



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
MECHANIKOS INŽINERIJOS IR DIZAINO FAKULTETAS
MEDŽIAGŲ INŽINERIJOS KATEDRA

Evaldas Bolskis

**ELEKTRINIO VERPIMO BŪDU FORMUOJAMŲ NEAUSTINIŲ
MEDŽIAGŲ SU BIOMEDICININĖS PASKIRTIES FUNKCINĖMIS
DALELĖMIS FORMAVIMAS IR TYRIMAS**

Magistro projektas

Darbo vadovė: lekt. dr. Erika Adomavičiūtė

KAUNAS, 2017

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
KAUNO MECHANIKOS INŽINERIJOS IR DIZAINO FAKULTETAS
MEDŽIAGŲ INŽINERIJOS KATEDRA

**ELEKTRINIO VERPIMO BŪDU FORMUOJAMŲ NEAUSTINIŲ
MEDŽIAGŲ SU BIOMEDICININĖS PASKIRTIES FUNKCINĖMIS
DALELĖMIS FORMAVIMAS IR TYRIMAS**

Magistro projektas
Plastikų inžinerija (kodas 621J40001)

Vadovas
lekt. dr. Erika Adomavičiūtė

Recenzentas
Prof. dr. Sigitas Stanys

Projektą atliko
Evaldas Bolskis

KAUNAS, 2017

Bolskis, Evaldas. Elektrinio verpimo būdu formuojamų neaustinių medžiagų su biomedicininės paskirties funkcinėmis dalelėmis formavimas ir tyrimas. Magistro baigiamasis projektas / Vadovas lekt. dr. Erika Adomavičiūtė; Kauno technologijos universitetas, Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: Technologijos mokslas, Plastikų inžinerijos sritis

Reikšminiai žodžiai: *Elektrinis verpimas, neaustinė medžiaga, nano-mikrogijos, hidroksiapatito dalelės, sidabro dalelės.*

Kaunas, 2017. 67 p.

SANTRAUKA

Elektrinio verpimo metodas naudojamas formuojant neaustines medžiagas iš nano-mikrogijų naudojant įvairias polimerines medžiagas bei lydalus. Šio proceso metu iš polimerinio tirpalo, elektrostatinių jėgų pagalba, yra suformuojama neaustinė medžiaga iš nano-mikrogijų. Suformuota neaustinė medžiaga iš nano-mikrogijų pasižymi dideliu savituoju paviršiaus plotu bei poringumu. Būtent dėl pastarųjų savybių neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu itin plačiai naudojamos medicinoje, kaip tvarsliaiva žaizdų gijimui, audinių inžinerijoje (karkasai ląstelėms auginti) bei kaip vaistų perdavimo sistemos.

Šio darbo tikslas elektrinio verpimo būdu suformuoti neaustinę medžiagą su biomedicininės paskirties funkcinėmis (hidroksiapatito (HAp) ir sidabro (AgNd) dalelėmis) ir ištirti suformuotos neaustinės medžiagos struktūrą ir savybes.

Tyrimo objektas – metilmetakrilato ir metakrilo rūgšties (2:1) (MMA/MA) kopolimeras – yra hidrofobiškas, biomedicininės paskirties, bioskaidus polimeras, ir poliviniloalkoholio polimeras – hidrofiliškas, biomedicininės paskirties, vandenyje tirpus polimeras.

Tyrimų metu buvo nustatyta HAp dalelių paruošimo būdo įtaka formuojamos PVA neaustinės medžiagos nano-mikrogijų skersmeniui. Optimaliausia MMA/MA tirpalo koncentracija etanolyje yra 5 %, esant tokiai MMA/MA koncentracijai suformuojama neaustinė medžiaga iš MMA/MA nano-mikrogijų (iki 75 %), kurių skersmuo yra iki 200 nm. Funkcinių HAp ir AgNd dalelių įterpimas į MMA/MA polimerinį tirpalą turi įtakos formuojamai neaustinės medžiagos struktūrai ir savybėms. Antimikrobinėmis savybėmis pasižymi neaustinė medžiaga tik su AgNd dalelėmis. Neaustinės medžiagos su funkcinėmis kietosiomis dalelėmis (HAp ir AgNd) pasižymi didesniu vilgumo kampu ir intensyvesniu bioskaidumu, nei neaustinės medžiagos iš gryno MMA/MA polimero.

Bolskis, Evaldas. THE FORMATION AND ANALYSIS OF ELECTROSPUN NONWOVEN MATERIALS WITH BIOMEDICAL FUNCTIONAL PARTICLES: *Master's thesis / supervisor assoc. Lect. Dr. E. Adomavičiūtė / Faculty of Mechanical Engineering and Design , Kaunas University of Technology.*

Research area and field: Technology science, Plastics engineering.

Key words: *electrospinning, non-woven material, nano-microfibers, hydroxyapatite particles, silver particles.*

Kaunas, 2017. 67 p.

SUMMARY

Electrospinning method is used for forming a nonwoven material from nano-microfibers using different polymer solutions or melt. Due to electrostatic forces created during electrospinning process from polymer solution are formed nonwoven material from nano-microfibers. Electrospun nonwoven material from nano-microfibers, have attracted much attention due to unique properties such as high specific surface area, small fibers diameter. Due to those properties these materials are widely used in filtration, catalysis, protective or smart clothing, optical devices, membranes, sensors, for medical purposes as wound healing dressings, tissue engineering (scaffolds for cells), and as a drug delivery system.

The aim of this study is to form and analyse electrospun nonwoven materials from nano – microfibers, with biomedical functional hydroxyapatite(HAp) and silver(AgNp) particles.

The object of investigation – methyl methacrylate and methacrylic acid (2:1) (MMA/MA) copolymer – hydrophobic, biocompatible, biodegradable copolymer and poly(vinyl alcohol) – hydrophilic, biomedical purpose, water-soluble polymer.

During this study was estimated that preparation methods of HAp particles have influence on diameter of electrospun PVA nano-microfibers. The best concentration of MMA/MA polymer in ethanol is 5 %, at this concentration were electrospun fibers with diameter to 200 nm (75 % amount of MMA/MA fibers). Insertion of functional HAp, AgNp particles in MMA/MA solution have influence on electrospun nonwoven material structure and properties. Electrospun nonwoven material with AgNp showed antimicrobial properties. Electrospun nonwoven material with functional HAp and AgNp have higher wetting angle and biodegrade faster than nonwoven material from pure MMA/MA nano-microfibers.

Sutartiniai žymėjimai ir trumpiniai

DCM – dichlormetanas;

DMF – dimetilformaldehidas;

DMSO – dimetilsulfoksidas;

ECM – tarpląstelinis matriksas;

ES – Eudragit S100;

EVOH – etileno ir vinilo alkoholio kopolimeras;

HAp – hidroksiapatitas;

HFIP – heksafluorisopropanolis;

MWNT's – daugiasieniai anglies nanovamzdeliai;

NM – neaustinė medžiaga;

NMMO – N-metilmorfolino oksidas;

PCL – poli(ε – kaprolaktonas);

PDO – polidioksanonas;

PEO – polietilenoksidas;

PEUU – poliesterio uretano karbamidas;

PGA – poliglikolidas;

PHB – polihidroksibutiratas;

PHBV – poli(3- hidroksibutirato valerato) kopolimeras;

PLA – polilaktinė rūgštis;

PLLA-DLA – poli(L,D- laktido) kopolimeras;

PVA – polivinilalkoholis;

PVP – poli(N-vinilpirolidonas);

TFE – trifluoretanolis;

THF – tetrahidrofuranas.

TURINYS

Lentelių sąrašas.....	8
Paveikslų sąrašas.....	9
IVADAS.....	12
LITERATŪROS ANALIZĖ	14
1. Elektrinis verpimo procesas ir suformuotų neaustinių medžiagų panaudojimo sritys	14
2. Biomedicinoje naudojamos nano-mikrogijų neaustinės medžiagos, suformuotos elektrinio verpimo būdu	20
2.1. Polimerai naudojami neaustinių medžiagų formavime elektrinio verpimo būdu.....	20
2.2. Žaizdų gijimui naudojamos nano-mikrogijų neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu.....	23
2.3. Audinių inžinerijoje naudojamos nano-mikrogijų neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu.....	25
2.4. Vaistų tiekimo sistemų kūrimo naudojamos neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu.....	27
2.5. Funkcinių dalelių panaudojimas elektrinio verpimo būdu suformuotose nano-mikrogijų neaustinėse medžiagose.	29
2.5.1. Hidroksiapatitas – panaudojimas elektrinio verpimo būdu formuojamose medžiagose	29
2.5.2. Sidabro kietųjų dalelių panaudojimas elektrinio verpimo būdu formuojamose medžiagose	32
METODINĖ DALIS	35
2.1 Tyrimuose naudotos medžiagos ir jų paruošimo metodai.....	35
2.1.1 Polimerai	35
2.1.2 Kietosios funkcinės dalelės ir jų paruošimo metodika	35
2.2. Polimerinių tirpalų paruošimas	37
2.3. Polimerinio tirpalo klampos nustatymo metodas	38

2.4. Neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų formavimas elektrinio verpimo įrenginiu „Nanospider TM “ metodas	38
2.5. Neaustinių medžiagų iš polimerinių nano-mikrogijų struktūros ir skersmens nustatymas	39
2.6. Antimikrobinių savybių nustatymas	40
2.7. Neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų paviršiaus vilgymo kampo nustatymas	41
2.8. Neaustinės medžiagos skaidumo tyrimas	42
2.9. Duomenų statistinė analizė ir matavimo rezultatų paklaidos dydžio įvertinimas	43
2.10. Dviejų bandymų rezultatų palyginimas	43
TYRIMO REZULTATŲ DALIS	44
3.1 Susintetintų HAp dalelių įtaka neaustinės medžiagos iš PVA nano-mikrogijų struktūrai	44
3.2 Metilmetakrilato ir metakrilinės rūgšties kopolimerinio (2:1) tirpalo koncentracijos įtaka formuojamų (MMA/MA) nano-mikrogijų struktūrai	46
3.3. Sidabro ir HAp nano-mikro dalelių įtaka suformuotų neaustinių medžiagų iš MMA/MA nano-mikrogijų, struktūrai	48
3.4. Neaustinės medžiagos iš (MMA/MA) nano-mikrogijų su sidabro ir HAp priedu antibakterines savybių tyrimas	53
3.5. Sidabro ir HAp nano-mikrodalelių kietųjų dalelių įtaka elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų vilgymo kampui	55
3.6 Sidabro ir HAp nano-mikrodalelių funkcinių kietųjų dalelių įtaka elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų skaidumui	57
IŠVADOS	60
ŠALTINIAI	62

Lentelių sąrašas

1 lentelė. Elektriniame verpime naudojamų biomedicininį medžiagų ir tirpiklių sąrašas	20
2 lentelė. Polimerai naudojami elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų skirtų žaizdų gijimui formavime	24
3 lentelė. Sintetintų HAp dalelių tipai naudoti elektrinio verpimo metu.....	36
4 lentelė. Suformuotų PVA polimerinių tirpalų klampa bei nano-mikrogijų skersmens vidurkis ...	44
5 lentelė. Metilmetakrilato ir metakrilo rūgšties polimerinių tirpalų klampa	46
6 lentelė. Neaustinių medžiagų kompozicinė sudėtis bei gijų skersmuo.....	49
7 lentelė. Neaustinių medžiagų kompozicinė sudėtis bei gijų skersmuo.....	50
8 lentelė. Antimikrobinis neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų poveikis	55
9 lentelė. Neaustinių medžiagų kompozicijos įtaka nano-mikrogijų skersmeniui bei vilgymo kampui	55

Paveikslų sąrašas

1.1 pav. Principinės, naudojant švirkštą, elektrinio verpimo iš polimerinio tirpalo prietaiso schema (A), „Nanospider™“ (Čekija) elektrinio verpimo aparato schema.....	14
1.2 pav. Taylor‘o kūgio formavimosi schema: (A) polimerinio tirpalo paviršiaus krūvis yra indukuojamas veikiant elektriniam laukui; (B) susiformuoja krentantis polimerinis laša; (C) Taylor‘o kūgio formavimasis dėl veikiančių stūmos jėgų tarp krūvių ir polimerinio tirpalo srovelės susiformavimas	15
1.3 pav. Polimerinio tirpalo srovelės formavimasis elektrinio verpimo metu.....	15
1.4 pav. Tirpiklių bei jų mišinių įtaka neaustinių medžiagų iš 10 % PLA nano-mikrogijų struktūrai SEM nuotraukos. Acetono/DMF santykis tirpinant PLA A – 0/100, B – 20/80, C – 40/60, D – 50/50, E – 60/40, F – 80/20, G – 100/0 [9].....	16
1.5 pav. Palyginimas elektrinio verpimo metodu suformuotų gijų skersmens matmenų intervalo su biologinių bei technologinių objektų matmenų intervalais.....	17
1.6 pav. Audinių inžinerijos karkaso struktūros įtaka ląstelių prisijungimui bei plitimui (A ir B) ląstelės prisijungia prie karkaso ir prikimba, taip pasklisdamos didesniu plotu. (C) Karkasas sudarytas iš nanogijų pasižymi didesniu paviršiaus plotu, todėl ląstelėje esantys receptoriai gali sudaryti daugiau ryšių su paviršiuje esančiais baltymais	18
1.7 pav. PHBV neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų, suformuotos elektrinio verpimo būdu, PHBV plėvelės su HAp ir be HAp priedu skaidymas skirtingomis koncentracijomis PHB depolimeraze PBS buferyje	21
1.8 pav. Žaizdų ploto bei išvaizdos kitimas po 1, 2 bei 3-čios savaitės nuo bandymo pradžios. A – kontrolinė grupė, B – naudojama PLGA/kolageno neaustinė medžiaga gijimui, ir C – komercinės paskirties žaizdų gydymo medžiaga. Suformuotu žaizdų dydis 2 cm ×2 cm. Vieta – pelės nugarinėje dalyje	25
1.9 pav. a – Gijų skersmens pasiskirstymas; b – Porų dydžio pasiskirstymas PLDL bei PLDL/ n-HAp neaustinėse medžiagose	32
1.10 pav. a – Įtempių ir deformacijos kreivės pasiskirstymas PLDL bei PLDL/n-HAp neaustinėse medžiagų; b – neaustinių medžiagų atsparumas tempimui; c – SEM mikrografija, kaip n-HAp sudaromų aglomeratų įtaką PLDL gijos paviršiui.....	32
2.1 pav. Magnetinė maišyklė Yellow Line MSH.....	37
2.2 pav. Rotacinis viskozimetras „Brookfield DV II+Pro“	38
2.3 pav. Elektrinio verpimo įrenginio „Nanospider™“ technologinė schema: 1 – aukštos įtampos keitiklis, 2 – lovelis; 3 – polimerinis tirpalas; 4 – apatinis elektrodas; 5 – įžemintas elektrodas;6 – pagrindo medžiagos tiekimo velenėlis; 7 – pagrindo medžiagos vyniojimo velenėlis.....	39
2.4 pav. Emisinio lauko skenuojantis elektroninis mikroskopas (FESEM) Supra 55.....	39
2.5 pav. Skenuojantis elektroninis mikroskopas (SEM) S-3400N (Hitachi).....	40
2.6 pav. Kompiuterinės programos NIS–Elements D 4.50.00 darbinė aplinka	40

2.7 pav. Ant dangos paviršiaus užlašinto kompozicijos lašo paviršiaus įtempčių schema sąlytyje skystis – kietas kūnas	42
2.8. pav. Goniometras Pocket Goniometer PG-2 (Rycobel, Belgija).....	42
2.9 pav. Mikroskopo video sistema RML5	42
3.1 pav. Elektrinio verpimo būdu suformuotos neaustinės medžiagos iš PVA nano-mikrogijų ir 4 skirtingų tipų 5 wt % HAp dalelėmis: A – HAp dalelės (žr. 3 lentelė), B – BHAp dalelės, C – HAp dalelės iškaitintos 1000 °C, D – BHAp dalelės iškaitintos 1000 °C, SEM nuotraukos. Didinimas 30000x, mastelis 400 nm. Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ %, $U = 70$ kV, $l = 13$ cm	45
3.2 pav. PVA nano-mikrogijų skersmens pasiskirstymas, kai polimerinio tirpalo koncentracija $C = 12$ % bei esant skirtingų modifikacijų HAp priedui (HAp dalelių kiekis polimeriniame tirpale 5 wt%), kai įtampa tarp elektrodų $U = 70$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 13$ cm. A – HAp dalelės, B – BHAp dalelės, C – HAp dalelės iškaitintos 1000 °C, D – BHAp dalelės iškaitintos 1000 °C.....	45
3.3 pav. Neaustinės medžiagos suformuotos iš skirtingos koncentracijos MMA/MA, (E – $C = 2,5$ %; F – $C = 5$ %; G – $C = 7,5$ %; H – $C = 10$ %) polimerinių tirpalų, SEM nuotraukos. Didinimas 10000x, mastelis 5 μm skalės (sumažintos nuotraukos - didinimas 500x, mastelis 100 μm skalės), kai $U = 50$ kV, $l = 14$ cm. Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ % ..	47
3.4 pav. MMA/MA nano-mikrogijų skersmens santykinis pasiskirstymas, kai įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. Skirtingos koncentracijos MMA/MA (F – $C = 5$ %; G – $C = 7,5$ %; H – $C = 10$ %) polimeriniai tirpalai.	48
3.5 pav. Neaustinės medžiagos suformuotos iš 5 % (MMA/MA) ir skirtingo HAp dispergavimo laiko priedo tirpalų, SEM nuotraukos. J – 5 % HAp priedu disperguotu 3 min., K – 5 % HAp priedu disperguotu 30 min., L – 5 % HAp priedu disperguotu 180min.). Didinimas 10000x, mastelis 5 μm skalės, kai $U = 50$ kV, $l = 14$ cm, Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ % ..	49
3.6 pav. MMA/MA nano-mikrogijų skersmens santykinis pasiskirstymas, kai polimerinio tirpalo koncentracija $C = 5$ %, naudojant skirtingų dispergavimo trukmių HAp daleles. Įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. J – 5 % HAp priedu disperguotu 3 min., K – 5 % HAp priedu disperguotu 30 min., L – 5 % HAp priedu disperguotu 180 min.	50
3.7 pav. Elektrinio verpimo būdu formuotos neaustinės medžiagos iš MMA/MA ir skirtingų kietųjų nano-mikrodalelių nano-mikrogijų SEM nuotraukos. Didinimas 1000x, mastelis 50 μm skalės F – gryna MMA/MA neaustinė medžiaga, L – 5 % HAp priedu, M – 5 % HAp ir 5 % AgNd(PVP) ir N – 5 % HAp ir 5 % AgNd (paruoštos chloroforme). Įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ % ..	51
3.8 pav. MMA/MA nano-mikrogijų skersmens santykinis pasiskirstymas, kai polimerinio tirpalo koncentracija $C = 12$ %, naudojant skirtingų kietųjų nano-mikrodalelių priedus. Įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. F – (MMA/MA), L – (MMA/MA)/5 % HAp, M – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % AgNd (PVP), L – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % Ag (Chlor.).....	52
3.9 pav. Neausinės medžiagos iš MMA/MA nanomikrogijų su AgNd (PVP) priedu sudarytos lizės zonos prieš skirtingus mikroorganizmų rūšis. F – (MMA/MA), L – (MMA/MA)/5 % HAp, M – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % AgNd (PVP), N – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % Ag (Chlor.) ...	54

3.10 pav. Fiziologinio tirpalo kontakto kampai su neaustine medžiaga. Neaustinės medžiagos sudarytos iš: F – 5% MMA/MA; J – 5% MMA/MA ir 5% HAp (dalelės disperguotos 3 minutes); K – 5% MMA/MA ir 5% HAp (dalelės disperguotos 30 minučių); L – 5% MMA/MA ir 5% HAp (dalelės disperguotos 180 min.)..... 56

3.11 pav. Skirtingų kompozicijų neaustinių medžiagų iš MMA/MA nano-mikrogijų skaidumas PBS tirpale..... 58

ĮVADAS

Elektrinio verpimo metodas yra vienas iš geriausiai išplėtotų, pripažintų bei efektyviausių metodų, kurio metu formuojamos neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų naudojant įvairias polimerines medžiagas bei lydalus. Elektrinio verpimo būdu yra suformuojama neaustinė medžiaga, kurią gali sudaryti tiek nanogijos (iki 0,5 μm skersmens), tiek mikrogijos (0,5 – 1,5 μm skersmens). Šio proceso metu iš polimerinio tirpalo, elektrostatinių jėgų pagalba, yra suformuojama neaustinė medžiaga iš nano-mikrogijų. Suformuota neaustinė medžiaga pasižymi dideliu savituoju paviršiaus plotu bei poringumu. Būtent dėl pastarųjų savybių neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu itin plačiai naudojamos medicinoje, kaip tvarsliaiva žaizdų gijimui, audinių inžinerijoje (karkasai ląstelėms auginti) bei kaip vaistų perdavimo sistemos. Itin plačiai neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų formavime naudojami sintetiniai, bioskaidūs polimerai.

Įterpus kietąsias funkcines daleles į neaustines medžiagas, jai galima suteikti pageidaujamų savybių, tokių kaip optinių, elektrinių, katalitinių, biocheminių ir t. t. Tam gali būti panaudotos tiek biokeramikos oksidų nanodalelės: SiO_2 , SnO_2 , GeO_2 ir t. t., tiek ir metalų oksidų: Al_2O_3 , CuO ir t. t., ar bioaktyvūs junginiai: baltymai, antibiotikai ir t. t.

Hidroksiapatitas HAp tai neorganinė natūralaus kaulo dalis, plačiai tiriamas kaip kaulų matricos armatūrinis komponentas, kuris gali pagreitinti kaulų formavimąsi. HAp milteliai, naudojami gydant kaulų defektus, tačiau pavienės HAp dalelės gali lengvai migruoti iš implantavimo vietų, todėl naujų kompozitų su HAp dalelėmis ir bioskaidžiais polimerais tyrimai yra labai svarbūs. Sidabro nano-mikrodalelės (AgNd) bei sidabro junginiai yra plačiai naudojami biomedicinos srityje, žaizdų tvarstymo medžiagose, audinių inžinerijoje, antibakteriniuose prepartuose. Viena iš sidabro naudojimo priežasčių kartu su HAp kietosiomis dalelėmis gali būti ta, kad implantavus neaustinę medžiagą atsiranda mikrobinės infekcijos rizika, to pasekoje naudojant neaustinę medžiagą su AgNd galima užkirsti tam kelią.

Darbo tikslas – elektrinio verpimo būdu suformuoti biomedicininės paskirties neaustines medžiagas su HAp bei sidabro dalelių priedu ir nustatyti suformuotos neaustinės medžiagos struktūrą ir savybes.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti skirtingų modifikacijų hidroksiapatito (HAp) dalelių įtaką elektrinio verpimo būdu formuojamų neaustinių medžiagų struktūrai;

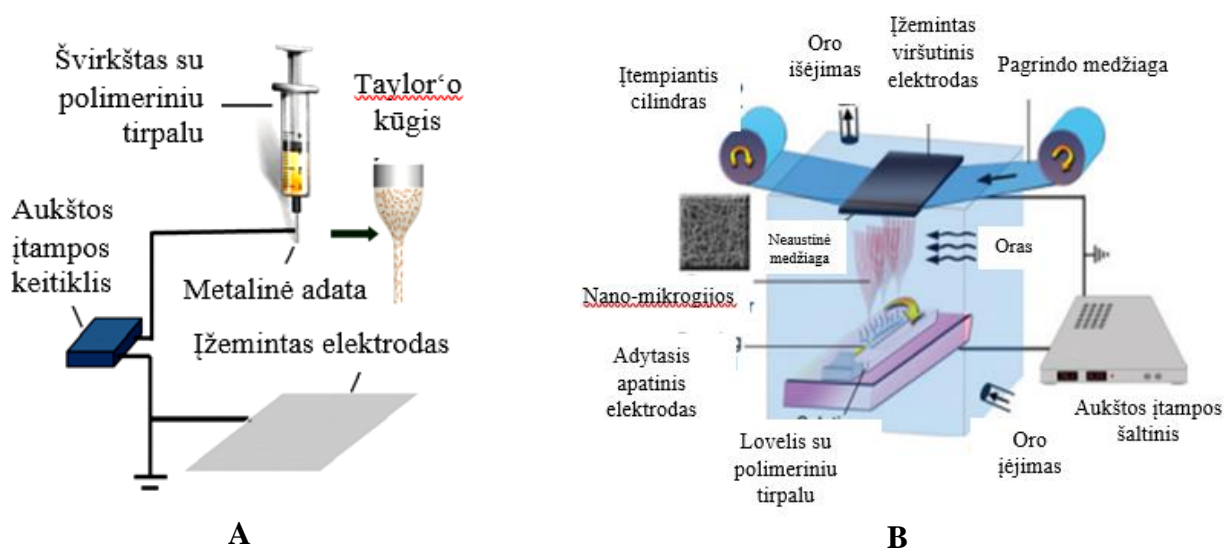
2. Ištirti metilmetakrilato ir metakrilinės rūgšties kopolimerinio (2:1) tirpalo koncentracijos įtaka elektrinio verpimo būdu suformuotų (MMA/MA) neaustinių medžiagų struktūrai;
3. Nustatyti sidabro (Ag) ir HAp nano-mikrodalelių įtaką suformuotai (MMA/MA) neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų struktūrai ir gijų skersmeniui;
4. Nustatyti neaustinės medžiagos iš (MMA/MA) nano-mikrogijų su HAp ir Ag priedu antimikrobines savybes;
5. Ištirti HAp ir Ag nano-mikrodalelių priedo įtaką neaustinės medžiagos iš (MMA/MA) nano-mikrogijų paviršiaus vilgymui.
6. Ištirti suformuotų neaustinių medžiagų iš (MMA/MA) nano-mikrogijų su HAp bei Ag priedu skaidumą;

LITERATŪROS ANALIZĖ

1. Elektrinis verpimo procesas ir suformuotų neaustinių medžiagų panaudojimo sritys

Praėjo daugiau nei šimtmetis, kai buvo pirmą kartą aprašytos elektrinio verpimo būdu suformuotos neaustinės medžiagos. Šiandien kai kurios pramonės šakos šias medžiagas naudoja oro ir vandens filtrų, vaistų pernašos sistemų, elektronikos, kariuomenės apsauginių drabužių, jutiklių bei katalizatorių gamyboje [1;2]. Taip pat audinių inžinerijoje bei regeneracinėje medicinoje [3].

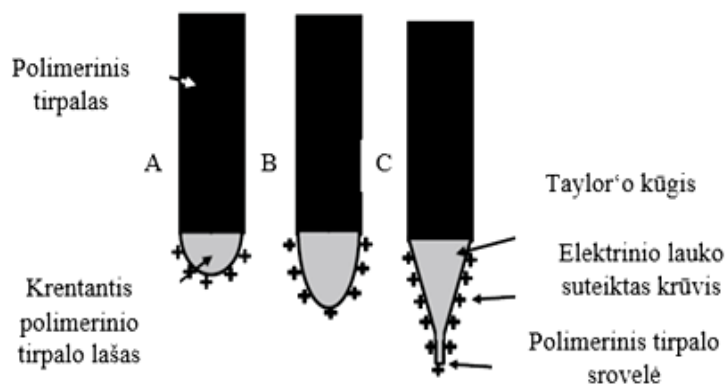
Yra žinoma keletas nano-mikrogijų gamybos metodų tokių kaip fazijų atskyrimo, tempimo, cheminis, taip pat didelio tikslumo reikalaujantys nanolitografijos bei savitvarkos metodai. Tačiau šių metodų taikymas yra ribotas dėl reikalingų medžiagų rūšies pasirinkimo bei metodo savikainos [4].



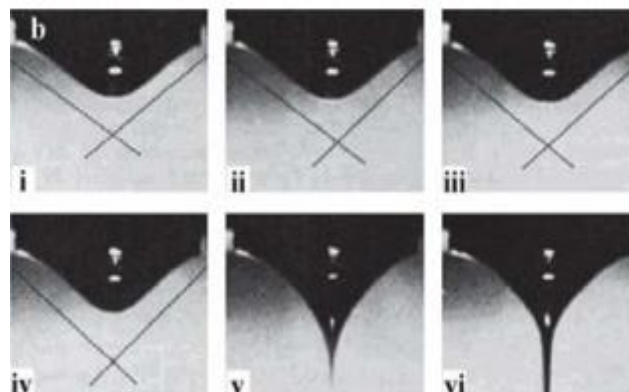
1.1 pav. Principinės, naudojant švirkštą, elektrinio verpimo iš polimerinio tirpalo prietaiso schema (A), „NanospiderTM“ (Čekija) elektrinio verpimo aparato schema (B) [5;6]

Elektrostatinis verpimas arba kitaip, elektrinis verpimas, tai būdas, kai neaustinė medžiaga yra suformuojama iš polimerinio tirpalo arba lydalo. Šis metodas yra pigus, pasižymi plačiu neaustinių medžiagų formavimui reikalingų polimerų pasirinkimu bei dideliu gamybos našumu [4]. Elektrinio verpimo būdu iš polimerinio tirpalo elektrostatių jėgų pagalba yra suformuojama neaustinė medžiaga, kurią gali sudaryti tiek nanogijos (iki 0,5 μm skersmens), tiek mikrogijos (0,5 – 1,5 μm skersmens) [7]. Įprastai elektrinio verpimo įrenginį sudaro švirkštas su polimeriniu tirpalu prie kurio prijungtas aukštos įtampos keitiklis, pagrindo medžiaga padengtas ižemintas elektrodas (1.1 pav. A). Ižemintas elektrodas gali būti metalinė plokštė, tam tikro skersmens besisukantis velenėlis, metalinis tinklelis, metalinė plokštė padengta tekstilės medžiaga, folija.

Tokio tipo laboratoriniais elektrinio verpimo įrenginiais galima suformuoti tik nedidelį kiekį neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų. Didesnį kiekį neaustinės medžiagos galima suformuoti įrenginiu, kurio principinė schema pateikta 1.1 B paveiksle. Svarbiausios šio elektrinio verpimo įrenginio dalys yra trys: aukštos įtampos keitiklis; apatinis elektrodas (adytasis) bei įžemintas elektrodas [8]. Didinant įtampą tarp elektrodų (švirkšto ir įžemintos plokštės (žr. 1.1 pav. A) ar adatyto velenėlio ir įžeminto elektrodo (žr. 1.1 pav. B) sukuriamas elektrinis laukas. Esant stipriam elektriniam laukui polimeriniame tirpale indukuojasi elektros krūviai. Kai elektrinis lauko stipris didėja, polimerinio tirpalo paviršiuje atsiranda stūmos jėgos, nukreiptos priešinga kryptimi nei polimerinio tirpalo paviršiaus įtempis. Būtent dėl šių jėgų polimerinio tirpalo lašelis įgauna kūgio formą, dar vadinamo Taylor'o kūgiu (1.2 pav.). Kai tik susidariusios elektrostatinės jėgos yra didesnės už polimerinio tirpalo paviršiaus įtempį, suformuojama polimerinio tirpalo srovelė (1.3 pav.). Ji judėdama link surinkimo plokštelės tįsta, plonėja, tirpiklis garuoja bei srovelė stingsta, t. y. suformuojama nano-mikrogija [7].



1.2 pav. Taylor'o kūgio formavimosi schema: (A) polimerinio tirpalo paviršiaus krūvis yra indukuojamas veikiant elektriniam laukui; (B) susiformuoja krentantis polimerinis lašas; (C) Taylor'o kūgio formavimasis dėl veikiančių stūmos jėgų tarp krūvių ir polimerinio tirpalo srovelės susiformavimas [9].



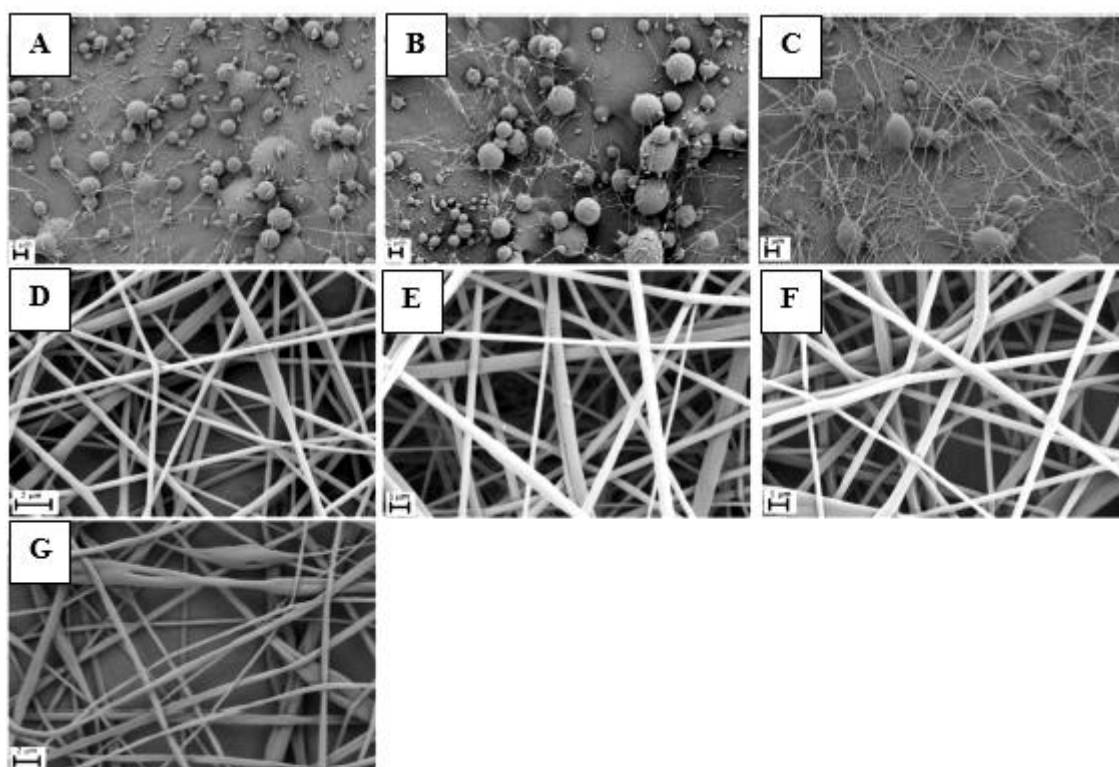
1.3 pav. Polimerinio tirpalo srovelės formavimasis elektrinio verpimo metu [10].

Elektrinio verpimo būdu formuojamoms gijoms, tai yra jų diametrai bei morfologijai, turi įtakos trys parametru grupės:

➤ *Polimerinio tirpalo savybės:*

a) polimero rūšis – daugumoje mokslinių straipsnių minima aukštos molekulinės masės polimerų įtaka medžiagos formavimui, tačiau neseniai atliktuose tyrimuose, M. G. McKee'as su kolegomis [11] aprašė, kad gijų formavimui yra svarbu pakankamos tarpmolekulinės sąveikos tarp polimero makromolekulių buvimas;

b) tirpiklio rūšis – nuo tirpiklio savybių priklauso polimerinio tirpalo savybės: paviršiaus įtempis, elektrinis laidumas, klampa, tirpiklio lakumas. Pagrindiniai reikalavimai renkantis tirpiklį: jis turi tirpinti polimerą, susidarantis tirpalas turi būti reikiamos klamos bei didžioji dalis tirpiklio turi išgaruoti prieš nano-mikrogijai patenkant ant surinkėjo paviršiaus [12]. R. Casacola su bendraautoriais [9] nagrinėjo acetono ir DMF tirpiklių bei jų mišinių įtaka elektrinio verpimo būdu suformuotų gijų struktūrai. Iš SEM nuotraukų pateiktų 1.4 paveiksle matyti, kad nuo tirpiklio arba tirpiklių mišinio priklauso neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų struktūra. Naudojant gryną DMF, PLA nano-mikrogijų formavimui, nėra suformuojama kokybiška neaustinė medžiaga. Kokybišką neaustinę medžiagą iš nano-mikrogijų galima suformuoti, kai tirpiklį sudaro 50/50 acetonas/DMF.



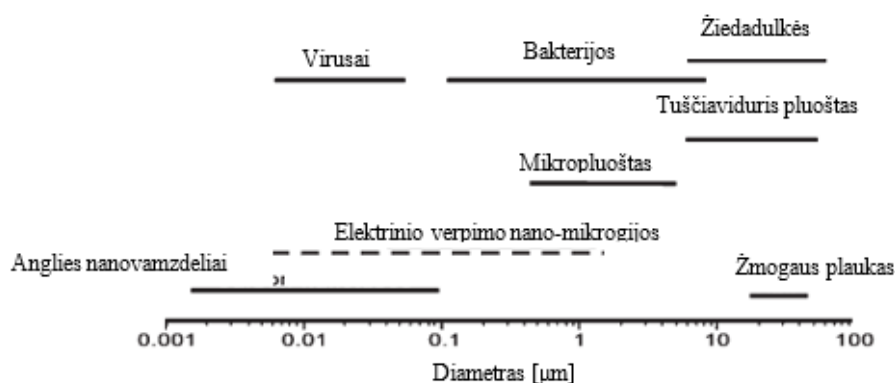
1.4 pav. Tirpiklių bei jų mišinių įtaka neaustinių medžiagų iš 10 % PLA nano-mikrogijų struktūrai SEM nuotraukos. Acetono/DMF santykis tirpinant PLA A – 0/100, B – 20/80, C – 40/60, D – 50/50, E – 60/40, F – 80/20, G – 100/0 [9].

c) polimerinio tirpalo klampa. Tai viena iš svarbiausių parametru nulemiančių formuojamos neaustinės medžiagos struktūrą. Iš mažos klamos polimerinių tirpalų, geros struktūros (iš nesulipusių gijų) neaustinės medžiagos nepavyks gauti, nes ją sudarys polimerinio tirpalo lašeliai. Iš per didelės klamos polimerinio tirpalo taip pat negalima suformuoti geros morfologijos neaustinės medžiagos dėl to, kad bus sunku elektriniame lauke formuoti nano-mikrogijas, dėl polimerinio tirpalo paviršiuje susidarančių didelių paviršiaus įtempių [13].

d) polimerinio tirpalo paviršiaus įtempio ir elektrinio laidumo. Paviršiaus įtempis yra svarbus veiksnys darantis įtaka elektrinio verpimo metu formuojamos neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų struktūrai. Paviršiaus įtempis priklausomas nuo tirpiklio ar tirpiklių mišinio parinkimo. Q. Yang'as su bendraautorais [14] nagrinėjo PVP polimerinio tirpalo paviršiaus įtempio įtaką neaustinės medžiagos struktūrai. Tyrime buvo naudojami tris skirtingi tirpikliai: etanolis, DMF ir DCM. Tyrimų metu nustatyta, kad naudojant vienodos koncentracijos PVP polimerinius tirpalus ir vienodą kiekį skirtingų rūšių tirpiklius yra gaunamas skirtingas paviršiaus įtempis ir skirtinga polimerinių tirpalų klampa, o tai sąlygoja formuojamos neaustinės medžiagos struktūra. Kita labai svarbi polimerinio tirpalo savybė yra elektrinis laidumas. Šis veiksnys priklauso nuo polimero tipo, tirpiklio rūšies bei priedų (druskų) parinkimo [15].

➤ *Technologinių parametru.* Elektrinio verpimo būdu formuojamos neaustinės medžiagos struktūra priklauso nuo elektros šaltinio teikiamos įtampos, atstumo tarp elektrodų [16].

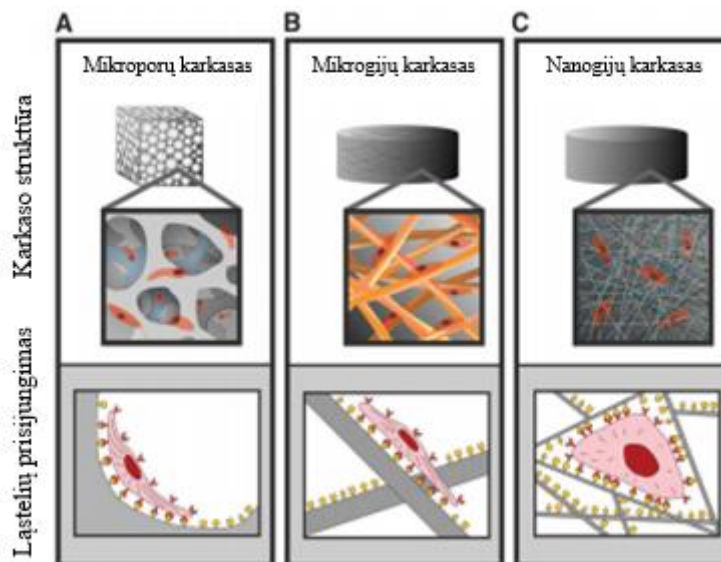
➤ *Aplinkos sąlygu.* Neaustinės medžiagos formavimo metu turi būti kontroliuojamas santykinis oro drėgnis drėgnumas, aplinkos temperatūra bei aplinkos slėgis [12].



1.5 pav. Palyginimas elektrinio verpimo metodu suformuotų gijų skersmens matmenų intervalo su biologinių bei technologinių objektų matmenų intervalais [17].

Biomedicinos srityje aktualu platus neaustinės medžiagos nano-mikrogijų skersmens matmenų intervalas. Nano-mikrodydžio skalės matmenys ypač svarbūs biologinės kilmės sistemoms dėl to, kad nanoskalės matmenų intervalui priskiriami baltymai, virusai bei kai kurios bakterijos, o mikroskalės: kietosios dalelės, dalis bakterijų. Todėl į elektrinio verpimo suformuotas

nano-mikrogijos galima įterpti tiek keliasdešimties nanometrų daleles tiek mikrometro dydžio priedą. Diametrų palyginimas pateiktas 1.5 paveiksle [17]. Atsižvelgiant į pastarąsias galimybes elektrinio verpimo procesas pripažintas kaip efektyviausias būdas suformuoti polimerines nano-mikrogijas, kurias būtų galima pritaikyti biomedicinos srityse [14].



1.6 pav. Audinių inžinerijos karkaso struktūros įtaka ląstelių prisijungimui bei plitimui (A ir B) ląstelės prisijungia prie karkaso ir prikimba, taip pasklisdamos didesniu plotu. (C) Karkasas sudarytas iš nanogijų pasižymi didesniu paviršiaus plotu, todėl ląstelėje esantys receptoriai gali sudaryti daugiau ryšių su paviršiuje esančiais baltymais [18].

S. A. Sells'as su bendraautoriais [19] nagrinėjo elektrinio verpimo metodu suformuotų neaustinių medžiagų iš natūralių polimerų struktūros įtaką, kuriant konkrečius tarpląstelinius matrikso analogus. Šiame darbe teigiama, kad elektrinio verpimo būdu sukurti karkasai yra tinkami nervų bei raumeninių ląstelių auginimui, kai neaustinės medžiagos gijos yra orientuotos viena kryptimi. Neaustinė medžiaga iš orientuotų gijų pasižymi 8 – 10 kartų didesniu atsparumu tempimui, kai tempiama gijų orientavimo kryptimi. Audinių inžinerijoje naudojant elektrinio verpimo būdu suformuotus karkasus iš viena kryptimi orientuotų gijų pastebėta, kad ląstelės pasiskirsto išilgai gijų. Tačiau, M. M. Stevensas su bendraautoriu [18] nagrinėdami kaulinių ląstelių augimą ant neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu, nustatė, kad kaulinėms ląstelėms augti geriau tinką įvairiomis kryptimis orientuotos nano-mikrogijos, nes kaulinės ląstelės gali geriau prisitvirtinti prie gijų augdamos, taip pat geresnis maistinių medžiagų pasisavinimas (1.6 pav.).

Elektrinio verpimo būdu suformuotos medžiagos panaudojamos ir vaistų pernašos sistemose. R. J Stoddard'as su bendraautoriais [20] savo darbe apžvelgia naudojamas polimerines medžiagas bei priedus, kuriant neaustines medžiagas vaistų pernešime. Šiame darbe į PEG-b-PLA

polimerinį tirpalą įterpiamas vankomicinas, antibiotikas naudojamas sunkioms infekcinėms patologijoms gydyti.

Neaustinės medžiagos ne tik gali būti naudojamos audinių inžinerijoje ar vaistų pernešime, tačiau įterpus į polimerinį tirpalą metalų dalelių, jų oksidų ar sulfatų gali būti gautos neaustinės medžiagos pasižyminčios elektrinėmis, magnetinėmis bei optinėmis savybėmis, tokiomis kaip fluorescencija, elektroluuminiscija, jonų bei elektronų pernešimas, ferimagnetizmas ar superparamagnetizmas. Šios medžiagos gali būti panaudojamos optinių, elektroninių sensorių, ličio jonų baterijų, kuro elementų, saulės baterijų gamyboje. Kaip ir anksčiau minėta, neaustinė medžiaga iš nano-mikrogijų pasižymi dideliu paviršiaus plotu bei poringumu [21].

Be jau minėtų panaudojimo sričių, neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų savo panaudojimo nišą rado ir filtravimo sistemose. Elektrinio verpimo metodu suformuotos neaustinės medžiagos, ne tik pasižymi tinkamu ploto bei tūrio santykiu, bet išsiskiria ir savo maža mase, lankstumu bei funkcionalumu. Neaustinės medžiagos plačiai tiriamos dėl oro filtracijos nuo kietųjų dalelių bei aerosolių patekimo į patalpas. Šių medžiagų panaudojimas gali pagerinti oro filtravimo kokybę nuo aerosolio dalelių dėl elektrostatinės traukos. Dėl didelio savitojo paviršiaus ploto neaustinės medžiagos pasižymi geresnėmis paviršiaus adhezinėmis savybėmis. Taigi, sumažėjus nano-mikrogijų skersmeniui sudarančių neaustinę medžiagą, yra išfiltruojamos ir submikro dydžio dalelės. Siekiant efektyvaus filtravimo, neaustinės medžiagos poros turi būti tokio dydžio, kad pasirinktų kietųjų dalelių skersmuo būtų didesnis už neaustinės medžiagos porų dydį. Didžiausias privalumas tas, kad formuojant elektrinio verpimo metodu yra nesunku valdyti formuojamų gijų skersmenį, o nuo to priklauso filtro efektyvumas [22;23].

Apibendrinimas. Elektrinio verpimas yra vienas iš našiausių ir pigiausių neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų formavimo būdu. Šiuo būdu suformuojamos neaustinės medžiagos iš itin mažo skersmens (dažniausiai iki 500 nm) gijų, porėtos, pasižyminčios dideliu savitojo paviršiaus plotu. Dėl pastarųjų savybių šios medžiagos naudojamos technikos pramonėje (filtrų, jutiklių gamyboje), apsauginiu drabužiu ir itin plačiai biomedicinoje (audinių inžinerijoje, išorinių žaizdų gydymui, vaistų pernešimo sistemose).

2. Biomedicinoje naudojamos nano-mikrogijų neaustinės medžiagos, suformuotos elektrinio verpimo būdu

2.1. Polimerai naudojami neaustinių medžiagų formavime elektrinio verpimo būdu

Paprastai elektriniam verpimui yra naudojami įvairūs polimerai. 1 lentelėje pateiktas dalis elektriniam verpimui tinkamų polimerinių medžiagų, kurios tiesiogiai ar kaip potencialiai tinkamos yra minimos biomedicinos mokslinių tyrimų srityse. Šias medžiagas galima suskirstyti į keturias pagrindines klases: gamtiniai (natūralūs) polimerai, sintetiniai polimerai, polimerų mišiniai bei kompozitai. Be to, baltymai, DNR ar net virusai gali būti tiesiogiai įverpiami į gijas [12].

1 lentelė. Elektriniame verpime naudojamų biomedicininų medžiagų ir tirpiklių sąrašas [12]

Medžiaga	Tirpiklis
Natūralūs polimerai	
Chitozanas	90 % acto rūgštis
Želatina	Skruzdžių rūgštis; TFE
Kolagenas I, II ir III	HFIP
Elastinas	HFIP
Hialurono rūgštis	DMF/vanduo
Celiuliozė	NMMO/vanduo
Šilko fibrinas	Metanolis
Fosfolipidai (lecitinas)	Chloroformas/DMF
Fibrinogenas	HFIP/10
Hemoglobinas	TFE
Veršelio užkrūčio liaukos pluoštinis Na -DNA	Vanduo/etanolis
Viruso M13 virusai	THF
Sintetiniai polimerai	
PLGA	TFE/DMF
PLA	HFIP arba DCM arba DCM/DMF arba DCM/piridinas
PCL	DCM/metanolis
PHBV	Chloroformas/DMF
PDO	HFIP
PGA	HFIP
PLCL	Acetonas arba DCM
PLLA-DLA	Chloroformas
PEUU	HFIP
Acetatinė celiuliozė	Vanduo/acto rūgštis
PEG-b-PLA	Chloroformas
EVOH	70 % propan-2-olis/vanduo
PVA	Vanduo
PEO	Vanduo
PVP	Vanduo/etanolis

Biokomponenčiai	
PLA/PCL	Chloroformas
Želatina/PVA	Skruzdžių rūgštis
PCL/kolagenas	HFIP
Natrio alginatas/PEO	Vanduo
Chitozanas/PEO	Acto rūgštis/DMSO
Chitozanas/PVA	Acto rūgštis
Želatina/elastinas/PLGA	HFIP
Šilkas/PEO	Vanduo
Šilko fibroinas/chitozanas	Skruzdžių
PDO/elastinas	HFIP
PHBV/kolagenas	HFIP
Hialurono rūgštis/želatina	DMF/vanduo
Kolagenas/chondroitino sulfatas	TFE/vanduo
Kolagenas/chitozanas	HFIP/vanduo
Polimerinių tirpalų ir kietųjų dalelių mišiniai	
PDLA/HAp	Chloroformas
PCL/CaCO ₃	Chloroformas/metanolis arba DCM/DMF
PCL/HAp	DCM/DMF
PLLA/HAp	Chloroformas
Želatina/HAp	HFIP
PCL/kolagenas/HAp	HFIP
Kolagenas/HAp	HFIP
Želatina/siloksanas	Acto rūgštis/etilo acetatas/vanduo
PLLA/MWNTs/HAp	1,4 – dioksanas/DCM
PLGA/HAp	DCM/vanduo

Biologiškai skaidūs polimerai – tai polimerai, kurie naudojami *in vivo*, laikui bėgant yra pilnai absorbuojami arba eliminuojami pro inkstų ar tulžies latakus. Bioskaidūs polimerai absorbuojami ar kitaip skildami, negali išskirti medžiagų, kurios būtų kenksmingos gyvam organizmui [24]. Svarbu tai, kad *in vivo* degradacija arba biodegradacija vyksta tik tų polimerų, kurių molekulinė masė neviršija ~ 40 – 60 kDa dydžio ribos, kitu atveju, skilimo produktai gali nepraeiti pro inkstų kanalėlius. Bioskaidūs polimerai naudojami audinių inžinerijoje, turi būti suskaidyti pagal tai koks yra apytikris audinio gijimo laikas (nuo kelių savaičių iki kelių metų), tuo tarpu bioskaidūs polimerai naudojami vaistų pernešimo sistemose, idealiau atveju turi pradėti skilti tada, kai neaustinės medžiagos transportuojamas vaistas pasiekia skausmo ar infekcijos šaltinį ir skilimas turi vykti lygiagrečiai vaisto atpalaidavimui (nuo kelių valandų ar dienų iki mėnesio) [25].

Polimerinės medžiagos besirezorbuojančios, turinčios savybę fiziologinėje žmogaus aplinkoje suirti, taip pat gali būti naudojamos medicininiam implantams ar dirbtiniams audiniams kurti. Biologiniu funkcionalumu bei skaidumu *in vivo*, kurios organizme gali ilgai išlikti medžiagų kūrimas yra gana sunkus uždavinys. Besirezorbuojantys implantai ar veikimo medžiagos, atlikę savo gydomąją funkciją, pvz., užpildę organo defektą arba sujungę pažeistą audinį, turi suskilti (degraduotis) organizme per tiksliai nustatytą laiką, o jų vietą organizme turi užimti paciento

jungiamasis audinys. Todėl du procesai, vykstantys *in vivo* implantacijos metu, t. y. medžiagos degradacija ir audinio ar organo defekto atkūrimas turi vykti tam tikru nustatytu greičiu [26].

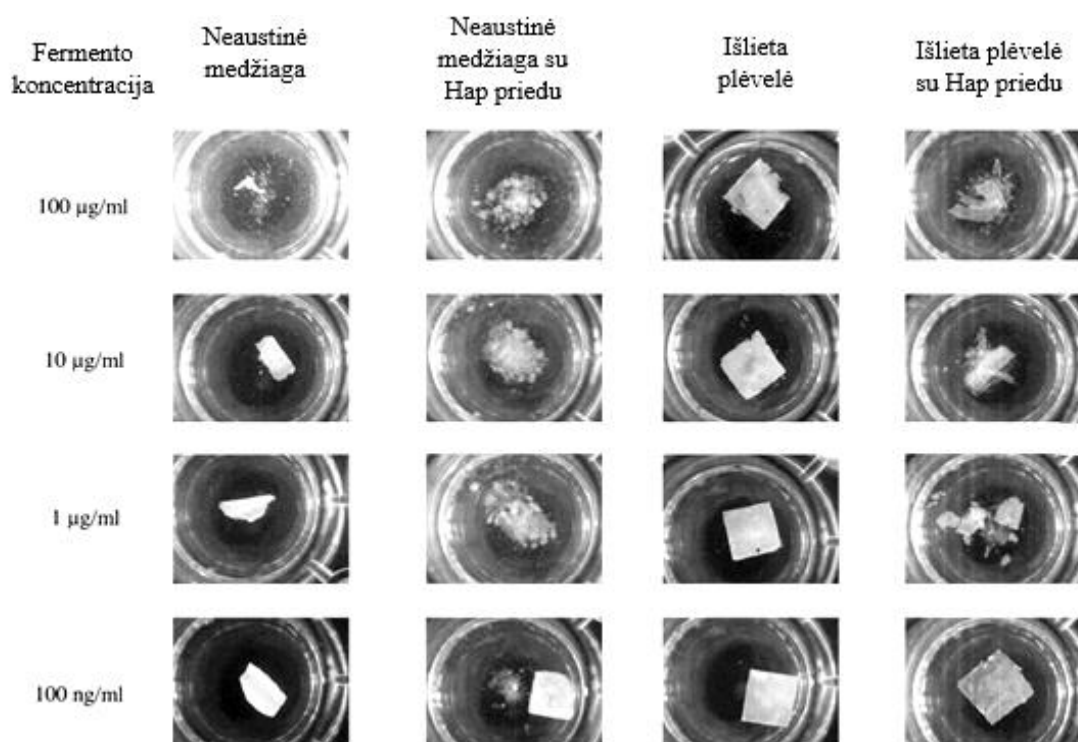
Biologiškai skaidūs polimerai turi atitikti kelis reikalavimus, tai yra:

- negali būti toksiški;
- išlaikyti gerą mechaninį vientisumą iki degradacijos pabaigos;
- sugebėti kontroliuojamu greičiu suirti.

Veiksniai darantys įtaka polimero irimo greičiui:

- polimero kristališkumo laipsnis;
- polimero molekulinė masė;
- hidrofobiškumas.

Taip pat polimero irimo greitis priklauso ir nuo vietos, kurioje yra implantuojamas, tai yra jį supančio pH, fermentų koncentracijos, vandens kiekio ir t. t [27].



1.7 pav. PHBV neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų, suformuotos elektrinio verpimo būdu, PHBV plėvelės su HAp ir be HAp priedu skaidymas skirtingomis koncentracijomis PHB depolimeraze PBS buferyje [28].

Yra išskiriami du biologiškai skaidžių polimerų tipai:

- natūralios kilmės polimerai, kuriems yra priskiriami: polisacharidai (krakmolas, alginatas, chitinas/chitozanas, hialurono rūgšties dariniai) arba baltymai (šilkas, fibrino geliai, kolagenas);

- Sintetiniai bioskaidūs polimerai: PGA, PLLA, PVA ir t. t.

Pastaroji grupė kelia didžiausią susidomėjimą, dėl to, kad sintetiniai polimerai yra gaminami kontroliuojant sąlygas, todėl yra žinomos jų mechaninės ir fizikinės savybės, tokios kaip stiprumas, tamprumo modulis bei skilimo greitis. Dar vienas privalumas yra tai, kad galima kontroliuoti medžiagos grynumą. Tikėtini pavojai, tokie kaip toksiškumas, imunogeniškumas bei infekcijos [29].

Polimerų bioskaidumo galimybės yra įvertinamos laikant juos žmogaus kūno skysčių panašiausiai cheminiai sudėčiai esančiuose tirpaluose. Y. Itas su bendraautoriais [28], tyrė PHBV polimero bioskaidumą. Iš PHBV polimerinio tirpalo naudojant du gamybos būdus buvo suformuota polimerinė plėvelė tiesiog išliejant ir neaustinė medžiaga taikant elektrinio verpimo metodą. Abu bandiniai buvo apdorojami 0,2 wt% kalcio hidroksido tirpalu. Paruoštų bandinių bioskaidumas buvo atliekas įmerkiant juos į fosfatinį buferį (PBS) su skirtingu PHB depolimerazės koncentracijos tirpalu, kuris imituoja organizme vykstantį bioskaidymą. Buvo nustatyta, kad įterpus HAp priedą į bandinius, jų bioskaidumo greitis buvo didesnis, taip pat PHBV bandiniai, kurie buvo suformuoti elektrinio verpimo būdu pasižymėjo šia savybe. Tam įtakos turėjo tai, kad neaustinė medžiaga, pasižymi didesniu paviršiaus plotu, todėl sąveika su skaidančiu fermentu pagerėjo (1.7 pav.)

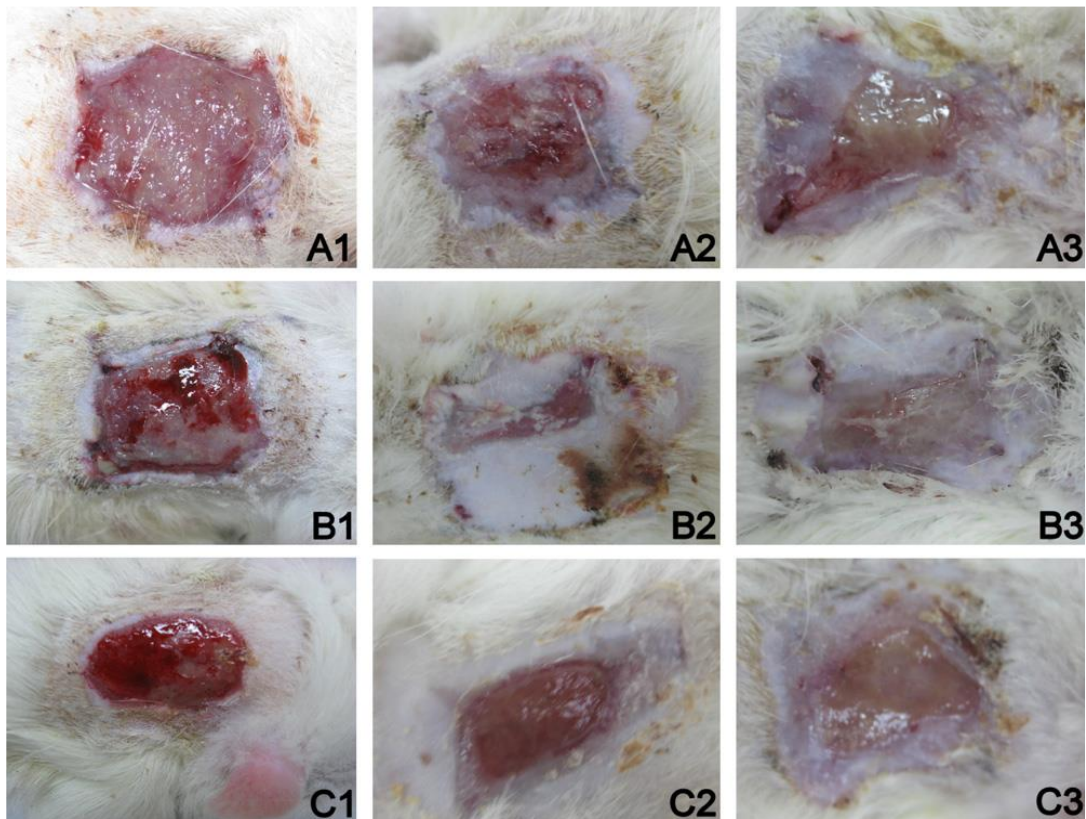
2.2. Žaizdų gijimui naudojamos nano-mikrogijų neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu

Žaizdų perrišimo medžiagos parinkimas yra pirminis bei esminis žingsnis, spartinantis bei gerinantis žaizdos gijimą. Vienas iš pagrindinių tvarsliaivos funkcijų yra apsaugoti žaizdą nuo galimos mikroorganizmų sukeltos infekcijos. Tradicinės medžiagos naudojamos žaizdoms gydyti yra hidrokoloidai, hidrogeliai bei alginatų druskos, medvilninė drobinio pynimo medžiaga. Neaustinė medžiaga iš nano-mikrogijų, suformuota elektrinio verpimo būdu, gali būti puikiai pritaikyta žaizdų perrišimo medžiagų gamyboje. Neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų pasižymi porėtumu t. y. leidžia žaizdai „kvėpuoti“, turėdama poras mažesnes už mikroorganizmus, apsaugo žaizdą nuo infekcijų sukėlėjų, dėl didelio savitojo paviršiaus ploto gerai sugeria žaizdos eksudatą, apsaugo žaizdą nuo išsausėjimo ir yra labai patogi naudoti [30-32]. Neaustinių medžiagų gamyboje naudojamos įvairios polimerinės medžiagos, įtraukiant kartu ir bioaktyvias medžiagas, taip suteikiant papildomų savybių. 2 lentelėje pateiktos kelios polimerinės medžiagos su tirpikliais bei panaudojimo galimybėmis žaizdoms gydyti.

2 lentelė. Polimerai naudojami elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų skirtų žaizdų gijimui formavime [32, 33, 34].

Polimeras	Tirpiklis	Panaudojimo savybės
PLGA/kolagenas	HFIP (heksafluoroisopropanolis)	Efektyvus žaizdų gijimo skatintojas pradinėje gijimo fazėje
Poliglicerolis	Metanolis/DMF	Nano-mikrogijos pripildytos <i>Calendula officinalis</i> , kuri veikia kaip skatinamoji bei priešuždegiminė medžiaga
Šilkas	PEO 5 wt% vandeninis tirpalas	Šilko gijos su epidermio augimo faktoriu užpildu (EAF), naudojamas odos regeneracijai
N-karboksietil chitozanas/PEO	Skrudžių rūgštis	Hibridinė neaustinė medžiaga su sidabro dalelėmis pasižymi antibakteriniu poveikiu.
Natrio alginatas/PVA	Distiliuotame vandenyje	Nano-mikrogijos užpildytos su nano-ZnO pasižymi antibakteriniu poveikiu.
PU	DMF/THF	Celiuliozės acetatas/PU užpildytas poliheksametileno biguanidas naudojama kaip antimikrobinė medžiaga.
PCL	Chloroformas/metanolis	Keturių tipų augalų ekstraktu užpildytos gijos pasižymi antibakteriniu poveikiu.
EVOH	Propan-2-olis	EVOH nano-mikrogijos užpildytos Ag nanodalelėmis
PDLA/PLLA	Chloroformas	Polimerų kompleksas pasižymi antibakteriniu bei homeostatiniu poveikiu be užpildų ir bioaktyvių priedų
PVP	Etanolis	Neaustinės medžiagos su propoliu ir Ag dalelėmis
PLLA	Chloroformas	Neaustinės medžiagos su propoliu ir Ag dalelėmis

Sintetiniai hidrofobiniai polimerai, tokie kaip PU, PLA, PCL ir PLGA, dėl itin gerų mechaninių savybių, yra idealios medžiagos žaizdų tvarsliaivos kūrimui, efektyviam žaizdos gijimui itin svarbu žaizdos drėkinimas. Natūralios kilmės hidrofiliniai polimerai, tokie kaip: dekstranas, chitozanas, želatina, kolagenas bei celiuliozės acetatas yra dažniausiai maišomi kartu su hidrofobiniais sintetiniais polimerais ir tokiu būdu pagreitinamas žaizdos gijimo procesas, nes hidrofiliniai polimerai padidina medžiagos hidrofilines savybes t. y. labiau leidžia drėkinti žaizdą [32].



1.8 pav. Žaizdų ploto bei išvaizdos kitimas po 1, 2 bei 3-čios savaitės nuo bandymo pradžios. A – kontrolinė grupė, B – naudojama PLGA/kolageno neaustinė medžiaga gijimui ir C – komercinės paskirties žaizdų gydymo medžiaga. Suformuotu žaizdų dydis 2 cm × 2 cm. Vieta – pelės nugarinėje dalyje [34].

S. Liu'is su kolegomis [34] nagrinėjo elektrinio verpimo metodu suformuotų PLGA/kolageno nano-mikrogijų įtaką žaizdoms gydyti. Suformuotų gijų skersmens vidurkis buvo 205 nm, pačių gijų skersmenys svyravo tarp 150 ir 650 nm. Tyrimas, kaip veikia neaustinė medžiaga sudaryta tiek iš sintetinio, tiek iš natūralaus polimero buvo atliktas su laboratorinėmis pelėmis, suformuojant jų nugarinėje dalyje 2 cm × 2 cm žaizdas. 1.8 paveiksle pavaizduota, kaip kinta žaizdos plotas (A – kontrolinė grupė; B – neaustinė medžiaga iš kokio polimero; C – komercinė žaizdų gydymo medžiaga). Po pirmos savaitės tiek PLGA/kolageno, tiek komercinė medžiagos panašiai veikia žaizdą. 2-rą bei 3-čią savaitę aiškiai matyti, kad žaizdos, gydomos PLGA/kolageno neaustine medžiaga gyja greičiau lyginant su komercinės paskirties medžiagomis. Tyrimo metu buvo nustatyta, kad neaustinė medžiaga iš PLGA/kolageno nano-mikrogijų yra efektyvus ankstyvosios gijimo fazės aktyvatorius.

2.3. Audinių inžinerijoje naudojamos nano-mikrogijų neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu

Audinių inžinerija yra tarpdisciplininė sritis, kuri apjungia taikomosios chemijos, fizikos, medžiagų mokslo, inžinerijos, ląstelių biologijos ir medicinos žinias ieškant biologinių pakaitų,

galinčių atkurti, pagerinti audinių/organų funkcijas. Kartu su galimybe formuoti nanofibrilines struktūras buvo pradėta imituoti tarpląstelinį matiksą, formuojant karkasą, kuris yra panašus į jį ir tinkamas audinių formavimui [35].

Daugelis audinių žmogaus organizme negali savaime atsistatyti po patirtos traumos. Jei trauma rimta, ligoniui gali prireikti audinio pakeitimo ar persodinimo funkcijos, kad patirta trauma pradėtų gyti. Todėl yra projektuojamos karkasinės medžiagos audinių inžinerijai. Medžiagos naudojamos audinių inžinerijoje, tame tarpe ir neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų, naudojamos kaip karkasai ląstelių auginimui turi atitikti šiuos reikalavimus:

- pakankamas mechaninis tvirtumas;
- medžiaga turi būti biologiškai suderinama;
- struktūra turi būti pakankamai porėta, kad būtų galima auginti ląsteles bei turi būti užtikrinamas geras aprūpinimas deguonimi, ląstelių augimo faktoriais, maisto medžiagomis ir t. t [29].

Elektrinio verpimo suformuotas karkasas pasižymi dideliu savitojo paviršiaus plotu, kuris sąlygoja geresnę ląstelių adheziją, migraciją, proliferaciją ir funkcijų diferenciaciją. Karkaso poringumas lemia gerą maistinių medžiagų transportą. Atsižvelgiant į elektrinio verpimo universalumą suformuotas medžiagas galima pritaikyti šių audinių atkūrimui:

- Kraujagyslių;
- Nervų audinių;
- Kaulų audinių;
- Sausgyslių bei raiščių.

M. Shinas su kolegomis [36] atliko bandymus *in vivo*. Bandymų metu buvo naudojamas neaustinės medžiagos karkasas iš atsitiktinai orientuotų PLA nano-mikrogijų (gijų skersmuo buvo nuo 100 nm iki 5 μ m). Ant šio karkaso buvo auginamos mezenchiminės kamieninės ląstelės. Po to karkasas su ląstelėmis buvo implantuotas laboratorinei pelei. Po 28 dienų buvo pastebėtas teigiamas implanto poveikis pelei, nustatyta mineralizacija bei I tipo kolageno susidarymas.

H. Qi's su bendraautorais [37] tyrinėjo PLLA/PCL/HAp neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų panaudojimo galimybes audinių inžinerijoje. Tyrimu metu nustatyta, kokią įtaką PLLA/PCL neaustinei medžiagai iš nano-mikrogijų turi HAp priedas kaulinių audinių kūrimui. Naudojant bandinius su HAp priedu pastebėta geresnė osteoblastų (kaulinių ląstelių) proliferacija lyginant su kontroline grupe. Tai pat, osteokalcino (biocheminis žymuo dalyvaujantis kaulinių ląstelių diferenciacijos procese) kaupimasis neaustinėse medžiagose su HAp priedu lyginant su

kontroline grupe. Remiantis gautais tyrimais galima teigti, kad neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų su HAp dalelėmis yra tinkamos kaulų audinių inžinerijoje.

Nors literatūroje dauguma straipsnių yra apie neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų kūrimą bei pritaikymą kaulų audinių inžinerijoje, tačiau vis dažniau nagrinėjamos neaustinės medžiagos ir nervinių ląstelių auginime. Vienas iš tokių tyrimų buvo atliktas J. Hu's su bendraautorais [38]. Šiame darbe buvo naudojamos neaustinės medžiagos suformuotos iš PGS (poliglicerolio sebacatas) ir PMMA kopolimerinio mišinio tirpalo, kaip papildomas priedas buvo panaudota želatina. Ant suformuotų neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų, buvo auginamos laboratorinių pelių PC12 nervinės ląstelės. Visų pirma buvo nustatyta, kad susintetintas PGS-PMMA kopolimeras yra tinkamas neaustinių medžiagų formavimas elektrinio verpimo metodu. Gautos neaustinės medžiagos paviršius yra hidrofobinis, todėl vienas iš būdų padidinti paviršiaus hidrofilines savybes buvo panaudotas želatinos priedas. Pastebėta, kad kultivuotos nervinės PC12 ląstelės geriausiai formavosi ant PGS-PMMA neaustinės medžiagos su želatinos priedu.

2.4. Vaistų tiekimo sistemų kūrimo naudojamos neaustinės medžiagos suformuotos elektrinio verpimo būdu

Elektrinio verpimo metodu suformuotos neaustinės medžiagos su įterptais vaistiniais preparatais, kurios pasižymi galimybe kontroliuoti šių medžiagų atpalaidavimą yra viena iš biomedicinoje pritaikomų sričių vaistų pernašos sistemose. Vaistų pernašos sistemos susideda iš kelių etapų:

- Vaisto įvedimo būdas: prietaisu arba farmacine forma (tablete, suspensija ir t.t.);
- Reikiamos dozės parinkimas;
- Veikimo bei atpalaidavimo trukmė;
- Vaisto atpalaidavimo lokalizacija [38].

Vaistų pernašos medžiagoms svarbu tai, kad vaistas būtų atpalaiduojamas iš nešančios medžiagos per nustatytą laiko periodą, o ne visas vienu metu bei, kad vaistas pasiektų veikimo vietą nesuiręs pakeliui į ją. Parinkus netinkamas medžiagas vaistų pernašai iškyla grėsmė perdozuoti, kai atpalaiduojama visa veiklioji medžiaga arba tai, kad veiklioji medžiaga nepasiekusi lokalizacijos vietos bus chemiškai suardyta kūno skysčių. Tarkime, jei vaisto lokalizacijos vieta žarnynas, tai pasirinkta nešančioji medžiaga turi būti atspari skrandžio rūgšties poveikiui [25].

Elektrinio verpimo metodu suformuota neaustinė medžiaga gali būti panaudota vaistų pernešime, kaip pagrindo medžiaga. Šių medžiagų pranašumas tas, kad nano-mikrogijos pasižymi dideliu savituoju paviršiumi, o tai svarbu vaistų atpalaidavimui, nes pagerina vaistų tirpumo savybes [39].

E. Adomavičiūtė su bendraautoriais [33] darbe tyrė suformuotą neaustinę medžiagą iš PLA polimero nano-mikrogijų su biologiškai aktyviu propolio etanoliniu ekstraktu (PEE). PLA yra bioskaidus bei biologiškai suderinamas polimeras. Propolis natūralus komponentas, kuris gaunamas iš dervinės augalų medžiagos, surenkamos bičių. Taip pat, polimerinis tirpalas buvo papildyta AgNd dalelėmis, neaustinei medžiagai suteikti antibakterinių savybių. Tyrimo metu buvo siekiama nustatyti neaustinės medžiagos panaudojimo galimybes biomedicinoje.

Nano-mikrogijų membranos, suformuotas su vaistų užpildu, gali būti naudojamos ne tik pro virškinamąjį traktą praeinančiu būdu, bet ir jį aplenkiant. Pavyzdžiui, gali būti naudojama lokaliai, odos ar žaizdų gydymui arba operacijos metu implantuojant membraną su antibiotikais, apsaugančią pjūvio vietą nuo galimo infekcijos patekimo [40].

Elektrinio verpimo metodu neaustinės medžiagos yra sėkmingai naudojamos skirtingų vaistų veikimo trukmių atpalaidavimui: staigaus, uždelsto, lėto ir t. t. [1]. Taip pat elektrinis verpimas pasižymi galimybe būti naudojamas tiek hidrofobinių (rifampino, paklitakselio), tiek hidrofilinių vaistų (tetraciklino, hidrochlorido ir t. t.) bei biomakromolekulių (baltymų, DNR) įterpimui į neaustinę medžiagą. Topologinės neaustinės medžiagos savybės padeda efektyviau valdyti vaistų difuziją ir tai pagerina vaisto veikimą. Be to, nano-mikrogijų naudojimas gali sumažinti minimalią reikiamą vaistų dozę, dėl to sumažėja sisteminė absorbcija ir galimo šalutinio efekto atsiradimo rizika [41].

Akrilato kopolimerai (Eudragit®) – tai produktų grupė, kuri sudaryta iš akrilinės arba metakrilinės rūgšties esterių. Ši produktų grupė yra skirta farmacijos pramonei. Akrilato kopolimerų fizikocheminėms savybėms įtakos turi neutralios, šarminės arba rūgštinės grupės ir jų kiekis. Kaip tam tikras akrilato kopolimeras degraduos konkrečioje terpėje priklauso nuo terpės pH reikšmės arba laiko. Tirpumą lemia rūgštinė funkcinė grupė (ftalatas arba metakrilinė rūgštis), karboksilinės grupės virsmas karboksilatu, dėl to polimeras ištirpsta esant skirtingoms pH reikšmėms. Skirtingi akrilato kopolimerų gaminiai tirpūs skirtingose pH reikšmėse (nuo 5,5 iki 7) [42].

G. Bruni's su bendraautoriais [43] iš MMA/MA polimerinio tirpalo elektrinio verpimo būdu suformavo neaustinę medžiagą. Jų darbe aprašoma, kaip iš MMA/MA suformuojama neaustinė medžiaga, kurios gijos yra užpildytos budezonidu (vaistai slopinantys žarnyno uždegimą). MMA/MA atlieka ne tik nešiklio funkciją, tačiau ir apsauginę. MMA/MA apvalkalas reaguoja į pH

potencialo kitimą, jo irimas prasideda viršijus pH 7,2. Taip vaistas yra apsaugomas nuo suirimo skrandyje, kuriame yra rūgštinė aplinka ir gydomasis poveikis pasireiškia žarnyne, kuriame pH > 7,2.

K. Karthikeyanas su bendraautoriais [44] taip pat tyrė MMA/MA, kaip nešiklį. Savo darbe jie panaudojo MMA/MA pantoprozolui bei aceklofenakui transportuoti. Pantoprozolas yra naudojamas gydyti gastroezofagiam refliuksui, o aceklofenakas, yra nesteroidinis vaistas nuo uždegimo, užkertantis kelią atsirasti virškinamojo trakto opai. Todėl, šie vaistai turi būti atpalaiduoti žarnyne ir nesuirti skrandžio terpėje. Tyrimo metu įrodyta, kad MMA/MA puikiai tinka naudoti kaip vaistų nešiklį.

A. Chaula su bendraautoriais [45] MMA/MA panaudojo ne kaip nešiklį, tačiau kaip apsauginę medžiagą nuo suirimo skrandyje. Jie savo tyrime naudojo natrio naproksino veikliąją medžiagą, kuri dar paprastai yra žinoma kaip skausmą malšinanti medžiaga. Taip pat, natrio alginatą bei MMA/MA. Buvo nustatyta, kad MMA/MA dengtos tabletės pasižymi ilgesne vaisto atpalaidavimo trukme nei nedengtos MMA/MA medžiaga.

2.5. Funkcinių dalelių panaudojimas elektrinio verpimo būdu suformuotose nano-mikrogijų neaustinėse medžiagose

Neaustinės medžiagos su įterptomis kietosiomis funkcinėmis nanodalelėmis kelia mokslininkų susidomėjimą, nes jų pagalba neaustinei medžiagai galima suteikti pageidaujamų savybių, tokių kaip optinių, elektrinių, katalitinių ir t. t. [46]. Įterpus nanodaleles į neaustines medžiagas galima ją apsaugoti nuo korozijos arba oksidacijos, ypač naudojant nanodaleles pasižyminčias anizotropine struktūra [47]. Elektrinio verpimo metu gali būti panaudotos tiek biokeramikos oksidų nanodalelės: SiO₂, SnO₂, GeO₂ ir t. t., tiek ir metalų oksidų: Al₂O₃, CuO, NiO, V₂O₅, ZnO, Co₃O₄ ir t. t. [8].

2.5.1. Hidroksiapatitas – panaudojimas elektrinio verpimo būdu formuojamose medžiagose

Šiuo metu plačiai nagrinėjama papildomų medžiagų (užpildų) panaudojimo galimybė audinių inžinerijoje bei jų pritaikymas biomedicinoje. Vieni iš tokių užpildų gali būti keramikos pagrindo medžiagos. Keramika, tinkanti naudoti biologinėse sistemose, vadinama biokeramika. Naudojant biokeramiką yra atstatomos arba pagerinamos žmogaus audinių ar organų funkcijos [4]. Išskiriamos dvi biokeramikos klasės: bioinertinė bei bioaktyvi keramika.

Bioaktyvi keramika ne tik sugeba organiškai tirpti fiziologiniuose skysčiuose, bet gali biochemiškai susijungti su gyvu audiniu. Iš bioaktyvios keramikos labiausiai paplitusios tos medžiagos, kurių sudėtyje yra natrio, kalcio, silicio oksidų, taip pat įvairių fosfatų priedų. Prie bioaktyvios keramikos priskiriama žmogaus organizmo rezorbuojama keramika turi ir gydomąją funkciją, kadangi šios keramikos jonai sąveikauja su gyvo audinio jonais. Viena iš bioaktyvių keramikos medžiagų yra hidroksiapatitai, kurie lėtai tirpdami teikia jonus, aktyvindami kaulų audinių augimą [48].

Kaulai yra sudaryti iš 50 – 70 % mineralinės, 20 – 40 % organinės matricos, 5 – 10 vandens ir ≤ 3 % lipidų. Didžiąją mineralinio kaulo matricos turinio dalį sudaro hidroksiapatitas $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, mažesniąją dalį užima karbonatas, magnis bei fosforo rūgštis kartu su reikiamomis hidroksigrupėmis. Tai neorganinė natūralaus kaulo dalis, plačiai tiriama kaip kaulų matricos armatūrinis komponentas, kuris gali pagreitinti kaulų formavimąsi. Subrendusiose kauluose hidroksiapatito nanokristalai yra netaisyklingos formos plonos plokštės, kurių vidutinis ilgis ir plotis 50 x 25 nm, o storis 2 – 3 nm [49].

Hidroksiapatitas (HAp) susideda iš kalcio ir fosforo. Grynas hidroksiapatitas yra balti milteliai, netirpūs vandenyje ar vandeniniuose tirpaluose. Gamtoje jis randamas kaip mineralas fosfatinėse uolienose, vėžiagyvių kiautuose [50]. Jis gali būti gaminamas pramoniniu būdu arba išgaunamas iš jūrinių koralų. Be to, gali būti sintetinamas iš reikiamų substratų, įskaitant karbonatus [51]. Sintetinti hidroksiapatitą galima gauti įvairiais metodais: hidroterminiu, drėgnuoju ir t. t. [51].

Natūralaus apatito kristalinė struktūra artima $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. Hidroksiapatito $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ struktūroje vienus elementus galima pakeisti kitais. Atskiri atomai gali visiškai ar iš dalies pakeisti hidroksiapatito struktūrą, tai leidžia sintezuoti naujus sumaišytus hidroksiapatitus. Šiuo metu naudojama hidroksiapatitinė keramika yra nepakankamai stipri, todėl jos negalima naudoti tokiose svarbiose medicinos srityse kaip traumatologija, ortopedija, stomatologija ir kt. Vis dar atliekami tyrimai siekiant sukurti naujas medžiagas hidroksiapatitų pagrindu, pasižyminčias geresnėmis mechaninėmis savybėmis. Šios savybės turi pasiekti kaulo audinių stiprį. Tai galima padaryti į hidroksiapatitą įterpiant įvairius priedus: Al_2O_3 , MgO . Atlikti kalcio hidroksiapatito – ZrO_2 sistemos tyrimai parodė, kad, didinant ZrO_2 kiekį, stipris lenkiant ir klampa didėja. Kadangi tokioms medžiagoms kartais tenka atlaikyti labai didelius apkrovimus, pavyzdžiui, kramtančių dantų apkrovimas yra iki 500 N, įtempiai kojų kauluose – apie 40 MPa, sausgyslėse – apie 400 MPa, todėl daugelis mokslininkų siūlo metalinius implantus ir protezus dengti keramika. Tada apkrovimas pasiskirsto metalinėje medžiagoje, o organizmas sąveikauja su keramikine danga [52].

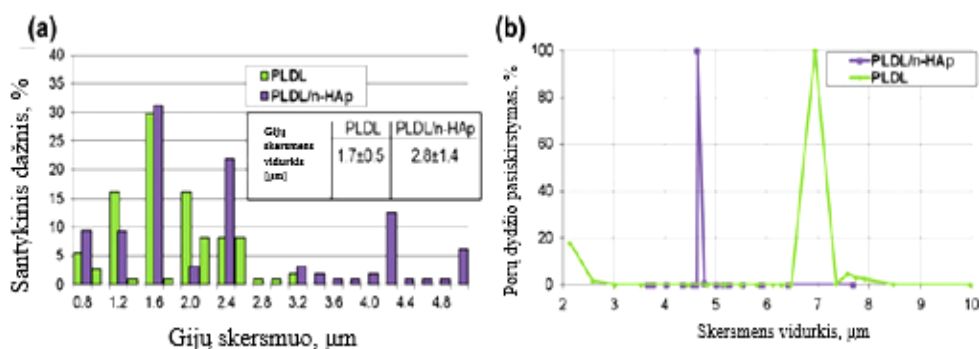
Lyginant su geologinių hidroksiapatitų kristalais, kaulų hidroksiapatito kristalai yra labai maži, jų dydis siekia tik apie 200 Å (lyginant su nanodydžiais tai tik 20 nm). Šie maži, karbonatų pakaitų kristalai yra geriau tirpūs nei geologinio hidroksiapatito kristalai, todėl yra panaudojami mineraliniame metabolizme. Matrikso brendimas yra susijęs su šarmų raiška – fosfatazėmis ir keliais ne kolageniniais baltymais, įskaitant osteokalcinu, osteopontinu. Osteopontinas – glikoproteinas, jungiantis hidroksiapatitus. Neigiamą krūvį turinčios šių baltymų molekulės geba grįžtamai prisijungti kalcio jonus ir dalyvauja kalcifikuojant kaulinį audinį. Manoma, kad šie kalcio ir fosfatų jonai yra privalomi baltymų reguliacijoje [53].

Hidroksiapatitas gali būti naudojamas kaip medžiaga užpildanti po kaulų traumų likusias ertmes. Tačiau dėl savo prastų mechaninių savybių, ši medžiaga negali būti naudojama atskirai kaip kaulų implantas, nes naudojant HAp miltelius kaulų defektams gydyti jie lengvai migruoja iš implantavimo vietų. Hidroksiapatitą sunku suformuoti kompleksuose dėl jo kietumo bei trapumo. Todėl naujų kompozitų su HAp dalelėmis ir bioskaidžiais polimerais tyrimai tapo labai svarbūs [49]. Kaip pagrindo medžiaga naudojama iš polimerinio tirpalo suformuota neaustinė medžiaga kuri savo tinkline struktūra panaši į aplinkinių kaulų ir fibrozinio audinio struktūrą. Gali būti implantuojama į kaulo tuštumą. Tai leidžia priimti implantą ir padaryti jį biologine kūno dalimi [54].

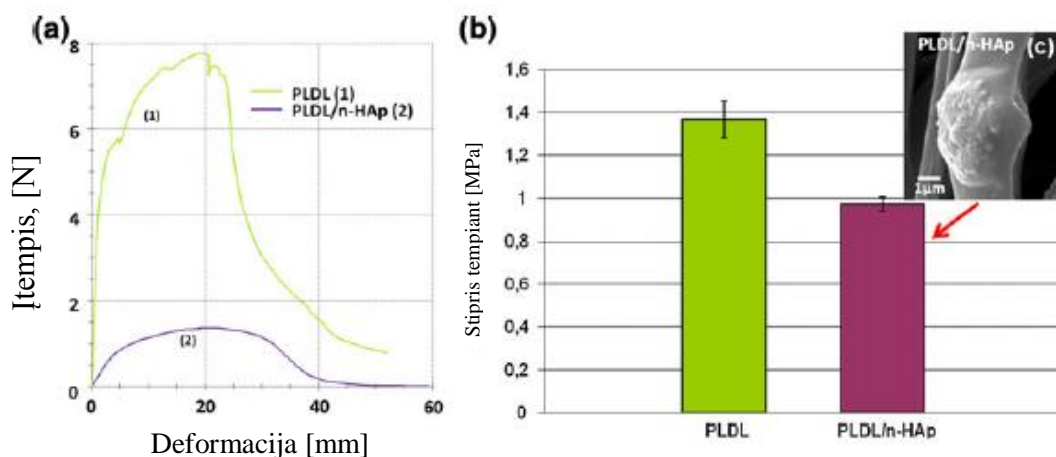
Taip pat, biomediciniuose implantuose bei kaulų regeneracijoje yra naudojamas HAp dėl savo bioaktyvumo, bioskaidumo ir osteokondukcinių savybių. Būdamas panašus į natūraliame kaule esantį hidroksiapatitą, jis gali būti naudojamas sujungiant kaulus. Suderinus kalcio fosfato osteokonduktyvumą bei polimerų bioskaidumą pastebėta, kad polimero/keramikos kompozitai kaulo audinių inžinerijoje yra perspektyvūs, ypač tie kompozitai, į kurių sudėtį įeina bioskaidūs polimerai. Nanodydžio neorganiniai komponentai natūraliame kaule yra svarbūs savo mechaninėmis savybėmis. Tyrimai parodė, kad geriausiu osteokonduktyvumu pasižymi sintetinis HAp, jei savo dydžiu ir morfologija yra panašus į kauluose esantį HAp. Be to, nanodydžio HAp gali turėti kitų privalumų dėl savo mažo dydžio ir didelio paviršiaus ploto. PLLA yra naudojamas biomedicinos srityse dėl gero biologinio skaidumo. Tačiau jam reikalingos kelios biologinio suderinamumo bei mechaninių savybių modifikacijos [51].

I. Rajzeris su bendraautorais [55] tyrinėjo nano–hidroksiapatito įtaką elektrinio verpimo metodu formuojamai membranai iš PLDL nano-mikrogijų. Tyrimo metu jie naudojo n-HAp, kurio dalelių dydis buvo 23 nm bei specifinis paviršiaus plotas 79,9 m²/g. Verpimui naudojo 20 wt% n-HAp priedą PLDL polimeriniame tirpale. Pastebėta, kad n-HAp kristalai, esant didesnei koncentracijai, yra linkę sudaryti aglomeratus taip nesudarydami homogeninės koloidinės sistemos, todėl vėliau tokie aglomeratai yra įverpiami į neaustinę medžiagą. Gaunamos storesnės PLDL/n-

HAp nano-mikrogijos lyginant su grynos neaustinės medžiagos nano-mikrogijomis, bei buvo nustatytas membranos poringumo sumažėjimas lyginant gryną PLDL neaustinę medžiagą (1.9 pav.).



1.9 pav. a – Gijų skersmens pasiskirstymas; b – Porų dydžio pasiskirstymas PLDL bei PLDL/ n-HAp neaustinėse medžiagose [55].



1.10 pav. a – Įtampių ir deformacijos kreivės pasiskirstymas PLDL bei PLDL/n-HAp neaustinėse medžiagose; b – neaustinių medžiagų atsparumas tempimui; c – SEM mikrografija, kaip n-HAp sudaromų aglomeratų įtaką PLDL gijos paviršiumi [55].

V. Thomas su bendraautoriais [56] savo tyrime teigė, kad mažos koncentracijos n-HAp koncentracijos stiprina elektrinio verpimo metu suformuotą polimero karkasą. Tačiau didelės n-HAp koncentracijos blogina mechanines savybes. Tai pateikia ir I. Rajzeris, teigdamas, kad susiformavę aglomeratai mechanines membranos savybes sumažino 30 % lyginant PLDL/n-HAp membraną su gryno PLDL polimero membrana.(1.10 pav.)

2.5.2. Sidabro kietųjų dalelių panaudojimas elektrinio verpimo būdu formuojamose medžiagose

Nano-mikrogijų formavime naudojamos ne tik HAp kietosios dalelės, dažnai straipsniuose minima ir sidabro nanodalelių panaudojimas formuojant neaustinę medžiagą. Sidabro jonai ir

sidabro junginiai yra plačiai naudojami biomedicinos srityje, žaizdų tvarstymo medžiagose, audinių inžinerijoje, antibakteriniuose filtruose ir t. t. [57]. Pirmasis elektrinio verpimo metodą Ag nanodalelių įterpimui panaudojo Yangas su kolegomis [58] suformuojant poliakrilnitrilo gijas su šiomis dalelėmis.

Viena iš sidabro naudojimo priežasčių kartu su HAp kietosiomis dalelėmis yra ta, kad implantavus neaustinę medžiagą atsiranda bakterinės infekcijos rizika, to pasekoje naudojant neaustinę medžiagą su Ag nanodalelėmis galima užkirsti tam kelią. Ne vien Ag^+ suteikia neaustinei medžiagai baktericidinį poveikį, taip pat gali būti naudojami ir Zn^{+2} , Cu^{+2} bei Ti^{+4} . Tačiau nustatyta, kad tarp visų paminėtų metalų jonų Ag^+ pasižymi stipriausiu antibakteriniu poveikiu naudojant mažą koncentraciją, tai reiškia, kad yra mažiau toksiškas [59;60].

Ag nanodalelės (AgNd), kurių skersmuo svyruoja nuo 10 nm iki 100 nm yra veiksmingos prieš kai kuriuos mikroorganizmus bei pasižymi antibakteriniu poveikiu tiek prieš gramteigiamąsias, tiek prieš gramneigiamąsias bakterijas [61;62]. AgNd antibakterinis poveikis yra aiškinamas keliais mechanizmais. Pirmasis yra toks, kad AgNd prisijungia prie ląstelės sienelės ir tokiu būdu yra sukeliama membranos pralaidumas. Kitas iš mechanizmų aprašomas toks, kad Ag^+ jonai sąveikauja su fosforu ir siera, kurių yra biomolekulių, DNR ir baltymų sudėtyje, taip stabdydamas DNR replikaciją ir sukeldamas baltymų inaktyvaciją [57].

Ag nanodalelės į neaustinę medžiagą galima įterpti trimis skirtingais būdais:

- Į paruoštą polimerinį tirpalą įmaišomos iš anksto susintetintos Ag nanodalelės, prieš elektrinio verpimo procesą;
- Gaunamos *de novo* būdu polimeriniame tirpale AgNO_3 naudojant kaip prekursorių Ag nanodalelėms gauti;
- Gaunamos *in situ*. Ag nanodalelės susidaro jau suformavus neaustinę medžiagą iš joje esančių cheminių junginių [63].

AgNd dalelių citotoksiškumą lemia AgNd fizikinės ir cheminės savybės, įskaitant paviršiaus chemiją, dydžio intervalą, dalelių morfologiją, aglomeratų sudarymą, tirpimo greitį, dalelių reaktyvumą tirpale, jonų susidarymą, ląstelių rūšį bei naudojamų reduktorių sintezės metu. AgNd toksiškumas labiausiai priklauso nuo cheminio ir/ arba biologinio nanodalelės paviršiaus padengimo. Tarkime, jei AgNd dalelė bus teigiamai įkrauta, tai ji ilgiau išliks nepašalinta iš organizmo lyginant su neigiamai įkrauta nanodalele, o dideli kiekiai organizme veikia citotoksiškai [64].

Kitas svarbus AgNd privalumas tas, kad jos gali būti naudojamos ląstelių vaizdinimui *in vivo*, o tai labai svarbu tyrinėjant navikų susidarymą, imuninį atsaką bei kamieninių ląstelių terapinį poveikį. Visa tai yra pasiekama modifikuojant AgNd paviršių. Modifikuotos AgNd nanodalelės

lengviau patenka į ląsteles dėl to tyrimų metu yra gaunamos ryškesnės, aiškesnio vaizdo nuotraukos [65].

Apibendrinimas. Neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų formavime gali būti naudojami ne tik įvairūs polimerai, bet ir jų mišiniai su kietosiomis funkcinėmis dalelėmis. Kietosios funkcinės dalelės suteikia neaustinei medžiagai norimas savybes bei funkcijas. HAp nano-mikrodalelės gali paskatinti kaulų regeneracinius procesus arba gali būti naudojamas kaip kaulų lūžio užpildas, nes būtent hidroksiapatitas yra svarbus mineraliniame kaulų metabolizme, kaip jonų šaltinis. Sidabro kietųjų dalelių priedas gali suteikti neaustinei medžiagai antimikrobines savybes, kai labai svarbu dėl hospitalinių infekcijų prevencijos. Tokias kompozitines medžiagas galima pritaikyti žaizdų gydymo medžiagose, audinių inžinerijoje, vaistų pernašoje ir t. t. Literatūros šaltiniuose nerasta duomenų apie HAp dalelių paruošimo įtaką neaustinės medžiagos struktūrai bei išsamiai nebuvo nagrinėtos abiejų HAp ir AgNd kietųjų funkcinų dalelių įtaka elektrinio verpimo būdu formuojamai MMA/MA neaustinės medžiagos struktūrai ir savybėms.

METODINĖ DALIS

2.1 Tyrimuose naudotos medžiagos ir jų paruošimo metodai

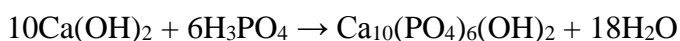
2.1.1 Polimerai

Tyrimuose buvo naudojamas dribsnių pavidalo PVA polimeras, kurio molekulinė masė $M_r = 89,000 - 98,000$ g/mol (Sigma Aldrich, Vokietija). PVA pasižymi geru tirpumu vandenyje, nenuodingas.

Taip pat buvo naudojamas baltų miltelių pavidalo metilmetakrilato ir metakrilo rūgšties (2:1) (MMA/MA) kopolimeras, kurio molekulinė masė $M_r = 135,000$ g/mol (Evonik, Vokietija). Šis kopolimeras sudarytas iš metilmetakrilato ir metakrilinės rūgšties, tirpstantis etilo alkoholyje bei metanolyje. MMA/MA yra biologiškai skaidus polimeras.

2.1.2 Kietosios funkcinės dalelės ir jų paruošimo metodika

Hidroksiapatitas – natūralaus kaulo sudedamoji dalis. Sintetinis HAp gali būti naudojamas, kaulų lūžių užpildymams po traumų arba gali būti naudojamas kaulinių audinių formavime kaip jonų šaltinis. Sintetinis HAp – baltos spalvos miltelių pavidalo junginys, kurio molekulinė masė $M_r = 502,31$ g/mol (Sigma Aldrich, Vokietija), vandenyje netirpi, neorganinė medžiaga. Darbe buvo naudojamos dviejų tipų hidroksiapatito dalelės. Pirmosios pagamintos Mersino universiteto (Turkijoje) laboratorijoje rūgšties-bazės metodu. Taikant šį metodą, gaunami HAp milteliai. Reakcijos metu susidaro vienintelis šalutinis produktas – vanduo. Šiame metode buvo naudotas kalcio hidroksidas $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ir fosforo rūgštis H_3PO_4 , kaip Ca bei P šaltiniai. Reakcija:



10 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$ miltelių (~ 99 %, Merck, Vokietija) buvo ištirpinta 400 ml 40 °C dejonizuoto vandens ir maišoma magnetine maišykle 30 minučių. 9,242 g H_3PO_4 (85 %, Merck, Vokietija) buvo atsargiai įberiama (apie 0,5 g/min), nuolat maišant kalcio hidroksido tirpalą. Stechiometrinis Ca/P santykis 1,67. Po H_3PO_4 pridėjimo, tirpalas toliau maišomas palaikant 40 °C temperatūrą, 48 valandas. HAp suspensija centrifuguojama 3000 aps/min 4 minutes. Supernatantas nupilamas, o nuosėdos suspenduojamos 400 ml dejonizuoto vandens. Šis procesas pakartojamas 5 kartus ir po to nuosėdos išdžiovinamos 110 °C temperatūroje 48 valandas. Gautos nuosėdos grūstuvu smulkinamos rankomis apie 10 minučių [66].

Sintetinant HAp daleles su boro priedu, procesas vyksta ta pačia tvarka kaip aprašyta anksčiau. Vienintelis skirtumas yra tas, kad yra naudojamas H_3BO_3 (99,5 %, Merck, Vokietija),

kaip boro šaltinis. Tai padaroma pirmiausiai, tik po to kai ištirpsta H_3BO_3 milteliai, pilamas $Ca(OH)_2$ ir procesas vyksta analogiška tvarka kaip aprašyta anksčiau.

HAp dalelėms tiek be boro, tiek su boro priedu buvo taikomas apdirbimas iškaitinant turimas daleles $1000\text{ }^\circ\text{C}$ 48 valandas. Tai atliekama tam, kad būtų įvertintas gautų miltelių terminis stabilumas, bei HAp junginio vientisumas.

Taikytos HAp dalelių paruošimo variacijos formuojamų PVA nano-mikrogijų struktūrai pateiktos 3 lentelėje.

3 lentelė. Sintetintų HAp dalelių tipai naudoti elektrinio verpimo metu (bandiniai paruošti Mersino Universitete, Turkija).

Bandinio kodas	Paruošimo metodas	Apdirbimass
A	HAp dalelės apdorotos rūgštis-bazė metodu	Paruoštos dalelės džiovintos esant $110\text{ }^\circ\text{C}$ 48 valandas.
B	BHAp dalelės apdorotos rūgštis-bazė metodu 2 wt% boro naudota sintetinant HAp daleles	Paruoštos dalelės džiovintos esant $110\text{ }^\circ\text{C}$ 48 valandas.
C	HAp dalelės apdorotos rūgštis-bazė metodu	Paruoštos dalelės džiovintos esant $110\text{ }^\circ\text{C}$ 48 valandas ir iškaitintos 2 valandas $1000\text{ }^\circ\text{C}$
D	BHAp dalelės apdorotos rūgštis-bazė metodu 2 wt% boro naudota sintetinant HAp daleles	Paruoštos dalelės džiovintos esant $110\text{ }^\circ\text{C}$ 48 valandas ir iškaitintos 2 valandas $1000\text{ }^\circ\text{C}$.

Antrosios Hap dalelės buvo komercinės – Sigma-Aldrich, Vokietija, naudotos kartu su MMA/MA kopolimeru.

Siekiant nustatyt sidabro (AgNd) dalelių formavimo būdo įtaka AgNd dalelės buvo gaminamos dviem būdais.

1. AgNd dalelių formavimas PVP ir etanolio tirpale:

10 g polivinilpirolidono (PVP, $(C_6H_9NO)_x$; $M_r \sim 40000$ g/mol; Sigma Aldrich, Vokietija) ištirpinta maišant 80 ml $40\text{ }^\circ\text{C}$ etilo alkoholio. Į gautą skaidrų tirpalą suberiama 2 g sidabro nitrato ($AgNO_3$; $M_r = 169,87$ g/mol; Sigma Aldrich, Vokietija). Pridedama 10 ml dejonizuoto vandens, o bendras tūris privedamas iki 100 ml naudojant etilo alkoholį. Gautas tirpalas paliekamas sandariai uždarytas, kambario temperatūroje 24 valandas [33].

2. AgNd dalelių formavimas chloroforme:

Sumaišoma 20 ml 0,05 M koncentracijos sidabro nitrato (AgNO_3 ; $M_r = 169,87$ g/mol; Sigma Aldrich, Vokietija) tirpalo, 10 ml morfolino ($\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$; $M_r = 87,12$ g/mol; Sigma Aldrich, Vokietija), 2 g oleilamino ($\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}$; $M_r = 267,49$ g/mol; Sigma Aldrich, Vokietija). Tirpalas maišomas, pasiekus reikiamą temperatūrą (80 °C) sulašinama 3 ml hidrazino hidrato ($\text{N}_2\text{H}_4\text{H}_2\text{O}$; $M_r = 32,05$ g/mol; Acros Organics). Tirpalas maišomas pagelsta po to tampa rudas, susidaro daug putų. Tirpalas maišomas 20 min 80 °C. Po to tirpalas atvėsinaamas ir praskiedžiamas acetonu ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$; $M_r = 58,08$ g/mol; Sigma Aldrich) santykiu 1:2. Gautas tirpalas centrifuguojamas 3000 rpm 5 min, pašalinus supernatantą nuosėdos suspenduojamos acetone, taip procedūra kartojama 2 kartus. Gautos nuosėdos išdžiovinamos ~ 5 min 70 °C ir disperguojamos chloroformu (CHCl_3 ; $M_r = 119,38$ g/mol; Sigma Aldrich).

2.2. Polimerinių tirpalų paruošimas

Naudotas tirpiklis PVA polimerui – distiliuotas vanduo. Metilmetakrilato ir metakrilo rūgšties (2:1) kopolimerui – etilo alkoholis ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), (grynumas ≥ 96 %), molekulinė masė $M_r = 46,07$ g/mol.

Polimerinio tirpalo paruošimui buvo naudojama magnetinė maišyklė su kaitinimo funkcija Yellow Line MSH (Vokietija) (2.1 paveiksle), esanti Kauno technologijos universiteto, Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakulteto, Medžiagų inžinerijos katedroje.



2.1 pav. Magnetinė maišyklė Yellow Line MSH [67]

PVA polimerinis tirpalas buvo ruošiamas ištirpinus jį reikiamo dydžio talpoje, esant apie $180 - 200$ °C temperatūrai bei intensyviai maišant polimerą tirpiklyje 2 val., kai aplinkos temperatūra $t = 20 \pm 2$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ %.

MMA/MA polimerinis tirpalas buvo ruošiamas traukos spintoje, polimerą ištirpinant etilo alkoholyje. MMA/MA polimeras buvo tik maišomas tirpiklyje be kaitinimo funkcijos 3 val.

Taip pat, geresniam kietųjų dalelių (HAp) pasiskirstymui polimeriniame tirpale buvo naudojama ultragarsinis homogenizatorius UP200S (400 W, 24 kHz) (Hielsher, Vokietija). Kietosios funkcinės dalelės HAp buvo veikiamos skirtingomis trukmėmis: 3 min., 30 min., 180 min.

2.3. Polimerinio tirpalo klamos nustatymo metodas

Polimerinių tirpalų dinaminė klampa nustatyta „Brookfield DV II+Pro“ rotaciniu viskozimetru (Brookfield engineering Laboratories, JAV) (2.2 paveiksle), esančiu Kauno technologijos universiteto, Mechanikos ir dizaino fakultete. Jo veikimas pagrįstas tuo, kad besisukantis velenėlis, sujungtas su tenziometru, įmerkiamas į tiriamąjį skystį ir fiksuojamas pasipriešinimas tekėjimui. Kuo didesnis pasipriešinimas, tuo didesnė klampa.



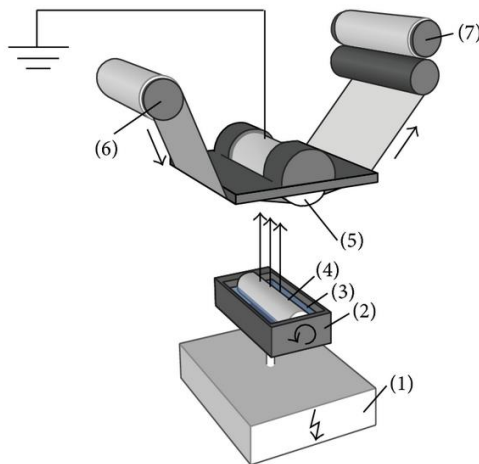
2.2 pav. Rotacinis viskozimetras „Brookfield DV II+Pro“ [68]

2.4. Neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų formavimas elektrinio verpimo įrenginiu „Nanospider™“ metodas

Iš pasiruošų polimerinių tirpalų, elektrinio verpimo įrenginiu „Nanospider™“ (Elmarco, Čekija) (2.3 paveiksle) buvo formuojamos neaustinės medžiagos iš PVA, MMA/MA nano-mikrogijų. Elektrinio verpimo įrenginys yra Kauno technologijos universitete, Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakultete.

Bandymų metu buvo naudojami dantytasis verpimo elektrodas. Šis elektrodas yra patalpinamas į lovelį su polimeriniu tirpalu. Kai tarp apatinio ir viršutinio elektrodų yra sukuriamas elektrinis laukas ant apatinio dantytojo elektrodo susiformuoja polimerinio tirpalo lašeliai. Didėjant įtampai tarp elektrodų atsiranda elektrostatinės jėgos. Kai atsiradusios elektrostatinės jėgos viršija polimerinio paviršiaus įtempį, tada iš jo formuojasi taip vadinami Taylor'o kūgiai, o iš jų susiformuoja polimerinio tirpalo srovelės. Iš šių srovelių judėjimo metu išgaruoja tirpiklis. Ir

susidariusios nano-mikrogijos suformuoja neaustinę medžiagą ant pagrindo medžiagos. Pagrindo medžiaga sudaryta iš PP gijų. Sąlygos PVA neaustinės medžiagos formavimo metu buvo: atstumas tarp elektrodų 13 cm, $U = 70 \text{ kV}$, $t = 18 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$, $\varphi = 50 \pm 5 \%$. MMA/MA neaustinės medžiagos formavimo metu buvo: atstumas tarp elektrodų 14 cm, $U = 50 \text{ kV}$, $t = 18 \pm 4^\circ\text{C}$, $\varphi = 50 \pm 5 \%$.



2.3 pav. Elektrinio verpimo įrenginio „Nanospider™“ technologinė schema: 1 – aukštos įtampos keitiklis, 2 – lovelis; 3 – polimerinis tirpalas; 4 – apatinis elektrodas; 5 – įžemintas elektrodas; 6 – pagrindo medžiagos tiekimo velenėlis; 7 – pagrindo medžiagos vyniojimo velenėlis [33].

2.5. Neaustinių medžiagų iš polimerinių nano-mikrogijų struktūros ir skersmens nustatymas

Geometrines nano-mikrogijų savybes tokias kaip gijų skersmuo, nano-mikrogijų morfologija (skerspjūvio forma) galima nustatyti naudojantis skenuojančiu elektroniniu mikroskopu (SEM).



2.4 pav. Emisinio lauko skenuojantis elektroninis mikroskopas (FESEM) Supra 55 [72].

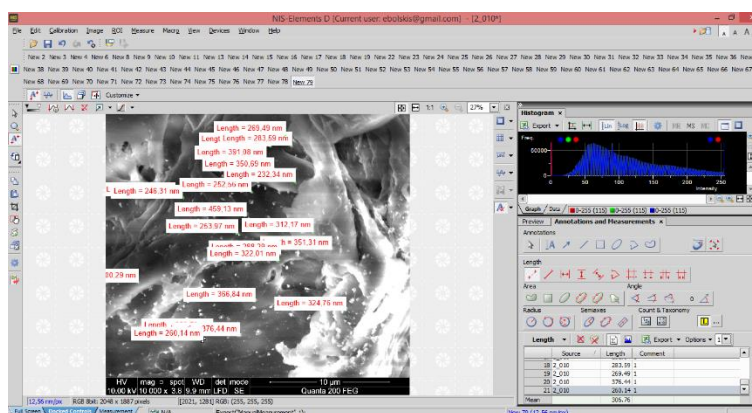
Darbe tos pačios rūšies bandiniai nebuvo nagrinėti skirtingais mikroskopais. Suformuotos neaustinės medžiagos iš PVA nano-mikrogijų su HAp dalelėmis struktūra nustatyta emisinio lauko skenuojančiu elektroniniu mikroskopu (FESEM) Supra 55 (Zeiss, Vokietija), esantis Mesino universitete, Turkijoje. Bandymų metu buvo daromos įvairaus mastelio nuotraukos, gijų skersmeniui pasirinktos 3 SEM nuotraukos, kai mastelis 200 nm, didinimas $\times 30\,000$.

MMA/MA neaustinės medžiagos nano-mikrogijų struktūra nustatyta skenuojančiu elektroniniu mikroskopu (SEM) S-3400N (Hitachi, Japonija), esančiu Lietuvos energetikos institute. Bandymų metu buvo daromos SEM nuotraukos, kai mastelis 5 μm , didinimas $\times 10000$ ir 100 μm , didinimas $\times 500$.



2.5 pav. Skenuojantis elektroninis mikroskopas (SEM) S-3400N (Hitachi) [73].

Struktūrai nustatyti didesnio skersmens nano-mikrogijos skersmuo nustatytas naudojant kompiuterinę programą NIS-Elements D 4.50.00 (2.6 pav.). Vidutinis nano-mikrogijų skersmuo buvo apskaičiuotas nustačius 200-tų skirtingų gijų skersmenų vidurkį. Tai buvo padaryta išmatuojant vienodo mastelio ir didinimo SEM nuotraukas.



2.6 pav. Kompiuterinės programos NIS-Elements D 4.50.00 darbinė aplinka

2.6. Antimikrobinių savybių nustatymas

Antimikrobinis jautrumo testas

Antibakterinis ir priešgrybelinis aktyvumas buvo atliktas *in vitro* naudojant agar-difuzinį metodą Lietuvos sveikatos mokslų universitete [33]. Paruoštos bakterijų kultūrų suspensijos sėtos į Petri lėkšteles su Mueller'io-Hinton'o II agaru (Mueller-Hinton II Agar, BBL, Cockeysville, JAV). Neaustinių (MMA/MA)/HAp/Ag medžiagų antibakterinis aktyvumas buvo išbandytas *in vitro* su standartinėmis mikroorganizmų kultūromis: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ir su grybeline kultūra *Candida albicans* ATCC 10231.

Standartinių mikroorganizmų kultūrų paruošimas

Ruošiant standartines nesporines bakterijų *S. aureus*, *P. aeruginosa* bei *K. pneumoniae* kultūras jos yra auginamos 20 – 24 val., 35 °C temperatūroje, Miulerio-Hintono II agare (Mueller-Hinton II agar, BBL, Cockeysville, USA). Bakterijų suspensija buvo paruošta iš bakterijų pasėlio paruošto fiziologiniame tirpale pagal drumstumo standartą 0,5 McFarland.

Ruošiant standartinę grybelinę *C.albicans* kultūrą buvo auginamos 20 – 24 val. 30 °C temperatūroje, Miulerio-Hintono II agare ((Mueller-Hinton II agar, BBL, Cockeysville, USA). Grybelinė suspensija paruošta auginant kultūrą fiziologiniame tirpale pagal drumstumo standartą 0,5 McFarland.

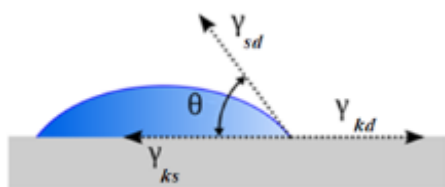
Bandinių paruošimas antimikrobiniam aktyvumui nustatyti

Neaustinių medžiagų bandiniai iš ES/HAp/Ag buvo paruošti iškerpant 20 × 20 mm dydžio kvadratėlius. Bandiniai buvo sterilizuojami ultravioletinės šviesos spinduliais. Mikroorganizmų kultūra (ląstelių suspensija 1×10^8) buvo sterilia kilpele padengiama ant Petri lėkštelės paviršiaus su Miulerio-Hintono II agaru (Mueller-Hinton II agar, BBL, Cockeysville, USA). Vėliau sterilūs neaustinių medžiagų bandiniai patalpinami ant Miulerio-Hintono agaro su pasėta mikroorganizmų kultūra. Pavyzdžiai inkubuojami 36 °C temperatūroje 24 val. (bakterijų) ir 30 °C temperatūroje 24 val (grybų). Mėginių iš MMA/MA neaustinės medžiagos su AgNd antimikrobinis aktyvumas buvo nustatomas pagal sterilios zonos susidarymą aplink mėginį.

2.7. Neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų paviršiaus vilgymo kampo nustatymas

Vilgymo kampas θ parodo skysčio gebėjimą vilgyti kietą kūną. Jis susidaro trijų susisiekiiančių fazių – kietosios (k), skystosios (s) ir dujinės (d) – sąlyčio kampo viršūnėje (2.7 pav.). Kiekvienas tarpfazinis sąlytis pasižymi būdingu paviršiaus įtempiu arba laisvąją energija γ_{ks} , γ_{sd} , γ_{kd} . Ryšys tarp jų ir vilgymo kampo užrašomas Jungo lygtimi [71].

Kai $\gamma_{kd} > \gamma_{ks}$ – kieto kūno paviršius vilgomas skysčiu ($0 < \theta < 90$), jei $\gamma_{kd} < \gamma_{ks}$ – paviršius duotuoju skysčiu nevilgomas ($0 > \theta > 90$).



2.7 pav. Ant dangos paviršiaus užlašinto kompozicijos lašo paviršiaus įtampių schema sąlytyje skystis – kietas kūnas [72].

Vilgymo kampo θ matavimai buvo atlikti $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje nejudraus lašo metodu. Matavimai buvo atlikti su Pocket Goniometer PG-2 (Rycobel, Belgija) (2.8 pav.). Ant bandinio paviršiaus dangos užlašinamas fiziologinio tirpalo kontroliuojamo tūrio ($5\text{ }\mu\text{l}$) lašas. Praėjus 3 sekundėms lašas nufotografuojamas skaitmenine kamera, kuri sujungta su kompiuteriu. Vilgymo kampas nustatomas aktyvių kontūrų paviršiaus drėkinimo kampo nustatymo metodu. Metodas prieinamas kaip “Drom Snake” papildinys “ImageJ” programoje. Kiekvienas taškas gautas bandymą pakartojus 3 kartus.



2.8 pav. Goniometras Pocket Goniometer PG-2 (Rycobel, Belgija)

2.8. Neaustinės medžiagos iš MMA/MA nano-mikrogijų skaidumo tyrimas

In vitro skaidumo tyrimas buvo atliktas remiantis M. Hamori ir bendraautorių [73] pateikta metodika su keliomis modifikacijomis. Naudotas bandinys, kurio matmenys $2 \times 2\text{ mm}$ buvo pamerkiamas į fosfatinį buferį (PBS) (Sigma-Aldrich, Vokietija), kurio pH $\sim 7,4$ $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Mikroskopu RML5 (Mikroskop Technik Rathenow GmbH, Vokietija) (2.9 paveiksle) buvo fiksuojamas neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų irimas.



2.9 pav. Mikroskopo video sistema RML5 [74].

2.9. Duomenų statistinė analizė ir matavimo rezultatų paklaidos dydžio įvertinimas

Analizuojant rezultatus buvo nustatytos matavimo rezultatų statistinės charakteristikos [75]:

- Aritmetinis nano-mikrogijų skersmens vidurkis (\bar{d}). Vidutinis nano-mikrogijų skersmuo buvo nustatomas išmatuojant 200 nano-mikrogijų SEM nuotraukose, kuriose mastelis, didinimas tokie patys.
- Vidutinė kvadratinė nuokrypa (s) bei variacijos koeficientas (v):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}; v = \frac{s}{\bar{x}} * 100, \%;$$

- Matavimo rezultatų pasikliautinė paklaida [75]:

$$\Delta_a = \frac{t_a * s}{\sqrt{n}};$$

čia: t_a – Stjudento koeficientas; n – bandymų skaičius.

- Matavimo rezultatų santykinė pasikliautinė paklaida:

$$\delta_a = \frac{\Delta_a}{\bar{x}} \cdot 100\%.$$

2.10. Dviejų bandymų rezultatų palyginimas

Ar nagrinėjami parametrai (koncentracija, kietųjų dalelių paruošimo būdas ir kt.), turi įtakos formuojamų nano-mikrogijų skersmeniui, tarpusavyje buvo lyginamos tų bandinių skersmens vidurkių vertės.

Lyginant vidurkius buvo taikytas t kriterijus[76]:

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) \cdot \sqrt{n \cdot (n-1)}}{\sqrt{(n_1-1) \cdot s_1^2 + (n_2-1) \cdot s_2^2}};$$

Apskaičiuotoji dydžio t vertė palyginama su Stjudento koeficiento t_β verte, atitinkančią pasikliautinę tikimybę $\beta = 0,95$ (t_{95}) ir su jo verte, atitinkančia pasikliautinę tikimybę $\beta = 1,96$ (t_{99}). Jei $t < t_{95}$, skirtumas tarp rezultatų nėra reikšmingas, kitaip sakant nėra įrodytas. Jei $t > t_{95}$ skirtumas tarp rezultatų yra reikšmingas. Jei $t_{95} \leq t \leq t_{99}$, skirtumas tarp rezultatų yra mažai reikšmingas [76].

TYRIMO REZULTATŲ DALIS

3.1 Susintetintų HAp dalelių įtaka neaustinės medžiagos iš PVA nano-mikrogijų struktūrai

Hidroksiapatitas yra neorganinė natūralaus kaulo dalis, plačiai naudojamos kaip kaulų armatūrinis komponentas, kuris gali pagreitinti kaulų formavimąsi. Sintetinis HAp naudojamas kaulinių audinių formavime. Elektrinio verpimo būdu I. Rajzeris suformavo neaustinę medžiagą iš PLDL polimero su HAp dalelių priedu. Ankstesnių tyrimų metu [77] nustatyta, kad optimaliausias HAp kiekis polimeriniame tirpale yra 5 wt%. Šios darbo dalies tikslas nustatyti sintetintų HAp dalelių įterpimo į neaustinę medžiagą iš nano-mikrogijų galimybes ir HAp dalelių apdorojimo būdo įtaką formuojamų neaustinių medžiagų struktūrai.

Tyrimuose buvo naudojamos Mersino universitete, Turkijoje pagamintos skirtingų modifikacijų HAp dalelės (žr. 3 lentelė). Tyrimų metu buvo naudota 12 wt% koncentracijos vandeninis PVA polimerinis tirpalas su 5 wt% HAp priedu. 4 lentelėje pateiktos PVA su HAp polimerinių tirpalų sudėtys.

4 lentelė. Suformuotų PVA polimerinių tirpalų klampa bei nano-mikrogijų skersmens vidurkis

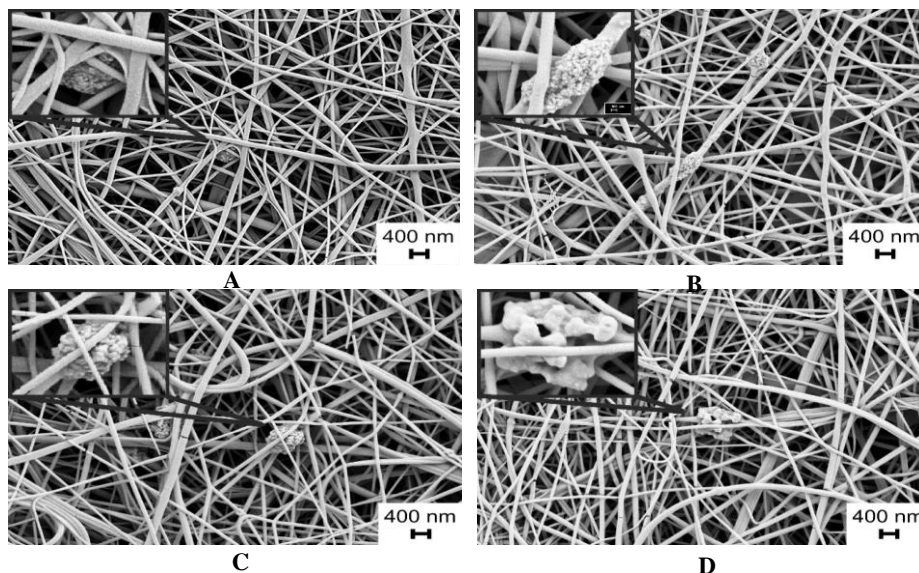
Bandinio kodas	Neaustinės medžiagos kompozicijos sudėtis	Nano-mikrogijų skersmens vidurkis, nm	Polimerinio tirpalo klampa $\pm \Delta$, mPa·s
A	12 % PVA + 5 % HAp	98 \pm 3,5	540 \pm 44
B	12 % PVA + 5 % BHAp*	143 \pm 5,8	553 \pm 18
C	12 % PVA + 5 % HAp (iškaitintos)	125 \pm 5,6	554 \pm 28
D	12 % PVA + 5 % BHAp (iškaitintos)*	111 \pm 4,9	545 \pm 14

* – BHAp (HAp dalelės apdorotos boru)

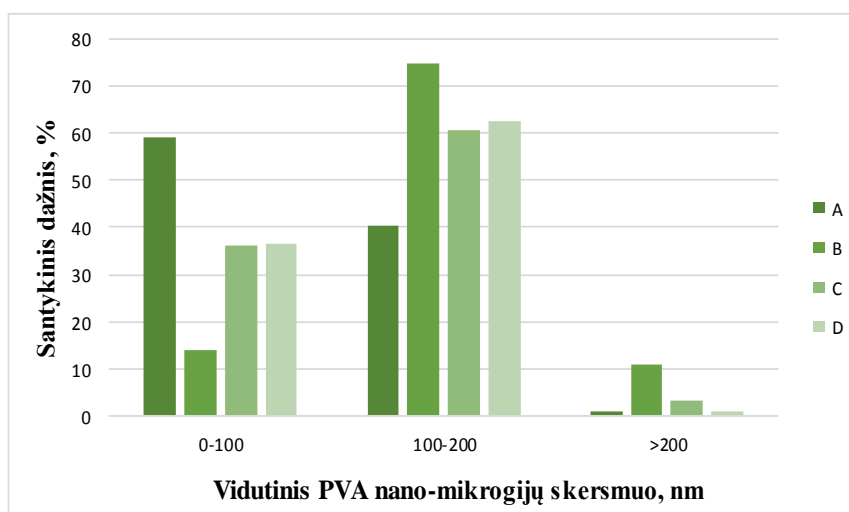
3.1 paveiksle pateiktos neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų SEM nuotraukos, kai neaustinės medžiagos buvo suformuotos iš PVA polimerinių tirpalų su skirtingų modifikacijų HAp priedais. Iš 3.1 paveikslo galime pastebėti, kad HAp dalelių pagaminimo būdas neturi ženklios įtakos neaustinės medžiagos struktūrai, formuojamai elektrinio verpimo būdu. Visais atvejais suformuojama neaustinė medžiaga iš lygių, pilnai išsiskaidžiusių PVA nano-mikrogijų.

Vidutinis PVA nano-mikrogijų skersmuo, kai naudojamos HAp dalelės $\bar{d}_A = 98 \pm 3,5$ (nm $\pm \Delta$); boro priedą turinčios HAp dalelės $\bar{d}_B = 143 \pm 5,8$ (nm $\pm \Delta$); HAp dalelės iškaitintos $\bar{d}_C = 125 \pm 5,6$ (nm $\pm \Delta$) bei boro priedą turinčios iškaitintos HAp dalelės $\bar{d}_D = 111 \pm 4,9$ (nm $\pm \Delta$). Apskaičiavome Stjudento koeficiento reikšmę ją palyginome su lentelinėmis Stjudento koeficiento reikšmėmis atitinkančiomis pasikliautinas tikimybes $\alpha = 95$ ir

$\alpha = 99$ ($t_{95} = 1,98$, $t_{99} = 2,62$). Lyginant HAp dalelių modifikacijų daroma įtaką PVA nano-mikrogijų skersmenims, tarp A ir B bandinyje naudoto HAp, $t = 13,2$, tarp B ir C, $t = 4,4$, tarp C ir D, $t = 3,8$, tarp A ir D, $t = 4,3$. Gautosios Stjudento koeficiento reikšmės yra didesnės už pasikliautinių tikimybių reikšmes, dėl to galime teigti, kad skirtumas tarp gijų skersmenų vidurkių yra reikšmingas, t. y. formuojamų nano-mikrogijų vidutinis skersmuo priklauso nuo naudojamų HAp dalelių modifikacijų.



3.1 pav. Elektrinio verpimo būdu suformuotos neaustinės medžiagos iš PVA nano-mikrogijų ir 4 skirtingų tipų 5 wt % HAp dalelėmis: A – HAp dalelės (žr. 3 lentelė), B – BHAp dalelės, C – HAp dalelės iškaitintos 1000 °C, D – BHAp dalelės iškaitintos 1000 °C, SEM nuotraukos. Didinimas 30000x, mastelis 400 nm. Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ %, $U = 70$ kV, $l = 13$ cm.



3.2 pav. PVA nano-mikrogijų skersmens pasiskirstymas, kai polimerinio tirpalo koncentracija $C = 12$ % bei esant skirtingų modifikacijų HAp priedui (HAp dalelių kiekis polimeriniame tirpale 5 wt%), kai įtampa tarp elektrodų $U = 70$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 13$ cm. A – HAp dalelės, B – BHAp dalelės, C – HAp dalelės iškaitintos 1000 °C, D – BHAp dalelės iškaitintos 1000 °C.

3.2 paveiksle yra pateikta suformuotų PVA nano-mikrogijų gijų skersmens pasiskirstymo histograma.

Iš pateiktos histogramos (3.2 pav.) matyti, kad daugiausiai (59 %) mažiausio skersmens (iki 100 nm) nano-mikrogijų suformuojama iš A tipo polimerinio tirpalo. Į PVA polimerinį tirpalą įterpiant boru modifikuotas HAp (B kodas) ir kaitintas HAp (C ir D kodas) suformuojama neaustinė medžiaga, kurios daugiausiai nano-mikrogijų (70 % B bandinio ir 60 % bei 62 % atitinkamai C ir D) yra 100-200 nm skersmens.

Remiantis gautais tyrimų rezultatais, galime teigti, kad nuo HAp dalelių paruošimo būdo priklauso ir suformuotos neaustinės medžiagos struktūra t. y. suformuojamų gijų skersmuo. Tam įtakos galėjo turėti tai, kad skirtingais būdais paruošiant hidroksiapatitą kinta jo cheminė struktūra. Į paruošimą įterpiant borą iš $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ susidaro $\text{Ca}_2\text{B}_6\text{O}_{11}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, o taikant iškaitinimą temperatūra susidaro ir šalutiniai produktai BO_2 ir BO_3 [66]. Kintant cheminiai struktūra kinta ir molekulinė masė, jai didėjant yra sunkiau formuoti neaustinę medžiaga iš nano-mikrogijų.

3.2 Metilmetakrilato ir metakrilinės rūgšties kopolimerinio (2:1) tirpalo koncentracijos įtaka formuojamų (MMA/MA) nano-mikrogijų struktūrai

Siekiant elektrinio verpimo būdu suformuoti neaustinę medžiagą iš MMA/MA polimero ištirpinto etanolyje, pirmiausiai reikia nustatyti optimaliausią tirpalo koncentraciją.

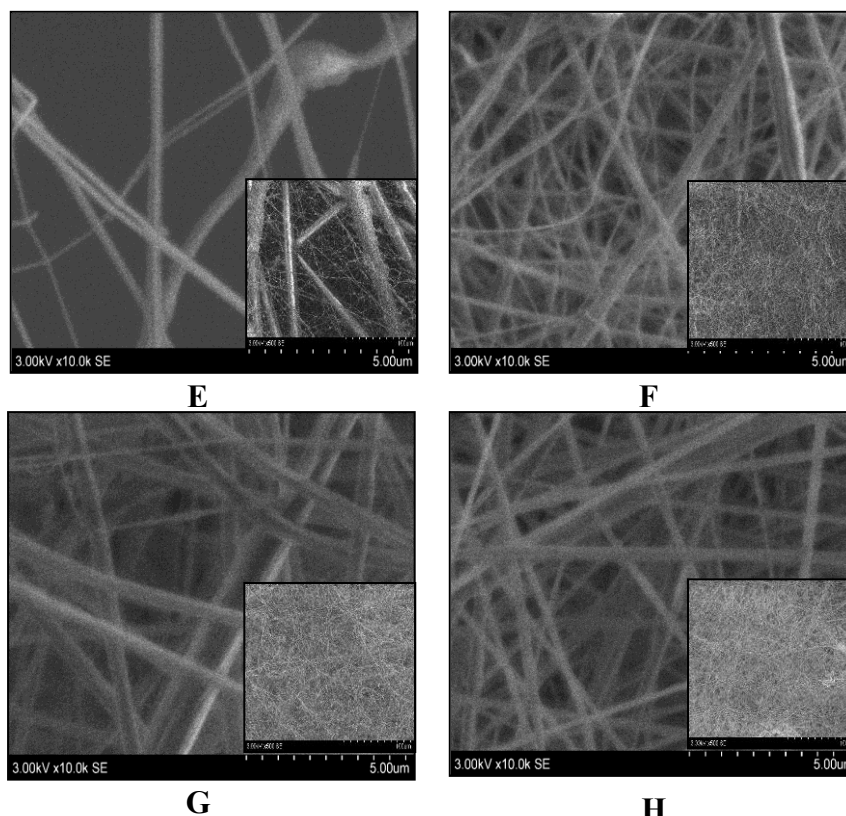
Šioje tyrimų dalyje buvo paruošti keturių skirtingų MMA/MA koncentracijų etanoliniai tirpalai 2,5, 5, 7,5 ir 10 %, kurių klampa pateikta 5 lentelėje. Iš duomenų pateiktų 5 lentelėje matyti, kad didėjant polimerinio tirpalo koncentracijai tirpalo klampa didėja. 10 % MMA/MA koncentracijos tirpalo klampa yra 58 % didesnė nei 2,5 % koncentracijos MMA/MA tirpalo.

5 lentelė. Metilmetakrilato ir metakrilato rūgšties polimerinių tirpalų klampa

Bandinio kodas	MMA/MA polimero koncentracija (C) etanolyje	Klampa $\pm \Delta, mPa \cdot s$
E	2,5 %	14 \pm 6,2
F	5 %	24 \pm 5,3
G	7,5 %	28 \pm 10
H	10 %	33 \pm 12

3.3 paveiksle pateiktos neaustinės medžiagos suformuotos iš skirtingos koncentracijos MMA/MA kopolimerinių tirpalų, SEM nuotraukos. Iš jų galime pastebėti, kad esant mažiausiai (C = 2,5 %) tirpalo koncentracijai (E bandinys), formuojama neaustinės medžiagos struktūra

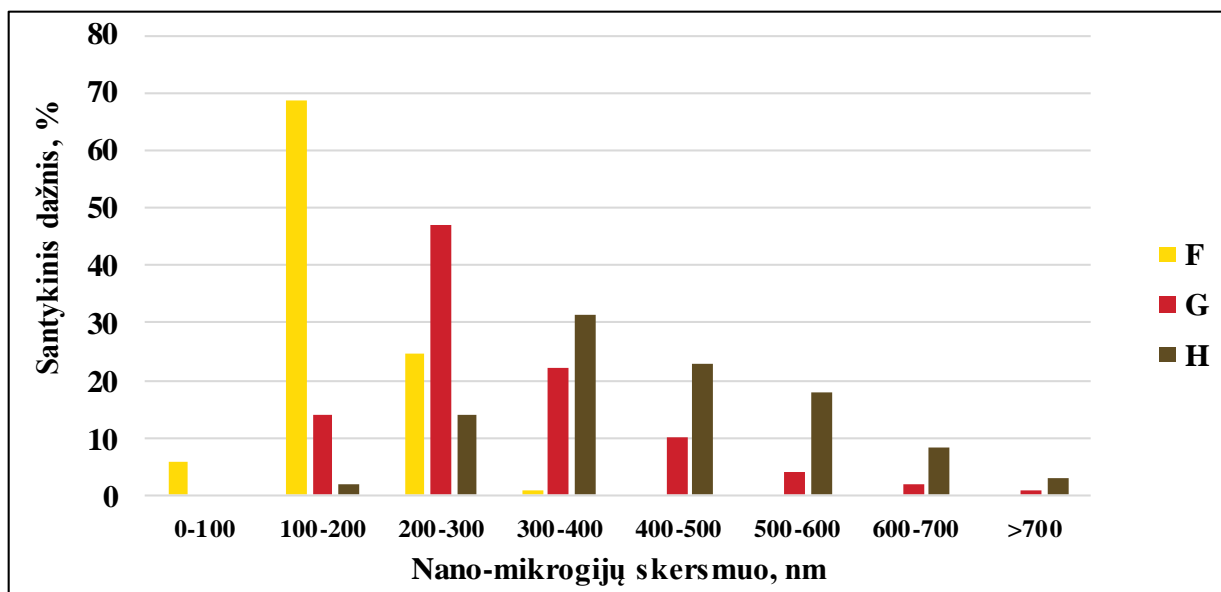
susideda iš pavienių nano-mikrogijų, nesuformuojama vientisa neaustinė medžiaga. Tuo tarpu didinant polimerinio tirpalo koncentraciją, suformuojama kur kas geresnė, tankesnė nano-mikrogijų struktūra. Iš pateiktų nuotraukų matyti, kad F bandinys sudarytas iš smulkesnių nano-mikrogijų nei G ir H bandiniai. Polimerinio tirpalo koncentracijos įtaka gijų skersmeniui buvo nagrinėjama tik F, G, H bandinių, kai suformuojama vientisa neaustinė medžiaga.



3.3 pav. Neaustinės medžiagos suformuotos iš skirtingos koncentracijos MMA/MA, (E – C = 2,5 %; F – C = 5 %; G – C = 7,5 %; H – C = 10 %) polimerinių tirpalų, SEM nuotraukos. Didinimas 10000x, mastelis 5 µm skalės (sumažintos nuotraukos - didinimas 500x, mastelis 100 µm skalės), kai $U = 50 \text{ kV}$, $l = 14 \text{ cm}$. Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$, $\varphi = 50 \pm 4 \text{ \%}$.

Vidutinis MMA/MA nano-mikrogijų skersmuo, esant skirtingoms koncentracijoms $\bar{d}_F = 156,43 \pm 7,1 \text{ (nm } \pm \Delta)$, $\bar{d}_G = 395,57 \pm 16 \text{ (nm } \pm \Delta)$, $\bar{d}_H = 430,81 \pm 19,5 \text{ (nm } \pm \Delta)$. Apskaičiavus Stjudento koeficiento reikšmes jas palyginome su lentelinėmis Stjudento koeficiento reikšmėmis atitinkančiomis pasikliautines tikimybes $\alpha = 95$ ir $\alpha = 99$ ($t_{95} = 1,98$, $t_{99} = 2,62$). Lyginant vidutinius MMA/MA nano-mikrogijų skersmenis suformuotų, tarp F ir G, $t = 26,8$, G ir H, $t = 2,7$, F ir H, $t = 26$. Apskaičiuotos Stjudento koeficiento reikšmės yra didesnės už pasikliautinių tikimybių reikšmes, dėl to galime teigti, kad skirtumas tarp nano-mikrogijų skersmenų vidurkių yra reikšmingas, t. y. formuojamų nano-mikrogijų vidutinis skersmuo priklauso nuo tirpalo koncentracijos.

3.4 paveiksle pateikta suformuotų MMA/MA nano-mikrogijų bandinių (F, G, H) gijų skersmens pasiskirstymo histograma.



3.4 pav. MMA/MA nano-mikrogijų skersmens santykinis pasiskirstymas, kai įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. Skirtingos koncentracijos MMA/MA (F – C = 5 %; G – C = 7,5 %; H – C = 10 %) polimeriniai tirpalai.

Iš pateiktos histogramos (3.4 pav.) matyti, kad esant mažesnei tirpalo koncentracijai buvo suformuotos plonesnės nano-mikrogijos. Iki 75 % nano-mikrogijų, kurių skersmuo yra iki 200 nm yra suformuotos iš tirpalo, kurio koncentracija yra 5 % (F bandinys). Didinant polimerinio tirpalo koncentraciją iki 7,5 % (G bandinys) nano-mikrogijų, kurių skersmuo yra iki 200 nm, kiekis mažesnis beveik 5 kartus. Remiantis gautais rezultatais, galime teigti, kad daugiausiai nano-mikrogijų, kurių skersmuo yra 0-200 nm ribose suformuota iš mažesnės koncentracijos tirpalo.

Analogiškus rezultatus nagrinėjant MMA/MA polimerinių tirpalų koncentracijos įtaką nustatė M. Hamoris su bendraautoriais [73]. Kuo didesnė tirpalo koncentracija, tuo didesnė polimerinio tirpalo klampa ir dėl to yra suformuojamos didesnio skersmens gijos. Remiantis gautais tyrimų rezultatais galime teigti, kad optimaliausia MMA/MA koncentracija 5 %.

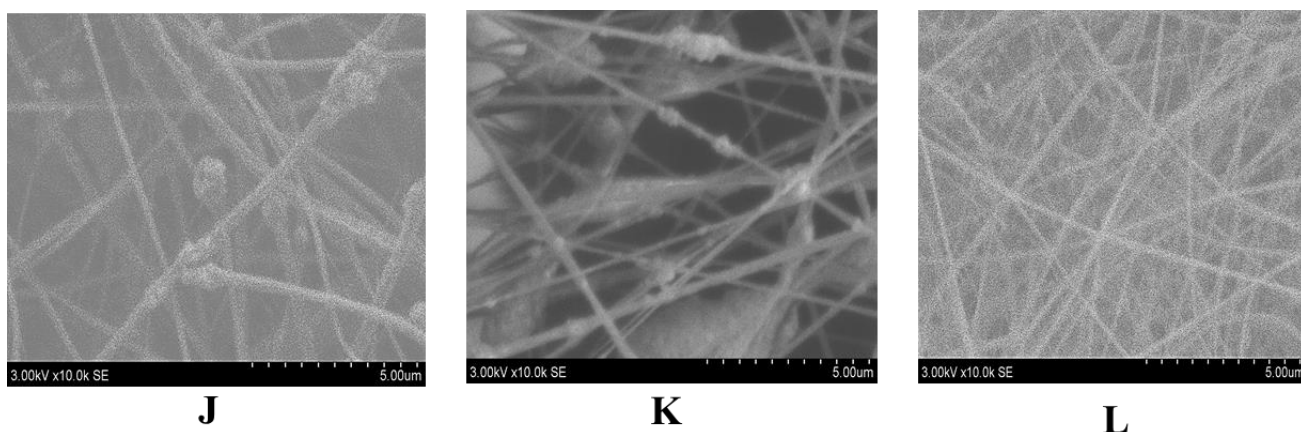
3.3. Sidabro ir HAp nano-mikro dalelių įtaka suformuotų neaustinių medžiagų iš MMA/MA nano-mikrogijų, struktūrai

Antrajame tyrimų etape buvo nustatoma kietųjų funkcinių dalelių HAp ir AgNd įtaka neaustinės medžiagos iš MMA/MA nano-mikrogijų struktūrai. Siekiant nustatyti dispergavimo ultragarsiniu homogenizatoriumi laiko įtaką MMA/MA polimeriniam tirpalui su HAp dalelių priedu, elektrinio verpimo būdu suformuotos neaustinės medžiagos iš MMA/MA polimerinio tirpalo su kietosiomis funkcinėmis HAp dalelėmis.

Šioje tyrimų dalyje buvo taikomos trys skirtingos MMA/MA polimerinių tirpalų su HAp dalelėmis dispergavimo trukmės (3min., 30 min., 180 min.), bandinių klampa pateikta 6 lentelėje. Iš pateiktų duomenų matyti, kad taikant ilgiausią dispergavimo trukmę (180 min.) MMA/MA polimeriniam tirpalui su HAp dalelėmis (bandinys L), polimerinio tirpalo klampa sumažėjo 57 % lyginant su trumpiausia taikyta dispergavimo trukme (bandinys J). Kuo ilgesnė tirpalo dispergavimo trukmė, tuo mažiau HAp dalelių agregatų tirpale, tuo mažesnė tirpalo klampa.

6 lentelė. Neaustinių medžiagų kompozicinė sudėtis bei gijų skersmuo

Bandinio kodas	Neaustinės medžiagos kompozicijos sudėtis	Polimerinio tirpalo klampa $\pm \Delta$, mPa·s
J	5% MMA/MA + 5% HAp (3 min.)	49 \pm 21
K	5% MMA/MA + 5% HAp (30 min.)	39,5 \pm 10
L	5% MMA/MA + 5% HAp (180 min.)	27,9 \pm 6,5

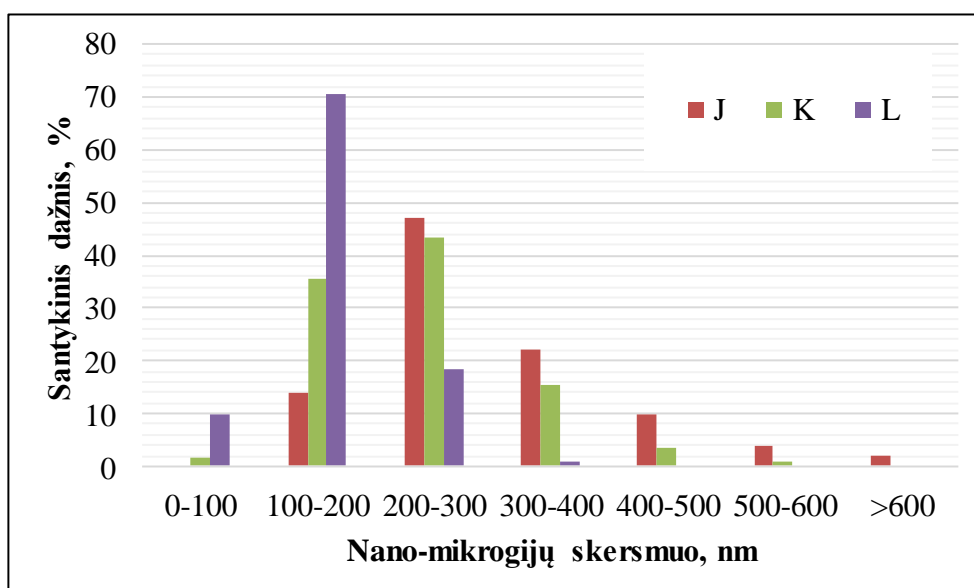


3.5 pav. Neaustinės medžiagos suformuotos iš 5 % (MMA/MA) ir skirtingo HAp dispergavimo laiko priedo tirpalų, SEM nuotraukos. J – 5 % HAp priedu disperguotu 3 min., K – 5 % HAp priedu disperguotu 30 min., L – 5 % HAp priedu disperguotu 180min.). Didinimas 10000x, mastelis 5 μ m skalės, kai $U = 50$ kV, $l = 14$ cm, Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ %..

3.5 paveiksle pateiktos neaustinės medžiagos suformuotos iš MMA/MA ir skirtingo HAp dispergavimo laiko priedo tirpalų, SEM nuotraukos (J – 3 min., K – 30 min., L – 180 min.). Iš jų galime pastebėti, kad taikant ilgiausią dispergavimo trukmę (bandinys L), formuojama neaustinės medžiagos struktūra susideda iš didesnio kiekio, plonesnių nano-mikrogijų lyginant su trumpiausia dispergavimo trukme (bandinys J). Nepriklausomai nuo dispergavimo trukmės visos neaustinės medžiagos iš MMA/MA polimerinio tirpalo suformuotos su HAp dalelėmis.

3.6 paveiksle pateikta suformuotų MMA/MA nano-mikrogijų histograma taikant bandiniams (J, K, L) skirtingas dispergavimo trukmes. Iš suformuotų MMA/MA nano-mikrogijų su kietosiomis, funkcinėmis HAp dalelėmis matyti, kad esant ilgesniam dispergavimo laikui (bandinys

L) buvo suformuotos plonesnės nano-mikrogijos. Iki 80,5 % nano-mikrogijų, kurių skersmuo yra iki 200 nm yra suformuotos taikant 3 val. trukmės dispergavimą, nes pastarojo tirpalo klampa yra mažiausia.



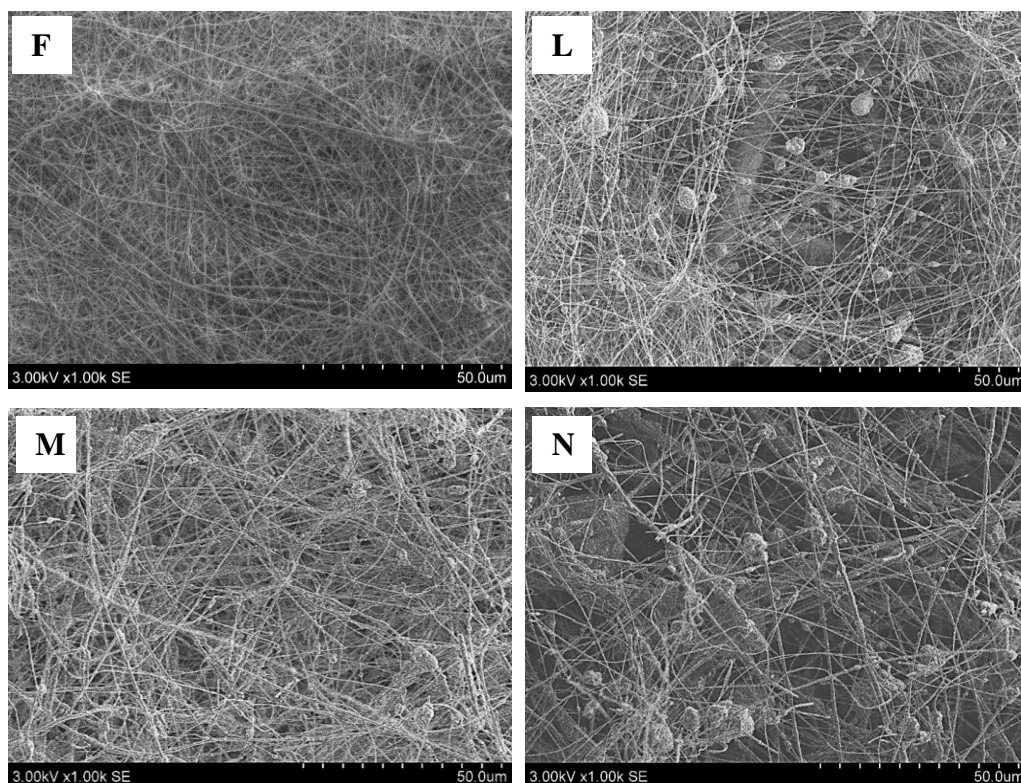
3.6 pav. MMA/MA nano-mikrogijų skersmens santykinis pasiskirstymas, kai polimerinio tirpalo koncentracija $C = 5\%$, naudojant skirtingų dispergavimo trukmių HAp daleles. Įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. J – 5 % HAp priedu disperguotu 3 min., K – 5 % HAp priedu disperguotu 30 min., L – 5 % HAp priedu disperguotu 180 min.

Atlikus dispergavimo trukmės tyrimą, antroje dalyje siekta nustatyti ar AgNd turi sinergetinį poveikį kartu su HAp nano-mikrodalelėmis formuojamos neaustinės medžiagos struktūrai ir formuojamų nano-mikrogijų skersmeniui. Neaustinės medžiagos buvo formuojamos iš 5 % MMA/MA polimerinio tirpalo su 5 % HAp nano-mikrodalelių priedu keičiant AgNd dalelių priedo paruošimo būdą. 7 lentelėje pateiktos naudotos polimerinių tirpalų kompozicijos. Visoms polimerinių tirpalų kompozicijoms buvo taikyta 3 val. dispergavimo trukmė.

7 lentelė. Neaustinių medžiagų kompozicinė sudėtis bei gijų skersmuo

Bandinio kodas	Neaustinės medžiagos kompozicijos sudėtis	Polimerinio tirpalo klampa $\pm \Delta$, mPa·s
F	5 % MMA/MA	$24 \pm 5,3$
L	5 % MMA/MA + 5 % HAp (3val.)	$27,9 \pm 6,5$
M	5 % MMA/MA + 5% HAp (3 val.) + 5 % AgNd (PVP)	$37,0 \pm 15,4$
N	5 % MMA/MA + 5 % HAp (3 val.) + 5 % AgNd (Chlor.)	$37,7 \pm 14,1$

7 lentelėje pateikta MMA/MA polimerinių tirpalų sudėtis ir klampa. Gauta, kad į MMA/MA polimerinį tirpalą įmaišius HAp dalelių polimerinio tirpalo klampa padidėja apie 16 %, o įterpus AgNd (PVP) dalelių, polimerinio tirpalo klampa padidėja 33 %.



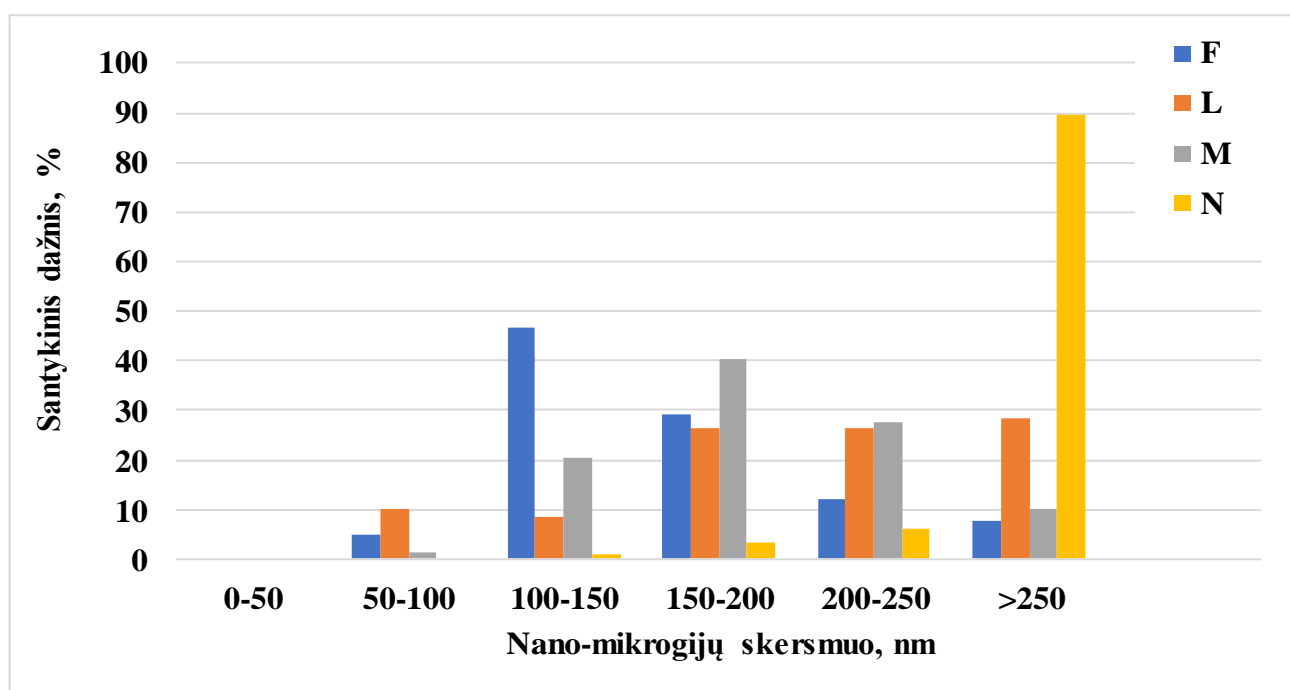
3.7 pav. Elektrinio verpimo būdu formuotos neaustinės medžiagos iš MMA/MA ir skirtingų kietųjų nano-mikrodalelių nano-mikrogijų SEM nuotraukos. Didinimas 1000x, mastelis 50 μm skalės F – gryna MMA/MA neaustinė medžiaga, L – 5 % HAp priedu, M – 5 % HAp ir 5 % AgNd(PVP) ir N – 5 % HAp ir 5 % AgNd (paruoštos chloroforme). Įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. Elektrinio verpimo metu $t = 18 \pm 4$ °C, $\varphi = 50 \pm 4$ %.

3.7 paveiksle pateiktos neaustinių medžiagų iš MMA/MA nano-mikrogijų, suformuotų su HAp ir AgNd funkcinių kietųjų dalelių priedu, SEM nuotraukos (F, L, M, N bandinių). Visose bandinių SEM nuotraukose matyti HAp nano-mikro dalelės bei jų sudaryti aglomeratai. Iš pateiktų SEM nuotraukų galima pastebėti, kad visais nagrinėtais atvejais suformuojamos neaustinės medžiagos iš vientisų MMA/MA nano-mikrogijų. L, M, N bandinių SEM nuotraukose galima pastebėti ir kietųjų funkcinių dalelių buvimą MMA/MA neaustinių medžiagų struktūroje.

Vidutinis MMA/MA nano-mikrogijų skersmuo, esant skirtingiems kietųjų nano-mikrodalelių priedams $\bar{d}_L = 234,96 \pm 10,4$ (nm $\pm \Delta$), $\bar{d}_M = 189,1 \pm 6,9$ (nm $\pm \Delta$), $\bar{d}_N = 401,59 \pm 18,4$ (nm $\pm \Delta$). Apskaičiavus Stjudento koeficiento reikšmes jas palyginome su lentelinėmis Stjudento koeficiento reikšmėmis atitinkančiomis pasikliautines tikimybes $\alpha = 95$ ir $\alpha = 99$ ($t_{95} = 1,98$, $t_{99} = 2,62$). Lyginant nano-mikrogijų skersmenis, L – 5 % HAp ir M – 5 % HAp + 5 % AgNd, $t = 7,2$, kai M – 5 % HAp + 5 % AgNd ir N – 5 % HAp + 5 % AgNd (chloroforme), $t = 21,2$, kai L – 5 % HAp ir N – 5 % HAp + 5 % AgNd (chloroforme), $t = 15,5$. Gautos Stjudento

koeficiento reikšmės yra didesnės už pasikliautinių tikimybių reikšmes, dėl to galima teigti, kad skirtumas tarp nano-mikrogijų skersmenų vidurkių yra reikšmingas, t. y. formuojamų nano-mikrogijų vidutinis skersmuo priklauso nuo naudojamų kietųjų dalelių.

Iš suformuotų MMA/MA nano-mikrogijų histogramos (3.8 pav.) matyti, kad 75 % nano-mikrogijų suformuojama iš gryno MMA/MA polimerinio tirpalo, kurių skersmuo kinta iki 200 nm. Į MMA/MA įterpant HAp daleles suformuojama 45 % gijų, kurių skersmuo iki 200 nm. Tai yra įterpant HAp daleles suformuojama mažiau mažesnio skersmens nano-mikrogijų, nes tirpalo klampa padidėja apie 14 %. Į polimerinį tirpalą įterpant AgNd paruoštas PVP etanolyje (1 metodas, žr. 2.1.2 sk.) suformuojama 60 % MMA/MA nano-mikrogijų iki 200 nm (bandinys M).



3.8 pav. MMA/MA nano-mikrogijų skersmens santykinis pasiskirstymas, kai polimerinio tirpalo koncentracija $C = 12$ %, naudojant skirtingų kietųjų nano-mikrodalelių priedus. Įtampa tarp elektrodų $U = 50$ kV, atstumas tarp elektrodų $l = 14$ cm. F – (MMA/MA), L – (MMA/MA)/5 % HAp, M – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % AgNd (PVP), N – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % Ag (Chlor.)

Gauti tyrimų rezultatai koreliuoja su A. Suslu su bendraautoriais [78] aprašytais tyrimų rezultatais, kad įterpus AgNd daleles suformuojama daugiau mažesnio skersmens gijų, nes AgNd padidina polimerinio tirpalo laidumą elektros srovei. Pirmuoju AgNd dalelių paruošimo metodu naudojamas PVP polimeras, kuris sąlygoja didesnę tirpalo klampą, o tirpiklis naudojamas etanolis t. y. toks pat kaip ir MMA/MA polimeriniame tirpale. Antruoju AgNd dalelių paruošimo metodu naudojamas ne etanolis, o chloroformas. Į MMA/MA polimerinį tirpalą įterpus AgNd dalelių chloroforme tirpalo klampa taip pat padidėja ir šiuo atveju suformuojama tik 6 % gijų, kurių skersmuo iki 200 nm. Iš MMA/MA su HAp ir AgNd chloroforme (bandinys N) suformuojam net 90 % gijų, kurių skersmuo daugiau nei 250 nm. Pastariesiems rezultatams įtakos turėjo

chloroformas. Chloroformas pasižymi 5 kartus didesniu garavimo greičiu nei etanolis, todėl verpimo metu, polimeriniam tirpalui esant lovelyje keičiasi tirpalo klampa, ko pasekoje suformuojamos didesnio skersmens nano-mikrogijos.

3.4. Neaustinės medžiagos iš (MMA/MA) nano-mikrogijų su sidabro ir HAp priedu antibakterines savybių tyrimas

Šiame tyrimo etape buvo tirtos neaustinės medžiagos iš MMA/MA nano-mikrogijų su sidabro ir HAp funkcinių kietųjų dalelių priedu antibakterinės savybės. 8 lentelėje pateiktos naudotų polimerinių tirpalų sudėtys.

Bandinių antibakterinės savybės buvo iširtos naudojant prokariotinius mikroorganizmus: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 bei eukariotinę mikroorganizmų grybų kultūra *Candida albicans* ATCC 10231. *S. aureus* yra gramteigiamos bakterijos su būdinga stora iš peptidoglikano sudaryta ląstelės sienele. *P. aeruginosa* bei *K. pneumoniae* yra gramneigiamos bakterijos su būdinga dviejų sluoksnių sudaryta ląstelės sienele. Visi šie mikroorganizmai yra natūrali žmogaus mikroflora.

Iš gautų rezultatų pateiktų 8 lentelėje matyti, kad dalis tirtų bandinių pasižymi antibakterinėmis bei antigrybelinėmis savybėmis. Kontroliniame bandinyje F, kurį formuojant buvo naudojamas, tik MMA/MA polimerinis tirpalas nebuvo pastebėtas joks antibakterinis ar antigrybelinis poveikis. Bandinys L, su 5 % HAp dalelių priedu taip pat nepasižymėjo antibakterinėmis bei antigrybeliniu poveikiu. Panašius rezultatus nagrinėjant HAp antibakterines savybes gavo H. Celebias su bendraautoriais [58], jie tyrime naudojo kompozitinę neaustinę nano-mikrogijų medžiagą iš chitozano/PVA polimerinio tirpalo ir tyrimų metu taip pat nustatė, kad HAp nano-mikrodalelės suformuotoms medžiagoms nesuteikia antibakterinių savybių.






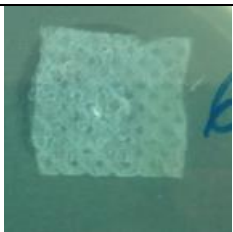



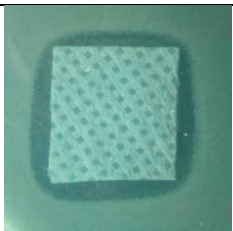

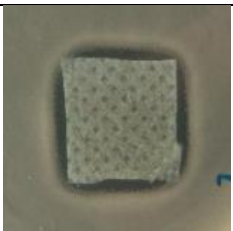


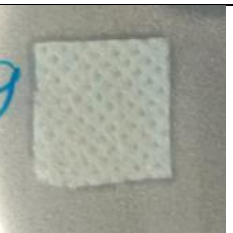

8 lentelė. Antimikrobinis neaustinės medžiagos iš MMA/MA nano-mikrogijų poveikis

Standartinė mikroorganizmų kultūra	F	L	M	N
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	+(3)	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	+(2)	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	+(5)	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	-	-	+(2)	-

+ : nustatytas antibakterinis poveikis; - : nenustatytas antibakterinis poveikis; (skliausteliuose sudaryta lizės zona, mm)

Iš 8 lentelės matyti, kad teigiamu efektu prieš bakterijas bei grybelius turi bandinys M. 3.9 paveiksle pavaizduotos vizualus bandinių (F, L, M, N) antimikrobinis poveikis sudarant lizės

zonos (zonose nepasireiškia bakterinis aktyvumas). Bandinio M formavime buvo naudojamos AgNd dalelės paruoštos pagal (AgNd dalelių formavimas PVP ir etanolio tirpale) metodiką kuomet AgNd gaunamos iš AgNO₃ naudojant PVP polimerinį tirpalą. Stipriausias antigrybelinis poveikis pastebėtas naudojant M bandinį, kuriuo buvo paveikta grybinė mikroorganizmų kultūra *C. albicans*. Juose susidarė, net ~2 kartus didesnė lizės zona, nei prieš tirtus prokariotinius mikroorganizmus. M antibakteriniam poveikiui jautriausias buvo *S. aureus*. Bandinys N (su AgNd paruoštu chloroforme) antibakteriniu ir antigrybeliniu poveikiu nepasižymėjo.

	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Candida albicans ATCC 10231	Klebsiella pneumoniae ATCC 13883
F				
L				
M				
N				

3.9 pav. Neausinės medžiagos iš MMA/MA nanomikrogijų su AgNd (PVP) priedu sudarytos lizės zonos prieš skirtingus mikroorganizmų rūšis. F – (MMA/MA), L – (MMA/MA)/5 % HAp, M – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % AgNd (PVP), N – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % Ag (Chlor.)

Remiantis gautais tyrimų rezultatais nustatyta, kad AgNd paruošimo būdas turi įtakos formuojamų neaustinių medžiagų struktūrai ir antibakterinėms savybėms. Gauti rezultatai koreliuoja su literatūroje pateiktais rezultatais nagrinėjant AgNd kietųjų nano-mikrodalelių įtaką neaustinių medžiagų antibakterinėms savybėms. E. Adomavičiūtė su bendraautoriais [79] savo

tyrime nustatė, kad AgNd nano-mikrodalelės neaustinėje medžiagoje pasižymi antibakteriniu ir antigrybeliniu poveikiu prieš *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

3.5. Sidabro ir HAp nano-mikrodalelių kietųjų dalelių įtaka elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų vilgymo kampui

Tyrimų metu buvo nuspręsta nustatyti, kokią įtaką turi formuojamų neaustinių medžiagų iš PVA bei MMA/MA nano-mikrogijų su AgNd, HAp funkcinių kietųjų dalelių priedu paviršiaus vilgymo savybėms,

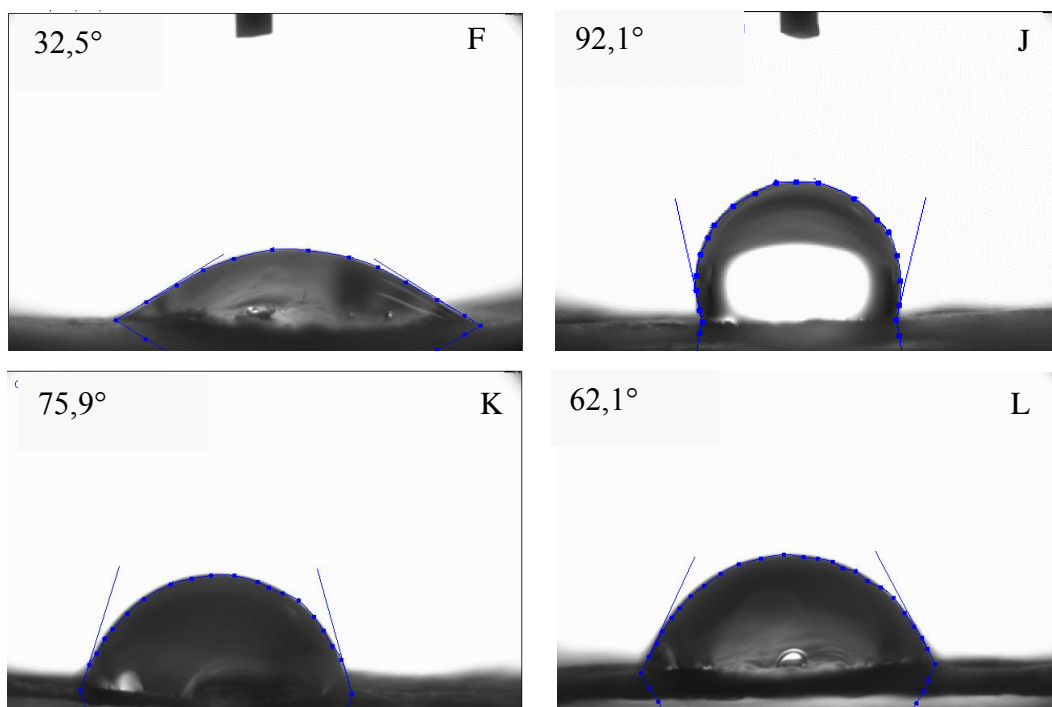
9 lentelė. Neaustinių medžiagų kompozicijos įtaka nano-mikrogijų skersmeniui bei vilgymo kampui.

Bandinio kodas	Neaustinės medžiagos kompozicijos sudėtis	Gijų skersmens vidurkis, nm	Vilgymo kampas
A	12% PVA + 5% HAp	97,63 ± 3,5	17,60 ± 2,1
B	12% PVA + 5% BHAp	143,26 ± 5,8	22,26 ± 2,5
C	12% PVA + 5% HAp (iškaitintos)	125,23 ± 5,6	22,45 ± 1,4
D	12% PVA + 5% BHAp (iškaitintos)	110,81 ± 4,9	12,5 ± 1,6
F	5% MMA/MA	156,43 ± 7,1	32,5 ± 1,4
J	5% MMA/MA + 5% HAp (3min)	305,21 ± 16,4	92,1 ± 1,4
K	5% MMA/MA + 5% HAp (30min.)	238,1 ± 11,5	75,9 ± 2,3
L	5% MMA/MA + 5% HAp (3val)	234,96 ± 10,4	62,1 ± 1,2
M	5% MMA/MA + 5% HAp (3val) + 5% AgNd	189,1 ± 6,9	73,2 ± 2,8

Pirmiausia buvo ištirta, kokią įtaką neaustinės medžiagos iš PVA nano-mikrogijų paviršiaus vilgimui turi HAp (su boru ir be jo) dalelių paruošimas. 9 lentelėje pateikta neaustinių medžiagų iš PVA nano-mikrogijų ir skirtingų modifikacijų HAp vilgymo tyrimai (A-D bandiniai). Iš pateiktų duomenų matyti, kad D varianto bandinio vilgumo kampas apie 56% mažesnis nei bandinio C, kuriam taip pat buvo taikytas toks pat dalelių apdorojimas. Tam įtakos galėjo turėti didesnio diametro neaustinės medžiagos nano-mikrogijos. Iš didesnio skersmens sudarytos nano-mikrogijų neaustinės medžiagos paviršiuje yra didesnio skersmens porų, kurios stabdo lašo sklidimą dėl susidarančių įtempčių [80].

Išsamesni vilgymo tyrimai atlikti nagrinėjant neaustines medžiagas iš MMA/MA polimerinio tirpalo. Analizuojant, kaip veikia kietųjų dalelių dispergavimo laikas polimeriniame tirpale suformuojamos neaustinės medžiagos paviršiaus savybėms buvo naudojamas vienodas HAp kiekis ir disperguojamas skirtingomis trukmėmis ultragarsiniu homogenizatoriumi. Gauti bandinių F, J, K, L duomenys pateikti 9 lentelėje, o 3.10 paveiksle pavaizduoti šių bandinių paviršiaus kontaktiniai kampai su fiziologiniu tirpalu. Grynos MMA/MA neaustinės medžiagos paviršiaus

savybės yra hidrofilinės, nes fiziologinio tirpalo vidutinis kontakto kampas buvo $32,5^\circ$. Mažiausią iš MMA/MA bandinių vilgymo kampą galėjo nulemti karboksilinės grupės polimere suteikiančios polimerui hidrofilinių savybių.



3.10 pav. Fiziologinio tirpalo kontakto kampai su neaustine medžiaga. Neaustinės medžiagos sudarytos iš: F – 5% MMA/MA; J – 5% MMA/MA ir 5% HAp (dalelės disperguotos 3 minutes); K – 5% MMA/MA ir 5% HAp (dalelės disperguotos 30 minučių); L – 5% MMA/MA ir 5% HAp (dalelės disperguotos 180 min.).

Lyginant, kokią įtaką turi HAp dispergavimo laikas polimeriniame tirpale nustatyta, kad esant trumpai dispergavimo trukmei (apie 3 minutes) suformuojamos medžiagos hidrofobinės savybės padidėjo $\sim 14\%$ lyginant su neaustine medžiaga, kurios HAp dalelių įterpimo metu, polimerinis tirpalas buvo disperguojamas 30 minučių. Prailginus HAp dalelių dispergavimo trukmę iki 3 valandų, hidrofilinės savybės sustiprėjo $\sim 30\%$ lyginant su trumpiausia dispergavimo trukme. Ilgesnis dispergavimo laikas pagerina suformuojamos neaustinės medžiagos hidrofilines savybes. Dėl to, kad kietosios HAp dalelės ilgiau veikiamos ultragarsiniu homogenizatoriumi, geriau pasiskirsto polimeriniame tirpale bei neformuoja agregatų, kurie elektrinio verpimo metu daro įtaką formuojamos gijos skersmeniui, storindamas ją. Gauti tyrimo rezultatai koreliuoja su literatūroje [81] pateiktais rezultatais. Literatūroje yra aprašomas paviršiaus vilgymo kampo kitimas, naudojant skirtingo dydžio HAp daleles. Remiantis S. Roohani-Esfahani ir kt. [81] darbo duomenimis, naudojant mažesnio dydžio HAp daleles neaustinės medžiagos formavime, suformuota medžiaga pasižymi mažesniu vilgymo kampu, nei naudojant didelio skersmens daleles.

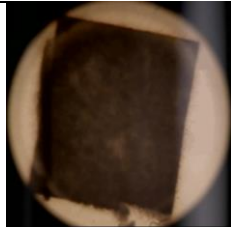
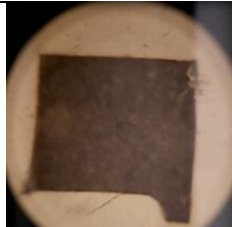
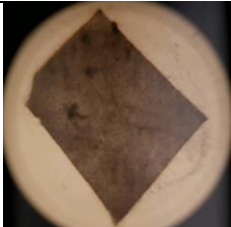
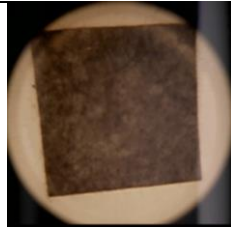
Norint nustatyti sidabro nanodalelių įtaką suformuotų neaustinių medžiagų struktūrai į ilgiausios dispergavimo trukmės MMA/MA polimerinį tirpalą su HAp dalelėmis pridėti 5 % masės dalies AgNd priedas ir visas polimerinis tirpalas disperguotas 3 min. Gauti bandinio M duomenys pateikti 9 lentelėje. Neaustinė medžiaga su AgNd priedu suformuota iš 20% didesnio vidutinio skersmens nano-mikrogijų nei be jo. Dėl šios priežasties neaustinės medžiagos vilgymo kampas padidėjo 18%, nei L bandinio. A. Amarjargal'as su bendraautorais [82] tyrime aprašė, kad AgNd kietųjų dalelių priedas padidina paviršiaus vilgymą. Tikėtina, kad priešingi rezultatai gauti, nes bendras kietųjų dalelių kiekis polimeriniame tirpale, padidino polimerinio tirpalo klampą, kai išgaravo chloroformas, dėl to gaunamos didesnio skersmens nano-mikrogijos.

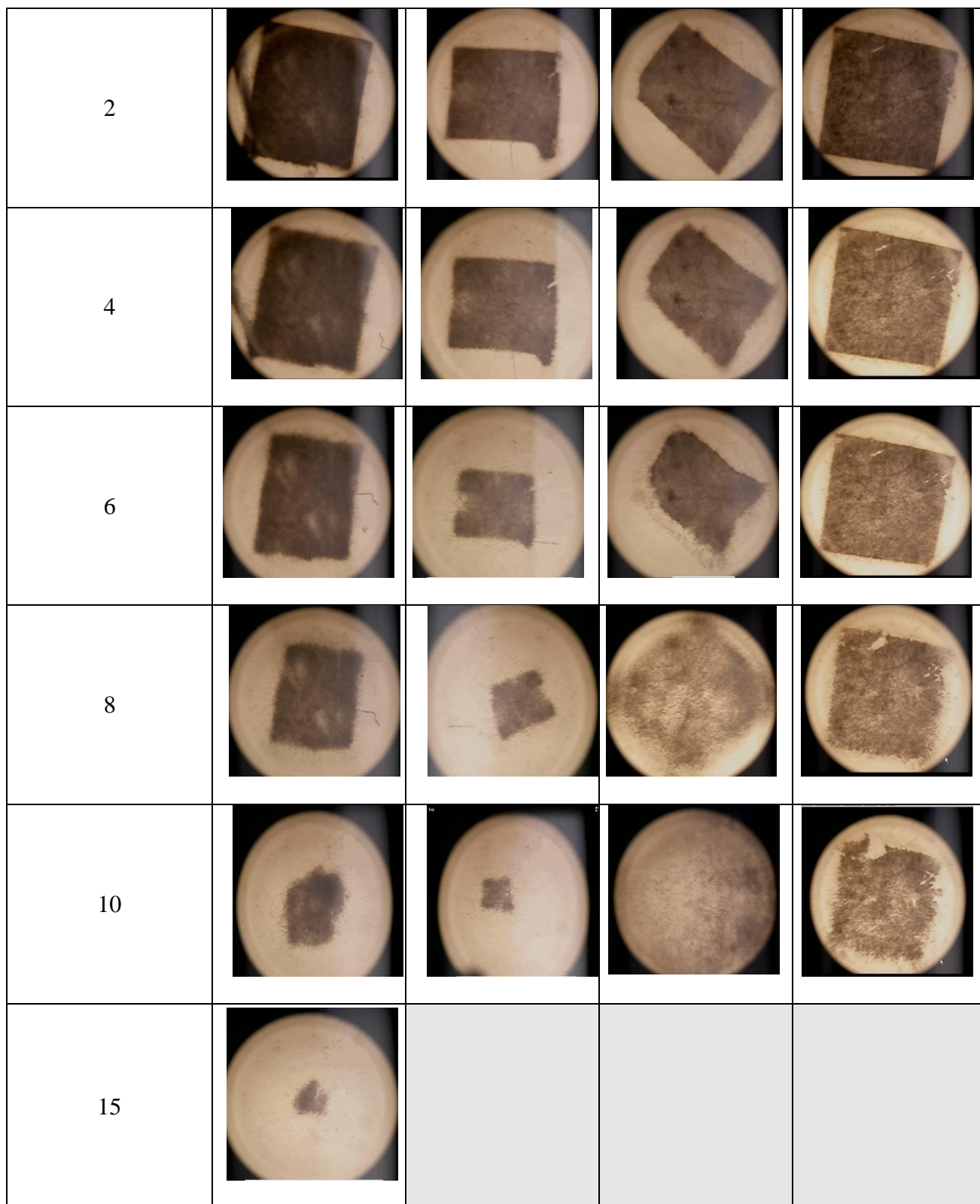
3.6 Sidabro ir HAp nano-mikrodalelių funkcinį kietųjų dalelių įtaka elektrinio verpimo būdu suformuotų neaustinių medžiagų skaidumui

Eksperimentai buvo atliekami ir tiriant neaustinių medžiagų su funkcinėmis kietosiomis dalelėmis skaidumo galimybes. Siekiant įvertinti, kokią įtaką neaustinės medžiagos skaidumui daro kietųjų nano-mikrodalelių įterpimas buvo naudojamos keturios skirtingos kompozicijos (žr. 6 lentelė) neaustinės medžiagos. 3.8 paveiksle pateiktas kompozicijų aprašymas bei bandinių irimas laiko bėgyje.

Iš pateikto 3.8 paveikslo matyti, kad nuo skaidymo proceso pradžios praėjus 2 minutėms, bandinių kraštai yra pradėję irti. 4-tąją minutę bandinyje su HAp ir AgNd (chlor.)priedu atsiranda mikroįtrūkimų pačiame bandinio viduryje. Praėjus 8-ioms minutėms, matoma, kad 5% MMA/MA polimero neaustinė medžiaga iš nano-mikrogijų yra mažiausiai apirusi lyginant su kitais neaustinių medžiagų bandiniais, turinčiais HAp ir AgNd nano-mikrodalelių priedą. 5 % MMA/MA polimero neaustinė medžiaga visiškai suyra per 15 minučių. Tuo tarpu su 5 % HAp priedu neaustinė medžiaga suiro per 8 minutes. Su + 5 % Hap + 5 % AgNd (PVP) per 7 minutes, o + 5 % HAp + 5 % AgNd (Chloroforme) per 8 minutes.

Bandymų metu, buvo vizualiai nustatyta, kad atspariausia irimui yra neaustinė medžiaga sudaryta tik iš MMA/MA nano-mikrogijų be funkcinį kietųjų dalelių.

Kompozicija	F	L	M	N
Laikas, min.				
0				



3.11 pav. Skirtingų kompozicijų neaustinių medžiagų iš MMA/MA nano-mikrogijų skaidumas PBS tirpale. F – (MMA/MA), L – (MMA/MA)/5 % HAp, M – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % AgNd (PVP), N – (MMA/MA)/5 % HAp + 5 % Ag (Chlor.)

Remiantis gautais tyrimų rezultatais nustatyta, kad kietųjų funkcinių dalelių įterpimas į neaustinę medžiagą sąlygoja greitesnį medžiagų irimą. Analogiškus rezultatus nagrinėjant HAp kietųjų dalelių priedo įtaka neaustinės medžiagos irimo greičiui gavo Y. Itas su bendraautoriais

[28], įterpus į neaustinę medžiagą HAp kietųjų dalelių, ji suiro sparčiau dėl hidrofiliųjų savybių sustiprėjimo pakitus neaustinės medžiagos morfologijai.

IŠVADOS

1. Elektrinio verpimo būdu galima suformuoti neaustinę medžiagą iš nano-mikrogijų su HAp dalelėmis. HAp dalelių paruošimo būdai turi įtakos formuojamos PVA neaustinės medžiagos nano-mikrogijų skersmeniui. Neaustinė medžiaga iš 59 % PVA nano-mikrogijų, kurių skersmuo iki 100 nm buvo suformuota naudojant HAp daleles paruoštas rūgšties bazės metodu. HAp daleles apdorojant boru ar papildomai kaitinant sąlygoja didesnio skersmens (iki 14 % nano-mikrogijų, kurių skersmuo kinta iki 100 nm) PVA nano-mikrogijų formavimąsi.
2. Nuo MMA/MA tirpalo koncentracijos priklauso suformuotos neaustinės medžiagos gijų skersmuo. Iki 75 % MMA/MA nano-mikrogijų, kurių skersmuo yra iki 200 nm yra suformuotos iš tirpalo, kurio koncentracija yra 5 %. Didinant polimerinio tirpalo klampą suformuojama didesnio skersmens nano-mikrogijos (tik 2 % gijų suformuojama iki 200 nm esant didžiausiai 10 % polimero koncentracijai tirpale).
3. Naudojant kietąsias HAp daleles neaustinių medžiagų formavime iš MMA/MA polimero, gaunamos didesnio skersmens nano-mikrogijos. Į polimerinį tirpalą įterpiant HAp dalelių suformuojama daugiau (36 % gijų, kurių skersmuo didesnis už 200 nm) didesnio skersmens nano-mikrogijų, nes tirpalo klampa padidėja. AgNd dalelių įterpimas į MMA/MA su HAp dvikomponentį tirpalą sąlygoja daugiau (16,5 % gijų, kurių skersmuo mažesnis už 200 nm.) mažesnio skersmens gijų formavimąsi.
4. AgNd paruošimo būdas turi įtakos neaustinės medžiagos iš nano-mikrogijų struktūrai ir antimikrobinėms savybėms. Į MMA/MA polimerinį tirpalą įterpiant AgNd daleles suformuotas chloroforme, suformuojama neaustinė medžiaga iš didesnio skersmens nano-mikrogijų (iki 89 % nano-mikrogijų, kurių skersmuo kinta virš 250 nm), negu į tirpalą įterpiant AgNd daleles paruoštas su PVP ir etanolio tirpalu. Neaustinės medžiagos iš MMA/MA nano-mikrogijų pasižymi antimikrobinėmis savybėmis tik įterpus AgNd daleles suformuotas PVP ir etanolio tirpale.
5. Kietųjų funkcinų dalelių (HAp ir AgNd) įterpimas į neaustinės medžiagos struktūrą turi įtakos formuojamos neaustinės medžiagos vilgymo savybėms. Neaustinės medžiagos iš MMA/MA ir PVA nano-mikrogijų su kietosiomis funkcinėmis dalelėmis (AgNd, HAp) pasižymi didesniu vilgymo kampu, t. y. kietosios dalelės didina medžiagos hidrofobines savybes.
6. Kietųjų funkcinų HAp ir AgNd dalelių įterpimas į neaustinę medžiagą turi įtakos formuojamų neaustinių medžiagų iš nano-mikrogijų irimo greičiui. Tyrimo metu nustatyta, kad kietųjų dalelių priedas MMA/MA neaustinėje medžiagoje, skatina spartesnę neaustinės medžiagos

irimą. Gauta, kad MMA/MA neaustinė medžiaga suiro per 15 min., tuo tarpu su HAp priedu per 8 min., o su HAp ir AgNd (PVP) priedu per 7 min.

ŠALTINIAI

1. **HU X., et al.** Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *Journal of Controlled Release*. Elsevier, 2014, 185(10). ISSN: 0168-3659. Prieiga per: Science Direct.
2. **GIBSON P., H. S. GIBSON and D. RIVIN.** Transport Properties of Porous Membranes Based on Electrospun Nanofibers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Elsevier, 2001, 187-188. ISSN: 0927-7757. Prieiga per: doi: [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(01\)00616-1](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)00616-1).
3. **HONG, Y. et al.** Preparation, bioactivity, and drug release of hierarchical nanoporous bioactive glass ultrathin fibers. *Advanced Materials*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, 2010, 22(6). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/adma.200901656>.
4. **FUJIHARA, K., TEOL, W., YONG T., Ma1 Z., RAMESESHAN R.** Electrospun nanofibers: solving global issues. *Materials Today*. Elsevier, 2006, ISSN: 1369-7021, 9(3). Prieiga per: Science Direct.
5. **CENGIZ-CALHOGLU F.** Dextran nanofiber production by needleless electrospinning process. *e-Polymers*. 2014, 14(1). ISSN: 1618-7229. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1515/epoly-2013-0021>
6. **ZHANG C. and S. YU.** Nanoparticles meet electrospinning: recent advances and future prospects. *Chemical Society Reviews*. Royal society of chemistry, 2014, 43(13). Prieiga per: doi: [10.1039/C3CS60426H](https://doi.org/10.1039/C3CS60426H).
7. **ADOMAVIČIŪTĖ E., R MILAŠIUS.** Polimerinių nanogijų gamybos būdai ir įrenginiai. Kaunas: Technologija, 2012. ISBN 978-609-02-0544-0 Prieiga per: <https://www.ebooks.ktu.lt/einfo/321/polimeriniu-nanogiju-gamybos-budai-ir-irenginiai/>.
8. **LI D., Y. XIA.** Electrospinning of Nanofibers Reinventing the Wheel? *Advanced Materials*. Wiley Online Library, 2004, 16(14). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2010.01.010>
9. **CASASOLA R. et al.** Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres: Effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter. *Polymer* 55. Elsevier, 2014, 55(18). ISSN: 0032-3861. Prieiga per: Science direct.
10. **DI J., Y.Z. and J. YU.** Fabrication of molecular sieve fibers by electrospinning. *Journal of Materials Chemistry*. Royal society of chemistry, 2011, 21. Prieiga per: doi: [10.1039/C1JM10512D](https://doi.org/10.1039/C1JM10512D)
11. **MCKEE M. G., et al.** Phospholipid Nonwoven Electrospun Membranes. *Science*. AAAS, 2006, 311(5759). ISSN: 0036-8075. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1126/science.1119790>.
12. **XIE J. X. Li. Y. XIA.** Putting Electrospun Nanofibers to Work for Biomedical Research. *Macromolecular Rapid Communications*. Wiley Online Library, 2009, ISSN(Online): 1521-3927, 29(22). Prieiga per: doi <http://dx.doi.org/10.1002/marc.200800381>.
13. **SUKIGARA S. et al.** Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning—part 1: Processing parameters and geometric properties. *Polymer*, 2003, 44(19). Prieiga per: doi: [10.1016/s0032-3861\(03\)00532-9](https://doi.org/10.1016/s0032-3861(03)00532-9)
14. **YANG Q. et al.** Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. *Polymer Physics*. A Wiley Company, 2004. 42(20). Prieiga per doi: [10.1002/polb.20222](https://doi.org/10.1002/polb.20222)

15. **ZONG X. et al.** Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*. Elsevier, 2002, 43(16). ISSN: 0032-3861. Prieiga per: Science direct.
16. **XUYUAN J., T. WANG, L. GUO et al.** Effect of Nanoscale-ZnO on the Mechanical Property and Biocompatibility of Electrospun Poly(L-lactide) Acid/Nanoscale-ZnO Mats. *Journal of Biomedica Nanotechnology*. American Scientific Publishers, 2013, ISSN: 1550-7033, 9. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1166/jbn.2013.1556>
17. **GREINER A. and J. H. WENDORFF.** Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. *Angewadte Chemie International Edition*. Wiley Online Library, 2007 46(30). ISSN: 1521-3773. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/anie.200604646>.
18. **STEVENS M. M. and J. H. GEORGE.** Exploring and Engineering the Cell Surface Interface. *Science*. AAAS, 2005, 310(1135). ISSN: 1095-9203. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1126/science.1106587>.
19. **SELL S. A. et al.** The Use of Natural Polymers in Tissue Engineering: A Focus on Electrospun Extracellular Matrix Analogues. *Polymer*. MDPI, 2010, 2. ISSN: 2073-4360. Prieiga per doi: 10.3390/polym2040522
20. **STODDART R. J. et al.** In pursuit of functional electrospun materials for clinical applications in humans. *Therapeutic Delivery*. Future Science, 2016, 7(6). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.4155/tde-2016-0017>
21. **AGARWAL S., A. GREINERA, J. H. WENDORFF.** Functional materials by electrospinning of polymers. *Progress in Polymer Science*. Elsevier, 2013, 38(6). ISSN: 0079-6700. Prieiga per: Science Direct
22. **HEIKKILA P., A. TAIPALE, M. LEHTIMAKI, A. HARLIN.** Electrospinning of polyamides with different chain compositions for filtration application. *Polymer Engineering Science*. Wiley InterScience, 2008, 48(6). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/pen.21070>.
23. **BARGATE R.S., C.K. LOON, S. RAMAKRISHNA.** Preparation and characterization of nanofibrous filtering media. *Journal of Membrane Science*. Elsevier, 2006, 283(1-2). ISSN: 0376-7388. Prieiga per: Science Direct.
24. **TSCHAN M., E. BRULE, P. HAQUETTE, C. M. THOMAS.** Synthesis of biodegradable polymers from renewable resources *Polymer Chemistry*. Royal society of chemistry, 2012, ISSN: 1759-9962, 3. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1039/c2py00452f>.
25. **DELPLACE V. and J. NICOLAS.** Degradable vinyl polymers for biomedical applications. *Nature chemistry*, 2015, 7. ISSN: 1755-4330. Prieiga per: <https://doi.org/10.1038/nchem.2343>.
26. **MIZERAS D., A. VALIULIS, A. ŠEŠOK J. GRIŠKEVIČIUS.** IMPLANTŲ IR AUDINIŲ REGENERACIJOS KARKASŲ MEDŽIAGŲ ANALIZĖ. Vilnius: Technika. ISSN 2029-2341, 6(6). Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.3846/mla.2015.771>
27. **RATHER D. B. et al.** *Biomaterial Science. An Introduction to Materials in Medicine*. London, 2004. Academic Press. ISBN 9780080470368.
28. **ITO Y. et al.** A composite of hydroxyapatite with electrospun biodegradable nanofibers as a tissue engineering material. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Elsevier, 2005, 100(1). ISSN: 1389-1723. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1263/jbb.100.43>.
29. **CUI W., Y. ZHOU, J. CHANG.** Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery. *Science and Technology of Advanced Materials*. IOP science, 2010, 11(1). ISSN: 1468-6996. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1088/1468-6996/11/1/014108>.

30. **ZAHEDIA P. et al.** A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages” *Polymers for Advanced Technologies*. John Wiley & Sons Ltd, 2010, 21(5). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/pat.1625>.
31. **VARGAS E. A. T. et al.** Hyperbranched polyglycerol electrospun nanofibers for wound dressing applications. *Acta Biomaterialia*. Elsevier, 2010, 6(3). ISSN: 1742-7061. Prieiga per: Science Direct.
32. **GOH Y., I. SHAKIR, R. HUSSAIN.** Electrospun fibers for tissue engineering, drug delivery, and wound dressing. *Journal of Materials Science*. Springer, 2013, 48(8). ISSN: 0022-2461. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7145-8>.
33. **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*. Hindawi, 2016, Volume 2016. Article ID 4648287. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4648287>
34. **LIU S. et al.** Electrospun PLGA/collagen nanofibrous membrane as early-stage wound dressing. *Journal of Membrane Science*. Elsevier, 2010, 355(1-2). ISSN: 0376-7388. Prieiga per: Science Direct.
35. **LU W., J. SUN, X. JIANG.** Recent advances in electrospinning technology and biomedical applications of electrospun fibers. *Journal of Materials Chemistry B*. Royal society of chemistry, 2014, 17. ISSN: 2050-7518. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1039/C3TB21478H>
36. **SHIN M., H. YOSHIMOTO, and J.P. VACANTI.** In vivo bone tissue engineering using mesenchymal stem cells on a novel electrospun nanofibrous scaffold. *Tissue Engineering*. Boston, Mary Ann Liebert, Inc., 2004, 10(1-2). ISSN: 2152-4955. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1089/107632704322791673>
37. **QI H. et al.** Bioactivity assessment of PLLA/PCL/HAP electrospun nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering. *Life Sciences*. Elsevier, 2016, 148(1). ISSN: 0024-3205. Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2016.02.040>.
38. **HU J., et al.** Electrospinning of poly(glycerol sebacate)-based nanofibers for nerve tissue engineering. *Materials Science and Engineering C 70*. Elsevier, 2017. ISSN: 0928-4931. Prieiga per: Science Direct.
39. **ZAMANI M., M. P. PRABHAKARAN, S. RAMAKRISHNA.** Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*. Dovepress, 2013, 8(1). ISSN: 1178-2013. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.2147/IJN.S43575>.
40. **ZONG X. et al.** Prevention of postsurgery-induced abdominal adhesions by electrospun bioabsorbable nanofibrous poly(lactide-co-glycolide)-based membranes. *Annals of surgery*. Lippincott Williams & Wilkins, 2004, 240(5). Prieiga per: doi: <https://dx.doi.org/10.1097%2F01.sla.0000143302.48223.7e>
41. **HU X. et al.** Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications- a review. *Journal of Controlled Release*. Elsevier, 2014, ISSN: 0168-3659, 185(10). Prieiga per: Science Direct.
42. **KALĖDAITĖ R.** TECHNOLOGINIŲ VEIKSNIŲ ĮTAKA PELEČIŲ SU SAUSAISIAIS AUGALINIAIS EKSTRAKTAIS FUNKCIONALIZAVIMUI., Daktaro disertacija, 2015. Prieiga per elaba: <gs.elaba.lt/object/elaba:12275733/12275733.pdf>.
43. **BRUNI G. et al.** Fabrication, Physico-Chemical, and Pharmaceutical Characterization of Budesonide-Loaded Electrospun Fibers for Drug Targeting to the Colon. *Journal of*

Pharmaceutical Sciences. Wiley Online library, 2015, 104(11). ISSN: 1520-6017. prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/jps.24587>.

44. **KARTHIKEYAN K. et al.** Electrospun zein/eudragit nanofibers based dual drug delivery system for the simultaneous delivery of aceclofenac and pantoprazole. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier, 2012, 438(1-2). ISSN: 0378-5173. Prieiga per: Science Direct.
45. **CHAWLA A. et al.** Eudragit S-100 coated sodium alginate microspheres of naproxen sodium: Formulation, optimization and in vitro evaluation. *Acta Pharmaceutica*. 2012, 62(4). ISSN: 1846-9558. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.2478/v10007-012-0034-x>
46. **DEMIRSOY N. et al.** The effect of dispersion technique, silver particle loading, and reduction method on the properties of polyacrylonitrile–silver composite nanofiber. *Journal of Industrial Textiles*. Sage, 2016, 45(6). ISSN: Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1177/1528083714553690>
47. **ZHANG C. and S. YU.** Nanoparticles meet electrospinning: recent advances and future prospects. *Chemical Society Reviews*. The Royal Society of Chemistry, 2014, 13. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1039/c3cs60426h>
48. **ŠEŠOK ANDŽELA.** Medžiagos medicinoje: mokomoji knyga. Vilnius: VGTU leidykla „Technika“, 2012. ISBN: 978-609-457-271-5. Prieiga per: <http://dspace.vgtu.lt/handle/1/1430>
49. **HAO J., Y. LIU, S. ZHOU, Z. LI, X. DENG.** Investigation of nanocomposites based on semi-interpenetrating network of [L-poly(ε-caprolactone)]/[net-poly(ε-caprolactone)] and hydroxyapatite nanocrystals. *Biomaterials*. Elsevier, 2003, ISSN: 0142-9612, 24(9). Prieiga per: Science direct.
50. [://www.ligos.lt/lt/terminai/hidroksiapatitas/1087/](http://www.ligos.lt/lt/terminai/hidroksiapatitas/1087/) Žr. (2014-09-20)
51. **PIELICHOWSKA K., BLAZEWICZ S.** Bioactive Polymer/Hydroxyapatite (Nano) composites for Bone Tissue Regeneration. *Advances in Polymer Science*. Springer, 2010, ISSN(Online): 978-3-642-13630-6, 232. Prieiga per: doi: http://dx.doi.org/10.1007/12_2010_50
52. **GUPTA D., J. VENUGOPAL, S. MITRA, V.R. GIRI, S. RAMAKRISHNA.** Nanostructured biocomposite substrates by electrospinning and electrospraying for the mineralization of osteoblasts. *Biomaterials*. Elsevier, 2009, ISSN: 0142-9612, 30(11). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.079>
53. **CLARKE B.** Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. CJASN, 2008, ISSN(Online): 1555-9041. Prieiga per: doi <https://doi.org/10.2215/CJN.04151206>
54. **MAHESHWARIA U. et al.** Fabrication and evaluation of (PVA/HAp/PCL) bilayer composites as potential scaffolds for bone tissue regeneration application. *Ceramics International*. Elsevier, 2014, ISSN: 0272-8842, 40(6). Prieiga per: Science Direct.
55. **RAJZER I. et al.** Bioactive nanocomposite PLDL/nano-hydroxyapatite electrospun membranes for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. Springer, 2014, 25(5). ISSN: 1573-4838. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1007/s10856-014-5149-9>.
56. **THOMAS V., et al.** Electrospun bioactive nanocomposite scaffolds of polycaprolactone and nanohydroxyapatite for bone tissue engineering. *Journal Nanoscience and Nanotechnology*. American Scientific Publishers, 2006, 6(2). ISSN: 1533-4899. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1166/jnn.2006.097>

57. **HONG K. H. et al.** Preparation of Antimicrobial Poly(vinyl alcohol) Nanofibers Containing Silver Nanoparticles. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*. Wiley InterScience, 2006, 44(17). Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1002/polb.20913>.
58. **YANG B.Q. et al.** Preparation and characterization of a PAN nanofibre containing Ag nanoparticles via electrospinning. *Synthetic Metals*. Elsevier, 2003, 137. ISSN: 0379-6779. Prieiga per: doi: [http://dx.doi.org/10.1016%2FS0379-6779\(02\)00963-3](http://dx.doi.org/10.1016%2FS0379-6779(02)00963-3).
59. **ANJANEYULU U. et al.** Fabrication and characterization of Ag doped hydroxyapatite polyvinyl alcohol composite nanofibers and its in vitro biological evaluations for bone tissue engineering applications. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. Springer, 2017, 81(3). ISSN: 0928-0707. Prieiga per: doi: 10.1007/s10971-016-4243-5
60. **CELEBIA H. et al.** Development of antibacterial electrospun chitosan/poly(vinyl alcohol) nanofibers containing silver ion-incorporated HAP nanoparticles. *Composite Interfaces*. Taylor and Francis Online, 2013, 20(9). Prieiga per: <http://dx.doi.org/10.1080/15685543.2013.819700>
61. **ÜREYEN M. E., A. DOGAN, A.S. KOPARAL.** Antibacterial functionalization of cotton and polyester fabrics with a finishing agent based on silver-doped calcium phosphate powders. *Textile Research Journal*. Sagepub, 2012, 82(17). ISSN: 00405175. Prieiga per: doi: <https://doi.org/10.1177/0040517512445331>
62. **JUNG W.K. et al.** Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Applied and Environmental Microbiology*. American society for microbiology, 2008, 83(10). Prieiga per: doi: 10.1128/AEM.02001-07.
63. **GAO Y. et al.** Electrospun Antibacterial Nanofibers: Production, Activity, and In Vivo Applications. *Journal Applied Polymer science*. Wiley Periodicals, 2014, 131(18). Prieiga per: DOI: 10.1002/APP.40797.
64. **ZHANG X. et al.** Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International Journal of molecular science*. MDPI, 2016, 17(9). Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17091534>
65. **LIU, J.Y. et al.** Chemical transformations of nanosilver in biological environments. *ACS Nano*, 2012, 6(11). Prieiga per: doi: <https://dx.doi.org/10.1021%2Fnn303449n>.
66. **ALBAYRAK O.** Structural and mechanical characterization of boron doped biphasic calcium phosphate produced by wet chemical method and subsequent thermal treatment. *Materials Characterization*. Elsevier, 2016, 113. ISSN: 1044-5803. Prieiga per: Science Direct.
67. **Magnetinė maišyklė Yellow Line MSH** [http://taradlab.tarad.com/product-en-159635-1773636Magnetic+stirrer+with+heating+Yellow+line+\(Ika\)+Model+MSH+Basic.html](http://taradlab.tarad.com/product-en-159635-1773636Magnetic+stirrer+with+heating+Yellow+line+(Ika)+Model+MSH+Basic.html) (žiūrėta: 2017-01-12)
68. **Skaitmeninio rotacinis viskozimetras Brookfield RTP74158 nuotrauka** <https://apcis.ktu.edu/lt/site/katalogas?more=6543> (žiūrėta: 2017-01-12)
69. **Emisinio lauko skenuojantis elektroninis mikroskopas** <https://www.psi.ch/lmn/scanning-electron-microscopy> (žiūrėta: 2017-01-12)
70. **Skenuojantis elektroninis mikroskopas** <http://usgc.ou.edu/Facility/ScanningElectronMicroscope> (žiūrėta: 2017-01-12)
71. **STALDER A. F. et al.** A snake-based approach to accurate determination of both contact points and contact angles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Elsevier, 2006, 286(1-3). ISSN: 0927-7757. Prieiga per: Science Direct.

72. **YANG X. M. et al.** Silicon wafer wettability and aging behaviors: Impact on gold thin-film morphology. *Materials Science in Semiconductor Processing*. Elsevier, 2014, 26. ISSN: 1369-8001. Prieiga per: Science Direct.
73. **HAMORI M. et al.** Preparation of Methacrylic Acid Copolymer S Nano-fibers Using a Solvent-Based Electrospinning Method and Their Application in Pharmaceutical Formulations. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. The Pharmaceutical Society of Japan, 2015, 63(2). ISSN: 1347-5223. Prieiga per: doi: <http://doi.org/10.1248/cpb.c14-00563>.
74. **Mikroskopo RML5 nuotrauka.** https://apcis.ktu.edu/lt/site/katalogas?cat_id=115&more=6529&type=1 (Žr. 2017-05-02).
75. **MATUKONIS A., PALAIMA J., VITKAUSKAS A.** Tekstilės medžiagotyra. Vilnius: Mokslas, 1989. ISBN 5-420-00293-0
76. **LIUKAITIS J. ir T. KLEVECKAS.** Medžiagų tyrimo pagrindai. Kaunas, KTU leidykla „Technologija“, 2007. ISBN 9955-25-005-4. Prieiga per: <https://www.ebooks.ktu.lt/einfo/1135/medziagu-tyrimo-pagrindai>
77. **BOLSKIS, E. ADOMAVIČIŪTĖ, Erika.** Hidroksiapatito dalelių įtaka elektrinio verpimo būdu formuojamos neaustinės medžiagos struktūrai // Studentų mokslinė praktika 2014 : konferencijos pranešimų santraukos, D. 2 / Lietuvos mokslo taryba. Vilnius, 2014, ISBN 9786094170911.
78. **SUSLU A. et al.** In vitro Biocompatibility and Antibacterial Activity of Electrospun Ag Doped HAp/PHBV Composite Nanofibers. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. Taylor and Francis Online, 2015, 64(9). Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00914037.2014.977892>
79. **ADOMAVIČIŪTĖ E. et al.** Formation and Investigation of Electrospun PLA Materials with Propolis Extracts and Silver Nanoparticles for Biomedical Applications. *Journal of Nanomaterials*. Volume. 2017 (2017). Article ID 8612819. Prieiga per: doi:10.1155/2017/8612819
80. **MAHDAVI M. et al.** Electrospinning of Nanodiamond-Modified Polysaccharide Nanofibers with Physico-Mechanical Properties Close to Natural Skins. *Marine Drugs*. MDPI, 2016, 14(7). Prieiga per: doi: <http://dx.doi.org/10.3390/md14070128>
81. **ROOHANI-ESFAHANI S. et al.** The influence hydroxyapatite nanoparticle shape and size on the properties of biphasic calcium phosphate scaffolds coated with hydroxyapatite PCL composites. *Biomaterials 31*. Elsevier, 2010, 31(21). ISSN:0142-9612. Prieiga per: Science Direct.
82. **AMARJARGAL A. et al.** Facile in situ growth of highly monodispersed Ag nanoparticles on electrospun PU nanofiber membranes: Flexible and high efficiency substrates for surface enhanced Raman scattering. *Applied Surface Science*. Elsevier, 2014, 308(30). ISSN: 0169-4332 . Prieiga per: Science Direct.