

SIMULACE ROZPOUŠTĚNÍ NANOVLÁKEN SiO₂ V PLICNÍM PROSTŘEDÍ

Lukáš Brázda¹, Jarmila Studničková², Petr Exnar², Aleš Helebrant¹

¹ Ústav skla a keramiky, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, ČR

² Katedra chemie, Fakulta pedagogická, Technická univerzita v Liberci, ČR

email: lukas.brazda@vscht.cz

Abstract

Materials made of nanofibers have specific characteristics such as large specific surface or high porosity. In order to avoid the risk of cancer genesis, these nanofibers have to biodegrade in lung fluid when inhaled. We tested a dissolution rate of SiO₂ nanofibers in a simulated lung environment. As a simple simulated extracellular lung fluid we used distilled water buffered with TRIS and HCl to pH 7,4. Fibers were tested both in the static and dynamic environment of corrosive solution. Dissolution rate was evaluated from both Si concentration changes in solutions and weight changes of fibers during exposition. The dissolution rate of tested nanofibers was at lower rate limit, where fibers could be considered as unharmed for health.

Key words: nanofibers, chemical durability, dissolution, simulated lung fluids

Úvod

Fenomémem posledních let se staly materiály připravené ve formě nanovláken. Za nanovláknem lze obecně považovat vlákna s průměry významně pod 1000 nm. Zvládnutím poloproduční výroby nanovláken se otevírají možnosti využití řady specifických vlastností těchto vláken, jako je např. velký měrný povrch, vysoká porozita nebo malé rozměry otvorů mezi jednotlivými vlákny v nanovlákně. Je však třeba zabývat se také potenciálním nebezpečím vzniku nádorových onemocnění při inhalaci těchto vláken.

Aby bylo vlákno považováno za potenciálně karcinogenní, musí být délka vlákna větší než 5 μm, průměr vlákna menší než 3 μm, poměr mezi délkou vlákna a jeho průměrem je větší než 3 [1]. K odstranění možnosti vzniku rakoviny je nutné, aby byla vlákna rozpustná v prostředí plicních tekutin. Schopnost vláknitých materiálů odolávat fyziologickému odbourávání v organismu, tzv. biopersistence, je používána jako ukazatel umožňující odhadnout jejich potenciální zdravotní závadnost. Testy biopersistence „*in vivo*“ sledují dobu, za jakou dojde k odbourání poloviny vláken aplikovaných do pokusného zvířete ($t_{0,5}$). Testy „*in vitro*“ sledují rychlost rozpouštění vláken v roztocích simulujících plicní tekutiny. Porovnání těchto dvou způsobů bylo zveřejněno výrobcem skelných a minerálních vláken, firmou Johns Manville [2]. Z této studie vyplývá, že za nezávadná lze považovat vlákna s rychlostí rozpouštění v desítkách až stovkách $\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. U takzvaných biorozpustných vláken se rychlosti rozpouštění blíží hodnotám až $1000 \text{ ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ [3].

Cílem práce bylo zjistit rychlost rozpouštění nanovláken z oxidu křemičitého pomocí statických a dynamických *in-vitro* testů.

Experimentální část

Testovaný materiál

Vzorky pro testování rozpustnosti byly připraveny metodou elektrostatického zvláknění (electrospinning) technologií Nanospider [4] na TU Liberec (Katedra netkaných textilií). Tato

SIMULACE ROZPOUŠTĚNÍ NANOVLÁKEN SiO_2 V PLICNÍM PROSTŘEDÍ

L. Brázda, J. Studničková, P. Exnar, A. Helebrant

technologie využívá silného elektrostatického pole pro tvorbu nanovláken z polymerního roztoku.

Polymerní roztok oxidu křemičitého byl připraven metodou sol-gel z tetraethoxysilanu v izopropylalkoholu a přísádkem vody za kyselá katalýzy. Nanovlákená vrstva byla deponována na podkladovou netkanou polypropylenovou textílii a následně sejmuta a testována byla ve formě vaty. Vlákna byla tepelně stabilizována po dobu 2 hodin při 180°C . Při optimálních podmínkách byla získána vlákna bez granálie. Střední hodnota průměru takto připravených vláken byla přibližně 170 nm. Povrch vláken byl změřen na Ústavu organické technologie VŠCHT Praha metodou BET. Celkový měrný povrch vláken činil $83 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$. Vzhledem k tomu, že daný materiál je porézní, byl pro porovnání rychlosti rozpouštění s neporézními skelnými a keramickými vlákny použit pouze povrch geometrický o hodnotě $6,06 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$.

Použité metody

Za účelem sledování rozpustnosti byla vlákna podrobena testům v destilované vodě s pH upraveným pomocí TRIS (tris(hydroxymethyl)aminomethan) a HCl na hodnotu 7,4. Tento korozní roztok může v prvním přiblížení simulovat prostředí extracelulární plicní tekutiny.

Pro měření rychlosti rozpouštění bylo použito dvou uspořádání testu. Při statickém testu bylo předem zvážené množství nanovláken vloženo do polyethylenové lahve a zalito korozním roztokem. Protože se zde korozní roztok neobměňuje, může docházet k jeho postupnému syčení korozními produkty a tím ke zpomalení rychlosti rozpouštění. V druhém případě bylo použito dynamické uspořádání testu, kdy stále čerstvý korozní roztok proudí kolem testovaného materiálu v průtočné cele a simuluje tak průtok tělních tekutin v lidském organismu [5]. Toto uspořádání tak eliminuje možné nevýhody statického testu.

Statický test

Do třech polyethylenových baněk byla umístěna vlákna o navážce 114, 111 a 130 mg (Obrázek 1a). Vlákna byla zalita 100 ml korozního roztoku a lahvičky se vzorky byly umístěny v biologickém termostatu nastaveném na 37°C . Celková doba testu byla 48 hodin, resp. 7 dní.

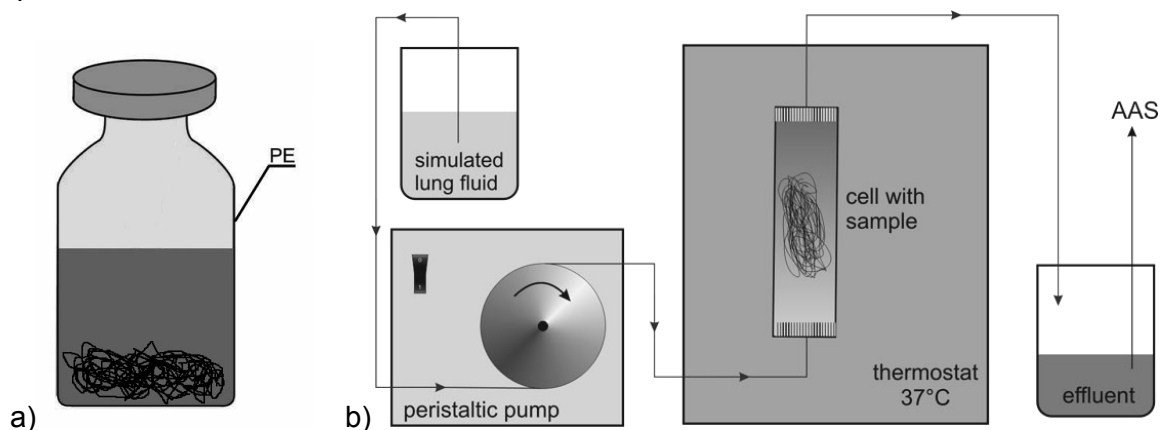


Fig. 1 a) static and b) dynamic settlement of the corrosion test

Dynamický test

Do třech polyethylenových průtočných cel byla navážena vlákna o hmotnosti 121, 115 a 125 mg. Testování probíhalo v souladu s metodikou EURIMA [6]. Kolem vláken v celách protékal

SIMULATION OF SiO₂ NANOFIBERS DISSOLUTION IN THE LUNG ENVIRONMENT

L. Brázda, J. Studničková, P. Exnar, A. Helebrant

po dobu testu (48 hodin) rychlostí přibližně 120 ml.den⁻¹ korozní roztok. Výluhy po interakci s vlákny byly jímány do zásobních lahví a poté analyzovány. Cely se vzorky byly umístěny ve vodní lázni o teplotě 37°C. Celkové uspořádání testu ukazuje Obrázek 1b. Časový průběh koncentrace je průměrem z jednotlivých měření.

Výsledky a diskuse

Změny hmotnosti

Vážením na analytických vahách byly sledovány změny hmotnosti vláken před a po expozici v korozním roztoku jak při statickém, tak při dynamickém uspořádání testu. Před samotným vážením byly nerozpuštěné zbytky vláken vysušeny při teplotě 60°C po dobu 4 hodin. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 1.

Table 1 Weight of fibers before and after exposition in corrosive solution

sample	dynamic test			static test - 48 hours			static test - 7 days		
	1	2	3	A	B	C	D	E	F
m₀ [mg]	120,6	114,8	124,9	114,4	110,7	130,1	130,6	117,6	110,5
m_{48h} [mg]	109,9	101,8	113,3	84,3	83,7	102,2			
m_{7d} [mg]							70,4	57	53,5
dm [mg]	-10,7	-13,0	-11,6	-30,1	-27,0	-27,9	-60,2	-60,6	-57,0
dm [%]	-8,9	-11,3	-9,3	-26,3	-24,4	-21,4	-46,1	-51,5	-51,6

Analýzy roztoků

S využitím metody AAS (Centrální laboratoře VŠCHT Praha) byly sledovány změny koncentrace Si v korozním roztoku. U statických testů byly měřeny koncentrace pouze po 48 hodinách. Průměrná koncentrace Si v korozním roztoku byla 55,1 mg.l⁻¹. U dynamických testů byly analyzovány výluhy po 2, 8, 24 a 48 hodinách. Průměrné výsledky ze tří měření jsou vynesena na Obrázku 2. Jak je z tohoto grafu patrné, i po 48 hodinách se rychlost rozpouštění vláken ještě neustálila a dále se zvyšovala.

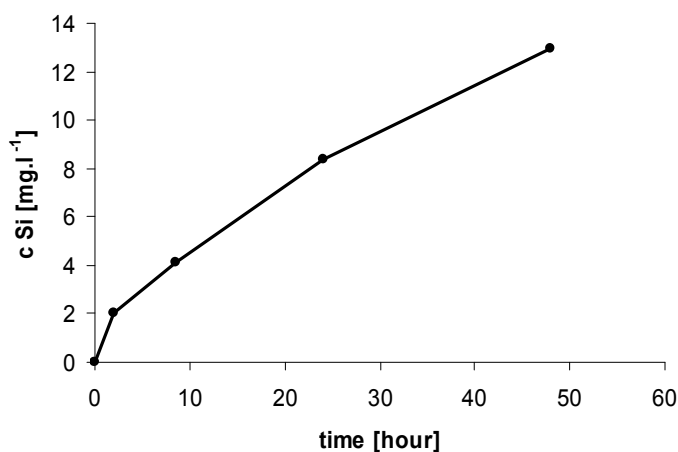


Fig. 2 Concentration changes of Si in effluents under dynamic environment

SIMULACE ROZPOUŠTĚNÍ NANOVLÁKEN SiO₂ V PLICNÍM PROSTŘEDÍ

L. Brázda, J. Studničková, P. Exnar, A. Helebrant

Vyhodnocení rychlosti rozpouštění

Rychlost rozpouštění byla vyhodnocena jak pro statický, tak pro dynamický test dvěma způsoby. Jako základní byla zvolena metoda gravimetrická, tj. měření hmotnostního úbytku vláken po expozici. Rychlost rozpouštění pak byla vypočtena podle vztahu:

$$R_m = \frac{\Delta m}{At} \quad (1)$$

kde R_m je rychlost rozpouštění [$\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$], Δm úbytek hmotnosti vzorku [ng], A celkový geometrický povrch vláken [cm^2] a t čas expozice [h].

Alternativní způsob využil měření koncentrace SiO₂ v roztoku. Rychlost rozpouštění je pak v případě statického testu

$$R_c = \frac{c_{Si}}{x_{Si}At} V \quad (2)$$

kde R_c je rychlost rozpouštění [$\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$], c_{Si} koncentrace SiO₂ v roztoku [$\text{ng}\cdot\text{cm}^{-3}$], A celkový geometrický povrch vláken [cm^2], V objem korozního roztoku [cm^3] a t doba expozice [h]. Hodnota x_{Si} vyjadřuje hmotnostní zlomek SiO₂ ve vláknech, v tomto případě byla použita hodnota $x_{Si} = 1$.

V případě testu dynamického je hodnota R_c vyhodnocena z údajů po 48 hodinách dle rovnice

$$R_{c(t)} = \frac{m_t}{At} \quad \text{kde} \quad m_t = m_{t-\Delta t} + \frac{c_{Si(t)}}{x_{Si}} F_{(t)} \Delta t, \quad (3)$$

F_t [$\text{cm}^3\cdot\text{h}^{-1}$] je průtok korozního roztoku v čase t , $c_{Si(t)}$ je koncentrace SiO₂ v roztoku v čase t a Δt je interval mezi jednotlivými měřeními.

Table 2: Dissolution rates of the fibers

	R_m				R_c			
	[$\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]				[$\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$]			
dynamic test	1	2	3	avg.	1	2	3	avg.
	30,5	38,9	31,9	33,8	12,7	18,7	12,5	14,6
static test	A	B	C	avg.	A	B	C	avg.
	90,5	83,8	73,7	82,7	35,0	35,7	32,3	34,4

Jak vyplývá z Tabulky 2, jsou hodnoty rychlostí rozpouštění R_m i R_c nižší v případě dynamických testů. Tento rozdíl je možné vysvětlit stlačením vzorku v korozních celách během dynamického testu. Při průtoku korozního roztoku kolem vzorku se pravděpodobně vytvoří pomalu proudící či nehybná mezní vrstva kapaliny u povrchu vláken, v níž dochází k postupnému sycení roztoku SiO₂, a tím ke zpomalení rozpouštění. Menší hodnoty rychlostí rozpouštění R_c v porovnání s hodnotami R_m jsou pravděpodobně způsobeny zpětnou precipitací SiO₂ v roztoku.

S cílem ověřit hypotézu o vlivu mezní vrstvy kapaliny byla při dalších orientačních dynamických testech vystřižena z nanovláken ve formě tenké tkaniny kolečka o průměru 12 mm. Ta pak byla umístěna do průtočných cel kolmo na směr toku korozní tekutiny. Oproti předchozím výsledkům po 7 dnech expozice došlo prakticky k úplnému rozpuštění veškerých vláken. Rozdíl v rychlosti rozpouštění při novém uspořádání dynamických testů

SIMULATION OF SiO₂ NANOFIBERS DISSOLUTION IN THE LUNG ENVIRONMENT

L. Brázda, J. Studničková, P. Exnar, A. Helebrant

Ize přičíst na vrub dvěma faktorům. Prvním je skutečnost, že nově připravené vzorky byly předem zbaveny lubrikace. Z předchozích pokusů, prováděných na běžných tepelně izolačních vláknech je známo, že lubrikační vrstva může významně ovlivnit rychlost rozpouštění. Druhým faktorem je samo uspořádání testu, resp. forma testovaného materiálu. Zatímco původně byla použita volná vlákna ve formě vaty, v novém uspořádání byla testována tenká vrstva tkaniny tvořená pouze několika vrstvami vláken a nemohl se tedy ve větší míře projevit efekt mezní vrstvy korozní kapaliny.

Závěr

Rychlosti rozpouštění lubrikovaných nanovláken z SiO₂ se pohybují na spodní hranici nutné pro jejich rychlé odbourávání v plicních tekutinách. V případě vláken zbavených lubrikace a testovaných nikoliv ve formě vaty, ale tenké vrstvy, dochází naopak k jejich úplnému rozpuštění již po sedmi dnech v simulované tělní tekutině. Následující studie budou tedy zaměřeny na další vývoj metodiky testování, na sledování vlivu lubrikace a případné tvorby mezní vrstvy kapaliny u povrchu jednotlivých vláken na jejich rozpustnost. Rychlost rozpouštění vláken by rovněž měla být měřena nejen nepřímo z množství SiO₂ v roztoku, které může být ovlivněno jeho zpětným srážením, ale i přímým měřením průměru vláken pomocí rastrovací elektronové mikroskopie.

Poděkování: Tato studie byla vypracována jako součást výzkumného záměru MSM 6046137302 Příprava a výzkum funkčních materiálů a materiálových technologií s využitím mikro- a nanoskopických metod.

Literatura

- [1] Hesterberg T.W. et al.: Chronic Inhalation Toxicity of Size-separated Glass Fibers in Fisher 344 Rats, *Fundamental and applied toxicology* 20, 464-476, 1993.
- [2] Hesterberg, T.W. Hart, G.A.: *Health & Safety Aspects of Fiber Glass*, Battery Conference on Applications and Advances, Long Beach, CA, USA, 2000.
- [3] Strnadová M. et al.: *Ceramic Forum International* 82, 40-45, 2005.
- [4] Jirsák O., Sanetrník F., Lukáš D., Kótek V., Martinová L., Chaloupek J.: Patent CZ 20032421, 10.11.2004.
- [5] Mattson S. M.: Glass Fiber Dissolution in Simulated Lung Fluid and Measures Needed to Improve Consistency and Correspondence to In-Vivo Dissolution, *Environmental Health Perspective*, 102, 1994.
- [6] Sebastian K. et al.: *Glass Science Technology* 75, 263-270, 2002.