

TARTU ÜLIKOOL

Loodus-ja täppisteaduste valdkond

Füüsika Instituut

Karol Mõisavald

**LISANDITE MÕJU GLÜKOOSIGA RISTSIDESTATUD  
ŽELATIINIKANGA OMADUSTELE**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendaja:

Kaido Siimon

Tartu 2016

## **INFOLEHT**

### **Lisandite mõju glükoosiga ristsidestatud želatiinikanga omadustele**

Käesolevas lõputöös uuriti lisandite (kaaliumalumiiniumsulfaat, raudtsitraat, raudnitraat ja polüaniliin) mõju elektrospinnimise teel valmistatud ja glükoosiga termiliselt ristsidestatud želatiinikangastele. Želatiinikangastes sisalduv glükoos aitab luua ristsidemeid želatiinikiududes. Analüüsi tulemusena selgus, et perspektiivikaim lisand on kaaliumalumiiniumsulfaat, mille lisamine suurendas materjali elastsusmoodulit. Kaaliumalumiiniumsulfaadiga viidi läbi ka lisakatsed, mis tõestasid elastsusmooduli kasvamist kuni 10 % soola sisalduseni; tulemused on avaldatud artiklis [6].

Märksõnad: želatiin, glükoos, ristsidestamine, kaaliumalumiiniumsulfaat, raudtsitraat, raudnitraat, polüaniliin, äädikhape, elektrospinnimine, SEM, FT-IR, elastsusmoodul, tõmbekatse

CERCS: Materjalitehnoloogia (T150)

### **Effect of additives on the properties of gelatin fabrics cross-linked by glucose**

In the current work, electrospinning technique has been used to prepare fibrous gelatin-based meshes. Gelatin meshes were thermally cross-linked to make them insoluble in water. Pure cross-linked gelatin meshes are still relatively weak and glucose is added to the electrospinning solution to increase mechanical strength of gelatin-based meshes. The additional cross-links with glucose increase gelatin meshes' mechanical strength. The aim of the current work was to further increase mechanical strength of electrospun gelatin meshes by the addition of KAl, ferric citrate, ferric nitrate or polyaniline. The results show that KAl is the most promising additive and its effect on gelatin meshes was further analysed in an already published article [6]. The article concluded that KAl is in fact an effective additive for increasing mechanical strength of gelatin meshes.

Keywords: gelatin, glucose, cross-linking, potassiumaluminium sulfate, ferric citrate, ferric nitrate, polyaniline, acetic acid, electrospinning, SEM, FT-IR, elastic modulus, tensile test

CERCS: Materials' Technology (T150)

Sisukord	
<b>INFOLEHT</b> .....	2
<b>Lühendid</b> .....	5
<b>Sissejuhatus</b> .....	6
<b>1. Ülevaade kirjandusest</b> .....	8
<b>1.1 Elektrospinnitud želatiin</b> .....	8
<b>1.2 Ristsidestamine</b> .....	9
<b>1.3 Lisandid - <math>\text{AlK}(\text{SO}_4)_2</math>, raudtsitraat, raudnitraat, polüaniliin</b> .....	10
<b>2. Eksperimentaalne töö</b> .....	11
<b>2.1 Želatiinikanga valmistamine</b> .....	11
<b>2.2 SEM</b> .....	12
<b>2.3 FTIR</b> .....	12
<b>2.4 Tõmbekatsed</b> .....	12
<b>3. Tulemused</b> .....	14
<b>3.1 Želatiinikanga valmistamine</b> .....	14
<b>3.2 FTIR</b> .....	15
<b>3.3 <math>\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}</math></b> .....	16
<b>3.3.1 SEM</b> .....	16
<b>3.3.2 Tõmbekatsed</b> .....	17
<b>3.4 Raudtsitraat</b> .....	18
<b>3.4.1 SEM</b> .....	18
<b>3.4.2 Tõmbekatsed</b> .....	19
<b>3.5 Raudnitraat</b> .....	20
<b>3.5.1 SEM</b> .....	20
<b>3.5.2 Tõmbekatsed</b> .....	21
<b>3.6 Polüaniliin</b> .....	22

<b>3.5.1 SEM</b> .....	22
<b>3.6.2 Tõmbekatsed</b> .....	23
<b>4. Arutelu</b> .....	25
<b>5. Järeldused</b> .....	28
<b>Kokkuvõte</b> .....	29
<b>Effect of additives on the properties of gelatin fabrics cross-linked by glucose</b> .....	30
<b>Tänuavaldused</b> .....	31
<b>Kasutatud kirjandus</b> .....	32

## **Lühendid**

KAl – kaaliumalumiiniumsulfaat  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$

FEGG – raudtsitraat -  $C_6H_6FeO_7$

FENGG – raudnitraat nonahüdraat -  $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$

PGG – polüaniliin

SEM – skaneeriv elektronmikroskoopia

FTIR – Fourier' teisendusega infrapunamikroskoopia

## Sissejuhatus

Käesoleva bakalaureusetöö autori tööühmas (Tartu Ülikooli Füüsika instituudi nanostruktuuride füüsika laboris) on viimaste aastate jooksul tegeletud naha laboratoorseks kasvatamiseks sobivate naharakkude kasvualuste väljatöötamisega. Töö tulemusena kirjeldati 2014.a. ilmunud artiklis meetodit vähem kui mikromeetrise läbimõõduga kiududest koosneva želatiinikanga valmistamiseks ja ristsidestamiseks glükoosi abil [1]. On teada, et glükoosiga ristsidestatud želatiinikangas on äärmiselt biosobiv, biolagunev ja suhteliselt odav, mistõttu võiks seda kasutada ka paljudes teistes rakendustes lisaks regeneratiivsele meditsiinile, näiteks keskkonnasõbraliku biolaguneva kile valmistamiseks, filtritena toiduainetööstuses ning tehisnaha valmistamiseks. Želatiin on sünteetiliste polümeeridega võrreldes mehaaniliselt üsna nõrk ning see takistab želatiini laiemat kasutust. Glükoosi abil ristsidestades on võimalik muuta želatiinikangast küll oluliselt tugevamaks [2], kuid mitmetes rakendustes ainult sellest ei piisa.

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärk on uurida seda, kas lisandite abil on võimalik muuta glükoosiga ristsidestatud želatiinikangas mehaaniliselt veelgi tugevamaks. Lisandite valikul lähtusime järgmistest kaalutlustest. On teada, et redutseerivate suhkrute nagu glükoos ja aminohapete nagu želatiin vahel toimub Maillard'i reaktsioon. See reaktsioon kulgeb peamiselt teatud kindlate želatiinis leiduvate aminorühmade vahendusel [3]. Töö ettevalmistamise käigus eeldati, et kui leida lisandeid, mis tekitaksid täiendavaid keemilisi sidemeid želatiinimolekulis leiduvate funktsionaalrühmade vahel, siis peaks olema võimalik želatiinikangast mehaaniliselt tugevamaks muuta.

Želatiini saadakse kollageeni hüdroolüüsi tulemusena [4,5]. Kuna kollageen on üks peamistest naha kui sidekoe elementidest, siis temast hüdroolüüsitud želatiin on keemiliselt koostiselt väga lähedane naha keemilisele koostisele. Seda arvestades uuriti naha parkimise keemiat puudutavat kirjandust, et leida olemasolevale želatiini ja glükoosi segule potentsiaalseid lisandeid, mis võiksid viia täiendavaid funktsionaalrühmi hõlmavate ristsidemete tekkimiseni želatiinimolekulide vahel. Käesolevas töös lisati želatiinikangale alumiiniumkaaliumsulfaati, raudtsitraati ja raudnitraati. Täiendavalt uuriti ka polüaniliinisalduse mõju materjalile, eeldades, et see võib muuta muidu väga hüdrofiilse želatiini hüdrofoobsemaks, mis tuleks kasuks želatiinipõhise bioplasti väljatöötamisel.

Käesolevas bakalaureusetöös valmistatakse želatiinikangas elektrospinnimise teel. Materjali iseloomustatakse skaneeriva elektronmikroskoobi (SEM) abil ja lisandite mõju uuritakse Fourier' teisendusega infrapunaspektromeetriga (FTIR). Kanga mehaanilisi omadusi iseloomustatakse tõmbekatse abil. Töö tulemusena leiti, et uuritud lisanditest kõige perspektiivikam on KAl, sest selle lisamisel saavutati materjali mehaanilise tugevuse kasv.

Käesoleva bakalaureusetöö tulemust arvesse võttes viidi läbi põhjalikud uuringud KAl mõju kohta glükoosiga ristsidestatud želatiinikanga omadustele, mille tulemused on avaldatud artiklis [6].

# 1. Ülevaade kirjandusest

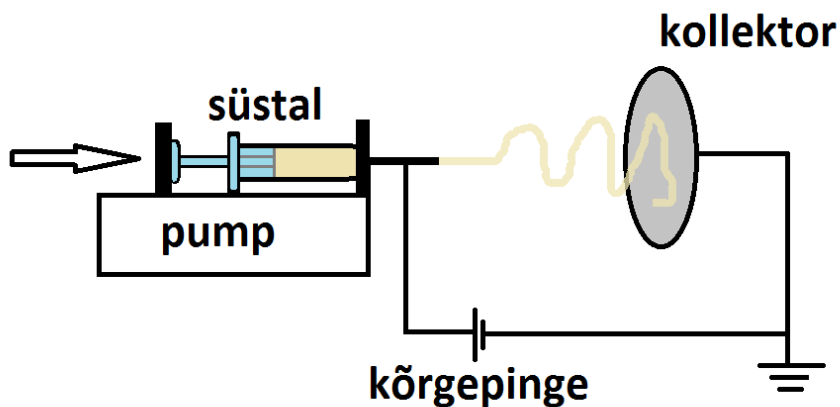
## 1.1 Elektrospinnitud želatiin

Želatiin on tuntud äärmiselt biosobiva ja mittetoksilise biopolümeerina, kuigi tal on ka rida puudusi, näiteks mittehomoogeenne koostis ja sellest tulenev füüsikaliste ja keemiliste omaduste varieeruvus [7]. Želatiin on võrreldes kollageeniga palju odavam ja lihtsamini töödeldav. Meie laboris läbi viidud varasematest katsetest on teada, et želatiinikangast on võimalik valmistada kuni 15% glükoosisisaldusega [1]. Suuremal määral glükoosi sisaldavad kangad muutuvad hapraks ja raskesti käsitsetavaks. Meie töös kasutati 10% glükoosi sisaldavat kangast, et oleks tagatud suures ulatuses ristsidestamine glükoosi poolt, samas vältides liigse glükoosisisalduse mõju võimalikele teistest lisanditest tulenevatele ristsidestumisreaktsioonidele.

Käesolevas töös valmistatakse katsekehad elektrospinnimise meetodil. Elektrospinnimise seadme skeem on kujutatud joonisel 1. Elektrospinnimine kasutab kõrgepinget, et kanda valmistatud segu süstlast kollektorile. Klaasviaalis olev želatiini, glükoosi ja uuritava lisandi ning äädikhappe lahus segatakse magnetsegajaga. Saadud lahus tõmmatakse süstlasse nii, et süstlasse ei jääks õhumulle. Süstlale kinnitatakse metallist nõel ja asetatakse pumbal olevasse hoidikusse. Süstla nõela külge ühendatakse üks toiteploki kõrgepinge juhtmetest, maanduse juhe kinnitatakse kollektori külge, mis paikneb süstla nõelast 14,5 cm kaugusel. Elektrospinnimise läbiviimiseks tuleb rakendada kõrgepinge 17,5 kV süstla nõela ja kollektori vahele. Süstlapumba käivitamisel hakkab süstlast eralduma želatiinilahust, mis tõmmatakse kõrgepinge mõjul kollektorini. Teel nõelast kollektorini aurustub lahuses olev äädikhappe ning saadakse tihe želatiinikiududest koosnev kangas.

Elektrospinnimise meetodiga saadakse ühtlane polümeerikiudude võrgustik, mis jäljendab naha kiulist struktuuri [8]. Naha kiulise struktuuri jäljendamine tuleb kasuks želatiinikangaste kasutamisel koetehnoloogias, võimaldades naharakkudel lihtsamalt kinnituda želatiinkangale. Materjali rakendamisel teistes valdkondades tuleb kasuks elektrospinnimisel tekkivate želatiinikiudude ühtlane jaotumine želatiinikangas, väike kiu läbimõõt ning želatiinikanga suur poorsus ja eripind. Meeles tuleb pidada, et elektrospinnimise tulemused on raskesti korratavad, kuna elektrospinnimist mõjutavad paljud parameetrid: pinge, kollektori kaugus, želatiinisegu pumpamise kiirus, õhurõhk ja niiskus. Seega täpse analüüsi läbiviimiseks on vajalik suurel hulgal korduskatsete läbiviimine. Käesolevas töös sooviti leida lisandite hulgast sobivaimat, mis

suurendaks želatiinikanga mehaanilist tugevust, kuid täpse elastusmooduli väärtuse leidmine oli teisejärguline.



Joonis 1: Elektrosppinnimise skeem.

## 1.2 Ristsidestamine

Želatiin on algselt pärast elektrosppinnimist vees lahustuv ja mehaaniliselt nõrk, seetõttu tuleb katsekehas olevad polümeerahelad ristsidestada [9]. Ristsidestamist võib läbi viia nii keemiliselt, füüsikaliselt kui ka ensümaatilisel. Keemiliselt lisatakse segusse aineid, mis aitavad luua kovalentseid sidemeid kiudusid moodustavate želatiinimolekulide vahel. Soovisime vältida tavaliselt želatiini ristseostamiseks kasutatavaid toksilisi ja kalleid kemikaale, näiteks dialdehüüde. On teada, et taandavad suhkrud võimaldavad toimuda Maillard'i reaktsioonil, mis aitab keemilist ristsidestumist läbi viia [10]. Seega kasutatakse käesolevas lõputöös katsekehade valmistamisel ristsidestajana glükoosi. Glükoos on vesilahuses peamiselt suletud ringi vormis, kuid ristseostumist saab läbi viia vaid lineaarse struktuuriga glükoosiga. Glükoosi struktuuri on võimalik ringsest lineaarseks saada kuumutamise teel [11]. Katsekehade kuumutamise viiakse läbi ka füüsikaline ristsidestamine želatiinikangas olevate kiudude vahel, et muuta materjal vees lahustumatuks [12]. Seega toimub ühe kuumutamise tsükliga nii keemiline kui ka füüsikaline ristsidestamine.

### **1.3 Lisandid - $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$ , raudtsitraat, raudnitraat, polüaniliin**

Käesolevas töös otsisime odavaid ja mittetoksilisi lisandeid, mis tekitaksid täiendavaid ristsidemeid želatiinimolekulide vahel ja selle abil suurendaksid želatiinikangaste mehaanilist tugevust. Samuti jälgisime, et lisandid oleksid võimalikult bioühilduvad ja sobivad regeneratiivse meditsiini rakendusteks.

Käesolevas töös kasutatakse katsekehade valmistamisel lisandina KAl eesmärgiga suurendada materjali mehaanilist tugevust, mis tagaks omakorda suurema töökindluse rakendustes, kus on vajalik materjali vastupanu pidevale deformeerimisele. Rahvakeeli tuntakse lisandit KAl maarjajää nime all. KAl on looduslikult esinev sool, mida on juba pikka aega kasutatud naha vastupidavamaks muutmiseks parkimise teel [13]. Parkimise käigus kasutakse lisandit KAl olemasolevate kiudude töötlemiseks, kuid käesolevas töös lisatakse soola otse želatiini ja glükoosi segusse. Seega toimib lisand kogu kiu sees ja võime arvata, et seeläbi on KAl-i mõju želatiinikiududele suurem kui tema mõju naha parkimisel.

Inimkeha vajab funktsioneerimiseks rauda, kuid raua omandamine on väga aeglane. Raua omandamise protsessi kiirendamiseks kasutatakse muudes meditsiinilistes rakendustes raudtsitraati [14]. Seega katsekehade valmistamisel raudtsitraati lisades ei ole ohuks aine toksilisus, kuna ühendi lagunemisel ei eraldu raud inimkehale ebasobival ioonsel kujul.

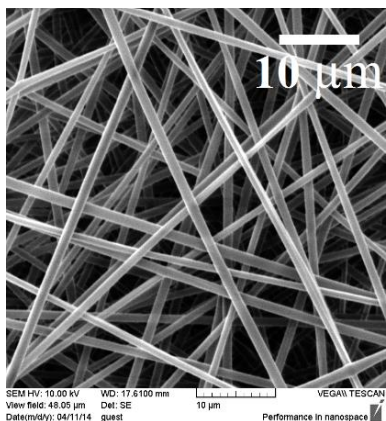
Polüaniliin on dopeeritud olekus elektrit juhtiv polümeer, mida esineb mitmes erinevas struktuuris [15]. Käesolevas töös uuriti roheline värvusega polüaniliini mõju materjali omadustele. A. D Bendrea poolt läbi viidud uuringud on tõestanud, et elektroformeeritud polüaniliini ja želatiinikiud on bioühilduvad, toetavad rakkude kinnitumist ja nende levikut [17]. Polüaniliini abil suurendatud elektrijuhtivust želatiinikangastes saab ära kasutada mõjutamaks rakkude kasvamise kiirust koetehnoloogias [16].

## 2. Eksperimentaalne töö

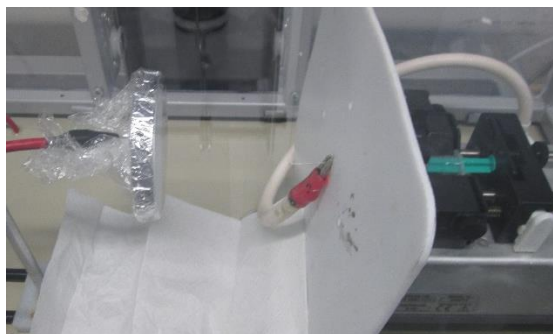
### 2.1 Želatiinikanga valmistamine

Kiudmaterjal valmistati elektrosپinnimise meetodi abil. Elektrosپinnitava segu valmistamiseks kasutati lisaks želatiinile glükoosi ja etaanhapet. A-tüüpi želatiin, glükoos, etaanhape, raudsitraat, raud(III)nitraat nonahüdraat soetati Sigma-Aldrichist. Kaaliumalumiiniumsulfaat osteti Lach-Ner'ist. Polüaniliini sünteesis töö juhendaja.

Želatiini ja glükoosi segud valmistati nii, et glükoosi oleks 10 % segust. Neile segudele lisati FEGG, FENGG, KAL ja PGG. Lisandite kontsentratsioonid uuritud segudes olid järgmised: 5-15 % (KAL, FENGG), 5-18% (FEGG) ja 1-5%(PGG). Saadud segudele lisati 10 M etaanhapet nii, et saadi 20-25% lahused, ning segati magnetsegajaga 10 minutit 45 kraadi juures. Saadud segu kinnitati 2-5 mL süstla abil New Era Pump Systems NE-511 pumba külge, mille töökiiruseks oli 8  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Süstla metallist otsale rakendati kõrgepinge (17.5 kV) Heinzinger LNC 30000 kõrgepingeallikaga. Kollektorina kasutati alumiiniumfooliumiga kaetud 10 cm läbimõõduga Petri tassi, mis asetati süstla otsast 14.5 cm kaugusele. Kangaid valmistati 25-30 minutit. Seejärel ristseostati saadud katsekehad, kuumutades neid ahjus 3 tundi 175 kraadi juures. Elektrosپinnimisel saadakse ühtlase kiudude jaotusega želatiinikangad (Joonis 2).



Joonis 2: Elektrosپinnitud želatiinikiud-kangas 4500-kordse suurendusega.



Joonis 3: Elektrosپinnimise seade

## 2.2 SEM

Katsekehadest lõigati 5 x 10 mm tükid, mis kinnitati metallist SEM-i proovihoidjale kahepoolse teibi abil ning seejärel kaeti 5 nm paksuse kullakihiiga Polaron SC7640 katmismasinaga. SEM-i abil uuriti saadud kangaste struktuuri ja kiudude läbimõõte, selleks jäädvustati pildid 700-, 4500- ja 21000-kordse suurendusega. Kiu läbimõõtude leidmiseks analüüsiti 21000-kordse suurendusega pilte, mis olid jäädvustatud kahest eri kohast kanga pinnal.

## 2.3 FTIR

Katsekehadest lõigati väiksed tükid, mis kuivatati Leica EM CDP kriitilise punkti kuivati abil. IR spektri analüüs viidi läbi lainearvude vahemikus 400 kuni 4000 cm<sup>-1</sup> Bruker Vertex 70 spektromeetriga. Saadud spektrid teisendati neeldumisspektriteks OPUS tarkvara abil.

## 2.4 Tõmbekatsed

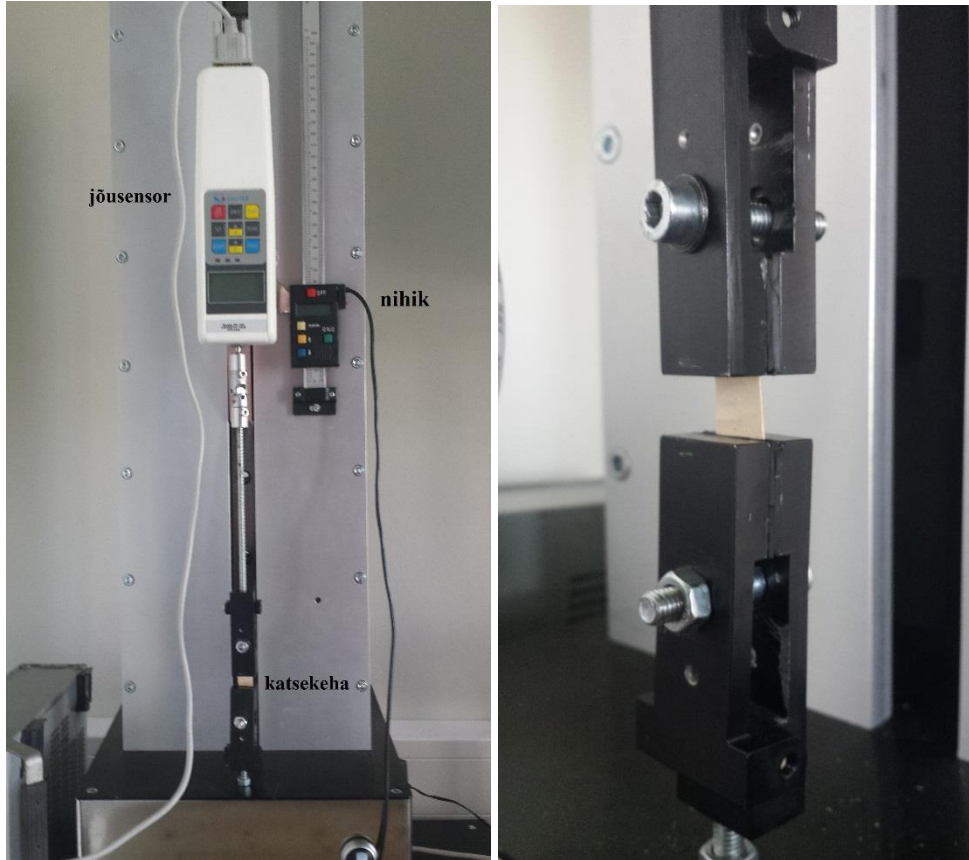
Katsekehadest lõigati ligikaudu 2 x 4 cm tükid, mille paksus mõõdeti kruvikuga. Kruvikuga mõõtmised teostati tüki keskelt ja mõlemast äärest, sest elektrospinnitud mattide paksus ei ole konstantne. Saadud tulemused keskmistati, et saada tüki paksus. Tõmbekatsed viidi läbi isehitatud masina abil, mis oli varustatud Sauter FH100 jõusensoriga. Katsekeha pikenemist mõõdeti elektroonilise nihikuga, mille mõõtetäpsus oli 10 µm. Katsekeha kinnitati masinal olevate klambrite vahele ning katsekeha pikkuseks mõõdeti klambritest välja jääv osa, sealjuures jälgides, et želatiinikanga tükk ei saaks käsitsemisel liigselt vigastada ning oleks klambrite vahel ilma kortsudeta. Klambriid tuli kinnitada sobiva jõuga, et tükk kinnituste vahel ei puruneks ning samas ka tõmbekatse käigus välja ei libiseks. Katsekeha tõmmati ühtlaselt kuni purunemiseni ning mõõdeti pikenemist ja tõmbejõudu. Saadud andmeid kasutati katsekeha elastsusmooduli leidmiseks. Elastsusmooduli leidmiseks analüüsiti pinge-deformatsiooni graafiku lineaarset osa. Elastsusmoodul arvutati valemist:

$$E = \frac{\text{pinge}}{\text{deformatsioon}} = \frac{\sigma(\varepsilon)}{\varepsilon} = \frac{F/S}{\Delta l/l_0} = \frac{F * l_0}{S * \Delta l}$$

Kus:

1.  $\sigma$  = pinge
2.  $\varepsilon$  = deformatsioon

3.  $F$  = želatiinkanga tükile mõjuv jõud
4.  $S$  = želatiinkanga tüki ristlõike pindala
5.  $\Delta l$  = želatiinkanga tüki suhteline pikenemine
6.  $l_0$  = želatiinkanga tüki algne pikkus



Joonis 4: Tõmbekatse seade, mis on varustatud nihiku ja Sauter FH100 jõusensoriga.

### 3. Tulemused

#### 3.1 Želatiinikanga valmistamine

Kuna varasematest katsetest oli leitud sobivad parameetrid 10% glükoosi sisaldusega želatiinisegude elektrospinnimiseks, siis ka soolade lisamisel ei olnud õigete tööparameetrite leidmine väga keeruline. Siiski, elektrospinnimine on üsna keskkonnatundlik töömeetod ning katsete õnnestumine sõltub paljudest välistest teguritest nagu näiteks õhuniiskus ja –temperatuur. Värskest elektrospinnitud želatiinikangastel olulist erinevust väliselt märgata polnud. Kõik olid valge või beeži värvusega, vaid polüaniliini sisaldavad matid olid teistest hapramad ja roheka värvusega. Samuti ei olnud võimalik polüaniliini sisaldust suurendada üle 5 %, kuna suuremal hulgal see enam ei dispergeerunud piisavalt ja lahuses olevad polüaniliini tükid ummistasid elektrospinnimisel süstla. Pärast valmistamist olid kõik elektrospinnitud kangad väga kergesti laaduvad ja neid oli raske käsitseda. Pärast termilist ristsidestamist muutusid matid vees lahustumatuks ja värvuselt veidi pruunikamaks. Želatiinikangaid ahjust välja võttes oli tunda küpsetamisele omast meeldivat lõhna. Vaadates kahe aasta eest valminud laboris seisnud katsekehasid, pole väliseid muutuseid märgata.



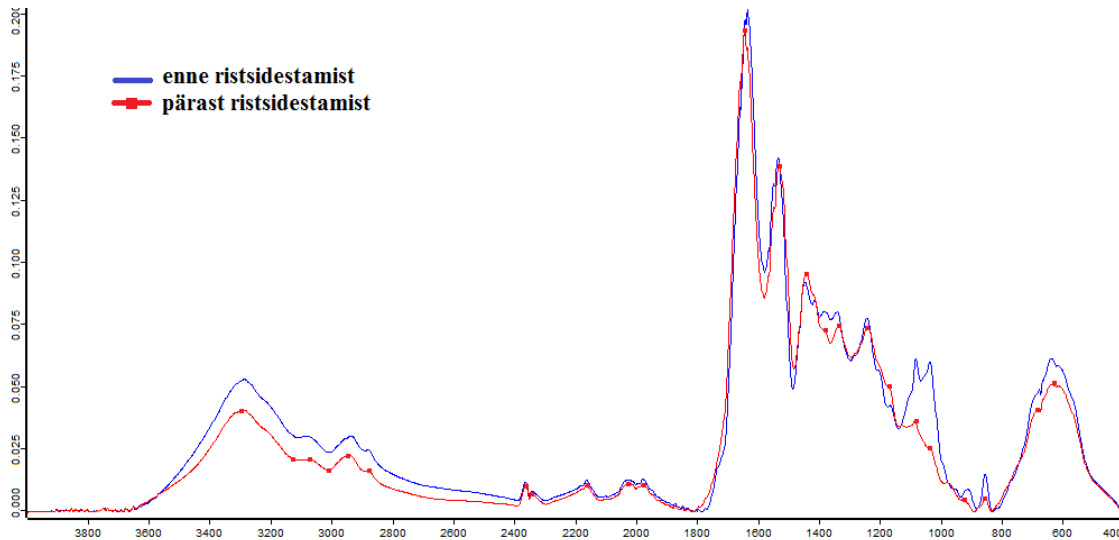
Joonis 5: Elektrospinnitud želatiinikangas.

### 3.2 FTIR

FTIR analüüside jaoks lõigati želatiinikangastest välja 4\*20 mm suurused ribad, mis kuivatati kriitilise punkti kuivatiga. FTIR analüüsil saadud spektritelt uuriti erinevatele keemilistele sidemetele vastavate piikide muutuseid lainearvude vahemikus 400 kuni 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Võrreldi želatiinikanga tükke enne ja pärast ristsidestamist.

Piigid mõõdeti lainearvude 3300 ja 3073  $\text{cm}^{-1}$  (OH ja NH vibratsioonid), 2938 ja 2878  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$  asümmeetrilised ja sümmeetrilised vibratsioonid), 1657, 1641 ja 1632  $\text{cm}^{-1}$  (amiid I side, peamiselt C=O vibratsioonid), 1562, 1546 ja 1530  $\text{cm}^{-1}$  (amiid II side, peamiselt NH deformeerumine), 1444 ja 1333  $\text{cm}^{-1}$  (erinevad planaarsed vibratsioonid), 1239  $\text{cm}^{-1}$  (amiid III side, NH deformeerumine ja CN venimine), 1203 ja 1163  $\text{cm}^{-1}$  (erinevad planaarsed vibratsioonid), 1082, 1031 ja 921  $\text{cm}^{-1}$  (CO vibratsioonid) juures [12,17, 18, 19, 20, 21].

Spektrite analüüsi eesmärgiks oli näha, kas ristseostumisel toimub želatiinikangastes kovalentsete sidemete muutuseid. Suured muutused FTIR spektris koos mehaanilise tugevuse kasvuga kinnitaksid täiendavate ristsidemete tekkimist materjalis. On teada, et alumiiniumiühendid võivad anda ioone, mis on võimelised reageerima želatiini karboksüülrühmadega [22]. Spektrite analüüsist selgus, et kõikide lisandite puhul vähenesid lainearvudele 1031 ja 1082  $\text{cm}^{-1}$  vastavad piigid. Samuti oli veidi väiksemat piikide langust märgata lainearvudel 2878, 2939, 3073 ja 3300  $\text{cm}^{-1}$ . Lisandeid FeGG ja FeNGG sisaldavate želatiinikangaste puhul oli märgata piikide langust lainearvudel 1239-1562  $\text{cm}^{-1}$  ja kuna antud muutused olid vaid raua sisaldavatel ühenditel, võime oletada, et muutused olid tingitud raua reageerimisest lahuses olevate ainetega. Põhjalikum analüüs kovalentsete sidemete katkemise ja tekkimise kohta ei olnud antud lõputöö teemaks ning seega pole siin täpsemalt käsitletud.



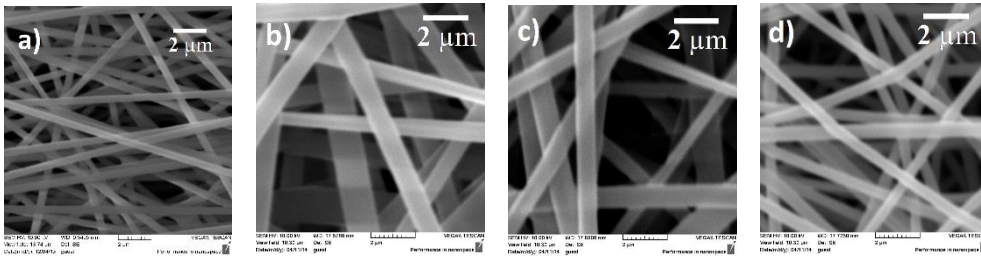
Joonis 6: FeGG 18 %-lise sisaldusega želatiinikanga FTIR spektrid enne ja pärast termilist töötlemist.

### 3.3 KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>\*12H<sub>2</sub>O

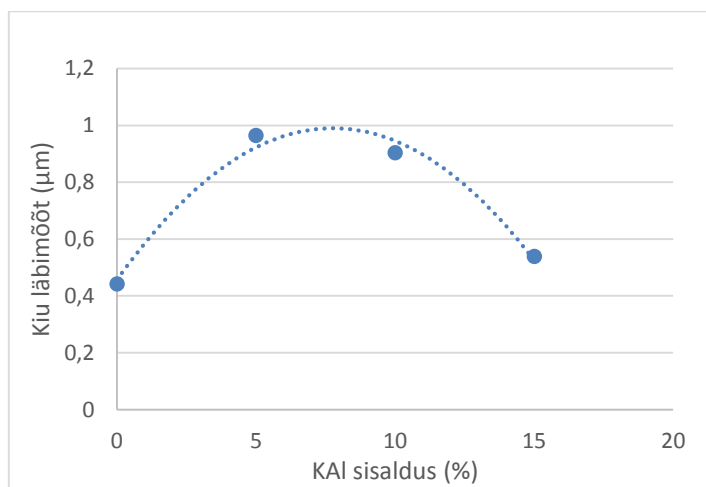
#### 3.3.1 SEM

KAl sisaldavate želatiinilahuste elektrosppinnimisel õnnestus ilma tõrgeteta saada terve kollektori pinna suuruseid (ligi 10 cm läbimõduga) želatiinikangaid, mis algselt olid valge värvusega ning pärast ahjus ristsidestamist helepruunid. Tänu suurtele želatiinikangaste pindaladele oli kerge saada käepäraseid tükke tõmbekatsedeks. Uuriti želatiinikangaid, mis olid saadud 10 % glükoosi ja 5, 10 või 15 % KAl sisaldavatest lahustest.

Kiu läbimõõtude leidmiseks analüüsiti SEM-i abil saadud pilte. Selgus, et 5 % KAl lisamine 10% glükoosi ja želatiini segule suurendas kiu läbimõõtu 0,4 µm-lt 0,96µm-ni. KAl-i edasine lisamine tingis kiu läbimõõdu kahanemise. Vastavalt 10% KAl sisaldusega segu puhul 0,9 µm-ni ja 15% KAl sisalduse puhul 0,54 µm-ni. Arvatavasti suurenes kiu läbimõõt lahuse konstsentratsiooni suurenemise tõttu. 10 ja 15 % sisalduse puhul nähtav läbimõõdu langus võib olla tingitud pikemast äädikalahuses olemise ajast, kuna suuremal konstsentratsioonil kulub rohkem aega soola lahustamiseks ja on teada, et želatiinikangas protoneerub pikaajalisel äädikalahuses hoidmisel ning see nõrgendab ristseostumise ulatust.



Joonis 7: a) standard želatiinikangas 0 % soola sisaldusega, b) 5 %, c) 10 % ja d) 15 % soola sisaldusega želatiinikangad.

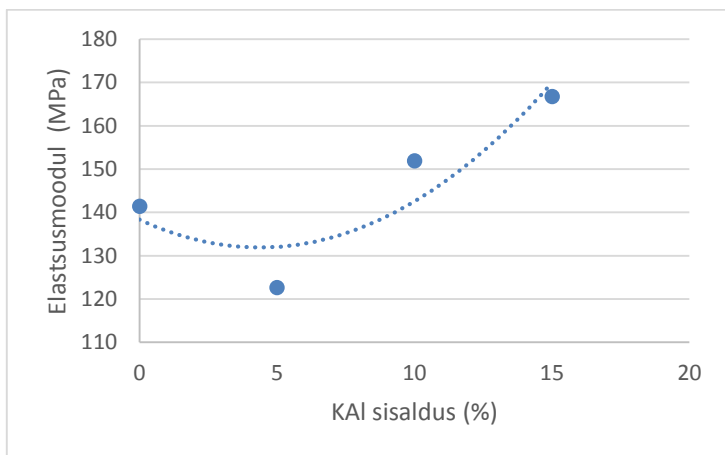


Graafik 1: Kiu läbimõõdu muutus KAl lisamisel.

### 3.3.2 Tõmbekatsed

Tänu mõistlikult suurtele tükkidele oli tõmbekatsete läbiviimine üsna lihtne. Siiski on tükid üsna õrnad ja kinnitamisel tuli olla ettevaatlik, et mitte želatiinikangast liigselt vigastada. Analüüsidest tõmbekatsete andmetest saadud graafiku lineaarset osa, leiti, et KAl lisamine tõstis katsekehade elastsusmoodulit. Standardlahusest valmistatud želatiinikanga elastsusmoodul on 141 MPa. 5 % KAl sisaldusega želatiinikangaste puhul oli elastsusmoodul 123 MPa, 10% puhul 152 MPa ja 15 % puhul 167 MPa. Elastsusmooduli langus 5 % KAl kogusel võib olla tingitud sellest, et soola täielikuks lahustamiseks kulub rohkem aega kui tavalise želatiini ja glükoosi lahuse saamiseks ning liigsel äädikalahuses hoidmisel želatiin protoneerub ning selle võrra on hiljem soola mõju ristseostumise ulatusele nõrgem. On näha, et terves uuritavas KAl sisalduste vahemikus toimus elastsusmooduli suurenemine. Võime järeldada, et elastsusmoodul suureneb

ka edasisel KAl lisamisel. Avaldatud artiklis läbi viidud põhjalikul uurimisel selgus, et elastsusmooduli kasv toimub kuni 10 % KAl sisalduseni [6]. Siinkohal tuleb tähele panna, et KAl esineb dodekahüdraadina ning viidatud artiklis on KAl sisaldused esitatud ilma veeta. Artiklis kasutatud soolasisalduse esitamise meetodit rakendades on käesoleva töö KAl sisaldusteks 2,3, 4,6 ja 6,8 %. Seega peab paika käesoleva töö tulemuste järgel, et KAl edasisel lisamisel kasvab želatiinikanga elastsusmoodul veelgi.



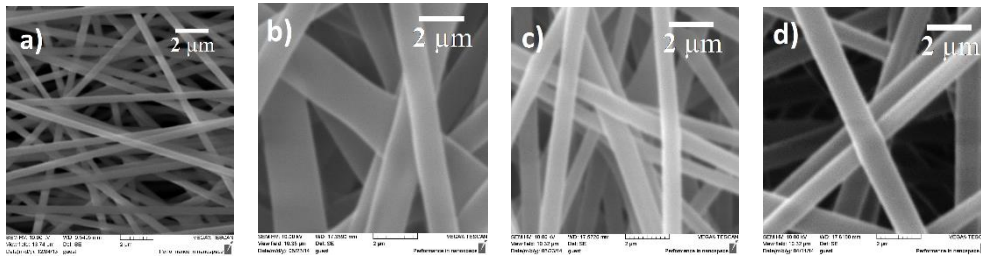
Graafik 2: Elastsusmooduli muutus KAl lisamisel.

### 3.4 Raudsitraat

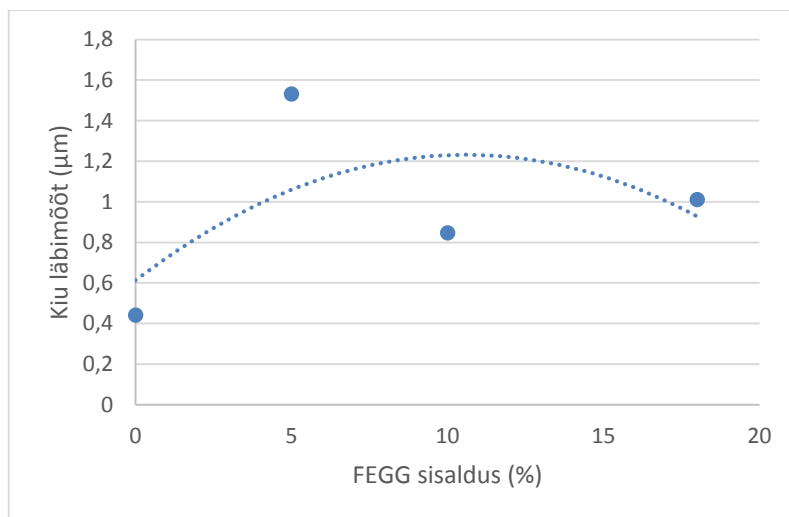
#### 3.4.1 SEM

Želatiinilahuse valmistamine toimus nii nagu eelneva lisandi puhul. Soola oli võimalik lisada lahusesse kuni 18 % ulatuses. Uuriti želatiinikangaid, mis olid saadud 10 % glükoosi ja 5, 10 või 18 % raudsitraati sisaldavatest lahustest. Valmistatud matid olid värvuselt beežid ning pärast ahjus ristsidestamist helepruunid. SEM-iga saadud piltide analüüsil selgus, et FEGG lisandina suurendab želatiinilahusest elektrospinnitud kiudude läbimõõte. 5 % FEGG lisamine suurendas kiu läbimõõte 0,4  $\mu\text{m}$ -lt 1,53  $\mu\text{m}$ -ni. 18% soola lisamine kasvatas kiu läbimõõdu 1  $\mu\text{m}$ -ni. 10 %

lisamisel oli tulemuseks 0,85  $\mu\text{m}$ -t, mis võib olla tingitud erinevast lahuse valmistamisest.



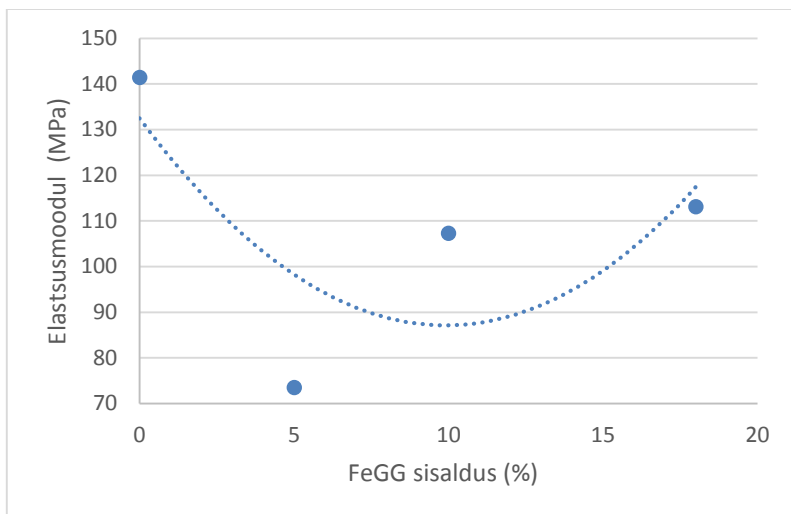
Joonis 8: a) standard želatiinkangas 0 % soola sisaldusega, b) 5 %, c) 10 % ja d) 18 % soola sisaldusega želatiinkangad.



Graafik 2: Kiu läbimõõdu muutus FEGG lisamisel.

### 3.4.2 Tõmbekatsed

Tõmbekatsete analüüsil selgus, et FEGG lisamine želatiinilahusesse kuni 18 %-ni kahandas oluliselt katsekehade elastsusmoodulit. 5 % FEGG puhul oli elastsusmoodul 74 MPa, edasisel soola lisamisel elastsusmoodul hakkas taas kasvama, 10% puhul kuni 107 Mpa ja 18 % puhul kuni 113 MPa. Siiski jäid kõik FEGG sisaldavad želatiinikangad oma elastsuse poolest alla tavalistele želatiini ja 10 % glükoosi sisaldavatele kangastele. Võime järeldada, et lisand FEGG ei interakteerunud želatiinimolekulidega ning ei panustanud mehaanilise tugevuse suurendamisse.

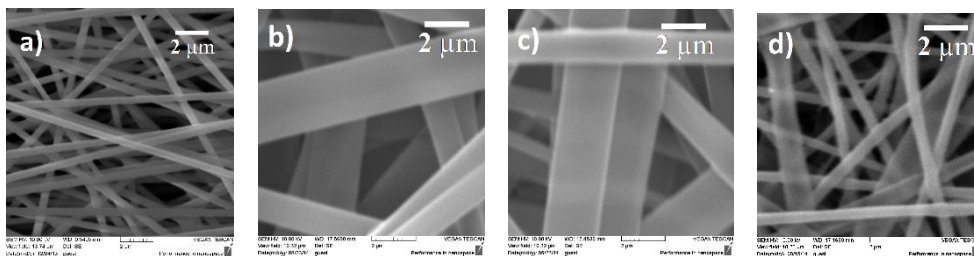


Graafik 4: Elastsusmooduli muutus FEGG lisamisel.

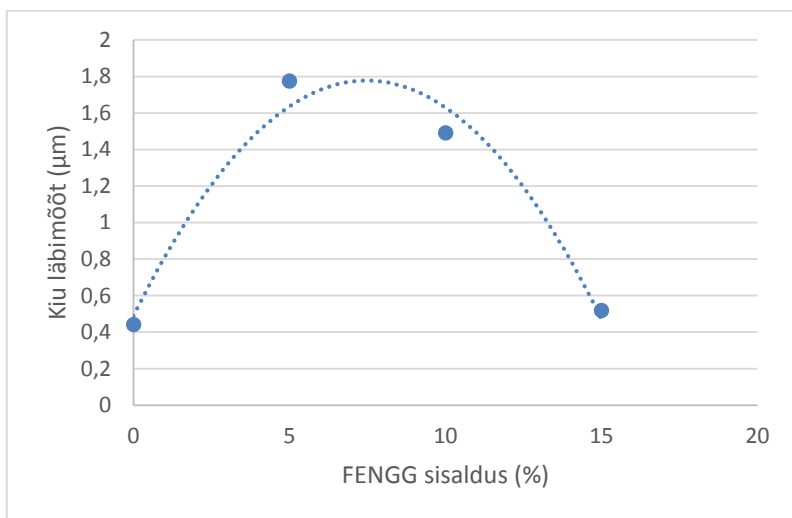
### 3.5 Raudnitraat

#### 3.5.1 SEM

Raudnitraat on sool, mida kasutatakse näiteks superparamagneetikute sünteesimisel sool-geel-meetodi rakendustes [23]. Želatiinilahuse valmistamine toimus nii nagu eelnevate lisandite puhul. Soola oli võimalik lisada lahusesse kuni 15 % ulatuses. Uuriti želatiinikangaid, mis olid saadud 10 % glükoosi ja 5, 10 või 15 % raudnitraati sisaldavatest lahustest. Valmistatud matid olid värvuselt valged ning pärast ahjus ristsidestamist helepruunid. Želatiinikangaid õnnestus valmistada vaid üsna väikseid, umbes veerand kollektori pinda katvaid tükke. SEM-iga saadud piltide analüüsil selgus, et FENGK kasutamine lisandina vahemikus 5-10 % suurendas oluliselt kiu läbimõõte. 5 % FENGK lisamine segule suurendades kiu läbimõõte 0,4  $\mu\text{m}$ -lt 1,77  $\mu\text{m}$ -ni. 10% FENGK lisamine avaldas samuti suurt mõju, suurendades kiu läbimõõte 1,49  $\mu\text{m}$ -ni. 15% FENGK sisalduse puhul toimus suur kiu läbimõõdu kasvu langus, viies läbimõõdu 0,52  $\mu\text{m}$ -ni. Arvatavasti on algne kiu läbimõõtude kasv põhjustatud lahuse kontsentratsiooni suurenemisest. 15 % FENGK sisalduse puhul toimus märgatav kiu läbimõõdu vähenemine, mis võis olla tingitud lahuse liiga pikaajalisest segamisest, kuna 15 % soola lisamisel on saadav lahus juba üsna viskoossne ning ainete täielikuks lahustumiseks kulub kauem aega. Liigne äädikalahuses oldud aeg aga nõrgendab želatiini kiude.



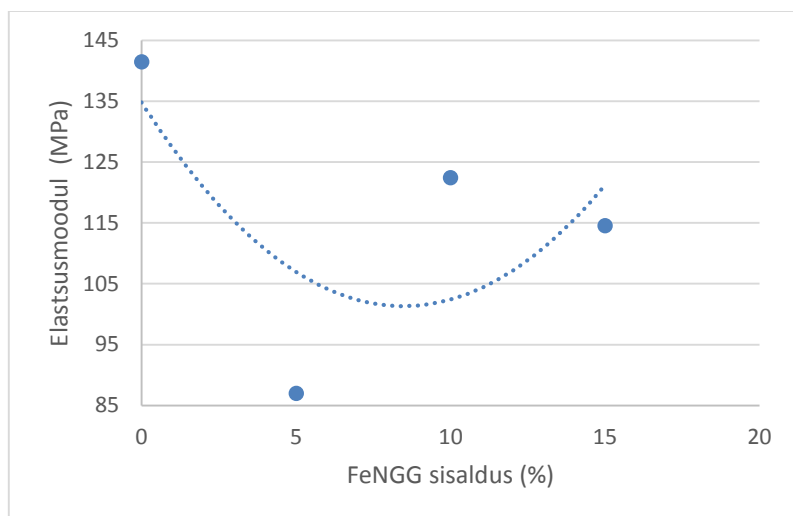
Joonis 9: a) standard želatiinkangas 0 % soola sisaldusega, b) 5 %, c) 10 % ja d) 15 % soola sisaldusega želatiinkangad.



Graafik 5: Kiu läbimõõdu muutus FENGG lisamisel.

### 3.5.2 Tõmbekatsed

Tõmbekatsete läbiviimist raskendas asjaolu, et FeNGG sisaldusega želatiinikangaid sai elektrospinnida vaid üsna väikse pindalaga kangana. Elektrospinnimisel ei jaotunud süstlast väljunud kiud ühtlaselt üle kollektori pinna vaid koondusid kollektori keskele. See tegi tõmbekatseteks piisavalt suurte tükkide saamise keeruliseks, sest želatiinikangaste elektrospinnimisel on mattide ääred õhemad mattide keskosast, kuid tõmbekatsete läbiviimisel on hea võtta uuritav tükk vaid mati keskosast. Tõmbekatsete analüüsil selgus, et FENGG lisamine želatiinilahusesse kuni 15 %-ni ei suurendanud želatiinikanga elastusmoodulit. 5 % FENGG lisamisel elastusmoodul kahanes 87 MPa-ni, 10 % puhul hakkas kiu läbimõõt taas kasvama 122 MPa-ni. 15 % FENGG puhul elastusmooduli kasv vähenes 115 MPa-ni. Saame järeldada, et soovitud mehaanilise tugevuse suurendamist FENGG abil ei ole võimalik saavutada.

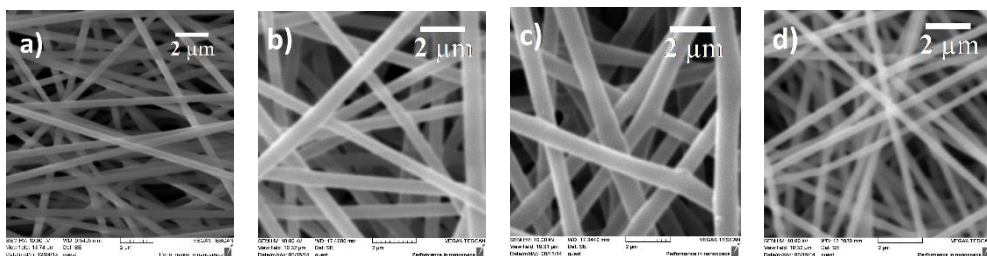


Graafik 6: Elastsumooduli muutus FeNGG lisamisel.

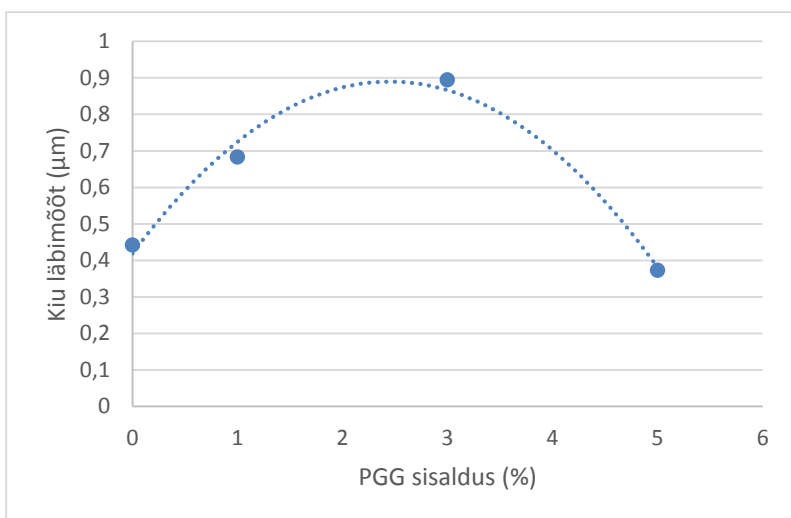
### 3.6 Polüaniliin

#### 3.5.1 SEM

Želatiinilahuse valmistamine toimus nii nagu eelneva lisandi puhul. Polüaniliini oli võimalik lisada lahusesse kuni 3 % ulatuses, sest suuremas koguses ei olnud võimalik mõistliku ajaga saada homogeenet lahust ning mittehomogeensed kõrgema kontsentratsiooniga lahused ummistasid süstla, mida kasutati elektrospinnimise läbiviimiseks. Elektrospinnimisel oli võimalik saada terve kollektori pinna suuruseid (umbes 10 cm läbimõõduga) želatiinimatte. Valmistatud matid olid värvuselt helerohelised ning pärast ahjus ristsidestamist pruunikas-rohelised. Saadud mattide puhul oli märgata, et nad laaduvad oluliselt rohkem kui teiste lisanditega valmistatud želatiinimatid, sest tõmbekatse läbiviimine oli raskendatud tükkide pideva tõmbumise tõttu kinnaste ja tõmbekatse klambrite vastu. Samuti olid saadud kangad üsna hüdrofoobsed [joonis 11]. Uuriti želatiinikangaid, mis olid saadud 10 % glükoosi ja 1, 3 või 5 % polüaniliini sisaldavatest lahustest. SEM-i analüüsil selgus, et 1 – 3 % PGG kasutamine lisandina suurendas kiu läbimõõte, vastavalt 0,68 ja 0,89  $\mu\text{m}$ -ni algsest 0,4  $\mu\text{m}$ -st. 5 % PGG lisamine vähendas kiu läbimõõtu 0,37  $\mu\text{m}$ -ni.



Joonis 10: a) standard želatiinkangas 0 % polüaniliini sisaldusega, b) 1 %, c) 3 % ja d) 5 % polüaniliini sisaldusega želatiinkangad.



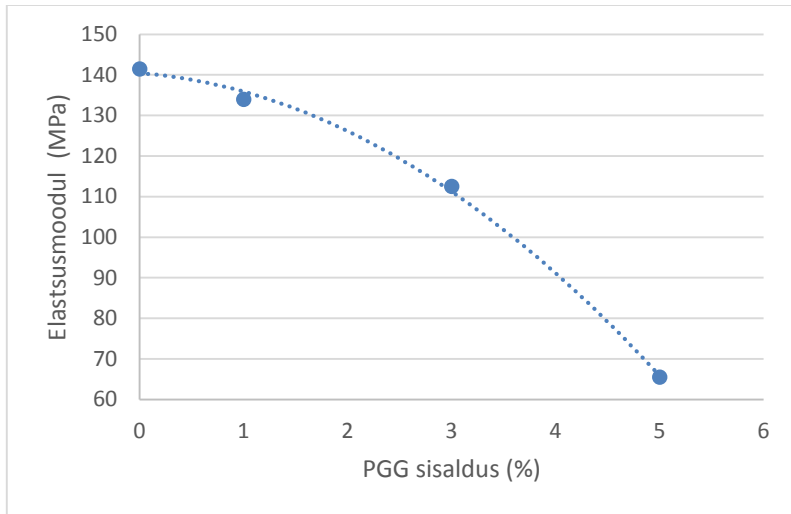
Graafik 7: Kiu läbimõõdu muutus PGG lisamisel.



Joonis 11: Polüaniliini sialdava želatiinikanga hüdorfoobsed omadused.

### 3.6.2 Tõmbekatsed

Tõmbekatsete analüüsil selgus, et PGG lisamine vähendas katsekehade elastsusmoodulit. Standard želatiinikanga elastsusmoodul on 141 Mpa, kuid 1% PGG koguse juures oli elastsusmoodul 134 MPa, 3 % juures 112,5 MPa ja 5 % juures 67 MPa. Võime järeldada, et soovitud materjali mehaanilise tugevuse suurendamist ei ole võimalik polüaniliini abil saada.



Graafik 8: Elastsumooduli muutus PGG lisamisel.

#### 4. Arutelu

Kuna eelnevalt oli lõputöö autori töörühmas uuritud želatiini ja glükoosi segust valmistatud želatiinikangaid, oli teada palju olulist infot katsete läbi viimiseks. Elektrosppinnimise parameetritest oli teada, et enamasti sobib ühtlase kiu saamiseks pinge 17,5 kV ja nõela otsa ning kollektori vaheline kaugus 14,5 cm [1]. Lisandite elektrosppinnimisel oli vaja olemasolevaid parameetreid vaid mõnel juhul muuta ühtlase kiu saamiseks. Samuti oli varasemalt välja selgitatud ristsidestamise toimumiseks vajalik kuumutamise aeg ja temperatuur [1].

SEM-ga tehtud pilte analüüsidest selgus, et kõikide lisanditega oli võimalik saada ühtlase kiudude jaotusega želatiinikangaid. Kiudude läbimõõdud soola lisamisel enamasti kasvasid, mis oli arvatavasti tingitud lahuse kontsentratsiooni suurenemisest.

FTIR analüüsi teostades oli ATR kristalli ja želatiinikangaste vahel head kontakti raske saada. Selle tõttu oli tihti sama sisaldusega kangaste spektrid erinevad ning tuli läbi viia korduskatseid lõplike järelduste tegemiseks. Muutused FTIR spektris viitavad sellele, et lisandid võivad põhjustada täiendavate ristsidemete teket želatiinimolekulidega. Suurimad muutused spektrites olid märgata lainearvudel 1031 ja 1082  $\text{cm}^{-1}$ , mis tavaliselt kinnitavad glükoosi ja želatiini molekulide vahel toimunud Maillard'i reaktsiooni. Samuti oli märgatav langus lainearvude 2878,2939,3073, 3300  $\text{cm}^{-1}$  piikidel. Kindlate järelduste tegemine keemiliste sidemete tekke ja lagunemise kohta ei olnud antud töö eesmärgiks ning ei ole täiendavalt analüüsitud.

Želatiinikanga mehaanilised omadused on mõjutatud väga paljude tegurite poolt: želatiini keskmine molekulmass, äädikalahuses hoidmise aeg, kiu läbimõõt, materjali ja õhu niiskusesisaldus, protsessiparameetrid. See teeb käesolevas töös määratud elastsusmoodulite absoluutväärtuste hindamise keerukaks ja võib põhjustada katsete halba korratavust. Töö käigus katsuti kõik mehaanilisi omadusi mõjutavad tegurid hoida võimalikult konstantsena, seetõttu võib arvata, et kuigi elastsusmoodulite absoluutväärtused võivad korduskatsete käigus olla erinevad, siis lisandite mõju, tugevuse muutumine vastavalt lisandi kontsentratsioonile, peaks jääma samaks. Parema korratavuse saavutamiseks tuleks kindlasti analüüsida suuremat hulka katsekehasid.

Selgus, et KAl lisamine muudab materjali mehaaniliselt tugevamaks. See aga, millist liiki täiendavate keemiliste sidemete teket KAl lisamine ikkagi põhjustab, ei ole käesoleva töö uurimisobjektiks ja vajab veel täiendavat uurimist. Käesolevas töös kasvas želatiinikangaste elastsusmoodul kogu vaadeldud KAl lisandi kontsentratsioonide vahemikus (5-15 %). Võime järeldada, et ka suuremal KAl sisaldusel kasvaks materjali elastsusmoodul veelgi ning selle kinnitamiseks, uuriti täiendavalt lisandi KAl mõju želatiinikanga mehaanilistele omadustele avaldatud artiklis [6], kus selgus, et KAl lisamine suurendab želatiinikanga elastsusmoodulit kuni 10% KAl sisalduseni. Käesolevas töös arvestati KAl lisandi sisalduse arvutamisel lisaks soola massile sisse ka soolaga seotud 12 veemolekuli mass, kuid artiklis vett sisalduse arvutamisel ei arvestatud. Seega selleks, et andmed oleksid võrreldavad peame arvestama, et käesolevas töös olid tegelikud KAl lisandi sisaldused umbes 2,3-6,8 %. Artikkel kinnitab seega käesoleva töö tulemuste järeldust, et ka edasisel KAl lisamisel želatiinikangaste elastsusmoodul suureneb. Želatiinikangaste väike mehaaniline tugevus on saanud piiravaks teguriks paljudes rakendustes. Seega tuleks nii naha kasvualuste, kangaste kui bioplastide tegemisel kasuks, kui oleks võimalik želatiinikanga mehaanilist tugevust tõsta.

FeNGG ja FEGG lisamisel küll želatiinkiudude läbimõõt suurenes nii nagu ka KAl puhul, kuid elastsusmoodulit see ei tõstnud. Põhjuseks võib olla erinevate ristsidemete tekkimine raua lisandite puhul. Uuritavatel lainearvudel vahemikus 1239-1562  $\text{cm}^{-1}$  oli mõlemal raua sisaldaval želatiinikangal märgata piikide langust. Võime oletada, et muutused on tingitud raua ionide reaktsioonist želatiinikius olevate funktsionaalrühmadega. Tegelike keemiliste sidemete tekke või lagunemise väljaselgitamine vajab täiendavat uurimist.

Polüaniliin želatiinikanga elastsusmoodulit ei suurendanud, kuid näitas häid hüdrofoobseid omadusi. Samuti oli märgata polüaniliini sisaldavate želatiinikangaste käsitlemisel, et need olid oluliselt rohkem mõjutatud elektrostaatika poolt ja see raskendas tükkide kinnitamist tõmbekatse seadme vahele, kuna kangas jäi pidevalt nii kinnaste kui tõmbekatseseadme klambrite külge kinni. Edasi tuleks uurida, kas polüaniliini sisaldavate želatiinikangaste hüdrofoobsed ja elektrilised omadused võivad olla kasuks rakkude kasvamisele kaasa aitamisega või bioplastide valmistamisel. Polüaniliini suuremal määral kasutamisel on takistuseks tema halb lahustuvus äädikhappe lahuses. Uurida tuleks erinevaid võimalusi, kuidas polüaniliini paremini

dispergeerida, et saavutada suurem kontsentratsioon ja ühtlasem jaotus kiududes. Tavapäraselt kasutatavaid orgaanilisi lahusteid sooviksime vältida nende toksilisuse ja kalli hinna tõttu.

## 5. Järeldused

Läbiviidud katsetes FeNGG ja FEGG lisamine želatiinikangastele olulisi muutuseid mehaanilistes omadustes esile ei kutsunud. Siiski võib uurida lisaks, kuidas antud soolad mõjutavad rakkude kasvamist meditsiinilistes rakendustes.

Uuritavatest lisanditest perspektiivikaimad olid KAl ja polüaniliin. Polüaniliin küll ei suurendanud želatiini kangaste elastsusmoodulit, kuid katsete käigus oli märgata polüaniliini sisaldavatel kangastel iseäraseid hüdrofoobseid ja elektrilisi omadusi. Edasi oleks võimalik uurida, kas antud omadusi oleks võimalik ära kasutada bioplastide valmistamisel.

KAl parandas želatiinikanga mehaanilisi omadusi terves uuritud vahemikus. Täiendavaid katseid tuleks läbi viia KAl sisalduse suurendamise võimaluste uurimiseks ning ka väiksemate sisaldustega segude lisakatseteks. Kuna hetkel ei olnud märgata KAl sisalduse suurenemisel elastsusmooduli kasvu langust, siis tuleks uurida kui elastseks on võimalik lisandi abil želatiinikangast saada. Hetkel on želatiinikangaste kasutamisel piiravaks saanud just mehaaniline nõrkus. Käesoleva töö tulemusena valiti KAl välja edasisteks põhjalikeks uuringuteks, mille tulemusena kinnitati, et lisand on võimeline parandama želatiinikanga mehaanilisi omadusi.

Käesoleva töö soovitud tulemus saavutati ja edaspidi saame teadlikult kasutada lisandit KAl želatiinikangaste mehaanilise tugevuse suurendamiseks. Mehaanilise tugevuse kasv avardab veelgi rohkem želatiinikanga, kui ülimalt biosobiva materjali, rakendamise võimalusi.

## **Kokkuvõte**

Juba mõnda aega on uuritud elektropinnitud želatiinikangaste rakendamise võimalusi nahakasvualustena, filtritena ja struktuurielementidena regeneratiivses meditsiinis. Elektropinnitud želatiinikangas on vees lahustuv ning selle parandamiseks ristseostatakse saadud kangad ahjus, muutes nad vees mittelahustuvaks. Siiski on želatiinikangaste kehvad mehaanilised omadused saanud piiravaks nende edasistel rakendamistel. On teada, et glükoosi lisamine želatiini ja äädikhappe lahusesse suurendab valmistavate kangaste mehaanilist tugevust, luues Maillard'i reaktsiooni läbi želatiinimolekuli funktsionaalrühmade vahele keemilisi sidemeid. Käesolevas lõputöös uuriti, kas täiendavad lisandid on võimelised veelgi želatiinikangaste mehaanilisi omadusi parandama. Selle jaoks uuriti 10 % glükoosi sisaldusega želatiinisegudele lisatud KAl, raudtsitraadi, raudnitraadi ja polüaniliini mõjusid. Töö tulemusena selgus, et perspektiivikaim lisand on KAl, mis suurendas želatiinikanga elastsusmoodulit 141 Mpa-lt 167 Mpa-ni (15 % KAl sisaldusel). Antud lisandit uuriti edasi avaldatud artiklis [6], mille tulemusena kinnitati KAl võimet parandada želatiinikangaste mehaanilist tugevust kuni 10% soolasisalduseni. Artikkel kinnitab seega käesoleva töö tulemuste järel dust, et ka edasisel KAl lisamisel želatiinikangaste elastsusmoodul suureneb.

## **Effect of additives on the properties of gelatin fabrics cross-linked by glucose**

Karol Mõisavald

### Summary

In the current work, electrospinning technique has been used to prepare fibrous gelatin-based meshes. Such meshes could be useful in tissue engineering and regenerative medicine, as well as filtering and several other applications.. Electrospun gelatin meshes are water-soluble, which makes them useless in practice. Gelatin meshes were cross-linked to make them insoluble. Thermal cross-linking creates chemical bonds between existing gelatin fibres. Although insoluble in water, pure cross-linked gelatin meshes are still relatively weak and glucose is added to the electrospinning solution to increase mechanical strength of gelatin-based meshes. Glucose forms chemical cross-links between gelatin molecules during thermal treatment. The additional cross-links increase gelatin meshes' mechanical strength. The aim of the current work was to further increase mechanical strength of electrospun gelatin meshes by the addition of KAl, ferric citrate, ferric nitrate or polyaniline. The results show that KAl is the most promising additive and its effect on gelatin meshes was further analysed in an already published article [6]. The article concluded that KAl is in fact an effective additive for increasing mechanical strength of gelatin meshes.

## **Tänuavaldused**

Käesolev lõputöö oli rahastatud Euroopa Liidu Euroopa Regionaalaregu fondi poolt läbi projektide „Süsiniknanotorude poolt toetatud elektropsinnitud nanokiud ja -niidid“ (3.2.1101.12-0018), „SmaCell“ (3.2.1101.12-0017) , Teaduste Tippkeskuse poolt „Mesosüsteemid: Teooria ja rakendused“ (3.2.0101.11-0029) projekti raames ja SA Eesti Teadusagentuur poolt stipendiumiga IUT2-25.

Kindlasti soovin tänada oma lõputöö juhendajat, Kaido Siimonit, äärmiselt toetava juhendamise eest. Mulle meeldis väga, et mind usaldati laboris olevaid masinaid iseseisvalt käsitsema ning samas aidati vajadusel info leidmisel ja analüüsimisel. Samuti soovin tänada Nanostruktuuride füüsika labori kollektiivi meeldiva koostöö eest.

## Kasutatud kirjandus

- <sup>1</sup> K Siimon, K; Reemann, P; Pöder, A; Pook, M; Kangur, T; Kingo, K; Jaks, V; Mäeorg, U; Järvekülg, M; Effect of glucose content on thermally cross-linked fibrous gelatin scaffolds for tissue engineering. *Materials Science & Engineering C* 2014; 41(1), 538-545. doi: 10.1016/j.msec.2014.05.075
- <sup>2</sup> Siimon, K; Siimon, H; Järvekülg, M; Mechanical characterization of electrospun gelatin scaffolds cross-linked by glucose. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2015; 26(1), 5375. doi: 10.1007/s10856-014-5375-1
- <sup>3</sup> Martins, S.I.F.S.; Jongen, W.M.F.; van Boekel, M.A.J.S; A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends Food Sci. Technol.* 2001; 11(9-10), 364-373. doi: 10.1016/S0924-2244(01)00022-X
- <sup>4</sup> Gorgieva, S; Kokol, V; Collagen- vs. Gelatin-based Biomaterials and Their Biocompatibility: Review and Perspectives. In: R. Pignatello (Ed.). *Biomaterials Applications for Nanomedicine*, 2011, Chapter 2.
- <sup>5</sup> Gomez-Guillen, MC; Perez-Mateos, M; Gomez-Estaca, J; Lopez-Caballero, E; Gimenez, B; Montero, P; Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology* 2009; 20(1), 3-16. doi: 10.1016/j.tifs.2008.10.002
- <sup>6</sup> Siimon, K; Mõisavald, K; Siimon, H; Järvekülg, M; Increasing mechanical strength of electrospun gelatin nanofibers by the addition of aluminum potassium sulfate. *Journal of Applied Polymer Science* 2015; 132(35), 42431. doi: 10.1002/app.42431
- <sup>7</sup> Zhong, SP; Zhang, YZ; Lim, CT; Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley Interdisciplinary Reviews – Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2010; 2(5) 510-25. doi: 10.1002/wnan.100
- <sup>8</sup> QP, Pham; U, Sharma; AG, Mikos; Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review. *Tissue engineering* 2006; 12(5), 1197-1211. doi: 10.1089/ten.2006.12.1197
- <sup>9</sup> Zhang, Y. Z.; Venugopal, J.; Huang, Z.-M.; Lim, C. T.; Ramakrishna, Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers S. *Polymer* 2006; 47(8), 2911-2917. doi: 10.1016/j.polymer.2006.02.046
- <sup>10</sup> Riquelme, N; Diaz-Calderon, P; Enrione, J; Matiacevich, S; Effect of physical state of gelatin-plasticizer based films on to the occurrence of Maillard reactions 2014; 175, 478-484. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.008
- <sup>11</sup> Bunn, HF; Higgins, PJ; Reaction of Monosaccharides with Proteins: Possible Evolutionary Significance. *Science* 1981; 213(4504), 222-224. doi: 10.1126/science.12192669
- <sup>12</sup> Nguyen, TH.; Lee, BT; Fabrication and characterization of cross-linked gelatin electro-spun nano-fibers. *J. Biomedical Science Engineering* 2010, 3, 1117-1124. doi: 10.4236/jbise.2010.312145
- <sup>13</sup> Pequignot, A.; Tumosa, C.S.; von Endt, D.W. The effects of tanning and fixing processes on the properties of taxidermy skins. In *Collection Forum* 2006, 21(1-2), 133-142.
- <sup>14</sup> R, Mazoy; LM, Botana; ML, Lemos; Iron uptake from ferric citrate by *Vibrio anguillarum*. *FEMS Microbiology Letters* 1997; 154(1), 145–150. doi: 10.1016/S0378-1097(97)00316-9
- <sup>15</sup> Pouget, JP; Jozefowicz, ME; Epstein, AJ; Tang, X; Macadiarmid, AG; X-ray structure of polyaniline. *Macromolecules* 1991; 24(3), 779-789. doi: 10.1021/ma00003a022

- 
- <sup>16</sup> A-D, Bendrea; L, Cianga; I, Cianga; Review paper: Progress in the Field of Conducting Polymers for Tissue Engineering Applications. *Journal of biomaterials applications* 2011; 26(1), 3-84. doi: 10.1177/0885328211402704
- <sup>17</sup> Mondragon, G; Pena-Rodriguez, C; Gonzalez, A; Eceiza, A; Arbelaiz, A; Bionanocomposites based on gelatin matrix and nanocellulose. *European Polymer Journal* 2015; 62, 1-9 doi: 10.1016/j.eurpolymj.2014.11.003
- <sup>18</sup> Birshstein, V. Y.; Tul'chinskii, V. M. A study of gelatin by IR spectroscopy. *Chemistry of Natural Compounds* 1982; 18(6), 697-700. doi: 10.1007/BF00579426
- <sup>19</sup> Ibrahim, M; Alaam, M; El-Haes, H; Jalbout, AF; de Leon, A. Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose. *Ecletica Quimica* 2006; 31(3), 15. doi: 10.1590/S0100-46702006000300002
- <sup>20</sup> Muyonga, J. H.; Cole, C. G. B.; Duodu, K. G. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*), *Food Chem.* 2004; 86(3), 325-332. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.09.038
- <sup>21</sup> Lin, L. -H.; Chen, K. -M.; Liu, H. -J.; Chu, H. -C.; Kuo, T. -C.; Hwang, M. -C.; Wang, Preparation and surface activities of modified gelatin–glucose conjugates, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2012, 408, 97-103. doi: 10.1016/j.colsurfa.2012.05.036
- <sup>22</sup> Covington, A.D; *Tanning Chemistry: The Science of Leather*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2011; peatükk 12, lk 259-262
- <sup>23</sup> Charoensuk, T; Sirisathikul, C; Tangwatanakul, W; Pinitsoontorn, S; Boonyang, U; Magnetic Phase Transitions in Macro/Mesoporous Bioactive Glass by Ferric Nitrate Addition in Sol-Gel Synthesis. *Journal of Ceramic Science and Technology* 2016; 07(1), 139-144. doi: 10.4416/JCST2015-00065

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, \_\_\_\_\_Karol Mõisavald\_\_\_\_\_,  
(*autori nimi*)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

LISANDITE MÕJU GLÜKOOSIGA RISTSIDESTATUD ŽELATIINIKANGA  
OMADUSTELE

\_\_\_\_\_  
(*lõputöö pealkiri*)

mille juhendaja on \_\_\_\_\_Kaido Siimon\_\_\_\_\_,  
(*juhendaja nimi*)

- 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
  - 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
  3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **01.06.2016**