

STABILNI HIDROGELI IZ NANOFIBRILIRANE CELULOZE

STABLE HYDROGELS FROM NANOFIBRILLATED CELLULOSE

Jaka Levanič^{1*}, Ida Poljanšek¹, Primož Oven^{1**}

UDK 630*813:544.773.432
 Pregledni znanstveni članek / [Review scientific article](#)

Prispelo / [Received](#): 16. 10. 2019
 Sprejeto / [Accepted](#): 27. 11. 2019

Izvleček / Abstract

Izvleček: Nanocelulozni hidrogeli so med najbolj perspektivnimi materiali z visoko dodano vrednostjo, ki jih je moč pridobiti iz celuloznih virov. V tem prispevku so predstavljeni postopki izdelave hidrogelov, ki temeljijo na nanocelulozi, ter njihova potencialna uporaba in varnostni vidik. V prihodnosti bodo namreč nanocelulozni materiali eni vodilnih produktov, ki bodo izhajali iz gozdno lesnega sektorja zaradi njihove visoke dodane vrednosti in potenciala za zamenjavo sintetičnih materialov.

Ključne besede: nanoceluloza, nanofibrilirana celuloza, nanocelulozni hidrogeli, hidrogeli, biomateriali, biopolimeri

Abstract: Nanocellulose hydrogels are amongst the most promising materials with a high added value that can be obtained from cellulose sources. In this manuscript we present different paths to obtaining nanocellulose based hydrogels as well as their use and safety. In the future, nanocellulosic materials will be one of the leading products that stems from the forestry and wood products sectors due to its high added value and potential to replace a number of synthetic materials.

Keywords: nanocellulose, nanofibrillated cellulose, nanocellulose hydrogels, hydrogels, biomaterials, biopolymers

1 UVOD

1 INTRODUCTION

Celuloza je najpogostejši naravni polimer na zemlji, z naravnim prirastom $7,5 \times 10^{10}$ ton (Habibi, 2014). Celuloza je osnovni gradnik vsake rastlinske celice, tudi celice lesa, kjer predstavlja strukturo, ki zagotavlja natezno trdnost tega biokompozita. Celulozna makromolekula je linearna homopolimerna veriga, sestavljena iz glukočnih enot, ki so med seboj povezane z beta glikozidnimi vezmi. Najmanjša ponavljajoča se enota celulozne verige je celobiozna enota (Fengel & Wegener, 1984). Stopnja polimerizacije celulozne verige je med 1000 in 15000, pri čemer pa velja poudariti, da je stopnja polimerizacije v veliki meri odvisna od izvora celuloze in tehnologije pridobivanja (Dufresne, 2013). Celuloza je naraven, obnovljiv, trajnosten in razgradljiv material, ki z izjemno širokim spektrom uporabnosti učinkovito konkurira materialom, ki so zasnovani na fosilnih surovinskih virih. To velja

tudi za nanocelulozo. Klasifikacija in lastnosti celuloznih nanomaterialov so v veliki meri pogojena s postopkom pridobivanja. Z mehansko fibrilacijo celulozne surovine lahko pridobimo celulozne nanofibrile (gibke nitaste strukture, premer 3 – 100 nm, dolžina > 1 μm) (Habibi, 2014) medtem ko močna kislinska hidroliza razgradi amorfna področja v celulozni strukturi, produkt, ki pri tem nastane, pa so celulozni nanokristali (togi paličasti delci, premer 3 – 5 nm, dolžina 100 – 200 nm) (Roman, 2015). Na lastnosti celuloznih nanomaterialov močno vplivajo tudi različni postopki predobdelave, ki olajšajo fibrilacijo med mehansko obdelavo celuloznih vlaken. Med postopke predobdelave sodijo; oksidacija z (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oksil oz. TEMPO oksidacija (Saito et al., 2007), karboksimetiliranje (Wågberg et al., 2008), delna encimatska hidroliza (Henriksson et al., 2007) in številne druge (Dufresne, 2013). Na površinsko kemijo celuloznih nanokristalov lahko vplivamo tudi z izbiro močne kisline, s katero prednostno hidroliziramo amorfna področja celuloze, npr. z žveplovo(VI) kislino (sulfatni ester), fosforjevo(V) kislino (fosfatni ester) ali klorovodikovo kislino (brez funkcionalne skupine, nestabilen koloid) (De France et al., 2017).

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

* e-pošta: jaka.levanic@bf.uni-lj.si

** e-pošta: primoz.oven@bf.uni-lj.si

Celulozne nanofibrile in celulozni nanokristali imajo zelo široko področje uporabe, saj obe vrsti nanoceluloze lahko vključujemo v različne polimerne matrice kot nano-ojačitev ali pa iz njih izdelujemo nove materiale, kamor sodijo tudi nanocelulozni hidrogeli. Hidrogeli so tridimenzionalne, hidrofilne polimerne strukture, ki so sposobne zadrževati veliko količino vode ali drugih bioloških kapljev (Caló & Khutoryanskiy, 2015). Hidrogele lahko klasificiramo glede na materiale, ki jih gradijo in po mehanizmu nastanka. Hidrogeli so lahko narejeni iz bioloških ali sintetičnih materialov, lahko pa so zasnovani na obeh vrstah gradnikov, kar označujemo z izrazom hibridni hidrogeli (Buwalda et al., 2017). Mehanizmi nastanka hidrogelov so različni, temeljijo lahko na fizikalnem premreženju z nekovalentnimi oziroma fizikalnimi interakcijami, kemičnem zamreženju s kovalentnimi vezmi ali kombinaciji obeh (Buwalda et al., 2017). Bio-osnovani hidrogeli so praviloma tudi biološko razgradljivi. (Caló & Khutoryanskiy, 2015). Polisaharidni hidrogeli, vključno z (nano) celuloznimi, so v zadnjem času deležni velike pozornosti zaradi široke dostopnosti, biorazgradljivosti, biokompatibilnosti in včasih tudi svoje bioaktivnosti (Jun Liu et al., 2016a). Aktualne raziskave na področju hidrogelov se osredotočajo na uporabo gradnikov, ki lahko zamrežujejo. Tu prednjačijo predvsem hidrogeli na osnovi alginatov, ki jih pridobivamo iz morskih alg. Alginati so zaradi svoje netoksičnosti, biokompatibilnosti in sposobnosti zamreženja z dodatkom dvovalentnih ionov (Ca^{2+}) zelo razširjeni na področju biomedicine (Lee & Mooney, 2012). Uveljavljeni naravni materiali, ki se uporabljajo za izdelavo hidrogelov, so še hialuronska kislina, kolagen, hitosan in fibrin (Antoine et al., 2014; Highley et al., 2016; Lee & Mooney, 2001; Xu et al., 2017).

Namen tega članka je pripraviti pregled najpogosteje uporabljenih postopkov izdelave tako imenovanih bio-osnovanih in hibridnih hidrogelov, kjer je osnovni gradnik nanoceluloza, ki izvira iz lesne biomase, v sklepnem delu razprave pa se bomo posvetili varnostnim vidikom in možnim uporabam hidrogelov. Nanoceluloza predstavlja trajnostno alternativo različnim sintetičnim materialom za proizvodnjo hidrogelov.

2 NARAVNI HIDROGELI 2 NATURAL HYDROGELS

2.1 BAKTERIJSKA CELULOZA 2.1 BACTERIAL CELLULOSE

V kategorijo naravnih hidrogelov lahko uvrstimo bakterijsko celulozo. Le-ta je kemijsko identična rastlinski celulozi, vendar ima drugačno morfologijo in je bistveno čistejša, saj ne vsebuje primesi v obliki hemiceluloz ali lignina (Esa et al., 2014). Nekatere vrste bakterij iz rodov *Gluconobacter* (*Acetobacter*), *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Rhodobacter*, *Sarcina*, *E. Coli* in *Salmonella* spp. so sposobne proizvodnje bakterijske celuloze ob prisotnosti vira ogljika, najpogosteje v obliki ostankov živilsko predelovalne industrije, ki vsebujejo visoke deleže ogljikovih hidratov in beljakovin (Esa et al., 2014; Lin et al., 2014). Bakterija, ki je industrijsko zanimiva, je *Gluconobacter xylinus* (ssp. *Acetobacter acetii*). *G. xylinus* je gram negativna, striktno aerobna bakterija, ki so jo prvič odkrili med proizvodnjo kisa, saj je na površini fermentacijske tekočine tvorila gelasto membrano iz celuloznih fibril z visoko vsebnostjo vode. Mehanizem nastanka bakterijskih celuloznih hidrogelov je dokaj enostaven, saj temelji na fizičnem prepletu dolgih fibril in nastanku vodikovih vezi med njimi. Bakterijska celuloza ima večji indeks kristaliničnosti (73,19 %) in vsled tega boljše mehanske lastnosti kot lesna celuloza (med 40 in 50 %) (Park et al., 2010), pri čemer je kristaliničnost slednje odvisna tudi od tehnologije pridobivanja in lesne vrste (Andersson et al., 2003). Bakterijsko celulozo lahko po čiščenju ostankov odmrlih bakterij že uporabimo kot oblogo pri opeklinah in drugih površinskih ranah, predvsem zaradi biokompatibilnosti in zagotavljanja ugodnih pogojev za celjenje ran (Sulaeva et al., 2015).

3 FIZIKALNI HIDROGELI IZ NANOFIBRILIRANE CELULOZE 3 PHYSICALLY GELLED HYDROGELS FROM NANOFIBRILLATED CELLULOSE

3.1 Z ALKALIJAMI INDUCIRANO ŽELIRANJE DISPERZIJE CELULOZNIH NANOFIBRIL 3.1 STRONG ALKALI INDUCED GELATION OF A CELLULOSE NANOFIBRIL DISPERSION

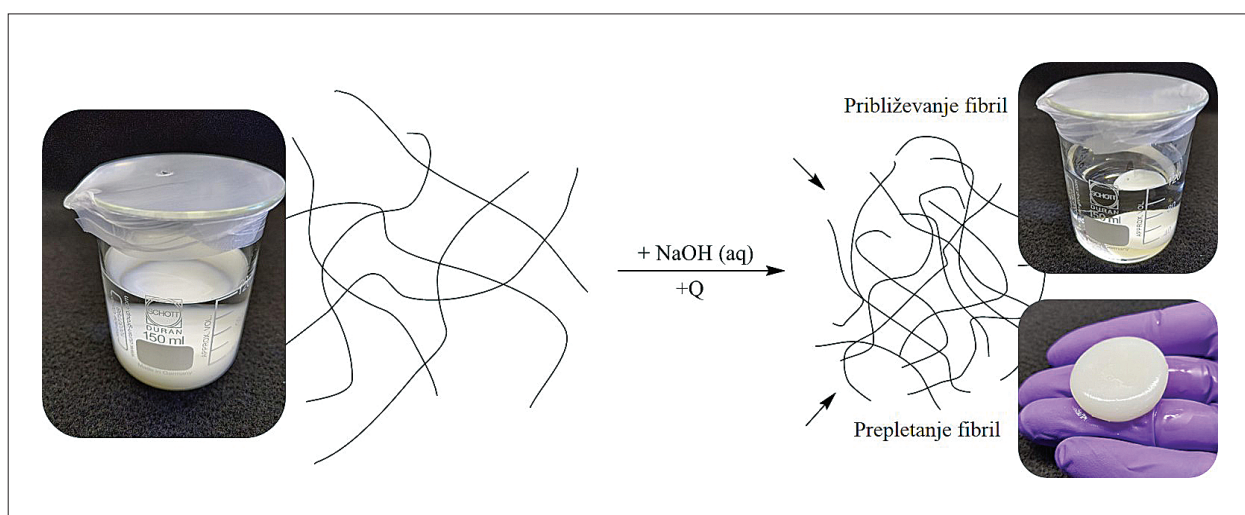
Prve hidrogele na osnovi celuloznih nanofibril, pridobljenih iz lesne celuloze, so razvili Abe in sod. z obdelavo disperzije celuloznih nanofibril s 15 ut. %

raztopino natrijevega hidroksida ter nevtralizacijo hidroksida z razredčeno očetno kislino (Abe & Yano, 2011). Mehanizem nastanka tovrstnih hidrogelov je kompleksen. V prvi fazi gre za individualno krčenje celulozних nanofibril pri koncentracijah NaOH pod 12 ut.%. S krčenjem fibril se hkrati povečuje prepletanost fibril in posledično tvorba stabilnega hidrogela. Pri koncentracijah nad 12 % so longitudinalni skrčki fibril še bistveno večji, zato hitreje pride do približevanja (koalescence) fibril, povečajo pa se tudi volumski skrčki hidrogela. To ima tudi pozitiven vpliv na mehanske lastnosti hidrogelov. Hkrati se z večanjem koncentracije NaOH prične spreminjati kristalna struktura celuloze, le-ta začne prehajati iz celuloze I v celulozo II. Kritična meja koncentracije NaOH je med 12 – 15 ut.%. Ob pretvorbi celuloze I v celulozo II pride do nastanka prepletene in neprekinjene fibrilarne strukture, kar dodatno prispeva k dobrim mehanskim lastnostim hidrogelov iz celuloze II (Abe & Yano, 2012). Tako nastali hidrogel je potrebno nevtralizirati s šibkimi kislinami (npr. očetna kislina), kar še dodatno izboljša mehanske lastnosti hidrogelov zaradi ireverzibilne koalescence celulozних nanofibril oz. nastanka vodikovih vezi. Nastanek tovrstnih hidrogelov je torej kombiniran proces, v katerem imajo ključno vlogo približevanje, prepletanje in krčenje nanofibril, nastanek vodikovih vezi med njimi ter pretvorba kristaliničnih območij iz celuloze I v celulozo II.

3.2 KOORDINACIJSKO PREMREŽENJE Z VEČVALENTNIMI KOVINSKIMI KATIONI

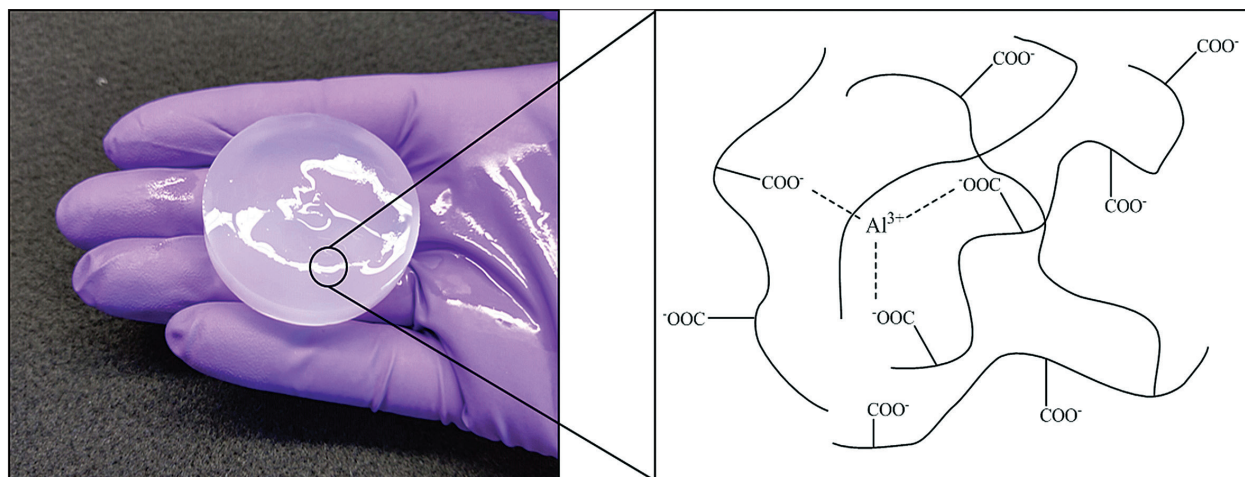
3.2 MULTIVALENT METAL CATION COORDINATED CROSSLINKING

Površinsko negativno nabita nanoceluloza tvori z eno ali večvalentnimi kationi stabilne hidrogelne. Kovinski kationi tvorijo kompleks s prisotnimi deprotoniranimi karboksilnimi skupinami na površini celulozних nanofibril. Ugotovili so, da lahko z uporabo različnih kationov vplivajo na mehanske lastnosti hidrogelov (Dong et al., 2013a). Hidrogeli, ki so jih kompleksirali s Ca^{2+} kationom, so imeli modul elastičnosti 3,39 kPa, hidrogeli kompleksirani z Fe^{3+} kationom, pa so imeli višji modul elastičnosti, kar 31,6 kPa (Dong et al., 2013a). Oba hidrogela sta bila pripravljena iz osnovne disperzije TEMPO modificiranih celulozних nanofibril, ki ima bolj viskozen karakter, elastični modul pa zgolj 0,0021 kPa (Dong et al., 2013a). Podobne hidrogelne so uspeli pripraviti tudi z uporabo površinsko nabitih celulozних nanokristalov (SO_4^{2-} skupine) (Chau et al., 2015). Mehanizem nastanka hidrogela iz celulozних nanokristalov je podoben kot v primeru celulozних nanofibril, vendar so potrebne višje koncentracije nanokristalov (> 4 ut.%). Zaradi negativnega naboja na površini celulozних nanokristalov se ob dodatku kovinskih kationov tvorijo stabilni hidrogeli. Kot v primeru površinsko nabitih celulozних nanofibril so mehanske lastnosti nastala



Slika 1. Nastanek hidrogela zaradi delovanja močne raztopine natrijevega hidroksida, ki povzroči približevanje in prepletanje celulozних nanofibril (Foto: J. Levanič).

Figure 1. Hydrogel formation due to the action of a concentrated sodium hydroxide solution, which induces coalescence and fibril interdigitation (Foto: J. Levanič).



Slika 2. Zaradi interakcije večvalentnega kationa (npr. Al^{3+}) s površinsko negativno nabito obliko nanofibrilirane celuloze nastane stabilen hidrogel (Foto: J. Levanič).

Figure 2. Interaction of a multivalent metal cation (Al^{3+} for example) with negatively surface charged nanofibrillated cellulose and the subsequent formation of a stable hydrogel (Foto: J. Levanič).

lih hidrogelov odvisne od uporabljenega kationa (Chau et al., 2015). Trdnost vezi med karboksilnim anionom in kovinskim kationom je močno odvisna od elektronske strukture kovinskega kationa ter njegove afinitete do karboksilatnega aniona (Dong et al., 2013a). Kationsko premreženi nanocelulozni hidrogeli so med bolj raziskanimi tipi hidrogelov za aplikacije na področju biomedicine, predvsem zaradi možnosti uporabe določenih kationov z biocidno aktivnostjo oz. zaradi njihove inertnosti in primernosti za stik s človeškimi tkivi (Basu et al., 2018; Rashad et al., 2017; Zander et al., 2014).

3.3 IZNIČENJE POVRŠINSKEGA NABOJA 3.3 SURFACE CHARGE NULLIFICATION

Eden najpreprostejših načinov za tvorbo nanocelulozних hidrogelov, ki je uporaben pri različnih vrstah nanofibrilirane celuloze z negativnim površinskim nabojem, je nižanje pH vrednosti disperznega medija. Površinski naboj (npr. pri karboksilatnem anionu) je pomemben za elektrostatsko stabilizacijo koloidnega sistema zaradi odboja med delci z istoimenskim nabojem. Ob dodatku H_3O^+ ionov izničimo površinski naboj in zmanjšamo stabilnost koloida. V primeru, ko so dispergirani delci z velikim nazivnim presečnim razmerjem, pride v disperziji do kolizije delcev, med katerimi se zaradi pomanjkanja istoimenskega naboja vzpostavi trajen kontakt na podlagi van der Waalsovih sil

in vodikovih vezi. Le-te prevladajo nad intenziteto elektrostatskih odbojnih sil, posledično pride do tvorbe nereverzibilnega steklastega stanja in do tako imenovanega koloidnega stekla oziroma »Volume spanning arrested state, VAS« (Nordenstrom et al., 2017).

4 KEMIJSKO PREMREŽENI NANOCELULOZNI HIDROGELI

4 CHEMICALLY CROSSLINKED NANOCELLULOSE HYDROGELS

4.1 KOVALENTNA VEZAVA CELULOZNIH NANOFIBRIL V POLIMERNI MATRICI

4.1 COVALENTLY BOUND CELLULOSE NANOFIBRILS IN A POLYMER MATRIX

Kovalentno premreženje nanoceluloze je pomemben vidik izdelave hidrogelov, še posebej v kombinaciji nanoceluloze z različnimi sintetičnimi polimernimi matricami. Pri snovanju takšnih hidrogelov se izkoriščajo najboljše lastnosti obeh komponent. Reaktivnost in kontrolirana struktura sintetičnih polimerov na eni strani ter velika afiniteta do vode in velik ojačitveni potencial nanoceluloze na drugi strani (Nair et al., 2014). Tako so Nair in sod. (2014) pripravili hibridni hidrogel iz kopolimera metil-vinil-etra in maleinske kisline ter poli(etilenglikola) (PMVEMA/PEG) z visokimi utežnimi deleži nanofibrilirane celuloze (NFC). Hidrogeli, ojačani s 75 % utežnim deležem NFC,

pridobljene iz listavcev, so imeli natezno trdnost 20,41 MPa. Hidrogeli, ojačani z enakim utežnim deležem NFC, ki pa je bila pridobljena iz iglavcev, so imeli bistveno višjo natezno trdnost in sicer 31,38 MPa.

4.2 ZAMREŽENJE CELULOZNIH NANOFIBRIL Z VEČFUNKCIONALNIMI AMINI

4.2 MULTIFUNCTIONAL AMINE CROSSLINKING OF CELLULOSE NANOFIBRILS

Med prvimi hidrogeli iz TEMPO modificirane nanoceluloze so bili poleg kationsko stabiliziranih tudi hidrogeli, pripravljeni s tvorbo Schiffovih baz. Te so tvorili z reakcijo med rezidualnimi aldehidnimi skupinami po TEMPO oksidaciji in večfunkcionalnimi amini, npr. z etilendiaminom in heksametilendiaminom (Syverud et al., 2014). Z izkoriščanjem nastanka Schiffovih baz na dialdehid celulozi (DAC) je možno pripraviti specifične hidrogelne z odzivom na določen dejavnik (temperaturo, pH, redoks pogoje ali obsevanje z UV svetlobo). Poleg tega je možno pripraviti tudi reverzibilne hidrogelne, kjer izkoriščajo tvorbo in razpad Schiffove baze med DAC in heksametilendiaminom s spreminjanjem vrednosti pH. Nastanek hidrogela se sproži s preprihovanjem disperzije DAC in heksametilendiamina z amonijakom, konverzijo hidrogela nazaj v tekočo disperzijo pa se sproži s preprihovanjem hidrogela s plinasto klorovodikovo kislino (Liu et al., 2017).

4.3 Z EPOKSIDI PREMREŽENI NANOCELULOZNI HIDROGELI

4.3 EPOXIDE CROSSLINKED NANOCELLULOSE HYDROGELS

Epoksidna funkcionalna skupina je izredno reaktivna in z lahkoto tvori kovalentne vezi z mnogimi drugimi funkcionalnimi skupinami, tudi z alkoholi ob prisotnosti baze. S tega vidika je možno uporabljati bifunkcionalne epoksidge za premreženje celuloznih struktur. Eden od primerov je heterogena reakcija med 1,4-butandiol diglicidil etrom (BDDE) in nanofibrilirano celulozo. Pri tem pride do premreženja med tema dvema komponentama. Dodatek nanofibrilirane celuloze je izboljšal mehanske lastnosti 3D strukture (Xu et al., 2018). Reakcije z epoksidom je možno voditi tako v heterogeni kot homogeni fazi (oz. v celuloznih raztopinah). Tako so uspeli pripraviti stabilne ce-

lulozne hidrogelne z raztapljanjem celuloze v vodni raztopini NaOH/urea z dodatkom BDDE. Končni cilj raziskave je bil sicer aerogel s kontrolirano poroznostjo, kjer pa je bila vmesna faza stabilen hidrogel, kateremu so sublimacijsko odstranili vodo (Liu et al., 2016c).

5 HIDROGELI S FIZIČNO UJETIMI CELULOZNIH NANOFIBRILAMI V POLIMERNI MATRICI

5 HYDROGELS WITH PHYSICALLY ENTRAPPED CELLULOSE NANOFIBRILS IN A POLYMER MATRIX

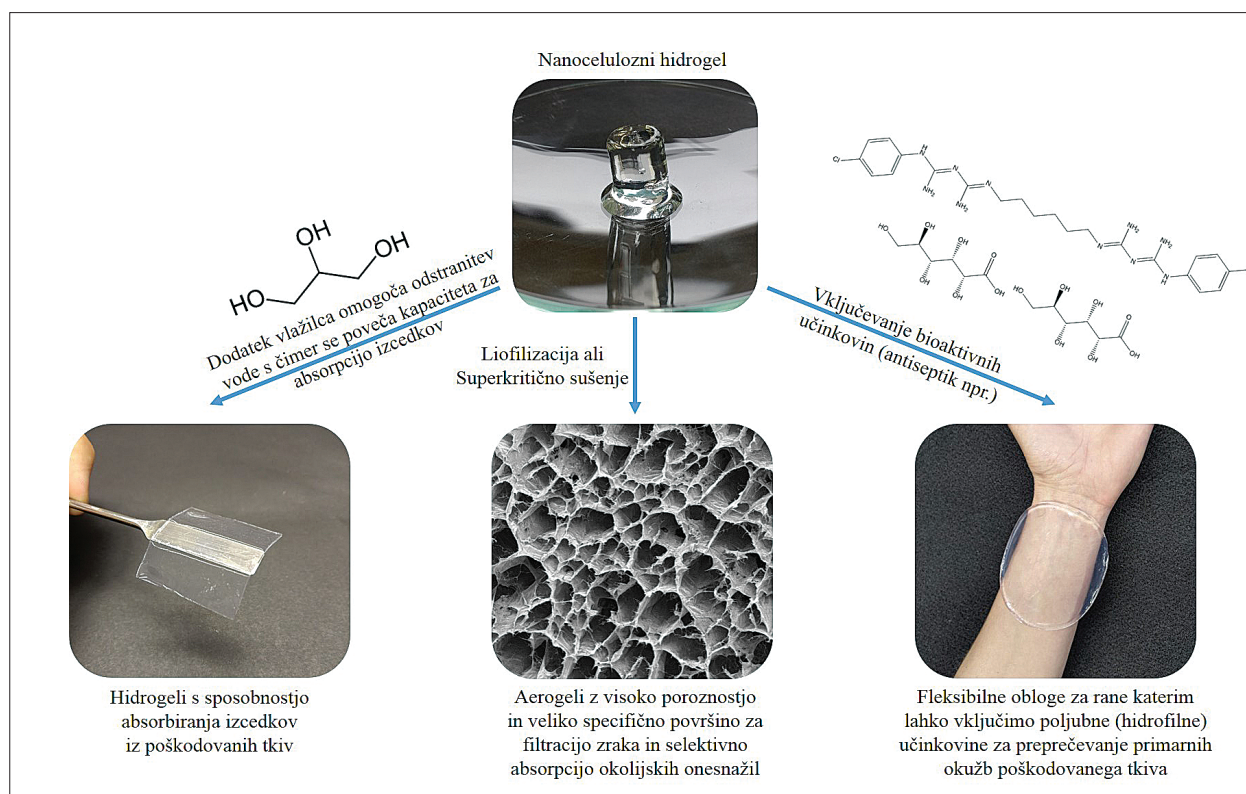
Veliko bolj pogosti kot kovalentno premreženi NFC hidrogeli so hidrogeli, kjer je NFC fizično ujeta v premreženo hidrofilno polimerno matrico. Za proizvodnjo tovrstnih hidrogelov je v osnovi omejitvele kompatibilnost polimerne matrice z nanofibrilirano celulozo. Raziskovalcem je uspelo pripraviti hidrogelne s premreženjem kolagena z glutaraldehydom in dodatkom celuloznih nanofibril. Nanofibrilirana celuloza v tem primeru deluje kot dobra ojačitev, saj je bila pri 75 % utežnem deležu dodane nanofibrilirane celuloze dosežena največja natezna trdnost v mokrem stanju 77 MPa, raztezek pa 0,8 % (Mathew et al., 2011). Ista skupina je v drugi raziskavi nadomestila glutaraldehyd z genipinom zaradi bistveno manjše toksičnosti, rezultat so bili hidrogeli s slabšimi mehanskimi lastnostmi. Pri 75 % utežnem deležu dodane NFC je bila natezna trdnost 42 MPa in raztezek 19 %, vendar brez zadržkov glede njihove toksičnosti (Mathew et al., 2013). Med sintetičnimi hidrogeli prednjačijo hidrogeli iz poli(akrilamida), poli(akrilne kisline) in poli(metilenbisakrilamida), ki so zaradi svoje hidrofilne narave primerni za pripravo kompozitnih hidrogelov z nanofibrilirano celulozo. Tovrstni hidrogeli imajo lahko potencialno zelo visoke natezne trdnosti. Kompozitni hidrogel poli(akrilamida) in poli(akrilne kisline) sami po sebi ne dosežajo visoke natezne trdnosti (0,25 – 0,30 MPa), z dodatkom 10 % utežnega deleža celuloznih nanofibril pa se natezna trdnost poveča na 2,7 MPa, prav tako se poveča raztezek pri pretrgu (32 % → 50 %) (Mahfoudhi & Boufi, 2016). Pomembna lastnost hidrogelov je tudi kapaciteta za zadrževanje vode, ki naj bi bila čim večja. Hidrogelne z lastnostmi superabsorberjev je moč pripraviti z dodatkom celuloznih

nanofibril v kopolimerno matrico iz hitosana in poli(akrilne kisline). Z dodatkom 10 % utežnega deleža celuloznih nanofibril se je povečala kapaciteta zadrževanja vode iz 381 na 486 gramov vode na gram suhe snovi superabsorberja (Spagnol et al., 2012). Atraktivnost tovrstnih hidrogelov je sicer velika, vendar so problematični z vidika toksičnosti komponent v primeru, da so prisotni prosti monomeri. Možno je pripraviti tudi hidrokele z uporabo razvejanih in z amini zaključenih poli(etilenglikolov) (PEG-NH₂) in TEMPO modificirane celuloze (Yang et al., 2015). Do nastanka stabilnega hidrogela pride zaradi interakcije površinskih nabojev, pozitivnega na amski skupini poli(etilenglikola) ter negativnega karboksilatnega aniona TEMPO celuloze. Mehanske lastnosti hidrogela so odvisne predvsem od deleža TEMPO oksidiranih celuloznih nanofibril (TCNF). Hidrogel, ki so ga razvili iz 0,8 ut.% TCNF in 2 ut.% razvejanega PEG-NH₂, je imel vrednost elastičnega modula 300 Pa, s povečanjem deleža TCNF na 2 ut.% se je tudi elastični modul dvignil na 900 Pa (Yang et al., 2015).

6 POTENCIALNA UPORABA NANOCELULOZNIH HIDROGELOV

6 POTENTIAL USES OF NANOCELLULOSE HYDROGELS

Uporaba hidrogelov je zelo raznolika, od bolj preprostih aplikacij kot zadrževanja vode v kmetijstvu do visoko zahtevnih optičnih pripomočkov kot so kontaktne leče (Caló & Khutoryanskiy, 2015). Najbolj perspektivna uporaba nanoceluloznih hidrogelov pa so medicinske aplikacije. Medicinska uporaba sintetičnih hidrogelov, kot so npr. poli(akrilamid), poli(akrilna kislina) in drugi, ima že dolgo tradicijo. Med naravnimi hidrogeli so se uveljavili hidrogeli na osnovi želatine, alginske kisline in na primer, hialuronske kisline. Razvoj nanoceluloznih hidrogelov je trenutno še v povojih, saj je potrebno dodobra raziskati njihove dolgoročne učinke na zdravje ljudi. Med zelo verjetne potencialne uporabe nanoceluloznih hidrogelov štejemo strukture za dostavo zdravilnih učinkovin s kontroliranim sproščanjem (Paukkonen et al., 2017), strukture za proliferacijo humanih celic z namenom nadomeščanja



Slika 3. Potencialne uporabe hidrogelov za izdelke z visoko dodano vrednostjo (obloge za rane, filtracijski sistemi...) (Foto: J. Levanič).

Figure 3. Potential uses of hydrogels for high added value products (wound treatment, filtration systems...)

poškodovanih tkiv (Liu et al., 2016b; Rashad et al., 2017; Syverud et al., 2014; Xu et al., 2018; Zander et al., 2014) ter zdravljenje površinskih poškodb (Dong et al., 2013b; Liu et al., 2016b).

7 VARNOST NANOCELULOZNIH HIDROGELOV

7 SAFETY OF NANOCELLULOSE HYDROGELS

V biomedicini veljajo izjemno strogi pogoji za uporabo materialov, predvsem z vidika kratkoročne in dolgoročne varnosti ter potencialnih interakcij s tkivom ciljnega organizma. Toksičnost celulozних nanodelcev je odvisna od mnogih, še ne popolnoma razjasnenih dejavnikov in njihovih interakcij s celicami znotraj telesa. V primeru različnih velikostnih frakcij celulozних nanofibril je bilo ugotovljeno, da velikost celulozних nanofibril sama po sebi nima vpliva na rast in preživetje humanih epitelnih celic adenokarcinoma (HeLa 229 ATCC). Preživetje je odvisno od koncentracije celulozних nanofibril v disperziji. Slabše preživetje celic se je pojavilo pri disperzijah frakcije 20-40 nm s koncentracijo 0,24 mg/ml. Delež živih celic po 24 h je padel na 64 %, oziroma 16 % pod mejo, ki pomeni, da material ni toksičen za testirane organizme. Pri disperzijah s koncentracijami pod 0,24 mg/ml je bil delež živih celic po 24 h nad 80 % (Pitkänen et al., 2014). V eksperimentu s celicami hepato-holangiokarcinoma (HepG2 ATCC HB-8065) je bilo ugotovljeno, da hidrogeli iz celulozних nanofibril z utežnim deležem suhe snovi 1,7 % niso bili citotoksični za preiskovane celice. Mitohondrialna aktivnost celic je ostala identična aktivnosti kontrolnih celic. Razvoj celic znotraj hidrogela je bil ugoden, kar nakazuje na dobro biokompatibilnost nanofibrilirane celuloze s človeškimi tkivi (Bhattacharya et al., 2012). S spreminjanjem površinske kemije celulozних nanofibril, na primer s TEMPO oksidacijo ali karboksimetiliranjem, vplivamo tudi na biokompatibilnost in toksičnost materiala. Mišje fibroblaste (L929 ATCC) so vzgojili na podlagi iz karboksimetilirane in TEMPO oksidirane celuloze, oboje z negativnim površinskim nabojem. Izkazalo se je, da karboksimetilirana nanoceluloza ne predstavlja ugodnega medija za celično proliferacijo, rast celic je bila upočasnjena, odrasle celice so bile deformirane. Na drugi strani predstavlja TEMPO oksidirana celuloza ugoden me-

dij za proliferacijo fibroblastov, saj so odrasle celice imele karakteristično morfologijo, kar nakazuje na dobro kompatibilnost okolja s celicami (Rashad et al., 2017). Nekatere študije navajajo omejeno genotoksičnost nemodificirane nanofibrilirane celuloze. Genotoksičnost je bila opažena tako na 3T3 mišjih fibroblastih kot tudi na humanih limfocitih, vendar le s celuloznimi nanofibrilami premera med 200 in 100 nm, pri čemer se genotoksičnost zmanjša, če prihaja do agregacije nanofibril (de Lima et al., 2012). Koncentracije z najbolj negativnim vplivom na celice so bile 0,01 in 0,1 ut.%. TEMPO oksidirana celuloza je izkazovala genotoksične karakteristike na BEAS 2B mišjih fibroblastih v koncentracijah 950 µg/ml, med drugim tudi z znaki oksidativnega stresa na fibroblastih, vendar so bili znaki oksidativnega stresa sporadični in nezanesljivi (Hannukainen et al., 2012).

Varnostne karakteristike celulozних nanofibril so odvisne tudi od stanja, v katerem se nahajajo. Kadar so celulozne nanofibrile med proizvodnjo, transportom in večjim delom uporabe inkorporirane v nek tekoč medij (večinoma vodo) oziroma v materiale, iz katerih se ne sproščajo individualne fibrile (npr. hidrogeli, kompoziti, filmi, filament), je njihov vstop v telo močno omejen oziroma onemogočen. Aerosolizirane oblike celuloze lahko predstavljajo tveganje za vstop v organizem preko dihalnih poti. Problematične so lahko tudi različne površinske modifikacije, s katerimi na površino celulozних nanofibril uvajamo nove funkcionalne skupine.

8 POVZETEK

8 SUMMARY

Nanofibrillated cellulose as a material has attracted significant interest over the past few years, especially in the biomedical field where it can be used for the manufacture of highly hydrophilic materials that are capable of holding large amounts of water. These materials are also known as hydrogels. There is a number of ways these materials can be prepared from pure nanocellulose dispersions. They can be either prepared in a biological way with the use of microorganisms (bacterial cellulose) or more frequently by first preparing a nanocellulose dispersion and inducing gelation by physical or chemical means. The procedure depends on the surface chemistry of the cellulose nanofibrils. For

neat fibrils, with no surface modification, gelation is usually induced by strong alkali treatment. On the other hand, surface charged nanocelluloses do not respond well to strong alkali treatment but are regularly gelled with the use of multivalent metal cations or dilute mineral acids. Additionally, covalent crosslinking of cellulose nanofibrils is possible with the use of multifunctional amines or highly reactive functional groups such as epoxides. Furthermore, both kinds of cellulose, neat and surface modified, are incorporated into hydrophilic polymer matrices as a reinforcement material. The potential of nanocellulose hydrogels is great as they offer versatility and are, for the most part, benign in contact with human tissues. This makes them prime candidates for use in the biomedical field.

ZAHVALA

ACKNOWLEDGEMENT

Zahvaljujemo se Agenciji republike Slovenije za raziskovalno dejavnost (ARRS), programski skupini P4-0015 ter Slovenski znanstveni fundaciji za materialno ter finančno podporo raziskavam, ki potekajo na področju zasnove novih nanoceluloznih hidrogelov. Del raziskav je potekal tudi v okviru programa CelKrog - Izkoriščanje potenciala biomase za razvoj naprednih materialov in bio-osnovanih produktov (C3330-16-529004), ki se odvija v okviru Strategije pametne specializacije RS, prednostno področje Mreže za prehod v krožno gospodarstvo.

LITERATURA

REFERENCES

- Abe, K., & Yano, H. (2011). Formation of hydrogels from cellulose nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 85(4), 733-737, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.03.028>.
- Abe, K., & Yano, H. (2012). Cellulose nanofiber-based hydrogels with high mechanical strength. *Cellulose*, 19(6), 1907-1912, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-012-9784-3>.
- Andersson, S., Serimaa, R., Paakkari, T., Saranpää, P., & Pesonen, E. (2003). Crystallinity of wood and the size of cellulose crystallites in Norway spruce (*Picea abies*). *Journal of Wood Science*, 49(6), 531-537, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10086-003-0518-x>.
- Antoine, E. E., Vlachos, P. P., & Rylander, M. N. (2014). Review of collagen I hydrogels for bioengineered tissue microenvironments: characterization of mechanics, structure, and transport. *Tissue Eng Part B Rev*, 20(6), 683-696, DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2014.0086>.
- Basu, A., Heitz, K., Stromme, M., Welch, K., & Ferraz, N. (2018). Ion-crosslinked wood-derived nanocellulose hydrogels with tunable antibacterial properties: Candidate materials for advanced wound care applications. *Carbohydr Polym*, 181, 345-350, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.085>.
- Bhattacharya, M., Malinen, M. M., Lauren, P., Lou, Y. R., Kuisma, S. W., Kanninen, L., . . . Yliperttula, M. (2012). Nanofibrillar cellulose hydrogel promotes three-dimensional liver cell culture. *J Control Release*, 164(3), 291-298, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.039>.
- Buwalda, S. J., Vermonden, T., & Hennink, W. E. (2017). Hydrogels for Therapeutic Delivery: Current Developments and Future Directions. *Biomacromolecules*, 18(2), 316-330, DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01604>.
- Caló, E., & Khutoryanskiy, V. V. (2015). Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*, 65, 252-267, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024>.
- Chau, M., Sriskandha, S. E., Pichugin, D., Therien-Aubin, H., Nykypanchuk, D., Chauve, G., . . . Kumacheva, E. (2015). Ion-Mediated Gelation of Aqueous Suspensions of Cellulose Nanocrystals. *Biomacromolecules*, 16(8), 2455-2462, DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00701>.
- De France, K. J., Hoare, T., & Cranston, E. D. (2017). Review of Hydrogels and Aerogels Containing Nanocellulose. *Chemistry of Materials*, 29(11), 4609-4631, DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.7b00531>.
- de Lima, R., Oliveira Feitosa, L., Rodrigues Maruyama, C., Abreu Barga, M., Yamawaki, P. C., Vieira, I. J., . . . Fernandes Fraceto, L. (2012). Evaluation of the genotoxicity of cellulose nanofibers. *Int J Nanomedicine*, 7, 3555-3565, DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S30596>.
- Dong, H., Snyder, J. F., Tran, D. T., & Leadore, J. L. (2013b). Hydrogel, aerogel and film of cellulose nanofibrils functionalized with silver nanoparticles. *Carbohydr Polym*, 95(2), 760-767, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.041>.
- Dong, H., Snyder, J. F., Williams, K. S., & Andzelm, J. W. (2013a). Cation-induced hydrogels of cellulose nanofibrils with tunable moduli. *Biomacromolecules*, 14(9), 3338-3345, DOI: <https://doi.org/10.1021/bm400993f>.
- Dufresne, A. (2013). Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. *Materials Today*, 16(6), 220-227, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2013.06.004>.
- Esa, F., Tasirin, S. M., & Rahman, N. A. (2014). Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 113-119, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.017>.
- Fengel, D., & Wegener, G. (1984). Wood: chemistry, ultrastructure, reactions: W. de Gruyter.
- Habibi, Y. (2014). Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. *Chem Soc Rev*, 43(5), 1519-1542, DOI: <https://doi.org/10.1039/c3cs60204d>.

- Hannukainen, K.-S., Suhonen, S., Savolainen, K., & Norppa, H. (2012). Genotoxicity of nanofibrillated cellulose in vitro as measured by enzyme comet assay. *Toxicology Letters*, 211, S71, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.03.276>.
- Henriksson, M., Henriksson, G., Berglund, L. A., & Lindström, T. (2007). An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *European Polymer Journal*, 43(8), 3434-3441, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.05.038>.
- Highley, C. B., Prestwich, G. D., & Burdick, J. A. (2016). Recent advances in hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Curr Opin Biotechnol*, 40, 35-40, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.02.008>.
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2001). Hydrogels for Tissue Engineering. *Chemical Reviews*, 101(7), 1869-1880, DOI: <https://doi.org/10.1021/cr000108x>.
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci*, 37(1), 106-126, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>.
- Liu, H., Wang, A., Xu, X., Wang, M., Shang, S., Liu, S., & Song, J. (2016c). Porous aerogels prepared by crosslinking of cellulose with 1,4-butanediol diglycidyl ether in NaOH/urea solution. *RSC Advances*, 6(49), 42854-42862, DOI: <https://doi.org/10.1039/c6ra07464b>.
- Liu, J., Cheng, F., Grenman, H., Spoljaric, S., Seppala, J., J. E. E., . . . Xu, C. (2016b). Development of nanocellulose scaffolds with tunable structures to support 3D cell culture. *Carbohydr Polym*, 148, 259-271, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.064>.
- Liu, J., Chinga-Carrasco, G., Cheng, F., Xu, W., Willför, S., Syverud, K., & Xu, C. (2016a). Hemicellulose-reinforced nanocellulose hydrogels for wound healing application. *Cellulose*, 23(5), 3129-3143, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1038-3>.
- Liu, P., Mai, C., & Zhang, K. (2017). Formation of Uniform Multi-Stimuli-Responsive and Multiblock Hydrogels from Dialdehyde Cellulose. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(6), 5313-5319, DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b00646>.
- Lin, D., Lopez-Sanchez, P., Li, R., & Li, Z. (2014). Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. *Bioresource Technology*, 151, 113-119, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.052>.
- Mahfoudhi, N., & Boufi, S. (2016). Poly (acrylic acid-co-acrylamide)/cellulose nanofibrils nanocomposite hydrogels: effects of CNFs content on the hydrogel properties. *Cellulose*, 23(6), 3691-3701, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1074-z>.
- Mathew, A. P., Oksman, K., Pierron, D., & Harmad, M.-F. (2011). Cross-linked fibrous composites based on cellulose nanofibers and collagen with in situ pH induced fibrillation. *Cellulose*, 19(1), 139-150, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9624-x>.
- Mathew, A. P., Oksman, K., Pierron, D., & Harmand, M.-F. (2013). Biocompatible Fibrous Networks of Cellulose Nanofibres and Collagen Crosslinked Using Genipin: Potential as Artificial Ligament/Tendons. *Macromolecular Bioscience*, 13(3), 289-298, DOI: <https://doi.org/10.1002/mabi.201200317>.
- Nair, S. S., Zhu, J. Y., Deng, Y., & Ragauskas, A. J. (2014). Hydrogels Prepared from Cross-Linked Nanofibrillated Cellulose. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(4), 772-780, DOI: <https://doi.org/10.1021/sc400445t>.
- Nordenstrom, M., Fall, A., Nystrom, G., & Wagberg, L. (2017). Formation of Colloidal Nanocellulose Glasses and Gels. *Langmuir*, 33(38), 9772-9780, DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b01832>.
- Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., & Johnson, D. K. (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 10-10, DOI: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-3-10>.
- Paukkonen, H., Kunnari, M., Laurén, P., Hakkarainen, T., Auvinen, V.-V., Oksanen, T., . . . Laaksonen, T. (2017). Nanofibrillar cellulose hydrogels and reconstructed hydrogels as matrices for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 532(1), 269-280, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.09.002>.
- Pitkänen, M., Kangas, H., Laitinen, O., Sneck, A., Lahtinen, P., Peresin, M. S., & Niinimäki, J. (2014). Characteristics and safety of nano-sized cellulose fibrils. *Cellulose*, 21(6), 3871-3886, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0397-x>.
- Rashad, A., Mustafa, K., Heggset, E. B., & Syverud, K. (2017). Cyto-compatibility of Wood-Derived Cellulose Nanofibril Hydrogels with Different Surface Chemistry. *Biomacromolecules*, 18(4), 1238-1248, DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01911>.
- Roman, M. (2015). Toxicity of Cellulose Nanocrystals: A Review. *Industrial Biotechnology*, 11(1), 25-33, DOI: <https://doi.org/10.1089/ind.2014.0024>.
- Saito, T., Kimura, S., Nishiyama, Y., & Isogai, A. (2007). Cellulose Nanofibers Prepared by TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. *Biomacromolecules*, 8(8), 2485-2491, DOI: <https://doi.org/10.1021/bm0703970>.
- Spagnol, C., Rodrigues, F. H. A., Pereira, A. G. B., Fajardo, A. R., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. (2012). Superabsorbent hydrogel composite made of cellulose nanofibrils and chitosan-graft-poly(acrylic acid). *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2038-2045, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.017>.
- Sulaeva, I., Henniges, U., Rosenau, T., & Potthast, A. (2015). Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1547-1571, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.009>.
- Syverud, K., Pettersen, S. R., Draget, K., & Chinga-Carrasco, G. (2014). Controlling the elastic modulus of cellulose nanofibril hydrogels—scaffolds with potential in tissue engineering. *Cellulose*, 22(1), 473-481, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0470-5>.
- Wågberg, L., Decher, G., Norgren, M., Lindström, T., Ankerfors, M., & Axnäs, K. (2008). The Build-Up of Polyelectrolyte Multilayers of Microfibrillated Cellulose and Cationic Polyelectrolytes. *Langmuir*, 24(3), 784-795, DOI: <https://doi.org/10.1021/la702481v>.

- Xu, C., Zhang Molino, B., Wang, X., Cheng, F., Xu, W., Molino, P., . . . Wallace, G. (2018). 3D printing of nanocellulose hydrogel scaffolds with tunable mechanical strength towards wound healing application. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(43), 7066-7075, DOI: <https://doi.org/10.1039/c8tb01757c>.
- Xu, Y., Han, J., & Lin, H. (2017). Fabrication and characterization of a self-crosslinking chitosan hydrogel under mild conditions without the use of strong bases. *Carbohydr Polym*, 156, 372-379, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.046>.
- Yang, J., Zhang, X., Ma, M., & Xu, F. (2015). Modulation of Assembly and Dynamics in Colloidal Hydrogels via Ionic Bridge from Cellulose Nanofibrils and Poly(ethylene glycol). *ACS Macro Letters*, 4(8), 829-833, DOI: <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.5b00422>.
- Zander, N. E., Dong, H., Steele, J., & Grant, J. T. (2014). Metal cation cross-linked nanocellulose hydrogels as tissue engineering substrates. *ACS Appl Mater Interfaces*, 6(21), 18502-18510, DOI: <https://doi.org/10.1021/am506007z>.