

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TOMAŽ ERJAVEC

**IZDELAVA DVOPLASTNIH NANOVLAKEN Z METODO
ELEKTROSTATSKEGA SUKANJA S KOAKSILANO ŠOBO**

**PREPARATION OF TWO-LAYER NANOFIBERS USING
ELECTROSPINNING WITH COAXIAL NOZZLE**

Ljubljana, 2013

Diplomsko nalogo sem opravljal na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za farmacijo, pod mentorstvom prof. dr. Julijane Kristl in delovnim mentorstvom Jana Pelipenka mag. farm., mikroskopske slike pa je pripravila doc. dr. Petra Kocbek.

Za podporo in spodbudo pri študiju bi se predvsem zahvalil svoji družini in vsem, ki so mi stali ob strani. Za pomoč pri izdelavi diplomske naloge bi se še posebej rad zahvalil mojemu delovnemu mentorju Janu Pelipenki, Petri Kocbek, Romani Rošic ter mentorici za spodbude in nasvete pri pisanju diplomske naloge.

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom prof. dr. Julijane Kristl.

Tomaž Erjavec

Diplomska komisija:

prof. dr. Danijel Kikelj, mag. farm. – predsednik komisije

prof. dr. Julijana Kristl, mag. farm. – mentorica

doc.dr. Mojca Kerec Kos, mag. farm

Kazalo

1. POVZETEK	5
2. UVOD	7
2.1 Nanovlakna in izdelava.....	7
2.2 Elektrostatsko sukanje	8
2.2.1 Zgodovina	8
2.2.2 Osnove elektrostatskega sukanja.....	9
2.2.3 Elektrostatsko sukanje z enostavno šobo	11
2.2.4 Koaksialna šoba	12
2.2.5 Elektrostatsko sukanje s koaksialno šobo	16
2.2.6 Procesne spremenljivke pri elektrostatskem sukanju s koaksialno šobo	17
2.3 Vrste nanovlaken.....	21
2.3.1 Večplastna nanovlakna	21
2.4 Uporaba nanovlaken	23
2.4.1 Nanovlakna v tkivnem inženirstvu	23
2.4.2 Nanovlakna kot dostavni sistem zdravilnih učinkovin	24
3. NAMEN DELA	27
4. MATERIALI IN METODE.....	28
4.1 Materiali	28
4.1.1 Polivinil alkohol	28
4.1.2 Tartrazin	29
4.2 Naprave	30
4.3 Postopki in metode	31
4.3.1 Priprava raztopin polimerov.....	31
4.3.2 Vrednotenje raztopin polimerov.....	31
4.3.3 Ocena optimalnih procesnih parametrov za nastanek nanovlaken.....	33
4.3.4 Izdelava nanovlaken z vgrajenim tartrazinom v notranji ali zunanji fazi	33
4.3.5 Vrednotenje izdelanih vlaken.....	35
4.3.6 Sproščanje modelne spojine iz nanovlaken	35
5. REZULTATI	38
5.1 Vrednotenje raztopin PVA.....	38
5.1.1 Površinska napetost	38
5.1.2 Prevodnost	39
5.1.3 Reološke lastnosti.....	40

5.2	Ocena optimalnih procesnih parametrov za nastanek nanovlaken.....	47
5.3	Izdelava dvoplastnih nanovlaken z vgrajenim tartrazinom in njihovo vrednotenje	49
5.4	Sproščanje tartrazina iz izdelanih nanovlaken	56
6.	RAZPRAVA:	62
6.1	Vpliv koncentracije raztopin na nastanek in morfologijo nanovlaken:.....	62
6.2	Vpliv prevodnosti na nastanek in morfologijo nanovlaken.....	63
6.3	Vpliv reoloških lastnosti na izdelavo nanovlaken.....	63
6.4	Vpliv napetosti na izdelavo nanovlaken	64
6.5	Vpliv pretoka zunanje in notranje faze	64
6.6	Sproščanje	65
7.	SKLEP	66
8.	LITERATURA	68

Seznam okrajšav:

PVA – polivinil alkohol

TEM – transmissijski emisijski mikroskop

SEM – scanning electron mikroskop

PEO – polietilenoksid

PLA – polimlečna kislina

PCL – polikaprolakton

PDT – polidodeciltiofen

ES – elektrostatsko sukanje

1. POVZETEK

Nanovlakna so vlakna nanometerskega premera, ki imajo zaradi svoje velike specifične površine izjemne lastnosti. Uporabljajo se v različnih področjih, ena izmed pomembnejših je tudi farmacija, kjer lahko služijo kot dostavni sistem ali pa omogočajo prirejeno ali zadržano sproščanje. Elektrostatsko sukanje je ena izmed najbolj pogostih metod, ki se uporabljajo za izdelavo nanovlaken, kajti metoda je enostavna in relativno poceni. Osnovni sistem za elektrostatsko sukanje je sestavljen iz izvora visoke napetosti, črpalke za raztopino, ozemljenega zbirala ter šobe, skozi katero teče polimerna raztopina in na koncu katere se oblikuje curek, ki potuje proti zbiralu. Namen dela te diplomske naloge je bila postavitev sistema za elektrostatsko sukanje s koaksilno šobo, izbira ustreznih polimernih raztopin, določitev glavnih procesnih parametrov za uspešen nastanek dvoplastnih nanovlaken ter izdelava dvoplastnih nanovlaken s tartrazinom, ki nam je služil kot modelna spojina za detekcijo. Glede na to, kakšna vlakna želimo izdelati, obstajata dva različna tipa šob in sicer enostavna ter koaksialna. V diplomski nalogi je bila, na fakulteti, prvič proučevana koaksialna šoba, ki nam je omogočala izdelavo dvoplastnih vlaken iz polimera PVA v koncentracijah 8 % in 12 % v različnih fazah (notranji in zunanji). Ker nanovlaken s to kombinacijo še niso izdelovali, smo morali v prvem koraku oceniti parametre, pri katerih se pojavi stabilen curek. To smo storili tako da smo za obe fazi uporabili 10 % PVA ter opazovali obnašanje curka pri različnih napetostih in pretokih. V drugem delu smo nato izdelovali različne kombinacije nanovlaken, pri katerih smo v določeno fazo (notranjo ali zunanjo) dodali tartrazin, ki je služil kot modelna spojina in smo jo vgradili v različne plasti nanovlaken (notranjo ali zunanjo). Opazovali smo tudi obnašanje curka in poizkusili določiti optimalne pogoje, pri katerih nastane stabilen curek. Na podlagi SEM posnetkov nanovlaken in uporabljenih procesnih parametrov pri elektrostatskem sukanju posameznih kombinacij, smo nato sklepali o vplivih različnih parametrov raztopin (prevodnost, reološke lastnosti) in procesnih parametrov (napetost in pretok notranje in zunanje faze) na nastanek vlaken. Večja koncentracija polimera v zunanji fazi povzroči povečanje premera nanovlaken. Ugotovili smo tudi, da reološke lastnosti, vključno z medfazno reologijo, zelo pomembno vplivajo na sam proces. Prevelika viskoznost zunanje raztopine onemogoča uspešno izdelavo vlaken zaradi večjega delovanja viskoelastičnih sil, ki nasprotujejo podaljševanju curka. Večja prevodnost polimernih raztopin ugodno vpliva na izdelavo, kajti omogoča dosego bolj stabilnega curka

in uporabo manjših napetost. Pri večji prevodnosti raztopin nastanejo tudi tanjša nanovlakna v primerjavi z raztopinami iste koncentracije a manjše prevodnosti. Z večjo prevodnostjo raztopin lahko tudi kompenziramo preveliko viskoznost zunanje raztopine in omogočimo uspešen nastanek stabilnega curka in s tem dvoplastnih nanovlaken. Napetost izvora ima, v povezavi z viskoznostjo, koncentracijo ter prevodnostjo, velik vpliv, vendar pa so vsi parametri kompleksno povezani med seboj, zato je težje sklepati na to, kako se bo curek obnašal pri določeni napetosti. Kljub vsemu pa smo ugotovili da so napetosti, pri elektrostatskem sukanju raztopin z večjo skupno prevodnostjo, manjše v primerjavi z raztopinami z manjšo skupno prevodnostjo. V zadnji fazi smo testirali še sproščanje tartrazina iz izdelanih nanovlaken z namenom, da smo preverili, če smo uspeli izdelati vlakna z zadržanim ali prirejenim sproščanjem. Izkazalo se je, da nobena od kombinacij ne izkazuje prirejenega sproščanja, najverjetneje zaradi hitrega nabrekanja nanovlaken in posledično difuzije tartrazina iz njih v pufer. Prav tako se na površini vlaken nahajajo precipitirani delci tartrazina, ki se takoj raztopijo v topilu. Ker smo, za dokaz dvoplastnosti vlaken pričakovali prirejeno sproščanje tartrazina, je glede na to da sproščanje ni bilo prirejeno, potrebno še dokazati dvoplastnost nanovlaken. Postopek za analizo je zato v teku. Kljub temu nam je uspelo ugotoviti vpliv različnih parametrov na proces elektrostatskega sukanja, ki bodo temelj za nadaljnje raziskave izdelave dvoplastnih vlaken z metodo elektrostatskega sukanja s koaksilano šobo.

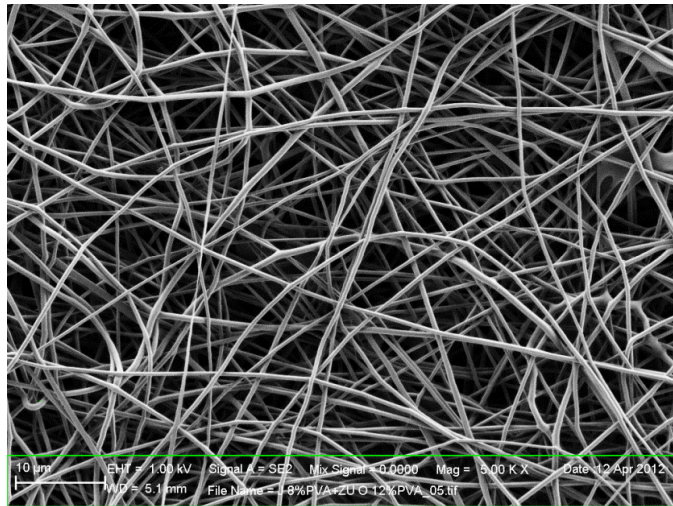
2. UVOD

V zadnjem desetletju je povpraševanje po novostih na področju biotehnologije, medicine, farmacije in drugih naravoslovnih področjih, močno narastlo. Nanotehnologija se je izkazala kot zelo obetavno področje, ki predstavlja za znanstvenike in inženirje velik izziv. Razvili so nanostrukture različnih oblik in lastnosti kot so sfere, miceli, votli cilindri in v farmaciji najbolj pomembni nanodelci ter nanovlakna. Te strukture, zaradi svoje nanometerske velikosti, izkazujejo posebne fizikalne in kemijske lastnosti, ki jih lahko izkoriščamo na različnih področjih. Izdelujemo jih lahko s pomočjo številnih fizikalnih postopkov, med katere spada tudi elektrostatsko sukanje.

2.1 Nanovlakna in izdelava

Nanovlakna (slika 1) so po definiciji vlakna z velikostjo premera od nekaj nanometrov pa tja do enega mikrometra (6). Ravno zaradi te majhnosti izkazujejo posebne lastnosti, ki jih lahko izkoriščamo na različnih področjih kot so tkivno inženirstvo, medicina (kot obloge za hitrejšo celjenje ran), kemična industrija (zaradi mehanskih lastnosti), industrija (za proizvodnjo zaščitnih oblačil (neprebojni jopiči, ognjevarna oblačila) in za nas najpomembnejšemu področju farmaciji (kot dostavni sistem z zadržanim ali prirejenim sproščanjem). Nanovlakna imajo teoretično skoraj neomejeno dolžino, zelo veliko specifično površino ter izjemne mehanske lastnosti kot so trdnost in prožnost. Ravno zaradi teh lastnosti nanovlaken je zanimanje za raziskave in razvoj na tem področju zelo veliko.

Za izdelavo nanovlaken obstaja več različnih metod. Kot najbolj učinkovita in tudi najcenejša metoda se je izkazala metoda z elektrostatskim sukanjem. Poleg te so v preteklosti uporabljali še vrsto drugih, med katerimi so bile najpomembnejše izdelava s pomočjo šablon, metoda separacije faz, vlečenje ter spontana sinteza.



Slika 1: SEM posnetek nanovlaken izdelanih z ES

2.2 Elektrostatsko sukanje

2.2.1 Zgodovina

Proces uporabe elektrostatske sile za tvorbo sintetičnih vlaken je poznan že več kot 100 let. Ta proces, znan kot elektostatsko sukanje, uporablja izvor visoke napetosti za »injiciranje« naboja določene polarnosti v polimerno raztopino ali talino, ki nato pospeši proti zbiralu z nasprotno polarnostjo (14). Leta 1934 je Formhals patentiral postopek in napravo, ki je uporabljala električni naboj za izdelavo sintetičnih vlaken majhnega premera. Del naprave je bilo tudi zbiralo, na katero so se vlakna nalagala v iztegnjeni obliki. S to napravo je uspešno izdelal vlakna iz raztopine celuloznega acetata, raztopljenega v mešanici acetona in etanola (14, 6). Opisal je tudi izdelavo nanovlaken z več šobami hkrati ter patentiral kar nekaj metod in postopkov za izdelavo.

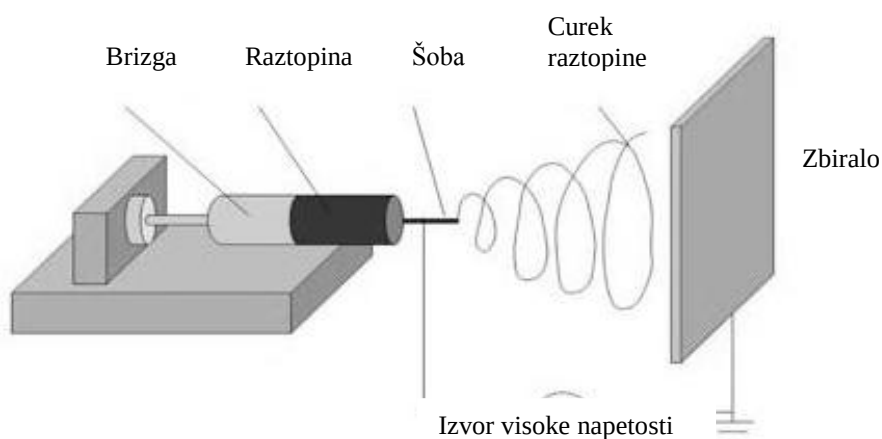
30 let za tem (leta 1969) je Taylor objavil študijo o nastanku curka raztopine iz šobe. Raziskoval je obnašanje kapljice na koncu šobe ob aplikaciji električnega polja. V rezultatih je opisal, kako se kapljica na koncu šobe oblikuje v stožec, danes imenovan Taylorjev stožec, ko se površinska napetost izenači z elektrostatskimi silami (14, 15). Opazoval je tudi curek in ugotovil, da curek nastaja z vrha stožca, zato je mogoče izdelati vlakna manjšega premera, kot pa je premer šobe.

Kmalu po objavi Taylorjevih študij se je pojavilo večje zanimanje za razumevanje razmerja med individualnimi procesnimi parametri in strukturnimi lastnosti izdelanih nanovlaken. Leta 1971 je Baumgarten začel raziskovati vpliv procesnih parametrov (napetosti, pretoka, razdalje od zbiralca) in vpliv raztopine (prevodnost, viskoznost) na

izdelavo vlaken. Njegove študije so nato nadaljevali številni raziskovalci in bilo je le še vprašanje časa, kdaj bo razvoj pripeljal do točke, ko so začeli raziskovati uporabo nanovlaken na biomedicinskem področju.

2.2.2 Osnove elektrostatskega sukanja

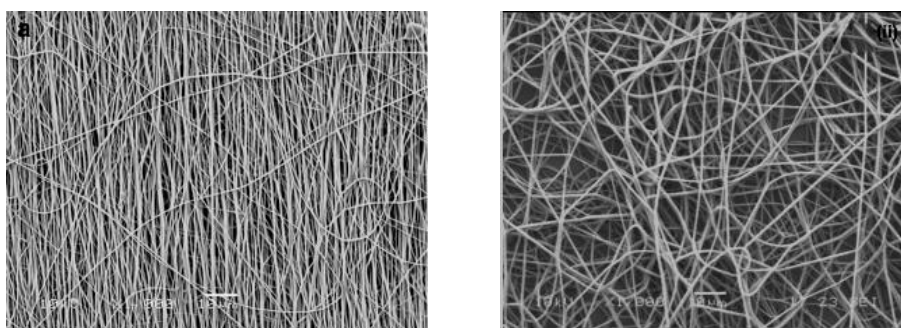
Elektrostatsko sukanje je proces izdelave nanovlaken, pri katerem s pomočjo elektrostatske sile tvorimo nabiti curek polimerne raztopine, ki potuje iz šobe proti zbiralu. Med potjo topilo iz curka izhlapeva, izdelana nanovlakna pa se zberejo na zbiralu (6, 14, 15). Osnovna naprava za elektrostatsko sukanje je sestavljena iz treh osnovnih delov; kapilare oz. šobe (iz katere teče raztopina, ki se pod napetostjo oblikuje v curek), generatorja visoke napetosti s pozitivno ali negativno polarnostjo (ta uvede oz. »injicira« naboj v raztopino) in ozemljenega zbirala (slika 2).



Slika 2: Osnovna naprava za elektrostatsko sukanje

Polimerno raztopino v brizgi, v procesu elektrostatskega sukanja, avtomatska črpalka potisne skozi iglo ali šobo. S črpalko je možno natančno nastaviti pretok raztopine skozi šobo. Črpalko lahko nadomesti tudi gravitacijska sila (če je brizga nameščena navpično), ali potisni plin. Na kovinsko šobo je pritrjena elektroda, ki je povezana z izvorom visoke napetosti. V primeru, da šoba ni narejena iz prevodnega materiala, pa je lahko elektroda potopljena neposredno v polimerno raztopino.

Zbiralo, na katerem se nabirajo izdelana nanovlakna, je ponavadi folija iz različnih kovin (aluminij, baker), vendar pa so vlakna, zbrana na takem zbiralu, naključno orientirana. Za zbiranje urejenih vlaken se uporablja rotacijsko zbiralo ali dve elektrodi, ki omogočata da se vlakna uredijo oz. zložijo usmerjeno (slika 3). V vseh primerih mora biti zbiralo ozemljeno ([14](#), [15](#)). Uporabljajmo lahko tudi neprevodna zbirala, vendar je gostota nanovlaken na takem zbiralu manjša in posledično je večja poroznost mreže vlaken, ki se naberejo na neprevodnem zbiralu. To naj bi bila posledica tega, da prevodna zbirala razpršijo preostali naboj na nanovlaknih, neprevodna zbirala pa nimajo te sposobnosti. To povzroči, da se nanovlakna, zaradi velike vsebnosti istovrstnih nabojev, odbijajo in zato je mreža vlaken na zbiralu manj gosta in bolj porozna ([14](#)).



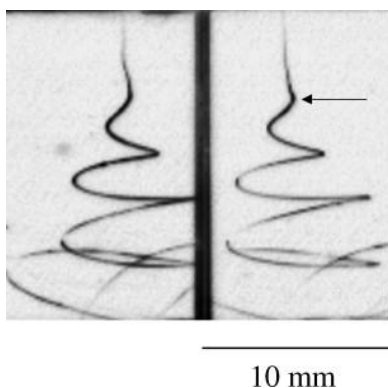
Slika 3: Levo: orientacija vlaken zbranih z rotacijskim zbiralom; desno: orientacija vlaken zbranih na zbiralu iz aluminija (oboje PCL) ([14](#))

Ko prižgemo črpalko in nastavimo želen pretok, se na koncu šobe tvori viseča kapljica. Ob priključitvi generatorja visoke napetosti, ki je povezan s šobo preko elektrode, v raztopino vnesemo naboj. Z večanjem električne napetosti na izvoru visoke napetosti narastejo elektrostatske privlačne sile (ki vlečejo curek do zbiralala) in pa tudi odbojne sile med istovrstnimi naboji v polimerni raztopini. Ko je napetost dovolj velika, hkrati pa tudi elektostatske privlačne sile dovolj narastejo, se površina kapljice na robu igle preoblikuje iz okroglega meniskusa v stožec, imenovan Taylorjev stožec. Ob nadaljnjem povečanju napetosti se iz vrha Taylorjevega stožca tvori curek, ki pospeši proti ozemljenemu zbiralu. Curek je na začetku raven, kmalu po tem pa postane nestabilen, zato se poveča čas prehoda do zbiralala in podaljša se tudi pot curka do zbiralala (slika 4). Na curek deluje vrsta različnih sil, ki povzročijo to nestabilnost ([6](#), [24](#), [14](#), [15](#), [16](#), [17](#)):

- Gravitacijska sila zaradi teže tekočine oz. curka

- Viskoelastična sila, ki preprečuje raztegnitev curka
- Elektrostatska privlačna sila, ki vleče curek do zbirala
- Elektrostatska odbojna sila med enako nabiti delci tekočine
- Površinska napetost, ki tudi preprečuje raztegnitev curka
- Vlečna sila zaradi upora med curkom in okoliškim zrakom

Med potovanjem curka topilo iz curka polimerne raztopine izhlapeva, tako da se na zbiralu naberejo trdna nanovlakna. Nestabilnost, ki je posledica zgoraj naštetih sil, ki med potovanjem delujejo na curek, posledično vpliva tudi na proces izhlapevanja topila in s tem tudi na debelino vlaken. Kljub temu je ta razlaga molekularnega dogajanja raztopine med elektrostatskim sukanjem le ena izmed možnih razlag, kajti mehanizem celotnega procesa še vedno ni popolnoma raziskan.



Slika 4: Posnetek nestabilnosti curka med potovanjem od šobe do zbirala (18)

2.2.3 Elektrostatsko sukanje z enostavno šobo

Elektrostatsko sukanje z enostavno šobo zahteva le naslednje komponente naprave; brizgo s kovinsko šobo oz. iglo iz nerjavečega jekla, ki je pritrjena na brizgo, črpalko, na katero je pritrjena brizga, izvor visoke napetosti ter zbiralo, ki je ponavadi folija iz aluminija. Kovinska igla oz. šoba je votla, njen notranji premer znaša od 400 mikrometrov do več kot enega milimetra. Kateri premer izberemo je največ odvisno od raztopine. Elektrostatsko sukanje z enostavno šobo nam omogoča izdelavo enostavnih homogenih nanovlaken. Ker lahko pri enostavnem elektrostatskem sukanju uporabljamo samo eno raztopino, je tudi manj spremenljivk, ki vplivajo na izdelavo, obliko in premer nanovlaken. Omogoča nam relativno enostavno določitev procesnih spremenljivk kot so; napetost, pretok raztopine in razdalja od šobe do zbirala. Ti podatki nam lahko služijo kot osnova bolj zapletenemu elektrostatskemu sukanju s koaksialno šobo, kjer imamo zaradi, dveh ali več raztopin,

znatno večje število procesnih spremenljivk. Osnovo za njihovo določitev pa nam največkrat predstavljajo ravno rezultati, ki jih dobimo z uporabo enostavne šobe.

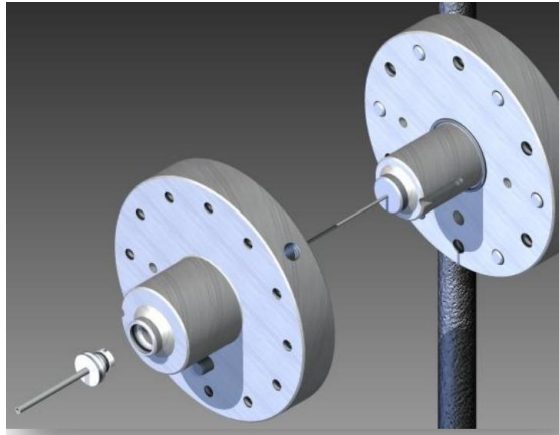
Glavni prednosti sistema sta enostavnost in cena, saj omogočata izdelavo nanovlaken brez posebnih visokotehnoloških naprav. Ker pa lahko vsaka šoba proizvaja le en curek polimerne raztopine, ima sistem zelo majhno produktivnost (manj kot 300 mg/uro na posamezno šobo), zato se je pojavil problem, kako to tehnologijo in proizvodnjo nanovlaken razširiti na raven industrijske proizvodnje (19). Glavna strategija pri prenosu tehnologije na industrijsko raven je bila povečanje števila šob in različne modifikacije z večjim številom šob (slika 5), kar pa zahteva zelo veliko prostora in previdnega načrtovanja postavitve teh šob, kajti zaradi močnega naboja, ki ga nosi curek v sebi, se sosednji curki med seboj odbijajo, kar se odraža v neenakomernem odlaganju vlaken.



Slika 5: Primera modificiranih naprav z večjim številom šob (20)

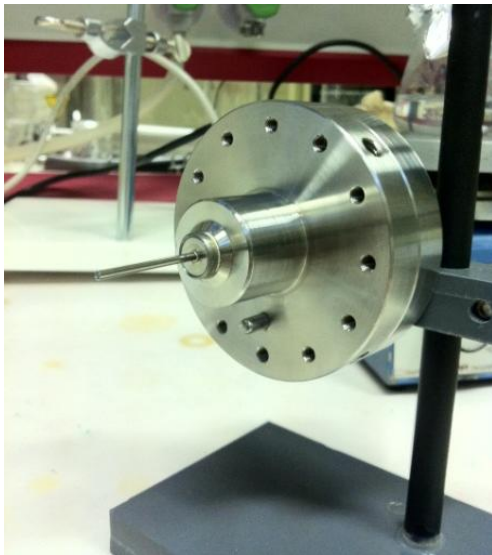
2.2.4 Koaksialna šoba

Elektrostatsko sukanje s koaksialno šobo je za razliko od enostavnega elektrostatskega sukanja bolj napreden in modificiran sistem. Omogoča izdelavo večplastnih nanovlaken. Osnovne komponente naprave še vedno ostajajo enake, največja sprememba je v šobi oz. igli, ki ima znotraj kapilare, z večjim premerom, koncentrično vstavljeno kapilaro z manjšim premerom (slika 6, 7A in 7B). Možne so tudi modifikacije s tremi ali več kapilarami, vendar je uporaba teh sistemov zaradi velike kompleksnosti veliko manjša.

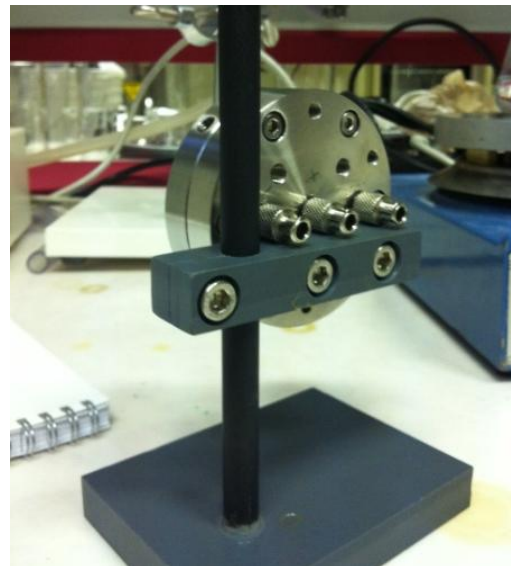


Slika 6: Shema koaksilane šobe s katero smo izdelovali nanovlakna

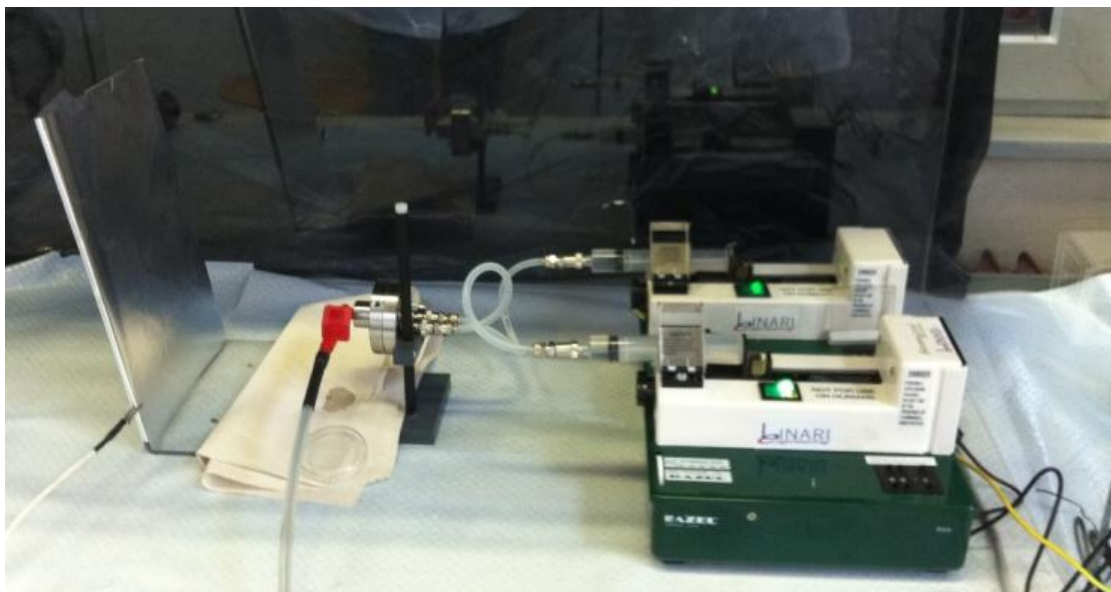
Slika 7A



Slika 7B



Slika 7C

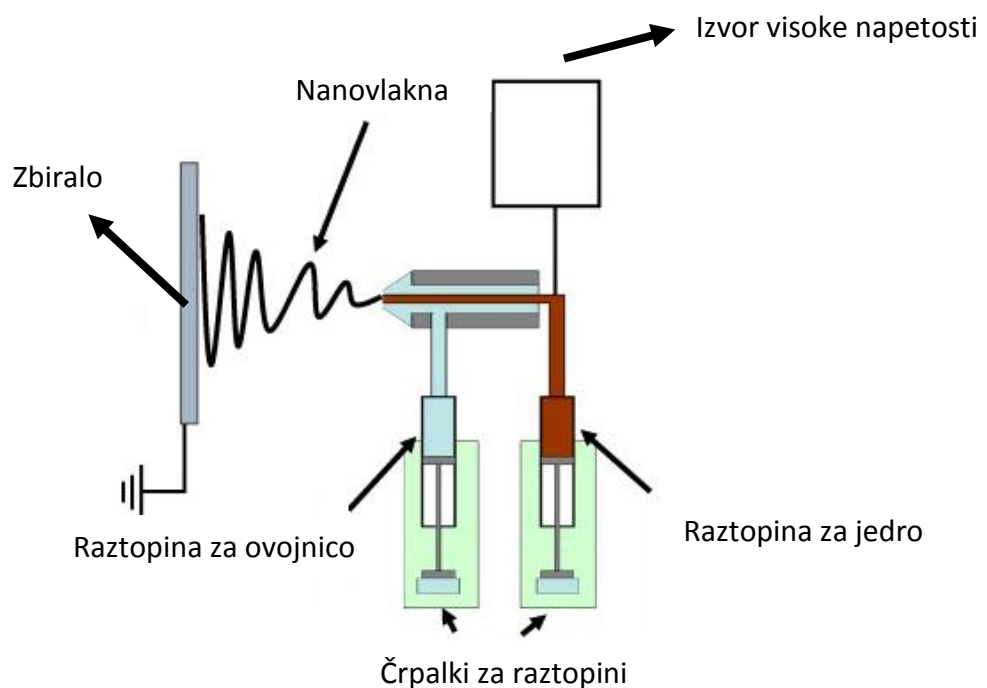


Slika 7A: Koaksilna šoba z dvema kapilarama, s katero smo izdelovali nanovlakna

Slika 7B: Zadnja stran koaksialne šobe – vidni priključki po Luerju

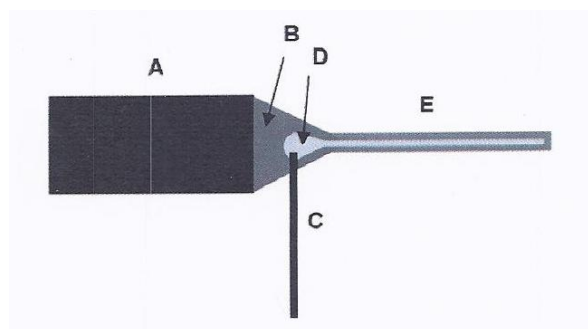
Slika 7C: Postavljen sistem za ES s koaksilano šobo, s katerim smo izdelovali vlakna

Najpogostejši je zgoraj opisani sistem šobe z dvema kapilarama. Vsaka kapilara ima na zadnji strani šobe ločen priključek za dovod raztopine za jedro in ovojnico. Raztopini se lahko dovajata v šobo s pomočjo gravitacije, v primeru vertikalne postavitve ali, kot je najbolj pogosto, s pomočjo dveh črpalk in dveh brizg, v primeru horizontalne postavitve (slika 7C in 8) (13). Črpalke omogočata natančno kontrolo pretoka raztopine in s tem tudi vplivata na samo izdelavo vlaken. Priključek za raztopino na zadnji strani šobe imata ponavadi nastavka po Luerju (slika 7B), kajti ta standardni nastavek je zelo pogost v medicini in omogoča enostaven in hiter priključek brizg z raztopinami in šobe. Šoba je z brizgami povezana s cevema, na koncu katerih so nastavki za priključek po Luerju. Šoba in kapilare so v celoti narejeni iz nerjavečega jekla, prav tako tudi vijaki. Omogočajo popolno razstavitev delov šobe in s tem olajšajo čiščenje in zamenjavo delov.



Slika 8: Shema sistema s koaksialno šobo za izdelavo nanovlaken.

Wang in sodelavci pa so v študiji predstavili tudi bolj enostavno napravo za izdelavo dvoplastnih nanovlaken, ki sestoji iz dveh brizg s kapilarami oz. iglami različnih velikosti, pri čemer je manjša brizga pozicionirana pravokotno na večjo, kapilara manjše brizge pa je vstavljena v sredino Taylorjevega stožca, ki nastane pri izhodu raztopine iz večje kapilare (slika 9) (13).

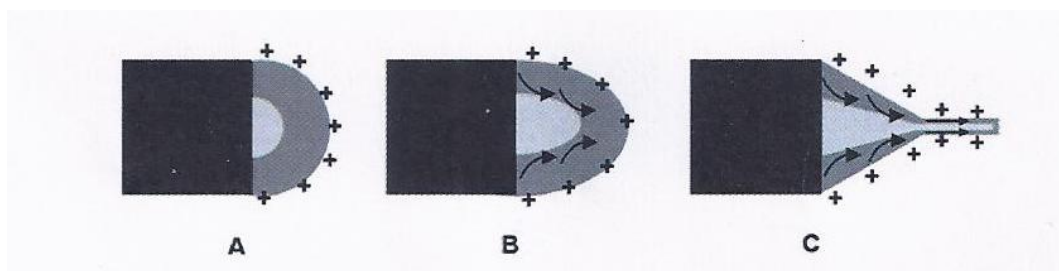


Slika 9: Enostavnejša naprava za izdelavo dvoplastnih nanovlaken, ki jo je predstavil Wang s sodelavci (13). A: večja kapilara v kateri je raztopina ovojnice; B: Taylorjev stožec raztopine ovojnice; C: manjša kapilara v kateri je raztopina jedra in je vstavljena

neposredno v Taylorjev stožec raztopine jedra; D: Taylorjev stožec raztopine jedra; E: dvoplastni curek

2.2.5 Elektrostatsko sukanje s koaksialno šobo

Proces elektrostatskega sukanja s koaksilano šobo je zelo podoben tistemu z enostavno šobo, kjer s pomočjo generatorja visoke napetosti vnesemo naboj v obe polimerni raztopini. Naboj se pretežno akumulira na površju zunanje raztopine, ki prihaja iz zunanje kapilare koaksialne šobe. Viseča kapljica zunanje raztopine se po vklopitvi generatorja, zaradi delovanja elektrostatske privlačne sile in elektrostatskih odbojnih sil med enako nabitimi delci, podaljša in raztegne. Različne sile, ki delujejo na zunanjo raztopino povzročijo, da se notranja raztopina zaradi viskoznega vlečenja in kontaktnega trenja začne vleči (slika 10). To povzroči, da se notranja raztopina skupaj z zunanjo oblikuje in deformira v sestavljen stožec. V zunanji fazi sestavljenega stožca je raztopina, ki bo v oblogi dvoplastnih vlaken, v notranji fazi pa raztopina, ki bo v jedru dvoplastnih vlaken. Ko napetost, in s tem tudi elektrostatska sila, doseže določeno vrednost, se na koncu stožca z notranjo in zunanjo raztopino oblikuje sestavljen Taylorjev stožec, iz katerega izhaja koaksialni curek, ki potuje proti zbiralu.



Slika 10: Tvorba sestavljenega Taylorjevega stožca, iz katerega izhaja curek (A: naboj na površini zunanje raztopine, B: viskozni vlek notranje raztopine, ki ga povzroča zunanja raztopina, C: stabilen Taylorjev stožec) (13)

Dokler je, med procesom elektrostatskega sukanja, sestavljen Taylorjev stožec stabilen, se raztopina notranje faze enakomerno vgrajuje v oblogo iz raztopine zunanje faze, tako da skupaj tvorita dvoplastni curek nanovlaken, ki potuje proti zbiralu. Ta potujoči curek je med potovanjem do zbiralca izpostavljen enakim nestabilnostim in silam, kot pri curku z navadno šobo (13).

2.2.6 Procesne spremenljivke pri elektrostatskem sukanju s koaksialno šobo

Procesne spremenljivke oz. parametri pri elektrostatskem sukanju s koaksialno šobo so v osnovi podobni kot pri sukanju z navadno šobo, vendar je kompleksnost in število spremenljivk zaradi uporabe dveh ali več različnih materialov mnogo večja. Zaradi tega je izvedljivost izdelave dvoplastnih nanovlaken težja in zahteva več eksperimentalnega dela. Parametre v splošnem razdelimo na parametre uporabljenih raztopin in procesne parametre. Za uspešno izdelavo dvoplastnih nanovlaken je potrebno upoštevati vse spremenljivke, prav tako obstaja tudi možnost medsebojnega vpliva spremenljivk. Zato optimalna postavitev sistema za izdelavo vlaken zahteva veliko eksperimentalnega dela in optimizacij spremenljivk.

Parametri raztopin

a) *Koncentracija raztopin*

Pri enostavnem elektrostatskem sukanju se povečanje koncentracije polimerne raztopine navadno odraža v povečanju premera nanovlaken zaradi večje količine polimera (13). Podoben učinek je opazil tudi Zhang s sodelavci, ko so raziskovali izdelavo dvoplastnih nanovlaken, v kateri je ob nespremenjeni koncentraciji polimerne raztopine obloge, povečal koncentracijo polimerne raztopine jedra (21). Zvišanje koncentracije polimerne raztopine jedra, je pričakovano povzročilo povečanje premera notranje faze oz. jedra in posledično tudi celotnega premera nanovlaken.

b) *Klasična in medfazna reologija*

Pri procesu elektrostatskega sukanja s koaksialno šobo ima reologija zelo pomembno vlogo. Poleg klasične, ki zajema lastnosti raztopine v »bulk« fazi, zaradi velikega povečanja razmerja površina:volumen, med procesom elektrostatskega sukanja, ima zelo pomembno vlogo medfazna reologija, ki preiskuje obnašanje raztopine na medfazi raztopina – zrak. Pelipenko s sodelavci meni, da je interfacialna reologija bolj tesno povezana z uspešnostjo elektrostatskega sukanja, zato smo preiskovali tudi to (32).

Med najpomembnejšimi parametri ES, ki so zelo dobro raziskani, je klasična viskoznost. Pri procesu elektrostatskega sukanja s koaksialno šobo, zunanja raztopina oz. obloga deluje kot vodilo notranji raztopini oz. jedru in jo med procesom obda. Pri tem procesu je najbolj ključna viskoznost zunanje raztopine, ki mora biti dovolj velika, da viskoznostne sile polimerne obloge, ki delujejo na polimerno raztopino jedra, presežejo medfazno napetost med raztopinama. To omogoči nastanek stabilnega sestavljenega Taylorjevega stožca. Na

splošno velja, da mora biti polimerna raztopina zunanje faze sposobna sama tvoriti nanovlakna z metodo enostavnega elektrostatskega sukanja (22, 23). Raztopini notranje faze oz. jedra pa ni potrebno tvoriti nanovlakna pri navadnem elektrostatskem sukanju, kajti prekinitve curka jedra preprečuje ravno raztopina obloge in sicer preko dveh mehanizmov (23):

- deformacijska utrditev medfazne površine med obema raztopinama, ki se pojavi zaradi hitrega raztezanja raztopin med elektrostatskim sukanjem
- manjše delovanje površinskih sil na raztopino jedra zaradi odsotnosti stika z zrakom

Kljub manjšim omejitvam pa so, v nekaterih primerih, vseeno opazili prekinitve curka raztopine jedra, če je bila viskoznost premajhna. Zato mora raztopina, za uspešno vgradnjo v jedro dvoplastnih nanovlaken, vseeno imeti neko določeno minimalno viskoznost.

c) *Prevodnost raztopin*

Prevodnost raztopin prav tako v veliki meri vpliva na kakovost izdelanih vlaken. Raztopine z veliko prevodnostjo imajo večji površinski neto naboj oz. večjo gostoto naboja na površini. Površinska napetost in viskoelastična sila skušata površino curka med potovanjem zmanjšati na najmanjšo možno mero in preprečujeta raztegnitev curka, kar se kaže tudi v obliki vlaken, ki vsebujejo vozle. Elektrostatska odbojna sila, ki deluje med nabitimi delci, pa tej sili nasprotuje in skuša površino curka čim bolj povečati. Čim večja je prevodnost raztopine, tem večji je površinski neto naboj in s tem elektrostatska odbojna sila, ki deluje med delci. Posledica tega so nanovlakna z manjšim premerom (25, 13).

Razlika v prevodnosti polimernih raztopin jedra in obloge tudi vpliva na izdelavo nanovlaken. Večja prevodnost raztopine jedra povzroči, da ob uvedbi električnega polja povzroči večjo elektrostatsko silo in curek jedra hitreje povleče proti zbiralu. To povzroči nestabilnost curka, zato ne pride do popolnega vgrajevanja v oblogo. Večja prevodnost raztopine ovojnice, pa ne ovira procesa vgrajevanja raztopine jedra ampak v primeru večje prevodnosti se jedra raztopina v dvoplastnem vlaknu bolj raztegne in posledično je jedro dvoplastnih vlaken manjšega premera (23, 13).

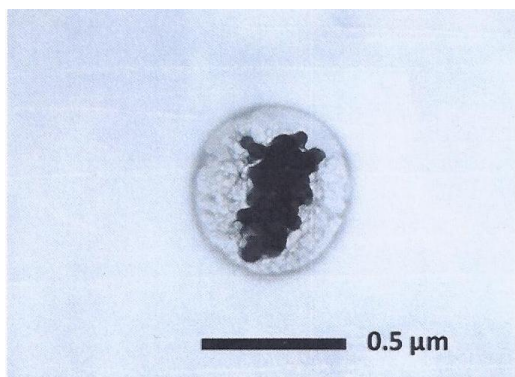
d) *Interakcija topil in mešanje*

Interakcije med raztopinami oz. topili jedra in obloge so eden izmed pomembnejših parametrov za izbiro topil in posledično uspešne izdelave dvoplastnih nanovlaken. Topili jedra in obloge ne smeta obarjati polimera obloge oz. jedra.

Medfazna napetost med raztopinama mora biti čim manjša, tako da se lahko tvori stabilen sestavljen Taylorjev stožec. Če pa je premajhna, pa je velika možnost, da ob stiku pride do mešanja obeh raztopin in neuspešne izdelave. Kljub temu, da je pri zelo majhni medfazni napetosti možnost za mešanje obeh raztopin zelo velika, so mnenja o tem deljena. V raziskavah so dokazali, da je možno uspešno izdelati dvoplastna nanovlakna tudi iz mešajočih ali enakih topil (13).

e) *Parni tlak in hlapnost topila*

Hlapnost topila, predvsem tistega uporabljenega v raztopini polimera jedra, ima lahko močan učinek na morfologijo izdelanih dvoplastnih vlaken. Li je v študiji ugotovil, da močno hlapna topila kot so aceton, kloroform in druga, v katerih je raztopljen polimer jedra, ustvarijo zelo tanko oblogo na stiku med notranjo in zunanjo raztopino. Ta plast povzroči, da se topilo raztopine jedra ujame v notranjost in posledično, zaradi novonastale bariere, difundira v zunanost zelo počasi. Ko vso ujeto topilo oddifundira iz izdelanih vlaken, se v notranjosti vlakna ustvari vakuum, ki povzroči, da se njegova struktura sesede (slika 11) (23, 13).



Slika 11: TEM posnetek strukturno sesedenih vlaken (13)

Topila z visoko hlapnostjo prav tako niso priporočljiva za raztapljanje polimera obloge, kajti zaradi hitrega izhlapevanja lahko povzročijo nestabilnost Taylorjevega stožca ali pa se pojavi več curkov iz stožca. To pa povzroči, da se jedro ne vgradi v oblogo in posledično neuspešen nastanek dvoplastnih nanovlaken.

Procesni parametri

a) Napetost izvora

Študija vpliva napetosti izvora na morfologijo nanovlaken, izdelanih s koaksilano šobo, ki sta jo izvedla Li in Xia (26, 13), je pokazala, da se z naraščanjem napetosti izvora manjša premer tako jedra, kot tudi obloge nanovlaken. Pokazali so, da se stabilen sestavljen Taylorjev stožec, ki omogoča neovirano vgrajevanje jedra v oblogo in s tem nastanek dvoplastnih nanovlaken, pojavi le v ozkem območju napetosti, imenovano območje kritične napetosti in ga je potrebno določiti eksperimentalno. Odvisna je od lastnosti uporabljenih raztopin polimerov.

Pri napetosti, ki je manjša od kritične se pojavi počasno kapljanje raztopin iz koaksilane šobe. Nastane tudi curek, ki večino časa prihaja le iz raztopine obloge, občasno pride tudi do vgradnje jedrne raztopine a izdelava dvoplastnih vlaken je vseeno neuspešna. Izkušnje kažejo, da zaradi velikega stožca na koncu šobe pride tudi do mešanja raztopin, če se uporabljene raztopine med seboj lahko mešajo.

Napetost, večja od kritične, povzroči, da se Taylorjev stožec začne zmanjševati, več ločenih curkov začne izhajati iz notranjosti kapilare. Raztopina jedra se ne vgradi v oblogo, namesto tega nastanejo heterogena vlakna z različnimi premeri.

b) Pretok raztopin

Na splošno velja, da pretok neposredno vpliva na premer jedra in obloge vlaken. To velja tudi za elektrostatsko sukanje z navadno šobo, vendar pa je razlika v tem, da sta pri koaksialni šobi dve raztopini in posledično dva pretoka, kar poveča kompleksnost sistema. Poročali so, da pri fiksnih vrednostih zunanjega pretoka in ostalih procesnih spremenljivk, obstaja več različnih pretokov notranje raztopine jedra, pri katerih pride do stabilnega sestavljenega Taylorjevega stožca in uspešne izdelave dvoplastnih nanovlaken. Iz študije je bilo razvidno, da mora biti pretok notranje faze dovolj velik, da zagotovi zadosten masni pretok raztopine. Če je pretok premajhen, ni na voljo zadostne količine notranje raztopine za uspešno in kontinuirano vgradnjo v oblogo. Če pa je pretok notranje faze prevelik, se vsebnost raztopine jedra v sestavljenem Taylorjevem stožcu poveča do te mere, da viskozni vlek, ki ga povzroči raztopina obloge, ni dovolj učinkovit, da bi omejil količino notranje raztopine v sestavljenem Taylorjevem stožcu. To povzroči nestabilnost notranjega stožca, ta pa pripelje do mešanja obeh raztopin.

Tako na splošno velja, da mora biti pretok notranje raztopine manjši kot pretok zunanje, ker ob prevelikem pretoku notranje faze zunanja raztopina ni sposobna enakomerno obdajati jedro (23, 13).

c) *Vpliv okolja*

Neposreden vpliv okolja na izdelavo in morfologijo vlaken je manjši od drugih spremenljivk, a vseeno ima velik posreden vpliv, kajti vpliva na druge spremenljivke procesa. Najpomembnejša sta temperatura in vlažnost. Višja temperatura posredno vpliva na viskoznost, ki jo zmanjša, posledica tega pa je zmanjšan premer nanovlaken. Če pa zaradi visoke temperature pride do prevelikega zmanjšanja viskoznosti, ta onemogoči izdelavo nanovlaken, ker viskoznostne sile polimerne obloge, ki delujejo na polimerno raztopino jedra, ne presežejo medfazne napetosti med raztopinama. Nastanek stabilnega sestavljenega Taylorjevega stožca je tako onemogočen. Drugi pomemben vpliv je relativna vlaga. Visoka vsebnost vlage v zraku povzroči da topilo, ki izhlapeva med potovanjem raztopine od šobe do zbirala, počasneje izhlapeva. Visoka vsebnost vlage v zraku tudi povzroči, da se izdelana nanovlakna hitreje razelektrijo posledično je odboj med njimi manjši in zaradi tega nastanejo tudi manjše pore (28).

2.3 Vrste nanovlaken

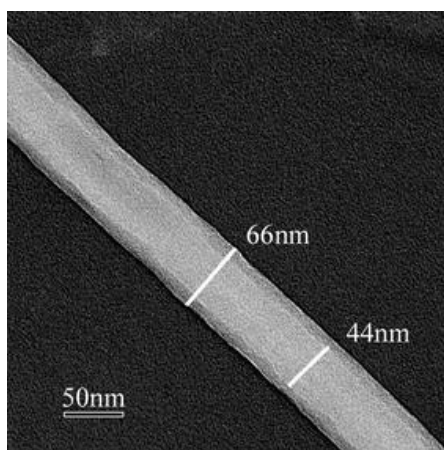
Obstaja več tipov nanovlaken, ki se razlikujejo glede na metode in naprave, s katerimi so izdelana. Najpreprostejša vlakna so enoplastna, ki jih lahko izdelamo s pomočjo enostavne šobe. Nastala struktura vlaken je homogena. Kompleksnejša večplastna vlakna, ki smo jih izdelali tudi mi, pa so sestavljena iz dveh ali več različnih plasti. Njihova sestava ni homogena, ampak so vlakna sestavljena iz dveh ali več plasti enakih ali različnih materialov. Največja prednost teh vlaken je v tem, da omogočajo združevanje lastnosti materialov, ki so lahko med seboj tudi le deloma ali celo nekompatibilni.

2.3.1 Večplastna nanovlakna

Večplastna nanovlakna, izdelana z elektrostatskim sukanjem s koaksialno šobo, omogočajo doseganje edinstvenih lastnosti materiala, izdelanega iz različnih komponent, ki ga je težko proizvesti z elektrostatskim sukanjem le posamezne komponente. Ta pristop lahko razumemo kot kombiniranje različnih materialov, le da materiali ohranijo svoje ločene identitete. Ko pa tvorijo nov material, v našem primeru dvoplastna nanovlakna, pa s tem omogočimo, da en material nadomesti pomanjkljivosti drugega in obratno. Tako dobimo

povsem nove strukture z lastnostmi, ki jih ne moremo doseči samo z izdelavo struktur s posamezno komponento.

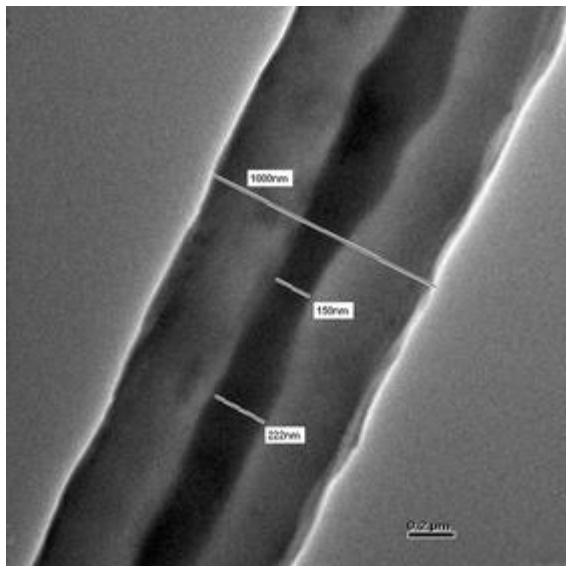
Kot primer večplastnih vlaken, ki se pojavljajo v naravi, je najbolj pogosta svila z izjemnimi mehanskimi lastnostmi, ki jo proizvaja pajek (12). Najpogosteje so večplastna nanovlakna izdelana iz dveh plasti, možna pa je tudi izdelava iz treh ali več plasti, a zaradi velike kompleksnosti in števila procesnih parametrov je izdelava takih vlaken zelo težavna. Študije izvedljivosti proizvodnje takih struktur z metodo elektrostatskega sukanja s koaksialno šobo je prvi izvedel Sun. Dvoplastna nanovlakna je najprej izdelal z uporabo istega polimera PEO (2 % ali 3 % polietilenoksid), ki ga je raztopil v mešanici vode in etanola. Zunanji in notranji fazi je nato dodal bromofenol različnih koncentracij (0,2-2 wt %), s čimer je dosegel optični kontrast, kar je omogočilo, da se plasti vidijo pod transmisijem elektronskim mikroskopom (slika 12) (12).



Slika 12: TEM posnetek izdelanih dvoslojnih nanovlaken iz PEO (12)

V naslednjem poizkusu pa je Sun izdelal dvoplastna vlakna (slika 13) iz raztopin polimerov PEO (2 % PEO v kloroformu) kot zunanja faza oz. ovojnica in PDT (polidodeciltiofen) (1 % v kloroformu), kot notranja faza oz. jedro. Posebnost vlaken je bila v tem, da nanovlaken polimera PDT z metodo navadnega elektrostatskega sukanja ni bilo mogoče izdelati zaradi njegove nizke molekulske mase. Kljub temu, da nanovlaken iz samega polimera PDT ni bilo mogoče izdelati, se je uspešno vgradil v notranjo fazo dvoplastnih vlaken. Ovojnica iz PEO je tako služila kot matrica oz. predloga za uspešno formacijo PDT nanovlaken (12). Uspešno je izdelal tudi nanovlakna, pri katerih je za zunanjo fazo oz. ovojnico uporabil 3 % PLA (polimlečna kislina) v kloroformu, za notranjo fazo oz. jedro pa 5 % raztopino kovinske soli $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ v tetrahidrofuranu. Po

izdelavi so bila vlakna 2 uri žarjena pri temperaturi 170 °C. S tem so povzročili pretvorbo $\text{Pd}(\text{OAc}_2)$ v Pd in končni izdelek so bila nanovlakna z vgrajenim elementarnim paladijem (12, 13).



Slika 13: TEM posnetek PEO (v ovojnici) in PDT (v jedru) dvoplastnih nanovlaken (9)

Nekateri materiali nimajo lastnosti za uspešno izdelavo nanovlaken. Razlog za to je najpogosteje majhna molekulska masa, neustrezna molekularna razporeditev, omejena topnost ali neustrezne viskoelastične lastnosti (13).

Iz poizkusov, ki jih je naredil Sun, je razvidno, da kljub temu, da iz materiala, iz katerega se z navadnim elektrostatskim sukanjem ne da izdelati nanovlaken, jih lahko s pomočjo koaksilane šobe izdelamo. Zunanja raztopina služi kot matrica notranji raztopini in tako se oblikujejo nanovlakna materialov, ki jih ne moremo izdelati z navadnim elektrostatskim sukanjem. Ovojnico nato lahko z določenim topilom odstranimo in tako dobimo čista nanovlakna notranje faze. Pogoj za to metodo pa je ta, da mora imeti polimer ovojnice oz. zunanje faze določeno, dovolj veliko viskoznost, in mora, z uporabo navadne šobe, tvoriti nanovlakna (13).

2.4 Uporaba nanovlaken

2.4.1 Nanovlakna v tkivnem inženirstvu

Tkivno inženirstvo je nastajajoče interdisciplinarno področje, ki uporablja principe bioloških, kemijskih in inženirskih znanosti z namenom regeneracije človeških tkiv.

Pristop tkivnega inženirstva je izkoristiti biološke materiale celice in dejavnike (samostojno ali v kombinacijah) z namenom ponovne vzpostavitve funkcije, vzdrževanja in obnove tkiva. Strategija temelji na izolaciji zdravih celic bolnika, ki jih zasadijo in izpostavijo pogojem, ki jim omogočajo rast in vitro (1, 2). Ko se celice namnožijo do določene mere, jih prenesejo na tridimenzionalni biološko razgradljiv skelet oz. matrico, ki zagotavlja strukturno podporo pri nadaljnji rasti in služi tudi kot zbiralnik biološko aktivnih molekul (npr. rastni faktorji), ki jih celice potrebujejo za rast.

Skelet je sestavljen iz nanovlaken, narejenih iz naravnega (želatina, hitosan), ali sinteznega biokompatibilnega in biološko razgradljivega polimera. Ponavadi so sintetični polimeri hidrofobn in nimajo specifičnih kemijskih skupin, ki bi omogočale hitrejšo adhezijo celic in njihovo proliferacijo (4). Zato so ponavadi sintetični polimeri, ki imajo boljše mehanske lastnosti, obloženi z naravnimi polimeri kot je želatina ali hitosan. Ti omogočajo vezavo oz. adhezijo celic, ker vsebujejo specifična aminokislinska zaporedja, ki jih celice prepoznajo. Zato biokompatibilen skelet iz nanovlaken v primerjavi z navadnim poroznim polimernim filmom, omogoča boljšo pritrditev celic na skelet in s tem tudi hitrejšo rast. Skelet se sčasoma razgradi in nadomesti z novim tkivom zasajenih celic (1, 3).

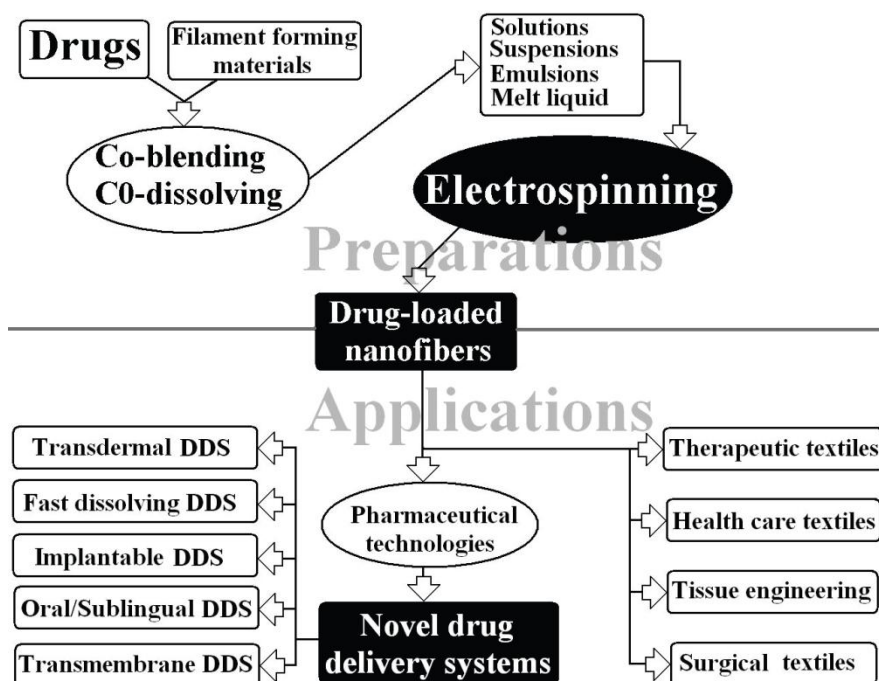
Nanovlakna so zaradi svoje strukture poleg skeleta za tkivne nadomestke zanimiva tudi kot nadomestki za žile, mišice, hrustanec in druga tkiva, kajti na mikroskopskem nivoju so vse te strukture organizirane v obliki vlaken, ki se združujejo v snope.

2.4.2 Nanovlakna kot dostavni sistem zdravilnih učinkovin

Nanovlakna se v zadnjem času vse več raziskujejo kot dostavni sistem za zdravilne učinkovine pri različnih boleznih (slika 14). Želene lastnosti, ki naj bi jih imela nanovlakna kot dostavni sistem so: možnost prirejenega sproščanja učinkovine s čim bolj konstantno hitrostjo v čim daljšem intervalu, možnost sproščanja učinkovine le na tarčnem delu telesa (ciljano zdravljenje), prehodnost skozi le določene membrane oz. bariere ter zaščita učinkovine pred razpadom v primeru sistemske aplikacije (npr. zaščita učinkovine pred razpadom v krvnem obtoku). Za razliko od drugih nano dostavnih sistemov, kot so liposomi, nanodelci in mikrodenci, pri katerih na začetku raztapljanja pride do t.i. »burst« efekta, kar pomeni izredno hitro porast koncentracije učinkovine na začetku raztapljanja, se lahko z uporabo določenih formulacij nanovlaken izognemo temu efektu.

Z uporabo različnih polimerov, tehnik elektrostatskega sukanja in formulacij, lahko pripravimo nanovlakna, ki omogočajo takojšnje, zakasnjeno, pulzirajoče ali prirejeno

sproščanje (6). V vlakna lahko vgradimo različne učinkovine kot so antibiotiki, proteini, protitumorne učinkovine in še mnogo drugih. Ravno zaradi specifičnih lastnosti, lahko nanovlakna omogočijo dostavo učinkovin na mesta, ki jih z drugimi farmacevtskimi oblikami ne moremo doseči.



Slika 14: Uporaba in priprava nanovlaken kot dostavnega sistema zdravilnih učinkovin (15)

Z uporabo različnih biološko razgradljivih ali nerazgradljivih polimerov lahko nadzorujemo sproščanje učinkovine, ki lahko poteka z difuzijo samo (pri biološko nerazgradljivih polimerih hitrost difuzije omejuje poroznost oz. velikost por nosilca) ali skupaj z razpadom skeleta oz. nosilnega sistema učinkovine (pri biološko razgradljivih sistemih) (14, 10). Najbolj pogoste tehnike izdelave nanovlaken, ki vsebujejo zdravilno učinkovino nam omogočajo različne profile sproščanja. Nanovlakna, kot dostavni sistem, ki vsebuje zdravilno učinkovino, lahko izdelamo z različnimi tehnikami glede na to kam in kako vgradimo zdravilno učinkovino (7, 8):

- adsorpcija zdravilne učinkovine na predhodno izdelana nanovlakna
- vgrajevanje zdravilne učinkovine v nanovlakna (zdravilno učinkovino dispergiramo v raztopino polimera iz katere nato naredimo nanovlakna)

- izdelava večplastnih vlaken oz. vlaken tipa jedro-ovojnica s pomočjo koaksialne šobe (izdelava nanovlaken iz dveh ali več različnih polimerov, učinkovina je ponavadi v polimeru iz katerega nastane jedro večplastnih nanovlaken, ovojnica je ponavadi iz raztopine polimera in pogosto narekuje profil sproščanja)
- preplet nanovlaken učinkovine in nanovlaken polimera

Ena od glavnih prednosti nanovlaken pred drugimi dostavnimi sistemi je velika specifična površina. Ta omogoča, da lahko raztapljamo tudi slabo topne učinkovine (5), kajti v zadnjem času se je zaradi visoko ločljivostnega molekulskega rešetanja število potencialnih spojin vodnic izjemno povečalo in s tem posledično tudi število možnih nevodotopnih spojin. Zato danes predstavlja formulacija peroralnih oblik, ki vsebujejo slabo topno učinkovino, eno izmed najbolj zahtevnih izzivov v farmacevtski industriji. Zaradi postopka izdelave nanovlaken z elektrostatskim sukanjem, pri katerem med potjo curka med iglo in zbiralom, topilo zelo hitro izhlapeva, to onemogoči slabo topni učinkovini, da bi popolnoma kristalizirala, zato se določen delež te učinkovine nahaja v bolj topni amorfni obliki. S tem poleg vgrajevanja učinkovine v vlakna, ki imajo zelo veliko specifično površino, še dodatno povečamo topnost vgrajene učinkovine (10).

Velika prednost pri vgrajevanju učinkovin v nanovlakna je tudi ta, da postopek vgrajevanja v nanovlakna ne spremeni strukture učinkovin, ker le ta ni izpostavljena visokim temperaturam in organskim topilom, kar omogoča tudi, da v nanovlakna lahko vgradimo kompleksnejše in občutljive strukture kot so proteini, rastni faktorji ali bakterije (11). Uporaba elektrostatskega sukanja kot metode za izdelavo nanovlaken, zmanjša tveganje za nestabilnost in denaturacijo proteinov, ki se bodo sprostili iz nanovlaken. Nanovlakna lahko formuliramo tudi tako, da dobimo različne stopnje poroznosti in s tem tudi dosežemo prirejeno sproščanje vgrajenega proteina. Moreno je izdelal nanovlakna iz polivinil alkohola z metodo elektrostatskega sukanja s koaksialno šobo. V jedro dvoplastnih vlaken je vgradil encim laktat dehidrogenazo, vlakna nato namakal 24 ur v metanolu, s čimer je dosegel da se vlakna prečno premrežijo in s tem izboljšal njihovo strukturno stabilnost v vodi. Metanol izrine ostale molekule vodi in s tem omogoči, da PVA nanovlakna tvorijo vodikovo vez med seboj, namesto z vodnimi molekulami, kar izboljša njihovo strukturo. Sproščanje encima je testiral in vitro in izkazalo se je, da je z vgrajevanjem encima v nanovlakna dosegel podaljšano sproščanje (11).

3. NAMEN DELA

Namen dela te diplomske naloge je postavitve sistema za elektrostatsko sukanje s koaksilano šobo, izbira ustreznih polimernih raztopin, določitev njihovih parametrov, elektrostatsko sukanje izbranih polimernih raztopin, določitev glavnih procesnih spremenljivk za uspešen nastanek dvoplastnih nanovlaken ter izdelava dvoplastnih nanovlaken s tartrazinom. S to metodo bomo poskušali tudi doseči prirejeno sproščanje tartrazina iz izdelanih nanovlaken.

Na podlagi informacij in podatkov, ki smo jih pridobili iz objavljenih člankov in raziskav, ter glede na to, da na fakulteti nanovlaken s koaksialno šobo še niso izdelovali, smo se odločili, da bomo uporabili polimer PVA v različnih koncentracijah za notranjo in zunanjo fazo. Za ta polimer smo se odločili, ker je na fakulteti dokaj dobro raziskan, poleg tega so z njim že uspešno pripravili nanovlakna z enostavno šobo.

Odločili smo se, da bomo za izdelavo uporabili 12 % in 8 % raztopino PVA v različnih fazah ter z ali brez tartrazina. Za tako koncentracijo raztopin smo se odločili, ker med 12 % in 8 % raztopino PVA obstaja določena medfazna napetost, ki je potrebna za uspešno izdelavo vlaken. Raztopinam bomo določili reološke lastnosti, prevodnost ter opredelili lastnosti, ki jih morajo imeti raztopine zunanje in notranje faze za uspešen nastanek vlaken s koaksilano šobo.

Izdelana vlakna bomo morfološko okarakterizirali s pomočjo vrstičnega elektronskega mikroskopa. Določili bomo tudi debelino oz. velikost izdelanih vlaken.

V zadnji fazi diplomske naloge pa bomo skušali izdelati dvoplastna nanovlakna iz PVA, pri katerih bomo v notranjo fazo vgradili barvilo tartrazin ter poskušali z izdelavo doseči prirejeno sproščanje tartrazina iz nanovlaken. Koncentracijo sproščenega tartrazina bomo merili sprektrofotometrično, na koncu pa primerjali profile sproščanja iz nanovlaken, izdelanih z navadno šobo in dvoplastnih nanovlaken, izdelanih s koaksialno šobo.

4. MATERIALI IN METODE

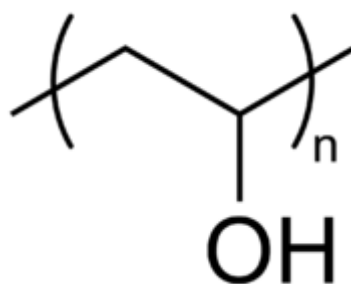
4.1 Materiali

Polimeri in topila:

- prečiščena voda
- fosfatni pufer s pH 6,5:
 - reagenti za pripravo pufra:
 - kalijev hidroksid
 - kalijev dihidrogenfosfat
 - prečiščena voda
- polivinil alkohol - Mowiol[®] 20-89 mw 125.000 Sigma Aldrich Chemie GmbH, Nemčija,
- tartrazin – T0388-100G000 Sigma Aldrich Chemie GmbH, Nemčija

4.1.1 Polivinil alkohol

Polivinil alkohol – PVA (slika 15), je vodotopni sintetični polimer. Najpogosteje je v obliki granuliranega praška, ki je brez vonja, okusa ter bele ali kremaste barve. Raztopina pa je prosojna. V vodi je zelo dobro topen. pH 5% vodne raztopine PVA je v območju 5,0 – 6,5, tališče pa ima pri temperaturi 180 do 190 °C. Njegova molekulska masa je ponavadi med 26.300 in 30.000, stopnja hidrolize polivinil acetata pa je od 86,5 % do 89 % (28).



Slika 15: Strukturna formula popolno hidroliziranega PVA

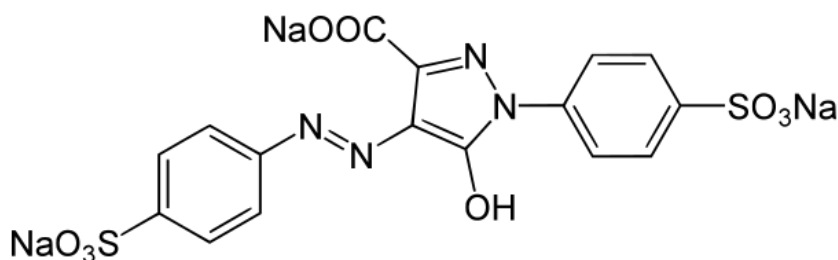
PVA sta prvič sintetizirala Hermann in Haehnel leta 1924 in sicer s hidrolizo polivinil acetata v etanolu z dodatkom kalijevega hidroksida. Danes industrijska proizvodnja poteka v kontinuiranem procesu iz polivinil acetata. Acetatne skupine estra polivinil acetata ob prisotnosti natrijevega hidroksida hidrolizirajo in tako nastane popolno hidroliziran PVA.

Stopnja hidrolize je določena s časom, pri katerem je reakcije saponifikacije ustavljena. Precipitiran PVA se nato spere in posuši.

PVA se v farmaciji in prehranski industriji uporablja kot vezivo in obloga. V farmaciji se največ uporablja kot filmska obloga tablet, kapsul in drugih trdnih farmacevtskih oblik, z namenom zaščite učinkovin in pomožnih snovi pred vlago, kisikom in drugimi vplivi okolja. Hkrati je tudi maskirno sredstvo, kajti obloga nima ne vonja ne okusa, zato lahko obložimo tablete z učinkovinami slabega okusa, in ga tako prikrijemo. Filmska obloga tablete tudi zmanjša trenje na površini, kar omogoča lažje požiranje (28).

4.1.2 Tartrazin

Tartrazin (slika 16) je azo barvilo s kemijsko formulo $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ in molekulsko maso 534.36 g/mol. Njegovo polno ime je trinatrijeva sol 3-karboksil-5-hidroksi-1-(4'-sulfofenil)-4-(4'-sulfofenilazo) pirazola. Je dobro topen v vodi in zmerno v etanolu.



Slika 16: Strukturna formula tartrazina

Tartrazin nam je pri preizkusu sproščanja iz izdelanih dvoplastnih nanovlaken služil kot modelna spojina. Namesto zdravilne učinkovine smo v nanovlakna vgradili tartrazin, ki se pri testu sproščanja sprosti iz nanovlaken v pufer. Koncentracijo sproščenega tartrazina lahko določimo spektrofotometrično, saj dobro absorbira pri 427 nm. Z odvzemom vzorcev topila v določenih časovnih točkah in meritvijo absorbance pri 427 nm, lahko nato določimo profil sproščanja.

4.2 Naprave

- magnetna mešala z vgrajenimi grelci znamke IKA, model RCT basic, Nemčija ter ROTAMIX, model 560 MMH, Slovenija
- laboratorijska tehtnica znamke KERN, model FB, Nemčija
- analitska tehtnica znamke Mettler toledo, model xs205 dual range, Nemčija
- Sistem za elektrostasko sukanje s koaksilano in navadno šobo:
 - 2 črpalki (znamke Razel TM; model R-99E, Italija)
 - generator visoke napetosti (znamke Linari Engineering s.r.l.; model HVG-P60-R-EU, Italija)
 - kovinska igla oz. šoba z notranjim premerom 0,8 mm (znamke Linari Engineering s.r.l., Italija)
 - koaksilna šoba s koncentričnimi iglami, notranja s premerom 0,51 mm, zunanja s premerom 1,37 mm (znamke Linari Engineering s.r.l., Italija)
 - zbiralo (stojalo iz plastične mase, na katerega je pritrjena aluminijasta folija)
- naprava za merjenje površinske napetosti (znamka Kruss – processor tensiometer; model K12-MK5, Nemčija)
- modularni oscilacijsko rotacijski reometer (znamka Anton Paar; model Physica MCR 301, Avstrija)
- merilec prevodnosti (znamka Iskra; model MA 5964 – konstanta celice elektrode $0,8709\text{ cm}^{-1}$, Slovenija)
- spektrofotometrični čitalec mikrotitrskih plošč (znamka Tecan; model Safire, Švica)
- stresalnik (znamka Vibramix; model 403 EVT, Nemčija)
- vrstični elektronski mikroskop (znamka Zeiss, model SEM Supra 35 VP, Nemčija)
- električna konvekcijska peč (znamka Elektromedicina; model SE-02, Slovenija)
- obojestranski prevodni lepilni trak s premerom 12 mm (proizvajalec Oxon, Oxford instruments, Velika Britanija)
- mikrotitrne plošče - 96 well plate (proizvajalec TPP, Švica)
- drugi drobni inventar (čase, erlenmajerice, bučke, pincete, krovna stekelca, 96-well plate, pipete)

4.3 Postopki in metode

4.3.1 Priprava raztopin polimerov

Pri izdelavi nanovlaken s koaksilano šobo smo uporabljali polimerni raztopini PVA v destilirani vodi v koncentracijah 12 % m/m in 8 % m/m. Za primerjavo smo naredili tudi vlakna z enostavno šobo iz polimernih raztopin PVA enakih koncentracij. Pri izdelavi nanovlaken, v katere smo vgradili barvilo tartrazin, smo pred elektrostatskim sukanjem v raztopino polimera dodali 10 % m/m tartrazina na maso polimera.

Raztopine PVA smo vedno pripravljali po enakem postopku. Najprej smo izračunali maso polimera, ga natehtali v čolniček, v erlenmajerico pa izračunano količino prečiščene vode. Polimer smo ob intenzivnem mešanju stresli v erlenmajerico, da se je homogeno porazdelil. Erlenmajerico smo nato pokrili z aluminijasto folijo, da smo preprečili izhlapevanje vode in ob segrevanju na 85 °C raztopino mešali približno 3 ure. Nato smo raztopine sobni temperaturi mešali še 24 ur, da je polimer dosegel končno točko nabrekanja. Priprava polimernih raztopin s tartrazinom, je bila enaka, le da smo po segrevanju polimera dodali še zatehtano količino tartrazina.

4.3.2 Vrednotenje raztopin polimerov

Površinska napetost

Površinsko napetost 8% in 10 % raztopine PVA z ali brez tartrazina, smo izmerili z napravo za merjenje površinske napetosti (Kruss, model K12-MK5, Nemčija). V posodico za raztopino smo nalili raztopino ter jo termostatirali na temperaturo 23 °C. Meritev smo izvedli z metodo ploščice, ki smo jo pred vsako meritvijo prežarili na plinskem gorilniku. Za vsak vzorec smo naredili 3 meritve iz katerih smo izračunali povprečje.

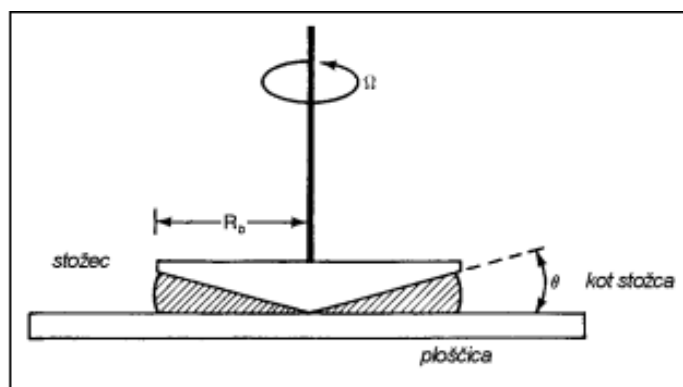
Prevodnost

Prevodnost raztopin smo izmerili s konduktometrom (Iskra, model MA 5964, Slovenija). Konstanta celice elektrode je znašala $0,8709 \text{ cm}^{-1}$. V raztopine smo potopili elektrodo konduktometra in na zaslonu odčitali prevodnost. Vsako meritev vzorcev smo izvedli v treh paralelkah in izračunali povprečje.

Klasična in medfazna reologija

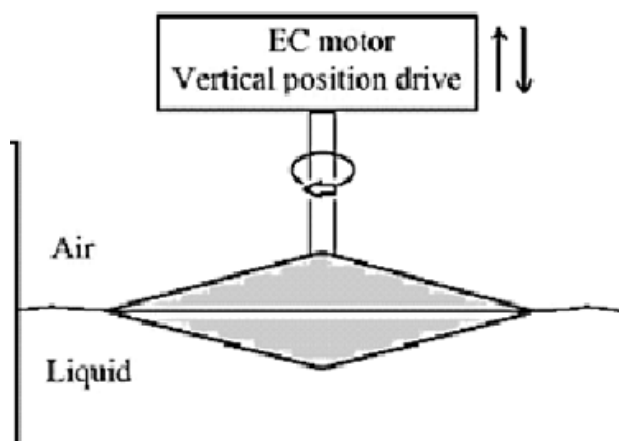
Reološke lastnosti raztopin smo določilo z modularnim rotacijsko oscilacijskim reometrom (Anton Paar; model Physica MCR 301, Avstrija). Klasične reološke lastnosti smo določili s

sistemom stožec ploščica (CP50-2-SN22764, kot stožca 2°) (slika 17). Z rotacijskimi meritvami (območje strižne hitrosti od 2 do 100 s^{-1}) smo izmerili viskoznost preiskovanih raztopin, z oscilacijskimi meritvami pa smo določili še elastične in plastične lastnosti (elastični modul - G' in plastični modul - G''). Območje kotne frekvence je znašalo od 100 do $0,1\text{ [1/s]}$, število merilnih točk pa je bilo 31. Merjenje z oscilacijsko metodo temelji na tem, da vzorec izpostavimo različno velikim ali hitrim strižnim obremenitvam, kar dosežemo z osciliranjem merilnega sistema. Vzorec se oscilaciji upira z določenim navorom, ki ga zazna naprava in ga pretvori v reološke parametre (29).



Slika 17: rotacijski sistem stožec – ploščica

Medfazne reološke meritve smo izvedli s pomočjo BiC68-5-SN22641 (slika 18). Meritve medfazne viskoznosti smo izvedli v območju strižne hitrosti 2 do 100 s^{-1} , število merilnih točk pa je bilo 29. Frekvenčne meritve pa v območju kotne frekvence od 100 do $0,1\text{ [1/s]}$, število merilnih točk pa je bilo 31.



Slika 18: bistožčasti sistem za za merjenje medfaznih reoloških lastnosti

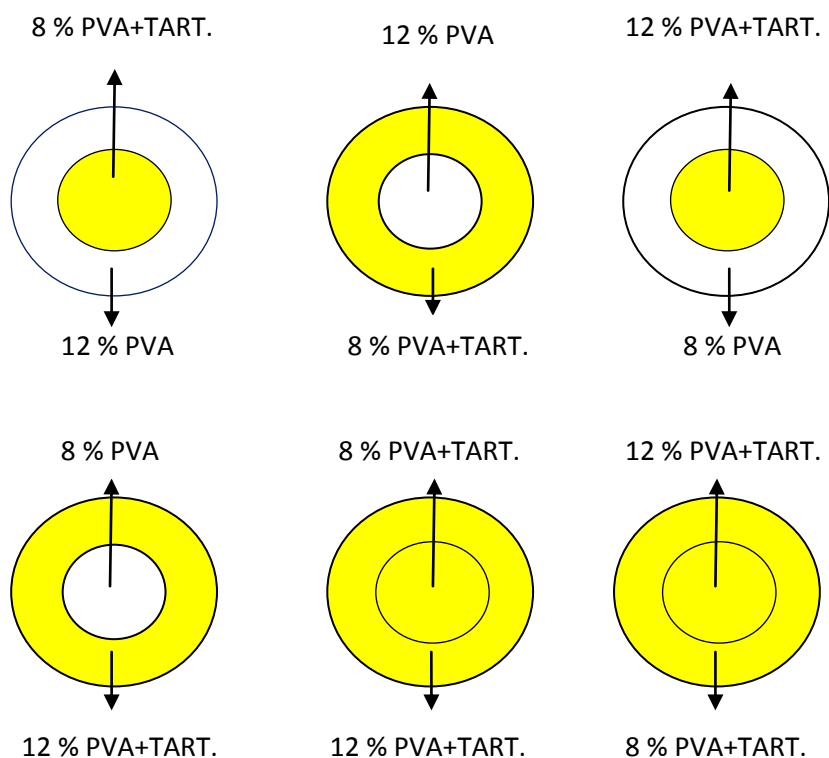
4.3.3 Ocena optimalnih procesnih parametrov za nastanek nanovlaken

Ker na fakulteti nanovlaken s koaksilano šobo še niso izdelali, je bila pred nami naloga, da smo ugotovili oz. določili procesne parametre, pri katerih uspešno nastanejo nanovlaka. Za oceno procesnih parametrov smo uporabili 10 % PVA v katerem je bilo raztopljenega 10% tartrazina glede na maso polimera.

Zanimalo nas je v kakšnem območju napetosti in pretokov pride do nastanka Taylorjevega stožca in posledično nanovlaken. Preizkušali smo v območju napetosti od 12 do 25 kV, napetost smo spreminjali v intervalih po 2 kV. Spreminjali smo tudi pretok zunanje in notranje faze in sicer od 0,14 ml/h do 0,28 ml/h za notranjo ter 0,35 ml/h do 0,57 ml/h za zunanjo fazo. Spreminjali smo jo v intervalu 0,07 ml/h. Razdalja od konice šobe do zbirala je bila 15 cm.

4.3.4 Izdelava nanovlaken z vgrajenim tartrazinom v notranji ali zunanji fazi

Po oceni optimalnih procesnih parametrov smo, s koaksilano šobo, izdelali 6 različnih vrst dvoplastnih nanovlaken, ki so se razlikovala glede na koncentracijo polimera v notranji ali zunanji fazi ter v vsebnosti barvila v notranji ali zunanji fazi. Na sliki 19 so narisane sheme izdelanih dvoplastnih nanovlaken.

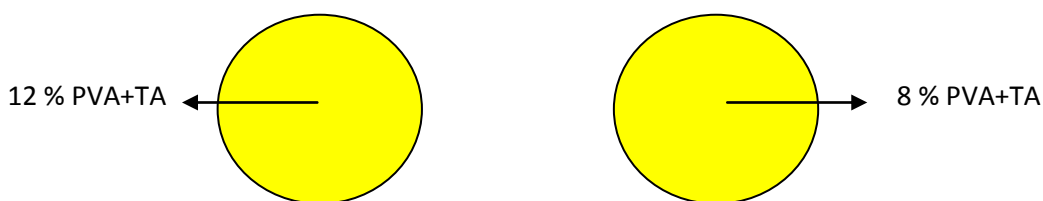


Slika 19: Shema sestave dvoplastnih nanovlaken, izdelanih s koaksilano šobo

Vlakna smo izdelali tako, da smo v dve 20 ml plastični brizgi posrkali približno 10 ml polimera zunanje in notranje faze, jih namestili na črpalki in povezali s šobo s pomočjo gumijastih prozornih cev na koncu katerih so nastavki po Luerju (slika 7B). Na konico šobe smo priključili izvor visoke napetosti. Zbiralo z aluminijasto folijo smo namestili 15 cm od konice šobe, ter ga ozemljili. Pretok smo nastavili na želeno vrednost in pustili nekaj minut, da se umiri in postane konstanten. Nato smo vključili generator visoke napetosti in pričeli z izdelavo vlaken..

Ker so lastnosti raztopin polimera, ki so vsebovale tartrazin različne od polimernih raztopin brez tartrazina, smo morali za vsako kombinacijo, iz katere smo izdelali nanovlakna, kljub predhodni oceni procesnih parametrov, določiti optimalne procesne parametre, pri kateri so nastala nanovlakna. Za osnovo smo vzeli napetost 20 kV ter pretok notranje faze 0,14 ml/h in zunanje 0,28 ml/h. Te parametre smo določili po postopku opisanem v poglavju 3.3.3 in so nam služili kot izhodiščna vrednost za določitev parametrov in izdelavo teh kombinacij nanovlaken. Začeli smo s temi vrednostmi, nato pa jih spreminjali toliko časa, dokler se ni pojavil konstanten Taylorjev stožec. Šele takrat smo začeli z zbiranjem vzorcev vlaken, ki smo jih ovrednotili. Pri nekaterih to ne glede na veliko poizkusov, tega ni bilo možno doseči. Glede na to, kako se je curek obnašal smo povečevali ali zmanjševali napetost med vrednostmi od 15 kV do 22 kV ter povečevali ali zmanjševali pretok notranje faze od 0,14 ml/h do 0,28 ml/h in zunanje faze od 0,28 ml/h do 0,57 ml/h.

Izdelali smo tudi nanovlakna z metodo ES z enostavno šobo iz raztopine 8 in 12 % PVA z dodanim tartrazinom (slika 20). Napetost je znašala pri 8 % raztopini znašala 15 kV, pri 12 % pa 19 kV. Pretok je v obeh primerih bil 0,57 ml/h.



Slika 20: Shema sestave navadnih nanovlaken

Vsa izdelana vlakna smo zbirali na krovna stekelca, ki smo jih z dvostranskim lepilnim trakom, ki je prevoden, nalepili na površino aluminijaste folije, ki je služila kot zbiralo.

Vlakna smo na koncu še toplotno stabilizirali in sicer pri temperaturi 160 °C, 10 minut. To smo storili zato, ker se vlakna v primeru, če jih ne stabiliziramo, v pufru takoj raztopijo.

4.3.5 Vrednotenje izdelanih vlaken

Vzorci izdelanih vlaken smo nanесли na nosilce za SEM mikroskop, nato pa s pomočjo SEM mikroskopa (Zeiss, model SEM Supra 35 VP, Nemčija) posneli slike nanovlaken. Premer vlaken smo določili iz posnetkov SEM mikroskopa, ki smo jih analizirali z računalniškim programom ImageJ. Povprečni premer smo določili na podlagi 10 naključno izbranih nanovlaken.

4.3.6 Sproščanje modelne spojine iz nanovlaken

Izdelana in stabilizirana nanovlakna na krovnih stekelcih smo položili na dno 50 ml čaše (stekelca smo pričvrstili z obojestranskim lepilnim trakom) in dodali 15 ml pufra. Sproščanje je potekalo v fosfatnem pufru s pH 6,5 in pri temperaturi 23°C. Absorbanco sproščenega tartrazina smo, v različnih časovnih točkah, merili spektrofotometrično, pri valovni dolžini 427 nm. Sproščanje smo izvajali 150 min., nato pa na koncu stekelca skupaj z nanovlakni prekuhali 2 min. pri temp. 80 – 90 °C, da so nanovlakna razpadla, nato pa ponovno pomerili absorbanco, da smo lahko izračunali celotno koncentracijo tartrazina iz vlaken.

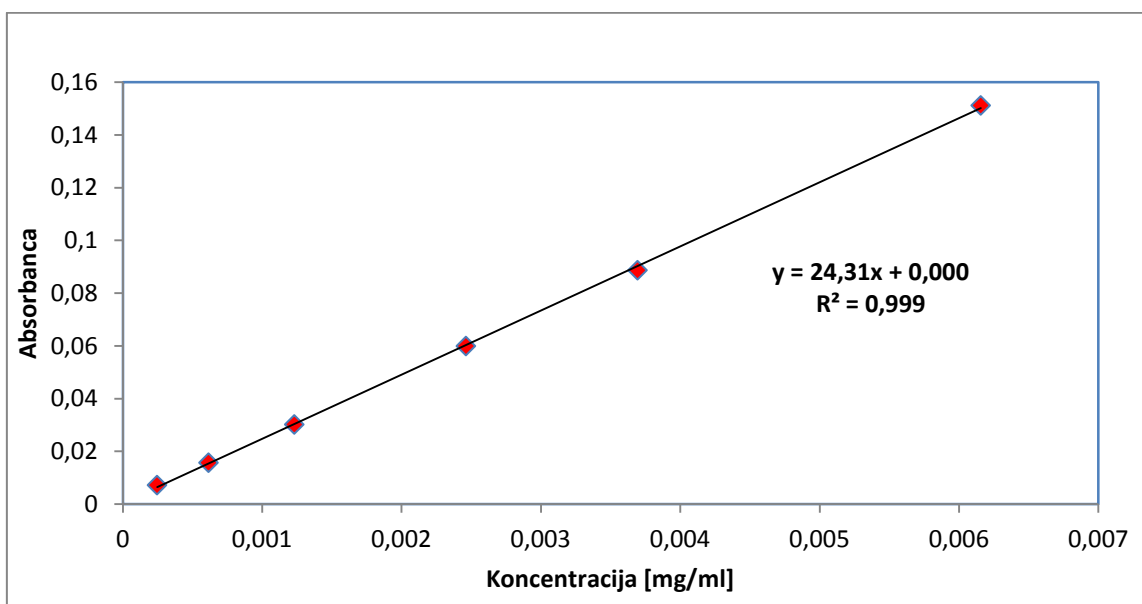
Priprava fosfatnega pufra

Fosfatni pufer smo pripravili tako, da smo natehtali cca. 45 g kalijevega dihidrogenfosfata in ga prenesli v 5 L bučko ter dopolnili z prečiščeno vodo do oznake. Z dodajanjem 45 % KOH smo fosfatni pufer umerili na pH vrednost 6,5.

Umeritvena premica

Za pripravo osnovne raztopine tartrazina, ki smo jo kasneje nadalje redčili, smo natehtali približno 60 mg tartrazina (točna vrednost 61,57 mg), ga prenesli v 100 ml merilno bučko, dodali mešalni magnet in mešali 30 minut. Osnovno raztopino smo redčili tako, da smo dobili čim širši razpon koncentracij. Pri določanju območja najnižje koncentracije smo upoštevali mejo detekcije spektrofotometra. Absorbance smo izmerili s čitalcem

mikrotitrskih plošč (Tecan, model Sapphire, Švica) pri valovni dolžini 427 nm in na podlagi vrednosti izračunali enačbo umeritvene premice (graf 1).



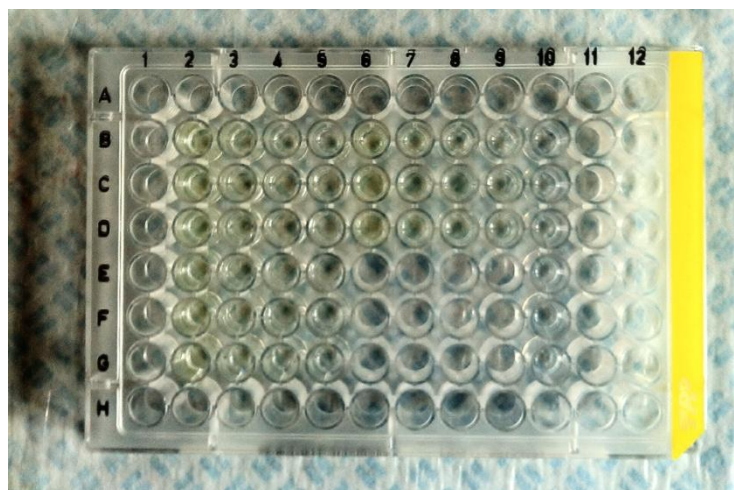
Graf 1: Umeritvena premica raztopine tartrazina, v fosfatnem pufru s pH 6,5, pri 427 nm in enačba premice

Razvoj metode sproščanja in določanja koncentracije tartrazina

Ker na fakulteti sproščanja tartrazina iz nanovlaken še niso izvedli, smo morali sami razviti metodo merjenja sproščenega tartrazina. Največji problem pri razvoju metode je bila zelo majhna masa nanovlaken s tartrazinom. Pri konvencionalnem spektrofotometru je potrebna količina vzorca, ki je potrebna najprej za spiranje kivete, nato pa še za sam vzorec, od 2 do 3 ml. Volumen odvzetih vzorcev pa nadomeščamo s pufrom, v katerem delamo sproščanje modelne učinkovine zato, da zaradi velikega števila odvzema vzorcev ne ostanemo brez medija. Po večkratnih odvzemih, se koncentracija tartrazina v vzorcih posledično tako zmanjša, da pade pod mejo detekcije. Zaradi tega razloga smo za merjenje absorbanc uporabili spektrofotometrični čitalec mikrotitrskih plošč (Tecan, model Sapphire, Švica), ki ima večjo občutljivost in potrebuje manjši volumen vzorca (le 200 mikrolitrov). Pri tej metodi smo vzorce nanašali na mikrotitrne ploščice. Največja prednost je v tem, da je količina vzorca, potrebna za analizo, mnogo manjša. V vsako vdolbino smo odpipetirali 200 mikrolitrov vzorca. Metoda je tudi veliko bolj natančna, kajti čitalec meritve opravi avtomatsko, absorbenco vsakega vzorca izmeri 10 krat in nato izračuna povprečje

absorbanc. Tako smo se izognili tudi napakam pri meritvi. Vzorce smo odvezemali tudi v treh paralelkah, da smo zagotovili še večjo natančnost.

S pričetkom sproščanja smo pričeli tako, da smo v vsako čašo z vzorcem vlili 15 ml fosfatnega pufra s pH 6,5 ter prižgali štoparico. Vzorce smo z avtomatsko pipeto odvzeli ob naslednjih časovnih točkah: 3 min., 7 min., 12 min. 16 min, 21 min, 30 min, 40 min, 50 min, 60 min, ter nato vsake pol ure do skupnega časa 150 minut. Vse odpipetirane vzorce smo prenesli v vdolbinice TPP (slika 20) in jim sproti merili absorbanco.



Slika 21: Mikrotitrna (96 well plate) plošča, v katero smo dajali vzorce in merili absorbanco

5. REZULTATI

5.1 Vrednotenje raztopin PVA

5.1.1 Površinska napetost

Kot je razvidno iz tabele 1 se površinska napetost 8 % in 12 % raztopine PVA, brez tartrazina, ne razlikuje pomembno, kar je v skladu z našimi pričakovanji, kajti iz literaturnih podatkov (30) smo razbrali, da je PVA amfifilen polimer. Molekule tega polimera se zaradi svoje strukture postavijo na medfazo (v našem primeru voda – zrak) in sicer tako, da je hidrofilni del molekule v vodi, lipofilni del pa na površini, posledično se zmanjša površinska napetost. Ker pa se ta površina s temi molekulami lahko zasiči pri določeni koncentraciji polimera, koncentracija PVA ne vpliva več na zmanjšanje površinske napetosti. To se zgodi že pri zelo nizki koncentraciji polimera (pri približno 3 % raztopini PVA) (6), zato nadaljnje povečanje ne vpliva več na znižanje površinske napetosti.

Tabela 1: Površinska napetost vzorcev

Vzorec	Površinska napetost (mN/m)
8 % PVA	64,31 ± 0,39
8 % PVA + TARTRAZIN	59,87 ± 0,20
12 % PVA	65,81 ± 0,27
12 % PVA + TARTRAZIN	65,30 ± 0,99

Površinska napetost 8 % raztopine PVA s tartrazinom je manjša od 8 % raztopine PVA brez tartrazina. Tartrazin se nahaja v obliki trinatrijeve soli, kar pomeni, da ob dodatku tartrazina v raztopino vnesemo ione. V študiji, ki jo je naredil Jing Tao (31), je preučeval vpliv dodanega NaCl na površinsko napetost. Ob dodatku NaCl v polimerno raztopino PVA, se raztopini zmanjša površinska napetost. To se zgodi zato, ker naj bi dodatek soli povečal adsorbcijo polimera na medfazno površino raztopina-zrak. Dejstvo je da vneseni

ioni povzročijo manj ugodno okolje za neionizirane polimerne molekule zato se le-te premaknejo na površino ter s tem še dodatno zmanjšajo površinsko napetost.

Pri polimerni raztopini 12 % PVA s tartrazinom, tega pojava ni opaziti. Delež soli pa je le malo večji, kot pri 8 % raztopini PVA in zato najverjetneje ne vpliva na površinsko napetost. Se je pa, pri tej raztopini, zaradi dodatka tartrazina, znatno povečala viskoznost te raztopine, ki se pri 8 % skorajda ni.

5.1.2 Prevodnost

V tabeli 2 so prikazane izmerjene vrednosti prevodnosti vzorcev s tartrazinom ali brez.

Tabela 2: Prevodnost vzorcev

Vzorec	Prevodnost ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
8 % PVA	$356,9 \pm 7,5$
8 % PVA + TARTRAZIN	2557 ± 33
12 % PVA	$447,5 \pm 2,7$
12 % PVA + TARTRAZIN	3292 ± 6

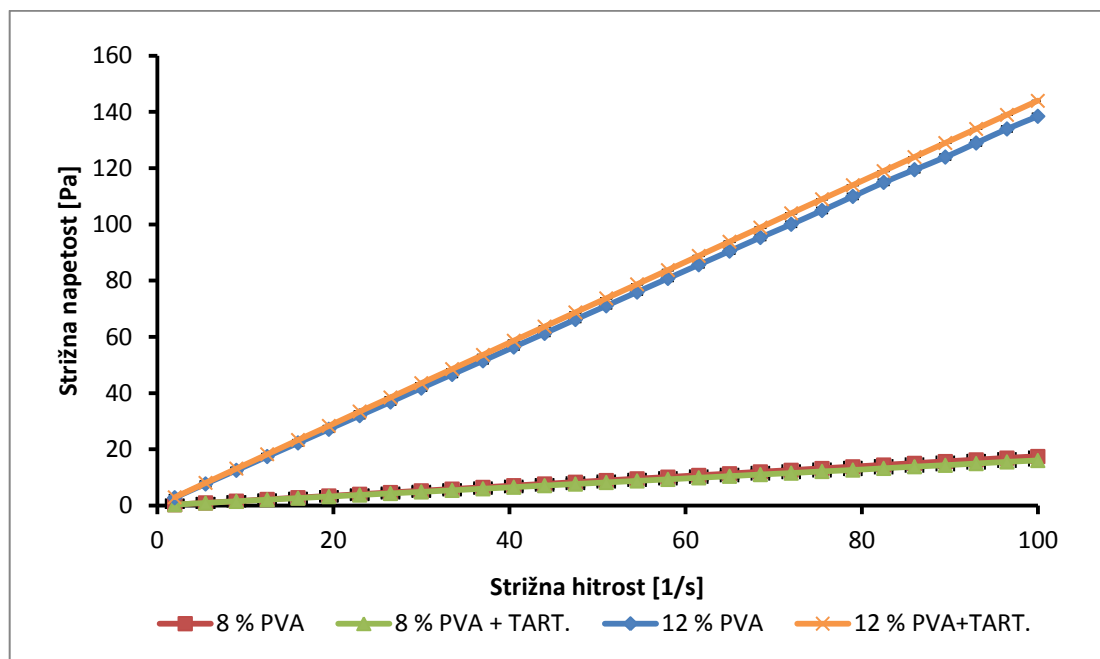
Prevodnost 12 % raztopine PVA je, po pričakovanjih, večja od prevodnosti 8 % raztopine PVA. Ker je PVA neionski polimer, koncentracija sicer ne vpliva na prevodnost, vpliva pa majhen delež soli, ki jo, po navedbah proizvajalca, vsebuje trden PVA. Večja kot je koncentracija polimera, večja je vsebnost soli v PVA in posledično večja tudi prevodnost raztopine.

Dodatek tartrazina pri obeh raztopinah povzroči zelo velik porast prevodnosti. Kot smo že omenili se tartrazin nahaja v obliki trinatrijeve soli, kar pomeni da ob dodatku v raztopino vnesemo ione in prevodnost se močno poveča. Pri 12 % raztopini PVA je skok še bolj izrazit, kajti ta raztopina vsebuje za več kot 30 % več tartrazina kot 8 % raztopina PVA.

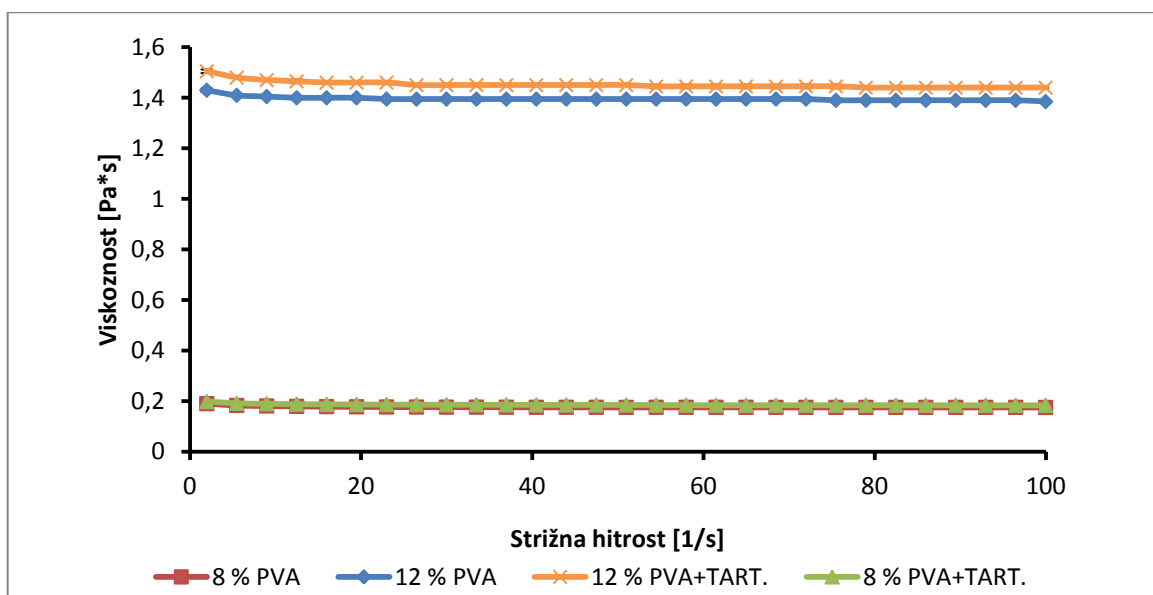
5.1.3 Reološke lastnosti

Klasična viskoznost

Kot že omenjeno v uvodu, ima viskoznost notranje in zunanje faze velik vpliv na uspešno izdelavo dvoplastnih nanovlaken. Za raztopini 8 in 12 % PVA s tartrazinom ali brez, smo iz dobljenih rezultatov meritev narisali reograme in viskoznostne krivulje, ter jih primerjali med seboj.



Graf 2: Primerjava reogramov 8 in 12 % raztopin PVA z ali brez tartrazina

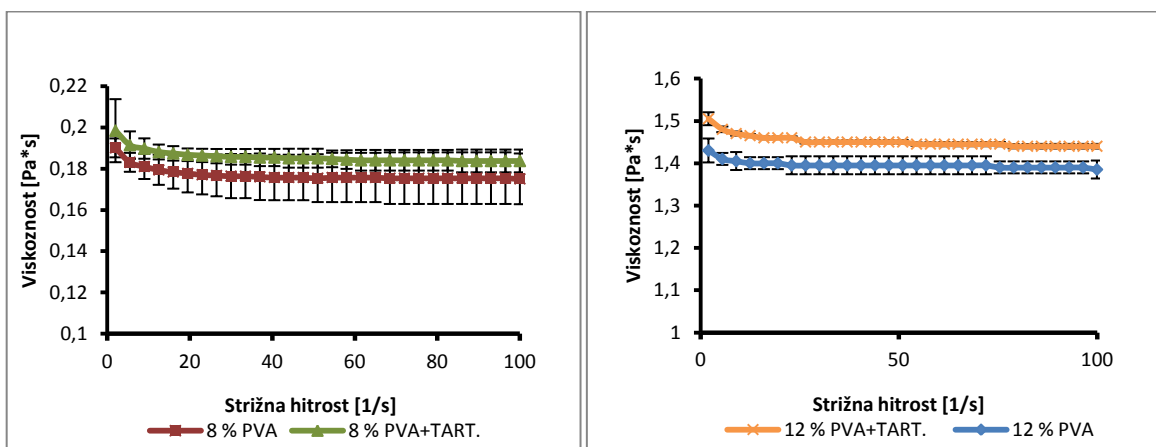


Graf 3: Primerjava viskoznostnih krivulj 8 in 12 % raztopin PVA z ali brez tartrazina

Iz grafa 2 je razvidno, da PVA tako v 8 %, kot tudi v 12 % koncentraciji z dodanim 10 % m/m tartrazina, glede na maso polimera, izkazujejo lastnosti idealne Newtonske tekočine. To pomeni, da se strižna napetost povečuje sorazmerno s strižno hitrostjo, viskoznost pa je odvisna le od temperature ali atmosferskega tlaka, ne pa od velikosti, trajanja ali smeri delovanja strižne sile. To potrdi tudi primerjava viskoznostnih diagramov (graf 3), vendar pa je pri viskoznostnem diagramu, pri 12 % raztopini PVA, že opaziti rahlo odstopanje od popolnega Newtonskega sistema.

Viskoznost 8 % raztopine PVA je praktično enaka viskoznosti 8 % PVA z dodatkom tartrazina, kar je vidno tudi iz grafov 3 in 4, kjer vidimo, da se krivulji prekrivata. Viskoznost 12 % raztopine PVA s tartrazinom je rahlo večja od raztopine brez tartrazina (graf 3 in 5). V povprečju se viskoznost poveča za 0,05 Pa*s. Razlog za to je v koncentraciji tartrazina, kajti 12 % raztopina PVA vsebuje približno 30 % več tartrazina, vendar pa se viskoznost veliko bolj poveča kot pri 8 % raztopini PVA, kjer ostane skoraj nespremenjena ob dodatku tartrazina. Večja koncentracija tartrazina najverjetneje povzroči spremembe v medmolekularnih interakcijah tako, da so verige polimera PVA bolj iztegnjene, kot v sami vodni raztopini, in to povzroči porast viskoznosti. Vzrok za to je najverjetneje v ionih, ki jih s tartrazinom vnesemo v raztopino.

Viskoznost 12 % raztopine pa je pričakovano večja, od 8 % raztopine in sicer za približno 10-kratnik viskoznosti 8 % raztopine.

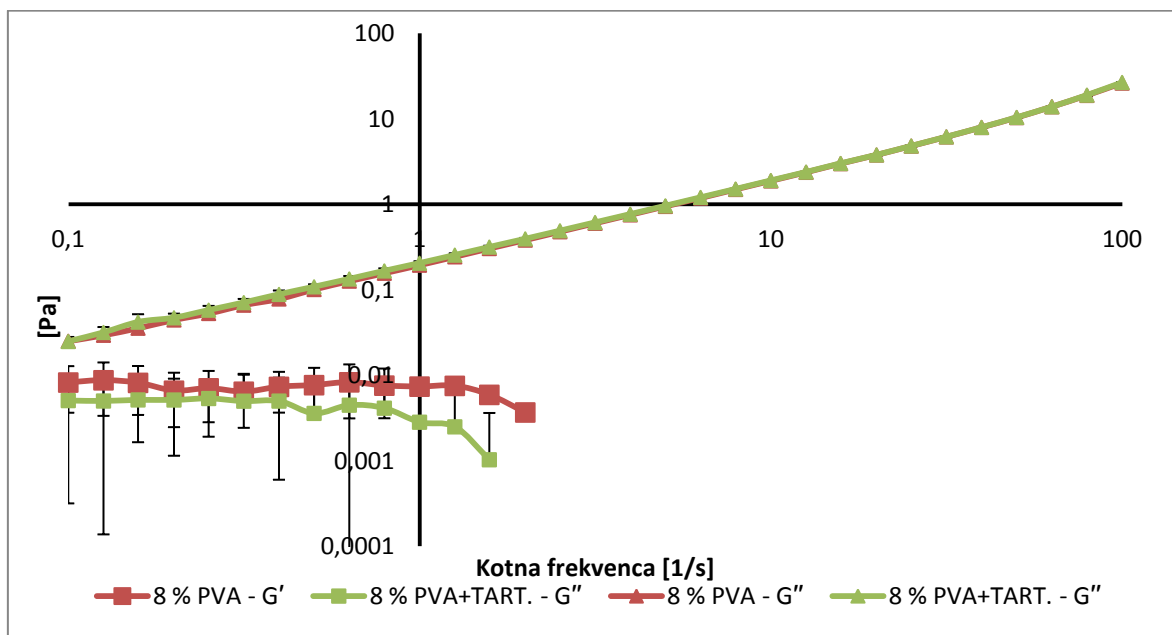


Graf 4 in 5: Viskoznostna diagrama 8 in 12 % raztopine PVA z ali brez tartrazina

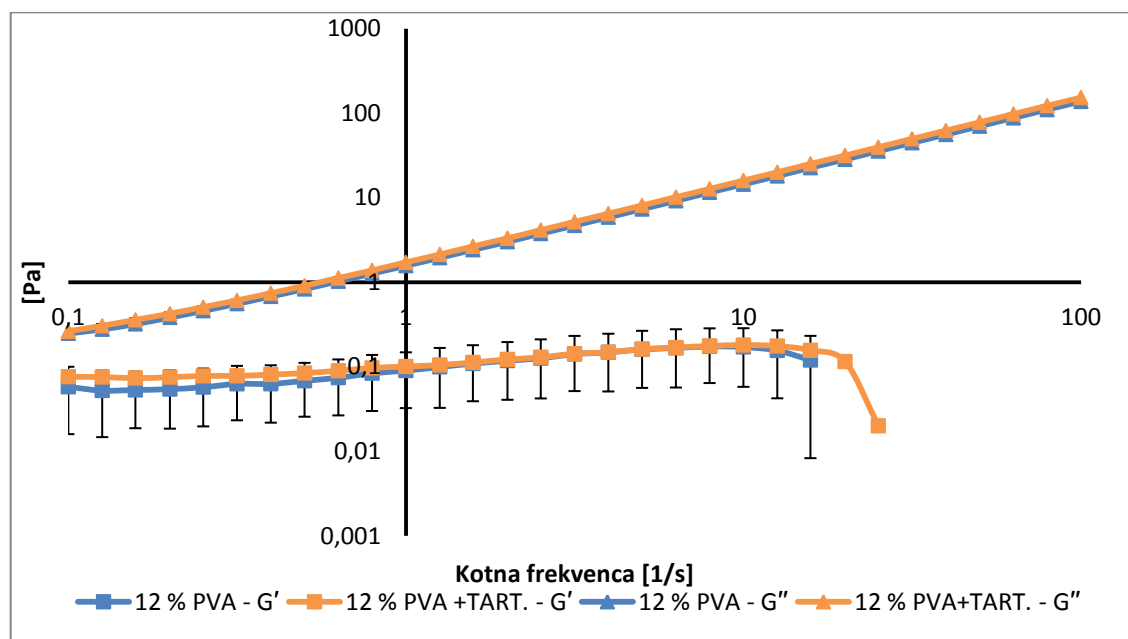
Oscilacijski testi

S pomočjo oscilacijskih testov smo določili elastično (G') in plastično (G'') oz. viskozno komponento viskoelastične snovi. Frekvenčna odvisnost dinamičnih modulov G' in G''

prikazuje odziv materiala na periodično delovanje strižne deformacije (30). Grafa 6 in 7 prikazujeta to frekvenčno odvisnost modulov G' in G'' za naše izmerjene raztopine. Kot je razvidno iz grafov 6, 7 in 8, je v vseh primerih G'' večji od G' , kar pomeni da imajo naše raztopine bolj izražene viskozne oz. plastične lastnosti. Elastičen modul je bolj izražen pri 12 % raztopini PVA, pri 8 % raztopini ga je sistem zaznal le pri nizkih kotnih frekvencah. Večjo elastičnost 12 % raztopine pripisujemo tvorbi bolj čvrstih in prožnih premreženih struktur verig PVA (30).

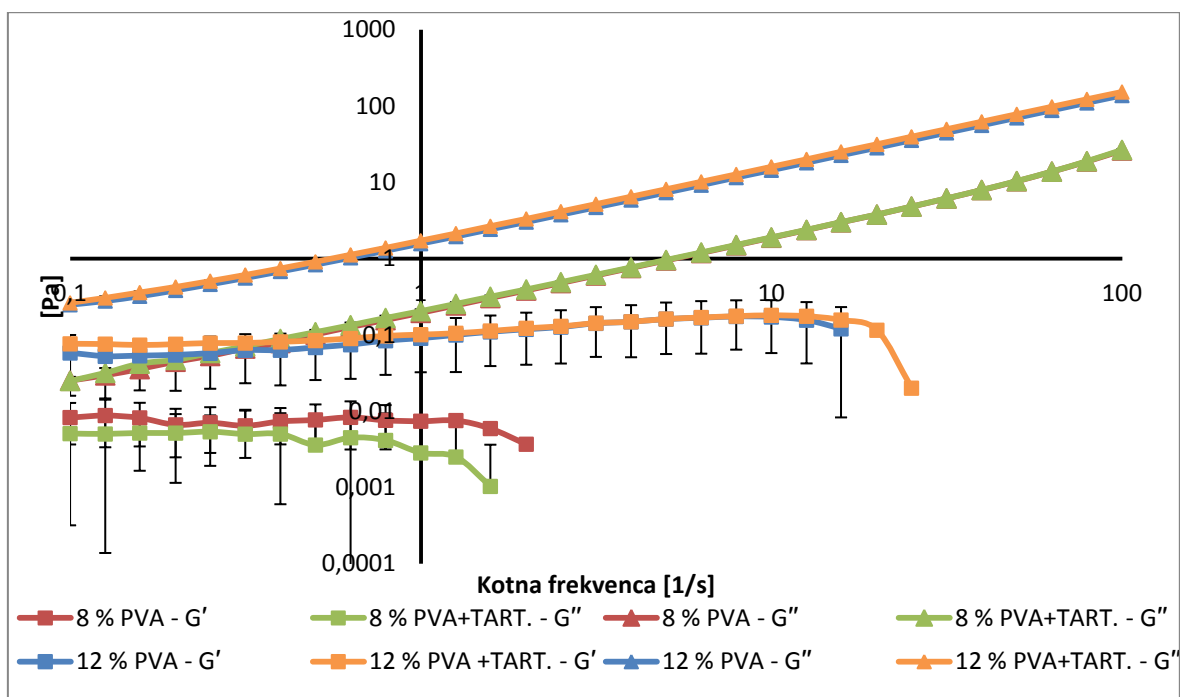


Graf 6: Frekvenčna odvisnost modulov za 8 % raztopino



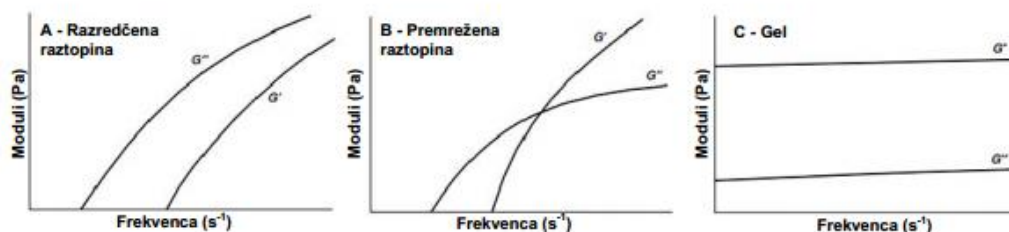
Graf 7: Frekvenčna odvisnost modulov za 12 % raztopino

Iz grafa 8 je razvidno, da se plastični oz. viskozni modul raztopin PVA, brez tartrazina, ne razlikuje od raztopin PVA s tartrazinom. Elastični modul 8 % raztopine PVA brez tartrazina je le rahlo večji od 8 % raztopine s tartrazinom, pri 12 % raztopini PVA pa se elastična modula ne razlikujeta pomembno.



Graf 8: Primerjava frekvenčne odvisnosti modulov 8 in 12 % raztopine PVA z ali brez tartrazina

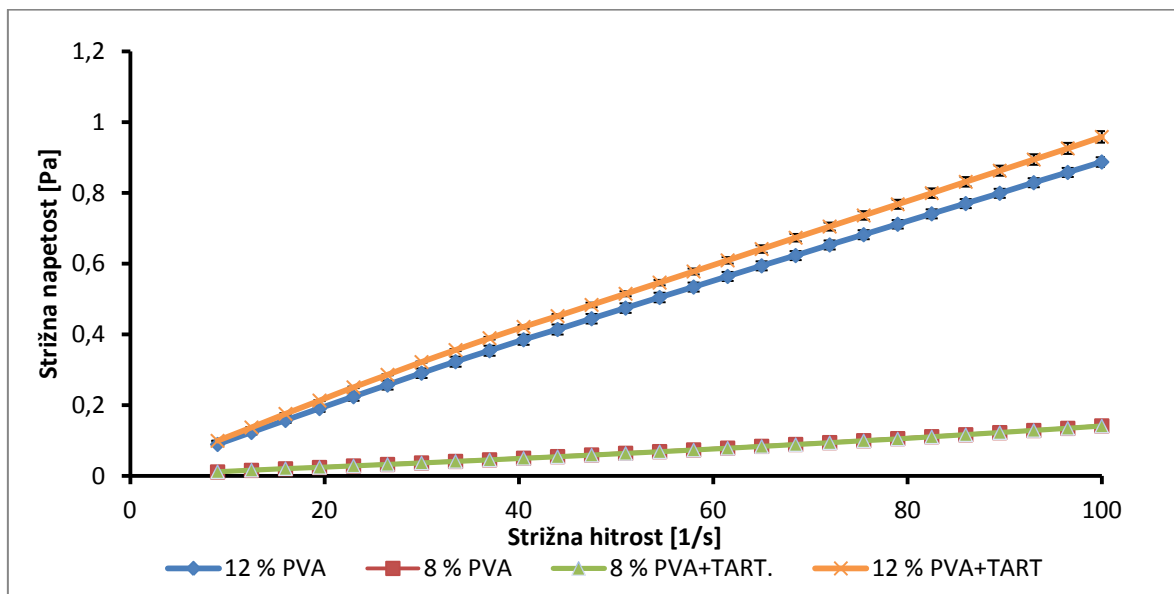
Če primerjamo naše rezultate z literaturnimi podatki (slika 22) ugotovimo, da lahko vse naše preučevane raztopine opredelimo kot razredčene raztopine (slika 22A), ki deloma izražajo tudi lastnosti gela (slika 22C), kajti elastičen modul le počasi narašča, kot pri gelih, plastičen pa z naklonom, kot pri razredčenih raztopinah. Vsekakor pa naši vzorci ne izkazujejo lastnosti premrežene raztopine.



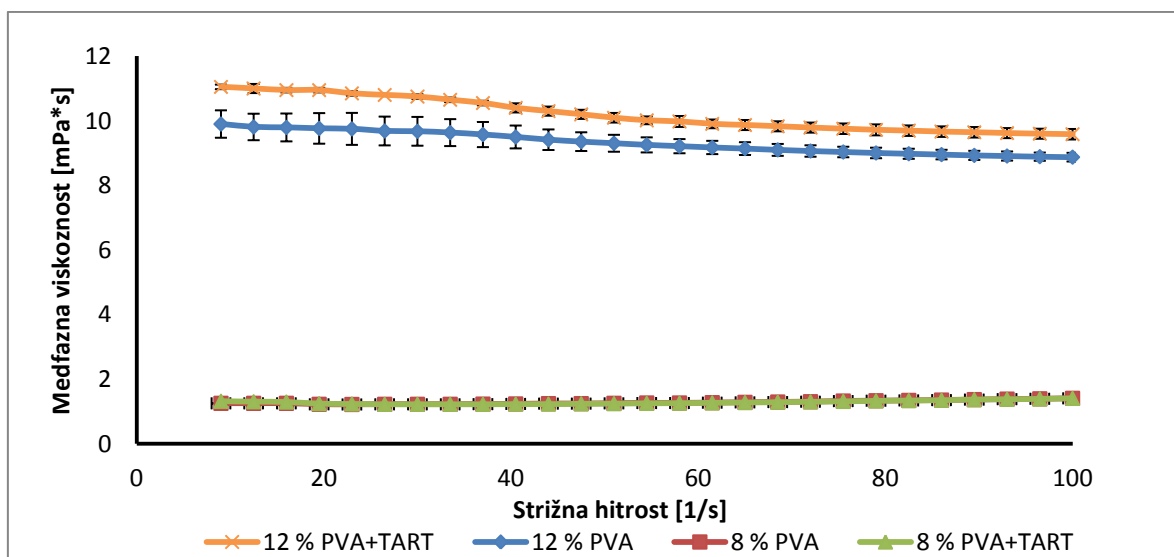
Slika 22: Slike prikazujejo frekvenčno odvisnost modulov za tri različne tipe materiala: A-razredčena raztopina, B-premrežena raztopina in C-gel (30)

Medfazna viskoznost

Podobno, kot pri klasični reologiji smo izmerili tudi interfacialne oz. medfazne reološke lastnosti naših raztopin. Tudi tu, kot je razvidno iz grafov 9 in 10, opazimo da vse raztopine na medfazi izkazujejo lastnosti Newtonske tekočine. V grafu je razvidno tudi, da so vrednosti strižne napetosti približno 10-krat manjše od vrednosti klasične viskoznosti (graf 2). Tudi oblika reograma je enaka, razlikuje se le v tem, da, pri prvih dveh vrednostih strižne hitrosti, merilni sistem ni izmeril strižne napetosti.

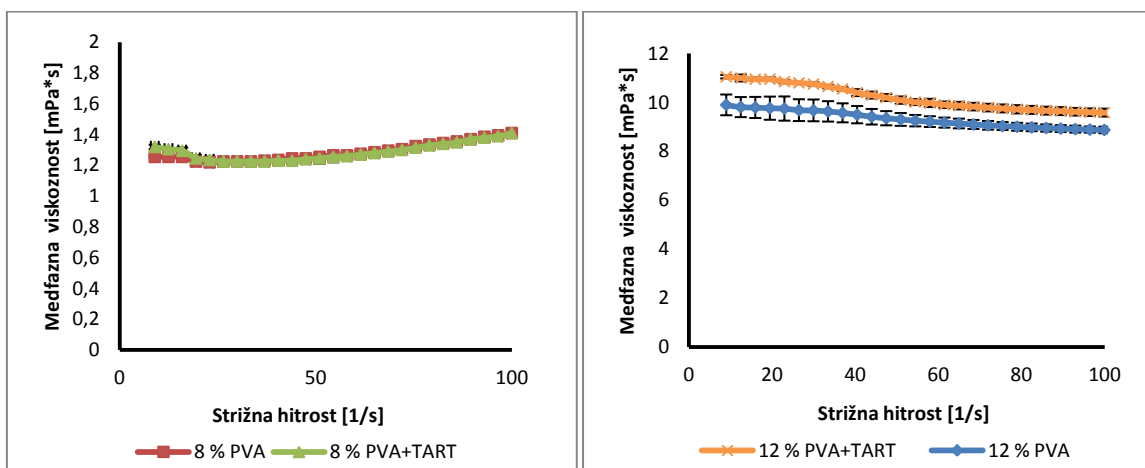


Graf 9: Primerjava medfaznih reogramov 8 in 12 % raztopin PVA z ali brez tartrazina



Graf 10: Primerjava medfaznih viskoznostnih krivulj 8 in 12 % raztopin PVA z ali brez tartrazina

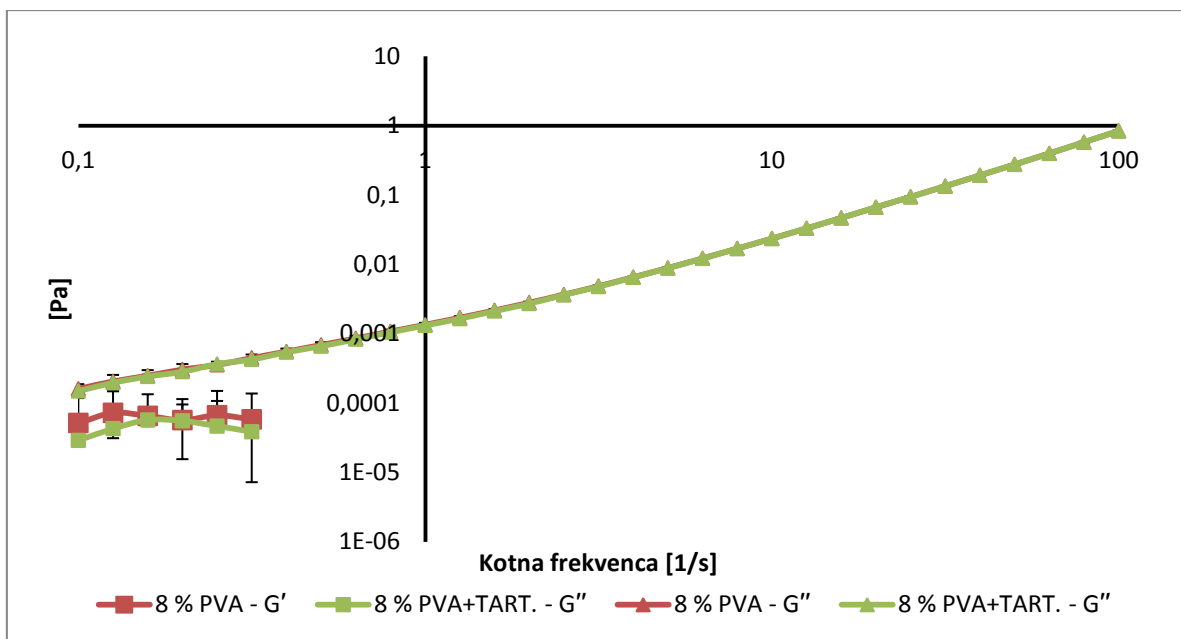
Iz grafa 10 je razvidno, da je medfazna viskoznost raztopin za več kot 1000-krat manjša od klasične viskoznosti. Podobno kot pri klasični viskoznosti, je medfazna viskoznost 12 % raztopine PVA pričakovano večja od 8 %. Medfazna viskoznost 8 % raztopine PVA s tartratinom, se ne razlikuje pomembno od 8 % raztopine PVA brez tartrazina. 12 % raztopina PVA s tartrazinom pa ima viskoznost večjo za približno 0,002 Pa*s od 12 % raztopine PVA brez tartrazina. 12 % raztopina PVA kaže tudi večji odmik od idealne Newtonske tekočine, kot pa pri klasični viskoznosti. Medfazna viskoznost 12 % raztopine z naraščajočo strižno hitrostjo pada z rahlo večjim naklonom, kot pri navadni viskoznosti.



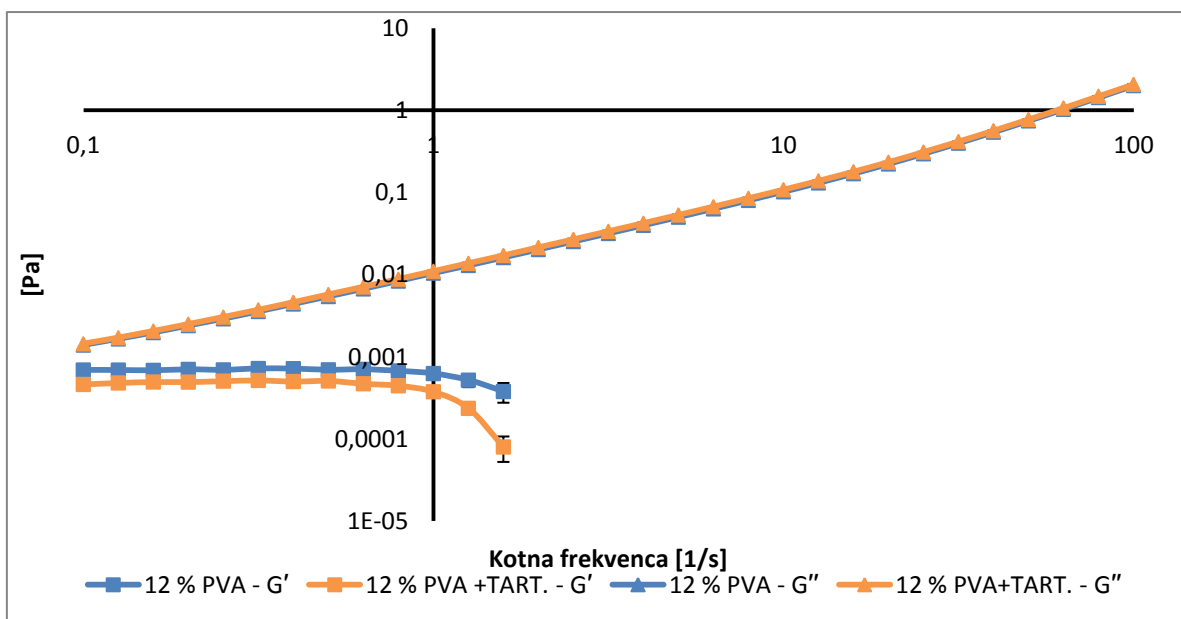
Graf 11 in 12: Medfazna viskoznostna diagrama 8 in 12 % raztopine PVA z ali brez tartrazina

Medfazni oscilacijski testi

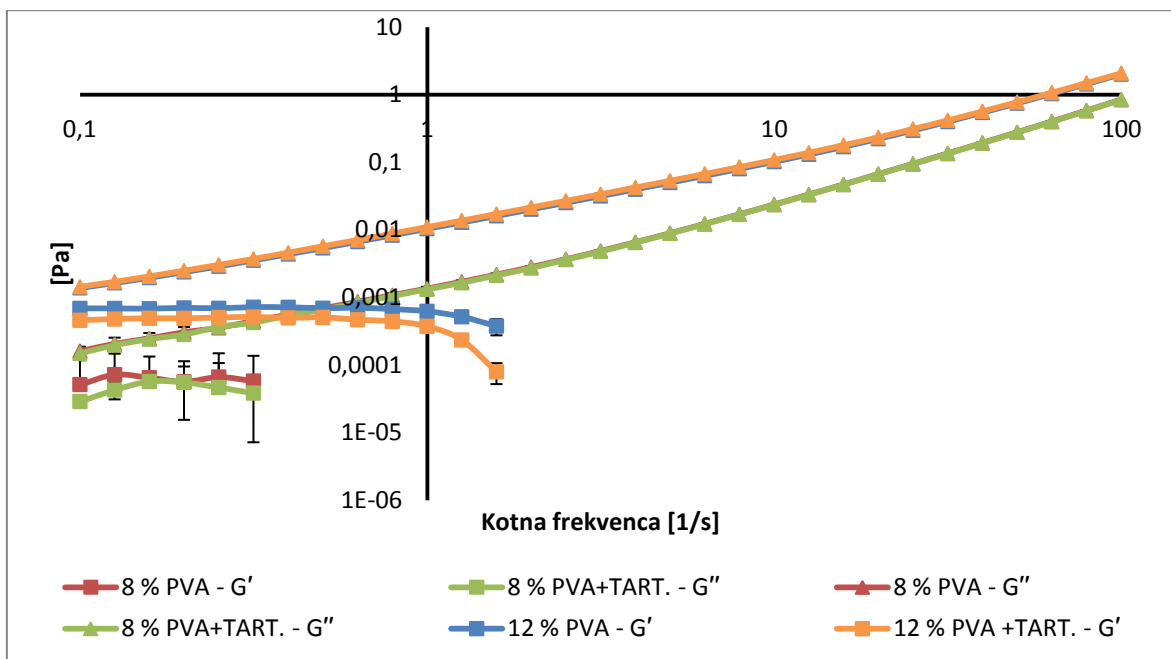
Tudi na medfazi smo določili elastični (G') ter plastični oz. viskozni modul (G''). Iz grafov 13 in 14 je razvidno, da je tako pri 8 % raztopini, kot tudi pri 12 %, z ali brez tartrazina, plastični oz. viskozni modul večji od elastičnega. Plastični modul se pri obeh raztopinah, z dodanim tartrazinom, ne razlikuje pomembno od raztopin brez tartrazina. Elastični modul pa je manjši pri raztopinah s tartrazinom, kar pomeni, da z dodatkom tartrazina zmanjšamo elastične lastnosti raztopine na medfazi.



Graf 13: Medfazna frekvenčna odvisnost modulov za 8 % raztopino



Graf 14: Medfazna frekvenčna odvisnost modulov za 12 % raztopino



Graf 15: Primerjava frekvenčne odvisnosti modulov 8 in 12 % raztopine PVA z ali brez tartrazina na medfazi

Podobno, kot pri navadnih frekvenčnih testih, lahko, na podlagi krivulj pri frekvenčnih testih na medfazi, naše raztopine opredelimo kot razredčene raztopine, ki deloma izražajo tudi lastnosti gela.

5.2 Ocena optimalnih procesnih parametrov za nastanek nanovlaken

V prvi fazi izdelave nanovlaken s koaksilano šobo smo ocenjevali parametre elektrostatskega sukanja, pri katerih pride do uspešnega nastanka Taylorjevega stožca oz. stabilnega curka, kajti izsledki objavljenih študij kažejo, da uspešen nastanek dvoplastnih nanovlaken pogojuje stabilen sestavljen Taylorjev stožec. Ocenjevali smo procesna parametra napetost izvora ter pretok notranje in zunanje faze. Za oceno teh dveh parametrov elektrostatskega sukanja in izdelavo testnih vlaken smo uporabili 10 % raztopino PVA, v notranji in zunanji fazi, kateri smo dodali modelno učinkovino – tartrazin. Vsebnost tartrazina je znašala 10 % glede na maso polimera PVA. Parametri in uporaba ter slike nanovlaken so opisani spodaj.

Razdalja do zbirala

Razdalja šobe do zbirala je znašala 15 cm in jo med izdelavo tudi nismo spreminjali, kajti eksperimentalni podatki, pridobljeni iz študij na naši fakulteti, kažejo, da je to optimalna razdalja, pri kateri se tvorijo homogena nanovlakna.

Napetost in pretok notranje in zunanje faze

Parametra napetost izvora in pretok notranje ter zunanje faze smo spreminjali, da smo dosegli stabilen Taylorjev stožec oz. curek in uspešen nastanek vlaken. V Tabeli 3 se nahajajo napetosti, pretok zunanje oziroma notranje faze in kratek povzetek obnašanja raztopine na konici šobe. Izhajali smo iz napetosti 15 kV in pretoka 0,57 ml/h. Pri tej napetosti in pretoku uspešno nastanejo nanovlakna iz 10 % polimerne raztopine PVA brez tartrazina, z uporabo metode izdelave z elektrostatskim sukanjem z enostavno šobo. Ker je pri ES z enostavno šobo samo 1 šoba, smo pretok le te razdelili na 2 dela. Eksperimentalni podatki iz literature, omenjeni v uvodu, opisujejo, da mora biti za uspešen nastanek dvoplastnih nanovlaken pretok notranje faze manjši od pretoka zunanje faze. Najnižji pretok notranje faze je znašal 0,14 ml/h. Pri notranjem pretoku 0,21 ml/h in zunanjem 0,42 ter pri napetosti 15 kV so pospešeno nastajale kapljice, kar je pomenilo, da je bil pretok prevelik oz. napetost premajhna za nastanek stabilnega Taylorjevega stožca. Napetost smo pri istem pretoku postopoma povečevali do 23 kV, a pri vseh napetostih so nastajale kapljice. Če povečujemo napetost izvora, s tem povečamo elektrostatsko silo, ki vleče curek do zbirala ter v raztopino vnesemo dodaten naboj in s tem se poveča tudi elektrostatska odbojna sila med delci raztopine. Če silo povečamo, se poveča tudi hitrost potovanja curka do zbirala oz. sila ki vleče raztopino do zbirala. Ker je bila ta sila pri 23 kV prevelika, se stabilen Taylorjev stožec ni mogel vzpostaviti.

Posledično smo preizkusili več različnih pretokov in napetosti. Natančni podatki o napetostih in pretokih ter obnašanje raztopine na konici šobe, so opisani v Tabeli 3. Najbolj konstanten Taylorjev stožec se je pojavil pri napetosti 20 kV in pretoku notranje raztopine 0,14 ml/h in zunanje 0,28 ml/h. Kljub temu, da so bili ti pogoji najboljši, tudi v tem primeru Taylorjev stožec ni bil popolnoma stabilen. Temu se žal nismo mogli izogniti, kljub številnim poizkusom.

Med procesom elektrostatskega sukanja je bilo potrebno proces na približno 45 min. ustaviti, da smo odstranili strnjen PVA, ki se je nabiral na konici šobe, kajti ob prisotnosti le tega, stabilen Taylorjev stožec ni mogel nastati.

Velikosti napetosti in pretokov, pri kateri je nastal stabilen Taylorjev stožec, smo uporabili kot izhodiščne vrednosti za izdelavo nanovlaken različnih kombinacij z metodo ES s koaksialno šobo, opisanih in narisanih v shemi v uvodu.

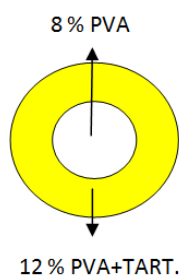
Tabela 3: Parametri ES in obnašanje curka pri različnih parametrih

Napetost	Pretok zunanje faze	Pretok notranje faze	Obnašanje raztopine na konici šobe
15 kV	0,42 ml/h	0,14 ml/h	Nastane kapljica, iz katere izhaja curek. Ni nastanka stabilnega Taylorjevega stožca.
15 kV	0,28 ml/h	0,14 ml/h	Nastane sestavljen Taylorjev stožec, ki ni stabilen. Vsake toliko časa nastane kapljica in odleti proti zbiralu.
17 kV	0,28 ml/h	0,28 ml/h	Nastane sestavljen Taylorjev stožec, ki pa ni stabilen. Vsake toliko časa nastane kapljica a manj pogosto kot pri napetosti 15 kV in odleti proti zbiralu.
20 kV	0,28 ml/h	0,14 ml/h	Lep konstanten sestavljen Taylorjev stožec.
20 kV	0,21 ml/h	0,21 ml/h	Ni stabilnega sestavljenega Taylorjevega stožca, tvorijo se kapljice
20 kV	0,35 ml/h	0,21 ml/h	Ni stabilnega sestavljenega Taylorjevega stožca, tvorijo se kapljice.
20 kV	0,42 ml/h	0,21 ml/h	Stabilen sestavljen Taylorjev stožec, pogosto nastane kapljica, ki odleti proti zbiralu.
22 kV	0,14 ml/h	0,28 ml/h	Nastane kapljica, ki ne odleti, iz nje izhaja stabilen curek. Ni sestavljenega Taylorjevega stožca.
23 kV	0,14 ml/h	0,28 ml/h	Stabilen a kratkotrajen sestavljen Taylorjev stožec. Na vsakih nekaj 10 sekund, se stožec prekine in iz šobe se začne počasi vleči tekočina, ki se oblikuje v kapljico in takoj odleti na zbiralu.

5.3 Izdelava dvoplastnih nanovlaken z vgrajenim tartrazinom in njihovo vrednotenje

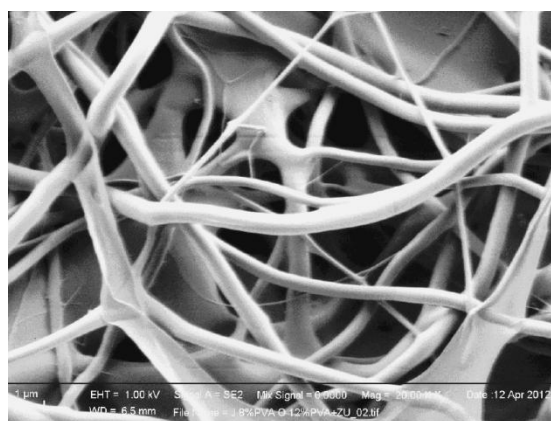
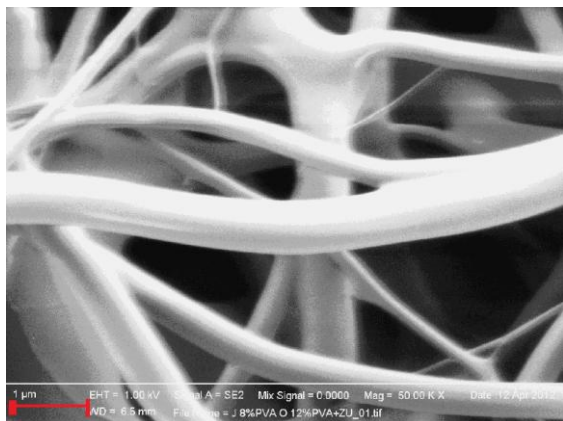
Po oceni procesnih parametrov na podlagi 10 % raztopine PVA, opisanih zgoraj, smo začeli z določitvijo procesnih parametrov za vsako izmed kombinacij dvoplastnih nanovlaken, opisanih v uvodu. Parametri so si bili podobni, a zaradi različnih lastnosti raztopin, so bila vseeno manjša odstopanja. Pri določenih kombinacijah raztopin ni bilo mogoče določiti parametrov pri katerih bi nastal konstanten Taylorjev stožec oz. stabilen curek. To pomeni, da kombinacija ni primerna za izdelavo dvoplastnih nanovlaken z izbrano metodo.

1. kombinacija



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	763.0 nm
SD	127.6 nm
Min	626.5 nm
Max	972.0 nm

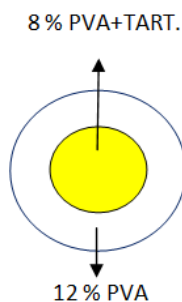
Parametri ES	
Napetost izvora	22 kV
Pretok notranje faze	0,14 ml/h
Pretok zunanje faze	0,28 ml/h
Razdalja do zbirala	15 cm



Slika 23: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 1. kombinacije

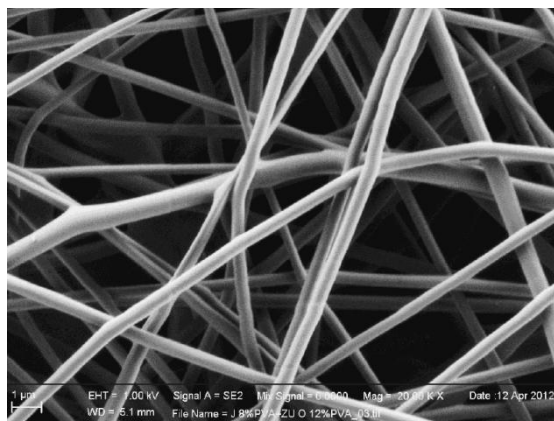
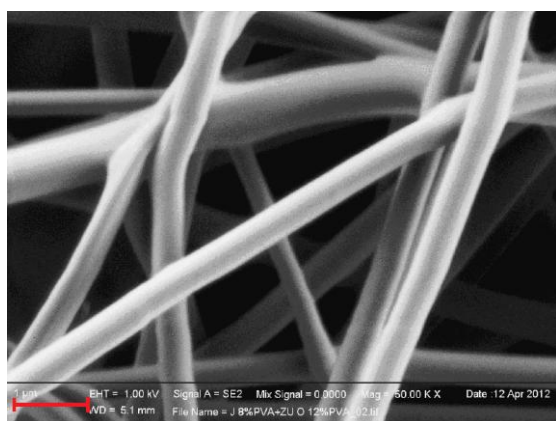
Pri 1. kombinaciji, kjer je bila zunanja faza 12 % PVA s tartrazinom, notranja pa 8 % PVA, so nastala nehomogena vlakna. Debelina vlaken je nihala od 600 nm do 1000 nm. Iz slike tudi vidimo, da so nastajali otočki polimernega filma, kajti pri izdelavi nismo mogli doseči stabilnega curka zaradi česar so nastajale kapljice, ki so odletele na zbiralo. Ta kombinacija ni primerna za izdelavo nanovlaken, kajti kljub trudu, pogojev za stabilen curek nismo mogli vzpostaviti. Najbolj problematična je bila prevelika viskoznost zunanje faze, zaradi katere pri nižjih napetosti ni prišlo do tvorbe curka, ko pa smo napetost povečali, pa so začele nastajati kapljice.

2. kombinacija



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	519.8 nm
SD	102.0 nm
Min	433.9 nm
Max	674.0 nm

Parametri ES	
Napetost izvora	21,7 kV
Pretok notranje faze	0,14 ml/h
Pretok zunanje faze	0,35 ml/h
Razdalja do zbirala	15 cm

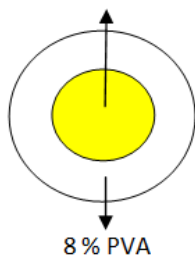


Slika 24: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 2. kombinacije

Pri tej kombinaciji so nastala homogena nanovlakna, brez vozlov. Povprečen premer vlaken je znašal 520 nm, SD pa 102 nm. Ta kombinacija se nam je zdela bolj primerna za izdelavo nanovlaken s prirejenim sproščanjem, kot pa 3. kombinacija. Razlog za to pa je v tem, da smo pri tej kombinaciji lažje dosegli konstanten Taylorjev stožec, manj je bilo tudi nestabilnosti in prekinitev curka.

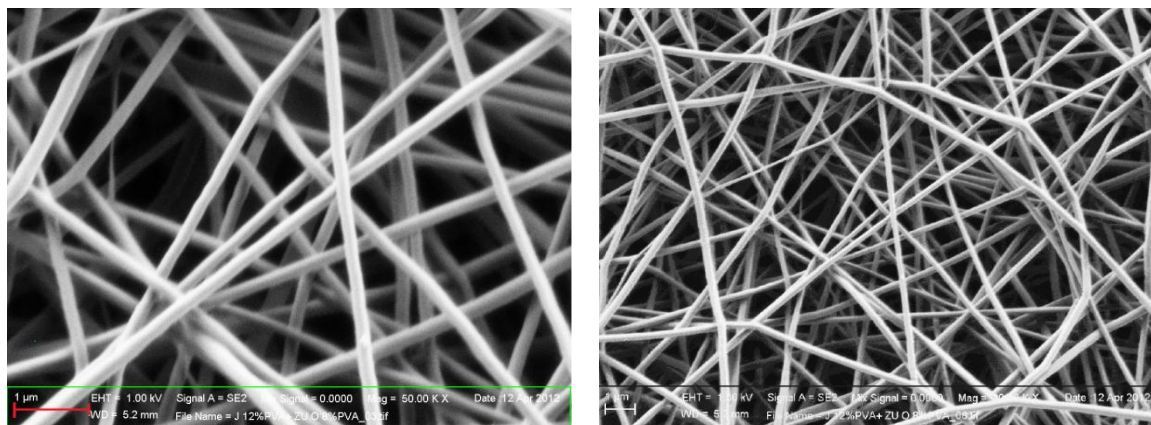
3. kombinacija

12 % PVA+TART.



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	191.6 nm
SD	178.8 nm
Min	176.5 nm
Max	222.5 nm

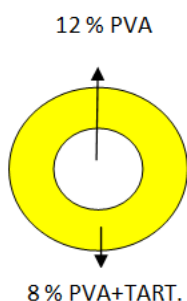
Parametri ES	
Napetost izvora	18,7 kV
Pretok notranje faze	0,21 ml/h
Pretok zunanje faze	0,42 ml/h
Razdalja do zbirala	15 cm



Slika 25: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 3. Kombinacije

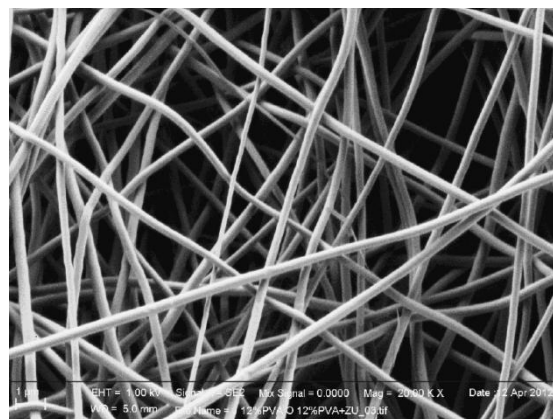
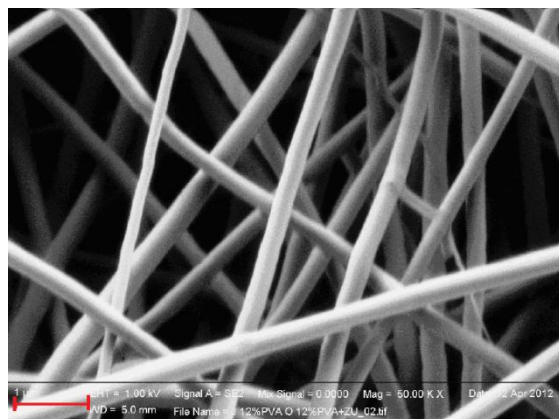
Pri tej kombinaciji so nastala gladka nanovakna s povprečnim premerom 191 nm, kar je za več kot pol manjše, kot v primeru 2. kombinacije. Vzrok je v tem, da se bolj koncentriran 12 % PVA nahaja v notranji fazi, pretok notranje faze pa je manjši, zato nastanejo nanovlakna z manjšim premerom kot pri 2. kombinaciji. Tudi tu ni opaziti prisotnosti vozlov, SD pa je večja kot pri 2. kombinaciji, kar kaže na večjo heterogenost premera izdelanih vlaken. Curek je bil tudi bolj nestabilen kot pri 2. kombinaciji.

4. kombinacija



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	334.4 nm
SD	37.1 nm
Min	278.4 nm
Max	392.4 nm

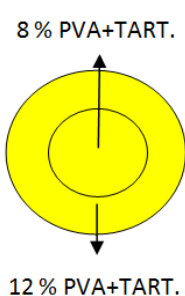
Parametri ES	
Napetost izvora	19,1 kV
Pretok notranje faze	0,21 ml/h
Pretok zunanje faze	0,42 ml/h
Razdalja do zbirala	15 cm



Slika 26: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 4. kombinacije

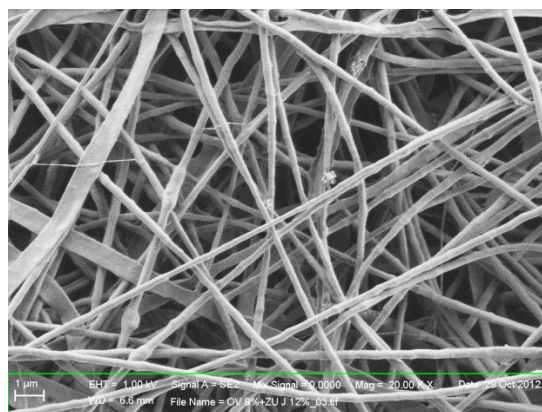
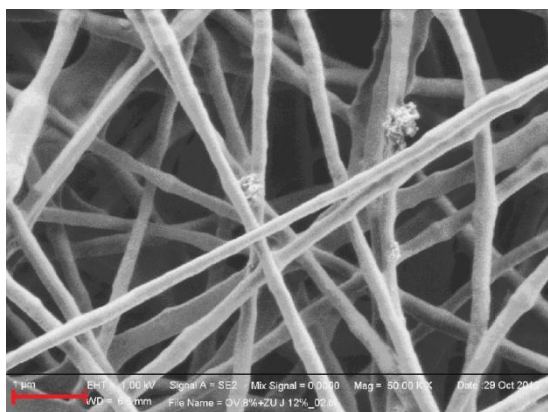
Vlakna, ki so nastala pri uporabi kombinacije, narisane zgoraj, so gladka, povprečen premer znaša 334 nm, SD pa 37,1 nm, kar pomeni, da so nastala zelo homogena vlakna. Debelina oz. premer nanovlaken je bil pričakovano manjši od premera vlaken, pri kateri sta zunanji in notranji fazi zamenjani zato, ker je faza, v kateri je bolj koncentriran PVA, notranja, katere pretok je manjši za polovico od zunanje, zato je prisotnih manj polimernih verig in posledično je manjši premer.

5. kombinacija



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	396.8 nm
SD	181.5 nm
Min	265.1 nm
Max	728.8 nm

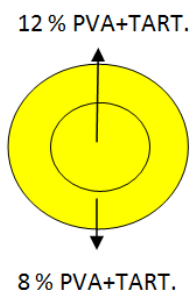
Parametri ES	
Napetost izvora	19,5 kV
Pretok notranje faze	0,21 ml/h
Pretok zunanje faze	0,35 ml/h
Razdalja do zbirala	15 cm



Slika 26: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 5. Kombinacije

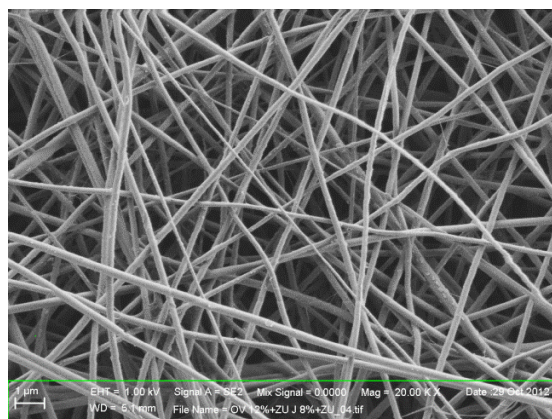
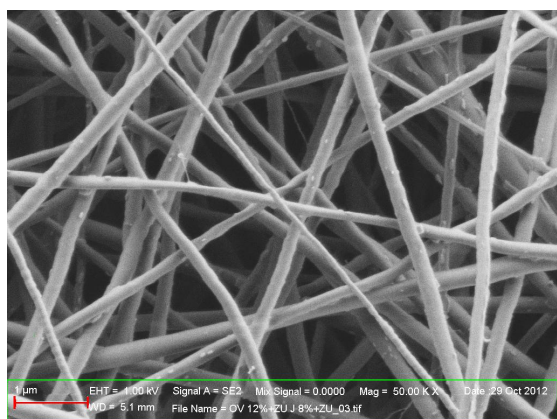
Vlakna so zelo različnih debelin. Povprečen premer znaša 397 nm, SD znaša 181.5 nm. Kot je vidno iz slik, so prisotni zelo široki trakovi vlaken, katerih premer znaša več kot 500 nm. Vidni so tudi manjši delčki, najverjetneje so to delci tartrazina, ki so precipitirali med izdelavo nanovlaken. Vlakna so, na nekaterih mestih, močno zadebeljena. Pričakovali smo, da vlakna ne bodo nastala, kot pri 1. kombinaciji, kajti notranja faza vsebuje tartrazin, ki ne vpliva pomembno na viskoznost 8 % PVA. Najverjetneje so lepša vlakna nastala zaradi zmanjšanja površinske napetosti notranje faze, zaradi dodatka tartrazina, kar poveča medfazno napetost med obema raztopinama. To pa, kot je razvidno iz slik, ugodno vpliva na nastanek vlaken.

6. kombinacija



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	246.8 nm
SD	47.4 nm
Min	188.5 nm
Max	324.6 nm

Parametri ES	
Napetost izvora	18,7 kV
Pretok notranje faze	0,21 ml/h
Pretok zunanje faze	0,42 ml/h
Razdalja do zbirala	15 cm



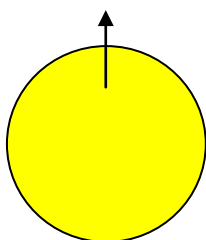
Slika 28: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 6. kombinacije

Povprečni premer teh vlaken znaša 247 nm, kar se sklada z našimi pričakovanji, kajti prevodnost obeh raztopin je večja od prevodnosti raztopin pri 4. kombinaciji, kar, kot že omenjeno v uvodu, povzroči nastanek vlaken manjšega premera. Vlakna imajo enakomerno debelino, na površini pa so prav tako vidni delci, ki so najverjetneje posledica precipitiranega tartrazina.

Nanovlakna izdelana s pomočjo enostavne šobe

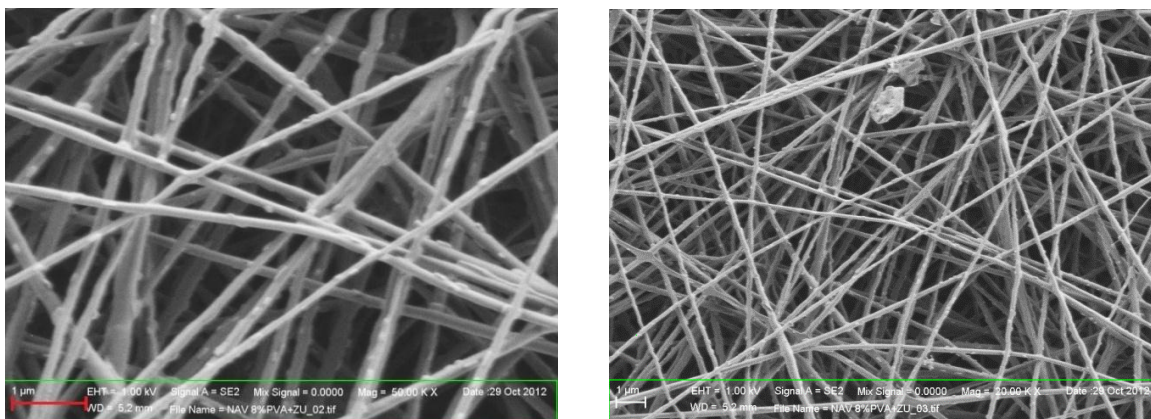
7. kombinacija

8 % PVA+TART.



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	156,7 nm
SD	18, 7 nm
Min	141,4 nm
Max	182,0 nm

Parametri ES	
Napetost izvora	15 kV
Pretok raztopine	0,56 ml/h
Razdalja do zbirala	15 cm

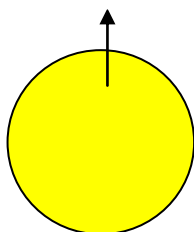


Slika 29: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 7. kombinacije

Povprečni premer nanovlaken, izdelanih z elektrostatskim sukanjem z enostavno šobo znaša 156,7 nm, kar je tudi skladno z našimi pričakovanji, kajti glede na koncentracijo polimera, je pri izdelavi teh vlaken najmanjši volumski pretok in zato smo pričakovali tudi najmanjši premer vlaken. Razpršenost velikosti premera vlaken je tudi zelo majhna (SD je znašal 66,6 nm). Na površini je viden precipitiran tartrazin, na desni sliki pa je vidna tudi večja nepravilnost - najverjetneje nečistota, s katero je bil kontaminiran vzorec po izdelavi.

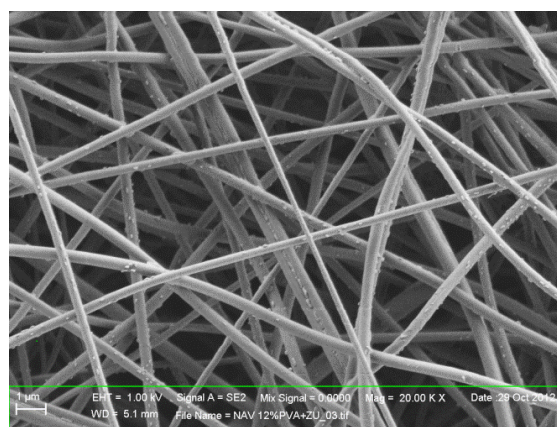
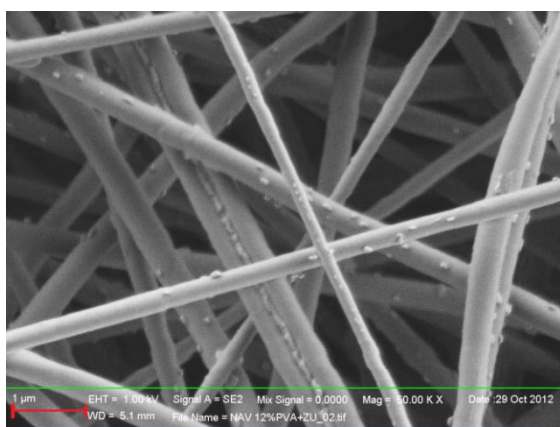
8. kombinacija

12 % PVA+TART.



Premer nanovlaken	
Povprečna vrednost	348,6 nm
SD	66, 6 nm
Min	225,6 nm
Max	399,5 nm

Parametri ES	
Napetost izvora	19 kV
Pretok raztopine	0,56 ml/h
Pretok zunanje raztopine	15 cm

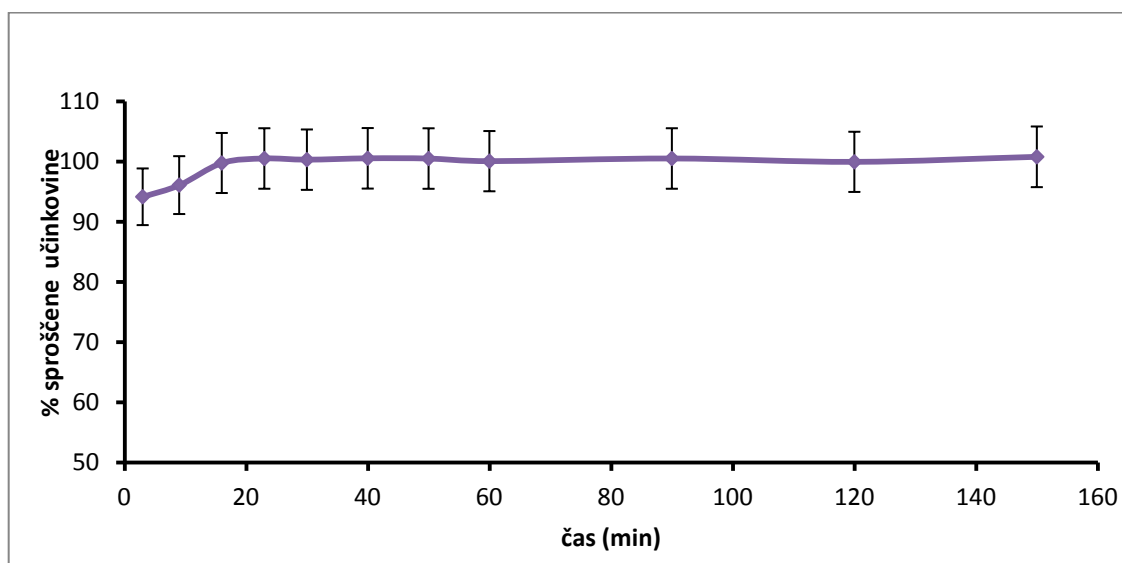


Slika 30: Parametri, shema ter SEM posnetki nanovlaken 8. kombinacije

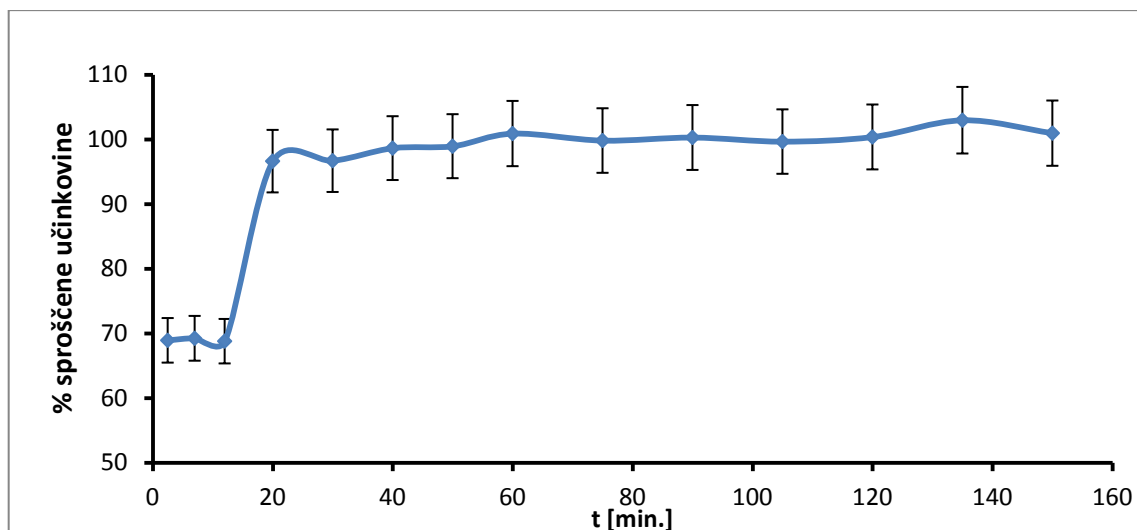
Pri elektrostatskem sukanju z navadno šobo 12 % raztopine PVA so nastala nanovlakna s povprečnim premerom 348,6 nm, kar je več kot 2 krat večji kot pri nanovlaknih, ki so nastala iz 8 % raztopine PVA. Kot je razvidno, porast debeline ni sorazmerna s povečanjem koncentracije. Razlog je najverjetneje v tem, da vplivajo tudi drugi parametri (prevodnost in viskoznost, ki se spremenita ob dodatku tartrazina in uporabi raztopine PVA v večji koncentraciji). Na sliki so vidni tudi delci precipitiranega tartrazina na površini vlaken.

5.4 Sproščanje tartrazina iz izdelanih nanovlaken

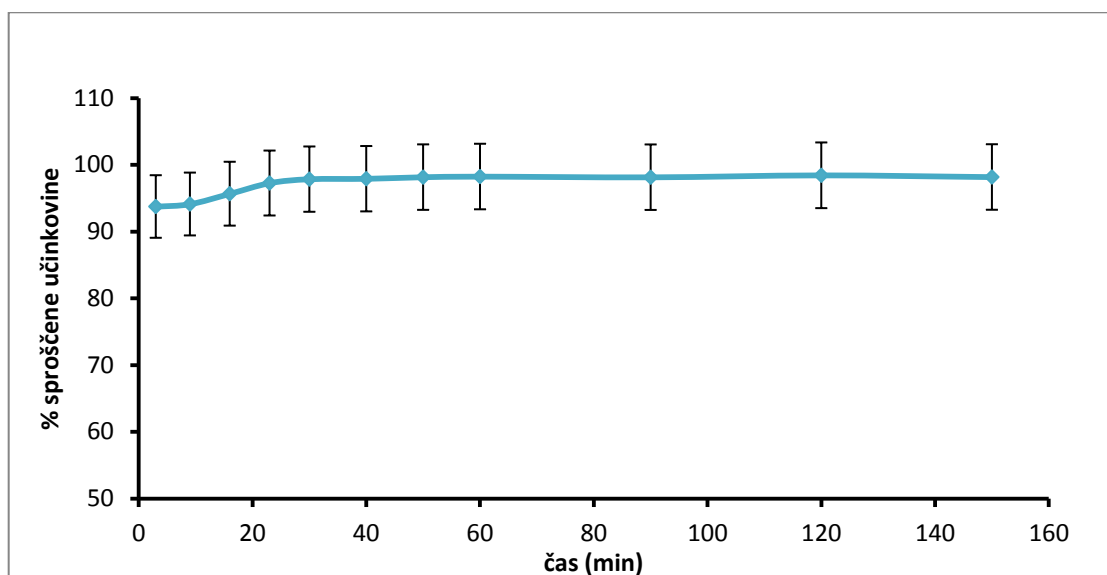
V zadnji fazi diplomske naloge smo izvedli test sproščanja tartrazina iz nanovlaken, izdelanih z različnimi kombinacijami polimera. Pri kombinacijah, ki imajo v zunanji fazi vgrajen tartrazin in pri navadnih nanovlaknih s tartrazinom, nismo pričakovali prirejenega sproščanja ali razliko v profilih sproščanja, naredili smo jih le za določanje vpliva posameznih parametrov na uspešnost izdelave vlaken in za primerjavo med vlakni, pri katerih smo pričakovali prirejeno sproščanje.



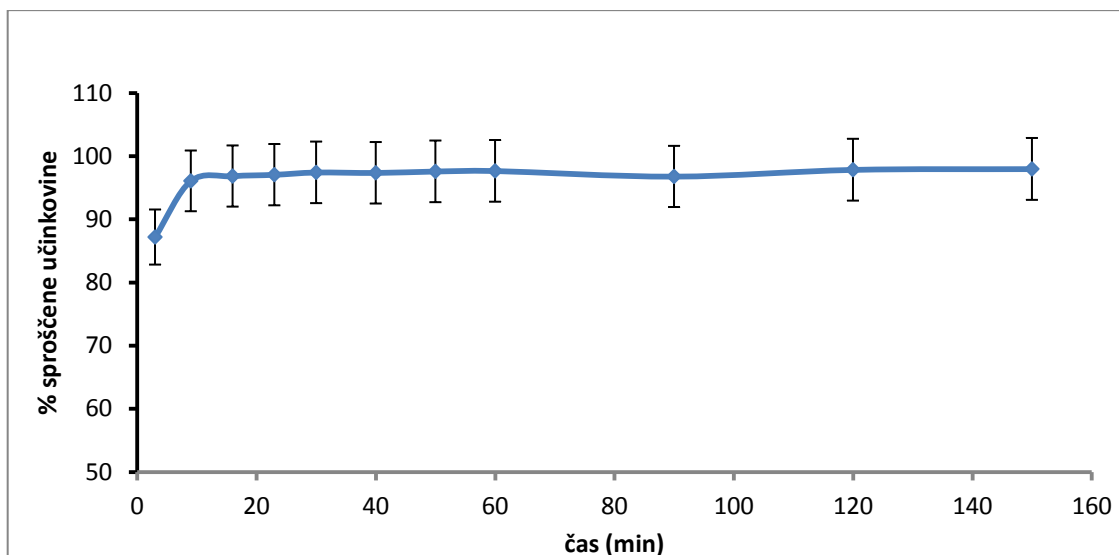
Graf 16: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 1**: Jedro: 8 % PVA; ovojnica: 12% PVA+ tartrazin .



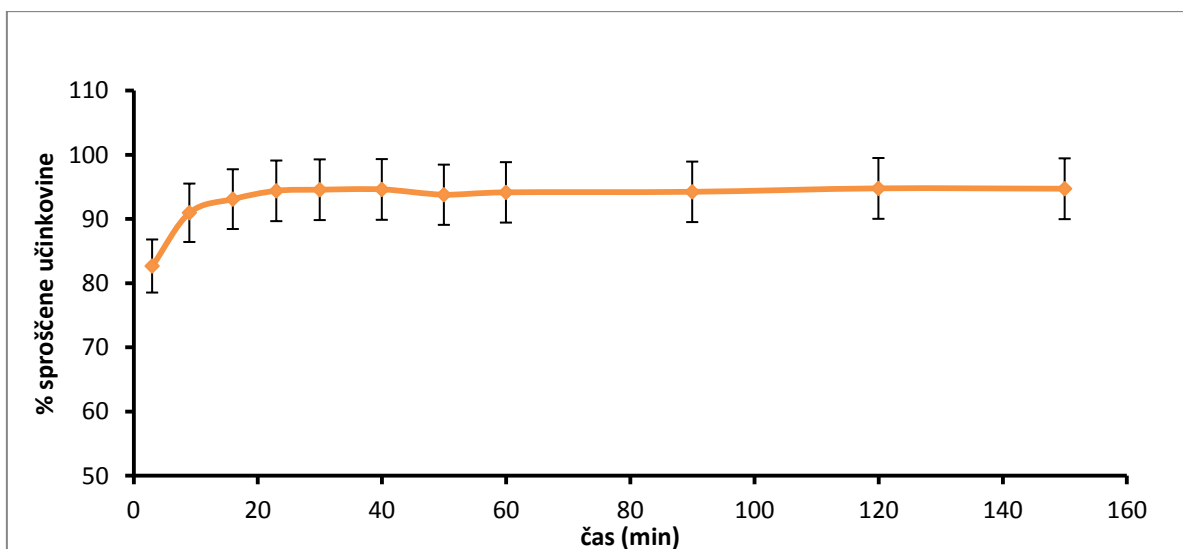
Graf 17: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 2**: Jedro: 8 %
PVA+ tartrazin; ovojnica: 12% PVA.



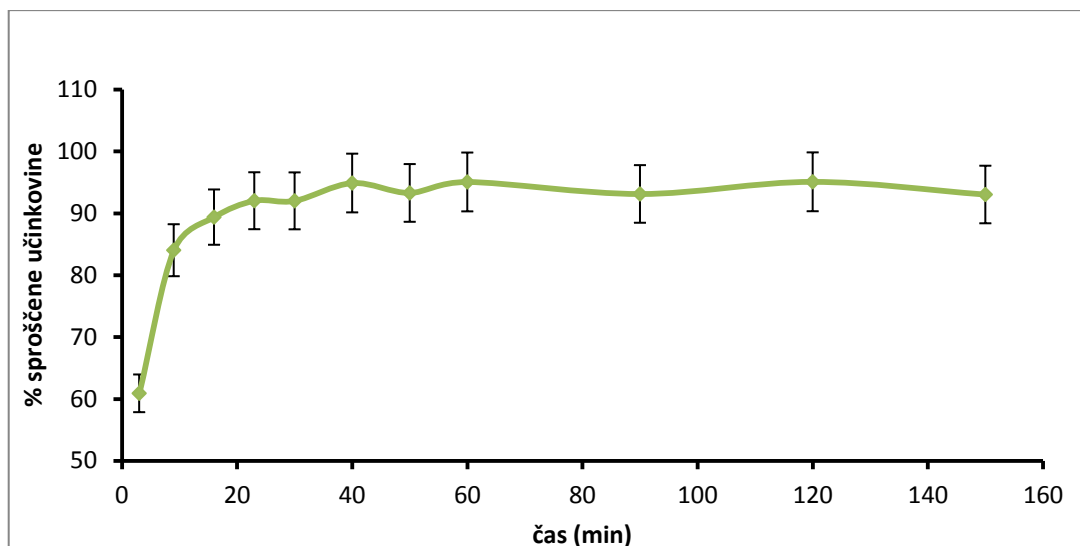
Graf 18: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 3**: Jedro: 12 %
PVA+tartrazin; ovojnica: 8 % PVA.



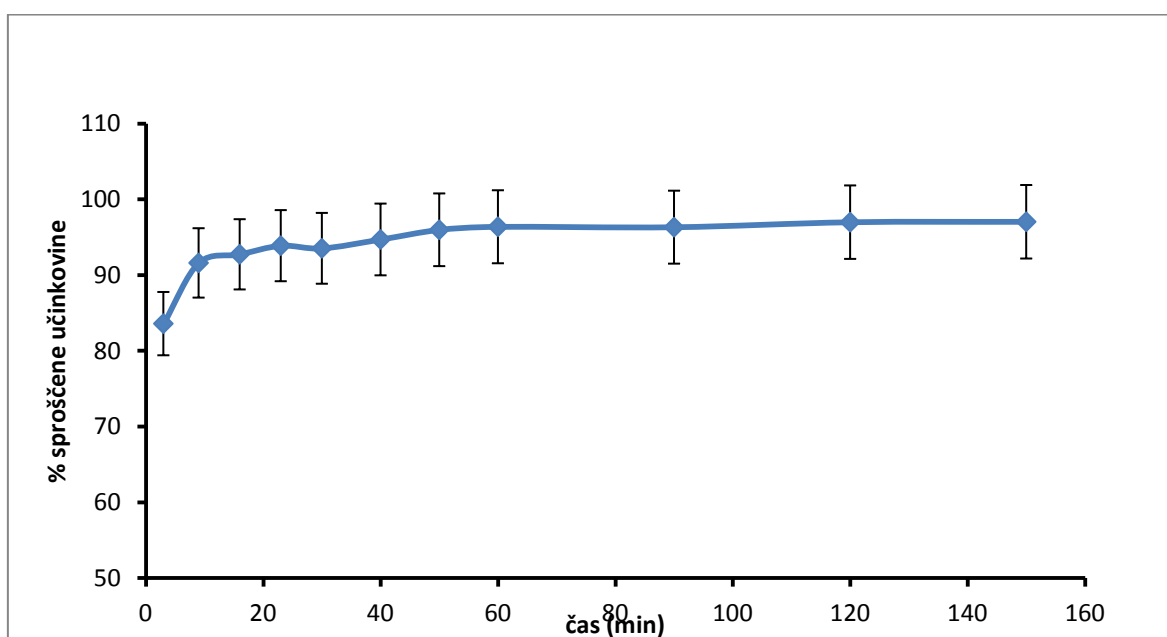
Graf 19: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 4**: Jedro: 12 % PVA; ovojnica: 8 % PVA+tartrazin.



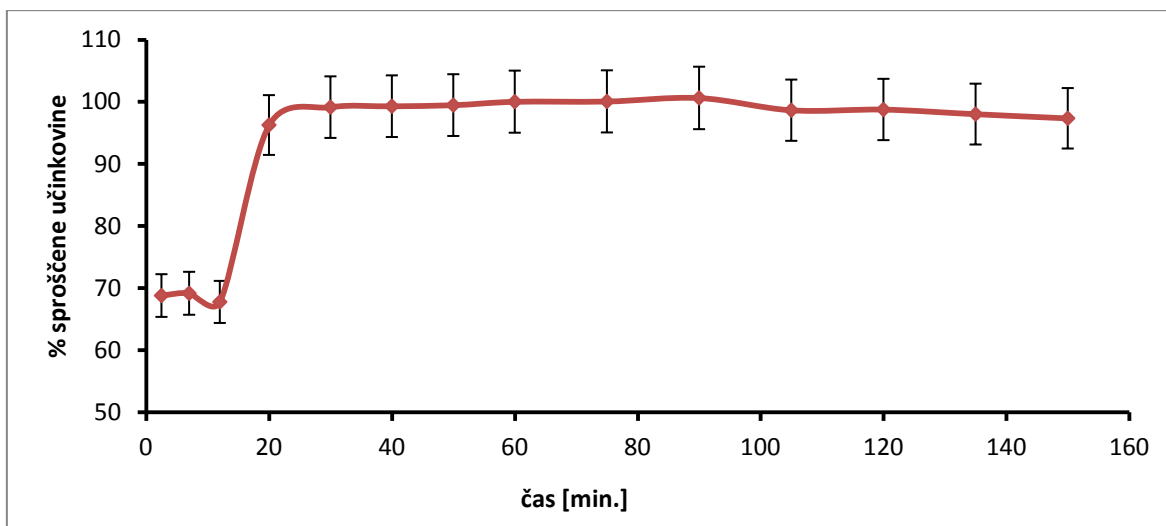
Graf 20: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 5**: Jedro: 8 % PVA+tartrazin; ovojnica: 12 % PVA+tartrazin.



Graf 21: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 6**: Jedro: 12 % PVA+tartrazin; ovojnica: 8 % PVA+tartrazin.



Graf 22: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 7**: 12 % PVA+tartrazin.



Graf 23: Graf koncentracije tartrazina v odvisnosti od časa za **kombinacijo 8:** 8 % PVA+tartrazin.

Koncentracija sproščenega tartrazina se zelo razlikuje glede na kombinacijo nanovlaken, kajti v vsaki kombinaciji smo vgradili različno količino tartrazina, zato smo na y os nanesli odstotek sproščenega tartrazina, tako da smo lahko posamezne profile sproščanja primerjali med seboj. Kot je razvidno iz grafov, pri vseh kombinacijah, po približno 15 - 20 minutah, koncentracija tartrazina doseže največjo vrednost in od te točke naprej le malo oz. sploh ne narašča več, kar pomeni, da se je v tem času sprostila celotna količina tartrazina iz nanovlaken. Pri nekaterih grafih lahko opazimo tudi nihanje koncentracij. To se je pojavilo najverjetneje zato, ker so nekateri vzorci nanovlaken, zaradi majhne mase, kljub dolgotrajnemu elektrostatskemu sukanju, vsebovali nizke koncentracije tartrazina, ki se je, z nadaljnjim dodajanjem topila (drugače bi nam zmanjkalo vzorcev), zmanjševala in v nekaterih primerih približala tudi meji kvantifikacije. Tam pa je natančnost veliko manjša zato je večja tudi napaka meritve.

Zaradi delcev tartrazina, ki se nahaja na površini vlaken, koncentracija tartrazina ob dodatku pufru takoj naraste (t.i. burst effect), delci se raztopijo, kar lahko tudi vidimo, kajti že po prvi meritvi koncentracija v večini primerov znaša od 80 - 90 % končne koncentracije. Najverjetneje je burst effect posledica delcev tartrazina na površini vlaken ali pa tudi posledica hitrega začetnega nabrekanja vlaken, ki omogoči hiter prehod molekul tartrazina iz notranjosti vlaken v pufer.

Kombinaciji, pri kateri smo pričakovali, da bi lahko dosegli prirejeno oz. zadržano sproščanje sta bili 2. in 3., kjer se je tartrazin nahajal v notranji fazi.

Pri 2. kombinaciji vidimo, da je v prvih treh točkah meritev, le majhna porast koncentracije, oz. se ne spreminja, nato pa naglo poraste, isti profil je opaziti tudi pri sproščanju vlaken 7. kombinacije. Možno je, da se je pri teh vlaknih raztopil najprej tartrazin na površini, zato se koncentracija v prvih treh meritvah ne spreminja, nato pa se začne sproščati tudi tartrazin, ki je v notranjosti vlaken zaradi nabrekanja vlaken. Kot je razvidno iz slik, pri 2. kombinaciji skorajda ni videti delcev tartrazina na površini, pri 7. kombinaciji je delcev več, pri 8. kombinaciji pa je delcev na površini zelo veliko. Zanimivo je, da se profila 7. in 8. kombinacije razlikujeta, kajti pričakovali smo, da bosta profila enaka, ker so vlakna narejena z enostavno šobo. Razlika je najverjetneje v tem, da se pri 8. kombinaciji zaradi velike koncentracije polimera, zelo velik delež tartrazina nahaja na površini, ta delež je najverjetneje veliko večji kot pri 7. kombinaciji, zato se profila tudi razlikujeta.

Ker se profila 2. in 7. kombinacije ne razlikujeta, pomeni, da sproščanje pri 2. kombinaciji ni zadržano oz. podaljšano.

Pri ostalih kombinacijah vidimo, da koncentracija v začetnih točkah že močno narašča, kar pomeni, da se je večina tartrazina na površini takoj raztopila, zaradi nabrekanja vlaken so tudi molekule tartrazina v notranjosti vlaken hitro prešle v pufer, možno pa je tudi, da je bil delež tartrazina, ki se je dejansko vgradil v vlakna, veliko manjši kot pri 2. kombinaciji in 8 % PVA vlaken, narejenih z enostavno šobo. To je razvidno tudi iz slik, kajti pri 2. kombinaciji delcev sploh ni videti, medtem ko so pri vseh drugih vidni.

6. RAZPRAVA:

Kot je razvidno iz parametrov elektrostatskega sukanja, pri katerih smo izdelovali različne kombinacije dvoplastnih nanovlaken, univerzalne formule ni. Vsaka kombinacija je zahtevala določitev individualnih parametrov elektrostatskega sukanja za uspešen nastanek stabilnega curka in s tem tudi dvoplastnih nanovlaken. Pri izdelavi vlaken smo procesne parametre prilagajali toliko časa, dokler se ni pojavil stabilen curek. Pri nekaterih kombinacijah tega ni bilo možno doseči, kar pomeni da tistih kombinacij ne moremo uporabiti za izdelavo dvoplastnih nanovlaken. Ker so imele raztopine polivinil alkohola, iz katerih smo izdelali nanovlakna, različne koncentracije, reološke lastnosti, prevodnost ter površinsko napetost, smo določili vpliv le-teh na sam proces izdelave ter vpliv na morfologijo nanovlaken. Prav tako smo opazovali vpliv parametrov, ki smo jih spreminjali (napetost, pretok obeh raztopin) na proces izdelave ter ocenili tudi te vplive.

6.1 Vpliv koncentracije raztopin na nastanek in morfologijo nanovlaken:

Pri izdelavi vlaken z metodo elektrostatskega sukanja z enostavno šobo smo ugotovili, da večja kot je koncentracija raztopine polimera, večji je tudi premer nanovlaken (pri istem volumskem pretoku raztopine polimera). Premer najverjetneje poraste zaradi večjega števila polimernih verig v raztopini in prepletanja le teh. Poleg tega ima raztopina z večjo koncentracijo tudi večji elastični modul, kar pomeni, da so pri samem procesu elektrostatskega sukanja tudi večje viskoelastične sile, ki preprečujejo raztegnitev curka in s tem tanjšanje nanovlaken. Premer ne narašča premo sorazmerno s koncentracijo polimerne raztopine in sicer zaradi vpliva drugih parametrov raztopin (viskoznost, prevodnost).

V primeru izdelave dvoplastnih nanovlaken z uporabo koaksialne šobe je vpliv koncentracije bolj kompleksen. Če v fazi z večjim volumskim pretokom od notranje (v našem primeru zunanja) uporabimo polimerno raztopino z večjo koncentracijo, v notranji fazi pa polimerno raztopino z manjšo koncentracijo, nastanejo nanovlakna z večjim premerom, kot pa če sta polimerni raztopini zamenjani (polimerna raztopina z večjo koncentracijo v notranji fazi z manjšim pretokom, polimerna raztopina z manjšo koncentracijo v zunanji fazi z večjim pretokom).

6.2 Vpliv prevodnosti na nastanek in morfologijo nanovlaken

Ugotovili smo, da večja skupna prevodnost (vsota prevodnosti raztopine zunanje faze in prevodnosti raztopine notranje faze) povzroči, da je povprečni premer izdelanih dvoplastnih nanovlaken manjši v primerjavi z uporabljenimi raztopinami z manjšo skupno prevodnostjo.

Opazili smo tudi velik vpliv prevodnosti notranje faze na stabilnost Taylorjevega stožca oz. curka. Pri kombinacijah z večjo prevodnostjo notranje faze (ker vsebuje tartrazin) smo lažje dosegli Taylorjev stožec, le ta pa je bil tudi bolj stabilen. Z zvečanjem prevodnosti notranje faze lahko tudi kompenziramo preveliko viskoznost zunanje raztopine in tako lažje dosežemo stabilen Taylorjev stožec, v primerjavi z raztopino notranje faze z manjšo prevodnostjo. Najverjetneje zato, ker so, ob apliciranju električne napetosti, elektrostatske odbojne sile, ki podaljšujejo curek in s tem zmanjšujejo premer vlaken, večje pri bolj prevodnih raztopinah in tako bolj kompenzirajo večjo viskoelastično silo zaradi večje viskoznosti zunanje faze in posledično večjega elastičnega modula, ki nasprotuje podaljševanju in stabilizaciji curka.

6.3 Vpliv reoloških lastnosti na izdelavo nanovlaken

Zelo pomemben reološki parameter, ki vpliva na izdelavo nanovlaken, je viskoznost polimernih raztopin. Medtem ko ima viskoznost notranje raztopine manjši vpliv na izdelavo nanovlaken, pa viskoznost zunanje raztopine pomembno vpliva na nastanek in izdelavo nanovlaken. Viskoznost zunanje raztopine ne sme biti premajhna, problemi pa se lahko pojavijo tudi če je prevelika, kar se je zgodilo pri nekaterih kombinacijah polimernih raztopin, iz katerih smo izdelovali nanovlakna. Kot že omenjeno ima bolj viskozna raztopina tudi večji elastični modul. To se odraža predvsem pri podaljševanju curka, kjer bolj elastične raztopine preprečujejo raztegnitev curka. Posledica tega je, da nastanejo nanovlakna z večjim premerom kot pa v primeru manj viskozne raztopine (z manjšim elastičnim modulom). Zaradi bolj izraženega elastičnega modula je pri izdelavi zelo težko doseči tudi stabilen curek.

Zaradi velikega povečanja razmerja med površino in volumenom, med procesom elektrostatskega sukanja, ima zelo pomembno vlogo tudi medfazna reologija, ki je še dokaj neraziskano področje, naj bi pa imela zelo velik vpliv na napovedovanje uspešnega elektrostatskega sukanja. V našem primeru so bili medfazni reološki parametri (viskoznost, elastični in plastični modul), podobni kot pri klasični reologiji, le da so bile vrednosti

parametrov za približno 10-krat manjše. Ker je raziskovanje vpliva medfazne reologije na proces ES še v začetnih fazah, bo potrebno ta vpliv še nadalje raziskati.

6.4 Vpliv napetosti na izdelavo nanovlaken

Stabilen curek se vzpostavi le v ozkem območju napetosti, ki se imenuje kritična napetost, in jo je potrebno določiti eksperimentalno. Ta napetost je v našem primeru znašala od 18-21 kV. Pri večji napetosti je v večini primerov nastalo več curkov, ki so izhajali iz raztopine na konici. Pri manjših napetostih pa je na konici šobe nastala kapljica. V obeh primerih ne moremo govoriti o dvoplastni strukturi vlaken, kajti jedrna raztopina se takrat zagotovo ni vgradila v ovojnico.

S spreminjanjem napetosti zmanjšujemo ali povečujemo elektrostatsko privlačno silo, ki vleče curek do zbirala, poleg tega pa se z višanjem aplicirane napetosti povečujejo tudi odbojne sile med enako nabitimi delci v curku, kar povzroči tanjšanje curka. Obstaja tudi močna povezava med napetostjo, viskoznostjo raztopine zunanje faze in prevodnostjo raztopin. Pri dodatku modelne učinkovine – tartrazina, se poveča prevodnost raztopin, prav tako tudi viskoznost 12 % raztopine PVA, kar vpliva na aplicirano napetost, ki je bila potrebna za nastanek stabilnega curka.

Ugotovili smo, da je potrebna napetost, pri kateri nastane stabilen curek, manjša pri kombinacijah raztopin z večjo skupno prevodnostjo v primerjavi s kombinacijami raztopin z manjšo skupno prevodnostjo, pri enakih pretokih. Razlog gre pripisati večji vsebnosti ionov v raztopinah, ki povečajo prevodnost, zato je za dovolj veliko elektrostatsko silo, ki vleče curek do zbirala, potrebna manjša napetost.

6.5 Vpliv pretoka zunanje in notranje faze

Ugotovili smo, da mora biti pretok zunanje faze večji od pretoka notranje faze, da se zagotovi kontinuirano oblaganje jedra z raztopino ovojnice, kar se sklada tudi z izsledki iz drugih študij. Skupni pretok raztopin pri izdelavi vseh kombinacij dvoplastnih nanovlaken je znašal od 0,49 ml/h do 0,63 ml/h, v primeru elektrostatskega sukanja z enostavno šobo pa je znašal 0,57 ml/h, kar pomeni da so pretoki podobni. Pri izdelavi dvoplastnih nanovlaken smo za vsako kombinacijo uporabili različen pretok, da smo dosegli stabilen curek. Zaradi velike povezave procesnih parametrov (napetosti, pretoka) in parametrov raztopin (koncentracija, reološke lastnosti in prevodnost) nismo mogli narediti jasnih zaključkov glede vpliva pretoka.

6.6 Sproščanje

Z izdelavo dvoplastnih vlaken smo poizkusili doseči prirejeno oz podaljšano sproščanje tartrazina iz nanovlaken. Rezultati kažejo, da s kombinacijami nanovlaken, ki smo jih izdelali, to ni mogoče. Večina tartrazina se sprosti v prvih nekaj minutah. Najverjetneje je, da vlakna popolnoma nabreknejo takoj, ko jim dodamo pufer. Pri tem nastanejo pore, skozi katere lahko tartrazin brez težav preide v pufer. Poleg tega je tartrazin prisoten tudi na površini vlaken. Ta se ob stiku z vodo takoj raztopi.

7. SKLEP

Za diplomsko nalogo smo si zadali cilj izdelati dvoplastna nanovlakna z metodo elektrostatskega sukanja s koaksialno šobo. Naš prvi izziv je bil postavitve sistema za elektrostatsko sukanje s koaksialno šobo, kar smo izvedli brez večjih problemov. Za polimerne raztopine, iz katerih smo izdelali dvoplastna nanovlakna, smo izbrali polivinil alkohol v koncentracijah 8 % in 12 % in z dodanim tartrazinom (10 % m/m glede na maso polimera) ali brez. Tartrazin smo uporabili kot modelno spojino pri testu sproščanja iz nanovlaken.

Nato smo 8 % in 12 % raztopinam PVA določili reološke lastnosti, prevodnost in površinsko napetost, saj naj bi te lastnosti odločilno vplivale na uspešnost elektrostatskega sukanja dvoplastnih nanovlaken. Sledila je izdelava testnih vlaken za oceno procesnih parametrov, ki smo jih nadalje uporabili za izdelavo dvoplastnih nanovlaken. Za obe fazi smo v tem primeru uporabili 10 % PVA z dodanim 10 % m/m tartrazinom glede na maso polimera. Pogoji, pri katerih se je pojavil stabilen Taylorjev stožec so bili pri napetosti 20 kV, pretoku notranje faze 0,14 ml/h, pretoku zunanje faze 0,28 ml/h in razdalji do zbirala 15 cm. Ti parametri so nam služili kot izhodišče pri izdelavi različnih kombinacij dvoplastnih nanovlaken iz 8 % in 12 % PVA. Izdelali smo različne kombinacije dvoplastnih nanovlaken, za vsako posebej pa smo morali določiti optimalne procesne parametre, pri katerih je nastal stabilen curek. Le v tem primeru nastanejo dvoplastna nanovlakna. Pri nekaterih to ni bilo mogoče, kar pomeni, da ta kombinacija ni ugodna za elektrostatsko sukanje. Na podlagi izdelanih vlaken in parametrov smo ugotavljali vpliv posameznih parametrov raztopin in samega postopka na uspešnost izdelave vlaken.

Ugotavljali smo tudi, kako nekateri parametri raztopin in samega procesa, ki so opisani v nadaljevanju, vplivajo na morfologijo in uspešnost izdelave nanovlaken:

- Večja koncentracija polimera v zunanji fazi povzroči povečanje premera celotnih nanovlaken.
- Ugotovili smo, da je prevodnost raztopin PVA s tartrazinom veliko večja od prevodnosti raztopin brez tartrazina, kajti z dodatkom te spojine v polimerno raztopino vnesemo dodatne ione. Večja skupna prevodnost raztopin ugodno vpliva na izdelavo dvoplastnih nanovlaken, kajti omogoči nam nastanek bolj stabilnega curka. Nastala vlakna imajo manjši premer v primerjavi z raztopinami z manjšo skupno prevodnostjo.

- Vpliv reoloških lastnosti: z dodatkom tartrazina se poveča viskoznost 12 % raztopini PVA medtem ko se 8 % raztopini PVA ne poveča pomembno. Prevelika viskoznost zunanje faze onemogoča uspešno izdelavo dvoplastnih nanovlaken, kljub močnemu povečanju napetosti izvora. Za uspešno izdelavo viskoznost zunanje faze ne sme biti ne premajhna in ne prevelika. Zgornja meja je bila v našem primeru 1,4 – 1,5 Pa*s. Preveliko viskoznost zunanje faze lahko kompenziramo z večjo prevodnostjo notranje faze. Polimerna raztopina 12 % PVA ima bolj izražen tudi elastičen modul, zato je potrebna večja elektrostatska sila, da nastane curek, ki potuje proti zbiralu kajti z večjim elastičnim modulom se večajo viskoelastične sile, ki nasprotujejo podaljševanju curka in potovanju proti zbiralu.
- Pri raztopinah z večjo skupno prevodnostjo, so bile uporabljene napetosti manjše, v primerjavi z uporabljenimi raztopinami z manjšo skupno prevodnostjo.
- Pretok zunanje raztopine mora biti večji od pretoka notranje raztopine. Pretok raztopin je tudi močno povezan z drugimi parametri raztopin in samega procesa.

Ugotovitve, podkrepljene z eksperimentalnimi podatki, se skladajo z drugimi študijami izdelave vlaken z metodo elektrostatskega sukanja s koaksilano šobo.

Pri sproščanju tartrazina iz nanovlaken smo opazovali profile sproščanja. Iz grafov je bilo razvidno, da se ne razlikujejo pomembno in da nismo dosegli prirejenega ali zadržanega sproščanja. Večina tartrazina se iz vlaken sprostí že po 15 – 20 minutah. To se najverjetneje zgodi zaradi nabrekanja PVA, pri tem nastanejo pore ki omogočijo, da se tartrazin hitro sprostí. Za doseg prirejenega sproščanja bi bilo najverjetneje potrebno uporabiti drugačno kombinacijo polimerov (netopni v vodi ali ki zelo počasi nabrekajo npr. PCL, hitosan). Ker pa bi prirejeno sproščanje predstavljalo tudi dokaz da so izdelana vlakna res dvoplastna, je nastanek le teh potrebno potrditi. Ker pa je proces izredno težaven, prav tako tudi niso na voljo naprave za detekcijo, je analizna metoda za preverjanje dvoplastne strukture še v izdelavi.

V diplomski nalogi smo prišli do osnovnih ugotovitev, ki bodo služile za postavitev osnovnih temeljev za izdelavo dvoplastnih nanovlaken tudi iz drugih polimerov.

8. LITERATURA

1. Langer R, Vacanti J: Tissue engineering. Science 1993; 260: 920–6.
2. Hoerstrup S, Vacanti J: Overview of tissue engineering. Biomaterial science: an introduction to materials in medicine 2004, 712–27.
3. Yoshimoto H, Shin Y, Terai H, Vacanti J: A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. Biomaterials 2003; 24(12): 2077-82.
4. Chandrasekaran A, Venugopal J, Sundarrajan S, Ramakrishna S: Fabrication of a nanofibrous scaffold with improved bioactivity for culture of human dermal fibroblasts for skin regeneration. Biomedical materials 2011; 6(1): 015001/1–015001/10
5. Yu D, Zhu L, White K, Branford C: White Electrospun nanofiber-based drug delivery systems. Health 2009; 2: 67-75
6. Heričko Ž: Izdelava polimernih nanovlaken z metodo elektrorazprševanja in njihovo vrednotenje: Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani 2011, Ljubljana; diplomska naloga
7. Huang Z, Zhang Y, Kotaki M, Ramakrishna S: A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. Composites Science and Technology 2003; 63: 2223- 2253
8. Thompson C, Chase G, Yarin A, Renker D: Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. Polymer 2007; 48: 6913- 6922
9. Yarin A, Zussman E, Wendorff J, Greiner A: Material encapsulation and transport in core-shell micro/nanofibers, polymer and carbon nanotubes and micro/nanochannels. Journal of Materials Chemistry 2007; 12: 2585-2599
10. Yoo H, Kim T, Park T: Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery. Advanced Drug Delivery 2009; 61: 1033- 1042
11. Moreno I, González V, Romero-García J: Control release of lactate dehydrogenase encapsulated in poly (vinyl alcohol) nanofibers via electrospinning. European Polymer Journal 2011; 6: 1264–1272

12. Sun Z, Zussman E, Yarin A, Wendorff J, Greiner A: Compound Core–Shell Polymer Nanofibers by Co-Electrospinning. *Advanced materials* 2003; 22: 1929-1932
13. Moghe A, Gupta B: Co-axial Electrospinning for Nanofiber Structures: Preparation and Applications. *Polymer Reviews* 2008; 2: 353-377
14. Sill T, von Recum H: Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials* 2008; 26: 1989-2006
15. Yu D, Zhu L, White K, Brandford-White C: Electrospun nanofiber–based drug delivery systems. *Health* 2009; 2: 67-75
16. Deitzel J, Kleinmeyer J, Harris D, Beck-Tan N: The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer* 2001; 42: 261- 272
17. Jiang H, Hu Y, Li Y, Zhao P, Zhu K, Chen W: A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun nanofibers for controlled release of bioactive agents. *Journal of Control Release*. 2005; 108: 237- 243
18. Reneker D, Yarin A, Zussman E, Xu H: Electrospinning of Nanofibers from Polymer Solutions and Melts. *Advances in Applied Mechanics* 2007; 19: 43-195, 145-346
19. Niu H, Lin T, Wang X: Needleless electrospinning. I. A comparison of cylinder and disk nozzles. *Journal of Applied Polymer Science* 2009; 6: 3524-3530
20. http://www.electro-spinning.com/multi_spinnerets.html
21. Zhang Y, Huang Z, Xu X, Lim C, Ramakrishna S: Preparation of Core–Shell Structured PCL-r-Gelatin Bi-Component Nanofibers by Coaxial Electrospinning. *Chemistry of materials* 2004; 18: 3406-3409
22. Diaz J, Barrero A, Márquez M, Loscertales I: Controlled Encapsulation of Hydrophobic Liquids in Hydrophilic Polymer Nanofibers by Co-electrospinning. *Advanced Functional Materials* 2006; 16: 2110-2166
23. Yu J, Fridrikh S, Rutledge G: Production of submicrometer diameter fibers by two-fluid electrospinning. *Advanced Materials* 2004; 17: 1562-1566

24. Vidic T: Vgrajevanje učinkovine v nanovlakna iz polivinilnega alkohola z elektrostatskim sukanjem. Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani 2012; diplomska naloga
25. Fong H, Chun I, Reneker D: Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer* 1999; 40: 4585–4592
26. Li D, Xia Y: Direct Fabrication of Composite and Ceramic Hollow Nanofibers by Electrospinning. *Nano Letters* 2004; 4(5): 933-938
27. Bhardway N, Kundu S: Electrospinning: A fascinating fiber technique. *Biotechnology Advances* 2010; 28 (3): 325- 347
28. Saxena S: Polyvinyl alcohol: Chemical and technical assessment. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive). 2005; 61
29. Planinšek O, Srčič S, Navodila za vaje pri predmetu fizikalna farmacija. Fakulteta za Farmacijo, Univerza v Ljubljani 2006
30. Kovačič N: Proučevanje povezave med reološkimi lastnostmi polimernih raztopin in sposobnostjo tvorbe nanovlaken z metodo elektrostatskega sukanja. Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani 2011; diplomska naloga
31. Tao J: Effects of Molecular Weight and Solution Concentration on Electrospinning of PVA. Degree of Master of Science in Materials Science and Engineering. Worcester Polytechnic Institute 2003
32. Pelipenko J, Rošic R, Kristl J, Baumgartner S, Kocbek P: Interfacial rheology: An overview of measuring techniques and its role in dispersions and electrospinning. *Acta Pharm* 2012; 62: 123–140