

Priprava antibakterijskog elektrosprednog nosača za uzgoj stanica kože

Večerić, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:575997>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Matea Večerić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, lipanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Matea Večerić

PRIPRAVA ANTIBAKTERIJSKOG ELEKTROISPREDENOG
NOSAČA ZA UZGOJ STANICA KOŽE

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić, FKIT

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić, FKIT

Doc. dr. sc. Ljerka Kratofil Krehula, FKIT

Prof. dr. sc. Budimir Mijović, TTF

Zagreb, lipanj 2018.

Ovaj rad izrađen je na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju pod vodstvom prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsic, akademske godine 2017. /2018.

Zahvala

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić na dugogodišnjoj suradnji, znanju koje sam stekla slušajući njezina zanimljiva predavanja i mogućnosti da upotpunim i završim svoj fakultetski put pod njezinim vodstvom.

Također velika HVALA svim profesorima fakulteta, a posebna zahvala profesorici Ašperger za potporu u teškim trenucima.

Izvan fakulteta, zahvaljujem prof. dr. sc. Budimiru Mijoviću i dr.sc. Emiliji Zdravevi na pomoći i brojnim savjetima.

SAŽETAK

U ovom radu istražena je uloga i primjena titanijevog dioksida kao punila u elektroispredenom vlaknastom PCL/TiO₂ nosaču. Titanij dioksid naknadno je nanesen pomoću ultrazvučne kupelji, na već elektroispredeni polimerni mat čistog PCL-a i mat PCL-a čija je površina tretirana s NaOH.

Proces modifikacije površine elektroispredenog vlaknastog nosača od poli(ϵ -kaprolaktona) (PCL-a) proveden je kako bi se ostvarila bolja interakcija površine PCL-a s česticama TiO₂. Korišten je tretman s NaOH kako bi se stvorile karboksilne funkcionalne skupine na površini vlaknastog polimera.

Zatim je mjerjen kontaktni kut goniometrom kako bi se dokazala promjena površine polimera od hidrofobne do hidrofilne, snimljene su SEM mikrografije, DSC tehnikom određena su toplinska svojstva te toplinska stabilnost termogravimetrijskom analizom.

KLJUČNE RIJEČI: elektroispredanje, polikaprolakton, titanijev dioksid, vlaknasti nosači, modifikacija površine

ABSTRACT

In this work function and application of titanium dioxide as a filler in a composite system PCL/ TiO₂ was examined. Titanium dioxide was applied by ultrasonic device on already electrospun polymer scaffold non-treated and treated with NaOH.

A procedure for the surface modification of electrospun poly(ϵ -caprolaktone) (PCL) fibrous scaffold was made to enhance the interaction of the PCL surface with TiO₂ particles. The surface modification was performed using NaOH treatment for the formation of carboxyl groups on the fiber surfaces.

Contact angle was measured by goniometer machine to prove change from hydrophobic to hydrophilic polymer surface. After that, SEM images were taken. Thermal properties were obtained by differential scanning calorimetry, as well as thermal stability was measured by thermogravimetric analysis.

KEY WORDS: electrospinning, polycaprolactone, titan dioxide, scaffold, surface modification

Sadržaj

1	UVOD.....	9
2	TEORIJSKI DIO	11
2.1	ELEKTROISPREDANJE	11
2.1.1	POVIJESNI PREGLED.....	11
2.1.2	TEHNIKA.....	12
2.1.3	NAČELO ELEKTROISPREDANJA	13
2.1.4	ČIMBENICI U ELEKTROISPREDANJU IZ POLIMERNE OTOPINE.....	14
2.2	Primjena elektroispredenih matova u medicini.....	17
3	EKSPERIMENTALNI DIO	19
3.1	Priprava elektroispredenog PCL	19
3.1.1	Materijali.....	19
3.1.2	Priprema polimernih otopina	20
3.1.3	Izrada kolektora pomoću 3D printera	21
3.1.4	Postupak elektroispredanja	23
3.1.5	Obrada s NaOH.....	24
3.1.6	Nanošenje TiO ₂	25
3.2	Karakterizacija elektroispredenih materijala.....	26
3.2.1	Mjerenje kontaktnog kuta s vodom.....	26
3.2.2	Elektronski pretražni mikroskop (SEM) – izgled površine nosača	27
3.2.3	Termogravimetrijska analiza (TGA).....	28
3.2.4	Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC).....	29
4	REZULTATI I RASPRAVA.....	30
4.1	Mjerenje kontaktnog kuta s vodom.....	30
4.2	Određivanje morfološke strukture elektronskim pretražnim mikroskopom (SEM)	32
4.3	Termogravimetrijska analiza (TGA).....	36
4.4	Diferencijalna pretražna kalorimetrija – fazni prijelazi	38

5	ZAKLJUČAK.....	41
6	POPIS KRATICA I SIMBOLA	42
7	LITERATURA	43
8	ŽIVOTOPIS.....	45

1 UVOD

Skлонost ljudskog organizma, tkiva i organa povredama i oštećenjima te nedostaci ljudskog tkiva uzrokovani urođenim manama svakodnevni su problemi s kojima se susreću liječnici. Liječenje se obično usredotočuje na transplantaciju tkiva s jednog mjesta na drugo u istom pacijentu (autograft) ili od jedne osobe, tj. donora u drugu (alograft ili transplantat). Iako su ta liječenja revolucionarna i spašavaju ljudske živote, suočavaju se s brojnim problemima. Zbog toga je došlo do razvoja tkivnog inženjerstva koje ima za cilj popravak i regeneraciju oštećenih tkiva razvojem bioloških nadomjestaka koji vraćaju, održavaju ili poboljšavaju funkciju tkiva.

Tkivno inženjerstvo koristi različite prirodne i umjetne biomaterijale kao 3D nosače na koje se zasijavaju stanice ranije uzete iz tijela pacijenta. 3D struktura nosača važna je za oponašanje specifične mikrogeometrije tkiva. Kako bi se dobili nosači točno određene 3D mikrogeometrije i topografije koristi se tehnika elektroispredanja u kombinaciji s 3D printanjem. Najprije se tehnikom 3D printanja dobivaju kolektori specifične topografije, a zatim se oni koriste u postupku elektroispredanja za prikupljanje vlakana. Elektroispredanje omogućuje proizvodnju vrlo finih vlakana točno određenih svojstava. Vlakna prikupljena na kolektorima oponašaju uzorke kolektora. Na taj način nastaju nosači određene mikro-topografije koja je važna za povezivanje stanica i razvoj novog tkiva [1-3].

U zadnje vrijeme koriste se biorazgradljivi vlaknasti polimeri kao matrice za uzgoj i rast različitih tkivnih stanica. Posebice, matovi dobiveni elektroispredanjem poli(ϵ -kaprolaktona) (PCL-a) pokazuju dobar potencijal kao nosači tkiva za regeneraciju kože budući da ne stvaraju štetne proizvode razgradnje kao poli(laktidna kiselina) (PLA) ili poli(lakto-ko-glikolna kiselina) (PLGA). Osim toga, PCL ima dobra mehanička svojstva i produljeno vrijeme razgradnje [4-6].

Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) je djelomično kristalan alifatski poliester s točkom taljenja pri 60 °C. Niska točka taljenja omogućava njegovu lakšu preradu. Svaki monomer poli(ϵ -kaprolaktona) sastoji se od 5 metilenskih skupina i jedne esterske skupine. PCL je hidrofoban zbog prisutnosti nepolarnih metilenskih skupina. Osjetljiv je na pirolitičku razgradnju zbog prisutnosti alifatskih esterskih veza.

PCL je najčešće korišteni poliester u tkivnom inženjerstvu. U ovom radu elektroispređeni su PCL nosači na kolektoru geometrije paralelnih kanalića [7-11].

Naknadno je nanesen TiO_2 iz vodene otopine pomoću ultrazvučne kupelji na čisti PCL mat i na mat prethodno obrađen s NaOH. Selektivna modifikacija površine poboljšava površinsku hidrofilnost, ali ne razara morfologiju pora biorazgradljivih polimernih nosača. Cilj ovog rada je istražiti kako utječe prethodna obrada površine te vrijeme držanja u ultrazvučnoj kupelji na vezivanje TiO_2 na polimerni mat PCL-a s ciljem primjene materijala za zasijavanje fibroblastnih stanica.

2 TEORIJSKI DIO

2.1 ELEKTROISPREDANJE

2.1.1 POVIJESNI PREGLED

Osnovno načelo na kojemu se temelji elektroispredanje je gibanje fluida pod utjecajem elektriciteta poznat još iz 1600. godine kada je W. Gilbert istaknuo da će se kapljica vode na suhoj površini istežati prema gore u obliku konusa, ako bi se na određenoj udaljenosti iznad nje postavio naelektrizirani jantar. Ovaj je fenomen analizirao 1882. godine L. Rayleigh i 1914. godine J. Zeleny, ali prvi patentni pripadaju J. F. Cooleyu i W. J. Mortonu iz 1900.-1903. godine. Od 1934. pa sve do 1944. godine A. Formhals je postavio niz patenata na tom području, počevši od postrojenja za elektroispredanje celuloznih derivata pomoću nazubljenog diska, koji je predstavljao prvi pol električnog polja i gibajućeg vodljivog kolektora (npr. namotak, kolo, pokretna traka i sl.) koji je predstavljao drugi pol, a vlakna su se skupljala u paralelnom stanju. Njegovi izumi su inspiracija za mnoge današnje sofisticiranije uređaje za elektroispredanje, a koji koriste bez iglično ispredanje, ispredanje orijentiranih vlakana, i oblikovanje nanopređa.

Fizičar i matematičar G. I. Taylor postavio je 1964. i 1969. godine matematički model za konusni oblik kapljice fluida pod utjecajem električnog polja. Utvrdio je da vodljivi fluid može opstati u obliku konusa pod utjecajem električnog polja s kutom od 49.3° , kada su sila površinske napetosti i sila električnog polja u ravnoteži. Prema njemu je konusni oblik kapljice nazvan Taylorov konus. 1981. L. Larrondo i R. St. John Manley usredotočili su istraživanja na elektroispredanje iz polimerne taline, i to talina polietilena i polipropilena. Istraživačka skupina D. H. Renekera često koristi pojam elektroispredanje 1990-ih godina, da bi nešto kasnije ova tehnika doživjela ekspanziju [12].

2.1.2 TEHNIKA

Elektroispredanje se izdvaja kao specijalni postupak proizvodnje nanovlakana pomoću elektrostatskih sila. Zbog proizvodnje vlakana promjera većeg od mikrometra, elektroispredanje iz taline polimera nije toliko zastupljena tehnika u istraživanjima, već se više razmatra elektroispredanje iz otopine polimera.

Nanovlakna imaju veliki omjer površine i volumena, a elektroispredanjem se mogu dobiti ekstremno duga vlakna, i do nekoliko kilometara. Kod prikupljanja vlakana u obliku netkane strukture s nasumično raspoređenim vlaknima, oblikuje se velik broj međusobno povezanih pora. Visoka koncentracija naboja na nanovlaknu koji se nakupljaju nakon izbacivanja mlaza, omogućava lako upravljanje putanjom vlakna djelovanjem vanjskog električnog polja, čime se može kontrolirati orijentacija vlakana. U procesu elektroispredanja naelektrizirani mlaz polimerne otopine vrlo se brzo isteže, pri čemu dolazi do brzog isparavanja (evaporacije) otapala. Zbog toga je vlakno podložno ekstremno jakoj torziji, koja uz brzo stvrdnjavanje ne dozvoljava da se molekulski polimerni lanci vrate u prvobitno relaksirano stanje. Tako oblikovana vlakna imaju veći udio kristalnog područja u strukturi vlakana od konvencionalnih, a visoka orijentacija molekula po duljini vlakna doprinosi i vlačnoj čvrstoći[12,13].

2.1.3 NAČELO ELEKTROISPREDANJA

Osnovna izvedba uređaja za elektroispredanje uključuje: posudu s polimernom otopinom (najčešće šprica), mlaznicu (najčešće igla ravnog vrha) povezanu s izvorom visokog napona i kolektor vlakana povezan s drugim polom električnog polja. Kada se polimerna otopina podvrgne električnom polju, oblikuje se kapljica koja se nabija električnim nabojem na površini. S povećanjem intenziteta električnog polja dolazi do deformacije prvotne kapljice te istežanje u obliku Taylorovog konusa. Razlika naboja između polimerne otopine i suprotne elektrode rezultira silom suprotnoj sili površinske napetosti fluida. Kako se sila suprotna sili površinske napetosti povećava, te postaje veća od nje, mlaz polimerne otopine se isteže i postaje nestabilan. Gibanjem električki nabijenog mlaza dolazi do isparavanja otapala te oblikovanja vlakna. Prije konačnog oblikovanja nanovlakna polimerna otopina prolazi nekoliko faza:

1. istežanje kapljice i oblikovanje Taylorovog konusa;
2. oblikovanje linijskog mlaza – stabilna faza;
3. oblikovanje spiralnog mlaza – destabilizacija;
4. stvrdnjavanje, oblikovanje vlakana, μm

2.1.4 ČIMBENICI U ELEKTROISPREDANJU IZ POLIMERNE OTOPINE

Čimbenici u postupku elektroispredanja od ključne su važnosti za izgled dobivenih vlakana. Njihovim variranjem moguće je dobiti vlakna različitog promjera i morfologije. Promjeri mogu varirati od nekoliko nanometara do nekoliko mikrometara, dok sama vlakna mogu biti: jednolika i glatka, porozna, spljoštena, slična vrpci, razgranata, spiralna i sl.

Tri su skupine čimbenika u elektroispredanju:

a) Čimbenici polimerne otopine:

- prosječna relativna molekulska masa polimera,
- koncentracija i viskoznost polimerne otopine,
- površinska napetost,
- elektrovodljivost otopine,
- karakteristike otapala

b) Procesni čimbenici:

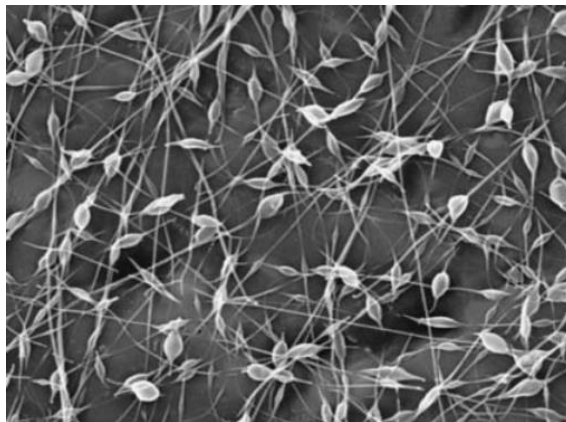
- električni napon,
- brzina toka polimerne otopine,
- udaljenost između vrha mlaznice i kolektora;

c) Čimbenici okoline:

- vlaga,
- temperatura.

Prosječna relativna molekulska masa polimera određuje koncentraciju i viskoznost polimerne otopine. Manja molekulska masa polimera zahtijeva pripremu otopine veće koncentracije i obrnuto. Koncentracija i viskoznost polimerne otopine u direktnoj su vezi. S povećanjem koncentracije ili viskoznosti polimerne otopine raste i promjer elektroispredanih vlakana. Osim što koncentracija utječe na promjer pokazalo se da je i u direktnoj vezi s nastajanjem deformacija po duljini vlakna kao i s promjenom njihovog oblika.

Tako su Fong i sur. utvrdili da se kod ispređanja vodene otopine poli-etilenoksida (PEO) veće viskoznosti povećavaju promjer vlakana, zadebljanja po duljini vlakna i udaljenost između pojedinih zadebljanja, pri čemu deformacije prelaze iz sferičnog oblika u vretenasti. Isti učinak koncentracije otopine poli-D-laktidne kiseline (PDLA) na elektroispređena vlakna su potvrdili i Zong i sur. Takav učinak se tumači time da su kod niske viskoznosti otopina, vlakna mokra kada padaju na kolektor, a stvrđavanje je rezultat sila površinske napetosti i relaksacije, pa zbog toga dolazi do deformiranja vlakna, dok su kod velike viskoznosti otopina vlakna već suha pri dolasku na kolektor, zbog toga ostaju jednolika i nedeformirana.



Slika 1. SEM mikrografija elektroispređenih poli-etilenoksidnih (PEO) nanovlakana sa zadebljanjima

Dodatkom ionske soli u polimernu otopinu povećava se njena elektrovodljivost, a rezultira elektroispređanjem tanjih i jednoličnijih vlakana. Razlog tome su ioni koji povećavaju gustoću električnih naboja mlaza, što pak povećava silu koja djeluje na istežanje mlaza. Ovisno o vrsti soli, vlakna mogu biti većeg ili manjeg promjera. Soli s manjim atomskim polumjerom imaju veću gustoću naboja pa time i veću mobilnost, što rezultira i većim istežanjem mlaza.

Kao što je već navedeno, istežanje mlaza polimerne otopine počinje u trenutku kada elektrostatska sila postane veća od sile površinske napetosti. Veća površinska napetost rezultira

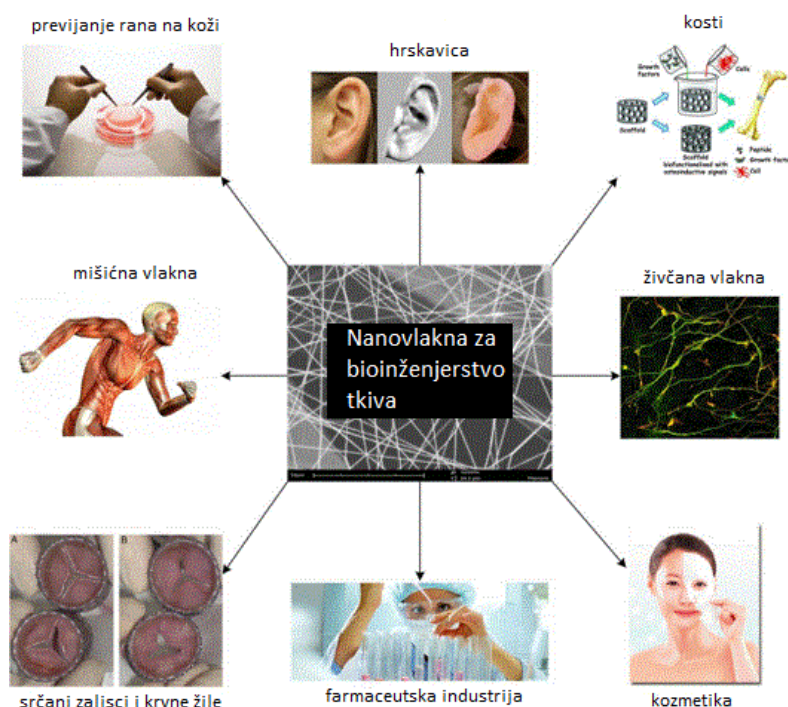
destabilizacijom mlaza tijekom elektroispredanja ili pojavom isprekidanog mlaza ili kapljica u slučaju niske viskoznosti otopine. S dodatkom tenzida i s povećanjem njegove koncentracije smanjuje se površinska napetost i oblikuju se jednolika tanja vlakna bez deformacija.

Među procesnim čimbenicima najutjecajnije je električni napon. Općenito, veći napon uzrokuje veće istežanje mlaza, brže isparavanje otapala i smanjenje promjera vlakana zbog veće količine naboja na površini polimerne otopine. Međutim, neka istraživanja su pokazala da se s povećanjem napona povećava i protok otopine pa se time povećava i promjer vlakana. Iznad određene kritične vrijednosti napona nastaju deformacije (npr. zadebljanja ili grudice) pa s povećanjem napona dolazi do povećanja broja deformacije po duljini vlakana. Druga istraživanja su pokazala suprotan efekt, zbog povećanja Coulumbove sile koja uzrokuje veće istežanje mlaza, a time i nestanak deformacija. Napon se može dovesti i u vezu s kristaliničnošću elektroispredenih vlakana. U konačnici, kod optimalnog napona može se postići maksimalan stupanj kristalizacije [12,13].

2.2 Primjena elektrosprednih matova u medicini

Ljudsko tkivo sklono je oštećenju. Manje rane, ogrebotine i iščašenja, pa čak i blaži lomovi kostiju lako zarastaju. Problem su potpuno oštećeni organi koji gube funkciju, kao i veliki lomovi kostiju. Razvijene su razne kirurške metode za rješavanje ovih problema, poput umjetnih zamjena (proteze) i neživih proizvedenih tkiva (srčani zalisci) te autogena ili alogena tkiva. Kako je transplantacija organa jedna od metoda, ograničena je brojem donora kao i vrlo visokom cijenom. Rezultat toga je veliki broj ljudi koji se nalazi na listi čekanja, a lista svakoga dana sve više raste.

U rješavanju ovog problema pomaže tkivno inženjerstvo. Tkivno inženjerstvo i proizvodnja funkcionalnih tkiva i organa dio su modernih biomedicinskih istraživanja i primjena. U tkivnom inženjerstvu stanice se zasijavaju u/na biomaterijale prije transplantacije. Ti materijali zatim služe kao privremeni nosači koji unaprjeđuju reorganizaciju stanica za formiranje funkcionalnog tkiva. Nosači su napravljeni od biokompatibilnih i/ili biorazgradljivih materijala kako bi se promicala adhezija stanica, migracija te raspodjela. Uz te uvjete, mora se osigurati mehanička stabilnost i čvrstoća za normalno gibanje u oštećenom tkivu [14].



Slika 2. Primjena nanovlakna za bioinženjerstvo tkiva

Općeniti zahtjevi kod razvoja elektroispredenog nosača su ciljana topografija nosača koja omogućava adekvatnu adheziju stanica kože te antibakterijska svojstva postignuta dodatkom TiO_2 za inhibiciju uobičajenih bakterija na koži.

Kao što je vidljivo sa slike 2 sama primjena elektroispredenih matova je raznolika, od specijalnih membrana do filtera za vodu te u medicini za zbrinjavanje rana i kao nosači u tkivnom inženjerstvu, a mogu i prenositi lijekove unutar organizma.

Nanovlakna u bioinženjerstvu tkiva koriste se za previjanje rana na koži, za obnavljanje hrskavice, kostiju ili mišićnog tkiva, a čak i za srčane zaliske i krvne žile, te živčana vlakna. Moguća je i primjena u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.



Slika 3. Ciklus uzgoja stanica te transplatacije u ljudsko tijelo

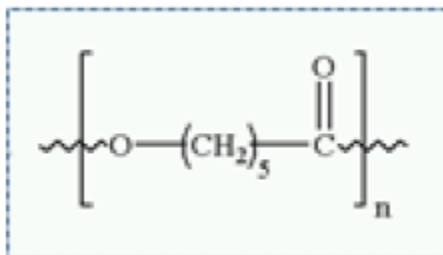
Specifična primjena elektroispredenog biomaterijala kao nosača za uzgoj stanica kože odvija se u ciklusu koji je prikazan na slici 3. Polazi se od čovjeka (pacijenta) s kojeg se izoliraju stanice, one se zatim uzgajaju in vitro te se zasijavaju na 3D poroznom nosaču. Kada se uz pomoć faktora rasta dobije dobro organizirano i funkcionalno tkivo konstrukcija se transplatira na ranu da se povрати funkcija kože [15].

3 EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Priprava elektroispredenog PCL

3.1.1 Materijali

U radu je korišten polikaprolakton (PCL) strukture kao na lici 4 i prosječne molekulske mase $M_n=80,000$ (Lach:ner), a kao otapala koristila su se: glacijalna octena kiselina i aceton, proizvođača Sigma Aldrich.



Slika 4. Struktura poli(ε-kaprolaktona)

3.1.2 Priprema polimernih otopina

Pripremljena je 18%-tna otopina PCL-a uz omjer glacijalne octene kiseline i acetona 8:2 te zagrijavanjem na temperaturi od 50 °C i homogenizacijom na magnetskoj miješalici (slika 5).



Slika 5. Polimerna otopina PCL-a na magnetskoj miješalici

3.1.3 Izrada kolektora pomoću 3D printera

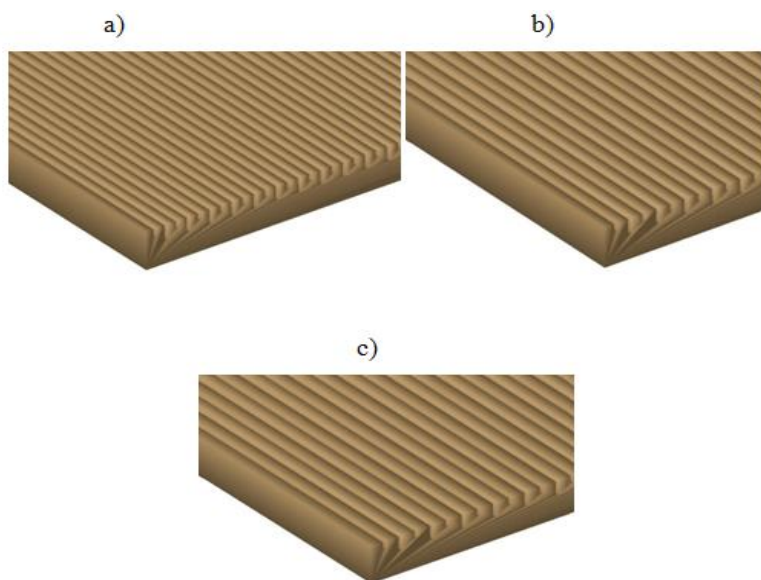
Kolektori su prvo dizajnirani pomoću programa 123D Design i AutoCAD. Program 123D Design je jednostavan za uporabu i koristi primjenu čvrstih materijala. Postupak se sastoji u tome da se najprije nacрта baza odgovarajućih dimenzija. Zatim se na bazu postave pravokutnici određenih dimenzija da se oblikuje kolektor. Utori su se dobili tehnikom copy/paste. Na kraju se dizajnirani kolektor prebaci u format kojeg AutoCAD podržava i nakon toga se svi dijelovi sjedine u jedno tijelo. Kolektori su dobiveni tehnikom 3D printanja na Form 2 3D printeru proizvođača FormLabs (slika 6).



Slika 6. Form 2 3D printer proizvođača FormLabs

U radu je korišten kolektor broj 2 sa specifičnom topografijom paralelnih kanalića (slika 7.b), dobiven postupkom 3D printanja na Form 2 3D printeru, na kojem je vršeno elektroispredanje vlaknastog mata.

Ova specifična topografija potrebna je kako bi zasijane fibroblastne stanice rasle i migrirale prema obliku površine nosača. Puni dio se razlikuje kod kolektora i u ovom slučaju je visine 1.2 mm, a širine 0.3 mm, dok su utori (kanali) na istoj razini, a širina kanala je 0.8 mm. Površina kolektora je 10 cm² [17].



Slika 7. Modeli kolektora a) kolektor 1 , b) kolektor 2, c) kolektor 3

3.1.4 Postupak elektroispredanja

Elektroispredanje pripremljenih otopina PCL-a provedeno je na uređaju za elektroispredanje, NT-ESS-300, NTSEE Co. Ltd. South Korea. Uređaj za elektroispredanje sastoji se od:

- 1) pumpa i šprica sa iglom ravnog vrha,
- 2) izvor visokog napona,
- 3) rotirajući cilindar, tj. kolektor (slika 8).

Uvjeti postupka elektroispredanja su:

- električni napon: 15 kV
- udaljenost od vrha igle do kolektora vlakana: 18 cm
- brzina protoka polimerne otopine: 1 mL/h
- ukupno vrijeme (t): 4 sata

Šprica proizvođača, BD plastic, puni se sa po 4 mL otopine PCL-a. Šprica s iglom stavlja se na pumpu gdje se postavlja uvjet brzine protjecanja otopine. Na iglu se priključi izvor napona radi raspršenja polimerne otopine. 3D izrađeni kolektori postavljaju se na udaljenost od 18 cm od šprice s iglom te se ispreda u vremenu od 4 sata. Nakon 4 h isključuje se izvor napona te se elektroispredeni uzorak premješta s kolektora i sprema za daljnju analizu [12].



Slika 8. Uređaj za elektroispredanje NT-ESS-300, NTSEE Co. Ltd. South Korea

3.1.5 Obrada s NaOH

Površina dvaju od četiri uzorka prije nanašanja TiO_2 tretirana je u otopini NaOH kako bi se izmjenila energija površine, smanjio kontaktni kut s vodom te na taj način iz vrlo hidrofobne površine čistog PCL polimernog mata dobio hidrofilan mat koji bi imao veće mogućnosti reagiranja s polarnim TiO_2 .

Napravljena je vodena otopina 1N NaOH u kojoj su uzorci polimera tretirani 1h, a nakon toga isprani destiliranom vodom do pH neutralnog.

3.1.6 Nanošenje TiO₂

TiO₂ je iz 1 %-tne vodene otopine nanešen naknadno na polimerne matove pomoću ultrazvučne kupelji. Sveukupno četiri (dva bez i dva obrađena NaOH) uzorka držana su u ultrazvučnoj kupelji 30 i 60 min kako bi se napravila usporedba i odredilo vrijeme kod kojeg se nanese najveća količina TiO₂ na mat te ravnomjerno rasporedi, bez aglomerata.

3.2 Karakterizacija elektroispređenih materijala

3.2.1 Mjerenje kontaktnog kuta s vodom

Kontaktni kut određen je metodom viseće kapi (*Sessile drop*) pomoću uređaja za mjerenje kontaktnog kuta, goniometra, DataPhysics OCA 20 Instruments GmbH (slika 9). Provedeno je mjerenje za nemodificirani PCL i PCL modificiran s NaOH. Volumen kapljice vode koji je nanesen na uzorke varirao je od 1.000 μL do 5.000 μL . Na svaki uzorak nanese su 3 kapljice vode te je nakon 20 sekundi mjeren kontaktni kut.



Slika 9. Goniometar DataPhysics OCA 20 Instrument

3.2.2 Elektronski pretražni mikroskop (SEM) – izgled površine nosača

Za određivanje morfologije elektroispredenih vlakana te izgleda njihove površine uzorci su snimljeni na pretražnom elektronskom mikroskopu SEM QUANTA 250, FEI, (slika 10). Prije snimanja uzorci su pripremljeni nanošenjem tankog sloja zlata kako bi postali elektrovodljivi. Uzorci su snimljeni na nekoliko različitih mjesta s uvećanjima 50, 1000, 2000 i 3000 puta.



Slika 10. SEM mikroskop QUANTA 250, FEI

3.2.3 Termogravimetrijska analiza (TGA)

Za određivanje toplinske stabilnosti korišten je TGA analizator Q500 tvrtke TA Instruments (slika 11). Uzorci od oko 10 mg analizirani su u struji dušika uz brzinu zagrijavanja od 10°C/min, u temperaturnom području od 25°C do 600°C.



Slika 11. Termogravimetar Q500, TA Instruments

3.2.4 Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)

Toplinska svojstva određena su pomoću DSC instrumenta tvrtke Mettler Toledo (slika 12). Uzorci mase oko 6 mg zagrijavani su od -100°C do 100°C brzinom zagrijavanja od $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ i držani su na toj temperaturi 5 minuta da se „zaboravi“ toplinska povijest uzorka u postupku pripreve. Uzorci su nakon toga ohlađeni na -100°C brzinom od $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$., nakon čega slijedi ciklus zagrijavanja od -100°C do 100°C . Iz dobivenih krivulja nakon drugog ciklusa zagrijavanja/hlađenja određene su vrijednosti faznih prijelaza (temperatura staklastog prijelaza, taljenja i kristalizacije) te entalpije taljenja, odnosno kristalizacije. Hlađenje na niske temperature provedeno je tekućim dušikom. Kroz cijeli eksperiment korišten je inertni plin dušik.



Slika 12. Diferencijalni pretražni kalorimetar Mettler Toledo DSC 822^e

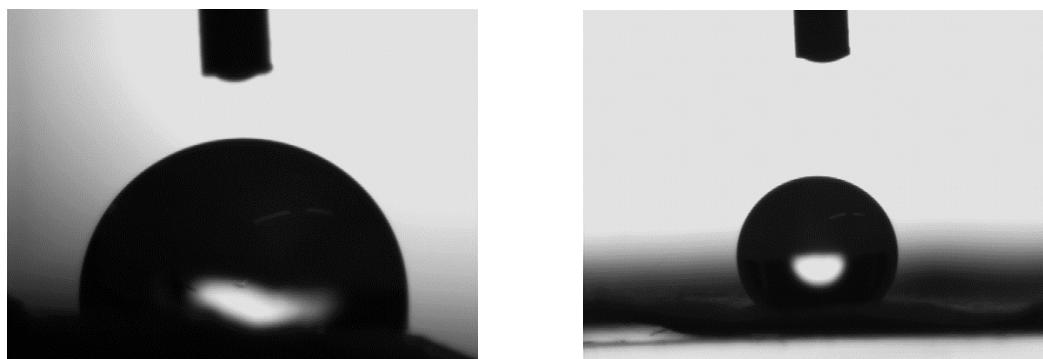
4 REZULTATI I RASPRAVA

4.1 Mjerenje kontaktnog kuta s vodom

Kontaktni kut određen je metodom viseće kapi (*Sessile drop*) pomoću vode, pri čemu je ispitano vlaženje elektroispredenog PCL vlaknastog mata prije i nakon obrade s NaOH. Iz vrijednosti kontaktnih kutova mogu se utvrditi interakcije između površine uzoraka i vode.

Mjerenje kontaktnog kuta igra važnu ulogu u karakterizaciji površine. On predstavlja mjeru vlaženja krutine kapljevinom. Kapljica se razlijeva po krutoj površini do uspostavljanja ravnotežnog oblika. Sile koje djeluju na periferiji kapljice čine kontaktni kut s krutom površinom. Stanje površine određuje se obzirom na njenu polarnost, homogenost i hrapavost.

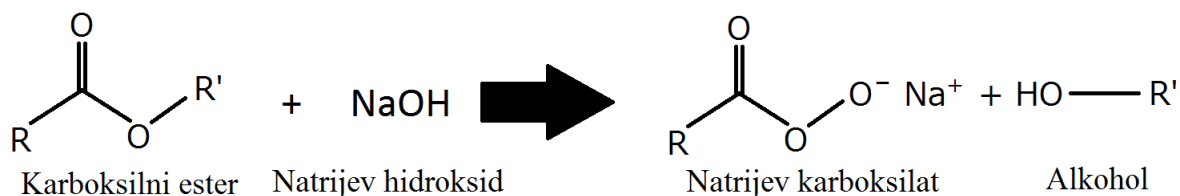
Hidrofobnost vlaknaste površine PCL-a može se promijeniti tretiranjem u NaOH. Kako bi potvrdili da je došlo do promjene iz hidrofobnog u hidrofilni polimerni mat, mjeren je kontaktni kut s vodom netretiranog i tretiranog PCL mata.



Slika 13. i 14. Kontaktni kut s vodom za čisti PCL mat

Poznato je da PCL vlaknasti polimerni matovi imaju kontaktni kut s vodom oko 80 °. Rezultati ovog istraživanja kontaktnog kuta mata čistog PCL-a sa slike 13 i 14 pokazuju hidrofobnost a vrijedost iznosi $125,8 \pm 5,6$ °, dok PCL mat modificiran s NaOH pokazuje izrazitu hidrofilnost (~ 0 °) što potvrđuje da je površina PCL-a postala polarna. Obrada s NaOH upravo se i radi kako bi se smanjila hidrofobnost površine polimera i poboljšale interakcije između polimernog nosača i TiO₂. NaOH hidrolizira esterske veze PCL što rezultira karboksilnim funkcionalnim

skupinama na površini PCL (slika 15.). Karboksilne skupine pridonose manjoj hidrofobnosti površine, tj. nižoj vrijednosti kontaktnog kuta. Zbog utjecaja NaOH na površini polimera ostvaruje se i nano-hrapavost što dodatno doprinosi povećanju specifične površine koja reagira s TiO₂ česticama [18].

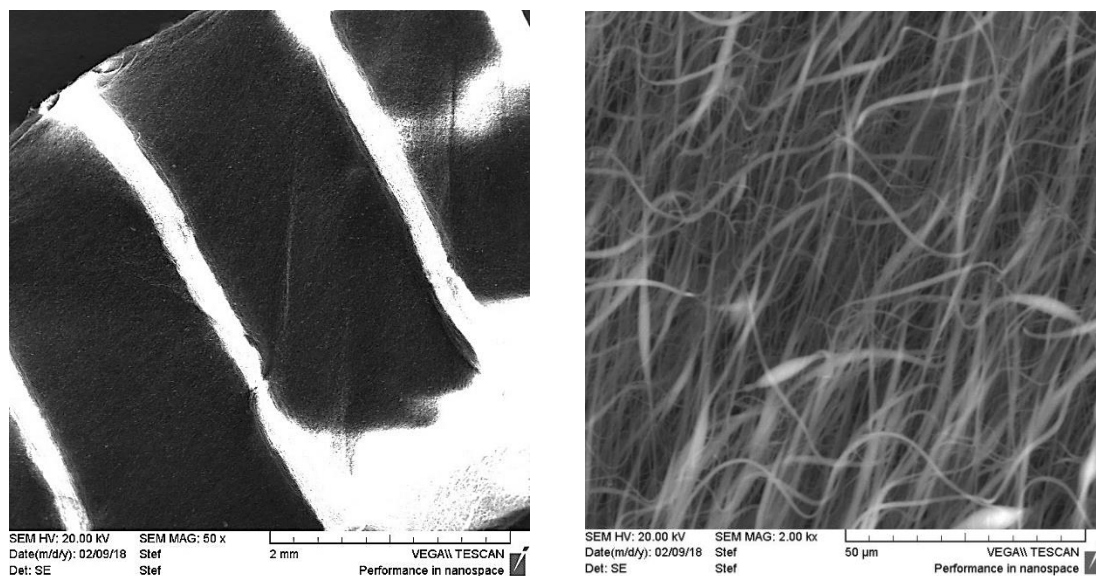


Slika 15. Djelovanje NaOH na strukturu PCL-a

Slike kapljice za polimerni mat s NaOH nije bilo moguće dobiti jer je zbog izrazite hidrofilnosti mat instantno upio kapljicu vode.

4.2 Određivanje morfološke strukture elektronskim pretražnim mikroskopom (SEM)

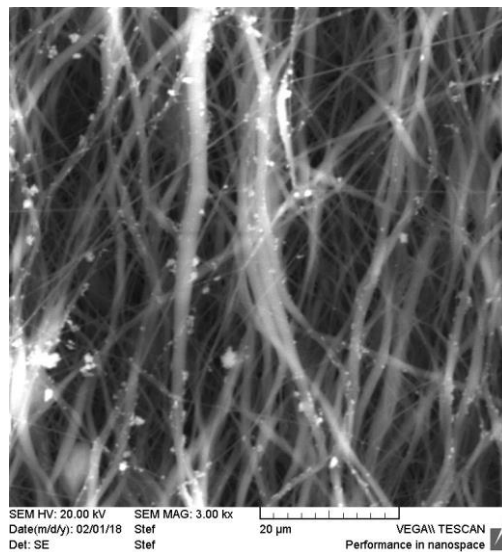
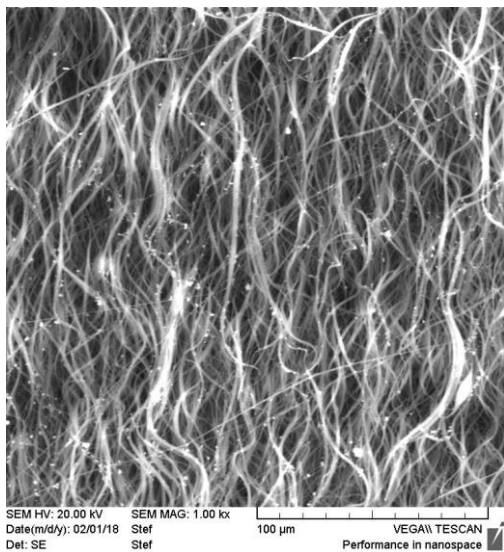
Slike 16. i 17. prikazuju strukturu čistog mata PCL-a prije obrade NaOH i nanašanja TiO₂. Vidljiva je porozna vlaknasta struktura dobivena elektroispredanjem koja prati geometriju kolektora. Osim vlakana pojavljuju se i okruglaste strukture PCL-a.



Slika 16. i 17. SEM mikrografije čistog elektroisprednog PCL mata

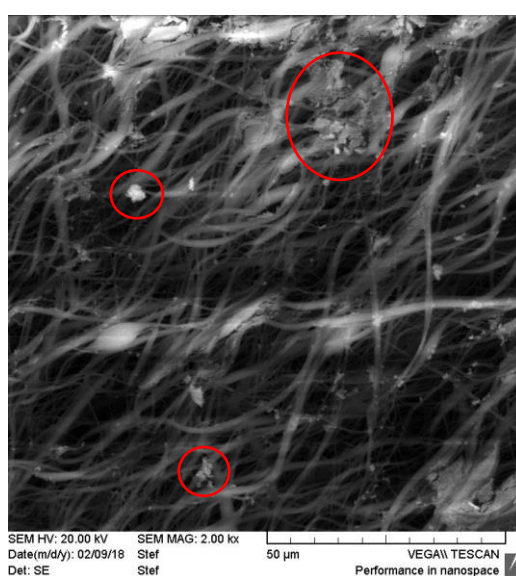
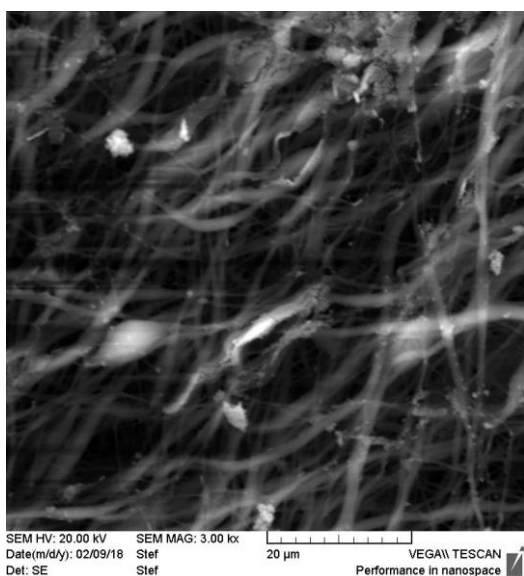
Prosječna vrijednost promjera vlakana je $3 \pm 0,1 \mu\text{m}$. Mat se sastoji od nasumično orijentiranih isprepletenih vlakana sa specifičnom strukturom pora. Površina vlakana je pravilna i nema defekata.

Primjena polimernog mata za uzgoj tkivnih stanica uključuje dvostruku poroznost elektroisprednog vlaknastog nosača tj. mikro pore dovoljno velike za penetraciju stanica u dublje slojeve nosača i nano pore dovoljno male za adheziju receptora stanica, prijenos nutrijenata i kisika, potrebnih za razvoj stanica. Dodatkom TiO₂ postiže se antibakterijsko djelovanje nosača [19].



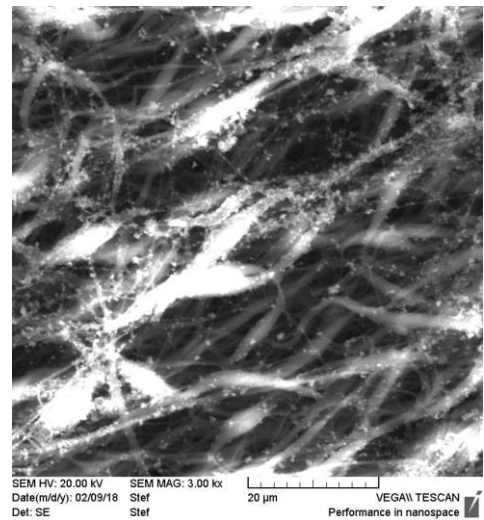
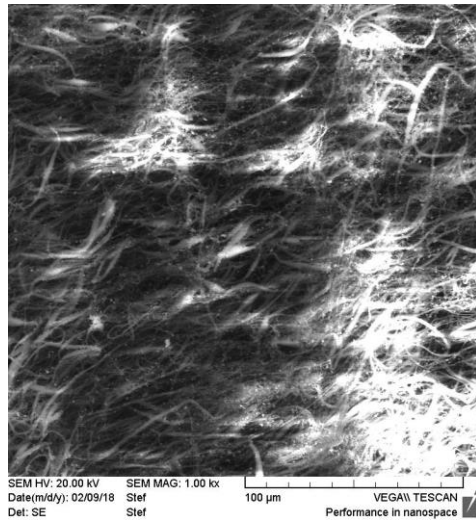
Slika 18. i 19. SEM mikrografije čistog PCL mata s TiO_2 nakon 30 min. sonifikacije

Slike 18.i 19. prikazuju dobru raspodjelu čestica TiO_2 unutar elektroispređenog PCL mata nakon 30 minuta u ultrazvučnoj kupelji.

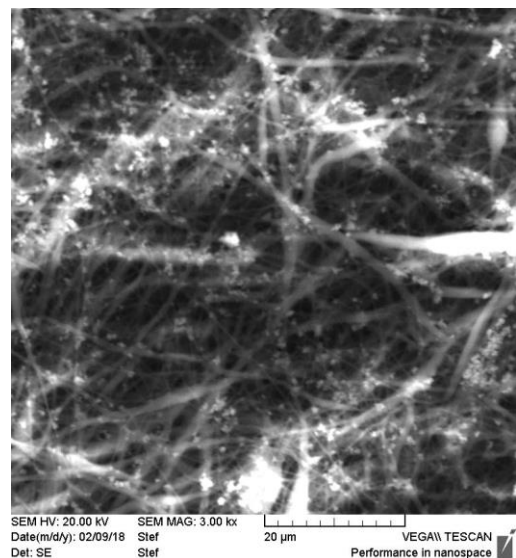
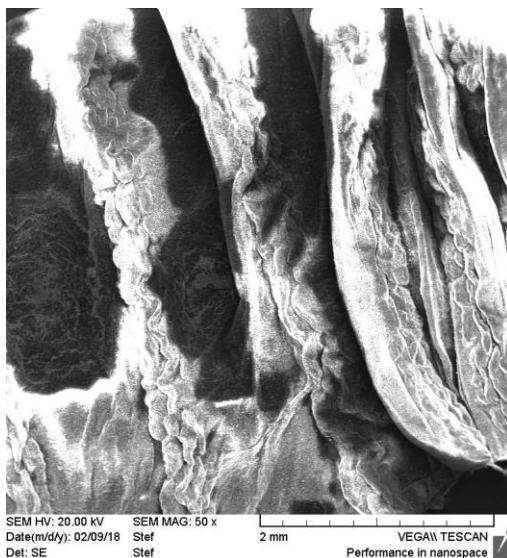


Slika 20. i 21. SEM mikrografije čistog PCL mata s TiO_2 nakon 60 min sonifikacije

Nakon 60 minuta držanja elektroispređenog PCL mata u ultrazvučnoj kupelji deponira se velika količina TiO_2 na i unutar polimernog mata, no čestice punila nisu ravnomjerno raspoređene, nego imaju tendenciju aglomeracije što je vidljivo na slici 21.

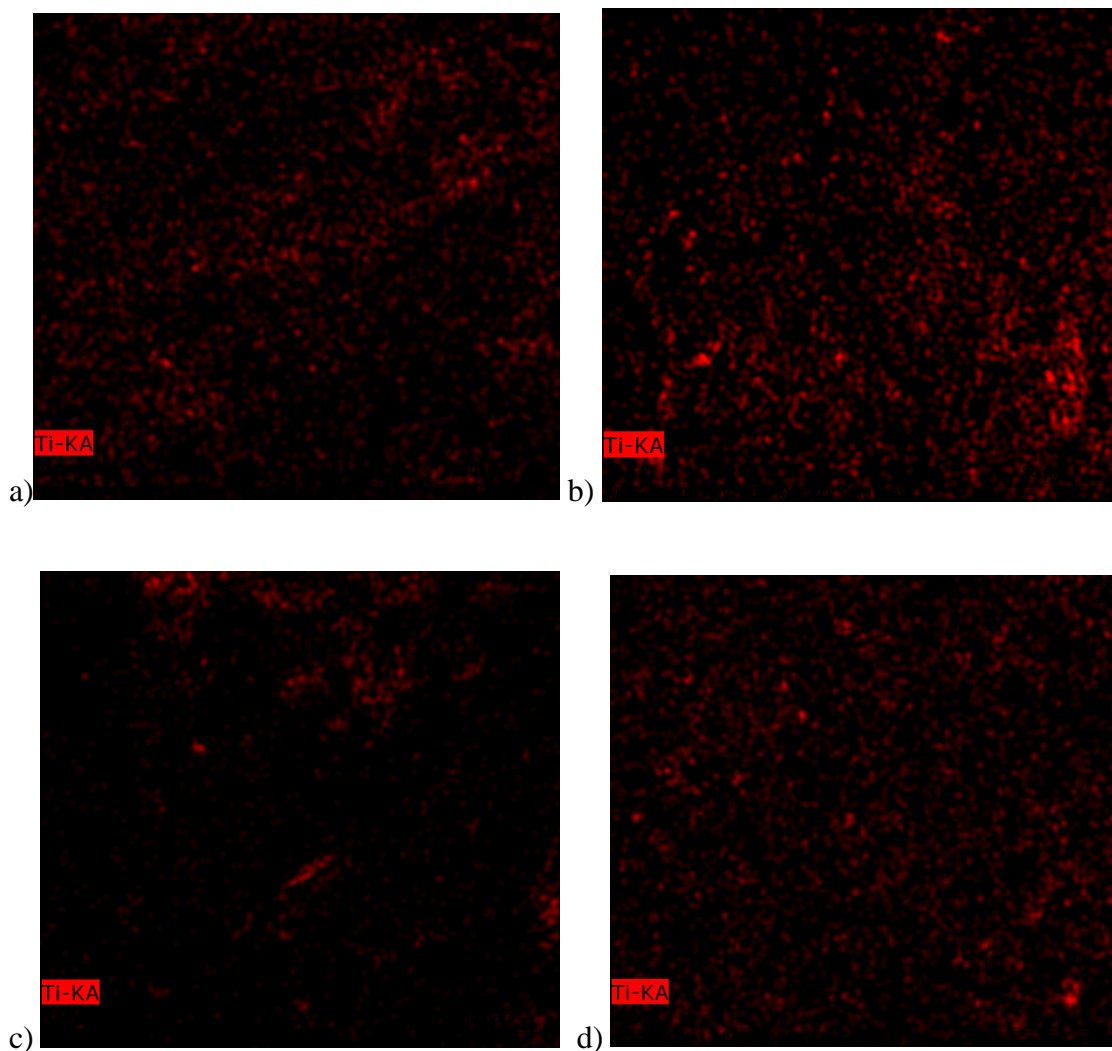


Slika 22. i 23. SEM mikrografije PCL mata obrađenog s NaOH s TiO₂ nakon 30 min sonifikacije



Slika 24. i 25. SEM mikrografije PCL mata obrađenog s NaOH s TiO₂ nakon 60 min sonifikacije

Modifikacijom površine NaOH promijenila se glatkoća površine, vizualnom analizom ustanovljeno je da se polimerni mat skupio, nije bio elastičan i lepršav kao prije te je na SEM slici 24 uočljivo da se izmijenila geometrija kanalića. Usprkos maloj nepovoljnoj promjeni morfologije površine, vidljivo je sa slika 22 i 23 da su čestice TiO₂ nakon 30 minuta u ultrazvučnoj kupelji u velikoj mjeri ugrađene u strukturu polimernog mata. Nakon 60 minuta nanašanja aglomeracija čestica punila je neznatna, a raspodjeljenost unutar cijele površine i između pora je ravnomjerna kao i kod uzorka koji je držan u ultrazvučnoj kupelji 30 minuta. Postoje naznake da je moguća i penetracija čestica punila u same pore.



Slika 26. Mapping TiO_2 : a) 30 min bez NaOH, b) 30 min s NaOH; c) 60 min bez NaOH, d) 60 min s NaOH

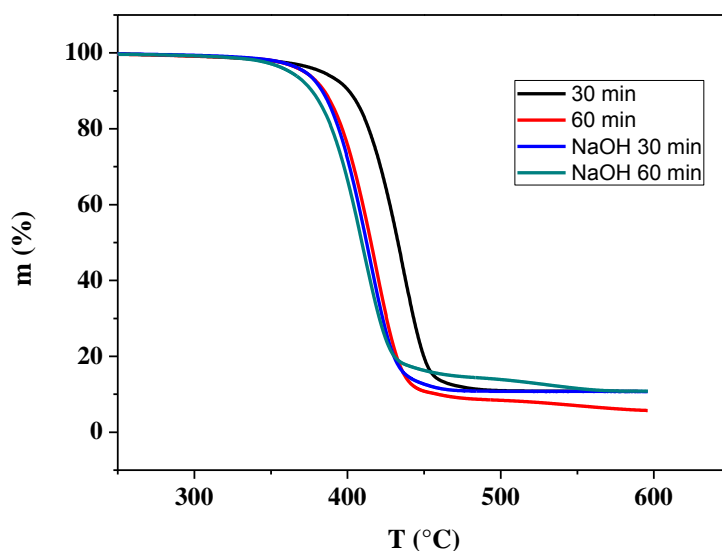
Mapping fotografije jasno prikazuju gdje se titanijev dioksid smjestio unutar elektroispredenog PCL polimernog mata. Crvena boja označava čestice titanijevog dioksida čime je dokazano da se djelovanjem NaOH na površinu polimera poboljšavaju interakcije s titanijevim dioksidom (slika 26. a) i c)), a dulja izloženost ultrazvučnim valovima pospješuje ravnomjernu raspodjelu čestica punila (slika 26. b) i d)).

4.3 Termogravimetrijska analiza (TGA)

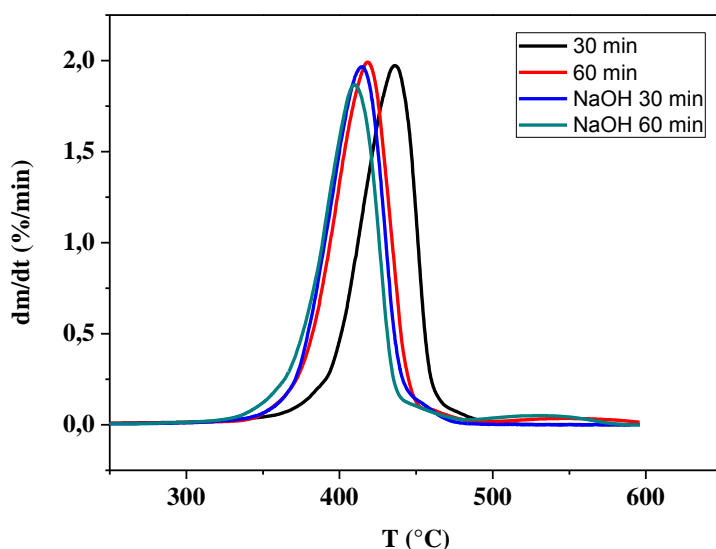
Termogravimetrijskom analizom dobiven je gubitak mase u ovisnosti o temperaturi, a derivacijom krivulje dobivena je ovisnost brzine gubitka mase s temperaturom. Dobiveni rezultati prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Vrijednosti dobivene termogravimetrijskom analizom

UZORAK	m / mg	m / %	T _{poč} / °C	T _{kraj} / °C
	ostatak nakon 600°C			
<i>PCL</i>	0	0	365,5	426,9
<i>PCL + TiO₂ 30min</i>	0,67	10,21	384,01	452,75
<i>PCL + TiO₂ 60min</i>	0,79	10,54	367,55	426,52
<i>PCL(NaOH) + TiO₂ 30 min</i>	0,80	10,72	372,61	432,08
<i>PCL(NaOH) + TiO₂ 60 min</i>	0,88	10,82	362,95	427,24



Slika 27. TG krivulje za PCL/TiO₂ matove kod različitog vremena nanošenja TiO₂



Slika 28. DTG krivulje za PCL/TiO₂ matove kod različitog vremena nanošenja TiO₂

Utjecaj nanašanja TiO₂ ultrazvukom te površinska obrada NaOH na toplinsku stabilnost elektroispredenih matova PCL-a prikazana je na slikama 27 i 28.

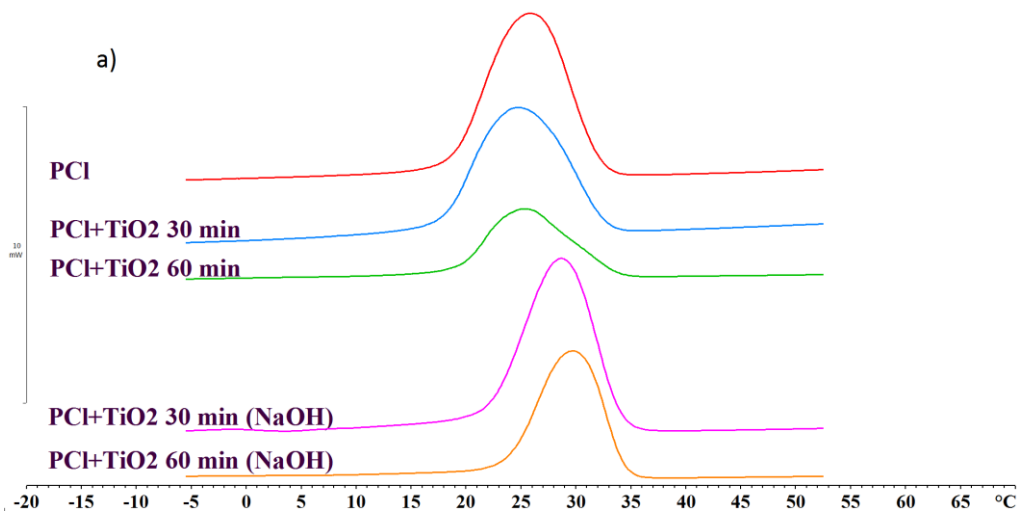
Dodatak TiO₂ u PCL poboljšava toplinsku stabilnost polimera i on se počinje razgrađivati pri višim temperaturama. No, produljenjem vremena nanošenja TiO₂ temperatura početka razgradnje smanjuje se i to značajno, iz čega se može zaključiti da je 60 minuta predugo vrijeme nanošenja TiO₂ jer smanjuje toplinsku stabilnost elektroispredenog mata. Također se smanjuje i temperatura početka razgradnje elektroispredenog mata obradom površine s NaOH što dodatno nepovoljno djeluje na toplinsku stabilnost polimera.

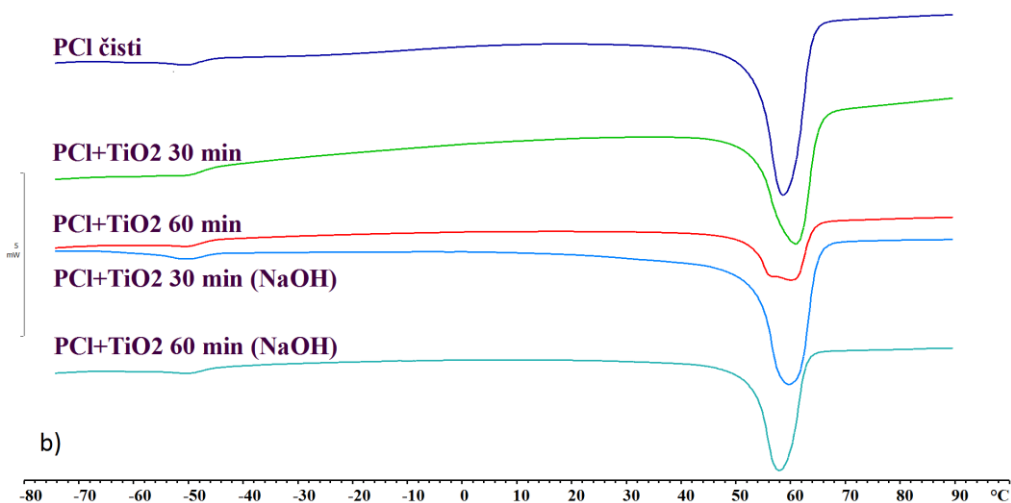
Prema podacima za ostatak nakon 600 °C (%) može se vidjeti količina TiO₂ uklopljena u strukturu elektroispredenog mata. Obradom površine NaOH dolazi do znatnijeg povećanja mase TiO₂ u elektroispredenim PCL matovima što je vidljivo iz Tablice 1. Najviše TiO₂ uklopljeno je u strukturu PCL-a nakon 60 minuta nanošenja TiO₂ na uzorku koji je modificiran s NaOH. To pokazuje da dulje vrijeme nanošenja TiO₂ povećava postotni udio TiO₂, ali pritom razrušava strukturu samog polimernog mata i smanjuje toplinsku stabilnost polimera.

4.4 Diferencijalna pretražna kalorimetrija – fazni prijelazi

Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC) kao instrumentalna tehnika koristi se za karakterizaciju toplinskih svojstava materijala, u ovom slučaju određivanja faznih prijelaza: temperature staklastog prijelaza (T_g), taljenja (T_m) i kristalizacije (T_c) te entalpije taljenja (ΔH_m) i postotka kristalnosti (χ_c).

Na osnovi krivulja ovisnosti toplinskog toka o temperaturi prikazanih na slici 29. određene su karakteristične vrijednosti koje se nalaze u tablici 2. Endotermni i egzotermni prijelazi na krivuljama ukazuju na djelomično kristalnu morfologiju elektroispredenog PCL mata, a uočeno je i da se dodatkom TiO_2 povećava kristalnost.





Slika 29. Grafički prikaz krivulja a) kristalizacije i b) taljenja PCL i PCL/TiO₂ matova dobivenih pomoću diferencijalne pretražne kalorimetrije

Na DSC krivulji zagrijavanja na temperaturi od oko -50 °C javlja se prijelaz vezan za staklište mekog segmenta PCL-a, dok se na višim temperaturama, oko 60 °C, javlja endotermni prijelaz koji odgovara taljenju kristalastog segmenta PCL-a (T_m).

Dodatkom mikro TiO₂ dolazi do neznatnog pomaka staklišta na više temperature što ukazuje na smanjenje pokretljivosti amorfne faze PCL dodatkom TiO₂. Dolazi do neznatnog porasta stupnja kristalnosti (izračunato pomoću jednadžbe (1)) uslijed nukleacijskog učinka TiO₂ te time pospešuje kristalizaciju, ali ograničava pokretljivost polimernih makromolekula. No kod elektroispredenih PCL/TiO₂ matova netretiranih i tretiranih s NaOH nakon 60 min. u ultrazvučnoj kupelji dolazi do smanjenja postotka kristalnosti što može ukazivati na razaranje strukture samog polimera predugim izlaganjem ultrazvuku.

$$\chi_c = \left(\frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0 \times \left(1 - \frac{\%W_{TiO_2}}{100} \right)} \right) \times 100 \quad (1)$$

Tablica 2. Vrijednosti temperature staklastog prijelaza, taljenja i kristalizacije te entalpija taljenja i χ_c za PCL i PCL/TiO₂ matove, dobivene DSC analizom

UZORAK	T_g / °C	T_m / °C	ΔH_m / Jg⁻¹	T_c / °C	χ_c / %
<i>PCL</i>	-52,9	58,5	49,93	26,0	35,16
<i>PCL + TiO₂ 30min</i>	-48,1	60,9	44,74	24,8	35,32
<i>PCL + TiO₂ 60min</i>	-52,7	60,2	27,95	25,35	23,00
<i>PCL(NaOH) + TiO₂ 30 min</i>	-54,0	59,5	47,24	28,9	37,26
<i>PCL(NaOH) + TiO₂ 60 min</i>	-54,8	57,9	29,64	29,8	23,41

5 ZAKLJUČAK

U dosadašnjim istraživanjima titanijev dioksid se kao punilo dodavao u polimernu otopinu za elektroispredanje i na taj način su se dobivali polimerni matovi za primjenu u bioinženjerstvu tkiva.

U ovom radu ispitivana je mogućnost inkorporiranja titanijevog dioksida u već elektroispredeni polimerni mat PCL-a pomoću ultrazvučne kupelji. Uspoređena su dva vremena tretiranja ultrazvukom, 30 i 60 minuta. Također, uspoređen je utjecaj modifikacije površine s NaOH na sami polimer i na adheziju TiO₂. Proces modifikacije površine elektroispredenog PCL mata proveden je kako bi se ostvarila bolja interakcija površine s česticama TiO₂.

Nakon modifikacije s NaOH mjeren je kontaktni kut goniometrom i potvrđena je promjena površine polimera od hidrofobne do hidrofilne, gdje je kut čistog PCL bio $125,8 \pm 5,6^\circ$, a PCL mata s NaOH $\sim 0^\circ$.

SEM mikrografije pokazuju vlaknastu poroznu strukturu PCL-a dobivenu elektroispredanjem i vidi se da je TiO₂ ugrađen u strukturu PCL mata. Pri izlaganju elektroispredenog PCL mata 30 minuta u ultrazvučnoj kupelji količina TiO₂ je ravnomjerno raspoređena unutar strukture polimera. Kod izlaganja 60 minuta TiO₂ ima tendenciju aglomeracije. Modifikacija površine polimera s NaOH neznatno narušava strukturu PCL, no omogućava bolju adheziju s TiO₂.

Također, termogravimetrijskom analizom i diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom ustanovljeno je da predugo izlaganje elektroispredenog PCL mata ultrazvuku dovodi do smanjivanja njegove toplinske stabilnosti i narušavanja morfološke strukture.

Može se zaključiti da je nanašanje TiO₂ u vremenu od 30 minuta optimalno vrijeme za dobivanje dovoljne količine ugrađenog TiO₂ u elektroispredenom PCL matu i njegove ravnomjerne raspodjele kako bi čestice punila mogle antibakterijski djelovati i spriječiti nastajanje i širenje mikroorganizama tijekom uzgoja i transplatacije tkiva.

6 POPIS KRATICA I SIMBOLA

PCL – polikaprolakton

TiO₂ – titanijev dioksid

NaOH – natrijev hidroksid

SEM - pretražna elektronska mikroskopija (Scanning Electron Microscopy)

3D – trodimenzionalno

PLA – poli-laktidna kiselina

PLGA – poli-lakto-ko-glikolna kiselina

PEO – poli-etilenoksid

PDLA – poli-D-laktidna kiselina

M_n – prosječna molekulska masa

θ – kontaktni kut tekućine (°)

DSC – diferencijalna pretražna kalorimetrija (Differential Scanning Calorimetry)

TGA – termogravimetrijska analiza (Thermogravimetric Analysis)

m – maseni ostatak [mg ili %]

T_{poč} – temperatura početka razgradnje [°C]

T_{kraj} – temperatura na kraju razgradnje [°C]

T_g – temperatura staklastog prijelaza [°C]

T_m – temperatura taljenja [°C]

T_c – temperatura kristalizacije [°C]

ΔH_m – entalpija taljenja [Jg⁻¹]

χ_c – stupanj kristalnosti [%]

7 LITERATURA

- [1] N. Hiremath, G. Bhat, *Melt Blown Polymeric Nanofibers for Medical Applications- An Overview. Nanosci Technol*, 2015, **2**(1) 1-9.
- [2] W. Cui, J. Chang, P. D. Dalton, *Electrospun fibers for drug delivery In Comprehensive Biomaterials; Ducheyne, P., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands*, 2011, Vol. **1–6**, pp. 445–462.
- [3] T. Čipčić, *Utjecaj količine antibiotika na svojstva elektroispređenog polikaprolaktona kao podloge za kontroliranu terapiju oka, rad za Rektorovu nagradu*, Tekstilno-tehnološki fakultet, 2017.
- [4] H. Yoshimoto, Y. M. Shina, H. Terai and J. P. Vacanti, *Biomaterials*, 2003, **24**, 2077.
- [5] J. Chen, B. Chu and B. S. Hsiao, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 2006, **79A**, 307.
- [6] M. C. Serrano, M. T. Portolés, M. Vallet-Regí, I. Izquierdo, L Galleti, J. V. Comas and R. Pagani, *Macromol. Biosci.*, 2005, **5**, 415.
- [7] K. H. Lee, H. Y. Kim, M. S. Khil, Y. M. Ra and D. R. Lee, *Polymer*, 2003, **44**, 1287.
- [8] Y. Zhu, M. F. Leong, W. F. Ong, M. B. Chan-Park and K. S. Chian, *Biomaterials*, 2007, **28**, 861.
- [9] W. J. Li, J. A. Cooper Jr., R. L. Mauck and R. S. Tuan, *Acta. Biomater.*, 2006, **2**, 377.
- [10] G. Giapetti, L. Ambrosio, L. Savarino, D. Granchi, E. Cenni, N. Baldini, S. Pagani, S. Guizzardi, F. Causa and A. Giunti, *Biomaterials*, 2003, **24**, 3815.
- [11] S. E. Kim, H. K. Rha, S. Surendran, C. W. Han, S. C. Lee, H. W. Choi, Y.-W. Choi, K.-H. Lee, J. W. Rhie and S. T. Ahn, *Macromol Res.*, 2006, **14**, 565.
- [12] E. Zdraveva i sur., *Elektroispređanje – značajna tehnika 21. stoljeća, Tekstil*, Zagreb, 2016, **65**(11-12) 397-409.

- [13] P. D. Dalton, C. Vaquette, B. L. Farrugia, T. R. Dargaville, T. D. Brown, D. W. Huttmacher, *Electrospinning and additive manufacturing: Converging technologies. Biomater. Sci.*, 2013, **1**, 171–185.
- [14] N. Bhardwaj, S. C. Kundu, *Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique, Biotechnology Advances*, 2008, 325-347.
- [15] A. Vats, N. S. Tolley, J. M. Polak and J. E. Gough, *Scaffolds and biomaterials for tissue engineering: a review of clinical applications Clin. Otolaryngol. Allied Sci.*, 2003, **28**, 165–72.
- [16] R. Langer & J. P. Vacanti, *Tissue engineering. Science*, 1993, **260**, 920–926.
- [17] J. Matuško, F. Kolonić, *3D tisak kao tehnologija za izradu brzih prototipova*, predavanje 4., kolegij Mehatronički sustavi, Fakultet elektrotehnike i računarstva, (2016.-2017.)
- [18] Christopher XF Lam, Swee Hin Teoh and Dietmar W. Huttmacher, *Comparison of degradation of PCL and PCL-TCP scaffolds in alkaline medium*, *Poly Int*, 2007, **56**, 718-728.
- [19] S. Zaiss, T. D. Brown, J. D. Reichert, A. Berner, *Poly (ϵ -caprolactone) Scaffolds Fabricated by Melt electrospinning for Bone Tissue Engineering*, *Materials*, 2016, **9**, 232.

8 ŽIVOTOPIS



Od 1999. do 2007. pohađala je OŠ „Grof Janko Drašković“, a od 2007.- 2011. godine opću gimnaziju „Tituš Brezovački“ te je obje završila s 5,0 prosjekom ocjena i proglašena učenicom generacije te nagrađena s medaljonom „Nikola Tesla“. Godine 2011. upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Kemija i inženjerstvo materijala. Na fakultetu se ističe sudjelovanjem u brojnim aktivnostima poput rada na Zavodu za fizikalnu kemiju kao demonstratorica u laboratoriju i aktivnim igranjem odbojke za tim „FKIT Tigrovi“. Završni rad preddiplomskog studija obranila pod vodstvom profesorice Helene Otmačić Ćurković sa Zavoda za elektrokemiju te obrazovanje nastavlja na diplomskom studiju također Kemije i inženjerstva materijala. 2015. godine sudjelovala na Sajmu ideja s posterom završnog rada te 2016. godine s istim sudjeluje na XI. Susretu mladih kemijskih inženjera. Akademsku godinu 2016./2017. provela na stručnoj praksi u Mitsubishi Chemicals u Japanu sudjelujući u programu „Vulcanus in Japan“ pod pokroviteljstvom Europske unije i Europsko-japanskog centra za industrijalizaciju.