

# PVA/kitozán szálhálók mechanikai tulajdonságainak szabályozása fizikai és kémiai térhálósítással

## Control of the Mechanical Properties of PVA/Chitosan Fibrous Meshes by Physical and Chemical Crosslinking

KECZÁNNÉ Dr. ÜVEGES Andrea<sup>1</sup>, egyetemi docens, Prof. Dr. HEGEDŰS Csaba<sup>1</sup>, egyetemi tanár

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Fogorvostudományi Kar, Bioanyagtan és Fogpótlástani nem önálló Tanszék, Debrecen, Nagyerdei körút 98, [auveges@eng.unideb.hu](mailto:auveges@eng.unideb.hu), [hegedus.csaba.prof@dental.unideb.hu](mailto:hegedus.csaba.prof@dental.unideb.hu), <https://dental.unideb.hu>

### Abstract

*The mechanical properties of PVA/chitosan nanofibrous meshes were investigated as a function of the crosslinking approach. Non-crosslinked samples, physically co-crosslinked structures using L-arginine, and covalently crosslinked networks formed with citric acid were subjected to tensile testing to determine Young's modulus, ultimate tensile strength, and elongation at break. Physical crosslinking moderately increased stiffness, whereas covalent crosslinking resulted in a significant increase in modulus and strength, accompanied by reduced elongation.*

**Keywords:** electrospinning, nanofibrous mesh, crosslinking, mechanical properties, tensile testing

### Kivonat

*A PVA/kitozán nanoszál szálhálók mechanikai tulajdonságait vizsgáltuk a térhálósítás jellegének függvényében. Nem térhálósított, L-argininnel kialakított fizikai co-térhálósított és citromsavval létrehozott kovalens térhálósított minták húzóvizsgálata során meghatároztuk a Young-modulust, a szakítószilárdságot és a szakadási nyúlást. A fizikai térhálósítás mérsékelten növelte a szálhálók merevségét, míg a kovalens térhálósítás jelentős modulus- és szilárdságnövekedést, valamint csökkent nyúlást eredményezett.*

**Kulcsszavak:** elektrosztatikus szálképzés, nanoszál szálháló, térhálósítás, mechanikai tulajdonságok, húzóvizsgálat

## 1. BEVEZETÉS

A csontszövet-regeneráció területén az utóbbi években egyre nagyobb figyelmet kapnak a biomimetikus scaffold rendszerek, amelyek célja a természetes extracelluláris mátrix szerkezetének és funkcióinak utánzása [1-3]. Az ilyen rendszerek kialakításában különösen ígéretes megközelítés az elektrosztatikus szálképzés (electrospinning), amely lehetővé teszi nanoszál, nagy fajlagos felületű, porózus szerkezetű szálhálók előállítását. Az így létrehozott struktúrák kedvező környezetet biztosítanak a sejtek adhéziójához, proliferációjához és differenciációjához, ami kulcsfontosságú a szövetregeneráció szempontjából [2, 4].

A biopolimerek közül a polivinil-alkohol (PVA) és a kitozán kombinációja különösen ígéretes bioanyag rendszert alkot. A PVA jó mechanikai tulajdonságokkal és feldolgozhatósággal rendelkezik, míg a kitozán biokompatibilitása, biodegradálhatósága és bioaktív tulajdonságai kedvezően befolyásolják a sejtes válaszokat [3, 5]. A PVA/kitozán alapú nanoszál rendszereket ezért széles körben vizsgálják gyógyszerhordozó rendszerekben, sebgyógyulást segítő anyagokban, valamint csontregenerációs scaffoldokban [1, 6]. A nanoszál szálhálók stabilitása és mechanikai viselkedése azonban nagymértékben függ a polimerláncok közötti kölcsönhatásoktól és a kialakított térhálósított szerkezettől. A különböző térhálósítási módszerek – például fizikai vagy kémiai térhálósítás – jelentősen befolyásolják a szálhálók mechanikai tulajdonságait, stabilitását vízes közegben és biodegradációs viselkedését [4, 7]. A megfelelő térhálósítási stratégia megválasztása ezért kulcsfontosságú a kívánt mechanikai stabilitás és a kontrollált biodegradáció közötti egyensúly kialakításához [8, 9].

Korábbi munkánkban  $\beta$ -trikalcium-foszfátot tartalmazó, elektrosztatikus szálképzéssel előállított PVA/kitozán alapú hibrid scaffold rendszert vizsgáltunk, amely nanoszál, rendezetlen, nemszött morfológiát

mutatott hidrophil karakterrel. A részleges térhálósítás mellett megmaradó hidrophil mátrix lehetővé tette a víz diffúzióját, valamint a bioaktív szerves komponensek kioldódását, amely *in vivo* környezetben ígéretes csontregenerációs eredményeket mutatott [5]. Az *in vivo* vizsgálatok ugyanakkor rámutattak arra, hogy a citromsavval kialakított kovalens térhálós szerkezet esetében a biodegradáció mértéke nem volt kielégítő, mivel a minták hat hónap elteltével is nagyrészt egységes anyagként voltak jelen a defektus területén. Ez arra utal, hogy a kovalens térhálósítás által biztosított fokozott szerkezeti stabilitás a degradáció jelentős lassulásával jár. Mindezek alapján indokoltá vált a különböző térhálósítási stratégiák összehasonlító vizsgálata, elsődlegesen a szálhálók mechanikai tulajdonságainak szabályozhatósága szempontjából.

Jelen munka célja annak vizsgálata, hogy a fizikai és kémiai térhálósítás miként befolyásolja a PVA/kitozán nanoszál szálhálók szerkezetét, morfológiáját és mechanikai tulajdonságait.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 2.1. PVA/kitozán szálhálók előállítás

A nanoszál szerkezetű polimer szálhálók előállításához polivinil-alkohol (PVA; Merck, Darmstadt, Németország;  $M_w \approx 65$  kDa, polidiszperzítás: 3,168) és kitozán (Ch; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA;  $M_w = 750-1000$  kDa) vizes oldatainak keverékét alkalmaztuk. A 10 tömeg%-os PVA oldatot desztillált vízben készítettük 80 °C-on, 24 órás kevertetés mellett. A Kitozán 4 tömeg%-os oldatát 2 térfogat%-os ecetsavoldatban állítottuk elő, szintén 80 °C-on, 24 órás kevertetéssel. A végső oldat előállításához a számított mennyiségű PVA-oldatot és kitozánoldatot összekevertük, amelyben a PVA és a kitozán koncentrációja rendre 6,6 tömeg% és 1,3 tömeg% volt. Ezt követően a térhálósítás típusától függően L-arginint (L-Arg; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) vagy citromsavat (CA; VWR Chemicals, Franciaország) adtunk az oldathoz, majd az elegyet teljes oldódásig kevertettük. Az alkalmazott oldatok összetétele az 1. táblázatban látható.

A PVA/kitozán nanoszál szálhálók előállításához alkalmazott oldatok összetétele

1. táblázat

Minta jele	10 tömeg% PVA-oldat tömege (g)	4 tömeg% kitozánoldat tömege (g)	Térhálósítószer (g)
PVA/Ch (nem térhálós)	10	5	—
PVA/Ch-Arg (fizikai co-térhálós)	10	5	0,134 L-Arg
PVA/Ch-CA (kémiai térhálós)	10	5	0,448 CA

PVA – polivinil-alkohol; Ch – kitozán; L-Arg – L-arginin; CA – citromsav.

A nanoszál szálhálókot elektrosztatikus szálképzéssel állítottuk elő. A polimer oldatot 5 ml-es fecskendőbe töltöttük, majd 25 kV feszültség, 13 cm düzni-kollektor távolság és 0,62 ml.h<sup>-1</sup> adagolási sebesség mellett 1 órán keresztül végeztük a szálképzést.

### 2.2. PVA/kitozán nanoszál szálhálók térhálósítása

A szálképzést követően a nanoszál PVA/kitozán szálhálók térhálósítását hőkezeléssel végeztük. A fizikai co-térhálósítás esetében a szálképzéshez alkalmazott oldathoz L-arginint adagoltunk, majd a képződött szálhálókot 120 °C-on 4 órán keresztül hőkezeltük. A kémiai térhálósítás során a szálképzéshez citromsavat tartalmazó oldatot alkalmaztunk, amely a hőkezelés (120 °C, 4 h) hatására kovalens térháló kialakulását eredményezte a polimerláncok között. A hőkezelést laboratóriumi szárítószekrényben végeztük. A kapott szálhálók stabilitását és morfológiai változásait előzetes tapasztalati vizsgálatokkal értékeltük, beleértve a vízzel és forró vízzel szembeni viselkedés vizsgálatát.

### 2.3. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálat (SEM)

Az elektrosztatikus szálképzéssel előállított minták felületi morfológiáját pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. A felvételeket egy kettős nyalábú pásztázó elektronmikroszkóppal (Thermo Fisher Scientific Scios2, FIB-SEM, Waltham, MA, USA) készítettük. A nem vezető polimer minták

töltődésének minimalizálása érdekében a felvételeket alacsony, 2-5 kV gyorsítófeszültség alkalmazásával készítettük.

## 2.4. Húzómechanikai vizsgálatok

A nem térhálósított és a különböző térhálósítási módszerekkel előállított PVA/kitozán nanoszálalás szálhálók mechanikai tulajdonságait húzóvizsgálatokkal határoztuk meg. A méréseket INSTRON 5544 típusú univerzális mechanikai vizsgálógéppel (Instron, Norwood, MA, USA) végeztük 100 N terhelőcellával, szobahőmérsékleten. A mintákból lekicsinyített piskóta alakú próbatesteket készítettünk. A próbatestek teljes hossza 25 mm, a befogási szakasz szélessége 7,5 mm, míg a nyakrész szélessége 2,5 mm volt. A próbatestek vastagságát minden minta esetében meghatároztuk; az átlagos értékek a következők voltak: nem térhálós PVA/Ch:  $68 \pm 23 \mu\text{m}$ , fizikai co-térhálós PVA/Ch-Arg:  $118 \pm 33 \mu\text{m}$ , kémiaileg térhálós PVA/Ch-CA:  $195 \pm 97 \mu\text{m}$  ( $n = 6$ ). A vastagságértékeket digitális csavarmikrométerrel (Mitutoyo, Japán) határoztuk meg. A húzóvizsgálatokat  $1 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$  keresztfejssebesség mellett végeztük szakadásig. A mérések során rögzített feszültség–nyúlás görbék alapján meghatároztuk a Young-modulust, a maximális szakítófeszültséget (szakítószilárdságot), valamint a szakadási nyúlást. Az egyes mechanikai paramétereket hat párhuzamos mérés ( $n=6$ ) alapján határoztuk meg.

## 3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 3.1. A szálhálók stabilitásának előzetes vizsgálata

A nem térhálósított és a különböző térhálósítási módszerekkel előállított PVA/kitozán nanoszálalás szálhálók stabilitását előzetes tapasztalati vizsgálatokkal értékeltük, amelyek során a minták vízzel, illetve forró vízzel szembeni viselkedését figyeltük meg. Az eredményeket a 2. táblázat foglalja össze. A megfigyelések alapján a térhálósítás jellege jelentősen befolyásolja a szálhálók szerkezeti stabilitását, míg a nem térhálós minták víz hatására gyorsan elvesztették integritásukat, addig a citromsavval kovalensen térhálósított szerkezetek lényegesen stabilabbnak bizonyultak. A stabilitásbeli különbségek várhatóan a mechanikai tulajdonságokban is megjelennek, ezért a különböző térhálósítási módok hatását húzóvizsgálatok segítségével elemeztük.

2. táblázat

A különböző térhálósítási módszerekkel előállított PVA/kitozán szálhálók vízzel szembeni stabilitásának kvalitatív értelmezése

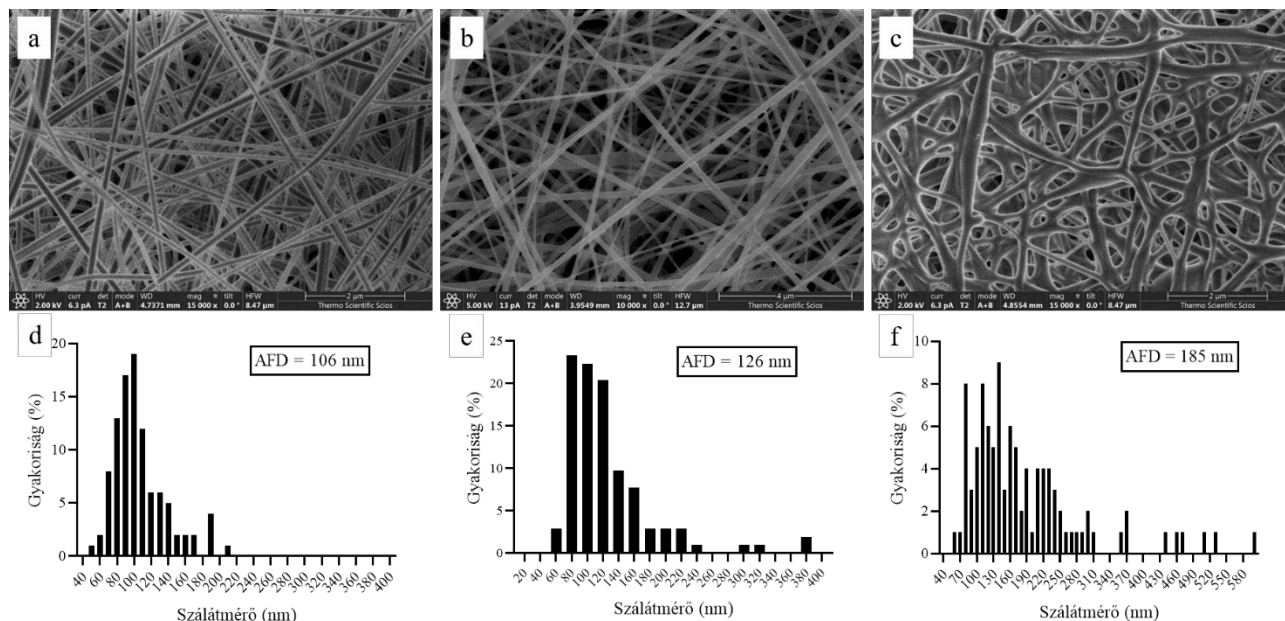
Módszer Minta jele	Stabilitás		Elszíneződés	Méretcsökkenés
	Szobahőmérsékletű víz	Forró víz		
PVA/Ch	+	+	–	–
PVA/Ch-Arg	–	+	–	–
PVA/Ch-CA	+	+	+	+

(+): a jelenség megfigyelhető; (–): a jelenség nem figyelhető meg

### 3.2. Morfológiai vizsgálatok (SEM)

A különböző térhálósítási módszerekkel előállított PVA/kitozán szálhálók morfológiáját pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk (1. ábra). A nem térhálós PVA/Ch minták (1a ábra) rendezetlen, nemszőtt nanoszálalás szerkezetet mutattak, amelyben a szálak egymást keresztezve porózus hálózatot alkotnak. A SEM felvételek kvantitatív kiértékelése alapján meghatározott szálátmérő-eloszlást a 1d ábra mutatja, az átlagos szálátmérő  $106 \pm 22 \text{ nm}$  volt. A fizikai co-térhálósítás esetén (PVA/Ch-Arg, 1b ábra) a nanoszálalás morfológia alapvetően megmaradt, azonban a szálátmérő növekedése figyelhető meg; az eloszlást bemutató hisztogram a 1e ábrán látható, az átlagos érték  $126 \pm 58 \text{ nm}$ -nek adódott. A nagyobb szórás a szálképzés során kialakuló változatosabb szálvastagságra utal. A citromsavval kémiaileg térhálósított minták (PVA/Ch-CA, 1c ábra) esetében a szálalás szerkezet részleges átalakulása figyelhető meg, amely a hőkezelés során kialakuló kovalens

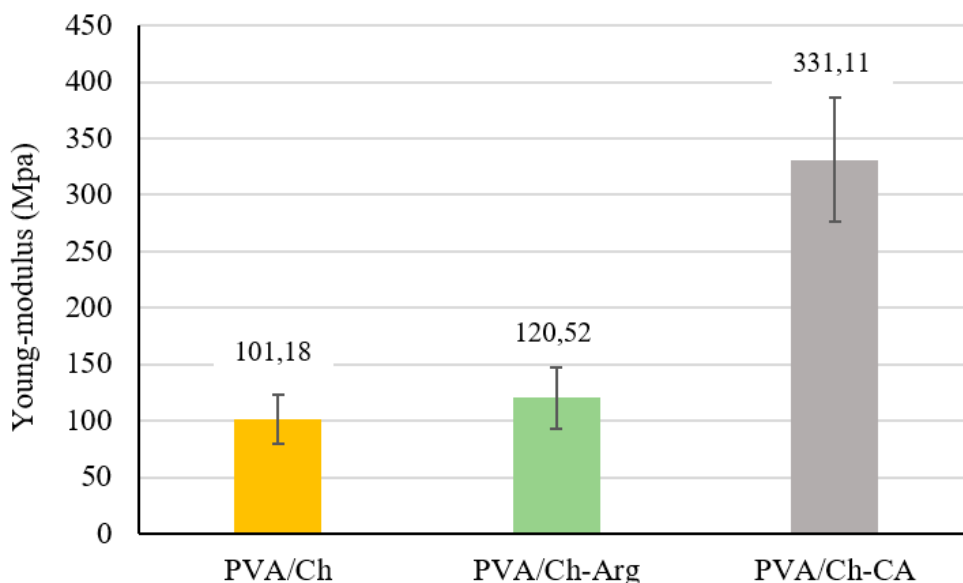
térhálósítással és a szálak lokális összeolvadásával magyarázható. A szálátmérő-eloszlást a 1f ábra szemlélteti. A legnagyobb átlagos szálátmérő a citromsavval kémiaiag térhálósított minták esetében adódott ( $185 \pm 77$  nm). A megfigyelt morfológiai különbségek várhatóan a szálháló mechanikai tulajdonságaira is hatással vannak, ezért a minták húzómechanikai viselkedését részletesen vizsgáltuk.



1. ábra. A PVA/kitozán nanoszálal szálháló SEM felvételei és szálátmérő-eloszlásai különböző térhálósítási módszerek alkalmazása esetén: (a, d) nem térhálós PVA/Ch, (b, e) fizikai co-térhálós PVA/Ch-Arg, (c, f) kémiai térhálós PVA/Ch-CA; az átlagos szálátmérők (AFD) rendre 106 nm, 126 nm és 185 nm.

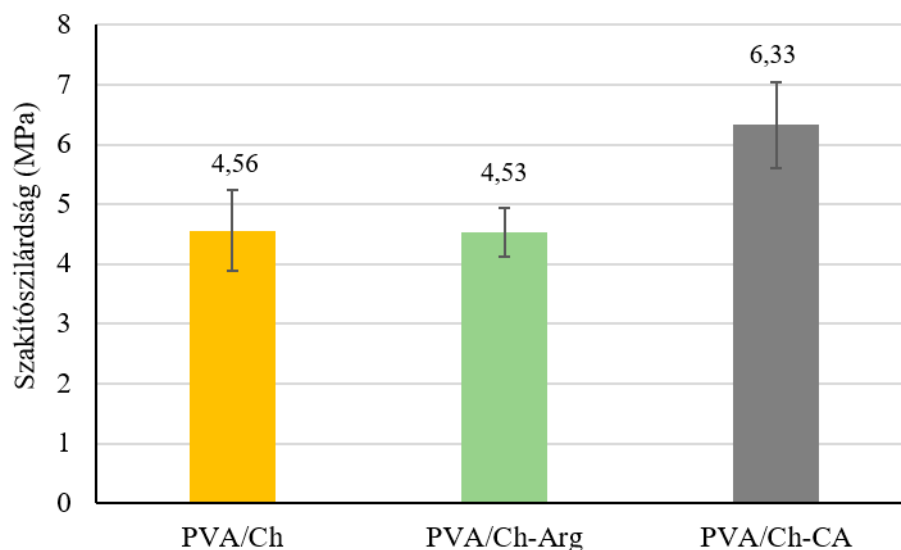
### 3.3. A szálháló húzómechanikai tulajdonságai

A különböző térhálósítási módszerekkel előállított PVA/kitozán nanoszálal szálháló húzómechanikai tulajdonságait húzóvizsgálatokkal értékeltük. A mérések során meghatároztuk a Young-modulust, a szakító szilárdságot, valamint a szakadási nyúlást (2-4. ábra). A Young-modulus értéke a térhálósítás hatására növekedést mutatott (2. ábra). A nem térhálós minták esetében átlagosan 101,18 MPa, míg a fizikai co-térhálósított PVA/Ch-Arg szálháló esetében 120,52 MPa értéket határoztunk meg, ami a merevség mérsékelt növekedését jelzi. A citromsavval térhálósított minták esetében a Young-modulus jelentősen megnőtt 331,11 MPa értékre, ami a polimerláncok között kialakuló kovalens térháló jelenlétére utal.



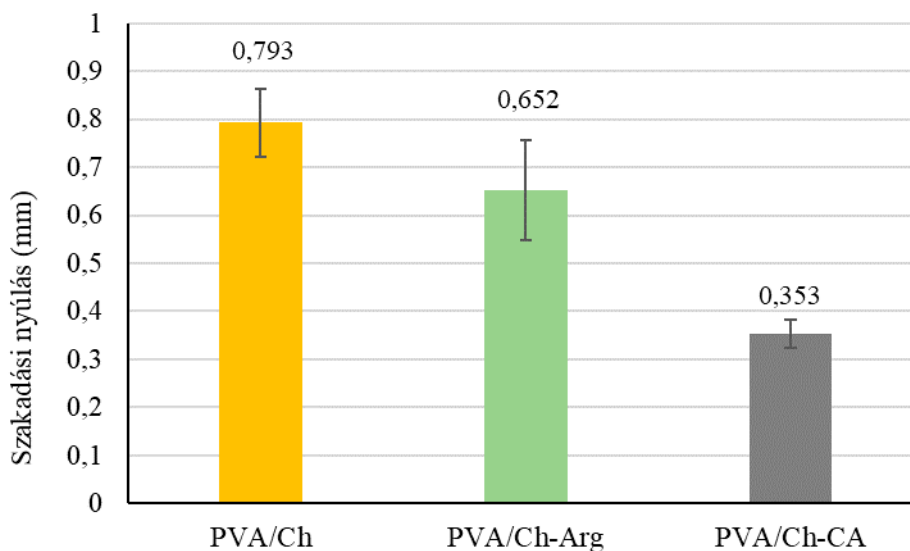
2. ábra. A Young-modulus értékei nem térhálós és különböző térhálósítású PVA/kitozán szálháló esetében

A szakítószilárdság értékei hasonló tendenciát mutattak (3. ábra). A nem térhálós és a fizikai co-térhálós minták szakítószilárdsága közel azonos volt (4,56 MPa, illetve 4,53 MPa), ami arra utal, hogy az L-arginin által létrehozott másodlagos kölcsönhatások a szakadás során részben felbomolhatnak. Ezzel szemben a citromsavval térhálósított PVA/Ch-CA minták esetében a szakítószilárdság 6,33 MPa értékre növekedett, ami a kovalens kötések nagyobb szakítási ellenállásával magyarázható.



3. ábra. A szakítószilárdság értékei nem térhálós és különböző térhálósítású PVA/kitozán szálhálók esetében

A szakadási nyúlás vizsgálata ezzel ellentétes tendenciát mutatott (4. ábra). A legnagyobb nyúlást a nem térhálós minták mutatták (0,79 mm), amely a polimerláncok nagyobb mobilitásával és átrendeződésével magyarázható. A fizikai co-térhálósítás hatására a szakadási nyúlás mérséklődött (0,65 mm), míg a citromsavval kémiai térhálósított minták esetében jelentősen csökkent (0,35 mm). Ez a kovalens térháló jelenlétére és a láncmozgás korlátozására utal, amely ridegebb mechanikai viselkedést eredményez.



4. ábra. A szakadási nyúlás nem térhálós és különböző térhálósítású PVA/kitozán szálhálók esetében

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a térhálósítás típusa alapvetően meghatározza a PVA/kitozán nanoszál szálhálók mechanikai viselkedését. A fizikai co-térhálósítás mérsékelten növelte az anyag merevségét, míg a citromsavval kialakított kovalens térháló jelentős modulus- és szilárdságnövekedést, ugyanakkor a deformálhatóság csökkenését okozza.

#### 4. ÖSSZEFOGLALÁS

A kutatás során PVA/kitozán alapú nanoszál szálhálókat állítottunk elő elektrosztatikus szálképzéssel, majd különböző térhálósítási módszerekkel stabilizáltuk. A fizikai co-térhálósítást L-arginin alkalmazásával,

míg a kémiai térhálósítást citromsav segítségével valósítottuk meg. A SEM-vizsgálatok igazolták a nanoszálak, nemszött szerkezet kialakulását, valamint a térhálósítás hatására bekövetkező morfológiai változásokat és a szálátmérő növekedését. Előzetes stabilitási vizsgálatok alapján a citromsavval térhálósított minták vizes közegben lényegesen stabilabbnak bizonyultak a nem térhálós rendszereknél. A húzómechanikai mérések kimutatták, hogy a fizikai térhálósítás mérsékelt merevségnövekedést eredményezett, míg a kémiai térhálósítás jelentősen növelte a Young-modulust és a szakítószilárdságot. Ugyanakkor a kovalens térhálósítás a szakadási nyúlás csökkenését okozta, ami ridegebb mechanikai viselkedésre utal. Az eredmények rámutatnak arra, hogy a térhálósítás típusa hatékony eszköz a PVA/kitozán nanoszálak szálhálók mechanikai tulajdonságainak szabályozására. A mechanikai stabilitás ilyen módon történő hangolása fontos lépés lehet a jövőbeni biodegradációs és csontregenerációs alkalmazások optimalizálásában.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

„A TKP2021-EGA-20 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg.”

## IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] Al-Abduljabbar A, Farooq I. Electrospun Polymer Nanofibers: Processing, Properties, and Applications. *Polymers*. 2023; 15(1), 65-109.
- [2] Uhljar LÉ, Ambrus R. Electrospinning of Potential Medical Devices (Wound Dressings, Tissue Engineering Scaffolds, Face Masks) and Their Regulatory Approach. *Pharmaceutics*. 2023; 15(2), 417-444.
- [3] Stoica AE, Albuleț D, Bircă AC, Iordache F, Ficai A, Grumezescu AM, Vasile BŞ, Andronescu E, Marinescu F, Holban AM. Electrospun Nanofibrous Mesh Based on PVA, Chitosan, and Usnic Acid for Applications in Wound Healing. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(13), 11037-11054.
- [4] Czibulya Z, Csík A, Tóth F, Pál P, Csarnovics I, Zelkó R, Hegedűs C. The Effect of the PVA/Chitosan/Citric Acid Ratio on the Hydrophilicity of Electrospun Nanofiber Meshes. *Polymers*. 2021; 13(20), 3557-3575.
- [5] Boda R, Lázár I, Keczánné-Üveges A, Bakó J, Tóth F, Trencsényi G, Kálmán-Szabó I, Béresová M, Sajtos Z, D. Tóth E, et al.  $\beta$ -Tricalcium Phosphate-Modified Aerogel Containing PVA/Chitosan Hybrid Nanospun Scaffolds for Bone Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(8), 7562-7585.
- [6] Ignatova M, Manolova N. and Rashkov I. Electrospun Antibacterial Chitosan-Based Fibers. *Macromol. 2013; Biosci.*, 13: 860-872.
- [7] P Libel G, Facchi SP, de Almeida DA, Madruga LC, Kipper MJ, Schrekker HS, et al. Cross-linked poly(vinyl alcohol)/citric acid electrospun fibers containing imidazolium ionic liquid with enhanced antiadhesive and antimicrobial properties. *Materials Chemistry and Physics*. 2024,316, 129087.
- [8] Huang S-M, Liu S-M, Tseng H-Y, Chen W-C. Effect of Citric Acid on Swelling Resistance and Physicochemical Properties of Post-Crosslinked Electrospun Polyvinyl Alcohol Fibrous Membrane. *Polymers*. 2023; 15(7), 1738-1751.
- [9] Tajvar S, Hadjizadeh A, Samandari SS. Scaffold degradation in bone tissue engineering: An overview. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2023;180, 105599-105612