



**Kauno technologijos universitetas**  
Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakultetas

# **Kolageno dangos iš gyvulinės kilmės atliekų kūrimas ir panaudojimas medicininei tvarsliausiai gauti**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Joana Sinkevičiūtė**

Projekto autorė

**Prof. Virginija Jankauskaitė**

Vadovė

---

**Kaunas, 2022**



**Kauno technologijos universitetas**  
Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakultetas

# **Kolageno dangos iš gyvulinės kilmės atliekų kūrimas ir panaudojimas medicininei tvarsliausiai gauti**

Baigiamasis magistro projektas  
Gamybos inžinerija (6211EX015)

---

**Joana Sinkevičiūtė**  
Projekto autorė

**Prof. Virginija Jankauskaitė**  
Vadovė

**Doc. Kristina Žukienė**  
Recenzentė

---

**Kaunas, 2022**



**Kauno technologijos universitetas**  
Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakultetas  
Joana Sinkevičiūtė

## **Kolageno dangos iš gyvulinės kilmės atliekų kūrimas ir panaudojimas medicininei tvarsliausiai gauti**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs (-usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Joana Sinkevičiūtė

*Patvirtinta elektroniniu būdu*



**Kaunas technologijos universitetas**  
Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakultetas  
**Baigiamojo magistro projekto užduotis**

**Studentui (-ei) – Joanai Sinkevičiūtei**

**1. Projekto tema –**

Kolageno dangos iš gyvulinės kilmės atliekų kūrimas ir panaudojimas medicininei tvarsliausiai gauti  
*(Lietuviškai)*

Development and Application of Collagen Coating from Animal Waste for the Production of Medical Dressing

*(Angliškai)*

**2. Projekto tikslas ir uždaviniai –**

Tikslas: sukurti kolageno dangą iš gyvūninės kilmės atliekų, ir įvertinti jos pritaikymą medicininėje tvarsliauvoje.

Uždaviniai:

1. Elektrinio verpimo metodu suformuoti želatinos ir bioaktyvių priedų turinčias dangas.
2. Įvertinti elektrinio verpimo parametrų įtaką dangų struktūrai.
3. Ištirti dangų kompozicijos įtaką dangų struktūrai.
4. Ištirti naudotų medžiagų bioaktyvumą.
5. Apskaičiuoti dangos paruošimo savikainą.

**3. Pradiniai projekto duomenys –**

Netaikoma

**4. Pagrindiniai reikalavimai ir sąlygos –**

Visi tyrimai turi būti atlikti pagal galiojančius standartus ir metodikas. Citotoksiškumo tyrimai – pagal ISO 10993-5:2009.

Projekto autorė	Joana Sinkevičiūtė <i>(Vardas, Pavardė)</i>	<i>(Parašas)</i>	2021.10.04 <i>(Data)</i>
Vadovė	Virginija Jankauskaitė <i>(Vardas, Pavardė)</i>	<i>(Parašas)</i>	2021.10.04 <i>(Data)</i>
Krypties studijų programų vadovė	Regita Bendikienė <i>(Vardas, Pavardė)</i>	<i>(Parašas)</i>	2021.10.04 <i>(Data)</i>

Sinkevičiūtė Joana. Kolageno dangos iš gyvulinės kilmės atliekų kūrimas ir panaudojimas medicininei tvarsliausiai gauti. Magistro baigiamasis projektas / vadovė prof. Virginija Jankauskaitė; Kauno technologijos universitetas, Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Gamybos inžinerija (E10), Inžinerijos mokslai (E).

Reikšminiai žodžiai: Elektrinis verpimas, nanogijos, polivinilbutiralis, polivinilpiralidonas, želatina, kaulažolių šaknų ekstraktas.

Kaunas, 2022. 50 p.

## **Santrauka**

Netinkamai ir laiku negydomų žaizdų keliami pavojai yra itin didelė problema šiuolaikiniame pasaulyje. Sėkmingas žaizdų gydymas gali būti pasiektas taikant pažangias technologijas, kurių tikslas yra pagaminti medžiagas kurios turėtų pridėtinę vertę, skatintų audinių regeneraciją. Viena iš tokių technologijų – elektrinis verpimas, kurio metu iš polimerinių tirpalų yra formuojamos medžiagos, galinčios paskatinti žaizdų gijimą ir apsaugoti žaizdas nuo galimų infekcijų. Norint išnaudoti vieno polimerų pranašumus ir pašalinti kitų trūkumus, vis didesnis dėmesys yra skiriamas skirtingų polimerų derinimui, todėl yra ieškomos alternatyvos, kurios pagerintų tvarsliaivos biologines, fizines ir chemines savybes.

Baigiamasis projektas skirtas sukurti želatinos, gautos iš gyvūninės kilmės atliekų dangas ir ištirti jų pritaikymą medicininėje tvarsliauvoje. Tyrimo metu elektrinio verpimo būdu suformuotos nano-mikrogijos iš polivinilpirolidono (PVP) ir polivinilbutiralo (PVB) su želatinos danga bei ištirta jų struktūra ir savybės. Nustatyta, kad jų skersmens dydžių pasiskirstymui įtakos turi formavimo metu naudota įtampa. Taip pat ištirta mažo citotoksiškumo pasižyminčio kaulažolės šaknų ekstrakto įtaka PVB ir PVP dangų morfologijai. Gauta, kas įmaišius kaulažolių ekstrakto į polimerų ir želatinos sudėtį, ant gijų suformuoja ištisinės vienodo skersmens želatinos lašelių dangos. Apskaičiuota iš tokių nano-mikrogijų suformuotų neaustinės medžiagos gamybos kaštai. Darbas atliktas pagal ES struktūrinių fondų projekto „Technologija naujo tipo antimikrobiniais medicininiais tvarščiams be antibiotikų gauti naudojant vietinius biologinius išteklius (NonActivPans)“, finansuojamo Europos regioninės plėtros fondo lėšomis pagal 2014–2020 metų Europos Sąjungos fondų investicijų veiksmų programos priemonę Nr. 01.2.2-MITA-K-702 „MTEP rezultatų komercinimo ir tarptautiškumo skatinimas” veiklas.

Sinkevičiūtė Joana. Development and Application of Collagen Coating from Animal Waste for the Production of Medical Dressing. Master's Final Degree Project / supervisor prof. Virginija Jankauskaitė; Faculty of Mechanical Engineering and Design, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Production and Manufacturing Engineering (E10), Engineering Sciences (E).

Keywords: Electrospinning, nanofibers, polyvinyl butyral, polyvinylpyrrolidone, gelatin, common comfrey root extract.

Kaunas, 2022. 50 p.

### **Summary**

Wounds that are not treated in time or treated improperly are a huge problem in the modern world. Successful wound treatment can be achieved through the use of advanced technologies aimed at producing value-added materials that promote tissue regeneration. One such technology is electrospinning, which uses polymer solutions to form materials that can promote wound healing and protect wounds from potential infections. In order to exploit the advantages of some polymers and overcome the disadvantages of others, increasing attention is being paid to the combination of different polymers, leading to the search for alternatives that improve the biological, physical and chemical properties of the dressings.

The final project aims to develop coatings for gelatin derived from animal waste and to investigate their application in medical dressings. The study involved the formation of nano-microfibers of polyvinylpyrrolidone (PVP) and polyvinyl butyral (PVB) with a gelatin coating by electrospinning and the investigation of their structure and properties. It was found that the voltage applied during the forming process influences their diameter size distribution. The influence of a low cytotoxicity extract of common comfrey on the morphology of PVB and PVP coatings was also investigated. It was found that the addition of the extract of common comfrey root to the polymers and gelatin resulted in the formation of continuous coatings of gelatin droplets of uniform diameter on the surfaces. The cost of production of a non-woven fabric formed from such nano-microfibers was calculated. Research project “Technology for Obtaining an Innovative Antimicrobial, Non-active Medical Dressing Through the use of Indigenous Bioresources (NonActivPans)” is funded by the European Regional Development Fund according to the 2014–2020 Operational Programme for the European Union Funds’ Investments under measure No. 01.2.2-MITA-K-702 “Promoting the Commercialisation and Internationalisation of R&D”.

## Turinys

<b>Lentelių sąrašas .....</b>	<b>8</b>
<b>Paveikslų sąrašas .....</b>	<b>9</b>
<b>Santrumpų ir terminų sąrašas .....</b>	<b>10</b>
<b>Įvadas.....</b>	<b>11</b>
<b>1. Literatūros apžvalga .....</b>	<b>12</b>
1.1. Žaizdos ir jų gydymo būdai.....	12
1.2. Plonų polimerinių sluoksnių gavimas elektrinio verpimo būdu.....	14
1.3. Polimerai elektriniam verpimui.....	18
1.3.1. Biologiškai aktyvių medžiagų pritaikymas elektriniam verpimui.....	22
1.4. Apibendrinimas .....	23
<b>2. Metodologinė dalis.....</b>	<b>24</b>
2.1. Tyrimuose naudotos medžiagos .....	24
2.1.1. Tirpalų paruošimo metodika.....	26
2.2. Neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų formavimas elektrinio verpimo būdu.....	27
2.3. Nano-mikrogijų morfologijos nustatymas.....	30
2.4. Nano-mikrogijų parametrų nustatymas .....	30
2.5. Matavimo rezultatų paklaidos dydžio įvertinimas .....	30
2.6. Dangų citotoksiškumo nustatymas .....	31
<b>2.7. Eksploatacinių kaštų savikainos skaičiavimai .....</b>	<b>31</b>
<b>3. Rezultatai ir jų aptarimas.....</b>	<b>33</b>
3.1. PVB dangų struktūros priklausomybė nuo formavimo parametrų ir kompozicijos.....	33
3.2. PVP dangų struktūros priklausomybė nuo formavimo parametrų ir kompozicijos .....	36
<b>4. Ekonominė ir darnaus vystymosi dalis.....</b>	<b>42</b>
4.1. Išlaidos medžiagoms .....	42
4.2. Išlaidos elektros energijai .....	43
4.3. Darbuotojų atlyginimas .....	44
4.4. Nusidėvėjimo išlaidos .....	44
4.5. Kitos išlaidos .....	44
4.6. Eksploatacinių kaštų savikaina.....	44
4.7. Darnus vystymasis.....	45
<b>Išvados .....</b>	<b>46</b>
<b>Literatūros sąrašas .....</b>	<b>47</b>

## Lentelių sąrašas

<b>1 lentelė.</b> Parametrai darantys įtaką elektrinio verpimo procesui [14].....	16
<b>2 lentelė.</b> Kolageno išgavimo pavyzdžiai naudojant pirminį apdorojimą ir ekstrakciją [33] .....	20
<b>3 lentelė.</b> Kolageno ir želatinos savybės .....	21
<b>4 lentelė.</b> Naidotų polimerų struktūra ir pagrindinės charakteristikos .....	24
<b>5 lentelė.</b> Naidotų kompozicijų sudėtis .....	26
<b>6 lentelė.</b> PVB polimero elektrinio verpimo parametrai .....	28
<b>7 lentelė.</b> PVB nanogijų skersmens vidurkis.....	34
<b>8 lentelė.</b> Želatinos lašelių skersmens vidurkiai.....	36
<b>9 lentelė.</b> PVP nanogijų skersmens vidurkiai.....	38
<b>10 lentelė.</b> Želatinos lašelių skersmenų vidurkiai .....	40
<b>11 lentelė.</b> Elektros energijos sąnaudos .....	43



## Paveikslų sąrašas

<b>1 pav.</b> Žaizdos gijimo stadijos [3].....	12
<b>2 pav.</b> Medicininės tvarsliaivos tipai.....	14
<b>3 pav.</b> Elektrinio verpimo metodai, veikiantys adatos principu (A) ir velenėlio principu (B) 1- aukštos įtampos keitiklis; 2 – vonelė su 3 – polimeriniu tirpalu, 4 – besisukantis velenėlis – elektrodas, 5 – išemintas elektrodas, 6 – pagrindo medžiagos tiekimo velenėlis, 7 – pagrindo medžiagos su neaustine medžiaga iš nano-mikrogijų [9 10].....	15
<b>4 pav.</b> SEM nuotraukos elektrinio verpimo būdu suformuotu neaustinių medžiagų a) naudojant adata b) naudojant veleną [12].....	15
<b>5 pav.</b> Santykis tarp klampos ir nano-mikrogijų diametro verpiant su adata ir velenėliu [12].....	16
<b>6 pav.</b> PVB tirpalo nanogijos esant 6% (A) ir 10% (B) polimero koncentracijai [15].....	17
<b>7 pav.</b> Elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų SEM nuotraukos, kai polimero molekulinė masė skiriasi: a – 9000 – 10000 g/mol; b – 13000 – 23000 g/mol; and c – 31000 – 50000 g/mol [17].....	17
<b>8 pav.</b> SEM nuotraukos elektrinio verpimo būdu suformuotu PSF neaustinių medžiagų, taikant skirtingą debitą: a ir b – 0,40 ml h <sup>-1</sup> ; c ir d – 0,66 ml h <sup>-1</sup> .....	18
<b>9 pav.</b> Kolageno struktūra [31].....	19
<b>10 pav.</b> Cinamono/želatinos suformuotos nano-mikrogijos, esant skirtingam cinamono ekstrakto kiekiui, po 7, 14, ir 28 dienų irimo [37].....	22
<b>11 pav.</b> Kaulažolė (vaistinė taukė, lot. <i>Symphytum officinale</i> ) (a), jos šaknų (b) ir jų miltelių (c) bendras vaizdas bei kaulažolės ekstraktų ruošimo, filtravimo ir etanolio garinimo prieš liofilizaciją procesai (d).....	25
<b>12 pav.</b> „Nanospider TM“ principinė schema (a) ir besisukantis velenėlis – elektrodas (b) [43] ....	27
<b>13 pav.</b> Elektriniu verpimu suformuotos PVB dangos ant PP pagrindo.....	28
<b>14 pav.</b> Nis-Elements D aplinka.....	30
<b>15 pav.</b> Kompozicijos ir įtampos įtaka PVB nano-mikrogijų morfologijai: A – PVB(35); B- PVB(45); C- PVB-Kž(35); D – PVB-Kž(45). (A, C – 35 kV; B, D – 45 kV).....	33
<b>16 pav.</b> PVB (a) ir PVB su kaulažole (b) gijų skersmens pasiskirstymo histogramos, esant skirtingai įtampai.....	34
<b>17 pav.</b> Kompozicijos ir įtampos įtaka PVB nano-mikrogijų padengimo želatinos lašeliais kokybei: A – PVB(35)/Žn; B- PVB(45)/Žn; C– PVB-Kž(35)/Žn; D – PVB-Kž(45)/Žn; E – PVB-Kž(35)/Žn-Kž; F – PVB-Kž(35)/Žn-Kž (A, C, E – 35 kV; B, D, F – 45 kV).....	35
<b>18 pav.</b> Želatinos užverptos ant PVB, lašelių skersmens pasiskirstymas.....	36
<b>19 pav.</b> Kompozicijos ir įtampos įtaka PVP nano-mikrogijų morfologijai: A – PVP(50); B- PVP(40); C- PVP-Kž(40); D – PVP-Kž(50). (A, C – 40 kV; B, D – 50 kV).....	37
<b>20 pav.</b> PVP (a) ir PVP su kaulažole (b) gijų skersmens pasiskirstymo histogramos, esant skirtingai įtampai.....	38
<b>21 pav.</b> Kompozicijos ir įtampos įtaka PVP nano-mikrogijų padengimo želatinos lašeliais kokybei: A – PVP(50)/Žn; B – PVP(50)/Žn; C – PVP-Kž(40) /Žn-Kž; D – PVP-Kž(50) /Žn-Kž; E – PVP-Kž(40) /Žn; F – PVP-Kž(50) /Žn (A, C, E – 40 kV; B, D, F – 50 kV).....	39
<b>22 pav.</b> Želatinos užverptos ant PVP, lašelių skersmens pasiskirstymas.....	40
<b>23 pav.</b> Želatinos citotoksiškumo tyrimas.....	41
<b>24 pav.</b> Efektyvios koncentracijos EC <sub>50</sub> priklausomybė nuo kaulažolės ekstrakto prigimties.....	41

## Santrumpų ir terminų sąrašas

### Santrumpos:

PVB – polivinilbutiralis;

PVP – polivinilpirolidonas;

PP – polipropilenas;

SEM – skenuojantis elektroninis mikroskopas;

$\eta$  – dinaminis klampumas;

$T_g$  – stiklėjimo temperatūra;

$\rho_{piltinis}$  – tūrinis tankis;

$M_w$  – molekulinis svoris;

GAE – galo rūgšties ekvivalentas;

TE – trokso ekvivalentas;

ABTS – antiradikalinio aktyvumo nustatymo metodas;

DPPH – fotometrinių radikalų surišimo metodas;

TEAC<sub>FRAP</sub> – tirpalo redukcinio aktyvumo galia.

## Įvadas

Oda – didžiausias žmogaus organas, apsaugantis audinius nuo sužeidimų ir pasižymintis geru sugijimu. Tačiau esant dideliems odos sužalojimams, natūralus odos gijimas gali būti neefektyvus ir laiku negydomos žaizdos sukelti sveikatos problemas ir turėti įtakos žmogaus gyvenimo kokybei, įskaitant fizinį diskomfortą ir skausmą, sukelti psichologines problemas [1]. Apskaičiuota, kad kasmet maždaug 312,9 milijono žmonių visame pasaulyje kenčia nuo chirurginių žaizdų, o apie 76 milijonai gyventojų patiria sužeidimus, kuriuos sukelia diabeto, nutukimo, širdies ir kraujagyslių ligos [2]. Tai skatina ieškoti naujų būdų, kurie pagreitintų ir užtikrintų efektyvų žaizdų gijimą.

Audinių inžinerijoje didelis dėmesys skiriamas natūralios tarpląstelinės matricos imitacijai, todėl viena iš alternatyvių ir perspektyvių technologijų medicininei tvarsliausiai gaminti yra elektrinis verpimas, kurio metu iš polimerinio tirpalo formuojamos nano-mikrogijos. Metodas paremtas elektrinio lauko poveikiu polimeriniam tirpalui, kai tirpalo paviršiaus įtempis yra veikiamas elektrostatinių jėgų, o elektrostatinėms jėgoms viršijus įtempį susidaro tirpalo srovė, kuri veikiamą elektrinio lauko suformuoja nano-mikrogijas. Elektrinio verpimo būdu pagamintos neaustinės medžiagos pasižymi savybėmis tinkamomis tvarsliausiai gaminti, nes jų poros yra mažesnės už infekcijas galinčius sukelti mikroorganizmus. Šiuo atveju ypač svarbu parinkti biologiškai suderinamus polimerus ir kitus biologiškai aktyvius priedus neaustinei medžiagai, lemiančiai žaizdos gijimo efektyvumą, gauti.

**Darbo tikslas** – sukurti kolageno dangą iš gyvūninės kilmės atliekų, ir įvertinti jos pritaikymą medicininėje tvarsliauvoje

### **Tikslui pasiekti suformuluoti darbo uždaviniai:**

1. Elektrinio verpimo metodu suformuoti želatinos ir bioaktyvių priedų turinčias dangas.
2. Įvertinti elektrinio verpimo parametrų įtaką dangų struktūrai.
3. Ištirti dangų kompozicijos įtaką dangų struktūrai.
4. Ištirti naudotų medžiagų biokatyvumą.
5. Apskaičiuoti dangos paruošimo savikainą.

**Darbo struktūra ir apimtis** – baigiamasis projektas susideda iš teorinės, metodologinės, rezultatų ir ekonominės dalies, išvadų pateikimo ir literatūros sąrašo.

## 1. Literatūros apžvalga

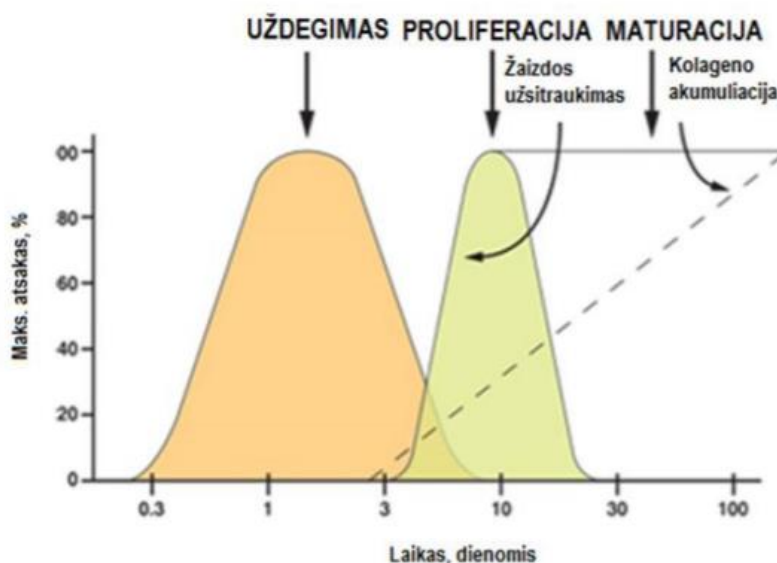
### 1.1. Žaizdos ir jų gydymo būdai

Oda – svarbus daugiavardis žmogaus kūno organas, kuris veikia kaip barjeras nuo aplinkos veiksnių ir apsaugo organus ir vidinius audinius nuo cheminio, fizinio ar biologinio poveikio. Kadangi oda atlieka gyvybiškai svarbias funkcijas, struktūriniai jos pažeidimai, kaip didelės ar gijos žaizdos reikalauja veiksmingo bei greito gydymo [3]. Žaizdų priežiūra per pastaruosius dešimtmečius tapo pagrindine visuomenės problema pasaulyje, kadangi neefektyvus odos pažeidimų gydymas ne tik sukelia infekcijas bet ir mirtį [4].

Žaizdos, pagal gijimo laiką skirstomos į du tipus: ūminės ir lėtinės. Ūminės žaizdos atsiranda dėl traumų ar chirurginių sužeidimų, kuriuos gali sukelti cheminiai preparatai ar mechaniniai pažeidimai. Ūminės žaizdos paprastai sugyja per 8-12 savaičių, priklausomai nuo sukkelto pažeidimo epidermio ir dermos sluoksniams, žaizdos gylis ir dydis. Lėtinės žaizdos atsiranda dėl specifinių ligų, tokių kaip diabetas, susidarę navikai, opos ar nudegimai. Tokio tipo žaizdų gijimas užtrunka ilgiau nei 12 savaičių, žaizdos gali atsinaujinti.

Žaizdų gijimas susideda iš keturių, aiškių laiko ribų neturinčių stadijų (žr. 1 pav.) [5]:

- hemostazė – kraujo krešėjimas;
- uždegimas;
- proliferacija – naujų audinių sudarymas;
- maturacija – naujai susidariusių audinių brendimas.



1 pav. Žaizdos gijimo stadijos [3]

**Hemostazė** – procesas, kai ant žaizdos susidaro krešulys. Hemostazė prasideda iš kart po odos audinio pažeidimo. Kraujagyslės susitraukia apribojant kraujotaką, o trombocitai sulimpa, užpildant kraujagyslių sienelių plyšius, taip sudarant krešėjimą. Hemostazės stadija vyksta labai greitai, trombocitai prilimpa prie subendotelio (elastinio sluoksnio) paviršiaus per kelias sekundes po kraujagyslių epitelio sienelės plyšimo [6].

**Uždegimas** – antroji žaizdų gijimo stadija, kuri prasideda iš kart po odos sužeidimo, kai iš pažeistų kraujagyslių išteka transudatas (susidedantis iš vandens druskos ir baltymų), sukeliantis žaizdos patinimą. Uždegimo stadija kontroliuoja kraujavimą bei apsaugo žaizdą nuo infekcijos. Šios stadijos metu iš žaizdos yra pašalinami patogenai, bakterijos ir pažeistos ląstelės [7].

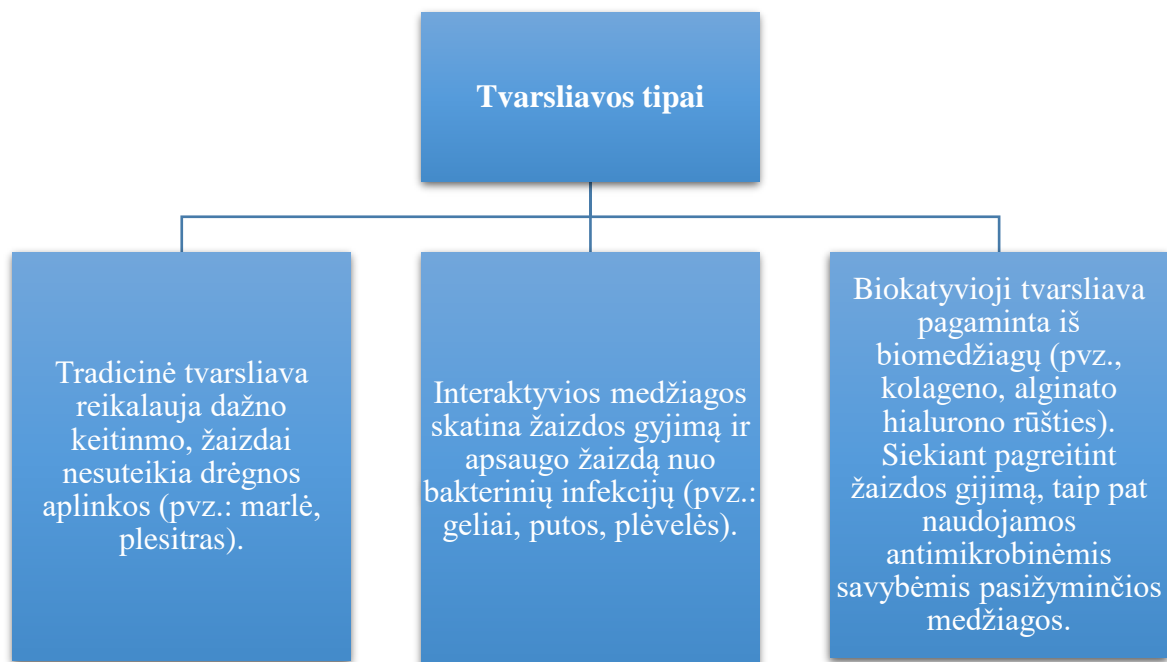
**Proliferacija** – trečioji žaizdų gijimo stadija, kurios metu sužalota vieta yra atkuriamą naujais audiniais, sudarytais iš kolageno ir tarpląstelinės matricos. Šios stadijos metu žaizda susitraukia, taip pat sukonstruojamas naujas kraujagyslių tinklas, kad jungiamasis audinys gautų pakankamai deguonies [7].

**Maturacijos** – dar vadinama brendimo stadija, kai kolagenas iš III tipo paverčiamas I tipu ir žaizda visiškai užsidaro. Rando brendimas paprastai prasideda praėjus 21 dienai po sužalojimo ir gali trukti nuo kelių mėnesių iki kelerių metų, priklausomai nuo sužalojimo dydžio [6]. Šios stadijos metu persitvarko kraujagyslės, vyksta galūnėlių bei nervinių receptorių regeneracija [7].

Nepriklausomai nuo žaizdos dydžio, bet kuris sužalojimas sukelia lokalų uždegimo procesą, todėl žaizdos apsauga nuo išorinių aplinkos veiksnių yra itin svarbi. Viena iš pagrindinių tvarsliaivos funkcijų yra apsaugoti žaizdą nuo galimos mikroorganizmų sukeltos infekcijos. Tradicinio tipo tvarsliaiva, pagaminta iš austinės ar neaustinės medvilnės, viskozės ar poliesterių pluoštų suteikia dalinę apsaugą nuo galimų bakterinių infekcijų (žr. 2 pav.). Tačiau dažnai išsiskiriant eksudatui, tvarsliaiva greitai sudrėksta ir prilimpa prie žaizdos, sukeliamas diskomfortas pacientui. Kadangi šio tipo tvarsliaiva nesuteikia žaizdai drėgnos aplinkos, todėl paprastai yra naudojama žaizdoms, kurių eksudatas yra nedidelis [4].

Siekiant ne tik apsaugoti bet kartu palengvinti ir pagreitinti žaizdų gijimą, medicinoje naudojama interaktyvaus ir bioaktyvaus tipo tvarsliaiva. Interaktyvaus tipo tvarsliaiva – pusiau okliuzinė arba okliuzinė, palaikanti tam tikrą mikroklimatą žaizdos srityje ir galima plėvelių, hidrogelio ar putų pavidalu. Okliuzinė tvarsliaiva padengia žaizdos paviršiu, yra nepralaidi orui. Tačiau naudojat šio tipo tvarsliaivą žaizdoje išlieka pakankamai drėgmės, kad vyktų natūralus žaizdos valymasis nuo žuvusių ląstelių. Bioaktyvi tvarsliaiva yra gaminama iš biomedžiagų, kurios atlieka svarbų vaidmenį gijimo procese. Šio tipo tvarsliaiva pasižymi geru biologiniu suderinamumu, netoksiškumu ir yra išgaunama iš natūralių arba dirbtinių šaltinių, tokių kaip kolagenas ar alginatas. Kolagenas, turintis sąlytį su žaizdos audiniu, inicijuoja fibroblastų susidarymą ir pagreitina endotelio migraciją. Bioaktyvūs tvarščiai yra kuriami su antimikrobiniais preparatais, kad veikliosios medžiagos patektų į žaizdos aplinką ir pagreitintų žaizdos gijimo procesą [6].

Šiuo metu rinkoje yra įvairių žaizdų gijimą palengvinančių žaizdų tvarščių, taip pat kuriamos naujos pažangios medžiagos (pvz.: plėvelės, hidrogeliai, putos, hidrokolidai ir nanodalelės). Pastaraisiais metais elektrinio verpimo technika sulaukia vis daugiau susidomėjimo biomedicinoje, kuriant neaustines medžiagas. Neaustinės medžiagos, pasižymintys dideliu savitojo paviršiaus plotu, kuris sugeria žaizdos išskiriamą eksudatą ir apsaugo žaizdą nuo galimo išsausėjimo. Neaustinės medžiagos taip pat pasižymi porėtumu, dėl kurio žaizda gali „kvėpuoti“, o jų poros yra mažesnės už patogeninių mikroorganizmų dydį, todėl apsaugo žaizdą nuo galimos infekcijos.



**2 pav.** Medicininės tvarsliaivos tipai

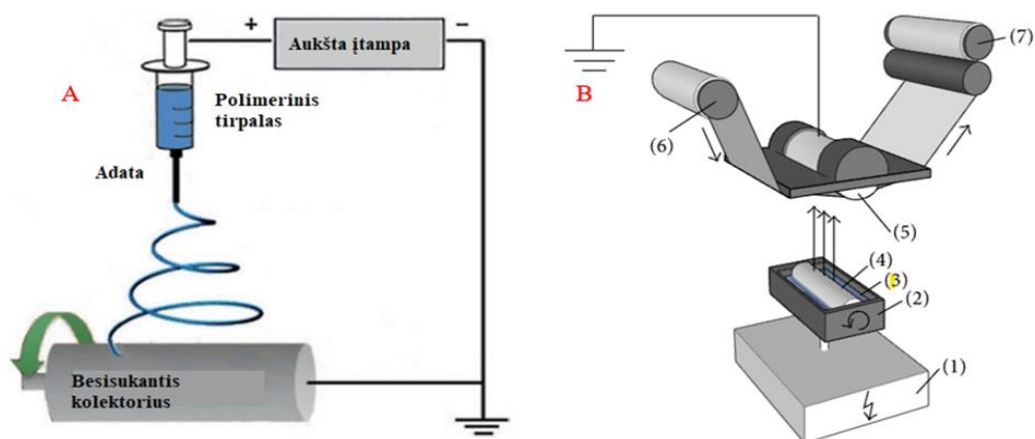
## 1.2. Plonų polimerinių sluoksnių gavimas elektrinio verpimo būdu

Elektrinis verpimas – unikali technika, kuri naudoja elektrostazines jėgas, plonų gijų gamybai iš polimerinių tirpalų. Gijos suformuotos šiuo būdu turi mažą diametrą ir didelį savitojo paviršiaus plotą, todėl ši technologija viena plačiausiai naudojamų audinių inžinerijoje. Galimybė naudoti įvairius polimerų derinius yra vienas pagrindinių šio metodo privalumų [8].

Elektrinio verpimo procesas prasideda nuo polimerinio tirpalo gamybos, kuris yra tiekiamas į adatos galiuką (žr. 3 pav.). Naudojant aukštos įtampos maitinimo šaltinį yra sukuriamas elektrinis laukas, tarp adatos galiuko ir kolektoriaus plokštės arba veleno. Kai paviršiaus įtempimas laše įveikiamas elektrinio lauko jėgos, ovalus lašas deformuojasi į kūgio formą, kuri dar vadinama – Teiloro kūgiu. Pritaikius aukštą elektros įtampą susidaro plona polimero gija, keliaujanti nuo kūgio viršūnės link įžeminto kolektoriaus, tačiau dėl krūvio tankio atsiranda lenkimo nestabilumas, dėl kurio polimero gija pradeda judėti sukamaisiais judesiais ir dar labiau išsitempia. Kadangi gija yra ypatingai plona, tirpiklis greitai stingsta ir ant kolektoriaus gaunamas gijų sluoksnis. Taip gaunama neaustinė medžiaga, kurią sudaro mikrogijos (0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$  skersmens) bei nanogijos (iki 0,5  $\mu\text{m}$  skersmens) [9]. Priklausomai nuo kolektoriaus tipo kinta ir gijų išsidėstymas. Kolektorius gali būti stacionarus arba besisukantis. Naudojant besisukantį veleną gijos išsidėsto tvarkingiau, tačiau velenas turi sukurti tokį greitį, kad gijos spėtų apšviesti aplink veleną [8].

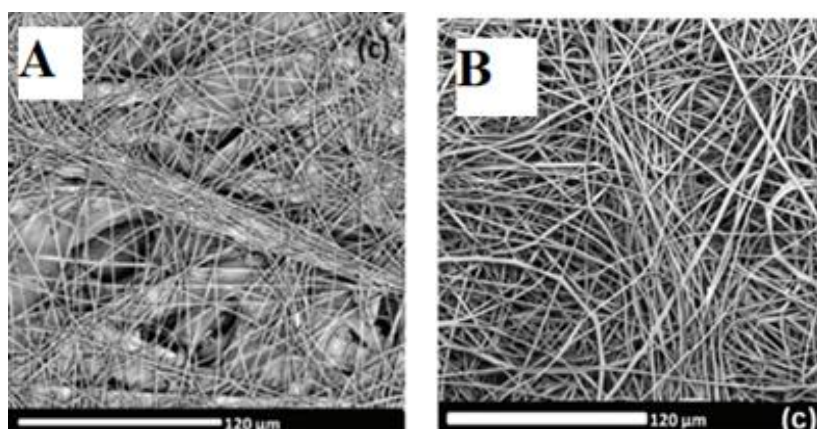
Elektrinio verpimo metu naudojant adatą, gamybos procesas yra ilgas ir suformuojamas nedidelis kiekis neaustinės medžiagos. Masiškai nanogijų gamybai buvo sukurtas modifikuotas elektrinio verpimo metodas (žr. 3 pav.). Šis metodas vietoj adatos naudoja besisukantį veleną – elektrodą, kuris yra panardinamas į polimerinį tirpalą vonelėje, kuri prijungiama prie aukštos įtampos keitiklio. Tarp įžeminto ir besisukančio elektrodų didinant įtampą, kaip ir įprastinio elektrinio verpimo proceso metu yra sukuriamas elektrinis laukas. Besisukantis velenas pasidengia plona polimerinio tirpalo plėvele ant kurios susiformuoja Taylor'o kūgiai. Kai elektrostatinės jėgos viršija polimero paviršiaus įtempį, iš Taylor'o kūgio susiformuoja srovelė, kuri judėdama link surinkimo plokštės skyla į nano-

mikrogijas. Elektrinio verpimo metu padengiamas didelis plotas pagrindo medžiagos, mažo skersmens gijomis [10].

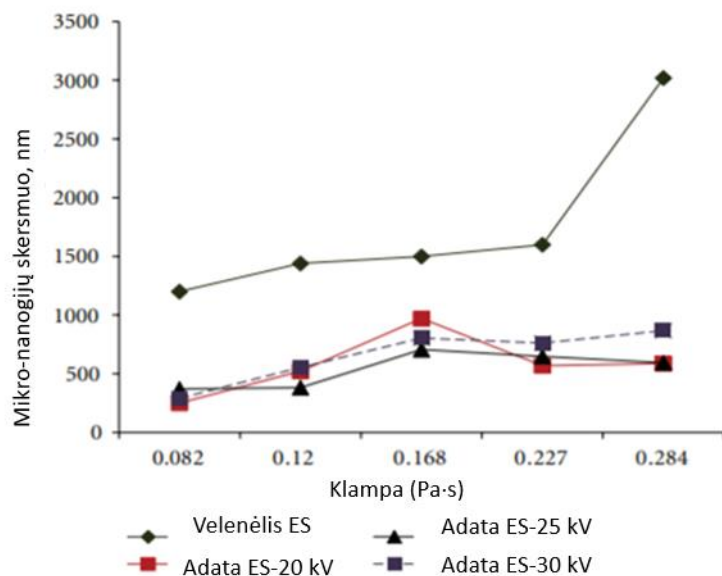


**3 pav.** Elektrinio verpimo metodai, veikiantys adatos principu (A) ir velenėlio principu (B) 1- aukštos įtampos keitiklis; 2 – vonelė su 3 – polimeriniu tirpalu, 4 – besisukantis velenėlis – elektrodas, 5 – įžemintas elektrodas, 6 – pagrindo medžiagos tiekimo velenėlis, 7 – pagrindo medžiagos su neaustine medžiaga iš nano-mikrogijų [9 10]

Čekijoje, Libereco universitete atlikti tyrimai su PVB polimeru parodė, kad lyginant su įprastinio elektrinio verpimo metodu, „Nanospider TM“ technologija gaunamos didesnio skersmens gijos, o pats gamybos procesas yra jautresnis aplinkos sąlygoms ir gamybos parametrų optimizavimas yra sudėtingesnis [11]. 4 pav. pateiktos elektrinio verpimo būdų gautų 8% PVB tirpalo nanogijų SEM nuotraukos. Kairėje pusėje matomos nanogijos sudarytos naudojant elektrinio verpimo metodą su adata, o dešinėje naudojant veleną. Iš pateiktų nuotraukų matoma, kad naudojant elektrinio verpimo skirtingas technologijas, gijų skersmuo skiriasi, „Nanospider“ technologija verpti pluoštai gauti didesnio skersmens [12]. Gauti rezultatai parodė, kad esant 0,227 Pa·s klampai, verpiant velenėliu gautos apie 1600 nm skersmens nano-mikrogijos, tuo tarpu verpiant polimerą naudojant adatą, gautos nanogijos buvo nuo ~500 iki ~800 nm skersmens (žr. 5 pav.).



**4 pav.** SEM nuotraukos elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų a) naudojant adatą b) naudojant veleną [12]



5 pav. Santykis tarp klampos ir nano-mikrogijų diametro verpiant su adata ir velenėliu [12]

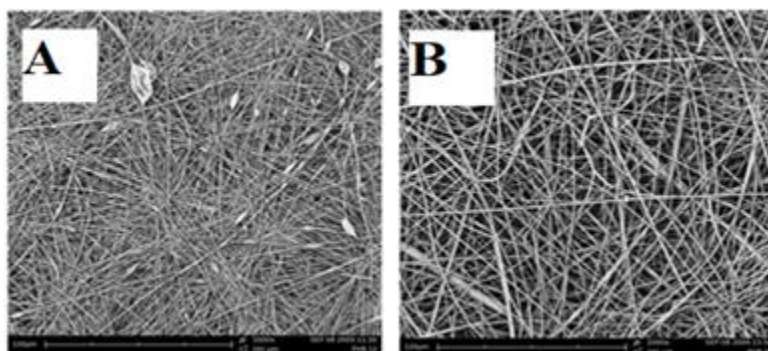
Elektrinio verpimo metodu gautų gijų morfologijai ir skersmeniui įtakos turi įvairūs veiksniai, kaip aplinkos drėgmė, temperatūra, polimerinio tirpalo koncentracija ar polimero molekulinė masė. Parametrai, turintys įtakos elektrinio verpimo procesui, gali būti skirstomi į polimero ir polimerinio tirpalo savybes, technologinius ir aplinkos parametrus (žr. 1 lentelę) [13 14].

1 lentelė. Parametrai darantys įtaką elektrinio verpimo procesui [14]

Polimero savybės	Molekulinė masė
<b>Polimerinio tirpalo savybės</b>	Koncentracija
	Klampa
	Paviršiaus įtempis
	Laidumas elektros srovei
	pH
<b>Technologiniai parametrai</b>	Įtampa
	Atstumas tarp elektrodų
<b>Aplinkos parametrai</b>	Temperatūra
	Drėgmė

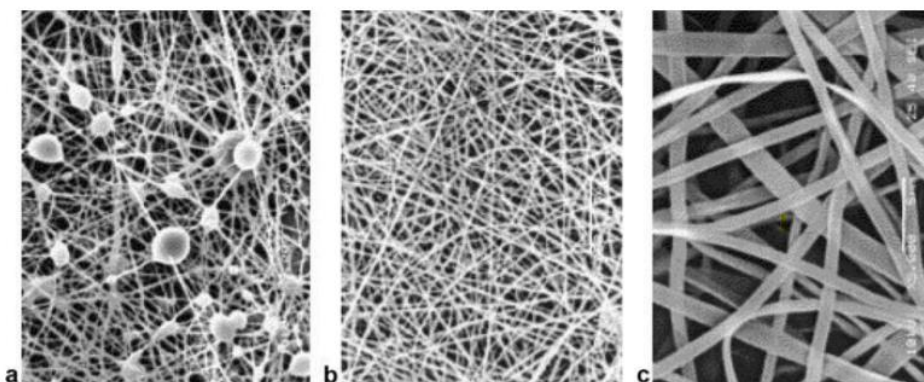
Elektrinio verpimo procesui turi būti parinkta optimali polimero koncentracija. Esant per didelei koncentracijai formuojasi didelio skersmens gijos. Jei procesas yra atliekamas naudojant adatą, gijų formavimas gali būti sutrikdomas, nutraukiant vientiso tirpalo tekėjimo srautą, dėl per siauro adatos antgalio. Mažos koncentracijos tirpalai suformuoja rutuliuko formos darinius – lašelius (6 pav. A). Atlikti tyrimai su PVB polimeru parodė, kad priklausomai nuo tirpalo koncentracijos, keičiasi ir tirpalo klampa. Buvo nustatyta, kad PVB tirpalo klampa didėja, didėjant polimero koncentracijai nuo 6% iki 10%, dėl didesnio skaičiaus polimerinių grandinių susipynimų [15]. Taip pat gauti rezultatai pateikti 6 pav. parodė, kad esant mažesnei polimerinio tirpalo koncentracijai, susidaro lašeliai, bet esant didesnei 7–10% koncentracijai, medžiaga gaunama be rutuliukų formos darinių, vadinasi, didesnė klampa yra reikalinga norint gauti vientisas gijas be papildomų darinių [16].





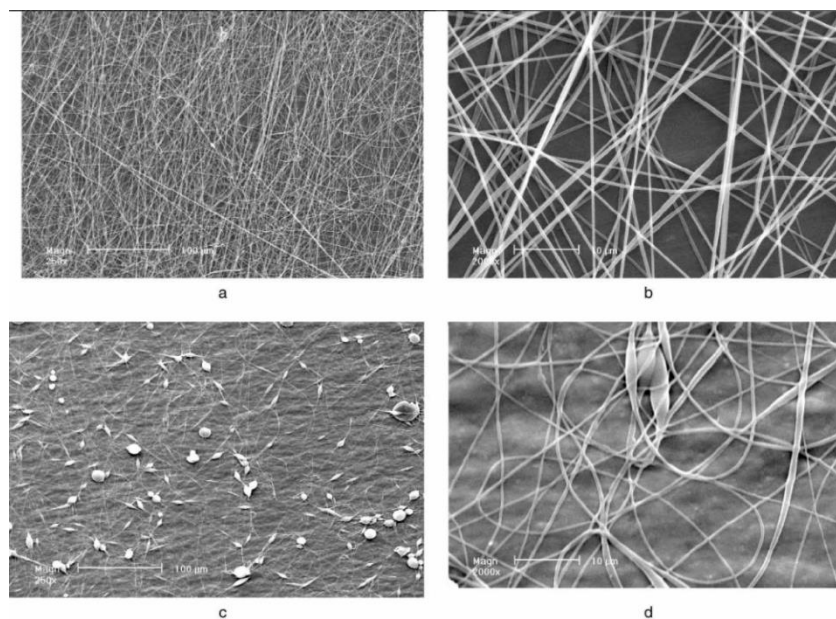
**6 pav.** PVB tirpalo nanogijos esant 6% (A) ir 10% (B) polimero koncentracijai [15]

Molekulinė polimero masė turi įtakos formuojamų nanogijų morfologijai ir parametrams, kaip paviršiaus įtempis klampa ar elektrinis laidumas. Parinkus tinkamos molekulinės masės polimerus, gaunamos vienodesnio skersmens gijos. Jungtinėse Amerikos Valstijose, Vusterio universitete, atlikus tyrimus su PVA polimeru pastebėta, kad naudojant didelės molekulinės masės polimerus – 31000 – 50000 g/mol, suformuojamos didelio skersmens gijos. Tuo tarpu mažesnės 9000 – 10000 g/mol molekulinės masės polimerai suformuoja lašelius (žr. 7 pav.) [17].



**7 pav.** Elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų SEM nuotraukos, kai polimero molekulinė masė skiriasi: a – 9000 – 10000 g/mol; b – 13000 – 23000 g/mol; and c – 31000 – 50000 g/mol [17]

Elektrinio verpimo sąlygas taip pat nusako ir technologiniai parametrai kaip įtampa, atstumas tarp elektrodų, elektrostatinis potencialas. Įtampa yra lemiamas veiksnys formuojant gijas, nes kai nustatyta įtampa viršija kritinę, gaunama stabili polimero srovė. Tačiau, įtampai viršijus tam tikrą ribą, srovės judėjimo laikas elektriniame lauke sumažėja, todėl tirpiklis negali visiškai išgaruoti, o tai turi įtakos gijų vienodumui [18]. Elektrinio lauko poveikis priklauso nuo įtampos bei polimerinio tirpalo koncentracijos. Verpimo metu svarbu parinkti tokį atstumą, kad prieš surenkant gijas ant kolektoriaus tirpiklis spėtų išgaruoti ir gijos išdžiūti. Esant per mažam atstumui tarp elektrodų, tirpiklis gali nespėti išgaruoti, dėl to gali susiformuoti granuliu formos rutuliukai ir susidaryti nevientisas pluoštas [18]. Polimero debitas – parametras, kuris veikia medžiagos perdavimo spartą. Esant mažesniai debitui, suteikiamas didesnis laiko tarpas tirpiklio išgaravimui. Pastebėta, kad esant didesniam polimerinio tirpalo srauto greičiui, pluošto skersmuo padidėja, taip pat gali atsirasti rutuliukų formos dariniai, nes tirpiklis nespėja išgaruoti iki kol gijos pasiekia kolektorių (žr. 8 pav.) [19].



**8 pav.** SEM nuotraukos elektrinio verpimo būdu suformuotu PSF neaustinių medžiagų, taikant skirtingą debitą: a ir b – 0,40 ml h<sup>-1</sup>; c ir d – 0,66 ml h<sup>-1</sup>

Aplinkos temperatūra ir drėgmė yra pagrindiniai aplinkos parametrai, turintys įtakos gijų formavimuisi. Aukšta aplinkos temperatūra, gali pagreitinti tirpiklio garavimą, taip sumažinant verpiamo tirpalo klampą. Chulalongkorn universitete (Bankokas), buvo atlikti tyrimai verpiant poliamido-6 gijas ir temperatūrą keliant nuo 25 iki 60°C. Rezultatai parodė, kad esant aukštesnei aplinkos temperatūrai, dalis gijų gautos mažesnio skersmens, kadangi didėjant temperatūrai polimero klampa mažėja [20]. Tačiau esant per aukštai temperatūrai, verpiamos gijos gali per anksti sukietėti nepasiekus kolektoriaus, o tai gali turėti įtakos gijų vienodumui. Drėgmė, kaip ir temperatūra turi įtakos tirpiklio garavimui. Aukštos drėgmės vertės, gali apsunkinti tirpiklio garavimą, tuo tarpu žemos drėgmės vertės – paskatinti. Tačiau maža drėgmė gali padidinti elektrodo krūvio tankį ir sukelti oro įsielektrinimą, dėl kurio galimas srovės tekėjimas oru [21]. Atlikti tyrimai parodė, kad esant aukštesnei drėgmei, tos pačios koncentracijos polistireno pluoštai gaunami didesnio skersmens nei verpiant esant mažesnei drėgmei. Analogiški rezultatai gauti ir naudojant polieterimidą [22].

Apibendrinus galima teigti, kad svarbiausi veiksniai, turintys įtakos pluošto susidarymui elektrinio verpimo metu, yra technologiniai parametrai, verpiamo tirpalo savybės ir aplinkos veiksniai. Jie yra svarbūs elektrinio verpimo proceso stabilumui, dangos vienodumui bei gijų skersmeniui, ir pačiai suformuotos neaustinės medžiagos struktūrai.

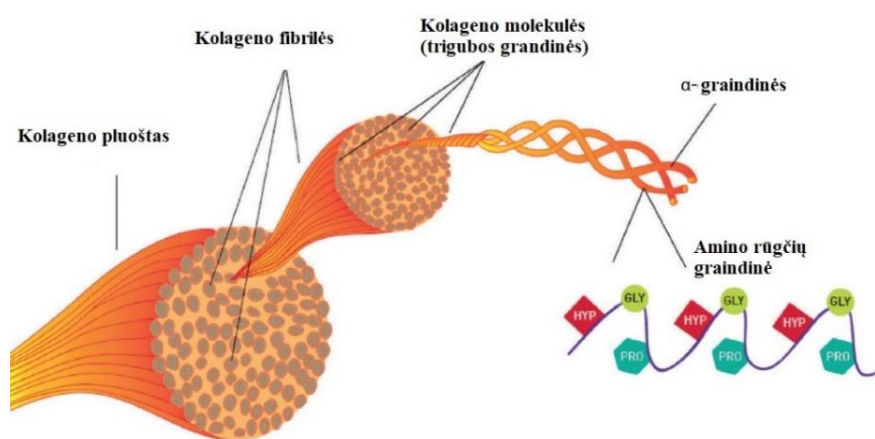
### 1.3. Polimerai elektriniam verpimui

Elektrinio verpimo metodu gauti pluoštai pasižymi dideliu paviršiaus ploto ir tūrio santykiu, poringumu. Pluoštai gali būti verpiami naudojant natūralius ir sintetinius polimerus, o norimos savybės pasiekiamos pasirinkus atitinkamus polimerus ar jų mišinius. Daugiau nei 100 polimerų rūšių, gali būti naudojami elektrinio verpimo procesui, įskaitant sintetinius polimerus, kaip: poliakrilo rūgštį (PAA), poliuretaną (PU), poliaktidą (PLA), polivinilpirolidoną (PVP), polivinilbutiralį (PVB), taip pat ir natūralus polimerus, pvz.: celiuliozę ar celiuliozės acetatą, kolageną, kolageno hidrolizatą – želatiną ir kt. [23 24].

**Polivinilpirolidonas** (PVP) – tirpus vandenyje sintetinis polimeras, kuris yra gaunamas atliekant N-vinilpirolidono polimerizaciją tirpale arba suspensijoje. Dėl mažo cheminio toksiškumo, gero biologinio suderinamumo, tirpumo, gebėjimo sąveikauti su įvairiomis hidrofilinėmis medžiagomis bei gebėjimo sudaryti stabilius kompleksus su daugeliu veikliųjų medžiagų, PVP panaudojimas yra gan platus [25]. Polivinilpirolidonas JAV vaistų ir maisto administracijos pripažintas saugiu naudoti biomedicinoje, todėl šis polimeras yra naudojamas ir medicinos bei farmacijos pramonėje [26]. PVP polimeras medicinoje naudojamas kaip tvarsliaivos sudedamoji dalis, rišamoji medžiaga daugelyje farmacinių tablečių, kurios gali lengviau prasiskverbti pro organizmą kai yra naudojamos per burną. Taip pat PVP su jodu, sudaro kompleksą – povidono jodą, kuris pasižymi dezinfekuojančiomis savybėmis ir naudojamas odos dezinfekcijai prieš ir po operacijų [27 28].

PVP mišiniai su kitais polimerais, skirti gaminti biomedicininis produktus, yra kuriami naudojant elektrinio verpimo techniką. Atlikti moksliniai tyrimai, kurių metu PVP ir polikaprolaktono (PCL) mišiniai buvo ištirpinti etanolio-chloroformo tirpiklyje. Kadangi PCL yra netoksiškas, hidrofobinis sintetinis polimeras, jis yra suderinamas su audiniais ir naudojamas nanopluoštams elektrinio verpimo būdu bei tvarsliavai gauti. Tačiau pats PCL gali turėti santykinai lėtą biologinio skaidymo greitį, nes esterių jungtys gali trukdyti biologinei absorbcijai, o hidrofobiškumas neigiamai veikti prilipusių ląstelių morfologiją ir migraciją. Dėl šių priežasčių, PVP įmaišymas padidina tirpalo hidrofiliškumą ir pagreitina verptų pluoštų biologinį skaidymąsi [29].

**Kolagenas ir želatina.** Dėl savo praktinio pritaikymo, ilgaamžiškumo, cheminio ir fizikinio stabilumo bei mažo antigeniškumo, natūralūs polimerai, kurie išgaunami iš augalų, gyvūnų ar mikroorganizmų yra labiau pageidautini elektrinio verpimo procesui. Tokie polimerai, kaip kolagenas, želatina ar hialurono rūgštis pasižymi antimikrobinėmis bei priešuždegiminėmis savybėmis, kurios yra ypač vertinamos medicinos pramonėje. Vienas iš pavyzdžių – pleistrai ir tvarščiai naudojami žaizdų gydymui, kurie yra skirti tiesiogiai dėti ant pažeistos vietos. Kuriant tvarsliaivą pagrindinis tikslas yra imituoti tarpląstelinę matricą (ECM), todėl ir kyla vis didesnis susidomėjimas šiais natūraliais baltymais ir polisacharidais, kurie turi panašumų į makromolekules, kurios yra atpažįstamos žmogaus organizmo [30].



©MINERVA Research Labs. all rights reserved

9 pav. Kolageno struktūra [31]

Kolagenas yra natūralus siūlo pavidalo baltymas, principinis struktūrinis komponentas tarpląstelinėje matricoje, suteikiantis mechaninę jėgą audiniams ir skatinantis ląstelių sukibimą ir dauginimąsi. Kolageno struktūra matoma 9 pav. [31]. Baltymą sudaro trys į spiralę susipynusios polipeptidinės

grandinės. Kiekvieną kolageno grandinę sudaro daugiau nei tūkstantis amino rūgščių, kurių išsidėstymo seka yra: glicinas, komponentas X ir komponentas Y. X ir Y – bet kokios amino rūgštys, išskyrus gliciną: komponentas X dažniausiai yra prolinas, o Y – hidroksiprolinas. Kad grandinės sudarytų unikalią trigubos spiralės struktūrą, glicinas turi būti kas trečioje amino rūgšties pozicijoje [32]. Triguba spiralė sudarydama tarpusavyje skersinius ryšius, suformuoja mikrofibriles.

Tačiau dėl sudėtingos baltymo struktūros, gryno kolageno išgavimas pakankamai sudėtingas procesas. Ekstrakcija bei hidrolizė – išgavimo procesai, kurių metu kolageno struktūra pakinta ir prarandama dalis funkcinių savybių [1]. Kolageno ekstrakcija atliekama naudojant cheminę arba fermentinę hidrolizę. Dėl skersinės baltymo struktūros, esančios gyvulinės kilmės jungiamuosiuose audiniuose, kolageno tirpumas yra mažas, dėl to prieš atliekant ekstrakciją reikalingas pirminis baltymo apdorojimas, naudojant rūgštinį arba šarminį procesą, kurio metu skersiniai ryšiai yra suardomi (žr. 2 lentelę).

Rūgštinio apdorojimo metu, žaliava turinti kolageno laikoma rūgštiniame tirpale. Tirpalas prasiskverbia pro žaliavą ir ji išbrinksta, o tai palengvina kolageno ekstrakciją. Šis apdorojimo būdas naudojamas žaliavoms, kuriose kolageno pluoštai yra mažiau susipynę, kaip žuvies ar kiaulių oda.

Šarminio apdorojimo metu, žaliava apdorojama šarminiais tirpalais, kaip natrio hidroksidas (NaOH) kuris sukelia medžiagos brinkimą, o tai palengvina kolageno ekstrahavimą. Šis apdorojimo metodas naudojamas žaliavoms, kurioms reikalingas agresyvesnis apdorojimo būdas, todėl žaliavos mirkymas vyksta nuo kelių dienų iki savaitių [33]. Po pirminio apdorojimo vyksta ekstrakcijos metodas naudojant cheminę arba fermentinę hidrolizę. Kolageno hidrolizės produktai vertingi, dėl juose esančių amino rūgščių. Net kai baltymas yra hidrolizuojamas iki nedidelės molekulinės masės polipeptidų, suardant kolageno pirminę struktūrą.

**2 lentelė.** Kolageno išgavimo pavyzdžiai naudojant pirminį apdorojimą ir ekstrakciją [33]

<b>Žaliava</b>	<b>Pirminis apdorojimas</b>	<b>Ekstrakcijos metodas</b>
Galvijo širdplėvė	Mirkymas 0.1 M, natrio hidroksido (NaOH) tirpale 48 valandas, 4°C temperatūroje	Ekstrakcija naudojant pepsiną ir 10 mM ir druskos rūgštį 1:20 (w/v), 4°C temperatūroje
Galvijo Achilo sausgyslė	Žaliavos plovimas 0.15 M natrio chloridu (NaCl) ir acetonu.	Fermentinė hidrolizė naudojant pepsiną 0.5 M acto rūgštyje 2 dienas, 20 °C temperatūroje.

Želatina – baltymas, kuris yra išgaunamas iš kolageno dalinės hidrolizės metu. Priklausomai nuo taikomų apdorojimo procesų, baltymas skirstoma į du tipus – A, kai želatina išgaunama rūgštinės hidrolizės metu arba B – kai želatina išgaunama šarminės hidrolizės metu. Šis baltymas yra sudarytas iš unikalios aminorūgščių sekos, kuri yra gaunama kolagenui praradus pradinę  $\alpha$ -spiralės konformaciją, nutraukus tarpmolekulinius ryšius (žr. 3 lentelę). Daugiau kaip dvidešimt skirtingų aminorūgščių yra želatinos pirminės struktūros sudėtyje, kuri suteikia RGD (l-argininoglicino-l-asparto rūgštis) trijų amino rūgščių atpažinimo seką, užtikrinant ląstelių sukibimą. Dėl to šis baltymas pasižymi hidrofiliškumu ir biologiniu suderinamumu ir yra naudojamas audinių inžinerijoje, kaip vienas iš komponentų [34].

### 3 lentelė. Kolageno ir želatinos savybės

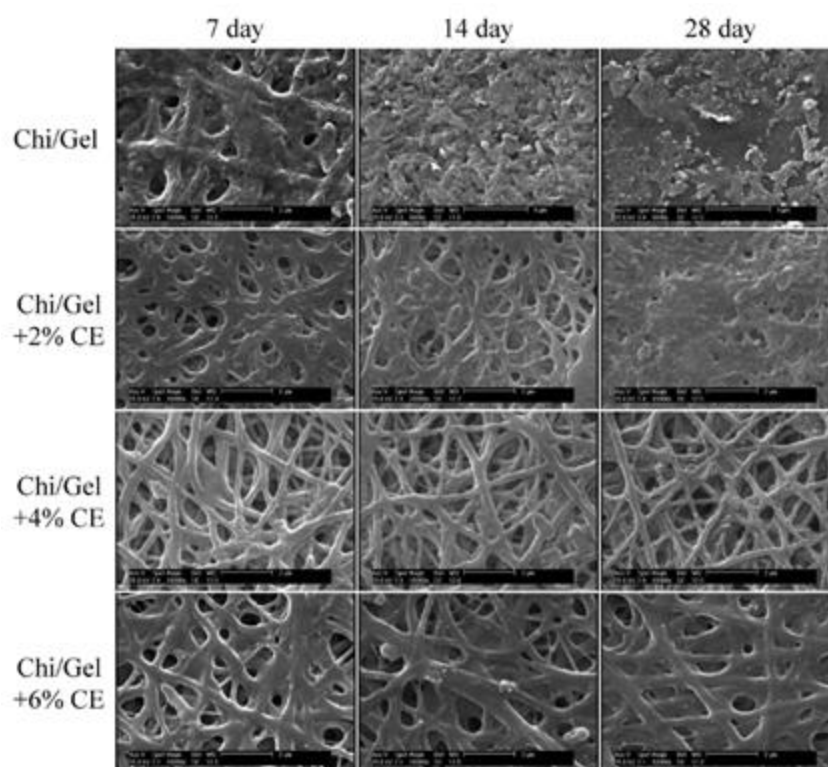
Savybės	Kolagenas	Želatina
Kilmė	Gyvūnai/žmonės	Kolagenas iš kaulų/odos
Pirmtakas	Fibroblastai	Pirmo tipo kolagenas
Fizinės savybės	Elastingas struktūrinis baltymas	Į gelį panašios konsistencijos
Peptido struktūra	Triguba polipeptidinė grandinė	Peptidai
Tipai	Fibriles sudarantys ir nesudarantys	A ir B
Tirpumas	NaCl/skiesta rūgštis	H <sub>2</sub> O
Panaudojimas	Nudegimams, hemostazei, audinių defektams, nervų regeneracijai, kaip dirbtinės odos pakaitalas, tvarsliausiai	Dirbtinei odai, nervų regeneracinei tvarsliausiai

Kadangi želatinos fizikocheminės ir biologinės savybės, kaip jau minėta yra panašios į kolageno ir šis baltymas pasižymi geru biologiniu suderinamumu, yra biologiškai skaidomas ir ekonomiškai labiau prieinamas, todėl želatinos panaudojimas medicinoje yra gan platus. Želatinos kempinės yra naudojamos po operacijų randams gydyti, o želatinos pagrindu pagaminti hemostatai yra standartinė chirurginių įrankių rinkinio dalis, užtikrinanti paciento saugumą operacijos metu [35].

Želatina taip pat yra naudojama ir nanopluoštų žaizdoms gydyti gamybai elektrinio verpimo būdu. Prahos universitete (Čekija) daryti tyrimai, kurių metu buvo verpiamos gijos naudojant 10% želatiną acto rūgštyje. Gauti rezultatai parodė, kad verpimo metu susidarė 110 μm vidutinio skersmens gijos. Molekulės po elektrinio verpimo proceso buvo sukryžmintos, naudojant glutaro-aldehido garus. Žmogaus odos fibroblastai, mezenchiminės kamieninės ląstelės ir keratinocitai buvo pasėti ant susietų želatinos nanopluoštų ir buvo nustatyta, kad jie prilimpa ir skatina gyvybę, o tai rodo, kad nanopluoštai nėra citotoksiški ir gali būti naudojami audinių inžinerijoje [35 36].

Irane, Amirkabiro technologijos universitete, atlikti tyrimai, kurių metu buvo kuriamos chitozano/želatinos membranos, pasižymintios ilgalaikiu atpalaidavimu norint išvengti infekcijų, tiekiant cinamono ekstraktą į implantuotą vietą. Tyrimams buvo pasirinktas chitozanas/želatina, dėl sąveikos tarp chitozano katijoninių ir želatinos anijoninių funkcinių grupių, kurios sumažina teigiamą elektrostatinę sąveiką tarp –NH<sub>3</sub><sup>+</sup> funkcinių grupių chitozane. Tai ne tik padidina chitozano elektrinį paviršių, bet ir padidina ląstelių migracijos pajėgumą. Bandymai atlikti su skirtingos koncentracijos cinamono ekstraktu. Tyrimai parodė, kad pavyko sukurti efektyvią antibakterinę nanopluošto membraną, pagaminta iš cinamono prisotintų chitozano/želatinos nanopluoštų. Morfologiniai tyrimai parodė, kad vidutinis nano-mikro gijų skersmuo padidėjo, o nanopluoštai tam tikrose vietose susiliejo. Cinamono ekstraktas turėjo esminės įtakos biologinėms savybėms. 10 pav. pateiktos nano-mikropluoštų, turinčių skirtingą cinamono ekstrakto kiekį SEM nuotraukos. Rezultatai parodė, kad cinamono ekstraktas sumažina skilimo greitį, o didžioji dalis pluoštų išlaikė savo pradinę morfologiją. Nanopluoštai tapo atsparesni skilimui, kas yra būtina natūraliems biopolimerams, kurių naudojimą riboja greitas biologinis skaidomumas. Taip pat chitozano/želatinos bandinyje su 4% cinamono ekstrakto, pagerėjo biologinis suderinamumas ir antibakterinis aktyvumas, o ląstelių morfologijos tyrimai parodė geresnį ląstelių augimą mėginyje [37]. Dėl šių priežasčių ši vaistų tiekimo nanopluošto

membrana, sudaryta iš chitozano/želatinos ir cinamono, gali būti taikoma biomedicinos reikmėms – odontologijoje, tvarsliauvoje, ortopedijoje.



**10 pav.** Cinamono/želatinos suformuotos nano-mikrogijos, esant skirtingam cinamono ekstrakto kiekiui, po 7, 14, ir 28 dienų irimo [37]

### 1.3.1. Biologiškai aktyvių medžiagų pritaikymas elektriniam verpimui

Vaistiniai augalai – perspektyvus biologiškai aktyvių medžiagų šaltinis. Augalų ekstraktų baktericidinės savybės ir jų taikymo galimybės yra plačiai nagrinėjamos. Biologiškai aktyvios medžiagos, randamos kai kuriose augaluose, sėkmingai veikia net ir antibiotikams atsparius mikroorganizmus. Antioksidacinis aktyvumas yra vienas svarbiausių augalinių ekstraktų biologinių poveikių, kuris yra glaudžiai susijęs su priešvėžiniu, antibakteriniu, antialerginiu, uždegimą slopinančiu, antirombogeniniu, hepatoprotekcinu poveikiu, taip pat yra svarbus įvairių lėtinių ligų prevencijai [38]. Šie svarbūs biologiškai aktyvūs junginiai yra ištirpę augalo ląsteliniame skystyje, todėl norint juos iš ten ištraukti, taikoma ekstrakcija, kurios metu biologiškai aktyvūs junginiai difunduoja iš ląstelės į ekstrakcijai naudojamą tirpiklį.

Biologiškai aktyvios medžiagos, kaip kaulazolė, alavijas, propolis ar medetka yra iš atsinaujinančių šaltinių išgaunamos medžiagos, kurios turi gydomųjų savybių ir gali būti naudojamos tvarsliauvoje, apsaugant žaizdas nuo infekcijų. Vienas iš pavyzdžių – vaistinė medetka, kuri pasižymi antimikrobinėmis, antiseptinėmis, kraujo koaguliaciją skatinančiomis savybėmis. Guilano universitete, Irane atlikti elektrinio verpimo tyrimai: verpiant kukurūzų baltymų/polikaprolaktono/gumiarabiko (PCL/Zein/GA) tirpalus su vaistine medetka. Tyrimų rezultatai parodė, kad bandiniai su įmaišyta medetka pasižymėjo didesniu nano-mikrogijų skersmeniu. Vidutinis nano-mikrogijų skersmuo padidėjo nuo  $449,2 \pm 242,3$  nm iki  $550,9 \pm 231,1$  nm. Tačiau svarbu paminėti, kad medžiagų stiprumas sumažėjo dėl natūralaus polimero priedo.

Gautos neaustinės medžiagos, pasižymėjo antimikrobinium efektu gram-neigiamoms bakterijoms, taip pat nedidele slopinimo zona gram-teigiamų bakterijų atveju [39].

Kauno technologijos universitete atlikti tyrimai su elektrinio verpimo metodu gautos hidrofilinės biologiškai suderinamos PLA neaustinės medžiagos su propolio etanolio ekstraktu (PEE) ir sidabro nanodalelėmis, skirtos antimikrobinium ir antiseptinimum poveikiu pasižyminčiai tvarsliausiai. Atlikus tyrimus, padarytos išvados, kad PEE buvimas PLA polimero tirpale pagerino elektrinio verpimo procesą, sudarant tankesnę neaustinę medžiagą. Be to, padidinus etanolio kiekį tirpale, gauti didesni nano-mikrogijų skersmenys, kurie padidėjo nuo  $168 \pm 29$  nm iki  $318 \pm 30$  nm ir  $370 \pm 30$  nm. Antimikrobinis ir priešgrybelinis aktyvumas buvo patvirtintas visiems PLA mėginams su AgNP ir PEE [40].

Tačiau, svarbu paminėti, kad naudojant natūralius polimerus elektrinio verpimo procesui, atsiranda tam tikri apribojimai, kaip sudėtingas apdorojimo procesas ir prastesnės mechaninės savybės. Sintetiniai polimerai dažnai turi daugiau pranašumų lyginant su natūraliais, nes yra lengvai pritaikomi pagal norimas savybes specifiniam panaudojimui yra ekonomiškėsi [23]. Todėl, norint išgauti norimas, specifines fizines ar chemines savybes, natūralus polimerai dažnai yra naudojami kartu su sintetinėmis, juos sumaišant kartu arba verpiant atskirais sluoksniais.

#### **1.4. Apibendrinimas**

Elektrinio verpimo technologija vis plačiau naudojama audinių inžinerijoje ir prisideda prie žmonių gyvenimo kokybės gerinimo. Elektrinis verpimas – tai procesas, kai naudojant stiprų elektrinį lauką iš polimerinio tirpalo gaunamos mikro-nanogijos. Įvairiuose literatūros šaltiniuose pateiktuose tyrimuose matyti, jog elektrinio verpimo metu suformuotų nanogijų struktūra priklauso nuo polimero ir jo tirpalo savybių, aplinkos ir technologinių parametru, o tinkamų medžiagų parinkimas ir elektrinio verpimo metodo optimizavimas gali padėti perspektyviai pritaikyti šią technologiją įvairiose srityse, pvz., tvarsliaivos gamyboje.

Literatūros apžvalgoje aptartas natūralių ir sintetinių polimerų tinkamumas neaustinės medžiagos tvarsliausiai gauti elektrinio verpimo būdu. Ypač aktualu medicininės tvarsliaivos gavimui panaudoti gyvulinės kilmės atliekas (pvz., želatiną), modifikuojant jas bioaktyviais priedais. Daugelis natūralių vaistinių augalų rūšių pasižymi dideliu efektyvumu dėka veikliųjų medžiagų, galinčių stimuliuoti gijimo procesus ir beveik neturinčių šalutinio poveikio žmogaus odai ir sveikatai.

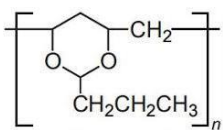
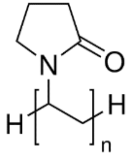
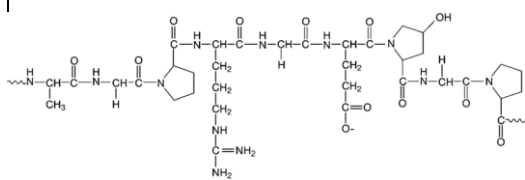


## 2. Metodologinė dalis

### 2.1. Tyrimuose naudotos medžiagos

- Elektrinio verpimo būdu neaustinėms medžiagoms formuoti buvo pasirinkti polivinilbutiralo (PVB) ir polivinilpirolidono (PVP) polimerų tirpalai (4 lentelė): PVB – baltų miltelių pavidalo polimeras, pasižymintis geru sukibimu ir tirpumu įvairiuose organiniuose tirpikliuose [41].
- PVP – baltų miltelių pavidalo polimeras, kuris pasižymi geru biologiniu suderinamumu, mažu toksiškumu bei geru sukibimu [42].

4 lentelė. Naudotų polimerų struktūra ir pagrindinės charakteristikos

Polimeras	Pagrindinės savybės	Struktūra
<b>Polivinilbutiralis</b> (poli(2-propil-1,3-dioksan-4,6-diil)metilenas) <i>Mowital®</i> B 60 T (tiekėjas – <i>Kuraray</i> )	$\eta = 180 - 280$ mPa-s (10% etanolyje) $T_g = 72$ °C $\rho_{piltinis} = 270$ g/l	 $(C_8H_{14}O_2)_n$
<b>Polivinilpirolidonas</b> (gamintojas – <i>Sigma Aldrich</i> )	$M_n = 1300000$ LS $T_{lyd} > 300$ °C	 $(C_6H_9NO)_n$
<b>Želatina</b> (gamintojas – MB „Kulagenas“)	Baltymų kiekis (pagal N2) – 91,03% Kolageninių baltymų kiekis (pagal oksiproliną) – 71,5%	
<b>Kaulažolės</b> (vaistinės taukės) (lot. <i>Symphytum officinale</i> ) <b>šaknų ekstraktas</b> (gamintojas – Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Sodininkystės ir daržininkystės institutas)	pH – $5,69 \pm 0,01$ Bendras fenolių kiekis – $115,2 \pm 6,78$ mg GAE 100ml <sup>-1</sup> Antioksidacinis aktyvumas: ABTS – $13,2 \pm 0,85$ μM TE 100ml <sup>-1</sup> DPPH – $11,5 \pm 1,02$ μM TE 100ml <sup>-1</sup> TEACFRAP – $17,8 \pm 1,24$ μM TE 100ml <sup>-1</sup>	–

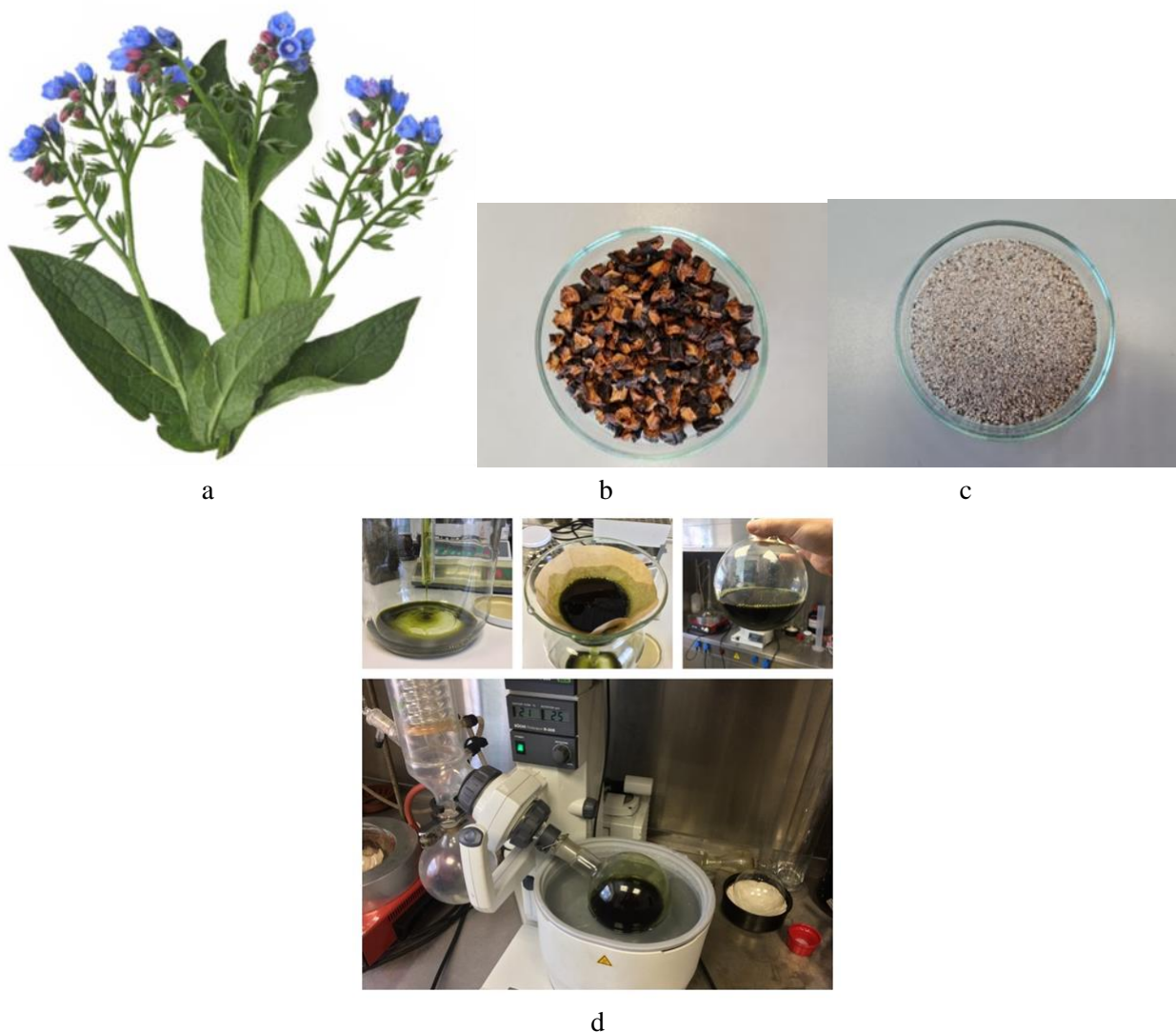
PVP ir PVB tirpalams gauti naudotas 96,6% etanolis ir distiliuotas vanduo. Šių polimerų gijos buvo formuojamos ant pagrindo – neaustinės medžiagos iš polipropileno (PP), pasižymintios geru laidumu orui ir biologiniu stabilumu.

Želatina susideda iš daugybės glicino, prolino ir 4-hidroksiprolino liekanų. Darbe naudota želatina gauta iš ekologiškai augintų jaučių anatominių dalių, kurios pasižymi didžiausia I-III tipų kolageno koncentracija (gamintojas MB „Kulagenas“). Kasmet pasaulinė skerdimo pramonė skaičiuoja



milijardus kilogramų gyvūninės kilmės atliekų, o tai yra didelis žaliavų praradimas ir procesų netvarumas. Norėdami įveikti šį augantį iššūkį, maisto pramonėje siekama ieškoti naujų technologijų, kaip pagerinti tokių atliekų panaudojimą kuriant naudingus produktus. Todėl MB “Kulagenas” kuria inovatyvų, biologiškai vertingą aukštos pridėtinės vertės, koncentruotą ekologišką sauso jautienos sultinio prototipą, kuris praturtintų žmogaus organizmą įvairiais mineralais, amino rūgštimis bei žmogaus organizmui taip reikalingu I-III tipo kolagenu. Ši medžiaga pasižymi plačiomis juslinėmis ir skoninėmis savybėmis, turi ilgą galiojimo trukmę.

Kaulažolės (vaistinės taukės) (lot. *Symphytum officinale*) šaknų ekstraktas buvo paruoštas iš iki miltelių susmulkintos išdžiovintos augalų žaliavos (žr. 11 pav.). Milteliai 3 h buvo brinkinti 70% (v/v) etanolyje. Išbrinkusi žaliava perkoliatoriuje buvo užpilta ekstrahentu – 70% (v/v) etanoliu ir 48 h palikta maceruoti. Gauta žaliava toliau perkoliuota ir surinkta 85% koncentruotos pirmosios ištraukos. Toliau ištrauka buvo supilta į kitą indą, perkoliacijos metu vis užpilant nedideliu kiekiu ekstrahento, kol žaliava visiškai ekstrahavosi. Antroji ištrauka sukonzentruota iki tirštos masės vakuuminiu rotaciniu garintuvu 40°C temperatūroje. Ši masė sumaišyta su prieš tai surinkta pirmąja ištrauka.



**11 pav.** Kaulažolė (vaistinė taukė, lot. *Symphytum officinale*) (a), jos šaknų (b) ir jų miltelių (c) bendras vaizdas bei kaulažolės ekstraktų ruošimo, filtravimo ir etanolio garinimo prieš liofilizaciją procesai (d)

Etanolinė ekstrakto fazė nugarinta naudojant rotacinį garintuvą, o likusi vandeninė fazė liofilizuota – 85°C temperatūroje ir esant 0,01 mbar slėgiui, gaunant sausą ekstraktą. Farmakologinį ekstraktų aktyvumą lemia sudėtyje esantys biologiškai aktyvūs junginiai (flavonoidai, fenolinės rūgštys, vitaminai, mikroelementai, riebalų rūgštys, kt.). Todėl siekiant įvertinti tiriamųjų ekstraktų fitocheminę sudėtį, atliktas kaulažolės šaknų ekstrakto bendro fenolinių junginių, flavonoidų, proantocianidinų ir hidroksicinamono rūgšties darinių kiekinės sudėties įvertinimas UV–Rš spektrofotometriniu metodu (tyrimus atliko Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Sodininkystės ir daržininkystės instituto dr. Jonas Viskelis).

### 2.1.1. Tirpalų paruošimo metodika

Tyrimams buvo paruošti šie tirpalai:

1. 10% PVB tirpalas, paruoštas ištirpinus 40 g PVB, 360 g 96,6% koncentracijos bioetanolyje ir maišomas magnetine maišykle. Gautas PVB tirpalas yra klampus.
2. 10% PVP tirpalas, paruoštas ištirpinus 50 g PVP, 450 g 96,6% koncentracijos bioetanolyje. Ištirpus PVP milteliams, gautas klampus tirpalas.
3. 20% želatinos tirpalas gautas į 134,4 g 96,6% koncentracijos bioetanolį įpylus 56 g želatinos ir 89,6 g distiliuoto vandens.
4. 20% želatinos tirpalas su 2% kaulažole gautas į 131,6 g 96,6% koncentracijos bioetanolį įpylus 56 g želatinos, 86,8 g distiliuoto vandens ir 5,6 g kaulažolės.
5. 10% PVP tirpalas su 1% kaulažole, paruoštas ištirpinus 30 g PVP, 267 g 96,6% koncentracijos bioetanolyje ir įpylus 3 g kaulažolės.
6. 10% PVB tirpalas su 2% kaulažole paruoštas ištirpinus 30 g PVB, 264 g 96,6% koncentracijos bioetanolyje ir įpylus 6 g kaulažolės.

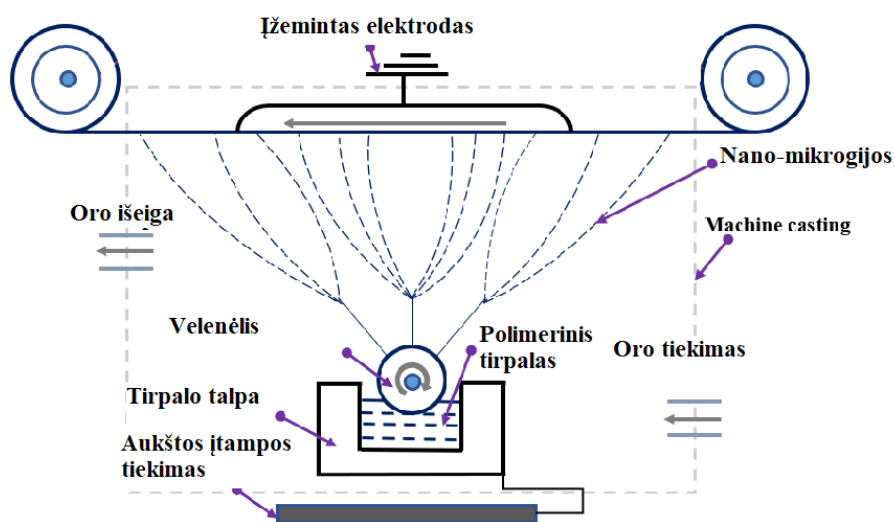
Polimeriniai tirpalai ir želatina elektriniam verpimui buvo ruošiami naudojant magnetinę maišyklę su nerūdijančio plieno plokšte (MSH basic, Yellow Line, Belgija) [34]. Želatina prieš kiekvieną verpimą pakaitinama iki 20°C temperatūros. Kiekvienam tirpalui buvo pasirinktas vienodas maišytuvo sukimosi greitis – 300 aps/min. Bandinių kompozicijos matomos 5 lentelėje.

**5 lentelė.** Naudotų kompozicijų sudėtis

Eil.nr	Kompozicija	PVB, %	PVP, %	Želatina, %	Kaulažolė, %	Etanolis (96,6%), %	Distiliuotas vanduo, %
1	PVB	10	–	–	–	90	–
2	PVB su kaulažole	10	–	–	2	88	–
3	Želatina	–	–	20	–	48	32
4	Želatina su kaulažole	–	–	20	2	47	31
5	PVP	–	10	–	–	90	–
6	PVP su kaulažole	–	10	–	1	89	–

## 2.2. Neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų formavimas elektrinio verpimo būdu

Dangų iš nano-mikrogijų formavimas atliktas „Nanospider TM“ elektrinio verpimo įrenginiu (Elmarco, Čekija) [43]. Polimeriniai tirpalai ir želatina pilami į vonele su besisukančiu dantytu velenėliu (12 pav.) [44]. Įrenginys įjungiamas, pasukamas velenėlis ir įjungiama įtampa. Susidaro elektrosstatinės jėgos tarp elektrodų. Jėgoms viršijus polimero paviršiaus įtempio jėgas, formuojasi Teiloro kūgis, susidaro tirpalo srovelės. Susidariusios polimerinės gijos, iš kurių tirpiklis yra išgaravęs, surenkamos ant neaustinės polipropileno pagrindo medžiagos. Elektrinio verpimo metu, naudojamos skirtingos įtampos ir laikai, priklausomai nuo verpiamos medžiagos.



a



b

12 pav. „Nanospider TM“ principinė schema (a) ir besisukantis velenėlis – elektrodas (b) [43]

13 pav. pateiktos elektrinio verpimo metu suformuotos neaustinės PVB medžiagos. Vizualiai matyti, kad taikant skirtingas įtampas, padengimas polimeru skiriasi. Pateiktos dvi PVB neaustinės medžiagos, kurios buvo suformuotos taikant 35 kV ir 45 kV įtampą. Taikant 45 kV įtampą, susidarė homogeniška neaustinė medžiaga, tačiau taikant 35 kV įtampą, vientisa medžiaga nesusidarė. Esant didesnei įtampai, sukuriamas stipresnis elektrinis laukas tarp elektrodų, ko pasekoje atsiranda didesnis kiekis Taylora kūgių ir yra suformuojama daugiau nano-mikrogijų, vyksta intensyvesnis verpimas. Dėl šios priežasties, esant didesnei įtampai yra suformuojama vienodesnė neaustinė medžiaga. Tačiau ne tik įtampa yra svarbi vienodesnės neaustinės medžiagos suformavimui. Nuo atstumo tarp elektrodų, taip pat priklauso neaustinės medžiagos vizuali kokybė. Atstumas turi būti ne per mažas, kad tirpiklis išgaruotų ir pagrindo medžiagą pasiektų gija be tirpiklio. Šiuo atveju, kai PVB koncentracija 10%, o atstumas tarp elektrodų – 13 cm, taikant 45 kV įtampą suformuojama vizualiai vienodos struktūros neaustinė medžiaga.



**13 pav.** Elektriniu verpimu suformuotos PVB dangos ant PP pagrindo

Elektrinio verpimo parametrai, taikyti dangoms pateikti 6 lentelėje. Visais atvejais želatinos tirpalas buvo purškiamas ant jau suformuotų PVB ir PVP dangų.

1. Bandiniams su PVB polimeru taikyta 35 ir 45 kV įtampa, verpiant 4 min;
2. Bandiniams su PVP polimeru taikyta 40 ir 50 kV įtampa, verpiant 3 min;
3. Bandiniams su želatina 55 kV įtampa, verpiant 10 min.

**6 lentelė.** PVB polimero elektrinio verpimo parametrai

Bandinio kodas	Dangos sudėtis	Įtampa, kV	Srovė, mA	Aplinkos drėgmė, %	Temperatūra, °C	Purškimo trukmė, min
PVB(35)	PVB 10%	35	0.001	66	19	4
PVB(45)	PVB 10%	45	0.004			4
Žn	Želatina 20%	55	0.011			10
PVB(35)/Žn	PVB 10% + želatina 20%	35	0.001			4
		55	0.011			10
PVB(45)/Žn	PVB 10% + želatina 20%	45	0.004			4
		55	0.011	10		
PVP(50)	PVP 10%	50	0.006	62	20	3

Bandinio kodas	Dangos sudėtis	Įtampa, kV	Srovė, mA	Aplinkos drėgmė, %	Temperatūra, °C	Purškim o trukmė, min	
PVP(50)/Žn	PVP 10% + želatina 20%	50	0.006	62	20	3	
		55	0.028			10	
PVP(40)	PVP 10%	40	0.003			3	
PVP(40)/Žn	PVP 10% + želatina 20%	40	0.003			3	
		55	0.028			10	
PVB-Kž(35)	PVB 10% su kaulažole 2%	35	0.001			60	22
PVB-Kž(45)	PVB 10% su kaulažole 2%	45	0.008		4		
PVB-Kž(35)/Žn	PVB 10 % su kaulažole 2% + želatina 20 %	35	0.001		4		
		55	0.023		10		
PVB-Kž(45)/Žn	PVB 10 % su kaulažole 2% + želatina 20%	45	0.001		4		
		55	0.023		10		
PVB-Kž(35)/Žn-Kž	PVB 10% su kaulažole 2% + želatina su kaulažole 2%	35	0.001		4		
		55	0.023	10			
PVB- Kž(45)/Žn-Kž	PVB 10 % su kaulažole 2% + želatina su kaulažole 2%	45	0.001	4			
		55	0.023	10			
PVP-Kž(40)	PVP 10 % su kaulažole 1%	40	0.002	20	3		
PVP-Kž(50)	PVP 10% su kaulažole 1%	50	0.007		3		
PVP-Kž(40) /Žn-Kž	PVP 10% su kaulažole 1% + želatina su kaulažole 2%	40	0.002		3		
		55	0.033		10		
PVP-Kž(50) /Žn-Kž	PVP 10% su kaulažole 1% + želatina su kaulažole 2%	50	0.007		3		
		55	0.033		10		

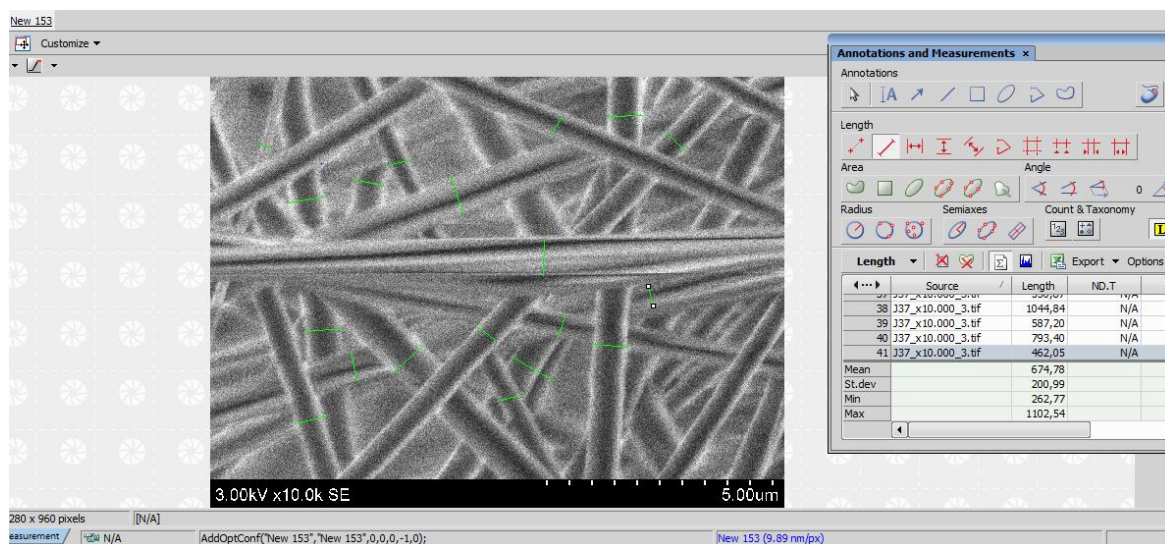
Bandinio kodas	Dangos sudėtis	Įtampa, kV	Srovė, mA	Aplinkos drėgmė, %	Temperatūra, °C	Purškimo trukmė, min
PVP-Kž(40) /Žn	PVP 10% su kaulažole 1% + želatina 20%	40	0.002	60	20	3
		55	0.033			10
PVP-Kž(50) /Žn	PVP 10% su kaulažole 1% + želatina 20%	50	0.007	60	20	3
		55	0.033			10

### 2.3. Nano-mikrogijų morfologijos nustatymas

Skenuojanti elektroninė mikroskopija buvo taikyta nano-mikrogijų struktūrai tirti. Bandiniai buvo analizuojami Hitachi kompanijos skenuojančiu elektroniniu mikroskopu S-3400N (Japonija), esančiu Lietuvos energetikos institute. Kiekvienam bandiniui daryta po keletą skirtingo priartinimo SEM nuotraukų (3, 5 ir 10 tūkst. kartų), siekiant tiksliau nustatyti nano-mikropluoštų struktūrą.

### 2.4. Nano-mikrogijų parametrų nustatymas

Nano-mikrogijų ir lašelių skersmeniui nustatyti, naudota Nikon įmonės sukurta kompiuterinė programa Nis-Elements D 4.50.00. Buvo išmatuota kiekvieno mėginio 100 skirtingų gijų. Matavimai atlikti naudojant vienodo didinimo ir mastelio SEM nuotraukas. Vidutiniam nanogijų skersmeniui apskaičiuoti, pasirinktos 5 μm gijų mastelio SEM nuotraukos. 14 pav. pateikta darbo aplinka. Gautos nano-mikropluoštų skersmens vertės buvo panaudotos generuojant histogramas ir apskaičiuojant vidutines vertes naudojant Microsoft Excel pagalbą.



14 pav. Nis-Elements D aplinka

### 2.5. Matavimo rezultatų paklaidos dydžio įvertinimas

Analizuojant mikro-nanogijų skersmens skaičiavimo rezultatus buvo nustatytos matavimo rezultatų statistinės charakteristikos.



Standartinis nuokrypis:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{vid})^2}{n-1}} \quad (2.1)$$

čia  $n$  – verčių kiekis, vnt;  $x_{vid}$  – verčių vidurkis.

Pasikliautinė matavimo rezultatų paklaida:

$$\Delta_a = \frac{t_a \cdot S}{\sqrt{n}} \quad (2.2)$$

čia  $t_a$  – Stjudento koeficientas.

## 2.6. Dangų citotoksiškumo nustatymas

Citotoksiškumo testas skirtas nustatyti žinduolių ląstelių biologinį atsaką *in vitro* naudojant tinkamus biologinius parametrus. Tiriamų medžiagų citotoksiškumo įvertinimas *in vitro* atliktas pagal ISO 10993-5:2009 standarto reikalavimus naudojant fibroblastus. Metodas apibūdina kultivuotų ląstelių, besiliečiančių su tiriamą medžiaga tiesioginio kontakto būdu, gyvybingumą po 24 valandų inkubacijos. Tyrimai atlikti LSMU Farmacijos fakultete (prof. Vilma Petrikaitė).

## 2.7. Eksploatacinių kaštų savikainos skaičiavimai

Želatinos dangos paruošimo kaštus sudaro investiciniai ir eksploataciniai kaštai. Investiciniai kaštai apima įrenginių įsigijimo, statybos kaštus ir poveikio aplinkai vertinimą. Baigiamajame projekte skaičiuojami tik eksploataciniai kaštai., kurie apima būtinašias sąnaudas: išlaidas medžiagoms, elektros energijai, darbuotojų atlyginimams.

Eksploatacinių kaštų savikaina:

$$S = \frac{I}{Q} \text{ (Eur/m}^2\text{)} \quad (2.3)$$

čia  $I$  – sąnaudos, reikalingos vienam vienetui dangos pagaminti, Eur;

$Q$  – pagaminamos dangos kiekis,  $\text{m}^2$ /metams.

Būtiniosios sąnaudos:

$$I = I_1 + I_2 + I_3 + I_4 + I_5 \text{ (Eur)} \quad (2.4)$$

čia  $I_1$  – medžiagų išlaidos, Eur;

$I_2$  – elektros energijos išlaidos, Eur;

$I_3$  – darbo vietos kaina, išlaidos darbuotojams, Eur;

$I_4$  – įrenginių nusidėvėjimo išlaidos, Eur;

$I_5$  – kitos išlaidos (remonto ir eksploatacinės), Eur;

Medžiagų kiekis:

$$K = d \cdot Q \quad (2.5)$$

čia:  $d$  – sunaudojamos medžiagos kiekis, reikalingas produkcijos vienetui pagaminti;

$Q$  – pagaminamos medžiagos kiekis per metus  $\text{m}^2$ /metus.

Išlaidos medžiagoms:

$$I_1 = P \cdot K + 0,21 \cdot P \cdot K \text{ (Eur)} \quad (2.6)$$

čia  $P$  – medžiagos kaina, Eur/t;

K – medžiagų kiekis.

0,21 – pridėtinės vertės mokesčio tarifas taikomas visoms medžiagoms.

Išlaidos elektros energijai:

$$I_2 = E \cdot t \text{ (Eur)} \quad (2.7)$$

čia E – sunaudotas elektros energijos kiekis, kwh;

t – vienos kilovatvalandės tarifas. Tarifas randamas elektros energiją tiekiančios įmonės interneto tinklapyje, Eur.

Išlaidos darbuotojų atlyginimams:

$$I_3 = N \cdot a \cdot 12 \text{ (Eur)} \quad (2.8)$$

čia N – darbuotojų skaičius, vnt;

a – mėnesinis darbuotojo atlyginimas, Eur;

12 – mėnesių skaičius, vnt.

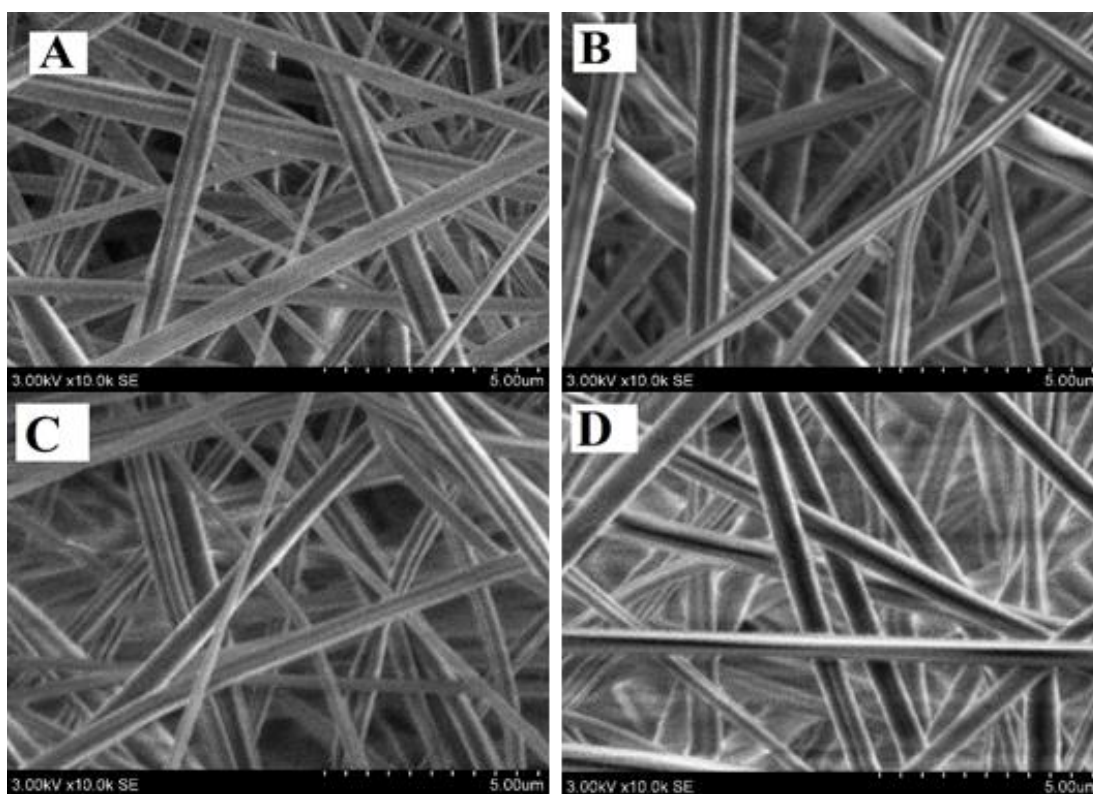
Išlaidos nusidėvėjimui apskaičiuojamos nustatant bendrą įrenginių kainą ir remiantis LR Pelno mokesčio įstatymu padauginama iš 5 proc. [45]. Gauta suma yra padalinama iš įrenginių nusidėvėjimo metų, nustatytų pagal LR Pelno mokesčio įstatymą. Kitos išlaidos ( $I_5$ ), sudaro 10 proc. nuo tiesioginių medžiagų, elektros ir darbuotojų atlyginimo išlaidų. Mokestis už aplinkos taršą nėra skaičiuojamas, kadangi tiesioginės taršos aplinkai nėra.



### 3. Rezultatai ir jų aptarimas

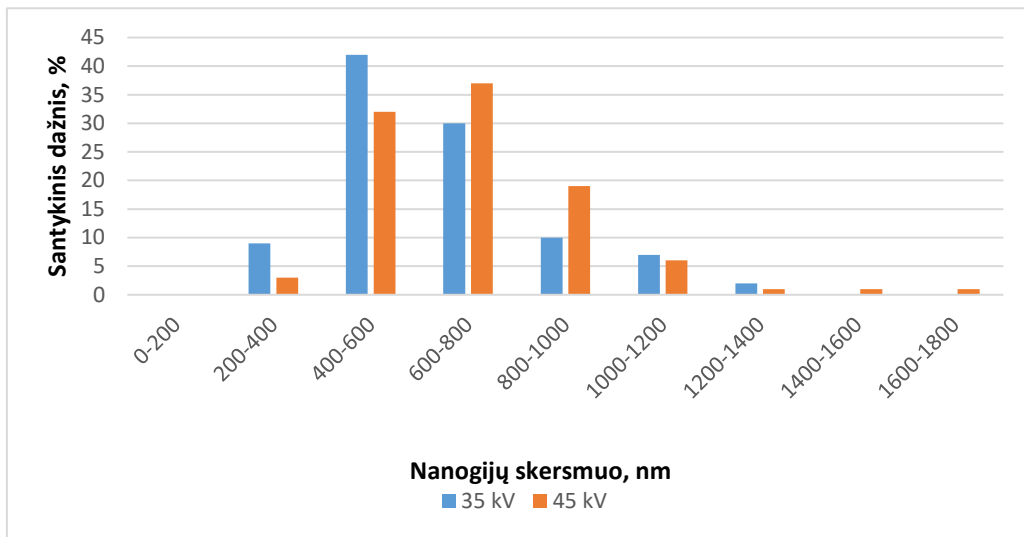
#### 3.1. PVB dangų struktūros priklausomybė nuo formavimo parametrų ir kompozicijos

Nis-elements D programos pagalba išmatuotas  $n = 100$  nanogijų skersmuo ir įvertintas nanogijų diametro pasiskirstymas. Mikro-nanogijos pasirinktos atsitiktinai. 15 pav. pateikti PVB ir PVB gijų su kaulažole vaizdai, gauti esant skirtingai įtampai, o skersmens pasiskirstymo histogramos – 16 pav. Matyti, kad įtampa turi įtakos susidariusių nanogijų diametru. PVB(35) gijų skersmuo pasiskirsto 170 nm – 1303 nm ribose, o vidutinis nanogijų skersmuo yra 560 nm. Padidinus įtampą iki 45 kV, PVB(45) nanogijų diameteras padidėja ir pasiskirsto 358 nm – 1683 nm ribose, o vidutinis nanogijų skersmuo yra 734 nm (žr. 15 pav. A ir B). Įvertinus nanogijų diametrą, nustatyta, kad esant 35 kV įtampai, elektrinio verpimo metu daugiausia susidaro 400 – 600 nm skersmens nano-mikrogijų, o esant 45 kV įtampai 600 – 800 nm (žr. 7 lentelę). Daugelyje nagrinėtų mokslinių straipsnių nustatyta [46], jog taikant didesnę įtampą yra gaunamos didesnio skersmens nanogijos, ką patvirtino ir mūsų tyrimų rezultatai. Atlikti tyrimai su poliakrilonitrilu (PAN) kurie parodė, kad taikant didesnę įtampą elektrinio verpimo metu susidaro didesnio diametro nano-mikrogijos: esant 15 kV įtampai ir 15  $\mu\text{L}/\text{min}$  debitui gautos 1,29  $\mu\text{m}$  skersmens nano-mikrogijos, o įtampą padidinus iki 20 kV – 1,50  $\mu\text{m}$  skersmens nano-mikrogijos [46].

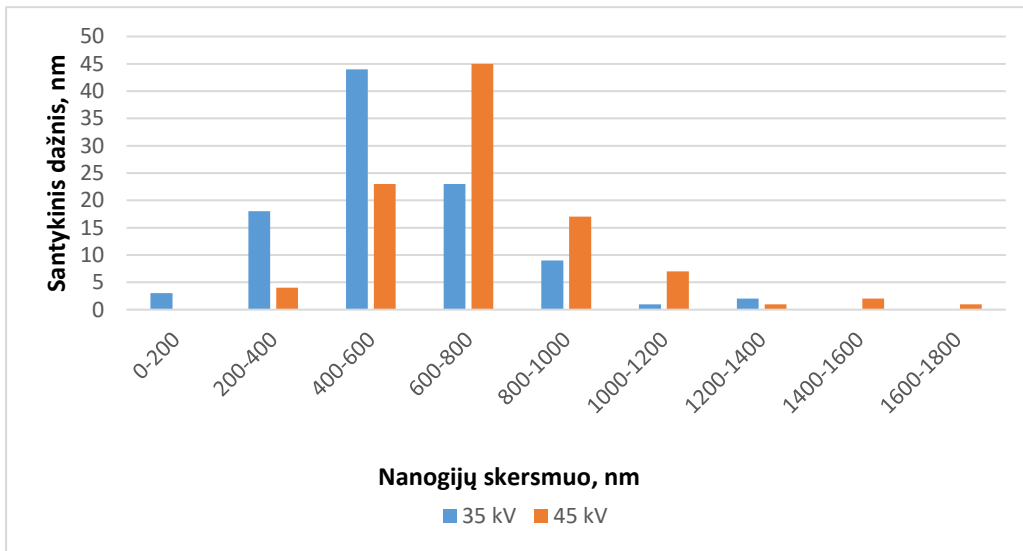


**15 pav.** Kompozicijos ir įtampos įtaka PVB nano-mikrogijų morfologijai: A – PVB(35); B- PVB(45); C- PVB-Kž(35); D – PVB-Kž(45). (A, C – 35 kV; B, D – 45 kV)

PVB su kaulažole gijų atveju taip pat gauta, kad esant didesnei įtampai gaunamas gijų diameteras yra didesnis (15 pav. C ir D). Mažiausio skersmens gijos gautos esant 35 kV įtampai. Kai įtampa yra 35 kV, iki 51% suformuotų gijų yra iki 600 nm skersmens, kai įtampa yra 45 kV, 35% suformuotų gijų yra iki 600 nm. Esant didesnei įtampai susidaro mažesnis kiekis mažesnio skersmens nanogijų, tai matoma 16 pav. esančioje histogramoje.



a



b

16 pav. PVB (a) ir PVB su kaulažole (b) gijų skersmens pasiskirstymo histogramos, esant skirtingai įtampai

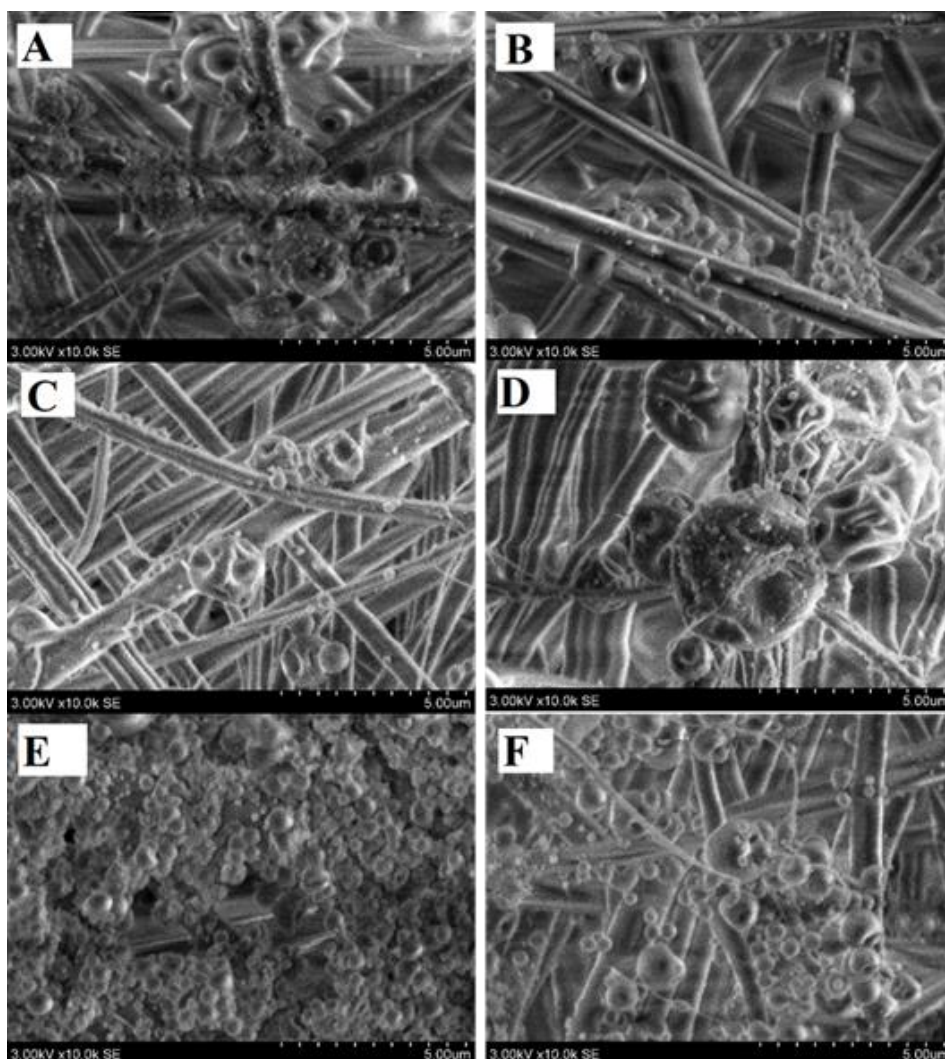
7 lentelė. PVB nanogijų skersmens vidurkis

Bandinio kodas	Nano-mikrogijų skersmens vidurkis, nm	Standartinė paklaida, nm
PVB(35)	559,58	21,3
PVB(45)	734,26	23,6
PVB-Kž(35)	634,02	21,3
PVB-Kž(45)	702,59	22,4

Toliau darbe buvo formuojami želatinos lašeliai ant PVB(35) ir PVB(45) ir kaulažole modifikuotos PVB dangos. Taip pat formavimui buvo naudotas kaulažolės modifikuotas želatinos tirpalas. Visi bandiniai gauti esant 55 kV įtampai ir 10 min verpimo trukmei. Gauti rezultatai pateikti 17, 18 pav. ir 8 lentelėje.

Atlikti tyrimai parodė, kad elektrinio verpimo būdu gijų iš želatinos tirpalo gauti nepavyks. Tačiau naudojant 20% koncentracijos želatinos tirpalą pastebėta, kad vyksta tirpalo purškimas ir ant PP pagrindo susiformuoja želatinos lašeliai (17 pav. A, B). Taip pat buvo atlikti tyrimai ir su 30% koncentracijos želatinos tirpalu, tačiau dėl didelės klampos elektrinio verpimo metu jokie želatinos dariniai nesiformuoja. Želatiną užpurškus ant PVB(35), PVB(45) ir kaulažole modifikuotos PVB neaustinės medžiagos, gauti rezultatai parodė, kad visais atvejais lašeliai susidarė.

Mažiausias kiekis lašelių susidarė želatiną užpurškus ant gryno PVB (žr. 17 pav. A ir B) ir ant PVB su kaulažole. (žr. 17 pav. C ir D), lašeliai išsidėstė dideliu atstumu vienas nuo kito. PVB-Kž(35)/Žn lašelių skersmenys pasiskirstė nuo 163 nm iki 2190 nm, o PVB-Kž(45)/Žn lašelių skersmenys pasiskirstė nuo 203 nm iki 4368 nm (žr. 8 lentelę). Geriausias padengimas želatina gautas želatiną su kaulažolę užpurškus ant suformuotos PVB su kaulažole dangos (17 pav. E, F). Želatinos lašeliai vienodai pasiskirstė visame PVB dangos paviršiuje. Želatinos su kaulažole, užurkštos ant PVB su kaulažole dangos, lašelių skersmuo pasiskirstė 228 nm – 828 nm ribose, o vidutinis nano-mikrogijų skersmuo yra 522 nm. Gauti rezultatai taip pat parodė, kad mažiausio skersmens lašeliai susidarė PVB su kaulažole dangos, suformuotos esant 35 kV įtampai atveju. Šiuo atveju 55% gijų yra iki 600 nm skersmens, o 45 kV įtampos atveju tokio dydžio gijų suformuoja tik 42%.



**17 pav.** Kompozicijos ir įtampos įtaka PVB nano-mikrogijų padengimo želatinos lašeliais kokybei: A – PVB(35)/Žn; B- PVB(45)/Žn; C– PVB-Kž(35)/Žn; D – PVB-Kž(45)/Žn; E – PVB-Kž(35)/Žn-Kž; F – PVB-Kž(35)/Žn-Kž (A, C, E – 35 kV; B, D, F – 45 kV)



18 pav. Želatinos užverptos ant PVB, lašelių skersmens pasiskirstymas

8 lentelė. Želatinos lašelių skersmens vidurkiai

Bandinio kodas	Lašelių skersmens vidurkis, nm	Standartinė paklaida, nm
PVB(35)/Žn	754,09	49,92
PVB(45)/Žn	854,50	39,36
PVB-Kž(35)/Žn	739,72	117,19
PVB-Kž(45)/Žn	1506,58	191,67
PVB-Kž(35)/Žn-Kž	521,79	13,30
PVB- Kž(45)/Žn-Kž	610,68	27,02

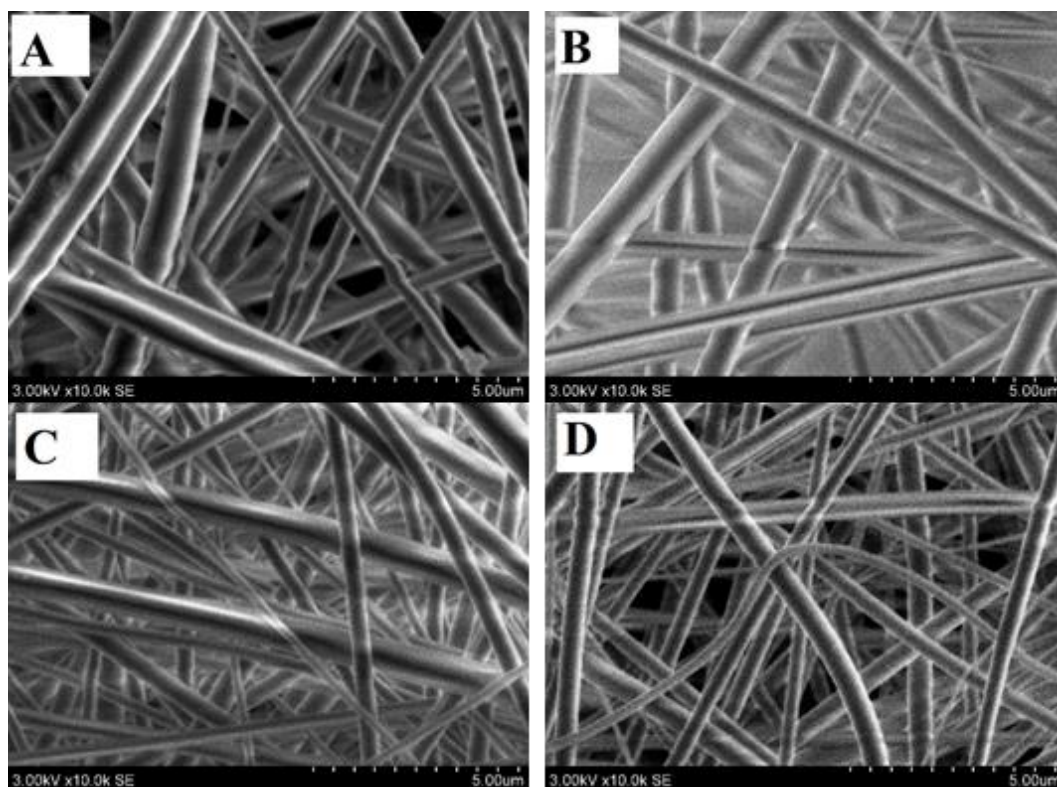
Suformavus želatinos lašelius ant PVB ir PVB su kaulažole modifikuotos dangos, rezultatai parodė, kad taikant didesnę įtampą, didžioji dalis suformuotų lašelių yra 400 nm – 600 nm skersmens. Formuojant želatiną ant grynos ir modifikuotos PVB dangos, susidariusių lašelių padengimas gautas mažiausias, o ant modifikuotos PVB dangos užpurškus modifikuotą želatiną, suformuotas didžiausias kieki lašelių ir gauta mažesnė lašelių skersmenų variacija.

### 3.2. PVP dangų struktūros priklausomybė nuo formavimo parametrų ir kompozicijos

Toliau darbe buvo atlikti tyrimai gaunant įvairios kompozicijos PVP dangas. 19 pav. kaip ir PVB atveju, PVP suformuotų dangų struktūra priklauso nuo naudotos įtampos. PVP(40) atveju naudojant 40 kV įtampą, gijų skersmuo randasi 191 nm – 1604 nm ribose, o vidutinis nanogijų skersmuo – 610

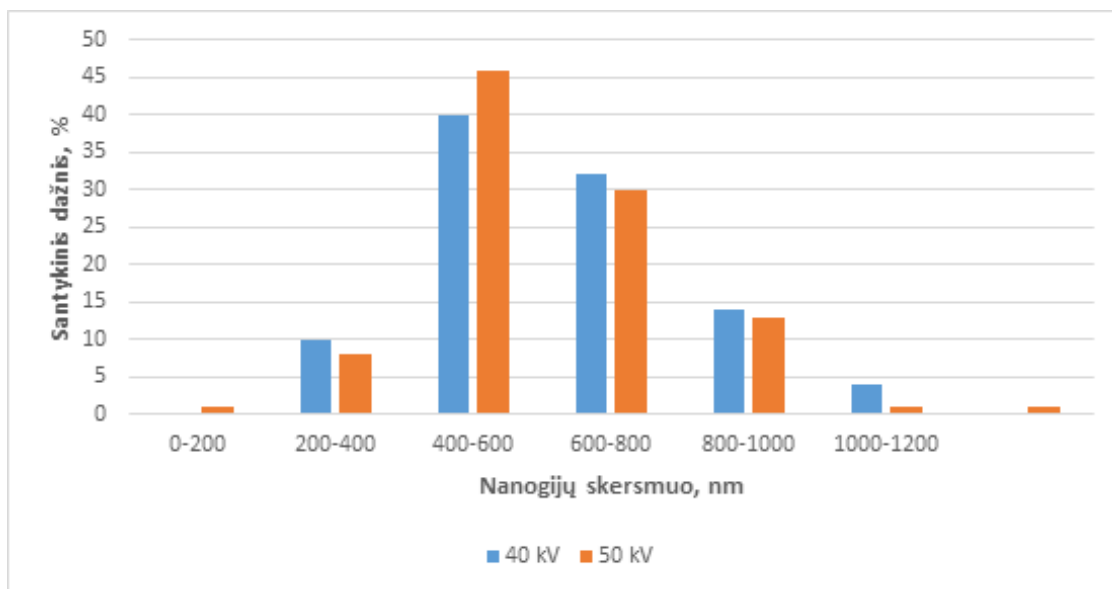
nm (žr. 9 lentelę). Padidinus įtampą iki 50 kV, nanogijų skersmuo pluošte padidėjo iki 262 nm – 1102 nm, o vidutinis skersmuo išliko panašus – 623 nm (žr. 20 pav.).

Iš PVP-Kž(40) suformuotų gijų skersmuo pasiskirstė 164 nm – 1195 nm intervale, o padidinus įtampą iki 50 kV – 163 nm iki 987 nm, vidutinis nanogijų skersmuo yra 508 nm. Įvertinus nanogijų skersmenis, nustatyta, kad nepriklausomai nuo naudotos įtampos daugiausia susidaro 400 – 600 nm skersmens gijos (žr. 9 lentelę). Analizė taip pat parodė, kad lyginant tiek PVB, tiek PVP dangas, visais atvejais naudojant mažesnę įtampą susidarė didesnis skaičius 200 – 400 nm skersmens nanogijų. Iš to galima daryti prielaidą, kad naudojant mažesnę įtampą yra gaunamas didesnis kiekis mažesnio skersmens nanogijų.

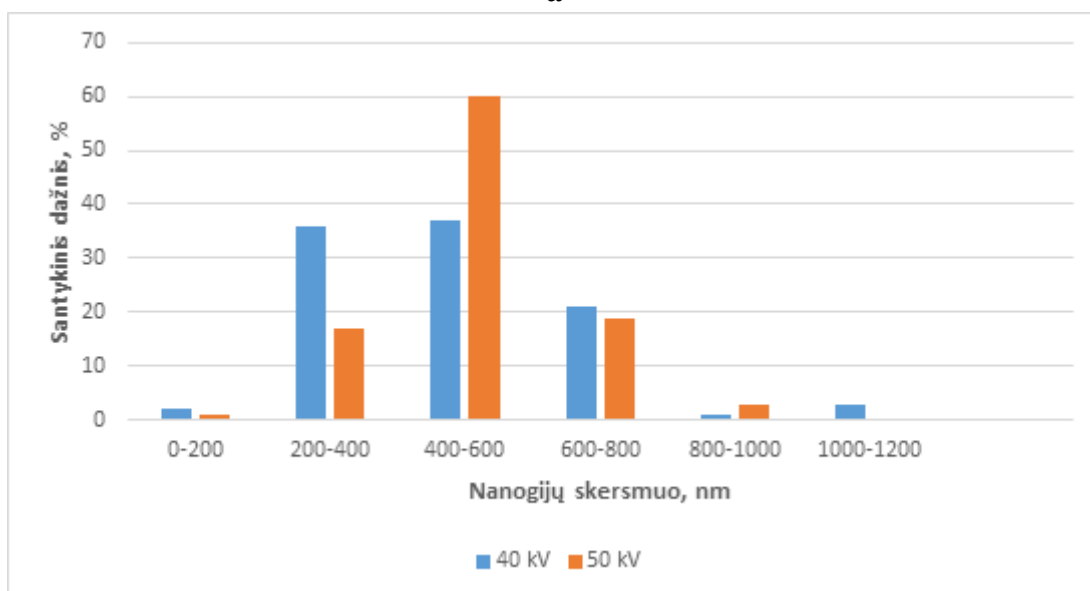


**19 pav.** Kompozicijos ir įtampos įtaka PVP nano-mikrogijų morfologijai: A – PVP(50); B- PVP(40); C- PVP-Kž(40); D – PVP-Kž(50). (A, C – 40 kV; B, D – 50 kV)





a



b

20 pav. PVP (a) ir PVP su kaulažole (b) gijų skersmens pasiskirstymo histogramos, esant skirtingai įtampai

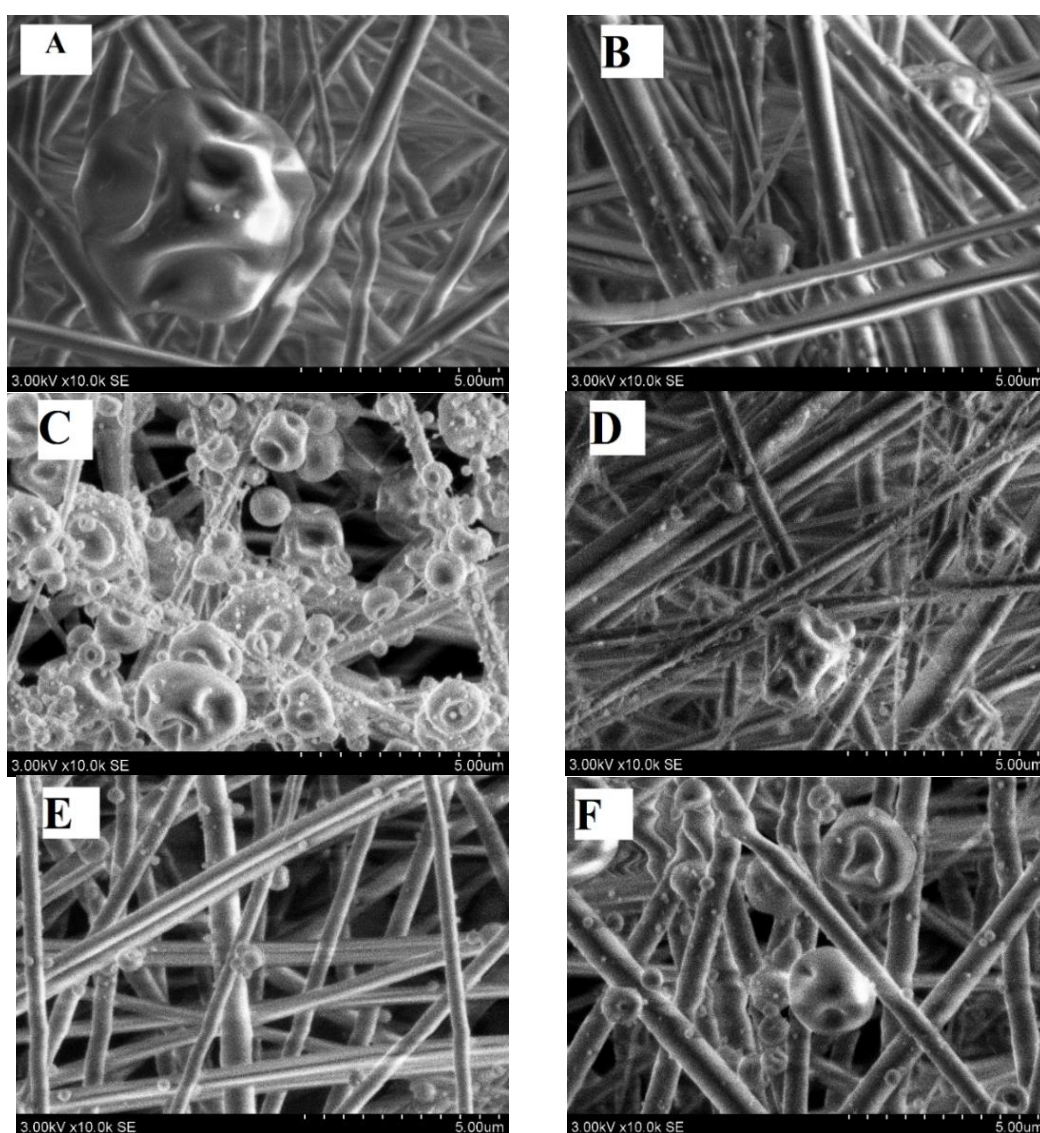
9 lentelė. PVP nanogijų skersmens vidurkiai

Bandinio kodas	Nano-mikrogijų vidutinis skersmuo, nm	Standartinė paklaida, nm
PVP(50)	609,61	19,43
PVP(40)	622,51	19,08
PVP-Kž(40)	493,27	18,11
PVP-Kž(50)	508,06	13,49

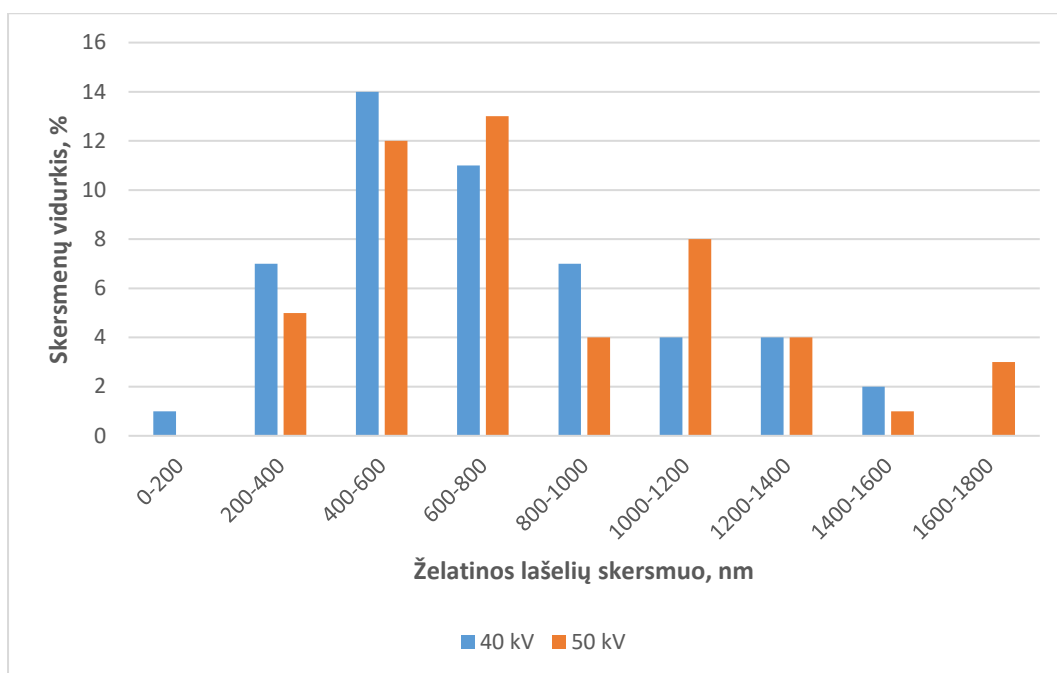
Toliau darbe želatinos lašeliai buvo formuoti ant PVP(40), PVP(50) ir kaulažole modifikuotos PVP-Kž(40), PVP-Kž(50) neaustinės medžiagos. Taip pat formavimui buvo naudotas kaulažole

modifikuotas želatinos tirpalas. Visi bandiniai gauti esant 55 kV įtampai ir 10 min verpimo trukmei. Gauti rezultatai pateikti 21 ir 22 pav. ir 10 lentelėje.

Gauti rezultatai parodė, kad visais atvejais neauštinės medžiagos buvo suformuotos, lašeliai susidarė (žr. 21 pav.). Mažiausias kiekis lašelių susidarė PVP(50)/Žn ir PVP(50)/Žn (žr 21 pav. A ir B) ir PVP-Kž(40)/Žn ir PVP-Kž(50)/Žn bandiniuose. Susidariusių lašelių kiekis nedidelis, o skersmens variacija didelė, kas matoma ir 10 lentelėje. Geriausias padengimas gautas želatiną su kaulažole užpurškus ant PVP su kaulažole dangos PVP-Kž(40) (žr 21 pav. C). Želatinos lašeliai išsidėstė vienas šalia kito ir pasiskirstė ištisai paviršiaus, o lašelių skersmuo pasiskirstė nuo 180 nm, iki 1593 nm, vidutinis lašelių skersmuo – 717 nm (žr 10 lentelę). . Gauti rezultatai taip pat parodė, kad mažiausio skersmens lašeliai susidarė ant PVP su kaulažole dangos, suformuotos esant 40 kV įtampai atveju. Šiuo atveju 28% gijų yra ~600 nm skersmens, o 50 kV įtampos atveju tokio dydžio gijų suformuoja 24%.



**21 pav.** Kompozicijos ir įtampos įtaka PVP nano-mikrogijų padengimo želatinos lašeliais kokybei: A – PVP(50)/Žn; B – PVP(50)/Žn; C – PVP-Kž(40) /Žn-Kž; D – PVP-Kž(50) /Žn-Kž; E – PVP-Kž(40) /Žn; F – PVP-Kž(50) /Žn (A, C, E – 40 kV; B, D, F – 50 kV)



22 pav. Želatinos užverptos ant PVP, lašelių skersmens pasiskirstymas

10 lentelė. Želatinos lašelių skersmenų vidurkiai

Bandinio kodas	Želatinos lašelių skersmens vidurkiai, nm	Standartinė paklaida, nm
PVP(50)/Žn	2840,55	417,09
PVP(40)/Žn	1296,46	376,82
PVP-Kž(40) /Žn-Kž	717,19	34,65
PVP-Kž(50) /Žn-Kž	828,60	35,93
PVP-Kž(40) /Žn	594,48	34,18
PVP-Kž(50) /Žn	713,61	49,71

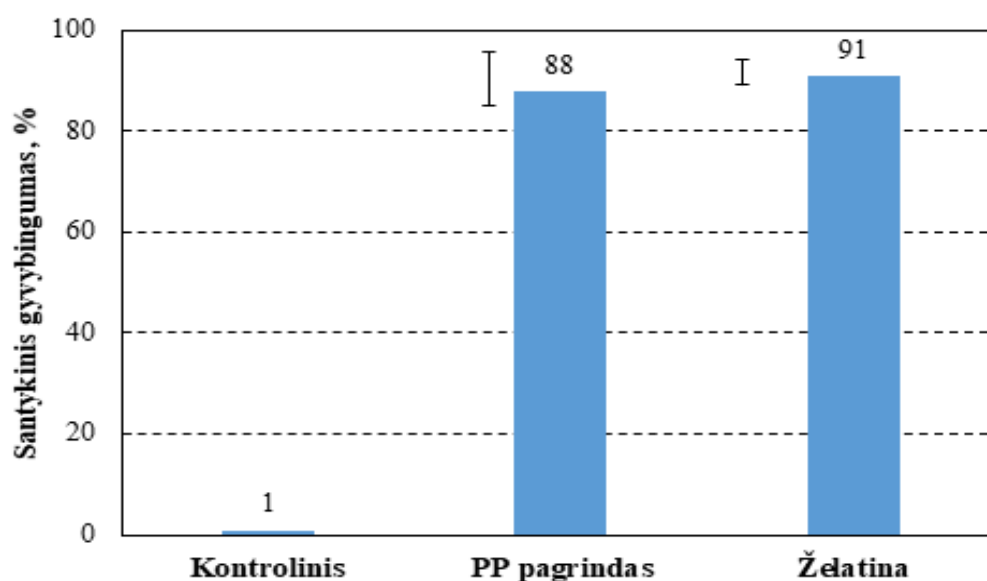
Suformavus želatinos lašelius ant PVP ir PVP su kaulažole modifikuotos dangos, rezultatai parodė, kad taikant didesnę įtampą, didžioji dalis suformuotų lašelių yra 600 nm – 800 nm skersmens. Formuojant želatiną ant grynios ir modifikuotos PVP dangos, susidariusių lašelių padengimas gautas mažiausias. Analizė taip pat parodė, kad lyginant tiek PVB, tiek PVP su kaulažole dangas, naudojant mažesnę įtampą ir neaustines medžiagas padengus modifikuota želatina, padengimas lašeliais gautas geriausias.

### 3.3. Želatinos ir kaulažolės efektyvumo įvertinimas

Gautos neaustinės medžiagos buvo tirtos *in vitro* dėl citotoksinio aktyvumo. Palyginimui naudotas kontrolinis bandinys. Tyrimo rezultatai parodė, kad PP pagrindas ir želatina užurkšta ant PP turėjo



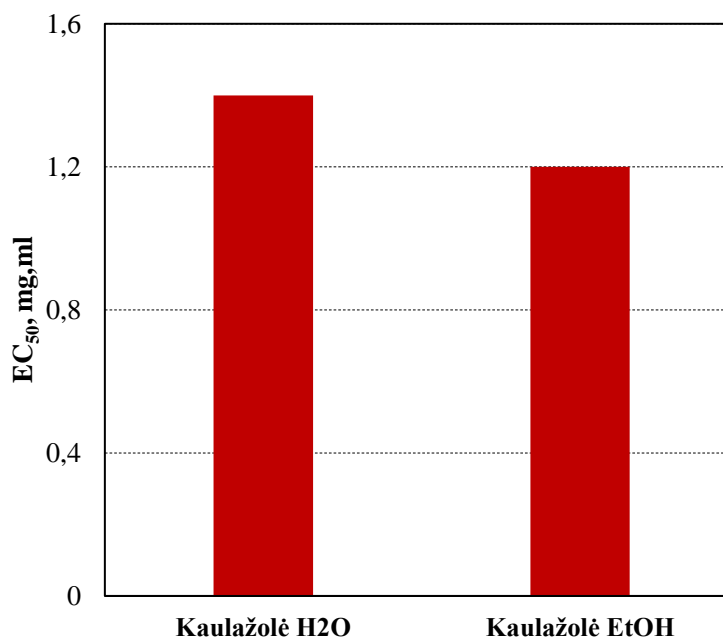
didžiausią santykinę gyvybingumą. Rezultatai parodė, kad bandiniai yra netoksiški tiesioginio kontakto būdu – po 24 h inkubacijos ir jų gyvybingumas siekė > 70% (23 pav.).



23 pav. Želatinos citotoksiškumo tyrimas

PP pagrindo gyvybingumas – 88%, o želatinos užpurkštos ant PP – 91%. Tai parodo, kad užpurškus želatiną santykinis gyvybingumas padidėja ir toksinis poveikis ląstelėms sumažėja.

Toliau buvo įvertinta kaulažolės vandeninio ir spiritinio ekstraktų efektyvi koncentracija EC<sub>50</sub> (mg/ml), kuri apibūdina jų aktyvumą (24 pav.).



24 pav. Efektyvios koncentracijos EC<sub>50</sub> priklausomybė nuo kaulažolės ekstrakto prigimties

Efektyvesnis yra spiritinis kaulažolės ekstraktas, kuris ir buvo naudotas darbe polimerų ir želatinos modifikavimui.

#### 4. Ekonominė ir darnaus vystymosi dalis

Ekonominėje dalyje yra skaičiuojami dangos eksploataciniai kaštai. Skaičiavimuose daroma prielaida, kad gamybos apimtys vyks visą parą, 365 dienas per savaitę. Elektriniam verpimui pasirinktas industrinis „Nanospider“ NS 8S1600U elektrinio verpimo įrenginys, darant prielaidą, kad vidutiniškai bus pagaminama 10000000 m<sup>2</sup> dangos per metus.

##### 4.1. Išlaidos medžiagoms

Norint įvertinti išlaidas, pirmiausia reikia nustatyti koks kiekis medžiagų yra sunaudojamas elektrinio verpimo metu. Pagrindinės medžiagos dangai verpti yra:

1. Drobinio pinimo medžiaga (merlius);
2. PVP / PVB;
3. Etanolis;
4. Distiliuotas vanduo;
5. Kaulažolė;
6. Želatina.

Sunaudojamos drobinės kiekis – 40 t/metams. Vienos tonos kaina ~2140 Eur. Drobinio pinimo medžiagos kaina apskaičiuojama:

$$I_{1a} = 40 \cdot 2140 = 85600 \text{ Eur} \quad (4.1)$$

$$I_{1b} = 0,21 \cdot 85600 = 17976 \text{ Eur} \quad (4.2)$$

$$I_{1A} = 85600 + 17976 = 103576 \text{ Eur} \quad (4.3)$$

Sunaudojamo polivinilpirolidono (PVP) kiekis per metus – 0,00004 t/m<sup>2</sup>. Polimero kaina ~3500 Eur/t.

$$K = 0,00004 \cdot 10000000 = 400 \text{ t} \quad (4.4)$$

$$I_{1a} = 3500 \cdot 400 = 1400000 \text{ Eur} \quad (4.5)$$

$$I_{1b} = 0,21 \cdot 1400000 = 294000 \text{ Eur} \quad (4.6)$$

$$I_{1B} = 1400000 + 294000 = 1694000 \text{ Eur} \quad (4.7)$$

Sunaudojamo polivinilbutirialio (PVB) kiekis per metus – 0,00005 t/m<sup>2</sup>. Polimero kaina ~2800 Eur/t

$$K = 0,00005 \cdot 10000000 = 500 \text{ t} \quad (4.8)$$

$$I_{1a} = 2800 \cdot 500 = 1400000 \text{ Eur} \quad (4.9)$$

$$I_{1b} = 0,21 \cdot 1400000 = 294000 \text{ Eur} \quad (4.10)$$

$$I_{1B} = 1400000 + 294000 = 1694000 \text{ Eur} \quad (4.11)$$

Sunaudojamo etanolio kiekis per metus 0,00034 t/m<sup>2</sup>, etanolio kaina ~885 Eur/t.

$$K = 0,00034 \cdot 10000000 = 3400 \text{ t} \quad (4.12)$$

$$I_{1a} = 885 \cdot 3400 = 2997000 \text{ Eur} \quad (4.13)$$

$$I_{1b} = 0,21 \cdot 2997000 = 619370 \text{ Eur} \quad (4.14)$$

$$I_{1C} = 2997000 + 619370 = 3616370 \text{ Eur} \quad (4.15)$$

Sunaudojamos kaulažolės ekstrakto kiekis yra 0,000006 t/m<sup>3</sup>, kaina ~3500 Eur/t.

$$K = 0,000006 \cdot 10000000 = 60,0 \text{ t} \quad (4.16)$$

$$I_{1a} = 3500 \cdot 60 = 210000 \text{ Eur} \quad (4.17)$$

$$I_{1b} = 0,21 \cdot 210000 = 44100 \text{ Eur} \quad (4.18)$$

$$I_{1D} = 210000 + 44100 = 254100 \text{ Eur} \quad (4.19)$$

Sunaudojamos želatinos kiekis yra 0,0002 t/m<sup>2</sup>, kaina ~1500 Eur/t.

$$K = 0,002 \cdot 10000000 = 20000 \text{ t} \quad (4.20)$$

$$I_{1a} = 17800 \cdot 60 = 1068000 \text{ Eur} \quad (4.21)$$

$$I_{1b} = 0,21 \cdot 1068000 = 224280 \text{ Eur} \quad (4.22)$$

$$I_{1D} = 1068000 + 224280 = 1292280 \text{ Eur} \quad (4.23)$$

$$I_1 = 103576 + 1694000 + 3517470 + 254100 + 1292280 = 5336826 \text{ Eur} \quad (4.24)$$

Distiliuoto vandens kiekis nėra vertinamas, dėl nedidelės paruošimo kainos.

## 4.2. Išlaidos elektros energijai

Pasirinktas elektros energijos tarifas – 0,07 Eur/kWh. Elektros energijos išlaidos apskaičiuojamos: „Nanospider“ elektrinio verpimo įrenginiui, magnetinėms maišyklėms, mikroskopui.

**11 lentelė.** Elektros energijos sąnaudos

Įrenginys	Kiekis, vnt	Kaina, Eur	Galia, kW	Veikimo laikas per parą, val.	Veikimo laikas per metus, val.	Sunaudotas elektros energijos kiekis per parą, kWh	Sunaudotas elektros energijos kiekis per metus, kWh
Magnetinė maišyklė	3	1815	7.2	24	8760	172.8	63072
Elektrinio verpimo mašina	1	17000	5	24	8760	120	43800
Elektroninis skenuojantis mikroskopas	1	135000	6.4	5	1825	32	11680
						<b>Iš viso :</b>	118552

1) Vienos magnetinės maišyklės galia – 2,4 kW. Įvertina tai, kad procese yra naudojamos trys maišyklės. Pagal tai apskaičiuojamos elektros išlaidos:

$$I_{2B} = 172,8 \cdot 365 \cdot 0,07 = 4415 \text{ Eur} \quad (4.25)$$

2) Elektrinio verpimo įrenginio „Nanospider“ galia – 5 kW.

$$I_{2B} = 120 \cdot 365 \cdot 0,07 = 3066 \text{ Eur} \quad (4.26)$$

3) Elektroninio skenuojančio mikroskopo – 6,4 kW. Pagal tai apskaičiuojamos elektros išlaidos:

$$I_{2c} = 32 \cdot 365 \cdot 0,07 = 818 \text{ Eur} \quad (4.27)$$

Bendros išlaidos elektros energijai:

$$I_2 = 4415 + 3066 + 818 = 8299 \text{ Eur} \quad (4.28)$$

### 4.3. Darbuotojų atlyginimas

Laboratorijoje turėtų dirbti bent šeši laborantai, du laboratorijos technikai, ir laboratorijos vadovas. 2021 metų duomenimis vidutinis „neto“ atlyginimas Lietuvoje – 1566,4 Eur, tad darbo vietos kaina darbdaviui bus – 1594,12 Eur .

$$I_3 = 9 \cdot 1594,12 \cdot 12 = 172165 \text{ Eur} \quad (4.29)$$

### 4.4. Nusidėvėjimo išlaidos

Nusidėvėjimo išlaidos įvertinamos atsižvelgiant į įrenginių kainą.

- Magnetinės maišyklės kaina: 605 Eur. Naudojamos trys maišyklės.
- Elektrinio verpimo įrenginio kaina: 170000 Eur. Naudojamas vienas elektrinio verpimo įrenginys.
- Skenuojančio elektroninio mikroskopo kaina: 135000 Eur. Laboratorijoje naudojamas vienas SEM mikroskopas.

$$I_4 = (3 \cdot 605 + 170000 + 135000) \cdot 0,05 = 15341 \text{ Eur} \quad (4.30)$$

Turėdami nusidėvėjimo išlaidų sumą ( $I_4$ ), suma yra padalinama pagal LR Pelno mokesčio įstatyme pateiktus nusidėvėjimo metus. Pateiktas normatyvas įrenginiams metais: 8 [47].

$$I_4 = \frac{15341}{8} = 1918 \text{ Eur} \quad (4.31)$$

### 4.5. Kitos išlaidos

Įvertinamos įrenginių eksploatacijos ir remonto išlaidos, apskaičiuojant 10% nuo visų išlaidų.

$$I_5 = \frac{5519208 \cdot 10}{100} = 551921 \text{ Eur} \quad (4.32)$$

### 4.6. Eksploatacinių kaštų savikaina

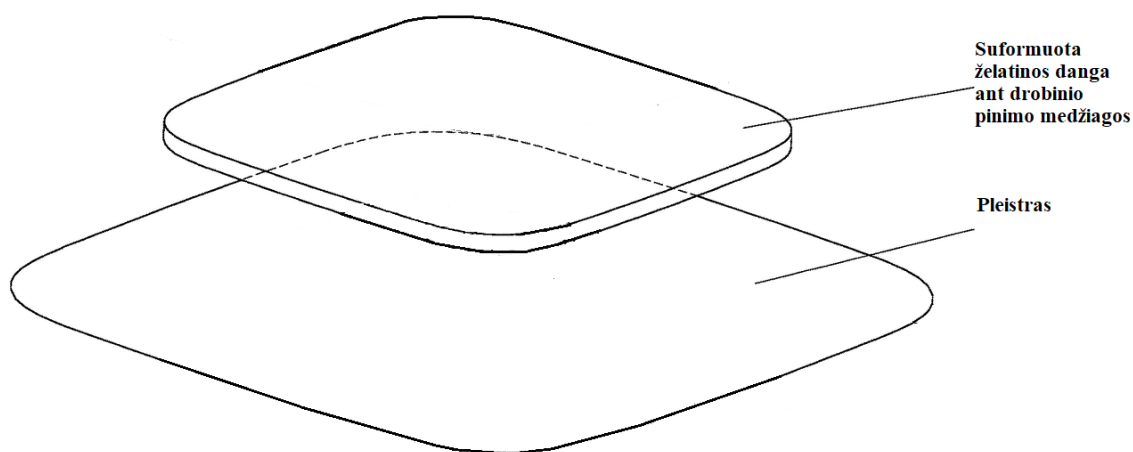
Būtinosis sąnaudos apskaičiuojamos:

$$I = 11739 + 109424 + 49775 + 1437 + 17237 + 2081 = 191693 \text{ Eur} \quad (4.33)$$

Eksploatacinių kaštų savikaina:

$$S = \frac{191693}{693792} = 0,6 \text{ Eur/m}^2 \quad (4.34)$$

Įvertinus eksploatacinius kaštus nustatyta, kad pagaminti vieną kvadratinį metrą medžiagos kainuos ~0,6 Eur. Suformuota želatinos danga bus parduodama tolimesniems gamybos procesams, vienas iš pavyzdžių – pleistrų gamyba su bioaktyviu želatinos sluoksniu (žr. 25 pav.).



**25 pav.** Suformuota želatinos danga

#### **4.7. Darnus vystymasis**

Darnaus vystymosi koncepcija siekia, kad dabartinės visuomenės poreikiai būtų patenkinti, nesumažinant galimybių ateities kartoms, taip užtikrinant aukštą gyvenimo kokybę tiek dabartinei, tiek ir ateities kartai [48]. Trys pagrindiniai elementai, kurie Jungtinių Tautų Organizacijos dokumentuose yra tarpusavyje susiję, papildantys vienas kitą ir užtikrinantys darnų vystymąsi yra: ekonominis vystymasis, socialinė gerovė ir aplinkosauga.

Efektyvus šalutinių produktų, t. y. atliekų panaudojimas turi tiesioginės įtakos šalies ekonomikai bei aplinkos taršai. Dėl šalutinių produktų nenaudojimo arba nepakankamo panaudojimo, ne tik yra prarandamos potencialios pajamos, bet taip pat ir padidinamos produktų šalinimo išlaidos. Vienas iš pavyzdžių – netinkamas šalutinių gyvūninių produktų panaudojimas. Be taršos ir pavojaus aspektų, daugeliu atvejų mėsos, paukštienos ir žuvies perdirbimo atliekos gali būti perdirbamos arba paverčiamos į naudingus produktus. Pastaraisiais metais didelio dėmesio sulaukė naminių paukščių odos ir kaulų atliekų panaudojimas pridėtinės vertės produktams gaminti. Pavyzdžiui, paukščių oda ir kaulai yra atliekos, kurios gali būti paverstos pridėtinės vertės produktu, kaip želatina. Šio tipo želatina gali būti naudojama vietoje želatinos, pagamintos iš kiaulių. Šiame darbe atsižvelgiant į išteklių tausojimą pasirinkta kurti dangą, kurios pagrindinė medžiaga želatina – išgauta iš gyvūninės kilmės atliekų, anatominių jaučio dalių.

## Išvados

1. Ištirta galimybė panaudoti želatiną (kolageninių baltymų kiekis 71,5%), gautą iš ekologiškai augintų jaučių atliekų, medicininės tvarsliaivos dangai elektrinio verpimo būdu formuoti:
  - nustatyta, kad želatina neformuoja gijų, o tik lašelius, todėl buvo pasirinkta jais padengti elektrinio verpimo būdu suformuotų biosuderinamų polimerų – polivinilpirolidono (PVP) ir polivinilbutiralo (PVB) – nano-mikrogijų paviršius;
  - dangų antioksidacinio aktyvumo padidinimui į polimerų arba (ir) želatinos tirpalus buvo įmaišyta kaulažolės (*Symphytum officinale*) šaknų ekstraktas.
2. Nustatyta, kad elektrinio verpimo metu naudota įtampa turi įtakos polivinilpirolidono ir polivinilbutiralo nano-mikrogijų ir želatinos lašelių dydžiui. Tačiau kitimo pobūdis priklauso nuo naudotos kompozicijos:
  - padidinus įtampą nuo 35 kV iki 45 kV PVB gijų skersmuo padidėjo ~30%, o želatinos lašelių ~13%.
  - jei įtampos kitimas nuo 40 kV iki 50 kV neturi įtakos PVP gijų skersmeniui, tai želatinos lašelių skersmuo padidėja beveik 2 kartus.
3. Ištirta kaulažolės šaknų ekstrakto įtaka PVB ir PVP dangų morfologijai. Nustatyta, kad jei ant PVP ir PVB gijų želatinos lašeliai pasiskirsto retai ir nevienodai, esant dideliame skersmens verčių dispersiškumui, tai į polimerų kompozicijas ar želatiną įmaišius 1-2% kaulažolės ant PVP ir PVB gijų suformuoja ištisinės dangos, sudarytos iš didelio kiekio praktiškai vienodo skersmens želatinos lašelių.
4. Citotoksiškumo tyrimai tiesioginio kontakto būdu parodė, kad želatina turi mažą citotoksiškumą – po 24 h inkubacijos ląstelių gyvybingumas siekė > 70%, t. y. 91%.
5. Atlikus rinkos analizę ir įvertinus eksploatacinius kaštus – medžiagų kainą, įrenginių nusidėvėjimą ir darbuotojų darbo vietą – nustatyta, kad suformuoti 1 m<sup>2</sup> ploto PVB arba PVP ir želatinos su kaulažole dangos kainuos 0,6 Eur

## Literatūros sąrašas

1. AZIMI, B., et al. Bio-Based Electrospun Fibers for Wound Healing. *Journal of Functional Biomaterials*, 2020, vol. 11, no. 3. pp. 67.
2. WEISER, T.G., et al. Size and Distribution of the Global Volume of Surgery in 2012. *Bulletin of the World Health Organization*, 2016, vol. 94, no. 3. pp. 201.
3. DONG, Y., et al. Electrospun Nanofibrous Materials for Wound Healing. *Advanced Fiber Materials*, 2020, vol. 2, no. 4. pp. 212-227.
4. DHIVYA, S., PADMA, V.V. and SANTHINI, E. Wound Dressings—a Review. *BioMedicine*, 2015, vol. 5, no. 4. pp. 1-5.
5. LORENZ, H.P. and LONGAKER, M.T. Essential practice of surgery Springer, 2003 *Wounds: Biology, Pathology, and Management*, pp. 77-88.
6. ENOCH, S. and LEAPER, D.J. Basic Science of Wound Healing. *Surgery (Oxford)*, 2008, vol. 26, no. 2. pp. 31-37.
7. RIMDEIKA, R. Žaizdų Gijimo Patologinė Fiziologija. *Lietuvos Chirurgija*, 2003, vol. 1, no. 1.
8. BUIVYDIENĖ, D. *Pluoštinių Medžiagų Formavimas Lydalo Elektroverpimo Metodu Ir Jų Taikymas Oro Filtravimui: Daktaro Disertacijos Santrauka*. Kaunas: Kauno technologijos universitetas. Prieiga per eLABa – nacionalinė Lietuvos akademinė elektroninė biblioteka, 2020.
9. ADOMAVIČIŪTĖ E., R.M. *Polimerinių Nanogijų Gamybos Būdai Ir Įrenginiai*. . Kaunas: Technologija: , 2012 ISBN ISBN 978-609-02-0544-0.
10. ADOMAVIČIŪTĖ, E., et al. Formation and Biopharmaceutical Characterization of Electrospun PVP Mats with Propolis and Silver Nanoparticles for Fast Releasing Wound Dressing. *BioMed Research International*, 2016, vol. 2016. pp. 4648287-11 ISSN 2314-6133. DOI 10.1155/2016/4648287.
11. LIN, T., LUKAŠ, D. and BHAT, G.S. No Title. *Nanofiber Manufacture, Properties, and Applications*, 2013.
12. YENER, F. and JIRSÁK, O. Comparison between the Needle and Roller Electrospinning of Polyvinylbutyral. *Journal of Nanomaterials*, 2012, vol. 2012.
13. CAN-HERRERA, L.A., et al. Morphological and Mechanical Properties of Electrospun Polycaprolactone Scaffolds: Effect of Applied Voltage. *Polymers*, Feb 23, 2021, vol. 13, no. 4. pp. 662. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33672211> PubMed. ISSN 2073-4360. DOI 10.3390/polym13040662.
14. NASOURI, K., HAJI, A., SHOUSHARI, A.M. and KAFLOU, A. No Title. *A Novel Study of Electrospun Nanofibers Morphology as a Function of Polymer Solution Properties*, 2013.
15. TARUS, B., FADEL, N., AL-OUFY, A. and EL-MESSIRY, M. Effect of Polymer Concentration on the Morphology and Mechanical Characteristics of Electrospun Cellulose Acetate and Poly (Vinyl Chloride) Nanofiber Mats. *Alexandria Engineering Journal*, 2016, vol. 55, no. 3. pp. 2975-2984. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110016816300813> ISSN 1110-0168. DOI <https://doi.org/10.1016/j.aej.2016.04.025>.

16. MATUSEVICIUTE, A., BUTKIENE, A., STANYS, S. and ADOMAVICIUTE, E. Formation of PVA Nanofibres with Iodine by Electrospinning. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 2012. pp. 21-25.
17. TAN, S., INAI, R., KOTAKI, M. and RAMAKRISHNA, S. Systematic Parameter Study for Ultra-Fine Fiber Fabrication Via Electrospinning Process. *Polymer*, 2005, vol. 46, no. 16. pp. 6128-6134.
18. GUO, Y., HE, W. and LIU, J. Electrospinning Polyethylene Terephthalate/SiO<sub>2</sub> Nanofiber Composite Needle Felt for Enhanced Filtration Performance. *Journal of Applied Polymer Science*, 2020, vol. 137, no. 2. pp. 48282.
19. YUAN, X., ZHANG, Y., DONG, C. and SHENG, J. Morphology of Ultrafine Polysulfone Fibers Prepared by Electrospinning. *Polymer International*, 2004, vol. 53, no. 11. pp. 1704-1710.
20. MIT-UPPATHAM, C., NITHITANAKUL, M. and SUPAPHOL, P. Ultrafine Electrospun Polyamide-6 Fibers: Effect of Solution Conditions on Morphology and Average Fiber Diameter. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2004, vol. 205, no. 17. pp. 2327-2338.
21. LIU, H., et al. Recent Advances in Electrospun Sustainable Composites for Biomedical, Environmental, Energy, and Packaging Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 11. pp. 4019.
22. FASHANDI, H. and KARIMI, M. Characterization of Porosity of Polystyrene Fibers Electrospun at Humid Atmosphere. *Thermochimica Acta*, 2012, vol. 547. pp. 38-46. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040603112003917> ISSN 0040-6031. DOI <https://doi.org/10.1016/j.tca.2012.08.003>.
23. *Electrospinning Polymers*. Available from: [https://www.electrospinning.com/Spinnable\\_Polymers.html](https://www.electrospinning.com/Spinnable_Polymers.html).
24. MOHAMMADZADEHMOGHADAM, S., et al. Nano-size Polymers Springer, 2016 *Electrospinning: Current Status and Future Trends*, pp. 89-154.
25. KUMBAR, S., LAURENCIN, C. and DENG, M. *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*. Newnes, 2014.
26. FRANCO, P. and DE MARCO, I. The use of Poly (N-Vinyl Pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review. *Polymers*, 2020, vol. 12, no. 5. pp. 1114.
27. RASEKH, M., et al. Electrospun PVP–indomethacin Constituents for Transdermal Dressings and Drug Delivery Devices. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, vol. 473, no. 1-2. pp. 95-104.
28. VAIČKUTĖ, R. No Title. *The Formation and Analysis of Electrospun PVP Materials with Silver Nanoparticles*, 2020.



29. LIU, X., ZHENG, S., DAN, W. and DAN, N. Ultrasound-Mediated Preparation and Evaluation of a Collagen/PVP-PCL Micro-and Nanofiber Scaffold Electrospun from Chloroform/Ethanol Mixture. *Fibers and Polymers*, 2016, vol. 17, no. 8. pp. 1186-1197.
30. FLECK, C.A. and SIMMAN, R. Modern Collagen Wound Dressings: Function and Purpose. *The Journal of the American College of Certified Wound Specialists*, 2010, vol. 2, no. 3. pp. 50-54.
31. REILLY, D.M. and LOZANO, J. Skin Collagen through the Lifestages: Importance for Skin Health and Beauty. *Plastic and Aesthetic Research*, 2021, vol. 8.
32. SHOULDERS, M.D. - RAINES, R.T. *Collagen Structure and Stability*. in *Annual Review of Biochemistry* . Available from:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2846778/>.
33. SCHMIDT, M.M., et al. Collagen Extraction Process. *International Food Research Journal*, 2016, vol. 23, no. 3.
34. GRICIŪTĒ, E. No Title. *Kraujagyslių Regeneravimo Konstrukto Gamybos Technologija*, 2021.
35. *The Importance of Gelatin in Pharmaceutical and Medical Applications*. Available from:<https://www.rousselot.com/biomedical/media/blog/testimonials/the-importance-of-gelatin-in-pharmaceutical-and-medical-applications>.
36. AHMADY, A. and SAMAH, N.H.A. A Review: Gelatine as a Bioadhesive Material for Medical and Pharmaceutical Applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 2021. pp. 121037.
37. AHMADI, S., et al. Cinnamon Extract Loaded Electrospun Chitosan/Gelatin Membrane with Antibacterial Activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, vol. 173. pp. 580-590.
38. *Fitokomponentų Įtakos Silikoninio Kaučiuko Kompozito Funkcinėms Ir Fizikinėms Savybėms Įvertinimas* .
39. RAD, Z.P., MOKHTARI, J. and ABBASI, M. Calendula Officinalis Extract/PCL/Zein/Gum Arabic Nanofibrous Bio-Composite Scaffolds Via Suspension, Two-Nozzle and Multilayer Electrospinning for Skin Tissue Engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, vol. 135. pp. 530-543.
40. ADOMAVIČIŪTĒ, E., et al. Formation and Investigation of Electrospun PLA Materials with Propolis Extracts and Silver Nanoparticles for Biomedical Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2017, vol. 2017.
41. Technical Datasheet | Supplied by Kuraray. *Mowital® B 60 T*.
42. *Polyvinylpyrrolidone*. Available from:<https://www.sigmaaldrich.com/LT/en/product/ALDRICH/437190#>.
43. *Electrospinning Equipment Available at Polymer Science* . , 2020 Available from:<http://academic.sun.ac.za/polymer/electrospinning.html>.
44. VENKATARAMAN, M., et al. Preparation of Electrospayed, Microporous Particle Filled Layers. *Polymers*, 2020, vol. 12, no. 6. pp. 1352.

45. IX-675 Lietuvos Respublikos Pelno Mokesčio Įstatymas. Available from:<https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.157066/asr>.
46. BAKAR, S., FONG, K.C., ELEYAS, A. and NAZERI, M. *Effect of Voltage and Flow Rate Electrospinning Parameters on Polyacrylonitrile Electrospun Fibers*. IOP Publishing, 2018.
47. Lietuvos Respublikos Pelno Mokesčio Įstatymas. Available from:<https://www.e-tar.lt/portal/legalAct.html?documentId=TAR.A5ACBDA529A9>.
48. SINKEVIČIŪTĖ, J. *Vandens Paruošimo Sistemos Pieno Pramonės Įmonei Projektavimas: Bakalauro Darbas*. Kaunas: Kauno technologijos universitetas. Prieiga per eLABa – nacionalinė Lietuvos akademinė elektroninė biblioteka, 2020.