

Debreceni Egyetem Fogorvostudományi Kar, Bioanyagtan és Fogpótlástani Tanszék*
Atommagkutató Intézet (ATOMKI), Anyagtudományi Laboratórium, Debrecen**
Semmelweis Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet, Budapest***
Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológia Kar, Fizikai Kémiai Tanszék****

Polivinil-alkohol (PVA) szál (fiber) alapú szövet (fólia) hidrofilitásának optimalizálása

DR. CZIBULYA ZSUZSANNA*, DR. CSÍK ATTILA**, DR. BAKÓ JÓZSEF*,
DR. NOVÁK LEVENTE*** DR. SZABÓ PÉTER****, DR. HEGEDŰS CSABA*

A sebgyógyulást elősegítő anyagoknak számos kémiai, biológiai, mechanikai feltételnek kell megfelelniük, mint például a biokompatibilitás, biodegradabilitás; eközben adott ideig meg kell tartaniuk a kialakított szerkezetet, és szelektíven kell kölcsönhatásba lépniük pl. a csontképződésben részt vevő sejtekkel is. Munkánk célja stabil szerkezetet biztosító, hőkezeléssel iniciált, citromsavval keresztkötött polivinil-alkohol vázak elektrosztatikus szálképzéssel történő előállítása volt. A szálak stabilitását a keresztkötőanyag mennyiségének optimalizálásával és a szövetek hőkezelésével kívántuk elérni. A kiindulási polimer oldatok viszkozitását folyásgörbe mérésekből határoztuk meg. Az ebből készített szövetek felületi morfológiáját alacsony vákuumú pásztázó elektronmikroszkópia és nedvesítési peremszög mérésekkel meghatározott paraméterek változásait detektálva tanulmányoztuk. A keresztkötőanyag-tartalom növelése a szálátmérő növekedését, (224 ± 52 nm-ről, 269 ± 109 nm-re) az eloszlás kiszélesedését és a hidrofilitás csökkenését eredményezte, amely hatásokat a hőkezelés még kifejezettebbé tett. Az ekképpen előállított minták hőkezelés után a desztillált vizes 24–120 órányi áztatásnak is ellenálltak. Az eredmények alapján meghatározható egy felhasználás szempontjából optimális polimer oldat összetétel.

Kulcsszavak: Polivinil-alkohol, citromsav, elektrosztatikus szálképzés, hidrofilitás, nedvesítési peremszög

Rövidítések: PVA = polivinil-alkohol, SEM = pásztázó elektronmikroszkópia

Bevezetés

Az elektrosztatikus szálképzés (elektrospinning) jól ismert módszer, amely segítségével különböző átmérőjű szálakat, szöveteket lehet készíteni pl. a szövettervezéshez, szabályozott hatóanyag-kibocsátáshoz [2, 19]. Az elektrospinning során a polimer oldatot egy fém hegyhez csatlakoztatott fecskendőbe töltik, a kivezetésnél kialakul az ún. Taylor-kúp, amelynek alakja a felületi feszültség és az alkalmazott elektrosztatikus viszonyok alakulásától függ. A megfelelő feszültség alkalmazásával a csepp először deformálódik, majd amikor az elektrosztatikus erők meghaladják az oldat felületi feszültségét, szálak képez. A kialakult polimer szál repülés közben, ahogy a töltés a szál közepéből a felszíne felé tart, elveszíti oldószertartalmát. A földelt gyújtólemeze (céllemez) így már a száraz polimer szál érkezik meg [1–5, 9–10, 13–14, 21]. Többféle elrendezés létezik, a céllemez lehet sík vagy hengeres felület. A betáplálás tekintetében egy vagy több forrással rendelkező készülék is létezik; például mag-héj szerkezetű szálakat koaxiális rendszerrel állíthatunk elő [11]. Az orvos-biológiai alkalmazásokhoz használható szöveteket különböző ki-

indulási polimerekből állíthatjuk elő. Természetes polimerekből, mint például a politejsav, a kollagén vagy a kitozán; illetve szintetikus előállított polimerekből, mint a poliglikolsav, poliakriksav, poliglutamát és az általunk használt polivinil-alkohol (PVA), valamint ezek származékai [7–9, 15, 19]. A PVA [5] biokompatibilis és biodegradábilis anyag. Felhasználható az élelmiszeriparban, gyógyszeriparban, csomagolóiparban és az orvostudományban – pl. a polimervázak rugalmasságának javítására – önállóan vagy biopolimer-keverékek részeként [19]. A feldolgozhatóság szempontjából fontos, hogy a PVA-szálak szerkezeti tulajdonságai az elektrosztatikus szálképzési folyamat paramétereinek optimalizálásával bármilyen moláris tömeggel rendelkező polimer esetén tervezhetőek [10]. A bevonatként is használható polivinil-alkohol szövet legfőbb problémáját a polimerháló jó vízdoldhatósága jelenti. Habár az a polimeroldat és az abból készített szövet előállításakor kifejezetten előnyös, hiszen így az alkalmazott oldószer is biokompatibilis [16]. A szövet felhasználásakor előnytelen a nagymértékű hidrofilitás, mert a szövet szerkezetének rendkívül rövid idő alatt történő megszűnéséhez vezet [12]. Számos szerkezetmódosítással próbálkoztak

már a szálak hidrofóbbá alakítására. Ezeket a módosításokat, és a módosítások következtében fellépő, fizikai, reológiai tulajdonságokat, oldhatóságot vízmegtartó képességre gyakorolt hatást foglalják össze egy tanulmányban Jain és mtsai. 2018 [8]. A szerkezetet alkotó polimer választásakor az is fontos, hogy a polimeroldatkészítés és a szövetképzés során használt oldószer mellett az alkalmazott keresztköti és egyéb adalékanyagok sem lehetnek citotoxikusak [3]. Ezért az alternatív, „zöld” keresztköti vegyületek, mint az észterköti kialakító citromsav alkalmazását részesítjük előnyben. [18–20]. A megfelelő hidrofobicitás eléréséhez keresztköti anyag adagolás mellett hőkezelés alkalmazása is szükséges. A Shi és mtsai. (2015) által alkalmazott 140 °C, 2 órás hőkezelés helyett az alacsonyabb 120 °C-os hőkezelés hosszabb ideig való alkalmazása is megfelelő lehet [13, 18]. Jelen munka célja olyan mesterséges, biokompatibilis, biodegradábilis és optimalizált hidrofilitású szövet előállítása volt, mely megfelelő ideig megtartja a szerkezetét, majd toxikus maradék nélkül lebomlik, így alkalmas lehet fogászati szövettervezési feladatokra.

Anyagok és módszerek

Felhasznált anyagok, polimeroldatok készítése

A kísérleteinkhez gyógyszer-segédanyag minőségű polivinilalkoholt használtunk. (Polyvinyl alcohol 18–88, Merck, hidrolízis foka (USP) 85–89% közötti, a moláris tömegét gél permeációs – méretkizárásos kromatográfiával meghatározva (Agilent Technologies 1260 Infinity II típusú kromatográf, Phenomenex PolySep GFC-P linear, elválasztási tartomány 1kD–10 MDa, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok) a tömeg szerinti molekulatömeg átlagértéke 65 000 körülnek, a polidiszperzitás foka 3,168-nak bizonyult. A szálképzéshez használt keverékekhez 10 m/m%-os PVA polimeroldatot feloldódásig 80 °C-on való keverés közben duzzasztottuk.

Polimeroldatok viszkozitásának meghatározása

A polimeroldat keverékek viszkozitását 25 °C-on MCR 102 Reométer, (Anton Paar GmbH, Ausztria) 50 mm-es lap-lap geometriájú mérőfejjel mértük, növekvő, majd csökkenő sebesség gradienst beállítva. A határviszkozitást a csökkenő sebesség gradiens mellett mért folyásgörbére illesztett Bingham-féle egyenlet $\tau = \tau_B + \eta_{pl} (dy/dt)$ alapján határoztuk meg. (Ahol τ a nyírófeszültség, τ_B a Bingham-féle folyáshatár és η_{pl} a határviszkozitás.)

Elektrosztatikus szálképzés

A szálakat Nanospinner NS1 (Inovenso Ltd, Törökország) készülékkel állítottuk elő. Az áramlási sebesség 0,75 ml/óra volt (Alaris GH infúziós pumpa). Az oldatot egy 5 ml-es fecskendőbe töltöttük, melyhez egy polietilén cső segítségével csatlakoztattunk egy Sterican

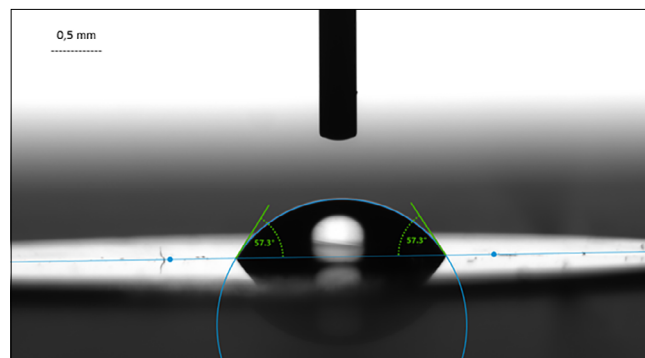
injekciós tűt. A szálakat egy 15 cm-es távolságra elhelyezett 15 × 15 cm felületű alumíniumfóliával fedett földelt kollektor lapon gyűjtöttük 30 percen keresztül. Az alkalmazott feszültség 23 kV volt. A korábbi kísérleti eredményeinket is figyelembe véve a Shi és mtsai. [18] által alkalmazott 140 °C, 2 órás hőkezelést, 120 °C 4 órára módosítottuk, és az általuk alkalmazott citromsav mennyiségét megnöveltük.

Pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) vizsgálat

Az előállított szövetek felületi morfológiáját alacsony vákuumú pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk (LV-SEM, JEOL IT500HR, Tokyo, Japan). A töltés felhalmozódás elkerülése érdekében a szigetelő minták vizsgálata alacsony gyorsító feszültségen (3 kV) és nyomáson (30 Pa) történt.

Nedvesítési peremszög meghatározás

A vízcseppek által a szöveteken mutatott nedvesítési peremszög (1. kép) értékeket Krüss Drop Shape analyzer DSA 30 Drop Shape Analyzer (Krüss GmbH, Hamburg, Németország) segítségével, Young Laplace modellt alkalmazva határoztuk meg. A nedvesítési peremszög eredményeket Huang és mtsai. által meghatározott értékekhez hasonlóan [6], azonos mérési időpontot kiválasztva, a csepp felületre érkezése után azonnal leolvastuk, figyelembe véve hogy a hidrofilitásuk és a natív szálak különböző mértékű oldódása miatt a mért értékek csak néhány mérés erejéig állandók. Ugyanezen okból a szövet vastagságával változik a mért paraméter is, így csak a nedvesítési peremszög-értékek változásából adódott irányvonalat elemeztük.



1. kép: Példa a nedvesítési peremszög meghatározásának menetére

Szálamérő-meghatározás

A szálvastagságok meghatározása nyílt forráskódú ImageJ (National Institutes of Health, Amerikai Egyesült Államok) program segítségével történt. A megfelelő eredmények érdekében mintaként 100 szál adatait határoztuk meg, az Image J szoftverből leolvasott értékekből Excel program segítségével hisztogramokat készítettünk, az eredményeket OriginPro (OriginLab, Amerikai Egyesült Államok) programban ábrázoltuk.

Eredmények

Minták összetétele, viszkozitása

Az 1. táblázatban feltüntetett összetételű mintákat vizsgáltuk. A minták készítése során az adagolt PVA-oldat (10 m/m%-os) mennyiségét állandó értéken tartva növeltük a citromsav koncentrációját. (Az oldatok pH-ja 6-ról 2-re csökkent a legmagasabb citromsavtartalom hozzáadása után.) A bemutatott minták összetételét és viszkozitását tartalmazza az 1. táblázat.

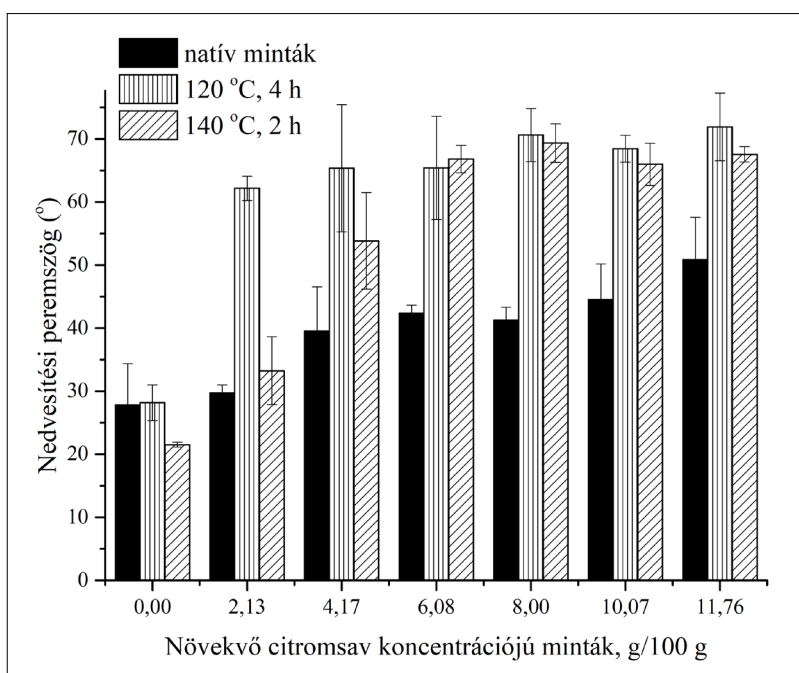
1. táblázat

Mintaösszetétel és a keverék viszkozitása

minta	c_{PVA} , g/100 g	$c_{citromsav}$, g/100 g	μ_{pl} , mPas
PVA	10,00	0,00	410,31
A	9,79	2,13	494,66
B	9,58	4,17	510,18
C	9,39	6,08	489,78
D	9,20	8,00	475,55
E	8,99	10,07	489,95
F	8,82	11,76	485,04

A polimeroldatok viszkozitása 9,58 g/100 g citromsavtartalomig növekedett a keresztkötő anyagként használt citromsav mennyiségének növelésével, ezután csökkenést mutatott. Az így elkészült keverékekből elektro-szálképzéssel szöveteket állítottunk elő. Erre mutat egy példát a 2. kép.

Az általunk összeállított rendszerek esetén a Shi és munkatársai által leírt 140 °C, 2 órányi illetve az alacsonyabb 120 °C [13], 4 órányi hőkezelés hatására hidrofíll/hidrofób jellegben kialakuló eltéréseket kívántuk összevetni a natív, hőkezelésmentes minták esetében mérhető nedvesítési peremszögértékekkel. (3. kép)



2. kép: Elektro-szálképzéssel előállított PVA-alapú szövet

A 3. képen a hőkezelés előtti (PVA natív) minták azonos időpontban leolvasott nedvesítési peremszög értékeinek összehasonlítása látható a 120 °C-on, 4 órán és 140 °C-on 2 órán keresztül hőkezelt minták paramétereivel. A mért nedvesítési peremszögértékek minden esetben telítésbe futnak a citromsavtartalom növelésével. A natív minták 10 m/m% citromsav-tartalom értéken érik el a maximális hidrofobicitást ($PVA_{nat} - 10 \text{ m/m\% Citr}_{nat}$), melyet a hőkezelés az alacsonyabb koncentrációk irányába tol el. A telítési értékek alatt, függetlenül a hőkezelés mértékétől, nem tapasztaltunk szignifikáns változást, míg az azokat meghaladó értékek esetében nem szignifikáns a növekedés. A hidrofobicitás növekedését a hőkezelés még kifejezettebbé teszi, amit

3. kép: A nedvesítési peremszögek növekedő citromsavmennyiségeket tartalmazó minták esetében (Az egyes koncentrációkhoz tartozó oszlopok sorrendben a natív, a 120 °C-on 4 órán át hőkezelt valamint a 140 °C-on 2 órán át hőkezelt mintákra vonatkoznak.)

a felületi OH-csoportok lekötésével magyarázhatjuk. A 2. táblázatból az is látható, hogy a különböző hőmérsékletű kezelések is szignifikáns eltérést okoznak az azonos összetételű minták nedvesítési peremszögértékeiben (2 m/m% natív – 2 m/m% 120 °C, 2 m/m% 120 °C–2 m/m% 140 °C). A 120 °C, 4 órányi hőkezelés szignifikánsan magasabb hidrofobicitást okoz a 140 °C, 2 órányi hőkezeléshez képest, amint ez már a 2 m/m%-os citromsav hozzáadása után is kifejeződött; így a további hőkezelt mintaként hivatkozott eredmények, a 120 °C-on 2 órán keresztül hőkezelt mintákra vonatkoznak.

2. táblázat

Változások szignifikancia értékei

Telítési maximum elérése az egyes sorozatokon belül	P (T <= t)
Natív minták: PVA _{nat} – 10% Citr _{nat}	0,018971
120 °C-on hőkezelt minták: PVA 120 °C–2% 120 °C	0,000012
140 °C-on hőkezelt minták: 4% Citr 140 °C–6% Citr 140 °C	0,022159
Különböző hőmérsékletű hőkezelés hatása	
2% natív–2% 120 °C	0,000139
2% 120 °C–2% 140 °C	0,000001

A citromsavat is tartalmazó minták (A-tól F)-ig esetén látható (4.a kép, 4.b kép), hogy a hőkezelés hatására a szövet sűrűsége csökken, a citromsavmentes PVA esetén nem tapasztalható változás. Az alkalmazott beállítások mellett az E, valamint az F minta esetén a jelenlévő citromsavfelesleg a SEM-mérések közben valószínűleg a kis területre fókuszált pásztázó elektronnyaláb okozta lokális melegedés a vákuumkamrában mért nyomásérték változásából következően CO₂ kibocsátást eredményezett, így ezek a minták kisebb (F natív minta 3000x-es, D és E hőkezelt minta: 4500x-os, F hőkezelt minta 1000x-es) nagyításban kerültek bemutatásra. A natív minták esetén az eloszlásgörbe szélessége és a maximum szálátmérő-értékek is növekedést mutatnak, míg hőkezelés hatására citromsav jelenlétében az eloszlásgörbékben megjelenik egy másodlagos maximum-érték is. Az ImageJ szoftverrel meghatározott szálátmérő maximumok értékeit és az átlagos szálátmérőket tartalmazza a következő két kép. (5.a kép, 5.b kép)

Az 5.a képen látható, hogy a citromsav mennyiségének növelése növekedő trendet mutat a natív minták átlagos szálátmérőinek változásában. A SEM-képeken látható, hogy a szálvastagság növekedésével a szálak rendezettsége is csökken, a citromsavtartalom növekedésével egyre inkább ívelt szerkezetet mutatnak. A szálátmérők eloszlásgörbéje (4.a kép, 4.b kép), amint azt az 5.a, b képen látható hibahatárok növekedése is mutatja, fokozatosan kiszélesedik. 12 m/m%-os citromsavtartalomnál megháromszorozódik az elsődleges szálátmérő, de az eloszlásgörbe jelentősen ellaposodik. Meg

kell hát találni az optimális citromsavtartalom értéket, ami a felhasználás szempontjából megfelelő szálátmérőméretet és -eloszlást adja. Hőkezelés hatására (5.b kép) a szálátmérők növekedése kifejezettebbé válik, az eloszlásgörbék kiszélesedése mellett minden esetben megjelenik egy másodlagos maximum is (a képen csak az elsődleges maximum értékeket tüntettük fel).

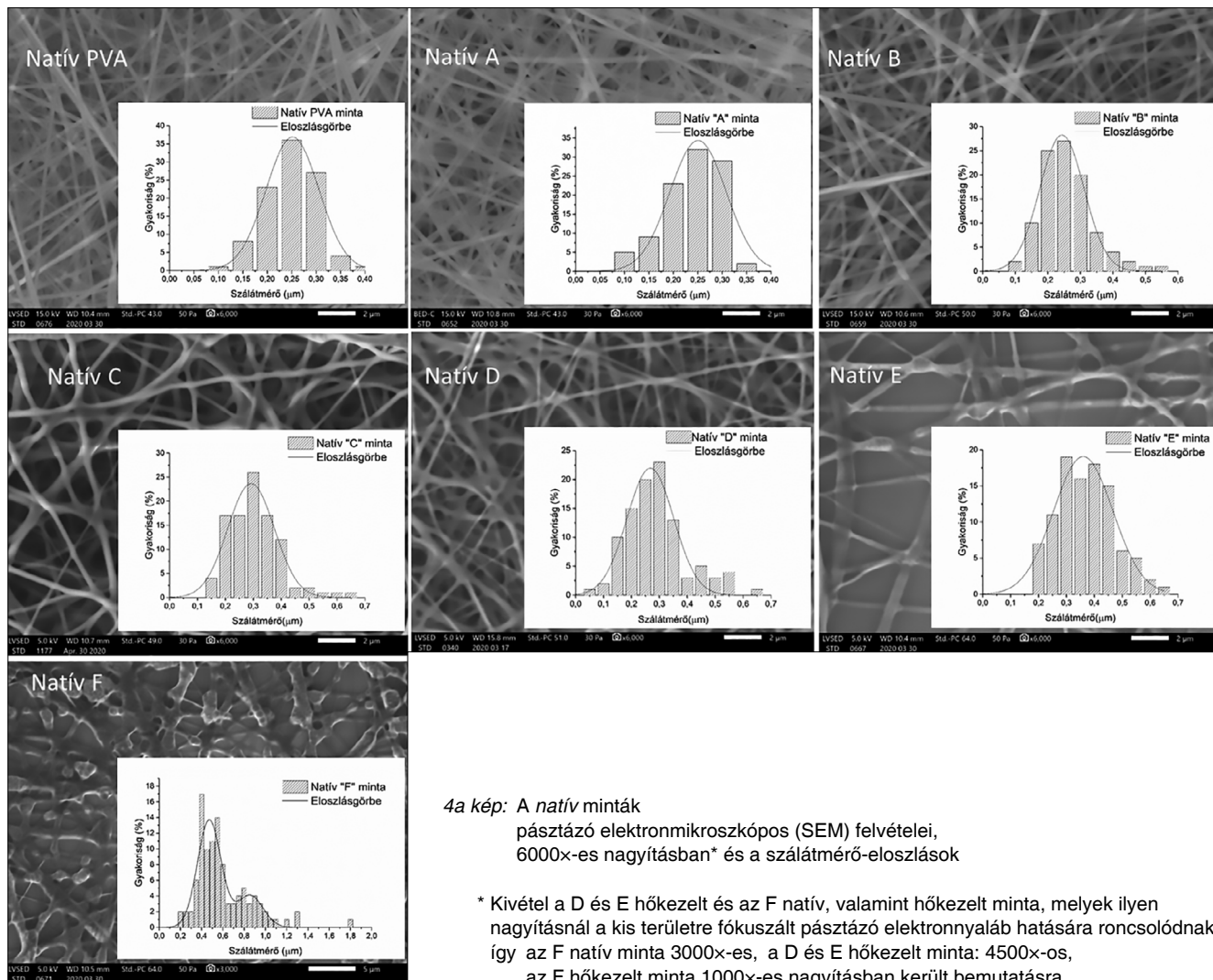
A hidrofil/hidrofób tulajdonságok hőkezelés-változását a mindkét kezelési hőmérsékleten hasonló nedvesítési peremszögértéket mutató D jelű (8 m/m% citromsav tartalmú) minta esetén vizsgáltuk. Mivel 6 százalékos citromsavtartalom felett a két különböző hőmérsékleten való hőkezelés hasonló mértékű hidrofobicitást eredményezett, a hőkezelés, valamint 1 és 5 napos desztillált vízben való áztatás hatását a D jelű minta esetén 120 °C-on 2 órán át hőkezelt mintákra vonatkozóan mutatjuk be (6. kép, 3. táblázat).

Ha a 6. képet összehasonlítjuk a 4.a, b kép D mintára vonatkozó képeivel, elmondhatjuk, hogy a 8 m/m% citromsavat tartalmazó minta hőkezelés előtt még sűrű szövetet ad. Ez 120 °C, 2 óra hőkezelés után ritkábbá válik, majd 1 napi desztillált vízben áztatás, levegőn való szárítás után a szövet szerkezete részben bomlik, a szálak vízben megduzzadnak, és a felvett vizet magukban is tartják. Így ismét sűrű, de hajlított szálszerkezetű szövet alakul ki.

A nedvesítési peremszögértékeket (3. táblázat) is figyelembe véve elmondható, hogy a minta rövid idejű áztatásának hatására a szövet felszíne hidrofílebbé válik. A hőkezelt mintára meghatározott 68 °-os értékről, 1 napos vizes áztatás hatására 52 °-ra csökken a nedvesítési peremszög értéke. A minta szerkezete 5 napos áztatás hatására a rövidebb idejű áztatást követően jellemzőhöz képest látszólag nem változik, de a mérhető nedvesítési peremszögértéke visszatér az eredetileg hőkezelt mintára jellemző érték közelébe, 65 °-ra. Az ImageJ szoftver által meghatározott szálátmérők a fentebbi táblázatnak megfelelően változnak. Az átlagos szálátmérők a natív mintához képest növekedést mutatnak mind a hőkezelés, mind a desztillált víz hatására bekövetkező duzzadás hatására. Látható, hogy az áztatás időtartama 5 napos időintervallumon belül nem befolyásolja jelentősen a szálátmérőket, tehát a szerkezet vizes áztatás közben is stabil marad.

Megbeszélés

A PVA-szövet biokompatibilis és kellően rugalmas szerkezetet ad, de az alkalmazás során gondot jelenthet annak túlzott vízzoldhatósága. A szövet hidrofóbbá tétele többféleképpen történhet. Ilyen például a szálak különböző keresztmetszeti anyagokkal pl. glutáraldehiddel, mely már nyomokban előfordul mennyiségben is citotoxicitást mutat, való kezelése [5]. Egy másik lehetőség, amikor a keresztmetszeti anyagot eleve bejuttatjuk a rendszerbe, majd a spinningelést magas hőfokon való hőkezelés követi. Ezek egy alternatívája olyan karboxil cso-



4a kép: A natív minták pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételei, 6000x-es nagyításban* és a szálátmérő-eloszlások

* Kivétel a D és E hőkezelt és az F natív, valamint hőkezelt minta, melyek ilyen nagyításnál a kis területre fókuszált pásztázó elektronnaláb hatására roncsolódnak, így az F natív minta 3000x-es, a D és E hőkezelt minta: 4500x-os, az F hőkezelt minta 1000x-es nagyításban került bemutatásra.

portokat tartalmazó vegyületek alkalmazása [9], melyek viszonylag rövid ideig tartó, és alacsonyabb hőmérsékleten történő hőkezelés hatására is elősegítik a keresztkötések kialakulását. A szakirodalomban az általunk választott citromsav alkalmazására is található néhány biztató kutatási eredmény. Pangon és mtsai az általuk használt biopolimer oldódását, majd PVA-val történő keresztkötések kialakulását segítette elő különböző karboxil-csoport tartalmú anyagokkal, többek között citromsavval [13]. Sabzi és mtsai PVA hidrogélek keresztkötésére használtak különböző mennyiségben (10, 20, 30 m/m%) citromsav oldatokat [17]. Shi és mtsai. 2015-ben

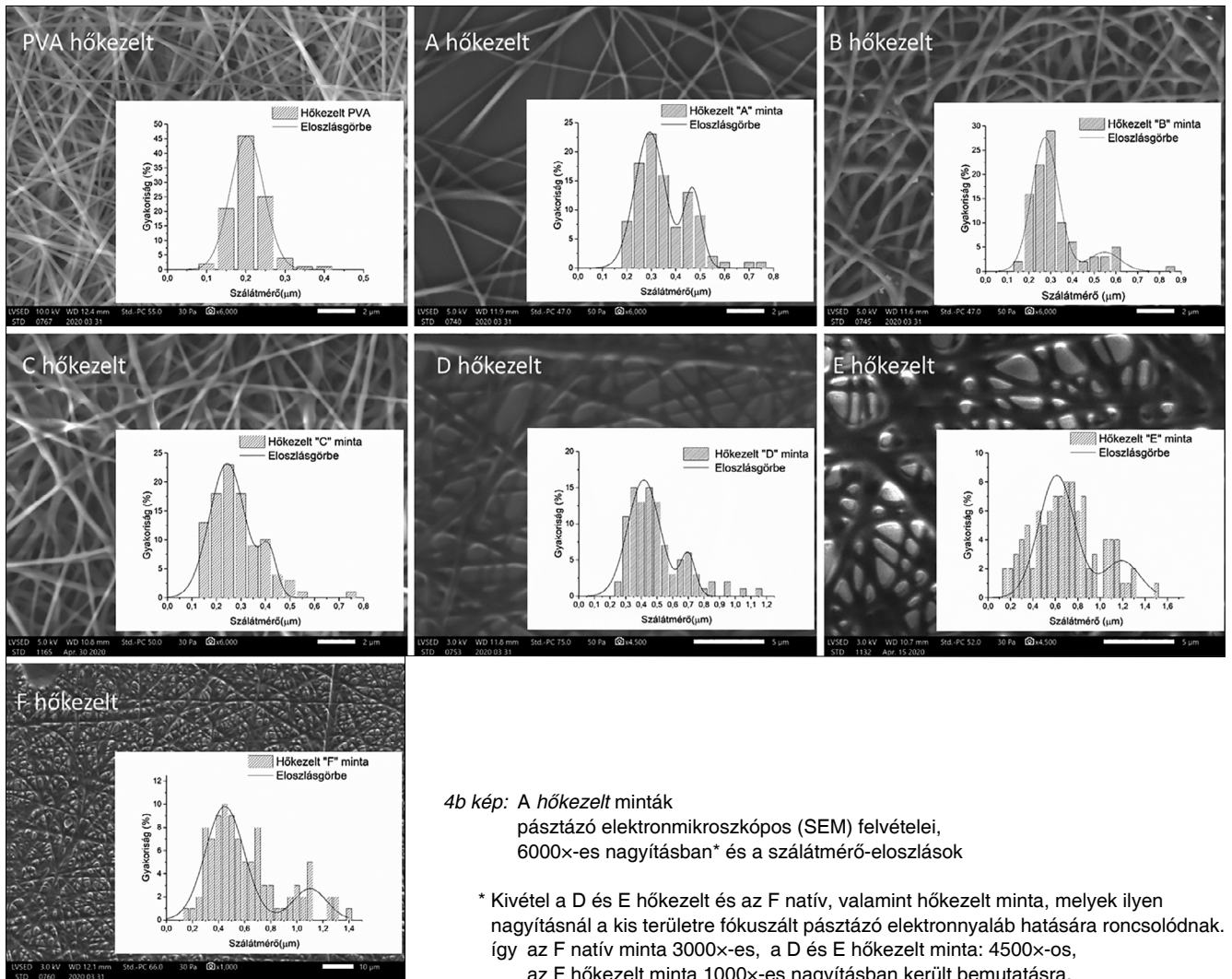
0,16–0,64 m/m% közötti mennyiségben alkalmazták a citromsavat PVA-szálak keresztkötő anyagaként. [18]. A kisebb citromsavtartalmú mintáikat 140 °C-on 2 órán át hőkezelték, így sikerült olyan szövetet előállítaniuk, melynek morfológiája 24 órányi vizes áztatás hatására csak kismértékben változott. Ezeket figyelembe véve kívántunk egy olyan szövetet előállítani, mely vizes közegben egy hétig bizonyíthatóan megtartja a megfelelő szerkezetét.

A minták készítésénél figyelembe kellett venni, hogy az általunk használt PVA mérete és molekulatömege nem azonos a Shi és mtsai által használttal [18]. Ameny-

3. táblázat

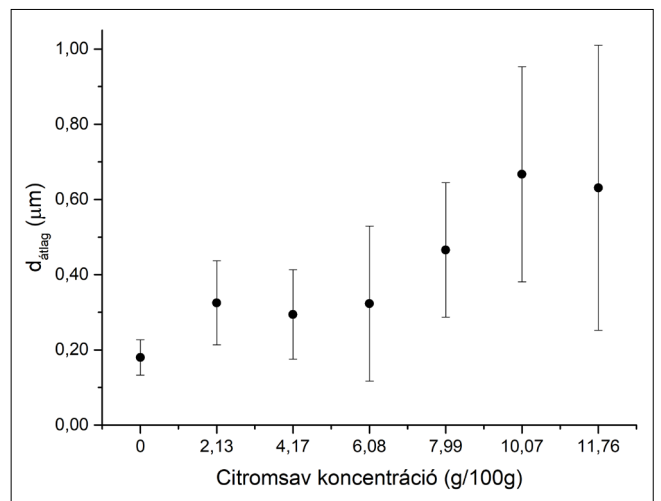
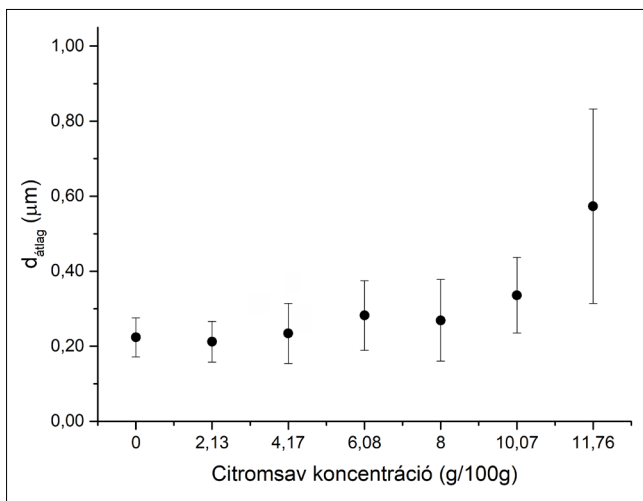
A hőkezelés, majd az azt követő desztillált vízben áztatás hatása a szálátmérő átlagértékeire ($d_{\text{átlag}}$), natív (N), hőkezelt (HK) hőkezelés után 24 órán át desztillált vízben áztatott (HK + 24h) 120 órán át desztillált vízben áztatott (HK + 120h) 8 m/m%-os citromsav tartalmú (D jelű minta) PVA-szövet esetén

Minta	$c_{\text{citr.}}$ g/100g	$d_{\text{átlag}}^{\text{N}}$ µm	$d_{\text{átlag}}^{\text{HK}}$ µm	$d_{\text{átlag}}^{\text{HK} + 24 \text{ h d.víz}}$ µm	$d_{\text{átlag}}^{\text{HK} + 120 \text{ h d.víz}}$ µm
D	8,00	0,27 ± 0,11	0,47 ± 0,18	0,57 ± 0,22	0,58 ± 0,24

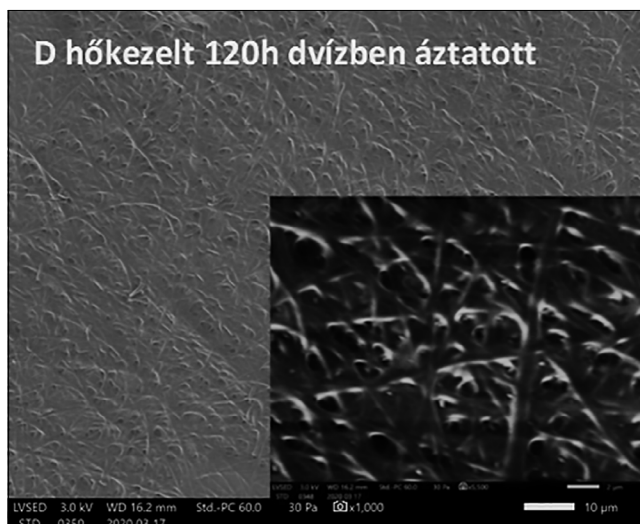
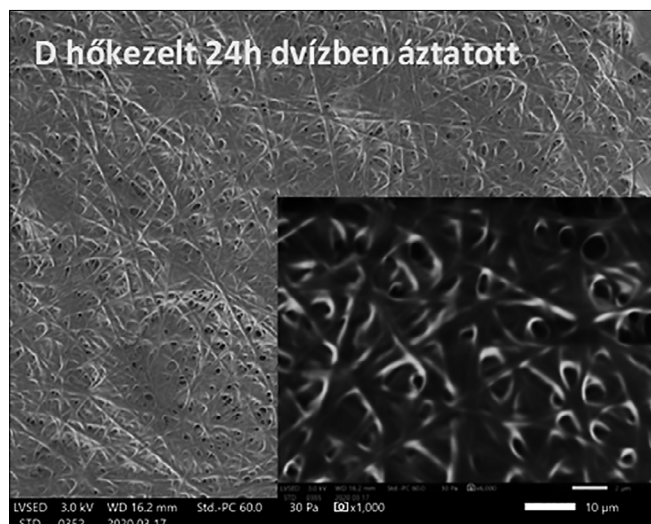


4b kép: A hőkezelt minták pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételei, 6000x-es nagyításban* és a szálátmérő-eloszlások

* Kivétel a D és E hőkezelt és az F natív, valamint hőkezelt minta, melyek ilyen nagyításnál a kis területre fókuszált pásztázó elektronnaláb hatására roncsolódnak, így az F natív minta 3000x-es, a D és E hőkezelt minta: 4500x-os, az F hőkezelt minta 1000x-es nagyításban került bemutatásra.



5. a, b. kép: A natív (a) és hőkezelt (b) minták szálátmérőinek változását bemutató ábra, növekedő citromsav-mennyiségeket tartalmazó minták esetében



6 kép: A 8 m/m% citromsavat tartalmazó PVA-minta hőkezelést követő 24, illetve 120 órás desztillált vízben való áztatás utáni szerkezetvizsgálatára vonatkozó pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételei (1000x-es és 6000x-es nagyításban)

nyiben a későbbiekben biopolimereket, vagy szerves hatóanyagot kívánunk bevinni a szerkezetbe, a 140 fokok hőkezelés túl magas lehet, hiszen a biopolimer-tartalmú minták szerkezete ezen a hőmérsékleten nagy valószínűséggel sérül. Ennek alapján két változtatási irány volt lehetséges. Az egyik a hőmérséklet csökkentése és a hőkezelés idejének megnövelése [13]; a másik a keresztkötő anyag mennyiségének növelése. A polimeroldatokra meghatározott viszkozitás-értékeink 9,58 g/100 g citromsavtartalomig növekedtek a keresztkötő anyagként használt citromsav mennyiségének növelésével, majd csökkentek. (Amint az az 1. táblázatban látható.) Valószínűsíthető, hogy a citromsav mennyiségének túlzott növelése, már nem segíti elő az észteresedési folyamatot, a keresztkötési pontok kialakulását, mindösszesen megnöveli a rendszerben megjelenő szabad karboxil-csoportok számát. A növekvő citromsavmennyiség és az ezzel együtt járó csökkenő pH hatására csökken a duzzadás mértéke is (6-ról 2 körüli értékre) [17], ami szintén hozzájárulhat a viszkozitás állandósulásához. A natív minták szálátmérő-értékeiben körülbelül 20–24 százalékos növekedést tapasztaltunk.

A szöveti felület hidrofil/hidrofób tulajdonságainak változása nedvesítési peremszögmérésekkel nyomon követhető. Amint az 3. ábrán is bemutatásra került a különböző citromsavtartalmú szövetek esetén a keresztkötő anyag mennyisége különbözőképpen hat a vízzel adott nedvesítési peremszög értékekre. A citromsavtartalom növelése kezdetben hidrofóbbá teszi a szövetet, majd a görbe felfutása telítést mutat. Ez várható is volt, hiszen a citromsav karboxil-csoportokat tartalmaz, így észterkötéseken keresztül lekötí a PVA OH-csoportjainak egy részét, viszont feleslegben hozzáadott citromsav hatására a keresztkötések száma már nem képes növekedni. Az előállított rendszerek még így is hidrofil

tulajdonságokat mutatnak, hiszen a nedvesítési peremszög minden esetben 90 ° alatti érték. Hőkezelés hatására a felületi OH-csoportok egy része is megszűnik [20]. Elmondható, hogy a keresztkötő anyag mennyiségének növelésével egyre vastagabb szálakból álló szövetet állíthatunk elő, de egyre kevésbé lehet szűk tartományra korlátozni a szálátmérő-eloszlást.

Hőkezelés hatására kialakulnak a keresztkötések, amit már megnövekedett nedvesítési peremszögmértékek is mutattak. (Amint az a 3. ábrán is látható.) A szövetek sűrűsége csökken, a szálak még inkább ívelté válnak. Az átlagos szálátmérők a 120 °C-os hőkezelés hatására körülbelül 10–50%-os növekedést mutatnak, a szálátmérő-maximumok is hasonlóan változnak. Hőkezelés után, már körülbelül 9 m/m%-os citromsavtartalom esetén elérjük a natív mintáknál meghatározott maximális átlagos szálátmérőértéket. 24, 120 órányi vizes áztatás után bizonyítottuk a hőkezelt szövetek stabilitását. Habár a szálátmérők a vízben való duzzadás következtében kezdetben növekedést mutatnak, de ezt a többszörös áztatás nem módosítja.

További mérések szükségesek e rendszerek degradabilitásának, toxicitásának, hatóanyaggal tölthetőségének meghatározásához, mely lehetővé teszi e különleges tulajdonságú anyagok fogászati alkalmazását is.

Következtések

A citromsavadagolás következtében a szövetek átlagos szálátmérője egyértelmű növekedést mutat. A 2 m/m% feletti citromsavmennyiség adagolása esetén a szövet hidrofobicitása növekedést mutat. A hőkezelt minták esetén kimutatható, hogy körülbelül 9 m/m%-os citromsavadagolás hatására elérhető a natív mintáknál meghatározott maximális átlagos szálátmérőérték. En-

nél több keresztkötő anyag jelenléte, valamint a hőkezelés együttes hatása a minták szerkezetének sérüléséhez vezet. Az eredmények alapján elmondható, hogy sikerült optimalizálni a fogászati alkalmazások alapjául szolgáló szövetek hidrofilitását.

Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését a GINOP-[2.3.2-15-2016-00022] számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg.

A tanulmány alapjául szolgáló kutatást a Tématerületi Kiválósági Program 2020 (TKP2020-IKA-04) támogatta a Biotechnológia Tématerület keretében, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (NKFI Alap) finanszírozásában.

A mikroszkópos vizsgálatok elkészítését a GINOP-2.3.2-15-2016-00029 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Irodalom

- BAGHABAN-ESLAMINEJAD M, ORYAN A, KAMALI A, MOSHIRI A: Chapter 25 – The role of nanomedicine, nanotechnology, and nanostructures on oral bone healing, modeling, and remodeling. Nanostructures for Oral Medicine. Elsevier 2017; 777–832. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47720-8.00026-2>
- BOTTINO MC, THOMAS V, JANOWSKI GM: A novel spatially designed and functionally graded electrospun membrane for periodontal regeneration. *Acta Biomater* 2011; 7 (1): 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.08.019>
- CHENG J, JUN Y, QIN J, LEE SH: Electrospinning versus microfluidic spinning of functional fibers for biomedical applications. Vol. 114, *Biomaterials* Elsevier Ltd. 2017; 121–143. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.10.040>
- DENEKE N, DOHADWALA S, MOORE Q, NAVE F, THOMPSON A: Evaluating alternative crosslinking agents in poly(vinyl alcohol) hydrogels membranes. 2018; 63–81.
- GOUGH JE, SCOTCHFORD CA, DOWNES S: Cytotoxicity of glutaraldehyde crosslinked collagen/poly(vinyl alcohol) films is by the mechanism of apoptosis. *J Biomed Mater Res* 2002; 61 (1): 121–130. <https://doi.org/10.1002/jbm.10145>
- HUANG F, WEI Q, CAI Y, WU N: Surface structures and contact angles of electrospun poly(vinylidene fluoride) nanofiber membranes. *Int J Polym Anal Charact* 2008; 13 (4): 292–301. <https://doi.org/10.1080/10236660802190963>
- IVANOVSKI S, VAQUETTE C, GRONTHOS S, HUTMACHER DW, BARTOLD PM: Multiphasic scaffolds for periodontal tissue engineering. *Journal of Dental Research* SAGE Publications Inc. 2014; 1212–1221. <https://doi.org/10.1177/0022034514544301>
- JAIN N, SINGH VK, CHAUHAN S: A review on mechanical and water absorption properties of polyvinyl alcohol based composites/films. *Journal of the Mechanical Behavior of Materials* Walter de Gruyter GmbH 2017; 213–222. <https://doi.org/10.1515/jmbm-2017-0027>
- JANG JH, CASTANO O, KIM HW: Electrospun materials as potential platforms for bone tissue engineering. Vol. 61, *Advanced Drug Delivery Reviews* 2009; 1065–1083. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.008>
- KOSKI A, YIM K, SHIVKUMAR S: Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Mater Lett*. 2004; 58 (3–4): 493–497. [https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(03\)00532-9](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(03)00532-9)
- LI F, ZHAO Y, SONG Y: Nanofibers. *InTech* 2010; 419–438.
- MENEGHELLO G, PARKER DJ, AINSWORTH BJ, PERERA SP, CHAUDHURI JB, ELLIS MJ, et al: Fabrication and characterization of poly(lactic-co-glycolic acid)/polyvinyl alcohol blended hollow fibre membranes for tissue engineering applications. *J Memb Sci* 2009; 344 (1–2): 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.07.034>
- PANGON A, SAESOO S, SAENGRIT N, RUKTANONCHAI U, INTASANTA V: Multicarboxylic acids as environment-friendly solvents and in situ crosslinkers for chitosan/PVA nanofibers with tunable physicochemical properties and biocompatibility. *Carbohydr Polym* 2016; 138: 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.039>
- PELIPENKO J, KOCBEK P, KRISTL J: Critical attributes of nanofibers: Preparation, drug loading, and tissue regeneration. Vol. 484, *International Journal of Pharmaceutics* Elsevier 2015; 57–74. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.02.043>
- PLIPCHUK SP, PLONKA AB, MONJE A, TAUT AD, LANIS A, KANG B, et al: Tissue engineering for bone regeneration and osseointegration in the oral cavity. *Dent Mater* 2015; 31 (4): 317–338. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.01.006>
- RWEI SP, HUANG CC: Electrospinning PVA solution-rheology and morphology analyses. *Fibers Polym* 2012; 13 (1): 44–50. <https://doi.org/10.1007/s12221-012-0044-9>
- SABZI M, AFSHARI MJ, BABA AHMADI M, SHAFAGH N: pH-dependent swelling and antibiotic release from citric acid crosslinked poly(vinyl alcohol) (PVA)/nano silver hydrogels. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2020; 188: 110757–110767. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110757>
- SHI J, YANG E: Green electrospinning and crosslinking of polyvinyl alcohol/citric acid. *J Nano Res* 2015; 32: 32–42. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JNanoR.32.32>
- SOARES RMD, SIQUEIRA NM, PRABHAKARAM MP, RAMAKRISHNA S: Electrospinning and electrospray of bio-based and natural polymers for biomaterials development. Vol. 92, *Materials Science and Engineering C*. Elsevier Ltd. 2018; 969–982. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.08.004>
- SONKER AK, TEOTIA AK, KUMAR A, NAGARALE RK, VERMA V: Development of Polyvinyl Alcohol Based High Strength Biocompatible Composite Films. *Macromol Chem Phys* 2017; 218 (15): 1700130–1700143. <https://doi.org/10.1002/macp.201700130>
- VONIATIS C, BALSEVICIUS L, BARCZIKAI D, JURIGA D, TAKÁCS A, KÓHIDAI L, et al: Co-electrospun polysuccinimide/poly(vinyl alcohol) composite meshes for tissue engineering. *J Mol Liq* 2020; 306: 112895–112903. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112895>

CZIBULYA Zs, CSIK A, BAKÓ J, NOVÁK L, SZABÓ P, HEGEDŰS Cs

The optimization of hydrophilicity of PVA scaffold due to citric acid addition and heat treatment

Materials developed for wound healing have to meet several criteria, such as being non-cytotoxic, biocompatible, biodegradable, having good mechanical properties, and acting selectively with osteoblasts. The aim of this study was, using an electrospinning method, to prepare a polymer scaffold to get a stable, adequate, hydrophilic structure, which will enhance wound healing during bone regeneration. To achieve that, a cross-linked polyvinyl alcohol fibre net was prepared by heat treatment and applied to the water-based polymer in presence of a citric acid solution. The viscosity of the initial polymer was determined from the flow curve measurements. The surface properties of the fibre nets were monitored by the low-vacuum scanning electron microscopy and the contact angle measurements. It was found that the addition of a citric acid as a cross-linker in a concentration exceeding 2m/m% increased the diameter of the polyvinyl alcohol fibres. When adding 8m/m% citric acid, an initial diameter of 224 ± 52 nm has increased to 269 ± 109 nm. Furthermore, the distribution also became wider due to the development of bonding points for ester bonds. This process was enhanced by a two-hour heating at 120 °C; thus, resulting in modification of the OH groups on the surface. The decrease of hydrophilicity was proved by the increase in contact angles. In addition, it was demonstrated that the scaffold structure prepared with this method does not degrade during the 24–120 h long water treatment.

Keywords: Polyvinyl-alcohol, citric acid, electrospinning, fibre, hydrophilicity, contact angle