

MODYFIKACJA WŁAŚCIWOŚCI POWIERZCHNIOWYCH BIOMATERIAŁÓW Z FIBROINY JEDWABIU

A. PŁANECKA*, A. SIONKOWSKA, P. SZARSZEWSKA

UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA, WYDZIAŁ CHEMII,
UL. GAGARINA 7, 87-100 TORUŃ
*MAILTO: ANNAP@CHEM.UMK.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 109-111, (2011), 27-28]

Wstęp

Jedwab jako biopolimer, wytwarzany przez stawonogi w postaci nitki, jest cenny nie tylko dla przemysłu tekstylnego, ale i medycznego. Jedwab cechuje się biokompatybilnością, biodegradowalnością i dobrymi właściwościami mechanicznymi. Nici jedwabne używane były często do zszywania ran. Natomiast obecnie błonki na bazie fibroiny jedwabiu znalazły zastosowanie jako nośniki leków, mikro-tuby w plastyce naczyń krwionośnych, a także jako pokrycie tub celulozowych i membran do dializy.

Nie ma jednak informacji na temat właściwości powierzchniowych jedwabiu po jego sterylizacji promieniowaniem UV. Polimery stosowane w medycynie, szczególnie w zakresie chirurgii i implantacji, muszą charakteryzować się wysoką adhezją. Dotychczasowe badania naszego zespołu potwierdzają, korzystne działanie promieniowania UV na zwiększenie hydrofilowości błonek kolagenowych, a tym samym większej na nim adhezji komórek. Wyniki tych badań są potwierdzone we współpracy z Collegium Medicum w Bydgoszczy [1]. Przewidujemy, że błonki wykonane z fibroiny jedwabiu zmodyfikowane promieniowaniem UV byłyby, również dobrym podłożem do hodowli komórkowej. W pracy przedstawiono sposób modyfikacji właściwości powierzchniowych błonek na bazie fibroiny jedwabiu, w celu poprawy ich właściwości implantacyjnych.

Materiały i metodyka badań

Roztwór fibroiny jedwabiu (SF) otrzymano metodą Ajisawa, która polega na usunięciu powłoki serycynowej z surowego jedwabiu (w procesie odserycynowania) oraz rozpuszczeniu czystych włókien jedwabiu w odpowiednim rozpuszczalniku ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, w stosunku molowym: 1/8/2, w 75°C przez 4h). Surowy jedwab pochodził z kokonów jedwabników morwowych.

Do napromieniania próbek użyto średniociśnieniową lampę rtęciową HPR-120 W (firmy Philips, Holand) emitującą promieniowanie UV o długości fali 254 nm. Natężenie promieniowania UV mierzono za pomocą radiometru HD 9021 (Delta OHM) z sondą pomiarową LP 9021 UVC na zakres promieniowania 200-280 nm. Zmierzone natężenie promieniowania lampy wynosiło $0,256 \text{ J}/(\text{cm}^2 \cdot \text{min})$.

Pomiarów kąta zwilżalności (θ) zbadano na cienkich błonkach z fibroiny jedwabiu. Pomiarów kątów zwilżania prowadzono za pomocą goniometru typu G10 (Kruss GmbH) w temperaturze pokojowej, wyposażonego w kamerę wideo. Do pomiarów użyto dwóch cieczy pomiarowych gliceryny i diiodometanu, a obliczeń dokonano metodą Owens-Wendta.

Mikrografie błonek z fibroiny jedwabiu otrzymano za pomocą mikroskopu sił atomowych (Atomic Force Microscopy - AFM) NanoScope III w warunkach otoczenia. Ana-

MODIFICATION OF THE SURFACE PROPERTIES OF SILK FIBROIN BIOMATERIALS

A. PŁANECKA*, A. SIONKOWSKA, P. SZARSZEWSKA

FACULTY OF CHEMISTRY, BIOPOLYMER RESEARCH GROUP,
7 GAGARINA STR., 87-100 TORUN, POLAND
*MAILTO: ANNAP@CHEM.UMK.PL

[Engineering of Biomaterials, 109-111, (2011), 27-28]

Introduction

Silk as a biopolymer, produced by arthropods in the form of threads, is valuable not only for the textile industry but also for medical applications. Silk is biocompatible, biodegradable and possesses good mechanical properties. Silk threads were often used for suture wounds. Recently films based on silk fibroin were used as drug carriers, in the angioplasty of micro blood vessels, as well as they cover tubes and cellulose dialysis membranes.

However, there are no studies about the surface properties of silk after UV sterilization. The polymers used in medicine, particularly for surgery and implantation, must be characterized by high adhesion. Previous studies of our research group showed the beneficial effects of UV radiation to increase of hydrophilicity of collagen films, and thus the improvement of adhesion of cells. The results of these studies were confirmed in collaboration with the Collegium Medicum in Bydgoszcz [1]. One can expect that the film made from silk fibroin modified by UV radiation would be also a good substrate for cell culture. The paper shows how to modify the surface properties of films based on silk fibroin, in order to improve its cells adhesion.

Materials and methods

Silk fibroin solution (SF) were obtained by Ajisawa's method, which involves removing the sericin shell of raw silk and the dissolution of pure silk fibers in a suitable solvent ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ in a molar ratio: 1/8/2 in 75°C for 4h). Raw silk came from silkworm (*Bombyx Mori*) cocoons.

Silk-based samples were irradiated by mercury lamp Medium HPR-120 W (Philips, Holland), emitting UV light with a wavelength of 254 nm. The intensity of UV radiation was measured using radiometer HD 9021 (Delta OHM) with probe LP 9021 UVC radiation in the range 200-280 nm. The measured intensity was $0,256 \text{ J}/(\text{s}^2 \cdot \text{m})$.

Contact angle (θ) measurements on thin films of silk fibroin were carried out using a G10 goniometer (Kruss GmbH) equipped with a video camera at room temperature. For the measurements two liquid were used: glycerin and diiodomethane. Calculations of surface free energy were made by Owens-Wendt equation.

Microphotographs of fibroin silk films were obtained using Atomic Force Microscopy (AFM) NanoScope III at ambient conditions. The analysis of each sample was carried out in several places, and specific areas were photographed. Films were analyzed before and after UV irradiation (2 and 8h).

Results and discussion

Our studies have shown that the surface free energy of silk fibroin films increases with increasing time of UV irradiation. This may be caused by photochemical degradation

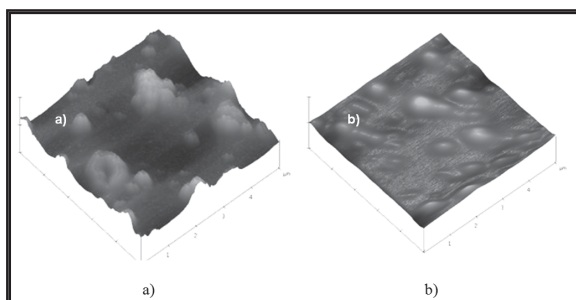
lizę każdej próbki wykonano w kilku miejscach, a charakterystyczne obszary sfotografowano. Zanalizowano błonki przed jak i po naświetlaniu promieniowaniem nadfioletowym (po 2 i 8h).

Wyniki i dyskusja

Badania wykazały, że swobodna energia powierzchniowa filmów fibroiny jedwabiu rośnie wraz z czasem poddania ich promieniowaniu UV. Może to być spowodowane przez fotochemiczną degradację, która zwiększa polaryzację powierzchni, powodując silniejsze interakcje między filmem a kroplą. Wzrost polarności powierzchni (TAB. 1) można tłumaczyć przez fotoutlenianie, czyli fotodestrukcję wiązań glikozydowych, a także przez tworzenie się pierścieni z grupami karboksylowymi.

Zmianie uległy także wartości swobodnej energii powierzchniowej, jak i jej składowych, których wartości zwiększyły się, co świadczy o lepszej adhezji tego materiału. Wolne rodniki powstające podczas napromieniowania UV mogą reagować z tlenem atmosferycznym tworząc różnego rodzaju grupy karbonylowe, hydroksylowe, a także wodoronadtlenki, co powoduje silne zmiany w składowych swobodnej energii powierzchniowej. Zmiany te spowodowane mogą być m.in. wytworzeniem na powierzchni polimeru wolnych rodników ($R^{\bullet}, ROO^{\bullet}$), wtórnymi reakcjami rodników tlenowych z wytworzeniem grup wodoronadtlenkowych (ROOH) oraz utworzeniem grup polarnych (-OH, -COOH, -CHO, =CO).

Na podstawie mikrofotografii AFM (RYS. 1) oraz wyników chropowatości można stwierdzić, iż z czasem naświetlania promieniowaniem UV ich chropowatość maleje, czego dowodem są malejące wartości parametru RMS (TAB. 2).



RYS. 1. Obrazy AFM fibroiny jedwabiu a) niemodyfikowanego i b) po modyfikacji promieniowaniem UV (po 8h).

FIG. 1. AFM images of silk fibroin film: a) unmodified; and b) after modification by UV radiation (after 8h).

Wnioski

Wyniki badań sugerują, że najkorzystniejszym czasem modyfikacji promieniowaniem nadfioletowym są 2 godziny. Po czasie tym, odnotowuje się 6-krotnie większą hydrofilowość powierzchni błonek na bazie fibroiny jedwabiu (w porównaniu z nie naświetlaną) oraz zadowalającą ich chropowatość (RMS=19.2 nm).

TABELA 1. Wartości składowej polarnej [mN/m] błonek z fibroiny jedwabiu przed i po naświetlaniu promieniowaniem UV.

TABLE 1. The values of polar component of surface free energy [mN/m] for silk fibroin films before and after UV irradiation.

Czas naświetlania Time of irradiation [h]	Składowa polarna Polar component [mN/m] γ_p
0	2.9
1	7.5
2	17.4
8	22.3

and photooxidation, which increase the surface polarity, resulting in stronger interactions between the film and drop. The increase of surface polarity (TAB. 1.) can be explained by photooxidation which leads to formation of carbonyl and carboxyl groups.

Free radicals formed during UV irradiation ($R^{\bullet}, ROO^{\bullet}$) may react with atmospheric oxygen and can form various types of carbonyl groups, hydroxyl, and hydroperoxides, which causes a strong change in polar component of surface free energy (-OH, -COOH, -CHO, =CO).

Based on the AFM microphotographs (FIG. 1) the surface roughness can be calculated as RMS. After UV exposure of silk fibroin films the surface roughness decreases and the values of RMS are shown in TAB. 2.

TABELA 2. Zestawienie wyników parametru chropowatości błonek z fibroiny jedwabiu przed i po 2 i 8 h napromieniania światłem UV (obszar skanowania 5×5 μm).

TABLE 2. The surface roughness parameter RMS of the silk fibroin films before and after UV irradiation (scan area 5×5 μm).

Czas naświetlania Time of irradiation [h]	Chropowatość RMS Roughness RMS [nm]
0	22.8
2	19.2
8	3.9

Conclusions

The results suggest that the best time of ultraviolet modification of silk fibroin film is 2 hours. After this time, surface of films based on silk fibroin has six times more hydrophilic character (compared to not irradiated ones) and satisfactory roughness (RMS = 19.2 nm).

Piśmiennictwo

References

- [1] J. Skopinska-Wisniewska, A. Sionkowska, A. Kaminska, A. Kaznica, R. Jachimiak, T. Drewna, „Surface characterization of collagen/elastin-based biomaterials for tissue regeneration”, Applied Surface Science, 2009; 225: 8286-8292.