

Optymalizacja procesu elektroprzędzenia materiałów do zastosowań biomedycznych

Tomasz Kowalczyk, Tomasz A. Kowalewski

Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN, Zakład Mechaniki i Fizyki Płynów, Warszawa

Aleksandra Nowicka, Danek Elbaum

Instytut Fizyki PAN, Zespół Fizyki Biologicznej, Warszawa

Streszczenie: Przedmiotem badań jest analiza wpływu parametrów prowadzenia procesu na przebieg elektroprzędzenia. Optymalizowano podstawowe parametry procesu tj. konfigurację elektrod, odległość pomiędzy dyszą z roztworem a elektrodą zbierającą, stężenie polimeru, wydatek przepływu, natężenie prądu i potencjał elektryczny. Proces monitorowano rejestrując obrazy szybką kamerą CCD oraz mierząc wartość prądu przepływającego przez układ. Proces optymalizowano analizując jakość uzyskanych włókien obserwowanych pod mikroskopem. Przeprowadzono szereg badań eksperymentalnych pozwalających na praktyczne otrzymywanie włókien o pożądanych właściwościach dla celów biomedycznych.

1. WSTĘP

Elektroprzędzenie nanowłókien wiąże się ściśle z dziedziną nanotechnologii. Jest to jedna z niewielu metod efektywnego otrzymywania nanowłókien, tzn. rozciągania wybranego materiału do średnicy poniżej 1 mikrometra. Powstawanie włókien, niezależnie od stosowanych materiałów i technologii opiera się na podstawowym zjawisku mechaniki płynów, tworzeniu się strugi cieczy. Ciecz wypływając z otworu do drugiego nie mieszającego się płynu (gazu lub cieczy) tworzy mniej lub bardziej regularną strukturę cylindryczną. Mechaniczne rozciąganie strug polimerowych to klasyczna metoda produkcji włókien sztucznych. Granica utraty stabilności takiego procesu wyznacza minimalną średnicę tworzonego włókna, która wynosi około kilkadziesiąt mikrometrów. Wykorzystanie pola elektrycznego powoduje nadanie strudze ruchu wirowego i dzięki równomierności lokalnego naprężenia rozciągającego i zwielokrotnieniu drogi rozciągania umożliwia powstawanie włókien o średnicy od kilku do kilkunastu nanometrów.

Zainteresowanie nano-włókninami wiąże się z perspektywą ich wykorzystania do tworzenia nowych materiałów, lżejszych i bardziej wytrzymałych mechanicznie. Klasyczne materiały stosowane w konstrukcjach mają na ogół gruboziarnistą strukturę polikrystaliczną, o stosunkowo częstych nieregularnościach struktury i dyslokacjach. Nowe perspektywy stwarza wykorzystanie nanowłókien do tworzenia materiałów o drobnoziarnistej strukturze, nie narażonej na dyslokacje i charakteryzujących się znacznie większymi siłami spójności. Inna grupa zastosowań to filtracja głęboka, nano-filtry biologiczne, materiały na ubrania do zastosowań specjalnych[1], aerodynamiczne profile z materiałów o własnościach „pajęczyny” unoszonej wiatrem, elementy nanoelektroniki, aktywne opatrunki, systemy uwalniania leków, tworzenie „nano-rusztowań” dla inżynierii tkankowej, przyswajalnych implantów skóry lub tkanek. Takie nanowłókniny mogą być wytwarzane stosunkowo prostą metodą elektrostatyczną. Z uwagi na te zastosowania tematyka elektroprzędzenia jest w centrum zainteresowania wielu ośrodków naukowych na świecie, zarówno uniwersyteckich (np. USA[2], Korea Płd.[3], Tajlandia[4]) jak i wojskowych[5]. W Polsce obok Zakładu Mechaniki i Fizyki Płynów IPPT PAN [6-9] tematyką elektroprzędzenia zajmuje się od kilku lat Katedra Metrologii Włókienniczej Wydziału Inżynierii i Marketingu Tekstyliów PŁ [10]. Opracowanie metody optymalizacji procesu elektroprzędzenia, która umożliwi zastosowanie go do produkcji

nanowłókien, aplikacji biotechnologicznych, biomedycznych i do inżynierii materiałowej – tworzenia materiałów o zadanych własnościach mechanicznych. Zbadane materiały mogą znaleźć zastosowanie do odbudowy zniszczonej skóry lub tkanek, a także jako filtry biologiczne i ubrania ochronne zabezpieczające przed groźnymi chorobami wirusowymi (ptasia grypa, SARS i inne)

2. MATERIAŁY

Przeprowadzono badania z zastosowaniem następujących typów polimerów:

PEOX – poli(tlenek etylenu) – wzorcowy, biodegradowalny polimer.

Polihydroksykwas - PHB poli(3-hydroksymaślan), PHBV (poli(3-hydroksymaślan-co-hydroksywalerianian)), PCL – poli(kaprolakton), są to materiały biodegradowalne i o dobrej biogodności, wiążą się z nimi perspektywy tworzenia systemów biomedycznych lub systemów uwalniania leków.

Kompozytowe systemy zawierające PEOX, który był następnie wmywany z uzyskanych nanowłókien. Polimer ten miał za zadanie albo wytworzenie struktury nanoporowatej (z PCL), albo uzyskanie włókna z materiałów niewłóknotwórczych (białka).

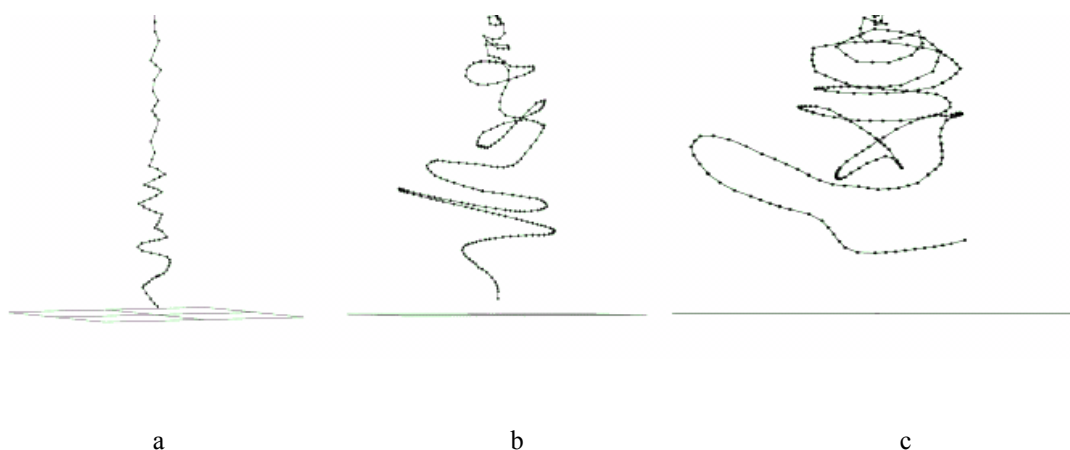
Kompozytowe systemy zawierające białka (BSA – albumina surowicy wołowej) i PEOX – perspektywy tworzenia systemów uwalniania leków lub systemów diagnostycznych.

3. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Zasadniczym elementem stanowiska do tworzenia strug cieczy jest dysza umożliwiająca kontrolowany wypływ cieczy do ośrodka. W badaniach prowadzonych nad zjawiskiem elektroprzędzenia ten element stanowiska, krytyczny w klasycznych strugach, odgrywa rolę drugorzędną. Podstawowym mechanizmem sterującym ruchem cieczy jest pole elektryczne utworzone między dyszą wypływową a okolicą odbioru nanowłókna. Stanowisko wykorzystywane w prowadzonych badaniach składa się z pipety z cieczą podawaną mikro-pompą strzykawkową, zasilacza wysokiego napięcia (5 - 30kV), elektrody zbierającej, oświetlacza, szybkiej kamery cyfrowej (HS1200 firmy PCO), komputera rejestrującego obrazy i miernika prądu w zakresie nano-amperów. Otwór wypływowy dyszy pipety ma średnicę ok. 1mm a odległość do elektrody zbierającej wynosiła około 15 cm. Przepływ w pipecie zasilającej jest tak dobrany by znajdująca się tam ciecz znajdowała się w stanie równowagi z siłami grawitacji i elektrostatycznymi, zapobiegając nadmiernemu wypływowi. Zbieranie materiału na elektrodzie do dalszej analizy realizowano przez pokrywanie jej folią aluminiową lub zbierając włókna bezpośrednio na szkiełku mikroskopowym. Dla zapewnienia równomiernego pokrycia powierzchni zbierającej materiałem włóknistym w części badań wykorzystywano jako elektrodę zbierającą wałek o metalizowanej powłoce obracany silnikiem elektrycznym i wykonujący periodycznie ruch posuwisty.

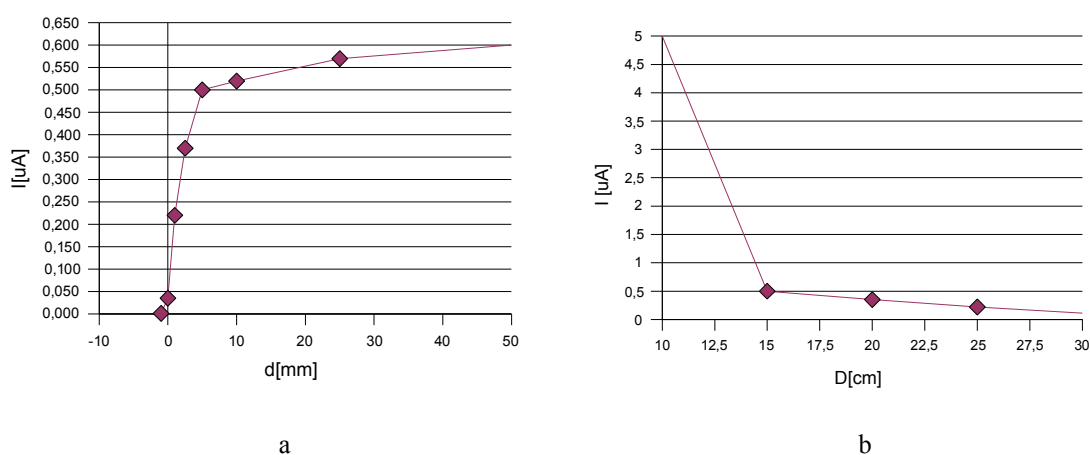
Pole elektryczne o natężeniu ok. 25kV/m przyłożone między dyszą a elektrodą zbierającą powoduje utworzenie się u jej wylotu tzw. "stożka Taylora" [11], czyli stożkowej kropli zakończonej cienką strugą. W niewielkiej odległości od dyszy prostoliniowy odcinek tej strugi ulega pierwszej perturbacji, gwałtownie zmieniając kierunek ruchu. Oddziaływanie pola elektrostatycznego indukuje następnie wirowy ruch strugi, powodując jej silne rozciąganie w miarę oddalania się od dyszy. Mechanizm oddziaływania sił elektrostatycznych na krople i strugi wiąże się z indukowaniem ładunków elektrycznych w przewodnikach i dielektrykach. Efekt odpychania elektrostatycznego zależy od indukowanej różnicy potencjału a ta rośnie liniowo z wielkością obiektu. Śledzenie wirującej w polu elektrycznym strugi pokazuje, że wskutek znacznego przyspieszenia jej elementów i zwielokrotnienia długości toru ma miejsce rozciągnięcie struktur cieczy o wiele rzędów wielkości. Dokładniejszy opis procesu wymaga uwzględnienia zjawisk lepkich, oporu aerodynamicznego, dyfuzji ładunków elektrycznych i wpływu indukowanego ruchem ładunków pola elektrycznego. Nie jest to zadanie łatwe i dotychczas brak pełnego modelu analitycznego czy nawet numerycznego oddziaływania strugi cieczy lepkiej z polem elektrycznym. W Zakładzie Mechaniki i Fizyki Płynów IPPT PAN rozwijany jest model numeryczny elektroprzędzenia [6], który wykorzystuje opis procesu zaproponowany w

pracach [12-13]. Wykonane z wykorzystaniem tego modelu symulacje numeryczne procesu pozwoliły na ocenę wpływu wybranych parametrów na geometrię tworzonej wiązki (rys. 1).



Rys.1 Przykład symulacji numerycznych procesu tworzenia włókna metoda elektrosprężania; wpływ potencjału elektrycznego: a) 10 kV, b) 7.5 kV, c) 5 kV. Pozostałe parametry procesu pozostawiono bez zmian.

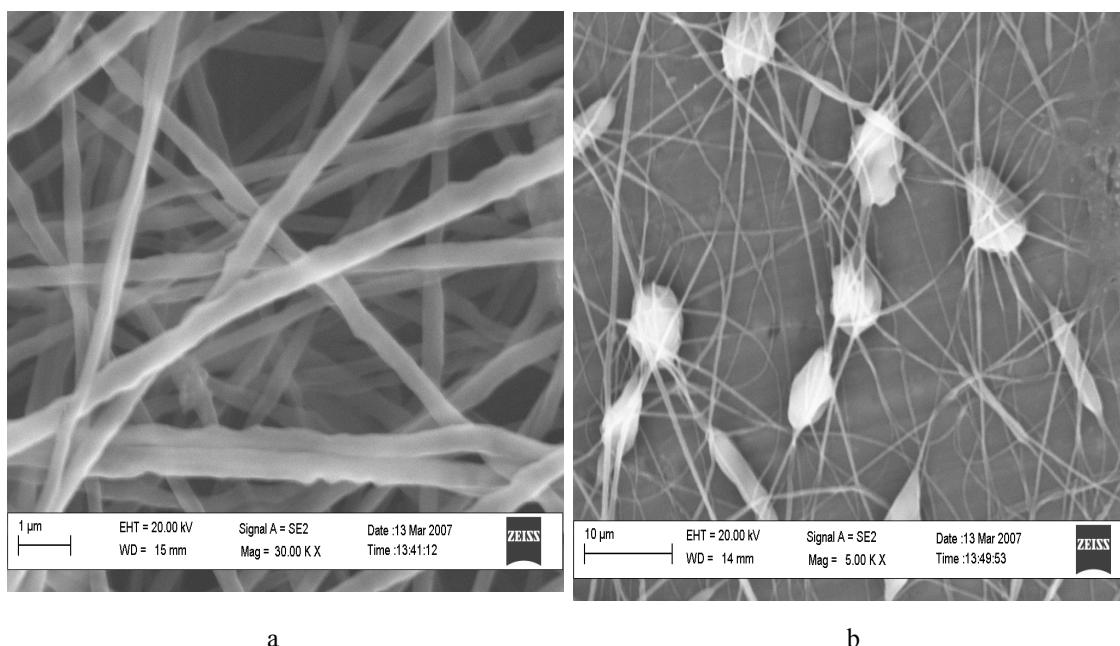
Przeprowadzono porównanie wyników symulacji numerycznych i eksperymentalnych obrazów toru włókna uzyskanych z zastosowaniem szybkiej kamery. Ewaluacja przebiegła pozytywnie i świadczy o dalszej możliwości rozwijania modelu numerycznego.



Rys.2 Przykład analizy przepływu prądu w zestawie doświadczalnym podczas elektroprężania roztworu polimeru (PEOX): a) upływ prądu jako funkcja położenia elektrody w pipecie b) przepływ prądu podczas elektroprężania roztworu PEOX jako funkcja odległości pipety od elektrody zbierającej.

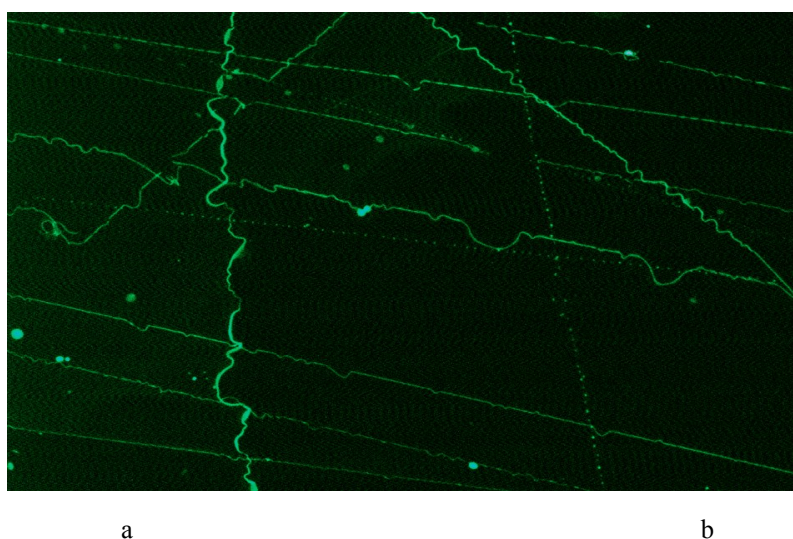
Do badania geometrii i struktury zbieranych nanowłókien obok mikroskopu optycznego korzystano z mikroskopii elektronowej i mikroskopu sił atomowych (AFM), będących na wyposażeniu współpracujących instytutów. Badania mikroskopowe korelowano z obserwacjami optycznymi procesu. W tym celu analizowano geometrię strugi wykorzystując obrazy zarejestrowane szybką kamerą. Przeprowadzone testy obejmowały analizę wpływu szeregu czynników na przebieg procesu, takich jak skład roztworu, przewodnictwo elektryczne roztworu, geometria układu pipeta - elektroda, geometria elektrody zasilającej i zbierającej, wydatek cieczy, przepływ prądu (rys. 2). Pozwoliło to na zdefiniowanie parametrów optymalnych dla danego eksperymentu. Należy zwrócić uwagę, że proces elektroprężania ma charakter chaotyczny. Niewielkie zmiany parametrów, przypadkowe i trudne do kontrolowania zaburzenia powodują, że włókna w ogóle nie powstają i

dochodzi do atomizacji strugi. Dlatego dobór właściwych parametrów i kontrola stabilności procesu jest jednym z istotnych problemów elektroprzędzenia, którego rozwiązanie wymaga wykonania dużej liczby żmudnych badań parametrycznych.

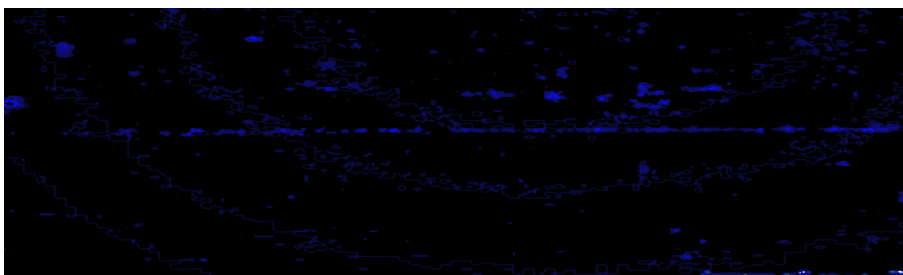


Rys.3 Zarejestrowany mikroskopem elektronowym obraz nanowłókien otrzymanych z materiału kompozytowego poli(tlenek etylenu)/poli(kaprolakton) 1:1. Włókna uzyskane dla wydatku roztworu: a) 0.5 ml/h, b) 1 ml/h. Widoczne defekty (koraliki) w próbce (b).

W wyniku przeprowadzonych badań znaleziono warunki optymalne do otrzymywania włókien z polimerów biodegradowalnych: PCL, P(3HB), PHBV (poli(3-hydroksymaślan-*co*-hydroksywalerianian)). Dobrano odpowiednie do produkcji włókien z polimerów rozpuszczalniki, napięcie, stężenie polimeru i szybkość wypływu roztworu polimeru z dyszy. W rezultacie otrzymano włókna o rozmiarach kilkadziesiąt do kilkuset nanometrów, pozbawione defektów typu „koraliki na sznurku” (rys.3b).



Rys.4 Nanowłókna wykonane z materiału kompozytowego poli(tlenek etylenu)/albumina, wybarwione z użyciem FITC (izocyjanianu fluoresceiny). Wymiar zdjęcia odpowiada 180µm, obraz wykonany z użyciem filtrów fluorescencyjnych dla FITC (ex 465-490, em 505, źródło światła – wysokociśnieniowa lampa rtęciowa).



Rys.5 Nanowłókno wykonane z materiału kompozytowego poli(tlenek etylenu) i widoczne na obrazie kropki kwantowe ZnO wprowadzone do włókien jako wskaźniki. Obraz otrzymany mikroskopem fluorescencyjnym (ex 360 nm $\pm$ 40 nm, em 470 nm $\pm$ 40 nm). Eksperyment wskazuje, że materiał nanowłókien nie niszczy wskaźników ZnO.

W ramach prób wykorzystania nanowłókien do budowania systemów uwalniania leków i systemów diagnostycznych przeprowadzono eksperymenty z wykorzystaniem białek jako materiału elektroprzędzonego. Włókna otrzymane z albuminy (białka globularnego) miały znacznie obniżoną rozpuszczalność w wodzie (rzędu 100 h w porównaniu do sekund dla materiału przed elektroprzędzeniem). Włókna uzyskane z albuminy wybarwiono stosując FITC (izotiocyjanian fluoresceiny) i obserwowano fluorescencję w świetle UV (rys. 4). Włókna te mogą być przydatne do tworzenia układów FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) dla diagnostyki medycznej na poziomie komórkowym.

Wykonano również nanowłókna zawierające kropki kwantowe ZnO zawieszone w materiale włókna. Uzyskano obrazy fluorescencyjne takich włókien (rys. 5). Materiały tego typu mogą znaleźć podobne zastosowanie jak włókna z wybarwionej fluorescencyjną albuminy, ale dzięki zastosowaniu kropek kwantowych znaczniki są znacznie stabilniejsze i nie wykazują efektu „wypalenia” barwnika fluorescencyjnego.

Elektroprzędzone nanowłókna są dobrym rusztowaniem naśladującym budowę naturalnej tkanki. Podjęto próbę wykorzystania nanowłókien jako materiału do budowy rusztowania tkankowego z materiału kompozytowego – mieszaniny PEOX i PCL 1:1. Przeprowadzono próby wymywania składnika rozpuszczalnego w wodzie (PEOX), proces obserwowano z użyciem szybkiej kamery. Stwierdzono zachowanie struktury włókien. Pośrednio stwierdzono również rozpuszczanie PEOX i powstawanie struktury porowatej, ułatwiającej umocowanie komórek tkankowych.

4. WNIOSKI

Przeprowadzono badania nad optymalizacją procesu elektroprzędzenia nanowłókien stosując wieloparametrową analizę eksperymentalną. Przeprowadzono również pozytywną ewaluację modelu numerycznego procesu elektroprzędzenia. Wykonano materiały z nanowłókien z polihydroksykwasów P(3-HB), PCL, PHBV o potencjalnym zastosowaniu biomedycznym. Wykonano materiały kompozytowe z PEOX i PCL, białka albuminy, oraz z zawartością kropek kwantowych z ZnO. Uzyskane materiały mogą znaleźć zastosowanie w systemach diagnostycznych, do budowy rusztowań komórkowych lub do systemów uwalniania leków.

Summary in English: An experimental study was aimed to perform multi-parameter optimisation of the electrospinning process. Mathematical model of the process was evaluated. Nanofibrous materials produced from polyhydroxyesters, proteins and soluble polymers were evaluated as potential materials for drug delivery systems, tissue scaffolds or for bio-medical diagnostic.

Podziękowania

Badania były częściowo finansowane z grantu MNiI pt. „Optymalizacja procesu wytwarzania nano-włókien metodą elektroprzędzenia” Nr N508 031 31/1740. Badania nad biokompatybilnością włókien polimerowych wykonywane są we współpracy z zespołem prof. A.R. Boccaccini z Imperial College (UK).

Bibliografia

- [1] A.L. Yarin, Electrospinning of nanofibers from polymer solutions and melts, *Lecture Notes 5, IPPT PAN and CoE AMAS*, Warsaw, 2003.
- [2] E.R. Kenawy, J. M. Layman, J. R. Watkins, G. L. Bowlin, J. A. Matthews, D. G. Simpson, G. E. Wnek, Electrospinning of poly(ethylene-co-vinyl alcohol) fibers, *Biomaterials* **24**, 907–913, 2003
- [3] W. K. Son, J. H. Youk, T. S. Lee i W. H. Park: Effect of pH on electrospinning of poly(vinyl alcohol) *Materials Letters* **59**, 1571-1575, 2005
- [4] P. Wutticharoenmongkol, P. Supaphol, T. Sriksirin, T. Kerdcharoen, T. Osotchan, Electrospinning of Polystyrene/poly(2-methoxy-5-(2'-ethylhexyloxy)-1,4-phenylene vinylene) Blends, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* **43**, 1881–1891, 2005
- [5] P. Gibson and H. Schreuder-Gibson, Patterned electrospun polymer fiber structures, *e-Polymers* **002**, 1-15, 2003
- [6] T.A. Kowalewski, S. Blonski, S. Barral, Experiments and modelling of electrospinning process, *Bull. Pol. Ac.: Tech.* **53(4)**, p. 385-394, 2005
- [7] T.A. Kowalewski, A.L. Yarin, S. Blonski, Nanofibres by electro-spinning of polymer solution, *5th Euromech Fluid Mechanics Conference*, Toulouse, France, August 24-28, 2003
- [8] S. Blonski, A. Blasinska, T.A. Kowalewski, Electrospinning of Liquid Jets, in *Mechanics of 21st Century, Proc. of ICTAM 2004*, eds. W. Gutkowski, T.A. Kowalewski, Springer Dordrecht, 2005.
- [9] Nanofibres, <http://fluid.ippt.gov.pl/nanofibres/>, internetowe archiwum online.
- [10] A. Błasińska, I. Krucińska, M. Chrzanowski, S. Domaradzka - Nicińska, Manufacturing biomaterials from nanometer-size fibres of dibutyrylchitin using electrospinning method. *Rozdział w monografii Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, Wydawca H. Struszczyk, tom X, 2005
- [11] G.I Taylor, Disintegration of water drops in an electric field, *Proc. R. Soc. London A* **280**, 383 397, 1964
- [12] A.L. Yarin, S. Koombhongse, and D.H. Reneker, Bending instability in electrospinning of nanofibers, *J. Appl. Phys.* **89**, 3018 3026, 2001
- [13] D.H. Reneker, A.L. Yarin, H. Fong, and S. Koombhongse, Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning, *J. Appl. Phys.* **87**, 4531 4547, 2000