

UNIVERZA V MARIBORU
FAKULTETA ZA STROJNIŠTVO

Nives VODIŠEK

**FUNKCIONALIZACIJA VLAKEN ZA DOSEGO
BIOAKTIVNIH LASTNOSTI MATERIALA**

Diplomsko delo
univerzitetnega študijskega programa 1. stopnje
Oblikovanje in tekstilni materiali

Maribor, september 2010



Univerza v Mariboru

Fakulteta za strojništvo

FUNKCIONALIZACIJA VLAKEN ZA DOSEGO BIOAKTIVNIH LASTNOSTI MATERIALA

Diplomsko delo

Študent(ka): Nives VODIŠEK
Študijski program: Univerzitetni študijski program 1. stopnje Oblikovanje in tekstilni materiali
Smer: Tekstilni materiali

Mentor: doc. dr. Lidija FRAS ZEMLJIČ
Somentor: doc. dr. Olivera ŠAUPERL

Maribor, september 2010

Vložen original sklepa o
potrjeni temi diplomskega dela

I Z J A V A

Podpisana Nives VODIŠEK izjavljam, da:

- je bilo predloženo diplomsko delo opravljeno samostojno pod mentorstvom doc. dr. Lidije FRAS ZEMLJIČ in somentorstvom doc. dr. Olivere ŠAUPERL ;
- predloženo diplomsko delo v celoti ali v delih ni bilo predloženo za pridobitev kakršnekoli izobrazbe na drugi fakulteti ali univerzi;
- soglašam z javno dostopnostjo diplomskega dela v Knjižnici tehniških fakultet Univerze v Mariboru.

Maribor, 23.09.2010

Podpis: _____

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. Lidiji FRAS ZEMLJIČ in somentorici doc. dr. Oliveri ŠAUPERL za pomoč in vodenje pri opravljanju diplomskega dela. Zahvaljujem se tudi prijateljem.

Posebna zahvala velja staršem, ki so mi omogočili študij.

FUNKCIONALIZACIJA VLAKEN ZA DOSEGO BIOAKTIVNIH LASTNOSTI MATERIALA

Ključne besede: viskoza, modal, liocel, hitozan, karakterizacija aaminskih skupin, potenciometrična titracija, spektrofotometrična metoda C.I. Acid Orange 7, polielektrolitska titracija, protimikrobne lastnosti

UDK: 677.021.122.2(043.2)

POVZETEK

Poudarek pri razvoju inovativnih sanitetnih materialov ter medicinskih tekstilij je v uporabi biorazgradljivih vlaknotvornih materialov, kot so celulozna vlakna (naravna ter regenerirana celulozna vlakna). Eden izmed pomembnih kriterijev uporabnosti celuloznih materialov za posebne namene je predvsem njihova površinska in biološka aktivnost, kakor tudi biološka razgradljivost. Tako je celuloza idealni izhodni material za funkcionalizacijo z namenom pridobitve protimikrobnih lastnosti materialov, ter posledično ustvarjanja medicinskih izdelkov.

Dejstvo je, da je veliko število proti-mikrobnih spojin, ki se uporabljajo za funkcionalizacijo celuloznih vlaken v tekstilni industriji, vendar se sklepa, da mnoga od teh ne zagotavljajo popolne varnosti za varovanje zdravja ljudi in okolja. Na razpolago je množica učinkovitih proti-mikrobnih spojin, ki se razlikujejo po mehanizmu delovanja, vendar se znanost pospešeno posveča iskanju spojin in razvoju postopkov, ki bi temeljili izključno na rabi naravnih materialov, ki zagotavljajo popolno varnost za ljudi kakor tudi okolje.

Ena izmed najbolj obetavnih naravnih spojin z odličnimi proti-mikrobnimi lastnostmi je hitozan. Delovanje tega naravnega polisaharida, ki se pridobiva iz hitina, je odvisno deleža in, predvsem, dostopnosti aaminskih skupin hitozana, ki jim pripisujemo proti-mikrobno delovanje. V raziskavi smo uporabili različna regenerirana celulozna vlakna, kot so: viskoza, liocel in modal, ki spadajo v skupino regeneriranih celuloznih vlaken za katere je znano da so, v primerjavi z bombažem, ki vsebuje znaten delež voskov, pektinov, naravnih barvil in nemalokrat obremenjenost s pesticidi, večje čistosti in zato za potrebe protibakterijskih obdelav še posebej zanimiva. Našteta vlakna smo protimikrobno funkcionalizirali s 1%

raztopino hitozana. Uspešnost funkcionalizacije smo merili s potenciometrično titracijo, spektrofotometrično metodo C.I. Acid Orange 7 in z mikrobiološkim testiranjem. Rezultati obeh analiznih metod dobro sovpadajo. Največjo vsebnost aaminskih skupin kaže viskoza, sledi modal in nato liocel. Rezultati obeh tehnik dobro sovpadajo.

Vsebnost aaminskih skupin vpliva na protimikrobni značaj vlaken. Dokazali smo, da je v povprečju pri vlaknih, z višjo vsebnostjo aaminskih skupin dosežena boljša redukcija patogenih bakterij, kakor patogenih gliv.

Funkcionalizirana vlakna kažejo potencialno uporabo na številnih področjih kot so medicinske tekstilije, tehnične tekstilije, tekstilije za dom in prosti čas, oblačila za zaščito in šport itd.

FUNCTIONALIZATION OF FIBRES FOR BIOACTIVE PROPERTIES

Key words: viscose, modal, liocel, chitosan, amino group characterization, potentiometric titration, method C.I. Acid Orang 7, polyelectrolyte titration, antimicrobial properties

UDK: 677.021.122.2(043.2)

ABSTRACT

The emphasis of innovative sanitary materials and medical textiles is given on the development of renewable fiber-forming materials e.g. cellulose natural and regenerated fibers. One of the most important criteria of cellulose material for special use is, most of all, its surface and biological activity and biological degradability. For this purpose cellulose is an ideal substrate for anti microbial treatment and, consequently for medical materials production.

There are a lot of antimicrobial substances nowadays which are suitable for cellulose fibers functionalization in the textile industry area but most of them are not ecologically acceptable. In the commercial use a lot of efficient antimicrobial substances are in the market but due to the restrictions according to the ecology, researches are forced to find and to develop substances and procedures which are safe for humans and environment.

One of the most promising substances with excellent antimicrobial properties is chitosan. Activity of this polysaccharide isolated from chitin depends on the amount and, most of all, on the accessibility of amino groups which present antimicrobial sites of chitosan. In this research different regenerated cellulose fibers were used as: viscose, lyocel and modal. If compared to the cotton which possesses certain amount of waxes, pectines, natural pigments and pesticides, regenerated fibers are purer and therefore very interesting scope for antimicrobial application. All fibers used in the research were antimicrobial functionalized with the 1% solution of chitosan. Estimation in the sense of antimicrobial activity was performed with the potentiometric titration, the spectrophotometric method Acid orange 7 supported by microbiological testing. Both methods results are in good accordance. The highest amount of amino groups show viscose followed by modal and, finally by lyocel.

The amount of amino groups strongly influences antimicrobial character of functionalized fibers. It is confirmed that fibers with higher content of amino groups show better reduction of pathogenic bacteria as well as pathogenic fungi.

Functionalized fibers show potential use in the different fields of application e.g. medical textiles, technical textiles, textiles for home and casual wear, clothes for protection and sport, etc.

KAZALO

1 UVOD	1
2 TEORETIČNI DEL	3
2.1 Regenerirana celulozna vlakna	3
2.1.1 Pridobivanje regeneriranih celuloznih vlaken	3
2.1.2 Molekulska in nadmolekulska struktura regeneriranih celuloznih vlaken	6
2.1.3 Lastnosti regeneriranih celuloznih vlaken	8
2.2 Hitozan	11
2.3 Metode določanja aaminskih skupin	16
2.3.1 Potenciometrična titracija (pH)	16
2.3.2 Spektrofotometrična metoda C.I. Acid Orange 7	19
2.3.3 Polielektrolitska titracija	19
3 EKSPERIMENTALNI DEL	22
3.1 Uporabljeni materiali	23
3.1.1 Viskoza	23
3.1.2 Modal	23
3.1.3 Liocel	23
3.1.4 Hitozan	23
3.1.5 Kemikalije in tekstilna pomožna sredstva	23
3.2 Predobdelava in funkcionalizacija vlaken	25
3.2.1 Predobdelava viskoze, modala in liocela	25

3.2.2 Funkcionalizacija vlaken s hitozanom	26
3.3 Analizne metode	27
3.3.1 Potenciometrična metoda	27
3.3.2 Spektrofotometrična metoda C.I. Acid Orange 7	28
3.3.3 Polielektrolitska titracija	29
3.4 Mikrobiološko testiranje	30
4 REZULTATI IN DISKUSIJA	31
4.1 Množina aaminskih skupin na površini vlaken kot posledica vezave hitozana	31
4.1.1 Potenciometrična metoda	31
4.1.2 Spektrofotometrična metoda C.I. Acid Orange 7	33
4.1.3 Koleracija med obema metodama za določitev aminskih skupin	33
4.2 Desorpcija hitozana s površine vlaken	34
4.3 Mikrobiološko testiranje	36
5 SKLEP	41
SEZNAM UPORABLJENIH VIROV	42

UPORABLJENI SIMBOLI

A	-	število bakterijskih kolonij po 1 minutnem stresanju
A_0	-	začetna absorbanca
A_i	-	množina aaminskih skupin [mmol/kg]
A_K	-	končna absorbanca
B	-	število bakterijskih kolonij po 1 urnem stresanju
c	-	koncentracija [mol/L]
E	-	potencial [mV]
k	-	korekcijski koeficient [L/molcm]
l	-	dolžina [cm]
m	-	masa [g]
pH	-	pH vrednost
R	-	redukcija [%]
T	-	temperatura [°C]
V	-	volumen [L]

UPORABLJENE KRATICE

ASTM	-	American Society for Testing and Materials
C.I.	-	Colour index
CD	-	cirkularni dikroizem
CFU	-	Colony Forming Units
<i>DD</i>	-	stopnja deacetiliranja hitozana
DP	-	depolimerizacijska stopnja
IR	-	infrardeča
JAŠ	-	jodovo absorpcijsko število
KR	-	kopelno razmerje
MT	-	Mettler Toledo
NMR	-	nuklearna magnetna resonanca
OU	-	ožemalni učinek
ZZV	-	Zavod za zdravstveno varnost

1 UVOD

Prisotnost mikroorganizmov na tekstilnih materialih povzroča, razen funkcionalnih, tudi higienske in estetske težave. Mikroorganizmi, prisotni na tekstilnih materialih so v glavnem glive in bakterije. V zelo vlažnem okolju najdemo tudi sledi alg, ki predstavljajo še dodaten problem, saj so vir hrane ostalim mikroorganizmom. Na tekstilnem materialu so v simbiotičnem odnosu navadno prisotne tako bakterije, kot tudi glive, zato se v zadnjem času veliko pozornosti posveča razvoju različnih proti-mikrobnih obdelav, ki naj bi tekstilni material čim bolj uspešno ščitili pred delovanjem različnih mikroorganizmov.

Zaradi višjega življenjskega standarda in vse večje osveščenosti ljudi o zdravem načinu življenja, kakor tudi zaradi rastoče stopnje prenosljivih bolezni, ki jih povzročajo mikroorganizmi v bolnišničnih in domačih okoljih, je tako čedalje večje tržno povpraševanje po visoko kakovostnih higienskih in medicinskih tekstilnih izdelkih za vsakodnevno in medicinsko uporabo. Protimikrobna funkcija tekstilij bi naj tako ne samo preprečila mikrobiološko kontaminacijo tekstilij ampak, tudi doprinesla same protimikrobne lastnosti letih.

Poudarek pri razvoju inovativnih sanitetnih materialov ter medicinskih tekstilij je v uporabi biorazgradljivih vlaknotvornih materialov, kot so celulozna vlakna (naravna ter regenerirana celulozna vlakna). Eden izmed pomembnih kriterijev uporabnosti celuloznih materialov za posebne namene je predvsem njihova površinska in biološka aktivnost, kakor tudi biološka razgradljivost. Tako je celuloza idealni izhodni material za funkcionalizacijo z namenom pridobitve protimikrobnih lastnosti materialov, ter posledično ustvarjanja medicinskih izdelkov.

Dejstvo je, da je veliko število proti-mikrobnih spojin, ki se uporabljajo za funkcionalizacijo celuloznih vlaken v tekstilni industriji, vendar se sklepa, da mnoga od teh ne zagotavljajo popolne varnosti za varovanje zdravja ljudi in okolja. Na razpolago je množica učinkovitih proti-mikrobnih spojin, ki se razlikujejo po mehanizmu delovanja, vendar se znanost pospešeno posveča iskanju spojin in razvoju postopkov, ki bi temeljili izključno na rabi naravnih materialov, ki zagotavljajo popolno varnost za ljudi kakor tudi okolje.

Ena izmed najbolj obetavnih naravnih spojin z odličnimi proti-mikrobnimi lastnostmi je hitozan.

Delovanje tega naravnega polisaharida, ki se pridobiva iz hitina, je odvisno deleža in, predvsem, dostopnosti aaminskih skupin hitozana, ki jim pripisujemo proti-mikrobno delovanje [19].

Po adsorpciji hitozana na vlakna je zato bistvenega pomena analiza vsebnosti dostopnih aaminskih skupin. Poudarek diplomskega dela je bil tako usmerjen v uporabo različnih analiznih metod, na osnovi katerih smo želeli čim bolj objektivno presoditi delež dostopnih aaminskih skupin vlaken. V ta namen smo uporabili direktno potenciometrično titracijo ter tako imenovano indirektno metodo C.I. Acid Orange 7, ki temelji na spektrofotometričnem merjenju padca koncentracije raztopine barvila Acid Orange, kot posledico vezave anionskega barvila na dostopne protonirane kationske aaminske skupine vlaken, obdelanih s hitozanom. Prav tako smo proučili desorpcijo hitozana s površine vlaken, kar je bistvenega pomena za praktično uporabo vlaken. Trajna vezava hitozana namreč omogoča večkratno uporabo vlaken, medtem ko so vlakna iz katerih se hitozan sprošča idealna za uporabo v medicini, kot recimo za nego ran v obliki obližev, gaz, itd.

V raziskavi smo uporabili različna regenerirana celulozna vlakna, kot so: viskoza, liocel in modal, ki spadajo v skupino regeneriranih celuloznih vlaken za katere je znano da so, v primerjavi z bombažem, ki vsebuje znaten delež voskov, pektinov, naravnih barvil in nemalokrat obremenjenost s pesticidi, večje čistosti in zato za potrebe protibakterijskih obdelav še posebej zanimiva. V skupini regeneriranih celuloznih vlaken smo želeli preveriti v kolikšnem obsegu, če sploh, se dostopnost aaminskih skupin posameznega tipa vlaken spreminja glede na dejstvo, da postopek izdelave določenega tipa regeneriranih vlaken poteka s točno določeno vrsto topila po točno določenem tehnološkem zaporedju, katerega posledica so tudi različne fizikalno-kemijske, kakor tudi strukturne lastnosti regeneriranih celuloznih vlaken. Najpomembnejši vidik naloge je analizirati vpliv vsebnosti dostopnih aaminskih skupin na protimikrobne lastnosti vlaken. Končne rezultate protimikrobnega testiranja smo primerjali z rezultati dobljenimi na bombažu, kot edinem predstavniku naravnih celuloznih vlaken vključenega v to raziskavo, na katerem je opravljenih že mnogo raziskav iz tovrstnega področja. Na osnovi rezultatov smo zaključili katera vrsta izbranih celuloznih vlaken, obdelanih s hitozanom bi bila najprimernejša za specifično izdelavo proti-bakterijsko učinkovitih materialov, zanimivih predvsem za področje medicine.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 Regenerirana celulozna vlakna

Regenerirana celulozna vlakna, dobljena z regeneracijo naravne celuloze, so kemično čista celuloza. Kot izhodna surovina za njihovo pridobivanje se uporablja pretežno lesna celuloza (bukovina, topolovina, smrekovina), redko pa celuloza bombažnih linters vlakenc. Glede na način raztapljanja izhodne celuloze lahko regenerirana celulozna vlakna razdelimo v naslednje skupine:

- vlakna, pridobljena po posrednem viskozem postopku (viskoza, modal),
- vlakna, pridobljena po neposrednem kuoksamskem postopku (bakro),
- vlakna, pridobljena po neposrednem NMMO postopku (liocel).

2.1.1 Pridobivanje regeneriranih celuloznih vlaken

Osnovni postopek pridobivanja regeneriranih celuloznih vlaken je posredni viskozni ali ksantogenatni postopek, z modifikacijo tega postopka pa pridobivajo visokotrдна vlakna modal. Novejša vlakna liocel se pridobivajo po neposrednem postopku NMMO s pomočjo direktnega topila za celulozo brez tvorbe vmesnega derivata.

Viskozni ali ksantogenatni postopek

Vlakna po klasičnem viskozem ali ksantogenatnem postopku izdelujejo tako, da celulozo preko celuloznega derivata prevedejo v raztopino, iz katere se s koagulacijo oblikujejo vlakna [2,3]. V prvi fazi postopka pridobivanja vlaken po viskozem postopku alkaliziranja obdelujejo celulozo v 18% raztopini natrijevega hidroksida (NaOH), kjer nastaja alkalijska celuloza. Pri nabrekanju v lugu, oziroma tvorbi alkalijske celuloze, se spremeni elementarna kristalina rešetka izhodne celuloze. Faza predzorenja, kjer poteka depolimerizacija celuloze pod vplivom zračnega kisika, je v postopku pridobivanja modala krajša kot v postopku pridobivanja viskoze ali pa je popolnoma opuščena. Sledi obdelava z ogljikovim disulfidom (CS₂), ki se pri modalu uporablja v večjih količinah, kot pri izdelavi regularne viskoze.

To je proces sulfidiranja ali ksantogeniranja alkalijske celuloze, kjer se tvori ester celuloze in ditioogljikove kisline H₂COS₂, celulozni ksantogenat (cel-OCS₂Na), ki je topen v raztopini natrijevega hidroksida.

V procesu pridobivanja modala raztapljajo celulozni ksantogenat v vodi. Sledi faza zorenja, kjer prihaja do delne deksantogenacije viskoze zaradi hidrolize. Istočasno pa poteka depolimerizacija celuloznih molekul; sledi združevanje molekul in začne se razvijati nadmolekulska struktura. Tudi faza zorenja pri postopku pridobivanja modala traja le kratek čas [2,3].

Pređenje vlaken iz raztopine viskoze poteka po mokrem postopku tako, da se viskozna raztopina iztiska skozi luknjice šobe v obarjalno kopel. Različna hitrost koagulacije in regeneracije v zunanji in notranji plasti niti je vzrok za različno strukturo plašča in jedra vlaken. Pogoji pri procesu proizvodnje viskoznih vlaken so taki, da omogočajo hitro regeneracijo; zunanja področja postanejo toga pred končno dehidratizacijo, nastopi gubanje in krčenje po preseku (nazobčanost preseka). Pri procesu proizvodnje modala viskozno raztopino iztiskajo skozi luknjice šob v zelo razredčeno raztopino žveplove (VII) kisline nižje temperature. Enoten koagulat se nato razteza od 140 – 500%; pri tem se razvije visoka stopnja orientacije v smeri osi vlakna. Vlakno se po končni regeneraciji ne krči več, presek ostane okrogel. Pogoji pri postopku pridobivanja modala s pomočjo dodanih moderatorjev v obarjalno kopel, omogočajo enakomerno koagulacijo po vsem preseku in upočasnjeno regeneracijo celuloze. Sinergistični učinek moderatorjev na hitrost koagulacije in regeneracije povzroči, da je koagulirano vlakno možno raztezati do visoke stopnje orientacije. Povečanje trdnosti pri istočasno zmanjšanem raztezkcu vlakna, se doseže pri raztezanju s posebno sestavo obarjalne kopeli [1, 2, 3].

NMMO postopek

Naraščajoče okoljevarstvene zahteve in želje, da bi izdelali vlakna z izboljšanimi lastnosti, kot jih imajo obstoječa kemična celulozna vlakna, so proizvajalce regeneriranih celuloznih vlaken prisili, da so raziskave usmerili v iskanje primerne topila za neposredno raztapljanje celuloze brez derivatizacije v ekološko bolj neoporečnih topilih, ki jih je možno tudi reciklirati. Do sedaj uporabljena najpomembnejša in ekološko prijaznejša topila za celulozo, uporabljena v novih postopkih pridobivanja regeneriranih celuloznih vlaken, so [2]:

- NMMO (vodna raztopina N-metilmorfolin-N-oksida v vodi)
- ZnCl₂ (vodna raztopina cinkovega klorida)
- NaOH (vodna raztopina natrijevega hidroksida)
- LiCl/DMAC (raztopina litijevega klorida v dimetilacetamidu)

- derivati celuloze: pretvorba v celulozni karbamat, ki je topen v NaOH, v kombinaciji s sečnino

Z vsemi navedenimi topili so poskušali izdelati vlakna, vendar je komercialni uspeh doseglo le topilo NMMO (metilmorfolin-N-oksidi); po enako imenovanem postopku izdelujejo vlakna liocel. Bistvena razlika med klasičnim viskozno postopkom in NMMO postopkom se kaže v tem, da se po novem postopku celuloza neposredno raztaplja v organskem topilu in prede iz raztopine brez vmesnega produkta – derivata celuloze. Združeni sta fazi oblikovanja in preoblikovanja vlaken, število faz v postopku pridobivanja je bistveno zmanjšano tako, da lahko postopek NMMO razdelimo v tri stopnje [2,3]: priprava predilne raztopine, oblikovanje vlaken in regeneracija topila.

Predilna raztopina vsebuje 10 - 20% celuloze, 5 – 12% vode in 75 – 80% N-metilmorfolin-N-oksida. Med intenzivnim mešanjem, segrevanjem in izparevanjem vode se celuloza raztopi. Optimalna temperatura raztapljanja je med 85 – 95°C. Predenje liocela poteka po mokrem postopku. Homogena predilna raztopina temperature 100°C se po filtriranju iztiska skozi šobe v zračni jašek in nato v koagulacijsko kopel, ki je običajno razredčena vodna raztopina NMMO. Pri tem se celuloza regenerira v obliki brezkončnih niti. V fazi nastajanja niti nastopi temeljna razlika med klasičnim viskozno in NMMO postopkom. Pri oblikovanju liocel vlaken se tvorba vlaknate struktur začne že v šobi, kjer se doseže precejšnja orientacija makromolekul v smeri osi vlakna, ki se nadaljuje med razvlekom. Zaradi relativno visoke odvajalne hitrosti po izstopu raztopine iz šobe v zračnem jašku prihaja do visoke orientacije ekstrudata, zato niti po koagulaciji ne raztezajo več. Pri NMMO postopku se vlakno tvori z odvzemanjem vode. Vlakna se pri tem ne krčijo, orientacija celuloznih makromolekul je končana, še preden ekstrudat vstopi v koagulacijsko kopel. V kopeli se vrši koagulacija in orientacija molekul. Strnjene niti se odvajajo, perejo, sušijo in navijajo. Postopek izdelave vlaken poteka v popolnoma zaprtem krožnem sistemu, kjer se vse kemikalije, vključno z vodo po procesu obnavljajo – reciklirajo ter ponovno vračajo v proizvodni krog. Koagulacijska kopel, ki je zaradi prisotnosti NMMO po procesu predenja v bistvu razredčena vodna raztopina topila, se očisti in z izparevanjem odvečne vode koncentrira. Razredčeni aminooksidi pa se po čiščenju in odparevanju vode ponovno krožno vračajo v proces [2,3].

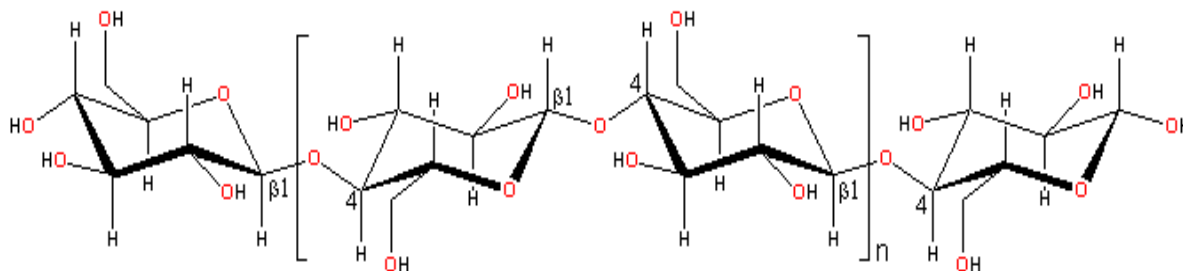
2.1.2 Molekulska in nadmolekulska struktura regeneriranih celuloznih vlaken

Ko govorimo o molekulske strukturi celuloznih vlaken, govorimo o njihovi kemični sestavi, velikosti makromolekulskih verig ter konformacijskih oblikah celuloze in sekundarnih interakcijah.

Celuloza je ogljikov hidrat in spada med polisaharide. Sestavljena je iz 44% ogljika, 49% kisika in 6,2% vodika, njena empirična formula pa je $(C_6H_{10}O_5)_n$, kjer n označuje polimerizacijsko stopnjo. Po Staudingerju se polimerizacijska stopnja naravnih celuloznih vlaken giblje med 2000-3000, regeneriranih celuloznih vlaken pa med 200 in 800 [3].

Hidroliza celuloze poteka stopenjsko preko disaharida celobioze v končni razkrojni produkt β -glukozo, ki lahko obstaja kot spojina z verižno ali ciklično zgradbo. S polacetalno pretvorbo verižne β -glukoze dobimo ciklično obliko, glukopiranozo [2]. Glukopiranoza je šestkotnik, sestavljen iz petih atomov ogljika in enega atoma kisika. Glede na položaj hidroksilne skupine na prvem ogljikovem atomu glukopiranoze razlikujemo α in β obliko glukoze. Prva je sestavina škrobnih makromolekul, β -glukoza pa celuloznih makromolekul [2,3].

Osnovni gradbeni element molekule celuloze je disaharid celobioza, ki ga tvorita dve β -glukozni enoti. Zaradi β -vezi je vsaka druga glukozna enota vzdolž verige zasukana za 180° okoli C1-C4 osi. To pomeni, da je celuloza β -1,4-polacetal celobioze, ponavljajoče dolžine so 1,03 nm [2, 3].

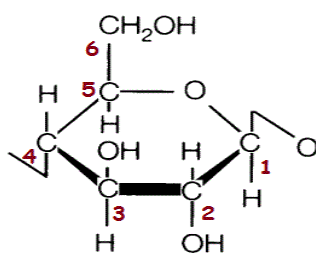


Slika 2.1 Zgradba celulozne makromolekule

V monomeru celuloze (β -glukopiranozi) so tri reaktivne hidroksilne skupine (-OH), primarna na šestem ogljikovem atomu (C6) in dve sekundarni hidroksilni skupini pa na drugem (C2) in tretjem ogljikovem atomu (C3). Reaktivnosti hidroksilnih skupin niso enake, hidroksilni skupini ogljikovega atoma C(3) in C(6) glukozne enote sta manj reaktivni kot hidroksilna skupina C(2) atoma. To pojasnjuje aktivna vloga hidroksilne skupine ogljikovega atoma C(3) pri tvorbi intramolekulskih vodikovih vezi s kisikovim atomom O(5') sosednje glukozne enote

in intra- ter intermolekulske interakcije hidroksilne skupine ogljikovega atoma C(6). Glukozni enoti na koncih celulozne verige se razlikujeta od ostalih. Na enem koncu molekule celuloze C(1) je aldehydna skupina (reducent) z zmanjšano aktivnostjo, na drugem koncu C(4) pa hidroksilna skupina tako, da ima ta glukoza enota štiri hidroksilne skupine.

Aciklična oblika molekule celuloze lahko zaradi proste vrtljivosti okrog ogljikovih atomov in gibkosti obročev zavzema različne konformacijske oblike od »stola« do »kadi«. Najbolj energetsko stabilna in ugodna je konformacijska oblika 4C_1 »stola« [2].



Slika 2.2 β -glukopiranozni obroč

Nadmolekulska struktura pomeni ureditev makromolekul v višje strukturne gradnike, njihova medsebojna povezava in orientacija je najpomembnejši nosilec lastnosti določene polimerne snovi [Kreže]. Tvori se pri nastajanju vlaken (npr. naravna celulozna vlakna), pri kemičnih vlaknih (npr. regenerirana celulozna vlakna) pa v procesih oblikovanja in razteznega preoblikovanja. Elementarna ali osnovna celica je najmanjša ponovljiva enota v kristalu. Elementarna celica kristalizirane naravne celuloze (celuloze I) je monoklinska z dimenzijami: $a = 0,835$ nm, $b = 1,03$ nm, $c = 0,79$ nm in koti $\beta = 84^\circ$, $\alpha = \gamma = 90^\circ$ [1, 2, 3].

Pri izdelavi regeneriranih celuloznih vlaken se pri raztapljanju naravne celuloze kristalina struktura poruši, pri strjevanju vlaken pa se tvorijo novi kristali. Elementarna celica regeneriranih celuloznih vlaken (celuloza II) je prav tako monoklinska z dimenzijami:

$a = 0,814$ nm, $b = 1,03$ nm, $c = 0,914$ nm, $\beta = 62^\circ$ [1, 2, 3].

Za vsa naravna (npr. bombaž), kot tudi regenerirana celulozna vlakna (viskoza, modal in liocel), je značilna dvofazna kristalino/amorfna mikrofibrilna struktura. V mikrofibrilu, ki je osnovni strukturni gradnik tekstilnih organskih vlaken, si v vzdolžni osi izmenjaje sledijo kristalini bloki in amorfna področja. Znotraj mikrofibrila ti področji povezujejo intrafibrilne vezne molekule, ki potekajo iz enega kristalita prek amorfnega področja v drug kristalit, ter skozi več kristalinih in amorfne področij.

Razlika med posameznimi vrstami regeneriranih celuloznih vlaken obstaja predvsem v velikosti osnovnih gradnikov mikrofibrila, to je v velikosti kristalitov in amorfnih področji, gostoti zloženosti, kristalini in amorfnosti orientaciji, velikosti in obliki praznin, v številu interfibrilnih veznih molekul, povezanosti posameznih gradnikov nadmolekulske strukture. Strukturne lastnosti, še posebej razmerje med amorfnim in kristalnim, imajo velik pomen na kemijske in fizikalne lastnosti vlaken [2, 3].

2.1.3 Lastnosti regeneriranih celuloznih vlaken

Viskoza je zelo hidrofilna, navzemanje vlage je večje kot pri naravnih celuloznih vlaknih. Vežanje vlage pri relativni zračni vlagi (65%) znaša 23%, repriza je 11%. Vlakna v vodi hitro nabrekajo, pri čemer se poveča premer vlaken za 40 – 50%, dolžina pa za 2 – 5%. Nizka polimerizacijska stopnja je eden od vzrokov za nizke trdnosti viskoze v primerjavi z bombažem. Predvsem pa so nizke trdnosti viskoze v mokrem, saj nabrekanje vlaken poveča medmolekulske razdalje, trdnost vlaken v mokrem se zmanjša, poveča pa se raztezek. Pri regularni viskozi znaša trdnost v mokrem komaj 50% trdnosti v suhem, raztezek pa se poveča za 20%. Pretržna napetost viskoze v suhem je v povprečju 20 – 25 cN/tex, raztezek 18 – 23%, pretržna napetost v mokrem pa 10 – 15 cN/tex in raztezek 22 – 28%. Ker se močno zniža tudi modul, se omočena viskoza razteza že pod vplivom delovanja zelo majhne sile. Elastični povratek je majhen, njihova dimenzijska stabilnost v mokrem pa slaba, kar je vzrok za slabe obstojnosti viskoze pri mokrih obdelavah. Kemična odpornost viskoze je podobna kemični odpornosti naravnih celuloznih vlaken, vendar nekoliko manjša zaradi nižje polimerizacijske stopnje. Manjša je tudi obstojnost viskoze v alkalijah. Viskoza izkazuje večjo afiniteto do barvil kot naravna celuloza. Barva se z barvili, ki so primerna za celulozo (direktna, reaktivna, razvijalna, žveplova, reduktivna, itd.). Pri pripravi materiala in barvanju je potrebno upoštevati oslABLJENO trdnost viskoze. Prihaja tudi do razlik v obarvanosti viskoze - gostejši zunanji plašč, ki je močnejše orientiran je svetleje obarvan kot jedro vlakna.

Nadmolekulska struktura *modala*, v primerjavi z viskozo, kaže bistveno izboljšanje mehanskih lastnosti vlaken. Daljše molekule, večja urejenost in orientacija strukturnih gradnikov omogočajo pridobivanje vlaken večjih trdnosti, z večjim modulom v mokrem stanju in dobrimi elastičnimi lastnostmi. Modal ima višjo pretržno napetost v suhem in v mokrem stanju, ter višji modul v mokrem kot viskoza.

Pretržna napetost modala v suhem je 34 – 38 cN/tex, pretržna napetost vlaken polinoznega tipa pa je še višja, in znaša od 36 – 42 cN/tex. V mokrem se pretržna napetost zniža za 20 – 30%. Modul v mokrem je višji kot pri viskozi in znaša 120 cN/tex, pri polinoznih vlaknih pa 230 cN/tex. Elastični povratek modala je višji kot pri viskozi, predvsem v mokrem, s čemer je povečana tudi njihova stabilnost v mokrem. Modal navzema manj vode in tudi stopnja nabrekanja v vodi je nižja kot pri viskozi. Pri 65% relativni zračni vlagi vežejo 11 – 12% vlage. Obstojnost modala v alkalijah je višja od regularne viskoze. Glede fizikalnih in kemičnih lastnosti je modal, predvsem polinozna vlakna, podobna bombažu. Modal se prav tako barva z običajnimi barvili, primernimi za celulozo. Po barvalnih sposobnostih so nekateri tipi modala bližje bombažu kot viskozi.

Liocel odlikujejo zelo dobre mehanske lastnosti. *Liocel* izgubi, v primerjavi z viskozo (do 50%) in modalom (20 – 30%), najmanj trdnosti v mokrem in sicer le 10 – 15%. Pretržna napetost *liocela* v suhem se približuje vrednostim poliestra (55 cN/tex) in znaša 42 – 48 cN/tex. Raztezek je nižji kot pri viskozi in znaša 10 – 15%, v mokrem se sicer poveča na 10 – 18%, kar pa je še vedno bistveno manj kot pri viskozi. Izjemno visoka pa je pretržna napetost *liocela* v mokrem (kar 85% trdnosti v suhem) in znaša 26 – 36 cN/tex. Visok modul elastičnosti, predvsem v mokrem, vodi do zelo majhnega skrčka vlaken v vodi in s tem do velike dimenzijske stabilnosti *liocela* v mokrem. *Liocel* se pri obdelavi v vodi ($T=100^{\circ}\text{C}$) skrči le 0,44%. Za *liocel* je značilna dobra sposobnost navzemanja vlage in vode, dobra sposobnost barvanja, kar v veliki meri pogojuje tudi anizotropija praznin. *Liocel* je možno barvati z direktnimi, reaktivnimi, žveplenovimi ali azo barvili po postopkih, ki so primerni za celulozna; globina obarvanja pa je pri *liocela* višja kot pri bombažu, modalu in prav tako pri viskozi. Ena od glavnih pomanjkljivosti *liocela* je nagnjenost vlaken k fibrilaciji. V nekaterih primerih pojmujejo fibrilacijo kot ugodno lastnost *liocela*, primerno za doseganje posebnih učinkov na površini tkanine.

Tabela 2.1 Nekaterne osnovne lastnosti celuloznih vlaken [1]

	Liocel	Viskoza	Modal	Bombaž
Repriza [%]	11-13	13	12,5	8
Finost [dtex]	0,9-3,3	1-50	1-50	1,5-2
DP	550-600	300-350	450-550	2000-3000
Trdnost [cN/tex]				
- v suhem	34-40	22-26	34-38	20-24
- v mokrem	28-35	10-15	18-22	26-30
Pretržni raztezek [%]				
- v suhem	6-12	20-25	14-16	7-9
- v mokrem	8-14	25-30	15-18	12-14

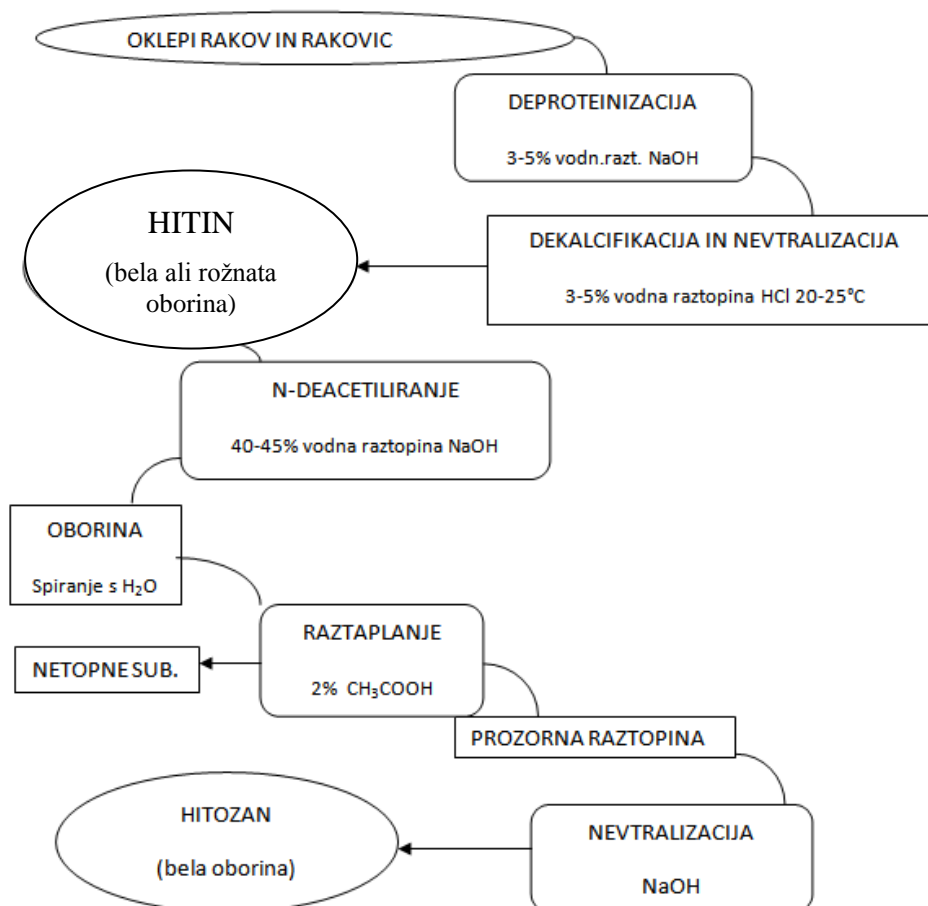
2.2 Hitozan

Pridobivanje hitozana

Hitozan je naravni polimerni proizvod pridobljen iz hitina, celulozi podobnega ogljikovega hidrata, ki je, med drugim, sestavni del eksoskeleta lupinarjev (raki, školjke itd.). Količina po vsem svetu vzgojenih školjk zadostuje za pripravo 50.000 ton hitina letno. Hitin je polisaharid, sestavljen iz 2-acetamino-2-deoksi- β -D-glukozičnih enot, povezanih z β -1,4 vezjo. Ima podobno strukturo kot celuloza, le da je hidroksilna skupina na drugem glukozičnem ogljikovem atomu zamenjana z acetilamin [7].

Leta 1859 je profesor C. Rouget med postopkom kuhanja hitina v alkalnem mediju odkril hitozan. Ugotovil je, da je makromolekula hitozana po kuhanju sestavljena iz glukozaminskih enot s prostimi aminskimi skupinami, ki imajo v kislem mediju sposobnost protoniranja, kar daje hitozanu veliko zanimivih lastnosti [7, 11,].

Hitin se pridobiva iz eksoskeleta rakov po sledečem postopku (slika 2.3):



Slika 2.3 Postopek pridobivanja hitozana

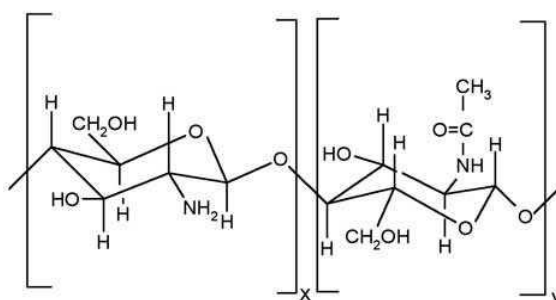
Vse naštete stopnje predelave morajo biti strogo nadzorovane, saj je od tega odvisna stopnja deacetiliranja, kakor tudi razporeditev molekulske mase ter razporeditev deacetiliranih skupin vzdolž polisaharidne verige. Danes se za deacetiliranje hitina uporabljajo različne kombinacije koncentracij raztopin natrijevega ali kalijevega hidroksida (30 do 60 %), temperature (80 do 140 °C) in časa (do 10 ur) [7].

Poleg zgoraj omenjene metode se lahko hitozan pridobiva tudi iz nekaterih vrst gliv, ker pri pridelavi odpade proces demineralizacije, saj glive ne vsebujejo mineralnih delcev, kot npr. školjke ali oklepi rakov.

Fizikalne in kemijske lastnosti hitozana

Hitozan raztapljajo skoraj vse vodne raztopine kislin. Etanojska in metanojska kislina sta dve najbolj uporabljeni kislini za raztapljanje hitozana. Primerne so tudi nekatere razredčene anorganske kisline, kot so dušikova, klorovodikova, perklorova in fosforna kislina, vendar le v primeru dovajanja energije v obliki daljšega mešanja in segrevanja. Podobno kot celuloza, tudi hitozan nima tališča, saj se pri segrevanju razgradi še pred točko tališča. Molekulska masa naravnega hitina je navadno višja od enega milijona, medtem ko imajo proizvodi iz komercialnega hitozana molekulska masa med 100 000 in 1 200 000 [7].

Hitozan je kopolimer $\beta(1-4)$ povezanih enot glukozamina in N-acetilglukozamina. Njegova strukturna formula je prikazana na sliki 2.4:



Slika 2.4 Kemična zgradba hitozana in hitina

Hitin je sestavljen v glavnem iz monomerov oblike »m« (N-acetil oblika), medtem ko je hitozan, v odvisnosti od stopnje deacetiliranja, sestavljen iz monomerov oblike »n« (aminska oblika)

Hitozan se razlikuje od hitina po stopnji deacetiliranja, kar predstavlja razmerje med monomeroma oblike »m« in »n« in je definirana z enačbo (2.1). Ime hitozan se navadno uporablja za produkte, kjer je stopnja deacetiliranja višja od 70 % [3, 53].

Izračun stopnje deacetiliranja hitozana poteka po sledeči enačbi(enačba (2.1)):

$$DD = \frac{n_n}{n_n + n_m} \cdot 100 \quad (2.1)$$

kjer je:

DD – stopnja deacetiliranja hitozana [%]

n_n – povprečno število monomerov aminske oblike v makromolekuli hitozana in

n_m – povprečno število monomerov N-acetilne oblike v makromolekuli hitozana.

Protimikrobni značaj hitozana

Protimikrobno delovanje hitozana pripisujejo predvsem amskim skupinam, ki v razredčenih kislinah tvorijo amonijeve soli in imajo sposobnost inhibicije rasti Gram - pozitivnih in Gram - negativnih bakterij [7].

V splošnem se pojavljata dva mehanizma protimikrobnega delovanja hitozana in pri tem oba poudarjata pomembnost števila aktivnih amskih skupin. Prvi temelji na interakciji polikationskega značaja hitozana z negativnim značajem površine bakterijskih celic, pri čemer je oviran potek normalnega metabolizma bakterije, ki vodi do uničenja celične stene in posledično do izumrtja bakterije. Drugi mehanizem je vdor hitozana v celice mikroorganizmov, kjer se veže z DNK bakterije in onemogoči sintezo mRNK (informacijske ribonukleinske kisline) [7].

Pri Gram pozitivnih bakterijah je celična stena trda in debela. Peptidoglikan je le v steni bakterij in je iz dveh gradnikov (N-acetilglukozamin + N-acetil muramilska kislina, iz katere izhajajo kratke polipeptidne verige). Med 40 pentaglikanovimi plastmi obstajajo pentaglicinski mostički, ki dajejo trdnost celični steni. To trdnost pa še dodatno utrjuje teihoična kislina. Gram negativne bakterije imajo samo 2-3 plasti pentaglikana. Navzven ji sledi še ena peptidna membrana, med njima pa so vezani proteini.

Iz zgornje lipidne membrane izhajajo dolge verige lipopolisaharidov, ki so antigeni in delujejo kot endotoksini (dokler je celica živa so antigeni, ko pa umre so toksini). Tipični predstavnik Gram pozitivnih bakterij je *Staphylococcus aureus*, ki povzroča vrsto bolezni, od manjših okužb kože, kot so ogrci, mozolji, celulitis, do življenjsko nevarnih bolezni, kot so pljučnica, meningitis, endokarditis in sepsa. Tipičen predstavnik Gram negativnih bakterij je *Escherichia coli*, ki predstavlja velik del tako imenovane normalne črevesne flore, a nekateri sevi (skupina organizmov) *E. coli* lahko povzročajo črevesne in zunajčrevesne okužbe, ter vnetje sečil, meningitis, peritonitis, mastitis, septikemija, pljučnica, itd.

Različni literaturni viri navajajo, da je protimikrobna aktivnost hitozana odvisna od njegove molekulske mase, stopnje deacetiliranja, koncentracije, vrste mikroorganizmov. Protimikrobno delovanje hitozana je močno odvisno tudi od uporabljenih kislin za pripravo raztopin (raztopine namreč vplivajo na topnost hitozana) – z višanjem koncentracije hitozana se poveča tudi njegovo protimikrobno delovanje.

Uporaba hitozana

Hitozan je v preteklih 30-ih letih doživel nesluten razvoj in se uspešno uveljavil na najrazličnejših področjih, kot so medicina, farmacija, živilska industrija, tekstilstvo, itd. Zaradi njegove biokompatibilnosti in biorazgradljivosti se trend uporabe v industriji, kot tudi v domačem okolju, veča. Zaradi naravnega izvora in dostopnosti ter kemijske strukture, ugodne za nadaljnje modifikacije, je to biopolimer, ki nedvomno še veliko obeta.

Hitozan se uporablja na področju [7, 8, 9]:

- medicine (hitozanske membrane kot umetne membrane ledvic, ustavljanje krvavitev ob težkih pogojih nestrjevanja krvi, oskrba rane, tkivni inženiring),
- farmacije (dostavni sistemi, hitozanski nano in mikrodelci za cepiva, pripravki za znižanje holesterola in zmanjšanje telesne teže),
- kmetijstva in prehrane (material za embaliranje, zaščita rastlin in pridelkov pred virusi in bakterijami, stimulacija rasti, konzerviranje),
- čiščenja odpadnih vod in za pripravo pitne vode (koagulacijsko sredstvo in flokulant, absorpcija maščob, olja, težkih kovin in drugih toksičnih spojin) in
- kozmetične industrije (nega las in kože, ustna higiena).

Tekstilstvo

Hitozan je primeren za številne tekstilne aplikacije, ker ima lastnosti kot so biorazgradljivost, netoksičnost, kationska narava in protimikrobiološka aktivnost. Uporabo razdelimo na dve veliki skupini [7, 8, 9]:

- izdelava hitinskih in hitozanskih vlaken,
- obdelava vlaknatih materialov, s klasičimi ali alternativnimi plemenitilnih postopkih.

Hitozan se uporablja pri protimikrobnih apreturah (npr. kirurška ogrinala), pri barvanju nezrelih bombažnih vlaken (omogoča enako globino obarvanja kot zrela vlakna), kot sredstvo proti mečkanju bombažnih tkanin, kot sredstvo za doseganje deodorantskih učinkov, kot sredstvo za prekrivanje nopkov in nepravilnost na tkaninah, ter pleteninah, kot sredstvo za obdelavo volnenih tkanin za nižjo polstivost oz. boljšo obarvanost, kot gostilo pri pigmentnem tisk.

Hitinska in hitozanska vlakna se uporabljajo za izdelavo obližev, povojev, gaz in kot nosilci zdravil (votla vlakna). Hitozan igra zelo pomembno vlogo pri izdelkih za celjenje ran, saj s pozitivnim površinskim nabojem ugodno vplivajo na hitrejšo celjenje ran. Hitozanska vlakna se uporabljajo tudi na področju tkivnega inženiringa, kot cevasto ogrodja za vzgojo tkiv. V skladu z razvojem medicinskih tekstilijah raste uporaba hitozana.

2.3 Metode določanja aaminskih skupin

Pri uporabi hitozana, za funkcionalizacijo vlaken, je bistvenega pomena določitev števila dostopnih prostih aaminskih skupin, saj so le-te odgovorne za protimikrobni značaj površine vlaken [12].

Metode, ki se najpogosteje uporabljajo za karakterizacijo, so: infra rdeča (IR) in ultravijolična (UV) spektroskopija, nuklearna magnetna resonanca (NMR), cirkularni dikroizem (CD), potenciometrične, konduktometrične in polielektrolitske titracije [9]. Potenciometrična titracija je ena od uporabnejših metod za določevanje aaminskih skupin, zlasti v tekočem mediju [9]. Čakara in sodelavci (2009) so s potenciometrično titracijo ugotavljali protonacijske lastnosti bombaža, na katera so ireverzibilno adsorbirali hitozan. Podali so vsebnost in jakost aaminskih skupin v raztopini hitozana, kot tudi hitozana adsorbiranega na površini vlaken. Za karakterizacijo aaminskih skupin vlaken obdelanih s hitozanom je prav tako moč zaslediti uporabo metode C.I. Acid Orange 7. Obe omenjeni metodi sta opisani v podpoglavjih, ki sledijo, saj sta bili uporabljeni v raziskavah funkcionaliziranih celuloznih vlaken. Za določevanje načina vezave hitozana na površino vlaken oz. študijo desorpcije je primerna polielektrolitska titracija.

2.3.1 Potenciometrična titracija (pH)

V nalogi smo se osredotočili na kislinsko-bazne nevtralizacijske titracije v vodnih medijih, kjer titriramo vodno raztopino kisline z bazo ali obratno. Pri teh titracijah uporabljamo stekleno elektrodo, ki je idealen potenciometrični senzor za spremljanje spremembe koncentracije oksonijevih ionov med titracijo, kar lahko zasledujemo s spremembo pH vrednosti.

Potenciometrična titracijska krivulja ponazarja odvisnost merjene veličine (pH oziroma potenciala) v odvisnosti od dodanega volumna reagenta (titranta). V bližini ekvivalentne točke je sprememba potenciala indikatorske elektrode največja in naklon krivulje je najintenzivnejši. Natančnost analize je premo-sorazmerna s strmino krivulje. Oblika titracijske krivulje je odvisna od narave in koncentracije titranta, ter jakosti titrirane kisline oziroma baze.

Čim manjša je koncentracija kisline/baze in čim manjša je konstanta disociacije, tem manjši je preskok v bližini ekvivalentne točke. Pri titraciji v vodnih medijih zaznamo skok potenciala v ekvivalentni točki le v primeru, ko je titrirana kislina močnejša kislina/baza kot topilo (voda).

Eksperimentalnem del naloge temelji na sistemu titriranja zmesi šibke (protonirane aminske skupine) in močne kisline z močno bazo. Izhajali smo iz Broussignacove metode iz leta 1968, kjer smo za določevanje množine aaminskih skupin v raztopini hitozana s potenciometrično titracijo analitski raztopini hitozana, dodali znan volumen močne kisline (HCl).

Glede na to smo analit titrirali z močno bazo (KOH).

Aminske skupine v začetni kisli raztopini reagirajo kot akceptor protonov, pri čemer se nabijejo pozitivno [46, 61]:

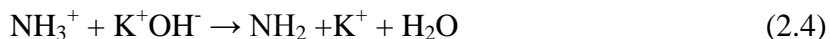


Protoniranje aaminskih skupin je ključnega pomena, saj pri nevtralizaciji sproščen vodikov atom vpliva na spremembo potenciala raztopine, ki jo titriramo. Tako lahko posredno ovrednotimo množino aaminskih skupin v raztopini.

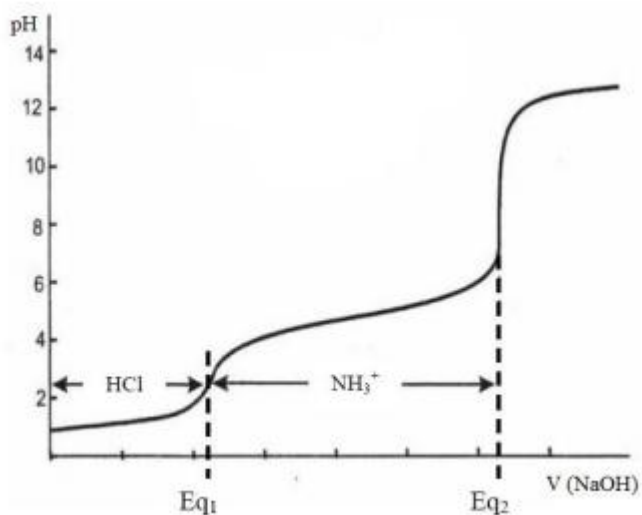
Titracija se prične z dodajanjem močne baze (KOH) v raztopino analita, kjer najprej nevtralizirajo vodikovi ioni HCl (enačba 2.3). V točki, ko je nevtralizirana celotna HCl, dosežemo prvo ekvivalentno točko (Eq₁).



V nadaljevanju nevtralizirajo protonirane amino skupine hitozana skladno z reakcijo:



Med reakcijo se aminske skupine obnašajo kot donorji protona oz. šibke kisline. Ko zreagirajo vse aminske skupine, dosežemo drugo ekvivalentno točko (Eq₂).



Slika 2.5 Titracijska krivulja

Slika 2.5 prikazuje potenciometrično titracijo, ki ponazarja odvisnost merjene veličine (pH) v odvisnosti od dodanega volumna titranta. Na sliki sta razvidna dva prevoja, tipična za titracijo zmesi šibke in močne kisline z močno bazo. Razlika med ekvivalentnima točkama močne in šibke kisline predstavlja volumen porabljenega titranta, potrebnega za nevtralizacijo aaminskih skupin.

2.3.2 Spektrofotometrična metoda C.I. Acid Orange 7

Spektrofotometrična C.I. Acid Orange 7 je metoda za določanje aaminskih skupin na vlaknih. Metoda temelji na absorpciji barvila, C.I. Acid Orange 7. Sulfonske skupine barvila (SO_3^-) v kislem mediju tvorijo s pozitivno nabitimi aaminskimi skupinami hitozana (NH_3^+) ionske vezi v razmerju 1 : 1 [8, 9, 12]. Zmanjšanje koncentracije barvila v kopeli, kot posledica vezave barvila s hitozanom, se določi spektrofotometrično z uporabo Lambert-Beer-ovega zakona. Množina barvila, ki se je vezal na aaminske skupine hitozana izračunamo po naslednji enačbi (2.5):

$$n_a = n_b = (A_0 - A_K) \times V / k \times l \quad (2.5)$$

kjer je:

n_a - množina aaminskih skupin hitozana vezanega na vlakno [mol]

n_b - množina barvila vezanega na aaminske skupine hitozana [mol]

A_0 - začetna absorbanca barvalne kopeli

A_1 - končna absorbanca barvalne kopeli

k - korekcijski faktor [L/molcm]

l - dolžina optičnega polja [cm]

V - volumen barvalne kopeli [L]

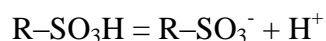
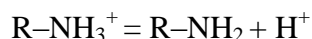
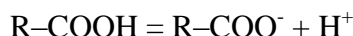
2.3.3 Polielektrolitska titracija

Polielektrolitska titracija je enostavna metoda za določanje naboja polielektrolitov, predvsem proteinov in ostalih biopolimerov.

Polimeri se v vodni raztopini elektrolitov električno nabijejo. Površinski naboj je posledica disociacije funkcionalnih skupin polimera in specifične adsorpcije prisotnih ionov, ter zavisi od ionske moči vodne raztopine, kakor tudi vrste elektrolita in pH medija.

Kemijske in fizikalne lastnosti raztopine polimera so odvisne od njegovega naboja. Ionizacija funkcionalnih skupin, kot so karboksilne ($R-COOH$), aminske ($R-NH_2$) in sulfonske skupine ($R-SO_3H$), vodi do naboja polimerov.

Potečejo sledeče reakcije disociacije:



Aminske skupine v vodnem mediju delujejo kot akceptor protonov, pri čemer se pri nizkih vrednostih pH nabijejo pozitivno v NH_3^+ , kar daje večini biopolimerov protimikrobni značaj. To je še posebej pomembno pri medicinskih in farmacevtskih aplikacijah, saj protonirane aminske skupine ovirajo potek normalnega metabolizma mikroorganizmov, to pa vodi do degradacije celične stene Gram – pozitivnih ter Gram – negativnih bakterij.

Količino anionskih in kationskih skupin polimerov lahko določimo z mnogimi metodami, kot so potenciometrična in konduktometrična titracija, spektrofotometrija in nenazadnje polielektrolitska titracija. Prednost polielektrolitske titracije je v tem, da omogoča titracijo polielektrolitov v obliki njihovih soli (npr. Na oblika soli je komercialno najbolj uporabna). Nadalje je izredno hitra tehnika z zadovoljivo stopnjo ponovljivosti.

Polielektrolitske titracije, s prvotnim imenom koloidne titracije, temeljijo na stehiometrični reakciji med nasprotno nabitimi koloidnimi delci. Uporabimo lahko različne načine indikacije ekvivalentne točke (meritve fluorescence, absorbance, prevodnosti, potenciala, toka, itd.). Pri konvencionalnih polielektrolitskih titracijah določimo ekvivalentno, oz. končno točko reakcije vizualno ali spektrofotometrično z določanjem spremembe barve indikatorja. Indikatorji so naravne ali sintetične spojine, katerih barva se spreminja glede na pH območje, v katerem se nahajajo.

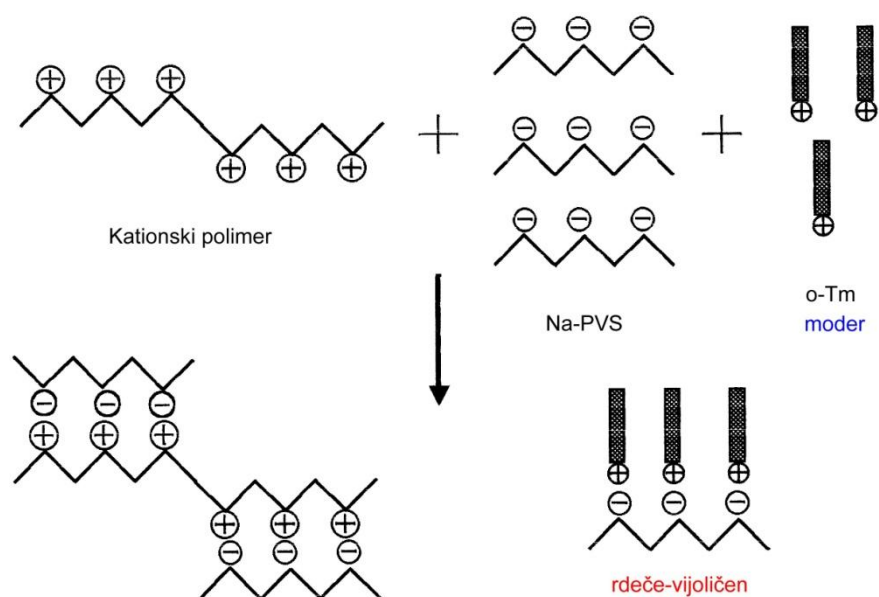
Polielektrolitske titracije se dandanes uporabljajo za karakterizacijo polielektrolitov v procesu odpadnih voda ter na biomedicinskem in biotehnološkem področju za karakterizacijo biopolimerov kationskega ali anionskega značaja. Prav tako se lahko uporabljajo za določanje površinskega in celokupnega naboja vlaken, ugotavljanje kakovosti vlaken ter nenazadnje za zasledovanje kislinsko – baznih interakcij med trdnimi nosilci in tekočimi adsorbati.

Do sedaj je na tovrstnem področju raziskav najbolj uporabljen kationski polielektrolit PDADMAC (angl. "poly-diallyldimethylammonium chloride"). Kot anionski polielektrolit prednjači PVS (angl. "polyvinyl sulphate"), medtem ko je najpogosteje uporabljen pozitivno nabit indikator toluidine blue oziroma negativno nabit indikator eriokrom črno T (ang. eriochrom black T).

Princip polielektrolitskih titracij, ki smo jih izvedli v okviru diplomske naloge, je sledeč:

Titracija pozitivno nabitega polielektrolita (hitozana) v prisotnosti pozitivno nabitega indikatorja (toluidine blue) poteče ob dodatku negativno nabitega polielektrolita (titrant PES-Na). Le-ta se veže na prosta protonirana kationska mesta hitozana (polielektrolitski kompleks). V stehiometrični točki je hitozan nevtraln nabit. Presežek titranta (negativni polielektrolit) se začne vezati z molekulami indikatorja v drugače obarvan kompleks (preskok barve iz modre v vijoličasto).

Preskok barve identificira končno točko reakcije, ki jo zaznamo z merjenjem sprememb absorbance. Krivulja $A = f(V_{\text{DODANEGA TITRANTA}})$ predstavlja karakteristični potek krivulje za polielektrolitsko titracijo analiziranih VZORCEV (glej eksperimentalni del). Končna oz. ekvivalentno točka reakcije je grafično določena iz titracijske krivulje. Na podlagi določenega ekvivalentnega volumna ter izbrane koncentracije titranta lahko določimo vsebnost posameznih kationskih ali anionskih skupin vzorca.

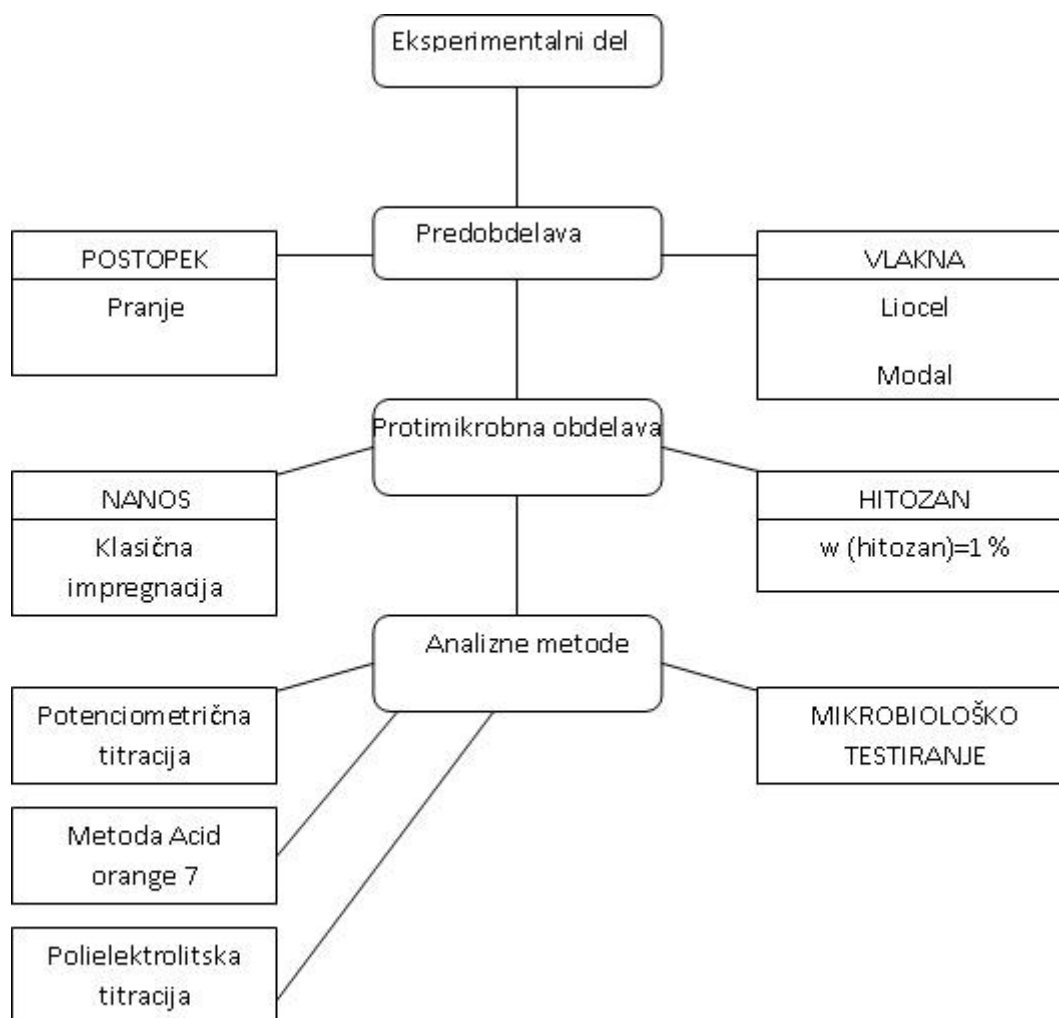


Slika 2.6 Shema polielektrolitske titracije kationskega polimera z anionskim polielektrolitskim titrantom ob prisotnosti kationskega indikatorja.

3 EKSPERIMENTALNI DEL

Eksperimentalni del diplomske naloge je obsegal:

- Predobdelavo viskoze, modala in liocela (pranje in demineralizacija).
- Funkcionalizacijo vlaken s hitozanom (1.0%) s klasično impregnacijo.
- Uporabo potenciometrične, polielektrolitske titracije in spektrofotometrične metode C.I. Acid Orange 7 za določitev aaminskih skupin.
- Mikrobiološko testiranje vlaken
- Shema eksperimentalnega dela je na sliki 3.1.



Slika 3.1 Shema eksperimentalnega dela.

3.1 Uporabljeni material

3.1.1 Viskoza

Uporabili smo vlakna Lenzing Viscose®, proizvajalca Lenzing AG Avstrija. Vlakna so bombažnega tipa, njihova dolžina je 39 mm, finost pa 1,3 dtex.

3.1.2 Modal

Uporabili smo vlakna Lenzing Modal®, proizvajalca Lenzing AG Avstrija. Vlakna so bombažno – polinoznega tipa, njihova dolžina je 39 mm, finost pa 1,3 dtex.

3.1.3 Liocel

Uporabili smo vlakna Lenzing Lyocell®, proizvajalca Lenzing AG Avstrija. Vlakna so bombažnega tipa, njihova dolžina je 38 mm, finost pa 1,3 dtex.

3.1.4 Hitozan

Za protimikrobno impregnacijo smo uporabili nizkomolekularni hitozan, proizvajalca Aldrich.

3.1.5 Kemikalije in tekstilna pomožna sredstva

Predobdelava vlaken

Sandoclean PC – neigeno pralno in omakalno sredstvo

HCl – klorovodikova kislina

Protimikrobna impregnacija

HCl – klorovodikova kislina

Hitozan – nizkomolekularni hitozan

Potenciometrična titracija

KCl – kalijev klorid

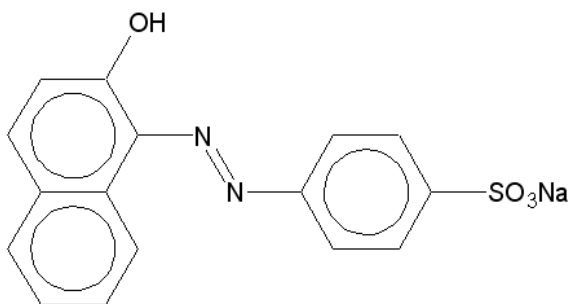
KOH – kalijev hidroksid

HCl – klorovodikova kislina

Metoda C.I. Acid Orange 7

HCl – klorovodikova kislina

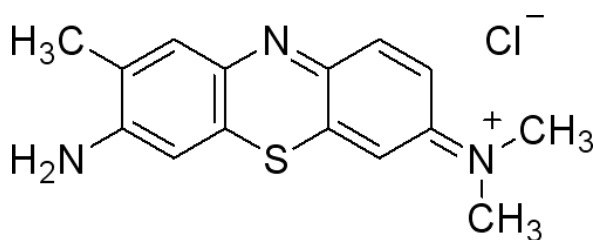
C.I. Acid Orange 7 – anionsko barvilo (slika 3.2)

*Slika 3.2 Kemična struktura barvila C.I. Acid Orange 7***Polielektrolitske titracije**

HCl – klorovodikova kislina

PES-Na – natrijev polietilen sulfanat

Blue Toluidine O – barvilo, indikator (slika 3.3)

*Slika 3.3 Kemična struktura barvila Blue Toluidine O*

3.2 Predobdelava in funkcionalizacija vlaken

3.2.1 Predobdelava viskoze, modala in liocela

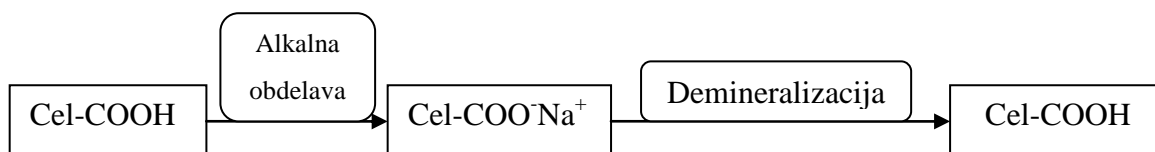
Pranje

Pranje je potekalo v Ahibi 1000 Turbomat 30 minut pri temperaturi 40°C.

- KR = 1:30
- 1 g/L Sandoclean PC

Demineralizacija

Vlakna smo obdelovali v vodni raztopini klorovodikove kisline 2 uri. S tem postopkom smo odstranili katione (Ca^+ , Na^+), slika 3.4:



Slika 3.4 Proces demineralizacije

- KR = 1: 50
- $c_{\text{HCl}} = 0,01 \text{ mol/L}$
- obdelava traja 2 uri na sobni temperaturi

3.2.2 Funkcionalizacija vlaken s hitozanom

Raztapljanje hitozana

Pripravili smo w/w = 1,0% raztopino hitozana. Znano količino hitozana v prahu smo zatestili z destilirano vodo. Raztapljanje v vodi smo dosegli z dodajanjem koncentrirane klorovodikove kisline (HCl), pri čemer smo raztopino 1 uro vzdrževali na temperaturi 40°C in pH uravnali na 3,6. Raztopino smo nato pri sobni temperaturi mešali v čaši na magnetnih mešalnih 24 ur.

Impregnacija hitozana na vlakna

Vlakna smo 10 minut obdelovali v pripravljene raztopini hitozana. Impregnacijo smo izvedli na fulardu (Werner Mathis AG, Švica) pri tlaku $p = 3$ bar in hitrosti vrtenja valjev 2 m/min. Pri teh pogojih smo dosegli ožemalni učinek (OU = 80 %).

Vlakna smo nato sušili ($T = 40^{\circ}\text{C}$, 30 min) na razpenjalnem sušilniku (Werner Mathis AG, Švica), jih zatem spirali z destilirano vodo do konstantne prevodnosti ($\sigma < 1 \mu\text{S}/\text{cm}$), ter jih na koncu posušili na zraku.

3.3 Analizne metode

3.3.1 Potenciometrična metoda

Uporabili smo kislinsko-bazno potenciometrično titracijo v vodnem mediju. Titracijo vlaken impregniranih s hitozanom smo izvedli na avtomatskem titratorju MT T70 (Mettler Toledo, Švica).

V stekleno čašo smo odpipetirali 200 mL vodne raztopine kalijevega klorida ($c_{\text{KCl}}=0,1\text{mol/L}$). V kovinsko mrežico smo vstavili 1 g obdelanih vlaken in mrežico potopili v raztopino. Nato smo raztopini dodali še 5 mL koncentrirane klorovodikove kisline (HCl), ter raztopino mešali na magnetnem mešalu 30 minut. Raztopino smo titrirali s kalijevim hidroksidom ($c_{\text{KOH}}=0,1\text{mol/L}$) iz 10 mL birete titratorja, ter s pH-potenciometrično elektrodo merili potencial v odvisnosti od dodanega volumna titranata. Tekom titracije smo raztopino analita prepihovali z dušikom, da smo dosegli inertno atmosfero.

Podatke je beležil računalniški program LabX Pro 2.6 (Mettler Toledo, Švica). Iz titracijskih podatkov smo nato s pomočjo Microsoft Excel in Origin 7.0 (Origin Lab, ZDA) izračunali množino aaminskih skupin po naslednji enačbi (3.1):

$$A_i = ((V_{\text{Eq}2} - V_{\text{Eq}1}) \times c_{\text{KOH}}) / m_v \quad (3.1)$$

kjer je:

A_i – množina aaminskih skupin vezanih na vlakna [mmol/kg]

$V_{\text{Eq}2}$ – volumen porabljenega titranta v 2 ekvivalentni točki [mL]

$V_{\text{Eq}1}$ – volumen porabljenega titranta v 1 ekvivalentni točki [mL]

c_{KOH} – koncentracija titranta, kalijev hidroksid [mmol/mL]

m_v – masa vlaken [kg]

3.3.2 Spektrofotometrična metoda C.I. Acid Orange 7

Vodi uravnani na pH = 3,6 (s koncentrirano očetno kislino) smo dodali 2 mL barvila C.I. Acid Orange 7 ($c = 0,005 \text{ mol/L}$). Barvalni kopeli smo izmerili začetno absorbanco (A_0) pri valovni dolžini 484 nm, ki ustreza maksimumu absorpcije barvila. V barvalno kopel smo nato potopili 0,25 g vlaken in jih s konstantno hitrostjo mešali s pomočjo magnetnih mešal. Po treh urah, ko je bilo vzpostavljeno ravnotežje med koncentracijo barvila v kopeli in na vlaknih, smo izmerili končno absorbanco (A_K). Absorbance smo merili s spektrofotometrom Cary 50 (Varian, ZDA). Na osnovi meritev absorbance A_0 in A_K smo izračunali koncentracijo barvila na vlaknu. Ker se barvilo veže na aminske skupine na vlakno v stehiometričnem razmerju 1:1. Velja, da je množina vezanega barvila enaka množina aaminskih skupin vlaken. Množino smo izračunali po naslednji enačbi (3.2):

$$A_i = ((A_0 - A_K) \times V) / (k \times l \times m_{vl}) \times 10^{-6} \quad (3.2)$$

kjer je:

A_i – množina aaminskih skupin vezanih na vlakna [mmol/kg]

A_0 – začetna absorbanca kopeli

A_K – končna absorbanca kopeli

V – volumen kopeli [L]

k – korekcijski faktor [L/molcm]

l – dolžina optičnega polja [cm]

m_{vl} – masa absolutno suhih vzorcev [g]

3.3.3 Polielektrolitska titracija

Najprej smo 1 g vlaken obdelovali 4 ure z vodno raztopino klorovodikove kisline ($V = 50$ mL, pH 4) na magnetnem mešalu. Raztopino smo nato prefiltrirali, vlakna smo zavrgli. Suspenzija analita pri polielektrolitskih titracijah je vsebovala 19 mL destilirane vode, 1 mL barvila/indikatorja Toluidine Blue O (Sigma Aldrich) in 20 mL prefiltrirane kopeli.

Titracijo smo izvedli na MT T70 (Mettler Toledo, Švica). Analit (kopel) smo titrirali z PES–Na. Pri nevtralizaciji vseh aaminskih skupin se je barva indikatorja spremenila iz prvotne modre na roza – vijolično barvo. Nato smo obdelali titracijske podatke iz krivulje $E=f(V_{\text{DODANEGA TITRANTA}})$, ter izračunali množino aaminskih skupin v kopeli hitozana desorbiranega iz vlaken.

3.4 Mikrobiološko testiranje

Mikrobiološko testiranje funkcionaliziranih vlaken smo izvedli v Centru za mikrobiologijo Zavod za zdravstveno varstvo (ZZV) v Mariboru. Uporabili so *dinamično stresalni test* (ASTM E 2149 - 01). Protimikrobno delovanje so testirali na treh tipih patogenih bakterij: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* in na dveh patogenih glivah: *Candida albicans*, ter *Candida glabrata*.

Izvedba dinamično stresalnega testa vključuje [9]:

- pripravo bakteriološkega gojišča
- pripravo puferne raztopine in cepitev bakterij (pH = 6,8)
- stresanje
- inkubacija
- vrednotenje protimikrobne učinkovitosti

Učinkovitost protimikrobne apreture se določi z izračunom bakterijske redukcije R po naslednji enačbi (3.3):

$$R=(A-B)/A\times 100 [\%] \quad (3.3)$$

kjer je:

R – bakterijska redukcija [%]

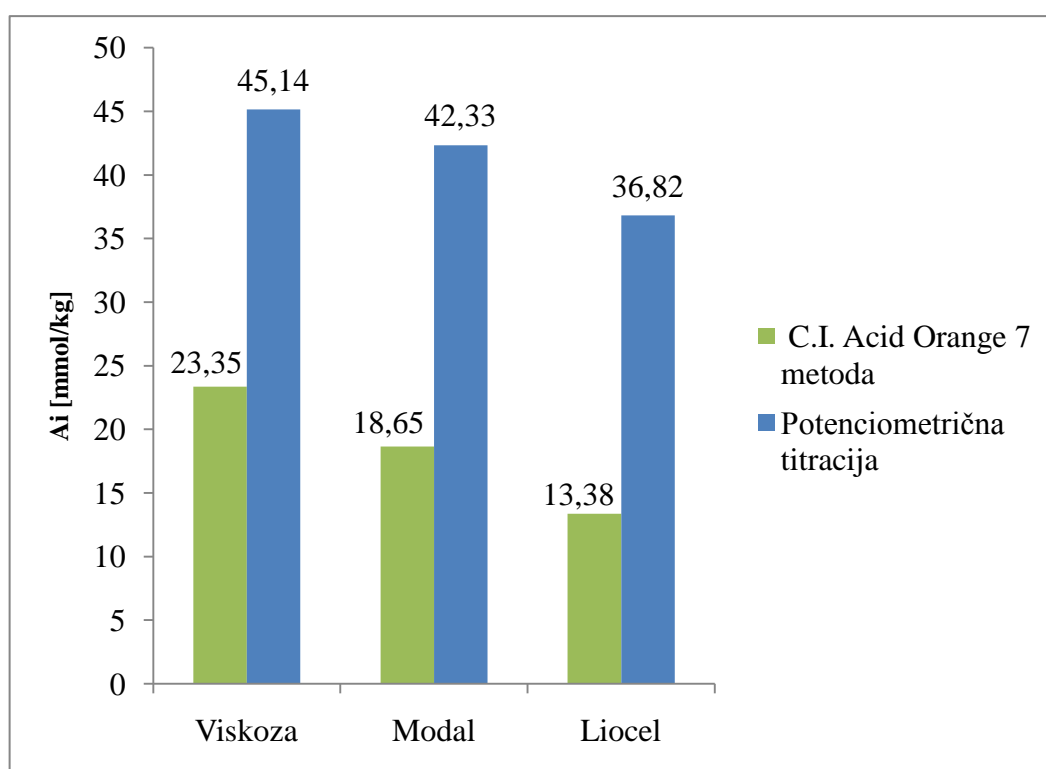
A – število bakterijskih kolonij (CFU) po 1 min stresanju (času »0«) in

B – število bakterijskih kolonij (CFU) po 1 urnem stresanju

4 REZULTATI IN DISKUSIJA

4.1 Množina aaminskih skupin na površini vlaken kot posledica vezave hitozana

4.1.1 Potenciometrična metoda

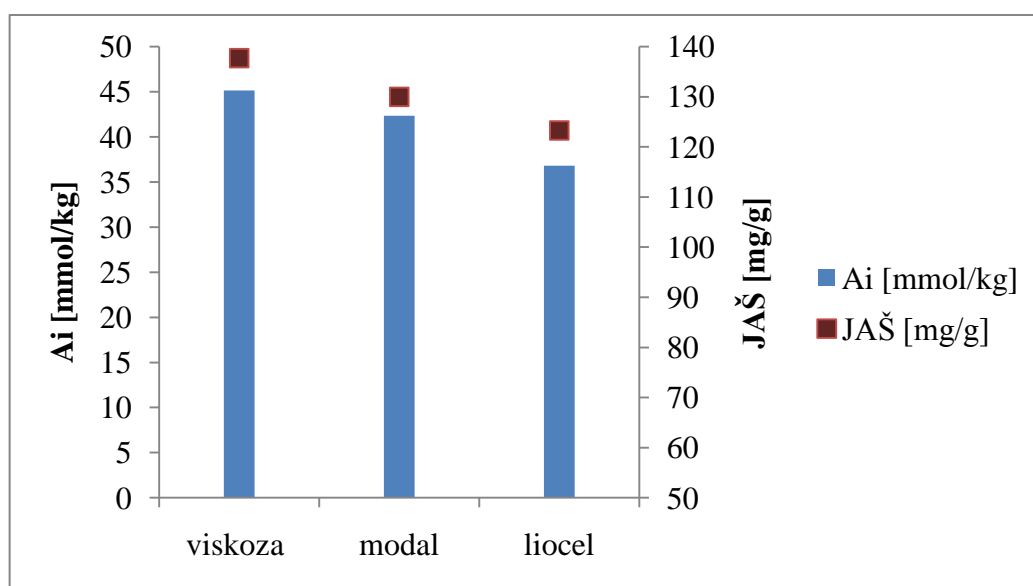


Slika 4.1 Množina aaminskih skupin na regeneriranih vlaknih določenih s potenciometrično metodo, ter metodo C.I. Acid Orange 7 (povprečje dveh meritev)

Na sliki 4.1 je podana množina aaminskih skupin regeneriranih celuloznih vlaken določenih s potenciometrično titracijo, v primerjavi s C.I. Acid Orange 7. Podani rezultati titracij so povprečje dveh meritev. Iz slike 4.1 je razvidno, da ima najvišjo vsebnost aaminskih skupin viskoza, sledi modal in nato liocel. Razlike vsebnosti skupin med omenjenimi vlakni so majhne in sicer v območju \pm 20%. Doprinos pozitivnega naboja na površino vlaken je posledica adsorpcije hitozana na/v vlakna, ter nadalje dostopnosti njegovih aaminskih skupin.

Tako je moč sklepati, da ima hitozan najvišjo afiniteto vezave do viskoze in najnižjo do liocela. Razloge je moč iskati v fizikalno-kemijskih parametrih, predvsem pa v strukturnih lastnostih samih vlaken.

Kot je že znano ima viskoza v primerjavi z ostalimi regeneriranimi celuloznimi vlakni, največjo vsebnost amorfnega področja, sledi modal in nato liocel. Slednje je bilo dokazano z določitvijo jodovega adsorpcijskega števila (JAŠ) omenjenih vlaken in je analizirano, ter je obravnavano v članku Lidije Fras Zemljič s sodelavci [20]. Jodovo adsorpcijsko število je sorazmerno s količino amorfnega dela vlaken. Metoda je uporabna za opredelitev stopnje kristalnosti vlakna in za določanje adsorpcijskih lastnosti vlaken. JAŠ predstavlja količino joda v mg, ki se pri določenih pogojih absorbira na g vlaken [21]. Slika 4.2 predstavlja primerjavo med vsebnostjo aaminskih skupin določenih s potenciometrično titracijo, ter JAŠ za vse tipe regeneriranih celuloznih vlaken uporabljenih v diplomskem delu. Rezultati kažejo, da višji kot je amorfni delež vlaken, tem večja je vezava hitozana na/v površino vlaken.



Slika 4.2 Primerjava med količino aaminskih skupin Ai [mmol/kg] in vrednostjo jodovega adsorpcijskega števila JAŠ [mg/g]

Prav tako je vsebnost dostopnih aaminskih skupin moč povezovati s površino samih vlaken. Viskoza ima zaradi oblike prereza (krpast prerez), v primerjavi z modalom in liocelom (okrogel prerez), mnogokrat večjo skupno površino vlaken, kar omogoča adsorpcijo večje množine hitozana na površino vlaken oz. večjo dostopnost prostih aaminskih skupin hitozana, ki se lahko detektira s titracijo.

Seveda je potrebno omeniti tudi vpliv fizikalno-kemijskih parametrov, kot je recimo vsebnost karboksilnih skupin na referenčnih regeneriranih celuloznih vlaknih.

Predhodne raziskave [20] so pokazale, da ima viskoza najvišjo vsebnost karboksilnih skupin, sledita modal in liocel. Deprotonirane karboksilne kisline so potencialna vezna mesta za aminske skupine hitozana in lahko kot take prispevajo k intenzivnejšim elektrostatskim interakcijam med celulozo in hitozanom. Slednje je možna razlaga za učinkovitejšo funkcionalizacijo vlaken s hitozanom v primeru višje vsebnosti –COOH skupin.

4.1.2 Spektrofotometrična metoda C.I. Acid Orange 7

Z metodo C.I. Acid Orange 7 smo dobili enak trend rezultatov kot pri potenciometričnih titracijah (glej sliko 4.1), in sicer najvišjo vsebnost aminskih skupin na/v viskozi, ter najnižjo pri liocelu. Modal vsebuje 18,65 mmol/kg aminskih skupin, kar je 25,2% manj od vsebnosti aminskih skupin viskoze, ter za 28,3% več od vsebnosti aminskih skupin liocela. Analiza dobljenih vrednosti in vzroki zanj so obravnavani v prejšnjem poglavju (4.1.1).

4.1.3 Koleracija med obema metodama za določitev aminskih skupin

Vrednosti aminskih skupin vzorcev določenih z metodo C.I. Acid Orange 7 so približno enake, oz. manjše polovičnim vrednostim skupin določenih s potenciometrično titracijo. Razlike med obema metodama so pričakovane, saj je metoda C.I. Acid Orange 7 indirektna, medtem ko je potenciometrična titracija direktna metoda za določanje disociacijskih skupin. Prav tako so rezultati v skladu s preteklimi raziskavami na različno kationiziranem bombažu[9], kjer so izmerjene vrednosti aminskih skupin, z uporabo metode C.I. Acid Orange 7, za okoli 50% nižje od vrednosti dobljenih s titracijami. Očitno metoda C.I. Acid Orange 7 ne zagotavlja 100 % stehiometrične reakcije med aminskimi skupinami funkcionaliziranih vlaken ter anioni barvila.

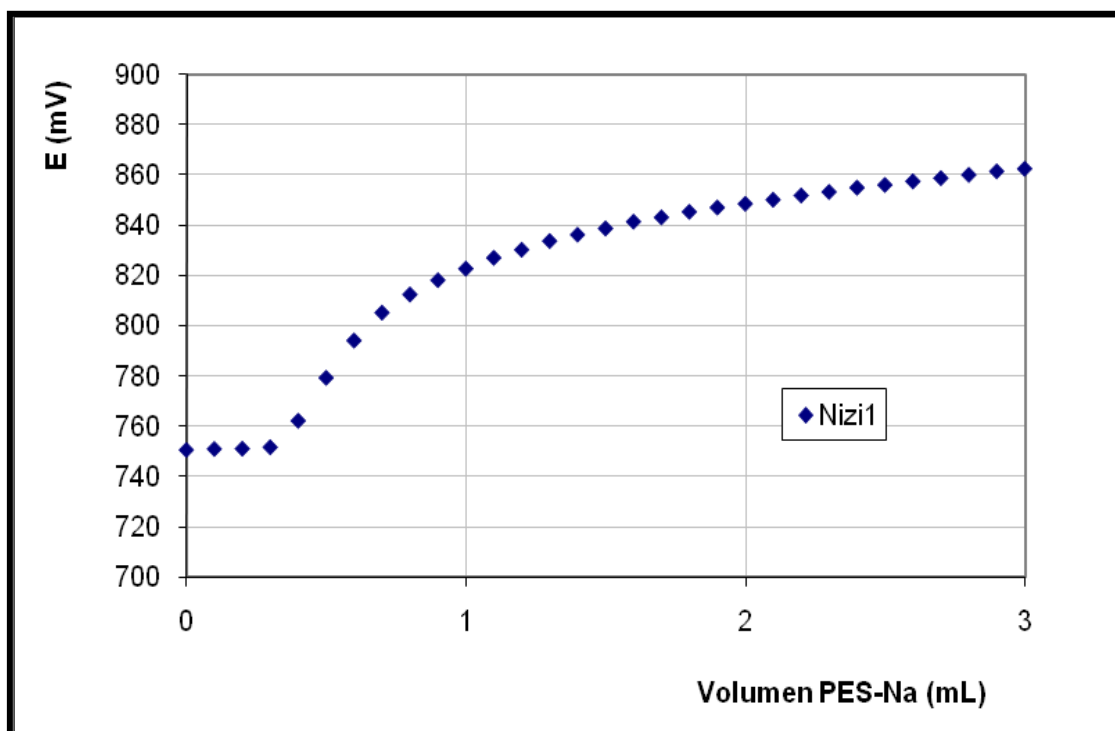
Kljub razliki v naravi obeh tehnik pa je metoda Acid Orange 7 dobrodošla kot kvalitativna podpora tehniki titracijskim metodam.

4.2 Desorpcija hitozana s površine vlaken

Desorpcijo hitozana s površine celuloznih vlaken smo določili indirektno z uporabo polielektrolitske titracije. Analizirali smo kopeli v katerih so bila vlakna predhodno namočena in stresana 4 ure, pri $\text{pH} = 4$.

Filtratu kopeli smo določili vsebnost aaminskih skupin, kot posledico desorbiranega hitozana iz površine vlaken. Za vsak vzorec smo opravili po dve paralelki polielektrolitskih titracij.

Kot smo že omenili v teoretičnem delu, krivulja $E=f(V_{\text{dodanega titranta}})$ predstavlja karakteristični potek polielektrolitske titracije. Pri tem je potencial obratno sorazmeren z absorbanco. Primer polielektrolitske titracije kopeli hitozana je podan na sliki 4.3.



Slika 4.3 Graf polielektrolitske titracije na primerni kopeli hitozana

Zaradi dodatka indikatorja toluidinsko modro razredčeni kopeli, dobimo modro obarvano raztopino. Raztopino titriramo s PES-Na, ki s hitozanom tvori polielektrolitski kompleks. Po stehiometrični točki (nevtralizacija hitozana s PES-Na), presežek titranta reagira z indikatorjem in nastane roza – vijolično obarvan PES-Na – indikator kompleks. Zaradi zmanjšanja koncentracije indikatorja v kopeli se absorbanca znižuje (potencial se zvišuje).

Po nastalem stabilnem kompleksu PES-Na – indikator se zaradi učinka redčenja (dodajanje titranta), raztopina neznatno razbarvan (svetlejša roza), posledično se absorbanca v zaključnem delu titracijske krivulje nekoliko zniža (potencial se zviša).

Na podlagi ekvivalentnega volumna (določenega iz krivulje), ter izbrane koncentracije titranta, lahko določimo vsebnost protoniranih aaminskih skupin kopeli, ter indirektno sklepamo na desorpcijo hitozana iz vlaken v kopel.

Srednje vrednosti vsebnosti protoniranih aaminskih skupin v mmol/kg vlaken so podane v tabeli 4.1.

Tabela 4.1 Vsebnost protoniranih aaminskih skupin v različni kopelih

Kopel (pH = 4)	A_i [mmol/kg]
Viskoza/hitozan	0,56 +/- 0,13
Modal/hitozan	0,58 +/- 0,15
Liocel/hitozan	0,63 +/- 0,21

Rezultati polielektrolitske titracije nazorno kažejo na ireverzibilno vezavo hitozana v/na površino vlaken. Desorpcija hitozana (mmol hitozana iz kg vlaken), iz vseh treh tipov regeneriranih celuloznih vlaken, je približno enaka in znaša okoli 0,6 mmol/kg vlaken. V vseh primerih je tako desorpcija hitozana z vlaken nižja od 2%. Rezultati so pričakovani in v skladu s prejšnjimi objavami na bombažni celulozi [22]. Predpostavljamo, da je ireverzibilna vezava hitozana posledica elektrostatskih interakcij med karboksilnimi (COO^-) skupinami vlaken, ter aaminskimi skupinami hitozana (NH_3^+). Poleg tega je moč pričakovati še dodatne hidrofobne interakcije med obema polimeroma. Oboje skupaj omogoča permanentno vezavo hitozana na regenerirana celulozna vlakna.

4.3 Mikrobiološko testiranje

Z mikrobiološkim testiranjem smo želeli proučiti vpliv vsebnosti aaminskih skupin na protimikrobne lastnosti funkcionaliziranih regeneriranih celuloznih vlaken. Funkcionalizirana vlakna so bila testirana z uporabo dinamično stresalnega testa v skladu s standardom ASTM E 2149–01. Rezultati redukcije (R %) patogenih organizmov z vzorci so podani v preglednici 4.2.

Vsa referenčna (neobdelana) vlakna izkazujejo pozitivno redukcijo na patogene mikroorganizme, najvišjo, ter učinkovito samo v primeru redukcije *Streptococcus agalactia*. Vzrok za to je moč iskati v mrežasti strukturi vlaken. Kakorkoli, za ostale testirane patogene je redukcija manjša od 75% in tako vlakna ne zadostijo pogojem protimikrobne učinkovitosti. Če primerjamo referenčna regenerirana celulozna vlakna in vlakna funkcionalizirana s hitozanom ugotovimo, da adsorpcija hitozana na vlakna doprinese vlaknom protimikrobne lastnosti ($R > 75\%$).

Tabela 4.2 Redukcija patogenih bakterij in gliv protimikrobno funkcionaliziranih vlaken.

NO – neobdelana vlakna, 1% - obdelana vlakna z 1% raztopino hitozana.

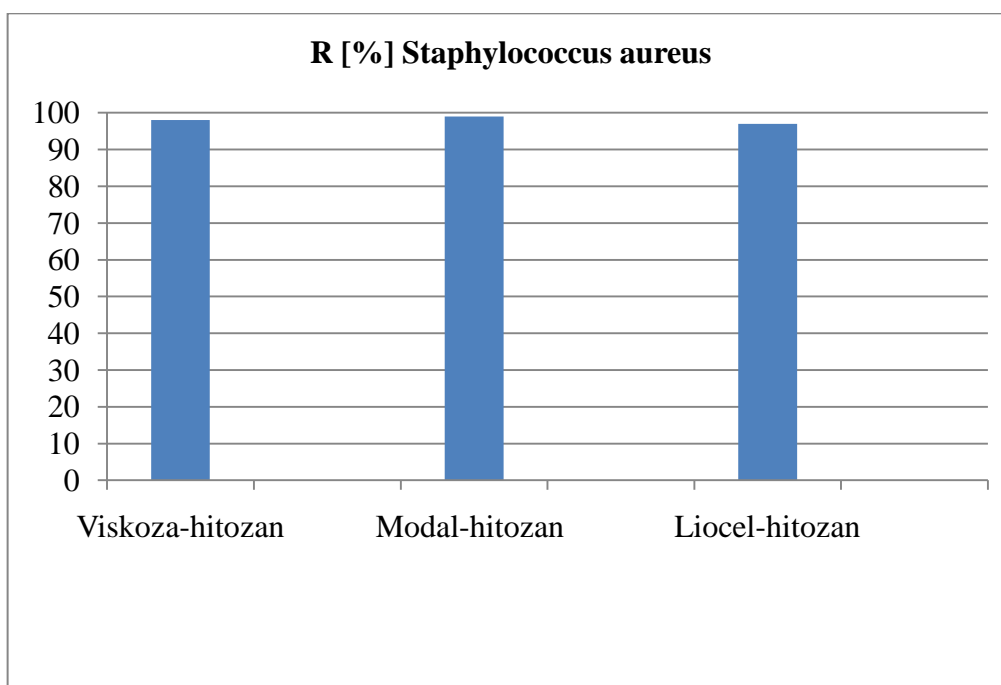
Vzorec	A _i mmol/kg	Redukcija R [%]				
		Patogene bakterije			Patogene glive	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>
Bombaž _{1%}	20,09	84	98	93	73	59
Bombaž _{NO}		66	28	91	57	67
Viskoza _{1%}	45,14	98	92	97	88	100
Viskoza _{NO}		65	55	85	9	45
Modal _{1%}	42,33	NH ₃ ⁺ 99	92	87	48	100
Modal _{NO}		22	21	73	45	71
Liocel _{1%}	36,82	97	90	63	74	90
Liocel _{NO}		57	21	45	36	50

Obdelani vzorci regeneriranih celuloznih vlaken večino patogenih mikroorganizmov inhibirajo, kar pomeni, da je redukcija nad 75%.

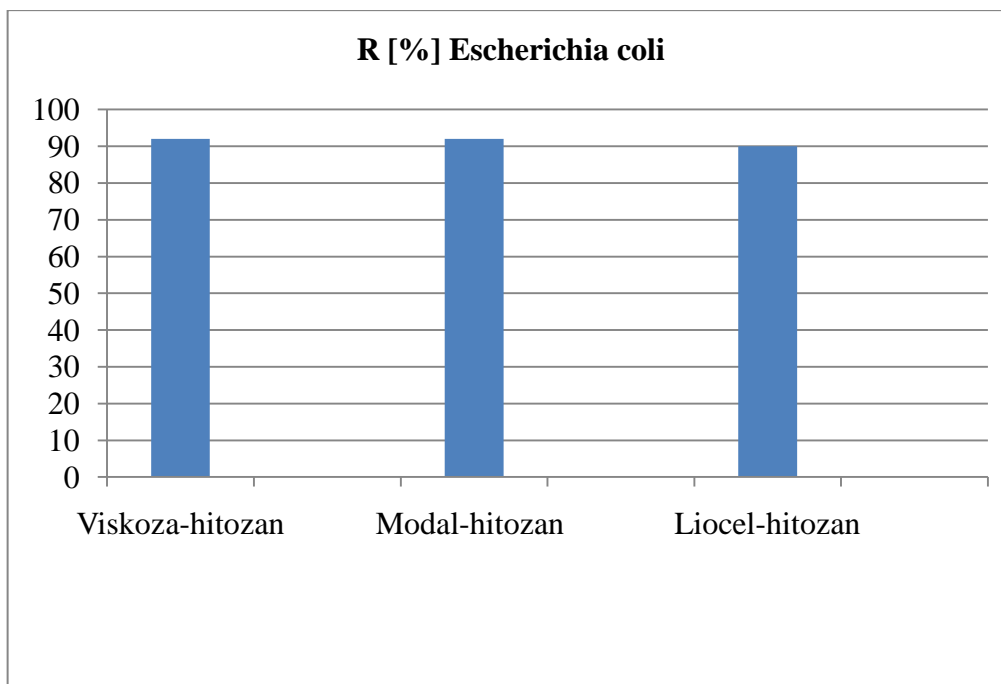
Viskoza najintenzivneje inhibira vse patogene organizme (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*), modal izkazuje protimikrobno neučinkovitost na glivo *Candido albicans*, medtem ko liocel slabše inhibira Gram-pozitivno bakterijo *Streptococcus agalactiae*.

Nadalje so podane primerjave redukcij med funkcionaliziranimi regeneriranimi celuloznimi vlakni za posamezne bakterije oz. glive.

Bakterijo *Staphylococcus aureus* inhibirajo vsa funkcionalizirana regenerirana vlakna približno enako (slika 4.4), podobno je pri inhibiciji Gram – negativne bakterije *E. coli* (slika 4.5).

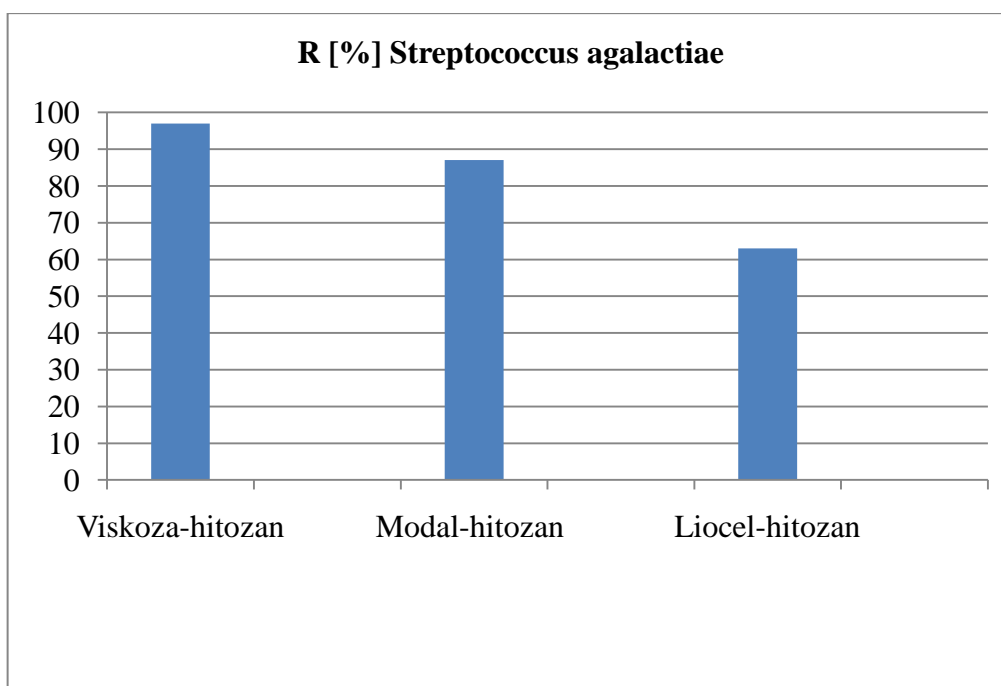


Slika 4.4 Redukcija *Staphylococcus aureus*



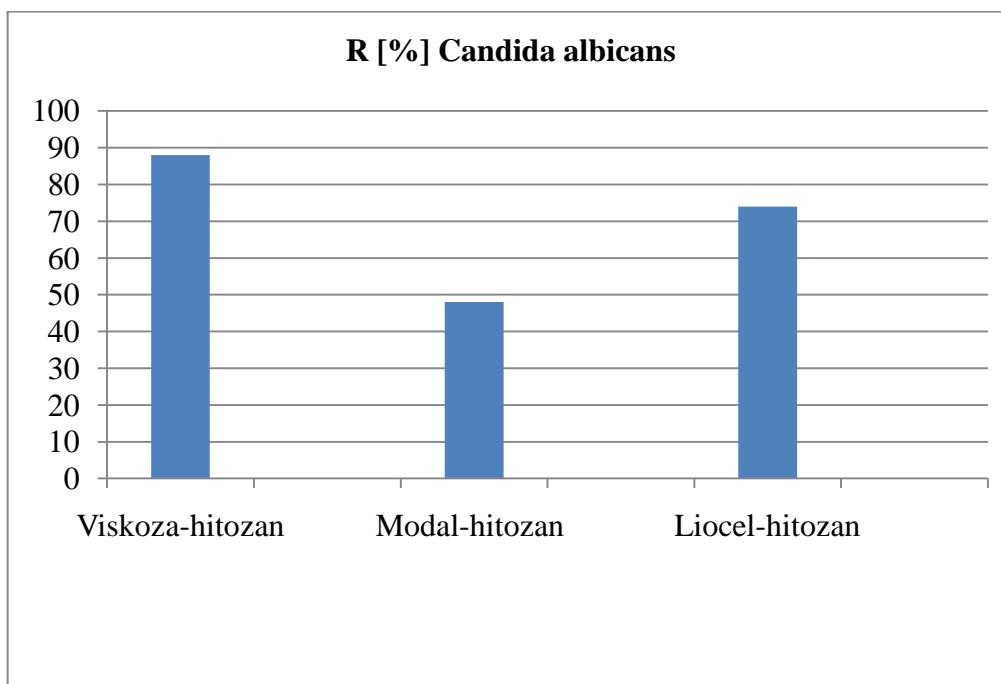
Slika 4.5 Redukcija Escherichie coli

Streptococcus agalactiae je Gram – pozitivna bakterija, najboljšo jo inhibira viskoza, sledi modal, liocel pa je ne inhibira ($R < 75\%$).



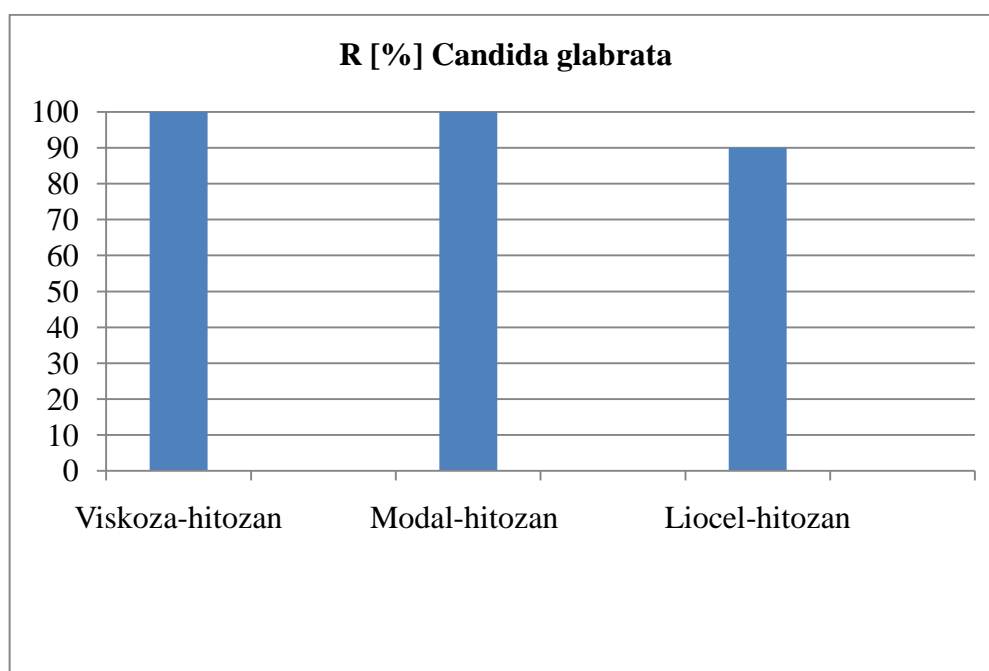
Slika 4.6 Redukcija Streptococcus agalactiae

Patogena gliva *Candida albicans* spada v rod kvasovk, inhibira jo viskoza in mejno liocel, medtem ko je modal ne inhibira učinkovito.



Slika 4.7 Redukcija *Candide albicans*

Iz slike 4.8 je razvidno, da patogeno glivo *Candida glabrata* inhibirajo vsa vlakna, najslabše pa liocel.



Slika 4.8 Redukcija *Candide glabrata*

Na podlagi primerjav vsebnosti aaminskih skupin ter rezultatov R [%] (tabela 4.2) je ugotovljeno, da vsebnost aaminskih skupin vpliva na protimikrobne lastnosti vlaken, saj smo v povprečju pri vlaknih z višjo vsebnostjo aaminskih skupin dosegali boljšo celokupno redukcijo patogenih mikroorganizmov.

Primerjava protimikrobnih lastnosti regeneriranih celuloznih vlaken in bombaža

Primerjava protimikrobnih lastnosti regenerirane celuloze in bombaža kaže, da v povprečju viskoza obdelana s hitozanom bolje inhibira patogene bakterije in glive, kot enako funkcionaliziran bombaž. Tako viskoza izkazuje večjo redukcijo na obe Gram pozitivni bakteriji *Staphylococcus aureus* ter *Streptococcus agalactiae*, kakor tudi na oba tipa gliv *Candida albicans* ter *Candida glabrata*. Bombaž izkazuje večjo redukcijo samo v primeru Gram negativne bakterije *E. coli*. V primeru funkcionalizirane viskoze je redukcija na vse patogene bakterije in glive višja od 75 % in jo zato lahko opredelimo kot učinkovito protimikrobno sredstvo. Rezultati kažejo, da funkcionaliziran bombaž nezadostno reducira oba tipa patogenih gliv. V skupini regenerirane celuloze smo mikrobiološko aktivnost določali tudi na primeru funkcionaliziranega modala in liocela ter ugotovili njuno slabšo protimikrobno delovanje v primerjavi s funkcionalizirano viskozo, kot tudi funkcionaliziranim bombažem. Viskoza se je tako izmed vseh obravnavanih celuloznih vlaken izkazala kot vlakno z najboljšimi protimikrobnimi lastnostmi.

Potencialna uporaba funkcionaliziranih celuloznih vlaken

Na osnovi rezultatov sklepamo na široko potencialno uporabo vseh, v nalogi proučevanih funkcionaliziranih celuloznih vlaken, na številnih področjih; tako na področju medicinskih materialov, kakor tudi tehničnih tekstilij.

Od medicinskih materialov so še posebej zanimivi materiali za sanitetno uporabo, kot so gaze, obliži, tamponi, higienski vložki, kjer je kot substrat največkrat uporabljen naraven bombaž ali viskoza. Vloga liocela in modala v medicinske namene je še dokaj neraziskano področje in zahteva še dodatne raziskave v smislu optimiranja postopka protimikrobne obdelave ter predvsem možnosti medicinske uporabe. Glede na opravljene raziskave bi vsa naštetna vlakna bilo moč uporabiti na področju tehničnih tekstilij (geotekstilije), kakor tudi tekstilij za dom (sedežne prevleke, zavese), za izdelavo oblačil za šport in prosti čas (spodnje perilo, majice), itd.

5 SKLEP

V okviru diplomskega dela smo želeli s funkcionalizacijo hitozana na regenerirana celulozna vlakna, zaradi doprinosa aaminskih skupin, dati vlaknom protimikrobni značaj. Vsebnost aaminskih skupin vlaken smo spremljali s potenciometrično titracijo in spektrofotometrično metodo C.I. Acid Orange 7.

V okviru naloge smo želeli analizirati način vezave hitozana na/v površino vlaken (reverzibilna in ireverzibilna vezava).

Nadalje smo proučili vpliv aaminskih skupin na protimikrobne lastnosti vlaken.

Na podlagi dobljenih rezultatov sklepamo:

- Hitozan se ireverzibilno adsorbira na površino regeneriranih celuloznih vlaken
- Množina aaminskih skupin na funkcionaliziranih vlaknih je bila uspešno določena z uporabo potenciometrične titracije in metode C.I. Acid Orange 7. Najvišjo vsebnost aaminskih skupin kaže viskoza, sledi modal in nato liocel. Rezultati obeh tehnik dobro sovpadajo.
- Vsebnost aaminskih skupin vpliva na protimikrobni značaj vlaken. Dokazali smo, da je v povprečju pri vlaknih z višjo vsebnostjo aaminskih skupin dosežena boljše redukcija patogenih bakterij, kakor patogenih gliv.
- Desorpcija hitozana s površine vlaken je nižja od 2%.
- Funkcionalizirana vlakna kažejo potencialno uporabo na številnih področjih kot so medicinske tekstilije, tehnične tekstilije, tekstilije za dom in prosti čas, oblačila za zaščito in šport itd.

SEZNAM UPORABLJENIH VIROV

- [1] Čunko Ružica, Andrassy Maja. *Vlakna*. Čakovec : Zrinski, 2005.
- [2] Kreže Tanja. *Sorpcijske karakteristike klasičnih in novih okolju prijaznih regeneriranih celuloznih vlaken : doktorska disertacija*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 1999.
- [3] Peršin Zdenka. *Struktura in sorpcijske lastnosti obdelanih regeneriranih celuloznih vlaken : doktorska disertacija*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2004.
- [4] Stana Kleinschek Karin, Fakin Darinka, Golob Vera. *Osnove plemenitenja tekstilij*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2002.
- [5] Strnad Simona, Šauperl Olivera, Sfiligoj Smole Majda. *Tekstilna vlakna : navodila za vaje*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2001.
- [6] Stana Kleinschek Karin, Šauperl Olivera. *Klasični postopki apretiranja : učbenik*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2007.
- [7] Strnad Simona, Šauperl Olivera, Fras Lidija, Jazbec Anita. *Hitozan – vsestransko uporaben biopolimer*. *Tekstilec* (2007), vol. 50.
- [8] Bračič Matej. *Karakterizacija amino skupin na bombažni tkanini modificirani s hitozanom : diplomsko delo*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2008.
- [9] Ristić Tijana. *Polisaharidi za razvoj medicinskih tekstilij : diplomsko delo*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2009.
- [10] Sluban Boris. *Uporaba statističnih metod v tekstilstvu*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2004.
- [11] Uragami Tadashi, Tokura Seiichi. *Material Science of Chitin and Chitosan*. New York : Springer, 2006.
- [12] Fras Lidija, Strnad Simona, Šauperl Olivera, Stana Kleinschek Karin. *Characterization of amino groups for cotton fibers coated with chitosan*, article in press.
- [13] Majcen Le Marechal Alenka. *Organska kemija*. Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2008.
- [14] Enescu Daniela. *Use of Chitosan in Surface Modification of Textile Materials*. Romunija. <http://www.rombio.eu/rbl6vol13/4.pdf> [10.08.2010]
- [15] <http://textileinformation.blogspot.com/2007/11/application-of-chitosan-in-textile-wet.html> [10.8.2010]
- [16] <http://www.chitosanblog.com/> [20.07.2010]
- [17] <http://www.teonline.com/knowledge-centre/chitin-chitosan.html> [20.07.2010]

- [18] *Functional characterization of Chitin and Chitosan.*
<http://www.bentham.org/ccb/openacsarticle/ccb3-2/0009CCB.pdf> [16.07.2010]
- [19] Fras Zemljič Lidija, Peršin Zdenka, Stenius Peer. *Improvement of chitosan adsorption onto cellulosic fabrics by plasma treatment.* Biomacromolecules (2009), vol. 10, no. 5.
- [20] Fras Zemljič Lidija, Peršin Zdenka, Stenius Peer. *Carboxyl groups in pre-treated regenerated cellulose fibers.* Cellulose (2008), vol. 15, no. 5.
- [21] Fras Lidija. *Uporaba titracijskih metod za ugotavljanje disociacijsko-adsorpcijskih značilnosti tekstilnih vlaken : magistersko delo.* Maribor : Fakulteta za strojništvo, 2002.
- [22] Čakara Duško, Fras Zemljič Lidija, Bračič Matej, Stana-Kleinschek Karin. *Protonation behavior of cotton fabric with irreversibly adsorbed chitosan . a potentiometric titration study.* Carbohydrate Polymers (2009), vol. 78.