

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ŽIVA HERIČKO

**IZDELAVA POLIMERNIH NANOVLAKEN Z METODO
ELEKTORAZPRŠEVANJA IN NJIHOVO VREDNOTENJE**

**FORMULATION OF POLYMER NANOFIBERS BY
ELECTROSPINNING AND THEIR EVALUATION**

Ljubljana, 2011

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Julijane Kristl, mag. farm. Mikroskopijo pa sta opravili asist. dr. Petra Kocbek, mag. farm. in mlada raziskovalka Romana Rošic, mag. farm. na Inštitutu za kemijo v Ljubljani.

Za pomoč pri izdelavi diplomske naloge se zahvaljujem prof. dr. Julijani Kristl, posebna zahvala pa gre delovni mentorici Romani Rošic, mag. farm., ki mi je bila v izjemno pomoč tako pri praktičnem kot tudi pri pisnem delu.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom prof. dr. Julijane Kristl, mag. farm. Komisijo za zagovor diplomske naloge sestavljajo predsednik izr. prof. dr. Vojko Kmetec, mag. farm., mentorica prof. dr. Julijana Kristl, mag. farm. in član doc. dr. Damjan Janeš, mag. farm.

Živa Heričko

KAZALO

1. POVZETEK	4
2. SEZNAM OKRAJŠAV	6
3. UVOD	7
3.2. Elektrorazprševanje	8
3.2.1. Spremenljivke	12
3.3. Uporabnost nanovlaken	18
3.3.1. Nanovlakna v tkivnem inženirstvu	18
3.3.2. Nanovlakna kot sodobne obloge za celjenje ran	19
3.3.3. Nanovlakna kot dostavni sistem zdravilnih učinkovin	20
3.3.4. Nanovlakna in imobilizacija encimov	22
3.4. Polimeri za izdelavo nanovlaken	23
3.4.1. Polivinilalkohol (PVA)	23
3.4.2. Polietilenoksid (PEO)	23
3.4.3. Alginat	24
3.4.4. Hitosan	25
3.4.5. Hidroksietilceluloza (HEC)	27
4. NAMEN DELA	29
5. MATERIALI IN METODE	30
5.1. Materiali	30
5.2. Naprave	30
5.3. Postopki in metode	31
5.3.1. Priprava raztopin polimerov	31
5.3.2. Vrednotenje raztopin polimerov	31
5.3.3. Elektrorazprševanje	32
5.3.4. Vrednotenje izdelanih nanovlaken	32
6. REZULTATI IN RAZPRAVA	34
6.1. Polietilenoksid (PEO)	34
6.1.1. Vrednotenje raztopin	34
6.1.2. Elektrorazprševanje	35
6.1.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken	36
6.1.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken	39
6.2. Polivinilalkohol (PVA)	41
6.2.1. Vrednotenje raztopin	41
6.2.2. Elektrorazprševanje	43
6.2.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken	44
6.2.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken	47
6.3. Natrijev alginat/polietilenoksid (A/PEO)	48
6.3.1. Vrednotenje raztopin	48
6.3.2. Elektrorazprševanje	49
6.3.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken	50
6.3.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken	53
6.4. Hitosan/polietilenoksid (H/PEO)	54
6.4.1. Vrednotenje raztopin	54
6.4.2. Elektrorazprševanje	55
6.4.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken	56
6.4.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken	58
6.4.5. Vpliv pretoka raztopine skozi iglo na morfologijo nanovlaken	61

6.5.	Alginat/polivinilalkohol (A/PVA)	62
6.5.1.	Vrednotenje raztopin	62
6.5.2.	Elektrozprševanje	63
6.5.3.	Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken	64
6.5.4.	Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken	66
6.6.	Hitosan/polivinilalkohol (H/PVA)	68
6.6.1.	Vrednotenje raztopin	68
6.6.2.	Elektrozprševanje	69
6.6.3.	Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken	69
6.6.4.	Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken	71
6.7.	Hidroksietilceluloza/polietilenoksid (HEC/PEO)	72
6.7.1.	Vrednotenje raztopin	72
6.7.2.	Elektrozprševanje	72
6.7.3.	Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken	73
6.7.4.	Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken	74
6.8.	Hidroksietilceluloza/polivinilalkohol (HEC/PVA)	75
7.	ZAKLJUČEK	76
8.	VIRI	78

1. POVZETEK

Nanovlakna so drobna trdna vlakna, ki imajo zaradi zmanjšanja premera na nanometrski nivo izražene edinstvene lastnosti. Imajo ogromno površino na enoto mase ter majhno velikost por, opazno pa je tudi povečanje mehanske trdnosti, prožnosti, površinske reaktivnosti ter termične in električne prevodnosti. Nanovlakna izkazujejo velik potencial za uporabo na najrazličnejših biomedicinskih področjih. Pripravimo jih z različnimi metodami. V zadnjih letih se je izrazito povečalo število raziskav, ki preučujejo elektrorazprševanje kot sodobno in vsestransko metodo za izdelavo nanovlaken tako iz sinteznih kot tudi naravnih polimerov. Osnovni princip procesa je uporaba elektrostatske sile kot gonilne sile za tvorbo vlaken iz polimerne raztopine, pri čemer visoka napetost omogoči tvorbo električno nabitega curka raztopine iz igle, le-ta nato potuje skozi zrak, kjer topilo izhlapi, trdna vlakna pa se zberejo na ozemljenem zbiralu. Na morfologijo izdelanih nanovlaken vplivajo tako procesne spremenljivke kot lastnosti raztopine.

V diplomski nalogi smo uporabili metodo elektrorazprševanja za pripravo nanovlaken iz različnih polimernih raztopin ter ovrednotili vpliv posameznih spremenljivk na morfologijo izdelanih nanovlaken. Uporabili smo biokompatibilne polimere različnih fizikalno-kemijskih lastnosti tako naravnega kot sinteznega izvora, in sicer PVA, PEO, hitosan, alginat in HEC. V prvem koraku smo pripravili polimerne raztopine iz enega polimera določenega koncentracijskega območja ali kombinacije naravnega in sinteznega polimera v različnih masnih razmerjih ter jim podrobno določili viskoznost, površinsko napetost ter prevodnost – torej lastnosti raztopin pomembne za pripravo nanovlaken z metodo elektrorazprševanja. Iz izbranih raztopin smo nadalje z metodo elektrorazprševanja pripravili nanovlakna, pri čemer smo eksperimentalno določili vse in vsak posamezen procesni parameter elektrorazprševanja (aplicirano električno napetost, pretok polimerne raztopine skozi iglo ter razdaljo med iglo in zbiralom). Vrednotenje izdelanih nanovlaken smo izvedli z vrstično elektronsko mikroskopijo, na podlagi dobljenih slik pa smo izvedli analizo in statistično vrednotenje izdelanih nanovlaken.

V diplomski nalogi smo za vsak posamezen sistem preučili kateri procesni parametri so ključni za uspešnost metode elektrorazprševanja ter kako vplivajo na morfologijo dobljenih nanovlaken. Natančno smo preučili tudi vpliv lastnosti polimernih raztopin na uspešnost metode elektrorazprševanja ter morfologijo nanovlaken ter na koncu še raziskali in poskušali razložiti mehanizme nastanka nanovlaken. Ugotovili smo, da lastnosti izbranega

polimera znatno vplivajo na možnost nastanka nanovlaken. V primeru sinteznih polimerov (PEO in PVA) je bilo elektrorazprševanje neproblematično, medtem ko se je ravno obratno pokazalo pri elektrorazprševanju samega naravnega polimera. Vzrok temu je najverjetneje nezadostno prepletanje polimernih verig v raztopini naravnega polimera zaradi rigidne strukture molekul in velike viskoznosti in prevodnosti raztopin. Elektrorazprševanje naravnih polimerov je bilo možno le ob kombinaciji s sinteznim polimerom, saj je le-ta s vključevanjem med molekule naravnega polimera bistveno izboljšal pogoje elektrorazprševanja. Ker med samim procesom elektrorazprševanja na nastali curek vpliva več sil, najpomembnejši sta predvsem elektrostatska in elektrostatska odbojna, je dobljena morfologija nanovlaken odvisna od prevlade posamezne sile. Kadar prevlada elektrostatska sila, ki nasprotuje spremembam v obliki curka, so nanovlakna debelejša, kadar pa elektrostatska odbojna sila, ki povzroča tanjšanje curka, pa tanjša. Razumevanje procesa elektrorazprševanja na molekularnem nivoju ter poznavanje lastnosti raztopin bistveno pripomore k načrtovanju in optimizaciji izdelave nanovlaken.

2. SEZNAM OKRAJŠAV

PEO – polietilenoksid

PVA – polivinilklorid

A – alginat

H – hitosan

A/PEO – alginat/polietilenoksid

A/PVA – alginat/polivinilklorid

H/PEO – hitosan/polietilenoksid

H/PVA – hitosan/polivinilklorid

HEC - hidroksietilceluloza

HEC/PEO – hidroksietilceluloza/polietilenoksid

HEC/PVA – hidroksietilceluloza/polivinilklorid

SEM - vrstični elektronski mikroskop

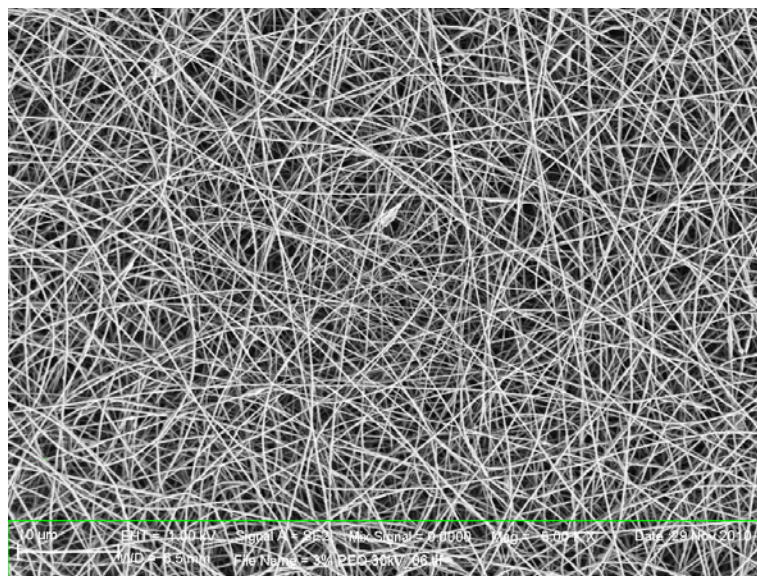
H-NMR – nuklearna magnetna resonanca

3. UVOD

Silovit razmah nanotehnologije v zadnjih letih je spodbudil tako razvoj novih nanotehnoloških metod kot tudi novih nanosistemov. Med slednje spadajo tudi polimerna nanovlakna narejena z metodo elektrorazprševanja in predstavljajo najsodobnejšo obliko nanomateriala.

3.1. Nanovlakna

Nanovlakna so drobna trdna vlakna, ki imajo zaradi zmanjšanja premera na nanometrski nivo izražene edinstvene lastnosti (slika 1). Nanovlakna imajo poleg nanometrskega premera ter teoretično neomejene dolžine tudi ogromno površino na enoto mase ter majhno velikost por, opazno pa je tudi izboljšanje drugih lastnosti. Nanovlakna imajo namreč izraženo večjo mehansko trdnost, prožnost, površinsko reaktivnost ter termično in električno prevodnost v primerjavi s katerokoli obliko enakega materiala (1 - 6). Vse te lastnosti omogočajo široko uporabo nanovlaken na različnih biomedicinskih področjih. Nanovlakna s svojo strukturo posnemajo fibrilarne elemente naravnega zunajceličnega matriksa in so zato primarna izbira za uporabo v tkivnem inženirstvu (7 – 13). Ob izbiri primerne polimera lahko nanovlakna razvijemo kot sodobne obloge za celjenje ran, z vgraditvijo zdravilne učinkovine v notranjost ali na površino pa nanovlakna služijo tudi kot učinkovit dostavni sistem s takojšnjim ali prirejenim sproščanjem (10, 13 - 17).



Slika 1 Nanovlakna.

Za izdelavo polimernih nanovlaken so se v preteklosti uporabljale različne tehnologije izdelave, kot so vlečenje, izdelava s pomočjo šablon, ločitev faz in spontana tvorba (2). Vendar pa je v zadnjih 5-10 letih velika pozornost namenjena elektrorazprševanju kot sodobni metodi za izdelavo nanovlaken iz najrazličnejših materialov (1, 2, 5, 18 - 21).

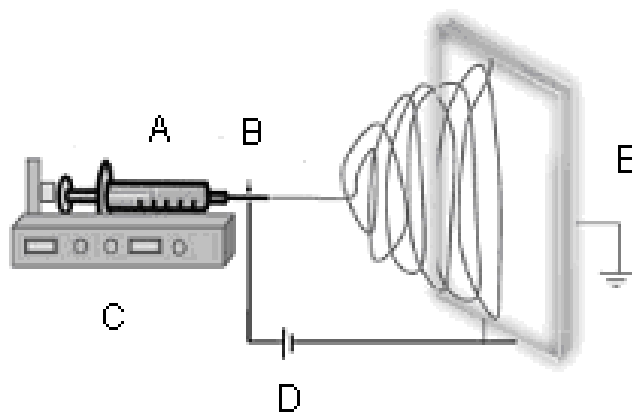
3.2. Elektrorazprševanje

Elektrorazprševanje kot postopek izdelave nanovlaken iz polimerne raztopine z uporabo visoke električne napetosti je znan že več kot 100 let. Že leta 1934 je Forsmall prvič patentiral napravo, s katero je pripravil nanovlakna iz raztopine celuloznega acetata v mešanici acetona in etanola (2, 4, 16, 18, 21, 22).

Leta 1969 je Taylor objavil članek, v katerem je preučeval obnašanje kapljice polimerne raztopine na konici igle, medtem ko je le-ta priključena na visoko električno napetost. Ugotovil je, da se kapljica, ob izenačenju sil površinske ter električne napetosti preoblikuje v stožec (danes imenovan Taylorjev stožec). Iz vrha tega stožca se nato tvori polimerni curek, ki omogoča tvorbo nanovlaken (16, 18, 22, 23).

Nekaj let za tem, leta 1971, je skupina raziskovalcev pod vodstvom Baumgarten-a načrtno preučevala vpliv sprememb procesnih parametrov in lastnosti raztopine na morfologijo akrilnih nanovlaken. Od takrat naprej zanimanje za elektrorazprševanje tako v akademskih kot tudi industrijskih krogih neprestano narašča, kar jasno dokazuje vedno večje število publikacij in patentov objavljenih na to temo (1, 2, 18, 19, 22, 24).

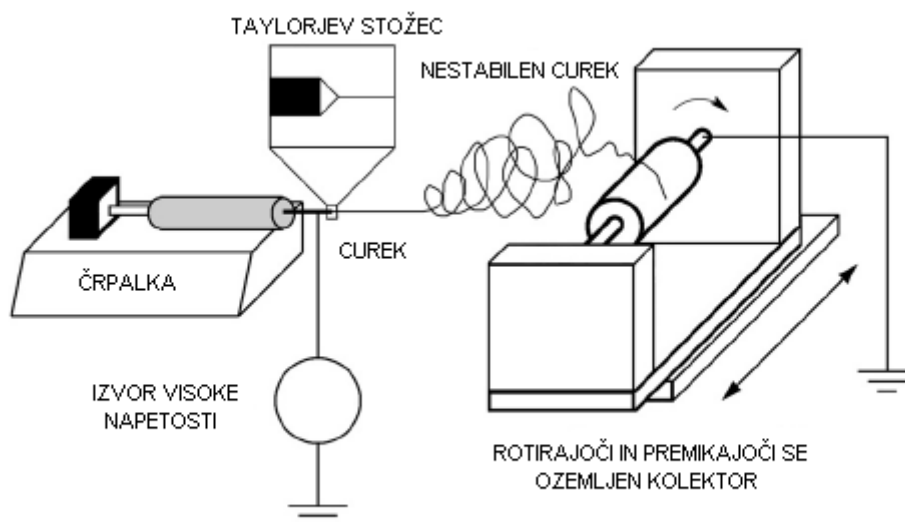
Osnovni princip elektrorazprševanja (ang. »*electrospinning*«) je uporaba elektrostatske sile kot gonilne sile za tvorbo vlaken iz polimerne raztopine, pri čemer visoka napetost omogoči tvorbo električno nabitega curka raztopine iz igle, le-ta nato potuje skozi zrak, kjer topilo izhlapi, trdna vlakna pa se zberejo na ozemljenem zbiralu. Tipična naprava za izdelavo nanovlaken je sestavljena iz treh osnovnih komponent, in sicer: generatorja, ki omogoča tvorbo visoke napetosti; brizge s kovinsko iglo ter ozemljenega zbiralu (slika 2) (2, 18, 21, 23, 25).



Slika 2 Osnovna shema naprave za elektrorazprševanje. A – briga z raztopino polimera, B- igla, C – črpalka, D – izvor visoke napetosti, E – ozemljeno zbiralo (2)

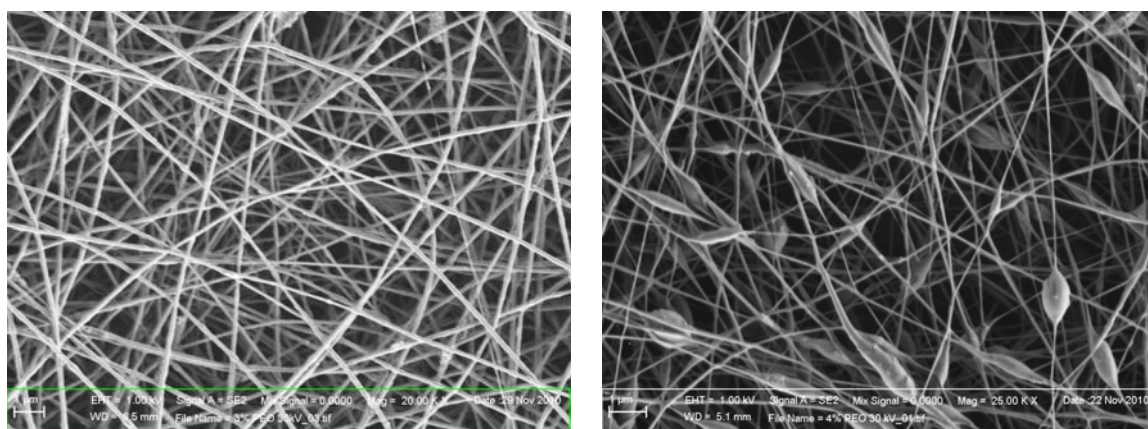
Nanovlakna z metodo elektrorazprševanja najpogosteje izdelamo iz polimerne raztopine (18). Polimerna raztopina se nahaja v brizgi, ki jo s pomočjo črpalke ali gravitacijske sile potiskamo skozi kovinsko iglo z določenim konstantnim pretokom, na to kovinsko iglo pa je pripet izvor visoke električne napetosti. Polimerna raztopina sprva skozi iglo kaplja, a ob priključitvi visoke napetosti v raztopino uvajamo električni naboj, ki se porazdeli po površini kapljice. Z večanjem napetosti se površina kapljice zaradi naraščajočih odbojnih sil med istovrstnimi naboji v raztopini in privlačnih sil med raztopino in nasprotno nabitim zbiralom oblikuje v Taylorjev stožec. Ko električna napetost preseže površinsko napetost raztopine, se iz vrha stožca tvori nabit curek, ki potuje do ozemljenega ali nasprotno nabitega zbirala (slika 3). Curek je na tej poti podvržen nestabilnosti, saj nanj deluje več sil, in sicer:

- gravitacijska sila,
- elektrostatska sila zaradi električne napetosti, ki vleče curek do zbirala,
- elektrostatska odbojna sila, ki predstavlja odboj med enako nabitimi delci,
- viskoelastična sila, ki preprečuje raztegnitev curka,
- površinska napetost, ki tudi preprečuje raztegnitev curka ter
- vlečna sila zaradi upora med curkom in okoliškim zrakom (22).



Slika 3 Shema naprave za elektrorazprševanje z rotirajočim in premikajočim se zbiralom. Na konici igle je prikazan nastanek Taylorjevega stožca in curka, ki izhaja iz vrha le-tega. Curek je med potjo podvržen nestabilnosti. (22)

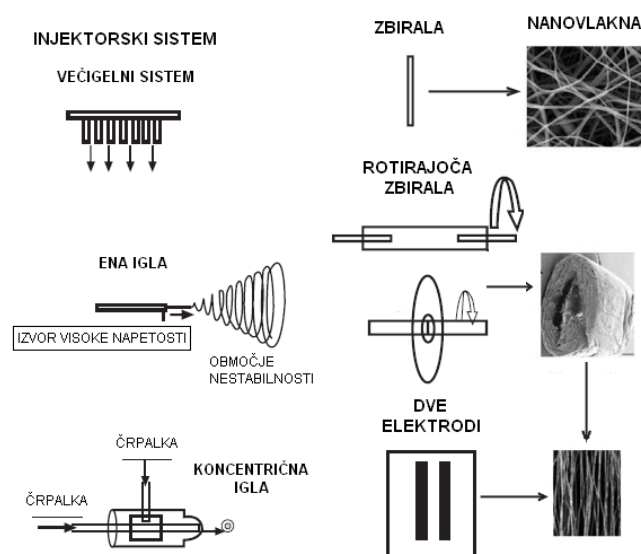
Posledica skupnega delovanja vseh teh sil je tanjšanje in raztegovanje curka do nanometrskih velikosti, pogosto pa pride tudi do zvijanja in razprševanja curka ter spremembe poti le-tega (1, 2, 21, 22). Hkrati pride tudi do izhlapevanja topila in posledično se zato na zbiralu zberejo trdna nanovlakna, ki so najpogosteje razporejena naključno. Kadar do popolne iztegnitve polimera ne pride bodisi zaradi neoptimalnih pogojev bodisi zaradi samih lastnosti polimera, dobimo na nanovlaknih vozle (ang. »beads«) (slika 4). Velja poudariti, da je opisan mehanizem le ena izmed možnih razlag molekularnega dogajanja med elektrorazprševanjem, saj celoten proces še zdaleč ni popolnoma pojasnjen (3, 21 - 23).



Slika 4 Levo primer gladkih nanovlaken (5% PEO, 20 kV), desno primer nanovlaken z vozli (4% PEO, 20 kV).

Osnovno napravo za elektrorazprševanje so tekom raziskav spreminjali, modificirali in tako uvedli številne izboljšave (slika 5). Tako je lahko brizga opremljena z večim številom igel ali pa uporabimo celo več brizg, obe različici pa omogočata nastanek širšega območja nanovlaken ter hitrejšo proizvodnjo. Ena izmed novejših in najuporabnejših izboljšav je uporaba koaksialne šobe, ki nam omogoča izdelavo nanovlaken tipa jedro-ovojnica. Pri tem dovajamo dve različni raztopini po koncentričnih iglah, kjer je tista z manjšim premerom nameščena znotraj večje (2, 26). Prav za ta tip je največ zanimanja na področju dostavnih sistemov, saj s primerno izbrano ovojnico lahko signifikantno vplivamo na sproščanje učinkovine iz jedra. Izredno pomembno je dejstvo, da to šobo lahko učinkovito uporabimo za vgrajevanje proteinskih učinkovin brez porušitve njihove native strukture. Protein je namreč raztopljen v notranji polimerni raztopini, in ker ta ni neposredno v stiku z električno napetostjo, temveč je vmes zunanja polimerna raztopina, visoka električna napetost ne poruši njegove strukture (26). Dodatno lahko ta tip šobe uporabimo za izdelavo nanovlaken iz dveh polimerov, ki nista topna v istem topilu.

Pri elektrorazprševanju sta glavni zahtevi za zbiralo njegova prevodnost ter ozemljenost, v ta namen pa ponavadi uporabljamo planarno alufolijo na določenem nosilcu (27). Ker pa izbira zbirala znatno vpliva na urejenost dobljenih nanovlaken, so raziskovalci razvili razna rotirajoča zbirala (rotirajoči boben, kolesu podobno zbiralo in zbiralo v obliki valja) ter kot zbirala uporabljali tudi ločene elektrode, kar je omogočilo nastanek usmerjeno zloženih nanovlaken (slika 5) (1, 2, 9, 14, 18, 22, 28, 29).



Slika 5 Prikaz novejših modifikacij klasične naprave za elektrorazprševanje ter nastala nanovlakna. (2)

Kot že prej omenjeno, lahko pripravimo polimerna nanovlakna iz polimerne raztopine v ustreznem topilu ali iz polimerne taline (18). Obe metodi imata seveda svoje prednosti in slabosti. V splošnem elektrorazprševanje raztopine rezultira v širši velikostni distribuciji vlaken, vlakna pridobljena iz taline pa so ponavadi mikrometrskih velikosti ali celo večja (18, 22). Elektrorazprševanje raztopine poteka pri atmosferskem tlaku, medtem ko je v primeru taline potrebno uporabiti vakuum. Uporaba taline sicer odpravi uporabo organskih topil, vendar pa moramo talino med procesom vzdrževati pri povišani temperaturi, kar pogosto omejuje uporabo v tkivnem inženirstvu in razvoju dostavnih sistemov termolabilnih učinkovin. Uporaba taline lahko sicer odpravi težave nezadostnega izhlapevanje topila, a se mora biti polimer sposoben na določeni razdalji dovolj ohladiti, da lahko tvori vlakna s cilindrično morfologijo (1, 2, 18, 22, 30). Sklepamo lahko, da je za uporabo v farmaciji primernejša priprava nanovlaken iz polimerne raztopine: proces namreč vodimo pri sobnih pogojih, v teoriji z uporabo polimerov nismo omejeni, dobljena vlakna so nanometrskih velikosti, s spreminjanjem parametrov raztopine pa imamo več možnosti vplivanja na morfologijo vlaken. Seveda pa je potrebno proces optimizirati in se zavedati možnosti zaostanka organskih topil (1, 2, 22).

3.2.1. Spremenljivke

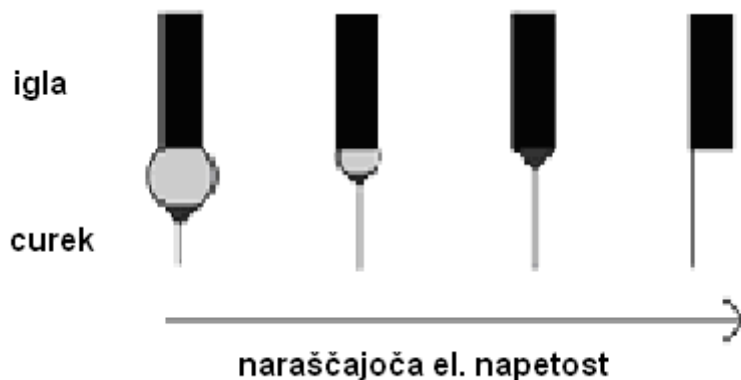
Cilj elektrorazprševanja je pripraviti nanovlakna določenega premera brez vozlov in površinskih defektov, in hkrati seveda doseči ponovljivost procesa izdelave. Na tvorbo in strukturo nastalih nanovlaken močno vplivajo tako procesne spremenljivke kot tudi lastnosti polimerne raztopine, določen vpliv pa imata tudi temperatura in vlažnost delovnega okolja. Med procesnimi spremenljivkami imajo največji vpliv uporabljena električna napetost, pretok polimerne raztopine, razdalja med iglo in zbiralom ter tip samega zbiralca (18). Med kritičnimi lastnostmi polimerne raztopine pa so viskoznost oziroma koncentracija, površinska napetost, prevodnost ter hlapnost topila (1 - 3, 18, 21 - 23, 28, 32).

Velja poudariti, da so spremenljivke medsebojno odvisne, zato je pri razlagi sprememb potrebno upoštevati vse eksperimentalne pogoje. Kljub temu da lahko med spremenljivkami in morfologijo nastalih nanovlaken potegnemo številne zakonitosti, pa se moramo zavedati, da so vplivi vendarle odvisni od posameznega preučevanega sistema. Tako bo le optimizirana kombinacija vseh spremenljivk za vsak posamezen sistem polimer/topilo vodila do uspešne tvorbe nanovlaken želene morfologije (1, 5, 22).

Procesne spremenljivke

Med procesnimi spremenljivkami ima največji vpliv na proces elektrorazprševanja uporabljena električna napetost, saj vpliva na obnašanje curka med potjo in posledično na premer nastalih vlaken. Tako lahko s spreminjanjem le-te dobimo vlakna mikro- ali nanometrskih velikosti. Minimalna potrebna napetost naj bi bila 6 kV, najpogosteje pa je le-ta med 10 in 25 kV (22). Za vsak posamezen primer polimer/topilo obstaja neka optimalna električna napetost, ki omogoča uspešno elektrorazprševanje ter tvorbo nanovlaken brez vozlov, prevelika ali premajhna uporabljena napetost pa vodi v tvorbo vozlastih vlaken. V splošnem večja uporabljena napetost zmanjša premer vlaken, saj na curek ob tem deluje večja sila, ki ga stanjša (3, 5, 22, 23, 28, 31, 33).

Raziskovalna skupina pod vodstvom Deitzel je preučevala obnašanje vodne raztopine polietilenoksida (PEO) v odvisnosti od spreminjajoče se električne napetosti (5,5-15 kV) in ugotovila, da naraščajoča električna napetost spremeni obliko površine, kjer se tvori Taylorjev stožec in curek (slika 6). Pri nizki uporabljeni napetosti se stožec tvori na konici kapljice polimerne raztopine. Le tej se ob večanju napetosti volumen zmanjšuje, dokler se Taylorjev stožec ne tvori neposredno na igli, kar je najoptimalnejša oblika pri samem procesu. Nadaljne večanje napetosti povzroči tvorbo curka direktno iz kapilare, kar pa vodi v povečano število vozlov (22, 23).



Slika 6 Vpliv spreminjanja električne napetosti na tvorbo Taylorjevega stožca.

Velja poudariti, da vpliv napetosti ni vedno enak. Tako sta Supaphol in Chuangchote ugotovila, da se premer nanovlaken pripravljenih iz 6 - 14% raztopine polivinilalkohola (PVA) z naraščajočo napetostjo najprej manjša, nato pa se od določene napetosti naprej začne večati (5). Po drugi strani pa je ravno obratno ugotovil Meechaisue med

raziskovanjem raztopine etilnega estra poli(desaminotirozil-tirozin)karbonata. Premer nanovlaken iz 15% je sprva naraščal, nato pa padal (31). Rezultate je razložil z medsebojnim delovanjem dveh sil in sicer i) elektrostatske odbojne sile, ki povzroča raztegovanje curka in posledično manjši premer ter ii) elektrostatske sile, ki ob večji uporabljeni napetosti poveča hitrost curka in masni pretok, kar privede do večjega premera. In glede na to, katera sila prevladuje, je premer nanovlaken manjši ali večji (22).

Na premer v kombinaciji z električno napetostjo vplivata tako polimerna koncentracija kot tudi razdalja med konico igle in zbiralom. Pri večjih koncentracijah je povečanje premera bolj izrazito, kar lahko pripišemo večjemu vplivu povečanega masnega pretoka ob večji napetosti (23). Sprememba razdalje pa neposredno vpliva na čas potovanja curka in na moč električnega polja, ki je definirana z razdaljo in uporabljeno napetostjo (20, 42). Zaradi tega bo pri manjših razdaljah in večjih napetostih električno polje imelo večjo moč in posledično bodo vlakna tanjša (3). Pri manjših napetostih je moč električnega polja manjša, pomemben pa je predvsem čas raztegovanja vlakna (3, 5, 13, 23, 28, 34).

V splošnem velja, da z daljšanjem razdalje pada premer nanovlaken. Raziskovalna skupina pod vodstvom Zhanga je ugotovila, da se premer vlaken iz mešanice hitosana in PVA manjša z naraščajočo razdaljo med iglo in zbiralom (28). Dodatno je Megelski pri izdelavi nanovlaken iz polistirena opazil, da se s krajšanjem razdalje večja pojavnost vozlov in kapljic (22). Kadar je uporabljena razdalja prekratka, topilo ne izhlapi popolnoma, kar lahko privede do zlepljanja vlaken med seboj in na zbiralo (5). Prav tako prekratka razdalja ne omogoči popolne iztegnitve polimernih verig, zato se pojavijo vozli. Čeprav je pri večji razdalji več časa za raztegovanje vlaken in so zato le-ta tanjša, pa po drugi strani večja razdalja slabi moč električnega polja, kar vodi v večji premer nanovlaken. Dobljeni premer je tako ponovno skupek delovanja obeh pojavov ter se lahko poveča, zmanjša ali ostane nespremenjen (3).

Procesna spremenljivka, ki tudi vpliva na premer nanovlaken, dodatno še na njihovo poroznost in obliko, je hitrost pretoka polimerne raztopine skozi iglo. Ponavadi uporabljeni pretoki so med 0,02 in 6 ml/h (5, 13, 28). Taylor je kot rezultat raziskav ugotovil, da mora biti pretok takšen, da se stožec na konici igle vzdržuje, kljub temu da je bilo nekaj raztopine izbrizgane kot curek (22). Megelski s sodelavci pa je s preučevanjem sistema polistiren/tetrahidrofuran zaključil, da z naraščajočim pretokom naraščata tako premer vlaken kot tudi velikost por. Dodatno je pri večjih pretokih opažena tvorba sploščenih

vlaknen in večja pojavnost vozlov, kar je posledica nepopolnega odparevanja topila med potovanjem curka (3, 22).

Na urejenost dobljenih nanovlaknen najbolj vpliva vrsta zbirala. Na navadnem, nepremičnem zbiralu v obliki aluminijaste folije so nanovlakna naključno usmerjena, medtem ko na rotirajočih se zbiralih tvorijo sveženj (29). Kadar služita kot zbiralo dve elektrodi, se nanovlakna med njima orientirajo ter uredijo (35). Urejenost nanovlaknen je zelo pomembna predvsem v tkivnem inženirstvu za tvorbo tkivnih nadomestkov žil, saj vlakna žilnih sten potekajo vzporedno (2).

Lastnosti raztopine polimera

Poleg procesnih spremenljivk vplivajo na nastanek in strukturo nanovlaknen tudi lastnosti polimerne raztopine, med katerimi so najpomembnejše viskoznost oziroma koncentracija polimera, površinska napetost ter prevodnost.

Najpomembnejša med lastnostmi raztopine je koncentracija polimera, ki določa, ali je iz raztopine sploh možno tvoriti nanovlakna. Koncentracija ima neposreden vpliv na viskoznost in površinsko napetost raztopine, oba parametra pa sta bistvenega pomena pri procesu elektrorazprševanja. Če je raztopina preveč razredčena, do prepletanja polimernih verig ne pride, curek ni stabilen in se zaradi površinske napetosti razbije v kapljice. Po drugi strani pa se prekoncentrirani raztopini močno poveča viskoznost, zaradi česar nismo več sposobni nadzorovati pretoka raztopine skozi iglo in tvorba nanovlaknen je onemogočena (7, 13, 14, 28, 34, 36). Polimerna koncentracija mora biti torej takšna, da se v raztopini začnejo polimerne verige med seboj prepletati, ta mejna koncentracija pa je lastnost posameznega polimera. Za vsak posamezen par polimer/topilo obstaja območje optimalne koncentracije, ki pri nespremenjenih ostalih pogojih omogoča nastanek nanovlaknen (37). Koncentracijsko območje polimernih raztopin, iz katerih se najpogosteje pripravijo nanovlakna, je med 1- 20 % m/m, seveda pa tudi druge koncentracije niso izključene (23, 27 31, 38). Doshi in Reneker sta s spreminjanjem koncentracije PEO ugotovila, da je primerna viskoznost raztopine med 0,8 in 4,0 Pas (39). Mnoge raziskave so potrdile, da v območju, kjer se nanovlakna lahko formirajo, njihov premer narašča z naraščajočo koncentracijo (23, 31). Dodatno pa je Fong ugotovil, da je pri večjih koncentracijah prisotnih manj vozlov, so pa le-ti večji (1).

Sočasna tvorba vozlov, kapljic in nanovlaken je pogojena s površinsko napetostjo, na katero vplivata izbran polimer in topilo. Površinska napetost namreč poskuša zmanjšati površino na enoto mase, zato se curek razbije v kapljice. Le-ta zato predstavlja drugo pomembno lastnost raztopine, ki znatno vpliva na morfologijo izdelanih nanovlaken (5, 10, 19, 29, 39). Tudi pri površinski napetosti raztopine obstaja neko optimalno območje, v katerem dobimo gladka nanovlakna. Prevelika površinska napetost vodi v nestabilnost curka in preprečuje nastanek nanovlaken, zato dobimo vozle. V kolikor jo zmanjšamo, je možno dobiti vlakna brez vozlov. Pomembna posledica zmanjšanja površinske napetosti je tudi omogočeno razprševanje pri manjših napetostih, kar močno izboljša varnost pri delu (40). Kriegel se je v svojih raziskavah lotil vpliva površinsko aktivnih snovi na morfologijo vlaken iz mešanice hitosana in PEO ter ugotovil, da je dodatek natrijevega dodecilsulfata ali lavrilnega etra polietilenglikola zmanjšal tako pojavnost vozlov kot tudi premer nastalih nanovlaken (40). Velja poudariti, da pa vendarle ni nujno, da se lastnosti nanovlaken ob zmanjšani površinski napetosti izboljšajo (6, 14, 18, 40, 41). Tako je Fong po eni strani ugotovil, da dodatek etanola vodni raztopini PEO zniža površinsko napetost ter poveča viskoznost raztopine, nastala vlakna, ki pa so prej vsebovala vozle, pa ob istih pogojih postanejo gladka (19). Po drugi strani pa je Zhang ob preučevanju vodno-etanolnih raztopin PVA ugotovil, da vozli kljub dodatku etanola ostanejo. Ob dodatku etanola sta se zaradi slabe topnosti PVA v etanolu namreč zmanjšali tako površinska napetost kot viskoznost, dobljena viskoznost pa je bila premajhna za nastanek gladkih nanovlaken (27). Na tem mestu se ponovno kaže sočasno delovanje večih spremenljivk ter individualizem vsakega sistema, zato modifikacija pogojev za en sistem neposredno ne pomeni uspešnega pristopa pri tvorbi nanovlaken iz drugega.

Prevodnost raztopine polimera, ki je odvisna od polimera, topila in elektrolitov, lahko vpliva na premer vlaken za 1-2 velikostna razreda. Le-ta namreč določa gostoto naboja v curku in s tem posledično vpliva na morfologijo nanovlaken. Raztopine z veliko prevodnostjo imajo sposobnost nositi večji naboj kot tiste z nizko, zaradi česar bo curek takšne raztopine v prisotnosti električnega polja izpostavljen večji napetostni sili in premer vlaken bo posledično manjši (6, 18, 19, 29, 40). Poleg tega je bilo ugotovljeno, da je število vozlov obratno sorazmerno z gostoto naboja (19).

Prevodnost raztopine lahko enostavno povečamo z dodajanjem različnih soli v polimerno raztopino, pri čemer ima določen vpliv tudi tip uporabljenega elektrolita. Manjši kot je

namreč radij iona, večja je gostota naboja in posledično tudi mobilnost v zunanjem električnem polju (42). Tako so eksperimentalni rezultati pokazali, da dodatek NaCl raztopini PEO omogoči, da vlakna, ki so prej vsebovala vozle, postanejo gladka (42). Son pa je ob dodatku polielektrolita polialilaminklorida in natrijevega poliakrilata ratopini PEO ugotovil, da se je premer nanovlaken zmanjšal, poleg tega je bila tudi porazdelitev velikosti enakomernejša (29).

Pri neionskih polimernih raztopinah dodatek elektrolitov običajno samo poveča prevodnost, medtem ko viskoznost in površinska napetost ostaneta nespremenjeni. (10, 40). Drugače je pri ionskih polimerih, zato je v tem primeru potrebno za razlago lastnosti dobljenih nanovlaken upoštevati tudi vpliv drugih spremenjenih lastnosti raztopin.

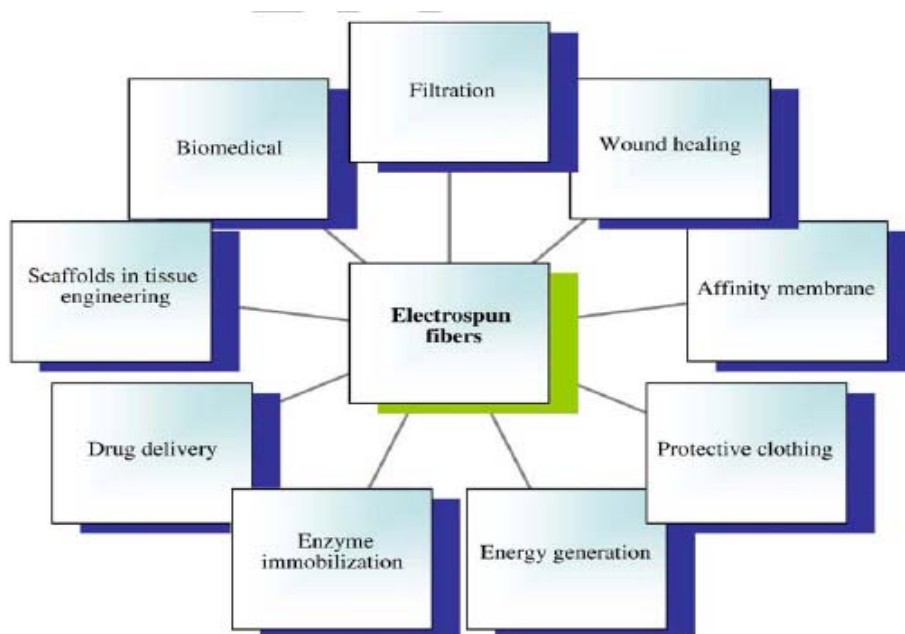
Poleg zgoraj omenjenih lastnosti raztopine je ena izmed kritičnih odločitev tudi izbira topila, saj topilo vpliva tako na sposobnost tvorbe nanovlaken kot tudi njihovo poroznost. Uporabiti je potrebno hlapno topilo, ki bo ob določenih procesnih spremenljivkah izhlapelo, saj bomo le tako na zbiralu dobili trdna, suha nanovlakna. Od lastnosti topila je odvisna tudi morfologija nastalih vlaken (6, 10, 14, 27, 41). Megelski s sodelavci je pripravil polistirenska nanovlakna iz raztopin, ki so vsebovale različne deleže dimetilformamida (DMF) in tetrahidrofurana (THF). Vlakna pripravljena iz 100 % raztopine THF (bolj hlapno topilo) so imela večjo gostoto por, kar je povečalo specifično površino za 20-40%, uporaba 100% DHF pa se je izrazila v popolni izgubi mikrotekture in tvorbi gladkih vlaken. Med tema mejnima primeroma se je z manjšanjem hlapnosti topila večalo število por, ki pa so imele manjšo globino (zato se je gostota por zmanjšala) (22).

Vpliv okolja

Določen vpliv na morfologijo nanovlaken imajo tudi pogoji, v katerih nanovlakna pripravljamo, saj le-ti posredno vplivajo na druge spremenljivke (3, 13, 18, 43). Uppatham je s preučevanjem raztopine poliamida-6 v temperaturnem območju od 25 do 60°C ugotovil, da se premer nanovlaken z naraščajočo temperaturo manjša, kar lahko pripišemo zmanjšani viskoznosti raztopine pri večji temperaturi (18). Študije, ki jih je vodil Baumgarten so pokazale, da nižja vlažnost povzroča hitrejše izhlapevanje hlapnega topila, Li in Xia pa sta med raziskavami ugotovila, da večja vlažnost pripomore k hitrejši razelektritvi nanovlaken (18).

3.3. Uporabnost nanovlaken

Na vprašanje kje nanovlakna lahko uporabljamo, lahko odgovorimo, da pravzaprav povsod. Sploh v zadnjih letih se odkriva njihov potencial na področju medicine, farmacije, filtracije, senzorjev, zaščitnih tkanin itd. (2, 10, 18, 22, 29), kot izhaja iz spodnjega diagrama (slika 7). Če se osredotočimo na področje biomedicine, lahko uporabnost nanovlaken strnemo v tri področja in sicer tkivno inženirstvo, razvoj dostavnih sistemov zdravilnih učinkovin in sodobnih oblog za celjenje ran, pri čemer pri izdelavi nanovlaken uporabljamo biokompatibilne polimere (29).



Slika 7 Področja uporabe nanovlaken. (18)

3.3.1. Nanovlakna v tkivnem inženirstvu

Tkivno inženirstvo je multidisciplinarno področje, katerega cilj je razvoj bioloških nadomestkov, ki obnavljajo, vzdržujejo ali izboljšajo funkcijo tkiv (2). Za zadovoljivo oporo celicam ter izboljšano razraščanje tkiva v vseh treh dimenzijah morajo biti tkivni nadomestki visoko porozni, izjemno koristno pa je tudi, če posnemajo lastnosti naravnega zunajceličnega matriksa (4, 8, 18, 22, 44). Natančnejše biološko poznavanje strukture tkiv razkrije, da je večina človeških organov in tkiv na nanometrskem nivoju dobro organizirana, hierarhično urejena vlaknasta struktura (10, 44), zato lahko hitro vidimo potencial nanovlaken kot medicinskih protez in tkivnih nadomestkov. Tako nanovlakna posnemajo osnovne fibrilarne gradnike tkiv, kot so kolagenska in elastinska vlakna, zato takšni tkivni nadomestki omogočajo učinkovito celično adhezijo, proliferacijo,

diferenciacijo, razmnoževanje in migracijo, poroznost nanovlaken pa omogoča izmenjavo hranil in metabolitov (22, 44). Dodatno lahko nanovlakna uporabljamo kot interfazni tanek porozen film in tako učinkovito zmanjšamo neujemanje in trenje med živim tkivom in protezo, s tem pa tudi zavrnitev po implantaciji (2, 21).

Za izdelavo nanovlaken kot tkivnih nadomestkov lahko v odvisnosti od želene uporabe uporabljamo tako naravne kot sintezne biokompatibilne polimere. Med temi so bolj zaželeni biorazgradljivi polimeri, saj se tako izognemo potrebi po sekundarnem operacijskem posegu, ko je nadomestek potrebno odstraniti (2, 18).

Nanovlakna se lahko uporabljajo kot tkivni nadomestki za žile, kosti, hrustanec ipd. (2) Za obnovo žilja in živčnih vlaken so potrebna orientirana vlakna, saj le-ta bolje posnemajo realne pogoje in zato omogočajo boljše celično pripenjanje in diferenciacijo. Inoguchi je za izdelavo nanovlaken za vaskulaturno uporabo uporabil poli(L-laktat-co-ε-kaprolakton) in ugotovil, da se z večanjem debeline nanovlakenskega filma doseže boljša odzivnost na pulzirajoči tok in s tem optimalnejše posnemanje naravne arterije (2). Thomas je preučeval polikaprolaktonska nanovlakna pripravljena s pomočjo rotirajočega zbirala kot nadomestek kosti. Rezultati so pokazali, da so bila ob hitrejši rotaciji zbirala nanovlakna bolj urejena, mehanske lastnosti posameznega nanovlakna so se sicer poslabšale, vendar pa so se mehanske lastnosti celotnega filma izboljšale (22). Najnovejše raziskave na tem področju se sedaj usmerjajo v nanovlaknaste tkivne nadomestke z vgrajenimi zdravilnimi učinkovinami, ki se sproščajo nadzorovano ali v odvisnosti od okoljskih dejavnikov (2, 10, 40, 45).

3.3.2. Nanovlakna kot sodobne obloge za celjenje ran

Tudi potencial nanovlaken kot sodobnih oblog za rane ali opekline ni zanemarljiv. Sodoben pristop celjenja ran ne temelji več na uporabi klasične gaze, ki rano izsuši, temveč na zagotavljanju vlažnega mikrookolja. Raziskave so namreč pokazale, da se z zagotavljanjem vlažnosti in preprečevanjem dehidracije površine rane spodbudi celjenje, poveča celična in encimska aktivnost, izboljša kakovost nastalega tkiva, zmanjša brazgotinjenje in bolečina (14, 46). Glavna funkcija obloge za rano je olajšati celjenje in minimizirati nastanek brazgotin. Obloge predstavljajo fizično bariero pred zunanjim okoljem in s tem ščitijo rano pred nadaljnjo poškodbo ali mikrobiološko kontaminacijo. Obloge morajo biti prepustne za vlago in zrak ter dovoliti odvajanje odvečnih telesnih

tekočin iz rane, da s tem zagotovijo delno imobilizirano vlažno okolje. Dodatno mora biti seveda material za obloge čist in se ne sme adherirati na samo rano, da rane ob menjavi obloge ne poškodujemo (10, 46).

Zaradi edinstvenih lastnosti nanovlaken lahko le-ta, še zlasti kadar so narejena iz hidrofilnega materiala, zagotovijo vse želene lastnosti sodobne obloge za celjene ran. Nanovlakanste membrane imajo namreč tipično visoko poroznost z odlično povezavo por med seboj, kar je še posebej pomembno za drenažo telesnih tekočin (14). Visoka specifična površina skupaj z majhnimi porami nanovlaknom omogoča, da preprečijo tudi invazijo eksogenih organizmov. Velja poudariti, da nanovlakna kot sodobne obloge izboljšajo celjenje po dveh sinergističnih postopkih: po eni strani zagotavljajo vlažno okolje, a po drugi strani tudi pomembno mehansko oporo celicam in reguliranje celičnega obnašanja (10, 14, 18, 46).

Z namenom čim pristnejšega posnemanja naravnega ekstracelularnega matriksa ter fiziološkega procesa celjenja ran so raziskovalci pod vodstvom Rho izdelali nanovlakna iz kolagena tipa I. Študije so pokazale, da uporaba le-teh pospeši celjenje ran pri miših, predvsem v začetni fazi, v primerjavi s konvencionalnim zdravljenjem (18). V nanovlakna lahko seveda vgradimo različne antibiotike, antiseptike, rastne faktorje ali druge učinkovine, ki aktivno posegajo v celjenje ran in s tem še dodatno izboljšamo celjenje. Velja pa poudariti, da za izboljšano celjenje niti ni nujno, da nanovlakna uporabimo za dostavo kakšne učinkovine, saj lahko pozitivne učinke namreč dosežemo že s samo izbiro polimera. Takšen primer nanovlaken so nanovlakna narejena iz derivatov hitosana s kvarterno amonijevo skupino, saj bi naj takšni polimeri interagirali s citoplazemsko membrano bakterijskih celic in tako že sami imeli visoko protibakterijsko in protiglivno delovanje (10). Ignatova je kot rezultat raziskav ugotovila, da nanovlakna iz hitosana/PVA delujejo baktericidno na po Gramu negativno bakterijo *Escherichia coli* in po Gramu pozitiven *Staphylococcus aureus* (10).

3.3.3. Nanovlakna kot dostavni sistem zdravilnih učinkovin

Z uporabo biokompatibilnih polimernih dostavnih sistemov lahko dosežemo kontrolirano sproščanje učinkovine iz farmacevtske oblike, pri čemer lastnosti nosilnega sistema narekujejo obliko sproščanja, ki je lahko takojšnje, zadržano, pulzirajoče ali prirejeno. Pri ne-biorazgradljivih materialih je sproščanje odvisno samo od difuzije, pri biorazgradljivih

materialih pa na profil sproščanja vplivata tako difuzija kot tudi hitrost razgradnje nosilnega sistema. Farmacevtske oblike iz slednjih so zagotovo kompleksnejše, saj lahko pride do sprostitve celotne količine učinkovine naenkrat ter do lokalne toksičnosti, zato je potrebna posebna pozornost pri njihovi izdelavi (10, 15, 22).

V primerjavi s konvencionalnimi nanosistemi, kot so nanodelci in liposomi, lahko s primerno optimizacijo nanovlaken znatno zmanjšamo začetni porast koncentracije (*»burst«* efekt) ter dosežemo kinetiko ničtega reda.

Nanovlakna zaradi svoje velike površine na enoto mase omogočajo znatno boljše raztapljanje slabo topnih učinkovin, ki jih vgradimo vanje (1, 7, 10, 13, 22, 26). Dodatno že sama izdelava nanovlaken z elektrorazprševanjem omogoča nastanek bolj topne oblike učinkovine - med elektrorazprševanjem topilo namreč zelo hitro izhlapeva in ni dovolj časa, da bi učinkovina popolnoma kristalizirala, zato ostane v amorfni obliki (18). Taepaiboon in sodelavci so za ugotavljanje hitrosti sproščanja uporabili salicilno kislino vgrajeno v nanovlakna iz PVA in v navadna vlakna iz PVA. Zaradi večje poroznosti in posledično obsežnejšega nabrekanja, je bilo sproščanje iz nanovlaken hitrejše (15).

Spreminjanje prečne premreženosti nanovlaken je še en pristop, ki vodi do dosega želenega profila sproščanja ter mehanskih lastnosti (2, 7, 8, 44). Nanovlakna iz vodotopnih polimerov so namreč zelo hidrofilna, prečno premreženje doseženo bodisi s kemijskimi bodisi s fizikalnimi metodami pa izboljša njihovo strukturno stabilnost v vodi. Ding je za prečno premreženje PVA uporabil glioksal in fosforno kislino, pri čemer so eksperimentalni rezultati pokazali, da premrežena vlakna v vodi samo nabrekajo, medtem ko se nepremrežena vlakna v vodi raztapljajo (38).

Nanovlakna lahko uporabimo kot dostavne sisteme najrazličnejših zdravilnih učinkovin, kot so antibiotiki, antimikotiki, protitumorne učinkovine, proteini, prekursorji NO ipd. (2, 7, 13, 26). Zdravilne učinkovine lahko na površino ali v notranjost nanovlaken vgradimo na različne načine (1, 2, 15, 22, 44) in sicer:

- adsorpcija učinkovine na že izdelana nanovlakna,
- učinkovino dispergiramo v raztopino polimera in iz takšne raztopine pripravimo nanovlakna z elektrorazprševanjem (najpogostejši način),
- z uporabo koncentrične šobe izdelamo nanovlakna tipa jedro-obloga (polimer kot obloga),

- izdelamo nanovlakna iz učinkovine in nanovlakna iz polimera in jih med seboj prepletemo.

Tako je Smith v svojih študijah izdelal nanovlakna, ki so vsebovala prekurzor NO in rezultati so pokazali, da ob stiku z vodo, krvjo ali telesnimi tekočinami pride do sproščanja NO, ki deluje vazodilatorno (2). Taepaiboon s sodelavci je za transdermalno uporabo pripravil nanovlakna iz PVA z vgrajenimi NSAID z različno topnostjo (natrijev salicilat, natrijev diklofenak, naproksen in indometacin). S H-NMR so ugotovili, da elektrorazprševanje ni spremenilo kemijske integritete učinkovin, sproščanje iz nanovlaken pa je bilo hitrejše kot iz navadnih PVA vlaken (15). Kenawy je preiskoval sproščanje tetraciklina iz nanovlaken iz polimlečne kisline, poli(etilen-kovinilacetata) in kombinacije obeh (50/50). Rezultati eksperimentalnih testov so pokazali, da je sproščanje iz nanovlaken hitrejše in popolnejše tudi kot sproščanje iz polimernega filma (15).

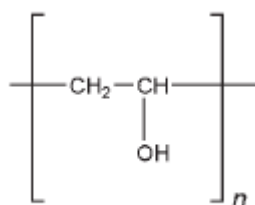
3.3.4. Nanovlakna in imobilizacija encimov

Encimi imobilizirani na inertnem netopnem nosilcu imajo številne prednosti v primerjavi z encimi v prosti obliki, med katere spadajo možnost ponovne uporabe, boljša kontrola encimske reakcije ter njihova večja stabilnost (10, 18). Delovanje encimov je v veliki meri odvisno od lastnosti in strukture nosilnega materiala, porozen material pa omogoča večjo vezavo encimov in olajšano difuzijo substratov in produktov. Dodatno je zaradi velike površine še katalizacijska sposobnost encimov povečana. Tako je na primer Jia na nanovlakna iz polistirena imobiliziral α -kimotripsin, kar je za 65% povečalo hidrolizno aktivnost (18). Encime lahko na nanovlakna vežemo kovalentno, lahko pa jih s pomočjo koncentričnih šob vgradimo v notranjost nanovlaken (18, 26), pri čemer slednji način omogoča velik izkoristek vezave encimov (do 50 % nanovlaken) (18). Kljub raziskavam širšo uporabo imobiliziranih encimov omejujejo številne prepreke, saj sta katalitska učinkovitost in stabilnost encimov zelo majhni, problematična pa je tudi izdelava serij ter razvoj sistemov.

3.4. Polimeri za izdelavo nanovlaken

3.4.1. Polivinilalkohol (PVA)

PVA je polimer pridobljen s popolno ali delno hidrolizo polivinilacetata (slika 8). Njegova tipična molekulska masa je od 20 000 do 200 000 kDa. Na tržišču je na voljo več vrst, ki se med seboj razlikujejo po stopnji polimerizacije in substitucije (25, 38, 47, 48, 51).



Slika 8 Strukturna formula PVA.

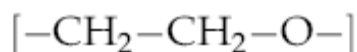
PVA nastopa v obliki belega do kremno obarvanega praška ali granul brez vonja in okusa. Je topen v vodi, pri čemer se hitreje raztaplja v topli vodi, netopen v organskih topilih, v 95% etanolu pa je delno topen. Vodne raztopine v tesno zaprtih vsebnikih so stabilne, ob dolgotrajnem shranjevanju pa je potrebno konzerviranje. V raztopinah močnih kislin pride do razpada PVA, v šibkih kislinah in bazah pa do mehčanja in raztapljanja. V prisotnosti anorganskih soli je nestabilen, medtem ko gelira v prisotnosti boraksa (38, 47, 51).

PVA pogosto srečamo v različnih dermalnih in oftalmoloških pripravkih. V emulzijah se uporablja kot stabilizator, raznoraznim oftalmološkim izdelkom pa povečuje viskoznost (umetne solze,...). Uporablja se tudi v lubrikantih, peroralnih farmacevtskih oblikah z zadržanim sproščanjem in transdermalnih obližih (31, 38, 25, 47, 48).

Zaradi svojih odličnih lastnosti je PVA polimer, ki je široko raziskan na področju izdelave nanovlaken z metodo elektrorazprševanja. Številne raziskave poročajo o uspešnem nastanku nanovlaken iz raztopine PVA (3, 25, 27, 38, 42, 49) ali PVA v kombinaciji z drugimi polimeri pod različnimi eksperimentalnimi pogoji (28, 30, 47, 50).

3.4.2. Polietilenoksid (PEO)

PEO je neionski polimer etilen oksida (slika 9) in vsebuje do 3% silicijevega dioksida in primerne antioksidanta. Na tržišču so oblike z različno dolgimi verigami, ki se med seboj razlikujejo po profilu viskoznosti (38, 47).



Slika 9 Polietilenoksid

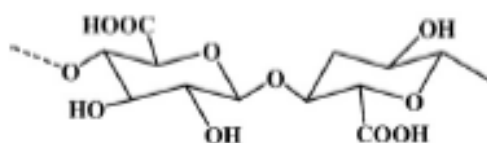
PEO je bel pretočen prašek z rahlim vonjem po amoniaku. Topen je v vodi in mnogih organskih topilih (acetonitril, kloroform in metilenklorid), netopen pa v alifatskih ogljikovodikih, etilen glikolu in večini alkoholov. Ob izpostavljanju visokim temperaturam pride do zmanjšanja viskoznosti (47, 48, 51).

PEO je pomožna snov, ki ima zelo širok spekter uporabe v farmacevtski industriji. V obliki 5 do 85% raztopine se uporablja kot vezivo. Z uporabo različnih molekulskih mas in stopenj nabrekanja lahko dosežemo takojšnje ali zadržano sproščanje, saj višje molekulske mase omogočajo zadržano sproščanje iz hidrofilnega matriksa. Uporablja se lahko tudi kot zgoščevalec, vendar pa moramo nastali raztopini dodati alkohol, da ohranimo željeno viskoznost. Ima tudi odlične mukoadhezivne lastnosti, primeren pa je tudi za oblaganje tablet ali medicinskih pripomočkov, saj ob prisotnosti vode nabreka in je dober lubrikant. Prečno premrežen PEO tvori hidrogel, ki se uporablja kot obloga za rane (38, 47, 48, 51).

PEO je eden izmed prvih polimerov, iz katerih so bila pripravljena nanovlakna z metodo elektrorazprševanja in je še dandanes zelo pogosto uporabljan, saj ima odlično t.i. elektrorazpršljivost (ang. »*electrospinnability*«). Veliko je raziskav, ki so objavile nastanek nanovlaken z (6 – 8, 19, 29, 40) ali brez vozlov (6 – 8, 13, 23, 29, 40). Uporabljamo ga lahko samostojno (13, 19, 23, 29, 44) ali v kombinaciji z drugimi, predvsem naravnimi polimeri (6 – 8, 40).

3.4.3. Alginat

Natrijev alginat je anionski polisaharid pridobljen iz rjave morske alge in je linearen polimer, sestavljen iz natrijeve soli 1,4 povezanih ostankov α -L-guluronske kisline in β -D-manuronske kisline (slika 10) (7, 47).



Slika 10 Strukturna formula alginata.

Alginat je bel ali rumenkasto-rjav higroskopen prašek brez vonja in okusa, ki je dobro topen v vodi, v prisotnosti dvovalentnih ionov pa gelira, saj pride do prečnega premreženja verig (8, 47). Vodne raztopine alginata so kemijsko stabilne v pH območju od 4 do 10, pri pH pod 3 pa pride do obarjanja. Prisotnost mikroorganizmov privede do razgradnje, temperature nad 70°C pa do depolimerizacije in posledično zmanjšanja viskoznosti. Manjše količine soli povzročijo povečanje viskoznosti, večje količine pa izsoljevanje (47, 51).

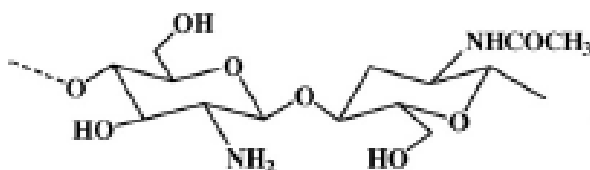
Alginat ima odlično biokompatibilnost, nizko toksičnost, je neimunogen, biorazgradljiv in hidrofilen (4, 8, 44). Tvori lahko hidrogele, gobe in vlakna, vse oblike pa se že uporabljajo v biomedicinske namene. V dermalnih pripravkih se uporablja kot stabilizator emulzij tipa O/V, zgoščevalac in suspendirajoče sredstvo za paste, kreme in gele. V tabletah pa nastopa kot vezivo in razgrajevalo. Ima odlične mukoadhezivne lastnosti in omogoča zadržano sproščanje iz hidrofilnega matriksa. V obliki gob se alginat uporablja za zdravljenje ran in v tkivnem inženirstvu (7, 8, 44, 47, 51).

Zaradi velike prevodnosti, viskoznosti, rigidne konformacije v vodni raztopini in posledično manjšega prepletanja verig, ga je, tako kot večina naravnih polimerov, zelo težko elektrorazprševati. Z dodatkom površinsko aktivnih snovi ali nosilnih polimerov (PVA, PEO,...) olajšamo elektrorazprševanje raztopine in izboljšamo lastnosti nanovlaken (7, 8, 44, 50). Bhattarai in Zhang sta raziskovala vpliv dodatka PEO raztopini alginata na sam proces elektrorazprševanja in morfologijo nastalih nanovlaken in pokazala, da PEO zmanjša viskoznost raztopine, elektrorazprševanje je zato olajšano, povečevanje deleža PEO pa vodi od nastanka kapljic preko nanovlaken z vozli do gladkih nanovlaken (7). Raziskave, ki jih je vodil Park so pokazale, da dodatek površinsko aktivne snovi (lecitina), ki zniža površinsko napetost, tudi olajša elektrorazprševanje, na nanovlaknih pa je prisotnih manj vozlov (8).

3.4.4. Hitosan

Hitosan je polisaharid pridobljen iz hitina z vsaj 50 % deacetilacijo do prostih aaminskih skupin, ki dajejo polimeru pozitiven naboj. Njegova tipična molekulska masa je med 300 in 1000 kDa s heterogeno kemijsko strukturo 1-4 povezanih 2-acetamid-2-deoksi- β -D-glukopiranoz in 2-amin-2-deoksi- β -D-glukopiranoz (slika 11). Zaradi prostih amino skupin je hitosan pri pH od 2 do 6 v obliki pozitivno nabitega polielektrolita, kar poveča njegovo

topnost, lastnosti nastale raztopine pa so odvisne od molekulske mase, stopnje deacetilacije in razporeditve amino skupin v verigi (51).



Slika 11 Strukturna formula hitosana.

Hitosan ima številne ugodne biološke lastnosti, ki kažejo na primernost materiala za medicinske namene. Te lastnosti so biorazgradljivost, netoksičnost, protiglivični učinki, spodbujanje celjenja ran in stimulacija imunskega sistema. Hitosan namreč poveča aktivnost celic prisotnih v vnetni fazi s spodbujanjem migracije le-teh na poškodovana mesta. Zaradi pozitivnega naboja je sposoben tvoriti elektrostatske interakcije z glukozaminoglikani, kar spodbudi celično rast zaradi dodatnega privlaka rastnih faktorjev. Pozitivni naboj tudi reagira z anioni povezanimi s celično steno, kar zavre bakterijsko sposobnost sinteze. Zaradi biorazgradljivosti ter zmožnosti oblikovanja v različne oblike, kot so delci, vlakna in hidrogeli, lahko hitosan uporabimo tudi kot material za učinkovit dostavni sistem zdravilnih učinkovin. Prav vsestranskost hitosana in njegove sposobnosti stimuliranja imunskega sistema ter celične rasti in zaviranja razvoja bakterij delajo ta polimer odličen material za uporabo pri razvoju tkivnih nadomestkov ter sodobnih oblog za rane (7, 40, 51).

Elektrozprševanje raztopin hitosana predstavlja velik izziv. Raztopine so pogosto preveč viskozne, kljub temu da kritična koncentracija potrebna za prepletanje verig še ni dosežena, polikationska narava poveča površinsko napetost, zato je potrebna večja električna sila za nastanek nanovlaken, hkrati pa pride tudi do tvorbe močnih vodikovih vezi med verigami, kar otežuje njihovo mobilnost (7, 40). Tako je le redko moč najti objave uspešne tvorbe nanovlaken iz raztopin hitosana. Znatno več pa je objavljenih raziskav o nastanku nanovlaken iz kombinacije raztopin hitosana in sinteznega polimera (PEO, PVA, polimlečna kislina,...). Pri takšnih raztopinah namreč sintezni polimer izboljša elektrozprševanje raztopine ter deluje kot nekakšen nosilni sistem naravnega polimera (ang. »*co-spinning agent/spinning carrier*«), saj bi se naj vrinil med hitosanske verige, s tem zmanjšal intermolekularne interakcije med molekulami hitosana, fizikalno pa

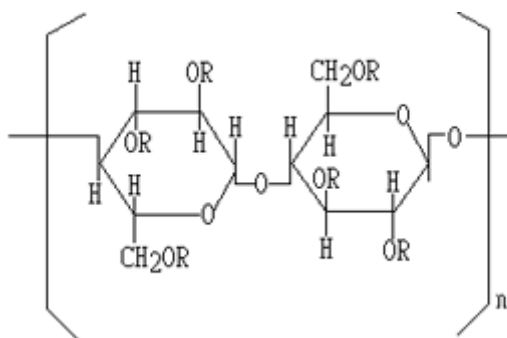
se to izrazi v zmanjšani viskoznosti (9, 34). Poleg tega, da takšne raztopine sploh omogočajo nastanek nanovlaken, so dodatno izboljšane tudi lastnosti nanovlaken (51).

3.4.5. Hidroksietilceluloza (HEC)

Kemijsko je HEC delno substituiran poli(hidroksietilni)celulozni eter (slika 12). Na tržišču je prisotnih več vrst, ki se med seboj razlikujejo po stopnji substitucije in viskoznosti 2% vodne raztopine polimera pri 20 °C (38).

HEC je neionski polimer, po videzu bel do kremno obarvan prašek, brez vonja in okusa. Topen je tako v hladni kot v topli vodi in praktično netopen v večini organskih topil. V bolj polarnih organskih topilih, kot so glikoli, je HEC delno topen ali nabrekne (38, 47).

HEC v obliki praška je stabilen, čeprav higroskopen material. V vodnih sistemih je HEC kemijsko stabilna v pH območju od 2 do 12, čeprav pri pH pod 5 že poteka hidroliza, pri višjih pH-jih pa lahko pride do oksidacije.



Slika 12 Strukturna formula HEC.

Na viskoznost vodnih raztopin pH ne vpliva, ima pa vpliv temperatura. Z višanjem temperature namreč pada viskoznost, vendar pa se z ohlajanjem sistem povrne v prvotno stanje (38, 51).

HEC je široko uporabna pomožna snov, ki se uporablja v številnih farmacevtskih oblikah. V peroralnih farmacevtskih oblikah se uporablja kot vezivo ter za filmsko oblaganje, ali pa kot ogrodje tablet s podaljšanim sproščanjem. V dermalnih farmacevtskih oblikah in v kapljicah za oči se uporablja kot zgoščevalo. Uporaba HEC pa je zelo razširjena tudi v kozmetiki (38, 51). HEC ima lastnosti, ki bi jih polimer primeren za razvoj sodobnih oblog

za celjenje ran imel, v ta namen pa se hidrogeli že raziskujejo. Na naši fakulteti pa se v okviru raziskovalnega dela preučuje priprava HEC nanovlaken.

4. NAMEN DELA

Namen diplomske naloge je razviti metodo elektrorazprševanja za pripravo nanovlaken iz različnih raztopin polimerov ter ovrednotiti vpliv posameznih spremenljivk na morfologijo izdelanih nanovlaken.

V raziskavi bomo uporabili biokompatibilne polimere različnih fizikalno-kemijskih lastnosti tako naravnega kot sinteznega izvora, in sicer PVA, PEO, hitosan, alginat in HEC. Ker je uporaba organskih topil za farmacevtske namene manj sprejemljiva, bo naše glavno topilo za polimere destilirana voda, organsko topilo (ocetno kislino), pa še to v zelo nizkih odstotkih, pa bomo uporabili le v primeru hitosana, ki je topen le v kislih pogojih.

Prvi cilj naloge je pripraviti raztopine ali enega polimera določenega koncentracijskega območja ali kombinacije naravnega in sinteznega polimera v različnih masnih razmerjih ter jim podrobno določiti viskoznost, površinsko napetost ter prevodnost – torej lastnosti raztopin pomembne pri pripravi nanovlaken z metodo elektrorazprševanja.

Drugi cilj diplomskega dela je izdelati nanovlakna iz izbranih raztopin, pri čemer bomo eksperimentalno določili vse in vsak posamezen procesni parameter elektrorazprševanja. Proces elektrorazprševanja bomo optimizirali tako, da bodo dobljen produkt gladka vlakna nanometrskih velikosti brez vozlov. Karakterizacijo izdelanih nanovlaken bomo izvedli z vrstično elektronsko mikroskopijo, iz slik elektronskega mikroskopa pa izvedli analizo podatkov in statistično vrednotenje izdelanih nanovlaken.

Tretji cilj diplomske naloge je kritična analiza procesnih parametrov ključnih za uspešnost elektrorazprševanja in opredelitev vpliva na morfologijo dobljenih nanovlaken. Dodatno bomo natančno preučili tudi vpliv lastnosti raztopin polimerov na uspešnost elektrorazprševanja in morfologijo nanovlaken. Hkrati bomo raziskali in razložili mehanizme nastanka nanovlaken.

5. MATERIALI IN METODE

5.1. Materiali

Polimeri za izdelavo nanovlaken:

- Polivinilalkohol Mowiol 20-98®, $M_r=125\,000$ g/mol, stopnja hidrolize 98.0-98.8 %, stopnja polimerizacije 2800, Clariant GmbH, Frankfurt am Main, Nemčija
- Polietilenoksid, $M_r=400\,000$ g/mol, Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemčija
- Nizkoviskozen hitosan različnih molekulskih mas, viskoznosti (1% raztopine v 1% očetni kislini) < 200 mPas, Fluka, Dunaj, Avstrija.
- Natrijev alginat različnih molekulskih mas, viskoznost (2% raztopine v vodi pri 25°C) = 250 mPas, Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemčija
- Hidroksietilceluloza Natrosol Pharm®, tip 250 HHX - Pharm, Lot: X-01017, $M_r \approx 1\,200\,000$ g/mol, Aqualon, Hercules, Rijswijk, Nizozemska.

Topila za izdelavo nanovlaken:

- Destilirana voda
- Očetna kislina, koncentrirana, Merck, Darmstadt, Nemčija

5.2. Naprave

- Napravo za elektrorazprševanje sestavljajo črpalka (model R-99E, RazelTM), generator (model HVG-P60-R-EU, Linari Engineering s.r.l., Italy), zbiralo (aluminijasta folija na plastičnem nosilcu), plastična brizga (20 ml) in kovinska igla (notranji premer 0,8 mm)
- Konduktometer Iskra Conductivity meter MA 5964 in konduktometrična elektroda s konstanto celice $0,7265\text{ cm}^{-1}$
- SV-10 Vibro Viscosimeter, A&D Company, Japan Tenzimeter Processor Tensimeter K-12, Version 5.05, Kruess GMBH, Hamburg s sistemom ploščice
- Magnetno mešalo
- Tehnica

5.3. Postopki in metode

5.3.1. Priprava raztopin polimerov

Za vsak posamezen polimer smo pripravili raztopine različnih koncentracij, izbira slednjih pa je bila osnovana na podrobnem literaturnem pregledu že objavljenih publikacij na temo nanovlaken pripravljenih z metodo elektrorazprševanja.

Raztopine polimerov smo pripravili tako, da smo natehtali ustrezno količino polimera v obliki praška ter ga raztopili v točno določeni količini topila. Pripravili smo raztopine PVA, PEO, A/PEO, A/PVA, H/PEO, H/PVA in HEC/PEO. Za raztapljanje vseh polimerov smo uporabili destilirano vodo, le v primeru hitosana 2 % m/m raztopino očetne kisline. Raztopine smo pustili mešati na magnetnem mešalu 24 ur, da bi dosegli popolno raztopitev ter končno točko nabrekanja polimera.

Ker se PVA v hladni vodi slabo raztaplja, smo pri pripravi raztopin, le-te segrevali do 90°C ter pri tej temperaturi mešali približno 2 uri, da se je PVA popolnoma raztopil. Dobljeno jasno raztopino smo nato med mešanjem ohlajali 2 uri, da ni prišlo do nastanka polimernega filma na površini.

Raztopine za nanovlakna iz kombinacije dveh polimerov smo pripravili tako, da smo najprej vsak posamezen polimer raztopili v ustreznem topilu, pustili mešati 24 ur na magnetnem mešalu, nato pa raztopini združili v določenem masnem razmerju (100/0, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, 40/60, 30/70, 20/80, 10/90 in 0/100), pri čemer je bila končna koncentracija polimera v raztopini vedno enaka. Združeni raztopini smo nato mešali vsaj 3 ure na magnetnem mešalu, da smo dosegli homogeno porazdelitev polimerov po celotni raztopini.

5.3.2. Vrednotenje raztopin polimerov

Vrednotenje raztopin polimerov smo izvajali pri sobni temperaturi, pri čemer smo vedno vrednotili sveže pripravljene raztopine, vse meritve pa izvajali v treh paralelkah.

Za merjenje viskoznosti smo uporabili vibroviskozimeter SV-10, ki meri viskoznosti od 0,3 do 10 000 mPas (A&D company, Limited, Nemčija). Vibroviskozimeter vibrira s frekvenco 10 Hz. Ko ga potopimo v tekočino, se frekvenca vibriranja zmanjša. Da bi ohranil vibriranje pri isti frekvenci, je potrebna določena moč, le-to pa vibroviskozimeter izmeri in jo pretvori v viskoznost. Meritve smo izvajali tako, da smo raztopino polimera nalili v posebne posodice, spustili vilice vibroviskozimetra v raztopino, nato pa izvedli

meritev. Posebej pozorni smo bili, da v okolici ni bilo motečih dejavnikov, ki bi lahko motili vibriranje.

Prevodnost smo izmerili s konduktometrom Iskra MA 5964 s konduktometrično elektrodo, ki ima konstanto $0,7265 \text{ cm}^{-1}$. Meritve smo izvajali tako, da smo čisto elektrodo potopili pravokotno v raztopino in odčitali izmerjeno prevodnost.

Za merjenje površinske napetosti smo uporabili napravo Krüss K12 Mk5 (GmGh, Nemčija) s sistemom ploščice, raztopinam pa smo s termostatom uravnali temperaturo na 25°C . Raztopino smo nalili v posodico in ji uravnali temperaturo, nato jo postavili na tehniko naprave in jo starirali. Ploščico smo pred meritvijo prežarili, da smo odstranili morebitne organske nečistote in jo postavili na svoje mesto v aparaturi. Naprava je nato potopila ploščico v gladino raztopine, nakar jo je začela vleči v obratni smeri, pri čemer naprava zazna upor proti vleku. Na podlagi izmerjene spremembe teže, naprava izračuna površinsko napetost.

5.3.3. Elektrozprševanje

Za elektrozprševanje smo 5-10 mL polimerne raztopine dali v 20 mL plastično injekcijsko brizgo, nanjo pa pritrdili kovinsko iglo z notranjim premerom 0,8 mm. Brizgo smo namestili na črpalko (model R-99E, RazelTM), ki je potiskala bat brizge z nastavljenim konstantnim pretokom. Na kovinsko iglo smo pripeli vir visoke električne napetosti s pomočjo »krokodilčka« (električni kabel povezan z generatorjem), ki je bil sposoben aplicirati napetosti med 0 in 60 kV. Plastično zbiralo smo prekrili z aluminijasto folijo, ga ozemljili ter postavili na razdaljo 15 do 17 cm od konice igle. Ker je curek polimerne raztopine, ki se tvori iz igle težko viden, smo za lažje opazovanje le-tega uporabili reflektor, ki je z močno osvetlitvijo vsaj delno omogočil vizualizacijo dogajanja na konici igle. Nastanek produkta smo opazovali s spreminjanjem barve folije, saj se je na mestih, kjer so nastajala nanovlakna, barva folije iz srebrne spremenila v belo.

5.3.4. Vrednotenje izdelanih nanovlaken

Določanje morfoloških lastnosti vlaken kot so premer in orientacija vlaken, distribucija velikosti in velikost por, smo opravili z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM, 235 Supra 35VP-24-13, Carl Zeiss, Nemčija) s pomočjo sekundarnega detektorja pri napetosti 1 kV. Vzorce smo pripravili tako, da smo del zbirala s pomočjo dvostranskega prevodnega

lepilnega traka (premer 12 mm, Oxford Instruments, Velika Britanija) prilepili na nosilec. Povprečni premer smo določili iz vsaj 50 izmerjenih premerov.

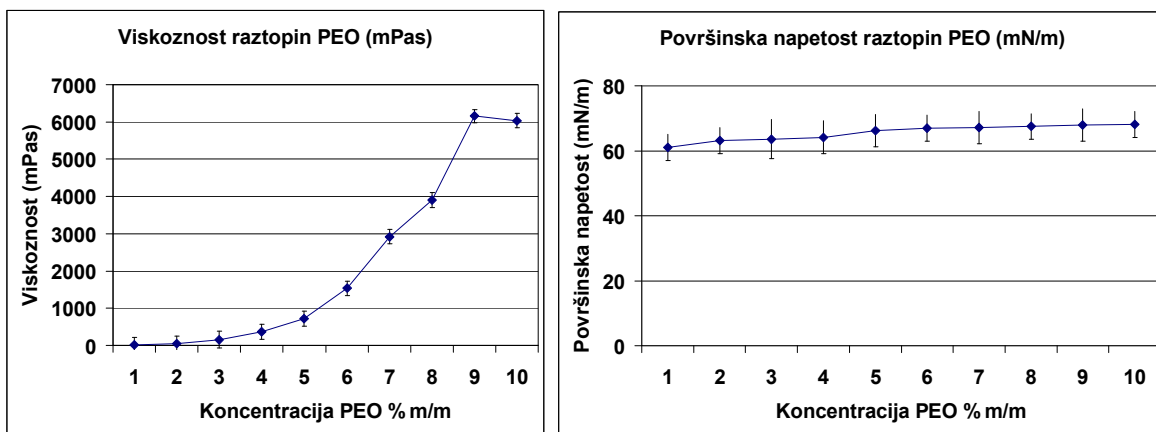
6. REZULTATI IN RAZPRAVA

Pri izdelavi nanovlaken z metodo elektrorazprševanja ni univerzalnega pravila, ki bi zagotavljalo uspešno izdelavo nanovlaken za različne polimere. Zato smo določili vse eksperimentalne pogoje za vsak posamezen sistem polimer/topilo posebej in so tako tudi predstavljeni. V prvem podpoglavju bo sprva predstavljeno vrednotenje raztopin polimerov, v nadaljevanju pa izdelava in vrednotenje nanovlaken ter razlaga dobljenih rezultatov.

6.1. Polietilenoksid (PEO)

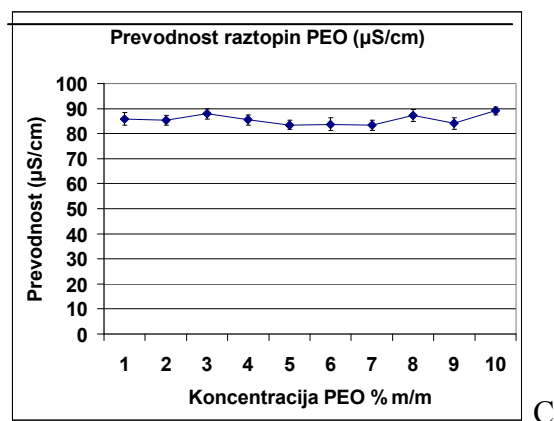
6.1.1. Vrednotenje raztopin

Na osnovi literaturnega pregleda smo se odločili pripraviti raztopine PEO v koncentracijskem intervalu od 1 do 10 % m/m PEO v destilirani vodi ter jih ovrednotili. Rezultate vrednotenja nazorno prikazuje slika 13. Iz grafa 13A je razvidno, da viskoznost raztopin PEO s koncentracijo narašča eksponentno, pri koncentracijah nad 8,5% pa nastane gel. Površinska napetost ves čas ostaja v območju od 60 do 70 mN/m, s koncentracijo pa se ne spreminja tudi prevodnost raztopin, ki ostaja v območju od 83 do 89 $\mu\text{S}/\text{cm}$, kar lahko pripišemo zlasti neionski strukturi polimera.



A

B

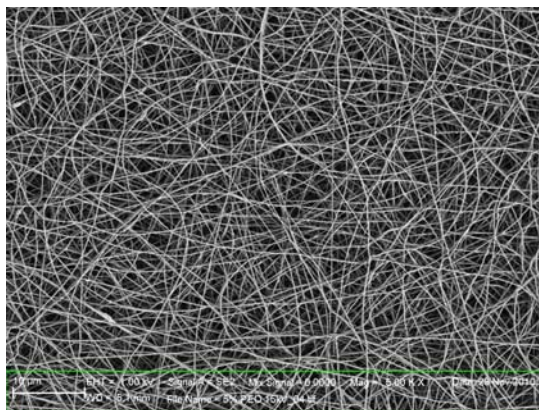


Slika 13 Viskoznost (A), površinska napetost (B) in prevodnost (C) raztopin PEO v odvisnosti od koncentracije polimera.

6.1.2. Elektrozprševanje

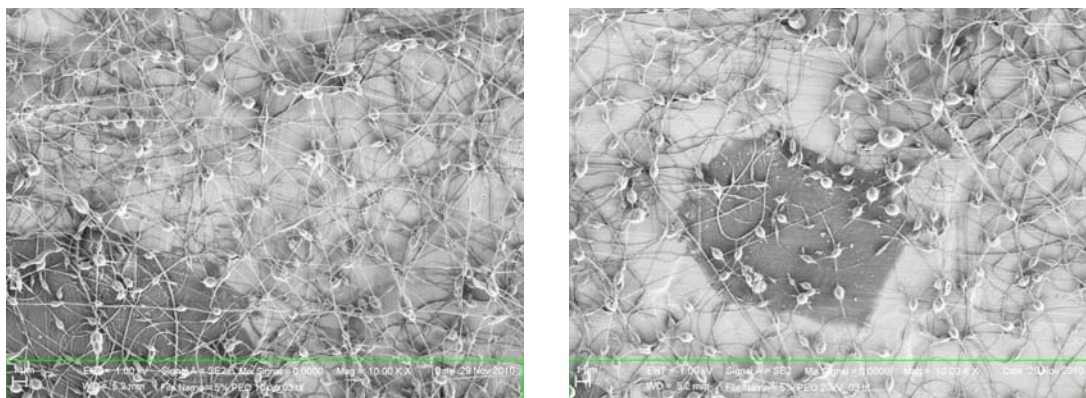
Na podlagi dobljenih rezultatov vrednotenja fizikalnih lastnosti, izkušenj ter že uspešno opravljenega elektrozprševanja (23, 19, 29, 33, 13) smo se odločili, da bomo z metodo elektrozprševanja pripravili nanovlakna iz 3, 4, in 5% PEO raztopin. Elektrozprševanje smo izvedli ob konstantnem pretoku raztopine skozi iglo (0,3535 mL/h) in konstantni razdalji med iglo in zbiralom (15 cm), napetost pa smo spreminjali od 10 do 30 kV, saj je to procesni parameter, ki po izkušnjah in literaturnih podatkih najbolj vpliva na uspešnost elektrozprševanja in morfologijo nanovlaken.

V veliki večini primerov je bil med elektrozprševanjem lepo viden nastanek stabilnega Taylorjevega stožca in neprekinjenega curka od igle do zbirala ter enakomeren koncentričen nanos vzorca na zbiralu. Nastala nanovlakna so bila gladka, brez vozlov, na slikah posnetih z elektronskim mikroskopom pa smo dodatno še opazili, da so se vlakna na zbiralu nalagala v zaviti obliki, kar nakazuje na zvijanje curka med potjo od igle do zbirala (slika 14).



Slika 14 SEM slika nanovlaken narejenih iz 5% PEO pri 25 kV.

Le pri elektrorazprševanju 3% raztopine pri 25 in 30 kV je prihajalo do prekinjanja nastalega curka, kar je nakazovalo na neoptimalne pogoje, to pa se je poznalo tudi na dobljenem končnem produktu (slika 15).

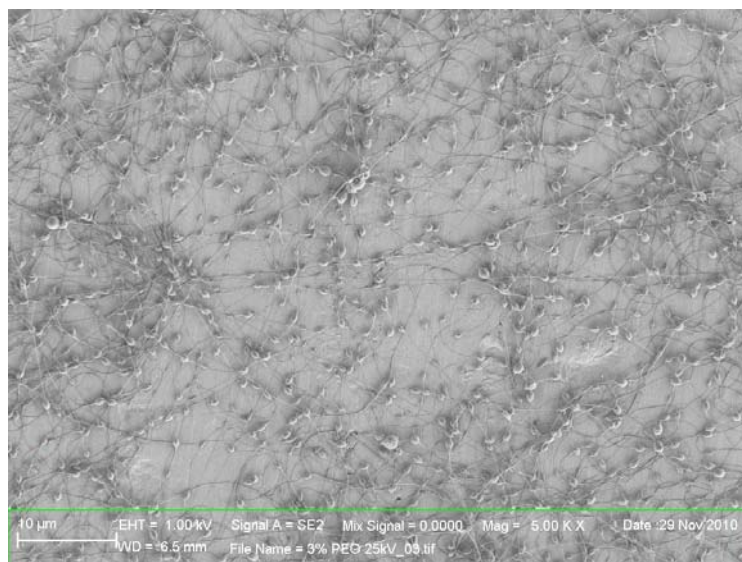


Slika 15 Nanovlakna izdelana iz 3% raztopine PEO pri 25 kV (levo) in 30 kV (desno).

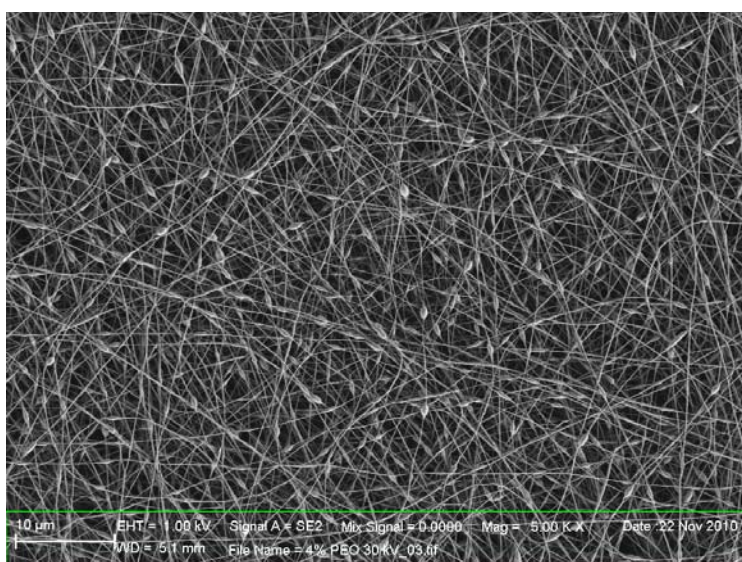
6.1.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken

Na tem mestu velja najprej spomniti, da je pri elektrorazprševanju polimernih raztopin vedno prisotnih več sil, ki delujejo na curek, morfologija nastalih vlaken in vozlov pa je odvisna od tega katera od njih v danem primeru prevladuje.

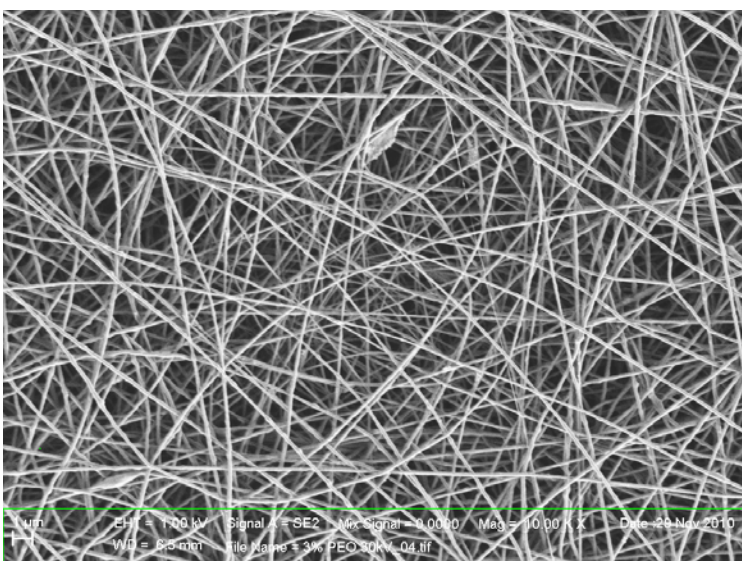
Koncentracija raztopine polimera ima signifikanten vpliv na morfologijo nastalih nanovlaken (23, 19). Koncentracija namreč vpliva na viskoznost to pa je pri elektrorazprševanju eden izmed najpomembnejših parametrov. Ta parameter namreč določa mejno koncentracijo, ki omogoča zadostno prepletanje polimernih verig za nastanek neprekinjenih, gladkih nanovlaken in hkrati tudi minimalno napetost potrebno pri elektrorazprševanju. V našem primeru je ta mejna koncentracija 5% - pod to koncentracijo namreč površinska napetost prevlada nad viskoelastično silo in zato dobimo vlakna z vozli, saj površinska napetost poskuša zmanjšati površino na enoto mase in posledično pride do nastanka sfer. Rezultati so pokazali, da z večanjem koncentracije in posledično tudi viskoznosti pride najprej do zmanjšanja števila vozlov, ki se tudi oblikovno spreminjajo (tabela 1), nato pa do nastanka gladkih nanovlaken. Vozli bolj koncentriranih raztopin so opazno debelejši vozli vretenaste oblike, medtem ko so vozli bolj razredčenih raztopin v obliki sfer (slika 16). Pojav debelejših vozlov je najverjetneje posledica več polimernih verig pri večjih koncentracijah, zato je na voljo več polimera, medtem ko spreminjanje oblike le-teh nakazuje raztegovanje vozlov zaradi naraščajoče viskoelastične sile.



a: 3%



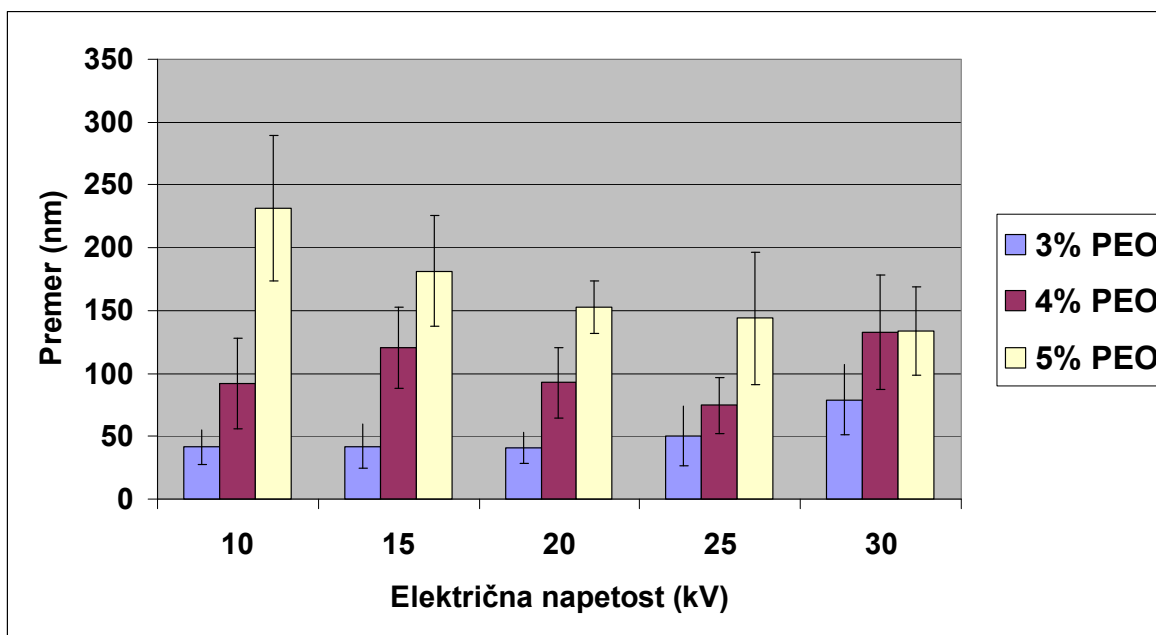
b: 4%



c: 5%

Slika 16 SEM slike nanovlaken izdelanih iz 3-5% PEO pri el. napetosti 20 kV iz katerih je jasno razvidno spreminjanje vozlastih vlaken.

Ugotovili smo, da je premer nanovlaken z naraščajočo koncentracijo večji (slika 17), kar ponovno lahko razložimo s povečanim masnim pretokom. Dobljeni rezultati so v skladu z do sedaj objavljenimi študijami (19).



Slika 17 Naraščanje premera nanovlaken z naraščajočo koncentracijo raztopine polimera.

Tabela 1 Vrednotenje vozlov na nanovlaknih izdelanih iz 3 in 4% PEO.

Koncentracija PEO % m/m	Električna napetost kV	Premer nanovlaken nm	Debelina vozlov nm	Dolžina vozlov nm
3	10	41,36 ± 13,43	641,41 ± 142,16	1018,57 ± 233,32
3	15	41,99 ± 17,47	652,13 ± 133,11	988,43 ± 229,65
3	20	40,86 ± 11,96	633,34 ± 137,23	1008,32 ± 256,63
3	25	50,43 ± 23,72	677,43 ± 155,32	1023,13 ± 265,34
3	30	79,03 ± 27,81	665,34 ± 112,22	996,34 ± 234,34
4	10	97,79 ± 35,81	713,32 ± 132,33	1373,73 ± 212,23
4	15	120,30 ± 32,25	698,32 ± 122,43	1356,87 ± 243,23
4	20	92,54 ± 28,29	703,67 ± 115,21	1366,65 ± 276,32
4	25	74,5 ± 22,5	695,53 ± 145,65	1373,23 ± 234,23
4	30	133,13 ± 45,52	709,77 ± 163,23	1382,23 ± 263,32

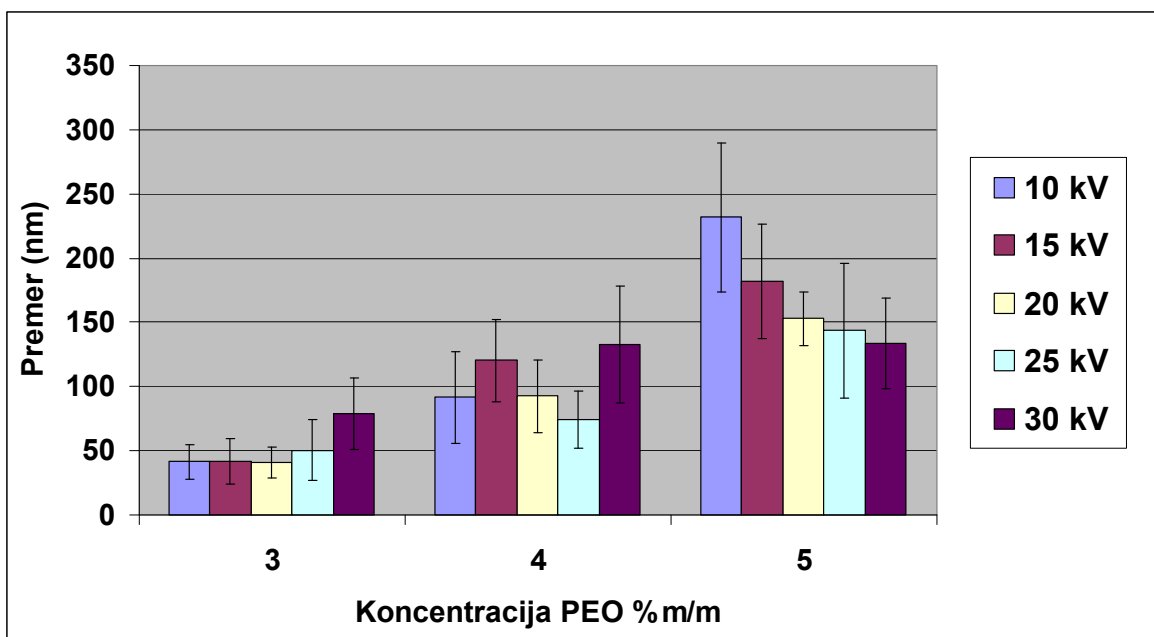
6.1.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken

Ker sta ostala pretok in razdalja med iglo in zbiralom tekom eksperimenta nespremenjena, lahko dobljene rezultate pripišemo vplivu električne napetosti na morfologijo nanovlaken. Iz zgoraj prikazanga grafa je razvidno, da premer nanovlaken z naraščajočo koncentracijo linearno narašča. To naraščanje lahko nazorno ponazorimo z enačbami premic (tabela 2).

Tabela 2 Enačbe premic pri določenih napetostih, ki prikazujejo naraščanje premera z naraščajočo koncentracijo. D – premer nanovlaken, R^2 – koeficient korelacije.

Električna napetost (kV)	Enačba premice	R^2
10	$D = 95,16c - 68,71$	0,9314
15	$D = 69,82c - 25$	0,9951
20	$D = 55,98c - 16,56$	0,998
25	$D = 46,66c - 3,76$	0,9274

Iz izračunanih podatkov je razvidno, da je naklon premice pri manjših napetostih večji, z večanjem napetosti pa pada. Pri napetosti 30 kV imajo vlakna, ki smo jih pripravili iz 5% raztopine, celo enak premer kot vlakna iz 4% raztopine. Manjšanje naklona premice z naraščajočo električno napetostjo ter s tem manjši vpliv napetosti na morfologijo, lahko razložimo z večanjem elektrostatske odbojne sile med istovrstnimi naboji znotraj curka. Elektrostatska odbojna sila, se ob večji aplicirani napetosti povečuje, kar tanjša in razteguje curek na poti do zbiralca in se izrazi v tanjših nanovlaknih. Z večanjem koncentracije raztopine polimera sicer pride do debelejših nanovlaken zaradi večjega masnega pretoka, je pa le-ta manj izrazita pri večjih apliciranih napetostih prav zaradi bolj izrazitega vpliva elektrostatske odbojne sile. Po drugi strani pa je iz rezultatov razvidno, da je znotraj dane koncentracije vpliv električne napetosti pravzaprav zelo različen (slika 18).

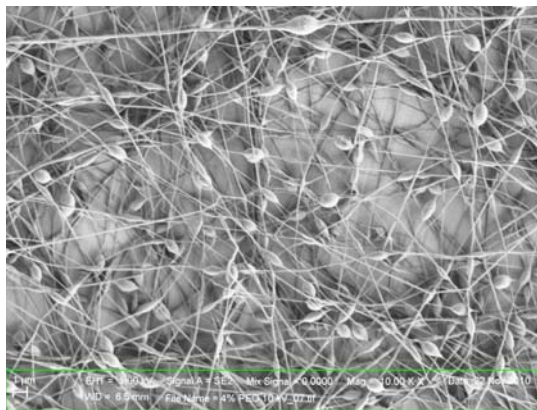


Slika 18 Vpliv napetosti na premer nanovlaken je pri koncentracijah 3, 4 in 5% različen.

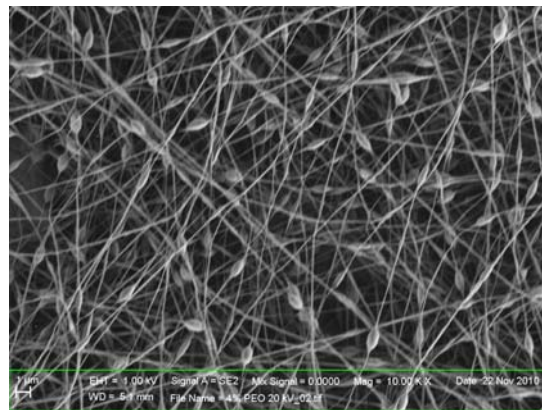
Kot že omenjeno naraščanje električne napetosti, ki poveča elektrostatsko silo, poveča tudi število nabojev, ki potujejo s curkom, kar poveča elektrostatsko odbojno silo. Po eni strani povečana elektrostatska odbojna sila zmanjša premer nastalih nanovlaken, po drugi pa ga večja elektrostatska sila poveča, saj poveča tako hitrost curka kot tudi masni pretok. Premer nastalih nanovlaken je torej odvisen od prevladujočega vpliva ene izmed teh dveh sil v danem primeru (5).

Pri 3% raztopini, kjer ostaja premer pri napetostih od 10 do 20 kV praktično enak, nato pa se poveča, lahko sklepamo, da sta sili v tem območju izenačeni, dokler ne pride do prevlade elektrostatske sile in premer nanovlaken se zato poveča. Velja še omeniti, da je koncentracija raztopine zelo majhna in s tem je majhno tudi prepletanje polimernih verig, ki pri večjih napetostih ne stabilizirajo curka dovolj, zato se le-ta posledično pretrga, kar se izrazi v krajših nanovlaknih.

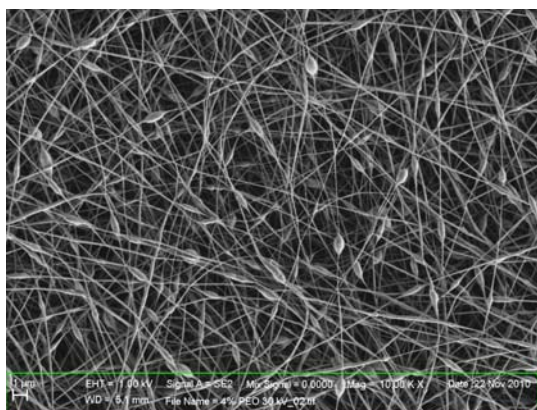
Nad koncentracijo, v našem primeru 5%, pa je vpliv elektrostatske odbojne sile večji v primerjavi z elektrostatsko silo, zato premer nastalih nanovlaken pada z večanjem aplicirane električne napetosti. Pri tej koncentraciji dobimo gladka nanovlakna z le redkimi vretenastimi zadebelitvami in ne nanovlakna z vozli kot v primeru 3 in 4% PEO raztopine. Zaradi večanja že prej omenjene elektrostatske odbojne sile z napetostjo in posledično večjega raztegovanja curka, ki ga le-ta povzroča, pa je premer vedno manjši ob večjih napetostih. Sicer pa ta pojav opazimo tudi v primeru 3 in 4% PEO raztopine (slika 19).



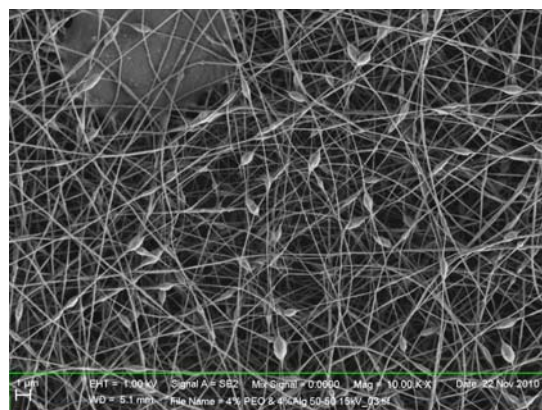
a: 10 kV



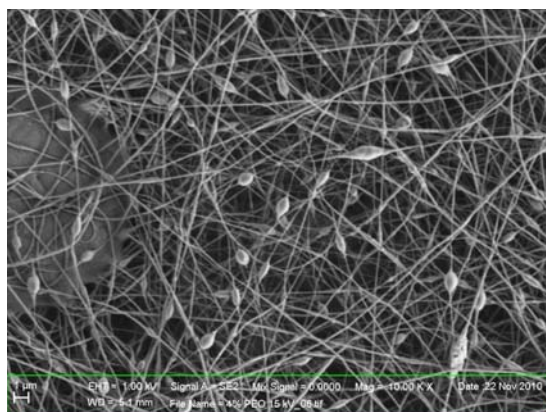
b: 15 kV



c: 20 kV



d: 25 kV



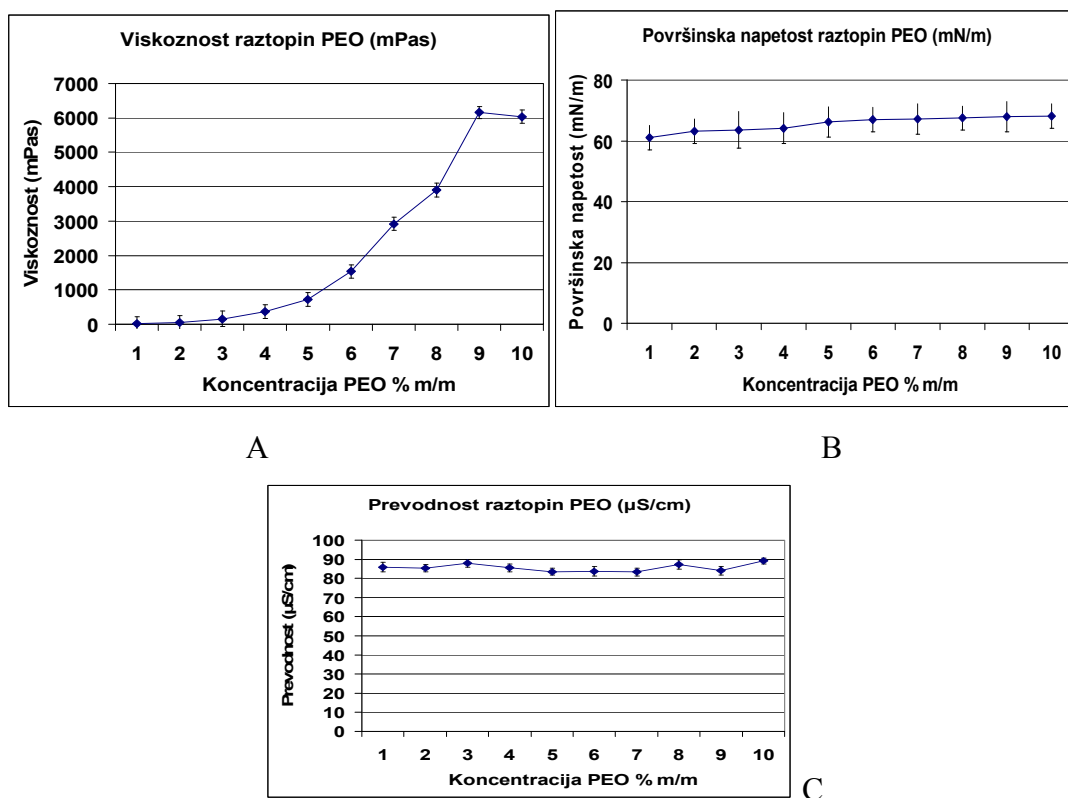
e: 30 kV

Slika 19 Spreminjanje vozlastih nanovlaken 4% raztopine pri naraščajoči električni napetosti (a – e).

6.2. Polivinilalkohol (PVA)

6.2.1. Vrednotenje raztopin

Na podlagi predhodnih raziskav smo pripravili raztopine PVA v koncentracijskem območju od 3 do 12 % m/m in jim ovrednotili vse lastnosti pomembne za elektrorazprševanje. Posamezne ovrednotene parametre prikazuje slika 20.



Slika 20 Viskoznost (A), površinska napetost (B) in prevodnost (C) raztopin PVA v odvisnosti od koncentracije polimera.

Razvidno je, da viskoznost PVA raztopin s koncentracijo narašča eksponentno, pri čemer je viden hitrejši porast pri večjih koncentracijah. To lahko pripišemo večim interakcijam med samimi verigami polimera ter polimerom in topilom, ki so posledica večjega števila polimernih verig v bolj koncentriranih raztopinah, ki so tudi bližje skupaj (49).

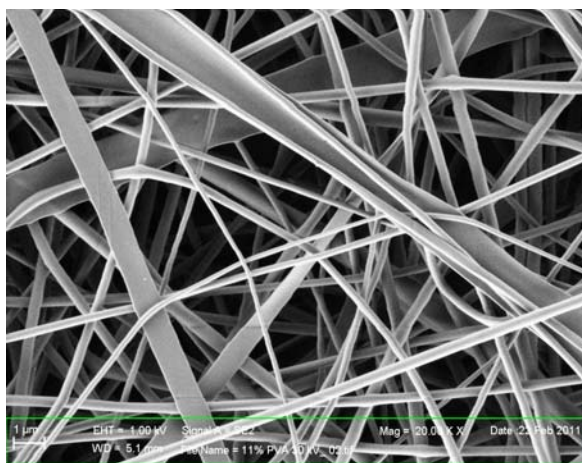
Iz rezultatov meritev površinske napetosti (slika 20B) smo ugotovili, da ostane površinska napetost praktično enaka ne glede na koncentracijo polimera in se v povprečju giblje med vrednostmi 64 in 69 mN/m. To ustreza tudi navedbam proizvajalca in že objavljenih raziskav (52). Proizvajalec namreč navaja, da površinska napetost močno razredčenih raztopin PVA sicer pada z naraščajočo koncentracijo, od določene vrednosti naprej pa se ne spreminja več. Z našimi koncentracijami smo torej takoj v tem območju, neodvisnost površinske napetosti od koncentracije pa lahko razložimo na sledeč način. PVA v svoji molekuli vsebuje tako hidrofilne kot hidrofobne dele, zato se v vodi obnaša kot površinsko aktivna snov, ustrezno orientira na vodni površini ter tako zmanjša površinsko napetost. Vendar pa ob celotni zasedenosti vodne površine ob visokih koncentracijah, kot v naših primerih (3 - 12%), se dodatne molekule tja ne morejo več umestiti in posledično se površinska napetost kljub večanju koncentracije ne spreminja več.

Meritve prevodnosti PVA raztopin so pokazale linearno odvisnost le-te od koncentracije, čeprav PVA kot neionski polimer bistveno ne vpliva na prevodnost. Iz navedb proizvajalca lahko porast prevodnosti pripišemo nizki vsebnosti soli, ki jo izdelek vsebuje (52). Večja kot je količina polimera v raztopini, večja je tudi vsebnost soli v le-tej.

6.2.2. Elektrozprševanje

Elektrozprševanje sveže pripravljenih PVA raztopin v koncentracijah od 3 do 12% smo izvedli tako, da smo pri vseh vzorcih uporabili enake procesne parametre. Pri tem smo načrtno spreminjali uporabljeno napetost od 10 do 30 kV, medtem ko so bili ostali pogoji konstantni in sicer delovna razdalja 15 cm, premer igle 0,8 mm ter pretok skozi njo 0,7070 mL/h. Med elektrozprševanjem vseh raztopin se je na igli tvorila kapljica (z razliko od PEO, kjer je bil lep viden stožec), iz nje pa se je formiral curek. Volumen kapljice se je s procesnimi pogoji sicer nekoliko spreminjal, vendar se je kljub sistematičnemu spreminjanju le-teh nismo mogli popolnoma znebiti. Ker pa je elektrozprševanje bilo uspešno in večina dobljenih nanovlaken gladkih, smo sklepali, da prisotnost kapljice pri samem procesu nima signifikantnega pomena.

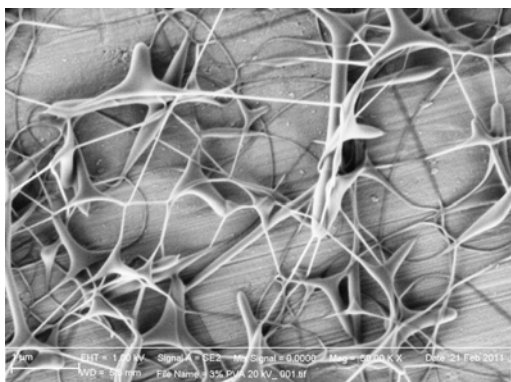
Med elektrozprševanjem raztopin z manjšimi koncentracijami (od 3 do 7 %), ki so vse imele majhno viskoznost (pod 111,67 mPas), smo opazili večje nestabilnosti curka (zvijanje in prekinjanje) ali celo nastanek kapljic. Ta nestabilnost se je odražala tudi na sami morfologiji nanovlaken, saj so nastala nanovlakna z vozli. Ob preseženi koncentraciji 8%, se je curek stabiliziral, nastala vlakna pa bila so gladka. Pri koncentracijah od 10 do 12% in napetostih 25 ter 30 kV, smo opazili prekinjanja curka, nekatera nanovlakna pa so bila celo sploščena (slika 21).



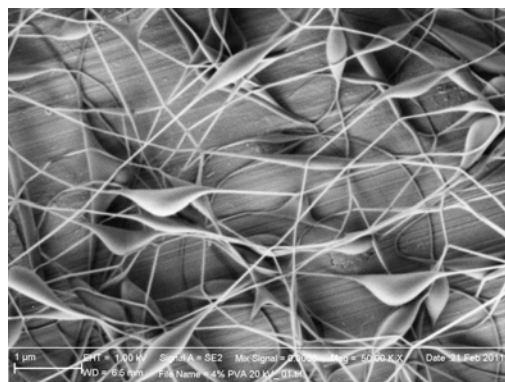
Slika 21 Ploščata nanovlakna, 11% PVA, 30 kV.

6.2.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaknen

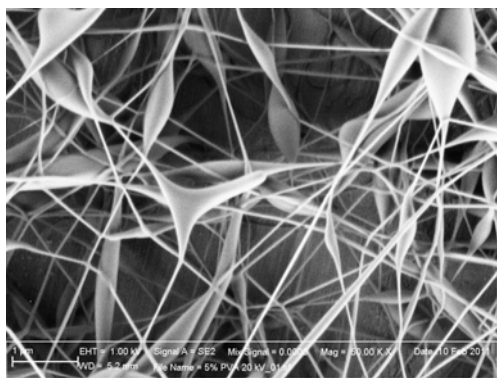
Rezultati so pokazali, da je elektrorazprševanje popolnoma uspešno šele pri raztopinah s koncentracijo 8 % ali več, kar pomeni da ta vrednost predstavlja kritično koncentracijo, pri kateri so polimerne verige dovolj prepletene za stabilizacijo curka pri elektrorazprševanju. Tako imajo nanovlakna pripravljena iz raztopin z viskoznostjo, ki je manjša ali enaka viskoznosti 7 % raztopine, veliko vozlov. Če opazujemo obliko samih vozlov opazimo, da se njihova oblika spreminja: sprva imajo tri krake, z naraščajočo koncentracijo pa se eden izmed krakov manjša, prisotnih pa je vedno več vozlov vretenaste oblike, dokler niso prisotni samo še slednji (pri 7 % raztopini) (slika 22).



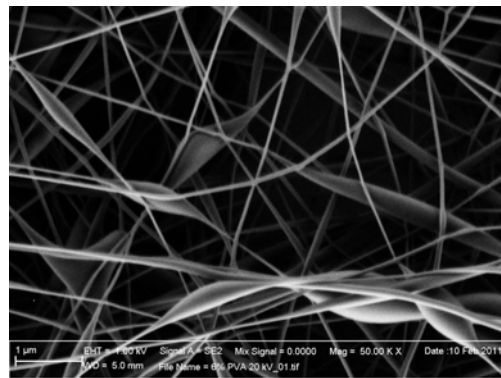
a: 3%, 20 kV



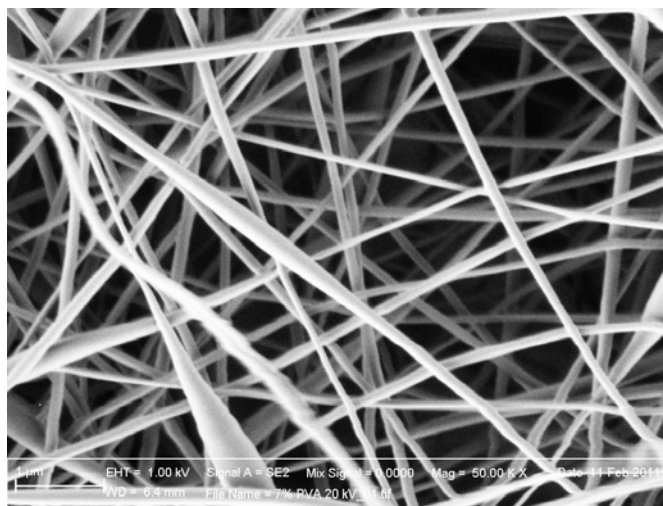
b: 4%, 20 kV



c: 5%, 20 kV



d: 6%, 20 kV

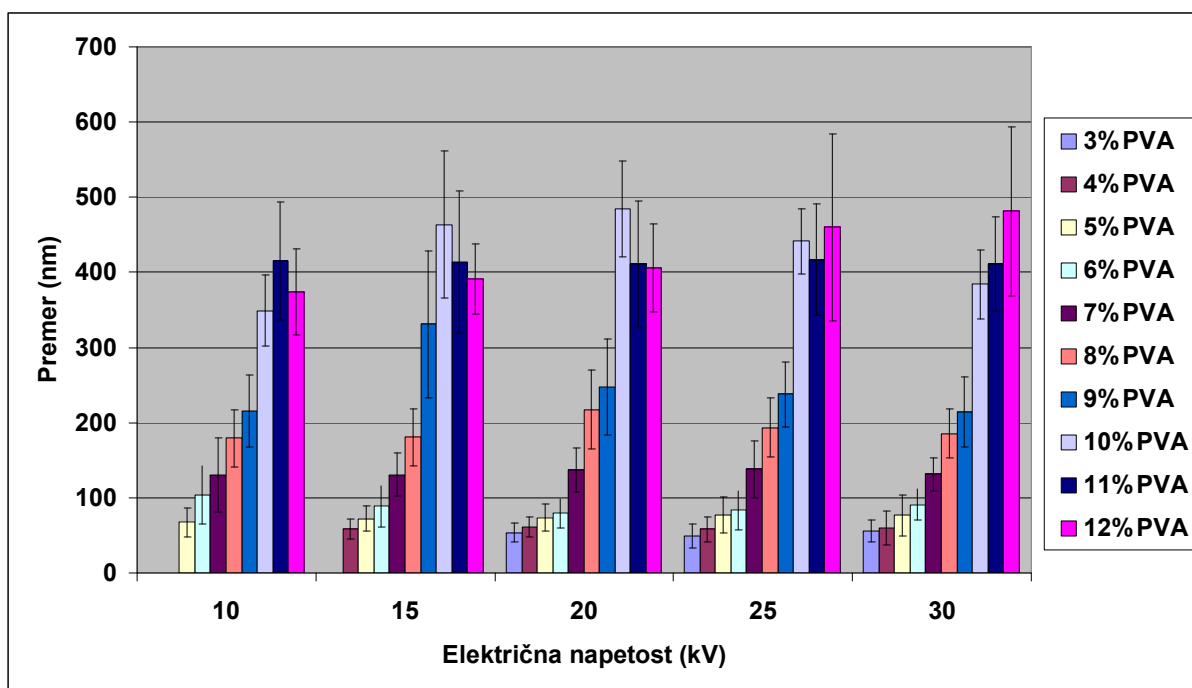


e: 7%, 20 kV

Slika 22 SEM slike nanovlaken z vozli, na katerih je jasno vidno spreminjanje le-teh z večanjem koncentracije.

Jasno je torej razvidno, da je oblika vozlov pogojena s koncentracijo, kar lahko razložimo na sledeč način. Pri majhnih koncentracijah sta tako viskoznost kot tudi prevodnost raztopine majhni in je zato vpliv površinske napetosti, ki teži k zmanjšanju površine, večji - nastanejo večji vozli. Z naraščajočo koncentracijo se površinska napetost praktično ne spreminja, začeta pa se večati viskoelastična sila, ki preprečuje deformacije curka, ter elektrostatska odbojna sila, ki curek razteguje (31). Ti dve sili nasprotujeta vplivu površinske napetosti in curek raztegujeta, zato so vozli vedno bolj vretenasti, krakasta oblika pa se počasi manjša. Pri koncentraciji 8 %, ko je torej dosežena kritična koncentracija in s tem zadosten preplet polimerih verig, viskoelastična sila popolnoma preseže vpliv površinske napetosti in dobimo gladka nanovlakna. Naši dobljeni eksperimentalni rezultati so v skladu z že objavljenimi raziskavami (31, 27).

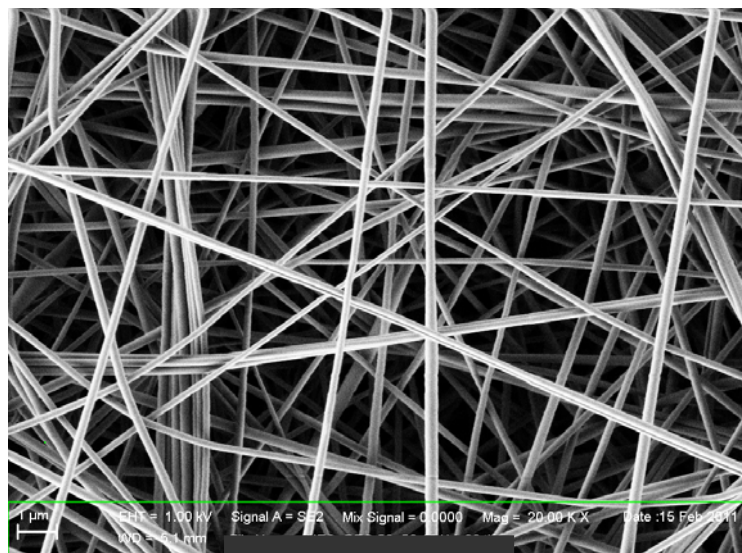
Z vrednotenjem morfologije izdelanih nanovlaken z vozli smo ugotovili porast premera z večanjem koncentracije, kar je najverjetneje posledica večjega prepleta verig, ki omogočajo bolj stabilen curek, kot tudi viskoelastične sile, ki nasprotuje tanjšanju le-tega. Premer nanovlaken brez vozlov pa izkazuje različen trend pri različnih danih napetostih. Pri napetostih od 10 do 20 kV sprva s koncentracijo narašča in nato pada, pri napetosti 25 kV najprej narašča in se nato ustali, pri 30 kV pa ves čas narašča (slika 23).



Slika 23 Spreminjanje premera z naraščajočo koncentracijo ob danih električnih napetostih.

Ti trendi so ponovno posledica medsebojnega delovanja večih sil. Z naraščajočo koncentracijo PVA namreč naraščata tako viskoznost kot tudi prevodnost raztopine, ki obe prispevata k povečanju viskoelastične in elektrostatske odbojne sile. Pri manjših apliciranih električnih napetostih je v primeru manjših koncentracij prispevek viskoelastične sile večji in zato premer narašča, od določene koncentracije naprej pa postaja bolj izrazit vpliv elektrostatske odbojne sile, ki razteguje in tanjša curek, in posledično so zato nanovlakna bolj koncentriranih raztopin tanjša. Ker je vpliv tako viskoelastične kot tudi elektrostatske sile, ki še dodatno povečuje masni pretok, prevladujoč, premer nanovlaken z večanjem koncentracije raste.

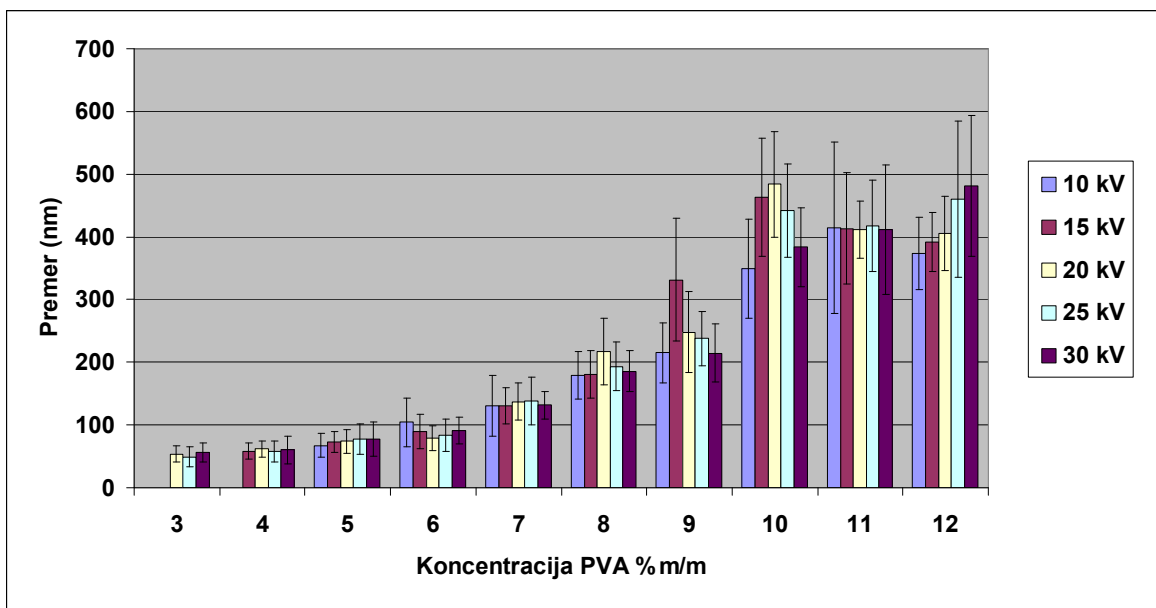
Ob podrobnem analiziranju slik dobljenih z elektronskim mikroskopom smo dodatno še opazili, da se od kritične koncentracije naprej pri napetosti 25 kV, predvsem pa pri 30 kV, nekatera nanovlakna združena skupaj (»siamska vlakna«) (slika 24). Nanovlakna so sicer ponavadi na zbiralu večinoma še vedno naelektrena in so zato razdalje med njimi večje, vendar pa v teh primerih gre očitno za razelektritev le-teh na zbiralu in nalaganje na novo nastalih vlaken na njih (35).



Slika 24 Snopi nanovlaken, 9% PVA, 30 kV.

6.2.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken

Pri razlagi velikosti premerov moramo poleg aplicirane napetosti upoštevati tudi vpliv koncentracije. Rezultati so pokazali, da je pri koncentracijah od 3 do 5% vpliv električne napetosti zanemarljiv, saj je premer nanovlaken praktično neodvisen od napetosti. Na premer nanovlaken pripravljenih iz 6 – 12% raztopin pa je vpliv električne napetosti zelo različen: premer vlaken 6% raztopine z naraščajočo napetostjo najprej pada in nato narašča, premer 7 – 10% raztopine najprej narašča in potem pada, pri 11% raztopini ostaja konstanten in pri 12% raztopini ves čas narašča (slika 25). Te spremembe lahko pripišemo prispevku elektrostatske ali pa elektrostatske odbojne sile, kot je razloženo že pri prejšnji razlagi rezultatov na primeru PEO.

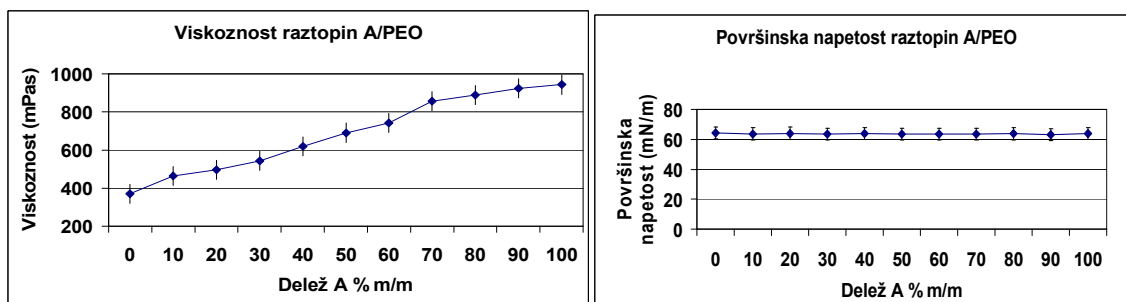


Slika 25 Spreminjanje premera nanovlaken z naraščajočo električno napetostjo ob danih koncentracijah PVA.

6.3. Natrijev alginat/polietilenoksid (A/PEO)

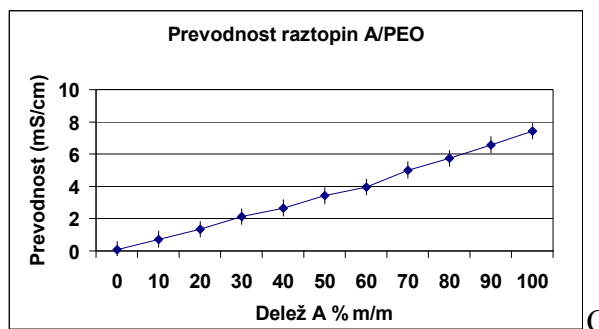
6.3.1. Vrednotenje raztopin

Na podlagi objavljenih rezultatov predhodnih raziskav smo videli, da nanovlaken iz samega alginata kot naravnega polimera najverjetneje ne bomo mogli pripraviti, zato smo se odločili za izdelavo nanovlaken iz alginata in sinteznega polimera PEO (7, 8, 44). Pripravili smo raztopine A/PEO s celokupno masno koncentracijo polimera 4% z različnimi masnimi razmerji polimerov in sicer od A/PEO = 0/100 do A/PEO = 100/0, in jih ovrednotili. Rezultate nazorno prikazuje slika 26.



A

B



Slika 26 Viskoznost (A), površinska napetost (B) in prevodnost (C) v odvisnosti od masnega deleža alginata v raztopinah A/PEO.

Rezultati so pokazali, da z naraščajočim deležom PEO v mešani raztopini, viskoznost pripravljenih raztopin linearno pada (slika 26A). Molekula alginata v vodni raztopini namreč zavzame zelo rigidno in raztegnjeno konformacijo, tvorijo pa se tudi močne intermolekularne vezi, kar povzroči veliko viskoznost 4% raztopine alginata. PEO kot sintezni polimer z veliko sposobnostjo elektrorazprševanja torej deluje kot nekakšen nosilec naravnega polimera (ang. »*spinning carrier*«), ki znatno izboljša njegovo elektrorazprševanje. S tem ko se vključi med verige naravnega polimera namreč zmanjša interakcije med molekulami naravnega polimera, kar se fizikalno izrazi kot zmanjšanje viskoznosti. Ob dodatku PEO namreč pride do nastanka vodikovih vezi med molekulami alginata in PEO, saj se PEO v raztopini obnaša kot polibaza in zato tvori močne interpolimerne komplekse s polikarboksilnimi kislinami. Ker imajo le-ti kompleksi manjši hidrodinamski volumen od vsote hidrodinamskih volumnov posameznih makromolekul, se viskoznost raztopine zmanjša (7).

Razmerje med polimeroma nima bistvenega vpliva na površinsko napetost, ki se ves čas giblje med 63,0 in 64,5 mN/m (slika 26B). Vrednotenje prevodnosti izdelanih raztopin pa je razkrilo, da le-ta linearno narašča z večanjem deleža alginata (slika 26C). Poveča se namreč število molekul alginata, posledično pa tudi število karboksilnih skupin v raztopini, ki tvorijo ione in tako povečajo prevodnost.

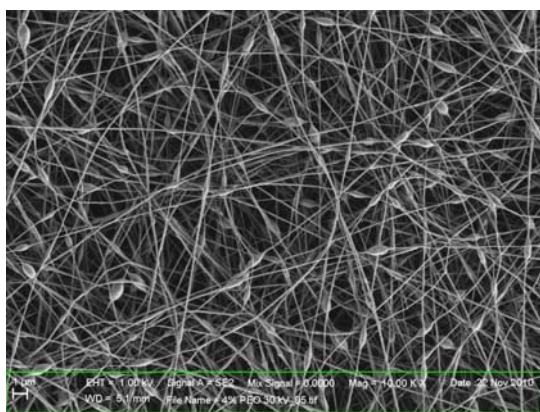
6.3.2. Elektrorazprševanje

Elektrorazprševanje pripravljenih raztopin je ponovno potekalo pri spreminjajočih električnih napetostih (10-30 kV) ter pri nespremenjeni razdalji med iglo in zbiralom (17 cm) in stalnem pretoku (0,3535 mL/h).

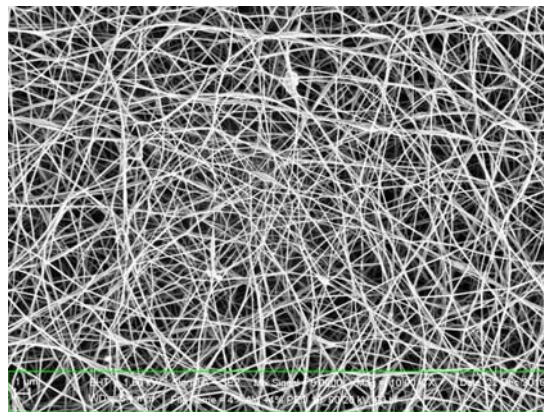
Najprej smo poskusili z elektrorazprševanjem 4% raztopine alginata, vendar tvorba curka zaradi prevelike viskoznosti in prevodnosti ni bila mogoča pri nobeni kombinaciji pogojev. Tudi ob dodatku majhne količine PEO (A/PEO = 90/10) pri napetostih 10 in 15 kV do tvorbe curka ni prišlo, saj je bila aplicirana napetost premajhna za tvorbo le-tega. Iz igle so se tvorile kapljice, ki pa niso dosegle zbirala. Pri večjih napetostih se je curek sicer tvoril, vendar pa smo po analizi z elektronskim mikroskopom ugotovili, da so na zbiralu prisotni le delci in kapljice polimera. Iz istih razlogov tudi pri razmerju 80/20 in napetosti 10 kV elektrorazprševanje ni poteklo, medtem ko je pri večjih napetostih istega vzorca do tvorbe curka prišlo. Zaradi nekoliko izboljšanih lastnosti raztopine so nastali vozli s krajšimi vlakni med njimi. Pri ostalih masnih razmerjih so nastala nanovlakna z vozli. Pri manjših napetostih se je curek tvoril na vrhu kapljice, ki je izhajala iz igle, kar je najverjetneje posledica počasnejšega odnašanja polimera z vrha igle zaradi nizke napetosti manjše od pretoka polimera skozi iglo. V določenih primerih smo opazili, da je bil zaradi nezadostnega izhlapevanja topila vzorec nanovlaken na sredini še malenkostno moker. Povečana elektrostatska sila namreč povzroči, da curek postane nestabilen šele, ko je blizu zbirala. Ker pa je pot curka zato krajša in s tem posledično tudi čas potovanja curka, topilo nima dovolj časa, da bi popolnoma izhlapelo (31).

6.3.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken

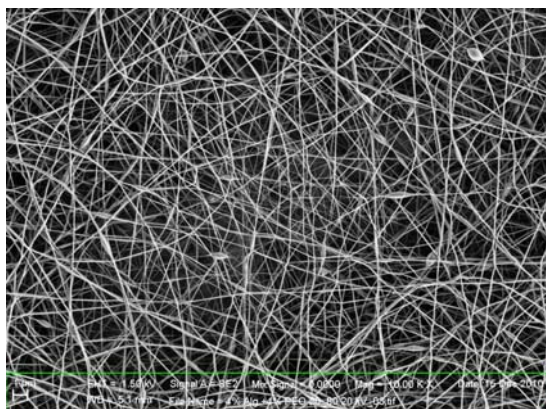
Potrdili smo, da nanovlaken iz same raztopine alginata kot naravnega polimera ne moremo pripraviti, medtem ko iz raztopine samega sinteznega polimera PEO nanovlakna nastanejo, a so prisotni še vozli. Ugotovili smo, da mešanje teh dveh raztopin izboljša elektrorazprševanje iz večih vidikov: po eni strani je omogočeno elektrorazprševanje alginata, ki je bilo prej nemogoče, po drugi strani pa se izboljša morfologija nanovlaken sinteznega polimera. Rezultate prikazuje slika 27.



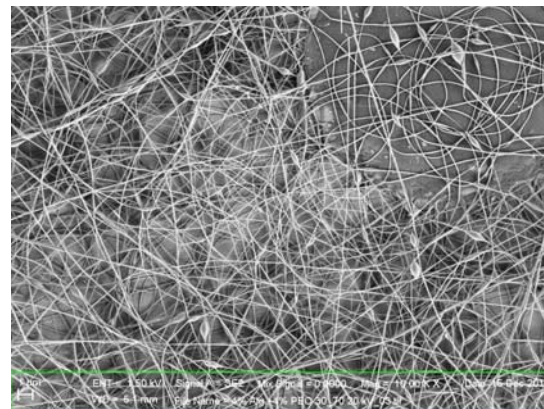
a: 0/100



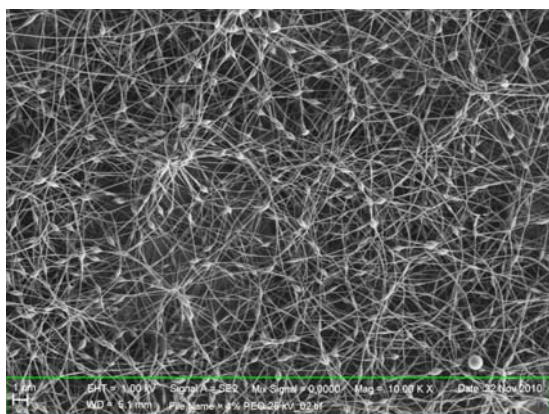
b: 10/90



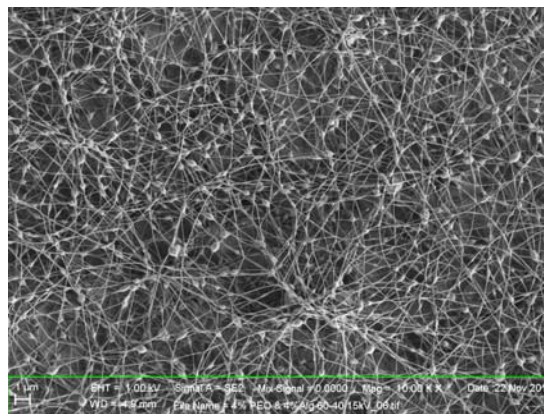
c: 20/80



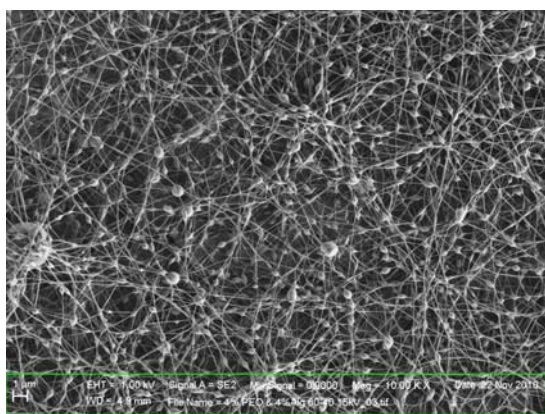
d: 30/70



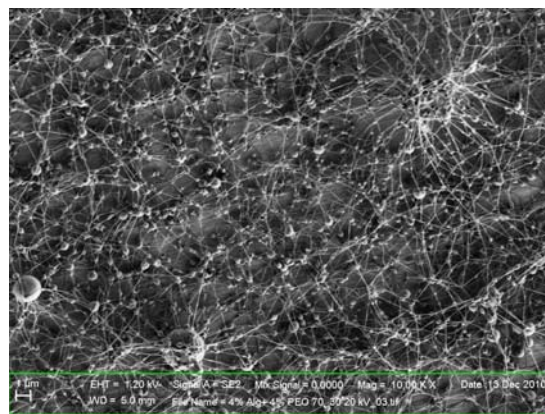
e: 40/60



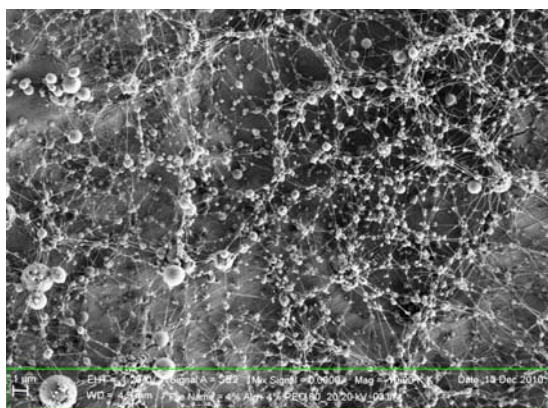
f: 50/50



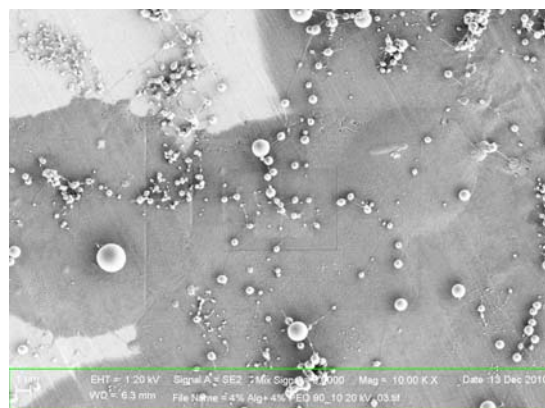
g: 60/40



h: 70/30



i: 80/20

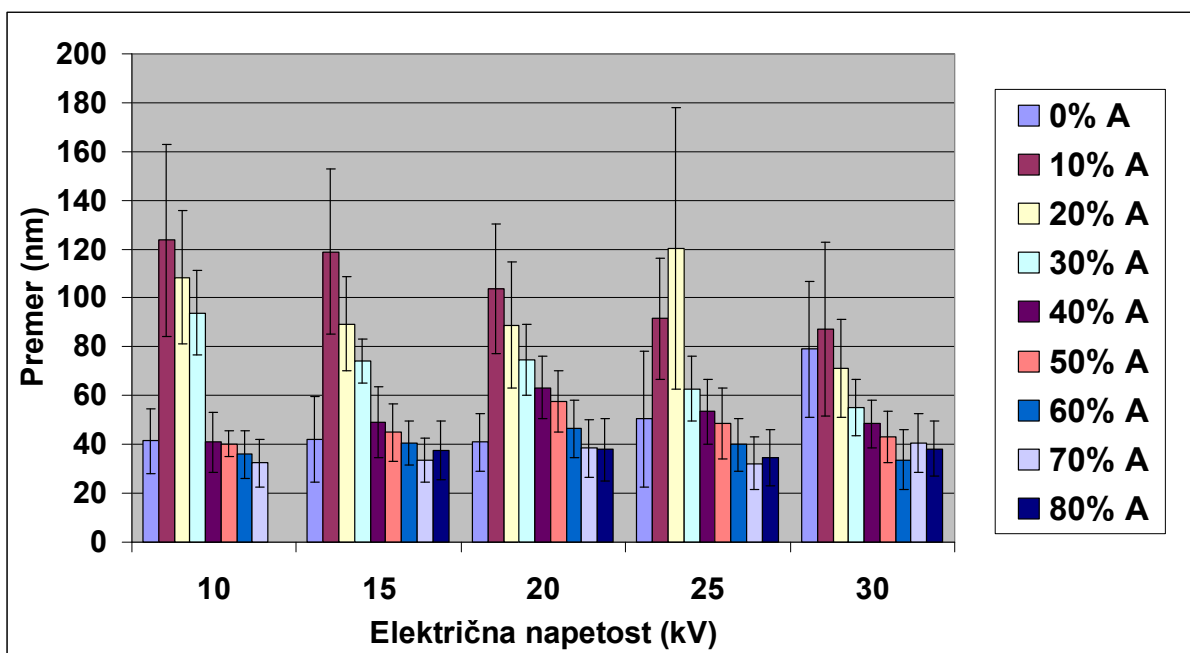


j: 90/10

Slika 27 Nanovlakna z vozli iz raztopin z različnim razmerjem A/PEO pri električni napetosti 20 kV.

Uspešno elektrorazprševanje in nastanek tridimenzionalne nanovlaknaste strukture je možno, ko je masni delež PEO vsaj 50%, pri čemer se z nadaljnjim naraščanjem le-tega morfologija nanovlaken izboljšuje (več je gladkih vlaken z manjšo pojavnostjo vozlov), najboljša nanovlakna pa nastanejo iz raztopine A/PEO = 20/80. Opazili smo tudi, da se z naraščajočim deležem alginata dolžina vozlov vse bolj krajša, le-ti počasi dobivajo obliko sfer, krajša pa se tudi razdalja med njimi. V primeru razmerja v prid alginata pa je količina PEO premajhna in zato ne omogoča nastanka gladkih nanovlaken. Gledano iz vidika sinteznega polimera pa dodatek nizke količine naravnega polimera drastično zmanjša prisotnost vozlov (slika 27), saj nekoliko povečana viskoznost in prevodnost povečata viskoelastično in elektrostatsko odbojno silo, ki sedaj omogočata raztegnitev vozlov.

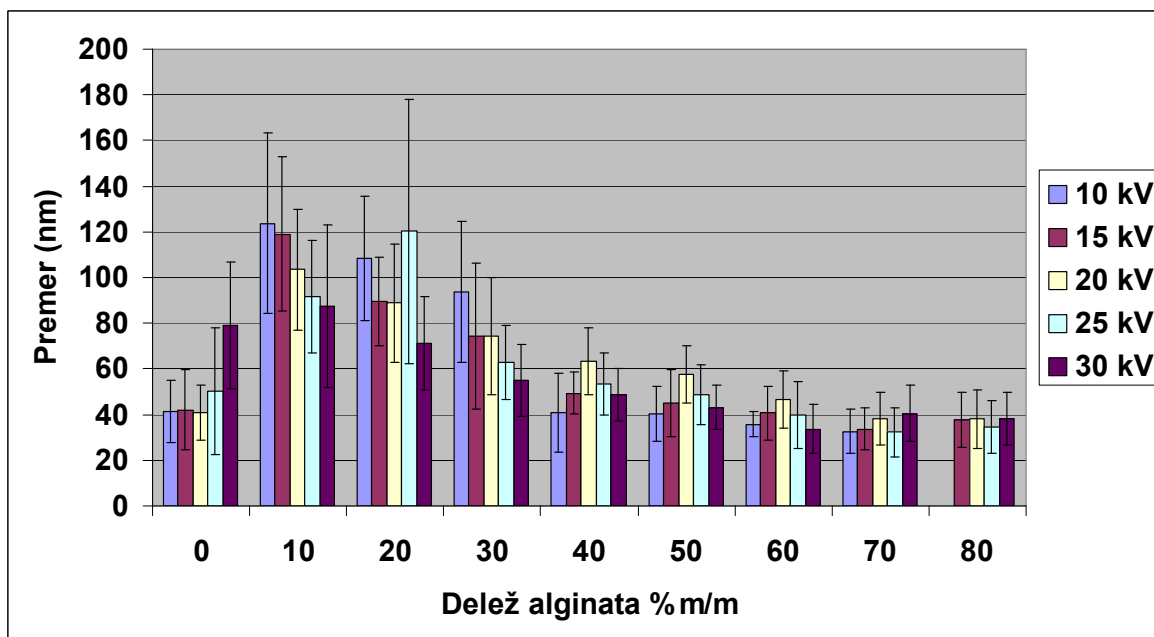
Iz rezultatov vrednotenja debeline vlaken smo ugotovili, da se z naraščajočim deležem alginata premer samih nanovlaken manjša (slika 28), kar lahko razložimo kot neposredno posledico povečanja sil (elektrostatske in elektrostatske odbojne), ki delujejo na curek.



Slika 28 Spreminjanje premera nanovlaken z naraščajočim deležem alginata ob dani el. napetosti. 0% A predstavlja PEO nanovlakna, 90% in 100% A ni predstavljeno v grafu, saj nanovlakna niso nastala.

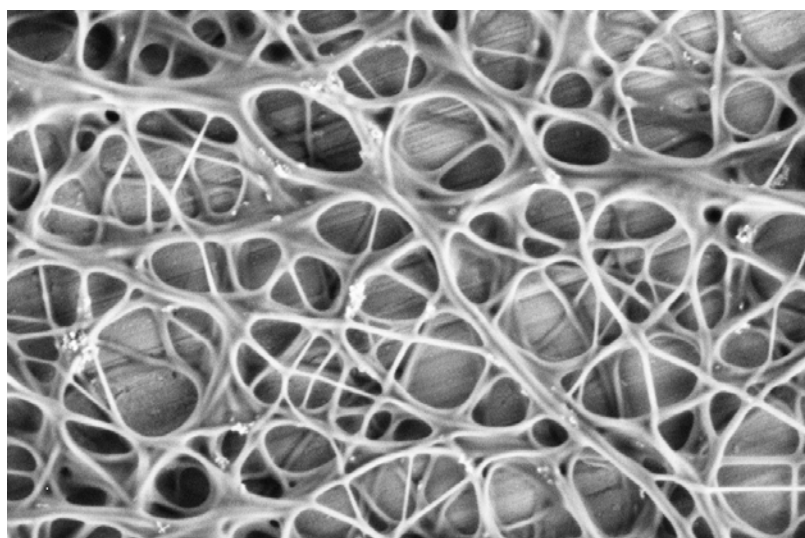
6.3.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken

Aplicirana električna napetost ima največji vpliv na debelino in morfologijo nastalih nanovlaken, ko so lastnosti pripravljene raztopine najbolj optimalne, torej v primeru manjših koncentracijskih razmerij alginata (torej A/PEO 10/90, 20/80 in 30/70) (slika 29).



Slika 29 Spreminjanje premera nanovlaken z naraščajo el. napetostjo pri danem deležu alginata.

Z večanjem električne napetosti se nanovlakna znotraj teh koncentracijskih razmerij tanjšajo, število vozlov pa se zmanjšuje, saj se večja elektrostatska odbojna sila, ki curek razteguje. Ker se hkrati tudi elektrostatska sila povečuje sorazmerno z napetostjo, curek potuje vedno hitreje in zato pri vseh koncentracijskih razmerjih pri 25 in 30 kV opazimo, da nastala nanovlakna niso popolnoma suha. V primeru raztopine 20/80 pri 25 kV opazimo odstopanje v debelini nanovlaken, vendar pa iz slike 30 vidimo, da so nanovlakna mokra in zlepljena, zato je izmerjeni premer večji kot v resnici. V teh primerih je očitno bilo razmerje sil delujočih na curek takšno, da topilo ni moglo popolnoma izhlapeti, možna pa je tudi napaka pri eksperimentalnem delu.



Slika 30 Mokra in zlepljena nanovlakna, A/PEO = 20/80, 25 kV

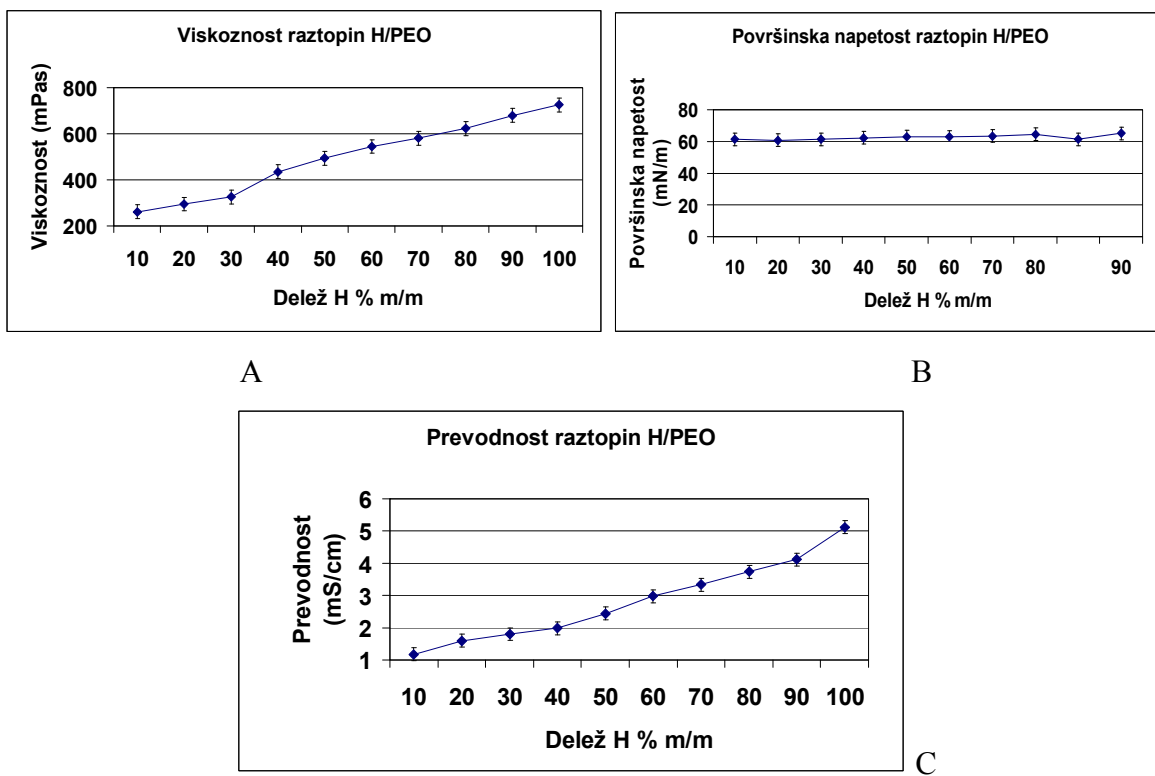
V primerih masnih razmerj A/PEO med 40/60 in 60/40, je jasno razviden prevladujoč vpliv elektrostatske sile pri manjših napetostih in nato elektrostatske odbojne sile pri večjih, saj se premer nanovlaken najprej večja, nato pa manjša. V primeru raztopin z razmerjem 70/30 ali več, pa električna napetost nima več bistvenega vpliva na morfologijo nanovlaken, saj so že same lastnosti raztopine tako neoptimalne, da je večina produkta vozlov v obliki sfer, ki pa jih med povezujejo zelo tanka nanovlakna.

6.4. Hitosan/polietilenoksid (H/PEO)

6.4.1. Vrednotenje raztopin

Ker je iz večine naravnih polimerov skorajda nemogoče pripraviti nanovlakna, če v raztopinah zraven ni prisoten sintezni polimer, smo se tudi v primeru hitosana odločili pripraviti nanovlakna v kombinaciji s PEO. Pripravili smo raztopine s celokupno

koncentracijo polimera 3% in različnimi masnimi razmerji in sicer H/PEO = 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10 in 100/0 ter jih ovrednotili. Slika 31 prikazuje izmerjene rezultate.



Slika 31 Viskoznost (A), površinska napetost (B) in prevodnost (C) v odvisnosti od masnega deleža hitosana v raztopinah H/PEO.

Ugotovili smo, da viskoznost in prevodnost naraščata z naraščajočim deležem hitosana v raztopini. Sama 3% raztopina hitosana ima zelo visoko viskoznost zaradi močnih vodikovih vezi med hidroksilnimi in amino skupinami, ki so prisotne v verigi polimera. Dodani PEO pa se veže na molekulo hitosana oziroma vrine med hitosanske verige ter s tem povzroči reorganizacijo inter- in intramolekularnih vezi in s tem večjo topnost hitosana v vodi in manjšo viskoznost raztopin. Z večanjem števila molekul hitosana pa narašča tudi število amino skupin kar doprinese k naraščanju prevodnosti. Površinska napetost pa ves čas ostaja v območju med 61 in 65 mN/m.

6.4.2. Elektrozprševanje

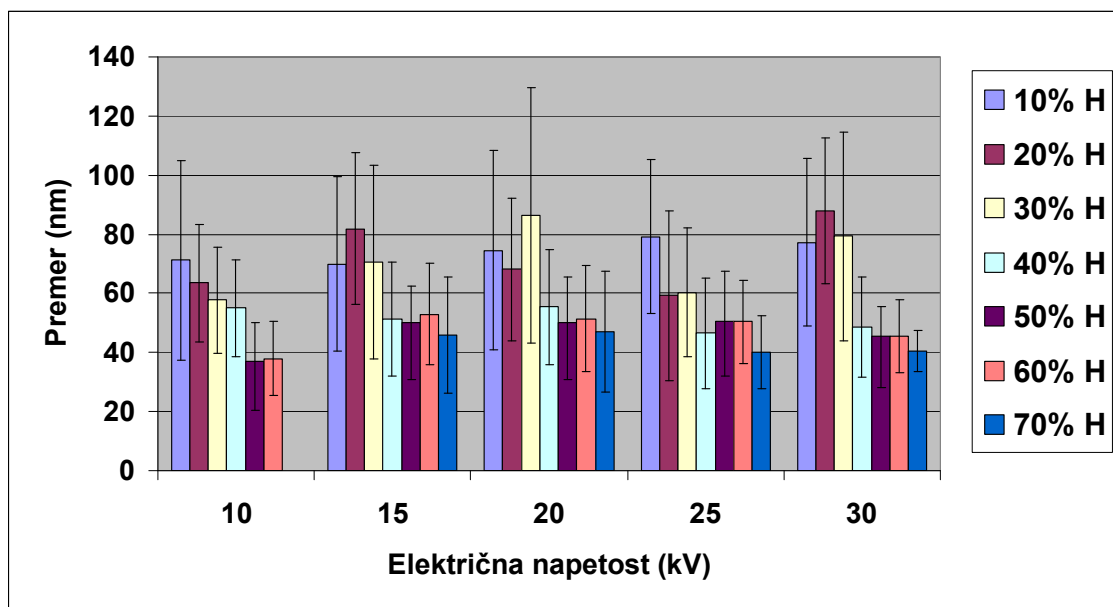
Elektrozprševanje pripravljenih raztopin je potekalo pri konstantem pretoku 0,3535 mL/h in razdalji 17 cm ter spreminjajočih napetostih od 10 do 30 kV. V primerih ko je bilo masno razmerje H/ PEO manjše od 30/70, je iz vrha Taylorjevega stožca izhajal stabilen

curek pri vseh apliciranih napetostih. Nad tem masnim razmerjem pa je pri napetostih večjih od 20 kV prišlo do pretrganja curka in nastanka kapljic, zato smo se odločili, da bomo vse pripravljene raztopine elektrorazprševali pri napetostih 20, 25 in 30 kV še pri povečanem pretoku 1,7675 mL/h, saj je le tak omogočal kontinuiran curek. Kljub temu pa smo opazili, da je bil curek zelo nestabilen (ves čas se je premikal navzgor in navzdol), nastala nanovlakna pa so se nalagala na širšem področju zbirala kot pri nižjem pretoku.

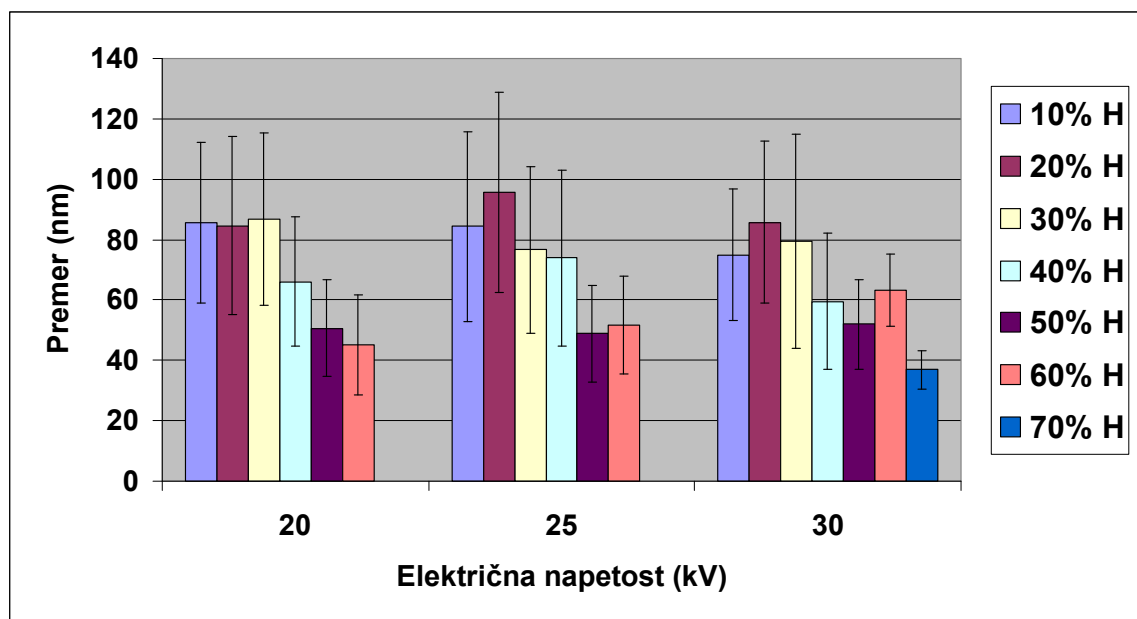
Med procesom elektrorazprševanja je bilo mogoče videti tudi razpršitev curka (*»splaying«*) na več manjših curkov. Pojav so opazili že v različnih raziskavah (23, 21, 34), sklepajo pa, da se radialne sile, ki jih povzroča električni naboj v curku, tako povečajo, da presežejo kohezivne sile in pride do razpršitve curka na manjše curke. Razpršitev curka pa se odraža tudi v širši porazdelitvi velikosti premerov.

6.4.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken

Ugotovili smo, da je porazdelitev velikosti premerov precej široka, zato je težko govoriti o trendih naraščanja ali padanja. Vseeno pa trdimo, da so tako pri manjšem kot tudi pri večjem pretoku premeri nanovlaken pripravljenih iz raztopin z masnim razmerjem manjšim od 30/70 večji od premerov iz raztopin z razmerjem večjim od 40/60 (slika 32, 33). Tudi Duan je na podlagi eksperimentalnih rezultatov prišel do zaključka, da premer nanovlaken z naraščajočo koncentracijo hitosana pada (10).

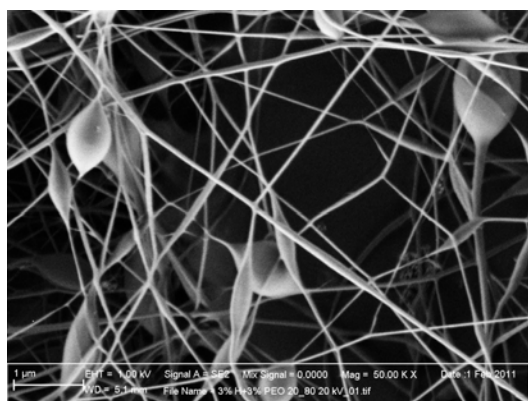


Slika 32 Spreminjanje premera nanovlaken z naraščajočim deležem hitosana ob dani el. napetosti in pretoku 0, 3535 mL/h. 80, 90 in 100% niso predstavljeni v grafu, ker nanovlakna niso nastala.

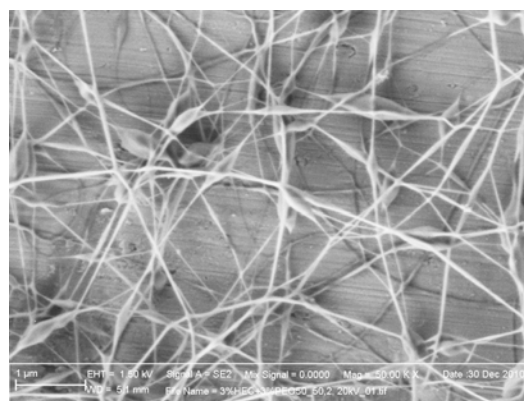


Slika 33 Spreminjanje premera nanovlaknen z naraščajočim deležem hitosana ob dani el. napetosti in pretoku 1,7675 mL/h. 80, 90 in 100% niso predstavljeni v grafu, ker nanovlakna niso nastala.

Pri vzorcih z masnim razmerjem večjim od $H/PEO = 30/70$ smo opazili tudi večjo pojavnost vozlov, ki so bili bolj sferaste oblike v primerjavi z vozli pri nižjih razmerjih, ki so sicer debeli, vendar vretenasti (slika 34). Z naraščanjem deleža hitosana je namreč prepletanje verig polimera manjše, kar povzroči tudi zmanjšanje viskoelastične sile.



a: $H/PEO = 20/80$, 20 kV, 0,3535 mL/h

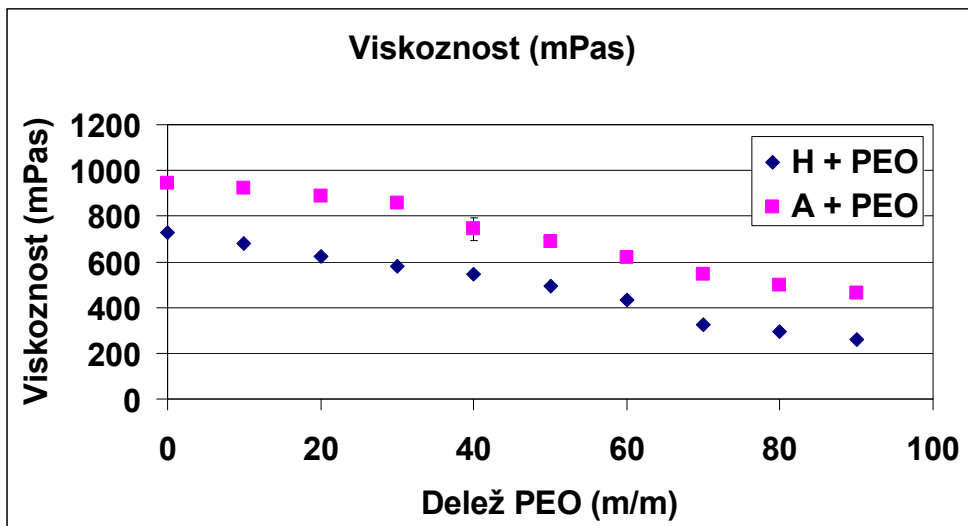


b: $H/PEO = 50/50$, 20 kV, 0,3535 mL/h

Slika 34 Oblika in pogostost vozlov.

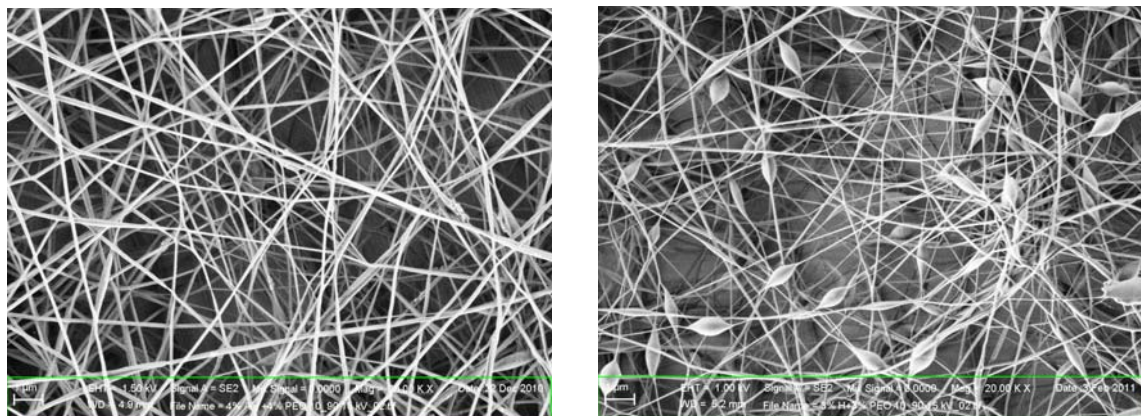
Če primerjamo nastala nanovlakna z nanovlakni iz kombinacije alginata in PEO vidimo, da so nanovlakna iz A/PEO z večjim deležem naravnega polimera in danih napetostih bolj gladka in praktično brez vozlov. Ker so bili pogoji elektrorazprševanja popolnoma enaki (razdalja: 17 cm, pretok: 0,3535 mL/h, el. napetost: 10 – 30 kV), lahko spremembo v

morfologiji nanovlaken pripišemo neoptimalnim lastnostim hitosana kot naravnega polimera. Razlike opazimo predvsem v viskoznosti raztopin (slika 35), ki je v primeru raztopin z alginatom večja, večja pa je tudi količina nosilnega polimera (PEO) pri danem razmerju A/PEO oz. H/PEO.



Slika 35 Primerjanje viskoznosti raztopin A/PEO z raztopinami H/PEO.

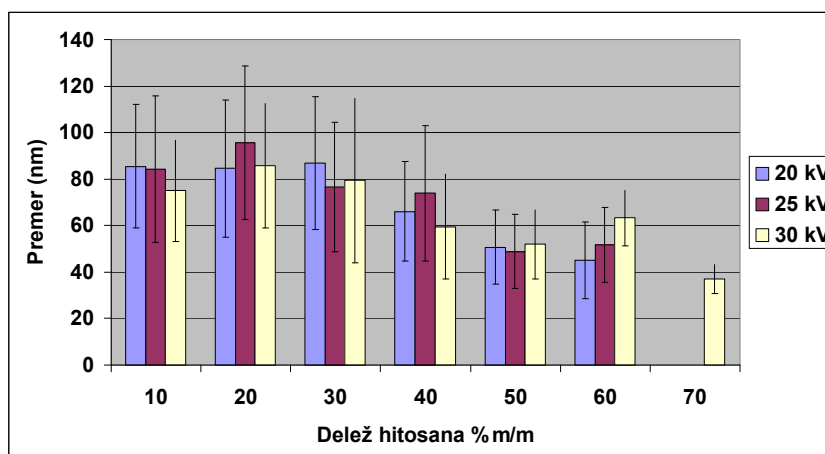
Zgoraj naštetih lastnosti doprineseta k večjemu prepletanju polimernih verig v primeru alginata in tudi k večji viskoelastični sili, ki nasprotuje elektrostatski odbojni sili, nastala nanovlakna so zato debeljša in bolj gladka (slika 36).



Slika 36 Levo: A/PEO = 10/90, 20 kV; desno: H/PEO = 10/90, 20 kV.

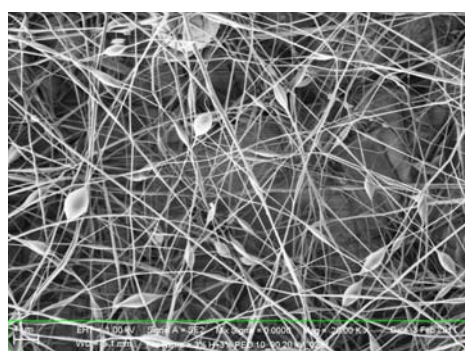
6.4.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken

Rezultati so pokazali, da vpliv električne napetosti pri večjem pretoku ni izrazit, saj ostaja masni pretok ne glede na aplicirano električno napetost velik in se zato debelina vlaken bistveno ne spreminja (slika 37).

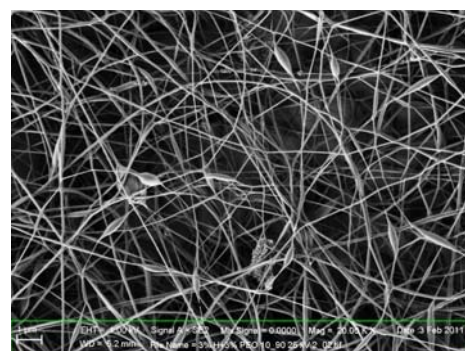


Slika 37 Vpliv aplicirane električne napetosti na debelino nanovlaken pri danem deležu hitosana, pretok: 1,7675 mL/h.

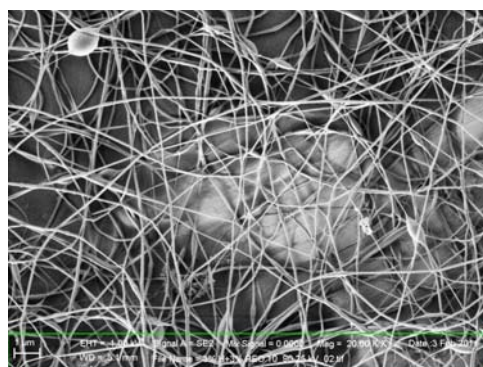
Večji vpliv električne napetosti pa je zato mogoče opaziti pri manjšem pretoku in predvsem pri manjšem deležu hitosana v raztopini (10 – 30%). Pri večjih apliciranih napetostih (25 in 30 kV) je namreč izrazitejši vpliv elektrostatske sile, ki nasprotuje spremembam v obliki curka ter povečuje masni pretok, zato so nastala nanovlakna debelejša, število vozlov pa se precej zmanjša (slika 38).



a: 20 kV



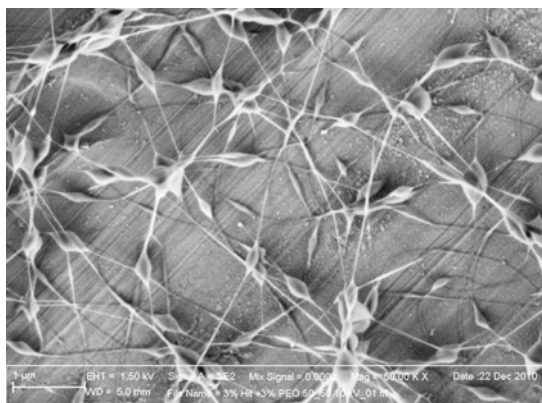
b: 25 kV



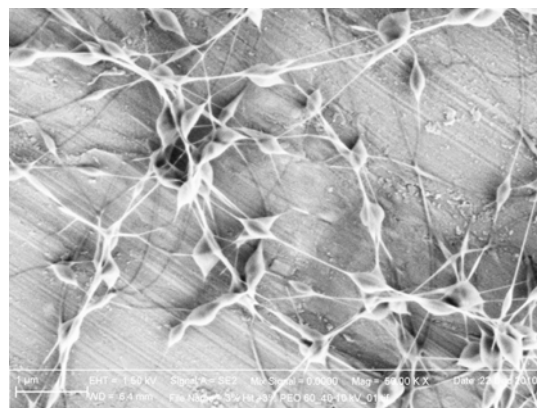
c: 30 kV

Slika 38 Manjšanje števila vozlov, H/PEO = 10/90, 0,3535 mL/h.

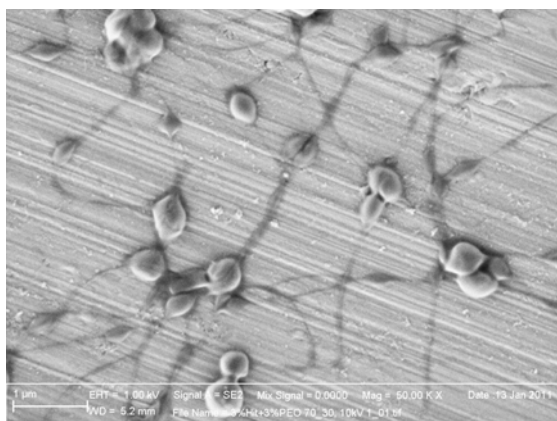
Pri vzorcih, ki vsebujejo 40% ali več hitosana aplicirana napetost nima več bistvenega vpliva na morfologijo nanovlaknen. Debelina le-teh tako ostaja enaka, enaka pa ostajata tudi število in oblika vozlov. Prepletanje verig sinteznega in naravnega polimera je namreč nezadostno in je zato tudi vpliv sil, ki nasprotujejo spremembam v obliki curka manjši. Pri napetosti 10 kV so nanovlakna pripravljena iz raztopin z deležem hitosana 50% ali več celo zelo tanka in kratka, saj ta napetost ni dovolj velika, da bi omogočila tvorbo neprekinjenega curka (slika 39).



a: H/PEO = 50/50



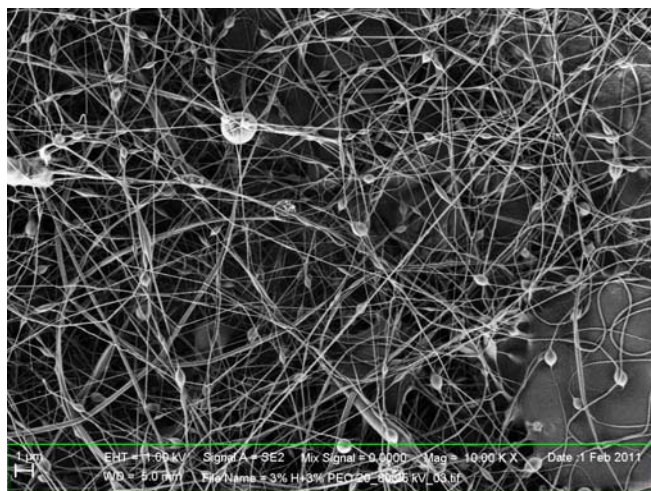
b: H/PEO = 60/40



c: H/PEO = 70/30

Slika 39 Tanka in kratka nanovlakna, 10 kV, 0,3535 mL/h.

Aplicirana električna napetost vpliva tudi na razporeditev nanovlaknen na zbiralu. Pri manjših napetostih sta hitrost curka in masni pretok manjša, zato je manjše tudi število nastalih nanovlaknen, ki na zbiralu ostanejo nabita in posledično so zato razdalje med njimi večje. Pri večjih napetostih, pa je število vlaken na zbiralu večje in le-ta (predvsem pore med njimi) po določenem času začnejo delovati kot izolator med iglo in zbiralom kar povzroči nehomogeno porazdelitev električnega polja in zaradi tega nalaganje nanovlaknen

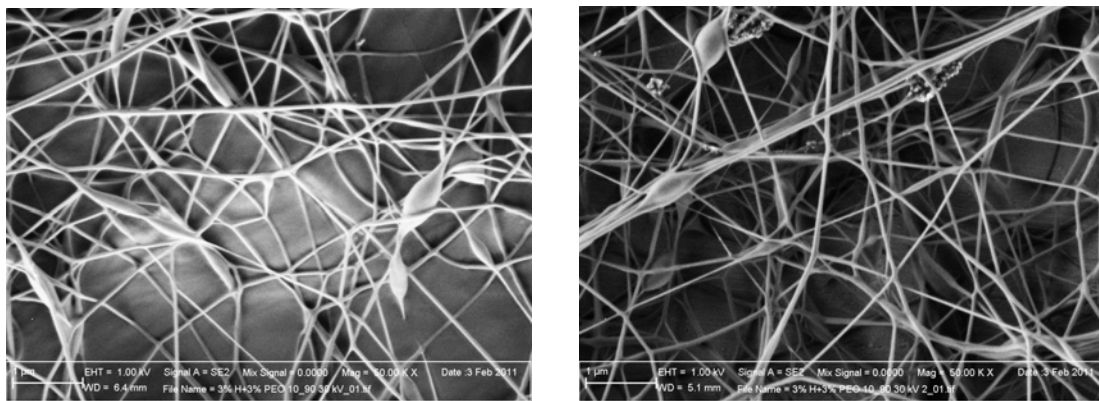


Slika 40 Nalaganje nanovlaken v snope: A/PEO = 20/80, 25 kV, 0,3535 mL/h.

6.4.5. Vpliv pretoka raztopine skozi iglo na morfologijo nanovlaken

Iz rezultatov je razvidno, da se premer nanovlaken pri danih napetostih poveča s povečanim pretokom do masnega razmerja 60/40. Nad tem razmerjem pa je količina prisotnega naravnega polimera prevelika, prepletanje polimernih verig pa premajhno in zato pride ob povečanem pretoku in posledično povečani hitrosti curka do pretrganja letega. Če je delež hitosana manjši od 30% se zaradi povečanega masnega pretoka in posledično tudi večje viskoelastične sile ob povečani debelini nanovlaken zmanjša še število vozlov.

Pri večjem pretoku je hitrost potovanja curka večja, kar je razvidno iz količine nanovlaken na zbiralu (slika 41) in nalaganja le-teh na širšem območju. Vendar pa so v nekaterih primerih pri večjem pretoku vzorci na sredini mokri, iz česar lahko sklepamo, da izhlapevanje topila zaradi povečane hitrosti curka ni zadostno.



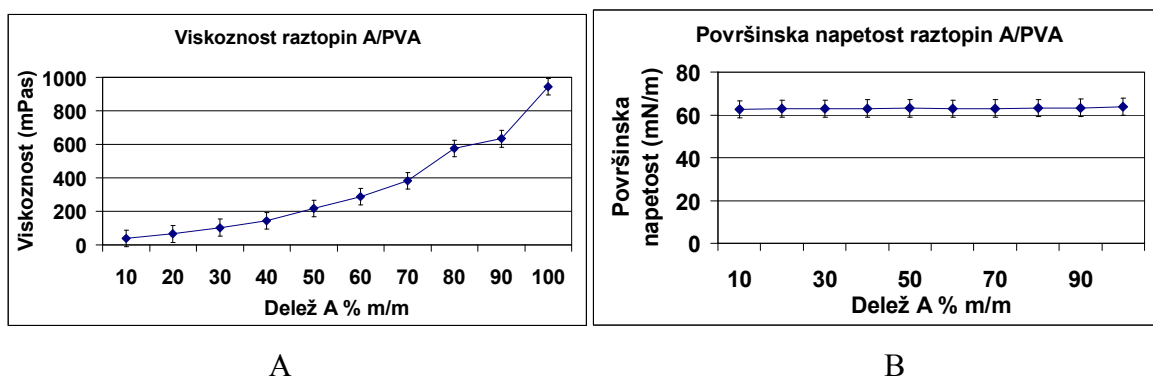
Slika 41 H/PEO = 10/90, 30 kV; levo: pretok – 0,3535 mL/h,
desno: pretok – 1,7675 mL/h.

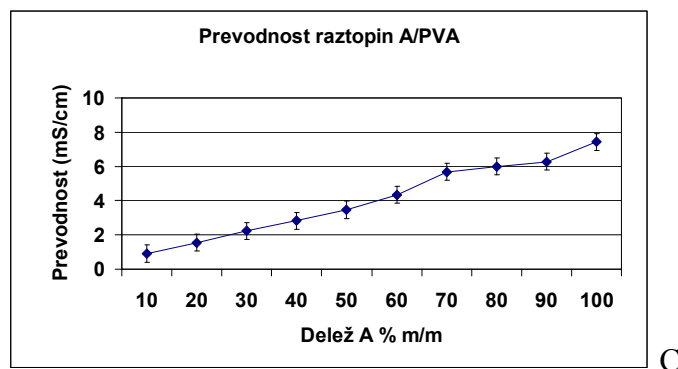
6.5. Alginat/polivinilalkohol (A/PVA)

6.5.1. Vrednotenje raztopin

Kot že omenjeno naravne polimere pogosto kombiniramo s sintezniimi polimeri, med najpogostejše uporabljenimi pa sta PEO in PVA. Da bi torej lahko primerjali kateri od njiju je boljši nosilni sistem za elektrozprševanje alginata smo pripravili 4% raztopine A/PVA v masnih razmerjih od 0/100 do 100/0.

Tudi pri teh raztopinah smo opazili, da viskoznost raztopin narašča z naraščanjem deleža alginata, saj je zaradi manjšega prepletanja verig alginata in PVA tudi raztapljanje alginata slabše, verige alginata pa bolj rigidne. Prevodnost z deležem alginata narašča zaradi večanja števila karboksilnih skupin, opazno pa je tudi relativno nespreminjanje površinske napetosti (slika 42).

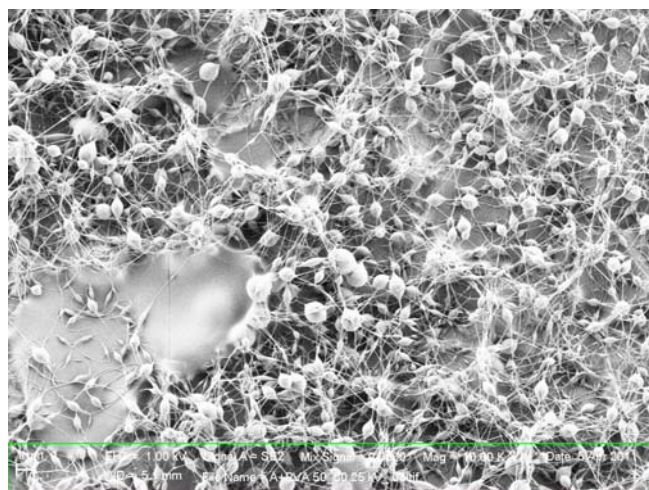




Slika 42 Viskoznost (A), površinska napetost (B) in prevodnost (C) v odvisnosti od masnega deleža alginata v raztopinah A/PVA.

6.5.2. Elektrorazprševanje

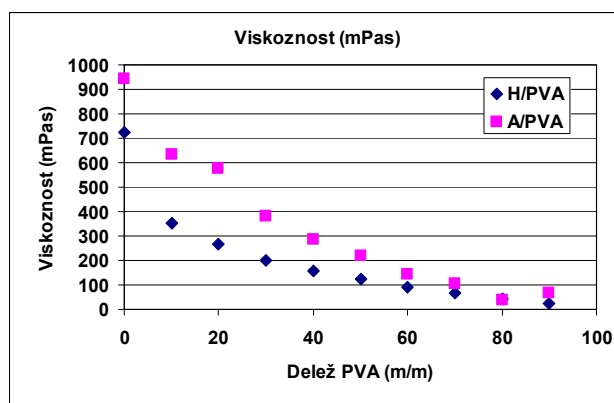
Elektorazprševanje sveže pripravljenih raztopin smo izvedli na razdalji 17 cm, pri pretoku 0,7070 mL/h in pri električnih napetostih od 10 do 30 kV. Električna napetost 10 kV je bila nezadostna za tvorbo curka, zato pri tej napetosti elektorazprševanje ni poteklo. Pri raztopini s 40% masnim deležem alginata je bila potrebna napetost za tvorbo curka 20 kV, z naraščanjem deleža pa se je še povečala, najprej na 25 kV (v primeru 50% deleža alginata), nato na 30 kV (v primeru 60% deleža alginata), elektorazprševanje drugih raztopin (delež alginata 70% in več) pa pri preučevanih pogojih ni več poteklo. Med elektorazprševanjem v primerih raztopin z deležem alginata 40% ali več, smo opazili nestabilnost curka, kar se je odražalo tudi v sami morfologiji nanovlaken (slika 43).



Slika 43 A/PVA = 50/50, 25 kV.

6.5.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken

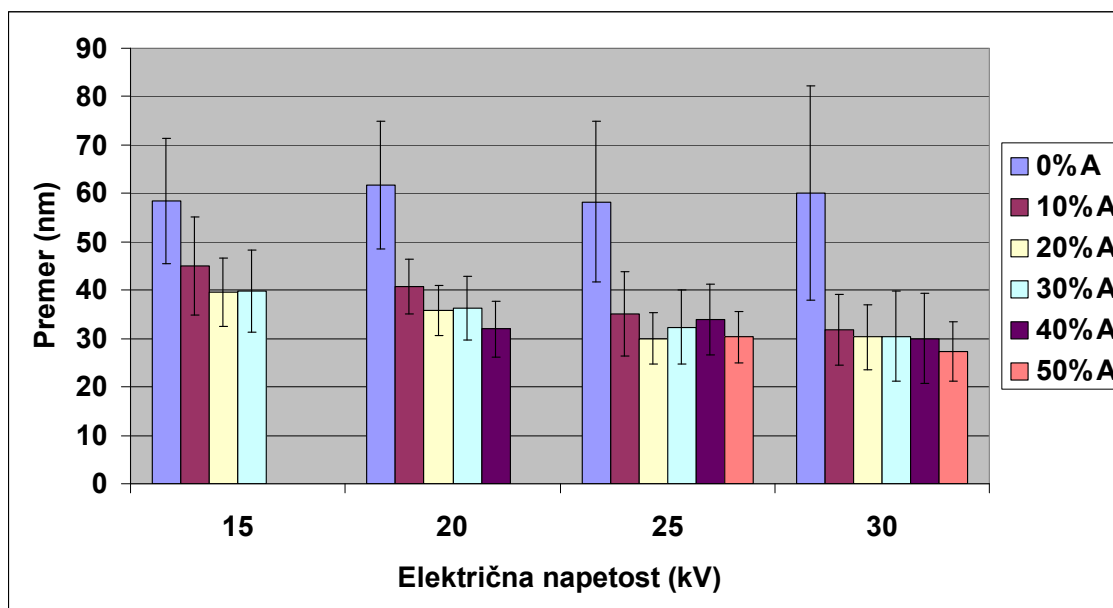
Primerjava izdelanih nanovlaken iz alginata in PVA z nanovlakni iz alginata in PEO razkrije, da so le-ta tanjša ter vsebujejo več vozlov, v nobenem izmed primerov pa nismo dobili gladkih nanovlaken. Vzrok temu lahko pripišemo lastnostim raztopine. Ker imajo raztopine A/PEO in A/PVA pri enakem deležu alginata podobno prevodnost, lahko sklepamo, da je morfologija dobljenih nanovlaken predvsem posledica razlik v viskoznosti, ki je pri raztopinah A/PVA bistveno manjša (slika 44). Zaradi majhne viskoznosti je viskoelastična sila med procesom elektrorazprševanja premajhna, da bi nasprotovala elektrostatski odbojni sili, ki je precej visoka zaradi velike prevodnosti raztopin.



Slika 44 Primerjava viskoznosti raztopin A/PVA in A/PEO.

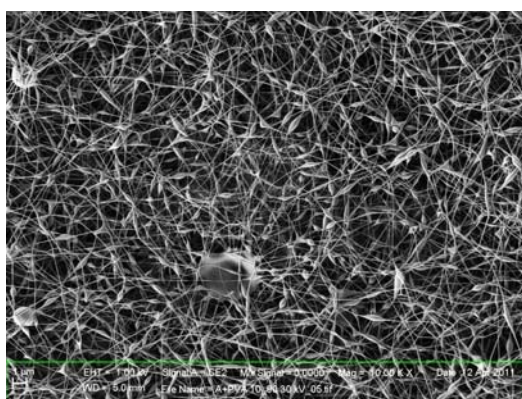
Dodatno menimo, da bi za popolnoma gladka nanovlakna bilo smotno uporabiti večjo koncentracijo raztopine PVA. Zaradi možnosti neposredne primerjave nosilnih sistemov smo sami sicer uporabili 4% raztopino PVA, vendar pa je iz rezultatov opisanih v poglavju 6.1. in 6.2. razvidno, da ta koncentracija ne daje gladkih vlaken, poleg tega pa so dobljena nanovlakna tudi slabša kot tista pripravljena iz iste koncentracije PEO. Zaključimo torej lahko, da kadar želimo uporabiti sintezni polimer kot dodatek naravnemu polimeru in s tem izkoristiti njegove prednosti za izboljšanje elektrorazprševanja, mora biti koncentracija uporabljene raztopine sinteznega polimera takšna, da že sama po sebi omogoča nastanek čim bolj gladkih nanovlaken.

Iz dobljenim SEM slik smo ovrednotili premer dobljenih nanovlaken ter obliko vozlov. Premer nanovlaken je med 30 in 60 nm, pri čemer se pri napetostih 15 in 20 kV z naraščajočim deležem alginata premer manjša, medtem ko pri napetostih 25 in 30 kV ostaja praktično nespremenjen (slika 45).

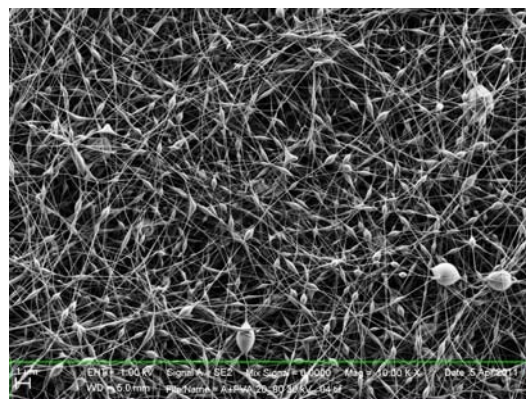


Slika 45 Spreminjanje premera nanovlaken z naraščajočim deležem alginata ob dani el. napetosti. Vrednosti večje od 60% niso prikazane, ker nanovlakna niso nastala.

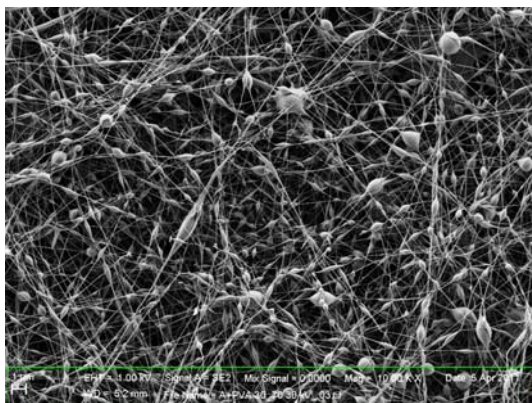
Opazili smo tudi, da je oblika vozlov odvisna od deleža alginata in PVA v končni raztopini (slika 46).



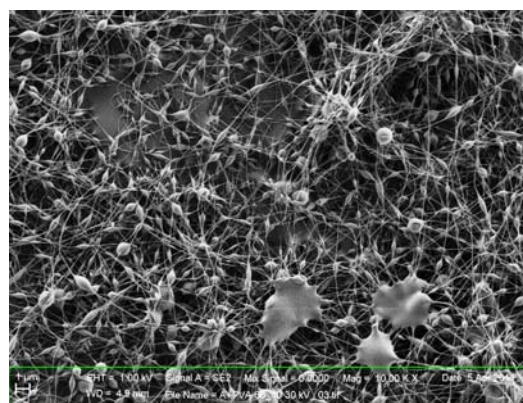
a: A/PVA = 10/90



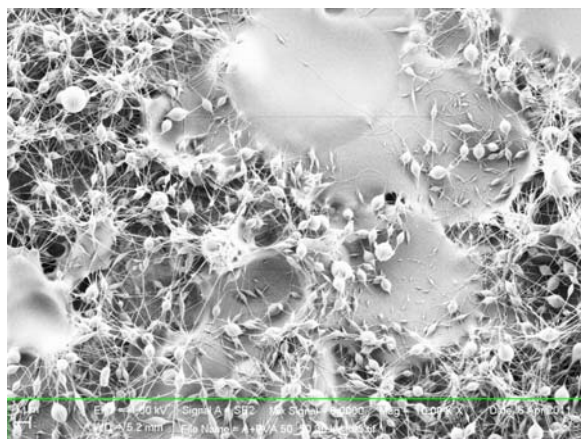
b: A/PVA = 20/80



c : A/PVA = 30/70



d: A/PVA = 40/60



e: A/PVA = 50/50

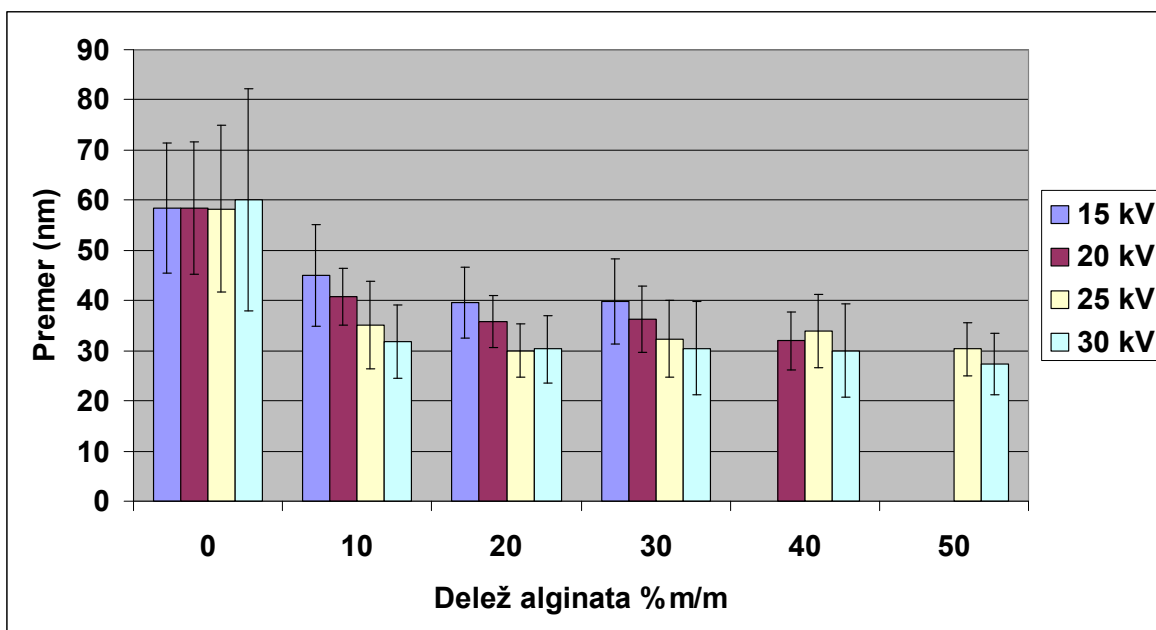
Slika 46 Spreminjanje morfologije vozlov pri električni napetosti 30 kV in različnih masnih razmerjih.

In sicer je pri nanovlaknih izdelanih iz raztopin z nizkim deležem alginata (10/90 in 20/80) med podolgovatimi vozli moč opaziti tudi vozle s tremi kraki, ki so značilni za nanovlakna pripravljena iz nizkokoncentriranih raztopin PVA (3 - 6%) (slika 22 iz poglavja PVA). Nad tem masnim razmerjem se vpliv PVA na obliko vozlov manjša, zato krakasti vozli niso več prisotni. Se pa močno poveča pojavnost sferastih vozlov. V primeru raztopin z razmerjem 40/60 in 50/50 dodatno opazimo tudi posamezne polimerne madeže, ki prekinajo že nastala nanovlakna, kar nakazuje na manjšanje stabilnosti curka z večanjem deleža naravnega polimera.

6.5.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken

Z večjo aplicirano električno napetostjo se poveča količina nastalih nanovlaken, saj curek zaradi povečane elektrostatske sile potuje hitreje, poveča pa se tudi masni pretok.

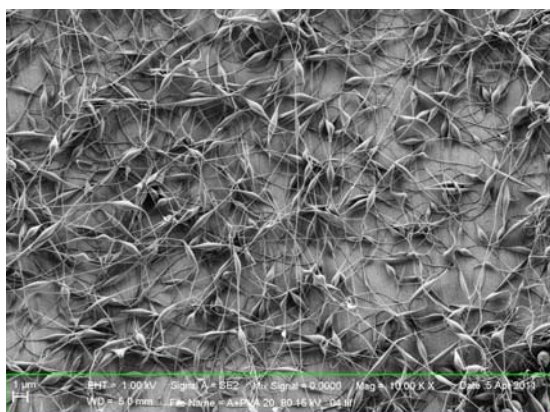
Ugotovili smo, da se premer nanovlaken pripravljenih iz raztopin z danim deležem alginata (10/90, 20/80 in 30/70) z naraščajočo električno napetostjo manjša (slika 47).



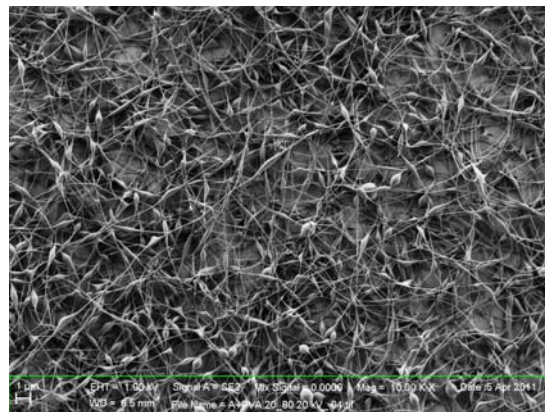
Slika 47 Spreminjanje premera nanovlaken z naraščajočo el. napetostjo pri danem deležu alginata.

S povečanjem električne napetosti, se namreč poveča elektrostatska sila, poleg tega pa tudi elektrostatska odbojna sila, sočasno delovanje obeh pa povzroči raztegovanje in tanjšanje curka ter posledično manjši premer dobljenih nanovlaken. V primerih kadar je masno razmerje A/PVA večje od 40/60 pa aplicirana električna napetost bistveno ne vpliva na debelino nanovlaken in obliko vozlov.

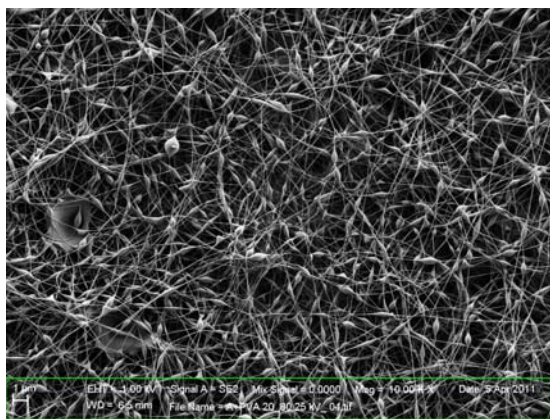
Rezultati so dodatno še pokazali, da pogostost vozlov ostaja enaka ne glede na aplicirano električno napetost zaradi neoptimalnih lastnosti raztopine, spreminja pa se njihova oblika (slika 48). Z večanjem električne napetosti vozli postanejo krajši in tanjši, to raztegnitev pa lahko ponovno pripišemo povečanim silam, ki delujejo na curek.



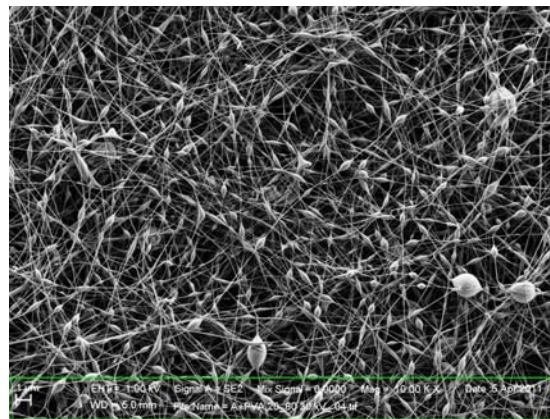
a: 15 kV



b: 20 kV



c: 25 kV



d: 30 kV

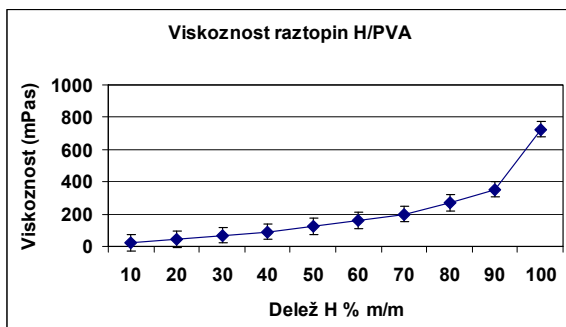
Slika 48 Nanovlakna A/PVA = 20/80.

6.6. Hitosan/polivinilalkohol (H/PVA)

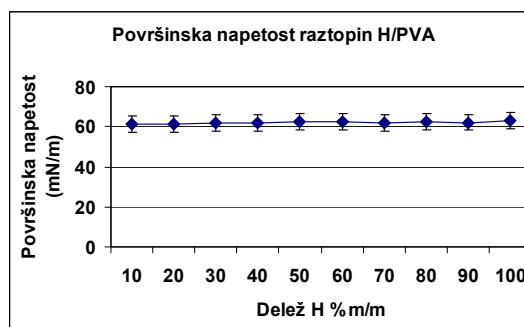
6.6.1. Vrednotenje raztopin

Tudi pri hitosanu smo želeli oceniti primernost sinteznega polimera kot nosilnega sistema za elektrozprševanje hitosana. Pripravili smo 3% raztopino hitosana in 3% raztopino PVA ter ju zmešali v masnih razmerjih od 10/90 do 100/0 ter jih ovrednotili.

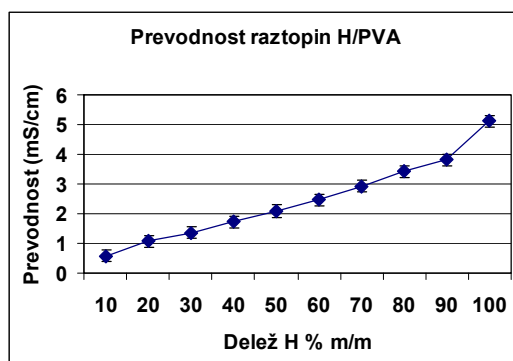
Viskoznost in prevodnost zaradi razlogov omenjenih že v poglavju o H/PEO naraščata z naraščajočim deležem hitosana, medtem ko se površinska napetost s koncentracijo le malo spreminja (slika 49).



A



B



C

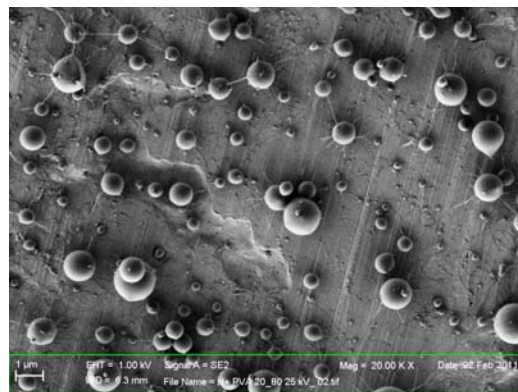
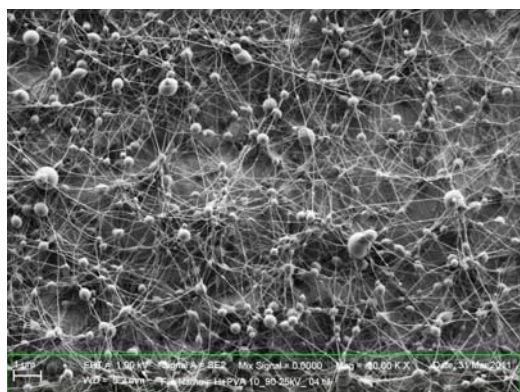
Slika 49 Viskoznost (A), površinska napetost (B) in prevodnost (C) v odvisnosti od masnega deleža hitosana v raztopinah H/PVA.

6.6.2. Elektrorazprševanje

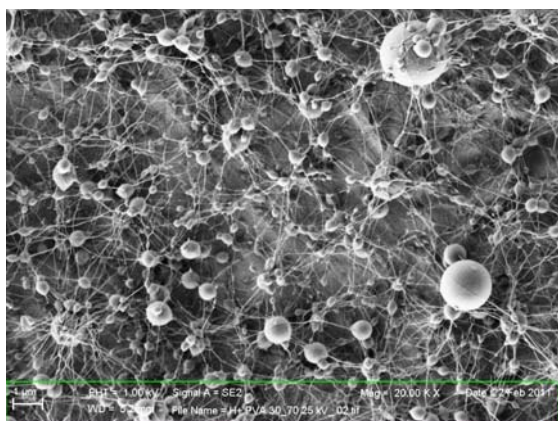
Pri procesu elektrorazprševanja smo uporabili razdaljo 17 cm in pretok 0,7070 mL/h. Pri napetostih 10 in 15 kV je bila aplicirana električna napetost premajhna za tvorbo curka, zato elektrorazprševanje ni poteklo. Na podlagi teh opažanj smo se odločili, da bomo uporabili električne napetosti 20, 25, 30 in 35 kV. Pri napetosti 20 kV je elektrorazprševanje poteklo samo v primeru raztopine H/PVA 10/90 in 30/70, iz ostalih raztopin z deležem hitosana do 50% je poteklo od 25 kV naprej, nato pa ob vedno večji napetosti, dokler v primeru 90/10 elektrorazprševanje sploh ni več poteklo.

6.6.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken

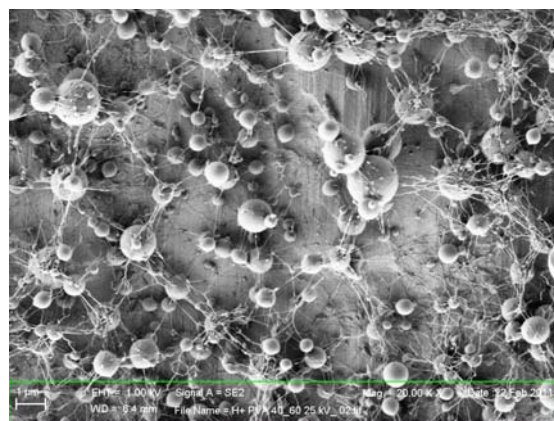
Kljub temu da je s prostim očesom bil viden curek, so slike elektronskega mikroskopa pokazale, da so se na zbiralu zbrali samo delci/vozli prepredeni z zelo tankimi vlakni. V primeru raztopin 10/90 in 30/70 je sicer vidna tendenca po nastanku nanovlaken, saj so kapljice deformirane, vlakna pa malenkost debelejša, v primeru raztopin z razmerjem večjim od 70/30 pa so opazni samo delci brez vlaken (slika 50).



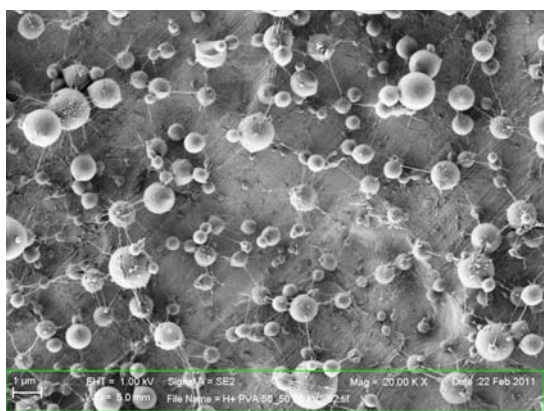
a: H/PVA = 10/90



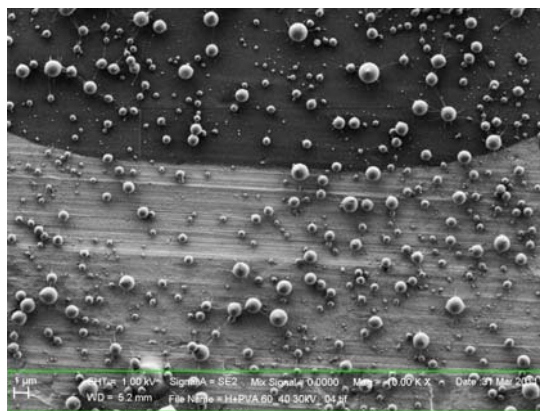
b : H/PVA = 20/80



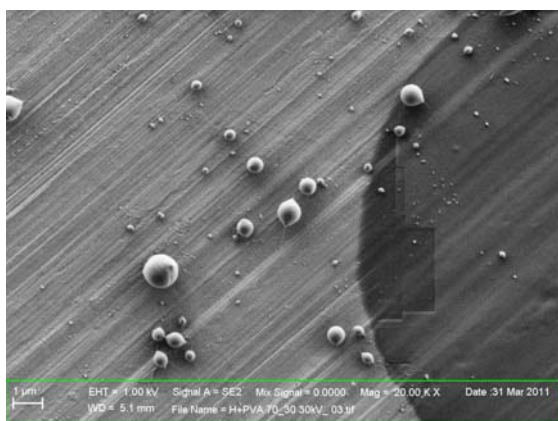
c : H/PVA = 30/70



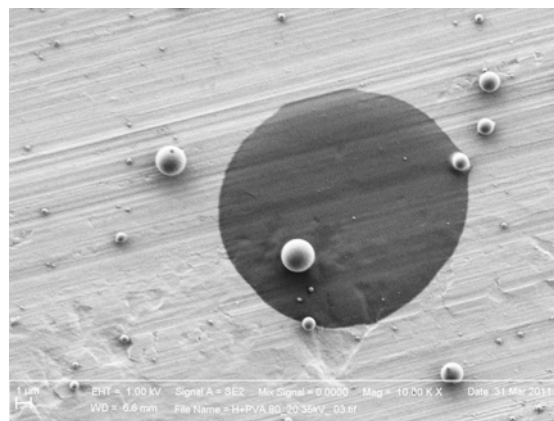
d : H/PVA = 40/60



e : H/PVA = 50/50



f : H/PVA = 60/40



g: H/PVA = 70/30

Slika 50 Produkt elektrorazprševanja, 25 kV (10/90 – 50/50) in 30 kV (60/40 – 80/20), pretok: 0,7070 mL/h.

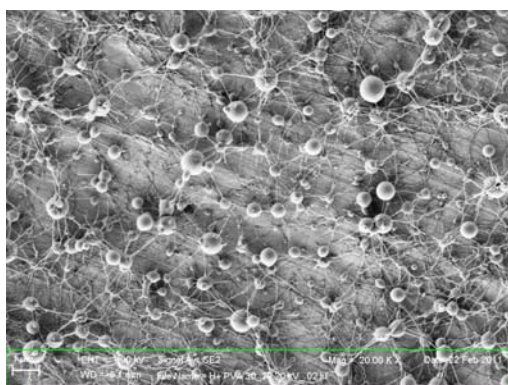
h: H/PVA = 10/90

Vzrok za nastanek takšnih produktov lahko najdemo v premajhni koncentraciji nosilnega polimera, ki ni omogočala zadostnega prepletanja verig za nastanek vlaken. Ko smo namreč poskušali pripraviti nanovlakna samo iz 3% PVA, le ta niso uspela. Prav zaradi tega menimo, da bi že ob mešanju raztopin PVA in hitosana morali uporabiti večjo začetno

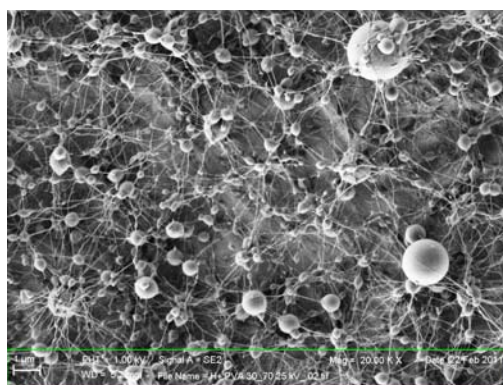
koncentracijo PVA - vsaj 8%, kjer vemo, da nastanejo gladka nanovlakna. Vendar pa ker smo želeli neposredno primerjati vpliv PEO in PVA kot nosilnega sistema, je bilo bolj smotno uporabiti iste koncentracije nosilnih sistemov. Predlagamo, da bi v nadaljevalnih raziskavah veljalo uporabiti ali večjo koncentracijo PVA ali večjo molekulsko maso PVA in preučiti, če bo v tem primeru pri enakih koncentracijah elektrorazpševanje uspešnejše.

6.6.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken

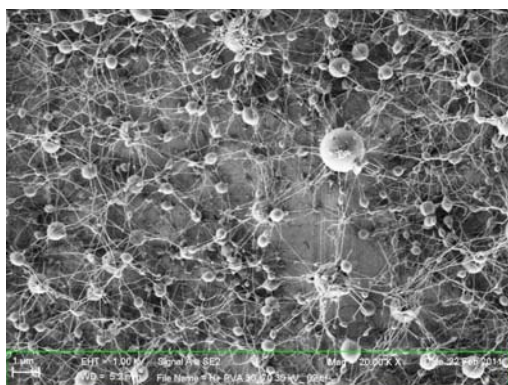
Iz slike 51 je razvidno, da z naraščajočo napetostjo narašča tudi število tankih vlaken, ki izhajajo iz kapljic. To je posledica povečanih sil, ki ob večji napetosti delujejo na curek, ter omogočijo večje raztegovanje polimera. Vendar pa zaradi neoptimalnih lastnosti raztopine (premajhne koncentracije nosilnega polimera), nobena napetost ni omogočala nastanka gladkih nanovlaken.



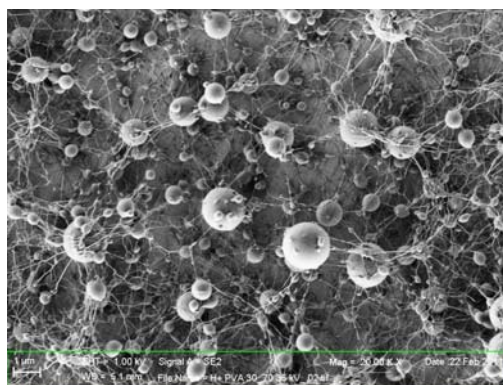
a : 20 kV



b : 25 kV



c : 30 kV



d: 35 kV

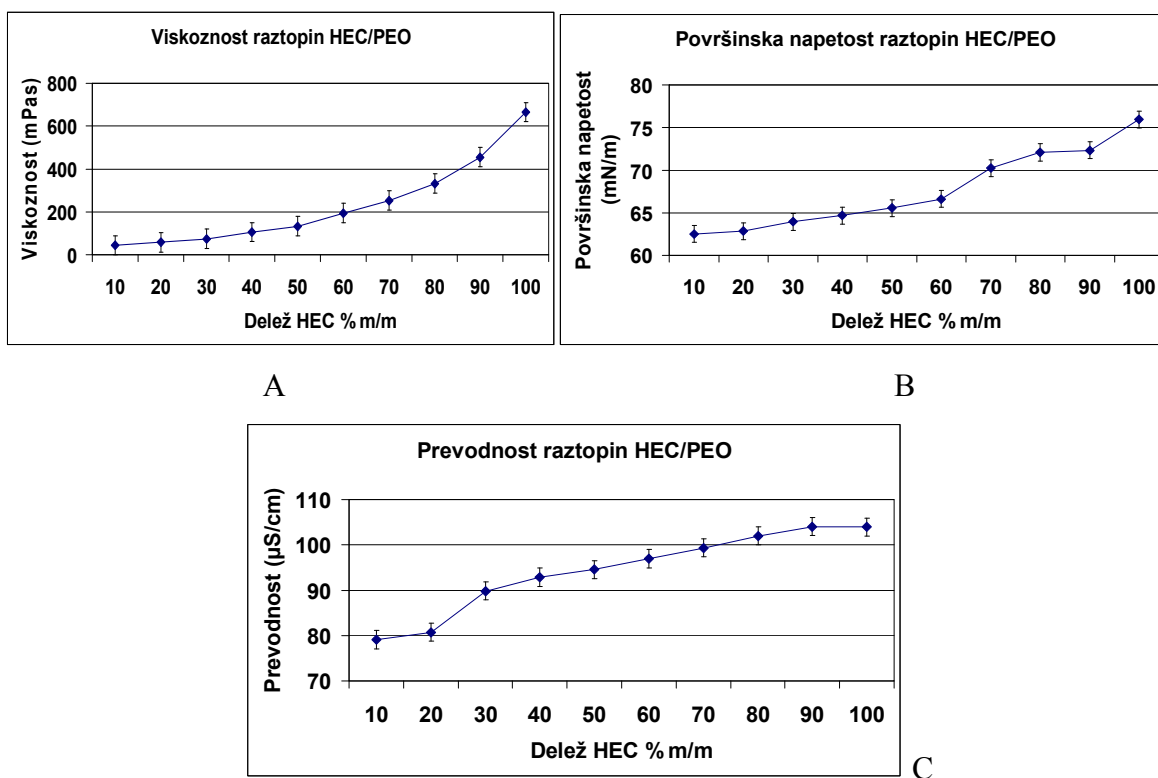
Slika 51 Večanje števila tankih nanovlaken, H/PVA = 30/70, pretok: 0,7070 mL/h.

6.7. Hidroksietilceluloza/polietilenoksid (HEC/PEO)

6.7.1. Vrednotenje raztopin

Rezultati že narejenega raziskovalnega dela na Fakulteti so pokazali, da je viskoznost raztopine HEC nad 1,5% HEC (665,33mPas) previsoka za uspešen proces elektorazprševanja. Ker je HEC polimer semi naravnega izvora, smo se tako odločili, da bomo nanovlakna pripravili iz raztopin HEC/PEO z različnimi masnimi razmerji, pri čemer bo celokupna koncentracija polimera 1,5%.

Iz slike 52 je razvidno, da z naraščajočim deležem HEC naraščajo vsi trije merjeni parametri, pri čemer prevodnost in površinska napetost naraščata linearno, viskoznost pa eksponentno. Naraščanje viskoznosti z večjim deležem HEC lahko pripišemo manjšemu prepletanju verig HEC in PEO in posledično manjši topnosti HEC v vodi.



Slika 52 Viskoznost (A), površinska napetost (B) in prevodnost (C) v odvisnosti od masnega deleža HEC v raztopinah HEC/PEO.

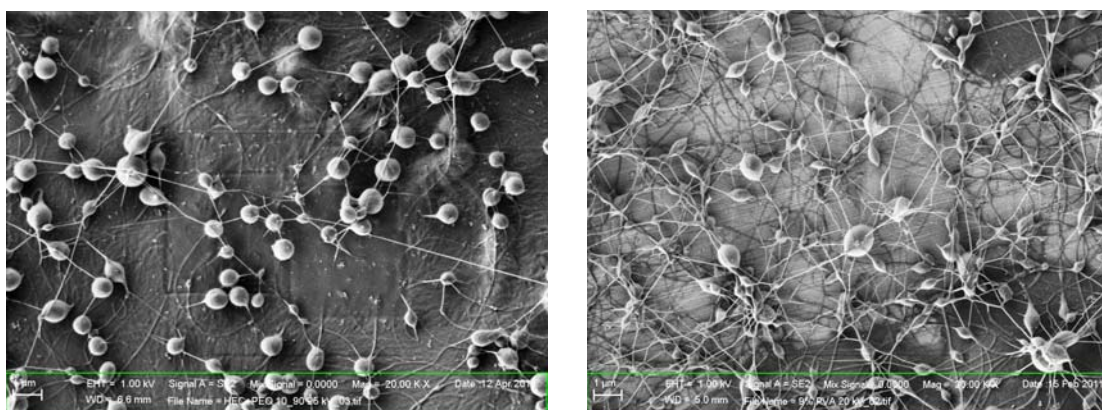
6.7.2. Elektrozprševanje

Pri elektrozprševanju smo uporabili napetost v intervalu od 10 do 35 kV, razdaljo 20 cm ter pretok 1,0605 mL/h. Pri manjših napetostih (10 in večini 15 kV) je curek nastal iz večje kapljice na konici igle, pri večjih napetostih (25 in 30 kV) pa je curek večkrat prekinilo in

so na zbiralo padle kapljice raztopine polimera. Kljub temu, da smo vzorec zbirali enako dolgo kot pri ostalih sistemih, je le bilo tega na zbiralu zelo malo. Velja še omeniti, da smo pri 30 kV in 35 kV večkrat opazili tudi nastanek isker.

6.7.3. Vpliv koncentracije polimera v raztopini na morfologijo nanovlaken

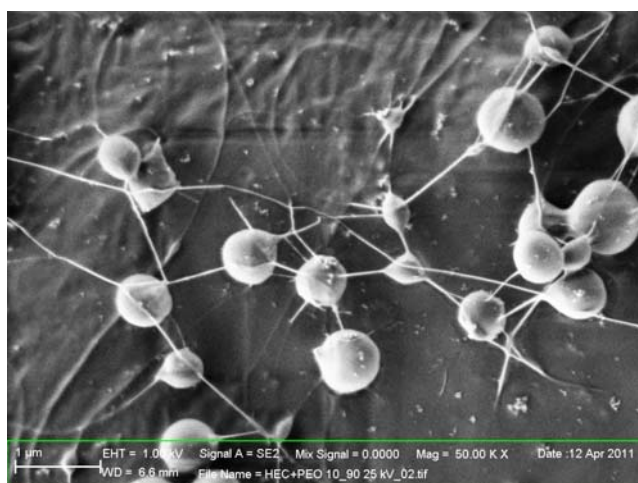
Po pregledu vzorcev s pomočjo elektronskega mikroskopa smo ugotovili, da so v vseh primerih nastali vozli/delci, med katerimi potekajo posamezna zelo tanka nanovlakna (slika 53), nikjer pa nismo dobili tridimenzionalne mrežaste strukture. Kadar se je curek vmes prekinil, je nastala kapljica, ki je padla na zbiralo in zakrila prej nastala nanovlakna (slika 54).



a: HEC/PEO = 10/90

b: HEC/PEO = 50/50

Slika 53 Kapljice in nanovlakna, 25 kV.



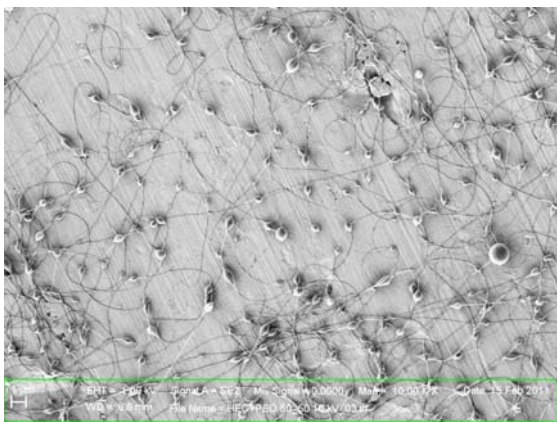
Slika 54 Kapljica je zakrila prej nastala nanovlakna, HEC/PEO = 10/90, 25 kV.

Pri raztopinah z masnim razmerjem HEC/PEO manjšim od 30/70 ali večjim od 80/20 imajo vozli popolnoma sferasto obliko, nanovlakna med njimi pa so izredno tanka in kratka. Nekolikšno izboljšanje je moč opaziti pri raztopinah z masnim razmerjem med 40/60 in 70/30, saj so se nastali vozli že začeli nekoliko raztegovati (imajo bolj vretenasto obliko), nanovlaken med njimi pa je več in so malenkost debelejša.

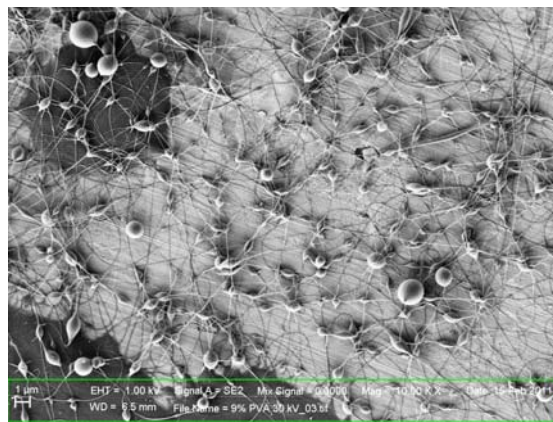
Viskoznost 1,5% raztopine PEO je zelo majhna (27,9 mPas) in zato v kombinaciji z 1,5% HEC zmanjša viskoznost le-te. Menimo, da je viskoznost teh raztopin in s tem preplet verig naravnega in sinteznega polimera tisti ključen parameter, ki najbolj določa uspešnost nastanka nanovlaken. V primeru raztopin z nizkim masnim razmerjem (10/90 - 30/70) je viskoznost premajhna, da bi nastala nanovlakna, v primeru raztopine 40/60 pa se že dovolj poveča, da je možen stabilen nastanek curka, posledično se izboljša morfologija nanovlaken. V primeru raztopin z masnim razmerjem HEC/PEO večjim od 80/20 pa je delež nosilnega polimera premajhen, da bi prišlo do zadostnega prepletanja verig. Poleg tega pa je večja tudi prevodnost raztopine, kar ob povečani električni napetosti poveča elektrostatsko odbojno silo v curku, in zato so ponovno prisotni samo vozli sferaste oblike z zelo tankimi nanovlakni.

6.7.4. Vpliv električne napetosti na morfologijo nanovlaken

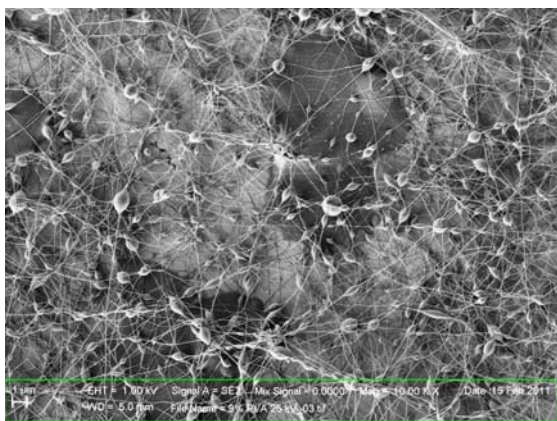
V vseh primerih smo opazili, da se s povečanjem električne napetosti do 20 kV poveča tudi število nastalih nanovlaken in zmanjša količina kapljic, nato pa je nastalih nanovlaken spet manj (slika 55). To lahko pripišemo predvsem ustrezni velikosti tako elektrostatske kot tudi elektrostatske odbojne sile, ter razmerju med njima.



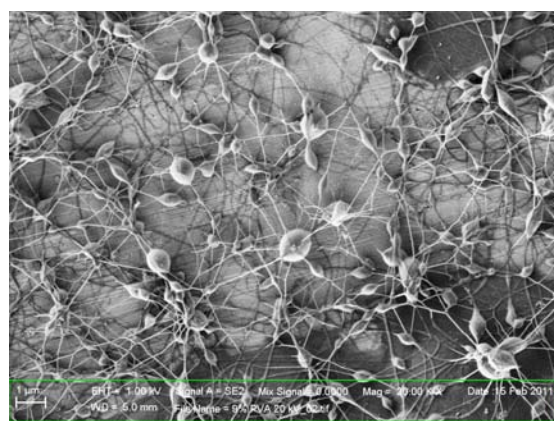
a: 10 kV



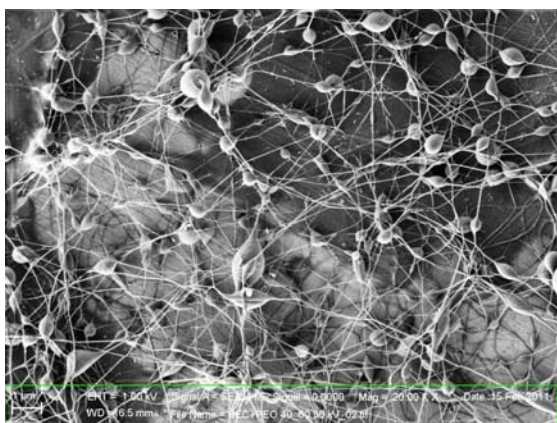
b: 15 kV



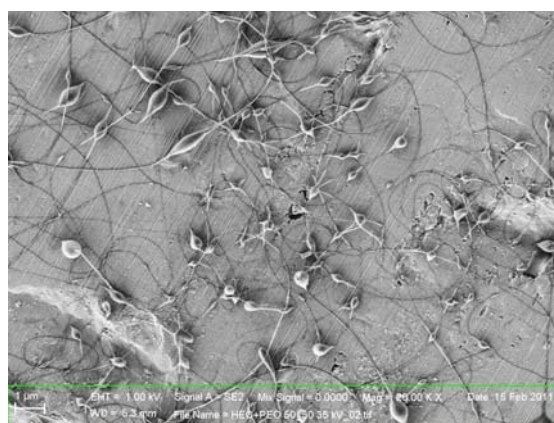
c: 20 kV



d: 25 kV



e: 30 kV



f: 35 kV

Slika 55 Kapljice in nanovlakna, HEC/PEO = 50/50.

Zaključimo torej lahko, da naš HEC/PEO sistem ni optimalen sistem za izdelavo nanovlaken, vzrok temu pa so lahko bodisi lastnosti samega naravnega polimera bodisi neoptimalne lastnosti raztopin.

6.8. Hidroksietilceluloza/polivinilalkohol (HEC/PVA)

Nanovlaken iz sistema HEC in PVA kot nosilnega sistema nismo pripravili. Primerjava nosilnih sistemov PVA in PEO pri izdelavi nanonovlaken alginata in hitosana je namreč pokazala, da je PVA kot nosilni sistem slabši, poleg tega pa ima 1,5% PVA še nižjo viskoznost kot 1,5% PEO. Prav zaradi tega menimo, da elektrorazpševanje teh raztopin najverjetneje ne bi bilo uspešno.

7. ZAKLJUČEK

Rezultati diplomskega dela so pokazali, da na nastanek in morfologijo nanovlaken izrazito vpliva veliko različnih faktorjev, kar je tudi v skladu s predhodno objavljenimi raziskavami. V našem eksperimentalnem delu smo se osredotočili predvsem na preučevanje vpliva lastnosti raztopine in električne napetosti, ostale procesne parametre pa smo predhodno določili za vsak posamezen sistem polimer/topilo. Zaključujemo, da je v prvi vrsti za nastanek gladkih nanovlaken izredno pomembna izbira ustreznega polimera. Popolnoma gladka nanovlakna smo dobili samo v primeru raztopin ustreznih koncentracij iz neionskih sinteznih polimerov PEO in PVA. V primeru naravnih polimerov je bilo elektrorazprševanje uspešno le kadar smo naravni polimer kombinirali s sinteznim, pri čemer sta pomembni tako celokupna koncentracija polimerov, kot tudi masno razmerje med njima. Večji kot je bil delež sinteznega polimera, manj je bilo vozlov in bolj gladka so bila vlakna. Pomembno je tudi, da je uporabljena koncentracija sinteznega polimera takšna, da omogoča zadostno prepletanje polimernih verig. Eksperimentalni pogoji pri katerih nastanejo gladka nanovlakna so nazorno prikazani v tabeli 3.

Tabela 3 Premer nm gladkih nanovlaken pripravljenih iz raztopin ustreznih koncentracij m/m z aplikacijo določene električne napetosti. V primeru A/PEO je celokupna koncentracija polimera 4% m/m, v tabeli pa je prikazano samo masno razmerje med polimeroma.

	10 kV	15 kV	20 kV	25 kV	30 kV
8% PVA	179,1 ± 38,3	180,4 ± 38,0	217,3 ± 52,8	193,5 ± 38,8	185,5 ± 32,6
9 % PVA	215,3 ± 47,6	331,2 ± 97,8	248,0 ± 64,1	237,7 ± 43,0	214,5 ± 46,4
10 % PVA	349,1 ± 78,4	463,2 ± 94,6	484,2 ± 82,3	441,4 ± 74,3	384,0 ± 63,0
11 % PVA	415,1 ± 99,0	413,7 ± 88,3	411,2 ± 45,7	417,2 ± 72,8	411,0 ± 99,0
12 % PVA	373,7 ± 57,5	391,7 ± 46,7	405,8 ± 58,8	460,0 ± 99,9	481,7 ± 99,7
5 % PEO	231,7 ± 57,8	181,6 ± 44,4	152,8 ± 21,1	144,0 ±52,4	133,5 ± 35,1
A/PEO = 10/90	123,6 ± 39,5	119,0 ± 33,8	103,5 ± 26,6	91,6 ± 24,7	87,3 ± 35,5
A/PEO = 20/80	108,5 ± 27,2	89,4 ± 19,3	88,9 ± 26,0	120,2 ± 57,7	71,2 ± 20,3
A/PEO = 30/70	93,9 ± 30,9	74,2 ± 31,9	74,5 ± 25,6	62,9 ± 16,2	55,1 ± 15,7

Zaključimo še lahko, da je vpliv električne napetosti na debelino nanovlaken različen. V določenih primerih z naraščanjem električne napetosti narašča tudi debelina nanovlaken, drugič pada ali pa ostaja enaka. Lahko se celo zgodi, da najprej narašča in nato pada ali obratno. Električna napetost namreč vpliva na velikost elektrostatske in elektrostatske odbojne sile, debelina nastalih nanovlaken pa je odvisna od razmerja med njima. Velja še omentiti, da je z naraščajočo električno napetostjo večinoma narasla tudi količina vzorca oz. nanovlaken, saj curek zaradi večje aplicirane napetosti potuje hitreje.

Na sam uspešen proces elektorazpševanja in morfologijo nastalih nanovlaken torej znatno vplivajo tako lastnosti raztopine (viskoznost, prevodnost in površinska napetost) kot tudi procesne spremenljivke (električna napetost, razdalja med iglo in zbiralom, ter pretok raztopine skozi iglo). Ker pa ne obstaja nobeno univerzalno pravilo, ki bi zagotovilo uspešen nastanek gladkih nanovlaken, je potrebno za vsak nov sistem polimer/topilo eksperimentalno določiti in optimizirati vse pogoje. Prav zaradi tega so na tem področju potrebne še intenzivne nadaljnje raziskave, ki bodo prinesle nova teoretična in praktična znanja ter s tem prispevale k racionalnejšemu načrtovanju in optimizaciji izdelave nanovlaken.

8. VIRI

1. Z.-M. Huang, Y.-Z. Zhang, M. Kotaki, S. Ramakrishna A review of polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites science and technology* 2003, 63: 2223-2253
2. S. G. Kumbar, S. P. Nukavarapu, R. James, M. V. Hogan, C. T. Laurencin Recent Patents on Electrospun Biomedical Nanostructures: An Overview. *Recent Patents on Biomed Eng* 2008, 1: 68-78
3. M. Ziabari, V. Mottaghitalab, A. K. Haghi A new approach for optimization of electrospun nanofiber formation process. *Korean J Chem Eng* 2010, 27: 340-354
4. J. D. Schiffman, C. L. Shauer A Review: Electrospinning of Biopolymer Nanofibers and their Applications. *Polym Reviews* 2008, 48: 317-352
5. H. Homayoni, S. A. Hosseini Ravandi, M. Valizadeh Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization. *Carbohydrate Polym* 2009, 77: 656-661
6. C. Kriegel, K. M. Kit, D. J. McClements, J. Weiss Influence of Surfactant Type and Concentration on Electrospinning of Chitosan-Poly(Ethylene Oxide) Blend Nanofibers. *Food Biophysics* 2009, 4: 213-228
7. N. Bhattarai, M. Zhang Controlled synthesis and structural stability of alginate-based nanofibers. *Nanotechno* 2007, 18: 1-10
8. Su A Park, Ko Eun Park, WanDoo Kim Preparation of Sodium Alginate/Poly(ethylene oxide) Blend Nanofibers with Lecitin. *Macromolecular Research* 2010, 18 (9): 891-896
9. K. Ohkawa, K.-I. Minato, G. Kumagai, S. Hayashi, H. Yamamoto Chitosan Nanofiber. *Biomacromolecules* 2006, 7: 3291-3294
10. R. Jayakumar, M. Prabakaran, S. V. Nair, H. Tamura Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. *Biotechno Adv* 2010, 28: 142-150
11. Yun Mi King, Jae Hoon Ko, E Sle Kim, Goh Woon Park, Young Hwan Park, Byoung Hyun Min, Bong Lee, Jae Ho Kim, Moon Suk Kim Electrospun Chitosan Nanofiber for Tissue Engineering. *Nanoelectronics Conference (INEC)* 3– 8 jan. 2010, Hong Kong, 850 - 851
12. Surawut Chuangchote, Pitt Supaphol Fabrication of Aligned Poly(vinyl alcohol) Nanofibers by Electrospinning. *J Nanoscience and Nanotechnology* 2006, 6: 125 – 129
13. C.J. Thompson, G.G. Chase, A.L. Yarin, D.H. Renker Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. *Polym* 2007, 48: 6913 – 6922
14. N. Bhattarai, D. Edmondson, O. Veis, F.A. Matsen, M. Zhang Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials* 2005, 26: 6176 – 6184
15. P. Taepaiboon, U. Rungsardthong, P. Supaphol Drug-loaded electrospun mats of poly(vinyl alcohol) fibers and their release characteristics of four model drugs. *Nanotechno* 2006, 17: 2317 – 2329
16. A. Frenot, M. Walenius Henriksson, Pernilla Walkenstrom Electrospinning of Cellulose-Based Nanofibers. *J Applied Polym Sci* 2007, 103: 1473 – 1482
17. G. Verreck, I. Chun, J. Peeters, J. Rosenblatt, M.E. Brewster Preparation and Characterisation of Nanofibers Containing Amorphous Drug Dispersions Generated by Electrostatic Spinning. *Pharmaceutical Research* 2003, 20 (5): 810 - 817
18. N. Bhardway, Subhas C. Kundu Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv* 2010, 28 (3): 325 - 347
19. H. Fong, I. Chun, D.H. Renker Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polym* 1999, 40: 4585 – 4592

20. Y. O. Kang, I.-S. Yoon, S. Y. Lee, D.-D. Kim, S. J. Lee, W. H. Park, S. M. Hudson Chitosan-Coated Poly(vinyl alcohol) Nanofibers for Wound Dressings. *J Biomed Mater Res B Appl Biomat* 2010, 92 (2): 568 - 576
21. A. Frenot, I.S. Chronakis Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current opinion in Colloid and Interface Sci* 2003, 8: 64, 75
22. T.J. Sill, H.A. von Recum Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomater* 2008, 29: 1989 – 2006
23. J.M. Dietzel, J. Kleinmeyer, D. Harris, N.C. Beck Tan The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polym* 2001, 42: 261 – 272
24. Y. Zhang, C.T. Lim, S. Ramakrishna, Z.M. Huang Recent development of polymer nanofibers and biotechnological applications. *J material sci: Materials in medicine* 2005, 16: 933 – 946
25. A. Koski, K. Yim, S. Shivkumar Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Materials Letters* 2004, 58: 493 – 497
26. H. Jiang, Y. Hu, Y. Li, P. Zhao, K. Zhu, W. Chen A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun for controlled release of bioactive agents. *J Controlled Release* 2005, 108: 237 – 240
27. C. Zhang, X. Yuan, Lili Wu, Y. Han, J. Sheng Study of morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats. *Euro Polym J* 2005, 41: 423 – 432
28. Y. Zhang, X. Huang, B. Duan, L. Wu, S. Li, X. Yuan Preparation of electrospun chitosan/poly(vinyl alcohol) membranes. *Colloid Polym Sci* 2007, 285: 855 - 863
29. 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. *Polym* 2004, 45: 2959 – 2966
30. L. Li, Y.-L. Hsieh Chitosan biocomponent nanofibers and nanoporous fibers. *Carbohydrate Research* 2006, 341: 374 - 381
31. P. Supaphol, S. Chuangchote On the Electrospinning of Poly(vinyl alcohol) Nanofiber Mats: A Revisit, *J Appl Polym Sci* 2008, 108: 269 – 278
32. S.S. Ojha, M. Afshari, R. Kotek, R.E. Gorga Morphology of Electrospun Nylon-6 Nanofibers as a Function of Molecular Weight and Processing Parameters. *J Applied Polym Sci* 2008, 108: 308 – 319
33. I.S. Chronakis Novel nanocomposites and nanoceramics based on polymer nanofibers using electrospinning process – A review. *J Materials Processing Techno* 2005, 167: 283 – 293
34. S. De Vrieze, P. Westbroek, T. Van Camp, L. Van Langenhove Electrospinning of chitosan nanofibrous structures: feasibility study. *J Mater Sci* 2007, 42: 8029 – 8034
35. D. Puppi, A. M. Piras, N. Detta, D. Dinucci, F. Chiellini Poly(lactic-co-glycolic acid) electrospun fibrous meshes for the controlled release of retinoic acid. *Acta Biomaterialia* 2010, 6:1258 - 1268
36. L. Francis, A. Balakrishnan, K.P. Sanosh, E. Marsano Characterisation and tensile strenght of HEC-PEO composite nanofibers produced by electrospinning. *Materials Letters* 2010, 64: 1806 – 1808
37. O. Regev, S. Vanderbril, E. Zussman, C. Clasen The role of interfacial viscoelasticity in the stabilization of electrospun jet. *Polym* 2010, 51: 2611 – 2620
38. B. Ding, H.Y. Kim, S.C. Lee, C.L. Chao, D.R. Lee, S.J. Park, G.B. Kwag, K.J. Choi Preparation and Characterization of a Nanoscale poly(vinyl alcohol) Fiber Aggregate Produced by an Electrospinning Method. *J Polym Sci* 2002, 40: 1261 – 1268

39. J. Doshi, J.K. Renker Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *J Electrostatics* 1995, 35: 151 – 160
40. 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. *Polym* 2009, 50 (1): 189 - 200
41. J.Y. Park, S.W. Han, I.H. Lee Preparation of Electrospun Porous Ethyl Cellulose Fiber by THF/DMAc Binary Solvent System. *J Ind Eng Chem* 2007, 6: 1002 – 1008
42. W.K. Son, J.H. Jouk, T.S. Lee, W.H. Park Effect of pH on electrospinning of poly(vinyl alcohol). *Materials Letters* 2005, 59: 1571 – 1575
43. S. De Vrieze, T. Van Camp, A. Nelvig, B. Hangstrom, P. Westbroek, K. De Clerck The effect of temperature and humidity on electrospinning. *J Mater Sci* 2009, 44: 1357 – 1362
44. K.Y. Lee, L. Jeong, Y.O. Kang, S.J. Lee, W.H. Park Electrospinning of polysaccharides for regenerative medicine. *Adv Drug Delivery Reviews* 2009, 61: 1020 – 1032
45. M. Zamani, M. Morshed, J. Varshosaz, M. Jannesari Controlled release of metronidazole benzoate from poly ϵ -caprolactone electrospun nanofibers for periodontal diseases. *Eur J Pharm Biopharm* 2010
46. M Cegnar, S. Baumgartner, J. Kristl Vlažna oskrba rane s sodobnimi oblogami. *Medicinski Razgledi* 2007, 46: 235 – 247
47. A.G. Kanani, S.H. Bahrami, H.A. Taftei, S. Rabbani, M. Sotoudeh Effect of chitosan-polyvinyl alcohol blend on the healing of excision and incision full thickness wounds. *Nanobiotechno* 2010, 4: 109 - 117
48. D. Puppi, A. M. Piras, N. Detta, D. Dinucci, F. Chiellini Poly(lactic-co-glycolic acid) electrospun fibrous meshes for the controlled release of retinoic acid. *Acta Biomaterialia* 2010, 6:1258 - 1268
49. S.L. Shenoy, W.D. Bates, G. Wnek Correlations between electrospinnability and physical gelation. *Polym* 2005, 46: 8990 – 9004
50. R.C. Rowe, P.J. Sheskey, M.E. Quinn Handbook of pharmaceutical excipients, Sixth edition, Pharmaceutical Press, 2009: 159, 311, 523, 564, 622
51. J.E. Mark Polymer data handbook, Oxford University Press, 1999: 542, 890
52. Clariant GmbH, Mowiol – Poly(vinylalcohol), str.D1, D13

