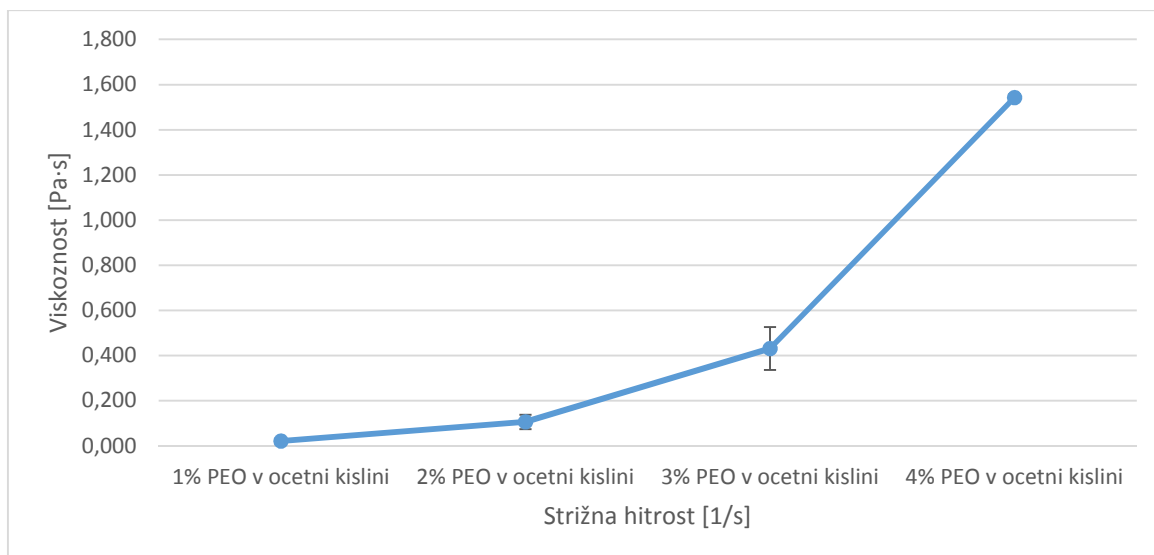
### 4.1 Polietilenoksid (PEO)

#### 4.1.1 Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PEO

Pripravili smo raztopine PEO z različnimi vsebnostmi polimera, od 1 % (m/m) do 4 % (m/m). Pripravljenim raztopinam smo najprej izmerili viskoznost. Rezultati so prikazani na slikah 13 in 14.



**Slika 13:** Viskoznosti raztopin PEO v odvisnosti od strižne hitrosti. Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).



**Slika 14:** Viskoznosti raztopin PEO, izmerjene pri strižni hitrosti  $11,4 \text{ s}^{-1}$ .

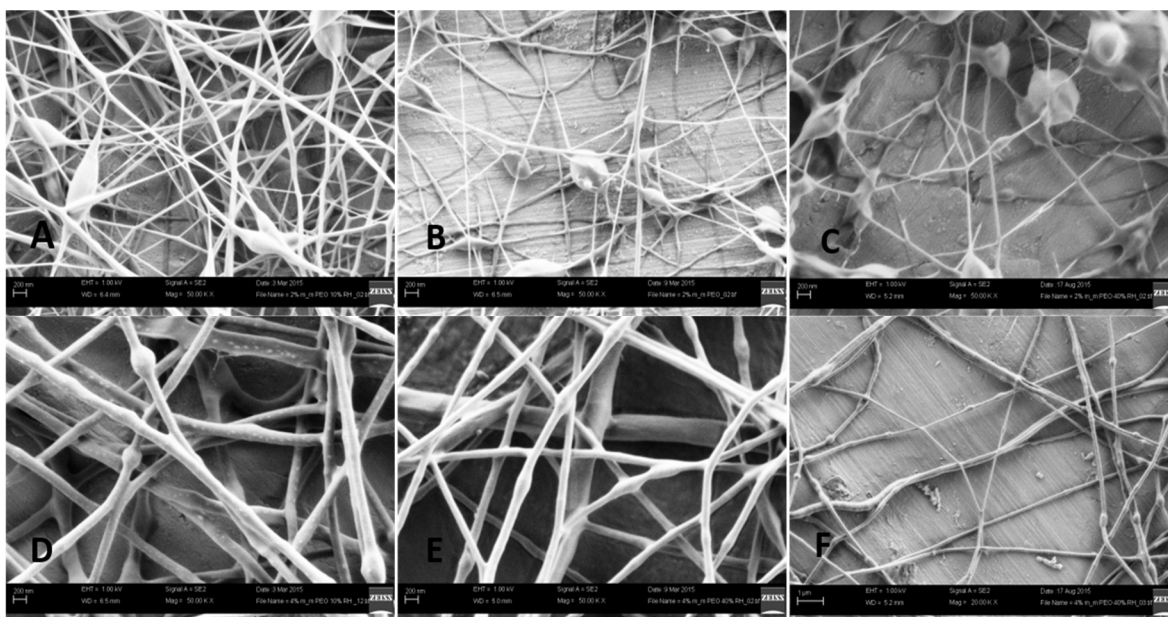
Iz podatkov, prikazanih na slikah 13 in 14, lahko vidimo, da z večanjem masnega deleža polimera viskoznost polimerne raztopine strmo narašča. Iz oblik viskoznostnih krivulj na sliki 13 lahko opazimo, da viskoznost z večanjem strižne hitrosti močno pada. Pojav je z večanjem masnega deleža polimera v raztopini bolj izrazit in kaže na to, da raztopine PEO v 3 % (v/v) raztopini očetne kisline izkazujejo psevdoplastične lastnosti. Z večanjem strižne sile se pričneje polimerne molekule v raztopini usmerjati v smeri toka. Rezultat takšnega urejanja osnovnih elementov v smeri strižnega toka tekočine je strižno odvisno upadanje viskoznosti. Ko se notranja struktura polimernih molekul popolnoma uredi v smeri toka, je viskoznost takšne tekočine manjša, kot v fazi mirovanja in hkrati neodvisna od nadaljnjega povečevanja strižne hitrosti (27).

Polimerne raztopine z manjšim masnim deležem PEO (1 % (m/m), 2 % (m/m)) so torej bolj podobne newtonskim tekočinam, medtem ko so raztopine z večjim masnim deležem polimera psevdoplastične tekočine. Na podlagi meritev viskoznosti smo za izdelavo nanovlaken z elektrostatskim sukanjem izbrali 4 % in 2 % (m/m) raztopino PEO. V primeru obeh izbranih raztopin PEO je bila viskoznost glede na literaturne podatke ustrezna za izdelavo nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja. Za uspešno izdelavo nanovlaken iz raztopin PEO naj bi se glede na literaturne podatke vrednost viskoznosti gibala v območju med 0,1 Pas in 2 Pas (31, 32), kar pomeni, da sta bili viskoznosti obeh izbranih raztopin PEO prav v tem območju.

## 4.1.2 Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PEO

V literaturi (3, 31, 32) smo našli podatke o uspešni izdelavi nanovlaken iz polimernih raztopin s 4 % (m/m) masnim deležem PEO. Želeli smo preveriti, ali lahko uspešno izdelamo tudi nanovlakna iz raztopine PEO z manjšim masnim deležem polimera, zato smo se odločili za izdelavo nanovlaken tudi iz raztopine z 2 % (m/m) masnim deležem PEO.

Nanovlakna nam je uspelo izdelati iz obeh uporabljenih polimernih raztopin PEO (masni delež 2 % (m/m) in 4 % (m/m)). Nastala nanovlakna smo analizirali s SEM in jih nato s pomočjo računalniškega programa ImageJ tudi ovrednotili. V primeru vseh uporabljenih eksperimentalnih pogojev (preglednica II) in uporabljenih raztopin PEO smo uspeli izdelati nanovlakna, a so bili v vseh vzorcih prisotni tudi vozli (slika 15). Na podlagi dobljenih rezultatov in literaturnih podatkov lahko zaključimo, da je za izdelavo gladkih nanovlaken iz raztopin PEO potreben večji masni delež polimera oz. višja viskoznost polimernih raztopin (25, 32). Rezultati so predstavljeni na slikah 15, 16 in 17.

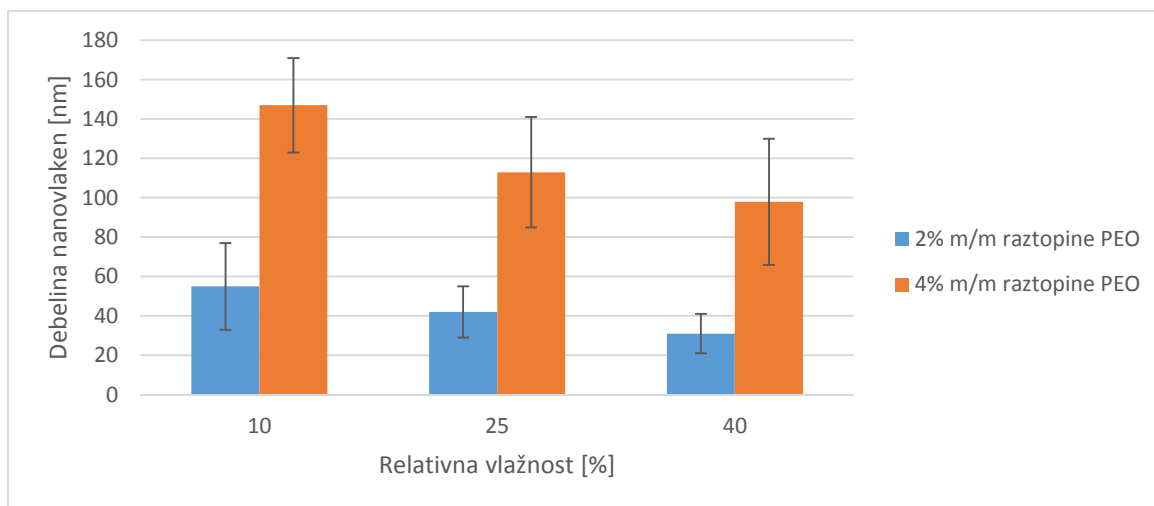


**Slika 15:** SEM slike nanovlaken, izdelanih iz raztopin PEO v 3 % (v/v) očetni kislini pri različnih vrednostih relativne vlažnosti. A: 2 % (m/m) PEO, 10 % RH; B: 2 % (m/m) PEO, 25 % RH; C: 2 % (m/m) PEO, 40 % RH; D: 4 % (m/m) PEO, 10 % RH; E: 4 % (m/m) PEO, 25 % RH; F: 4 % (m/m) PEO, 40 % RH

Pomemben vpliv na izdelavo nanovlaken in lastnosti produkta ima tudi relativna vlažnost okolja, v katerem izvajamo elektrostatsko sukanje. Pri obeh izbranih raztopinah PEO lahko



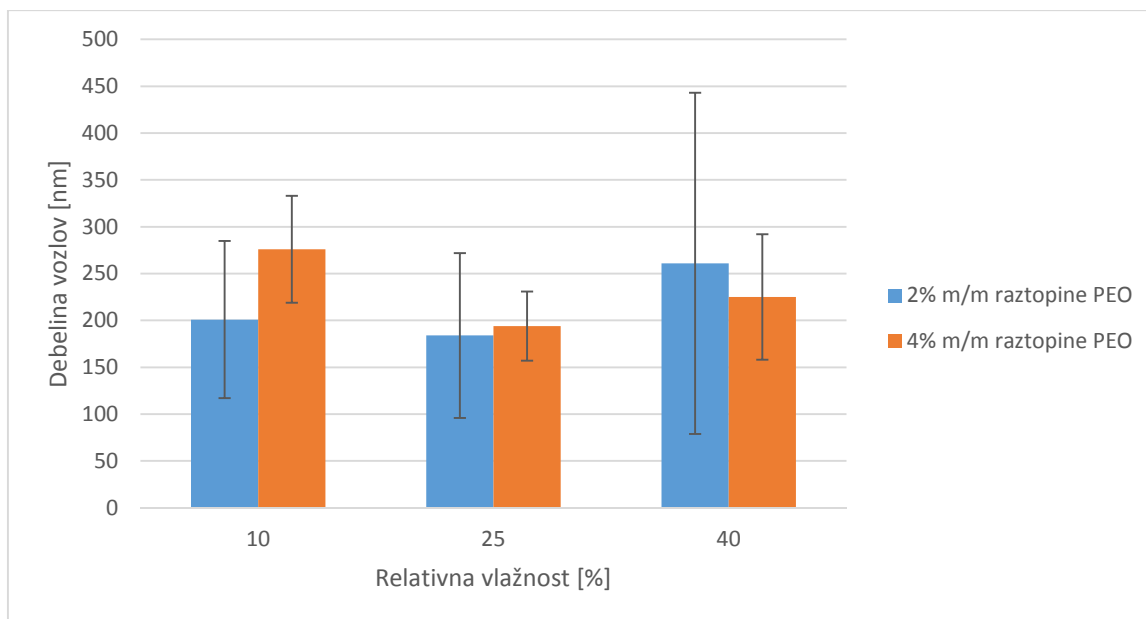
iz rezultatov vidimo, da se debelina nastalih nanovlaken z višanjem relativne vlažnosti manjša, opazen pa je tudi vpliv masnega deleža polimera v raztopini – večji kot je masni delež polimera, debelejša so nastala nanovlakna, kar je v skladu z literaturnimi podatki (31, 32).



**Slika 16:** Debelina nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 2 % in 4 % (m/m) raztopine PEO, pri različnih vrednostih relativne vlažnosti.

Izmerjena vrednost viskoznosti polimerne raztopine z 2 % (m/m) masnim deležem PEO je glede na literaturne podatke (32) ravno na spodnji meji vrednosti (0,1 – 0,2 Pas), ki še omogočajo izdelavo nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja. V primeru raztopine PEO z manjšim masnim deležem polimera (2 % (m/m)) so nastala vlakna s številčnejšimi vozli v primerjavi z nanovlakni, ki smo jih pri enakih pogojih izdelali iz raztopine PEO z večjim masnim deležem polimera (4 % (m/m)). V strukturi nanovlaken, ki smo jih izdelali iz raztopine z večjim masnim deležem polimera, je bolj kot tvorbo tipičnih vozlov opaziti raztegnjene (podaljšane) zadebelitve nanovlaken, kar je v skladu z literaturo (32).

Z višanjem relativne vlažnosti, pri kateri smo izdelali nanovlakna s procesom elektrostatskega sukanja, se večja tudi številčnost (pojavnost) vozlov v strukturi izdelanih nanovlaken. Glavna razlika med produktoma elektrostatskega sukanja, ki smo ju pripravili iz obeh raztopin PEO je v tem, da so v primeru raztopine z manjšim masnim deležem PEO (2 % (m/m)) nastali značilni vozli, v primeru raztopine z večjim masnim deležem polimera (4 % (m/m)) pa niso nastali izraziti vozli, ampak le raztegnjene zadebelitve nanovlaken. Z nadaljnjim večanjem masnega deleža PEO v raztopini bi verjetno uspeli izdelati povsem gladka nanovlakna iz PEO (25, 31, 32).

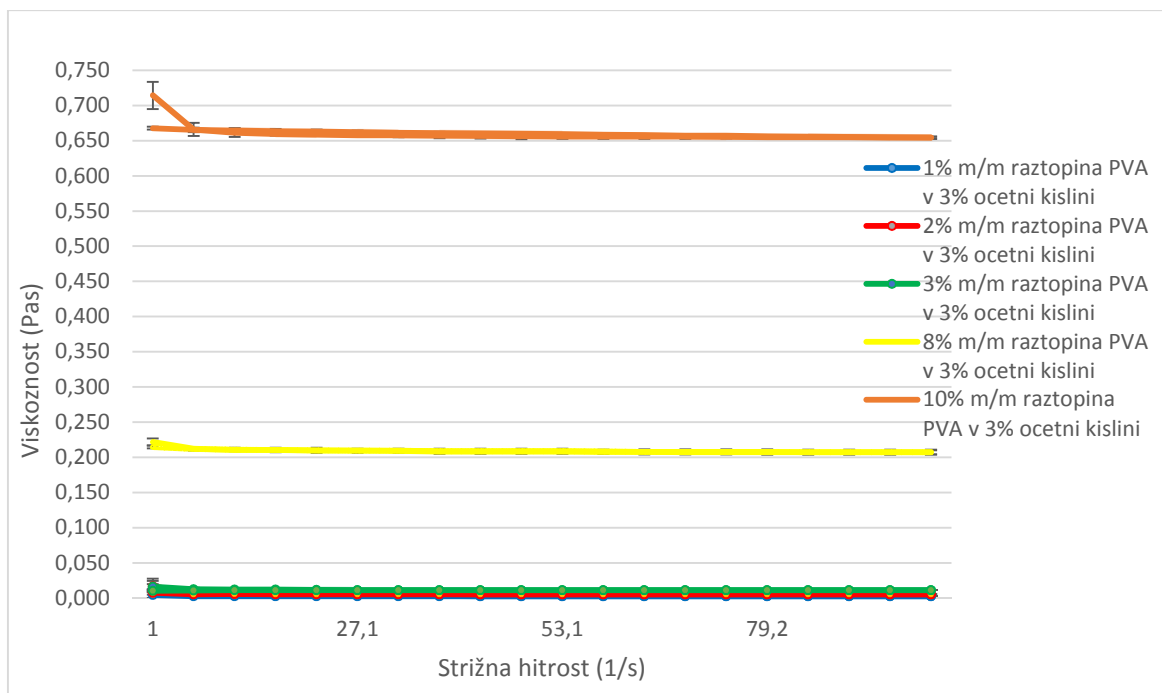


**Slika 17:** Debelina vozlov v strukturi nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 2 % in 4 % (m/m) raztopine PEO, pri različnih vrednostih relativne vlažnosti okolja.

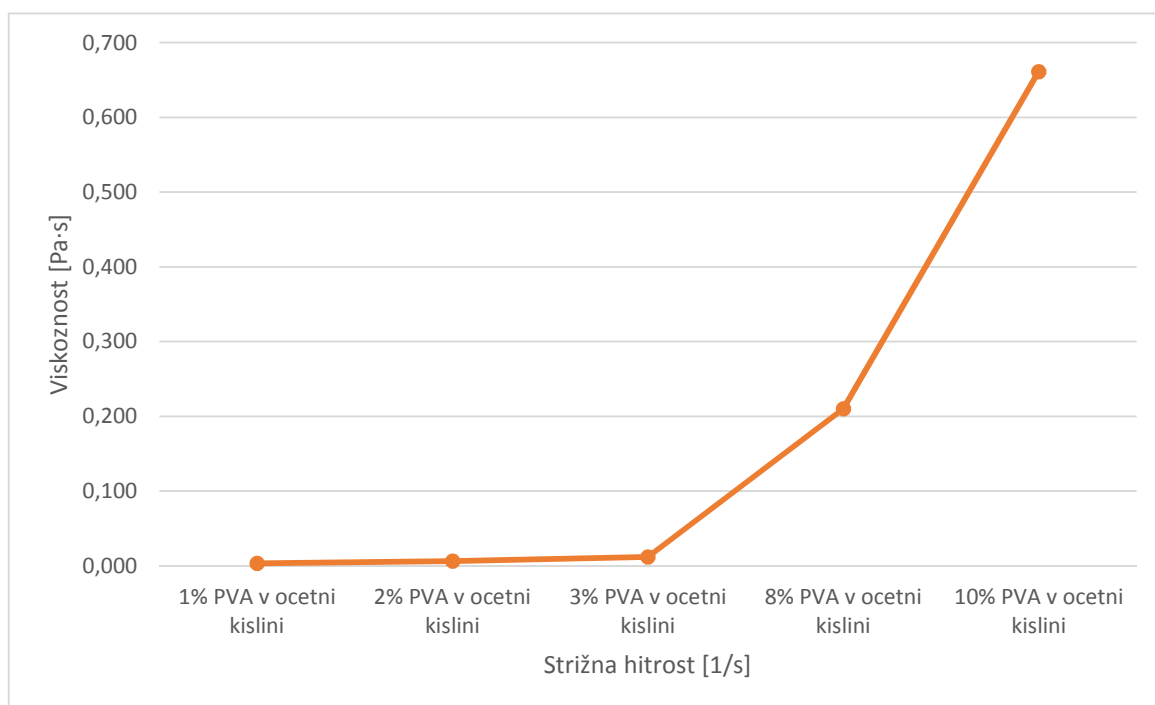
## 4.2 Polivinilalkohol (PVA)

### 4.2.1 Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PVA

V primeru PVA smo pripravili polimerne raztopine z različnimi masnimi deleži PVA: 1 %, 2 %, 3 %, 8 % in 10 % (m/m) raztopino. Pri manjših masnih deležih PVA v raztopinah (1 %, 2 % in 3 % (m/m)) so izmerjene vrednosti viskoznosti z večanjem masnega deleža polimera v raztopini naraščale zelo počasi, kar prikazuje slika 19. Glede na naše rezultate in literaturne podatke je za raztopine z manjšim masnim deležem PVA (nekje do 7 % (m/m)) značilen zelo počasen porast viskoznosti z naraščanjem vsebnosti polimera v raztopini, medtem ko so za raztopine z masnim deležem PVA od 7 % (m/m) do 10 % (m/m) glede na literaturo značilne znatno večje viskoznosti (33), zato smo se odločili še za pripravo dveh raztopin z večjim masnim deležem PVA (8 % in 10 % (m/m)). Tudi v literaturi (3, 33) smo našli podatke o pripravi nanovlaken iz raztopin s podobnimi masnimi deleži PVA (8 % in 10 % (m/m)), zato smo se odločili, da bomo za pripravo nanovlaken uporabili ti dve raztopini. Rezultati meritev viskoznosti so prikazani na slikah 18 in 19.



**Slika 18:** Viskoznosti raztopin PVA v odvisnosti od strižne hitrosti. Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).

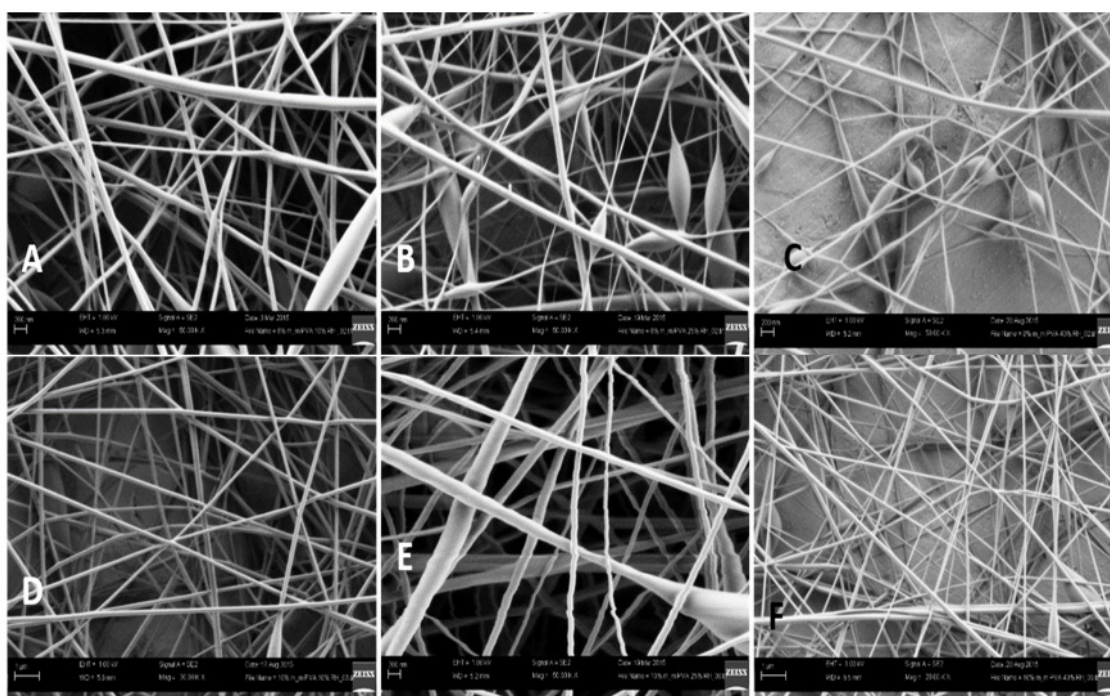


**Slika 19:** Viskoznosti raztopin PVA, izmerjene pri strižni hitrosti  $11,4 \text{ s}^{-1}$ .

Na sliki 18 lahko iz oblik viskoznoznih krivulj ugotovimo, da polimerne raztopine PVA izkazujejo newtonske lastnosti tekočin, ne glede na masni delež polimera v raztopini. Viskoznost je namreč neodvisna od strižne hitrosti (27, 33). Podobno kot v primeru raztopin PEO lahko tudi tu opazimo porast viskoznosti z naraščajočim masnim deležem polimera v raztopini, kar dokazuje, da je viskoznost v tesni povezavi z masnim deležem polimera v raztopini (32, 33).

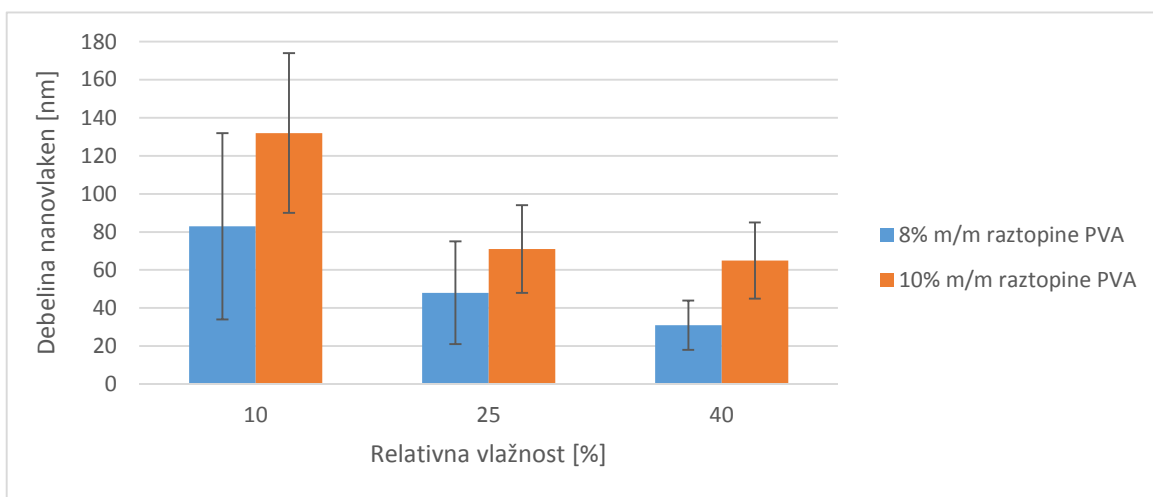
#### 4.2.2 Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PVA

Za izdelavo nanovlaken iz polimernih raztopin PVA smo po pregledu literaturnih podatkov (3, 33) izbrali dve raztopini: 8 % in 10 % (m/m) raztopino PVA. Raztopine z manjšim masnim deležem PVA so bile premalo viskozne in neprimerne za izdelavo nanovlaken. Nanovlakna smo izdelali pri eksperimentalnih pogojih, ki so predstavljeni v Preglednici II. Izdelana nanovlakna smo pogledali pod SEM mikroskopom in jih z računalniškim programom ImageJ ovrednotili. Dobljeni rezultati so prikazani na sliki 20



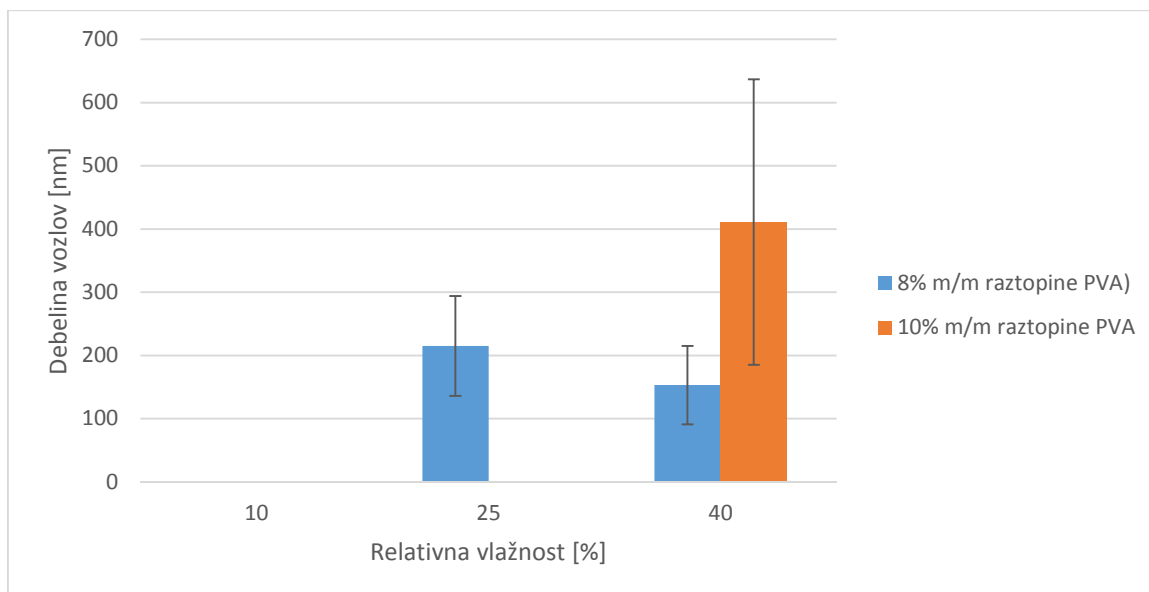
**Slika 20:** SEM slike nanovlaken, izdelanih iz raztopin PVA v 3 % (v/v) očetni kislini pri različnih vrednostih relativne vlažnosti. A: 8 % (m/m) PVA, 10 % RH; B: 8 % (m/m) PVA, 25 % RH; C: 8 % (m/m) PVA, 40 % RH; D: 10 % (m/m) PVA, 10 % RH; E: 10 % (m/m) PVA, 25 % RH; F: 10 % (m/m) PVA, 40 % RH.

Iz dobljenih rezultatov lahko ugotovimo, da ima relativna vlažnost pomemben vpliv na debelino nastalih nanovlaken. Ponovno se namreč kaže trend manjšanja debeline nanovlaken z naraščanjem relativne vlažnosti, kar se jasno vidi na sliki 21, opisano pa je tudi v literaturi (3). Opazna je razlika v debelini nastalih nanovlaken v odvisnosti od masnega deleža polimera – pri večjih masnih deležih polimera v raztopini so tudi nastala nanovlakna debelejša (slika 21).



**Slika 21:** Debelina nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 8 % in 10 % (m/m) raztopine PVA, pri različnih vrednostih relativne vlažnosti.

Pojavnost vozlov oziroma zadebelitev nanovlaken je bila pri nanovlaknih, ki smo jih izdelali iz raztopine z manjšim masnim deležem PVA, večja napram nanovlaknom, ki smo jim pripravili iz raztopine z večjim masnim deležem PVA. Kot je razvidno iz slike 20, smo iz obeh raztopin, v primeru najnižje proučevane vrednosti relativne vlažnosti (10 %), uspeli izdelati gladka nanovlakna brez prisotnih vozlov ali zadebelitev vlaken (slika 22), vendar pa so bila v tem primeru nanovlakna tudi najdebelejša (slika 21). Z višanjem relativne vlažnosti so se pričele pojavljati posamezne zadebelitve vlaken. Pri manjšem masnem deležu PVA v raztopini so bile te zadebelitve okroglih oblik, pri večjem masnem deležu polimera pa so zadebelitve postajale bolj podolgovate, kar je v skladu z ugotovitvami iz literature (33).

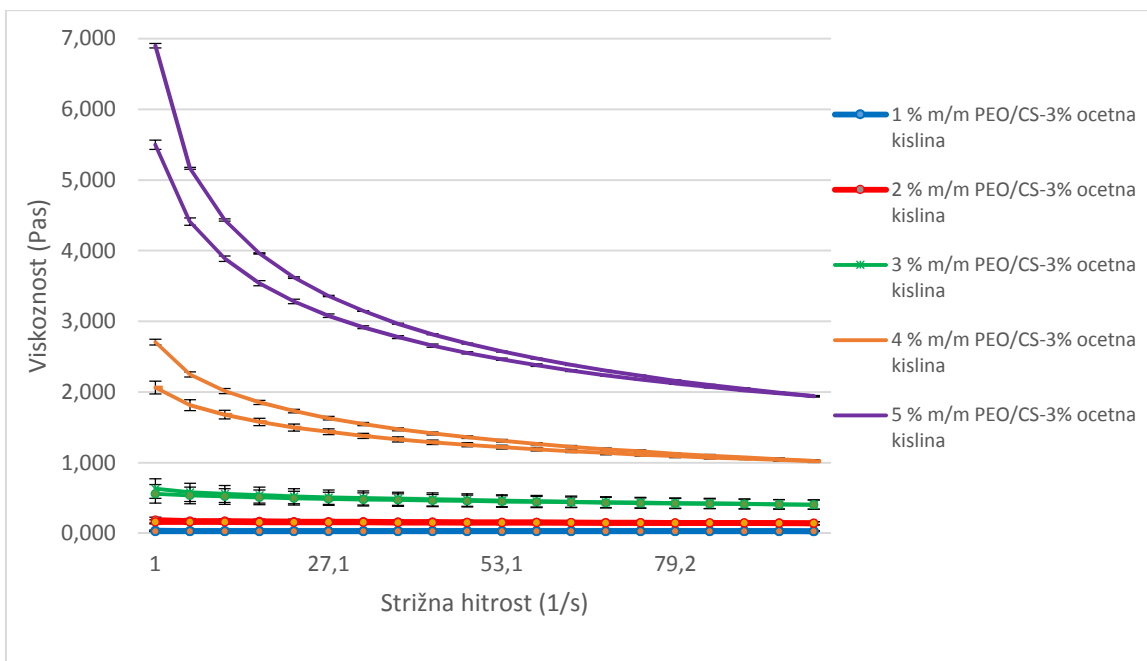


**Slika 22:** Debelina vozlov v strukturi nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 8 % in 10 % (m/m) raztopine PVA, pri različnih vrednostih relativne vlažnosti.

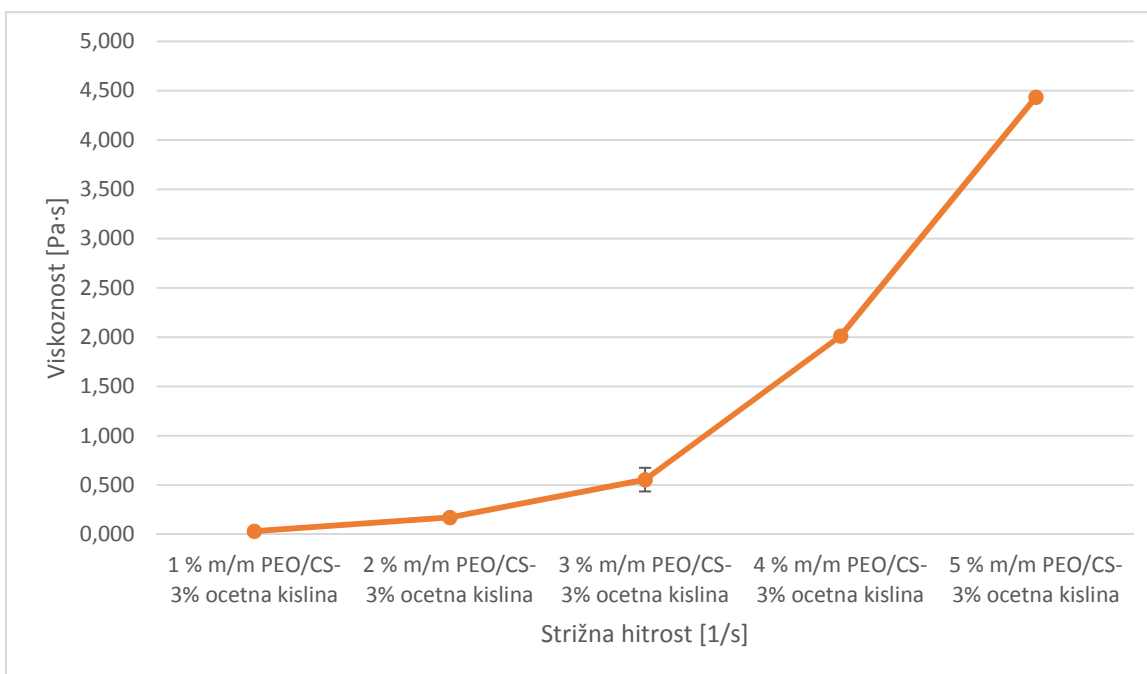
## 4.3 Polietilenoksid/hitosan (PEO/CS)

### 4.3.1 Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PEO/CS

Vse polimerne raztopine, pripravljene iz zmesi PEO in CS so vsebovale enak masni delež obeh polimerov (npr. 4 % (m/m) raztopina PEO/CS je vsebovala 2 % (m/m) PEO in 2 % (m/m) CS). Pripravili smo pet raztopin z masnim deležem zmesi obeh polimerov od 1 % do 5 % (m/m). Vsem petim raztopinam smo pomerili viskoznost. Rezultati meritev so prikazani na slikah 23 in 24.



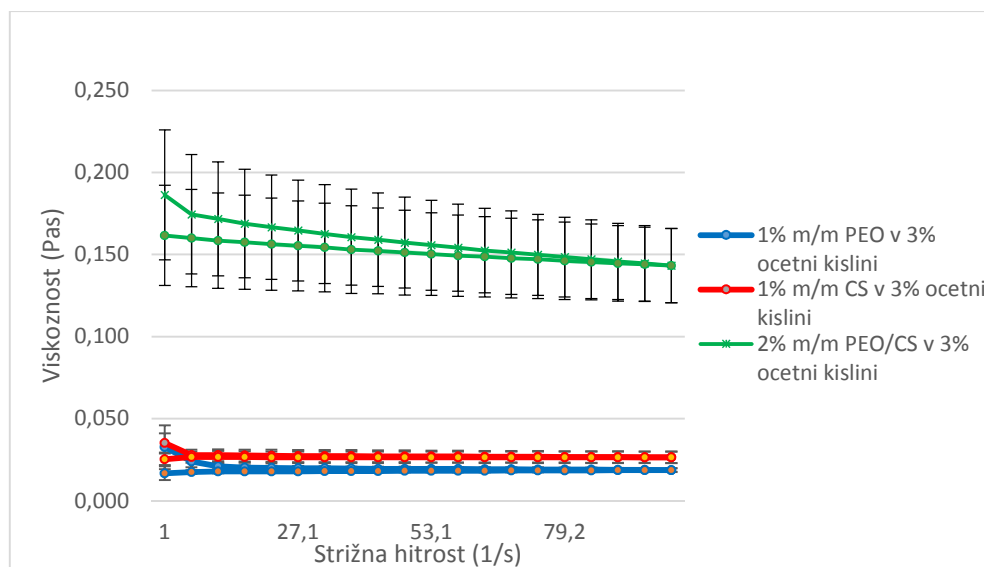
**Slika 23:** Viskoznosti raztopin PEO/CS (1:1) v odvisnosti od strižne hitrosti. Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).



**Slika 24:** Viskoznosti raztopin PEO/CS, izmerjene pri strižni hitrosti  $11,4 \text{ s}^{-1}$ .

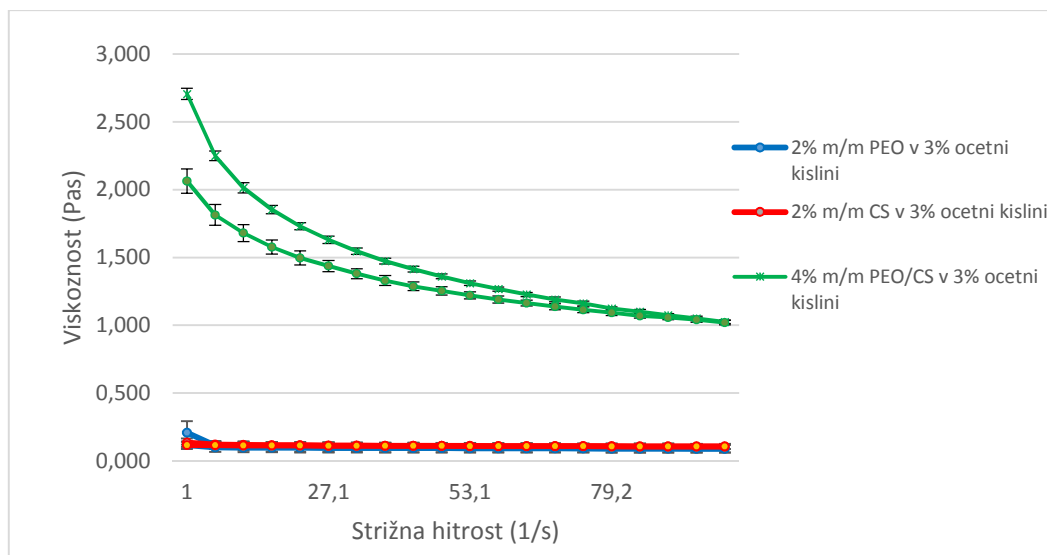
Oblike viskoznostnih krivulj na sliki 23 se ujemajo z ugotovitvami, pridobljenimi že v primeru vrednotenja viskoznosti polimernih raztopin PEO tj. z večanjem masnega deleža polimera v raztopini se povečuje pseudoplastičnost raztopin. Iz oblik krivulj raztopin z manjšim masnim deležem zmesi obeh polimerov bi lahko sklepali, da te raztopine izkazujejo lastnosti idealnih tekočin, vendar nas ne sme zavesti skala, ki prikazuje vrednosti viskoznosti. Na sliki 25 se jasno vidi, da tudi pri raztopinah z manjšimi masnimi deleži zmesi obeh polimerov (v tem primeru 2 % (m/m)) viskoznost raztopin pada z naraščajočo strižno hitrostjo, kar je jasen pokazatelj pseudoplastičnih lastnosti teh raztopin, z naraščanjem masnega deleža polimerov pa ta lastnost postaja vse bolj izrazita.

Pri meritvah viskoznosti polimernih raztopin, pripravljenih iz zmesi PEO in CS, smo opazili zanimiv trend. Vrednost viskoznosti polimerne raztopine zmesi obeh polimerov je bila mnogo večja od viskoznosti raztopin posameznih polimerov. Primerjali smo viskoznost 2 % (m/m) raztopine PEO/CS (masno razmerje polimerov 1:1), ki je vsebovala 1 % (m/m) PEO in 1 % (m/m) CS, in viskoznosti raztopin posameznih polimerov. Proučili smo tudi viskoznost raztopine z enkrat večjim masnim deležem polimerov tj. 4 % (m/m) raztopino PEO/CS (masno razmerje polimerov 1:1), ki je vsebovala 2 % (m/m) PEO in 2 % (m/m) CS. Rezultati so predstavljeni na slikah 25 in 26.



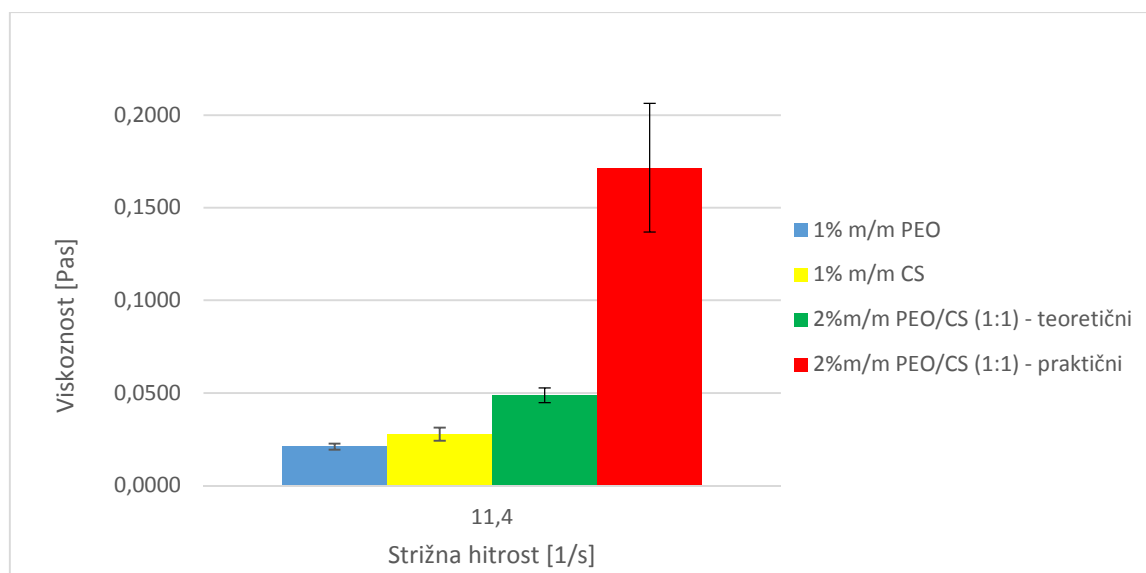
**Slika 25:** Viskoznosti 1 % (m/m) raztopine PEO in 1 % (m/m) raztopine CS ter 2 % (m/m) raztopine PEO/CS (1:1). Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).



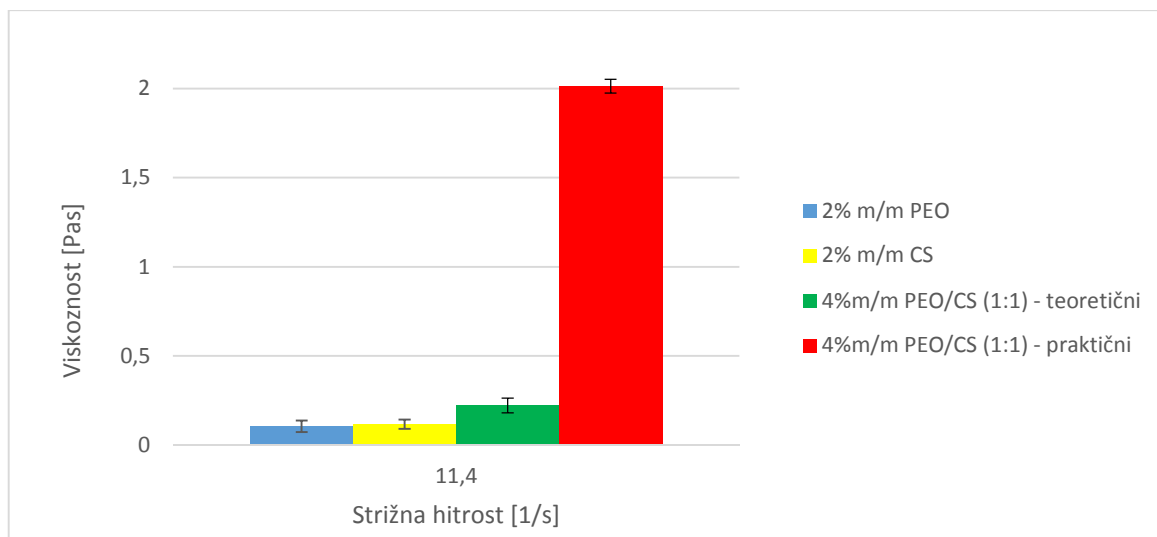


**Slika 26:** Viskoznosti 2 % (m/m) raztopine PEO in 2 % (m/m) raztopine CS ter 4 % (m/m) raztopine PEO/CS (1:1) v odvisnosti od strižne hitrosti. Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).

Vidimo lahko, da je viskoznost polimernih raztopin, ki vsebujejo kombinacijo obeh polimerov, občutno večja kot vsota viskoznosti raztopin posameznih polimerov. Za lažjo predstavitev smo rezultate zbrali v grafični obliki še na drugačen način (sliki 27 in 28).



**Slika 27:** Viskoznosti 1 % (m/m) raztopine PEO in 1 % (m/m) raztopine CS ter 2 % (m/m) raztopine PEO/CS (1:1) (teoretična in izmerjena) pri strižni hitrosti  $11,4 \text{ s}^{-1}$ .

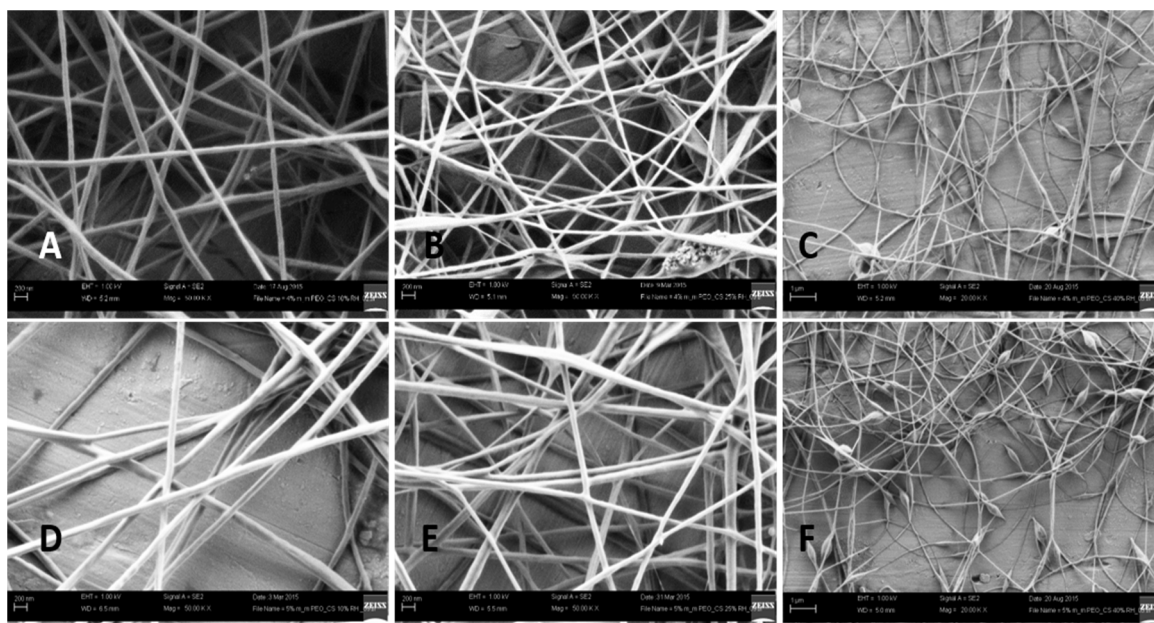


**Slika 28:** Viskoznosti 2 % (m/m) raztopine PEO in 2 % (m/m) raztopine CS ter 4 % (m/m) raztopine PEO/CS (1:1) (teoretična in izmerjena) pri strižni hitrosti  $11,4 \text{ s}^{-1}$ .

Podani so rezultati viskoznosti vsake od proučevanih polimernih raztopin pri strižni hitrosti  $11,4 \text{ s}^{-1}$ . Za lažjo predstavbo sta na obe sliki dodana podatka o teoretični viskoznosti, ki smo jo dobili tako, da smo sešteli viskoznosti raztopin posameznih polimerov. Vidimo lahko, da se teoretična in izmerjena vrednost viskoznosti med seboj močno razlikujeta. Izmerjena viskoznost je bila pri 2 % (m/m) raztopini PEO/CS do približno 4-krat, v primeru 4 % (m/m) raztopine PEO/CS pa kar do približno 9-krat večja od teoretične, kar nakazuje, da se v raztopini vzpostavijo specifične interakcije med polimeroma, ki so vzrok izrazito večje viskoznosti raztopine zmesi polimerov. Raztopine PEO in CS v koncentracijah 1 % in 2 % (m/m) glede na obliko viskoznostnih krivulj (sliki 25 in 26) izkazujejo lastnosti idealnih (newtonskih) raztopin, saj se viskoznost z višanjem strižne hitrosti bistveno ne spreminja. Nasprotno pa so v primeru raztopin, pripravljenih iz zmesi obeh polimerov v enakem masnem razmerju, bolj izražene psevdoplastične lastnosti.

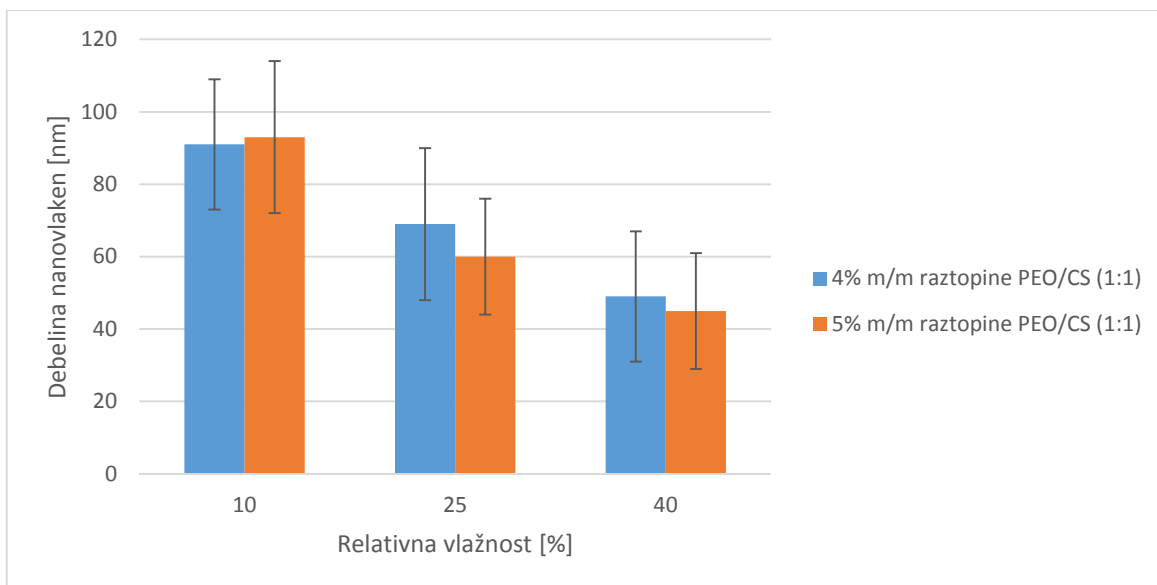
#### 4.3.2 Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PEO/CS

Za izdelavo nanovlaken iz polimernih raztopin zmesi PEO/CS smo pripravili 4 % in 5 % (m/m) raztopino zmesi obeh polimerov v enakem masnem razmerju. 4 % (m/m) raztopina zmesi je tako vsebovala 2 % (m/m) PEO in 2 % (m/m) CS, 5 % (m/m) raztopina pa po 2,5 % (m/m) vsakega od obeh polimerov. Nanovlakna smo izdelali pri eksperimentalnih pogojih, ki so predstavljeni v preglednici II. Izdelana nanovlakna smo pogledali pod SEM in jih s pomočjo računalniškega programa ImageJ ovrednotili. Rezultate prikazuje slika 29.

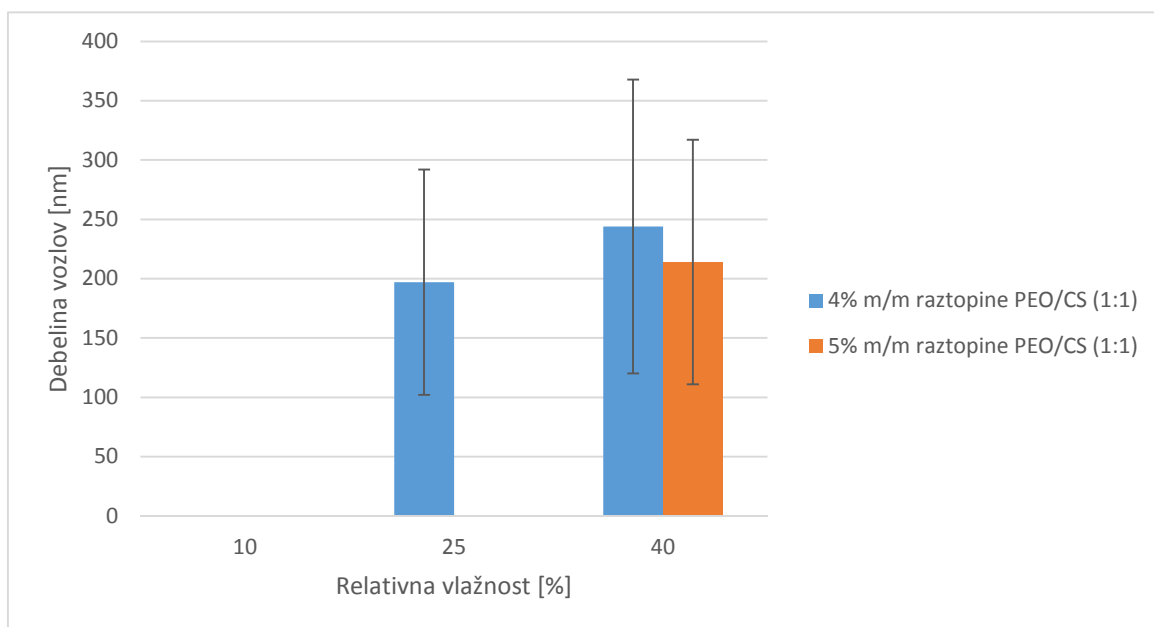


**Slika 29:** SEM slike nanovlaken, izdelanih iz raztopin PEO/CS (1:1) v 3 % (v/v) ocetni kislini pri različnih vrednostih relativne vlažnosti. A: 4 % (m/m) PEO/CS, 10 % RH; B: 4 % (m/m) PEO/CS, 25 % RH; C: 4 % (m/m) PEO/CS, 40 % RH; D: 5 % (m/m) PEO/CS, 10 % RH; E: 5 % (m/m) PEO/CS, 25 % RH; F: 5 % (m/m) PEO/CS, 40 % RH.

Iz zbranih podatkov (sliki 30 in 31) lahko ugotovimo, da se debelina nastalih nanovlaken z višanjem relativne vlažnosti manjša. Opazimo lahko tudi, da pri nižjih vrednostih relativne vlažnosti nastanejo nanovlakna brez vozlov, kar je v skladu z literaturo (3), z višanjem relativne vlažnosti pa se večata njihova pojavnost in debelina. V nasprotju z nanovlakni, izdelanimi le iz PEO ali PVA, v primeru nanovlaken iz zmesi PEO in CS ni opaznih bistvenih razlik v debelini nanovlaken v odvisnosti od masnega deleža polimerov v raztopini. Smo pa v literaturi našli podatek o vplivu masnega deleža zmesi polimerov na morfologijo nastalih nanovlaken. Z večanjem masnega deleža polimerov se manjša pojavnost vozlov in lažje izdelamo gladka nanovlakna (34), kar je v nasprotju z našimi rezultati. Ti podatki se sicer nanašajo na polimerne raztopine PEO/CS z manjšimi masnimi deleži zmesi obeh polimerov (do 3,5 % (m/m)), prav tako pa pri procesu izdelave avtorji niso spremljali vpliva relativne vlažnosti.



**Slika 30:** Debelina nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 4 % in 5 % (m/m) raztopine zmesi PEO/CS (1:1), pri različnih vrednostih relativne vlažnosti.



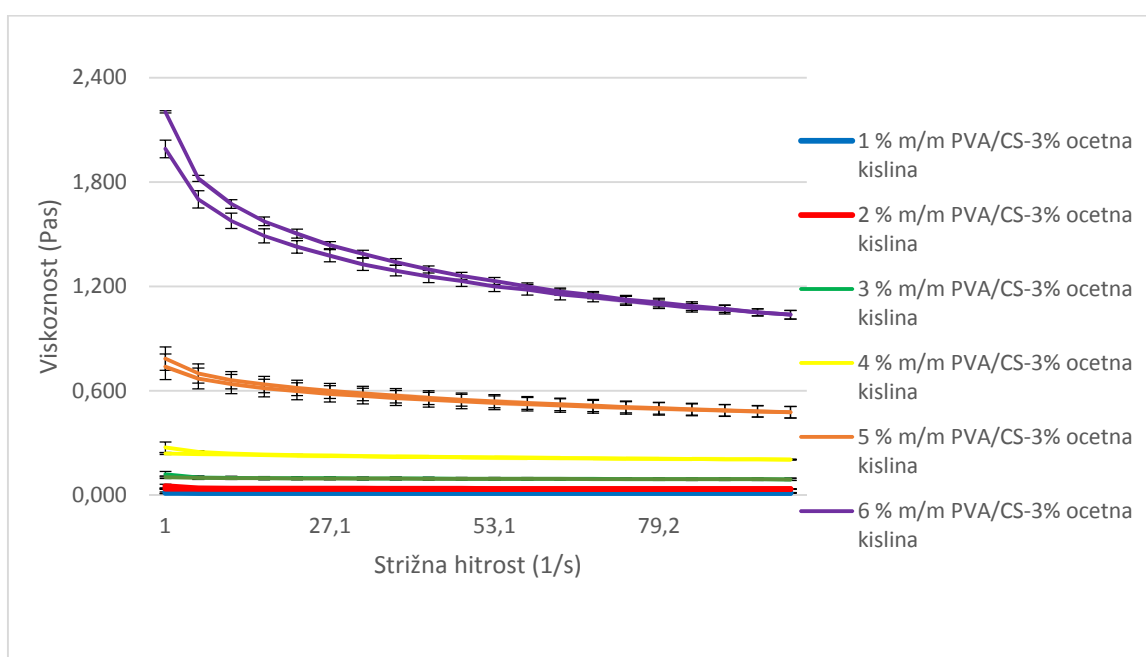
**Slika 31:** Debelina vozlov v strukturi nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 4 % in 5 % (m/m) raztopine zmesi PEO/CS (1:1), pri različnih vrednostih relativne vlažnosti.

Pri najnižji proučevani vrednosti relativne vlažnosti so v primeru obeh polimernih raztopin zmesi PEO/CS (1:1) nastala gladka nanovlakna, brez vozlov (slika 29). Z višanjem relativne vlažnosti so se v strukturi nanovlaken pričeli pojavljati tudi vozli, ki so bili bolj izraziti pri vzorcu z manjšim masnim deležem PEO/CS. Pri manj viskozni raztopini je torej pojavnost in debelina nastalih vozlov večja (slika 31), na kar najverjetneje vpliva površinska napetost raztopine. V primeru bolj razredčenih raztopin, ki so tudi manj viskozne, se curek pri procesu elektrostatskega sukanja zaradi vpliva površinske napetosti razbije v kapljice, zaradi česar nastanejo nanovlakna z vozli (2).

## 4.4 Polivinilalkohol/hitosan (PVA/CS)

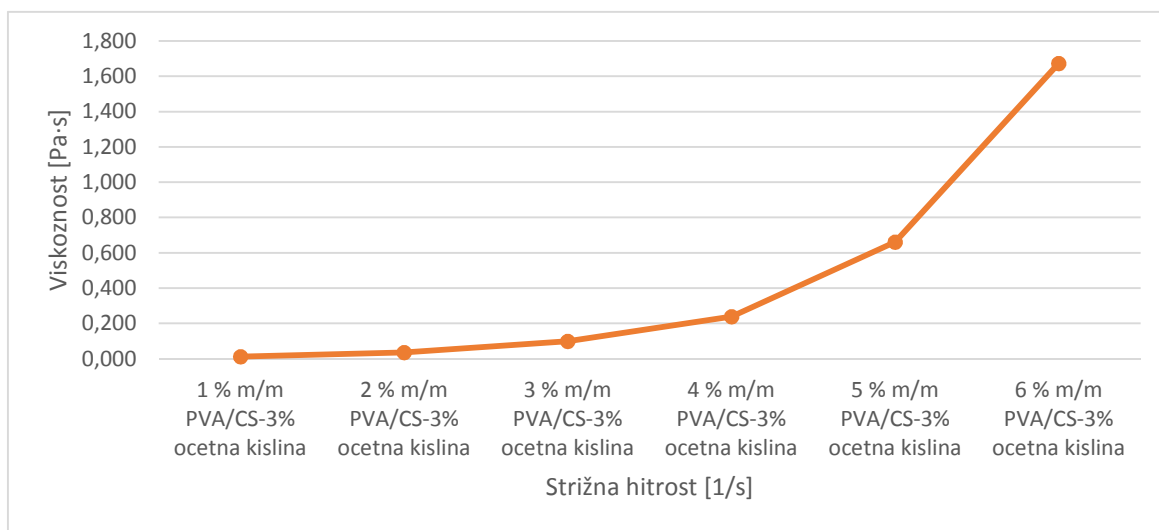
### 4.4.1 Vrednotenje reoloških lastnosti raztopin PVA/CS

Tudi v primeru polimernih raztopin, pripravljenih iz zmesi PVA in CS, smo pri vseh pripravljene raztopinah uporabili enak masni delež obeh polimerov. Pripravili smo šest polimernih raztopin z masnim deležem zmesi polimerov od 1 % (m/m) do 6 % (m/m). Pomerili smo viskoznost vseh šestih raztopin in zbrali rezultate na slikah 32 in 33.



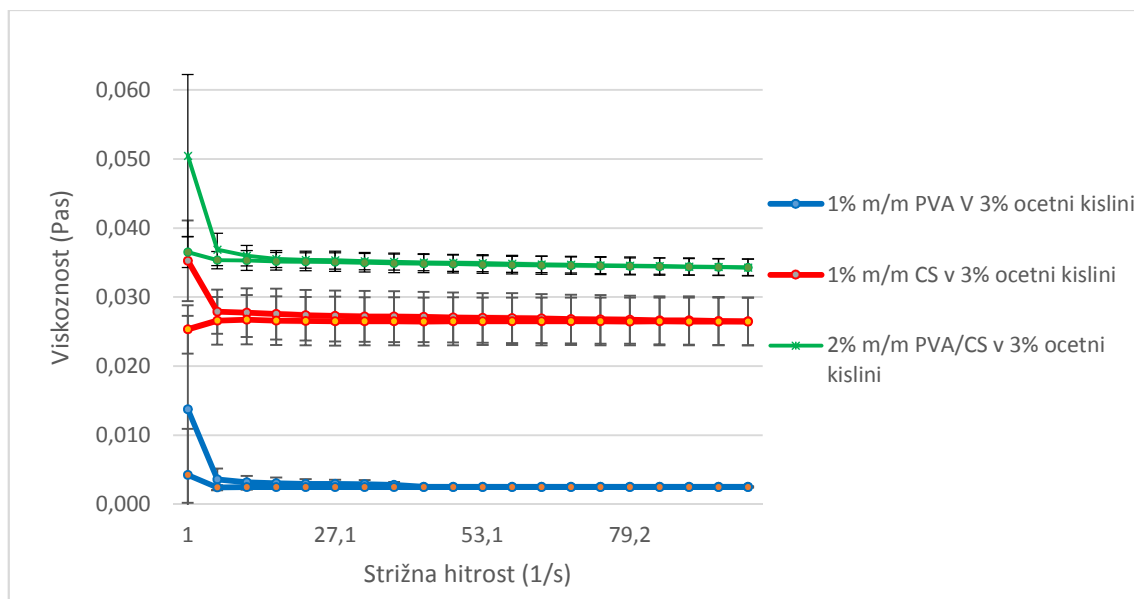
**Slika 32:** Viskoznosti raztopin PVA/CS (1:1) v odvisnosti od strižne hitrosti. Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).

Glede na obliko viskoznostnih krivulj polimernih raztopin zmesi PVA/CS (1:1) lahko sklepamo, da so raztopine z majhnim masnim deležem polimerov podobne idealnim oziroma newtonskim tekočinam. Nasprotno od raztopin, ki so vsebovale samo PVA, pa v tem primeru z naraščanjem masnega deleža zmesi polimerov PVA/CS opazimo odvisnost viskoznosti od naraščajoče strižne hitrosti, iz česar lahko sklepamo, da CS vpliva oziroma poveča psevdoplastičnost raztopin. Z naraščanjem masnega deleža polimerov v raztopini so psevdoplastične lastnosti vse bolj izražene.

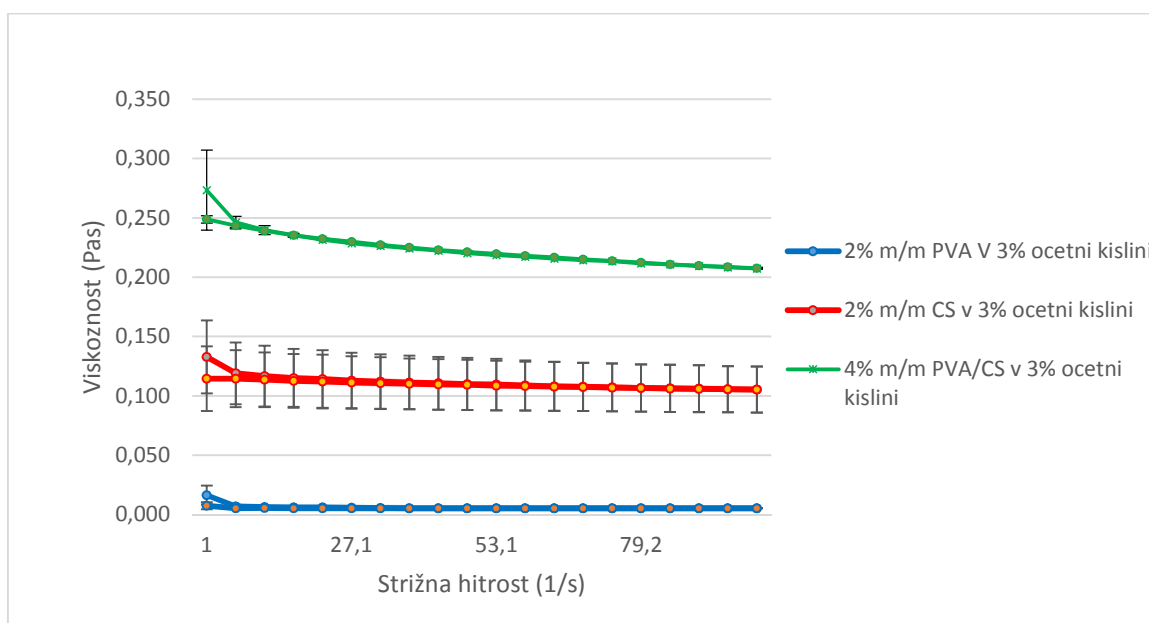


**Slika 33:** Viskoznosti raztopin PVA/CS (1:1), izmerjene pri strižni hitrosti  $11,4 \text{ s}^{-1}$ .

Pri majhnih masnih deležih zmesi obeh polimerov v raztopini viskoznost polimerne raztopine počasi narašča, medtem ko pri večjih masnih deležih polimerov viskoznost strmo naraste (slika 33). Enako kot v primeru polimerne zmesi PEO/CS smo tudi pri zmesi polimerov PVA/CS v raztopini primerjali viskoznosti raztopin posameznih polimerov z viskoznostjo raztopine zmesi (sliki 34 in 35) in preverili, kakšne so razlike med teoretično in izmerjeno viskoznostjo polimerne raztopine (sliki 36 in 37). Ugotovili smo, da je razlika med teoretično in eksperimentalno določeno viskoznostjo raztopine bistveno manjša kot v primeru raztopine PEO/CS. PVA in CS prispevata k viskoznosti raztopine zmesi polimerov vsak svoj delež. Pri nižjem masnem deležu polimerov v raztopini ne nastopijo specifične interakcije med polimeroma, ki bi vodile v izrazito povečanje viskoznosti v primeru raztopine polimerne zmesi, zato je viskoznost zmesi primerljiva vsoti viskoznosti raztopin posameznih polimerov (slika 36).

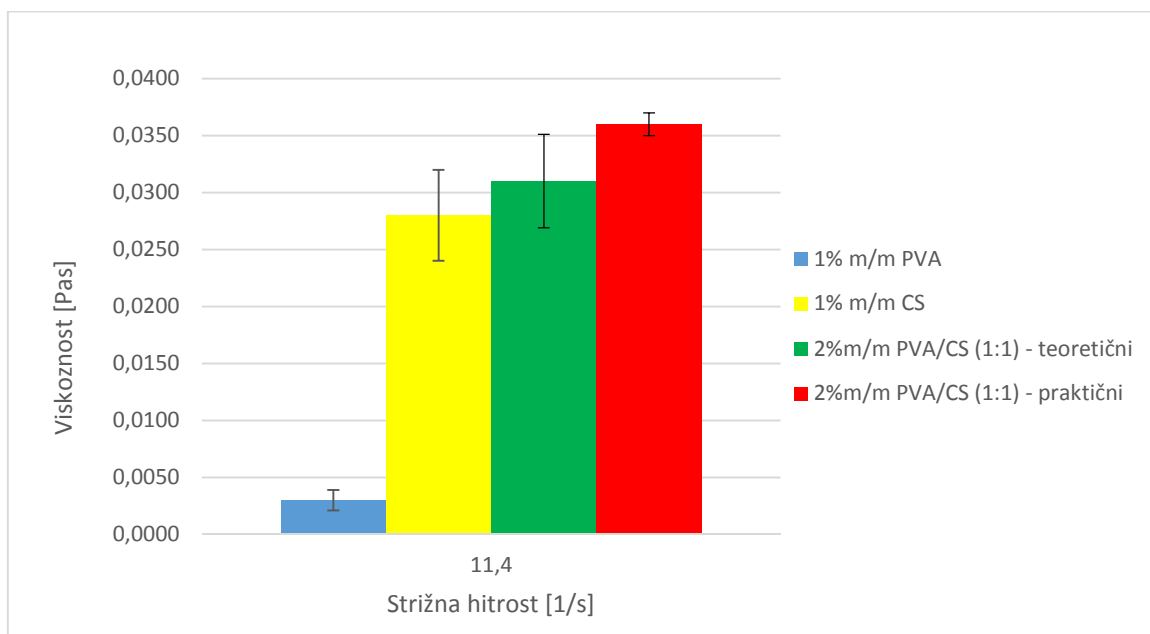


**Slika 34:** Viskoznosti 1 % (m/m) raztopine PVA in 1% (m/m) raztopine CS ter 2 % (m/m) raztopine PVA/CS (1:1) v odvisnosti od strižne hitrosti. Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).

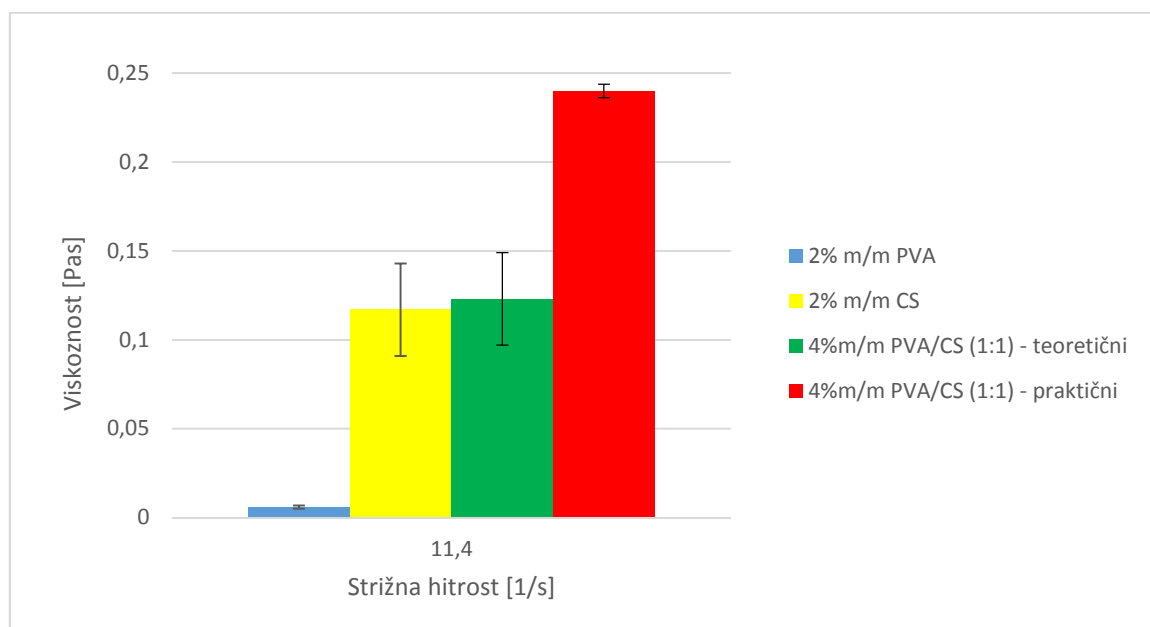


**Slika 35:** Viskoznosti 2 % (m/m) raztopine PVA in 2 % (m/m) raztopine CS ter 4 % (m/m) raztopine PVA/CS (1:1) v odvisnosti od strižne hitrosti. Krivulji iste barve prikazujeta spreminjanje viskoznosti polimerne raztopine pri povečevanju strižne hitrosti od  $0 \text{ s}^{-1}$  do  $100 \text{ s}^{-1}$  (zgornja krivulja) in pri zmanjševanju strižne hitrosti od  $100 \text{ s}^{-1}$  do  $0 \text{ s}^{-1}$  (spodnja krivulja).

V primeru raztopin PVA/CS z večjim masnim deležem polimerov je viskoznost raztopine polimerne zmesi večja od vsote viskoznosti raztopin posameznih polimerov, a povečanje ni tako izrazito kot v primeru raztopine zmesi PEO/CS (sliki 28 in 37).



**Slika 36:** Viskoznosti 1 % (m/m) raztopine PVA in 1 % (m/m) raztopine CS ter 2 % (m/m) raztopine PVA/CS (1:1) (teoretična in izmerjena) pri strižni hitrosti 11,4 s<sup>-1</sup>.

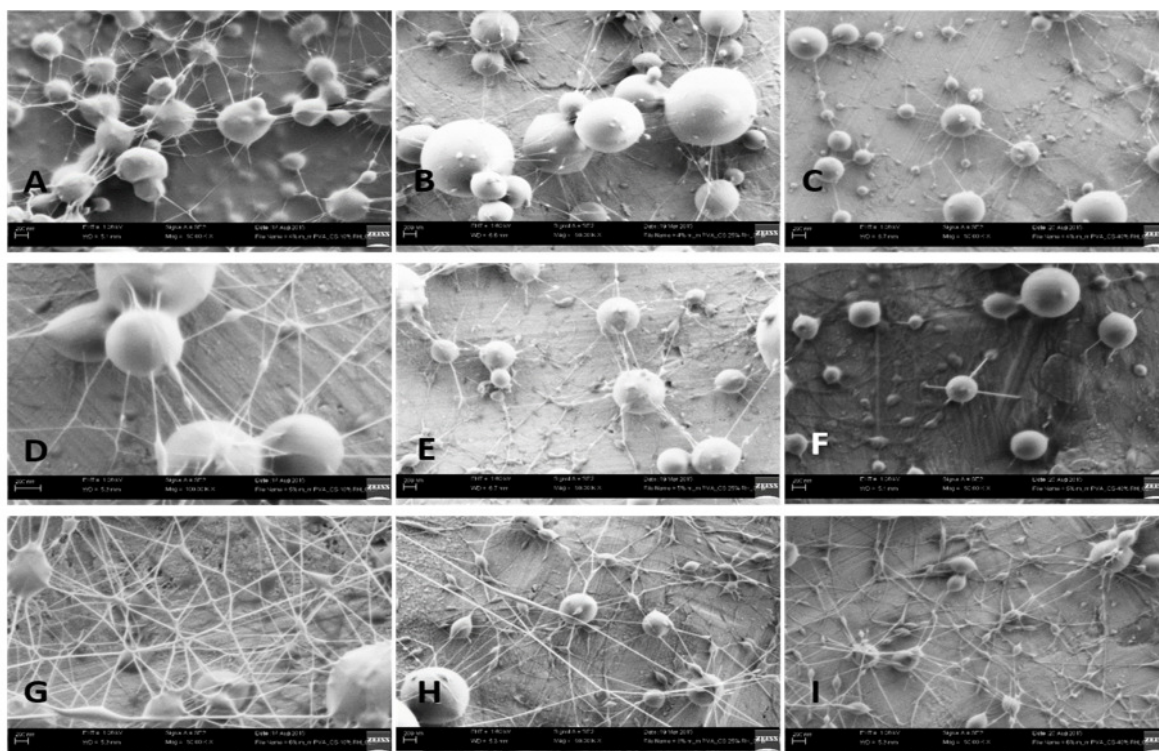


**Slika 37:** Viskoznosti 2 % (m/m) raztopine PVA in 2 % (m/m) raztopine CS ter 4 % (m/m) raztopine PVA/CS (1:1) (teoretična in izmerjena) pri strižni hitrosti 11,4 s<sup>-1</sup>.



#### 4.4.2 Elektrostatsko sukanje in tvorba nanovlaken iz raztopin PVA/CS

Za izdelavo nanovlaken iz polimernih raztopin zmesi PVA/CS smo pripravili 4 %, 5 % in 6 % (m/m) raztopino zmesi obeh polimerov v enakem masnem razmerju. 4 % (m/m) raztopina zmesi je tako vsebovala 2 % (m/m) PVA in 2 % (m/m) CS, ostali dve pa po 2,5 % oziroma 3 % masni delež vsakega izmed polimerov. Nanovlakna smo izdelali pri eksperimentalnih pogojih, ki so predstavljeni v preglednici II. S procesom elektrostatskega sukanja smo pripravili nanovlakna, jih pogledali pod SEM in ovrednotili s pomočjo računalniškega programa ImageJ. Rezultati so prikazani na sliki 38.



**Slika 38:** SEM slike produktov elektrostatskega sukanja, ki smo jih izdelali iz raztopin PVA/CS (1:1) v 3% (v/v) očetni kislini pri različnih vrednostih relativne vlažnosti. A: 4 % (m/m) PVA/CS, 10 % RH; B: 4 % (m/m) PVA/CS, 25 % RH; C: 4 % (m/m) PVA/CS, 40 % RH; D: 5 % (m/m) PVA/CS, 10 % RH; E: 5 % (m/m) PVA/CS, 25 % RH; F: 5 % (m/m) PVA/CS, 40 % RH; G: 6 % (m/m) PVA/CS, 10 % RH; H: 6 % (m/m) PVA/CS, 25 % RH; I: 6 % (m/m) PVA/CS, 40 % RH.

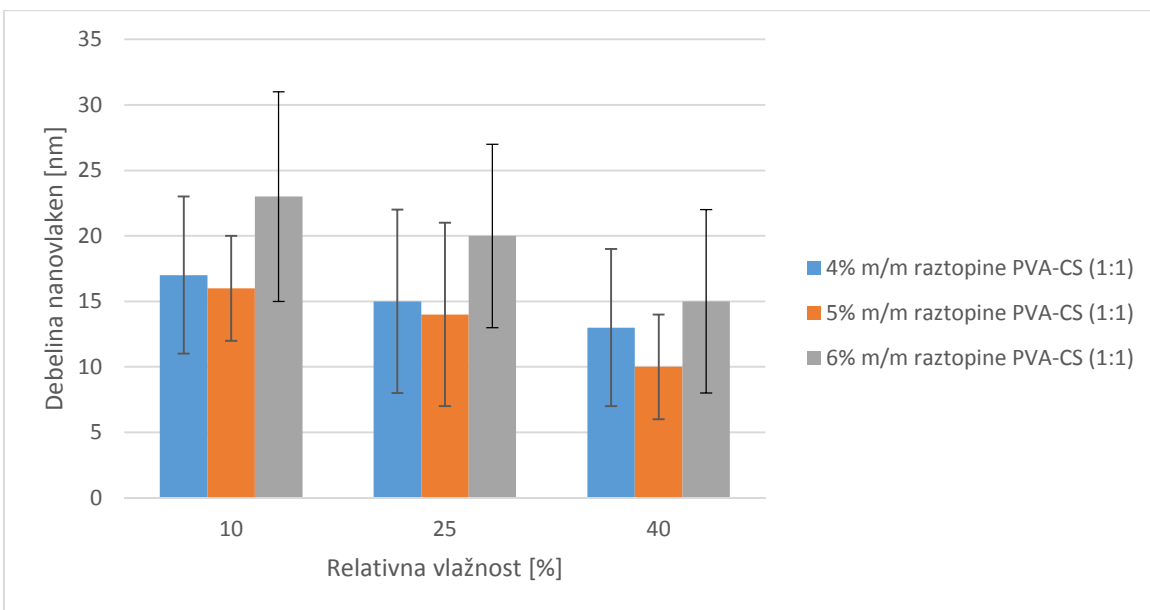
Na podlagi rezultatov lahko zaključimo, da pri izbranih eksperimentalnih pogojih iz nobene polimerne raztopine nismo uspeli izdelati gladkih nanovlaken. Nanovlakna nam je uspelo izdelati le v primerih 5 % (m/m) PVA/CS pri relativni vlažnosti okolja 10 % in 6 %

(m/m) PVA/CS pri relativnih vlažnostih okolja 10 % in 25 % (slika 38 D, G, H). V vseh ostalih primerih uporabljenih raztopin PVA/CS in pogojih, prikazanih v preglednici II pa prevladujejo vozli, med katerimi so ponekod le krajši odseki nanovlaken. To pojasni tudi velike SD pri meritvah debelin nanovlaken (slika 39).

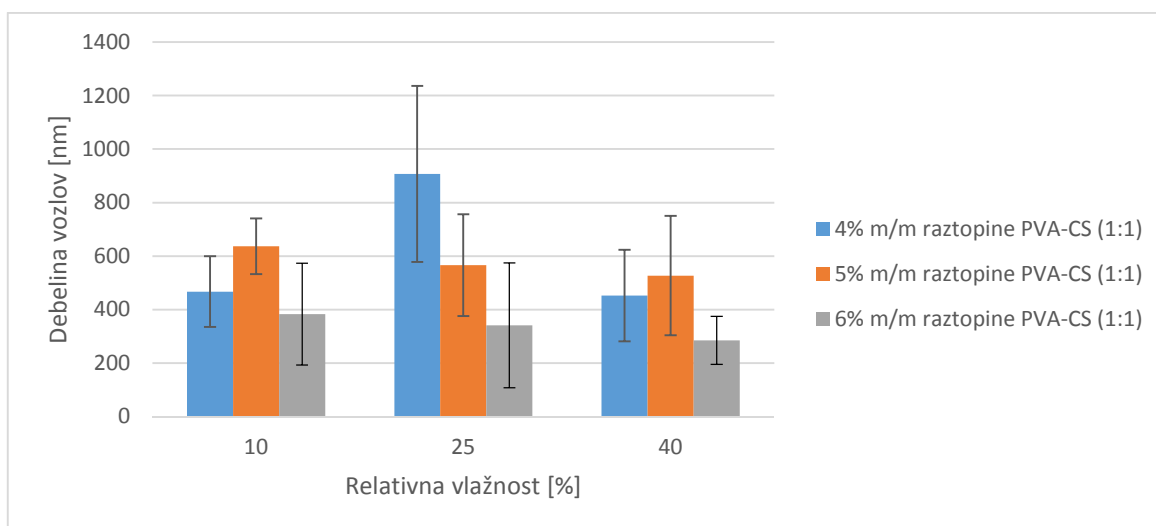
Za tvorbo nanovlaken iz raztopine zmesi PVA/CS je glede na dobljene rezultate nujno potrebna nizka vrednost relativne vlažnosti okolja. V primerjavi z ostalimi izdelanimi nanovlakni (iz raztopin PEO, PVA in zmesi PEO/CS) lahko ugotovimo, da ima relativna vlažnost okolja ravno pri izdelavi nanovlaken iz zmesi PVA/CS največji vpliv na uspešnost elektrostatskega sukanja, saj nam v primeru raztopin iz zmesi PVA/CS že pri vrednosti relativne vlažnosti okolja 25 % ni uspelo izdelati nanovlaken, kar je v nasprotju z ostalimi proučevanimi raztopinami.

Pojavnost vozlov (slika 38 A, D, G) se je z naraščanjem masnega deleža polimerne zmesi v raztopini pri najnižji vrednosti relativne vlažnosti (10 %) manjšala, količina nanovlaken pa večala. Rezultati delno korelirajo s podatki iz literature (15), kjer pa so avtorji uporabili drugačno masno razmerje med obema polimeroma (PVA:CS = 80:20, (m/m)) in drugačne eksperimentalne pogoje pri procesu elektrostatskega sukanja, prav tako pa so nanovlakna izdelali iz raztopin z masnimi deleži polimerov od 3 % do 5 % (m/m).

Rezultati nakazujejo, da se debelina nastalih nanovlaken iz raztopine zmesi polimerov PVA/CS z naraščajočo relativno vlažnostjo manjša (slika 39). Opazna je razlika v debelini nanovlaken v odvisnosti od masnega deleža zmesi polimerov v raztopini, zlasti če primerjamo 4 % in 6 % (m/m) raztopino zmesi obeh polimerov. V vseh vzorcih nanovlaken iz zmesi PVA/CS so poleg vlaken nastali tudi precej veliki vozli (slika 40). Zaključimo lahko, da iz raztopin zmesi PVA/CS (1:1) pri izbranih pogojih nismo uspeli izdelati gladkih nanovlaken. Omeniti je potrebno, da smo v primeru raztopin PVA/CS pri procesu elektrostatskega sukanja uporabili pogoje, ki so bili sicer eksperimentalno določeni kot optimalni za pripravo nanovlaken iz raztopine zmesi PVA/hialuronska kislina (3) kar je tudi verjeten razlog za neuspešno izdelavo gladkih nanovlaken iz raztopin PVA/CS.



**Slika 39:** Debelina nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 4 %, 5 % in 6 % (m/m) raztopine zmesi PVA/CS (1:1), pri različnih vrednostih relativne vlažnosti.



**Slika 40:** Debelina vozlov v strukturi nanovlaken, ki smo jih pripravili iz 4 %, 5 % in 6 % (m/m) raztopine zmesi PVA/CS (1:1), pri različnih vrednostih relativne vlažnosti.

## 5 SKLEP

V magistrski nalogi smo proučili vpliv viskoznosti pripravljenih polimernih raztopin in relativne vlažnosti okolja na morfologijo nastalih nanovlaken, ki smo jih izdelali z metodo elektrostatskega sukanja. Glavne ugotovitve raziskovalnega dela so:

- Viskoznost polimernih raztopin narašča z večanjem masnega deleža polimera v raztopini. Večja kot je bila viskoznost raztopin, debelejša nanovlakna so nastala, razen v primeru raztopin iz zmesi PEO/CS.
- Z večanjem relativne vlažnosti okolja smo opazili nastajanje vedno tanjših nanovlaken.
- Viskoznost raztopin, sestavljenih iz zmesi PEO in CS v enakem masnem razmerju je mnogo večja od viskoznosti, ki bi jo pričakovali na podlagi rezultatov viskoznosti raztopin posameznih polimerov.
- Iz polimernih raztopin zmesi PVA/CS v enakem masnem razmerju nismo uspeli izdelati gladkih nanovlaken.
- V primeru raztopin zmesi PVA/CS ni sinergističnega učinka obeh polimerov in zato ne pride do izrazitega povečanja viskoznosti kot v primeru raztopin PEO/CS. Viskoznost teh raztopin je bila primerljiva vsoti viskoznosti raztopin posameznih polimerov.
- Za tvorbo nanovlaken iz raztopine zmesi PVA/CS je glede na dobljene rezultate nujno potrebna nizka vrednost relativne vlažnosti okolja.

Dobljene produkte elektrostatskega sukanja bi verjetno lahko še izboljšali s preizkušanjem in iskanjem optimalnejših pogojev za pripravo nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja; optimizacijo produkta pa bi lahko dosegli tudi z izbiro drugačnih masnih deležev polimerov v raztopinah in razmerij med njimi (v primeru zmesi PEO/CS oz. PVA/CS).

Zaključimo lahko, da tako viskoznost polimerne raztopine kot relativna vlažnost okolja bistveno vplivata na lastnosti produkta elektrostatskega sukanja. Na podlagi proučevanja viskoznosti polimernih raztopin lahko sklepamo o izvedljivosti procesa elektrostatskega sukanja in debelini nastalih nanovlaken. Pri zmesih polimerov moramo biti pozorni na potencialni sinergistični vpliv polimerov na viskoznost raztopine polimerne zmesi. Neustrezna relativna vlažnost okolja pa lahko onemogoči izvedbo procesa oz. popolnoma spremeni morfologijo produkta, a učinek zavisi od narave polimera.

## 6 LITERATURA

1. Z.-M. Huang, Y.-Z. Zhang, M. Kotaki, S. Ramakrishna. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology* 2003; 63: 2223-2253
2. N. Bhardwaj, S. C. Kundu. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances* 2010; 28: 325-347
3. J. Pelipenko, J. Kristl, B. Janković, S. Baumgartner, P. Kocbek. The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics* 2013; 456: 125-134
4. T. J. Sill, H. A. von Recum. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials* 2008; 29: 1989-2006
5. R. Vasita, D. S. Katti. Nanofibers and their applications in tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine* 2006; 1: 15-30
6. R. A. Thakur, C. A. Florek, J. Kohn, B. B. Michniak. Electrospun nanofibrous polymeric scaffold with targeted drug release profiles for potential application as wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 364: 87-93
7. C. P. Barnes, S. A. Sell, E. D. Boland et al. Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007; 59: 1413-1433
8. S. Ramkrishna, K. Fujihara, WE Teo, et al: An introduction to electrospinning and nanofibers. World Scientific, New Jersey 2005
9. A. Frenot, I. S. Chronakis. Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 2003; 8: 64-75
10. B. Ghorani, N. Tucker. Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. *Food Hydrocolloids* 2015; 51: 227-240
11. X. Hu, S. Liu, G. Zhou, et al.: Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *Journal of Controlled Release* 2014; 185: 12-21
12. A. Koski, K. Yim, S. Shivkumar. Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Materials Letters* 2004; 58: 493-497

13. Z.-G. Wang, L.-S. Wan, Z.-M. Liu et al. Enzyme immobilization on electrospun polymer nanofibers: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B* 2009; 56: 189-195
14. M. Dash, F. Chiellini, R.M. Ottenbrite, E. Chiellini. Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* 2011; 36: 981-1014
15. K. Paipitak, T. Pornpra, P. Mongkotalang, et al. Characterization of PVA-Chitosan Nanofibers Prepared by Electrospinning. *Procedia Engineering* 2011; 8: 101-105
16. A. Erman. Hitosan in možna uporaba v medicini. *Zdrav Vestn* 2011; 80: 489-498
17. C. Kriegel, K.M. Kit, D.J. McClements, J. Weiss. Electrospinning of chitosan-poly(ethylene oxide) blend nanofibers in the presence of micellar surfactant solutions. *Polymer* 2009; 50: 189-200
- 18- P.-D. Hong, C.-M. Chou, C.H. He. Solvent effects on aggregation behaviour of poly vinyl alcohol solutions. *Polymer* 2001; 42: 6105-6112
19. M. Krumova, D. Lopez, R. Benavente, et al. Effect of crosslinking on the mechanical and thermal properties of poly(vinyl alcohol). *Polymer* 2000; 41: 9265-9272
20. C. Shao, H.-Y. Kim, J. Gong, et al. Fiber mats of poly(vinyl alcohol)/silica composite via electrospinning. *Materials Letters* 2003; 57: 1579-1584
21. S. Dhawan, K. Dhawan, M. Varma, V.R. Sinha. Applications of Poly(ethylene oxide) in Drug Delivery Systems Part II. *Pharmaceutical Technology* 2005: 82-96
22. K. W. Ebaginin, A. Benchabane, K. Bekkour. Rheological characterization of poly(ethylene oxide) solutions of different molecular weights. *Journal of Colloid and Interface Science* 2009; 336: 360-367
23. Polyethylene Oxide, Official Monographs, USP 31, 2008
24. J. Pelipenko, P. Kocbek, J. Kristl. Critical attributes of nanofibers: Preparation, drug loading, and tissue regeneration. *International Journal of Pharmaceutics* 2015; 484: 57-74
25. W. K. Son, J. H. Youk, T. S. Lee, W. H. Park. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers. *Polymer* 2004; 45: 2959-2966

26. M. S. Islam, M. R. Karim. Fabrication and characterization of poly(vinyl alcohol)/alginate blend nanofibers by electrospinning method. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2010; 366: 135-140
27. A. Zupančič Valant. Uvod v reologijo. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2007
28. P. A. Janmey, M. Schliwa. Rheology. *Current Biology*; Volume 18, Issue 15, 5 August 2008, Pages R639-R641
29. Z. Kupljen. (2012). Izdelava in vrednotenje nanovlaken iz polietilenoksida izdelanih z metodo elektrostatskega sukanja. Diplomsko delo, Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
30. Spletna stran Fakultete za farmacijo (07.05.2016). Ljubljana: Modularni reometer (Anton Paar, Physica MCR 301). Pridobljeno 07.05.2016, s <http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/FT/Oprema/reometer.pdf>
31. T. Uyar, F. Besenbacher. Electrospinning of cyclodextrin functionalized polyethylene oxide (PEO) nanofibers. *European Polymer Journal* 2009; 45: 1032-1037
32. J. M. Deitzel, J. Kleinmeyer, D. Harris, N. C. Beck Tan. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer* 2001; 42: 261-272
33. R. Rosic, J. Pelipenko, J. Kristl, P. Kocbek et al. Physical characteristics of poly (vinyl alcohol) solutions in relation to electrospun nanofiber formation. *European Polymer Journal* 2013; 49: 290-298
34. K. A. Rieger, N. P. Birch, J. D. Schiffman. Electrospinning chitosan/poly(ethylene oxide) solutions with essential oils: Correlating solution rheology to nanofiber formation. *Carbohydrate Polymers* 2016; 139: 131-138