

Nanovlakna na bazi polisaharida s funkcijom osjetljivom na pH

Manja Kurečić^{1,2}

Silvo Hribernik¹

Natalija Virant¹

Alenka Ojstršek¹

Majda Sfiligoj Smole¹

Karin Stana Kleinschek¹

¹University of Maribor, Faculty of Mechanical Engineering

Maribor, Slovenia

²CE Polimat

Ljubljana, Slovenija

e-mail: manja.kurecic@um.si

Prispjelo 18.9.2015.

UDK 677.469:677.016

Izvorni znanstveni rad*

Svrha istraživanja je bila izraditi nanovlaknasti senzor na bazi polisaharida (celuloznog acetata) za otkrivanje promjene pH-vrijednosti u području rane. Za izradu nanovlakana od celuloznog acetata (CA) kao otapalo je korištena octena kiselina, a vlakna su izrađena u uređaju za beziglično elektroispredanje. Duga CA vlakna jednolikih svojstava, promjera od 250 do 300 nm dobivena su elektroispredanjem smjese 15 mas. % CA i 85 mas. % octene kiseline uz dodatak halokromnog bojila (Bromocrezol Green). Dodatak Bromocrezol Green bojila u masu za ispredanje nije utjecao na oblikovanje vlakana. Analizom boje CIE sustavom karakterizirani su izrađeni nanovlaknasti senzori kako bi se ocijenila promjena boje uslijed promjene pH-vrijednosti. Pri pH 4 i manje od 4 imaju žutu boju i tako simuliraju okolinu rane koja je povoljna za zacjeljivanje rane, a plavu boju kada se izlože pH 9 i većoj od 9 i tako simuliraju okolinu koja ometa zacjeljivanje rane (kronične, inficirane rane).

Ključne riječi: elektroispredanje, polisaharidna (CA) nanovlakna, bojila osjetljiva na pH, senzori

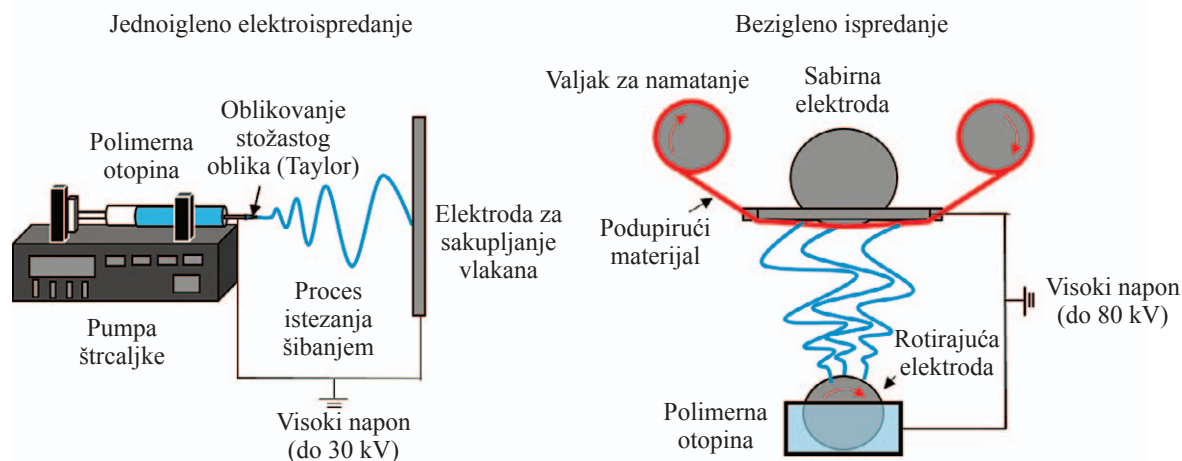
1. Uvod

Elektroispredanje je ekološki prihvatljiv postupak proizvodnje nanovlakana jedinstvenih svojstava, koji omogućuje da se upotrebljavaju za različite namjene [1]. Ovako dobiveni

materijali, zbog malog promjera vlakana (od nekoliko desetaka do stotina nanometara), velike poroznosti, male veličine pora i velike aktivne površine [2] zanimljivi su za biomedicinske primjene, npr. izradu tkiva, vaskularnih presadaka, popravka tkiva, liječenja rana i sustava za primjenu lijekova [3]. Svi biokemijski procesi u tijelu, uključujući zacjeljivanje rana, su pod utjecajem pH-vrijednosti. Poznato je da je normalna i zdrava koža

slabo kisela (pH 4 do 6), a tjelesni unutarnji pH je 7,4. Ako se koža ozlijedi, poremeti se kiselo područje kože i tjelesni pH je izložen vanjskim uvjetima. Međutim, kada bakterije inficiraju ranu, pH prelazi u alkalno područje (pH 7 do 8) i rana ne zarasta [4]. Promjena pH u području rane je vrlo važan podatak za medicinski tretman rana; kod tih primjena se materijali od nanovlakana velikog omjera površine i volumena dobiveni

*Izlaganje na konferenciji CEC 2015 – 8th Central European Conference on Fiber-Grade Polymers, Chemical Fibers and Special Textiles, Zagreb, 16.–18. rujna 2015.



Sl.1 Shematska usporedba jednoiglenog elektroispredanja i beziglenog elektroispredanja

elektroispredanjem mogu upotrebljavati kao biosenzori.

Postoji nekoliko članaka o nanovlaknima dobivenih elektroispredanjem, koja se koriste za pH senzore različitih namjena (uz dodatak indikatorskih bojila, halokromnih kemijskih spjeva koji apsorbiraju različite valne dužine vidljivog svjetla ovisno o pH što se očituje promjenom boje), za npr. pametno pakiranje [5], tekstilne proizvode [6], izradu tkiva i mikrobiološka proučavanja [7]. Nanovlakna s funkcijom osjetljivosti na pH mogu se izraditi pomoću postupka bojadisanja nanovlakana ili dodatkom bojila osjetljivog na pH u masu za ispredanje prije oblikovanja vlakana.

U ovom radu opisuje se izrada materijala od polisaharidnih nanovlakana s ugrađenim bojilom osjetljivim na pH, Bromocresol Green koje u pH području od 3,8 do 5,4 mijenja boju od žute na plavu. Za izradu vlakana korišten je celulozni acetat (CA) koji se široko upotrebljava za različite primjene elektroispredanja [8, 9] jer se može jednostavno pretvoriti u celulozu. Za elektroispredanje celuloznog acetata korištena su različita otapala, npr. kloroform, metanol, N,N-dimetilformamid, diklormetan, piridin i njihove mješavine [10]. Kao otapalo u ovom istraživanju korištena je octena kiselina o čemu je prvi pisao Han [11]. On je za izradu nanovlakana koristio koncentraciju od 17 mas. % CA u 70%-tnoj otopini octene kiseline ili u otopini octene kiseline

veće koncentracije, a ispredanje vlakana provedeno je na uređaju za elektroispredanje s jednom iglom. U ovom radu korišten je beziglični uređaj za elektroispredanje ElMarco Nanospider koji je neznatno modificiran u usporedbi sa sustavom za elektroispredanje s jednom iglom; visokonaponsko napajanje električnom strujom (do 80 kV), jedinica za dovodnje (kada s rotirajućom elektrodom - cilindar ili žica) i uzemljeni kolektor (cilindar ili žičana elektroda) (sl.1). Kad se upotrebljava vanjsko električno polje, polimerna otopina, koja pokriva rotirajuću elektrodu, se nabija što uzrokuje stvaranje konusnih kapljica zbog ravnoteže napetosti polimerne površine i upotrijebljenog električnog polja. Kod povećanja napona električno polje savladava površinsku napetost polimerne otopine te se počinju spontano stvarati mlazovi na slobodnoj površini. Polimerni mlazovi se stvrdnjavaju na svom putu prema sabirnoj elektrodi oblikujući netkani tekstil [12, 13]. Brzina proizvodnje uređaja Nanospider iznosi do nekoliko 10-aka g vlakana/h zbog čega je prikladan za masovnu proizvodnju [14, 15].

2. Materijali i metode

2.1. Materijali

Celulozni acetat (CA) s $M_n = 30\,000$ i octena kiselina ($\geq 99,8\%$) nabavljeni su od tvrtke Sigma Aldrich. Pegatex® S netkani tekstil tvrtke PEGAS NONWOVENS s.r.o. (Znojmo,

Češka Republika) korišten je kao podloga za polaganje nanovlakana, proizveden postupkom izrade netkanog tekstila kod ispredanja vlakana iz taline, od 100 % polipropilena. Bojilo osjetljivo na pH Bromocresol Green nabavljeno je od Kemike.

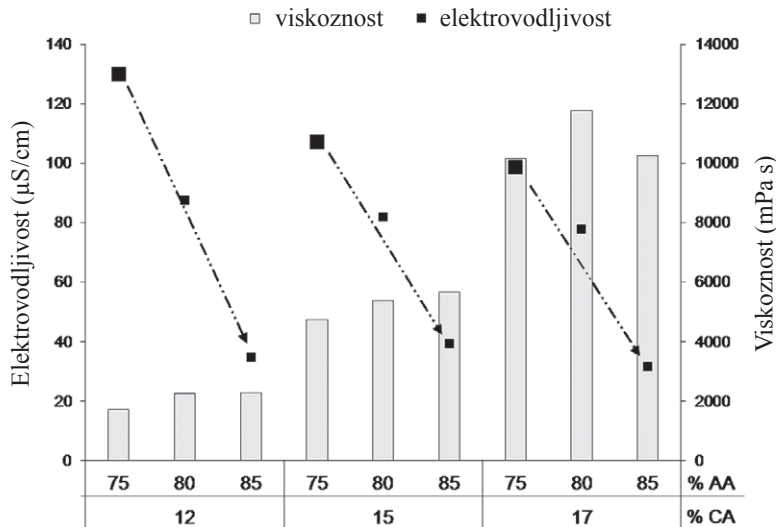
2.2. Priprema otopina za elektroispredanje

Pripremljene su 12, 15 i 17 mas. % otopine celuloznog acetata (CA) tako da je otopljena odgovarajuća količina CA u različitim koncentracijama octene kiseline (75, 80 i 85 %). Sve otopine su miješane do homogene mješavine. Za karakterizaciju viskoznosti, površinske napetosti i elektrovodljivosti pripremljenih otopina korišteni su viskozimetar tvrtke Fungilab Viscometer, goniometar tvrtke Dataphysics Goniometer OCA35 i mjerni instrument Conductivity Meter tvrtke Mettler Toledo za mjerenje elektrovodljivosti.

Otopine za elektroispredanje s bojilom osjetljivim na pH pripremljene su iz 15 mas. % CA otopine u 85 % octene kiseline uz dodatak bojila osjetljivog na pH i miješane su 2 h. Koncentracija bojila osjetljivog na pH bila je 0,5 mas. % u odnosu na masu CA u otopini.

2.3. Elektroispredanje

Elektroispredanje je provedeno na pilotnom uređaju Nanospider NS Lab 500 tvrtke ElMarco Co. Polimerne otopine za oblikovanje vlakana uvedene su u kadu Nanospider uređaja



SI.2 Viskoznost i elektrovodljivost pripremljenih otopina za elektroispredanje različitih koncentracija octene kiseline (AA) i celuloznog acetata (CA)

gdje je smještena elektroda spojena žicom. Procesni parametri su bili: napon 75 kV, razmak elektrode: 160 mm, brzina okretanja elektrode: 3,8 o/min i vrijeme prikupljanja: 40 min.

2.4. Svojstva vlakana

Morfologija vlakana analizirana je pretražnim elektronskim mikroskopom (FE-SEM SUPRA 35 VP, Carl

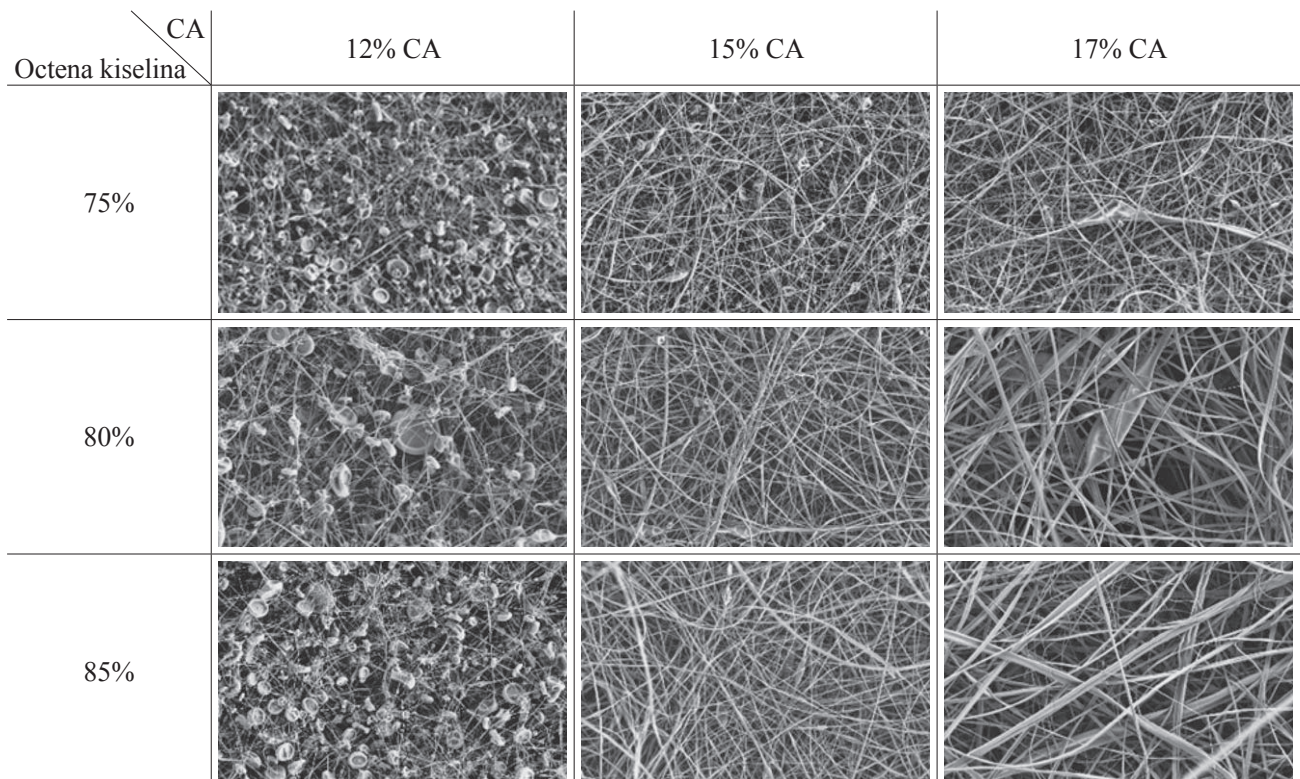
Zeiss). Uzorci vlakana pričvršćeni su na držač uzorka pomoću elektrovodljive vrpce od ugljikovih vlakana. Uzorci su analizirani kod napona za ubrzavanje od 1 kV i radnog razmaka od 4,5 mm.

Za ispitivanje promjene boje nanovlakana u ovisnosti o pH korištene su sljedeće otopine: različite molarne koncentracije HCl za pH 0 do 2, ci-

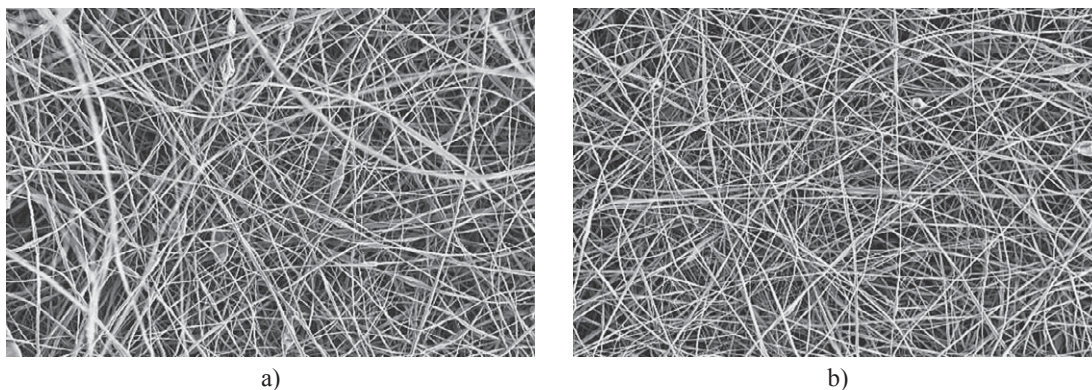
tratni pufer za pH 4, fosfatni pufer za pH 7, karbonatno bikarbonatni pufer za pH 9, različite molarne koncentracije NaOH za pH 10 do 14. Uzorci vlakana su namakani u pripremljenoj puferskoj otopini u vremenu od 1 min. Za ocjenu promjene boje primijenjen je CIE sustav mjerenja boje unutar spektralnog područja valnih dužina od 400 do 700 nm pomoću spektrofotometra s dvije zrake Spectralflash SF600 Plus (Datacolor) kod standardne vrste svjetlosti D56 (LAV/Spec.Incl.) i mjerne geometrije od $s/8^\circ$.

3. Rezultati

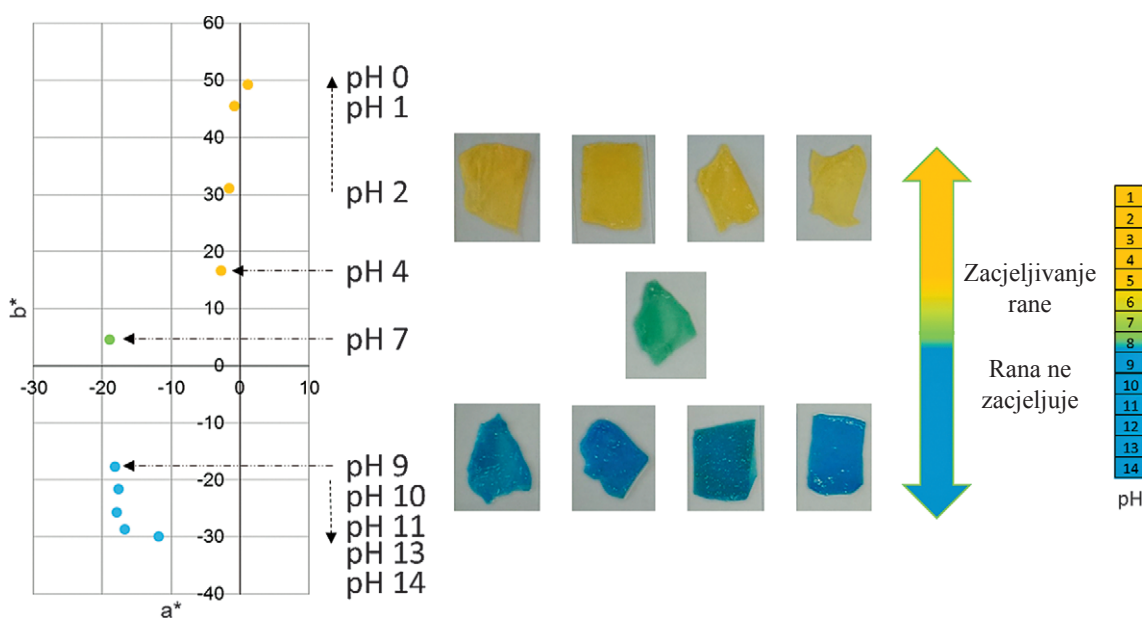
Elektroispredanje je postupak proizvodnje vlakana koji mnogo ovisi o svojstvima otopine, naročito u procesu bezigličnog ispredanja. Zato su prije postupka elektroispredanja otopinama za elektroispredanje određene viskoznost, elektrovodljivosti i površinska napetost. Budući da su to parametri otopina koji najviše utječu na oblikovanje nanovlakana. Rezultati mjerenja površinske napetosti otopina imaju vrijednosti od 34



SI.3 SEM snimke CA nanovlakana od različitih koncentracija celuloznog acetata u različitim koncentracijama octene kiseline



Sl.4 SEM snimke CA nanovlakana dobivene elektroispredanjem: a) bez bojila i b) s bojilom Bromocresol Green



Sl.5 CIE a*b* vrijednosti boje obojenja nanovlakana ovisno o pH

mN/m, bez obzira na sastav otopine i koncentraciju celuloznog acetata. Međutim, kod mjerenja viskoznosti (sl.2) uočeno je očekivano povećanje kod povećanja koncentracije celuloznog acetata. S druge strane uočeno je smanjenje elektrovodljivosti otopina kod povećanja koncentracije octene kiseline, što bi se moglo pripisati disocijaciji otapala - octene kiseline. Smanjenjem količine vode u otopini octene kiseline otežava se disocijacija iona, što rezultira u manjim gustocama naboja u otopinama celuloznog acetata [11].

Da bi se odredio optimalni sastav otopine koji je potreban da se dobiju glatka i jednolična nanovlakna, korištena je pretražna elektronska mikroskopija

(SEM). Na sl.3 prikazane su SEM snimke nanovlakana. Vidljive su različite morfologije ovisno o koncentraciji CA i koncentraciji otapala. SEM mikroslike kod 12 mas. % CA u svim koncentracijama otapala pokazuju šuplje sfere, ili čestice zbog neadekvatnog sastava otopine, što uzrokuje raspršivanje tekućine pomoću električnog polja. Ako je viskoznost otopine premala, polimerni mlazovi se zbog efekta površinske napetosti raspadaju u kapljice prije nego što dođu na materijal za prikupljanje [34, 41]. Međutim, s povećanjem koncentracije CA na 15 mas. % perlasta morfologija nanovlakana se smanjuje, a s povećanjem koncentracije octene kiseline (80 i 85 %) perlice potpuno nestaju

ju i oblikuju se jednolika vlakna promjera od 300 do 400 nm. Elektroispredanje nanovlakana iz 17 mas. % CA rezultira nejednolikom veličinom i oblikom promjera vlakana od 500 do 100 nm neovisno o koncentraciji otapala. Povećanje promjera vlakna s debljim dijelovima duž osi vlakna nastaje zbog velike viskoznosti polimerne otopine što uzrokuje nejednoliko gibanje polimernog mlaza od površine elektrode do materijala za prikupljanje. Prema tim rezultatima može se zaključiti da se jednolika nanovlakna dobivaju kod sastava otopine od 15 mas. % CA koja je otopljena u 85 %-tnoj octenoj kiselini, te su ona korištena za daljnje istraživanje.

Da bi se dobila nanovlakna osjetljiva na pH, halokromno bojilo Bromocrezol Green dodano je u definiranu optimalnu otopinu za ispređanje. Na sl.4 prikazane su SEM snimke nanovlakana dobivenih elektroispredanjem otopina bez bojila Bromocrezol Green i s bojom kako bi se ocijenio njegov utjecaj na elektroispredanje vlakana. Uočeno je da dodatak bojila osjetljivog na pH nije utjecao na morfologiju vlakana, ona su jednolika promjera od 250 do 300 nm.

Izrađeni materijali od nanovlakana s ugrađenim bojom osjetljivom na pH izloženi su djelovanju otopinama različitih pH-vrijednosti; te je promjena obojenja analizirana spektrofotometrijski. Promjena obojenja dogodila se za oko 10 s nakon izlaganja. Promjene obojenja uzoraka određivane su mjerenjem koordinata boje u CIE sustavu i prikazane su na sl.5. Prikazane su a* i b* vrijednosti boja u koordinatnom sustavu, kod čega a* predstavlja položaj na zeleno/crvenoj osi, negativna vrijednost pokazuje zeleno, a pozitivna vrijednost crveno područje, dok b* predstavlja položaj uzorka na žuto/plavoj osi, negativna vrijednost predstavlja plavo, a pozitivna vrijednost predstavlja žuto. Na sl.5 može se uočiti da izlaganje ispitivanih uzoraka nanovlakana niskim pH vrijednostima (područje velike kiselosti) rezultira žutim obojenjem, dok neutralno područje (pH 7) rezultira zelenim obojenjem sa nešto žučkastom nijansom. Kod izlaganja uzorka alkalnim pH-vrijednostima, razvija se plavo obojenje s malo zelene nijanse. Budući da se pH-vrijednosti u području rane mijenjaju od pH 4 do pH 9, konstruirani senzori od nanovlakana trebali bi uzrokovati promjenu obojenja u ovom području, što pacijenti mogu brzo procijeniti. Zato izrađene strukture od nanovlakana pokazuju izvrsne rezultate budući da pokazuju žutu boju u području koje je poželjno za uspješno zacjeljivanje rane, i plavu boju kada područje rane ne omogućuje dobro zacjeljivanje rane. Upotrebom ovih vrsta senzora u zavojima za rane pa-

cijenti bi sami mogli odrediti status zacjeljivanja rane. Koristi zbog restriranja područja rane znače smanjenje vremena hospitalizacije, sprječavanje amputacija i bolje razumijevanje procesa koji ugrožavaju zacjeljivanje rana [4].

4. Zaključak

U radu se opisuje izrada halokromnog ili na pH osjetljivog materijala od nanovlakana kojim se otkrivaju promjene pH-vrijednosti u području rana. Materijal od nanovlakana kao potencijalna senzorska platforma uspješno je izrađen postupkom bezigelnog elektroispredanja primjenom celuloznog acetata (CA) otopljenog u octenoj kiselini. Dugačka i jednolika nanovlakna, promjera od 250 do 300 nm dobivena su iz polimerne otopine od 15 mas. % CA u 85 %-tnoj octenoj kiselini. Prije elektroispredanja u otopinu za ispređanje dodano je halokromno bojilo Bromocrezol Green. Dodatak bojila osjetljivog na pH nije utjecao na proces elektroispredanja i morfologiju oblikovanih vlakana. Razvijeni senzor od halokromnih nanovlakana imao je vidljivu promjenu obojenja nakon izlaganja različitim pH područjima. U kiselom pH području (octena kiselina) senzor se obojio žuto, što pokazuje dobre uvjete za brzo i učinkovito zacjeljivanje rane, dok se u alkalnom području senzor obojio plavo, što pokazuje infekciju i nezarastanje rane. Budući da su ljudi prirodno vizualna bića, a informacije su u vizualnom obliku učinkovitije, razvijeni materijali za izradu senzora znače velik potencijal u poboljšanju liječenja, odnosno zacjeljivanja rana.

(Preveo M. Horvatić)

Zahvala

Autori rada zahvaljuju Slovenskoj istraživačkoj agenciji (ARRS) na financijskoj potpori ovog istraživanja u okviru projekta L2-5492 i Textile Chemistry P2-0118.

Literatura:

- [1] Huang Z., A. Zhang, M. Kotaki, S. Ramakrishna: A review on poly-

mer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites, *Composite Science and Technology* 63 (2003) pp. 2223-2253

- [2] Greiner A., J.H. Wendorff: Electrospinning: A fascinating method for preparation of ultrathin fibers, *Angewandte Chemie* 46 (2007) pp. 5670-5703
- [3] Braghirolli D.I., D. Steffens, P. Pranke: Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics, *Drug Discovery Today* (2014) pp. 1-30
- [4] Dargaville T.R., B.L. Farrugia, J.A. Broadbent, S. Pace, Z. Upton, N.H. Voelcker: Sensors and imaging for wound healing: A review, *Biosensors and Bioelectronics* 41 (2013) pp. 30-42 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2012.09.029>
- [5] Duncan T.V.: Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors, *Journal of Colloid and Interface Science* 363 (2011) pp. 1-24
- [6] Schueren L.V., T. Mollet, C. Özgür, K.D. Clerck: The development of polyamide 6.6 nanofibers with a pH-sensitive function by electrospinning, *European Polymer Journal* 46 (2010) pp. 2229-2239
- [7] Devarayan K., B. Kim: Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor, *Sensors and Actuators B: Chemical* 209 (2015) pp. 281-286
- [8] Yu D.G., X.Y. Li, X. Wang, W. Chian, Y.Z. Liao, Y. Li: Zero-order drug release cellulose acetate nanofibers prepared using coaxial electrospinning, *Cellulose* 20 (2013) 1, pp. 379-389
- [9] Tian Y., M. Wu, R. Liu, Y. Li, D. Wang, J. Tan, R. Wu, Y. Huang: Electrospun membrane of cellulose acetate for heavy metal ion adsorption in water treatment, *Carbohydrate Polymers* 83 (2011) 2, pp. 743-748
- [10] Frey M.W.: Electrospinning cellulose and cellulose derivatives, *Polymer Review* 48 (2008) 2, pp. 378-391
- [11] Han S.O., J.H. Youk, K.D. Min, Y.O. Kang, W.H. Park: Electro-

- pinning of cellulose acetate nanofibers using a mixed solvent of acetic acid/water. Effect of solvent composition on the fiber diameter, *Materials Letters* 62 (2008) pp. 759-762
- [12] Kurečić M., M. Sfiligoj Smole: Electrospinning: Nanofibre Production Method, *Tekstilec* 56 (2013) 1, pp. 4-12
- [13] Reneker D.H., A.L. Yarin: Electrospinning jets and polymer nanofibers, *Polymer* 49 (2008), pp. 2387-2425
- [14] Petrik S., M. Maly: Production nozzle-less electrospinning nanofibers technology, <http://www.el-marco.com/upload/soubory/dokumenty/66-1-1-mrs-fall-boston-09.pdf>, 1.7.2014
- [15] Niu H., T. Lin: Fiber Generators in Needleless Electrospinning, *Journal of Nanomaterials* (2012) pp. 1-13

SUMMARY

Polysaccharide based nanofibers with pH-sensitive function

M. Kurečić,^{1,2} S. Hribernik,¹ N. Virant,¹ A. Ojstršek,¹ M. Sfiligoj Smole,¹ K. Stana Kleinschek¹

The aim of the present study was to prepare a polysaccharide (cellulose acetate) based nanofibrous sensor for detection of pH change in the wound environment. In order to prepare cellulose acetate (CA) nanofibers, acetic acid was used as a solvent, and fabrication of fibers was performed on the needle-less electrospinning apparatus. Long uniform CA nanofibers, with diameters ranging from 250 to 300 nm, were electrospun from 15 wt% CA and 85% acetic acid, with addition of halochromic dye (Bromocrezol Green). The addition of Bromocrezol Green in the spinning formulation did not affect the fiber formation. Prepared nanofibrous sensors were characterized using CIE color space analysis in order to evaluate the color due to pH change. Nanofibrous sensors exhibit yellow color when exposed to pH4 and lower, simulating the wound environment beneficial to the wound healing, and blue color when exposed to pH 9 and higher, simulating the environment that hampers wound healing (chronic, infected wounds).

Key words: electrospinning, polysaccharide (CA) nanofibers, pH-sensitive dyes, sensors

¹*University of Maribor, Faculty of Mechanical Engineering*

Maribor, Slovenia

²*CE Polimat*

Ljubljana, Slovenia

e-mail: manja.kurecic@um.si

Received September 18, 2015

Polysaccharid-basierte Nanofasern mit pH-sensitiver Funktion

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, einen Nanofaser-Sensor auf der Basis von Polysacchariden herzustellen, um den pH-Wert in der Wundumgebung nachzuweisen. Um Celluloseacetat (CA) -Nanofasern herzustellen, wurde Essigsäure als Lösungsmittel verwendet, und die Herstellung von Fasern wurde auf einer nadellosen Elektrosplinnvorrichtung durchgeführt. Lange gleichförmige CA-Nanofasern mit Durchmessern von 250 bis 300 nm wurden unter Zugabe von halochromem Farbstoff (Bromocrezol Green) aus 15 Gew.-% CA und 85% Essigsäure elektrogenesponnen. Die Zugabe von Bromocrezol Green in der Spinnformulierung übte keinen Einfluss auf die Faserbildung aus. Vorbereitete Nanofaser-Sensoren wurden mittels CIE-Farbraumanalyse charakterisiert, um die Farbe aufgrund der pH-Änderung zu bewerten. Nanofaser-Sensoren weisen gelbe Farbe auf, wenn sie pH 4 und niedriger ausgesetzt sind, wobei sie die Wundumgebung, die für die Wundheilung vorteilhaft ist, simulieren, und blaue Farbe, wenn sie pH 9 und höher ausgesetzt sind. Auf diese Weise simulieren sie die Umgebung, die die Wundheilung hemmt (chronische, infizierte Wunden).