



Elektroprzędzenie nanokompozytowych mat PEO/HA-NSPs

W. Smok ^a, W. Matysiak ^a, T. Tański ^a

^a Politechnika Śląska, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, Zakład Technologii Procesów Materiałowych, Zarządzania i Technik Komputerowych w Materiałoznawstwie
email: weronika.smok@polsl.pl, wiktoria.matysiak@polsl.pl, tomasz.tanski@polsl.pl

Streszczenie: W niniejszej pracy opisano proces wytwarzania kompozytowych nanowłókien PEO/HA-NSPs metodą elektroprzędzenia z roztworu. Do przygotowania roztworu przewodzącego wykorzystano poli(tlenek etylenu) (PEO) i wielkocząsteczkowy kwas hialuronowy (HA) w stosunku PEO:HA 3:1, nanocząstki srebra w formie koloidalnej oraz 60% roztwór kwasu octowego jako rozpuszczalnik. Manipulując odległością dyszy od kolektora (5 i 10 cm) oraz przy zachowaniu stałych pozostałych parametrów wytworzono dwie próbki nanokompozytowych mat. W celu określenia wpływu odległości dyszy od kolektora na morfologię włóknistych mat kompozytowych, zbadano je za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Na podstawie zdjęć SEM wyznaczono średnice włókien. Analiza składu chemicznego EDS potwierdziła obecność nanocząstek srebra w postaci skupisk wewnątrz włókien. Otrzymane nanowłókna były ukierunkowane, jednorodne i nie posiadały defektów w postaci koralików. Dzięki zastosowaniu nanocząstek srebra maty te charakteryzują się wysoką aktywnością antybakteryjną i przeciwgrzybiczą, co predysponuje je do zastosowania w medycynie.

Abstract: The work contains study of PEO/HA-NSPs nanofibers preparation via electrospinning. Electrospinning solution was prepared by dissolving PEO and HA powder in 50% acetic acid and nanosilver particles colloid. Two samples were made by changing distance between electrodes (5 and 10 cm) In order to investigate the morphology of obtained nanofibers the SEM images were taken. Presence of silver nanoparticles was proved by EDS analysis. Produced nanofibers showed no structural defects and had constant diameter value over the entire length of the fiber. The addition of silver provides high antimicrobial and fungal activity.

Słowa kluczowe: elektroprzędzenie, nanokompozyt, nanowłókna, opatrunki.

1. WSTĘP

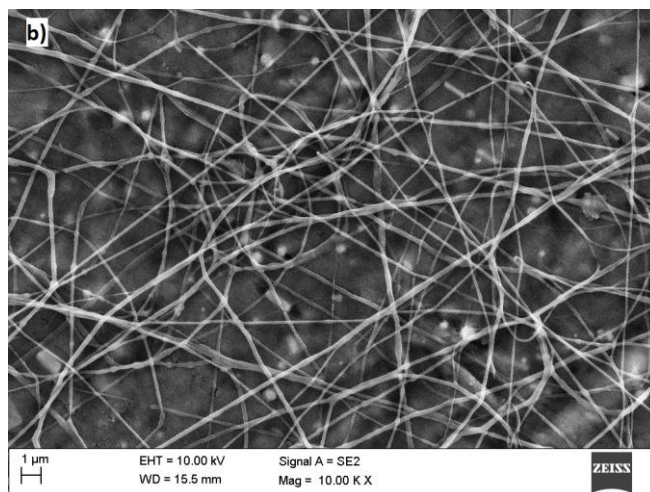
W ostatnich dekadach w medycynie zaobserwować można rosnące zainteresowanie nanomateriałami. Zaslugują one na szczególną uwagę ze względu na swoje unikatowe własności wynikające z ich niewielkich rozmiarów [1,2]. Jednymi z najpopularniejszych

nanomateriałów wykorzystywanych jako biomateriały są obecnie nanowłókna polimerowe, które mogą być wytwarzane wieloma metodami takimi jak ciągnięcie, synteza według szablonu, samoorganizacja molekularna czy metoda rozdziału faz, jednak najczęściej wykorzystywana jest metoda elektroprzędzenia.

Elektroprzędzenie to proces wytwarzania nanowłókien ze stopionych polimerów lub z ich roztworów przy użyciu pola elektrycznego. Włókna otrzymane tą metodą charakteryzują się znaczną długością, nawet do kilku metrów. Metoda ta jest powtarzalna i umożliwia sterowanie własnościami włókien w zależności od zastosowanych parametrów, do których należą napięcie, odległość dyszy od kolektora, przepływ roztworu, temperatura, wilgotność powietrza [3].

Urządzenie do elektroprzędzenia składa się ze zbiornika na polimer zakończonego dyszą, dwóch elektrod, źródła wysokiego napięcia oraz uziemionego kolektora, na którym osadzają się nanowłókna. Polimer wypychany z dyszy zostaje poddany działaniu sił pola elektrostatycznego i uzyskuje kształt włókna, które spiralnym ruchem porusza się w stronę kolektora tworząc nanowłókninę [3, 4].

Konwencjonalne elektroprzędzenie prowadzi do uzyskania mat złożonych z włókien rozmieszczonych chaotycznie (Rys. 1). Celem uzyskania mat o włóknie ukierunkowanym stworzono specjalny obracający się kolektor bębnowy (Rys. 2).



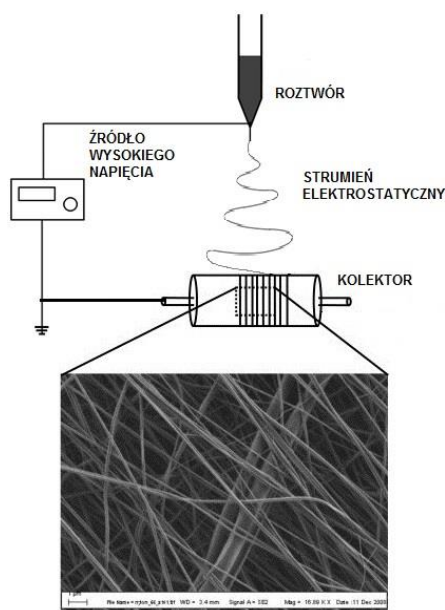
Rysunek 1. Obrazy morfologii nanowłókien PEO/HA otrzymanych przy przepływie 5 ml/h, powiększenie 10 000x.

Figure 1. The morphology images of PEO/HA nanofibers obtained with 5 ml/h flow rate, carried out at magnification of 10 000x.

Do elektroprzędzenia biomateriałów ze względu na wysoką biokompatybilność wykorzystuje się najczęściej polimery występujące w żywych organizmach zwane biopolimerami, do których należą m.in. kolagen, kwas hialuronowy, celuloza, fibryna jedwabiu, chityna, chitozan [6].

Kwas hialuronowy (HA) jest znanym w kosmetologii biopolimerem wszechobecnym w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, płynie maziowym stawów a także w istocie międzykomórkowej skóry właściwej. Jedną z najważniejszych właściwości tego materiału jest ułatwianie gojenia się ran, co predysponuje go do aplikacji w dostarczaniu leków, dermatologii i medycynie estetycznej [6, 7, 8]. Elektroprzędzenie HA ze względu na wysoką

lepkość wymaga dodania do roztworu przewodniczącej substancji obniżającej lepkość, którą może być poli(tlenek etylenu) (PEO) [9, 10, 11]. PEO jest biokompatybilnym i biodegradowalnym polimerem syntetycznym z powodzeniem wytwarzanym metodą elektroprzędzenia. Nie wykazuje on interakcji z białkami i większością cząsteczek biologicznych, a przeprowadzone dotychczas badania na myszach wykazały, że wspiera on rozwój nowych tkanek. Co więcej, wykazano zdolność włókien PEO do gromadzenia wody, a tym samym przyspieszenia gojenia ran [11, 12, 13, 14].



Rysunek 2. Schemat elektroprzędzenia na kolektor obrotowy i obraz morfologii nanowłókien ukierunkowanych z SEM [5]

Figure 2. Schematic of the drum-oriented collector and SEM image of oriented nanofibers.

Chen wraz ze współpracownikami w pracy [6], otrzymali stosując metodę elektroprzędzenia puste wewnątrz nanowłókna PEO/HA przy zastosowaniu roztworu o sumarycznym udziale polimerów 8% (wag.) i następujących parametrach procesu: przepływ 0,5 ml/h, napięcie 18 kV, odległość między dyszą a kolektorem 18 cm. Otrzymane nanowłókna zostały poddane badaniu cytotoksyczności *in vitro* i biokompatybilności, które wykazało, że otrzymane maty są nietoksyczne i biokompatybilne, co sprawia, że mają duży potencjał do zastosowań jako opatrunki bądź szkielety w inżynierii tkankowej.

Nanocząstki (NPs) są szeroką grupą materiałów, których przynajmniej jeden wymiar ma mniej niż 100 nm, charakteryzują się wysokim stosunkiem powierzchni do objętości, co wpływa na wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową, własności absorpcyjne i reaktywność.

Już w starożytnej Grecji odkryto prozdrowotne własności srebra i pokrywano nim naczynia oraz przedmioty domowego użytku, natomiast już podczas I wojny światowej zaczęto stosować srebro koloidalne do walki z infekcjami [15].

Nanocząstki srebra (NSPs) wykazują silne własności antibakteryjne przeciwko wielu bakteriom Gram-ujemnym, Gram-dodatnim, a także szczepom odpornym na antybiotyki. Aktywność antibakteryjna NSPs zależy od ich rozmiaru i stężenia, zwykle im wyższe stężenie, tym lepszy efekt, jednakże mniejsze cząstki mogą skuteczniej zabijać bakterie już

przy niewielkich stężeniach. Powyższe własności predysponują nanocząstki srebra do zastosowań w medycynie i stomatologii.

2. MATERIAŁ

W celu wytworzenia materiału do badań w pierwszej kolejności przygotowano roztwór przedzalniczy, który składał się z poli(tlenku etylenu) (PEO), wielkocząsteczkowego kwasu hialuronowego (HA) w stosunku 3:1, koloidu nanocząstek srebra o stężeniu 25 ppm oraz wody dejonizowanej i kwasu octowego jako rozpuszczalnika. Sumaryczne stężenie wagowe polimerów wyniosło 2,8%. Do odważonego PEO dodano koloid nanocząstek srebra oraz 60% wodny roztwór kwasu octowego i mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego. Bezpośrednio po rozpuszczeniu PEO do roztworu dodano HA i pozostawiono na mieszadle do rozpuszczenia na 10 dni.

Nanokompozytowe maty PEO/HA-NSPs otrzymano metodą elektroprzędzenia z roztworu przy użyciu urządzenia FLOW Nanotechnology Solutions Electrospinner 2.2.0-500 stosując obrotowy kolektor w postaci walca. Z otrzymanego roztworu wykonano 2 próbki przy zastosowaniu stałego przepływu i napięcia, ale różnej odległości między dyszą a kolektorem (Tab. 1).

Tablica 1. Parametry procesu elektroprzędzenia dla próbki 1 i 2.

Table 1. Electrospinning parameters for samples 1 and 2.

Parametr	Próbka 1	Próbka 2
Przepływ - p [ml/h]	9,5	9,5
Odległość między dyszą, a kolektorem – d [cm]	5	10
Napięcie na górnej elektrodzie [kV]	+17	+17
Napięcie na dolnej elektrodzie [kV]	-5	-5

3. METODOLOGIA BADAWCZA

W celu zbadania morfologii nanowłókien PEO/HA-NSPs wytworzonych metodą elektroprzędzenia z roztworu, próbki poddano obserwacji w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM) SUPRA 25 firmy ZEISS.

Tablica 2. Parametry napyłania

Table 2. Sputtering parameters

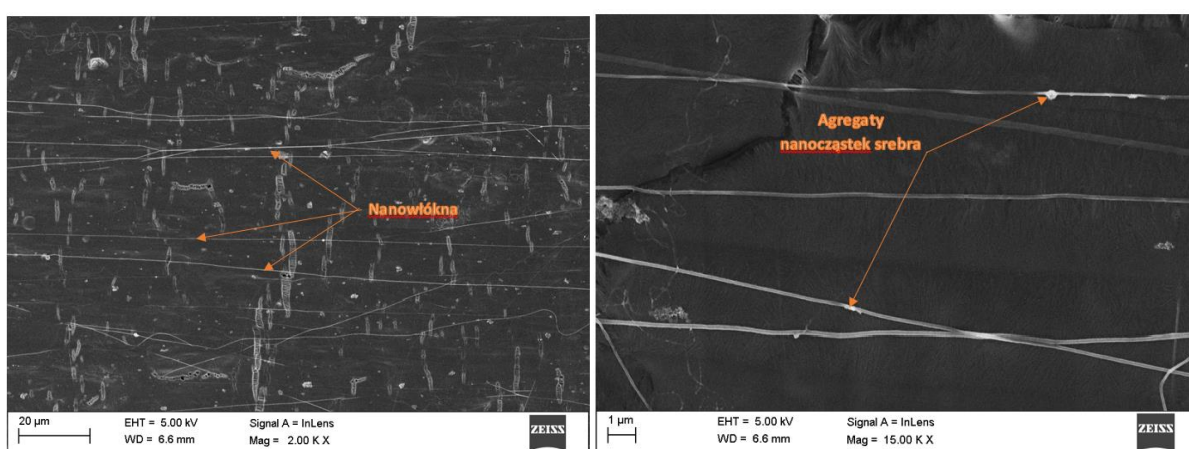
Metoda napyłania	PVD
Powłoka	Au 80%, Pd 20%
Natężenie prądu	40 mA
Napięcie prądu	500 V
Czas napyłania	30 s
Temperatura stolika	21 °C
Grubość napyłonej powłoki	< 10 nm

Konieczne było uprzednie napylenie jonowe próbek przed analizą SEM, które przeprowadzono za pomocą napyłarki próżniowej BAL-TEC SCD 050 przy zastosowaniu dla obu próbek parametrów przedstawionych w tabeli 2.

Analiza składu chemicznego została przeprowadzona za pomocą systemu TRIDENT XM4 firmy EDAX, który został wykorzystany w celu stwierdzenia obecności nanocząstek srebra w nanokompozytowych matach PEO/HA/NSPs wykonanych przy odległości dyszy od kolektora wynoszącej 10 cm.

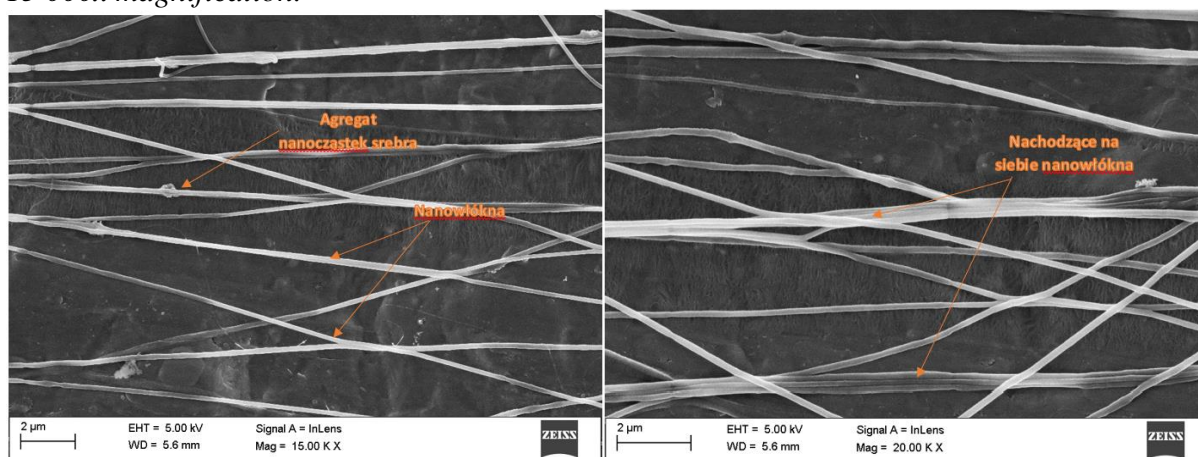
4. WYNIKI I ANALIZA WYNIKÓW BADAŃ

Rysunek 3 przedstawia zdjęcia wykonane za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego próbek nanokompozytowych mat PEO/HA-NSPs wykonanych przy odległości dyszy od kolektora wynoszącej 5 cm, rysunek 4 przedstawia morfologię próbek wykonanych przy odległości wynoszącej 10 cm.



Rysunek 3. Morfologia nanowłókien PEO/HA-NSPs wykonanych przy odległości dyszy od kolektora wynoszącej 5 cm, powiększenie 2000x i 15 000x

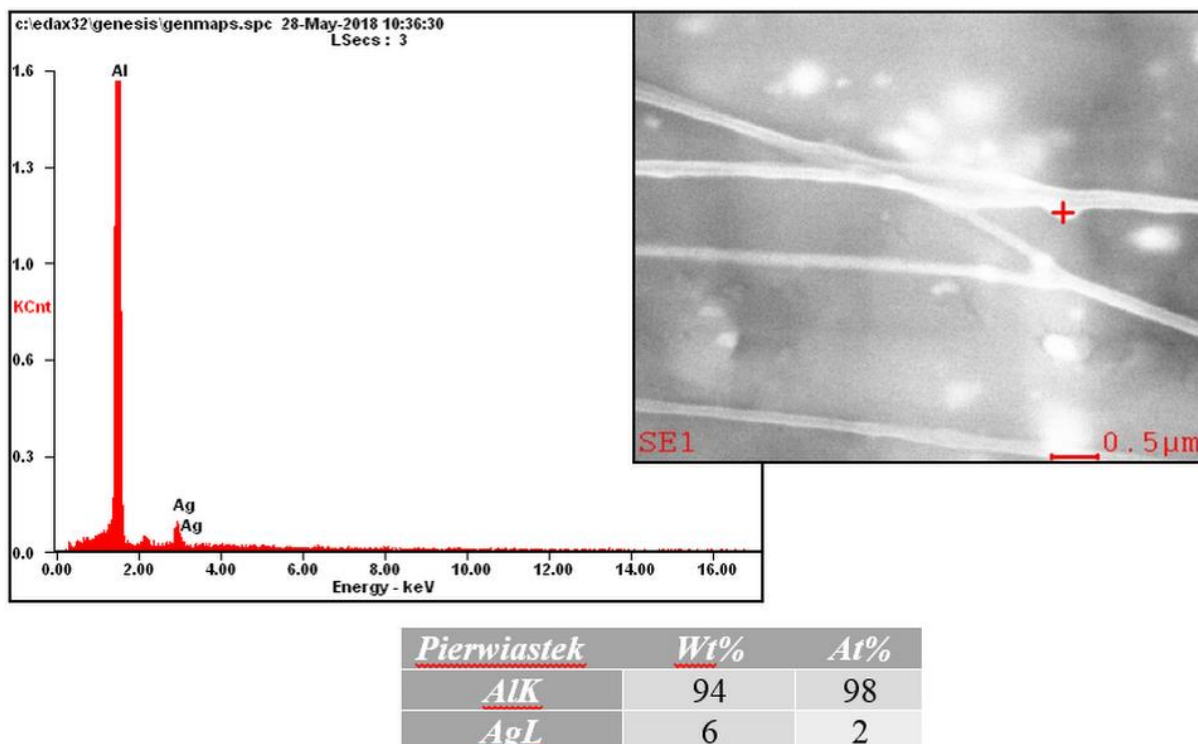
Figure 3. Morphology of PEO/HA-NSP nanofibers obtained with 5 cm distance, 2000x i 15 000x magnification.



Rysunek 4. Morfologia nanowłókien PEO/HA-NSPs wykonanych przy odległości dyszy od kolektora wynoszącej 10 cm, powiększenie 2000x i 15 000x

Figure 4. Morphology of PEO/HA-NSP nanofibers obtained with 10 cm distance, 15 000x i 20 000x magnification.

Na rysunkach 5 i 6 przedstawiono wyniki badania składu chemicznego za pomocą detektora EDS, w wyniku analizy wybranych obszarów próbki otrzymano dyfraktogramy oraz stężenie procentowe masowe i stosunek atomowy.



Rysunek 5. Mikroanaliza chemiczna agregatu w nanowłóknach: dyfraktogram, miejsce dokonania pomiaru oraz procentowy udział pierwiastków

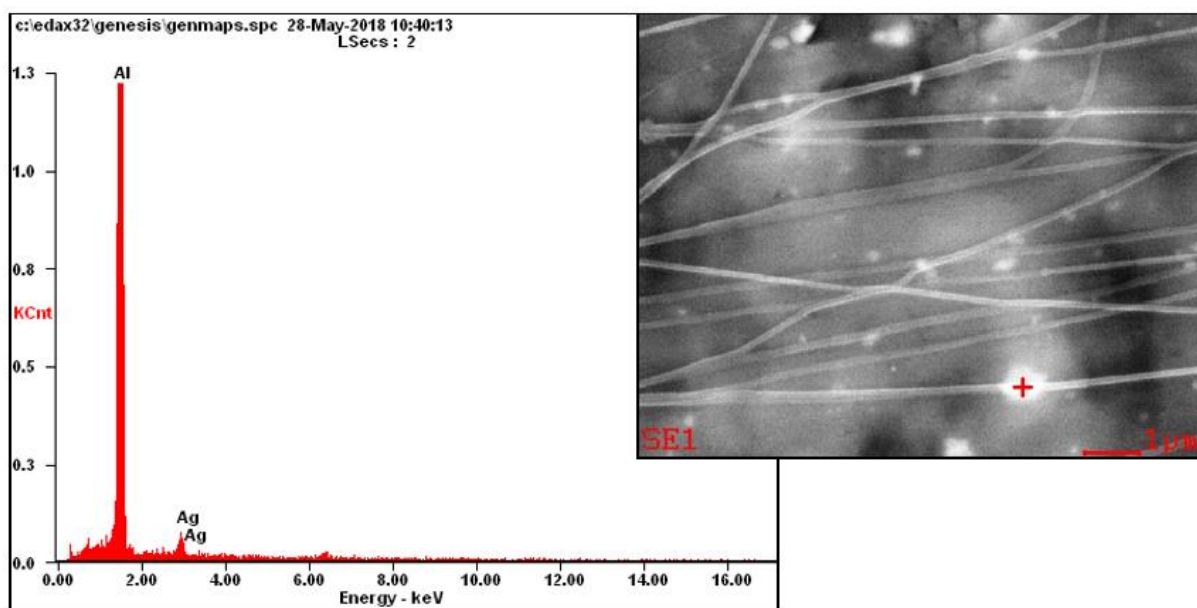
Figure 5. EDS of the aggregate in nanofibers: diffractogram, place of measurement and percentage of elements

Próbka wykonana przy odległości dyszy od kolektora wynoszącej 5 cm charakteryzuje się jednorodnymi i pozbawionymi defektów nanowłóknami. Ponadto, są one ukierunkowane i rozmieszczone równolegle. W porównaniu z próbką otrzymaną przy dwukrotnie większej odległości dyszy od kolektora (10 cm) nanowłókna te mają znacznie mniejszą średnią średnicę – 140 nm, co więcej, jest ona stała na całej długości włókna. Zmniejszenie średnicy jest korzystniejsze, gdyż pozwala uzyskać większą powierzchnię właściwą opatrunku. Otrzymanie włókien o mniejszej średnicy przy zastosowaniu mniejszej odległości między dyszą, a kolektorem może wynikać ze zwiększenia sił Coulomba oddziałujących na roztwór i lepszego rozciągania włókna w trakcie procesu elektroprzędzenia.

Powyższa analiza wskazuje, że parametry elektroprzędzenia dla próbki pierwszej zostały dobrane optymalnie.

W przypadku próbki uzyskanej przy większej odległości dyszy od kolektora wynoszącej 10 cm powstało znacznie więcej włókien oraz agregatów nanocząstek srebra niż w pierwszej próbce. Nanowłókna uzyskane przy tej odległości dyszy od kolektora również pozbawione są wad w postaci koralików jednakże, przy analizie w większym powiększeniu obserwuje się włókna wrzecionowate o różnej średnicy na całej długości włókna, co może być wynikiem zbyt dużej lepkości roztworu i zbyt małych oddziaływań Coulomba aby doszło do

jednorodnego rozciągnięcia włókna. Ponadto, pomiar średniej średnicy włókna wykazał, że jest ona znacznie większa – 190 nm niż w przypadku próbki pierwszej.



<i>Pierwiastek</i>	<i>Wt%</i>	<i>At%</i>
<i>AlK</i>	95	99
<i>AgL</i>	5	1

Rysunek 6. Mikroanaliza chemiczna agregatu w nanowłóknach: dyfraktogram, miejsce dokonania pomiaru oraz procentowy udział pierwiastków

Figure 6. EDS of the aggregate in nanofibers: diffractogram, place of measurement and percentage of elements

Podobnie jak w przypadku próbki pierwszej zauważyć można włókna ukierunkowane, ale pojawiają się także włókna rozgałęzione. Świadczy to o tym, że dystans 10 cm jest zbyt duży dla tego typu roztworu.

Badanie składu chemicznego za pomocą detektora EDS w każdym przypadku wykazało obecność aluminium, które pochodzi z podłoża, na którym osadzone były włókna oraz srebra, którego dodatek ma na celu zwiększenie aktywności bakterio- i grzybobójczej opatrunku. Analiza ta pozwoliła potwierdzić, że zgodnie z założeniami uzyskano nanokompozytowe włókna PEO/HA-NSPs.

5. PODSUMOWANIE

Nanowłókna polimerowe na tle pozostałych nanomateriałów wyróżnia wysoka biokompatybilność i biodegradowalność, co szczególnie predysponuje je do zastosowania w inżynierii tkankowej jako rusztowania dla tkanek i opatrunki.

Nanowłókniste maty mogą być wytwarzane wieloma metodami, jednak najbardziej popularna ze względu na prostotę i możliwość manipulacji parametrami procesu jest metoda elektroprzędzenia z roztworu.

W niniejszej pracy podjęto próbę wytworzenia nanokompozytowych mat na bazie poli(tlenku etylenu) i kwasu hialuronowego z dodatkiem nanocząstek srebra.

W pierwszej kolejności przygotowano roztwór przewodzący, który następnie poddano procesowi elektroprzędzenia na obrotowy kolektor przy zastosowaniu dwóch różnych odległości dyszy od kolektora – 5 i 10 cm, co pozwoliło na otrzymanie 2 próbek do badań.

Dokonano analizy morfologii w skaningowym mikroskopie elektronowym i wykazano, że w obu przypadkach otrzymane nanowłókna są ukierunkowane, wolne od wad w postaci koralików i widoczne są agregaty nanocząstek srebra. Ponadto, mikroanaliza składu chemicznego potwierdziła obecność nanocząstek srebra w nanowłóknach.

Na podstawie dotychczasowych doniesień wnioskuje się, że maty te mogą znaleźć zastosowanie w medycynie jako opatrunki dzięki własnościom bakterio- i grzybobójczym.

LITERATURA

1. J. Marciniak, Biomateriały, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2002.
2. M. Jurczyk, Nanomateriały: wybrane zagadnienia, Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Poznań, 2001.
3. M. Lewandowska, K. Kurzydłowski, Nanomateriały inżynierskie konstrukcyjne i funkcjonalne, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2011.
4. N. Bhardwaj, S.C. Kundu, Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique, *Biotechnology Advances*, 2010 (28) 325-347.
5. A. Baji, Y.W. Mai, S.C. Wong, M. Abtahi, P. Chen, Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties, *Composites Science and Technology*, 2010 (70) 703-718.
6. G. Chen, J. Guo, J. Nie, G. Ma, Preparation, characterization, and application of PEO/HA core shell nanofibers based on electric field induced phase separation during electrospinning, *Polymer*, 2016 (83) 12-19.
7. G. Ma, Y. Liu, D. Fang, J. Chen, C. Peng, X. Fei, J. Nie, Hyaluronic acid/chitosan polyelectrolyte complexes nanofibers prepared by electrospinning, *Materials Letters*, 2012 (74) 78-80.
8. D. Ossipov, S. Kootala, Z. Yi, X. Yang, J. Hilborn, Orthogonal Chemoselective Assembly of Hyaluronic Acid Networks and Nanogels for Drug Delivery, *Macromolecules*, 2013 (46) 4105-4113.
9. E.A. Balazs, The Physical Properties of Synovial Fluid and the Special Role of Hyaluronic Acid, *Disorders of the Knee*, 1974 (5) 63-75.
10. W. Krause, E. Bellamo, R. Colby, Rheology of Sodium Hyaluronate under Physiological Conditions, *Biomacromolecules*, 2 (2001) 65-69.
11. Y.D. Shanette, Hyaluronic Acid-based Nanofibers via Electrospinning, 2016.
12. J.J. Ahire, D.D. Robertson, A.J. van Reenen, L.M.T. Dicks, Polyethylene oxide (PEO)-hyaluronic acid (HA) nanofibers with kanamycin inhibits the growth of *Listeria monocytogenes*, *Biomedicine&Pharmacotherapy*, 86 (2017) 143-148.
13. D.C. Sims, P.E. Butler, R. Casanova, B.T. Lee, M.A. Randolph, W.A. Lee, C.A. Vacanti, M.J. Yaremchuk, Injectable cartilage using polyethylene oxide polymer substrates, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 5 (1996) 843-850.
14. F. Yoshii, Y. Zhanshan, K. Isobe, K. Shinozaki, K. Makuuchi, Electron beam crosslinked PEO and PEO/PVA hydrogels for wound dressing, *Radiation Physics and Chemistry*, 55 (1999) 133-138.
15. K. Żelichowska, Nanotechnologia w praktyce, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2016.