

# Országos Tudományos Diák Konferencia

2024

# Elektrosztatikus szálképzés során kialakuló elektromos tér modellezése és az előállított biopolimer tulajdonságainak vizsgálata

Tudományos Diák Konferencia

Szilágyi Viktor Gergő

Orvosi Biotechnológia MSc.

Témavezetők: Dr. Juhász Ákos György, Dr. Jedlovsky-Hajdú Angéla

Semmelweis Egyetem

Biofizikai és Sugárbiológiai Tanszék

Nanokémiai laboratórium

Belső konzulens: Dr. Kristóf Iván

Budapest

2024

## Absztrakt

Az elektrospinning egy széles körben vizsgált és alkalmazott nem mechanikai technológia, amely felhasználható nano- és mikroszálak előállítására. Ezek a szálszerkezetek széles körben alkalmazhatók az orvostudományban, a gyógyszerészetben és a mérnöki tudományban. Orvosi célokra ezeket a struktúrákat széles körben kutatják, mivel utánozzák az extracelluláris mátrixot, így kiváló jelöltek a szövetmérnöki alkalmazásokhoz. Ezek a szálmátrixok a szövetmérnöki alkalmazásokon kívül az ismert oldódási sebességük miatt, és farmakológiai anyag szállítási képességük miatt kiváló gyógyszerleadó rendszerek. Gyógyászati alkalmazásokban kiváló jelöltek az antibakteriális sebkötözéshez is, ahol fém nanorészecskéket, antibiotikumokat vagy más antimikrobiális anyagokat juttatnak a sérülés helyszínére. A nanoszálak mátrixok az orvostudományon kívül is alkalmazhatók, különösen szűrőrendszerekben, új generációs energiatárolókban és különböző bioszenzoros rendszerekben.

A szálszerkezetek alkalmazásai különböző fizikai és kémiai tulajdonságoktól függenek, a kémiai tulajdonságok az oldószertől és az elektrospinninghez használt polimertől függenek. A fizikai tulajdonságok az elektrospinning környezeti paramétereitől és a elektrospinning apparátus paramétereitől függenek. Dolgozatomban középpontjában az elektrospinning során fellépő elektromos tér modellezése és a hozzáadott  $\text{CaCl}_2$  hatása lesz a létrehozott polimer szálmátrixon.

Az elektromos térmodellezés segítségével jobban megérthetjük a teljes elektrospinning folyamatot, különösen a polimerek lerakódását a különböző kollektorgeometriákon. Ezek a szimulációk jobb kollektor- vagy tügeometriák létrehozásához is vezethetnek, amelyek segíthetnek hatékonyabb szálképzés elérésében.

A szálszerkezet fizikai és kémiai paraméterei az elektrospinning oldat kémiai komponenseitől is függenek. Kutatásaim során  $\text{CaCl}_2$ -ok hatását vizsgáltam különböző koncentrációkon a poliszukcinimid polimer oldatban. A szervesen oldott sósav befolyásolhatja a szálak átmérőjét és befolyásolhatja a szálszerkezet citotoxicitását.

## Rövidítések

PSI - poliszukcinimid

PASP - Poli (aszparaginsav)

DMF - dimetil-formamid

SEM - Pásztázó elektronmikroszkópia

FT-IR – Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia

Elektrospinning - elektrosztatikus szálképzés

DC – Egyenáram

3D – Háromdimenziós

PLA – Poli (tejsav)

# Tartalomjegyzék

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| 1 Irodalmi áttekintés .....                                          | 1  |
| 1.1 Regeneratív gyógyászat .....                                     | 1  |
| 1.1.1 Szövet mérnökség .....                                         | 2  |
| 1.2 Polimerek .....                                                  | 3  |
| 1.3 Nanotechnológia a regeneratív gyógyászatban.....                 | 3  |
| 1.3.1 Elektrosztatikus szálképzés.....                               | 4  |
| 1.3.2 Elektromos térmodellezés .....                                 | 6  |
| 1.3.3 Háromdimenziós szálszerkezetek .....                           | 7  |
| 1.4 A nanoszálas mátrix orvosbiológiai alkalmazásai .....            | 7  |
| 1.4.1 Sejt átványzatok .....                                         | 7  |
| 2 Célkitűzés.....                                                    | 9  |
| 3 Anyagok és módszerek .....                                         | 10 |
| 3.1 Elektromos térmodellezés elektrosztatikus szálképzés során ..... | 10 |
| 3.2 Anyagok.....                                                     | 10 |
| 3.3 3D nyomtatott kollektor geometriák.....                          | 10 |
| 3.4 Polimer oldatok készítése .....                                  | 11 |
| 3.5 Elektrosztatikus szálképződés.....                               | 12 |
| 3.6 A szálszerkezetek jellemzése .....                               | 12 |
| 3.6.1 ATR-FT-IR spektroszkópiai jellemzés .....                      | 12 |
| 3.6.2 Átlagos szálátmérő jellemzése .....                            | 12 |
| 3.7 Közvetett citotoxicitási vizsgálat .....                         | 13 |
| 4 Eredmények .....                                                   | 15 |
| 4.1 Elektromos tér szimulációk.....                                  | 15 |
| 4.1.1 Elektromos terjedés az alapeometriák között .....              | 15 |
| 4.1.2 Elektromos terjedés elektrosztatikus szálképzés során.....     | 17 |
| 4.2 Tervezett kollektor geometriák .....                             | 18 |
| 4.3 Szálszerkezetek .....                                            | 20 |

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| 4.4 FT-IR jellemzés .....                    | 22 |
| 4.5 Közvetett citotoxicitási vizsgálat ..... | 22 |
| 5 Összefoglalás .....                        | 25 |
| Megjegyzés .....                             | 27 |
| Bibliográfia .....                           | 28 |

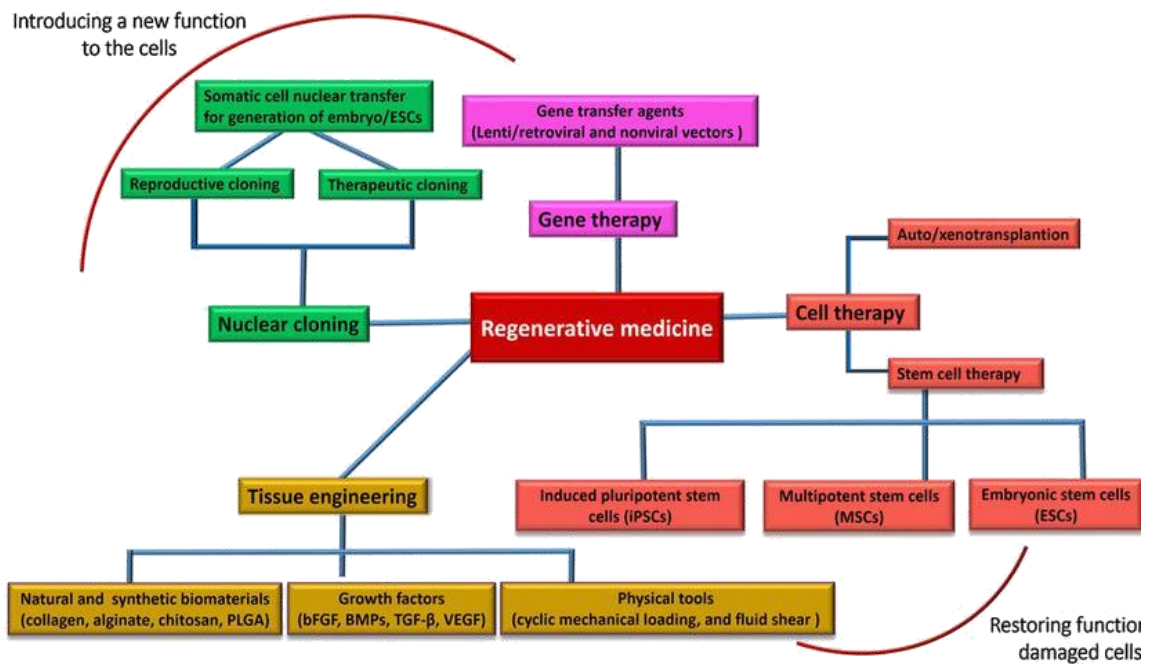
# 1 Irodalmi áttekintés

Az elektrospinning egy sokoldalúbb módszer a mikro- és nanoméretű szálak előállítására. Ezek a folytonos szálszerkezetek potenciálisan alkalmazhatók az orvostudományban, a gyógyszerészetben és a mérnöki iparban. Fő érdeklődésemet ebben a technológiában a szövetmérnöki alkalmazások jelentik, ahol ezek a nanoszál struktúrák képesek a sejtek állványzatát képezni, így utánozva az extracelluláris mátrixot.

## 1.1 Regeneratív gyógyászat

A regeneratív gyógyászat viszonylag új interdiszciplináris megközelítés az orvostudományban, amely a szervek sérült vagy beteg szöveteinek pótlására összpontosít. A sérült szervek vagy szövetek működésének helyreállítására a regeneratív medicina olyan technológiákat alkalmaz, mint a sejterápiák, szövetsebészeti stratégiák és mesterséges vagy biohibrid eszközök. Az említett technikák jellemzően biológiai építőelemek, például sejtek vagy gének kombinációira támaszkodnak biokompatibilis anyagokkal és a biotechnológiákkal kombinálva a sérült szerv vagy szövet hibáinak gyógyítására fókuszálva. Ezeket a technikákat általában akkor alkalmazzák, ha a szervezet természetes regenerációs folyamatai nem képesek helyreállítani a károsodást és helyreállítani a sérült szövet vagy szerv működését [1], [2].

A regeneratív gyógyászat magában foglalja a nukleáris klónozást, a génterápiát, a sejteket és az őssejteket terápia, valamint szövetsebészet, mint fő kutatási és terápiás útvonalak. Ezeknek a terápiás kezeléseknél a fő célja és célja vagy új funkció bevezetése a sejtekbe, vagy a sérült sejtek működésének helyreállítása különböző orvosi és mérnöki technológiák alkalmazásával.[3]



1 ábra: A regeneratív gyógyászat kutatási területei [3]

### 1.1.1 Szövet mérnökség

A szövet mérnökség egy multidiszciplináris megközelítés a regeneratív gyógyászatban, amely ötvözi a mérnöki és élettudományi elveket annak érdekében, hogy biológiai helyettesítőket fejlesszenek ki a beteg vagy sérült szervek és szövetek működésének helyreállítására és gyógyítására. A szövetsebészet fő célja az élő sejtek, bioanyagok, biokémiai vagy fizikai tényezők és ezek kombinációinak felhasználása biomimetikus szövetszerű struktúrák létrehozására. A szövetsebészeti alkalmazásokban a sejt mikrokörnyezetének megteremtése elengedhetetlen ahhoz, hogy a magsejtek betölthessék szerepüket, így biztosítva a sejtek viselkedésének természetes és hatékony szabályozását. [4].

A biomimetika a szövetmérnökség területe, amelyben a biológiai struktúrákat és eseményeket dekonstruálják, majd átültetik és rekonstruálják technológiai megoldásokká. [5]. A biomimetika kifejezést először 1957-ben vezették be, és azóta nemcsak az orvosbiológiai tudományokba, hanem a művészetbe, építészetbe, anyag- és szerkezzettudományba és mérnöki tudományokba is eljutott. [6].

## 1.2 Polimerek

A polimerek láncszerkezetű makromolekulák, amelyek ismétlődő szerkezeti monomerekből állnak, amelyeket kovalens kötések tartanak össze az egyes szerkezetek között [7]. A polimerek lánc-vagy elágazó szerkezetűek lehetnek a monomerek a molekulában való elhelyezkedésétől függően. Kétféle polimert különböztethetünk meg a forrástól függően szintetikus polimerek és természetes polimerek. A szintetikus polimerek közül a leggyakrabban használt polimerek a kőolaj alapú polimerek. Ezek a polimerek különféle alkalmazásokhoz szabhatók. Ezek az anyagok biológiailag nem lebontható polimerek, ami azt jelenti, hogy ellenállnak az öregedésnek és a biológiai lebomlásnak, ezért komoly környezeti problémát jelentenek, valamint ezek a polimerek fosszilis szénhidrogénekből vannak szintetizálva, ami felgyorsítja a klímaváltozást [8].

A kőolaj alapú polimerekkel szemben a biopolimereket természetesen megújuló erőforrásokból vonják ki, beleértve a növényeket, az ízeltlábúak és a selyemhernyógubókat biofeldolgozási és kémiai módosítási folyamatok során. A legtöbb természetes biopolimer fehérje vagy poliszacharid monomerekből felépülő láncszerkezetek. Ezek a természetes biopolimerek olyan jellemzőkkel rendelkeznek, mint a megújuló forrás, alacsony költség, biológiai lebonthatóság, antimikrobiális aktivitás, biokompatibilitás, megújuló képesség, nem mérgező és abszorpciós tulajdonságok, ezek a tulajdonságok teszik őket kiváló anyagokká különféle alkalmazásokhoz [9]. A legelterjedtebb és legkutatottabb biopolimerek a cellulóz növényi sejtfalból, kitozán ízeltlábúak héjából, alginát algákból valamint a kollagén és zselatin [10].

A poliszukcinimid L-aszparaginsavból termikus polikondenzációval szintetizált polimer. A PSI a PASP poliaszparaginsav vízmentes formája, amely egy biológiailag lebomló hidofil poli(aminosav). Biológiai környezetben a PSI hidrolízise PASP-vé, majd az aminosavforma oldódása viszonylag gyors, ezért a PSI formában való felhasználása korlátozott a polimer kezelés nélkül a térhálósodás eléréséhez [11].

## 1.3 Nanotechnológia a regeneratív gyógyászatban

A nanotechnológia eszközök és anyagok tervezésének, szintézisének és alkalmazásának hátterében álló tudomány, amelynek legalább egy dimenziója a nanométeres skálán mérhető. A nanotechnológiai anyagok és szubsztrátok többsége meghatározott fizikai és kémiai tulajdonságokkal rendelkezik. Ezek a sajátosságok

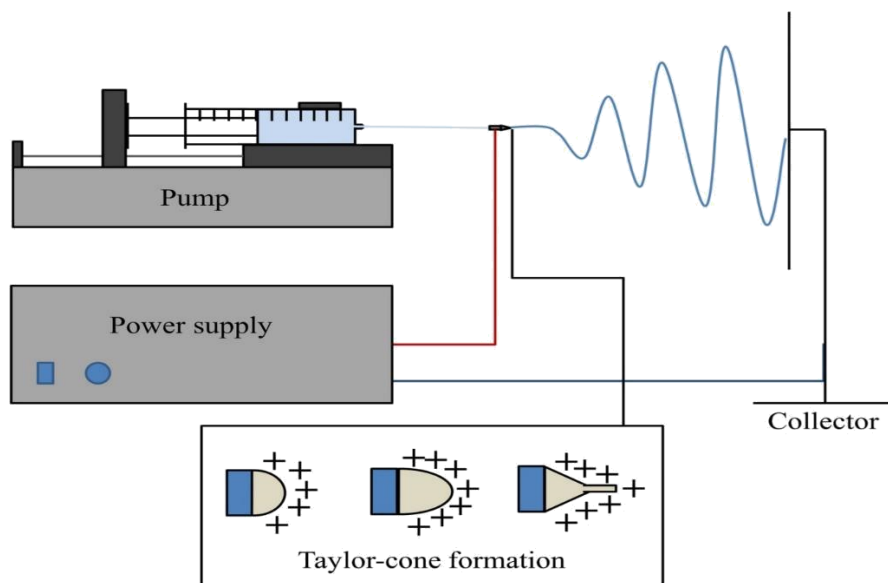
lehetővé teszik, hogy ezen anyagok és eszközök kölcsönhatásba léphessenek sejtekkel és szövetekkel szubcelluláris szinten, így lehetővé válik ezen technológiák orvostudományi és a fiziológiás integrálása [12]. A nanotechnológia közelmúltbeli fejlődésével hatalmas potenciálra tett szert a regeneratív gyógyászatban, mivel a sejtek nanométeres léptékben működnek, a nanotechnológia megváltoztathatja és befolyásolhatja a sejtek viselkedését. A nanotechnológiák hagyományos megközelítései a regenerációs orvostudományhoz a következőkben kapcsolódik: nanorészecskék, nanoszálal sejtvállyzatok, gyógyszer- és génszállítás, extracelluláris mátrixmintázat [13].

A nanorészecskék olyan anyagrézecskek, amelyek átmérője a nanométeri dimenzióban van, ami bizonyos fizikai és kémiai tulajdonságokat eredményez, amelyek miatt széles körben használhatóak. Az orvostudományban ezen nanorészecskéket használják: szabályozott gyógyszerbejuttató rendszerek, DNS-struktúrák szondázása, génszállítás, biomolekuláris érzékelés és szövetsebészet. Ezen alkalmazások mellett a nanorészecskéket rák, cukorbetegség, allergia, fertőzés és gyulladás kezelésében is használják [14].

### 1.3.1 Elektrosztatikus szálképzés

Az elektrosztatikus szálképzés vagy az elektrospinning a regeneratív gyógyászat részét képező szövetmérnökségben széles körben alkalmazott technológia. Ezzel a technikával nanométeri vagy mikrométeres léptékű szálakat lehet előállítani oldószerben oldott vagy olvadt, nagyfeszültségű polimerből. Az előállított nano- és mikroszálak egyedi tulajdonságokkal rendelkeznek, mint például a meghatározott porozitás és felület [15].

Ahogy az látható a 2. ábrán a nagyfeszültséget helyezzük a kapilláriscsőre vagy a tűre amely tartalmazza a polimer oldatot, és ezáltal töltést ad a polimer csepp felületére, miközben a kollektor tárgy földelve van. Amikor az elektromos tér legyőzi a csepp felületi feszültségét, a Taylor-kúp képződik, és egy töltött polimersugár kilökődik a kollektor felé. Míg a polimert a kollektor felé halad, addig a polimer az oldószer elpárologtatásával vagy lehűlésével megszilárdul, ez a folyamat különböző erőknek van kitéve, amelyek megnyújthatják, irányíthatják és felgyorsíthatják a szálak megszilárdulását [16], [17].



2. ábra: Az egytűs elektromos fonás és a Taylor-kúpképződés [18]

Ezen szálak fizikai és mechanikai tulajdonságait számos tényező befolyásolhatja tényezők, amelyek három kategóriába sorolhatók: gépparaméterek, anyagparaméterek és környezeti paraméterek. A gép paramétereit a szálképzés előtt szabályozzák, és korlátozva van az elektrspinning berendezés által, ezek a paraméterek az alkalmazott elektromos tér, a tű és a kollektor közötti távolság, az áramlási sebesség és a tű átmérője. A használt polimer, a polimer koncentráció, az oldószer típusa, a viszkozitás és a vezetőképesség adják meg az oldat paramétereit. A környezeti paraméterek a relatív páratartalom és a hőmérséklet. Mindezek a paraméterek nagy hatással vannak az előállított szálszerkezet végső minőségére [19], [20].

A gépi paraméterek hatása kritikus fontosságú a gyöngyök nélküli és egységes szálrendszer előállításához. A gépi paraméterek a szálképzésben használt polimer rendszertől függően optimális tartományban vannak, ahol az előállított szálak egyenletesek és gyöngyök nélküliek. Ha ezek a paraméterek az alkalmazott polimer rendszer optimális tartománya alatt vannak, akkor a szálképződés nem következik be, ez különösen igaz az alkalmazott elektromos feszültségre, mert a Taylor-kúp nem jelenik meg. Ha a gép paramétereit az optimális tartomány felett vannak, a szálképzés egyenetlen és gyöngyös szálakat hoz létre, mivel a párolgási sebesség és a lerakódási idő nem lesz elegendő, vagy áramlási sebesség esetén cseppek leválnak a Taylor-kúpról, így veszítenek hatékonyságukból és a keletkezett szálstruktúra tömegéből.[21], [22].

A polimer paraméterei az elektrospinning során nagymértékben befolyásolhatják a az előállított szálmátrixokat paramétereit. Az elektrosztatikus szálképzés folyamata a feltöltött sugár egytengelyű megnyúlásának jelenségén alapul. A polimer oldat koncentrációja befolyásolja a töltött sugár megnyúlása, például, ha a koncentráció túl alacsony, akkor az alkalmazott elektromos tér, és a felületi feszültség a polimer lánc széttöredezését okozza, mielőtt a szálak lerakódnak a kollektorra, ami nem folytonos vagy gyöngyös szálmátrixokat okoz [23]. A polimeroldat optimális küszöbértékét meghaladó magasabb koncentráció növeli a polimeroldat viszkozitását, és problémákat okoz az oldat tűn keresztüli áramlásában, így egyenetlen szálképződést okoz [24]. A polimer oldat vezetőképessége az előállított szálmátrixok jellemzőit is befolyásolja. Az oldat megnövekedett vezetőképessége csökkenti az előállított szál átmérőjét a sugárban megnövekedett elektromos töltés miatt. A megnövekedett elektromos töltés növeli a szakítószilárdságot az elektromos térben, ami befolyásolja a polimersugár egytengelyű töltését [25]. A polimeroldat vezetőképességének növelésére leggyakrabban alkalmazott módszer a szervesetlen sók hozzáadása. A megnövekedett vezetőképesség és felületi töltés 3 dimenziós szálak lerakódást is okozhat a lapos kollektor geometriákon [26].

A páratartalom, mint környezeti paraméter a szálképzés során befolyásolhatja a szálak átmérőjét, és növeli a szálátmérők szórását, azaz minél magasabb a páratartalom a fonás során, annál kevésbé egyenletes átmérőjű szálak jönnek létre, így fontos paraméter a szálak átmérője. a folyamat [27]. A hőmérséklet fontos szerepet játszik, mivel jellemzően csökkenti a polimer oldat viszkozitását, ami befolyásolja a létrehozott sugár stabilitását és viselkedését, így befolyásolja a létrehozott szálak átmérőjét, és mivel a páratartalom is befolyásolja az átmérők változását [28].

### 1.3.2 Elektromos térmodellezés

Az elektromos mező döntő szerepet játszik a szálak előállítási folyamatában az elektrospinning során. Az elektromos tér terjedése befolyásolja a sugárpályát, amely meghatározza a szálak elrendezését, morfológiáját, helyét és méretét a speciális szálak lerakódásnak, így ennek az elektromos mezőnek a manipulálásával a kívánt makroskálás tulajdonságokkal rendelkező szálmátrixok előállítása lehetséges tű és kollektor geometria között [29]. Az elektrospinning során keletkező sugár követi az elektromos tér áramsűrűség vonalait, így az elektromos tér manipulálása hatékony módszer a sugárút és a szál lerakódás szabályozására. A két elterjedt módszer a kollektor geometriájának módosítása a

szabályozott szállélesztás érdekében, valamint a segédelektrodák alkalmazása a tű és a kollektor között. A kollektor geometriájának módosítása henger, tölcser, szállítószalag, gyűrűs kollektorok és párhuzamos elektrodákkal ellátott kollektorok, valamint membránok lehetnek. Az elektromos mező segédelektrodákkal történő manipulálása olcsó és hatékony módszer. Ezen elektrodák használata a tű és a kollektor geometriája között egyenletesebb elektromos tereosztást eredményez, valamint növeli az elektromos tér sűrűségét, ami a szálerősség növekedését és az átlagos szálmérő csökkenését eredményezi [30], [31].

### 1.3.3 Háromdimenziós szálszerkezetek

Általánosságban elmondható, hogy az elektrospinning kétdimenziós szálmátrixokat hoz létre, amelyek kis pórusméretük miatt korlátozzák alkalmazásukat a szövetmérnökségben. A háromdimenziós szövetek létrehozásának fő akadály a hipoxia, amelyet az oxigén és a tápanyag diffúziós korlátai okoznak a vastag állványanyagokban. A diffúziós korlátok mérsékelhetők háromdimenziós szállállványokkal nano- és mikroméretű szálméretük, valamint mikro- és milliskálájú pórusméreteik miatt [32]. A háromdimenziós, mindkét irányban legalább centiméteres szálszerkezetek előállítására szolgáló gyártási megközelítések két fő megközelítésre oszthatók, a szálhálók közvetlen előkészítésére és utófeldolgozására. A közvetlen előkészítési megközelítések közé tartozik a többrétegű elektrospinning, az áldozati szerek használata, a nedves elektrospinning és a háromdimenziós kollektortervezés. Ezekben a közvetlen előállítási megközelítésekben az elektrospinning paraméterek, különösen a relatív páratartalom szabályozása, illetve a polimer oldat adalékok, mint például a szervesetlen sók, kulcsfontosságúak a háromdimenziós szál makro-struktúrák sikeres előállításához. Az utófeldolgozási módszerek közé tartozik a gázhabosítás, ultrahangos kezelés és a rövidszálas összeszerelés [26].

## 1.4 A nanoszálás mátrix orvosbiológiai alkalmazásai

Az orvostudományban az elektrospinninggel előállított nanoszálás mátrixokat celluláris állványok anyagaként, antibakteriális sebkötözőként, gyógyszeradagoló rendszerként és különböző bioszenzoros alkalmazásokban használják.

### 1.4.1 Sejt állványzatok

A sejtes váz a szövetsebészetben kulcsfontosságú szerepet játszik a sejtadhézió, a növekedés és a sejtproliferáció folyamatában. A hatékony sejtállványoknak a következő

jellemzőkkel kell rendelkezniük: biokompatibilitás, sikeres sejtadhézió, megfelelő mechanikai szilárdság, extracelluláris mátrixot utánzó képesség, megfelelő funkcionalitás az implantáció helyén, megfelelő tartósság az alkalmazásokhoz [33]. Ezeket a cellás állványokat számos folyamatosan fejlesztett technológiával lehet előállítani, fő technológiák: olvadékfűtés, fázisszétválasztás és elektrospinning. Ezen technológiák közül az elektrospinning az egyik vezető módszer, mivel lehetővé teszi széles felületű mikro- és nanoméretű szálak előállítását. Az elektrospinning szálvázak nagy felülete bőséges teret biztosít a fehérje felszívódásához, és elősegíti a kötőhelyek kialakulását a sejtadhézióhoz, ami a sikeres szövetmérnöki alkalmazás egyik legfontosabb tényezője [34].

#### 1.4.2 Antibakteriális sebkötöző

Az elektrospinningű nanoszálak mátrixok az orvostudományban is alkalmazhatók a celluláris scaffold alkalmazása mellett a szövettervezésben. Az egyik legtöbbet kutatott felhasználási eset a sebkötöző anyagként való felhasználásuk. Ezeknek a sebkötözőknek a fő célja a sebgyógyulási folyamat felgyorsítása, egyúttal a mikrobiális fertőzés és annak terjedésének megelőzése és gátlása. A sebkötözőként használt polimer mátrixok olyan anyagokkal vannak beágyazva, amelyek antimikrobiális tulajdonságokkal rendelkeznek. Ezek az antimikrobiális anyagok lehetnek antibiotikumok, nanorészecskék, kationos kémiai vegyületek, bioanyagok [35]. A másik fontos tulajdonság a sebgyógyulás felgyorsítása, ez szintetikus drogokkal, természetes növényi alapú alternatívákkal, fém nanorészecskékkel érhető el. A szintetikus gyógyszerek a sebgyógyulás felgyorsításában és az antimikrobiális hatásban is gyógyszerrezisztenciával és mellékhatásokkal járnak együtt, ezért hosszú távú hatékonyságuk korlátozott lehet. A természetes növényi alapú vegyületek alkalmazása kiváló lehetőség lehet, azonban további vizsgálatok szükségesek a bioaktív vegyületek azonosításához ezekben a kivonatokban [36], [37].

## 2 Célkitűzés

A munka célja elektrospinning technológiával nanoméretű szálmátrixok előállítása volt, valamint a szálképzés során az elektromos tér terjedés szimulálása az elektrospinning paramétereinek beállításához.

Projekt munkám két fő részre osztható. Az első rész a szimulációs munka volt, ahol QuickField számítógépes programmal szimuláltam és vizualizáltam az elektromos tér terjedését az elektrosztatikus szálképzés során. A második része a laboratóriumi munka volt, ahol a poliszukcinimid nanoszálak mátrixokat állítottam elő és jellemeztem azzal a céllal, hogy meghatározzam, a  $\text{CaCl}_2$ -t tartalmazó PSI szál mátrixok felhasználhatóságát antibakteriális sebkötöző kifejlesztéséhez. Projekt fő részei a következők voltak:

- Szimulációs munka
  - Elektromos térterjedés szimulációja alapgeometriákban irodalmi összehasonlítás céljából
  - Az elektromos tér szimulációja az elektrosztatikus szálképzés során használt hagyományos kollektor geometriákkal
  - Nem hagyományos kollektorgeometriák tervezése, 3D nyomtatása és használata elektrospinning során
  - Az elektromos tér szimulációja elektrosztatikus szálképzés során nem hagyományos 3D nyomtatott kollektorok segítségével
  - A szállerekódás összehasonlítása nem hagyományos kollektorgeometriákon a szimulációs adatokkal
- Kísérleti munka:
  - A poliszukcinimid szintézise
  - Poliszukcinimid nanoszálak mátrixok előállítása
  - Az előállított mátrixok jellemzése pásztázó elektronmikroszkóppal és FT IR spektroszkópiával
  - Közvetett citotoxicitási vizsgálat 155 BR fibroblaszt sejteken

## 3 Anyagok és módszerek

### 3.1 Elektromos térmodellezés elektrosztatikus szálképzés során

Elektrospinning során potenciálkülönbség van a nagyfeszültségű tű vagy kapilláriscső és a földelt kollektor között. A projekt során a QuickField számítógépes programmal vizualizáltam az elektromos teret az elektrospinning berendezésben. A program hallgatói verziója korlátozott mesh számmal rendelkezik: 2-dimenziós szimulációnál maximum 255 meshszámmal, 3 dimenziós szimulációban pedig 4095 maximális meshszámmal rendelkezik. A program közelítést használ véges számú háló létrehozásával a hálókban lévő függvények kiszámításához. A háromdimenziós szimulációhoz háromdimenziós extrudálási módszert alkalmaztam a kívánt geometriák létrehozásához.

A programban a DC Conduction feladatmegoldást használtam, a tű 17 kV feszültségű, a kollektor földelt, a kollektor és a tű között a légrés 14 cm, a levegő vezetőképessége  $1 \times 10^{-12} \text{ S/m}$ .

### 3.2 Anyagok

L-aszparaginsav (reagensminőség  $\geq 98\%$ , Mw  $\sim 133$ , Sigma Aldrich, USA), ortofoszforsav (reagensminőség  $\geq 99\%$ , Mw  $\sim 98$ , Sigma Aldrich, USA), N,N-dimetilformamid (DMF) (reagens fokozat  $\geq 99,8\%$ , AnalaR NORMAPUR®, VWR Chemicals BDH®, VWR International, USA), ,  $\text{CaCl}_2$  ( $\geq 99\%$ , Reanal).

### 3.3 3D nyomtatott kollektor geometriák

A projekt során egyedi gyűjtőket terveztem Autodesk Fusion 360 számítógépes programmal. Ezek a tervek a különböző cégektől beszerezhető vagy az elektrospinningsal kapcsolatos szakirodalomban vizsgált kollektorgeometriákon alapulnak [38]. A gyűjtők 3D-s nyomtatása Creality Ender 3 nyomtatóval történik, PLA filamenttel. A 3D nyomtatást követően az objektumokat alumínium spray-vel vonták be, amely elektromosan vezetővé tette felületüket, ez azért fontos lépés, mert szükséges, hogy a céltárgy vezetőképes és földelt legyen.

### 3.4 Polimer oldatok készítése

A poliszukcinimidet L-aszparaginsavból és 99%-os n-foszforsavból termikus polikondenzációval szintetizálták. A szintézis IKA RV21 rotációs elpárologtatóval, IKA HB 21 digitális hőtartállyal és Vacuubrand PC3001 VAEIO vákuumgenerátorral történt. 20 g L-aszparaginsav és 20 g kristályos foszforsav összekeverése után. Ezt a keveréket egy körte alakú 1 literes lombikba adtuk, amelyet a 180 °C-ra melegített szilíciumolajba merítettünk, és a lombik belsejében 3 mbar alatt van a nyomás. A szintézis 7 órás, és a végére sárgás habszerű szerkezet figyelhető meg a szintézis termékeként. A terméket ezután 200 ml dimetil-formamidban oldjuk. Az el nem reagált anyagok eltávolítására a terméket 3-4 alkalommal mostuk és szűrtük, amíg semleges pH-értéket el nem értek. A mosást 1600 ml desztillált vízzel 10 percig kevertük, a vákuumszűrést G3 típusú üvegszűrővel végeztük. A leszűrt és mosott terméket három napon át 40 °C-on szárítjuk szárítóban. A végső PSI por fehér színű volt.

Az elektrospinning oldatokat egy 30 ml-es fiolában, 5 ml-es oldatokként az ábrán látható módon készítettem el. (1. táblázat). A kimért  $\text{CaCl}_2$  só után a DMF oldószert adjuk hozzá, és mágnesesen keverjük a teljes oldódásig. A PSI-t hozzáadtam ehhez a só-DMF oldathoz, és a teljes feloldódásig kevertem. A PSI oldatok arany színűek és mézszerű viszkozitásúak.

1.táblázat: A PSI-oldatok komponensei tömeg szerint

| Components by weight                              | PSI (g) | DMF (g) | $\text{CaCl}_2$ (g) |
|---------------------------------------------------|---------|---------|---------------------|
| 20 m/m % PSI                                      | 1       | 4       | -                   |
| 22,5 m/m % PSI                                    | 1,125   | 3.875   | -                   |
| 25 m/m % PSI                                      | 1.25    | 3.75    | -                   |
| 20 m/m % PSI<br>with 5 m/m %<br>$\text{CaCl}_2$   | 1       | 3.75    | 0,25                |
| 22,5 m/m % PSI<br>with 3 m/m %<br>$\text{CaCl}_2$ | 1,125   | 3.725   | 0.15                |
| 25 m/m % PSI<br>with 1 m/m %<br>$\text{CaCl}_2$   | 1.25    | 3.7     | 0.05                |

### 3.5 Elektrosztatikus szálképződés

A poliszukcinimid polimer szálakat házi készítésű elektrospinning berendezéssel állították elő. A készülék falai szövet bakelitből és alumínium sínekből készültek, hogy egy dobozt hozzanak létre, amely kellően elválasztja az elektrospinninget. A készülék ajtaja átlátszó akril lapokból készült. Az egész doboz két oldalról földelve van, így a felesleges töltés eloszlik a földelő vezetéseken. Az elektrospinning berendezés méretei: 115 cm x 76 cm x 56 cm. A készülék 2 KD Scientific 100 egyfecskendő pumpát és GENVOLT nagyfeszültségű tápegységet tartalmaz. Az elektrospinning során akár 20 kilovoltot is fel tud menni a berendezés, nagyobb feszültségen fennáll a lehetőség a szálképzés szempontjából hátrányos ívképzésre.

Az elektrosztatikus szálképzéshez a poliszukcinimid oldatot egy 1 ml-es fecskendőbe töltöttem. A 8-as tűvel ellátott fecskendőt a fecskendő pumpába helyeztem, a tűre pedig egy krokodilfogót helyeztem, amely az elektromos feszültséget szolgáltatja a tűnek és az oldatnak. A forgó dobkollektor vagy a tervezett kollektorok a tű hegyétől  $14 \pm 0,5$  cm távolságra kerültek elhelyezésre és krokodilfogóval földelve voltak, ez a gyűjtőtávolság optimális a PSI elektrospinninghez. Az alkalmazott elektromos feszültség  $17,5 \pm 0,5$  kV, a polimer oldat áramlási sebessége 1 ml/h volt. A szálgyűjtés során a hőmérséklet  $24,5 \pm 1$  °C, a relatív páratartalom  $52 \pm 3$  % volt. Az elektrosztatikus szálképzés paraméterei a PSI polimer oldathoz optimális tartományban voltak.

### 3.6 A szálszerkezetek jellemzése

#### 3.6.1 ATR-FT-IR spektroszkópiai jellemzés

Az infravörös spektroszkópiás méréseket JASCO 4700A műszerrel, ATR fejjel végeztem. Mindegyik spektrumot  $400-4000\text{ cm}^{-1}$  között mértükhullámszám tartományban 64 mérés történt minden hullámszám lépésen és az adatokon átlagoltam. A felbontás  $4\text{ cm}^{-1}$  volt. A spektrumokat a SpectraGryph 1.2 számítógépes programmal vizualizáltam.

#### 3.6.2 Átlagos szálátmérő jellemzése

A szálmátrixok átlagos szálátmérőjét pásztázó elektronmikroszkóppal határoztam meg. A mintákat kivágtam és a pásztázó elektronmikroszkóp mintatálcájára ragasztottam. A mintákat porlasztóval bevontam egy vezetőképes aranyréteggel. A bevont mintákat ezután behelyeztem a mikroszkópba, és 1000-szeres, 2500-szeres, 5000-szeres nagyítással vizsgáltam.

A szálak átmérőjét a Fiji számítógépes program segítségével határoztam meg, amely képes kiszámítani a szélességet az egyes szálak széleihez illesztett vonal pixelhosszának megszámlálásával. Minden szálmintához 100 illesztett vonalat határoztam meg három különböző nagyításban, majd excel segítségével kiszámítottam az átlagos átmérőt és a szórást. Az átlagos átmérő elemzéséhez Welch-féle statisztikai tesztet végeztem Excels adatelemző eszközzel, a  $\text{CaCl}_2$ -ot tartalmazó szálak átmérőjének összehasonlításával polimer koncentrációpárjukkal amely nem tartalmazott  $\text{CaCl}_2$ -t

### 3.7 Közvetett citotoxicitási vizsgálat

Az in vitro indirekt citotoxicitási vizsgálatot 155 BR fibroblaszt sejt kultúrával végeztem. A sejteket in vitro növesztjük, számukat addig növelve, amíg elegendő sejtszám nem állt rendelkezésre a citotoxicitás mérésére. A citotoxicitási vizsgálat során WST-1 proliferáló reagenssel mértem a sejtek életképességét. A WST-1 reagenst színtelen tápközzel 5%-ra hígítottam. A WST-1 sejtproliferációs reagenst a sejtek életképességének kolorimetriás mennyiségi meghatározására használtam 24 illetve 72 óras inkubáció után. Mindent steril fülke alatt végeztem, hogy megakadályozzam a sejt kultúrák fertőzését.

A citotoxicitási vizsgálat 5 napig tartott a sejtek sejtelképességének mérésére. A citotoxicitási vizsgálat megkezdése előtt az elektrospinning nanoszál mátrixokból  $0,50 \text{ mg} \pm 0,1 \text{ mg}$ -os mintákat vágtam. Az ismert súllyal alapján kiszámoltam és kimértem a minták  $\text{CaCl}_2$  só mennyiségét 100-szoros koncentrációjú oldathoz.

A mérés első napján a nanoszál mintákat 24 órára tápoldatba merítettük, és a mért sómennyiségeket is feloldottuk a tenyésztési médiumban. A sejtmennyiséget burkerkamra segítségével számoltuk meg. A sejtek megszámlálása után két 96 well-es lemezre oltottuk őket  $100 \mu\text{l}/10000$  sejt koncentrációban, és 24 órán át a tenyésztődobozban tartottuk, hogy lehetővé tegyük a felülethez való rögzítést és egy félig összefolyó egyrétegű réteg kialakulását.

A második napon a nanoszál tartalmú tápoldatokat szűrtem, a sót tartalmazó tömény tápoldatokat pedig hígítottam és szűrtem. A sejtenyészeteket tartalmazó lyukakat mikroszkóp alatt lefényképeztem. A sejtenyésztő tápközeget ezután  $200 \mu\text{l}$  polimert és sót tartalmazó táptalajra cseréltem, a kontroll mintáknál a tenyésztő tápközeget friss táptalajra cseréltem, a halott sejtes (DC) negatív kontroll mintákban pedig a sejteket 10%-os dimetilszulfoxiddal kezeltem. A sejteket ezután 24 órán át  $37^\circ\text{C}$ -on inkubáltam.

A harmadik napon a 24 órás lemezwell-eket mikroszkóp alatt fényképeztük. A sejteket először kétszer mostam PBS-oldattal, majd 100 µl 5%-os WST1-proliferáló szert adtam a sejtet tartalmazó üregekhez és 6 üres üreghez vakoldatként. A sejteket 4 órán át inkubáltam. 4 órás inkubálás után 90 µl felülúszó reagenst pipettáztam egy üres 96 lyukú lemezre. A felülúszó abszorbanciáját 450 nm-en, 655 nm-es referencia hullámhosszon mértem mikrolemez-leolvasóval.

Az ötödik napon a harmadik nap protokollját megismételtük a 72 órás lemezen.

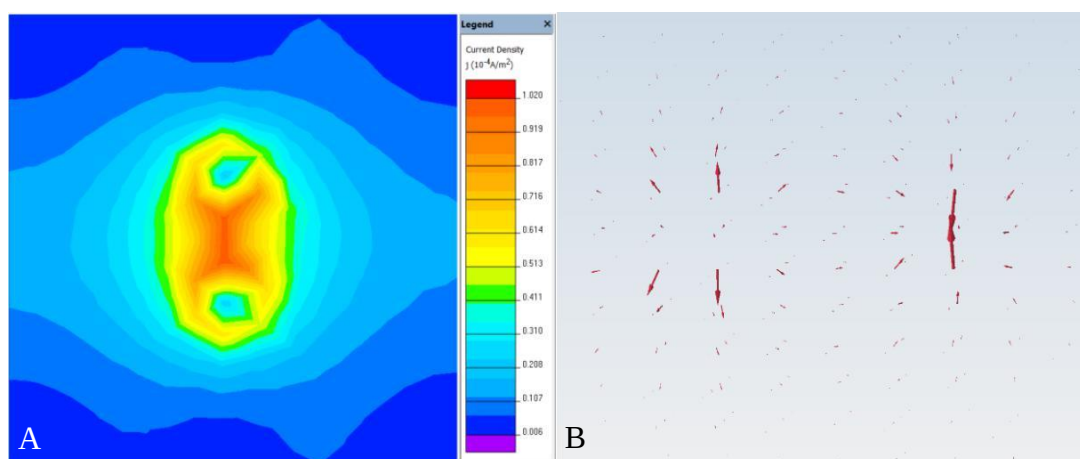
Az adatok elemzéséhez a Welch-féle statisztikai tesztet végeztem el a sejtéletképességi értékeken Excels adatelemző eszközzel.

## 4 Eredmények

### 4.1 Elektromos tér szimulációk

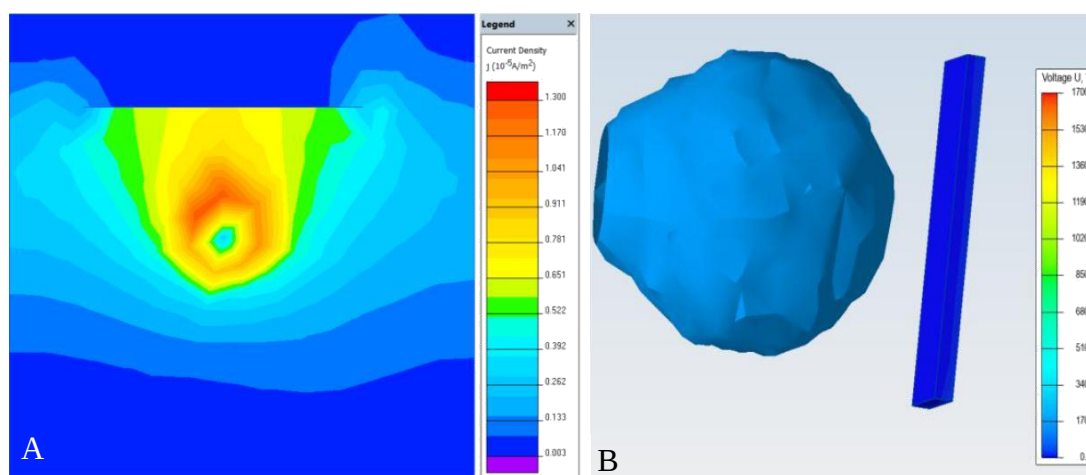
#### 4.1.1 Elektromos terjedés az alapgeometriák között

Az alapgeometriák közötti elektromos térterjedés szimulációja segít jobban megérteni az elektrosztatikus szálképzés folyamatát. A polimer sugár útja az elektromos mezőt követi a levegőn keresztül a földelt kollektor geometriáira; így a szál lerakódási viselkedése szabályozható az elektromos térjellemzők elektrospinning közbeni változásaival.



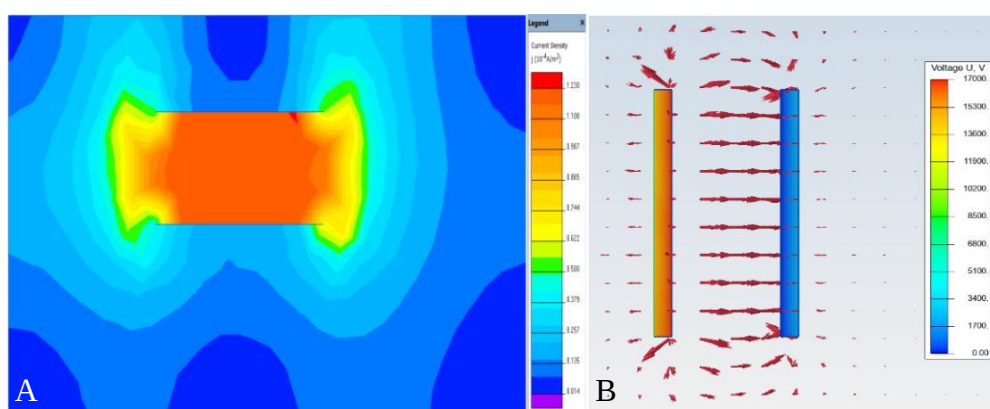
3. ábra: Az elektromos tér terjedése két pont között kétdimenziós (A) és háromdimenziós (B)

A 3. ábrán a szimuláció azt mutatja, hogy az elektromos tér nem lineárisan terjed, a legnagyobb áramsűrűség a két pont között van, de az elektromos tér tovább terjed a térben.



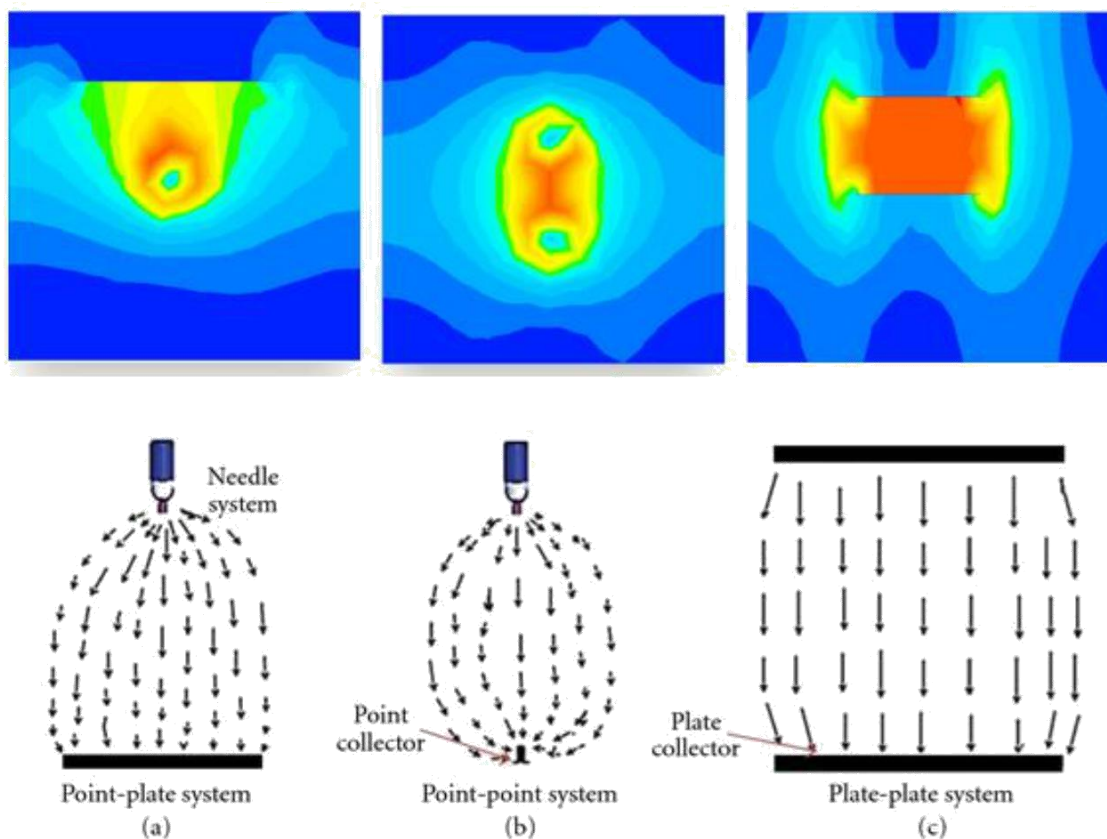
4. ábra: Az elektromos tér terjedése egy pont és egy sík felület között két-dimenzióban (A) és három dimenzióban (B)

A 4. ábrán szimuláció azt mutatja, hogy a földelt síkfelület és a töltés helye közötti elektromos tér a földelt felületre terjed, és még a felületet is megkerüli a talajfelület hátsó oldaláig. Ez a viselkedés az elektrosztatikus szálképzés során is megfigyelhető, amikor a kollektor túl kicsi, vagy az összegyűjtött polimer szigetelőként működik a kollektoron, a biopolimer szálszerkezet a kollektor hátoldalán is megjelenik.



5. ábra: Elektromos térterjedés 2 síkfelület között két dimenzióban (A) három dimenzióban (B)

Az 5. ábrán a két sík felület közötti elektromos tér egyenletesen terjed, de a széleken kiszélesedik és a két sík felület hosszán kívülre terjed.

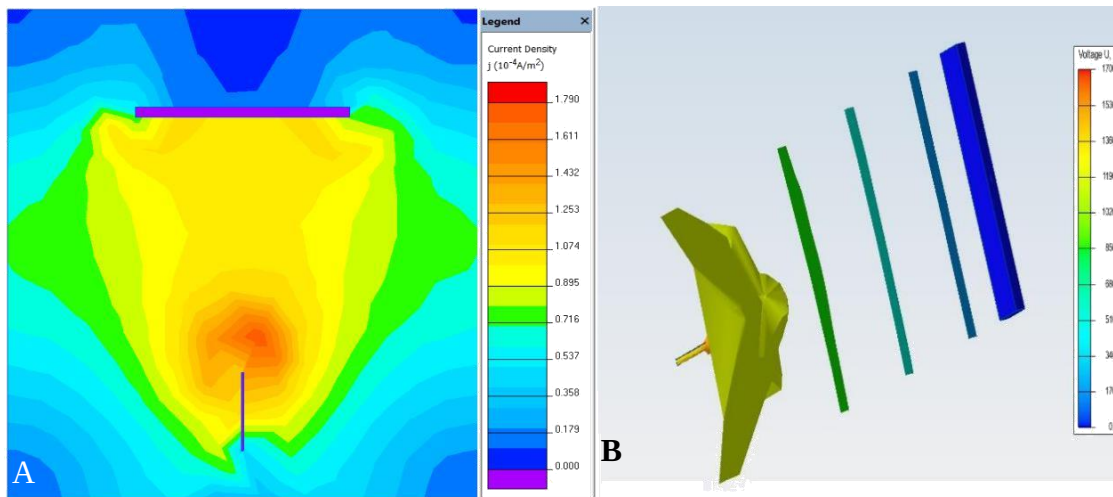


6. ábra: Az alapeometriák összehasonlítása irodalmi adatokkal [39]

Az elektromos térterjedési szimulációk eredményeit összevetve Sahay 2011 munkájában kapott eredményekkel, azt láthatjuk, hogy az elektrospinning szempontjából releváns alapeometriák közötti szimulációk ugyanazt az elektromosságot mutatják. terepterjedés. Ez az összehasonlítás azt mutatja, hogy a szimulációk eredménye sikeres, és, és felhasználható új kollektorgeometriák tervezésére, amelyek előnyök lehetnek a szálgyűjtés számára.

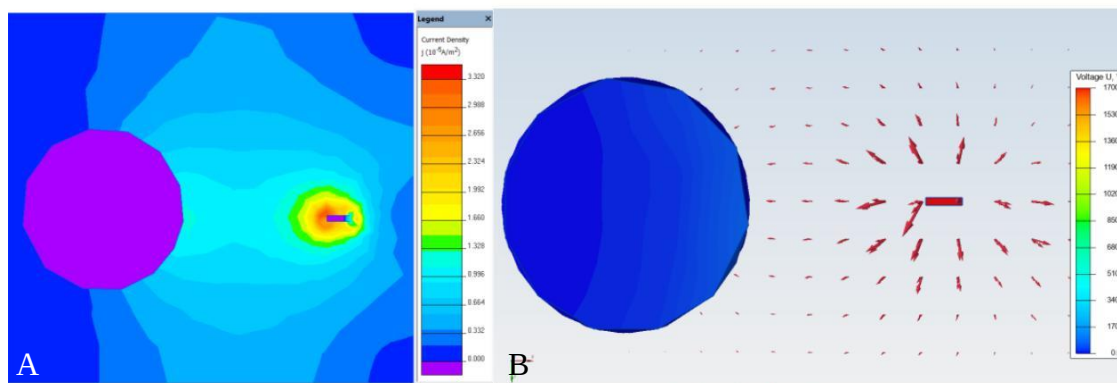
#### 4.1.2 Elektromos terjedés elektrosztatikus szálképzés során

Az elektrosztatikus szálképzés során a tű magas feszültség alatt van, amelyet egy krokodilcsipesz szállít. A 7. ábra (A) az elektromos tér nemcsak a kollektor felületének teljes hosszában terjed, hanem a kollektor mögött és oldalain is. A 7. ábra (B) az elektromos tér a tű körül 50 mm-es sugárban szimuláltam, mivel a program tanulói verziójának korlátai miatt a jelenleginél nagyobb szimuláció túl sok hálót tartalmaz és a program nem szimulálja azt. Amint ezekben a szimulációkban látható, az elektromos tér a kollektornál homogén, ami azt jelenti hogy a polimer lerakódás a teljes kollektor felületén történik.



7. ábra: Elektromos tér terjedése elektrosztatikus szálképzés során lapos felületi kollektor geometriája kétdimenziós (A) és háromdimenziós megjelenítésben egyenlő felületű diagramként (B)

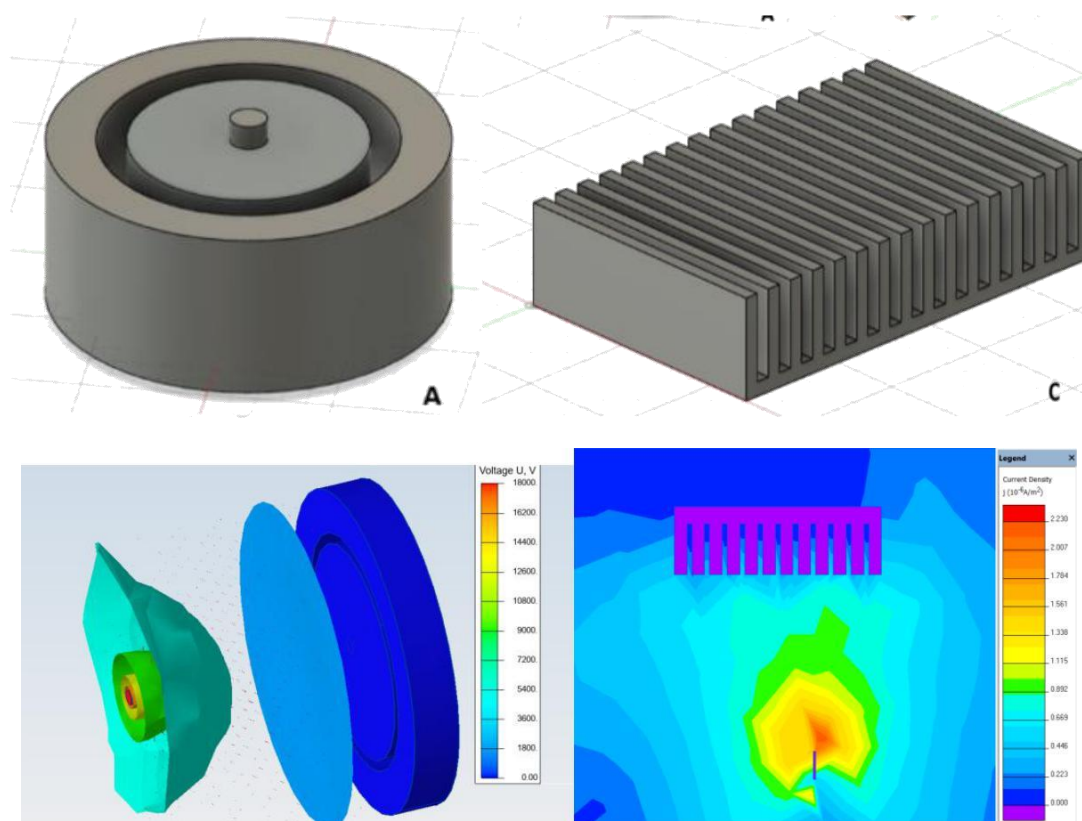
A 8. ábrán az elektromos tér terjedését mutatja forgó dobkollektorral. Ezeket a kollektorokat akkor használják, ha a cél az, hogy homogén szálbevonatú szálmátrixokat állítsanak elő lassú forgás mellett, vagy irányított mátrixokat nagy forgási sebességgel.



8. ábra: Elektromos tér terjedése elektrosztatikus szálképzés során forgással dobkollektor kétdimenziós (A) és háromdimenziós kivitelben

## 4.2 Tervezett kollektor geometriák

A képen látható kollektortervek (9. ábra) hasonló paraméterekkel rendelkeznek, hogy a kollektor hézagjai 6 mm távolságban vannak. Ezeknek a kollektorterveknek kettős volt a célja, az első az volt, hogy a szálakat a kollektor réseiben gyűjtsük össze, így az irányított szálmátrixokat nagy sebességű forgó dobkollektor használata nélkül hozzunk létre. A második az elektromos mező szimulálása volt ezekkel a kollektorokkal, és a szimulációs adatok összehasonlítása a szál lerakódási viselkedésével.



9. ábra: A tervezett kollektor geometriák és azok elektromos tér szimulációi

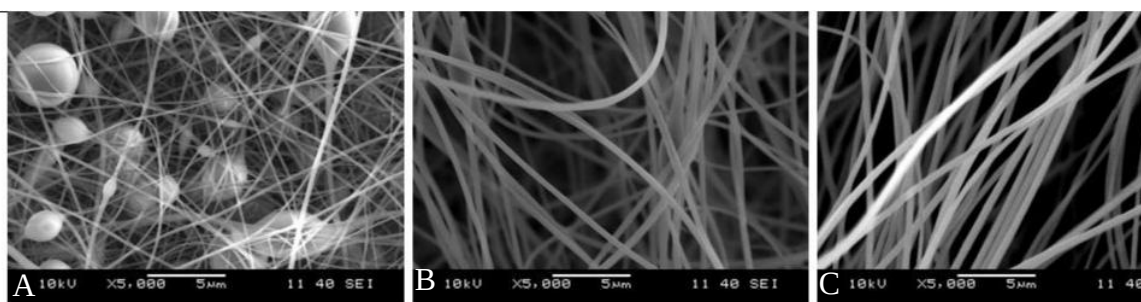


10. ábra: A szálak lerakódás viselkedése a tervezett kollektor geometriákon

A 10. ábrán a szálak lerakódás azt mutatja, hogy a kollektor résekben nem történt szálak lerakódás, ami a szálmátrixok irányultságát okozná. A szálgyűjtés csak a kollektorok külső felületén történt. Ennek a viselkedésnek a magyarázatát a kollektorokon végzett szimulációs adatok adják. A szimulációk azt mutatják, hogy az elektromos tér nem hatol be a kollektorgeometriákon lévő résekbe, ezek a rések árnyékoltak az elektromos tértől. Ennek a viselkedésnek a leküzdéséhez segédelektrodákat kell használnunk nagyobb részméretű kollektorok, amelyek a polimer sugarakat a kollektor felületéről a résekbe vezetnek.

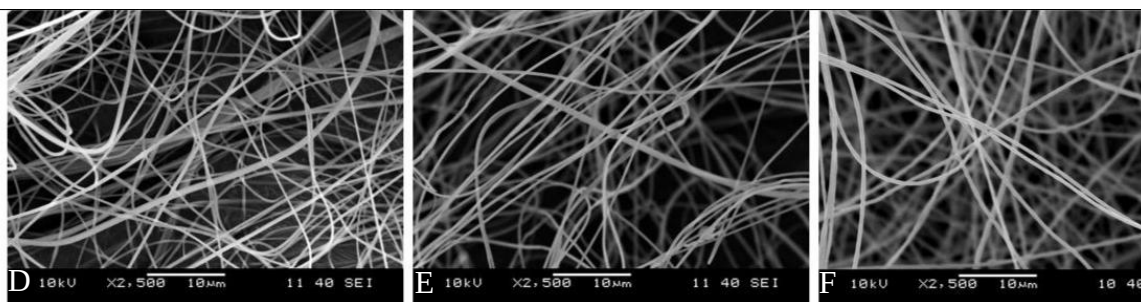
### 4.3 Szálszerkezetek

A pásztázó elektronmikroszkópos képeket 11. ábrán, láthatjuk, A 20%-os PSI mintában nem csak szálak, hanem polimer gyöngyök is megjelentek a szálmátrixban. Ezen gyöngyös szálmátrixoknak a kialakulása az oldatsugár instabilitásával függ össze az elektrosztatikus szálképzés során. Ez az instabilitás a polimer oldat specifikus jellemzőihez kapcsolódik, nevezetesen: viszkoelaszticitás, a sugár által hordozott töltéssűrűség és felületi feszültség. A szálmátrixokban kialakuló gyöngyök elleni küzdelem érdekében  $\text{CaCl}_2$ -t adtam hozzá 5 m/m%-os koncentrációban a 20%-os PSI oldathoz, amely növeli a polimer oldat viszkozitását és javítja az elektromos vezetőképességet.



11. ábra: Pásztázó elektronmikroszkópos képek a poliszukcinimid szárlól mátrixok A: 20% PSI minta, B: 22,5% PSI minta, C: 25% PSI minta

A 22,5% és 25% PSI minták a szabályos polimerszálas mátrixokat mutatják, bár a 25%-os mintán nagyfokú igazodást figyelhetünk meg a keletkezett szálak között.



12. ábra: Pásztázó elektronmikroszkópos képek a poliszukcinimidről és a  $\text{CaCl}_2$ -ről szálmátrixokat tartalmazó D: 20% PSI + 5%  $\text{CaCl}_2$  minta, E: 22,5% PSI + 3%  $\text{CaCl}_2$  minta, F: 25% + 1%  $\text{CaCl}_2$  PSI minta

12. ábrán láthatjuk, hogy a  $\text{CaCl}_2$  hozzáadása a polimer oldatok megakadályozták a gyöngyös szálmátrixok kialakulását.

2. táblázat: A szálmátrixok átlagos szálátmérője

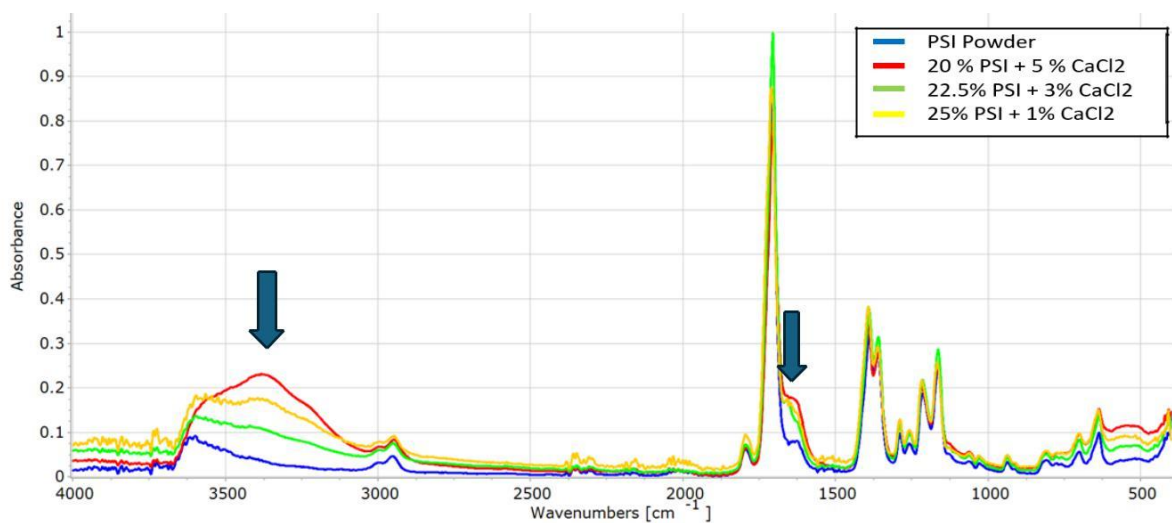
| 11-es és<br>12-es<br>ábrák | Szál<br>matrix<br>minták                           | Átlagos<br>szálátmérő<br>(nm) | Szórás | P érték a<br>koncentráció<br>alapján<br>összehasonlított<br>szálminták között |
|----------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A</b>                   | 20 wt%<br>PSI                                      | 263                           | 122    |                                                                               |
| <b>B</b>                   | 22.5<br>wt% PSI                                    | 553                           | 166    |                                                                               |
| <b>C</b>                   | 25 wt%<br>PSI                                      | 503                           | 170    |                                                                               |
| <b>D</b>                   | 20 wt%<br>PSI +<br>5m/m%<br>CaCl <sub>2</sub>      | 542                           | 201    | 1.66E-68                                                                      |
| <b>E</b>                   | 22.5<br>wt% PSI<br>+<br>3m/m%<br>CaCl <sub>2</sub> | 492                           | 145    | 2.22E-06                                                                      |
| <b>F</b>                   | 25 wt%<br>PSI +<br>1m/m%<br>CaCl <sub>2</sub>      | 666                           | 195    | 1.91E-25                                                                      |

Az előállított mátrixok átlagos szálátmérője nanoméretű, mert 1 µm alatti, ebből a szempontból sikeresen állítottam elő nanoszál mátrixokat.

A hozzáadott CaCl<sub>2</sub> a polimer oldatokhoz kötött só nemcsak a szálmátrixokban megakadályozta a gyöngyök kialakulását, hanem jelentősen megváltoztatta a szálmátrixok átlagos szálátmérőjét is.

## 4.4 FT-IR jellemzés

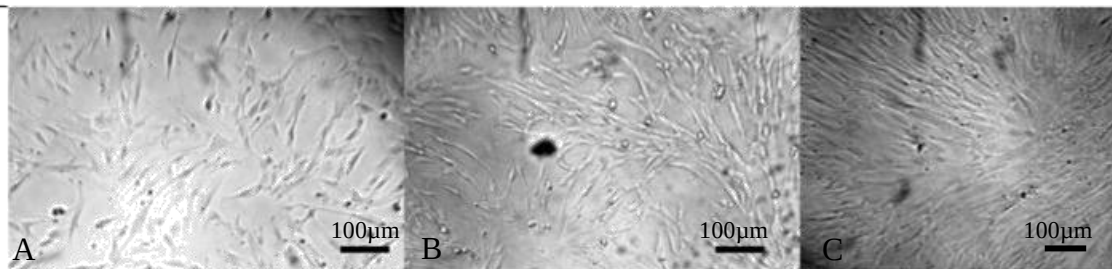
Az FT-IR spektrumok a 13. ábrán a  $\text{CaCl}_2$ -ot tartalmazó mátrixok közül  $3400\text{ cm}^{-1}$ -nél mutatják a csúcsokat és  $1600\text{ cm}^{-1}$ -nél ezek a csúcsok kék nyíllal vannak jelölve 13. ábrán. A megjelölt csúcsok a víz jelenlétét mutatják ezekben a mátrixokban. Ennek a víztartalomnak két magyarázata lehet, az egyik az, hogy ezek a mátrixok a levegő páratartalmából abszorbeálják a vizet a tárolás során, a másik pedig az, hogy a dimetil-formamid oldószer kis mennyiségű vizet visz be a PSI-szolvatáció során. Ez a víztartalom nem okoz PSI polimer kiválását. Az Ft-IR spektrum nem mutatja a DMF jelenlétét a szálakban illetve a nem mutatja jelét kémiai változásnak sem így megállapítható hogy a szálak továbbra is PSI polimerből állnak.



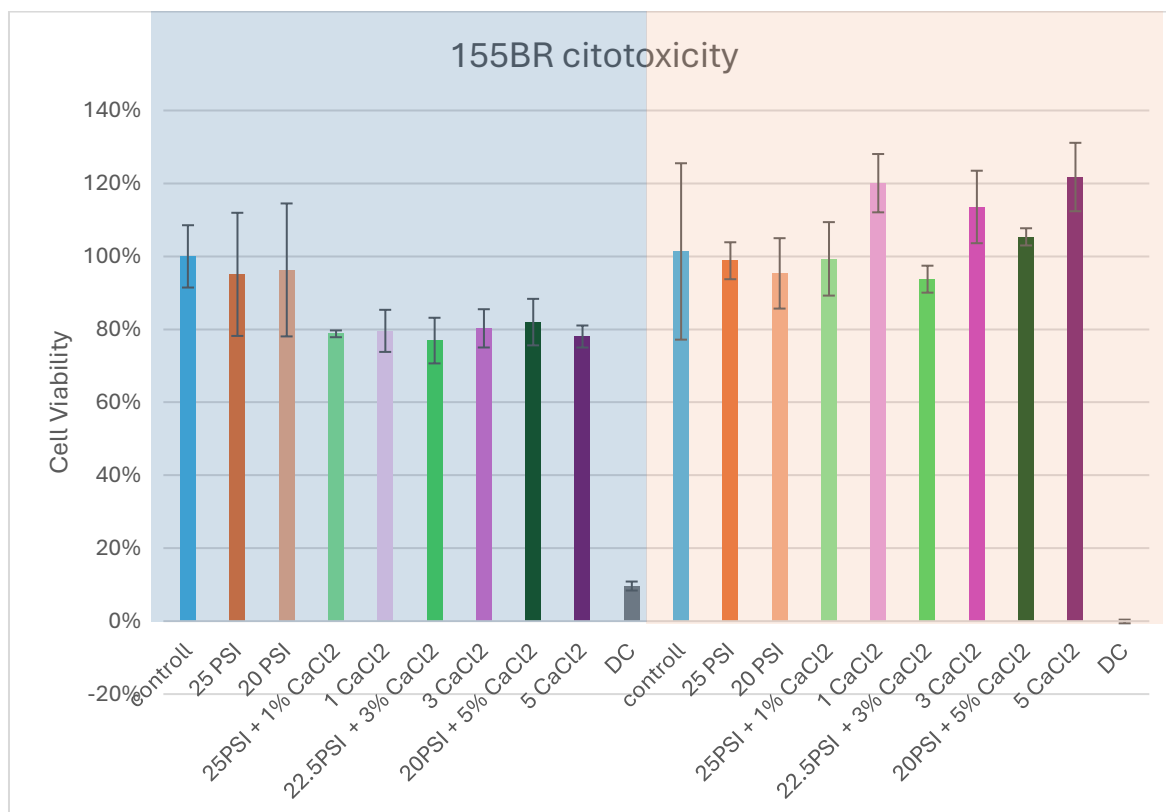
13. ábra:  $\text{CaCl}_2$  tartalmú mátrixok FT-IR spektruma

## 4.5 Közvetett citotoxicitási vizsgálat

14. ábra alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a sejtprolifерáció nem gátolt a citotoxicitási vizsgálat során, mivel a sejt lefedettség növekedést mutat a tenyésztő well-ekben.



15. ábra: 155BR sejtek a citotoxicitási vizsgálat során: A kép: 0. nap az oltás után a sejteket a 96 lyukú lemezre, B kép: Sejtek 24 órás inkubáció után a kezelt tápközegben, C kép: sejtek 72 órás inkubáció után a kezelt tenyésztő tápközegben



16. ábra: A sejtek életképessége 24 óra és 72 óra elteltével érhető el

3. táblázat: Sejt életképesség valamint a p-érték a Welch's -test alapján. A szignifikancia szürke színnel van jelölve

|                                    | 24<br>óra | p-érték      | 72<br>óra | p-érték  |
|------------------------------------|-----------|--------------|-----------|----------|
| <b>control</b>                     | 100%      |              | 133%      |          |
| <b>25 PSI</b>                      | 95%       | 0.62694<br>7 | 129%      | 0.849544 |
| <b>20 PSI</b>                      | 96%       | 0.72888<br>1 | 125%      | 0.671506 |
| <b>25PSI + 1% CaCl<sub>2</sub></b> | 79%       | 0.00354<br>8 | 130%      | 0.88396  |
| <b>1 CaCl<sub>2</sub></b>          | 80%       | 0.00349<br>6 | 157%      | 0.215567 |

|                                      |     |              |      |          |
|--------------------------------------|-----|--------------|------|----------|
| <b>22.5PSI + 3% CaCl<sub>2</sub></b> | 77% | 0.00202<br>5 | 123% | 0.573725 |
| <b>3 CaCl<sub>2</sub></b>            | 80% | 0.00365<br>9 | 149% | 0.403727 |
| <b>20PSI + 5% CaCl<sub>2</sub></b>   | 82% | 0.00830<br>2 | 138% | 0.763835 |
| <b>5 CaCl<sub>2</sub></b>            | 78% | 0.00232<br>7 | 159% | 0.194605 |
| <b>DC</b>                            | 10% | 3.67E-06     | 0%   | 0.003563 |

3. táblázat alapján megállapíthatjuk, hogy a sejtek életképessége a kontroll mintához képest nem változott szignifikánsan, amikor a sejteket a tenyésztő tápközegeben inkubáltuk, ahol a PSI szálak 24 órán keresztül oldódtak. A CaCl<sub>2</sub>-t tartalmazó tápoldatokban a sejtek életképessége szignifikánsan csökkent 24 órás inkubáció után.

A sejtek életképessége 72 óra elteltével a kontroll mintákban 133%-os Ez annak a ténynek köszönhető, hogy az összes százalékot a 24 órás kontrollminták adatai alapján számítottuk ki, ez a számítási módszer azt is mutatja, hogy a sejtek szaporodtak a 2 mérés közti 48 órában, a sejtek életképességi eredményei a mért mintákban lévő sejtek számától is függenek. 72 órás inkubáció után a sejtek életképessége nem változott szignifikánsan a 72 órás kontrollmintához képest.

Az indirekt citotoxicitási vizsgálat adataiból arra következtethetünk, hogy a PSI szálak nem mutatnak szignifikáns citotoxikus hatást a 155BR fibroblaszt sejtekre.

## 5 Összefoglalás

Az elektrosztatikus szálképzés egy nem mechanikus technológia nanoméretű szálszerkezet létrehozására, amely széles körben alkalmazható az orvostudományban sejtes állványként, antimikrobiális sebkötözőként, gyógyszeradagoló rendszerként, csontátültetésként és mesterséges véredényként. Az elektrospinningű nanoszálak szintetikus vagy természetes polimerekből készülnek, és alkalmazásuk az alkalmazott polimer tulajdonságaitól és az előállított szálszerkezet tulajdonságaitól függ. Dolgozatom két fő részből áll, az első részben az elektromos tér terjedésének szimulálása volt az elektrospinning során, a második rész pedig a laboratóriumi munka, ahol az előállított polimer szálakat jellemeztem.

Az elektromos térterjedés szimulációjához először az elektrospinning technológia szempontjából releváns alapeometriákat szimuláltam, és összevetettem azokat az irodalmi adatokkal, hogy megállapítsam, hogy a szimulált elektromos tér a szakirodalomban leírtakkal megegyező viselkedést mutat. Szimulációs munkám következő része az elektromos mező szimulálása volt hagyományos elektrospinning során, amivel jobban megértetjük a szálak lerakódásának folyamatát a kollektor geometriáira. A szimulációs feladatok utolsó része a kollektorgeometriák megtervezése és a szálas lerakódási viselkedés összevetése az elektrospinning során az ugyanazon kollektorokon kapott szimulációs adatokkal.

A projekt második része az elektrospinningű poliszukcinimid szálmátrixok előállítása és jellemzése volt, ezeket a mátrixokat hagyományos forgódobos kollektorokon gyűjtöttem össze. A poliszukcinimid szálas mátrixokat azonos paramétereken elektrospinningsal végeztük annak érdekében, hogy a mátrixok tulajdonságait csak a polimer oldat jellemzői változtassák meg. A polimer oldatokban a fő változások a polimer koncentrációjának változása az oldatban és a  $\text{CaCl}_2$  hozzáadása volt különböző koncentrációkban a polimer oldathoz. A szálmátrixok átlagos szálátmérőjének meghatározása pásztázó elektronmikroszkóppal történt. A szálmátrixokat FT-IR spektroszkópiával is jellemeztük. Projektem utolsó része az előállított szálmátrixok citotoxikus hatásának meghatározása volt 155BR humán fibroblaszt sejteken végzett indirekt citotoxicitási vizsgálattal. A polimer mátrixok jellemzése során gyűjtött eredményből arra következtethetünk, hogy a  $\text{CaCl}_2$  tartalmazó mátrixok felhasználhatók elektrospinningű antibakteriális sebkötöző alapanyagaként.

Összefoglalva az elektromos térterjedés szimulációjával sikeresen szimuláltam az elektromos teret az elektrosztatikus szálképzés során és sikeresen szimuláltam a szálak lerakódási jellemzőit egyedi 3D nyomtatott kollektor geometriákon. Az előállított szálmátrixok jellemzése során megállapítottam, hogy a  $\text{CaCl}_2$  hozzáadása megakadályozhatja a gyöngyös szálmátrixok kialakulását, de az IR spektroszkópiai adatok azt mutatják, hogy a  $\text{CaCl}_2$  tartalmazó szálmátrixok is tartalmaznak vizet. Az indirekt citotoxicitási vizsgálat eredményei azt mutatják, hogy a PSI szálmátrixok nem csökkentik szignifikánsan a sejtek életképességét, így nincs citotoxikus hatásuk a sejtekre. A  $\text{CaCl}_2$ -t tartalmazó szálak szignifikánsan csökkentették a sejtek életképességét 24 órás inkubáció után, de 72 órás inkubáció után a sejtleletképesség azt mutatja, hogy nincs szignifikáns változás a kontroll mintákhoz képest.

## Megjegyzés

A tudományos diákköri dolgozatom eredeti nyelve angol volt mivel az orvosi biotechnológia mester képzés, amelyen részt veszek angol nyelvű képzés. A dolgozatomat a windows copilot segítségével fordítottam magyar nyelvre mivel a 37. OTDK műszaki tudomány szekcióban csak magyar nyelvű dolgozattal lehet elindulni. A dolgozatomhoz a magyar nyelvű fordítást leszámítva semmilyen egyéb AI segítséget nem használtam

## Bibliográfia

- [1] L. Wei et al., ‘Advancements and challenges in stem cell transplantation for regenerative medicine’, *Heliyon*, vol. 10, no. 16, p. e35836, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e35836.
- [2] M. C. Hacker and A. G. Mikos, ‘Chapter 33 - Synthetic Polymers’, in *Principles of Regenerative Medicine (Second Edition)*, A. Atala, R. Lanza, J. A. Thomson, and R. Nerem, Eds., San Diego: Academic Press, 2011, pp. 587–622. doi: 10.1016/B978-0-12-381422-7.10033-1.
- [3] M. Majidinia et al., ‘The multiple functions of melatonin in regenerative medicine’, *Ageing Research Reviews*, vol. 45, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.arr.2018.04.003.
- [4] S. Li, T. Qian, X. Wang, J. Liu, and X. Gu, ‘Noncoding RNAs and Their Potential Therapeutic Applications in Tissue Engineering’, *Engineering*, vol. 3, no. 1, pp. 3–15, Feb. 2017, doi: 10.1016/J.ENG.2017.01.005.
- [5] P. Laaksonen, G. R. Szilvay, and M. B. Linder, ‘Genetic engineering in biomimetic composites’, *Trends in Biotechnology*, vol. 30, no. 4, pp. 191–197, Apr. 2012, doi: 10.1016/j.tibtech.2012.01.001.
- [6] M. Rashid, M. A. Roni, and M. Rahman, ‘Chapter Fourteen - Clinical status of bioinspired and biomimetic materials’, in *Bioinspired and Biomimetic Materials for Drug Delivery*, M. Nurunnabi, Ed., in *Woodhead Publishing Series in Biomaterials.*, Woodhead Publishing, 2021, pp. 277–294. doi: 10.1016/B978-0-12-821352-0.00009-5.
- [7] A. Upadhyay and K. Subramanian, ‘Movement of new direction from conjugated polymer to semiconductor composite polymer nanofiber’, *Reviews in Chemical Engineering*, vol. 35, Apr. 2018, doi: 10.1515/revce-2017-0024.
- [8] S. C. Teixeira, N. O. Gomes, T. V. de Oliveira, P. Fortes-Da-Silva, N. de F. F. Soares, and P. A. Raymundo-Pereira, ‘Review and Perspectives of sustainable, biodegradable, eco-friendly and flexible electronic devices and (Bio)sensors’, *Biosensors and Bioelectronics: X*, vol. 14, p. 100371, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.biosx.2023.100371.
- [9] C. Cui, Q. Fu, L. Meng, S. Hao, R. Dai, and J. Yang, ‘Recent Progress in Natural Biopolymers Conductive Hydrogels for Flexible Wearable Sensors and Energy Devices: Materials, Structures, and Performance’, *ACS Applied Bio Materials*, Aug. 2020, doi: 10.1021/acsabm.0c00807.

- [10] Z. Zhou et al., 'Natural polymer nanofiber dressings for effective management of chronic diabetic wounds: A comprehensive review', *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 282, p. 136688, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.136688.
- [11] K. Molnar, A. Jedlovszky-Hajdu, M. Zrinyi, S. Jiang, and S. Agarwal, 'Poly(amino acid)-Based Gel Fibers with pH Responsivity by Coaxial Reactive Electrospinning', *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 38, no. 14, p. 1700147, 2017, doi: 10.1002/marc.201700147.
- [12] P. Arora, A. Sindhu, N. Dilbaghi, A. Chaudhury, G. Rajakumar, and A. A. Rahuman, 'Nano-regenerative medicine towards clinical outcome of stem cell and tissue engineering in humans', *J Cell Mol Med*, vol. 16, no. 9, pp. 1991–2000, Sep. 2012, doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01534.x.
- [13] K. Chaudhury, V. Kumar, J. Kandasamy, and S. RoyChoudhury, 'Regenerative nanomedicine: current perspectives and future directions', *Int J Nanomedicine*, vol. 9, pp. 4153–4167, Sep. 2014, doi: 10.2147/IJN.S45332. 32
- [14] A. Hasan, M. Morshed, A. Memic, S. Hassan, T. J. Webster, and H. E.-S. Marei, 'Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects', *Int J Nanomedicine*, vol. 13, pp. 5637–5655, Sep. 2018, doi: 10.2147/IJN.S153758.
- [15] H. Zhang, C. Jin, S. Lv, F. Ren, and J. Wang, 'Study on electrospinning of wheat gluten: A review', *Food Research International*, vol. 169, p. 112851, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.foodres.2023.112851.
- [16] J.-H. Liu et al., 'Review on electrospinning anode and separators for lithium ion batteries', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 189, p. 113939, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.rser.2023.113939.
- [17] A. C. Mendes, K. Stephansen, and I. S. Chronakis, 'Electrospinning of food proteins and polysaccharides', *Food Hydrocolloids*, vol. 68, pp. 53–68, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.022.
- [18] P. Vass et al., 'Scale-up of electrospinning technology: Applications in the pharmaceutical industry', *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, vol. 12, no. 4, p. e1611, 2020, doi: 10.1002/wnan.1611.
- [19] B. Satilmis, 'Electrospinning Polymers of Intrinsic Microporosity (PIMs) ultrafine fibers; preparations, applications and future perspectives', *Current Opinion in Chemical Engineering*, vol. 36, p. 100793, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.coche.2022.100793.

- [20] A. Refate et al., 'Influence of electrospinning parameters on biopolymers nanofibers, with emphasis on cellulose & chitosan', *Heliyon*, vol. 9, no. 6, p. e17051, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e17051.
- [21] A. Haider, S. Haider, and I.-K. Kang, 'A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology', *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 8, pp. 1165–1188, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.arabjc.2015.11.015.
- [22] K. P. Matabola and R. M. Moutloali, 'The influence of electrospinning parameters on the morphology and diameter of poly(vinylidene fluoride) nanofibers- effect of sodium chloride', *J Mater Sci*, vol. 48, no. 16, pp. 5475–5482, Aug. 2013, doi: 10.1007/s10853-013-7341-6.
- [23] A. Haider, S. Haider, and I.-K. Kang, 'A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology', *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 8, pp. 1165–1188, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.arabjc.2015.11.015.
- [24] V. Pillay et al., 'A Review of the Effect of Processing Variables on the Fabrication of Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Applications', *Journal of Nanomaterials*, vol. 2013, no. 1, p. 789289, 2013, doi: 10.1155/2013/789289.
- [25] B. Sun et al., 'Advances in three-dimensional nanofibrous macrostructures via electrospinning', *Progress in Polymer Science*, vol. 39, no. 5, pp. 862–890, May 2014, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2013.06.002.
- [26] Á. G. Juhász et al., 'Formation of Three-Dimensional Polysuccinimide Electrospun Fiber Meshes Induced by the Combination of CaCl<sub>2</sub> and Humidity', *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 45, no. 7, p. 2300625, 2024, doi: 10.1002/marc.202300625.
- [27] P. K. Szewczyk and U. Stachewicz, 'The impact of relative humidity on electrospun polymer fibers: From structural changes to fiber morphology', *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 286, p. 102315, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.cis.2020.102315.
- [28] M. A. Munawar, F. Nilsson, and D. W. Schubert, 'Tunable Diameter of Electrospun Fibers Using Empirical Scaling Laws of Electrospinning Parameters', *Materials 33 Chemistry and Physics*, p. 130009, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.matchemphys.2024.130009.
- [29] A. Gupta, P. Ayithapu, and R. Singhal, 'Study of the electric field distribution of various electrospinning geometries and its effect on the resultant nanofibers using finite element

simulation', *Chemical Engineering Science*, vol. 235, p. 116463, May 2021, doi: 10.1016/j.ces.2021.116463.

[30] G. Viswanadam and G. G. Chase, 'Modified electric fields to control the direction of electrospinning jets', *Polymer*, vol. 54, no. 4, pp. 1397–1404, Feb. 2013, doi: 10.1016/j.polymer.2012.12.082.

[31] H. İ. İçoğlu, B. Yıldırım, A. Kılıç, M. Türkoğlu, A. M. Köş, and M. Topalbekiroğlu, 'Controlled fiber deposition via modeling the auxiliary electrodes of the needleless electrospinning to produce continuous nanofiber bundles', *Materials Today Communications*, vol. 34, p. 104966, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.mtcomm.2022.104966.

[32] S. Chen, R. Li, X. Li, and J. Xie, 'Electrospinning: An enabling nanotechnology platform for drug delivery and regenerative medicine', *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 132, pp. 188–213, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.addr.2018.05.001.

[33] M. Wang, D. Yu, L. Xiaoyan, and G. Williams, 'The Development and Bioapplications of Multifluid Electrospinning', *Materials Highlights*, vol. 1, Sep. 2020, doi: 10.2991/mathi.k.200521.001.

[34] L. Suamte and P. J. Babu, 'Electrospun based functional scaffolds for biomedical engineering: A review', *Nano TransMed*, p. 100055, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.ntm.2024.100055.

[35] K. Pirzadeh, L. Torkian, and M. D. Asli, 'Coaxial Electrospun wound dressing integrated with Ag-doped hydroxyapatite for wound healing: Tetracycline delivery', *Materials Today Communications*, vol. 41, p. 110439, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.mtcomm.2024.110439.

[36] D. Xu et al., 'Smart and bioactive electrospun dressing for accelerating wound healing', *Chemical Engineering Journal*, vol. 496, p. 153748, Sep. 2024, doi: 10.1016/j.cej.2024.153748.

[37] J. Zhang, J. Li, X.-F. Zeng, J.-X. Wang, and Y. Le, 'Double-layer hybrid nanofiber membranes by electrospinning with sustained antibacterial activity for wound healing', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 127, pp. 416–425, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.jiec.2023.07.025.

[38] T. D. Stocco, B. V. M. Rodrigues, F. R. Marciano, and A. O. Lobo, 'Design of a novel electrospinning setup for the fabrication of biomimetic scaffolds for meniscus tissue engineering applications', *Materials Letters*, vol. 196, pp. 221–224, Jun. 2017, doi: 10.1016/j.matlet.2017.03.055.

[39] R. Sahay, V. Thavasi, and S. Ramakrishna, 'Design Modifications in Electrospinning Setup for Advanced Applications', *Journal of Nanomaterials*, vol. 2011, no. 1, p. 317673, 2011, doi: 10.1155/2011/317673.