



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)
“ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΥΛΙΚΩΝ”

«Παρασκευή και μελέτη πορώδους δομής
σε υβριδικά συστήματα
του πολυ(γαλακτικού οξέος)»

Μεταπτυχιακή εργασία

Κανίδη Μαρία

Διπλωματούχος Χημικός Μηχανικός

Επίβλεψη: Π.Α. Ταραντίλη

Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Οκτώβριος 2015



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΙV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

«Παρασκευή και μελέτη πορώδους δομής
σε υβριδικά συστήματα
του πολυ(γαλακτικού οξέος)»

Μεταπτυχιακή εργασία

Κανίδη Μαρία

Διπλωματούχος Χημικός Μηχανικός

Τριμελής επιτροπή:

Κων/νος Δέρβος, Καθηγητής ΕΜΠ

Κων/να Κόλλια, Καθηγήτρια ΕΜΠ

Πετρούλα Ταραντίλη, Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Οκτώβριος 2015

Περιεχόμενα

Πρόλογος	σελ. iv
Περίληψη	σελ. v
Abstract	σελ. vii
Κατάλογος Πινάκων	σελ. ix
Κατάλογος Εικόνων	σελ. x
Κατάλογος Σχημάτων	σελ. xiii
Κεφάλαιο 1 Πολυγαλακτικό οξύ	σελ. 1
1.1. Εισαγωγή	σελ. 1
1.2. Σύνθεση πολυγαλακτικού οξέος	σελ. 2
1.3. Ιδιότητες	σελ. 5
1.4. Βιοαποδόμηση	σελ. 7
1.5. Κύκλος ζωής του PLA	σελ. 8
1.6. Εφαρμογές	σελ. 10
1.6.1 Ιατρική	σελ. 10
1.6.2 Ύφασματα- Ίνες	σελ. 13
1.6.3 Συσκευασία τροφίμων και προϊόντα περιορισμένου χρόνου ζωής	σελ. 14
Βιβλιογραφία	σελ. 17
Κεφάλαιο 2 Ιστική Μηχανική – Ικριώματα	σελ. 21
2.1 Εισαγωγή	σελ. 21
2.2 Μέθοδοι ανάπτυξης ικριωμάτων	σελ. 23
2.2.1 Τεχνική έκπλυσης σωματιδίων	σελ. 23
2.2.2 Διαχωρισμός φάσεων	σελ. 28
2.2.3 Ηλεκτροστατική ινοποίηση	σελ. 29
2.2.4 Ξήρανση με κατάψυξη-λυσφιλίωση (Freeze drying)	σελ. 31
2.2.5 Αφρισμός με χρήση αερίου	σελ. 33
2.2.6 Τεχνολογίες ύφανσης	σελ. 33
2.2.7 Τεχνολογίες 3D εκτύπωσης	σελ. 34
2.3 Χαρακτηρισμός πορώδους δομής	σελ. 36
2.4 Μηχανική των ιστών	σελ. 37
2.5 Εφαρμογές βιοϋλικών στην Ιστική Μηχανική	σελ. 41
Βιβλιογραφία	σελ. 51
Κεφάλαιο 3 Πειραματική Διαδικασία	σελ. 56
3.1 Πρώτες ύλες	σελ. 56
3.1.1 PLLA Resomer L210	σελ. 56
3.1.2 PLLA_PG	σελ. 56
3.2.3 PEG	σελ. 57
3.1.4 Άλας χλωριούχου νατρίου (NaCl)	σελ. 57
3.1.5 Χλωροφόρμιο	σελ. 58
3.2 Παρασκευή δοκιμίων	σελ. 58
3.3 Έκπλυση άλατος	σελ. 59
3.4 Μελέτη αποδόμησης	σελ. 60
3.5 Εξοπλισμός και μέθοδοι	σελ. 61

3.5.1 Ιξωδομετρία	σελ. 61
3.5.1.1 Αρχή της μεθόδου	σελ. 61
3.5.1.2 Πειραματική διαδικασία	σελ. 65
3.5.2 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης	σελ. 66
3.5.2.1 Αρχή της μεθόδου	σελ. 66
3.5.2.2 Πειραματική διαδικασία	σελ. 67
3.5.3 Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (TGA)	σελ. 68
3.5.3.1 Αρχή της μεθόδου	σελ. 68
3.5.3.1 Πειραματική διαδικασία	σελ. 68
3.5.4. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)	σελ. 69
3.5.4.1 Αρχή της μεθόδου	σελ. 69
3.5.2.2 Πειραματική διαδικασία	σελ. 70
Βιβλιογραφία	σελ. 71
Κεφάλαιο 4 Χαρακτηρισμός Ικριωμάτων	σελ. 72
4.1 Αποτελέσματα ιξωδομετρίας διαλύματος	
Προσδιορισμός Μοριακού Βάρους	σελ. 72
4.1.1 PLLA Resomer L210	σελ. 72
4.1.2 PLLA_PG	σελ. 73
4.2 Μελέτη ικριωμάτων PLLA κατά την έκπλυση σωματιδίων άλατος	σελ. 74
4.3 Αποτελέσματα Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC)	σελ. 77
4.3.1 PLLA Resomer L210	σελ. 77
4.3.2 PLLA_PG	σελ. 80
4.4 Αποτελέσματα Θερμοβαρυμετρικής Ανάλυσης (TGA)	σελ. 85
4.5 Αποτελέσματα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM)	σελ. 86
4.5.1 PLLA Resomer L210:NaCl, 50:50	σελ. 86
4.5.2 PLLA Resomer L210:NaCl, 40:60	σελ. 88
4.5.3 PLLA Resomer L210:NaCl, 30:70	σελ. 89
4.5.4 PLLA_PG:NaCl, 50:50	σελ. 91
4.5.5 PLLA_PG:NaCl, 40:60	σελ. 92
4.5.6 PLLA_PG:NaCl, 30:70	σελ. 93
4.5.7 Σύγκριση αναλογιών άλατος έκπλυσης στη δημιουργία των ικριωμάτων PLLA	σελ. 95
4.5.8 Σύγκριση ικριωμάτων PLLA Resomer L210:NaCl και PLLA_PG:NaCl	σελ. 96
4.5.9 PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10)	σελ. 98
4.5.10 Σύγκριση ικριωμάτων PLLA_PG:NaCl, (50:50) με PLLA_PG:NaCl:PEG,(50:40:10)	σελ. 99
Βιβλιογραφία	σελ. 101
Κεφάλαιο 5 Μελέτη υδρολυρικής αποδόμησης PLA	σελ. 103
5.1 Μελέτη μεταβολής (απώλειας) βάρους	σελ. 103
5.2 Έλεγχος μεταβολής μοριακού βάρους κατά την παραμονή των ικριωμάτων στο ρυθμιστικό διάλυμα	σελ. 104
5.3 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)	σελ. 105
Βιβλιογραφία	σελ. 108
Κεφάλαιο 6 Συμπεράσματα	σελ. 109

Δημοσιεύσεις Μεταπτυχιακής Εργασίας
Βιογραφικό Σημείωμα

σελ. 115

σελ. 116

Πρόλογος

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Αναπλ. Καθηγήτριας Ε.Μ.Π κας Πετρούλας Α. Ταραντίλη. Στόχος της ήταν η παρασκευή κι η μελέτη ικριωμάτων πολυ(γαλακτικού) οξέος με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων άλατος. Επίσης, μελετήθηκε η διαδικασία αποδόμησης των ικριωμάτων που παρασκευάστηκαν με αυτήν την τεχνική.

Σε όλη αυτή την πορεία της μεταπτυχιακής μου εργασίας αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω θερμά την Αναπλ. Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. κα Πετρούλα Α. Ταραντίλη για την συνεργασία, την καθοδήγηση και τη συμβουλευτική κι επιστημονική βοήθεια που μου προσέφερε όλο αυτό το διάστημα. Η καθοδήγηση της αποδείχτηκε πολύτιμη σε συνδυασμό με την ευκαιρία, που μου δόθηκε να διευρύνω τις γνώσεις μου σε έναν τομέα μέχρι στιγμής άγνωστο για εμένα. Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Καθηγητή Ε.Μ.Π. κ. Ανδρέα Ανδρεόπουλο για τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων.

Για την πραγματοποίηση ορισμένων πειραματικών μετρήσεων απαιτήθηκε η χρήση εργαστηριακού εξοπλισμού που πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια άλλων συναδέλφων. Για το λόγο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω το διδάκτορα Δημήτριο Κορρέ για την πολύτιμη βοήθειά του στην τεχνική της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC), όσο και τον διδάκτορα Πέτρο Σχοινά για τη συμβολή του στην εκτέλεση πειραματικών χαρακτηρισμών μέσω του Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (SEM). Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον υποψήφιο διδάκτορα Στέφανο Κουτσουμπή για την τεχνική υποστήριξη του.

Τέλος, νιώθω την ανάγκη να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτορα Γεωργιάννα Αθανασούλια για την πολύτιμη συνεργασία καθ'όλη τη διάρκεια της μεταπτυχιακής εργασίας, καθώς και την υποστήριξη της σε επιστημονικό και φιλικό επίπεδο. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής της μεταπτυχιακής μου εργασίας, τον καθηγητή ΕΜΠ κ. Κωνσταντίνο Δέρβο και την καθηγήτρια ΕΜΠ κα. Κωνσταντίνα Κόλλια.

Περίληψη

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε κατασκευή και μελέτη ικριωμάτων πολυ(γαλακτικού) οξέος με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων άλατος, με σκοπό το χαρακτηρισμό των θερμικών τους μεταπτώσεων, της μορφολογίας της πορώδους δομής που αναπτύχθηκε μετά την έκπλυση των σωματιδίων, αλλά και την μελέτη της αποδόμησης των ικριωμάτων πολυ(γαλακτικού οξέος) που κατασκευάστηκαν με αυτή την τεχνική με σκοπό τη μελλοντική εφαρμογή τους στον τομέα της μηχανικής των ιστών. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η κατασκευή και η μελέτη ικριωμάτων με τρισδιάστατη πορώδη και διασυνδεδεμένη δομή με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων άλατος (χλωριούχου νατρίου), καθώς και ο χαρακτηρισμός των δοκιμίων που λαμβάνονται με αυτή την τεχνική.

Η δημιουργία των τρισδιάστατων δομών των ικριωμάτων έχει μελετηθεί με διάφορες τεχνικές. Κάθε μεθοδολογία παρουσιάζει διαφορετικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, γι' αυτό και η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής είναι καθοριστικός παράγοντας για την επιτυχή κατασκευή του επιθυμητού ικριώματος. Η κατάλληλη τεχνική επιλέγεται βάσει του τύπου του πολυμερούς που θα χρησιμοποιηθεί ως δομικό υλικό για το ικρίωμα και των ιδιοτήτων του, καθώς και των επιθυμητών διαστάσεων που επιβάλλεται να έχει ανάλογα την εφαρμογή που προορίζεται. Το πολυ(γαλακτικό οξύ) έχει ευρεία χρήση σε βιοϊατρικές εφαρμογές λόγω της βιοαποικοδομησιμότητας και βιοσυμβατότητάς του, των ανώτερων θερμομηχανικών του ιδιοτήτων και της διαφάνειας που παρουσιάζει. Ωστόσο, το πολυμερές αυτό παρουσιάζει και ορισμένα μειονεκτήματα όπως η χαμηλή ανθεκτικότητα, ο χαμηλός ρυθμός αποδόμησης και η υδροφοβικότητα.

Το πολυ(γαλακτικό) οξύ χρησιμοποιήθηκε ως μήτρα, ενώ τα σωματίδια χλωριούχου νατρίου (NaCl) αποτέλεσαν το πορογενές μέσο κατά την κατασκευή των ικριωμάτων. Μελετήθηκαν τρεις διαφορετικές αναλογίες ποσοστών πολυμερούς/άλατος (50:50), (40:60) και (30:70) (w/w) για την κατασκευή των ικριωμάτων και δύο διαφορετικοί τύποι πολυγαλακτικού οξέος. Συγκεκριμένα, ένα ημικρυσταλλικό πολυ(γαλακτικό) οξύ υψηλού μοριακού βάρους και υψηλότερης κρυσταλλικότητας κι ένα ημικρυσταλλικό πολυμερές μικρότερου μοριακού βάρους και ποσοστού κρυσταλλικότητας. Για την κατασκευή των ικριωμάτων πραγματοποιήθηκε μορφοποίηση του πολυμερούς με τα σωματίδια χλωριούχου νατρίου με την τεχνική της θερμής συμπίεσης και μελετήθηκε η επίδραση της διαδικασίας μορφοποίησης στα μοριακά βάρη των εξεταζόμενων πολυμερών, στις θερμικές τους μεταπτώσεις καθώς και η μορφολογία της πορώδους δομής που δημιουργήθηκε μετά την έκπλυση του άλατος.

Λόγω των μειονεκτημάτων που παρουσιάζει το πολυ(γαλακτικό οξύ), ένας από τους τρόπους βελτίωσης της ψαθυρότητας και της υδροφιλικότητας του PLA είναι η προσθήκη πολύ(αιθυλενογλυκόλης), (PEG) χαμηλού μοριακού βάρους. Έτσι, πραγματοποιήθηκε επίσης κατασκευή ικριωμάτων πολυ(γαλακτικού οξέος) με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων άλατος και προσθήκη πολυ(αιθυλενογλυκόλης), (PEG) με σκοπό τη βελτίωση της υδροφιλικότητας του ικριώματος, της διασποράς των σωματιδίων άλατος, καθώς και βελτίωση του πορώδους. Ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία μορφοποίησης των ικριωμάτων όπως αναφέρθηκε με τη διαφορά της προσθήκης της PEG με αναλογία PLLA:NaCl:PEG (50:40:10) (w/w/w).

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μελέτη της υδρολυτικής αποδόμησης των ικριωμάτων αναλογίας πολυμερούς/άλατος (50:50) (w/w) που κατασκευάστηκαν με την παραπάνω τεχνική. Μετά τη διαδικασία έκπλυσης του χλωριούχου νατρίου, τα ικρίσματα εμβάπτιστηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών/άλατος (Phosphate Buffered Saline, PBS) με pH 7.4 για διαφορετικά χρονικά διαστήματα εμβάπτισης (30, 60 και 90 ημέρες).

Από τους χαρακτηρισμούς που πραγματοποιήθηκαν προκύπτει το συμπέρασμα πως αρχικά η διαδικασία κωνιοποίησης του πολυμερούς και στη συνέχεια η διαδικασία μορφοποίησης του προκαλεί μείωση του μοριακού του βάρους καθώς και μείωση της κρυσταλλικότητας του, ενώ φαίνεται να μην επηρεάζει σημαντικά το σημείο υαλώδους μετάβασής του. Από τις μικροφωτογραφίες του SEM παρατηρήθηκαν οι τρισδιάστατες πορώδεις δομές με εμφανή σημεία διασύνδεσης που αναπτύχθηκαν μετά την έκπλυση των σωματιδίων άλατος συγκριτικά με την αναλογία πολυμερούς/άλατος καθώς και τον τύπο του πολυμερούς που χρησιμοποιήθηκε. Επίσης η προσθήκη της PEG παρατηρήθηκε πως εμφανίζει σημαντική επίδραση στις θερμικές μεταπτώσεις του PLLA, καθώς οδήγησε σε μείωση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάβασης και αύξηση της κρυσταλλικότητας του. Όσον αναφορά τα ικρίσματα προς μελέτη της υδρολυτικής αποδόμησης, παρατηρήθηκε μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς συναρτήσει του χρονικού διαστήματος εμβάπτισης και αύξηση της κρυσταλλικότητας του.

Ως γενικό συμπέρασμα μπορεί να σχολιαστεί πως η τεχνική κατασκευής ικριωμάτων με έκπλυση σωματιδίων που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή την εργασία οδηγεί σε πορώδεις δομές με διασύνδεση εντοπισμένη κατά περιοχές. Ωστόσο, η έλλειψη διασυνδεσιμότητας σε όλο τον όγκο του ικριώματος αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα για την λειτουργικότητά τους σε βιοϊατρικές εφαρμογές και το γεγονός αυτό προκαλεί την αναγκαιότητα επίλυσης αυτού του θέματος. Οι τεχνικές κατασκευής των ικριωμάτων όπως αναφέρθηκε ποικίλουν, ενώ μελετάται η δυνατότητα συνδυασμού διαφορετικών τεχνικών με τη χρήση του κατάλληλου βιοαποικοδομήσιμου πολυμερικού συστήματος και την επιλογή των κατάλληλων συνθηκών. Όσον αναφορά την τεχνική που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε πως η διαδικασία μορφοποίησης επηρεάζει το μοριακό βάρος του πολυμερούς, επηρεάζοντας συνεπώς και τις θερμικές ιδιότητες του όπως και μεταπτώσεις. Οι πορώδεις δομές που παρατηρήθηκαν προέκυψαν από την απομάκρυνση των σωματιδίων άλατος δημιουργούν κατά περιοχές ένα δαιδαλώδες σύμπλεγμα πόρων από το οποίο και εξαρτώνται οι δίοδοι μεταφοράς των θρεπτικών ή μεταβολικών προϊόντων των κυττάρων. Στόχος και πρόκληση για περαιτέρω μελέτη του θέματος αποτελεί η ομοιόμορφη κατανομή της πορώδους δομής με ελεγχόμενο μέγεθος πόρων και υψηλή διασυνδεσιμότητα σε συνδυασμό με επιθυμητούς χρόνους αποδόμησης του πολυμερούς.

Abstract

In this present study, scaffolds of poly (lactic acid) were fabricated using the salt leaching technique. The scaffolds were studied in order to be characterized in terms of their thermal properties, morphology of the pores' structure but also their biodegradation ability. This evaluation of the properties achieved will provide the necessary information in order to be used in biomedical applications. The aim of this study was to construct three dimensional scaffolds with porous and interconnected structure using the salt particle leaching technique, and evaluate the effect of particles' percentage in the morphology of their structure.

Until now, several scaffold fabrication techniques have been developed. Each technique is characterized by its specific advantages and drawbacks respectively and for this reason the selection of the appropriate technique is very important factor for the successful fabrication of the scaffold. The suitable technique is chosen according to the using type of polymer, its properties and the required dimensions depending on the intended application. The poly (lactic) acid is appropriate for biomedical applications due to its biodegradability and biocompatibility and the high thermal and mechanical properties and the transparency that presents. However, this polymer presents certain drawbacks such as low resistance, low rate of degradation and hydrophobicity.

Poly (lactic acid) was used as matrix material of the scaffold and sodium chloride particles (NaCl) were utilized as the ductal medium. Three different ratios of polymer/salt (50:50), (40:60) and (30:70) (w/w) were prepared and two different types of poly (lactic) acid. Specifically, a semicrystalline poly (lactic) acid of high molecular weight and high rate of crystallinity and a semicrystalline poly (lactic) acid of lower molecular weight and crystallinity rate. For the fabrication of the scaffolds, poly (lactic) acid mixed with particles of sodium chloride were fabricated using pressure and high temperature for an expected time. The influence of the fabrication technique was examined concerning the molecular weight of poly (lactic) acid, their thermal properties and the pore's structure morphology that was achieved after the salt leaching.

In order to overcome some of the drawbacks of the poly (lactic acid), the addition of poly (ethylene glycol), (PEG) of low molecular weight, is proposed to improve flexibility and hydrophilicity of PLA. In this study, scaffolds fabrication was obtained using the salt leaching technique adding poly (ethylene glycol), (PEG) in order to improve the hydrophilicity of the scaffold, the dispersion of the salt particles and the porosity. The process of the scaffold fabrication was the same and the ratio of polymer/salt/plasticizer was (50:40:10), (w/w) of PLLA / NaCl / PEG.

Then, the degradation rate of the scaffolds was studied using a phosphate buffer/salt (Phosphate Buffered Saline, PBS). The scaffolds whose composition was PLLA:NaCl (50:50) after the salt leaching process were immersed in PBS for different time (30, 60 and 90 days).

As it is concluded by this study the pulverization of the polymer and the molding process causes a reduction of the scaffold's molecular weight, a reduction to the crystallinity rate and no significantly affect to the glass transition temperature (T_g) of the polymer. As concerns to SEM micrographs, three dimensional porous structure is observed with partial interconnectivity of the pores which is developed after the leaching process. Also the

addition of PEG causes a significant influence of the thermal properties as the glass transition temperature (T_g) of the polymer is reduced and the rate of crystallinity is higher. Concerning to the degradation study of the polymer, it is observed that the molecular weight of the scaffolds is reduced regarding the immersion time and the crystallinity is increased.

As a conclusion of this study, we could refer that the scaffold fabrication using the salt leaching technique can lead to 3D porous structures with partial interconnectivity. However, low interconnectivity in the bulk of the scaffold consists to a significant drawback for the scaffolds' functionality for biomedical applications. As it is mentioned there is a wide range of scaffold fabrication techniques. Moreover proposed combinations of these techniques could lead to the improvement of scaffolds' specifications. Porous structures are a result of the successful salt leaching process and create interconnected paths between the porous which create transfer passages of nutrients and metabolic products of cells. Suggestion for further study of this subject consists to the homogeneous dispersion of the porous structure with controllable size pore's and high interconnectivity.

Κατάλογος Πινάκων

Κεφάλαιο 1

Πίνακας 3. 1: Ιδιότητες του L-PLA και του D,L-PLA σελ. 6

Κεφάλαιο 3

Πίνακας 3. 1: Φυσικές ιδιότητες πολυ(L-γαλακτικό οξέος) Resomer L210 σελ. 56

Πίνακας 3. 2: Φυσικές ιδιότητες πολυ(L-γαλακτικό οξέος) PLLA_PG σελ. 57

Πίνακας 3. 3: Φυσικές ιδιότητες πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) σελ. 57

Πίνακας 3. 4: Ιδιότητες χλωριούχου νατρίου NaCl σελ. 57

Πίνακας 3. 5: Ιδιότητες χλωροφορμίου CHCl₃ σελ. 58

Πίνακας 3. 6: Βάρη πλακιδίων κατά τη μορφοποίηση και έκπτυση των πλακιδίων του PLLA Resomer L210 σελ. 59

Πίνακας 3. 7: Βάρη πλακιδίων κατά τη μορφοποίηση και έκπτυση των πλακιδίων του PLLA_PG σελ. 60

Πίνακας 3. 8: Διάφορες εκφράσεις του ιξώδους και οι ορισμοί τους σελ. 63

Κεφάλαιο 4

Πίνακας 4. 1: Εσωτερικά ιξώδη και μοριακά βάρη για τα δείγματα PLLA Resomer L210 σελ. 72

Πίνακας 4. 2: Εσωτερικά ιξώδη και μοριακά βάρη για τα δείγματα PLLA_PG σελ. 73

Πίνακας 4. 3: Αποτελέσματα ενθαλπών τήξης και κρυστάλλωσης για το PLLA Resomer L210 σελ. 80

Πίνακας 4. 4: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης, τήξης και κρυστάλλωσης για το PLLA Resomer L210 σελ. 80

Πίνακας 4. 5: Αποτελέσματα ενθαλπών τήξης για τα δείγματα PLLA_PG σελ. 83

Πίνακας 4. 6: Αποτελέσματα ενθαλπών ψυχρής κρυστάλλωσης, τήξης και κρυστάλλωσης για τα δείγματα PLLA_PG με προσθήκη PEG σελ. 84

Πίνακας 4. 7: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης και τήξης για τα δείγματα PLLA_PG σελ. 84

Πίνακας 4. 8: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης και τήξης για τα δείγματα PLLA_PG με προσθήκη PEG σελ. 84

Πίνακας 4. 9: Αποτελέσματα θερμοκρασιών ψυχρής κρυστάλλωσης και κρυστάλλωσης για τα δείγματα PLLA_PG με προσθήκη PEG σελ. 84

Πίνακας 4. 10: Αποτελέσματα θερμοκρασίας έναρξης αποδόμησης, μέγιστου ρυθμού αποδόμησης και υπολείμματος για τη σκόνη και το ικρίωμα από PLLA_PG σελ. 86

Κεφάλαιο 5

Πίνακας 5. 1: Αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής βάρους των εμβαπτισμένων ικριωμάτων σελ. 103

Πίνακας 5. 2: Μοριακά βάρη δειγμάτων PLLA_PG και ικριωμάτων σελ. 104

Πίνακας 5. 3 Αποτελέσματα ενθαλπών. ψυχρής κρυστάλλωσης δειγμάτων PLLA_PG σελ. 107

Πίνακας 5. 4: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης δειγμάτων PLLA_PG σελ. 107

Κατάλογος Εικόνων

Κεφάλαιο 1

Εικόνα 1. 1: Εναντιομερείς μορφές γαλακτικού οξέος και λακτιδίου	σελ. 2
Εικόνα 1. 2: Μοριακή δομή του γαλακτικού οξέος	σελ. 3
Εικόνα 1. 3: Χημική δομή πολυγαλακτικού οξέος PLA	σελ. 3
Εικόνα 1. 4: Σύνθεση του PLA από γαλακτικό οξύ με τρεις μεθόδους	σελ. 4
Εικόνα 1. 5: Χημικός τύπος PLA (επαναλαμβανόμενη μονάδα), L και D μορφή	σελ. 5
Εικόνα 1. 6: Η επιφάνεια του PLA, η επιφάνεια κατά τη διάβρωση (αποικοδόμηση) των άμορφων περιοχών κι ο θρυμματισμός των κρυσταλλικών περιοχών κατά τη διάβρωση της επιφάνειας του PLA	σελ. 8
Εικόνα 1. 7: Κύκλος ζωής του PLA	σελ. 9
Εικόνα 1. 8: Αντιδράσεις κατά τον κύκλο ζωής του PLA	σελ. 9
Εικόνα 1. 9: Ράμματα από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή	σελ. 11
Εικόνα 1. 10: Εμφυτεύματα από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή	σελ. 12
Εικόνα 1. 11: Μικροσφαιρίδια ως φορείς φαρμάκου	σελ. 13
Εικόνα 1. 12: (Α) Ομοιόμορφη βιοδιάσπαση (bulk erosion) και (Β) Επιφανειακή Βιοδιάσπαση (surface erosion) για συστήματα «αποθήκευσης» φαρμάκου	σελ. 13
Εικόνα 1. 13: Ίνες πολυεστέρα και ίνες PLA	σελ. 14
Εικόνα 1. 14: Συσκευασίες τροφίμων από PLA	σελ. 15
Εικόνα 1. 15 Παγκόσμια αγορά υλικών συσκευασίας από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή που χρησιμοποιήθηκαν κατά το 2010	σελ.15
Εικόνα 1.16: Βιοδιασπώμενο μπουκάλι από PLA της εταιρίας Nature Works LLC	σελ. 16

Κεφάλαιο 2

Εικόνα 2. 1: Μικροφωτογραφία SEM ικρίωματος PLLA παρασκευάστηκε με την τεχνική διαλύματος και έκπλυσης σωματιδίων	σελ. 25
Εικόνα 2. 2: Μικροφωτογραφία SEM ικρίωματος PLLA παρασκευάστηκε με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων	σελ. 27
Εικόνα 2. 3: (α) Σχηματική αναπαράσταση της Ηλεκτροστατικής εναπόθεσης και (β) Μικροφωτογραφία SEM από ίνες που έχουν κατασκευαστεί με την τεχνική της Ηλεκτροστατικής εναπόθεσης	σελ. 31
Εικόνα 2. 4: Μικροφωτογραφία SEM από ικρίωματα που έχουν κατασκευαστεί με την τεχνική του freeze drying	σελ. 32
Εικόνα 2. 5: Μικροφωτογραφία SEM από ικρίωμα PLA κατασκευασμένο με την τεχνική αφρισμού με CO ₂	σελ. 33
Εικόνα 2. 6: Μικροφωτογραφία SEM υφασμένου πλέγματος	σελ. 34
Εικόνα 2. 7: Διάταξη μεθόδου Selective Laser Sintering (SLS)	σελ. 35
Εικόνα 2. 8: Διάταξη μεθόδου Laminated Object Manufacturing (LOM)	σελ. 35
Εικόνα 2. 9: Διάταξη μεθόδου Fused Deposition Modeling (FDM)	σελ. 36
Εικόνα 2. 10: Πορώδες ικρίωμα με αλληλοσυνδεδεμένους πόρους	σελ. 36
Εικόνα 2. 11: Καινούρια πορώδη, θερμοσκληρυνόμενα ικρίωματα διασταυρούμενου PLA	σελ. 37
Εικόνα 2. 12: Τυπικές μορφές πραγματικών πόρων	σελ. 37

Εικόνα 2. 13: Διαδικασία κατασκευής ιστών	σελ. 40
Εικόνα 2. 14: Συνθετικό δερματικό επίθεμα	σελ. 41
Εικόνα 2. 15: Κατασκευή στρογγυλών τεμαχίων συνθετικού δέρματος, διαμέτρου 8 cm ,της εταιρείας Arligraf σε τρυβλίο	σελ. 42
Εικόνα 2. 16: Υποκατάστατο δέρμα Transcyte	σελ. 43
Εικόνα 2. 17: Κατασκευή μύτης με τη μέθοδο CAD	σελ. 44
Εικόνα 2. 18: Ανάπλαση τμήματος οστού	σελ. 44
Εικόνα 2. 19: Δίκτυο αγγείων στο συκώτι, που αποδεικνύει την πολυπλοκότητα Κατασκευής	σελ. 45
Εικόνα 2. 20: Η φωτολιθογραφία χαράσσει το μοτίβο κάθε στρώματος τριχοειδών αγγείων πάνω σε πλακίδιο σιλικόνης ώστε να αποτελέσει τη μήτρα του βιοαποικοδομήσιμου πολυμερούς του ικρίωματος συνθετικού συκωτιού	σελ. 45
Εικόνα 2. 21: Κατασκευή συνθετικών αγγείων	σελ. 46
Εικόνα 2. 22: Ικρίωμα κολλαγόνου	σελ. 47
Εικόνα 2. 23: Μηχανική ιστών μυοκαρδίου	σελ. 47
Εικόνα 2. 24: Τρόποι κατασκευής των επιμέρους τμημάτων της καρδιάς	σελ. 48
Εικόνα 2. 25: Εφαρμογές Μηχανικής Ιστών σε περιπτώσεις αισθητικών Επεμβάσεων	σελ. 49
<u>Κεφάλαιο 3</u>	
Εικόνα 3. 1: PLLA-πολυ(L-γαλακτικό οξύ)	σελ. 56
Εικόνα 3. 2: Μοριακός τύπος αιθυλενογλυκόλης (PEG)	σελ. 57
Εικόνα 3. 3: Ιξωδόμετρο Ubbelohde	σελ. 62
Εικόνα 3. 4: Σχηματικό διάγραμμα ενός οργάνου DSC	σελ. 66
Εικόνα 3. 5: Τυπικό θερμογράφημα DSC	σελ. 67
Εικόνα 3. 6: Συσκευή Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης	σελ. 67
Εικόνα 3. 7: Όργανο θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης TGA	σελ. 68
Εικόνα 3. 8: Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης	σελ. 69
Εικόνα 3. 9: Φαινόμενα αλληλεπίδρασης μεταξύ του δείγματος και της δέσμης ηλεκτρονίων	σελ. 70
<u>Κεφάλαιο 4</u>	
Εικόνα 4. 1: Πλακίδιο από PLLA μορφοποιημένο στην πρέσσα στους 200 °C για 7 min	σελ. 74
Εικόνα 4. 2: Πλακίδιο PLLA:NaCl (α)40:60 και (β) 30:70 πριν την έκπλυση	σελ. 76
Εικόνα 4. 3: Ικρίωμα PLLA:NaCl (α) 50:50 και (β) 40:60	σελ. 76
Εικόνα 4. 4: Ικρίωματα PLLA:NaCl αναλογίας 30:70	σελ. 77
Εικόνα 4. 5: Μικροφωτογραφίες SEM από την άνω επιφάνεια ικρίωματος (50:50) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x150	σελ. 86
Εικόνα 4. 6: Μικροφωτογραφίες SEM από την άνω επιφάνεια ικρίωματος (50:50) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x150 και (β)x300	σελ. 87
Εικόνα 4. 7: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικρίωματος (50:50) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x600 και (β)x1000	σελ. 87
Εικόνα 4. 8: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικρίωματος (40:60) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x200	σελ. 88

Εικόνα 4. 9: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (40:60) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x400	σελ. 88
Εικόνα 4. 10: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (40:60) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x300	σελ. 89
Εικόνα 4. 11: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x200	σελ. 89
Εικόνα 4. 12: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x500	σελ. 90
Εικόνα 4. 13: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x500	σελ. 90
Εικόνα 4. 14: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA Resomer L210:NaCl (α)x100 και (β)x400	σελ. 91
Εικόνα 4. 15: Μικροφωτογραφίες SEM (από την άνω επιφάνεια) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x100 και (β)x200	σελ. 91
Εικόνα 4. 16: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x100 και (β)x400	σελ. 92
Εικόνα 4. 17: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x300 και (β)x400	σελ. 92
Εικόνα 4. 18: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x200 και (β)x500	σελ. 93
Εικόνα 4. 19: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x150 και (β)x300	σελ. 93
Εικόνα 4. 20: Μικροφωτογραφίες SEM (από την άνω επιφάνεια) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x200 και (β)x400	σελ. 94
Εικόνα 4. 21: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x200 και (β)x400	σελ. 94
Εικόνα 4. 22: Ικριώματα αναλογίας PLLA:NaCl, (α) 50:50, (β) 40:60, (γ) 30:70 για το PLA Resomer L210	σελ. 95
Εικόνα 4. 23: Ικριώματα αναλογίας PLLA:NaCl, (α) 50:50, (β) 40:60 για το PLLA_PG	σελ. 95
Εικόνα 4. 24: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (50:50)	σελ. 96
Εικόνα 4. 25: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (40:60)	σελ. 96
Εικόνα 4. 26: Μικροφωτογραφίες SEM (από την άνω επιφάνεια) ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (30:70)	σελ. 97
Εικόνα 4. 27: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10), (α) x300, (β) x1200	σελ. 98
Εικόνα 4. 28: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριώματος PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10), (α) x200, (β) x400	σελ. 98
Εικόνα 4. 29: Μικροφωτογραφίες SEM από ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10) x800, (α) από την τομή, (β) από την άνω επιφάνεια	σελ. 99
Εικόνα 4. 30: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων x800 (α) PLLA_PG:NaCl, (50:50), (β) PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10)	σελ. 99

Εικόνα 4. 31: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων x200 (α) PLLA_PG:NaCl, (50:50), (β) PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10)	σελ. 100
--	----------

Κεφάλαιο 5

Εικόνα 5. 1: Φωτογραφίες των ικριωμάτων πριν και μετά την εμφάνισή τους στο ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7.4 για το δοκίμιο Γ	σελ. 103
---	----------

Κατάλογος Σχημάτων

Κεφάλαιο 4

Σχήμα 4. 1: Μοριακό βάρος δειγμάτων για το PLLA Resomer L210 και το PLLA_PG	σελ. 74
Σχήμα 4. 2: Μάζα ικριώματος συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης για τις αναλογίες του PLLA Resomer L210	σελ. 75
Σχήμα 4. 3: Μάζα ικριώματος συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης για τις αναλογίες του PLLA_PG	σελ. 76
Σχήμα 4. 4: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA Resomer L210	σελ. 78
Σχήμα 4. 5: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA Resomer L210	σελ. 78
Σχήμα 4. 6: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για το PLLA Resomer L210	σελ. 79
Σχήμα 4. 7: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA_PG	σελ. 80
Σχήμα 4. 8: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA_PG	σελ. 81
Σχήμα 4. 9: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για το PLLA_PG	σελ. 82
Σχήμα 4. 10: Η μεταβολή του βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας κατά τη δοκιμή TGA σκόνης και ικριώματος από PLLA_PG	σελ. 85
Σχήμα 4. 11: Η παράγωγος μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας κατά τη δοκιμή TGA σκόνης και ικριώματος από PLLA_PG	σελ. 85

Κεφάλαιο 5

Σχήμα 5. 1: Επίδραση της αποικοδόμησης στο μοριακό βάρος του PLLA_PG	σελ. 105
Σχήμα 5. 2: Συγκριτικές καμπύλες DSC ικριωμάτων PLLA_PG:NaCl, (50:50) κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης	σελ. 105
Σχήμα 5. 3: Συγκριτικές καμπύλες DSC ικριωμάτων PLLA_PG:NaCl, (50:50) κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης	σελ. 106

Κεφάλαιο 6

Σχήμα 6. 1: Συγκριτικό ιστόγραμμα με τα μοριακά βάρη των πολυμερών PLLA Resomer L210 και PLLA_PG	σελ. 111
--	----------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΠΟΛΥΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ

1.1 Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει επικεντρωθεί ιδιαίτερα στα βιοαποικοδομήσιμα και βιοσυμβατά πολυμερή λόγω των καινοτόμων αλλά και φιλικών προς το περιβάλλον εφαρμογών που προσφέρουν. Γενικά, τα πολυμερή τα οποία παράγονται από πετροχημικές πρώτες ύλες, εμφανίζουν χαμηλούς ρυθμούς ανάκτησης και δεν αποδομούνται εύκολα στο περιβάλλον. Η διαρκώς αυξανόμενη ποσότητα των αστικών απορριμάτων επιτείνει την ανάγκη στρέψης του ενδιαφέροντος προς τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ανανεώσιμες πηγές για την παραγωγή πολυμερικών υλικών, συμβάλλοντας κατ' αυτόν τον τρόπο στη μείωση των πλαστικών αποβλήτων.

Παρόλο που το πολυ(γαλακτικό οξύ) ήταν γνωστό για πάνω από 100 χρόνια, η εμπορική του βιωσιμότητα και η χρησιμότητά του δεν ήταν ακόμη σε πρακτικό επίπεδο. Το 1986 περιγράφηκε ως εν δυνάμει εμπορικό πλαστικό (Lipinski, 1986). Το 1988 η εταιρεία Cargil Incorporated ξεκίνησε μία έρευνα γύρω από το γαλακτικό οξύ και τη λακτόζη και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το πολυγαλακτικό οξύ παρουσιάζει αρκετά μεγάλο ενδιαφέρον χωρίς όμως πρακτική εφαρμογή, τουλάχιστον με την μέχρι τότε τεχνολογία. Από την συγκεκριμένη εταιρεία, άρχισαν να εξετάζουν ζητήματα κατασκευής, επεξεργασίας καθώς και ζητήματα δαπανών και τελικά το 1994 ξεκίνησε η παραγωγή με 4.000 τόνους ετήσια ικανότητα (production capacity/year), μαζί με συμβατικό εξοπλισμό πολυμερούς επεξεργασίας. Το 1977 οι εταιρείες Cargil Incorporated και Dow Chemical Company στις Η.Π.Α. συνεργάστηκαν, προκειμένου να αναπτύξουν και στην συνέχεια να προχωρήσουν στην πλήρη εμπορευματοποίηση του υλικού PLA και των προϊόντων του. Η παραγωγή του πολυ(γαλακτικού οξέος) απαιτεί 25-55% λιγότερη ενέργεια σε σύγκριση με τα πολυμερή που προέρχονται από το πετρέλαιο, ενώ εκτιμάται περαιτέρω μείωση του ποσοστού αυτού στο 10% κατά τα επόμενα έτη. Η χρήση λιγότερης ενέργειας καθιστά την παραγωγή του PLA πλεονεκτική κι από άποψη κόστους.

Η πλήρης εμπορική κατασκευή του PLA ξεκίνησε το Νοέμβριο του 2001, προσφέροντας στην αγορά πολυμερή με προέλευση εξ ολοκλήρου από ανανεώσιμες πρώτες ύλες με κόστος και λειτουργικότητα ανταγωνιστικά των πλαστικών υλικών. Στις μέρες μας, η αγορά πλαστικών συσκευασιών από PLA είναι αρκετά εκτεταμένη και περιλαμβάνει συσκευασίες τροφίμων, νερού και γάλακτος και η παραγωγή πραγματοποιείται από διάφορες εταιρίες σε παγκόσμιο επίπεδο, με κυριότερες τις Nature Works LLC στις Η.Π.Α και η Mitsubishi Plastics στην Ιαπωνία. Βέβαια οι εφαρμογές του πολυγαλακτικού οξέος δεν περιορίζονται μόνο στον τομέα της πλαστικής συσκευασίας, αλλά επεκτείνονται και σε άλλους τομείς όπως για παράδειγμα στην ιατρική και συγκεκριμένα στον τομέα της Ιστικής Μηχανικής'

Η δυνατότητα χρήσης αυτών σε βιοϊατρικές εφαρμογές ανοίγει νέους ορίζοντες στην επιστήμη της Ιατρική και συγκεκριμένα στο τομέα της χειρουργικής. Τα πολυλακτίδια χρησιμοποιούνται ευρύτατα σε ιατρικές εφαρμογές και στην κατηγορία αυτή ανήκουν η πολυ(ε-καπρολακτόνη) (PLC), το πολυ(γαλακτικό οξύ) (PLA), και το πολυ(γλυκολικό οξύ) (PGA), μεταξύ των οποίων το PLA έχει συγκεντρώσει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον, κυρίως λόγω της προέλευσής του από ανανεώσιμες πηγές, της βιοαποικοδομησιμότητας και βιοσυμβατότητάς του, των ανώτερων θερμομηχανικών του ιδιοτήτων και της διαφάνειας που αυτό παρουσιάζει. Το PLA θεωρείται συνθετικό πολυμερές γιατί δεν απαντάται αυτούσιο στη φύση, αν και το μονομερές από το οποίο προέρχεται, το γαλακτικό οξύ, υπάρχει στη φύση και κυρίως στο άμυλο των φυτών αλλά και στο μυϊκό ιστό των οργανισμών ως προϊόν μεταβολισμού της γλυκόζης (Environmental and plastic council 2000)

Το πολυγαλακτικό οξύ (polylactic acid, PLA) είναι ένας αλειφατικός πολυεστέρας που παρασκευάζεται από τον πολυμερισμό του γαλακτικού οξέος. Είναι θερμοπλαστικό, γραμμικό, ομοπολυμερές, υψηλής αντοχής και σκληρότητας. Το υψηλού μοριακού βάρους PLA είναι άχρωμο, κολλώδες, σκληρό θερμοπλαστικό πολυμερές, παρόμοιο με το πολυστυρένιο. Το άμορφο είναι διαλυτό στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Μετά τη χρήση του, υδρολύεται προς αβλαβή, φυσικά προϊόντα (γαλακτικό οξύ, διοξείδιο του άνθρακα και νερό).

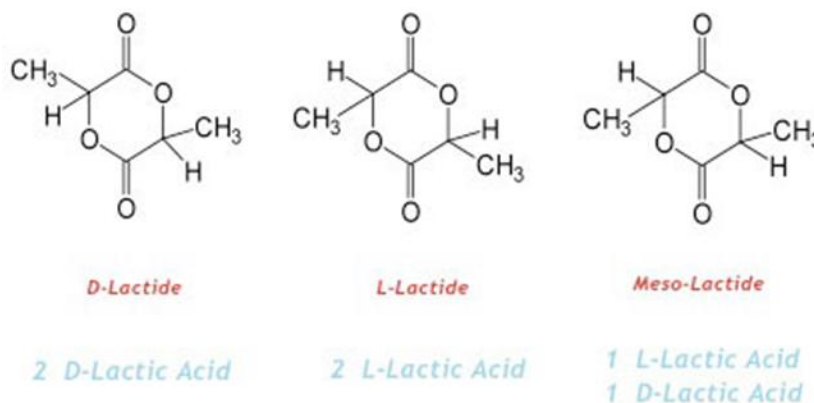
Το PLA αποτελεί ένα ιδιαίτερα ελκυστικό υλικό εξαιτίας της φυσικής βιοαποικοδόμησής του αλλά και εξαιτίας των φυσικών ιδιοτήτων του που πλησιάζουν αυτές των συνθετικών πλαστικών, όπως του PET. Το πιο σημαντικό πλεονέκτημα του πολυ(γαλακτικού οξέος), που επιτρέπει τη χρήση του σε βιοϊατρικές εφαρμογές, αποτελεί η βιοσυμβατότητά του. Ένα βιοσυμβατό πολυμερές δεν πρέπει να παράγει τοξικά ή καρκινογόνα προϊόντα. Επιπλέον, τα προϊόντα αποδόμησής του δεν πρέπει να εμποδίζουν τη θεραπεία των ιστών. Το πολυ(γαλακτικό οξύ) υδρολύεται και διασπάται σε γαλακτικό οξύ όταν εμφυτεύεται σε ζωντανούς οργανισμούς. Στη συνέχεια, ενσωματώνεται στον κύκλο του τρικαρβοξυλικού οξέος και εκκρίνεται.

Παρ' όλα αυτά, το πολυμερές αυτό παρουσιάζει κι ορισμένα μειονεκτήματα, που αποτρέπουν τη χρήση του σε συγκεκριμένες εφαρμογές. Συγκεκριμένα, Το πολυ(γαλακτικό οξύ) είναι ένα εξαιρετικά ψαθυρό υλικό με λιγότερο από 10% επιμήκυνση σε θραύση. Η χαμηλή ανθεκτικότητά του περιορίζει τη χρήση του σε εφαρμογές όπου απαιτείται πλαστική παραμόρφωση σε υψηλότερες τάσεις (π.χ. βίδες και πλάκες αφομοίωσης θραύσης).

Όσον αφορά την χρήση του σε βιοϊατρικές εφαρμογές, ο ρυθμός βιοαποδόμησης του ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας. Το πολυ(γαλακτικό οξύ) αποδομείται μέσω της υδρόλυσης των εστερικών ομάδων του μοριακού του σκελετού, ενώ ο ρυθμός αποδόμησής του εξαρτάται από την κρυσταλλικότητα, το μοριακό βάρος, τη μορφολογία του, το ρυθμό διάχυσης του νερού μέσα στο πολυμερές και την αναλογία σε στερεοϊσομερή. Το αποτέλεσμα είναι ο χαμηλός ρυθμός αποδόμησης να οδηγεί σε παρατεταμένο χρόνο «ζωής» του πολυμερούς μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό. Επίσης, το PLA είναι σχετικά υδρόφοβο με χαμηλή συγγένεια με τα κύτταρα. Το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πρόκληση φλεγμονώδους αντίδρασης στο ζωντανό οργανισμό κατά την άμεση επαφή με τα βιολογικά υγρά. (R.Kulkarni 1966)

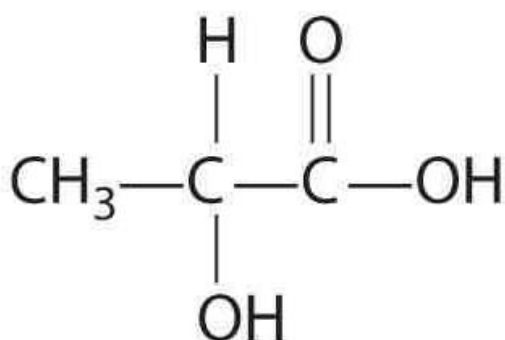
1.2 Σύνθεση πολυγαλακτικού οξέος

Το γαλακτικό οξύ ή 2-υδροξυ-προπανικό οξύ, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$, είναι το απλούστερο υδροξυκαρβοξυλικό οξύ. Το γαλακτικό οξύ παρασκευάζεται με βακτηριακή ζύμωση από ανανεώσιμες πρώτες ύλες και ειδικότερα, από υδατάνθρακες, όπως το καλαμπόκι, η πατάτα, η μελάσσα και η ζάχαρη. Το γαλακτικό οξύ αποτελεί οπτικά ενεργό μόριο, γιατί περιέχει ένα ασύμμετρο άτομο άνθρακα και κατά συνέπεια, παρουσιάζει δύο οπτικά ισομερή.



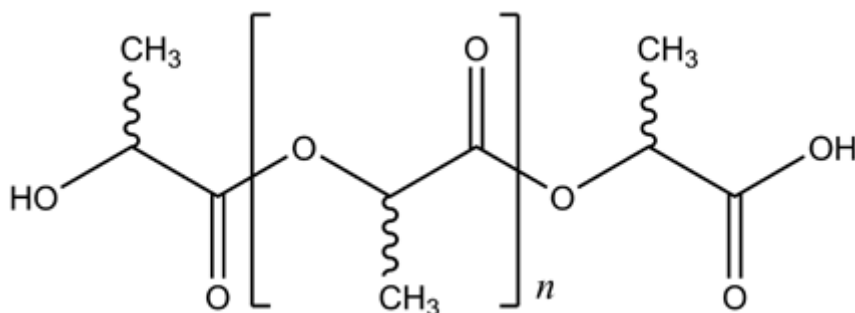
Εικόνα 1. 1: Εναντιομερείς μορφές γαλακτικού οξέος και λακτιδίου.

Η ύπαρξη στο μόριο του γαλακτικού οξέος των ομάδων –OH και COOH προσφέρει τη δυνατότητα ενδομοριακής εστεροποίησης του προς λακτοϋλακτικό οξύ ή και με περαιτέρω οξείδωση προς δилаκτίδιο (κυκλικός διεστέρας). Το παραγόμενο γαλακτικό οξύ βρίσκεται τόσο σε D- όσο και σε L- μορφή, με επικρατέστερο το L- ισομερές. Το μονομερές L- λακτίδιο, ένα κυκλικό διμερές του γαλακτικού οξέος, παραλαμβάνεται με απόσταξη της βιομάζας του καλαμποκιού, το οποίο περιέχει L-γαλακτικό οξύ, L-λακτίδιο σε μικρή ποσότητα, καθώς και άλλες ενώσεις, οι οποίες μετατρέπονται σε L- λακτίδιο κατά τη διάρκεια της απόσταξης. Στο λαμβανόμενο από την απόσταξη προϊόν, το γαλακτικό οξύ περιέχεται σε ποσοστό από 90% έως 99%. Το ακατέργαστο γαλακτικό οξύ εξευγενίζεται με απομάκρυνση των ανεπιθύμητων προσμίξεων κι ανακρυστάλλωση, με τη χρησιμοποίηση οξικού αιθυλεστέρα ως διαλύτη και είναι απαραίτητος για την αύξηση του μοριακού βάρους των παραγόμενων πολυμερών. (A. Steinbuchel July 2005)



Εικόνα 1. 2: Μοριακή δομή του γαλακτικού οξέος

Το πολυγαλακτικό οξύ προκύπτει μέσω ζυμώσεων των σακχάρων του αμύλου τα οποία μετατρέπονται αρχικά σε γαλακτικό οξύ. Μετά την παραγωγή του γαλακτικού οξέος, με διεργασίες πολυμερισμού, παράγεται το πολυγαλακτικό οξύ. Η διαδικασία παραγωγής πολυμερών PLA μεγάλου μοριακού βάρους μπορεί να γίνει με τρεις διαφορετικές μεθόδους.



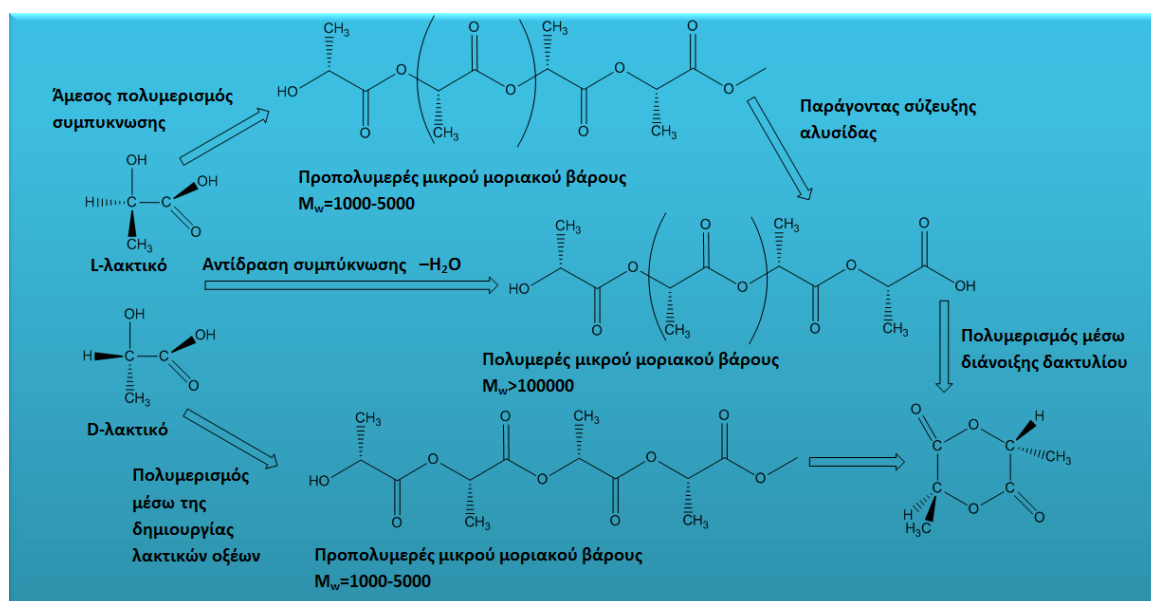
Εικόνα 1. 3: Χημική δομή πολυγαλακτικού οξέος PLA

Η πρώτη μέθοδος είναι ο πολυμερισμός συμπυκνώσεως κατά τον οποίο αποβάλλεται νερό και παράγεται πολυγαλακτικό οξύ σχετικά μικρού μοριακού βάρους και φυσικοχημικών ιδιοτήτων που το καθιστούν ακατάλληλο για βιομηχανική και εμπορική χρήση. Η αντίδραση αυτή είναι αμφίδρομη με συνέπεια η αδυναμία αφαίρεσης του υπολείμματος νερού να προκαλεί αποπολυμερισμό και μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς. Η μέθοδος αυτή μπορεί να βελτιωθεί με ένα επιπλέον βήμα επεκτάσεως της πολυμερικής αλυσίδας για να μεγαλώσει το μοριακό βάρος του πολυμερούς.

Η δεύτερη μέθοδος χρησιμοποιεί αζεοτροπική απόσταξη με τη χρήση ενός διαλύτη με υψηλό σημείο ζέσεως για την απομάκρυνση του νερού που παράγεται κατά τον πολυμερισμό συμπυκνώσεως.

Τέλος, η τρίτη μέθοδος, που επινοήθηκε από την εταιρεία Cargill Dow LLC, περιλαμβάνει τρία στάδια, κατά τα οποία με πρώτη ύλη το άμυλο και χωρίς τη χρήση οργανικών διαλυτών,

παράγεται αρχικά γαλακτικό οξύ με ζύμωση, στη συνέχεια ολιγομερή με πολυμερισμό συμπυκνώσεως του γαλακτικού οξέος και κυκλικά διμερή, τα λακτίδια, με διάσπαση των ολιγομερών, και τελικά πολυμερές πολυγαλακτικό οξύ (PLA), με πολυμερισμό ανοίγματος δακτυλίου των λακτιδίων. Τα λακτίδια είναι κυκλικοί διεστέρες που προκύπτουν με πολυμερισμό συμπυκνώσεως κατά τη θέρμανση του γαλακτικού οξέος, οπότε εκλύονται υδρατμοί. Με ενζυματική υδρόλυση τα λακτίδια μπορούν να αποικοδομηθούν και να μετατραπούν και πάλι σε γαλακτικό οξύ. Κατά τον πολυμερισμό του γαλακτικού οξέος, τήγμα λακτιδίων και πολυμερούς χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα για τις αντιδράσεις συνθέσεως του διμερούς και του πολυμερούς. Κάθε στάδιο έχει υψηλή απόδοση (>95%) και ανακυκλώνει σε μεγάλο βαθμό τα παραπροϊόντα. Για τα στάδια της συνθέσεως των λακτιδίων και του πολυμερισμού χρησιμοποιούνται μικρές ποσότητες καταλυτών, της τάξεως των ppm, που αυξάνουν ακόμα περισσότερο την απόδοση και μειώνουν την κατανάλωση ενέργειας. (D.Garlotta 2001)

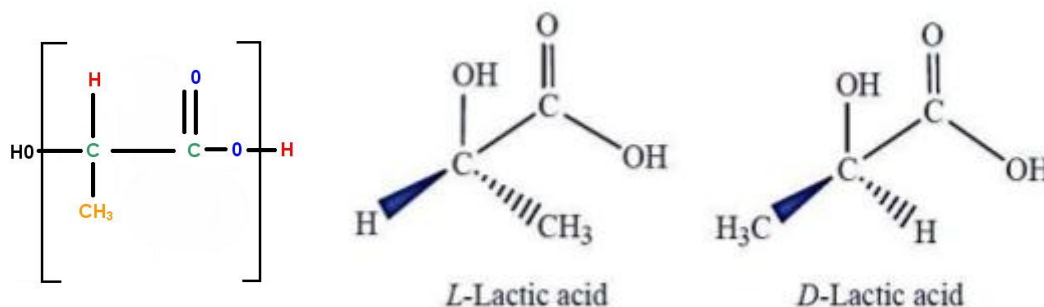


Εικόνα 1. 4: Σύνθεση του PLA από γαλακτικό οξύ με τρεις μεθόδους

Με τον πολυμερισμό του γαλακτικού οξέος δημιουργούνται τρεις μορφές πολυγαλακτικού οξέος, εξαιτίας του φαινομένου της ισομέρειας, δύο οπτικά ισομερή, το L-PLA και το D-PLA και το μίγμα αυτών των δύο ισομερών, το LD-PLA. Οι L- και D μορφές δίνουν ημικρυσταλλικά στερεά πολυμερή. Το L-PLA υδρολύεται δυσκολότερα, βιοδιασπάται πιο αργά (2 χρόνια περίπου in vivo), ενώ η μορφή D- δίνει περισσότερο άμορφα στερεά και έχει περισσότερο υδρόφιλο χαρακτήρα. Για την in vivo βιοδιάσπαση προτιμάται η ισομερής μορφή L- εξαιτίας του τρόπου που μεταβολίζεται στο σώμα (Bioplastics 2015). Ο συνδυασμός και των δύο μορφών δίνει το LD-PLA, το οποίο είναι άμορφο, διασπάται γρηγορότερα και γι' αυτό προτιμάται σε περιπτώσεις μεταφοράς φαρμάκου στον οργανισμό. (Environmental and plastic council 2000)

Το PLA μπορεί να δημιουργήσει δύο στερεο-ισομερείς μορφές, την L(+) και D(-) μορφή. Τα πολυμερή του παρασκευάζονται είτε με αντιδράσεις πολυσυμπύκνωσης ή με πολυμερισμό διάνοιξης δακτυλίου, ανάλογα με το επιθυμητό μοριακό βάρος του πολυμερούς. Τυπικά οι αντιδράσεις πολυσυμπύκνωσης δίνουν χαμηλά μοριακά βάρη. Οι ιδιότητες του συμπολυμερούς που προκύπτει από την αντίδραση, καθορίζονται από την αναλογία των δύο συμπολυμερών. Το πολύ (L-γαλακτικό) οξύ (PLLA) είναι ένα ημί-κρυσταλλικό και σχετικά σκληρό υλικό, με σημείο υαλώδους μετάπτωσης τους 65°C και σημείο τήξης μεταξύ 170-180°C. Αντίθετα, το πολύ (D-L γαλακτικό) οξύ (PDLA) είναι ένα άμορφο, διαφανές υλικό με σημείο υαλώδους μετάπτωσης μεταξύ

50-60°C. Κάτω από ίδιες συνθήκες το PDLLA διασπάται ταχύτερα από το PLLA. Αναλόγως με το μέγεθος και το πάχος του δείγματος και αποδομείται από τον οργανισμό σε διάστημα 2 έως 12 μηνών.



Εικόνα 1. 5: Χημικός τύπος PLA (επαναλαμβανόμενη μονάδα), L και D μορφή

Όπως αναφέρθηκε, το γαλακτικό οξύ έχει δύο εναντιομερείς μορφές, την D (R) και την L (S), με αποτέλεσμα όταν πολυμερίζεται προς λακτίδιο να σχηματίζει τρεις εναντιομερείς μορφές, το D-λακτίδιο, το L-λακτίδιο και το μεσο-λακτίδιο, που προκύπτουν από δύο D, από δύο L και από ένα D και ένα L μόριο γαλακτικού οξέος αντίστοιχα.

Η στερεοχημική δομή του PLA και κατ' επέκταση οι ιδιότητές του, μπορούν να ελεγχθούν εύκολα με τη μεταβολή της συγκεντρώσεως των τριών ισομερών μορφών του μονομερούς, δηλαδή του λακτιδίου. Αν στο μονομερές περιέχεται μεσο-λακτίδιο, το προϊόν έχει μικρή ανθεκτικότητα και σκληρότητα, τήκεται στους 175°C και υδρολύεται θερμικά στους 200°C. Η περιοχή θερμοκρασιών για την μηχανική επεξεργασία του περιορίζεται μεταξύ 185-190°C και η θερμοκρασία υαλώδους μεταβάσεως (T_g) είναι 55°C.

1.3 Ιδιότητες

Το πολυγαλακτικό οξύ χαρακτηρίζεται από διαύγεια και στυλνότητα. Παρουσιάζει στερεο-ισομερείς δομές και ανάλογα τη δομή μπορεί να είναι τελείως άμορφο ή να παρουσιάζει κρυσταλλικότητα έως και 40% (R.Leaversuch, Renewable PLA polymer gets "green light" for packaging uses 2002). Το PLA έχει υδρόφοβη συμπεριφορά, προσφέρει στεγανότητα στην υγρασία και στις λιπαρές ουσίες των φαγητών. Η πυκνότητα του είναι 1.21 g/cm³ και χαμηλότερη πυκνότητα του PLA συνεπάγεται με μείωση του βάρους συνεπώς και του κόστους.

Οι ιδιότητες του PLA, όπως και στα περισσότερα πολυμερή, εξαρτώνται από τα μοριακά χαρακτηριστικά του και την παρουσία διατεταγμένων δομών, όπως το μέγεθος των κρυστάλλων, το ποσοστό κρυσταλλικότητας, το μέγεθος των σφαιρουλιτών, η μορφολογία του αλλά και ο προσανατολισμός των αλυσίδων του (N.Barroca 2010). Όπως προαναφέρθηκε και παραπάνω, οι φυσικές ιδιότητες του PLA σχετίζονται με την εναντιομερική σχεδίαση των στερεό-συμπολυμερών του γαλακτικού οξέος. Αυτός είναι ο λόγος που έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες σχετικά με την κινητική της κρυστάλλωσης του PLA και έχει παρατηρηθεί ότι ο ρυθμός της είναι αργός, όπως και στην περίπτωση του τερεφθαλικού πολυαιθυλενίου (PET). Ο ρυθμός κρυστάλλωσης αυξάνεται όσο μειώνεται το μοριακό βάρος και εξαρτάται από την σύσταση των συμπολυμερών του (H.Tsuji 2000). Έχει αναφερθεί ότι ο ρυθμός κρυστάλλωσης καθορίζεται κυρίως από τη μείωση του σημείου τήξεως των διαφόρων συμπολυμερών. Η απότομη ψύξη μειώνει τον χρόνο κρυστάλλωσης. Οι PDLA/PLLA στεροδομές είναι πάρα πολύ αποδοτικοί παράγοντες για την πυρήνωση του PLLA, δίνοντας έως και 60% αύξηση στον ρυθμό κρυστάλλωσης και του ποσοστού κρυσταλλικότητας του. (J.Ahmed 2009)

Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης T_g αναμένεται μεταξύ 50-65 °C, ενώ η θερμοκρασία τήξης T_m είναι σχετικά χαμηλή και παίρνει τιμές μεταξύ 160-180 °C. Οι θερμοκρασίες τήξης και υαλώδους μετάπτωσης είναι χαμηλότερες από το πολυστυρένιο (PS) και τον πολυαιθυλενοτερεφθαλικό εστέρα (PET), γεγονός που καθιστά ευκολότερη την θερμική μορφοποίηση του PLA. Γενικά, οι θερμικές ιδιότητες του πολυ(γαλακτικού οξέος) μπορούν να μεταβληθούν με συμπολυμερισμό με γλυκολικό οξύ, κάποια παράγωγα λακτόνης και τριμεθυλο-ανθρακικό οξύ, καθώς και με την προσθήκη μέσων διασταυρώσεως και πλαστικοποιητών. (R.Hagen, Basics of PLA 2012)

Οι μηχανικές ιδιότητες του PLA μπορούν να ποικίλουν σε μεγάλο βαθμό, από μαλακό και ελαστικό, σε δύσκαμπτο και υψηλής αντοχής υλικό. Οι μηχανικές ιδιότητες του υλικού εξαρτώνται από την κρυσταλλικότητα, την στερεοχημεία του πολυμερούς, το μοριακό του βάρους, την σύνθεση του πολυμερούς (π.χ. εάν έχει πλαστικοποιητές ή εγκλείσματα) και την επεξεργασία του (π.χ. εάν έχει γίνει προσανατολισμός των αλυσίδων). Όπως και στο PET, ο προσανατολισμός των αλυσίδων αυξάνει τις μηχανικές ιδιότητες του PLA. Εάν ο προσανατολισμός γίνει σε χαμηλές θερμοκρασίες το αποτέλεσμα που προκύπτει είναι το PLLA να έχει μεγαλύτερο μέτρο ελαστικότητας χωρίς καμία διαφορά στην κρυσταλλικότητα του. (T. Maharana 2009)

Οι μηχανικές ιδιότητες μπορούν εύκολα να ρυθμιστούν προκειμένου να εξυπηρετήσουν διαφορετικές εφαρμογές. Για παράδειγμα, ένα εμπορικό PLA όπως το PLLA 92% σύστασης σε λακτικό οξύ έχει μέτρο ελαστικότητας 2.1 GPa και μέτρο επιμήκυνσης κατά την θραύση στο 9%. Μετά την προσθήκη πλαστικοποιητών το μέτρο του Young μειώθηκε στα 0.7 MPa και το μέτρο επιμήκυνσης, κατά την θραύση, αυξήθηκε στο 200% με την θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης να αλλάζει από τους 58°C στους 18°C. (O.Martin 2001)

Πίνακας 1. 1: Ιδιότητες του L-PLA και του D,L-PLA

	L-PLA	D,L-PLA
Σημείο υαλώδους μετάπτωσης (T_g)	60-65 °C	50-60 °C
Σημείο τήξεως (T_m)	170-180 °C	Άμορφο
Ειδικό βάρος	1.24	1.25
Αντοχή σε εφελκυσμό(MPa)	55.2-82.7	27.6-41.4
Επιμήκυνση (%)	5-10	3-10
Μέτρο ελαστικότητας (MPa)	2758-4137	1379-2758
Εσωτερικό ιξώδες(dl/g)	0.90-1.2	0.55-0.75

Η διαλυτότητα των πολυμερών που βασίζονται στο γαλακτικό οξύ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη μοριακή μάζα, το βαθμό κρυσταλλικότητας, καθώς και από την παρουσία άλλων μονομερών μέσα στο πολυμερές. Χλωριωμένοι ή φθοριωμένοι οργανικοί διαλύτες, διοξάνιο και φουράνιο αποτελούν καλούς διαλύτες του καθαρά εναντιομερούς πολυ(γαλακτικού οξέος). Αντίθετα, το PDLLA είναι διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες, όπως η ακετόνη, η πυριδίνη, το τετραϋδροφουράνιο, το ξυλόλιο, ο οξικός αιθυλεστέρας, το διμεθυλο-σουλφοξείδιο, το N,N-διμεθυλοφορμαμίδιο και η μεθυλοαιθυλοκετόνη. Μη διαλύτες των πολυμερών που βασίζονται στο γαλακτικό οξύ αποτελούν το νερό και οι μη υποκατεστημένοι υδρογονάνθρακες. (T. Maharana 2009)

Μια πολύ σημαντική ιδιότητα των υλικών που χρησιμοποιούνται ως συσκευασίες είναι οι τιμές διαπερατότητας οξυγόνου, διοξειδίου του άνθρακα και υδρατμών. Το PLA παρουσιάζει στεγανότητα στο νερό και τις λιπαρές ουσίες, ενώ ταυτόχρονα «διαπνέει», δηλαδή επιτρέπει σε σωματίδια υδρατμών και οξυγόνου να διαπεράσουν την επιφάνειά του. Οι συντελεστές διαπερατότητας του PLA για το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) είναι χαμηλότεροι από αυτές του πολυστυρενίου και υψηλότερες από αυτές του PET σε συνθήκες θερμοκρασίας 25°C και 0% σχετικής

υγρασίας (RH). Οι ιδιότητες αυτές το καθιστούν ιδανικό υλικό για συσκευασίες τροφίμων, αφού διατηρούν το περιεχόμενο φρέσκο (R.Leaversuch, Biodegradable Polyesters: Packaging Goes Green 2002).

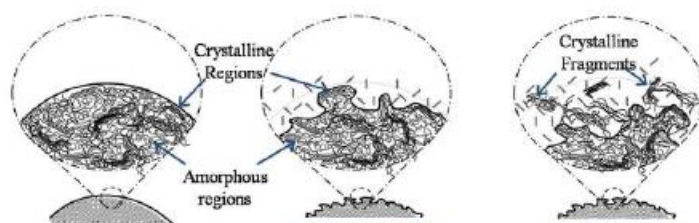
Παρόλα τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει το PLA και οι χαρακτηριστικές ιδιότητες οι οποίες είναι χρήσιμες σε πολλές εφαρμογές, κάποια χαρακτηριστικά όπως η ακαμψία και η σχετικά υψηλή τιμή του περιορίζουν την χρήση του. Προκειμένου να βελτιωθούν οι ιδιότητές του, ερευνάται η χρήση του σε εφαρμογές σύνθετων υλικών με ενίσχυση ινών. Στην περίπτωση σύνθετου από PLA με ενίσχυση ινών, οι μηχανικές ιδιότητες του σύνθετου υλικού είναι ανάλογες με τις ιδιότητες του σύνθετου με μήτρα από πολυπροπυλένιο και ενίσχυση ινών (M.S.Huda 2006). Η μορφοποίηση του PLA γίνεται με τις γνωστές μεθόδους χύτευσης με εμφύσηση, ινοποίηση και εκβολή σε μορφή φύλλων. (E.S. Lipinski 1986)

1.4 Βιοαποδόμηση

Η βιοαποδόμηση επηρεάζεται από τη μορφολογία της στερεάς κατάστασης, το βαθμό κρυσταλλικότητας, τη χημική δομή (ύπαρξη λειτουργικών ομάδων) και την ισορροπία μεταξύ υδροφοβικότητας και υδροφιλικότητας του πολυμερούς. Ο βαθμός κρυσταλλικότητας αποτελεί τον πρωταρχικό παράγοντα καθορισμού του ρυθμού βιοαποδόμησης των στερεών πολυμερών. Γενικά, κατά τη βιοαποδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος) πραγματοποιείται σχάση της κύριας αλυσίδας του πολυμερούς στις θέσεις ύπαρξης εστερικών δεσμών, οδηγώντας στη δημιουργία ολιγομερών. Έτσι, ο αριθμός των σχηματιζόμενων ολιγομερών εξαρτάται από τον αριθμό των υπαρχόντων στην κύρια αλυσίδα του πολυμερούς εστερικών δεσμών.

Η βιοαποδόμηση του πολυ(γαλακτικού οξέος) πραγματοποιείται σε τρία στάδια. Το πρώτο στάδιο αποτελεί ο αποπολυμερισμός, ενώ το δεύτερο η παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Στο τρίτο και τελευταίο στάδιο, το γαλακτικό οξύ καταναλώνεται στον κύκλο του κιτρικού οξέος, όπου και διασπάται σε CO₂ και H₂O παρουσία ενός ενζύμου που παράγεται από τους μικροοργανισμούς (ενζυμική αποδόμηση). Η βιοαποδόμηση του PLA μπορεί, όμως, να πραγματοποιηθεί και χωρίς τη βοήθεια ενζύμων, με χημικές μεθόδους, όπως π.χ. με κατάλληλη ρύθμιση του pH (μη ενζυμική αποδόμηση). Η υδρόλυση αποτελεί το βασικό τρόπο αποδόμησης των ομοπολυμερών και συμπολυμερών του γαλακτικού οξέος και περιλαμβάνει τρία κύρια στάδια. Αρχικά η αποδόμηση μέσω διάχυσης του νερού μέσα στο υλικό (αρχικά στις περισσότερες άμορφες περιοχές), ακολουθούμενη από τυχαία υδρόλυση, στη συνέχεια η θραύση του πολυμερούς σε ολιγομερή και τέλος, εκτεταμένη υδρόλυση συνοδευόμενη από φαγοκύτωση, διάχυση και μεταβολισμό.

Ο βαθμός της υδρόλυσης εξαρτάται από το μοριακό βάρος, την υδροφιλικότητα και την κρυσταλλικότητα του πολυμερούς, καθώς και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το pH και η θερμοκρασία. Συνήθως ο χρόνος αποδόμησης είναι μικρότερος για χαμηλού μοριακού βάρους, περισσότερο υδρόφιλα και άμορφα πολυμερή. Επιπλέον, μέσω συμπολυμερισμού και κατάλληλης επιλογής του μοριακού βάρους και των ακραίων ομάδων του πολυμερούς, είναι δυνατή η επίτευξη συγκεκριμένου χρόνου αποδόμησης. Αφού το πολυμερές αποδομηθεί, τα προϊόντα της υδρόλυσης είτε μεταβολίζονται, είτε εκκρίνονται. Η αποδόμηση αποτελεί συνάρτηση της πολυμερικής δομής, του pH του διαλύματος και της θερμοκρασίας. Το PLLA υφίσταται ενζυματική και μη ενζυματική υδρόλυση όταν εκτίθεται σε υδατικό περιβάλλον, με αποτέλεσμα την απώλεια μάζας του λόγω ετερογενούς αποδόμησης στον κύριο όγκο του πολυμερούς, χωρίς την παραγωγή τοξικών παραπροϊόντων. Μετά την υδρολυτική αποδόμηση το μοριακό βάρος του πολυμερούς μειώνεται, ενώ αυξάνει η κρυσταλλικότητά του.



Εικόνα 1. 6: Η επιφάνεια του PLA, η επιφάνεια κατά τη διάβρωση (αποικοδόμηση) των άμορφων περιοχών κι ο θρυμματισμός των κρυσταλλικών περιοχών κατά τη διάβρωση της επιφάνειας του PLA

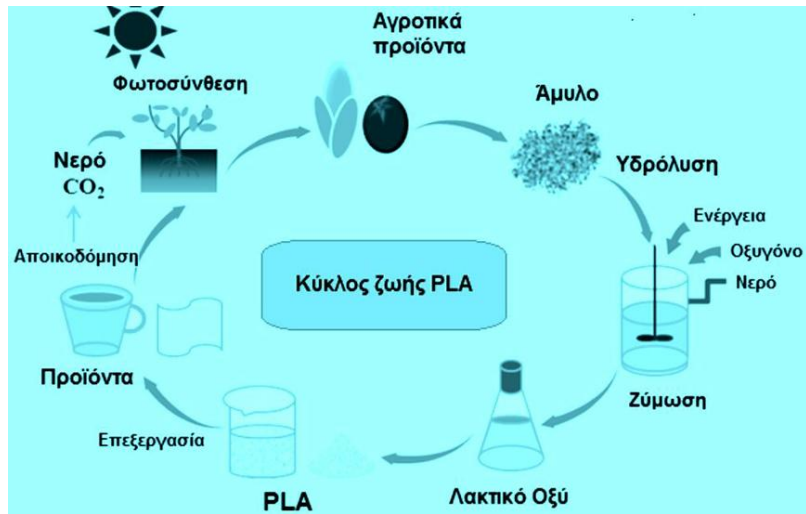
Ένζυμα, όπως οι λιπάσες και οι αποπολυμεράσες, προκαλούν σχάση του εστερικού δεσμού των αλειφατικών πολυεστέρων, συμπεριλαμβανομένου του PLA. Η ενζυμική αποδόμηση πραγματοποιείται μόνο στην επιφάνεια ενός στερεού υποστρώματος και εκδηλώνεται τόσο μέσω διάβρωσης της επιφάνειας, όσο και με απώλεια βάρους, επειδή τα ένζυμα δεν μπορούν να διεισδύσουν στα στερεά πολυμερικά υποστρώματα. Τα υδρόφοβα τμήματα των ενζύμων προσκολλώνται στα στερεά υποστρώματα μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων πριν την υδρόλυση, δρώντας ως καταλύτες της αντίδρασης αποδόμησης (εξωτερικά καταλυόμενη υδρόλυση). Ο ρυθμός ενζυμικής αποδόμησης μειώνεται με αύξηση του ποσοστού κρυσταλλικότητας του πολυμερούς. Σε συσκευές πολυ(γαλακτικού οξέος) μεγάλου μεγέθους, ο ρυθμός υδρολυτικής αποδόμησης εμφανίζεται μεγαλύτερος στην κύρια μάζα απ' ό,τι στην επιφάνεια του υλικού, εξαιτίας της αυτοκαταλυτικής επίδρασης των παγιδευμένων στο εσωτερικό της συσκευής καρβοξυλικών ομάδων. Ο παραπάνω ρυθμός εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία και την υγρασία του περιβάλλοντος χώρου. Το εσωτερικό ιξώδες όλων των πολυμερών μειώνεται συνεχώς κατά την έκθεση σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος, με ταυτόχρονη απότομη απώλεια βάρους.

Υπό την απουσία ενζύμων, η αποδόμηση γίνεται λόγω μεταβολής του pH του περιβάλλοντος μέσου. Μικρές ποσότητες μη ενζυμικών καταλυτών και αντιδραστηρίων μπορούν να διεισδύσουν μέσα στα πολυμερικά συστήματα και να προκαλέσουν αποδόμηση σε βάθος. Η κρυσταλλικότητα, η δημιουργία διασταυρώσεων, καθώς και άλλες μορφολογικές ιδιότητες των πολυμερών επηρεάζουν τη διάχυση των καταλυτών μέσα στο σύστημα. Η μη ενζυμική αποδόμηση πραγματοποιείται μέσω ενός αδρανούς πρώτου σταδίου αποδόμησης χωρίς απώλεια βάρους, καταλήγοντας στην τυχαία διάσπαση του μοριακού σκελετού της πολυμερικής αλυσίδας (τύπος ενδο-αποδόμησης), με επακόλουθη μείωση του μοριακού βάρους, που οδηγεί σε υποβάθμιση των μηχανικών ιδιοτήτων, όπως η αντοχή σε εφελκυσμό, η επιμήκυνση και η αντοχή σε κρούση.

1.5 Κύκλος ζωής του PLA

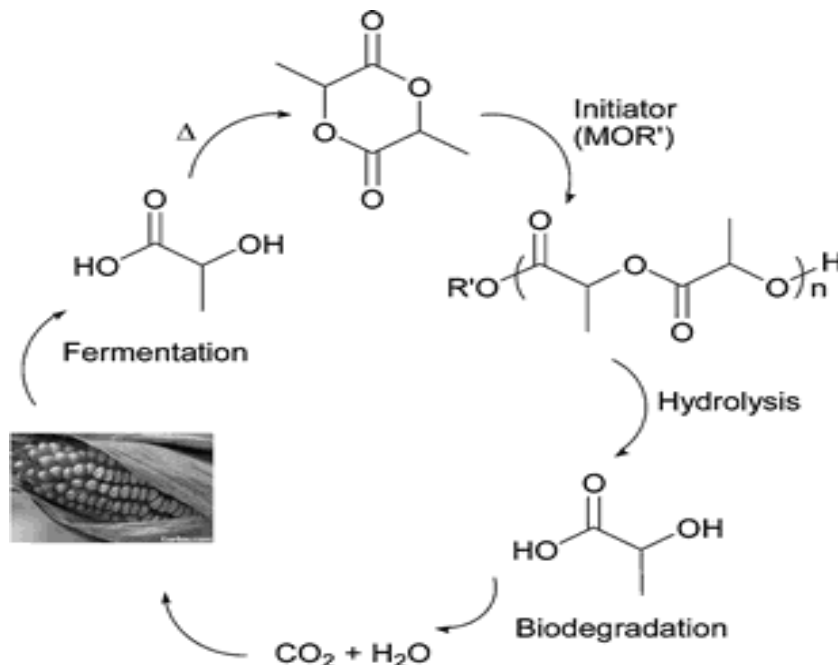
Στις αρχές του 1970, άρχισε να χρησιμοποιείται η τεχνική του κύκλου ανάλυσης ζωής (LCA), η οποία είναι βασισμένη στο δόγμα που ζητά τον απαραίτητο έλεγχο του συνολικού κύκλου ζωής για την παραγωγή, τη χρήση και την καταστροφή ενός προϊόντος. Η τεχνική αυτή είναι ένας καλός τρόπος να εξεταστεί η πρακτικότητα της περαιτέρω ανάπτυξης των βιοπολυμερών υλικών. Ο όρος «κύκλος ζωής» αναφέρεται στις κύριες δραστηριότητες της συνολικής πορείας ενός προϊόντος, της διάρκειας ζωής από την παραγωγή του, τη χρήση, την διατήρηση, και την τελική απόθεση του, συμπεριλαμβάνοντας και την απόκτηση των πρώτων υλών που απαιτούνται για την παραγωγή του. Η εκτίμηση του κύκλου ζωής είναι σημαντική διότι καλύπτει όλες τις διαδικασίες και τις περιβαλλοντικές επιδράσεις ξεκινώντας από την εξαγωγή των πρώτων υλών και την παραγωγή της ενέργειας που χρησιμοποιείται για την παραγωγή και τη δημιουργία του προϊόντος μέχρι τη χρήση και την τελική απόθεση του. Ο κύκλος ζωής του PLA περιγράφεται σχηματικά παρακάτω και

αναδεικνύει την περιβαλλοντική αειφορία που προσφέρουν τα βιοδιασπώμενα πολυμερή φυτικής προελεύσεως. (E.T.H. Vink 2003)



Εικόνα 1. 7: Κύκλος ζωής του PLA

Από το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό, μέσω της φωτοσύνθεσης αναπτύσσονται τα φυτά όπως το καλαμπόκι από το οποίο προέρχεται το άμυλο. Για να γίνει κατανοητή η ποσότητα καλαμποκιού που απαιτείται για την δημιουργία του PLA, ενδεικτικά αναφέρεται ότι για την παραγωγή 1kg PLA απαιτούνται σχεδόν 2.5kg καλαμποκιού. Το PLA διασπάται τόσο στο περιβάλλον όσο και στον οργανισμό (in vivo). Στο περιβάλλον διασπάται αρχικά μέσω υδρόλυσης της ομάδας εστέρα και στη συνέχεια παρουσία μικροοργανισμών με κομποστοποίηση σε θερμοκρασία πάνω από τους 60 °C σε χρονικό διάστημα 60-180 ημερών σε διοξείδιο του άνθρακα, νερό και βιομάζα, τα οποία με την σειρά τους γίνονται πρώτη ύλη για την παραγωγή νέων προϊόντων. (M.Agarwal 1998).



Εικόνα 1. 8: Αντιδράσεις κατά τον κύκλο ζωής του PLA

Το πλεονέκτημα αυτής της διαδικασίας είναι ότι υπάρχει ισορροπία στην ποσότητα διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) που δεσμεύεται και που αποβάλλεται κατά την παραγωγή και διάσπαση αντίστοιχα. Έτσι το περιβάλλον δεν επιβαρύνεται σημαντικά με επιπλέον αποβολή

διοξειδίου του άνθρακα κατά την παραγωγή του πολυγαλακτικού οξέος. Ο βαθμός βιοδιάσπασης του εξαρτάται από το μέγεθος της μακρομοριακής αλυσίδας του, τη στερεο-ισομερή μορφή του και το πάχος δείγματος, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως. Οι μικροοργανισμοί σε υδατικό περιβάλλον μπορούν να το διασπάσουν σε νερό και διοξείδιο του άνθρακα μέσα σε έξι μήνες έως πέντε χρόνια μετά τη χρήση του, ανάλογα την εφαρμογή (P.A.Gunatillake 2003). Στον ανθρώπινο οργανισμό υδρολύεται αργά εξαιτίας της υδρόφοβης συμπεριφοράς του.

1.6 Εφαρμογές

1.6.1 Ιατρική

Στην Ιατρική, από το 1960 ξεκίνησε η πρώτη εφαρμογή του PLA που ήταν τα βιοαπορροφήσιμα ράμματα. Με την εξέλιξη της επιστήμης και της τεχνολογίας οι εφαρμογές του PLA έχουν φτάσει μέχρι την αποκατάσταση ιστού σε ανθρώπινο οργανισμό, ενώ η Ιστική Μηχανική είναι ένας τομέας με ταχεία εξέλιξη όπου προσελκύει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Στο επόμενο κεφάλαιο θα περιγραφούν εκτενέστερα οι εφαρμογές του PLA στον τομέα της Ιστικής Μηχανικής.

Στις μακροχρόνιες εφαρμογές απαιτούνται σταθερά και ανθεκτικά υλικά, ενώ τα βιοαποικοδομήσιμα υλικά βρίσκουν εφαρμογή σε περιπτώσεις προσωρινών εφαρμογών. Το κύριο πλεονέκτημα της εφαρμογής βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών στην ιατρική είναι το γεγονός ότι δεν απαιτείται επιπλέον επέμβαση αφαίρεσης του εμφυτεύματος, αφού αυτό βιοδιασπάται σταδιακά στον οργανισμό (D.L. Wise 2000). Επιπλέον, το υλικό με το χρόνο χάνει τη λειτουργικότητά του- ως αποτέλεσμα της βιοδιάσπασης- ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει την εξέλιξη της σταδιακής αποκατάστασης των λειτουργιών του ιστού που είχαν υποστεί βλάβη. Ο περιορισμός όσον αφορά τα βιοαποικοδομήσιμα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν στον ανθρώπινο οργανισμό είναι να είναι βιοσυμβατά. (B. Subia 2010)

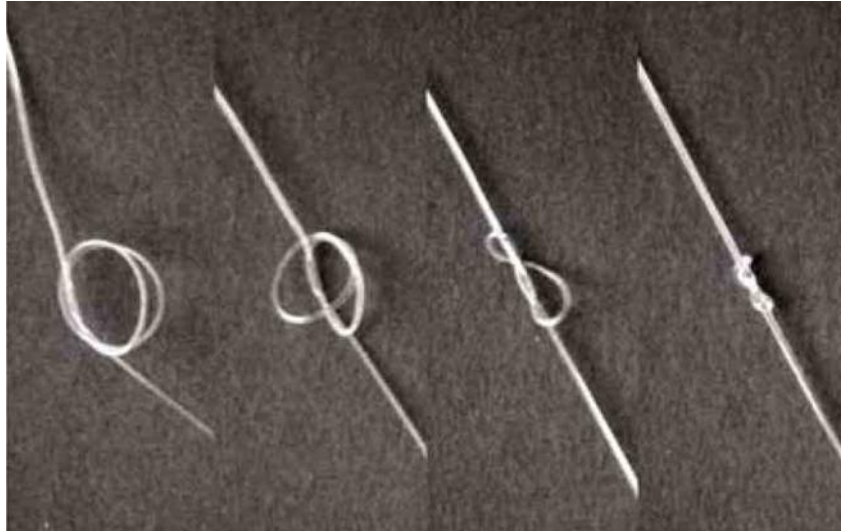
Το PLA καθώς και ορισμένοι άλλοι αλειφατικοί πολυεστέρες (PGA, PCL) και τα συμπολυμερή τους έχουν χρησιμοποιηθεί σε ιατρικές εφαρμογές, οι κυριότερες από τις οποίες περιλαμβάνουν ράμματα που απορροφώνται από τον οργανισμό, εμφυτεύματα, συστήματα διανομής φαρμάκου στον οργανισμό και περιπτώσεις αποκατάστασης ιστών και μεταμόσχευσης κυττάρων. Από τα βιοδιασπώμενα πολυμερή, οι πολυεστέρες ενδείκνυνται για τέτοιες εφαρμογές εξαιτίας ιδιοτήτων όπως η βιοδιάσπαση με υδρόλυση του δεσμού του εστέρα και η απορρόφηση των προϊόντων που προκύπτουν από τον οργανισμό. (Δ.Ν. Μώρης 2010)

- **Ράμματα**

Τα πρώτα ράμματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οργανικά, ζωικής ή φυτικής προέλευσης, συνθετικά και μεταλλικά. Η αρχική εφαρμογή των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών στον τομέα της ιατρικής ήταν το 1960 που εμφανίστηκαν στην αγορά ως βιο-αφομοιώσιμα ράμματα. Από τότε μέχρι σήμερα έχουν βελτιωθεί και χρησιμοποιηθεί ευρέως. Το πλεονέκτημά τους είναι ότι μετά την εφαρμογή τους, αφομοιώνονται από τον οργανισμό χωρίς να απαιτείται επιπλέον διαδικασία για την αφαίρεσή τους, ενώ είναι απόλυτα συμβατά με τον οργανισμό. Τα ράμματα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τα Πεπλεγμένα (Braided) και τα Μονοϊνικά (Monofilament)

Τα πεπλεγμένα ράμματα είναι περισσότερο εύκαμπτα ενώ τα μονοϊνικά είναι περισσότερο σκληρά. Η επιλογή του κατάλληλου τύπου ράμματος βασίζεται σε κριτήρια όπως η αντοχή στον εφελκυσμό, η πιθανότητα μόλυνσης, η ευκολία στη χρήση και η αντοχή. Τα πρώτα και πιο γνωστά

εμπορικά βιοαπορροφήσιμα ράμματα είναι τα Dexon από PGA, που κυκλοφόρησαν στην αγορά το 1962 ενώ αργότερα χρησιμοποιήθηκαν ράμματα και από PLA. (M.H. Kudur 2009)



Εικόνα 1. 9: Ράμματα από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή

- Ορθοπεδικά εμφυτεύματα

Η ανάγκη αποκατάστασης διαφόρων προβλημάτων του ανθρώπινου οργανισμού οδήγησε στη χρήση εμφυτευμάτων. Παρά την ευρεία χρήση τους, τα υλικά που χρησιμοποιούνται ως εμφυτεύματα είναι κυρίως μεταλλικά και κεραμικά και παρουσιάζουν πολλούς περιορισμούς. Χαρακτηριστικό παράδειγμα εφαρμογής μεταλλικών εμφυτευμάτων είναι η επιτακτηκότητα πολύ ανθεκτικών και άκαμπτων υλικών με σκοπό την αποκατάσταση οστών, γεγονός που προκαλούσε προβλήματα στην υγεία, όπως οστεοπόρωση. Ένα ακόμη πρόβλημα που παρουσιάζουν τα μεταλλικά υλικά είναι ότι ακόμα κι αν είναι βιοσυμβατά, είναι ανόργανα υλικά, με αποτέλεσμα να μην έχουν τη δυνατότητα να προσαρμόζονται σε αλλαγές φυσιολογίας ή να αφομοιώνονται με το χρόνο (H.Kawahara 1987). Το κύριο πρόβλημα είναι ότι μεταφέρουν το φορτίο από τα οστά στο εμφύτευμα με αποτέλεσμα τα οστά να γίνονται αδύναμα και να ατροφούν. Επιπλέον, τα μεταλλικά εμφυτεύματα συχνά προκαλούν συσσώρευση μετάλλων στους ιστούς, περιορίζουν την ανάπτυξη του οστού, το οποίο τελικά γίνεται πορώδες και εύθραυστο, προκαλούν πόνο, οξείδωση και άλλα παρόμοια προβλήματα. (A.H. Yusop 2012)

Τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή δίνουν λύση στα προβλήματα που παρουσιάζουν τα μεταλλικά εμφυτεύματα. Το κύριο πλεονέκτημα της εφαρμογής τους στον τομέα αυτό είναι ότι παρουσιάζουν κατάλληλη αντοχή και διασπώνται μετά το τέλος της λειτουργίας τους χωρίς να προκαλούν προβλήματα στον οργανισμό, ενώ το βάρος σταδιακά θα έχει μεταφερθεί εξ ολοκλήρου στο θεραπευμένο οστό χωρίς να χρειάζεται δεύτερη επέμβαση για την αφαίρεσή τους (J. C. Middleton 2000)



Εικόνα 1. 10: Εμφυτεύματα από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή (W.J.Cicccone 2001)

Αυτοί είναι οι λόγοι που οδήγησαν στη χρήση των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών, όπως το πολυγαλακτικό οξύ (PLA), το πολυγλυκολικό οξύ (PGA), και τα συμπολυμερή τους, όπως το PLGA. Τέτοια υλικά χρησιμοποιούνται σε ορθοπεδικές εφαρμογές για το σχεδιασμό και την παραγωγή εμφυτευμάτων όπως βίδες, λάμες και δισκία (H.Pihlajamaki 2006). Μετά το πέρας του σκοπού τους, τα εμφυτεύματα διασπώνται σταδιακά και απορροφώνται από τον οργανισμό, χωρίς να προκαλούνται αντίστοιχα προβλήματα με αυτά που αναφέρθηκαν παραπάνω.

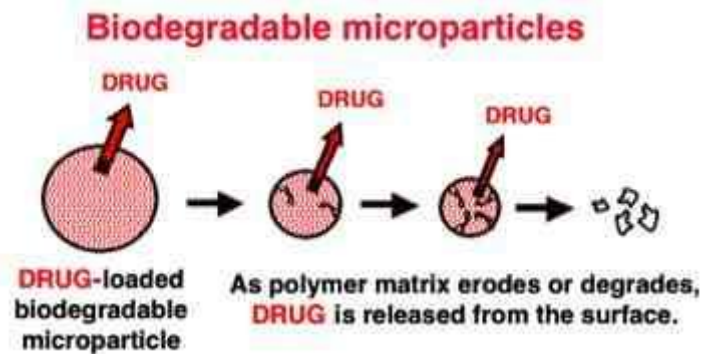
Ένας σημαντικός παράγοντας που παίζει πολύ σημαντικό ρόλο σε αυτή την εφαρμογή είναι ο ρυθμός βιοδιάσπασης, ο οποίος πρέπει να συμβαδίζει με τη θεραπεία του οστού. Οι μέχρι τώρα εφαρμογές απευθύνονται σε θεραπεία μικρών οστών, για το λόγο ότι για εμφυτεύματα σε μεγαλύτερα οστά απαιτούνται υλικά με μεγαλύτερη ακαμψία. Η διαδικασία βιοδιάσπασης των εμφυτευμάτων διαρκεί από μερικούς μήνες έως και χρόνια, ανάλογα με τις συνθήκες κάθε περίπτωσης. Μετά την in-vivo διάσπαση το εμφύτευμα αποβάλλεται από τον οργανισμό με τη μορφή διοξειδίου του άνθρακα και νερού. (H.Yetkin 2000)

- Μεταφορά φαρμάκου στον οργανισμό

Η ελεγχόμενη μεταφορά φαρμάκου στον οργανισμό προκύπτει όταν ένα υλικό, φυσικό ή συνθετικό, λειτουργεί ως περίβλημα σε συνδυασμό με κάποιο φάρμακο με σκοπό η φαρμακευτική ουσία να ελευθερωθεί σταδιακά και να ενεργήσει στον οργανισμό με ένα προσχεδιασμένο τρόπο. Τα σύγχρονα συστήματα ελέγχου μεταφοράς φαρμάκου είναι σε θέση να ανταποκριθούν σε αλλαγές του βιολογικού περιβάλλοντος και να προσαρμόσουν τη λειτουργία τους ανάλογα με τις απαιτήσεις της θεραπείας και του ασθενή. Για τα συστήματα αυτά χρησιμοποιείται πλήθος υλικών, ιδιαίτερα πολυμερών. Τα τελευταία χρόνια, η χρήση βιοδιασπώμενων πολυμερών και η εφαρμογή τους στη μεταφορά φαρμάκου είναι πλέον γεγονός, με κύριους εκπροσώπους στις εφαρμογές αυτές τα πολυμερή PLA, PGA και PLGA, τα οποία βιοδιασπώνται ομοιόμορφα στον οργανισμό. Επιπλέον μελετάται η μεταφορά πρωτεϊνών στον οργανισμό μέσω βιοαποικοδομήσιμων νανο-μονάδων από σύνθετα υλικά με βάση το PLA, PLGA και χιτίνη, των οποίων το περίβλημα είναι υδρόφιλο έτσι ώστε με υδρόλυση να απελευθερώνονται οι φαρμακευτικές ουσίες στο σημείο του οργανισμού που χρειάζεται τη δεδομένη στιγμή. (A.Vila 2002)

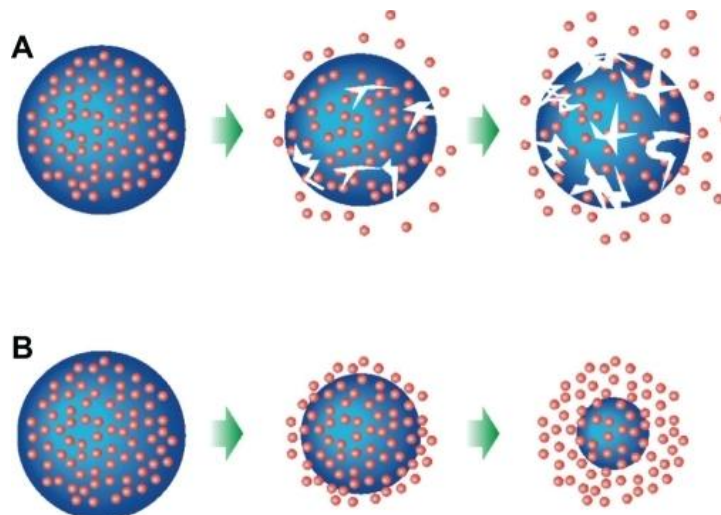
Τα βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή εφαρμόζονται στον τομέα αυτό, επιμηκύνοντας τη δράση των φαρμάκων στον οργανισμό, χωρίς να απαιτείται αφαίρεσή τους μετά το τέλος της θεραπείας. Ο σκοπός της διαδικασίας αυτής είναι η επίτευξη αποτελεσματικότερων θεραπειών, ακολουθώντας τη

λογική ότι παρέχεται η κατάλληλη ποσότητα φαρμάκου στο κατάλληλο σημείο την κατάλληλη στιγμή. Η πιο συνηθισμένη μορφή αυτών των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών είναι τα μικροσφαιρίδια, που εισχωρούν είτε δια στόματος είτε με ενέσιμο τρόπο.



Εικόνα 1. 11: Μικροσφαιρίδια ως φορείς φαρμάκου

Η απελευθέρωση της φαρμακευτικής ουσίας μπορεί να είναι συνεχής, για ένα χρονικό διάστημα ή να είναι κυκλική με συγκεκριμένη περίοδο. Αυτό επιτυγχάνεται με τη δημιουργία συστημάτων «πλαisiού» από πολυμερές είτε χρησιμοποιώντας το πολυμερές ως χώρο «αποθήκευσης» φαρμάκου. Στα συστήματα «πλαisiού» οι ουσίες διαχέονται από το πολυμερές στο εξωτερικό περιβάλλον και ο ρυθμός απελευθέρωσής τους μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Στα συστήματα «αποθήκευσης» φαρμάκου, οι ουσίες εσωκλείονται σε μια βιοδιασπώμενη μεμβράνη και απελευθερώνονται με συνεχή ρυθμό με διάχυση από τη μεμβράνη. Η βιοδιάσπαση στα συστήματα «αποθήκευσης» φαρμάκου γίνεται συνήθως ομοιόμορφα (bulk erosion), δηλαδή σε ολόκληρο τον όγκο, ενώ σε περιπτώσεις συστημάτων «πλαisiού» πραγματοποιείται επιφανειακά (surface erosion). (G. Vilar 2012)



Εικόνα 1. 12: (A) Ομοιόμορφη βιοδιάσπαση (bulk erosion) και (B) Επιφανειακή βιοδιάσπαση (surface erosion) για συστήματα «αποθήκευσης» φαρμάκου

1.6.2 Υφασματα-Ίνες

Αρχικά, οι ίνες που χρησιμοποιήθηκαν από τον άνθρωπο είχαν φυτική προέλευση, προερχόμενες από φυσικά πολυμερή. Αργότερα, οι συνθετικές ίνες αντικατέστησαν σε μεγάλο ποσοστό τις φυσικές. Σήμερα, οι βιοδιασπώμενες ίνες από αλειφατικούς πολυεστέρες όπως το PLA βρίσκουν εφαρμογή σε κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα που προορίζονται για εσώρουχα και ρούχα εξωτερικής ένδυσης, σε είδη υγιεινής μιας χρήσης και υφάσματα ιατρικών εφαρμογών, γεωργικών

εφαρμογών, ακόμα και σε δίχτυα ψαρέματος και σε σχοινιά. Ανάλογα με την προοριζόμενη εφαρμογή, οι ιδιότητες της ίνας ρυθμίζονται συναρτήσει των μηχανικών και θερμικών ιδιοτήτων και της αντίστασης που παρουσιάζει στην υδρόλυση, η οποία συνδέεται άμεσα με την βιοδιάσπαση του πολυμερούς. (Twarowska-Schmidt 2012)

Οι ίνες από βιοδιασπώμενα πολυμερή έχουν αρχίσει να γίνονται εμπορικά διαθέσιμες τα τελευταία χρόνια και συγκεκριμένα οι ίνες από PLA παρουσιάζουν πολλές ελκυστικές ιδιότητες, οι οποίες είναι παρόμοιες ή ακόμα και ανώτερες από αντίστοιχες ίνες από PET. Η ίνα από τον βιοδιασπώμενο πολυεστέρα PLA έχει μεγαλύτερη σταθερότητα ως προς τις διαστάσεις, μεγαλύτερη αντοχή, προστατεύει περισσότερο από τις υπεριώδεις ακτίνες σε σχέση με άλλες συνθετικές ίνες, αφήνει το δέρμα να «αναπνέει» και, ιδιαίτερα αν αναμειχθεί με βαμβάκι ή μαλλί, είναι εξαιρετικά απορροφητική στην υγρασία και στον ιδρώτα. Το μόνο της μειονέκτημα είναι ότι δεν απορροφά καλά τις βαφές, περιορίζοντας την ευελιξία των κατασκευαστών στα χρώματα και τη σταθερότητά τους. (R.Hagen, The potential of PLA for the fiber market 2013)



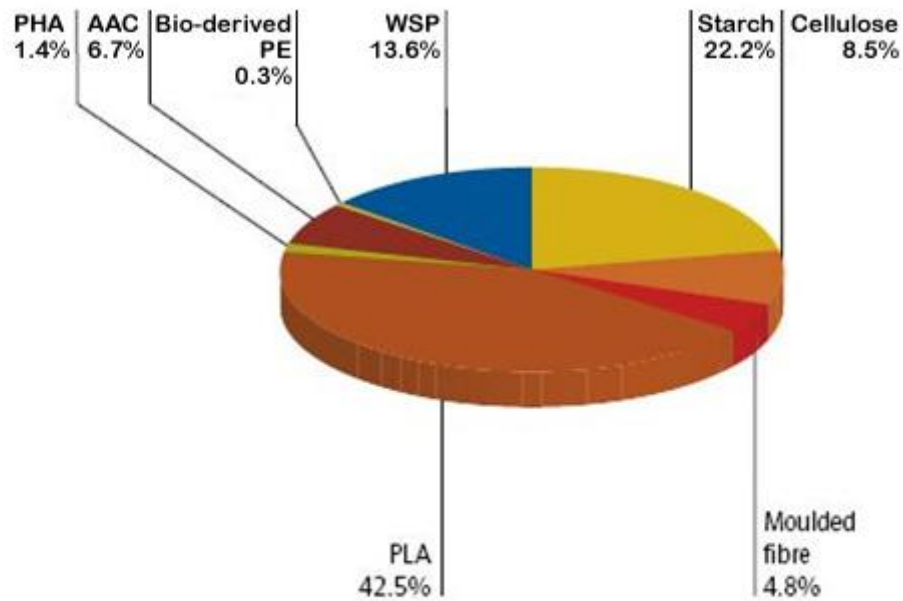
Εικόνα 1. 13: Ίνες πολυεστέρα και ίνες PLA

1.6.3 Συσκευασία τροφίμων και προϊόντα περιορισμένου χρόνου ζωής

Το εμπορικά διαθέσιμο PLA βρίσκει ευρεία εφαρμογή και στις συσκευασίες τροφίμων, καθώς μπορεί να δώσει καλύτερες μηχανικές ιδιότητες από το πολυστυρένιο και παρόμοιες ιδιότητες με αυτές του PET. Το PLA ως υλικό συσκευασίας έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως, σαν φιλμ, σε άκαμπτες θερμομορφοποιημένες συσκευασίες, σε συσκευασίες τροφίμων και ποτών και σε επιστρωμένα χαρτιά (M.N. Belgacem 2008). Εξαιτίας των ιδιοτήτων του όπως αναφέρθηκαν και παραπάνω, η στεγανότητα του PLA στο νερό και τις λιπαρές ουσίες και η διαπερατότητα της επιφάνειας του σε σωματίδια υδρατμών και οξυγόνου, το καθιστούν ιδανικό υλικό για συσκευασίες τροφίμων, καθώς διατηρούν το περιεχόμενο φρέσκο. (R.Leaversuch, Biodegradable Polyesters: Packaging Goes Green 2002)



Εικόνα 1. 14: Συσκευασίες τροφίμων από PLA

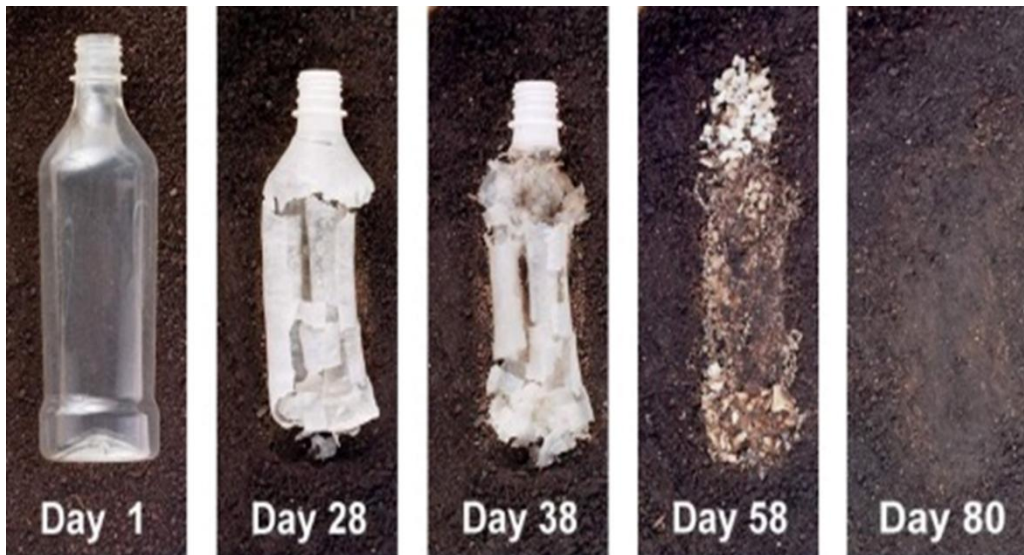


Note: AAC, aliphatic and aromatic co-polyesters; PLA, polylactic acid; PHA, polyhydroxyalkanoate; WSP, water-soluble polymers Source: Pira International Ltd

Εικόνα 1. 15 Παγκόσμια αγορά υλικών συσκευασίας από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή που χρησιμοποιήθηκαν κατά το 2010

Η αυξημένη κατανάλωση πλαστικών υλικών συσκευασίας και ιδιαιτέρως εμφυαλωμένων μπουκαλιών οδήγησαν στην εφαρμογή μιας καινοτόμας ιδέας που ήταν η παραγωγή βιοδιασπώμενου μπουκαλιού. Το πρώτο μπουκάλι κατασκευάστηκε από πολυγαλακτικό οξύ, χρησιμοποιήθηκε για την εμφιάλωση νερού το 2005 και έχει την ονομασία BIOTA Spring water. Το μπουκάλι είναι κατασκευασμένο από PLA της εταιρίας Nature Works LLC. Το BIOTA έχει εγκριθεί από τον BPI (Biodegradable Products Institute) και σε κατάλληλες συνθήκες διασπάται με κομποστοποίηση σε διάστημα 75-80 ημερών. (BIOTA Spring Water 2005)

Όλα τα παραπάνω σε συνδυασμό με την ιδιότητα της βιοαποικοδόμησης του PLA, το καθιστούν κατάλληλο για εφαρμογές σε προϊόντα, τα οποία πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για μικρό χρονικό διάστημα. Στη συνέχεια απορρίπτονται, βιοδιασπώνται με μια από τις υπάρχουσες μεθόδους διαχείρισης απορριμμάτων και μετά από ένα χρονικό διάστημα επιστρέφουν στο περιβάλλον ως CO₂ και νερό. Σε αντίθεση με τα προϊόντα που είναι κατασκευασμένα από συνθετικό πλαστικό πρόκειται να παραμείνουν στο περιβάλλον για πάρα πολλά χρόνια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι πλαστικές σακούλες, οι οποίες χρησιμοποιούνται καθημερινά για τα απορρίμματα. Το πλεονέκτημα στις σακούλες απορριμμάτων από PLA είναι ότι αυξάνεται ο βαθμός βιοδιάσπασης των οργανικών απορριμμάτων λόγω της ιδιότητας της βιοαποικοδόμησης του PLA και έτσι δεν επιβαρύνουν το περιβάλλον με επιπλέον απορρίμματα. (H. Pagala 2000)



Εικόνα 1. 16: Βιοδιασπώμενο μπουκάλι από PLA της εταιρίας Nature Works LLC

Βιβλιογραφία

- A. Steinbuchel, R. H. Marchessault. *Biopolymers and Pharmaceutical Applications*. WILEY-BLACKWELL, July 2005.
- A.H. Yusop, A.A. Bakir, N.A. Shaharom, M.R.A. Kadir, H. Hermawan. «Porous Biodegradable Metals for Hard Tissue Scaffolds: A Review.» *International Journal of Biomaterials Vol.2012*, 2012: 1-10.
- A.O. Abdelaal, M.S. Darwish. «Fabrication of Tissue Engineering Scaffolds using Rapid Prototyping Techniques.» *World Acad Sci Engineering and Technology Vol. 59*, 2011: 577-585.
- A.Vila, A.Sanchez, M.Tobio, P.Calvo, M.J.Alonso. «Design of biodegradable particles for protein delivery.» *Journal of controlled release 78*, 2002: 15-24.
- B. Subia, J. Kundu, S.C. Kundu. «Biomaterial scaffold fabrication techniques for potential tissue engineering applications.» *Tissue Engineering*, 2010.
- Bioplastics, Europa. «The behaviour of bioplastic films in mechanical recycling streams.» *European Bioplastics*. April 2015. http://en.european-bioplastics.org/wp-content/uploads/2014/publications/Bioplastic_films_in_mechanical_recycling_streams.pdf.
- BIOTA Spring Water. *CRS News*. 14 November 2005. http://www.csrwire.com/press_releases/18619-BIOTA-Spring-Water-is-the-World-s-First-Bottled-Water-or-Beverage-Packaged-in-a-Bottle-that-is-Made-from-100-Renewable-Resource-Corn-not-Oil.
- D.Garlotta. «A literature review of poly(lactic acid).» *Journal of Polymers and the Environment Vol.9, No.2*, 2001.
- D.L. Wise, D.J. Trantolo, K. Lewandrowski, J.D. Gresser, M.V. Cattaneo, M.J. Yaszemski. *Biomaterials Engineering and Devices: Human Applications: Volume 1: Fundamentals and Vascular and Carrier Applications*. Human Press, 2000.
- E.S. Lipinski, R.G. Sinclair. «Is lactic acid a commodity chemical?» *Chemical Engineering Progress Vol.82*, 1986: 26-32.
- E.T.H. Vink, K.R. Rabago, D.A. Glassner, P.R. Gruber. «Applications of life cycle assessment to Nature Works polylactide (PLA) production.» *Polymer degradation and stability Vol.80*, 2003: 403-419.
- G. Vilar, J. Tulla-Puche, F. Albericio. «Polymers and drug delivery systems.» *Current Drug Delivery Vol.9*, 2012: 1-28.
- H. Parala, H. Winkler, M. Kolbe, A. Wohlfart, R.A. Fischer, R. Schmechel. *Advanced Materials Vol.12, Issue 14*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2000.
- H.Kawahara. «Bioceramics for hard tissue replacement.» *Clinical Materials Vol.2*, 1987: 181-206.
- H.Pihlajamaki, O.Bostman, O.Tynninen, O.Laitinen. «Long-term tissue response to bioabsorbable poly-L-lactide and metallic screws: An experimental study.» *Bone 39*, 2006: 932-937.

- H.Tsuji, Y.Ikada. «Properties and morphologies of poly(L-lactide): 1. Annealing effects on properties and morphologies of poly(L-lactide).» *Polymer* 36, 2000: 2709-2716.
- H.Yetkin, A.Senkoylo, E.Cila, A.Muhtar Ozturk, A.Simsek. «Biodegradable Implants in orthopaedics and traumatology.» *Turkish Journal of Medical Science* 30, 2000: 297-301.
- J. C. Middleton, A. J. Tipton. «Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices.» *Biomaterials* Vol.21, 2000: 335-2346.
- J.Ahmed, J.-X.Zhang, Z.Song, S.K.Varshney. «Thermal properties of polylactides, Effect of molecular mass and nature lactide isomer.» *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* Vol.95, 2009: 957-964.
- M.Agarwal, K.W.Koelling, J.J.Chalmers. «Characterization of the degradation of Polylactic Acid Polymer in a solid substrate environment.» *Biotechnology*, 1998: 517-526.
- M.H. Kudur, S.B. Pai, H. Sripath. «Sutures and suturing techniques in skin closure.» *Indian Journal of Dermatology Venereo Leprol*, 2009: 425-434.
- M.N. Belgacem, A. Cardini. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. Oxford: Elsevier, 2008.
- M.S.Huda, L.T.Drzal, A.K.Mohanty, M.Mirsa. «Chopped glass and recycled newspaper as reinforcement in injection molded poly(lactic acid) (PLA) composites: A comparative study.» *Composites Science and Technology* 66, 2006: 1813-1824.
- N.Barroca, A.L. Daniel-daSilva, P.M. Vilarinho, M.H.V. Fernandes. «Tailoring the morphology of high molecular weight PLLA scaffolds through bioglass addition.» *Acta Biomaterialia*, 2010: 3611-3620.
- O.Martin, L.Averous. «Poly(lactic acid): Plasticization and properties of biodegradable multiphase systems.» *Polymer*, 2001: 6209-6219.
- O'Brien, F.J. «Biomaterials and scaffolds for tissue engineering.» *Materials Today*, 2011: 88-95.
- P.A.Gunatillake, R.Adhikari. «Biodegradable synthetic polymer for tissue engineering.» *European Cells and Materials* 5, 2003: 1-16.
- Plasteco Corporation*. 2015. http://plastecocorp.com/en/product/foam1_1.html.
- R.Hagen. «Basics of PLA.» *Bioplastic Magazine* Vol.4, 2012: 1-9.
- R.Hagen. «The potential of PLA for the fiber market.» *Bioplastics* Vol.8, 2013.
- R.Kulkarni, K.Pani, C.Neuman, F.Leonard. *Polylactic acid for surgical implants*. Arch Surg, 1966.
- R.Langer, JP Vacanti. «The meaning of the term biomechanics.» *Journal of Biomechanics*, 1974: 189-190.
- R.Leaversuch. «Biodegradable Polyesters: Packaging Goes Green .» *Plastics Technology* 48, 2002: 66-79.

- R.Leaversuch. «Renewable PLA polymer gets "green light" for packaging uses.» *European Cells and Materials* 4, 2002: 62-63.
- S.L. Ishaug, G.M. Crane, M.J. Miller, A.W. Yasko, M.J. Yaszemski, and A.G. Mikos. «Bone formation by three-dimensional stromal osteoblast culture in biodegradable polymer scaffolds.» *Journal of Biomedical Materials*, 1997: 17.
- St. Nillesen, Pj. Geutejes, R. Wismans, J. Schalkwijk, W.F. Daamen, T.H. Van Kuppervel. «Increased angiogenesis and blood vessel maturation in acellular collagen herapin scaffolds containing both FGF2 and VEGF.» *Biomaterials Vol.28*, 2007: 1123-1131.
- T. Dvir, B.P.Timko, D.S.Kohane, R.Langer. «Nanotechnological strategies for engineering complex tissues.» *National Nanotechnology*, 2011: 13-22.
- T. Lu, Y. Li, T. Chen. «Techniques for fabrication and construction of three dimensional scaffolds for tissue engineering.» *International Journal of Nanomedicine*, 2013: 337-350.
- T. Maharana, B.Mohanty, Y.S. Negi. «Melt-solid polycondensation of lactic acid and its biodegradability.» *Progress in Polymer Science*, 2009: 99-124.
- Twarowska-Schmidt. «Influence of drawing parameters on the properties of melt spun poly(lactic acid) fibres.» *Fibres and Textile in Eastern Europe*, 2012: 58-63.
- W. Sun, P. Lal. «Recent development on computer aided tissue engineering- a review.» *Computer Methods and Programs in Biomedicine Vol.67*, 2002: 85-103.
- W.D. Hutamcher, M. Sittinger, V.M. Risbud. «Scaffold-based tissue engineering rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems.» *Trends in Biology Vol.22*, 2004: 354-362.
- W.J.Ciccone, C. Motz, C. Bentley, J.P. Tasto. «Bioabsorbable implants in orthopaedics: New developments and clinical applications.» *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons Vol.9*, 2001: 280-288.
- W.M.Saltzman. *Tissue Engineering Principles for the Design of Replacement Organs and Tissues*. Oxford University Press, 2004.
- X. Liu, P.X. M. «Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering.» *Annals of Biomedical Engineering Vol.32*, 2004: 477-486.
- X. Zhong, F. Dehqhani. «Fabrication of biomimetic poly(propylene carbonate) scaffolds by using carbon dioxide as a solvent, monomer and foaming agent.» *Green Chemistry Issue 9*, 2012: 2523-2533.
- Δ.N. Μώρης, Φ.Κ. Σιγάλα, Ι.Π. Μπράμης. «Τα μοσχεύματα στην Αγγειοχειρουργική Σύγχρονα δεδομένα και προοπτικές.» *Ελληνική Αγγεοχειρουργική*, 2010: 31-37.
- Ε.Φραγκου. «Υποκατάστατα Δέρματος.» *Ελληνική Δερματοχειρουργική*, 2009: 32-51.
- Environmental and plastic council, Biodegradable plastics. «Plastics.» *Plastics*. November 2000.
http://www.plastics.ca/_files/file.php?filename=file_BIODEGRADEABLE_POLYMERS_A_REVIEW_24_Nov._2000._Final.pdf.

Ι.Δ.Βούρος. «Η εφαρμογή οστικών μοσχευμάτων και αφοριστικών μεμβαρών για αύξηση της ελλειματικής φατνιακής ακρολοφίας.» *Περιοδοντολογικά ανάλεκτα*, 2008: 31-54.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΙΣΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ - ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ

2.1 Εισαγωγή

Η ιστομηχανική είναι ένα πολυδιάστατο και ταχέως αναπτυσσόμενο πεδίο στο οποίο συνδυάζονται αρχές της μηχανικής και των επιστημών υγείας. Στόχος της είναι η ανάπτυξη βιολογικών ουσιών, υλικών και τεχνικών, οι οποίες συμβάλλουν στη διατήρηση, αποκατάσταση ή βελτίωση της λειτουργικότητας των ιστών (P.Ma 2004). Η ιστομηχανική προσανατολίζεται στην ανάπτυξη, αναγέννηση ή αντικατάσταση νοσούντων ιστών και οργάνων με σκοπό τη βελτίωση της φυσικής διαδικασίας επούλωσης των ιστών (H.W.T.Mathew 2002). Σε ορισμένες περιπτώσεις αντικατάστασης ιστών είναι απαραίτητη η ανάπτυξη τους εκτός του οργανισμού (δημιουργία *in vitro*) και η ακόλουθη μεταμόσχευση τους. Για την ανάπτυξη των ιστών εκτός του οργανισμού είναι αναγκαίο ένα προσωρινό τρισδιάστατο ικρίωμα, το οποίο λειτουργεί ως φορέας για τη δημιουργία του νέου ιστού. (M.T. Freyman 2001)

Τα ικρίωματα (scaffolds) είναι τεχνητές τρισδιάστατες δομές, δημιουργώντας περιβάλλον ικανό για την προσκόλληση, μετανάστευση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση διαφόρων τύπων κυττάρων, προσομοιάζοντας την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Τα ικρίωματα καθορίζουν τον πιθανό χώρο εξάπλωσης του νέου ιστού και πρέπει να διατηρούν μια κατάλληλη απόσταση μεταξύ των κυττάρων που εμφυτεύονται, έτσι ώστε να μπορεί να γίνεται η διάχυση των αερίων, των θρεπτικών ουσιών, αλλά και να μπορεί να αναπτυχθεί το αγγειακό σύστημα. Με λίγα λόγια πρέπει να μπορούν να υποστηρίξουν μια μηχανικά σταθερή και πορώδη δομή, που επιτρέπει στα κύτταρα να μεταναστεύσουν μέσα στο περιβάλλον και έτσι να προωθήσουν την ανακατασκευή του ιστού, τόσο μέσα στον οργανισμό όσο και σε τεχνητό περιβάλλον. Ένα ικρίωμα για να θεωρείται κατάλληλο για την καλλιέργεια και την ανάπτυξη κυττάρων πρέπει να πληρεί κάποιες προϋποθέσεις, όπως αναφέρονται παρακάτω:

- Επιτρέπει την κυτταρική προσκόλληση και μετανάστευση.
- Παραδίδει και διατηρεί τα κύτταρα και τους βιοχημικούς παράγοντες.
- Επιτρέπει τη διάχυση των ζωτικής σημασίας θρεπτικών ουσιών των κυττάρων και των εκφραζόμενων προϊόντων.
- Ασκει ορισμένες μηχανικές και βιολογικές επιδράσεις για την τροποποίηση της κυτταρικής συμπεριφοράς. (C. Cunha 2011) (G. Xiasong 2011)

Ανάλογα με τις ανάγκες που προκύπτουν, δηλαδή ανάλογα με τον ιστό που είναι επιθυμητός να αναπτυχθεί, χρησιμοποιείται το κατάλληλο βιοϋλικό. Τα βιοϋλικά που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ικρίωματος χωρίζονται στα μεταλλικά, τα κεραμικά και τα πολυμερικά υλικά. Στην παρούσα εργασία θα γίνει λόγος κυρίως για τα πολυμερικά υλικά που χρησιμοποιούνται και στην συνέχεια βιοαποδομούνται από τον ίδιο τον οργανισμό. Η χρήση βιοαποδομήσιμων πολυμερών για την παραγωγή πορωδών ικρίωμάτων έχει παρουσιάσει επιτυχία καθώς πλεονεκτούν σε αρκετά σημεία.

Από τα πλεονεκτήματα που εμφανίζουν τα πολυμερή είναι, ότι είναι εύκολα στην κατεργασία τους και μπορούν να λάβουν σχήμα και μέγεθος κατάλληλο ώστε να προσαρμόζεται το ικρίωμα στην απαιτούμενη ανάγκη. Επίσης, τα βιοαποδομήσιμα πολυμερή μπορούν να αποδομηθούν εύκολα είτε μέσω υδρόλυσης όταν εκτεθούν σε υδατικό περιβάλλον μέσα στο σώμα, είτε μέσω κυτταρικών ή ενζυματικών οδών. Αντίθετα, τα πολυμερικά υλικά μειονεκτούν όσον αφορά στην παρουσία υδρόφοβων επιφανειών

καθώς και την τοπική μείωση pH κατά την αποδόμηση, τα οποία είναι επιζήμια για την παραγωγή του ιστού. Επίσης, παρουσιάζουν χαμηλές μηχανικές ιδιότητες, με αποτέλεσμα να μην είναι η καλύτερη επιλογή σε περιπτώσεις με μεγάλη μηχανική φόρτιση. Τέλος, κατά τη διάρκεια της αποδόμησης τους, τα πολυμερή μπορεί να χάσουν ξαφνικά μάζα, συνεπώς και τη μηχανική ακεραιότητά τους (A.H. Yusop 2012). Παρ' όλα αυτά, τα συνθετικά και φυσικά πολυμερή αποτελούν καλή επιλογή στην κατασκευή των ικριωμάτων. (X. Liu 2004)

Οι βασικές προϋποθέσεις που πρέπει να τηρούνται από τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν, είναι οι παρακάτω:

- Να είναι βιοσυμβατά και βιοδιασπώμενα. Τα κύτταρα πρέπει να μπορούν να προσκολληθούν στην επιφάνεια του ικρίωματος, να λειτουργούν φυσιολογικά, και τελικά μέσα από αυτό, να πολλαπλασιάζονται ώστε να αναπτυχθεί ο ιστός. Επίσης, το ικρίωμα πρέπει να μπορεί να παραμένει σταθερό μέχρι την ανάπτυξη μίας συνεχούς εξωκυτταρικής μήτρας (extra-cellular matrix ECM) από τα εμφυτευμένα κύτταρα και στην συνέχεια να αποδομηθεί (degrade) σταδιακά καθώς η μήτρα αυτή θα αναπτύσσεται. Ο ρυθμός ανάπτυξης των κυττάρων του ανθρώπου εξαρτάται από την ηλικία του. (M.W. Kessler 2008) Τα παραπροϊόντα της βιοαποδόμησης πρέπει να είναι μη-τοξικά, να μην μειώνουν την ικανότητα ανάπτυξης των εμφυτευμένων κυττάρων και να μπορούν να διαφύγουν από το σώμα χωρίς να υπάρχει ανάμιξη με άλλα όργανα. (F.G.O'Brien 2011)
- Να μην κινητοποιούν το μηχανισμό της φλεγμονής στο ξενιστή, ή έστω αυτός να είναι ελάχιστος και να μην προάγουν την ανοσιακή απόκριση στο ξενιστή, για να μην αποβληθεί το μόσχευμα.
- Να έχουν τις κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες, ούτως ώστε να είναι δυνατός ο χειρισμός του κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης για την εμφύτευση. Στο ικρίωμα πρέπει να επιτευχθούν οι αρχικά κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες αλλά και να διατηρηθούν κατά το διάστημα της επούλωσης, το διάστημα που αναπτύσσεται ο νέος ιστός μέχρι την τελική αποδόμηση του ικρίωματος. (A.H. Yusop 2012)
- Να έχουν ένα δίκτυο ανοιχτών πόρων που να επικοινωνούν και υψηλό πορώδες για να διασφαλιστεί η κυτταρική διείσδυση και η επαρκής διάχυση των θρεπτικών συστατικών στα κύτταρα που βρίσκονται τόσο εντός του ικρίωματος όσο και στην εξωκυτταρική μήτρα. Επιπλέον, το πορώδες είναι απαραίτητο για να επιτρέπεται η διάχυση των αποβλήτων από το ικρίωμα. Μία άλλη παράμετρος για το ικρίωμα, είναι το μέγεθος των πόρων των ικριωμάτων, για το οποίο υπάρχει μία κρίσιμη περιοχή, η οποία εξαρτάται από τον τύπο των κυττάρων που πρόκειται να αναπτυχθούν. Είναι απαραίτητος λοιπόν, ο σωστός συνδυασμός των κατάλληλων μηχανικών ιδιοτήτων και του κατάλληλου πορώδους. (F.G.O'Brien 2011)

2.2 Μέθοδοι ανάπτυξης ικριωμάτων

Η δημιουργία των τρισδιάστατων δομών των ικριωμάτων έχει ήδη μελετηθεί με διάφορες τεχνικές. Κάθε τεχνική παρουσιάζει διαφορετικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα αντίστοιχα, γι' αυτό και η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής είναι πολύ σημαντικός παράγοντας για την επιτυχή κατασκευή του ικριώματος. Η κατάλληλη τεχνική επιλέγεται βάσει του υλικού που θα χρησιμοποιηθεί ως δομικό υλικό για το ικρίωμα και των ιδιοτήτων του, καθώς και των επιθυμητών διαστάσεων που επιβάλλεται να έχει ανάλογα με την εφαρμογή που προορίζεται.

Πολλές τεχνικές βασιζόμενες στην τεχνολογία ινοποίησης, την τεχνολογία διαλύματος σε συνδυασμό με την έκπλυση στερεών σωματιδίων, τον διαχωρισμό φάσεων, την τεχνολογία υπερκρίσιμων υγρών, τη χύτευση τήγματος και την 3D εκτύπωση έχουν εφαρμοστεί για την κατασκευή ικριωμάτων από βιοαποικοδομήσιμα πολυμερικά υλικά (D.W.Hutmacher 2000). Παρόλα αυτά, πολλές από αυτές τις τεχνικές έχουν εξελιχτεί για να αποδείξουν ότι είναι εφικτή η αναγέννηση των ιστών σε βιοαποικοδομήσιμα υλικά. Υπάρχουν ακόμα κάποια ζητήματα σχετικά με τις τεχνικές κατασκευής ικριωμάτων που πρέπει να επιλυθούν. Για παράδειγμα, οι τεχνικές βασιζόμενες στα διαλύματα πολυμερούς με ισχυρά τοξικούς οργανικούς διαλύτες μειονεκτούν εξαιτίας της δυσκολίας απομάκρυνσης των διαλυτών μέσω ξήρανσης. Επιπλέον αυτές οι τεχνικές είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες με αποτέλεσμα να δημιουργείται αδυναμία ελέγχου του μεγέθους και του σχήματος των πόρων. Τέλος, ένα ακόμα μειονέκτημα αυτών των τεχνικών είναι η δυσκολία ανάπτυξης τρισδιάστατης δομής σε αντίθεση με λεπτές πορώδεις μεμβράνες, οι οποίες είναι πιο εύκολα να κατασκευαστούν με αυτές τις τεχνικές (G. Ozkoc 2010). Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η κατασκευή ικριωμάτων με την τεχνική της έκπλυσης σωματιδίων.

2.2.1 Τεχνική έκπλυσης σωματιδίων

Η τεχνική αυτή βασίζεται στην ανάμιξη του επιθυμητού πολυμερούς που θα είναι το δομικό υλικό του ικριώματος με σωματίδια. Αρχικά γίνεται προετοιμασία των σωματιδίων και του πολυμερούς και στη συνέχεια ακολουθεί ανάμιξή τους. Από τη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφοροι τρόποι για την προετοιμασία και την ανάμιξη του πολυμερούς με τα σωματίδια.

Πιο συγκεκριμένα το πολυμερές μπορεί να είναι είτε σε στερεά μορφή, όπως κόκκοι (pellet) ή πούδρα (powder), είτε σε μορφή διαλύματος και είτε σε μορφή τήγματος υπό κατάλληλες συνθήκες. Επίσης, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τα σωματίδια που συνηθέστερα χρησιμοποιούνται σε αυτή την τεχνική είναι σωματίδια άλατος χλωριούχου νατρίου (NaCl), σωματίδια βιοδραστικού γυαλιού, καθώς και σωματίδια παραφίνης. Το μέγεθος και το σχήμα των σωματιδίων που θα χρησιμοποιηθούν στην τεχνική θα είναι αυτά που θα καθορίσουν το μέγεθος των πόρων. Το παρασκευασμένο μίγμα πολυμερούς/σωματιδίων ξηραίνεται και στη συνέχεια, γίνεται έκπλυση των σωματιδίων. Σε τελικό στάδιο, το προκύπτον ικρίωμα ξηραίνεται.

Με τη τεχνική αυτή μπορεί να ελεγχθεί το μέγεθος των πόρων, ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων που θα χρησιμοποιηθεί και το πορώδες από την αναλογία σωματιδίων-πολυμερούς. Επίσης είναι απλή τεχνική, χωρίς κάποια ειδική διάταξη ή συσκευή και ούτε απαιτούνται ιδιαίτερες συνθήκες, όπως πίεση και θερμοκρασία. Η

τεχνική αυτή μειονεκτεί στον έλεγχο του σχήματος των πόρων και της διασύνδεσης τους, και δεν μπορεί να εφαρμοστεί επιτυχώς σε υδρόφιλα πολυμερή. (P.Ma 2004) (P.X. Ma 2001)

Η τεχνική της έκπλυσης σωματιδίων ποικίλει ανάλογα με το σύστημα που επιλέγεται κάθε φορά για την κατασκευή του ικρίωματος. Αυτό εξαρτάται από το πολυμερές που θα χρησιμοποιηθεί, καθώς και τη μορφή του, τα πορογενή σωματίδια που θα χρησιμοποιηθούν, καθώς και το μέγεθος τους και τη διαδικασία μορφοποίησης.

Η τεχνική της έκπλυσης σωματιδίων για πολύ καιρό θεωρούνταν χρυσός κανόνας στην κατασκευή των ικριωμάτων. Παρ' όλα αυτά, τα ικρίωματα που κατασκευάζονται με αυτή την τεχνική τείνουν να έχουν πορώδη δομή με ακέραιους πόρους και περιορισμένα σημεία σύνδεσης λόγω της επαφής των κρυστάλλων στο πολυμερικό δίκτυο. Μια τέτοια δομή, που τείνει να είναι κλειστή, θεωρείται ανεπιθύμητη διότι επιβραδύνει σημαντικά την ανάπτυξη των κυττάρων μετά την είσοδο τους στο ικρίωμα. Επίσης, αυτή η δομή μπλοκάρει τους μηχανισμούς μεταφοράς που σχετίζονται με τα θρεπτικά συστατικά και τα προϊόντα αποδόμησης και υποστηρίζουν τη βιωσιμότητα του κυττάρου. (V. Guarino 2009)

- Τεχνική διαλύματος και έκπλυση σωματιδίων

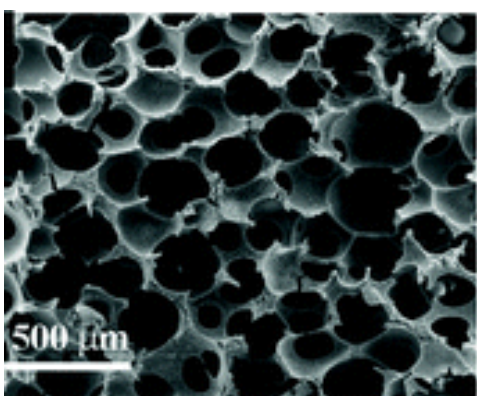
Η τεχνική διαλύματος και έκπλυση σωματιδίων είναι ένα από τις πιο κοινές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή ικριωμάτων. Αυτή η τεχνική, που αναπτύχθηκε αρχικά από (R.C. Thomson 1995) και (S.L. Ishaug 1998), περιλαμβάνει τη διάλυση ενός βιοαποικοδομήσιμου πολυμερούς σε πτητικό διαλύτη και απόχυση του διαλύματος σε καλούπι το οποίο είναι γεμάτο με το πορογενές μέσο, δηλαδή μικρά κρυσταλλικά μόρια, όπως σωματίδια άλατος, που είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό των πόρων. Ο διαλύτης εξατμίζεται και το πορογενές μέσο εκπλένεται με νερό. Παρά το γεγονός ότι αυτή η διαδικασία μπορεί να οδηγήσει σε ικρίωματα με χαμηλό βαθμό διασύνδεσης, η διασυνδεσιμότητα μπορεί να αυξηθεί με την πλήρωση του καλουπιού με το πορογενές μέσο σε υγρό περιβάλλον πριν από την προσθήκη του πολυμερικού διαλύματος. Η υγρασία βοηθά στο να συντηχθούν τα σωματίδια του πορογενούς μέσου για να εξασφαλιστεί διασυνδεδεμένη δομή, όταν το πορογενές μέσο απομακρυνθεί. Το χλωριούχο άλας (NaCl) είναι το πιο σύνηθες χρησιμοποιούμενο μέσο για τη δημιουργία πορώδους με αυτή την τεχνική, από την οποία προκύπτουν ικρίωματα με μη ομοιόμορφη μορφολογία πόρων. Η τεχνική αυτή πρόσφατα τροποποιήθηκε για να δημιουργηθούν ικρίωματα με σφαιρικούς πόρους και υψηλό βαθμό ομοιομορφίας.

Βασιζόμενοι σε αυτή την τεχνική οι (R. Huang 2014) κατασκεύασαν ικρίωματα περιχύνοντας διάλυμα PLLA πάνω σε μια σταθερή στρώση άλατος χλωριούχου νατρίου αντί να διαλύσουν το πορογενές μέσο στο διάλυμα. Πιο συγκεκριμένα, κόκκοι PLLA διαλύονται σε διχλωρομεθάνιο και χλωροφόρμιο (1:1) συγκέντρωσης 1g/l. Η επιθυμητή κοκκομετρία άλατος είναι μεταξύ 109-300 μm και επιστρώνεται σε γυάλινο πιάτο σχηματίζοντας στρώση 1.5 mm πάχους. Το διάλυμα PLLA περιχύνεται στο γυάλινο πιάτο και σιγά σιγά διαχέεται στη στοίβα άλατος αντί να ρέει στην άνω επιφάνειά της. Αυτή η αργή διάχυση του διαλύματος PLLA στη στρώση του άλατος εξασφαλίζει το γεγονός ότι τα σωματίδια άλατος δε θα μετακινηθούν σημαντικά από τη θέση τους λόγω της ροής του υγρού και θα διατηρήσουν την εσωτερική δομή της στρώσης σταθερή. Στη συνέχεια, το σύνθετο διάλυμα πολυμερούς/άλατος τοποθετείται σε κενό για 12 ώρες για την απομάκρυνση των διαλυτών.

Μετά, το ικρίωμα μπαίνει σε λουτρό για 48 ώρες για να εκπλυθούν τα σωματίδια και τέλος το ικρίωμα καταψύχεται για 2 ώρες για να ξηραθεί.

Παρόμοια διαδικασία χρησιμοποιώντας διαφορετικούς τύπους άλατος πραγματοποιήθηκε από τους ερευνητές (A.G. Mikos 1994), οι οποίοι κατασκεύασαν μεμβράνες PLLA. Αρχικά φτιάχτηκε διάλυμα PLLA με χλωροφόρμιο, το οποίο στη συνέχεια αναμίχθηκε με σωματίδια χλωριούχου νατρίου (NaCl), τρυγικού νατρίου ($C_4H_4Na_2O_6$) και κιτρικού νατρίου ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$). Στη μελέτη που πραγματοποιήθηκε, μελετήθηκαν πέντε διαφορετικές αναλογίες πολυμερούς/άλατος (50%, 60%, 70%, 80% και 90% κ.β. άλας) και το άλας που χρησιμοποιήθηκε περιείχε σωματίδια με τρεις διαφορετικές κοκκομετρίες. Έπειτα από εξάτμιση του διαλύτη με ξήρανση υπό κενό, οι μεμβράνες πολυμερούς/άλατος θερμάνθηκαν πάνω από τη θερμοκρασία τήξης του PLLA προκειμένου να διασφαλιστεί η πλήρης τήξη των κρυσταλλιτών που σχηματίστηκαν κατά το προηγούμενο βήμα. Μετά το τέλος της θέρμανσης, ψύχθηκαν ελεγχόμενα μέχρι θερμοκρασία δωματίου και τοποθετήθηκαν σε λουτρό με απιονισμένο νερό για να απομακρυνθούν τα σωματίδια άλατος. Τα ικρίωματα που κατασκευάστηκαν, παρουσιάζουν πορώδη δομή με μέγεθος πόρων 250 μm που ανταποκρίνεται στην κοκκομετρία άλατος που χρησιμοποιήθηκε αρχικά (109-300 μm).

Οι ερευνητές (N. Barroca 2010) για τη διαδικασία αυτή χρησιμοποίησαν σφαίρες παραφίνης συνδεδεμένες μεταξύ τους μέσω θερμικής επεξεργασίας ώστε να σχηματίσουν μια δομή 3D στο καλούπι με υψηλό βαθμό διασύνδεσης των πόρων. Βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή, όπως PLA και PLGA, διαλύονται σε ένα διάλυμα πυριδίνης, αποχύνονται στις συνδεδεμένες σφαίρες παραφίνης, και το διάλυμα στερεοποιείται. Στη συνέχεια, προστίθεται εξάνιο, το οποίο είναι διαλύτης της παραφίνης και προκύπτει ένα εξαιρετικά πορώδες (έως και 95%) ικρίωμα πολυμερούς. Αν και αυτή η τεχνική είναι απλή και δεν απαιτεί σύγχρονο εξοπλισμό αυτό, μπορεί να διαρκέσει έως και τρεις εβδομάδες για να κατασκευαστεί ένα ικρίωμα, σε μεγάλο βαθμό λόγω της μακρόχρονης διεργασίας αφαίρεσης του διαλύτη. (J.M. Karp 2003) Με ανάλογη τεχνική κατασκευάζονται ικρίωματα χρησιμοποιώντας βιοδραστικό γυαλί ως πορογενές μέσο. (N. Barroca 2010)



Εικόνα 2. 1: Μικροφωτογραφία SEM ικρίωματος PLLA παρασκευάστηκε με τεχνική διαλύματος και έκπλυση σωματιδίων (N. Robin 2012)

Οι (C.R. Kothapalli 2005) ανέπτυξαν μια παρόμοια μέθοδο με σκοπό να βελτιώσουν τις μηχανικές ιδιότητες του πολυμερούς χρησιμοποιώντας ως πληρωτικό υλικό υδροξυαπατίτη (HA). Ο υδροξυαπατίτης λειτουργεί ως ενισχυτικό μέσο των μηχανικών ιδιοτήτων του ικρίωματος, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να βελτιώσει την αγωγιμότητα του

ικριώματος με το οστό. Αυτός είναι ο λόγος που χρησιμοποιείται ευρέως σε εφαρμογές ιστομηχανικής των οστών. Για την κατασκευή του ικριώματος χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 9% κ.β. PLLA με διοξάνη, το οποίο αναμείχθηκε με HA και σωματίδια χλωριούχου νατρίου (NaCl). Το μίγμα τοποθετήθηκε σε γυάλινο πιάτο και αφέθηκε να ξηρανθεί ο διαλύτης για 24 ώρες. Μετά την απομάκρυνση του διαλύτη, το ικρίωμα τοποθετήθηκε σε ζεστό νερό (50 °C) τέσσερις φορές από 12 ώρες κάθε φορά για να εκπλυθούν τα σωματίδια άλατος και να δημιουργηθούν οι πόροι. Μια παραλλαγή του παραπάνω συστήματος μελετήθηκε από τους (J. Zhang 2013), οι οποίοι κατασκεύασαν ικρίωματα πολυγαλακτικού οξέος με σύνθετη πειραματική διάταξη υψηλής πίεσης χρησιμοποιώντας ως πορογενές μέσο άλας ανθρακικού ασβεστίου (CaCO₃) σε συνδυασμό με σωματίδια υδροξυαπατίτη (HA) και διαλύτη το διχλωρομεθάνιο (CH₂Cl₂).

Για πολλές εφαρμογές και ειδικά στα βιοϋλικά, η τροποποίηση του PLA είναι απαραίτητο για τη βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων ή τη ρύθμιση του ρυθμού αποικοδόμησης. Η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας αποτελεσματικός τροποποιητής που χρησιμοποιείται ως πλαστικοποιητής, για τη βελτίωση των μηχανικών, θερμικών ιδιοτήτων, αλλά και του ρυθμού αποδόμησης του PLA είτε για απλή φυσική ανάμειξη των δύο πολυμερών είτε για χημικό συμπολυμερισμό. Η PEG έχει επίσης εξαιρετική βιοσυμβατότητα και μη τοξικά χαρακτηριστικά, η οποία φυσικά την καθιστά καλό τροποποιητή του PLA σε βιοϊατρικές εφαρμογές: 1) PEG έχει μελετηθεί καλά και μπορεί να χρησιμεύσει ως μια άμεσος τροποποιητής 2) PEG έχει μια καλή διαλυτότητα σχεδόν σε όλους τους διαλύτες, το οποίο είναι σημαντικό πλεονέκτημα όταν χρησιμοποιείται στην τεχνική διαλύματος 3) η PEG είναι υδατοδιαλυτή, γεγονός που καθιστά την αποδόμηση εφικτή σε κάθε βιοϊατρικό περιβάλλον (τόσο InVivo και InVitro). Στην περίπτωση της μηχανικής ιστών, ο κύριος σκοπός της χρήσης της PEG σε ικρίωματα PLA είναι ο ρυθμός αποικοδόμησης: ιδίως για εφαρμογές που απαιτούν γρήγορη αποδόμηση, και η παρουσία της PEG ενισχύει το ρυθμό αποδόμησης. (R. Huang 2014)

Οι ερευνητές (R. Huang 2014) μελέτησαν αυτό το σύστημα και κατασκεύασαν ικρίωματα με την τεχνική διαλύματος και έκπλυση σωματιδίων χρησιμοποιώντας μίγματα PLA/PEG σε διάφορες αναλογίες. Ως διαλύτης των πολυμερών χρησιμοποιήθηκε το χλωροφόρμιο, όπου το διάλυμα που προέκυψε αναμείχθηκε με πούδρα χλωριούχου νατρίου (NaCl). Στη συνέχεια, αφού απομακρύνθηκε ο διαλύτης με ξήρανση, έγινε έκπλυση του άλατος σε νερό για 48 ώρες.

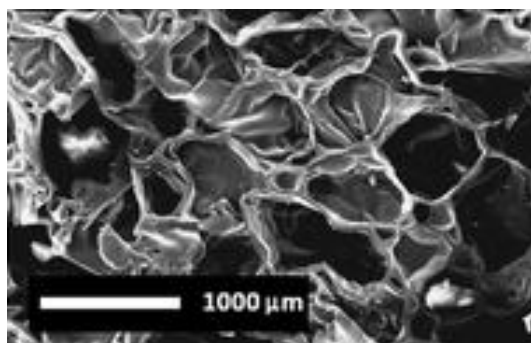
Στο παρελθόν, η τεχνική διαλύματος και έκπλυση σωματιδίων χρησιμοποιούταν με επιτυχία για την κατασκευή ικριωμάτων με βελτιωμένη διασυνδεσιμότητα εξαιτίας της παρουσίας του διτρωπικού πορώδους. Παρ' όλα αυτά, η μειωμένη ικανότητα να προαχθεί μια ομοιογενής κατανομή των μακροπόρων στον χώρο, όπως επίσης και η απώλεια μηχανικών ιδιοτήτων εξαιτίας των μηχανισμών σχηματισμού των μικροπόρων, περιορίζουν αυστηρά τη χρήση του στην κατασκευή ικριωμάτων για την αναγέννηση ιστών με περίπλοκη οργάνωση δομής. (V. Guarino 2009)

- Πούδρα πολυμερούς και έκπλυση σωματιδίων

Η τεχνική αυτή ονομάστηκε SLUP (Salt Leaching Using Powder) και μελετήθηκε από τους (Sang Yong 2013), οι οποίοι προτείνουν μια καινοτόμα τεχνική χωρίς την ανάμειξη διαλύτη και πίεσης κατά τη μορφοποίηση. Το πολυμερές που χρησιμοποιείται είναι μια πούδρα από βιοαποικοδομήσιμο/βιοσυμβατό θερμοπλαστικό πολυμερές, το

πολυγλυκολικό οξύ (PCL) έναντι κόκκων πολυμερούς. Αρχικά, προετοιμάζονται η πούδρα πολυμερούς και η πούδρα χλωριούχου νατρίου στο επιθυμητό μέγεθος, αναμειγνύονται σε διάφορες αναλογίες PCL:NaCl (40:60 και 30:70) και το μίγμα τοποθετείται σε ένα καλούπι διαστάσεων $10 \times 10 \times 5 \text{ mm}^3$. Στη συνέχεια, το καλούπι μπαίνει στο φούρνο και θερμαίνεται στους $80 \text{ }^\circ\text{C}$ (σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από τη θερμοκρασία τήξης του πολυμερούς για επαρκές χρονικό διάστημα) για 15 min. Μετά τη θέρμανση απομακρύνεται το μίγμα πολυμερούς/άλατος από το καλούπι και μπαίνει σε λουτρό απιονισμένου νερού για 24 ώρες για να εκπλυθούν τα σωματίδια χλωριούχου νατρίου.

Η τεχνική αυτή δεν περιλαμβάνει κάποιο διαλύτη, το εξωτερικό σχήμα του τελικού προϊόντος προσεγγίζει αρκετά το σχήμα του καλουπιού. Επιπλέον, το καλούπι δεν απαιτεί πρόσθετο εξοπλισμό για τη διατήρηση υψηλής πίεσης κι αυτό διότι η τεχνική αυτή δεν απαιτεί υψηλή πίεση για τη κατασκευή του ικρίωματος. Γενικά, η χρήση διαλύτη για την κατασκευή του ικρίωματος με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων καθιστά δύσκολο το σχεδιασμό των τελικών διαστάσεων του ικρίωματος εξαιτίας της συρρίκνωσης. Τέλος, όταν χρησιμοποιείται υψηλή πίεση για την κατασκευή του ικρίωματος είναι δύσκολο να διατηρηθεί η περίπλοκη δομή του ικρίωματος. (Sang Yong 2013)



Εικόνα 2. 2: Μικροφωτογραφία SEM ικρίωματος PLLA παρασκευάστηκε με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων (X. Zhong 2012)

- Τεχνική τήγματος και έκπλυση σωματιδίων

Παρόμοια με την τεχνική διαλύματος και έκπλυσης σωματιδίων είναι η τεχνική τήγματος και έκπλυσης σωματιδίων κατά την οποία τα πολυμερή ενσωματώνουν τα πορογενή μέσα και τα ικρίωματα διαμορφώνονται σε καλούπια δημιουργώντας πορώδεις δομές μετά την έκπλυση του πορογενούς. Γενικά υπάρχουν δύο τρόποι ανάμειξης των πολυμερών με τα πορογενή μέσα. Το πολυμερές μπορεί να τηχθεί και αναμειχθεί με το πορογενές μέσο με τη χρήση εκβολέα διπλού κοχλίου και να χυτευθεί με συγκεκριμένες διαστάσεις μέσω συμπίεσης ή έγχυσης. Κατά αυτή τη μέθοδο επιτυγχάνεται ομοιόμορφη κατανομή του πορογενούς μέσου στην πολυμερική μήτρα και το πορώδες καθώς και το μέγεθος των πόρων καθορίζεται μόνο από το πορογενές μέσο και το μέγεθος του. (H. Mi 2014)

Οι (G. Ozkoc 2010) χρησιμοποίησαν μια τεχνική για να κατασκευάσουν ικρίωματα συνδυάζοντας περισσότερα πολυμερή. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν πολυγαλακτικό οξύ (PLA) και πολυβινυλική αλκοόλη (PVA) με σωματίδια χλωριούχου νατρίου (NaCl), τα οποία αναμείχθηκαν σε εκβολέα μικρών διαστάσεων προκειμένου να δημιουργηθεί το τήγμα. Αμέσως το τήγμα τοποθετήθηκε σε μηχανή έγχυσης και από εκεί σε καλούπι διαστάσεων $10 \times 10 \times 4 \text{ mm}^3$. Το μορφοποιημένο τήγμα με τις ανάλογες διαστάσεις εκπλύθηκε σε νερό για 72 ώρες και σε θερμοκρασία $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Οι ερευνητές (B. Chen 2014) κατασκεύασαν ικρίωματα με την τεχνική διαλύματος και έκπλυση σωματιδίων χρησιμοποιώντας μίγματα PLA/PEG/NaCl σε διάφορες αναλογίες. Χρησιμοποιώντας ένα αυτοσχέδιο εκβολέα με τριπλό κοχλία αναμείχθηκαν τα δύο πολυμερή με το άλας, PLA, PEG και NaCl (με κοκκομετρία 40-75 μm) στους 130-170 °C σε αναλογίες PLA/PEG/NaCl (60:10:30) και (50:10:40). Μετά την εκβολή προέκυψαν κόκκοι του τήγματος που στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε καλούπια πάχους 1 mm και 4 mm και μορφοποιήθηκαν σε πρέσα ασκώντας φορτίο στους 190 °C. Τέλος, εκπλύθηκε το άλας χλωριούχου νατρίου σε υδατολουτρό στους 45 °C μέχρι σταθεροποίησης του βάρους των ικριωμάτων. Τα ικρίωματα που προέκυψαν παρουσίασαν βελτιωμένη ποιότητα ανοικτών πόρων και διασυνδεσιμότητας. Το πορώδες των ικριωμάτων προσδιορίστηκε έως και 89%, ενώ με την προσθήκη της πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) βελτιώθηκε η υδροφιλικότητα των ικριωμάτων.

Παρακάτω αναφέρονται μερικές από τις δημοφιλέστερες μεθόδους ανάπτυξης ικριωμάτων και μερικές βασικές πληροφορίες για την κάθε μέθοδο.

2.2.2 Διαχωρισμός φάσεων

Με τη μέθοδο διαχωρισμού φάσεων μπορούν να παραχθούν πορώδεις δομές σε πολυμερικά υλικά. Αρχικά, το πολυμερές διαλύεται σε κάποιο διαλύτη και συνέχεια προκαλείται διαχωρισμός φάσεων. Ο διαχωρισμός φάσεων μπορεί να προκύψει είτε λόγω αλλαγής της θερμοκρασίας είτε με την προσθήκη ενός μη διαλύτη του πολυμερούς. Μετά τον διαχωρισμό, η μία φάση είναι πλούσια σε πολυμερές με μικρή ποσότητα διαλύτη, ενώ η άλλη φάση περιέχει μεγάλο ποσοστό διαλύτη και μικρή ποσότητα πολυμερούς. Από την φάση που περιέχει κυρίως το πολυμερές απομακρύνεται ο διαλύτης (π.χ. με εξάτμιση) και δημιουργούνται οι πόροι. Οι πόροι παγώνονται κατά τη στερεοποίηση του πολυμερούς. Το πορώδες πολυμερές που προκύπτει, μειονεκτεί ως προς το μέγεθος των πόρων, το οποίο είναι της τάξης των μερικών μικρών, αλλά και ως προς την ανομοιόμορφη κατανομή τους. (P.Ma 2004)

Δυστυχώς, αυτή η μέθοδος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε πιθανές διαδικασίες παραλλαγής και πολλές φορές είναι δύσκολος ο ακριβής έλεγχος της μορφολογίας του πορώδους. Επίσης, η παρουσία υπολείμματος είτε διαλύτη είτε μη διαλύτη στο ικρίωμα είναι ένας επιπρόσθετος περιορισμός των τεχνικών διαχωρισμού φάσης. Θεωρητικά, οι τεχνικές που βασίζονται στο διαχωρισμό φάσεων ενός διαλύματος πολυμερούς μέσω θερμοκρασίας είναι αρκετά περίπλοκες, καθώς εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση της θερμοδυναμικής και κινητικής ανάπτυξης του πολυμερικού διαλύματος κατά τη διαδικασία ψύξης. (V. Guarino 2009)

Ο αυστηρός έλεγχος της φυσικής μετάβασης του πολυμερούς εφαρμόζοντας την κατάλληλη θερμική επεξεργασία είναι απαραίτητος διότι η θερμική ιστορία του πολυμερούς μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την τελική μορφή του ικριώματος όσον αναφορά τις μορφολογικές και μηχανικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, ο ρυθμός ψύξης μπορεί να επηρεάσει το βαθμό κρυσταλλικότητας της πολυμερικής μήτρας προάγοντας την κατασκευή ικριωμάτων με υψηλές μηχανικές ιδιότητες συγκριτικά με τις συμβατικές τεχνικές. (Q. Cai 2002)

Παρ' όλα αυτά, το βασικό μειονέκτημα, το οποίο πρέπει να ξεπεραστεί, αφορά τη περιορισμένη δυνατότητα διαμόρφωσης του μεγέθους των πόρων, το οποίο τυπικά δεν ξεπερνά τα 100 μm. Αυτό είναι πολύ μικρό για να πληρεί τις βέλτιστες απαιτήσεις όσον αναφορά το χώρο για την ανάπτυξη πολλών τύπων κυττάρων (όπως οστεοβλαστικά και μεσεγχυματικά κύτταρα). (V. Guarino 2009)

Θερμικός διαχωρισμός φάσεων

- Διαχωρισμό φάσης υγρού-στερεού (Solid-liquid phase separation)
Διαχωρισμός φάσης μπορεί να προκληθεί με τη μείωση της θερμοκρασίας κρυσταλλοποιώντας το διαλύτη από το πολυμερικό διάλυμα. Έτσι, δημιουργούνται κρύσταλλοι διαλύτη (στερεοί), οι οποίοι μετά την απομάκρυνση τους, αφήνουν κενό και προκύπτουν οι πόροι (T. Lu 2013). Η μελέτη της συμπεριφοράς των διφασικών συστημάτων γίνεται ακόμα πιο πολύπλοκη στο μηχανισμό αυτό, εξαιτίας του σχηματισμού μικροκυψελοειδών περιοχών, οι οποίες αναπτύσσονται κατά τόπους καθώς ψύχεται το πολυμερικό διάλυμα μέχρι τη θερμοκρασία κρυστάλλωσης του διαλύτη. (V. Guarino 2009)
- Διαχωρισμός υγρής-υγρής φάσης (Liquid-liquid phase separation)
Ο διαχωρισμός αυτός μπορεί να συμβεί μειώνοντας τη θερμοκρασία μόνο σε πολυμερικά διαλύματα, τα οποία παρουσιάζουν σημείο άνω κρίσιμης θερμοκρασίας. Αύτη η διαδικασία σχηματίζει μια συνεχόμενη δομή, δηλαδή μία δομή που αποτελείται συνεχόμενα από τη φάση πλούσια σε πολυμερές και από αυτή φτωχή σε αυτό. Μέχρι την τελική απομάκρυνση του διαλύτη, όπου και σχηματίζεται μια δομή με ανοικτούς πόρους (P. Ma 2004), (T. Lu 2013). Κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού υγρής-υγρής φάσης, η παρουσία ημικρυσταλλικών πολυμερών, όπως είναι το πολυγαλακτικό οξύ και η πολυκαπρολακτόνη, μπορεί συχνά να εκκινήσει τη διαδικασία ζελατινοποίησης. Το αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός μικρών κρυσταλλιτών, οι οποίοι λειτουργούν ως φυσικοί σταυροδεσμοί και σταθεροποιούν το τρισδιάστατο πολυμερικό δίκτυο και ταυτόχρονα βελτιώνουν τις μηχανικές ιδιότητες του. (V. Guarino 2009)

2.2.3 Ηλεκτροστατική ινοποίηση

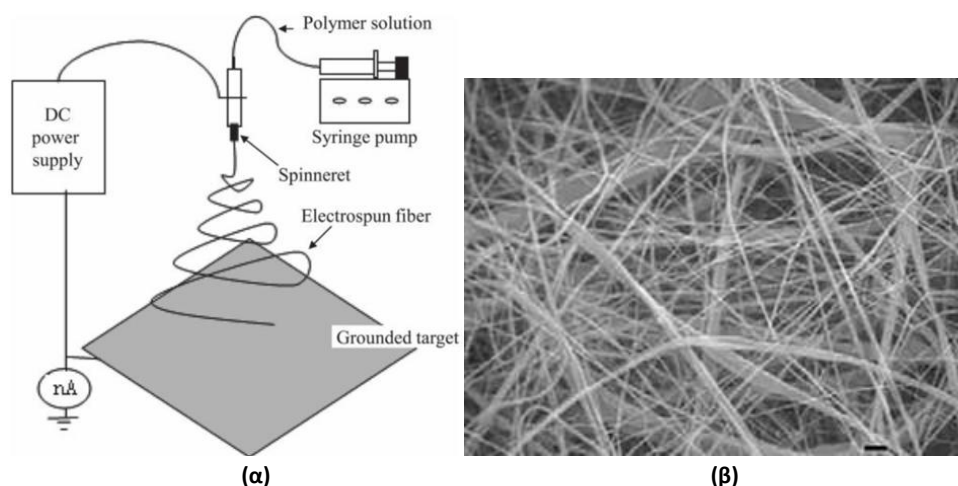
Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για την παραγωγή ινών με διάμετρο που κυμαίνεται στη νάνοκλίμακα. Κατά τη διαδικασία της ηλεκτροστατικής ινοποίησης χρησιμοποιούνται πολυμερικά διαλύματα με τον κατάλληλο διαλύτη τους, ενώ η στερεοποίηση του διαλύματος επιτυγχάνεται μέσω της εξάτμισης του διαλύτη. Μια τυπική διάταξη ηλεκτροστατικής ινοποίησης αποτελείται από τη σύριγγα μέσα στην οποία βρίσκεται το πολυμερικό διάλυμα από το οποίο θα παρασκευαστούν οι ίνες, μια πηγή τάσης με θετική ή αρνητική πολικότητα και τέλος ένας γειωμένος συλλέκτης. Στη συνέχεια όταν ενεργοποιείται το ηλεκτρικό πεδίο, τα φορτία εγχέονται μέσα στο πολυμερικό διάλυμα και προκαλούνται απωστικές δυνάμεις μεταξύ των ομοίως φορτισμένων μορίων στο υγρό και ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των μορίων του υγρού και του συλλέκτη, ο οποίος είναι αντίθετα φορτισμένος. Οι ηλεκτροστατικές αυτές αλληλεπιδράσεις έχουν σαν αποτέλεσμα να ασκούνται δυνάμεις εφελκυσμού επί του υγρού, επιμηκύνοντας τη σταγόνα στην άκρη της βελόνας. Καθώς αυξάνεται η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, φτάνει σε ένα κρίσιμο σημείο όπου οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις εξισορροπούν την επιφανειακή τάση του υγρού (T. Lu 2013). Ξεπερνώντας αυτό το σημείο, μια ίνα εκτοξεύεται και επιταχύνεται

προς το γειωμένο συλλέκτη, ενώ παράλληλα εξατμίζεται ο διαλύτης. (A.L. Yarin 2001) (J. Doshi 1995)

Το πιο ελκυστικό χαρακτηριστικό της ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι ότι η τεχνική αυτή επιτρέπει την παραγωγή πολυμερικών ινών με διάμετρο εύρους 15 nm μέχρι 10 μm. Η δομή των παραγόμενων ινών μπορεί να εξαρτηθεί από πολλούς παραμέτρους, οι οποίοι χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τις παραμέτρους του διαλύματος, της διαδικασίας και του περιβάλλοντος. Οι παράμετροι του διαλύματος περιλαμβάνουν τη φύση του διαλύτη που θα χρησιμοποιηθεί, το μοριακό βάρος του πολυμερούς και τη μοριακή δομή του, το ιξώδες του διαλύματος, η συγκέντρωση του και η επιφανειακή τάση (A. Koski 2004), (C.S. Ki 2005). Οι παράμετροι της διαδικασίας περιλαμβάνουν το εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο, την απόσταση μεταξύ της σύριγγας και του συλλέκτη και του ρυθμού ροής του διαλύματος (M. Demir 2002), (L. Wannatong 2004). Οι παράμετροι του περιβάλλοντος είναι η θερμοκρασία και η υγρασία. Τυπικά, πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους, διαλύματα υψηλής συγκέντρωσης με υψηλό ρυθμό ροής, χαμηλό εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο και μικρή απόσταση μεταξύ σύριγγας και συλλέκτη οδηγούν στη δημιουργία ινών με μικρή διάμετρο. (H. Mi 2014)

Γενικά, υλικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι είτε φυσικά είτε συνθετικά πολυμερή. Τα φυσικά υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αυτή την τεχνική λόγω της ενισχυμένης βιοσυμβατότητας τους και των βιολειτουργικών τους μοτίβων (L. Almanay 2008). Μεγάλος αριθμός φυσικών υλικών έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι στιγμής στην κατασκευή ικριωμάτων για εφαρμογές στη μηχανική των ιστών με την τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Τέτοια υλικά είναι η ζελατίνη, του υαλουρονικού οξέος, το κολλαγόνο, το μετάξι και η χιτοζάνη (V. Tchemtchoua 2011). Επίσης, γίνεται μεγάλη έρευνα όσον αφορά τη χρήση συνθετικών πολυμερών για την παραγωγή ινών για εφαρμογές στη μηχανική των ιστών. Συγκριτικά με τα φυσικά υλικά, τα συνθετικά πολυμερή έχουν σχετικά μικρότερο κόστος και μεγαλύτερη διαθεσιμότητα. (H. Mi 2014)

Ακόμα, η τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης έχει εφαρμοστεί και σε τήγματα πολυμερών. Ο μηχανισμός είναι ο ίδιος με τη διαφορά ότι το πολυμερές θερμαίνεται άνω του σημείου τήξης του ώστε το ιξώδες του να είναι κατάλληλο για ηλεκτροστατική ινοποίηση. Το πλεονέκτημα της χρήσης πολυμερικών τηγμάτων είναι η απουσία του διαλύτη, ενώ μπορεί να συμβεί αποδόμηση του πολυμερούς κατά τη διαδικασία. Οι ερευνητές (A. Karchin 2008) αξιολόγησαν την ικανότητα της ηλεκτροστατικής ινοποίησης σε πολυμερικά τήγματα για πολλά είδη συνθετικών PU και κατασκεύασαν επιτυχώς μη τοξικές ίνες κατάλληλες για εφαρμογές ικριωμάτων της μηχανικής των ιστών.



Εικόνα 2. 3: (α) Σχηματική αναπαράσταση της Ηλεκτροστατικής εναπόθεσης και (β) Μικροφωτογραφία SEM από ίνες που έχουν κατασκευαστεί με την τεχνική της Ηλεκτροστατικής εναπόθεσης

2.2.4 Ξήρανση με κατάψυξη-λυοφιλίωση (Freeze drying)

Η αρχή της μεθόδου είναι η εξάχνωση. Αρχικά, παρασκευάζεται πολυμερικό διάλυμα επιθυμητής συγκέντρωσης και καταψύχεται σε χαμηλές θερμοκρασίες περίπου -70°C με -80°C . Κάτω από συνθήκες υψηλού κενού και χαμηλών θερμοκρασιών, ο διαλύτης απομακρύνεται μέσω της εξάχνωσης. Έτσι, δημιουργείται ικρίωμα με υψηλό πορώδες και δίκτυο πόρων. Το μέγεθος των πόρων μπορεί να ελεγχθεί από το ρυθμό ψύξης, υψηλοί ρυθμοί δημιουργούν μικρούς πόρους και το αντίθετο, και το pH. (T. Lu 2013) (B. Subia 2010)

Σύμφωνα με πολλές αναφορές για αυτή τη τεχνική θεωρείται πως είναι συγκρίσιμη και παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων χρησιμοποιώντας πολυμερές και σωματίδια σε μορφή πούδρας. Πιο συγκεκριμένα, και οι δύο τεχνικές μπορούν κατασκευάσουν ικρίωματα με υψηλό πορώδες που έχει διασυνδεδεμένους πόρους. Παρ' όλα αυτά, όσον αναφορά τον έλεγχο του μεγέθους των πόρων, η τεχνική έκπλυσης σωματιδίων παρουσιάζει μεγαλύτερη ευκολία συγκριτικά με τη λυοφιλίωση. Επιπλέον, τα ικρίωματα που έχουν κατασκευαστεί με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα για πόρους με διασυνδεδεμένη μορφή, σε αντίθεση με τη λυοφιλίωση κατά την οποία θα πρέπει να ελέγχεται η αναλογία του διαλύτη και η θερμοκρασία της διαδικασίας. (Sang Yong 2013)

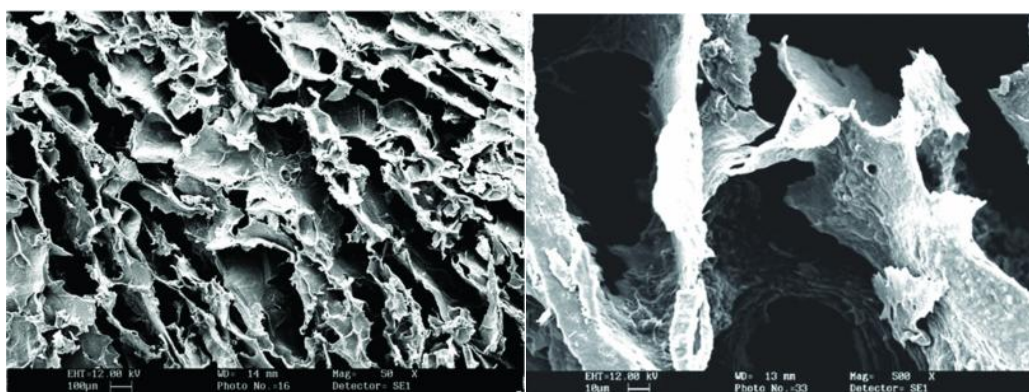
Οι ερευνητές (A. Boccacini 2003) κατασκεύασαν ικρίωματα με την τεχνική της λυοφιλίωσης συνδυάζοντας βιοδραστικό γυαλί. Συγκεκριμένα, το πολυγλυκολικό οξύ διαλύεται σε καρβονικό διμεθύλιο (DMC), το διάλυμα αυτό αναμειγνύεται με σωματίδια βιοδραστικού γυαλιού σε φιάλη των 600 ml και τη βοήθεια υπερήχων διασπείρονται τα σωματίδια σε όλο τον όγκο του διαλύματος. Η φιάλη του διαλύματος βυθίζεται σε υγρό άζωτο στους -196°C για 2 ώρες και έπειτα το παγωμένο μίγμα μεταφέρεται σε λουτρό αιθυλενογλυκόλης, συνδέεται με κενό στους -10°C για 48 ώρες και μετά στους 0°C για ακόμα 48 ώρες. Τέλος το μίγμα ξηραίνεται σε φούρνο κενού σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να επιτευχθεί σταθερό βάρος. Επιλέχθηκε το καρβονικό διμεθύλιο ως διαλύτης κι όχι η διοξάνη που χρησιμοποιείται ευρέως στις τεχνικές διαχωρισμού φάσεων λόγω του ότι θεωρείται καρκινογόνα για τα ανθρώπινα κύτταρα.

Αντίστοιχη έρευνα πραγματοποιήθηκε κι από τους (N. Barroca 2010), οι οποίοι με την τεχνική της λυοφιλίωσης κατασκεύασαν σύνθετες πορώδεις δομές από PLLA και

βιοδραστικό γυαλί. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκε διάλυμα PLLA/1,4-διοξάνη/νερό, το οποίο αναμείχθηκε με διάφορες αναλογίες βιοδραστικού γυαλιού στους 80 °C. Επειδή το PLLA δεν είναι υδατοδιαλυτό αρχικά έγινε η ανάμειξη του PLLA με τη διοξάνη στους 80 °C για 1 ώρα και στη συνέχεια προστέθηκε νερό σε αναλογία διοξάνη/νερό=87/13 και τέλος η πούδρα του βιοδραστικού γυαλιού με συνεχής ανάδευση μέχρι να το μίγμα να γίνει ομοιογενές. Η θερμοκρασία του μίγματος πέφτει στους 37 °C και στη συνέχεια παγώνονται στους -17 °C στην κατάψυξη για 8 ώρες. Τα δείγματα παραμένουν στους -50 °C υπό κενό 15×10^{-3} mbar για 3 μέρες για να απομακρυνθεί ο διαλύτης και να επιτευχθεί η πορώδη δομή. Τα ικρίωματα που κατασκευάστηκαν παρουσίασαν εύρος πόρων από 25 έως 150 μm με εμφανώς μεγαλύτερους πόρους και πιο διασυνδεδεμένη δομή από τα ικρίωματα PLLA χωρίς βιοδραστικό γυαλί.

Έχει διαπιστωθεί πως η χρήση σωματιδίων βιοδραστικού γυαλιού ως εγκλείσματα ή ως επικαλύψεις σε βιοδιασπώμενα πολυλακτίδια μπορεί να επιφέρει γρήγορη ανταλλαγή πρωτονίων, η οποία επιφέρει ρυθμιστική επίδραση του pH στην επιφάνεια του πολυμερούς με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η αποδόμηση του πολυμερούς (A. Stamboulis 2002). Γενικά, ο συνδυασμός πορώδων βιοαπορροφήσιμων πολυμερών με βιοδραστικό γυαλί ή κεραμική φάση είναι πολλά υποσχόμενος για την εφαρμογή του σε σύνθετα ικρίωματα για εφαρμογές ιστικής μηχανικής των οστών. Οι λόγοι που οδήγησαν στο παραπάνω συμπέρασμα είναι το καλύτερο περιβάλλον προσκόλλησης και ανάπτυξης για τα κύτταρα των οστών και οι βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες που μπορούν τα υποστηρίξουν τα σύνθετα ικρίωματα.

Ο συνδυασμός της τεχνικής της λυοφιλίωσης με τα σωματίδια βιοδραστικού γυαλιού δίνει τη δυνατότητα συνεργασίας των βιοδραστικών συστατικών και των παραγόντων ανάπτυξης μέσα στην πολυμερική μήτρα. Επίσης, δίνει τη δυνατότητα βέλτιστου σχεδιασμού του σχήματος των πόρων, του προσανατολισμού και του μεγέθους τους. Συγκεκριμένα τα ικρίωματα που κατασκευάστηκαν με την παραπάνω τεχνική παρουσίασαν τα εξής χαρακτηριστικά: τα τοιχώματα των σωληνοειδών μακροπόρων ήταν κι αυτά πορώδη και οι μακροπόροι ήταν σε μεγάλο βαθμό διασυνδεδεμένοι μεταξύ τους μέσω του δικτύου που ανέπτυξαν οι μικροπόροι. (A. Boccaccin 2003)



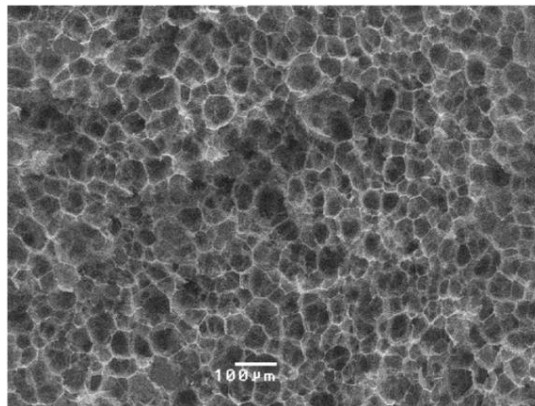
Εικόνα 2. 4: Μικροφωτογραφία SEM από ικρίωματα που έχουν κατασκευαστεί με την τεχνική του freeze drying (Naznin Sultana 2012)

2.2.5 Αφρισμός με χρήση αερίου

Οι περισσότερες τεχνικές κατασκευής ικριωμάτων χρησιμοποιούν οργανικούς διαλύτες. Ως γνωστόν, τα υπολείμματα των οργανικών διαλυτών είναι βλαβερά για τα κύτταρα και συνεπώς επιζήμια στην ανάπτυξη ιστών. Η μέθοδος αφρισμού με χρήση αερίου διαφέρει από τις προηγούμενες, καθώς για τη δημιουργία των πόρων δε χρησιμοποιεί κάποιο οργανικό διαλύτη, αλλά ένα αέριο, συνήθως διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) ή αζώτου (N_2). Το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) είναι το πιο ευρέως διαδεδομένο αέριο που χρησιμοποιείται σε αυτή την τεχνική, διότι είναι μη τοξικό, μη εύφλεκτο, ανακτήσιμο, επαναχρησιμοποιούμενο και τέλος δεν είναι ακριβό.

Πιο συγκεκριμένα, το αέριο διαλύεται στο πολυμερές σε συγκεκριμένη πίεση και θερμοκρασία, με το αέριο στην υπερκρίσιμη κατάσταση, όπου το υπερκρίσιμο υγρό έχει καλή αναμειξιμότητα με το πολυμερές. Δημιουργούνται φυσαλίδες από τη διασπορά του αερίου όταν μειώνεται η πίεση από υψηλή σε ατμοσφαιρική και το αέριο από την υπερκρίσιμη κατάσταση μεταβαίνει στην αέρια κατάσταση. Το διοξείδιο του άνθρακα απελευθερώνεται και έτσι δημιουργούνται οι πόροι στο πολυμερές. (B. Subbiah 2010) (H. Mi 2014)

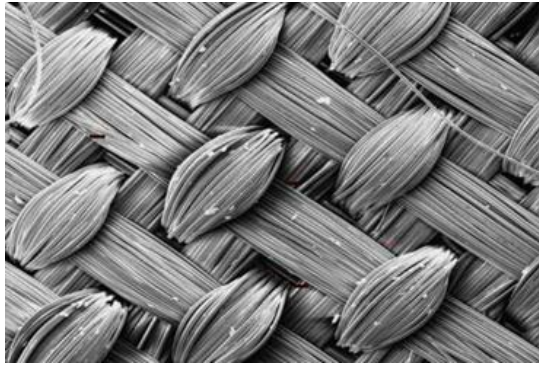
Μειώνοντας την πίεση από υψηλή σε ατμοσφαιρική, το διοξείδιο του άνθρακα απελευθερώνεται και έτσι δημιουργούνται οι πόροι στο πολυμερές. (B. Subbiah 2010). Το μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι η πορώδη δομή δεν είναι διασυνδεδεμένη. Η διασυνδεσιμότητα των όρων στο ικρίωμα μπορεί να βελτιωθεί προστίθοντας πορογενή σωματίδια ή υδατοδιαλυτά πολυμερή. (H. Mi 2014)



Εικόνα 2. 5: Μικροφωτογραφία SEM από ικρίωμα PLA κατασκευασμένο με την τεχνική αφρισμού με CO_2 (Plasteco Corporation 2015)

2.2.6 Τεχνολογίες ύφανσης

Αυτές οι τεχνικές περιλαμβάνουν όλες τις προσεγγίσεις που έχουν επιτυχώς χρησιμοποιηθεί για την προετοιμασία των μη – υφασμένων πλεγμάτων από διαφορετικά πολυμερή. Συγκεκριμένα μη – υφασμένες κατασκευές από πολυγλυκολίδη έχουν δοκιμαστεί. Τέτοιες ενώσεις κατασκευές έχουν αποδειχθεί χρήσιμες στην καλλιέργεια διαφορετικών τύπων κυττάρων. Τα κυριότερα μειονεκτήματα σχετίζονται με τις δυσκολίες απόκτησης υψηλού πορώδους και κανονικού μεγέθους των πόρων.



Εικόνα 2. 6: Μικροφωτογραφία SEM υφασμένου πλέγματος

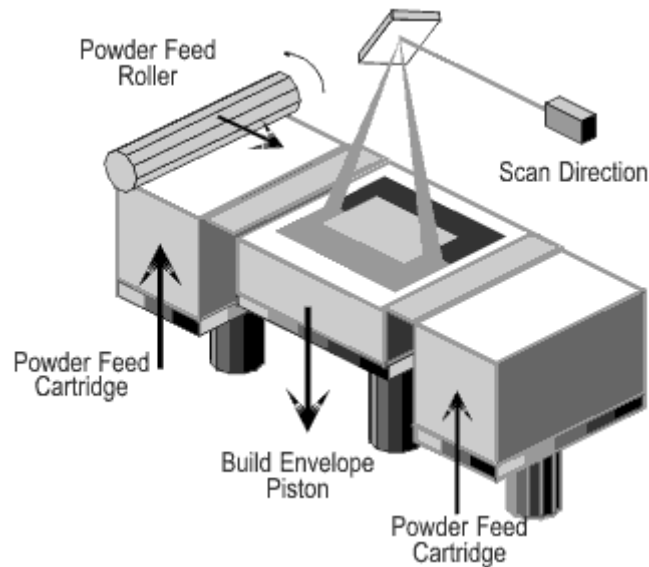
2.2.7 Τεχνολογίες 3D εκτύπωσης

Η μηχανική ιστών βασισμένη σε ηλεκτρονικό υπολογιστή (Computer-aided tissue engineering - CATE) συμβάλει στην πρόοδο της μοντελοποίησης, σχεδίασης και κατασκευής ικριωμάτων. Για παράδειγμα, η CATE μπορεί να εφαρμόσει βιομιμητική σχεδίαση και να εισάγει πολλαπλές βιολογικές και βιοφυσικές ιδιότητες στο ικρίωμα. Η CATE μπορεί επίσης να συνδυάσει βιομιμητικά και μη βιομιμητικά στοιχεία για τη δημιουργία υψηλής πιστότητας και έξυπνα ικρίωματα. Τα προγράμματα CAD (Computer Aided Design) αποτελούν την καθιερωμένη επίσης πλατφόρμα σχεδίασής τους. Στη μηχανική ιστών το τρισδιάστατο μοντέλο του οστού, του ιστού και γενικότερα της περιοχής που θέλουμε να αναπλάσουμε, λαμβάνεται μέσω υπολογιστικής τομογραφίας (Computed Tomography, CT) ή μαγνητικής τομογραφίας (Magnetic Resonance Imaging, MRI). Η εικόνα που λαμβάνεται από τους τομογράφους κωδικοποιείται σε συγκεκριμένου τύπου αρχεία, τα οποία μπορεί να επεξεργαστεί λογισμικό CAD. Στο περιβάλλον CAD, από την άλλη πλευρά, σχεδιάζονται τρισδιάστατα μοντέλα ικριωμάτων, αποτελούμενα από ένα ή περισσότερα μοναδιαία κύτταρα που αλληλοσυνδέονται και επαναλαμβάνονται περιοδικά στο χώρο. (W.D. Hutamcher 2004)

Η δημιουργία του αντικειμένου πραγματοποιείται με την διαδοχική συγκόλληση, την εναπόθεση ή με την στερεοποίηση λεπτών στρώσεων του υλικού, σύμφωνα με το σχέδιο που θα προκύψει από τον υπολογιστή. Υπάρχουν διάφορες τεχνολογίες, τις οποίες χρησιμοποιούν οι τρισδιάστατοι εκτυπωτές, ανάλογα με τις απαιτήσεις των προϊόντων που θέλουμε να εκτυπώσουμε. Οι τρεις πιο χρησιμοποιούμενες είναι η τεχνική Selective Laser Sintering (SLS), η τεχνική Laminated Object Manufacturing (LOM) και η τεχνική Fused Deposition Modeling (FDM). (C.X.F. Lam 2002) (A.O. Abdelaal 2011)

- Τεχνική Selective Laser Sintering (SLS)

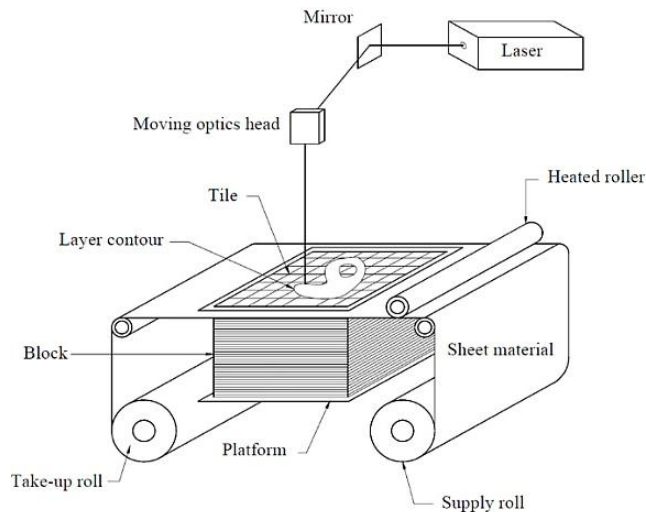
Στην τεχνική αυτή, μια ακτίνα λέιζερ λιώνει και στερεοποιεί διάφορα υλικά τα οποία βρίσκονται σε μορφή σκόνης. Ένας κύλινδρος στρώνει μια ποσότητα σκόνης με το κατάλληλο πάχος πάνω σε μια επιφάνεια και μια κεφαλή λέιζερ διαγράφει το σχήμα της πρώτης διατομής λιώνοντας και στερεοποιώντας την σκόνη επιλεκτικά. Στην συνέχεια η επιφάνεια κατέρχεται κατά το πάχος της επόμενης διατομής, τοποθετείται εκ νέου σκόνη την οποία στρώνει ο κύλινδρος και η κεφαλή λέιζερ διαγράφει την επόμενη διατομή στερεοποιώντας την πάνω στην πρώτη. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται μέχρι να ολοκληρωθεί το αντικείμενο. Το περίσσειμα σκόνης χρησιμεύει ως υποστήριγμα του.



Εικόνα 2. 7: Διάταξη μεθόδου Selective Laser Sintering (SLS)

- Τεχνική Laminated Object Manufacturing (LOM)

Η τεχνική αυτή βασίζεται στην κατασκευή αντικειμένων με την συγκόλληση λεπτών φύλλων υλικού που φέρουν επίστρωση θερμοκολλητικής ουσίας. Το πρώτο υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν χαρτί, ενώ αργότερα η εταιρία ανέπτυξε και χρησιμοποίησε και άλλα υλικά όπως αδιάβροχο χαρτί, πλαστικά, λεπτές ταινίες κεραμικών υλικών ή μετάλλων υπό μορφή σκόνης κατασκευαζόμενου αντικειμένου.

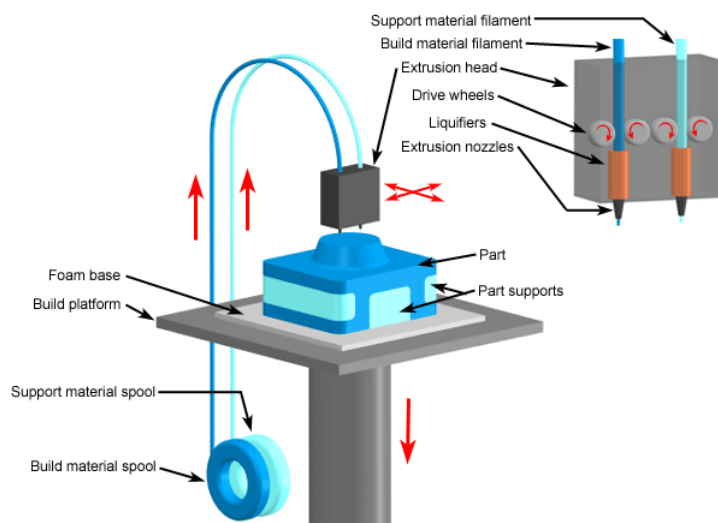


Εικόνα 2. 8: Διάταξη μεθόδου Laminated Object Manufacturing (LOM)

- Τεχνική Fused Deposition Modeling (FDM)

Σε αυτήν την τεχνική, ίνες θερμού πλαστικού υλικού εξέρχονται από μία κεφαλή η οποία κινείται στο επίπεδο (x,y). Η κεφαλή εναποθέτει λεπτές στρώσεις του πλαστικού πάνω σε μία βάση, διαγράφοντας την πρώτη διατομή. Η βάση βρίσκεται σε χαμηλότερη θερμοκρασία και έτσι το υλικό στερεοποιείται γρήγορα. Στην συνέχεια η βάση κατέρχεται

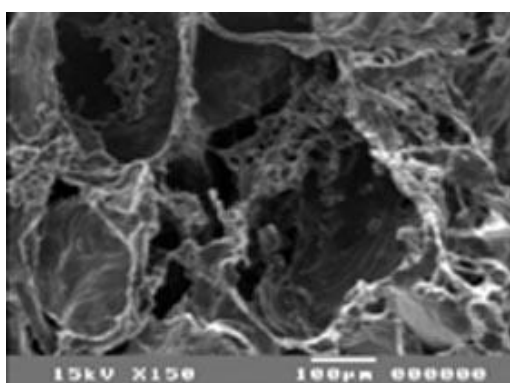
και η κεφαλή εναποθέτει το δεύτερο στρώμα πάνω στο πρώτο. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται μέχρι την ολοκλήρωση του αντικειμένου.



Εικόνα 2. 9: Διάταξη μεθόδου Fused Deposition Modeling (FDM)

2.3 Χαρακτηρισμός πορώδους δομής

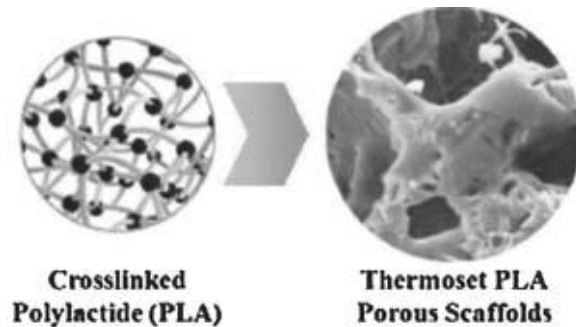
Η κατασκευή ενός απορροφήσιμου ικρίωματος πρέπει να συνυπολογίσει πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της παροχής οξυγόνου και των ιδιοτήτων της επιφάνειας. Μέσα σε ένα ικρίωμα, εφόσον οι πόροι αλληλοσυνδέονται, δεν δημιουργείται πρόβλημα παροχής οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στο κύτταρο, ούτε αποβολής των απορριμμάτων. Η κατασκευή ικριωμάτων μηχανικής ιστών βασίζεται στον πολυμερισμό διασυνδεδεμένων με σταυροδεσμούς πολυλακτιδίων με τη χρήση τεχνικών έκπλυσης και αφρού για τη δημιουργία καλά ελεγχόμενων και διασυνδεδεμένων βιοαποικοδομήσιμων πολυμερικών ικριωμάτων.



Εικόνα 2. 10: Πορώδες ικρίωμα με αλληλοσυνδεδεμένους πόρους

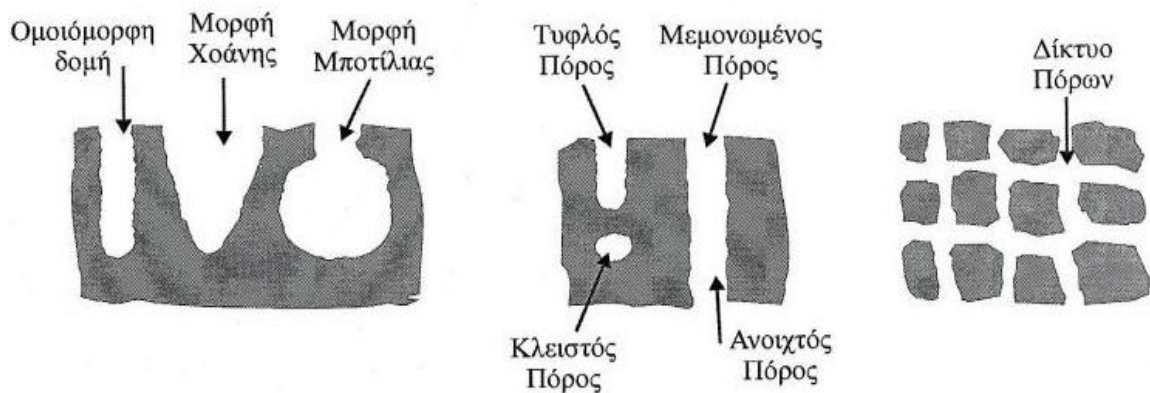
Οι παράμετροι της κατασκευής ικριωμάτων μελετώνται σε σχέση με τη διασύνδεση μεταξύ των πόρων, τη μορφολογία των πόρων και τη δομική σταθερότητα των ικριωμάτων PLA με σταυροδεσμούς. Τα καινούρια θερμοσκληρυνόμενα ικρίωματα διασταυρούμενου PLA είναι κατάλληλα για εφαρμογές της μηχανικής ιστών στην κατασκευή οστών λόγω της

πολυσύνθετης εσωτερικής αρχιτεκτονικής τους, της θερμικής σταθερότητάς τους και της ικανότητας βιοαποδόμησης.



Εικόνα 2. 11: Καινούρια πορώδη, θερμοσκληρυμένα ικρίωματα διασταυρούμενου PLA

Η εσωτερική δομή των περισσότερων πορωδών στερεών αποτελείται από μεγάλο πλήθος κενοτήτων που κατανέμονται ανομοιόμορφα σχηματίζοντας συνεχείς και περιπλεγμένες κενές περιοχές. Ο πόρος, σε αυτή την περίπτωση, θα μπορούσε να οριστεί ως το μικρότερο δυνατό τμήμα του συνολικού κενού χώρου που θα μπορούσε να καθοριστεί σαφώς με γεωμετρικούς όρους. Ωστόσο αυτό δεν καθιστά δόκιμο τον ορισμό ενός τέτοιου πόρου για την ακριβή περιγραφή της δομής και την μορφής του κενού όγκου. Η περιγραφή των πόρων με ιδανικές γεωμετρικές δομές αποτελεί την πιο κοινή και συνήθη προσέγγιση για την περιγραφή της πορώδους υφής των υλικών. Έτσι, οι πόροι απεικονίζονται συχνά να έχουν ιδανικές κυλινδρικές γεωμετρικές δομές, σχισμές ή ακόμη ως κ ένα μεταξύ διασυνδεδεμένων σφαιρικών σωματιδίων. Τέτοια πρότυπα είναι κατάλληλα για την εκτίμηση των μορφολογικών παραμέτρων των στερεών όπως είναι η ειδική επιφάνεια, ο ειδικός όγκος των πόρων και η κατανομή του όγκου των πόρων. Στα πραγματικά υλικά, ωστόσο, οι πόροι μπορεί να συνδέονται μεταξύ τους με ακανόνιστο τρόπο και με κανάλια διαφορετικής διαμέτρου σχηματίζοντας περίπλοκα πορώδη δίκτυα. Τυπικές μορφές τέτοιων πραγματικών πόρων φαίνονται στην Εικόνα 2.12.



Εικόνα 2. 12: Τυπικές μορφές πραγματικών πόρων

Για τον χαρακτηρισμό της πορώδους δομής των ικριωμάτων έχουν χρησιμοποιηθεί οι παρακάτω μέθοδοι (H. Parala 2000):

- Ποροσιμετρία N₂
- Ποροσιμετρία υδραργύρου
- Υπέρυθρη Φασματομετρία με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR)
- Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διερχόμενης Δέσμης (TEM)
- Μέτρηση της φαινόμενης πυκνότητας
- Περίθλαση ακτινών Χ

2.4 Μηχανική των ιστών

Η Μηχανική Ιστών ξεκίνησε τη δεκαετία του '70 κι έναν από τους πρώτους της καρπούς αποτελεί το βιονικό δέρμα, το οποίο χρησιμοποιείται πλέον ευρέως για την επούλωση πληγών και εγκαυμάτων. Επίσης, έχει παραχθεί και χόνδρος, ενώ σύντομα αναμένεται η παραγωγή κερατοειδούς χιτώνα του ματιού. Πρόκειται για ένα πεδίο το οποίο δημιουργήθηκε για να καλύψει τις ανάγκες των χειρουργών, οι οποίοι ζητούσαν υποκατάστατα βιολογικών στοιχείων τα οποία δεν ήταν δυνατόν να ληφθούν από δότες. Είναι ένα επιστημονικό πεδίο, το οποίο χρησιμοποιεί τις προόδους της βιολογίας, της χημείας των υλικών, της μηχανικής και άλλων ειδικοτήτων για τη δημιουργία μεταμοσχεύσιμων ιστών και την αποκατάσταση του ανθρώπινου μυοσκελετικού ιστού. Ο τομέας αυτός αναπτύχθηκε όταν ωρίμασαν οι συνθήκες σε επιστήμες όπως η κυτταρική και η μοριακή βιολογία, η χημεία των υλικών και η μηχανική. (T. Dvir 2011)

Η μηχανική ιστών συνδυάζει μία ποικιλία βιολογικών και μηχανικών αρχών για τη δημιουργία λειτουργικών ιστών και οργάνων για μεταμόσχευση οι οποίες αποκαθιστούν, υποστηρίζουν ή βελτιώνουν τη λειτουργία των ιστών. Η αρχή της Μηχανικής Ιστών βασίζεται στο ότι οι ιστοί μπορούν να απομονωθούν από έναν ασθενή, να επεκταθούν με μία καλλιέργεια και να εμφυτευτούν μέσα σε ένα ικρίωμα (scaffold) φτιαγμένο από ένα δομικό υλικό ώστε να σχηματιστεί ο νέος ιστός σύμφωνα με το σχήμα του τρισδιάστατου ικρίωματος. Έπειτα η κατασκευή μπορεί να εμφυτευθεί στον ίδιο ασθενή ως υποκατάστατο ιστού. Τα αγγεία αίματος αναπτύσσονται μέσα στο νέο ιστό, το ικρίωμα διαλύεται και ο νέος ολοκληρωμένος ιστός συνδέεται με αυτούς που τον περιβάλλουν. Η τεχνολογία που αναπτύσσεται στη Μηχανική Ιστών υποστηρίζει τη δημιουργία ποικίλων ειδών ιστών συμπεριλαμβανομένων δέρματος, χόνδρου, οστού, ήπατος, νεύρων και αγγείων.

Η επιτυχία της αναδημιουργίας ιστών αποδίδεται σε μεγάλο βαθμό στην ικανότητα του ικρίωματος για δομική μορφοποίηση και στην βιοδραστικότητα του με τα εμφυτευμένα κύτταρα. Οι βέλτιστες δομικές και θρεπτικές συνθήκες για την ανάπτυξη ενός ιστού διασφαλίζονται όταν χρησιμοποιείται ένας ήδη υπάρχων βιολογικός δομημένος 3D ιστός ως πρότυπο σύμφωνα με τον οποίο μπορεί να σχεδιαστεί η δομή του ικρίωματος. Για αυτό το σκοπό έχουν γίνει πολλές πρόοδοι στη Μηχανική Ιστών, στην επιστήμη των βιοϋλικών, στη βιομηχανική, βελτιστοποιήσεις στην ενσωμάτωση και λειτουργία των ιστών και επίσης στο σχεδιασμό, τη σύνθεση και την κατασκευή του προηγμένων ικριωμάτων ιστών (tissue scaffold). (J.P. Vacanti 1999)

Ο τομέας της μηχανικής των ιστών αποτελούσε αρχικά μια υποκατηγορία των βιοϋλικών αλλά λόγω της μεγάλης του ανάπτυξης και της σημασίας του θεωρείται πλέον

ανεξάρτητος τομέας. Η συμβολή του τομέα αυτού στην ιατρική είναι μεγάλη, αφού τελικός σκοπός της ιστομηχανικής είναι να κατασκευαστεί βιολογικός ιστός για την αντικατάσταση αρχικών κατεστραμμένων ιστών. Ένας ορισμός για την ιστομηχανική που δίνεται από τους Langer και Vacanti αναφέρει ότι η ιστομηχανική είναι "ένας διεπιστημονικός τομέας που εφαρμόζει τις αρχές της επιστήμης του μηχανικού και των επιστημών υγείας για την ανάπτυξη βιολογικών υποκατάστατων, τα οποία θα μπορούν να επαναφέρουν, να διατηρούν ή να βελτιώνουν τις λειτουργίες ιστών ή ολόκληρων οργάνων".

Η κατασκευή των ιστών γίνεται με τεχνικό τρόπο έξω από το σώμα (in vitro) και στη συνέχεια εμφύτευση αυτών στο σώμα (in vivo) του ασθενούς. Για να είναι δυνατή η κατασκευή βιολογικού ιστού σε συνθήκες εργαστηρίου, απαιτείται η συνεργασία τεσσάρων βασικών παραγόντων:

1. Κύτταρα (cells): Αποτελούν τη βασική ύλη του ιστού που θέλουμε να παράγουμε και με την κατάλληλη καλλιέργεια αυτών προσδοκούμε στη δημιουργία ενός νέου λειτουργικού βιολογικού συστήματος. Τα κύτταρα αυτά ανάλογα με την προέλευσή τους, χωρίζονται στις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες:

i. Αυτόλογο (Autologous): κύτταρα που προέρχονται από το ίδιο το άτομο για το οποίο κατασκευάζεται ο ιστός.

ii. Συγγενές (Syngeneic): κύτταρα που προέρχονται από άτομο με πρώτου βαθμού συγγένεια με αυτό για το οποίο κατασκευάζεται ο ιστός.

iii. Αλλογενές (Allogenic): κύτταρα που προέρχονται από άλλο άτομο, του ίδιου όμως είδους με αυτό για το οποίο κατασκευάζεται ο ιστός.

iv. Ξενογενές (Xenogenic): κύτταρα που προέρχονται από άλλο άτομο, άλλου είδους από αυτό για το οποίο κατασκευάζεται ο ιστός. Επίσης ανάλογα με την κατάσταση στην οποία βρίσκονται τα κύτταρα χαρακτηρίζονται ως:

i. Αδιαφοροποίητα (undifferentiated): αποτελούν μια αρχέγονη μορφή κυττάρων, τα οποία στη συνέχεια μπορούν να διαφοροποιηθούν σε όλους τους τύπους κυττάρων ενός οργανισμού. Παράδειγμα αποτελούν τα βλαστοκύτταρα.

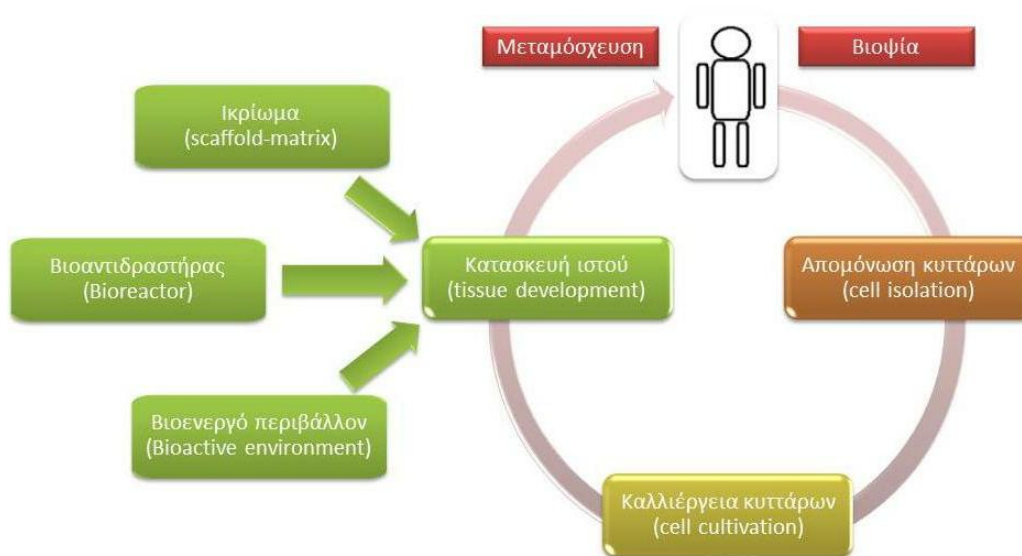
ii. Διαφοροποιημένα (differentiated): ανήκουν ήδη σε κάποιο ιστό και επιτελούν συγκεκριμένη λειτουργία στον οργανισμό. Παράδειγμα αποτελούν τα ηπατικά κύτταρα.

2. Ικρίωμα (Scaffold – Matrix): Το ικρίωμα δίνει το κατάλληλο σχήμα και δομή ανάλογα με τον ιστό που θα κατασκευαστεί και υποστηρίζει την κατασκευή μέχρι να αποκτήσει σταθερότητα. Το υλικό του ικρίωματος οφείλει να είναι βιοδιασπώμενο ή να είναι με κάποιο τρόπο δυνατό να το απομακρύνουμε μετά το πέρας της κατασκευής του ιστού και πριν γίνει η μεταμόσχευση του νέου ιστού στον ασθενή. Τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν για την κατασκευή του ικρίωματος πρέπει να είναι πρώτα απ' όλα συμβατά με τον οργανισμό που θα τα αποδεχτεί. Αυτό σημαίνει ότι το υλικό δεν πρέπει να προκαλεί φλεγμονώδεις αντιδράσεις, να είναι μη κυτταροτοξικό, μη καρκινογενετικό και μη αλλεργιογόνο (J.S. Temenos 2000). Επίσης, οι μηχανικές ιδιότητες του υλικού πρέπει να είναι ικανές να παρέχουν μηχανική υποστήριξη στον ιστό. Οι μηχανικές ιδιότητες περιλαμβάνουν την αντοχή στην πίεση, την ένταση και την περιστροφική κίνηση. Τα υλικά εμφυτευμάτων πρέπει να αποστειρώνονται εύκολα για την πρόληψη μολύνσεων χωρίς να επηρεάζουν τη συμβατότητα ή τη δραστηριότητα του υλικού (H.Kawahara 1987). Η

τοποθέτηση πρέπει να γίνεται μέσα σε λίγα λεπτά στο σώμα του ασθενούς, ώστε μειώνοντας τη διάρκεια της διαδικασίας να μειώνεται και η πιθανότητα μόλυνσης και να μην υπάρχει μεταβολή της θερμοκρασίας του υλικού τέτοια για να αποφευχθεί ο κίνδυνος της νέκρωσης των γειτονικών υγιών ιστών.

3. Βιο-ενεργό περιβάλλον (Bioactive environment): Με τον όρο αυτό περιγράφουμε όλες τις συνθήκες τις οποίες απαιτείται να εφαρμόσουμε στα κύτταρα ώστε αυτά να καταφέρουν να δημιουργήσουν τον ιστό που επιθυμούμε. Ανάλογα με το είδος του ιστού οι συνθήκες αυτές μπορεί να περιλαμβάνουν αυξητικούς παράγοντες (growth factors), ροή σε συγκεκριμένες περιοχές του ικρίωματος, συγκεκριμένη θερμοκρασία και υγρασία κ.α.

4. Βιο-αντιδραστήρας (Bioreactor): Ο βιοαντιδραστήρας αποτελεί τη συσκευή ή το σύστημα που περιβάλλει και προφυλάσσει το χώρο που δημιουργείται ο νέος ιστός και παράλληλα εξασφαλίζει τη δημιουργία και διατήρηση του βιοενεργού περιβάλλοντος. Η κατασκευή του θα πρέπει να είναι τέτοια ούτως ώστε να μιμείται τις συνθήκες υπό τις οποίες βρίσκεται ο ιστός στον οργανισμό εξασφαλίζοντας την λειτουργικότητα του ιστού που παράγεται. Οι παραπάνω βασικοί παράγοντες συνδυάζονται έτσι ώστε αφού πραγματοποιηθεί βιοψία και εντοπίσουμε τον ιστό που έχει υποστεί βλάβη στον οργανισμό, να κατασκευαστεί ο νέος ιστός στο εργαστήριο και στη συνέχεια να μεταμοσχευθεί στον ασθενή. (R. Langer 1974)



Εικόνα 2. 13 Διαδικασία κατασκευής ιστών

Οι παράμετροι που καλείται να αντιμετωπίσει η ιστική μηχανική αφορούν αφενός στον περιορισμό ότι παρόλο που μεμονωμένα κύτταρα έχουν τη δυναμική να ανασχηματίσουν την αντίστοιχη ιστική δομή τους δεν το κάνουν σε μικρό βαθμό. Αυτό συμβαίνει αφενός γιατί δεν έχουν ενδογενή ιστική οργάνωση κι αδυνατούν λόγω έλλειψης φόρμας (template) να αναδομηθούν κι αφετέρου διότι οι ιστοί δεν μπορούν να μεταμοσχευθούν σε μεγάλους όγκους, λόγω περιορισμού στη διάχυση με συνέπεια να περιορίζεται η αλληλεπίδραση με το περιβάλλον του ξενιστή για τροφή, ανταλλαγή αερίων και εξάλειψη απόβλητων προϊόντων. Το γεγονός ότι απαιτείται η συνεργασία πολλών

επιστημόνων προκειμένου να δημιουργηθούν ιστοί και όργανα στο εργαστήριο καθίσταται προφανές. Ο στόχος είναι να δημιουργηθούν ιστοί με κύτταρα, τα οποία θα έχουν ή θα αποκτούν την ταυτότητα που απαιτείται για κάθε εφαρμογή, και επίσης θα περικλείονται από την εξωκυττάρια ουσία, η οποία θα λειτουργεί ως πλαίσιο στήριξης των κυττάρων και θα καθορίζει το τελικό σχήμα του ιστού που πρόκειται να παραχθεί.

2.5 Εφαρμογές βιοϋλικών στην Ιστική Μηχανική

Η μεταμόσχευση κυττάρων σε συγκεκριμένα σημεία του οργανισμού αλλά και η μεταφορά και η απελευθέρωση βιολογικών ενεργών ουσιών σε σημεία όπου αυτές απαιτούνται έχει καταστεί δυνατή χάρη στα νέα υλικά τα οποία δημιουργούν οι χημικοί μηχανικοί. Με διάφορες τεχνικές είναι δυνατή η δημιουργία υλικών, τα οποία όχι μόνο αποικοδομούνται στον οργανισμό όταν έχουν επιτελέσει τον ρόλο τους (έτσι ώστε να αποφεύγονται οι φλεγμονές), αλλά η αποικοδόμησή τους είναι και ελεγχόμενη, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται ο κατάλληλος ρυθμός απελευθέρωσης των κυττάρων ή των μορίων που περιέχονται σε αυτά.

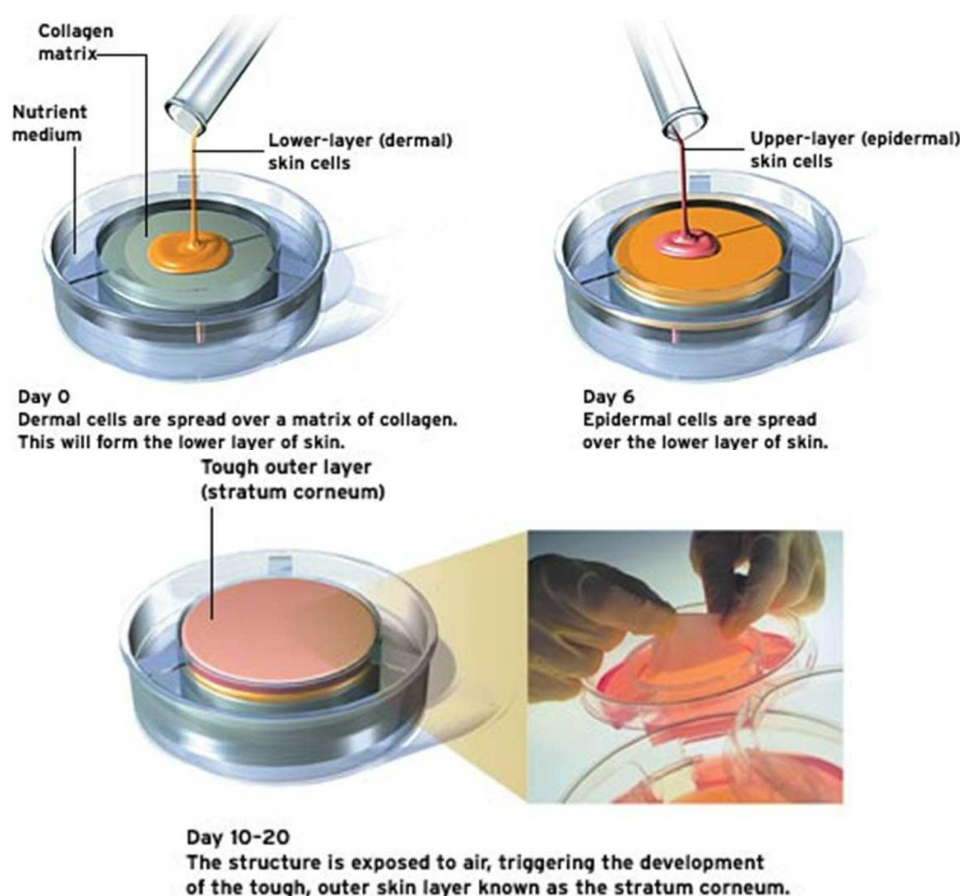
- **Δέρμα**

Η πρώτη μορφή δέρματος που χρησιμοποιήθηκε για την επιδιόρθωση καταστραμμένων ιστών δέρματος ήταν το δέρμα από πτωματικούς δότες οργάνων και ιστών. Τέτοιου είδους δέρμα ήταν ακριβό και λιγιστό, όχι πάντοτε καλής ποιότητας, ενώ συνήθως ο οργανισμός το απέρριπτε μέσα σε 20 ή λιγότερες μέρες. Μετά την ανακάλυψη του πρώτου τεχνητού δέρματος το 1969, η επιστήμη και τεχνολογία της επούλωσης των τραυμάτων και ελκών προχώρησε με πολύ γρήγορους ρυθμούς. Το αυξανόμενο ενδιαφέρον για την καλύτερη αντιμετώπιση των εκτεταμένων εγκαυμάτων και των χρόνιων ελκών, σε συνδυασμό με τις νέες εφαρμογές των βιο-υλικών και της μηχανικής ιστών, έδωσαν ώθηση για την ανάπτυξη μιας μεγάλης γκάμας νέων υλικών, όπως είναι τα υποκατάστατα δέρματος. Πρόκειται για μοσχεύματα ή δερματικά επίθεματα τα οποία μπορούν να έχουν βιολογική, συνθετική ή βιοσυνθετική προέλευση και προορίζονται για την προσωρινή ή μόνιμη κάλυψη των τραυματικών επιφανειών. Τα βλαστικά κύτταρα καλλιεργούνται σε τρισδιάστατα ικρίωματα (scaffolds), όπου προσκολλώνται και διαφοροποιούνται. Για τη λήψη των κερατινοκυττάρων χρησιμοποιείται υγιές δέρμα ολικού πάχους και διαστάσεων 2x5 cm, που αφαιρείται χειρουργικά από τον ίδιο τον ασθενή



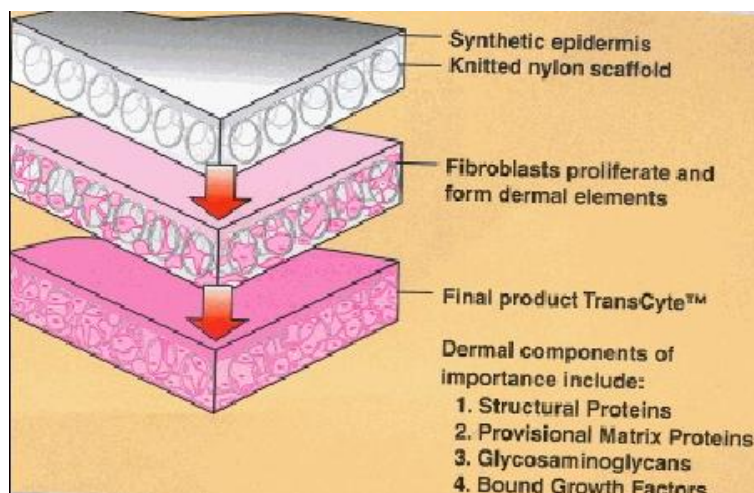
Εικόνα 2. 14: Συνθετικό δερματικό επίθεμα

Παράδειγμα αποτελεί η κατασκευή στρογγυλών τεμαχίων συνθετικού δέρματος, διαμέτρου 8 cm , της εταιρείας Apligraf σε τρυβλίο, με τη χρήση ικρίωματος από κολλαγόνα (αγελάδας), υγρές θρεπτικές ουσίες, που μιμούνται το φυσιολογικό περιβάλλον των κυττάρων και προωθούν την ανάπτυξη τους. Η πηγή των αρχικών κυττάρων είναι βρεφικό δέρμα που αποκόπτεται κατά την περιτομή και είναι διαθέσιμο σε μεγάλες ποσότητες καθώς εξαιτίας της μεγάλης δραστηριότητας των κυττάρων, ένα κομμάτι ιστού μεγέθους ενός γραμματοσήμου μπορεί να οδηγήσει σε συνθετικό δέρμα, που καλύπτει αρκετά γήπεδα ποδοσφαίρου. (D.L. Wise 2000)



Εικόνα 2. 15: Κατασκευή στρογγυλών τεμαχίων συνθετικού δέρματος, διαμέτρου 8 cm , της εταιρείας Apligraf σε τρυβλίο

Το Transcyte® είναι ένα από τα πιο πρόσφατα προϊόντα της μηχανικής ιστών. Δημιουργείται από μια συνθετική μεμβράνη επιδερμίδας, όπου είναι πλεγμένο ένα νάιλον ικρίωμα (πάνω). Σε αυτό είναι προσκολλημένοι ινοβλάστες, που πολλαπλασιάζονται και συνθέτουν τα συστατικά του εξωκυττάρου χώρου. Το τελικό προϊόν (κάτω), συμπεριλαμβάνει κολλαγόνο τύπου I, φμπρονεκτίνη, γλυκοζαμινογλυκάνες και αυξητικούς παράγοντες που παραμένουν βιοενεργά, ενώ οι ινοβλάστες καταστρέφονται από τη διαδικασία της κρυοσυντήρησης του επιθέματος στους -70°C. (Ε.Φραγκου 2009)



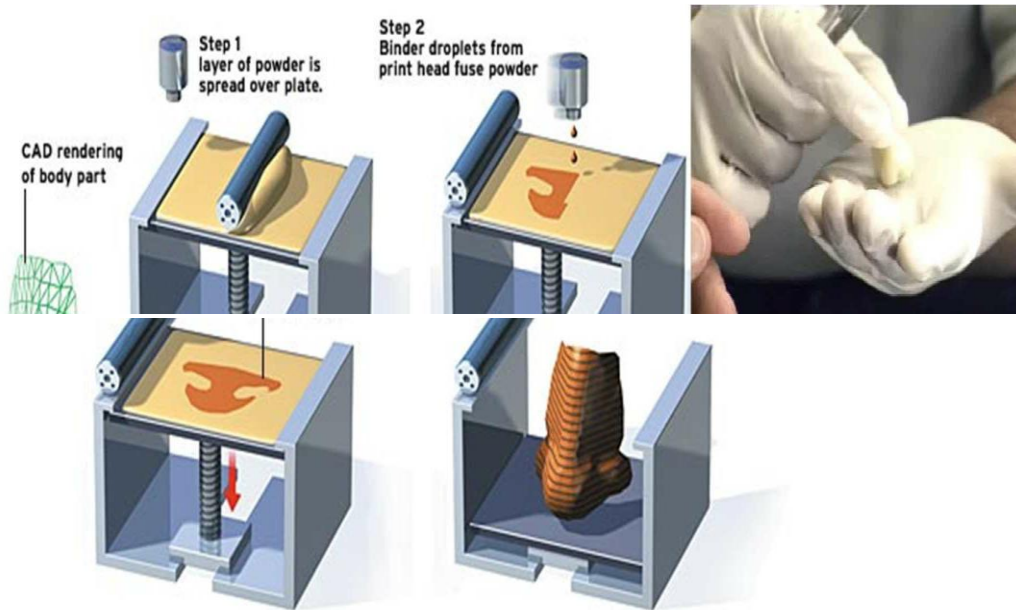
Εικόνα 2. 16: Υποκατάστατο δέρμα Transcyte (Ε.Φραγκου 2009)

- **Συνθετικά οστά**

Έχει ήδη πραγματοποιηθεί η κατασκευή συνθετικού χόνδρου για την επισκευή φθαρμένων ή καταστρεμμένων κλειδώσεων με απώτερο στόχο την κατασκευή οστών. Στα συνθετικά πολυμερή, που χρησιμοποιούνται για τα ικρίωματα αυτής της εφαρμογής περιλαμβάνονται το PLA και PLGA. Τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται κατά την ανάπτυξη του χόνδρου είναι χονδροκύτταρα, μεσεγχευματικά βλαστικά κύτταρα καθώς και εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, κύτταρα από λιπώδη ιστό, δερματικοί ινοβλάστες κ.α.)

Ο χόνδρος είναι στέρεος, αλλά παράλληλα και εύκαμπτος τύπος συνδετικού ιστού, ο οποίος παρέχει υποστήριξη των μαλακών μορίων και εξασφάλιση λείας επιφάνειας στις αρθρώσεις, διευκολύνοντας έτσι τις κινήσεις των οστών. Ο χόνδρος παρουσιάζει ανικανότητα αυτοϊασης, λόγω έλλειψης αγγείων και κυττάρων, αργής παραγωγής μεσοκυττάριας ουσίας κι αραιού και διαφοροποιημένου πληθυσμού κυττάρων.

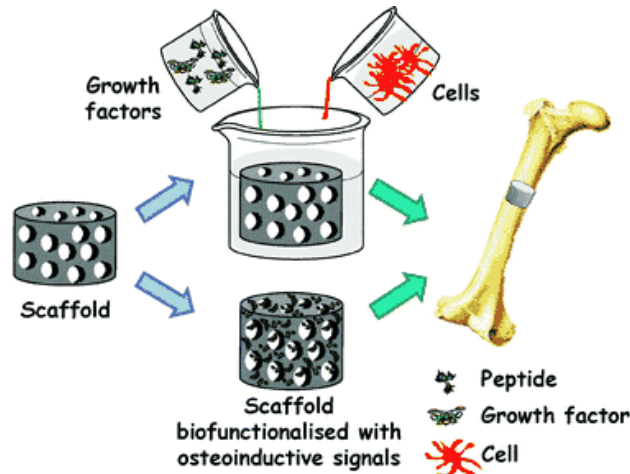
Στη συγκεκριμένη εφαρμογή, η δομή των ικριωμάτων έχει τη μορφή απλού επίπεδου φύλλου, του οποίου η τρισδιάστατη κατασκευή απαιτεί πολλά χημικά στοιχεία και πόρους με μεγάλη ακρίβεια για τον εκάστοτε ασθενή (Εικόνα 36). Οι αρχές προτυποποίησης είναι αυστηρές και παρομοιάζονται με έναν εκτυπωτή έγχυσης μελάνης (ink jet printer), που “τυπώνει” εικόνες σε “σελίδες” και “σελίδες” τη μια πάνω από την άλλη καταλήγοντας σε τρισδιάστατες κατασκευές όπου οι “σελίδες” είναι ειδική σκόνη και το “μελάνι” η συγκολλητική ουσία. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι η απουσία θερμότητας για την αποφυγή καταστροφής των βιολογικών υλικών. (W. Sun 2002)



Εικόνα 2. 17: Κατασκευή μύτης με τη μέθοδο CAD

Όσον αφορά στο σχήμα του ικρίωματος, αυτό θα πρέπει να ανταποκρίνεται στα ανατομικά δεδομένα του ασθενή, τα οποία λαμβάνονται από ακτινογραφία, μαγνητική ή αξονική τομογραφία και μετατρέπονται σε ψηφιακή μορφή, καθορίζοντας το τρισδιάστατο μοντέλο, που μοιράζεται σε επίπεδα, τα οποία μεταφράζονται σε εντολές προς τον εκτυπωτή. Ο εκτυπωτής έχει πολλές κεφαλές με διαφορετικά υλικά. Εναποθέτει ζωντανά κύτταρα και χημικές ουσίες όπως τους συντελεστές ανάπτυξης (growth factors). (W.M.Saltzman 2004)

Η οστεοσυνεργεία αποτελεί διαδικασία κατά την οποία, το μόσχευμα λειτουργεί ως σκελετός (ικρίωμα) που παρέχει το υπόστρωμα για ανάπτυξη του νέου ιστού που πρόκειται να σχηματιστεί. Ως πρώτη ύλη για την κατασκευή των ικριωμάτων χρησιμοποιούνται κολλαγόνα και βιοδιασπώμενοι πολυεστέρες. Η οστεοεπαγωγή είναι η αρχή βάσει της οποίας, με χρήση κάποιων βιολογικών μεσολαβητών ευνοούνται οι μηχανισμοί οστικής επούλωσης με ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες και την δημιουργία οστού ακόμα και σε περιοχές που δεν περιέχεται οστόν. Τα κύτταρα, που χρησιμοποιούνται στην ανάπτυξη οστών είναι κύτταρα του μυελού των οστών (οστεοπρογονικά κύτταρα και μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα), τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα και τέλος τα μυϊκά κύτταρα. (Ι.Δ.Βούρος 2008)

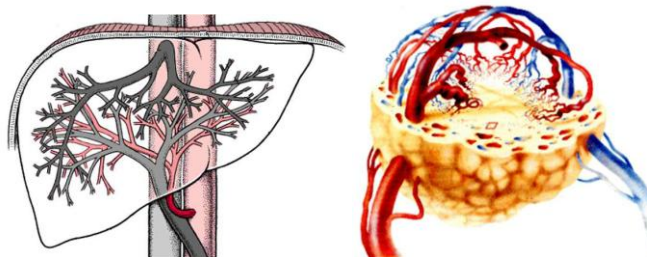


Εικόνα 2. 18: Ανάπλαση τμήματος οστού

Όλη αυτή η μελέτη πρόκειται να αξιοποιηθεί από τους ορθοπεδικούς οι οποίοι αντιμετωπίζουν καθημερινά τόσο κατάγματα οστών που συμβαίνουν σε ατυχήματα όσο και τραύματα οστών τα οποία είναι αποτέλεσμα ασθενειών όπως ο καρκίνος.

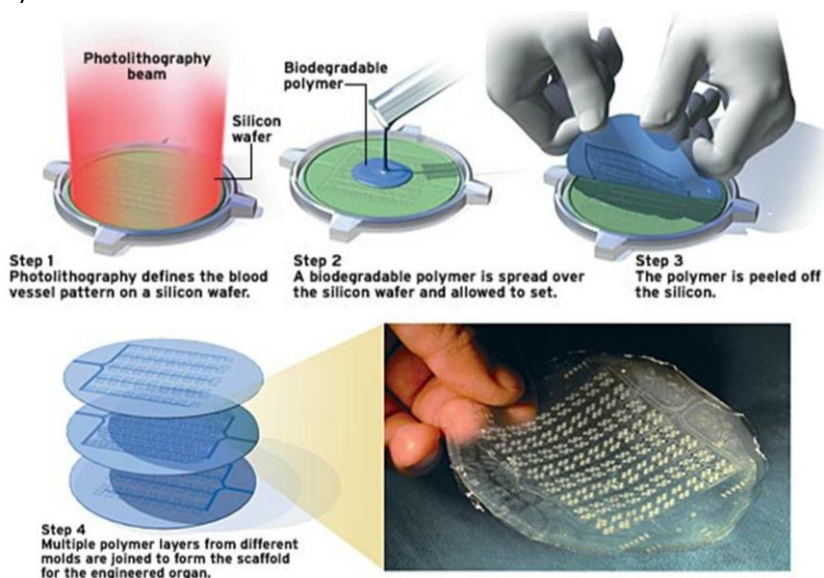
- **Συνθετικό συκώτι**

Η κατασκευή συνθετικού ήπατος είναι πιο πολύπλοκη διαδικασία. Σε αντίθεση με το συνθετικό δέρμα, που έχει απλή δομή και δε χρειάζεται το δικό του δίκτυο από αιμοφόρα αγγεία, τα υπόλοιπα όργανα, όπως το συκώτι, χρειάζονται το δικό τους δίκτυο αγγείων, ώστε η ροή του αίματος να έχει την κατάλληλη μορφή, ποσότητα και κατεύθυνση.



Εικόνα 2. 19: Δίκτυο αγγείων στο συκώτι, που αποδεικνύει την πολυπλοκότητα κατασκευής συνθετικού συκωτιού

Στη συγκεκριμένη εφαρμογή, τα ικρίωματα πρέπει να επιτρέπουν την ανάπτυξη των τριχοειδών αγγείων (διάμετρος 10 μm) του αγγειακού συστήματος. Για το λόγο αυτό ακολουθούνται μικρο-κατασκευαστικές διαδικασίες σε δομές διαστάσεων 1 μm (1 εκατομμυριοστό του μέτρου ή 0,000001 m). Το μοντέλο του δικτύου των αγγείων μοιράζεται σε πολλά επίπεδα και το όργανο, που θα κατασκευαστεί χωρίζεται σε χιλιάδες διαφορετικά στρώματα, (50-100 μm το καθένα). Με τη μέθοδο φωτολιθογραφίας χαράσσεται το μοτίβο κάθε στρώματος τριχοειδών αγγείων πάνω σε πλακίδιο πυριτίου (silicon wafer).



Εικόνα 2. 20: Η φωτολιθογραφία χαράσσει το μοτίβο κάθε στρώματος τριχοειδών αγγείων πάνω σε πλακίδιο σιλικόνης ώστε να αποτελέσει τη μήτρα του βιοαποικοδομήσιμου πολυμερούς του ικρίωματος

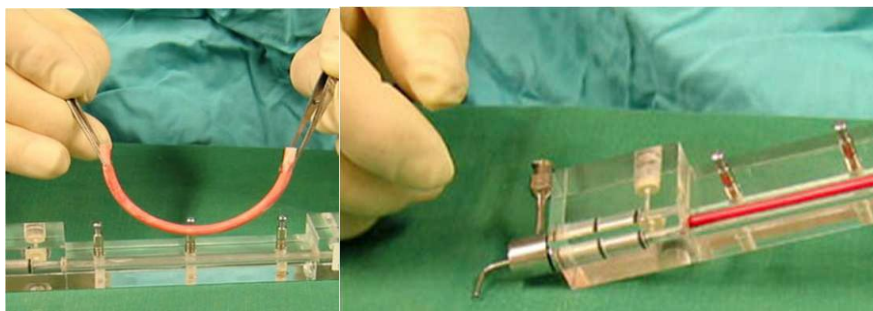
Τα κύτταρα, που χρησιμοποιούνται είναι είτε ηπατικά είτε ενδοθηλιακά από αιμοφόρα αγγεία και εισάγονται στο ικρίωμα μέσω του τριχοειδούς δικτύου. Το

βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές διαχέεται πάνω στο μοτίβο καθενός από τα στρώματα των τριχοειδών αγγείων του πλακιδίου σιλικόνης κι αφήνεται να πολυμεριστεί. Στη συνέχεια, αποκολλάται και τα πολυμερικά στρώματα, που προκύπτουν από τις εκάστοτε μήτρες ενώνονται για να σχηματίσουν το ικρίωμα του συνθετικού οργάνου.

- **Συνθετικά αγγεία**

Η εκρηκτική ανάπτυξη που παρουσίασε η αγγειοχειρουργική από τα μέσα του εικοστού αιώνα, συνδέεται άρρηκτα με την εξέλιξη και την ευρεία διαθεσιμότητα των αγγειακών μοσχευμάτων, που χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία για την αντικατάσταση ή την παράκαμψη των νοσούντων αρτηριακών τμημάτων. Τα συνθετικά μοσχεύματα χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα μέσης και μικρής διαμέτρου αρτηριών. Έχουν χαρακτηριστική οζώδη δομή, η οποία συναποτελείται από οζίδια και λεπτές ίνες. Το μήκος των ινών καθορίζει το μέγεθος των πόρων και τη στεγανότητα. (Δ.Ν. Μώρης 2010)

Στη συγκεκριμένη εφαρμογή, ο σωλήνας, που χρησιμοποιείται ως μήτρα για την κατασκευή των αγγείων, αποτελεί το βιοδιασπώμενο ικρίωμα. Στο εσωτερικό του τοποθετούνται κύτταρα ενδοθηλίου και στο εξωτερικό, κύτταρα λείου μυός. Για την εξασφάλιση παλμικής ροής χρησιμοποιείται μια μικρή αντλία, που βοηθά στην ενδυνάμωση και ανάπτυξη των κυττάρων.



Εικόνα 2. 21: Κατασκευή συνθετικών αγγείων

- **Νεφρά**

Τα βλαστικά νεφρικά κύτταρα τα οποία απομονώθηκαν μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα νεφρών, υπό κατάλληλες εργαστηριακές συνθήκες. Προς το παρόν γίνεται μελέτη των ιστολογικών και λειτουργικών χαρακτηριστικών αυτών των κυττάρων, καθώς και ο τρόπος με τον οποίο αυτά αντιδρούν σε διάφορους βιολογικούς παράγοντες.

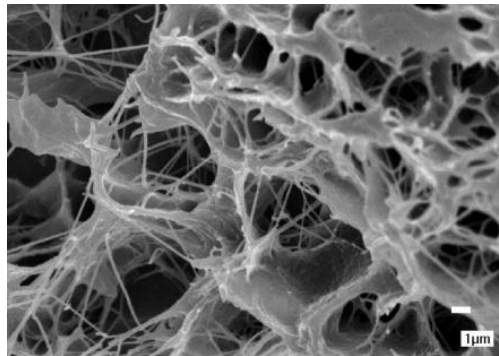
Απώτερος στόχος είναι να χρησιμοποιηθούν κάποτε αυτά τα κύτταρα για τη δημιουργία ολόκληρου νεφρού. Ωστόσο πρόκειται για ένα εγχείρημα του οποίου οι δυσκολίες είναι σήμερα αξεπέραστες, αφού πρόκειται για ένα όργανο το οποίο αποτελείται από πολλούς τύπους κυττάρων και του οποίου η τρισδιάστατη δομή είναι περίπλοκη. Και φυσικά επειδή, δεν έχουν ακόμη λυθεί τα προβλήματα επαγγείωσης των οργάνων. Είναι λοιπόν γίνεται μια άλλη χρήση των κυττάρων που απομονώθηκαν σε μηχανές αμοκάθαρσης ασθενών έτσι ώστε αυτή να γίνεται αποτελεσματικότερη.

- **Καρδιά- Επαγγειωμένο μυοκάρδιο**

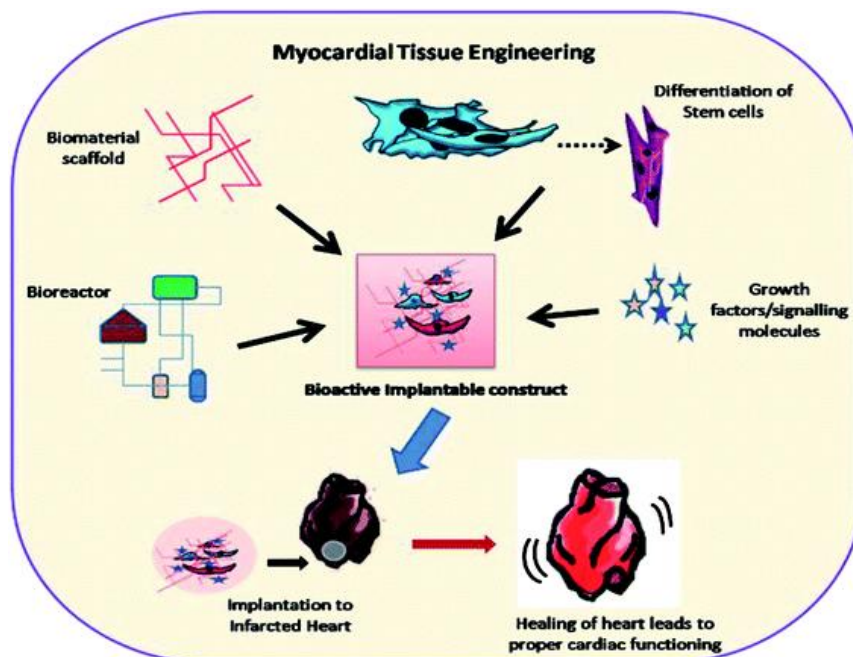
Η καρδιά είναι ιδιαίτερα πολύπλοκο καθώς και ζωτικό όργανο για τη ζωή ενός οργανισμού. Πρόκληση αποτελεί για τους ερευνητές, η δημιουργία μιας βιονικής καρδιάς, η οποία ενέχει έναν τεράστιο βαθμό δυσκολίας. Πρώτα απ' όλα προϋποθέτει την ανάπτυξη

ενός ιστού σε τρεις διαστάσεις. Βασικό πρόβλημα της δημιουργίας ιστών σε τρεις διαστάσεις είναι η έλλειψη συνοχής των κυττάρων. Επίσης, προϋποθέτει την ύπαρξη αγγείων τα οποία την αιματώνουν, αλλά και τη δυνατότητα να πάλλεται, καθώς μια καρδιά που δεν πάλλεται δεν είναι λειτουργική.

Για να προσεγγίσουν οι επιστήμονες τα χαρακτηριστικά του μυοκαρδίου, χρησιμοποίησαν καρδιομυοκύτταρα νεογέννητων πειραματόζωων (ποντικών, χοίρων). Τα καρδιομυοκύτταρα τοποθετήθηκαν πάνω σε κλινικά εγκεκριμένο κολλαγόνο, το οποίο έχει εγκριθεί για χρήση σε ανθρώπους. Ο πολλαπλασιασμός των νεαρών καρδιομυοκυττάρων πάνω στο κολλαγόνο οδήγησε στη δημιουργία τρισδιάστατου ιστού, του οποίου τα κύτταρα συντονίστηκαν και άρχισαν να πάλλονται όπως οφείλουν να πάλλονται τα καρδιακά κύτταρα. Ειδικότερα, τα κύτταρα δημιούργησαν συνδέσεις μεταξύ τους, πράγμα απαραίτητο για τον συντονισμό τους, αλλά παρουσίαζαν και τις τυπικές για τα καρδιομυοκύτταρα πρωτεΐνες, όπως, για παράδειγμα, η τροπονίνη. Η ελασικότητά τους ήταν η αναμενόμενη για κύτταρα καρδιακού ιστού, ενώ όταν τους χορηγήθηκε αδρεναλίνη ο παλμός τους εντάθηκε. Στόχος είναι η προσέγγιση των ιστολογικών, βιοχημικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών του ιστού με τα αντίστοιχα του λειτουργικού μυοκαρδίου.

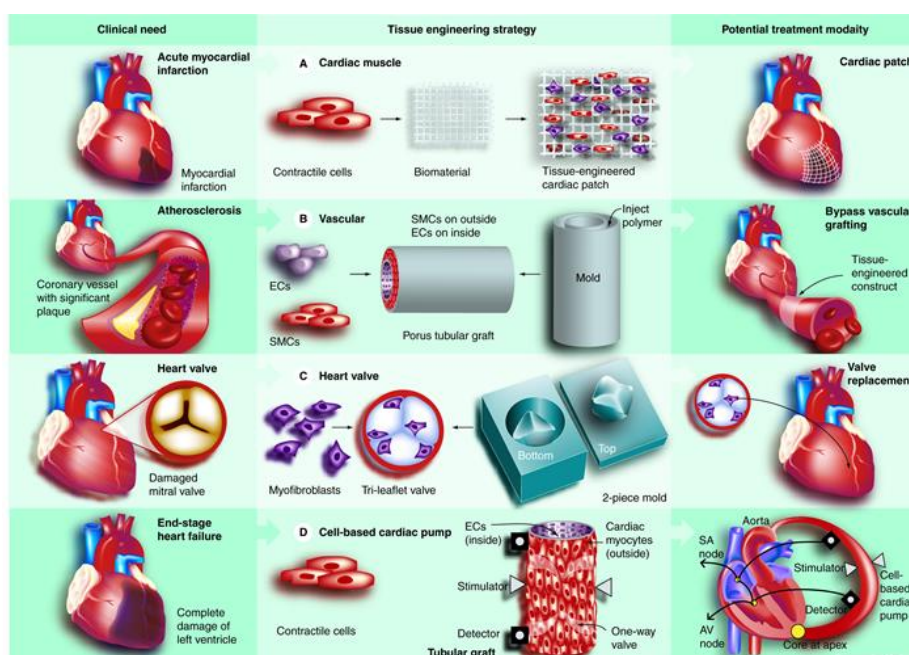


Εικόνα 2. 22: Ικρίωμα κολλαγόνου



Εικόνα 2. 23: Μηχανική ιστών μυοκαρδίου

Το μυοκάρδιο, το οποίο πάλλεται με τον χαρακτηριστικό τρόπο που οφείλει να πάλλεται ο καρδιακός ιστός, δημιουργείται με την ανάπτυξη των καρδιακών κυττάρων πάνω σε δεδομένο υπόστρωμα. Όσο για τη δημιουργία αγγείων, αυτή επιτυγχάνεται με τη βοήθεια εντέρων. Το έντερο χρησιμοποιείται σαν το καλούπι για τον σχηματισμό των αγγείων αφού προηγηθεί η απογύμνωσή του από τα κύτταρα τα οποία το επιστρώνουν. Ο ιστός που απομένει αποτελεί το σωληνοειδές καλούπι όπου αναπτύσσονται κύτταρα τα οποία εμφανίζουν όλα τα χαρακτηριστικά των κυττάρων που επιστρώνουν τα αγγεία. Η δημιουργία τεχνητής καρδιάς αποτελεί στόχο πολλών εργαστηρίων, τα οποία μάλιστα συνεργάζονται δεδομένου ότι η δυσκολία του εγχειρήματος είναι τεράστια. Ρεαλιστικότερος στόχος των ερευνητών είναι η δημιουργία τμημάτων καρδιακού μυός τα οποία θα μεταμοσχεύονται στην καρδιά που έχει τραυματιστεί μετά από ένα έμφραγμα.



Εικόνα 2. 24: Τρόποι κατασκευής των επιμέρους τμημάτων της καρδιάς

Οι ερευνητές δεν εξετάζουν μόνο πώς να ενσωματώσουν πηγές φυσικών κυττάρων και συνθετικά πολυμερή, αλλά επίσης, προσπαθούν να εξαλείψουν εντελώς το φυσικό παράγοντα. Έχει γίνει μελέτη ορισμένων πολυμερών αλλά με περιορισμένη επιτυχία. Οι πολύ (α-υδροξυ οξύ) αλειφατικοί πολυεστέρες έχουν χρησιμοποιηθεί για χρόνια με ευρεία χρήση και η χρήση τους έχει επεκταθεί στη μηχανική του μυοκαρδίου. Το πολυγαλακτικό (PLA) και τα πολυγλυκολικά-οξέα (POA) είναι τα βασικά συστατικά που περιλαμβάνουν τα αποικοδομήσιμα ράμματα και όταν χρησιμοποιούνται ως αντικατάσταση του μυοκαρδιακού ιστού έχουν μερικά πλεονεκτήματα. Ο ρυθμός αποικοδόμησής των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών μπορεί να προκαθορίζεται με την κατάλληλη τροποποίηση τους, έτσι ώστε να δημιουργεί μια ποικιλία σχημάτων και η μηχανική του εμφυτεύματος μπορεί να κατευθύνεται πιο αποτελεσματικά.

Δυστυχώς, όταν τα πολυμερικά οξέα αποδομούνται, η οξύτητα στο περιβάλλον των ιστών αυξάνεται, καθιστώντας τους πιο επιρρεπείς σε φλεγμονή. Η αποδόμηση οδηγεί επίσης σε σημαντική απώλεια της μηχανικής αντοχής που θα μπορούσε να απαιτείται ακόμη. Σημαντικότερα, τα πολυμερικά οξέα δε δύνανται να μιμηθούν σε ελαστικότητα και συστατικότητα τον φυσικό ιστό του μυοκαρδίου, κάτι, που είναι απαραίτητο για την

αντικατάσταση του ιστού του μυοκαρδίου . Αυτός είναι ο λόγος που αναζητούνται συνεχώς νέα συνθετικά πολυμερή που να ανταποκρίνονται σε ελαστικότητα με καλή προσκόλληση κυττάρων και χωρίς να προκαλείται φλεγμονή στους ιστούς, παράγοντες που είναι αναγκαίοι για τη μηχανική των ιστών.

- **Αισθητικές επεμβάσεις**

Η μηχανική των ιστών βρίσκει εφαρμογή σε πολλές αισθητικές επεμβάσεις αποκατάστασης, οι οποίες λαμβάνουν χώρα σε περιπτώσεις τραυματισμών ή ατυχημάτων. Μεταξύ των υλικών που χρησιμοποιούνται σήμερα ως εμφυτεύματα στην αισθητική χειρουργική για τη διόρθωση των ατελειών του δέρματος είναι και το πολυγαλακτικό οξύ (PLA). Το πολυγαλακτικό οξύ ωθεί τα κύτταρα να παράγουν το δικό τους κολλαγόνο. Χρησιμοποιείται για τη διόρθωση ρυτίδων και του σχήματος του προσώπου. Η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί στο γεγονός ότι η ποσότητα κολλαγόνου που θα παραχθεί είναι ελεγχόμενη.

Επιπλέον, ο τομέας της μηχανικής των ιστών βασισμένη σε ηλεκτρονικό υπολογιστή δίνει τη δυνατότητα κατασκευής τμημάτων του ανθρώπινου οργανισμού με στόχο τις αισθητικές επεμβάσεις. Στις ακόλουθες εικόνες απεικονίζεται σχηματικά η διαδικασία αποκατάστασης γεννητικού προβλήματος ανάπτυξης του αυτιού (microtia) μέσω της επιστήμης της Μηχανικής των Ιστών.



Εικόνα 2. 25: Εφαρμογές Μηχανικής Ιστών σε περιπτώσεις αισθητικών επεμβάσεων

Όπως σε όλες τις περιπτώσεις εφαρμογών της Μηχανικής των Ιστών, έτσι και σε αισθητικές επεμβάσεις, το αποτέλεσμα δεν αφορά σε πλήρη ανακατασκευή των ιστών. Παρ' όλα αυτά η επιστήμη της μηχανικής των ιστών στον αισθητικό τομέα έχει συμβάλει δραστικά σε περιπτώσεις όπου παλιότερα ίσως να μην υπήρχε καμία ελπίδα.

- **Επανορθωτική ουρολογία και ανδρολογία**

Ικρίωματα κατασκευασμένα από υποβλεννογόνιο ιστό λεπτού εντέρου χοίρου (Small Intestinal Submucosa – SIS) έχουν μελετηθεί σε προκλινικές και κλινικές μελέτες. Αποτελεί το μοναδικό βιοϋλικό που κυκλοφορεί στο εμπόριο. Τα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία είναι αντικρουόμενα τόσο σε προκλινικές όσο και σε κλινικές μελέτες. Στις μελέτες όπου SIS χρησιμοποιήθηκε ως σωληνοειδές μόσχευμα δεν αναφέρθηκε επιτυχία της μεθόδου εξαιτίας της δημιουργίας στενωμάτων, συριγγίων και της συρρίκνωσης των ικρίωμάτων (St. Nillesen 2007). Τα βιοϋλικά που μελετήθηκαν διακρίνονται σε δύο κατηγορίες αναλόγως του υλικού κατασκευής τους, στα συνθετικά και στα φυσικά. Τα

συνθετικά εμφανίζουν τα πλεονεκτήματα της δυνατότητας μαζικής παραγωγής και του πλήρους ελέγχου των ιδιοτήτων τους.

Σε εφαρμογές του ουροποιητικού και ειδικότερα της ουρήθρας έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως ικρίωματα κατασκευασμένα από πολυγαλακτικό-γλυκολικό οξύ (PLGA), πολυ-L-γαλακτικό οξύ (PLLA) και πολυγλυκολικό οξύ (PGA). Για την κατασκευή φυσικών βιοϋλικών έχουν απομονωθεί με διάφορες τεχνικές κολλαγόνο, ελαστίνη, ινώδες και υαλουρονικό οξύ.

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs), και ειδικότερα αυτά που προέρχονται από το λιπώδη ιστό (ADSC), είναι ένας πολλά υποσχόμενος τύπος κυττάρων, για κλινικές εφαρμογές, λόγω της ευκολίας απομόνωσής τους από μια άφθονη πηγή ιστού στον οργανισμό. Με τη βοήθεια βιοσυνθετικών υλικών που αποτελούν το ικρίωμα, και αυξητικών παραγόντων, αποτελούν ως στρωματικά κύτταρα, το ιδανικό υπόστρωμα για ανάπτυξη, είτε των παρακείμενων κυττάρων του ιστού "στόχου", (αυτόλογων κυττάρων), είτε επιθηλιακών κυττάρων παραπλήσιων ιδιοτήτων, με τα οποία έχουμε εμπλουτίσει το ικρίωμα (scaffold).

Ειδικότερα στην ουρολογία και ανδρολογία, η χρήση των εμπλουτισμένων με ADSC (μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα από λιπώδη ιστό), κυττάρων δοκιμάζεται στην νόσο Peyronie, στα στενώματα ουρήθρας, στις ταινίες ακράτειας ούρων, και στην αυξητική φαλλοπλαστική (J.E. Nuininga 2003). Συγκεκριμένα, για τη νόσο Peyronie δοκιμάζονται επίπεδα ικρίωματα με στρωματικά κύτταρα ADSC, με ή χωρίς εμπλουτισμό με κύτταρα της περιτονίας των σπληνικών σωμάτων, και με πολύ καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τη χρήση των μέχρι τώρα χρησιμοποιούμενων αλλογενών μοσχευμάτων, όπως το βόειο περικάρδιο, ουρητήρας χοίρου κ.λ.π. Επίσης, για την αποκατάσταση στενωμάτων και ελλειμμάτων ουρήθρας δοκιμάζονται επίπεδα ή σωληνοποιημένα ικρίωματα, με υπόστρωμα ADSC, με ή χωρίς εμπλουτισμό με επιθηλιακά κύτταρα από κυστικό βλεννογόνο, ουρήθρα, ή βλεννογόνο στόματος. (A. Daher 2003)

Την πλέον δοκιμασμένη χρήση των ικριωμάτων (scaffolds), στην ανδρολογία (πάνω από 5ετία), αποτελεί η αυξητική φαλλοπλαστική με τη μέθοδο "Sava Peronic", στην οποία χρησιμοποιούνται κυλινδρικά ικρίωματα με υπόστρωμα ADSC κυττάρων ή εναλλακτικά πλασματοκυττάρων, εμπλουτισμένων με αυξητικούς παράγοντες, με ή χωρίς καλλιέργεια κυττάρων από το δαρτό χιτώνα του πέους του ίδιου ασθενούς. Τα ικρίωματα τοποθετούνται κάτω από το δέρμα του πέους αυξάνοντας τη διάμετρό του.

Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα

Η αλματώδης ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας και της μηχανικής ιστών σκοπεύει στην αποκατάσταση παθήσεων που παλαιότερα ταλαιπωρούσαν επί χρόνια τους ασθενείς και τους υπέβαλλαν σε πολλαπλές επεμβάσεις. Στόχος είναι η επίλυση του ολοένα και αυξανόμενου προβλήματος της έλλειψης οργάνων για μεταμόσχευση. Στην κατεύθυνση των βιονικών οργάνων αναμένονται περαιτέρω έρευνες για την εύρεση του καταλληλότερου ικριώματος.

Επίσης, ο συνδυασμός κατάλληλων ουσιών για την επίτευξη μεγαλύτερης βιοσυμβατότητας κι απορροφησιμότητας των ικριωμάτων καθώς και η χρήση σύνθετων υλικών θα οδηγήσουν σε βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες κατά την κατασκευή των ικριωμάτων. Παράλληλα, προτείνεται η προσπάθεια εγκλεισμού κατάλληλου αυξητικού παράγοντα στη μάζα του ικριώματος για συντομότερο πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Βιβλιογραφία

- A. Boccaccin, V. Maquet. «Bioresorbable and bioactive polymer/Bioglass composites with tailored pore structure for tissue engineering applications.» *Composites science and technology Vol.63*, 2003: 2417-2429.
- A. Daher, De Boer Wi, A. El-Marjou, T. Van de Kwast, C. Abbou, J.P. Thiery. «Epidermal growth factor receptor regulates normal urothelial regeneration.» *Laboratory Investigation Vol.9*, 2003: 1333-1341.
- A. Karchin, F. Simonovsky, B. Ratner. «Melt electrospinning of biodegradable polyurethane scaffolds.» *Acta Biomaterialia Vol. 7*, 2008: 3277-3284.
- A. Koski, K. Yim, S. Schivkumar. «Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning.» *Materials Letters Vol. 58*, 2004: 493-497.
- A. Stamboulis, L. Hench, A. Boccaccini. «Mechanical properties of biodegradable polymer sutures coated with bioactive glass.» *Material Science Vol.13*, 2002: 843-848.
- A.G. Mikos, A.J. Thorsen, L.A. Czerwonka. «Preparation and characterization of poly(L-lactic acid) foams.» *Polymer 35*, 1994: 1068-1077.
- A.H. Yusop, A.A. Bakir, N.A. Shaharom, M.R.A. Kadir, H. Hermawan. «Porous Biodegradable Metals for Hard Tissue Scaffolds: A Review.» *International Journal of Biomaterials Vol.2012*, 2012: 1-10.
- A.L. Yarin, S. Koombhonges, D.H. Reneker. «Bending instability in electrospinning of nanofibers.» *Journal of Applied Physics Vol.87*, 2001: 3018-3026.
- A.O. Abdelaal, M.S. Darwish. «Fabrication of Tissue Engineering Scaffolds using Rapid Prototyping Techniques.» *World Academy of Science, Engineering and Technology Vol. 59*, 2011: 577-585.
- B. Chen, Y. Wang, H. Mi, P. Yu, T. Kuang. «Effect of Poly(ethylene glycol) on the Properties and Foaming Behaviour of Macroporous Poly(lactic acid)/Sodium Chloride Scaffold.» *Journal of Applied Polymer Science Vol.131*, 2014: 1-10.
- B. Subia, J. Kundu, S.C. Kundu. *Biomaterial scaffold fabrication techniques for potential tissue engineering applications, Chapter 7*. Daniel Eberli, 2010.
- C. Cunha, S. Panseri, S. Antonini. «Emerging nanotechnology approaches in tissue engineering for peripheral nerve regeneration.» *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine Vol.7*, 2011: 50-59.
- C.R. Kothapalli, M.T.Shaw, M. Wei. «Biodegradable HA-PLA 3-D porous scaffolds: Effect of nano-sized filler content on scaffold properties.» *Acta Biomaterialia Vol.1*, 2005: 653-662.

- C.S. Ki, D.H. Baek, K.D. Gang. «Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution.» *Polymer Vol. 46*, 2005: 5094-5102.
- C.X.F. Lam, X.M. Mo, S.H. Teoh, D.W. Hutmacger. «Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer.» *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications Vol.20*, 2002: 49-56.
- D.L. Wise, D.J. Trantolo, K. Lewandrowski, J.D. Gresser, M.V. Cattaneo, M.J. Yaszemski. *Biomaterials Engineering and Devices: Human Applications: Volume 1: Fundamentals and Vascular and Carrier Applications*. Human Press, 2000.
- D.W.Hutmacher. «Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage.» *Biomaterials Vol.21*, 2000: 25-29.
- F.G.O'Brien. «Biomaterials and scaffolds for tissue engineering.» *Materials Today Vol.14*, 2011: 88-95.
- G. Ozkoc, S. Kemalglu, M. Quaedflieg. «Production of Poly(lactic acid)/Organoclay Nanocomposite Scaffolds by Microcompounding and Polymer/Particle Leaching.» *Polymer Composites Vol.31 Issue 4*, 2010: 674-683.
- G. Xiasong, F. Ding, Y. Yang, J. Liu. «Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration.» *Progress in Neurobiology Vol.93*, 2011: 204-230.
- H. Mi, X. Jing, L. Turng. «Fabrication of porous synthetic polymer scaffolds for tissue engineering.» *Journal of Cellular Plastics Vol.51*, 2014: 165-196.
- H. Parala, H. Winkler, M. Kolbe, A. Wohlfart, R.A. Fischer, R. Schmechel. *Advanced Materials Vol.12, Issue 14*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2000.
- H.Kawahara. «Bioceramics for hard tissue replacement.» *Clinical Materials Vol.2*, 1987: 181-206.
- H.W.T.Mathew. *Polymers for tissue engineering scaffolds - Polymeric Biomaterials, 2nd ed.* New York-Basel: Marcel Dekker Inc, 2002.
- J. Doshi, D.H. Reneker. «Electrospinning process and applications of electrospun fibers.» *Journal of Electrostatics Vol.35*, 1995: 151-160.
- J. Zhang, H.M. Yin, B.S. Hsiao, G.J. Zhong, Z.M. Li. «Biodegradable poly(lactic acid)/hydroxyl apatite 3D porous scaffolds using high-pressure molding and salt leaching.» *Journal of Material of Science Vol.130*, 2013: 1648-1658.
- J.E. Nuininga, H. Van Moerkerk, A. Hanssen, C.A. Hulsbergen, J. Oosterwijk-Wakka, E. Oosterwijk. «Rabbit uretha replacement with a defined biomatrix or small intestinal submucosa.» *European Urology Vol.44*, 2003: 266-271.
- J.M. Karp, P.D. Dalton, M.S. Shoichet. «Scaffolds for tissue engineering.» *MRS Bulletin Vol.28*, 2003: 301-306.

- J.P. Vacanti, R. Langer. «Tissue engineering the design fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation.» *Molecular Medicine Vol.354*, 1999: 32-34.
- J.S. Temenos, A.G. Mikos. «Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering.» *Biomaterials Vol.21, Issue 23*, 2000: 2405-2412.
- L. Almany, D. Seliktar. «Biosynthetic hydrogel scaffolds made from fibrinogen and polyethylene glycol for 3D cell structures.» *Biomaterials Vol.29*, 2008: 4650-4657.
- L. Wannatong, A. Sirivat, P. Supaphol. «Effects of solvents on electrospun polymeric fibers: preliminary study of polystyrene.» *Polymer International Vol.53*, 2004: 1851-1859.
- M. Demir, I. Yilgor, E. Yilgor. «Electrospinning of polyurethane fibers.» *Polymer Vol.42*, 2002: 3303-3309.
- M.T. Freyman, V.I. Yannas, L.J. Gibson. «Cellular materials as porous scaffolds for tissue engineering.» *Progress of Material Science Vol.46*, 2001: 273-282.
- M.W. Kessler, D.A. Grande. «Tissue engineering and cartilage.» *Organogenesis Vol.4*, 2008: 28-32.
- N. Barroca, A.L. Daniel-daSilva, P.M. Vilarinho, M.H.V. Fernandes. «Tailoring the morphology of high molecular weight PLLA scaffolds through bioglass addition.» *Acta Biomaterialia Vol.6*, 2010: 3611-3620.
- N. Robin, Ru Zang, K.K.Yang, N. Liu, Shang-Tian Yang. «Three-dimensional fibrous scaffolds with micro structures and nanotextures for tissue engineering.» *RSC Advances Vol.2*, 2012: 10110-10124.
- Naznin Sultana, Min Wang. «PHBV/PLLA-based composite scaffolds fabricated using an emulsion freezing/freeze-drying technique for bone tissue engineering: surface modification and in vitro biological evaluation.» *Biofabrication Vol.4*, 2012.
- P.Ma. «Scaffolds for tissue fabrication.» *Materials Today Vol.7*, 2004: 30-40.
- P.X. Ma, J.W. Choi. «Biodegradable Polymer Scaffolds with Well-Defined Interconnected Spherical Pore Network.» *Tissue Engineering Vol.7*, 2001: 23-39.
- Plasteco Corporation. 2015. http://plastecocorp.com/en/product/foam1_1.html.
- Q. Cai, J. Yang, J. Bei, S. Wang. «A novel porous cells scaffold made of polylactide-dextran blend by combining phase-separation and particle leaching techniques.» *Biomaterials Vol.22*, 2002: 4483-4492.
- R. Huang, X. Zhu, T. Zhao, A. Wan. «Preparation of tissue engineering porous scaffold with poly(lactic acid) and polyethylene glycol solution blend by solvent-casting/particulate-leaching.» *Material Research Express Vol.1*, 2014.

- R. Langer, J.P. Vacanti. «The meaning of the term biomechanics.» *Journal of Biomechanics* Vol.7, 1974: 189-190.
- R.C. Thomson, M.J. Yaszemski, J.M. Powers, and A.G. Mikos. «Fabrication of biodegradable polymer scaffolds to engineer trabecular bone.» *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, Vol. 7, 1995: 23.
- R.Sravanthi. «Preparation and characterization of poly(ϵ -caprolactone) PCL scaffolds for tissue engineering applications.» Department of Biotechnology and Medical Engineering National Institute of Technology Rourkela, 2009.
- S.L. Ishaug, G.M. Crane, M.J. Miller, A.W. Yasko, M.J. Yaszemski, and A.G. Mikos. «Bone formation by three-dimensional stromal osteoblast culture in biodegradable polymer scaffolds.» *Journal of Biomedical Materials* Vol.36, 1998: 17.
- Sang Yong. «A novel technique for scaffold fabrication: SLUP (salt leaching using powder). Current Applied Physics.» *Current Applied Techniques* Vol.14, 2013: 371-377.
- St. Nillesen, Pj. Geutejes, R. Wismans, J. Schalkwijk, W.F. Daamen, T.H. Van Kuppervel. «Increased angiogenesis and blood vessel maturation in acellular collagen herapin scaffolds containing both FGF2 and VEGF.» *Biomaterials* Vol.28, 2007: 1123-1131.
- T. Dvir, B.P.Timko, D.S.Kohane, R.Langer. «Nanotechnological strategies for engineering complex tissues.» *National Nanotechnology* Vol.6, 2011: 13-22.
- T. Lu, Y. Li, T. Chen. «Techniques for fabrication and construction of three dimensional scaffolds for tissue engineering.» *International Journal of Nanomedicine* Vol.8, 2013: 337-350.
- V. Guarino, L. Ambrosio. «Temperature driven processing techniques for manufacturing fully interconnected porous scaffolds in bone tissue engineering.» *Engineering in Medicine* Vol. 224, 2009: 1389-1399.
- V. Tchemtchoua, G. Atanasova, A. Aqil. «Development of a chitosan nanofibrillar scaffold for skin repair and regeneration.» *Biomacromolecules* Vol.12, 2011: 3193-3204.
- W. Sun, P. Lal. «Recent development on computer aided tissue engineering- a review.» *Computer Methods and Programs in Biomedicine* Vol.67, 2002: 85-103.
- W.D. Hutamcher, M. Sittinger, V.M. Risbud. «Scaffold-based tissue engineering rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems.» *Trends in Biology* Vol.22, 2004: 354-362.
- W.M.Saltzman. *Tissue Engineering Principles for the Design of Replacement Organs and Tissues*. Oxford University Press, 2004.
- X. Liu, P.X. M. «Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering.» *Annals of Biomedical Engineering* Vol.32, 2004: 477-486.

- X. Zhong, F. Dehqhani. «Fabrication of biomimetic poly(propylene carbonate) scaffolds by using carbon dioxide as a solvent, monomer and foaming agent.» *Green Chemistry Issue 9*, 2012: 2523-2533.
- Δ.Ν. Μώρης, Φ.Κ. Σιγάλα, Ι.Π. Μπράμης. «Τα μοσχεύματα στην Αγγειοχειρουργική Σύγχρονα δεδομένα και προοπτικές.» *Ελληνική Αγγειοχειρουργική, Τεύχος 19*, 2010: 31-37.
- Ε.Φραγκου. «Υποκατάστατα Δέρματος .» *Ελληνική Δερματοχειρουργική, Τόμος 6, Τεύχος 1*, 2009: 32-51.
- Ι.Δ.Βούρος. «Η εφαρμογή οστικών μοσχευμάτων και αφοριστικών μεμβρών για αύξηση της ελλειμματικής φατνιακής ακρολοφίας.» *Περιοδοντολογικά ανάλεκτα, Τόμος 19*, 2008: 31-54.
- N. Barroca, A.L. Daniel-da-Silva, P.M. Vilarinho, M.H.V. Fernandes. «Tailoring the morphology of high molecular weight PLLA scaffolds through bioglass addition.» *Acta Biomaterialia Vol.6*, 2010: 3611-3620.

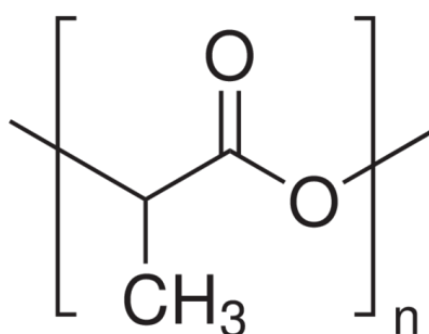
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

3.1 Πρώτες ύλες

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ικριωμάτων δύο είδη πολυγαλακτικού οξέους, το PLLA Resomer L210 και το PLLA_PG, καθώς και η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG).

3.1.1 PLLA Resomer L210

Πρόκειται για ένα ημικρυσταλλικό πολυ(L-γαλακτικό οξύ) με ιδιαίτερη καθαρότητα καθώς ενδείκνυται για χρήσεις ιατρικών εφαρμογών από την εταιρεία Boehringer Ingelheim (Germany).



Εικόνα 3. 1: PLLA-πολυ(L-γαλακτικό οξύ)

Πίνακας 3. 1: Φυσικές ιδιότητες πολυ(L-γαλακτικό οξέος) Resomer L210 (Ch. Schugens 1996)

Πολυμερές	PLA Resomer L210
Φύση	ημικρυσταλλικό PLLA
M_n	130000
M_w	380000
Θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης T_g (°C)	65 °C
Θερμοκρασία τήξης T_m (°C)	171 °C
Μορφή	στερεό

3.1.2 PLLA_PG

Πρόκειται για ένα ημικρυσταλλικό πολυ(L-γαλακτικό οξύ) από την εταιρεία Nature Works LLC (USA). Ο τύπος του είναι INGEO 4043D, χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή διαξονικού προσανατολισμένου φιλμ, γι' αυτό και θα αναφέρεται στη εργασία ως PLLA_PG (packaging grade). Για το PLLA_PG συνίσταται περιεκτικότητα υγρασίας χαμηλότερη από 0.025% για την αποφυγή της υποβάθμισης του ιξώδους. Σύμφωνα με τα δεδομένα που παρέχει η εταιρεία για τα χαρακτηριστικά του υλικού, προτείνεται ξήρανση στους 80 °C για 4h. (Nature_Works_LLC 2015)

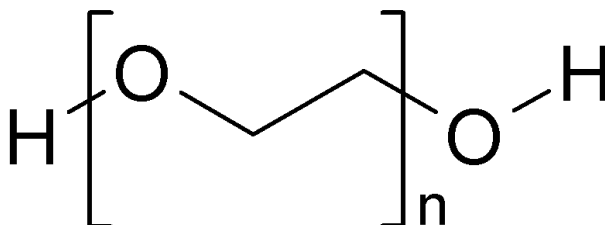
Πίνακας 3. 2: Φυσικές ιδιότητες πολυ(L-γαλακτικό οξέος) PLLA_PG (Nature_Works_LLC 2015)

Πολυμερές	PLA_PG
Φύση	ημικρυσταλλικό PLLA
Σχετικό ιξώδες*	4.0
Θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης T_g (°C)	55-60 °C
Θερμοκρασία τήξης T_m (°C)	145-160 °C
Μορφή	στερεό

* 210°C/2.16kg, 1.0 g/dL σε χλωροφόρμιο στους 30°C

3.2.3 PEG

Η πολυαιθυλενογλυκόλη ανήκει στην κατηγορία των πολυμερών αιθέρων και είναι λευκή, στερεή ουσία υπό μορφή νιφάδων και λεπτόκοκκης σκόνης αντίστοιχα. Η πολυαιθυλενογλυκόλη (polyethylene glycol, PEG) που χρησιμοποιήθηκε είναι της εταιρείας Merck (Germany) με μοριακό βάρος $M_w=3.000$ g/mol. Οι πολυαιθυλενογλυκόλες αποτελούν υδρόφιλα γραμμικά πολυμερή με γενικό χημικό τύπο $H-(OCH_2CH_2)_n-OH$ και μοριακό τύπο που φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 3. 2: Μοριακός τύπος αιθυλενογλυκόλης (PEG)

Πίνακας 3. 3: Φυσικές ιδιότητες πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG)

Μοριακός τύπος	$H-(OCH_2CH_2)_n-OH$
Μοριακό βάρος	3.000 g/mol
Διαλυτότητα	550 g/l (20 °C)
Πυκνότητα	1,21 g/cm ³ (20 °C)
T_m (°C)	55 – 58 °C
Μορφή	στερεό

3.1.4 Άλας χλωριούχου νατρίου (NaCl)

Για την παρασκευή των ικριωμάτων με τη μέθοδο έκπλυσης σωματιδίων χρησιμοποιήθηκε άλας χλωριούχου νατρίου σε διάφορες αναλογίες και οι ιδιότητες του παρουσιάζονται παρακάτω:

Πίνακας 3. 4: Ιδιότητες χλωριούχου νατρίου NaCl

Μοριακός τύπος	NaCl
Μοριακό βάρος	58.44 g/mol
pH	5.0-8.0
Αδιάλυτη ύλη	<0.005%
Περιεκτικότητα σε βαρέα μέταλλα (όπως Pb)	<0.005%
Απώλεια κατά την ξήρανση (105 °C, 2h)	<0.5%

Η επιθυμητή κοκκομετρία του χλωριούχου άλατος είναι 200-300 μm και χρησιμοποιήθηκαν κόσκινα με διάμετρο σίτας $d=200-300 \mu\text{m}$ προκειμένου να γίνει ο κατάλληλος διαχωρισμός.

3.1.5 Χλωροφόρμιο

Για τη διεξαγωγή της ιξωδομετρίας χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης του πολυγαλακτικού οξέος το χλωροφόρμιο. Το χλωροφόρμιο με μοριακό τύπο CHCl_3 προμηθεύτηκε από την εταιρεία Fisher Chemical (UK) και οι βασικές ιδιότητες του παρουσιάζονται παρακάτω:

Πίνακας 3. 5: Ιδιότητες χλωροφορμίου CHCl_3

Μοριακός τύπος	CHCl_3
Μοριακό βάρος	119.38 g/mol
Σημείο τήξης	-63.5 °C
Σημείο βρασμού	61.2 °C
Πυκνότητα	1.49 g/mol

3.2 Παρασκευή δοκιμών

Στην παρούσα εργασία έγινε προσπάθεια παρασκευής ικριωμάτων με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων. Παρασκευάστηκαν δοκίμια με διάφορες αναλογίες πολυμερούς με σωματίδια NaCl και μελετήθηκε το πορώδες τους, καθώς και η συνδεσιμότητα των πόρων. Πιο συγκεκριμένα, το ικρίωμα παρασκευάστηκε με μορφοποίηση του πολυμερούς σε υδραυλική θερμοπρέσσα. Η διαδικασία για τη παρασκευή των ικριωμάτων ακολουθήθηκε σύμφωνα με τα παρακάτω βήματα:

1. Αρχικά, το πολυμερές έχει κονιορτοποιηθεί σε κατάλληλη συσκευή και έχει μορφή πούδρας με μέγεθος κόκκων 5 μm . Επειδή η κονιορτοποίηση γίνεται με τη βοήθεια υγρού αζώτου, για να αποφευχθεί η ύπαρξη υγρασίας στο πολυμερές, γίνεται ξήρανση στον φούρνο για 4 h στους 60 °C υπό κενό 600 mbar.
2. Στη συνέχεια, κοσκινίζεται το NaCl σε κόσκινα διαμέτρου 200 και 300 μm . Επιλέγεται η ενδιάμεση κοκκομετρία, έτσι ώστε το μέγεθος των κόκκων του άλατος να είναι $200 < d < 300 \mu\text{m}$. Το άλας ξηραίνεται υπό τις ίδιες συνθήκες στο φούρνο όπως και το πολυμερές, για να αποφευχθεί η ύπαρξη υγρασίας.
3. Στη συνέχεια, ζυγίζονται οι ποσότητες του πολυμερούς και του άλατος για να φτιαχτούν οι προσδοκούμενες αναλογίες. Συγκεκριμένα, οι αναλογίες που παρασκευάστηκαν είναι 50:50 PLA/ NaCl , 40:60 και 30:70 αντίστοιχα. Η συνολική ποσότητα που ζυγίζεται για το κάθε ικρίωμα είναι 1 g που αποτελείται από την αντίστοιχη αναλογία.
4. Έπειτα, ανακατεύεται το πολυμερές με το άλας στο γουδί, προκειμένου να εξασφαλιστεί μια ομοιογενής σκόνη από τα δύο υλικά.
5. Για τη μορφοποίηση του πολυμερούς χρησιμοποιείται υδραυλική θερμοπρέσσα, η οποία θερμαίνεται στους 200 °C. Το μίγμα πολυμερούς με άλας τοποθετείται σε καλούπι με πάχος 2 mm. Το καλούπι είναι κατασκευασμένο από ανοξείδωτο χάλυβα και οι διαστάσεις του είναι 1.5 x 1 x 2 cm. Ανάμεσα στις πλάκες και τους οδηγούς του καλουπιού χρησιμοποιείται τεφλόν, προκειμένου να είναι εύκολη η αποκόλληση του πλακιδίου μετά τη μορφοποίηση.
6. Αφού τοποθετηθεί το μίγμα πολυμερούς με άλας στο καλούπι, κλείνει η πρέσσα και ασκείται πίεση 100 mbar από την άνω πλάκα και παραμένει εκεί για 7 min στους 200 °C.

Μετά το πέρας των 7 min, σταματάει η θέρμανση των πλακών της πρέσσας και ξεκινάει η ψύξη, καθώς ανοίγεται η παροχή του νερού που διαρρέει τις πλάκες και έτσι ψύχονται.

7. Αφού πέσει η θερμοκρασία, βγαίνει το πλακίδιο από την πρέσσα, αποκολλάται πολύ προσεκτικά από το καλούπι και ζυγίζεται στο ζυγό για τον προσδιορισμό του ακριβούς του βάρους.
8. Τέλος, τοποθετείται σε ξηραντήρα, όπου και παραμένει μέχρι την έναρξη της έκπλυσης του.

Σύμφωνα με την παραπάνω διαδικασία δοκιμάσθη για το PLLA_PG η προσθήκη πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) με μοριακό βάρος 3000 g/mol. Το ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG που κατασκευάστηκε με αναλογία (50:40:10), κι αρχικά βάρη $m_{\text{PLLA_PG}}=0.5013$ g, $m_{\text{NaCl}}=0.4008$ $m_{\text{PEG}}=0.1018$ g έχει σκοπό τη μελέτη της επίδρασης της PEG στα χαρακτηριστικά του ικρίωματος.

3.3 Έκπλυση άλατος

Μετά τη μορφοποίηση στην πρέσσα, τα πλακίδια ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν στον ξηραντήρα μέχρι σταθεροποίησης του βάρους. Τα πλακίδια που παρασκευάστηκαν σύμφωνα με την παραπάνω διαδικασία μπαίνουν σε υδατικό λουτρό με σκοπό την απομάκρυνση του NaCl από το εσωτερικό τους. Το πλακίδιο τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως, το οποίο περιέχει 200 ml νερού. Στον πάτο του ποτηριού έχει τοποθετηθεί ανοξειδωτο συρμάτινο πλέγμα, έτσι ώστε να μην ακουμπάει το πλακίδιο στον πάτο και να έχει ελεύθερες όλες τις επιφάνειες του. Το πλακίδιο παραμένει στο λουτρό για 7 ημέρες, ενώ τις πρώτες 2 ημέρες γίνεται συνεχής αλλαγή του νερού και στη συνέχεια γίνεται αλλαγή μία φορά την ημέρα. Κάθε φορά που γίνεται αλλαγή νερού στο ποτήρι, το πλακίδιο αφού στραγγιστεί για λίγα δευτερόλεπτα σε απορροφητικό χαρτί ζυγίζεται για να είναι προσδιορίσιμη η σταδιακή απώλεια βάρους του, η οποία προέρχεται από την απομάκρυνση του άλατος. Τα βάρη που μετρήθηκαν κατά την παρασκευή, την διαδικασία έκπλυσης και ξήρανσης τους παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες 3.6 και 3.7:

Πίνακας 3. 6: Βάρη πλακιδίων κατά τη μορφοποίηση και έκπλυση των πλακιδίων του PLLA Resomer L210

PLLA Resomer L210	Βάρος μετά τη μορφοποίηση	Βάρος πριν την εμβάπτιση	Έκπλυση	Βάρος μετά από 2 μέρες απαγωγό	Σταθεροποιημένο βάρος
(50:50) 0.5028g PLLA 0.5089g NaCl	0.8684g	0.8622g	1 ^η μέρα 0.6782g 2 ^η μέρα 0.6142g 3 ^η μέρα 0.5517g 6 ^η μέρα 0.5487g	0.5276g	0.5185g
(40:60) 0.4016g PLLA 0.6082g NaCl	0.9990g	0.9903g	1 ^η μέρα 0.7198g 2 ^η μέρα 0.6720g 3 ^η μέρα 0.6620g 6 ^η μέρα 0.5132g	0.5118g	0.5116g
(30:70) 0.3003g PLLA 0.7012g NaCl	0.9087g	0.9064g	1 ^η μέρα 0.3592g 2 ^η μέρα 0.3386g 3 ^η μέρα 0.3318g 6 ^η μέρα 0.3267g	0.3224g	0.2635g

Πίνακας 3. 7: Βάρη πλακιδίων κατά τη μορφοποίηση και έκπλυση των πλακιδίων του PLLA_PG

PLLA_PG	Βάρος μετά τη μορφοποίηση	Βάρος πριν την εμφύσηση	Έκπλυση	Βάρος μετά από 2 μέρες απαγωγό	Σταθεροποιημένο βάρος
(50:50)					
0.5052g PLLA 0.5013g NaCl	0.9381g	0.9369g	1 ^η μέρα 0.6871g 2 ^η μέρα 0.6880g 3 ^η μέρα 0.6385g 6 ^η μέρα 0.6205g	0.4373g	0.4371g
(40:60)					
0.4030g PLLA 0.6010g NaCl	0.9948g	0.9914g	1 ^η μέρα 0.5805g 2 ^η μέρα 0.5734g 3 ^η μέρα 0.5722g 6 ^η μέρα 0.5488g	0.4018g	0.4016g
(30:70)					
0.3055g PLLA 0.7035g NaCl	0.9550g	0.9524g	1 ^η μέρα 0.4430g 2 ^η μέρα 0.4334g 3 ^η μέρα 0.4296g 6 ^η μέρα 0.4137g	0.2832g	0.2830g

Από τους πίνακες 3.6 και 3.7 παρατηρείται πως όσον αφορά τα σταθεροποιημένα βάρη των ικριωμάτων του PLLA_PG παρατηρείται καλή προσέγγιση στα αρχικά βάρη των ποσοτήτων PLLA που ζυγίστηκαν για την κατασκευή τους και συνεπώς επιτυχή έκπλυση του άλατος. Στόχος την έκπλυσης του άλατος είναι το πλακίδιο να προσεγγίζει το βάρος της αρχικά ζυγισμένης ποσότητας πολυμερούς που χρησιμοποιήθηκε κατά την κατασκευή του. Αυτό στοχεύει στο να έχει εκπλυθεί όλο το αλάτι από το εσωτερικό του πλακιδίου και πλέον να αποτελείται από σκέτο πολυμερές. Αυτό που απομένει μετά την έκπλυση αποτελεί το ικριώμα, όπου στο εσωτερικό του έχει δημιουργηθεί μια πορώδης δομή από τις κενές θέσεις που προέκυψαν από την έκπλυση του άλατος.

3.4 Μελέτη αποδόμησης

Για την μελέτη της αποδόμησης παρασκευάστηκε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών/άλατος (Phosphate Buffered Saline, PBS). Ρυθμιστικό διάλυμα είναι το διάλυμα στο οποίο αν προστεθεί μικρή αλλά υπολογίσιμη ποσότητα ισχυρής βάσης ή ισχυρού οξέος δεν μεταβάλλει το pH του, καθώς έχει την ικανότητα να διατηρεί τη συγκέντρωση H⁺ και OH⁻ σταθερή. Τα ρυθμιστικά διαλύματα αποτελούνται από ένα ασθενές οξύ σε μορφή άλατος και τη συζυγή βάση του (πιο κοινή σύνθεση) ή από μια ασθενή βάση πάλι σε μορφή άλατος και το συζυγές οξύ της (λιγότερο κοινή σύνθεση). Το pH τους δε μεταβάλλεται ακόμα κι αν αραιωθεί με νερό σε ορισμένα όρια.

Η μελέτη της In vitro αποικοδόμησης του PLA, έγινε σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH 7.4), που προσομοιάζει τις ιοντικές συγκεντρώσεις του αίματος και χρησιμοποιείται συχνά για τη μελέτη της βιοδιασπασιμότητας πολυμερών.

- Διάλυμα κιτρικού οξέος (0.1M) (21.01g C₆H₈O₇*H₂O/L απιονισμένου νερού)
- Διάλυμα φωσφορικού άλατος του νατρίου (0.1M) (35.60g Na₂HPO₄*2H₂O/L απιονισμένου νερού)

Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στο 7.4 με στάγδην προσθήκη κιτρικού ή φωσφορικού οξέος.

Τα ικριώματα, που κατασκευάστηκαν με την τεχνική έκπλυσης άλατος σε αναλογία PLLA_PG:NaCl (50:50) χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της αποδόμησης του πολυγαλακτικού οξέος.

Αφού παρασκευάστηκε το ρυθμιστικό διάλυμα, τα ικρίσματα τοποθετήθηκαν σε ποτήρια ζέσεως των 250mL, με 200mL ρυθμιστικού διαλύματος και καλύφθηκαν με παραφίλμ και αλουμινοχαρτο, για την αποφυγή της εξάτμισης του ρυθμιστικού διαλύματος. Η διαδικασία αποικοδόμησης πραγματοποιήθηκε σε φούρνο με σταθερή θερμοκρασία 37°C για διάστημα 1, 2 και 3 μηνών. Η ανανέωση του ρυθμιστικού διαλύματος πραγματοποιούνταν ανά μήνα και για τον έλεγχο του pH υπήρχε στο φούρνο και ποτήρι ζέσεως με ρυθμιστικό διάλυμα, για τις μετρήσεις αναφοράς. Ο έλεγχος του pH γινόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα ώστε να διατηρείται σταθερή η τιμή του. Επίσης, σε τακτά χρονικά διαστήματα προαγματοποιούνταν έλεγχος βάρους προκειμένου να διαπιστωθεί εάν υπάρχει ταυτόχρονη απώλεια βάρους καθώς αποδομείται το πολυγαλακτικό οξύ.

Μετά το πέρας των αντίστοιχων χρόνων, για την πραγματοποίηση των μετρήσεων ζύγισης, ιξωδομετρίας και διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC), τα ικρίσματα απομονώνονταν από το ρυθμιστικό διάλυμα, ξεπλένονταν με απιονισμένο νερό ώστε να μη συνεχίζονται τα φαινόμενα αποικοδόμησης κι αφήνονταν για δύο μέρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος να στεγνώσουν. Στη συνέχεια, τα ικρίσματα τοποθετούνταν σε συνθήκες κενού (600 mmHg) μέχρι τη σταθεροποίηση του βάρους τους.

3.5 Εξοπλισμός και μέθοδοι

3.5.1 Ιξωδομετρία

Τα πολυμερή αποτελούνται από μόρια διαφορετικού μεγέθους ως αποτέλεσμα της στατιστικής φύσης της διαδικασίας πολυμερισμού και χαρακτηρίζονται από μια κατανομή μοριακού βάρους. Οι φυσικές και ρευστομηχανικές ιδιότητες των πολυμερών καθορίζονται από την κατανομή του μοριακού τους βάρους, γι' αυτό και είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός αυτής της κατανομής. Όταν τα πολυμερή παρουσιάζουν πιο περίπλοκη δομή όπως είναι οι διακλαδώσεις αλυσίδων ή συμπολυμερή ή μεγαλύτερα πολυμερή με διαβαθμίσεις δομικής διαφοροποίησης, είναι πιο δύσκολη η περιγραφή της κατανομής του μοριακού βάρους.

Υπάρχουν διάφοροι ορισμοί του μοριακού βάρους, όπως κατά αριθμό, κατά βάρος ή βάσει του ιξώδους. Οι πιο κλασικές τεχνικές για τον προσδιορισμό του δίνουν στοιχεία για μέσες τιμές της κατανομής του. Ο προσδιορισμός του μοριακού βάρους βάσει του ιξώδους δίνει σημαντικά αποτελέσματα μέσω της ιξωδομετρίας. Το ιξώδες ενός διαλύματος πολυμερούς μπορεί να συσχετιστεί με το μοριακό του βάρος υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Το μοριακό βάρος συνδέεται με τον οριακό αριθμό ιξώδους $[\eta]$ μέσω της εξίσωσης των Mark-Houwling-Sakurada:

$$[\eta] = K \cdot M_v^a \quad \text{Εξίσωση 1}$$

Ο οριακός αριθμός ιξώδους προσδιορίζεται με χρήση ιξωδομέτρου και με σχεδίαση του μεταβαλλόμενου ιξώδους μιας σειράς διαλυμάτων πολυμερών διαφόρων συγκεντρώσεων ως προς τη συγκέντρωση. Το εύρος των μοριακών βαρών που μπορούν να χαρακτηριστούν με τη μέθοδο αυτή είναι μεγάλο. Η προέκταση σε μηδενική συγκέντρωση οδηγεί στον $[\eta]$. Η τεχνική βρίσκει ευρεία εφαρμογή και υπάρχει διαθέσιμο πλήθος συλλογών για τη σταθερά K. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται όταν χρησιμοποιείται η μέθοδος για μεγάλο μοριακού βάρους πολυμερή διότι είναι πιθανή η αποσύνθεση τους κατά τη διαδικασία της μέτρησης.

Ιξωδόμετρα Ostwald και Ubbelohde.

Τα ιξώδη των διαλυμάτων πολυμερών προσδιορίζονται κυρίως με τα ιξωδόμετρα τριχοειδούς τύπου τα οποία διακρίνονται σε δύο γενικές κατηγορίες, τα U-τύπου (ιξωδόμετρα

Ostwald) και τα ιξωδόμετρα τριχοειδούς Ubbelohde. Και τα δύο ιξωδόμετρα αποτελούνται από το βολβό μέτρησης, με χαραγές στον σωλήνα άνω και κάτω από αυτόν, ο οποίος συνδέεται άμεσα με τον τριχοειδή σωλήνα. Το διάλυμα πολυμερούς αναρροφάται από το βολβό που βρίσκεται σε χαμηλότερο ύψος και καταγράφεται ο χρόνος που απαιτείται για την εκροή του διαλύματος, δηλαδή ο χρόνος που απαιτείται για να περάσει το πολυμερικό διάλυμα από την άνω στην κάτω χαραγή.

Στα ιξωδόμετρα U-τύπου η πίεση η οποία επιβάλλει τη ροή, εξαρτάται από τον όγκο του διαλύματος που περιέχεται στο ιξωδόμετρο, γι' αυτό η κάθε μέτρηση πρέπει να διεξάγεται υπό ακριβώς τον ίδιο όγκο. Για να επιτευχθεί αυτό χρειάζεται θερμική εξισορρόπηση με ρύθμιση της στάθμης του διαλύματος σε επίπεδο που φέρει χαραγή, ελαφρώς πάνω από τον κατώτερο βολβό.

Αντίθετα, στο ιξωδόμετρο Ubbelohde η πίεση εξαρτάται μόνο από τον όγκο του διαλύματος που βρίσκεται στο βολβό μέτρησης και στον τριχοειδή σωλήνα και επομένως, είναι ανεξάρτητη του συνολικού όγκου του διαλύματος πολυμερούς που περιέχεται στο ιξωδόμετρο. Αυτό συμβαίνει διότι τα ιξωδόμετρα τριχοειδούς Ubbelohde βασίζονται στον ιδιαίτερο κατασκευαστικό σχεδιασμό τους, καθώς περιέχουν έναν επιπλέον σωλήνα, ο οποίος συνδέεται με τον τριχοειδή σωλήνα. Αυτό εξασφαλίζει ότι κατά τη μέτρηση, το διάλυμα ανέρχεται πληρώνοντας τον τριχοειδή σωλήνα και το βολβό υπό ατμοσφαιρική πίεση. Στο ιξωδόμετρο Ubbelohde επιτρέπεται η αραιώση των διαλυμάτων μέσα στο ιξωδόμετρο με προσθήκη διαλύτη, ενώ στην περίπτωση του ιξωδόμετρου U-τύπου, για κάθε αλλαγή της συγκέντρωσης είναι απαραίτητο να καθαριστεί το ιξωδόμετρο, να ξηρανθεί και κατόπιν να μπει το διάλυμα νέας συγκέντρωσης.



Εικόνα 3. 3: Ιξωδόμετρο Ubbelohde

3.5.1.1 Αρχή της μεθόδου

Η ιξωδομετρία είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη μέθοδος για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους. Για το εκάστοτε πολυμερές πρέπει να χρησιμοποιείται ο κατάλληλος διαλύτης. Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση του απαιτούμενου χρόνου για την εκροή ορισμένου όγκου υγρού διαμέσου του τριχοειδούς σωλήνα. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο νόμο του Poiseuille, ο οποίος συσχετίζει το απόλυτο ιξώδες με το χρόνο εκροής του υγρού και τις διαστάσεις του ιξωδομέτρου:

$$\eta = \frac{\Delta P \pi r^4 t}{8 \nu l} \quad \text{Εξίσωση 2}$$

όπου η το απόλυτο ιξώδες, t ο χρόνος εκροής του υγρού, l το μήκος του τριχοειδούς του ιξωδομέτρου, r η ακτίνα του τριχοειδούς, ν ο όγκος του εκρέοντος υγρού και ΔP η διαφορά πίεσης ανάμεσα στα δύο άκρα του τριχοειδούς.

Σε περίπτωση που η πίεση στα άκρα του σωλήνα είναι ίση με την υδροστατική πίεση που εξασκείται από τη στήλη του υγρού, η σχέση Poiseuille συμπεριλαμβάνει την πυκνότητα του υγρού (ρ) και την επιτάχυνση της βαρύτητας (g):

$$n = \frac{\rho g h \pi r^4 t}{8 \nu l} \quad \text{Εξίσωση 3}$$

Θέτοντας το κλάσμα $\frac{g h \pi r^4}{8 \nu l}$ ως σταθερά του ιξωδομέτρου, η εξίσωση 3 γράφεται ως εξής:

$$n = K_{\text{ιξωδομέτρου}} \cdot t \cdot \rho \quad \text{Εξίσωση 4}$$

όπου n το απόλυτο ιξώδες (cP), ρ η πυκνότητα του υγρού (g/ml), $K_{\text{ιξωδομέτρου}}$ η σταθερά του ιξωδομέτρου (mm^2/s^2) και t ο χρόνος εκροής (s).

Στην ιξωδομετρία πολυμερών, η εξίσωση 4 χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των διαφόρων εκφράσεων του ιξώδους τόσο του διαλύτη, όσο και του διαλύματος του πολυμερούς, με χρήση των αντίστοιχων χρόνων εκροής. Παρακάτω παρουσιάζεται ο πίνακας 3.8 με διάφορες εκφράσεις του ιξώδους σύμφωνα με το British Standard Glossary of Rheological Terms, BS 5168 και το International Union of Pure and Applied Chemistry, ISO (IUPAC).

Πίνακας 3. 8: Διάφορες εκφράσεις του ιξώδους και οι ορισμοί τους

Όρος	ISO (IUPAC)	BS 5168
$\nu = \frac{n}{\rho}$ (cSt), όπου n το απόλυτο ιξώδες (cP) και ρ η πυκνότητα (g/mL)	Λόγος ιξώδους- πυκνότητας	Κινηματικό ιξώδες
$RV = \frac{n}{n_o}$, όπου n το απόλυτο ιξώδες διαλύματος (cP) και n_o το απόλυτο ιξώδες του διαλύτη	Λόγος ιξώδους (Viscosity Ratio)	Σχετικό ιξώδες (Relative viscosity)
$n_{sp} = \frac{n - n_o}{n_o} = RV - 1$	Σχετική αύξηση ιξώδους	Ειδικό ιξώδες (Specific Viscosity)
$n_{red} = \frac{n - n_o}{n_o C}$ (dl/g), όπου C η συγκέντρωση του διαλύματος (g/100 mL διαλύτη)	Αριθμός ιξώδους	Ανηγμένο ιξώδες (Reduced Viscosity)
$n_{inh} = \frac{\ln(n/n_o)}{C} = \frac{\ln RV}{C}$ (dl/g)	Λογαριθμικός αριθμός ιξώδους	Συμφυές ιξώδες (Inherent Viscosity)
$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{n_{sp}}{C} = \lim_{c \rightarrow 0} n_{red}$ (dl/g)	Οριακός αριθμός ιξώδους (Limiting Viscosity Number)	Εσωτερικό ιξώδες (Intrinsic Viscosity)

Η τιμή του αριθμού ιξώδους, όταν η συγκέντρωση του διαλύματος τείνει στο μηδέν, ονομάζεται οριακός αριθμός ιξώδους $[\eta]$. Σε αραιά διαλύματα πολυμερών ($n_{sp} \ll 1$, $[\eta] \ll 1$), ο προσδιορισμός του $[\eta]$ μπορεί να γίνει μέσω της εξίσωσης Huggins, όπου η αντίστοιχη σταθερά (k_H) είναι ανεξάρτητη του μοριακού βάρους, εξαρτάται από το σύστημα πολυμερούς-διαλύτη, καθώς και από τη θερμοκρασία, ενώ παίρνει τιμές από 0,3 (πλούσιος διαλύτης) έως 0,5 (φτωχός διαλύτης):

$$\frac{n_{sp}}{C} = [\eta] + k_H [\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 5}$$

Σύμφωνα με την εξίσωση 1 Mark-Houwling-Sakurada ο οριακός αριθμός ιξώδους συνδέεται με το μέσο μοριακό βάρος του πολυμερούς, όπου K και a σταθερές για ορισμένη θερμοκρασία και

σύστημα πολυμερούς-διαλύτη. Η σταθερά K κυμαίνεται συνήθως από $0,5 \cdot 10^{-4} \text{ (dl/g)} \cdot \text{(g/mol)}^{-\alpha}$, ενώ η σταθερά α από 0,5 (φτωχός διαλύτης) έως 0,8 (πλούσιος διαλύτης).

Στην περίπτωση του πολυ(L-γαλακτικού οξέος), στους 30°C και με διαλύτη χλωροφόρμιο, το μέσου-ιξώδους μοριακό βάρος δίνεται σύμφωνα με τις σταθερές του (J.R. Dorgan 2005) από την εξίσωση:

$$[\eta] = 1,31 \cdot 10^{-4} \cdot M_v^{0,777} \quad \text{Εξίσωση 6}$$

Ενώ σύμφωνα με τις σταθερές του (A. Schindler 1979) το μέσου-ιξώδους μοριακό βάρος δίνεται από την εξίσωση:

$$[\eta] = 5,45 \cdot 10^{-4} \cdot M_v^{0,73} \quad \text{Εξίσωση 7}$$

- Προσδιορισμός οριακού ιξώδους με ιξωδομετρία τριών σημείων

Κατά τη μέθοδο αυτή συγκρίνεται ο χρόνος εκροής (t) του διαλύματος του πολυμερούς με το χρόνο εκροής (t₀) του καθαρού διαλύτη και προσδιορίζεται το σχετικό ιξώδες σύμφωνα με την εξίσωση 4.

$$RV = \frac{n \text{ διαλύματος}}{n \text{ διαλύτη}} = \frac{\rho \text{ διαλύματος} \cdot t \text{ διαλύματος}}{\rho \text{ διαλύτη} \cdot t \text{ διαλύτη}} \quad \text{Εξίσωση 8}$$

Στα αραιά διαλύματα πολυμερών γίνεται η παραδοχή ότι η πυκνότητα του διαλύματος είναι περίπου ίδια με αυτή του καθαρού διαλύτη, και επομένως προκύπτει

$$RV = t_{\text{διαλύματος}} / t_{\text{διαλύτη}} \quad \text{Εξίσωση 9}$$

Ακολουθως, για τον προσδιορισμό του οριακού ιξώδους υπολογίζονται όλα τα μεγέθη του πίνακα 1. Με βάση τις τιμές που προκύπτουν για κάθε συγκέντρωση, κατασκευάζεται διάγραμμα $n_{red}=f(C)$, από το οποίο με τη βοήθεια γραμμικής ανάλυσης παλινδρόμησης (μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων) υπολογίζουμε την τεταγμένη επί την αρχή της ευθείας στον άξονα των γ, δηλαδή το [η].

- Προσδιορισμός οριακού ιξώδους με ιξωδομετρία ενός σημείου

Εκτός των άλλων, για το διάλυμα χαμηλότερης συγκέντρωσης ο οριακός αριθμός ιξώδους [η] μπορεί να προσδιοριστεί χρησιμοποιώντας τις παρακάτω σχέσεις, οι οποίες προκύπτουν από την επίλυση της σχέσης Huggins:

$$\frac{1}{c} \sqrt{2(n_{sp} - \ln n_{red})} = [\eta] + (k_H - \frac{1}{3})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 10}$$

$$\frac{1}{4} \frac{n_{sp}}{c} + \frac{3}{4} \frac{\ln n_{red}}{c} = [\eta] + (k_H - \frac{3}{8})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 11}$$

$$\frac{1}{3} \frac{n_{sp}}{c} + \frac{2}{3} \frac{\ln n_{red}}{c} = [\eta] + (k_H - \frac{1}{3})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 12}$$

$$\frac{n_{sp}}{c} \exp\left(-\frac{n_{sp}}{3}\right) = [\eta] + (k_H - \frac{1}{3})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 13}$$

$$\frac{(1+1,5n_{sp})^{1/2}-1}{0,75c} = [\eta] + (k_H - \frac{3}{8})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 14}$$

$$\frac{(1+4/3n_{sp})^{1/2}-1}{0,67c} = [\eta] + (k_H - \frac{1}{3})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 15}$$

$$\frac{4}{c} \left(n_{red}^{\frac{1}{4}} - 1 \right) = [\eta] + (k_H - \frac{3}{8})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 16}$$

$$\frac{3}{c} \left(n_{red}^{\frac{1}{3}} - 1 \right) = [\eta] + (k_H - \frac{1}{3})[\eta]^2 C + \dots \quad \text{Εξίσωση 17}$$

Σημειώνεται ότι για αραιά διαλύματα χρησιμοποιείται μόνο ο πρώτος όρος $[\eta]$ του δεξιού μέλους των εξισώσεων αυτών. (Κ.Παπασπυρίδης 2012)

3.5.1.2 Πειραματική διαδικασία

Με τη μέθοδο της ιζωδομετρίας μελετήθηκε η επίδραση της διαδικασίας μορφοποίησης στο μοριακό βάρος του πολυ(L-γαλακτικού οξέος) (PLLA) αλλά και η επίδραση της διαδικασίας έκπλυσης του NaCl στο ήδη μορφοποιημένο πολυμερές, δηλαδή το ικρίωμα. Επίσης, μελετήθηκε το μέσο μοριακό βάρος των δύο πολυμερών που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία, του PLA Resomer L210 και του PLA_PG.

Αρχικά, προσδιορίστηκε το οριακό ιξώδες και στη συνέχεια το μοριακό βάρος των δειγμάτων με ανάλυση τριών σημείων. Έτσι λοιπόν, παρασκευάστηκαν διαλύματα κόκκων αλλά και πούδρας των δύο πολυμερών με συγκέντρωση 0,1 g/dl και 0,2 g/dl. Το τριχοειδούς ροής ιζωδόμετρο της πειραματικής διαδικασίας ήταν τύπου Ubbelohde (Calibrated UBC Series 9721-R53 Size 0C) σταθεράς $0,002807 \text{ mm}^2/\text{sec}^2$ και τοποθετημένο σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 30°C. Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε η εξής πειραματική διαδικασία:

1. Αφού ζυγιστεί η κατάλληλη ποσότητα κόκκων ή πούδρας PLLA τη διαλύουμε στον αντίστοιχο όγκο διαλύτη χλωροφόρμιο ώστε να προκύψει το διάλυμα της επιθυμητής συγκέντρωσης. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται και στην περίπτωση ιζωδομετρίας του ήδη μορφοποιημένου πολυμερούς, αλλά και του ικριώματος που έχει υποστεί απομάκρυνση άλατος σε λουτρό. Πρέπει να εξασφαλίζεται όσο το δυνατόν καλύτερη διάλυση γίνεται για να αποφευχθεί ο κίνδυνος φραγής του τριχοειδούς σωλήνα από τυχόν αδιάλυτο πολυμερές. Παρατηρήθηκε πως η διάλυση ήταν πλήρης στις 4 h ανάδευσης των διαλυμάτων, αλλά για επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων κάποια δείγματα αφέθηκαν προς ανάδευση 24 ώρες.
2. Στη συνέχεια γεμίζεται το ιζωδόμετρο με το διάλυμα προς μέτρηση μέχρι ένα σημείο ανάμεσα στις δυο χαραγές του βολβού. Αφήνεται για 3 λεπτά περίπου μέσα στο υδατόλουτρο, το οποίο έχει ρυθμιστεί στους 30 °C, ώστε να μην υπάρχει διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ διαλύματος και λουτρού. Ο χρόνος που θα παραμείνει στο λουτρό περιμένοντας να μην υπάρχει διαφορά θερμοκρασίας είναι περιορισμένος, καθώς το χλωροφόρμιο είναι ένας ιδιαίτερα πτητικός διαλύτης και υπάρχει κίνδυνος αλοιώσης των αποτελεσμάτων σε περίπτωση εξάτμισης του διαλύτη διότι το διάλυμα θα γίνει πιο πυκνό.
3. Με αναρρόφηση του διαλύματος, έρχεται η στάθμη του υγρού λίγο πάνω από την άνω χαραγή του ιζωδομέτρου. Μετά την αναρρόφηση, αφήνεται το υγρό να ρεύσει ελεύθερο, μετρώντας το χρόνο που απαιτείται για να διέλθει το διάλυμα από την άνω στην κάτω χαραγή. Υφίσταται μεγάλη προσοχή να μην υπάρχουν φυσαλίδες στο χώρο μεταξύ των δύο χαραγών, καθώς αλοιώνεται η ακρίβεια της μέτρησης.
4. Για κάθε διάλυμα η διαδικασία επαναλαμβάνεται 3 φορές λαμβάνοντας 3 μετρήσεις. Πολύ σημαντικό είναι ότι στην αρχή, αλλά και μετά από κάθε μέτρηση, το ιζωδόμετρο ξεπλένεται με καθαρό διαλύτη, προκειμένου να μην υπάρχει κάποιο υπόλειμμα το οποίο αλλοιώσει τη μέτρηση. Η απόκλιση μεταξύ των τριών μετρήσεων δεν πρέπει να ξεπερνά το 2% και τελικά, παίρνουμε το μέσο όρο τους. Τέλος, η παραπάνω διαδικασία πρέπει να επαναληφθεί με το διαλύτη σκέτο στο ιζωδόμετρο, ώστε ο χρόνος εκροής του σκέτου διαλύτη σε σύγκριση με το χρόνο εκροής του διαλύματος να δίνει πληροφορίες για το προσδιορισμό του μοριακού βάρους.

Στη συνέχεια, βάσει του μέσου όρου των μετρήσεων του χρόνου ροής (t) που λήφθηκαν από την ιξωδομετρία για κάθε δείγμα, υπολογίστηκαν τα μεγέθη του πίνακα 3.7 και προσδιορίστηκε σε κάθε περίπτωση το εσωτερικό ιξώδες και λύνοντας τις εξισώσεις 6 και 7 σύμφωνα με τις αντίστοιχες σταθερές, προσδιορίστηκε το μέσου-ιξώδους μοριακό βάρος του πολυμερούς.

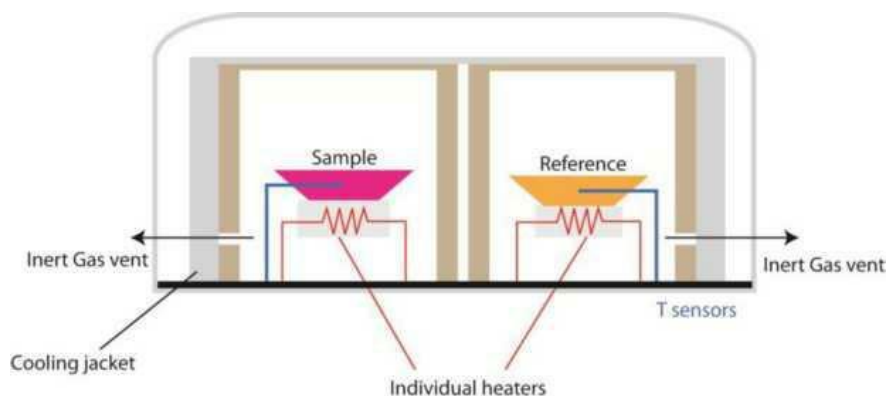
3.5.2 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης

Τα πολυμερή που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των ικριωμάτων, αναλύθηκαν με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC), για την παρατήρηση και τον προσδιορισμό των θερμικών τους μεταπτώσεων. Αρχικά, αναλύθηκε ο κόκκος και το κονιορτοποιημένο PLA Resomer L210, ενώ για το PLA INGEO 4043D αναλύθηκε μόνο η κονιορτοποιημένη του μορφή. Στη συνέχεια, αναλύθηκαν δείγματα που προέκυψαν μετά τη μορφοποίηση που υπέστησαν στην πρέσσα τα πολυμερή, καθώς και δείγματα που μετά τη μορφοποίηση εμβαπτίστηκαν σε λουτρό με σκοπό την έκλυση των σωματιδίων τους.

3.5.2.1 Αρχή της μεθόδου

Κατά την ανάλυση με DSC, το υπό εξέταση δείγμα και το δείγμα αναφοράς θερμαίνονται σε ελεγχόμενες συνθήκες και καταγράφεται συνεχώς η θερμοκρασία, ο χρόνος της ανάλυσης και η θερμότητα που εκλύεται ή απορροφάται από το δοκίμιο. Μείωση ή αύξηση της ενέργειας που δίνεται για αυτό το σκοπό στο δείγμα αντιστοιχεί στην εμφάνιση φυσικών ή χημικών φαινομένων.

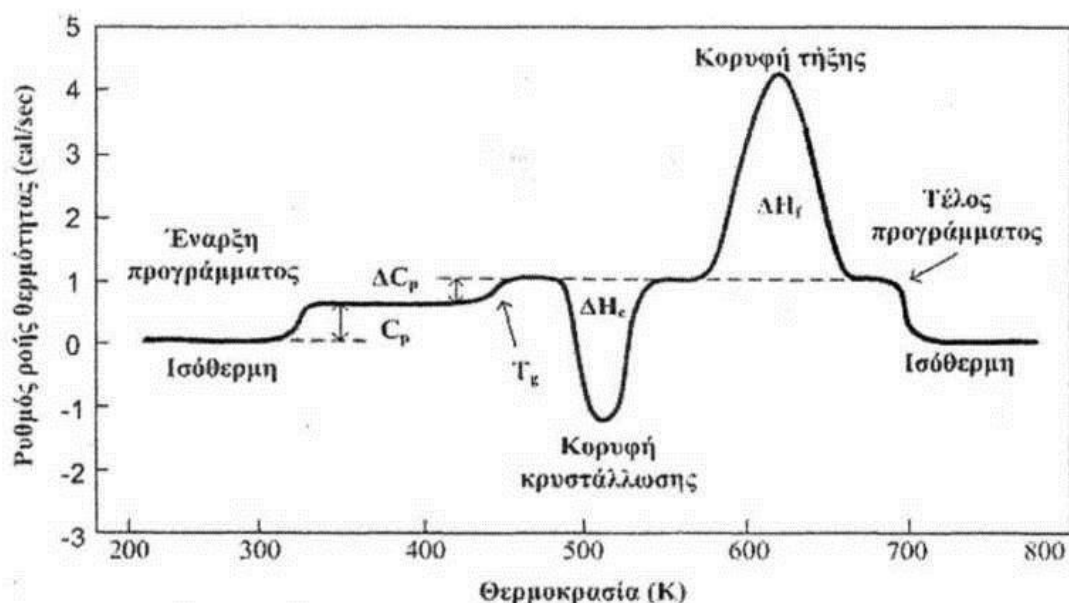
Η διάταξη DSC σαρώνει μια θερμοκρασιακή περιοχή και μελετά το πώς αποκρίνεται το δείγμα του πολυμερούς καθώς θερμαίνεται. Σε δύο θερμαινόμενους υποδοχείς τοποθετούνται δύο σφραγισμένα καψίδια αλουμινίου· το ένα περιέχει το δείγμα και το άλλο, το καψίδιο αναφοράς, είναι κενό. Στο περιβάλλον των υποδοχέων δημιουργείται αδρανής ατμόσφαιρα με τη ροή αζώτου και ο θερμικός ελεγκτής αρχίζει να θερμαίνει τους υποδοχείς με προκαθορισμένο σταθερό ρυθμό θέρμανσης, 10 βαθμούς ανά λεπτό. Η θερμοκρασία στους δύο υποδοχείς μετράται με μεγάλη ακρίβεια με τη βοήθεια υπερευαίσθητων θερμοζυγών. Η κρίσιμη λειτουργία του θερμικού ελεγκτή είναι η εξασφάλιση του ίδιου ρυθμού θέρμανσης των δύο χωριστών καψιδίων με τους δύο χωριστούς θερμαινόμενους υποδοχείς. Τα δύο καψίδια είναι διαφορετικά λόγω του διαφορετικού περιεχομένου τους κι επομένως το καψίδιο με το δείγμα απαιτεί περισσότερη θερμότητα για να κρατήσει το ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας του ακριβώς ίσο με τον αντίστοιχο ρυθμό στο καψίδιο αναφοράς. (ΔΠΜΣ 2009)



Εικόνα 3. 4: Σχηματικό διάγραμμα ενός οργάνου DSC

Σε ένα πείραμα DSC μετράται ακριβώς το πόσο επιπλέον θερμότητα q/t απαιτεί ο αριστερός υποδοχέας με το πολυμερές σε σχέση με τον υποδοχέα αναφοράς. Αυτό που παίρνουμε

από την διάταξη DSC είναι ένα διάγραμμα της ροής θερμότητας q/t ως προς την θερμοκρασία. Στη συνέχεια, υπολογίζεται αυτόματα το ποσό θερμότητας, που απορροφάται από το δείγμα, αφού πρώτα οριστεί η εξεταζόμενη περιοχή. Η περιοχή αυτή βρίσκεται μεταξύ των θερμοκρασιών, στις οποίες η καμπύλη παρουσιάζει απότομη μεταβολή της ροής θερμότητας.



Εικόνα 3. 5: Τυπικό θερμογράφημα DSC

3.5.2.2 Πειραματική διαδικασία

Από τα δοκίμια, που παρασκευάστηκαν, ζυγίστηκαν 8–10mg και τοποθετήθηκαν σε ειδικά καψίδια αλουμινίου. Τα δοκίμια τοποθετήθηκαν στο φούρνο του οργάνου, τοποθετώντας και ένα κενό καψίδιο στην θέση αναφοράς. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που ακολουθήθηκε για το PLA Resomer L210 περιελάμβανε ψύξη από τους 200 °C στους 25 °C με ρυθμό 10 °C/min, διατήρηση στους 25 °C για 5 min και θέρμανση από τους 25 °C στους 200 °C με ρυθμό 10 °C/min με ταυτόχρονη διαβίβαση αζώτου. Ενώ για το PLA_PG, το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που ακολουθήθηκε περιελάμβανε ψύξη από τους 220 °C στους 25 °C με ρυθμό 10 °C/min, διατήρηση στους 25 °C για 5 min και θέρμανση από τους 25 °C στους 220 °C με ρυθμό 10 °C/min με ταυτόχρονη διαβίβαση αζώτου.



Εικόνα 3. 6: Συσσκευή Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης

3.5.3 Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (TGA)

3.5.3.1 Αρχή της μεθόδου

Η θερμοβαρυμετρική μέθοδος ανάλυσης, TGA (thermogravimetric analysis) χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της θερμικής αποδόμησης από τη μεταβολή βάρους κατά τη θέρμανση των δοκιμίων. Στην επιστήμη των πολυμερών χρησιμοποιείται σε μελέτες θερμικής γήρανσης πολυμερών, τροποποίησης και σταθεροποίησης πολυμερών για την ταυτοποίηση πολυμερών και τον προσδιορισμό προσμίξεων τους. Επίσης, η TGA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση της καθαρότητας ανόργανων αλάτων. Στη θερμοβαρυμετρική ανάλυση, η μάζα ενός δείγματος καταγράφεται συνεχώς σε σχέση με τη θερμοκρασιακή μεταβολή της. Το δείγμα βρίσκεται σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα (οξειδωτική, αναγωγική ή αδρανής) με τη βοήθεια φέροντος αερίου, το οποίο μπορεί να απομακρύνει τα παραγόμενα προϊόντα. Το γράφημα βάρους – θερμοκρασίας που είναι το αποτέλεσμα μιας ανάλυσης TGA παρουσιάζει τη μάζα του δείγματος ή την επί τοις % απώλεια της μάζας του δείγματος σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία. Η καμπύλη αυτή ονομάζεται TGA – θερμογράφημα ή καμπύλη θερμικής διάσπασης.

3.5.3.1 Πειραματική διαδικασία

Από το ικρίωμα που κατασκευάστηκε με PLLA_PG:NaCl αναλογίας 40:60 και από το μορφοποιημένο πλακίδιο που προέκυψε από σκόνη PLLA_PG ζυγίστηκαν 8–10mg και τοποθετήθηκαν σε ειδικά κεραμικά καψίδια. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία 200–600 °C, με ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας 10 °C/min με διαβίβαση αζώτου, σε όργανο της εταιρείας Mettler – Toledo (μοντέλο TGA – DTA). Επίσης, σε κάθε νανοσύνθετο πραγματοποιήθηκαν τρεις μετρήσεις, έτσι ώστε να διαπιστωθεί η επαναληψιμότητα της μέτρησης.



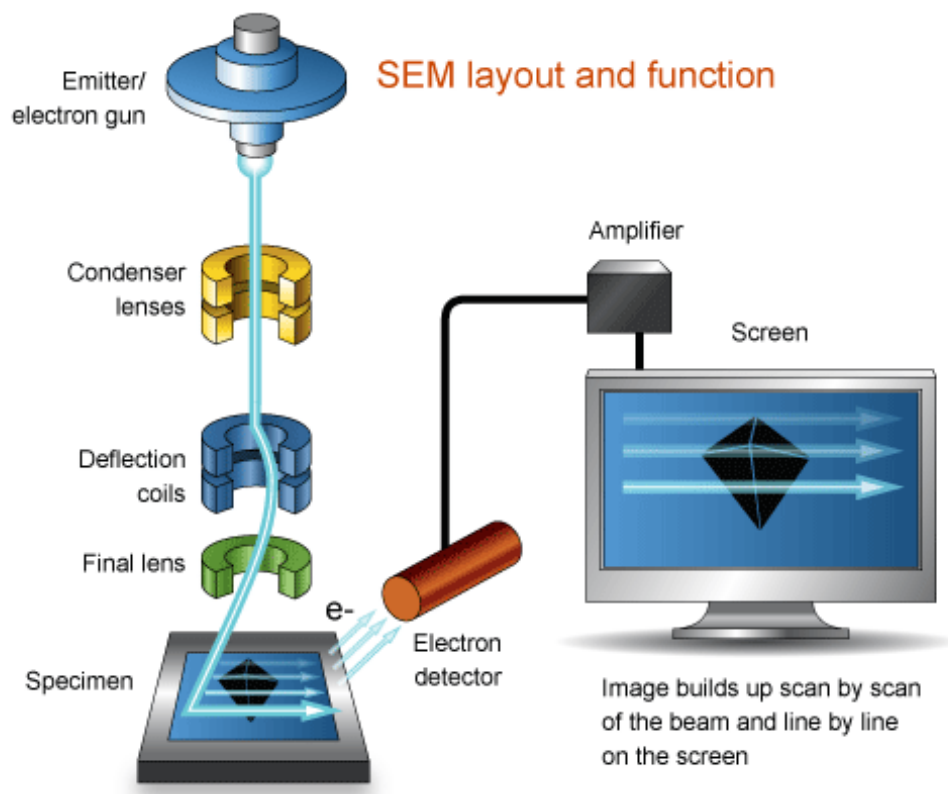
Εικόνα 3. 7: Όργανο θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης TGA

3.5.4. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)

Για να έχουμε μια σαφή εικόνα της μορφολογίας του πορώδους, αλλά και της συνδεσιμότητας των πόρων στα ικρίσματα που κατασκευάστηκαν, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της ηλεκτρονικής μικροσκοπικής ανάλυσης, (SEM).

3.5.4.1 Αρχή της μεθόδου

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM: ScanningElectronMicroscopy) (Εικ. 5) είναι ένας τύπος μικροσκοπίου ικανού να παράγει εικόνες υψηλής ευκρίνειας της επιφάνειας ενός δείγματος. Η ευκρίνεια της εικόνας μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 0.5 nm.

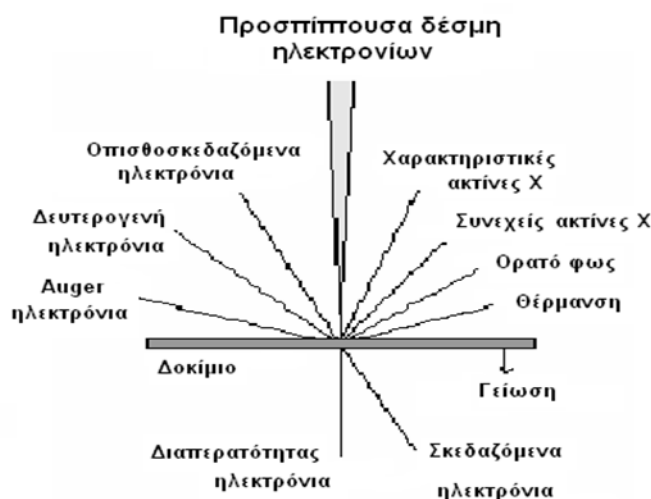


Εικόνα 3. 8: Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης

Η στήλη παραγωγής και εστίασης της δέσμης ηλεκτρονίων, λαμβάνει χώρα σε κενό (<math><10^{-3}</math> Pa). Η πηγή ηλεκτρονίων η οποία λειτουργεί σε μία περιοχή τάσεων από 0 έως 30 kV, δημιουργεί μια δέσμη ηλεκτρονίων (πρωτογενή ηλεκτρόνια), η οποία διερχόμενη μέσω μιας σειράς μαγνητικών φακών, επιταχύνεται, συγκεντρώνεται και εστιάζεται πάνω στην επιφάνεια του δοκιμίου. Το υπό εξέταση δοκίμιο σαρώνεται από την προσπίπτουσα δέσμη ηλεκτρονίων και τα εκπεμπόμενα ηλεκτρόνια από την επιφάνεια του δοκιμίου συλλέγονται και ενισχύονται, έτσι ώστε να δημιουργήσουν ένα οπτικό σήμα. Σημαντικό για τη λειτουργία του μικροσκοπίου είναι να υπάρχει υψηλό κενό μέσα στην κολόνα του μικροσκοπίου και μέσα στον θάλαμο δοκιμίων, που επιτυγχάνεται με την χρήση δύο αντλιών και είναι της τάξης των 10^{-6} bar. Η στήλη πρέπει να βρίσκεται υπό κενό για να παράγεται και να διατηρείται σταθερή η ακτίνα των ηλεκτρονίων. Εάν δεν επιτευχθεί το κενό, τα ηλεκτρόνια θα συγκρούονται με τα μόρια του αέρα και θα απορροφούνται.

Το είδος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας, εξαρτάται από την αλληλεπίδραση των πρωτογενών ηλεκτρονίων και των ατόμων του υλικού, και μπορεί να είναι:

- A) Ηλεκτρόνια Auger
- B) Δευτερογενή ηλεκτρόνια
- Γ) Οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια
- Δ) Ακτίνες – X



Εικόνα 3. 9: Φαινόμενα αλληλεπίδρασης μεταξύ του δείγματος και της δέσμης ηλεκτρονίων

Η παρατήρηση της μορφολογίας των δοκιμίων, στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, έγινε σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (SEM) 515 της εταιρίας Philips, σε τάση 25-30 kV, υπό γωνία προσπτώσεως της ακτινοβολίας 20°.

3.5.2.2 Πειραματική διαδικασία

Για τη μελέτη του πορώδους και της συνδεσιμότητας των πόρων των ικριωμάτων, λήφθηκαν τομές των δοκιμίων μετά από κρυογενή θραύση σε υγρό άζωτο. Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης, χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη του μεγέθους των πόρων, και ειδικότερα της συνδεσιμότητάς τους. Προκειμένου να δημιουργηθεί αγωγίμη επιφάνεια και να ληφθεί εικόνα, απαιτείται η επικάλυψη των επιφανειών προς εξέταση με χρυσό. Η επικάλυψη των δοκιμίων έγινε με ιοντοβολή σε μηχάνημα Sputter Coater 550X (EMS). Κατά την ιοντοβολή, ιόντα αργού προσπίπτουν στόχο χρυσού σε χαμηλή πίεση κι εναποτίθεται μια στρώση. Για να γίνει επαρκής επικάλυψη με χρυσό, 7 έως 10 nm, χρειάζεται η παραμονή τους στο θάλαμο από 90 έως 150 sec με ρεύμα 15 mA.

Βιβλιογραφία

- A. Schindler, D. Harper. «Polylactide. II. Viscosity–molecular weight relationships and unperturbed chain dimensions.» *Journal of Polymer Science, Part A Polymer Chemistry*, 1979: 2593-2599.
- Ch. Schugens, V. Maquet, C. Grandfils, R. Jerome, Ph. Teyssie. «Biodegradable and macroporous polylactide implants for cell transplantation: 1 Preparation of macroporous polylactide supports by solid-liquid phase separation.» *Polymer Vol.37, No.6*, 1996: 1027 -1038.
- J.R. Dorgan, J. Janzen, D.M. Knauss, S.B. Hait, B.R. Limoges, M.H. Hutchinson. «Fundamental Solution and Single-Chain Properties.» *Journal of Polymer Science Vol.43*, 2005: 3100–3111.
- Nature_Works_LL.C. «Nature Works: ingeo naturally advanced materials.» *Nature Works LLC Web site*. 2015.
http://www.natureworkslc.com/~media/Technical_Resources/Technical_Data_Sheets/TechnicalDataSheet_4043D_films_pdf.pdf.
- Εργαστηριακός Οδηγός, ΔΠΜΣ. «Βασικές εργαστηριακές ασκήσεις υλικών.» Στο *Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών "Επιστήμη και Τεχνολογία Υλικών"*, του/της Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο. Αθήνα: ΕΜΠ, 2009.
- Κ.Παπασπυρίδης. *Επιλογή εργαστηριακών ασκήσεων κατεύθυνσης πολυμερών*. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 2012.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΙΚΤΡΙΩΜΑΤΩΝ

4.1 Αποτελέσματα ιξωδομετρίας διαλύματος-Προσδιορισμός Μοριακού Βάρους

4.1.1 PLLA Resomer L210

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε μελέτη του ιξώδους με την τεχνική ιξωδομετρίας διαλύματος και μέσω του εσωτερικού ιξώδους προσδιορίστηκε το μοριακό βάρος των δειγμάτων σύμφωνα με την εξίσωση Mark-Houwling-Sakurada. Η ιξωδομετρία διαλύματος πραγματοποιήθηκε σε διαλύματα κόκκων και σκόνης πολυμερούς, σε διαλύματα πολυμερούς από μορφοποιημένα σε πρέσα πλακίδια από σκόνη PLLA καθώς και σε διαλύματα PLLA που προήλθαν από μορφοποιημένα ικτριώματα. Επίσης εφαρμόστηκαν και διαφορετικοί χρόνοι ανάδευσης για τη διάλυση του πολυμερούς και την προετοιμασία των διαλυμάτων, όπως 4 ώρες και 24 ώρες. Παρακάτω στον πίνακα 4.1 παρουσιάζονται τα εσωτερικά ιξώδη που υπολογίστηκαν για κάθε δείγμα του PLLA Resomer L210.

Πίνακας 4. 1: Εσωτερικά ιξώδη και μοριακά βάρη για τα δείγματα PLLA Resomer L210

PLLA Resomer L210 (0.2%)	$[\eta]$ dl/g	M_n (g/mol)
κόκκος*	3.86±0.01	188,237±332
κόκκος**	3.17±0.02	143,282±164
σκόνη*	3.26±0.004	149,444±242
σκόνη**	3.24±0.002	147,788±97
σκόνη-μορφοποιημένη σε πρέσα	3.21±0.004	146,312±270
40/60 PLLA/NaCl-ικρίωμα	3.01±0.004	133,903±267

*4 ώρες ανάδευση

**24 ώρες ανάδευση

Από τον πίνακα των τιμών του εσωτερικού ιξώδους παρατηρείται ότι το μεγαλύτερο εσωτερικό ιξώδες αντιστοιχεί στα διαλύματα των κόκκων του πολυμερούς με 4 ώρες ανάδευση, ενώ τα διαλύματα κόκκων με 24 ώρες ανάδευση παρουσιάζουν μικρότερο εσωτερικό ιξώδες. Φαίνεται πως ο χρόνος ανάδευσης επηρέασε την ιξωδομετρία, καθώς οι 4 ώρες ανάδευση μπορεί να μην ήταν επαρκείς για τη διάλυση του κόκκου στο διάλυμα. Η διάλυση ενός πολυμερούς σ' ένα διαλύτη περιλαμβάνει δύο διαδικασίες μεταφοράς, ονομαστικά τη διάχυση του διαλύτη και την απεμπλοκή των αλυσίδων. Το χλωροφόρμιο χρησιμοποιήθηκε ως καλός διαλύτης του πολυγαλακτικού οξέος. Με τον όρο 'καλός διαλύτης', περιγράφεται ο διαλύτης, που με κατάλληλη ανάδευση και θέρμανση, το πολυμερές μπορεί να διαλυθεί χωρίς την εμφάνιση ζελατινοποίησης. (Thuc-Quyen Nguyen, 2001. Στη συνέχεια, μικρότερα εσωτερικά ιξώδη παρουσιάζουν τα διαλύματα σκόνης, που έχει περάσει από τη συσκευή κονιοποίησης (pulveriser) και είναι σε μορφή πούδρας σε μέγεθος κόκκων περίπου 5 μ m, τα οποία δεν επηρεάζονται από τον χρόνο ανάδευσης τους. Ακολουθούν τα διαλύματα της μορφοποιημένης σκόνης του πολυμερούς στην πρέσα στους 200 °C για 7 min και τέλος το ικρίωμα, το οποίο παρουσιάζει το μικρότερο εσωτερικό ιξώδες συγκριτικά με τα άλλα δείγματα.

Ο προσδιορισμός του μοριακού βάρους έγινε χρησιμοποιώντας τις σταθερές του (J.R. Dorgan 2005) και του (A. Schindler 1979), επιλέχθηκαν όμως για τους υπολογισμούς οι σταθερές του Schindler, οι οποίες ανταποκρίνονταν καλύτερα στο σύστημα. Το PLLA Resomer L210 αναμένεται να έχει M_n 130.000 < M_n < M_w 380.000 σύμφωνα με (Ch. Schugens 1996), και χρησιμοποιώντας τις

σταθερές του Schindler, το προσδιοριζόμενο μοριακό βάρος προσεγγίζει το αναμενόμενο της βιβλιογραφίας.

Όσον αφορά το PLLA Resomer L210 παρατηρείται μια γραμμική μείωση του μέσου-ιξώδους μοριακού βάρους. Ο κόκκος του πολυμερούς παρουσιάζει το μεγαλύτερο μοριακό βάρος, στη συνέχεια η σκόνη του πολυμερούς, παρουσιάζει το αμέσως μικρότερο μοριακό βάρος. Στη συνέχεια, η σκόνη του πολυμερούς που έχει μορφοποιηθεί στην πρέσσα για 7 min στους 200 °C, παρουσιάζει μικρότερο μοριακό βάρος από τη σκόνη που δεν έχει μορφοποιηθεί, όμως η διαφορά στα μοριακά βάρη είναι πολύ μικρή, καθώς φαίνεται πως η θερμοπρέσσα δεν επηρεάζει σημαντικά το μοριακό βάρος του πολυμερούς. Τέλος το ικρίωμα παρουσιάζει το μικρότερο μοριακό βάρος σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα. Η μείωση του μοριακού βάρους του ικριώματος συγκριτικά με το βάρος της μορφοποιημένης σκόνης του πολυμερούς είναι της τάξης του 8% και οφείλεται στην υδρολυτική αποδόμηση των εστερικών δεσμών του πολυμερούς που υφίστανται κατά την έκπλυση του άλατος.

Οι διαφορές που παρατηρούνται στα μοριακά βάρη μεταξύ κόκκων και σκόνης του PLLA Resomer L210 οφείλονται στην επίδραση της κονιοποίησης. Η διαδικασία της κονιοποίησης των κόκκων του παρθένου PLLA, είναι μία μηχανική διαδικασία. Τα πολυμερή υπόκεινται σε θερμικά και μηχανικά φορτία τα οποία προκύπτουν από την τριβή στο μύλο και τα οποία θα μπορούσαν να έχουν επίδραση στο μοριακό βάρος του PLLA. Παρόλο, που έγινε χρήση υγρού αζώτου για να μειώνει τη θερμοκρασία και να προστατεύει το PLLA, είναι πιθανή η εμφάνιση μηχανισμών αποδόμησης στη χημική δομή του πολυμερούς. Έχει αναφερθεί ότι όσο μεγαλύτερη είναι η κρυσταλλικότητα του παρθένου πολυμερούς, τόσο πιο άκαμπτο είναι και χρειάζεται περισσότερη ενέργεια για να κονιοποιηθεί, κι επομένως αποδομείται σε μεγαλύτερο βαθμό. (Χίαογαν Yuan, 2001)

4.1.2 PLLA_PG

Για το PLLA_PG ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία που αναφέρθηκε παραπάνω για το PLLA Resomer L210 με τη διαφορά ότι κατασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 0.1% και 0.2% για κάθε περίπτωση. Παρακάτω στον πίνακα 4.3 παρουσιάζονται τα εσωτερικά ιξώδη που υπολογίστηκαν για κάθε δείγμα του PLLA_PG.

Πίνακας 4. 2: Εσωτερικά ιξώδη και μοριακά βάρη για τα δείγματα PLLA_PG

PLLA_PG	[η] dl/g	M _n (g/mol)
κόκκος 0.2%**	1.72±0.01	62,234±437
κόκκος 0.1%**	1.73±0.01	62,624±704
σκόνη 0.2%*	1.93±0.01	72,722±369
σκόνη 0.1%**	1.66±0.02	59,170±861
σκόνη 0.1%*	1.78±0.02	64,465±108
σκόνη 0.2%-μορφοποιημένη σε πρέσσα*	1.76±0.003	64,325±150
50/50 PLLA/NaCl 0.2% ικρίωμα*	1.79±0.02	62,685±450

*4 ώρες ανάδευση

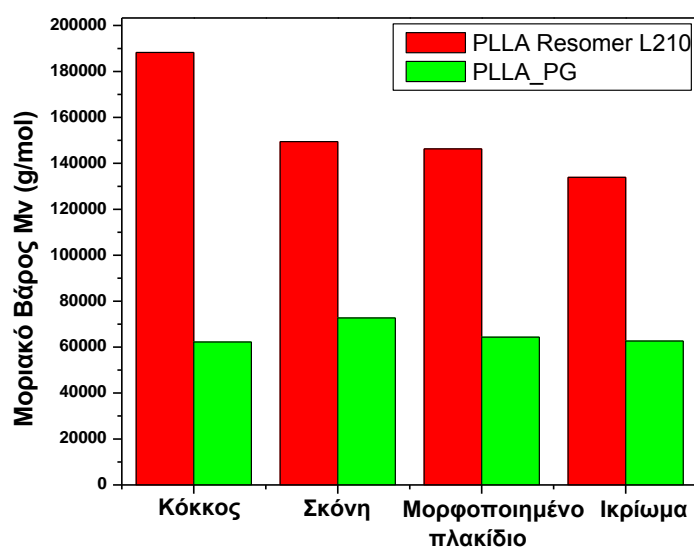
**24 ώρες ανάδευση

Από τον πίνακα των τιμών εσωτερικού ιξώδους παρατηρείται ότι το διάλυμα 0.2% σκόνης πολυμερούς με 4 ώρες ανάδευση παρουσιάζει το μεγαλύτερο εσωτερικό ιξώδες συγκριτικά με τα υπόλοιπα διαλύματα. Ακολουθούν τα διαλύματα του ικριώματος, τα διαλύματα 0.1% σκόνης πολυμερούς με 4 ώρες ανάδευση, τα διαλύματα 0.2% μορφοποιημένης σκόνης με 4 ώρες ανάδευση

και τέλος τα μικρότερα εσωτερικά ιξώδη παρουσιάζουν τα διαλύματα 0.1% και 0.2% με 24 ώρες ανάδευση και τα διαλύματα 0.1% σκόνης με 24 ώρες ανάδευση.

Όσον αφορά το πολυμερές PLLA_PG, τα μεγαλύτερα μοριακά βάρη υπολογίστηκαν από τα διαλύματα της σκόνης του πολυμερούς. Στη συνέχεια, μικρότερο μοριακό βάρος παρουσιάζει η σκόνη πολυμερούς που έχει μορφοποιηθεί στην πρέσσα για 7 min στους 200 °C και το ικρίωμα. Τέλος το μικρότερο μοριακό βάρος σε σύγκριση με τα υπόλοιπα παρουσιάζουν οι κόκκοι. Το μοριακό βάρος του PLLA_PG δείχνει να μην επηρεάζεται σημαντικά από την κωνιοποίηση, τη διαδικασία μορφοποίησης του πολυμερούς στην πρέσσα και τέλος την έκπλυση. Σε αντίθεση με το PLLA Resomer L210 που είναι μεγαλύτερου μοριακού βάρους πολυμερές, το PLLA_PG παρουσιάζει μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την επεξεργασία του.

Παρακάτω παρουσιάζεται ένα συγκριτικό διάγραμμα του μοριακού βάρους του PLLA Resomer L210 και του PLLA_PG που προσδιορίστηκε σύμφωνα με τις σταθερές Schindler για κάθε δείγμα όσον αναφορά διαλύματα συγκέντρωσης 0.2% με 4 ώρες ανάδευση.



Σχήμα 4. 1: Μοριακό βάρος δειγμάτων για το PLLA Resomer L210 και το PLLA_PG

4.2 Μελέτη ικριωμάτων PLLA κατά την έκπλυση σωματιδίων άλατος

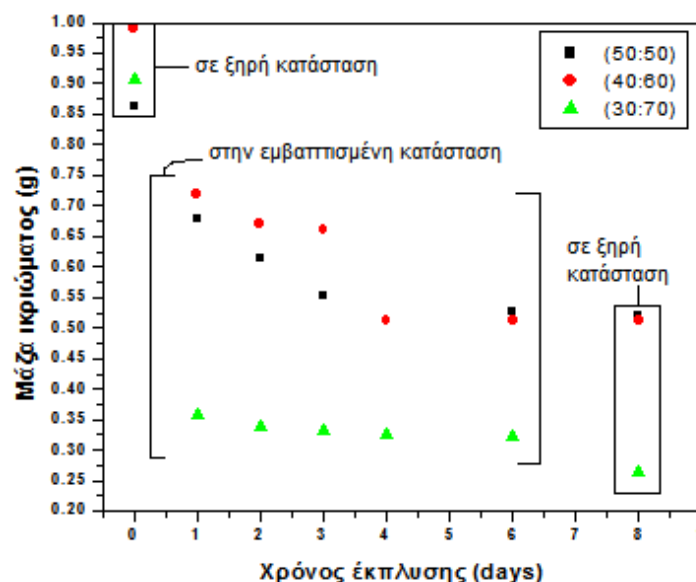
Για την κατασκευή των ικριωμάτων, μορφοποιήθηκε σκόνη πολυγαλακτικού οξέος με άλας χλωριούχου νατρίου στην πρέσσα για 7 min στους 200 °C προκειμένου να παρασκευαστούν πλακίδια διαστάσεων 1.5x1x0.2 cm. Επίσης, στην πρέσσα ασκήθηκε φορτίο της τάξης των 100 mbar. Αρχικά έγιναν δοκιμές κατασκευής πλακιδίων μόνο με πολυγαλακτικό οξύ στην πρέσσα προκειμένου να επιλεχθούν οι κατάλληλες συνθήκες μορφοποίησης.



Εικόνα 4. 1: Πλακίδιο από PLLA μορφοποιημένο στην πρέσσα στους 200 °C για 7 min

Όπως φαίνεται και από την εικόνα 4.1, το πλακίδιο εμφανίζει διαφάνεια σε αρκετά σημεία, ενώ στο κέντρο του πλακιδίου εμφανίζονται αρκετές φυσαλίδες, οι οποίες προέκυψαν από εγκλωβισμένο αέρα στο εσωτερικό του. Οι κόκκοι σκόνης που βρίσκονται στην επιφάνεια του πλακιδίου έρχονται άμεσα σε επαφή με τη θερμότητα των πλακών της πρέσσας με αποτέλεσμα να τήκονται γρηγορότερα απ' ό,τι οι κόκκοι σκόνης στο εσωτερικό. Το αποτέλεσμα είναι ο αέρας που υπάρχει ανάμεσα στους κόκκους της σκόνης να εγκλωβίζεται στο εσωτερικό του πλακιδίου και παρ' ό,τι ασκείται φορτίο από τις πλάκες, η επιφάνεια του πλακιδίου έχει τηχθεί, ο αέρας δεν έχει διέξοδο διαφυγής και δημιουργεί φυσαλίδες.

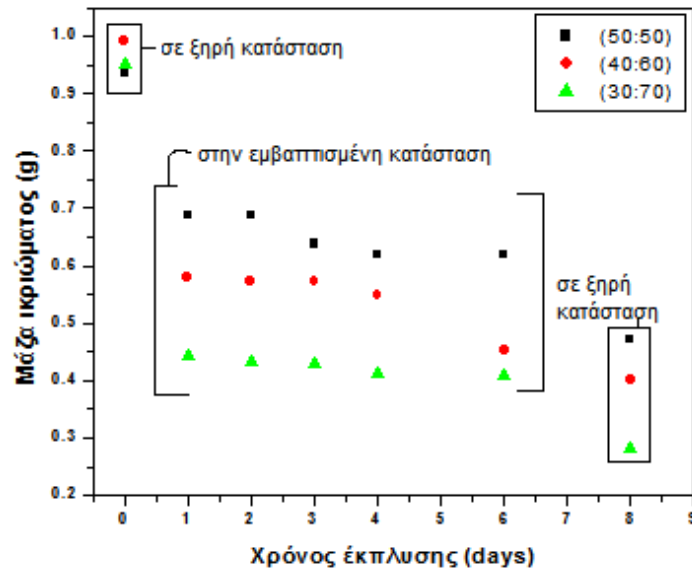
Για το PLLA Resomer L210 δοκιμάστηκαν τρεις αναλογίες PLLA:NaCl, 50:50, 40:60 και 30:70, αντίστοιχα έγινε και για το PLLA_PG. Η συνολική ποσότητα που ζυγίστηκε για την παρασκευή κάθε πλακιδίου ήταν 1g. Μετά τη μορφοποίηση στην πρέσσα, τα πλακίδια ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν στον ξηραντήρα μέχρι σταθεροποίησης του βάρους. Στη συνέχεια, εμβαπτίστηκαν σε υδατικό λουτρό για 6 ημέρες με καθημερινή παρακολούθηση του βάρους τους. Παρακάτω έχει κατασκευαστεί το διάγραμμα μάζας συναρτήσεως του χρόνου έκπλυσης των ικριωμάτων για το PLLA Resomer L210 και φαίνεται ο ρυθμός μείωσης της μάζας για την κάθε αναλογία.



Σχήμα 4. 2: Μάζα ικριώματος συναρτήσεως του χρόνου έκπλυσης για τις αναλογίες του PLLA Resomer L210

Όπως φαίνεται από το Διάγραμμα 2, τη μεγαλύτερη μείωση βάρους παρουσιάζει το ικρίωμα (30:70) καθώς από την 1^η μέρα έκπλυσης προσεγγίζει αρκετά την αρχική ποσότητα PLLA Resomer L210 που ζυγίστηκε για την κατασκευή του. Για τις αναλογίες 50:50 και 40:60, η σταθεροποίηση του βάρους επέρχεται μετά την 4^η μέρα έκπλυσης του άλατος. Όπως παρατηρείται όλες οι αναλογίες παρουσιάζουν σταδιακή μείωση του βάρους τους που οφείλεται στην απομάκρυνση του υδατοδιαλυτού άλατος. Καθώς το PLLA δεν είναι υδατοδιαλυτό, από τη διαδικασία έκπλυσης αναμένεται να απομακρυνθεί μόνο το NaCl από το ικρίωμα (A.G. Míkos 1994). Επίσης, το ικρίωμα 40:60 έχει βάρος 0.5116 g μετά το τέλος της έκπλυσης του. Αυτό σημαίνει πως κατά την έκπλυση δεν απομακρύνθηκε όλο το άλας, αλλά ένα μεγάλο ποσοστό άλατος είναι εγκλωβισμένο μέσα στο ικρίωμα, καθώς η αρχική ποσότητα πολυμερούς που ζυγίστηκε ήταν μόλις 0.4030g.

Παρακάτω έχει κατασκευαστεί το διάγραμμα μάζας συναρτήσεως του χρόνου έκπλυσης των ικριωμάτων για το PLLA_PG και φαίνεται ο ρυθμός μείωσης της μάζας για την κάθε αναλογία. Επίσης, τη μεγαλύτερη μείωση βάρους παρουσιάζει το ικρίωμα (30:70), στη συνέχεια το ικρίωμα (40:60) και τέλος το ικρίωμα (50:50).

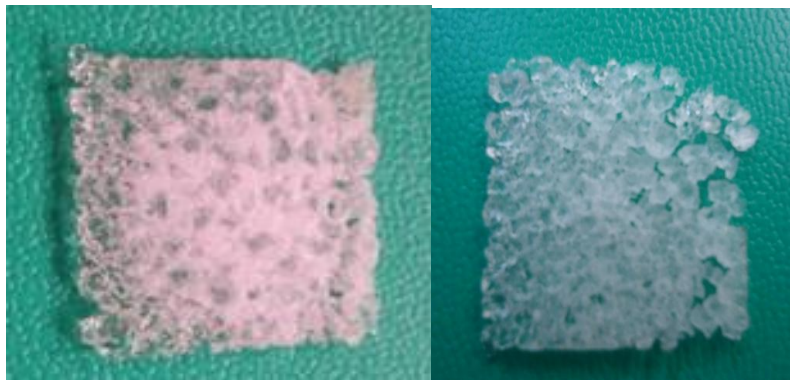


Σχήμα 4. 3: Μάζα ικριώματος συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης για τις αναλογίες του PLLA_PG

Παρακάτω παρουσιάζονται εικόνες από τα πλακίδια πριν την έκπλυση και τα ικριώματα μετά την έκπλυση για κάθε αναλογία PLLA:NaCl.



(α) (β)
Εικόνα 4. 2: Πλακίδιο PLLA:NaCl (α)40:60 και (β) 30:70 πριν την έκπλυση



(α) (β)
Εικόνα 4. 3: Ικρίωμα PLLA:NaCl (α) 50:50 και (β) 40:60



Εικόνα 4. 4: Ικρίωματα PLLA:NaCl αναλογίας 30:70

Το ικρίωμα 50:50 στην εικόνα 4.3 (α) παρατηρείται να έχει συμπαγή δομή, ενώ στο κέντρο έχει λευκό χρώμα που υποδεικνύει την ύπαρξη άλατος ακόμη, και μετά την έκπλυση. Αντίθετα στην εικόνα 3 (β), το ικρίωμα 40:60 είναι διαφανές σε όλο τον όγκο του, καθώς έχει εκπλυθεί μεγαλύτερο ποσοστό άλατος από το εσωτερικό του. Στην εικόνα 4.2 (β) παρουσιάζεται το πλακίδιο της αναλογίας 30:70 πριν την έκπλυση και στην εικόνα 4.4 μετά την έκπλυση. Η αναλογία του ικρίωματος 30:70 για το PLLA Resomer L210 και για το PLLA_PG παρουσιάζει το μικρότερο σταθεροποιημένο βάρος, το οποίο είναι ακόμη μικρότερο κι από την αρχική ποσότητα πολυμερούς που ζυγίστηκε για την κατασκευή του. Η αναλογία 30:70 περιέχει μικρή ποσότητα PLLA με αποτέλεσμα να υπάρχουν απώλειες υλικού κατά την έκπλυση, καθώς μετά την απομάκρυνση του άλατος η δομή του ικρίωματος δεν είναι συνεκτική σε κάποια σημεία όπως φαίνεται και στην εικόνα 4.3.

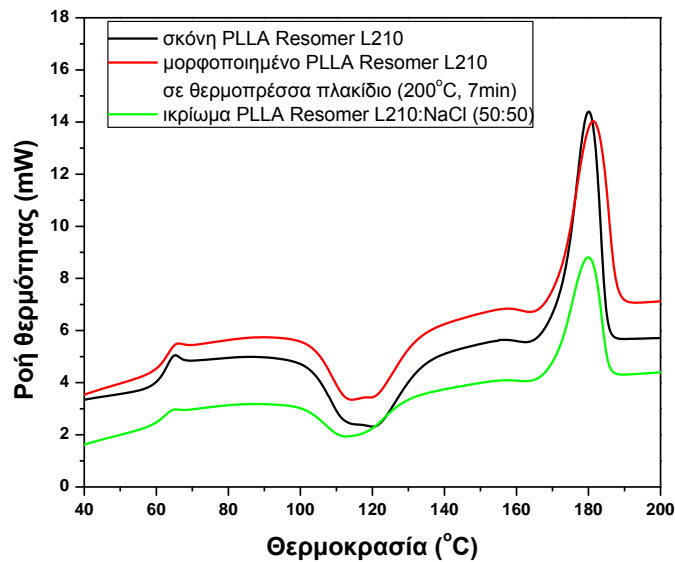
4.3 Αποτελέσματα Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC)

Η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC) εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό των θερμικών μεταπτώσεων των πολυμερών. Κατά τη διεξαγωγή των μετρήσεων, γίνεται καταγραφή της διαφοράς ροής θερμότητας μεταξύ του υπό εξέταση δείγματος και της αναφοράς, καθώς το προς μέτρηση δείγμα και το δείγμα αναφοράς θερμαίνονται και/ή ψύχονται με γραμμικό τρόπο σε ενιαίο χώρο (Α.Παππά 2004). Στα διαγράμματα παρατηρείται η υαλώδης μετάπτωση ως βηματική αλλαγή στη γραμμή βάσης, η κρυστάλλωση ως εξώθερμη κορυφή και η τήξη ως ενδόθερμη κορυφή. Από τα διαγράμματα αυτά είναι δυνατή η εύρεση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης T_g , της θερμοκρασίας μέγιστου ρυθμού κρυστάλλωσης T_c , της ενθαλπίας κρυστάλλωσης ΔH_c , της θερμοκρασίας μέγιστου ρυθμού τήξης T_m και της ενθαλπίας τήξης ΔH_m .

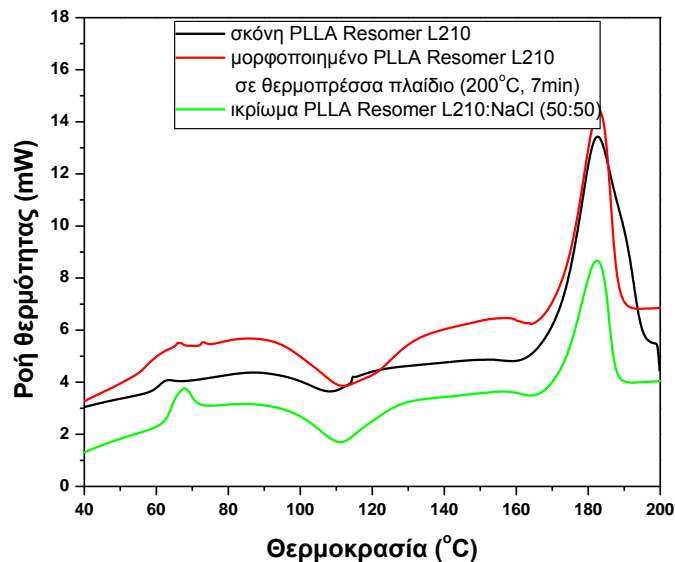
Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν δείγματα από σκόνη πολυμερούς, από πλακίδιο πολυμερούς που έχει μορφοποιηθεί στην πρέσσα κι από ικρίωμα, το οποίο έχει κατασκευαστεί με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων. Η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης πραγματοποιήθηκε σε αντίστοιχα δείγματα για το PLLA Resomer L210 και το PLLA_PG.

4.3.1 PLLA Resomer L210

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα του πρώτου και του δεύτερου κύκλου θέρμανσης και του κύκλου ψύξης για τα δείγματα του PLLA Resomer L210, καθώς και πίνακες αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την επεξεργασία των διαγραμμάτων.



Σχήμα 4. 4: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA Resomer L210



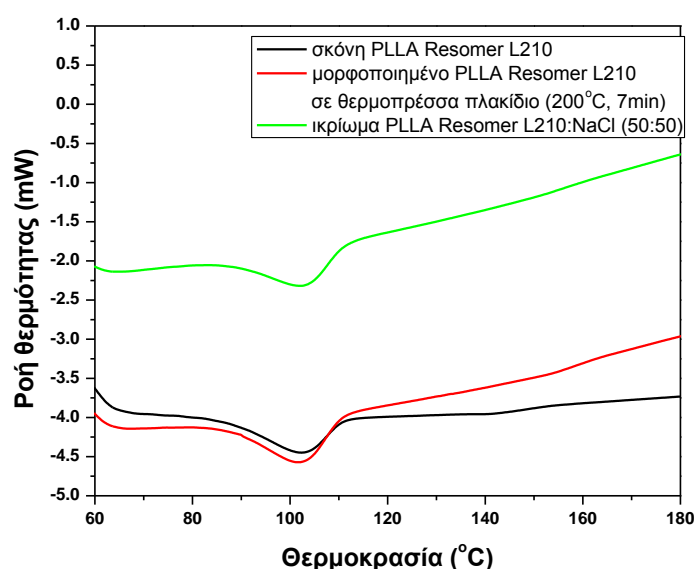
Σχήμα 4. 5: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA Resomer L210

Από τα σχήματα 4.4 και 4.5 και τους πίνακες 4.5 και 4.6 παρατηρείται πως η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης παρουσιάζει μικρές διαφορές για κάθε δείγμα. Για τον πρώτο κύκλο θέρμανσης, το ικρίωμα παρουσιάζει τη μεγαλύτερη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, ακολουθεί το μορφοποιημένο πολυμερές και τέλος η σκόνη του πολυμερούς. Η αύξηση της θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης είναι της τάξης του 1 °C για κάθε δείγμα. Στο δεύτερο κύκλο θέρμανσης, η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης είναι σχεδόν σταθερή. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης είναι χαρακτηριστική για κάθε πολυμερές, διότι εξαρτάται από το είδος των ατόμων που αποτελούν τον σκελετό του πολυμερούς, το είδος των πλευρικών ομάδων και την τοποθέτηση τους στο χώρο (W.D.Callister 2004). Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης για όλα τα δείγματα του PLLA Resomer L210 κυμαίνεται από 60 – 63 °C. Σύμφωνα με (J.F. Mano 2005) η θερμοκρασία υαλώδους του PLLA που χρησιμοποιείται για βιοϊατρικές εφαρμογές αναμένεται να είναι 60 – 65 °C.

Οι θερμοκρασίες τήξης των δειγμάτων παραμένουν σχεδόν σταθερές και για τους δυο κύκλους θέρμανσης. Το ικρίωμα παρουσιάζει την καμπύλη με το μικρότερο εμβαδόν τήξης κατά τον πρώτο και δεύτερο κύκλο θέρμανσης, που οφείλεται σε μικρότερη κρυσταλλικότητα συγκριτικά με

τα άλλα δείγματα. Όπως παρατηρείται από τους πίνακες η διαδικασία μορφοποίησης του πολυμερούς για να κατασκευαστεί το ικρίωμα μειώνει την κρυσταλλικότητα του.

Επίσης, στα διαγράμματα του πρώτου και του δεύτερου κύκλου θέρμανσης παρατηρείται μια εξώθερμη κορυφή, η οποία αντιστοιχεί στο φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης. Ψυχρή κρυστάλλωση είναι μια διαδικασία κατά την οποία οι αλυσίδες καθώς θερμαίνονται αποκτούν μικρή αλλά σημαντική ευκινησία που τις ωθεί να καταλάβουν πιο ευνοϊκές θέσεις και άρα αυξημένη κρυσταλλικότητα. Η κρυστάλλωση ενός πολυμερούς δεν είναι μια διαδικασία που γίνεται αυτόματα, αλλά χρειάζεται κάποιος χρόνος ώστε να δημιουργηθούν κάποιες πρώτες δομές οι λεγόμενοι πυρήνες κρυστάλλωσης. Το πολυμερές δε προλαβαίνει να κρυσταλλωθεί καθώς έχει αργό ρυθμό κρυστάλλωσης, με αποτέλεσμα η ανάπτυξη της κρυσταλλικότητας του να συμβαίνει κατά την τήξη. Η κρυστάλλωση είναι μια διαδικασία όπου δημιουργείται προσανατολισμένη στερεά φάση κατά την ψύξη υγρού τήγματος με τυχαία μοριακή δομή (πυρήνωσης και ανάπτυξη πυρήνων). Ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το βαθμό κρυσταλλικότητας είναι ο ρυθμός ψύξης, ο οποίος όπως φαίνεται από τα διαγράμματα δεν επέτρεψε την επαναφορά των αλυσίδων κατά την ψύξη. (B.Wunderlich 1958)



Σχήμα 4. 6: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για το PLLA Resomer L210

Από το σχήμα 4.6 και τον πίνακα 4.3 και 4.4, παρατηρείται πως η θερμοκρασία κρυστάλλωσης των εξεταζομένων δειγμάτων PLLA δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές, αλλά διαφέρει το εμβαδόν των καμπυλών κρυστάλλωσης. Το ικρίωμα παρουσιάζει τη μικρότερη κρυσταλλικότητα, ενώ τα δείγματα της σκόνης και της μορφοποιημένης σκόνης παρουσιάζουν παρόμοιο εμβαδόν των καμπυλών κρυστάλλωσης. Οι συνθήκες ανόπτησης μπορούν να επηρεάσουν τη μορφολογία και την κρυσταλλικότητα ενός πολυμερούς, έχοντας σημαντική επίδραση στις τελικές ιδιότητες του υλικού. Ακόμα και στις πιο ευνοϊκές περιπτώσεις είναι δύσκολο να επιτευχθεί κρυσταλλικότητα σε PLLA πάνω από 60%. Συνεπώς, το κλάσμα της άμορφης φάσης παίζει πολύ σημαντικό ρόλο για τις τελικές ιδιότητες του υλικού (H. Tsuji 1995). Στις βιοϊατρικές εφαρμογές αυτό είναι πολύ σχετικό, καθώς όπως αναφέρθηκε η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του PLLA κυμαίνεται από 60 – 65 °C και δεν απέχει πολύ από τη φυσιολογική θερμοκρασία του οργανισμού, δηλαδή τους 37 °C. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα πως σε οποιοδήποτε υλικό με βάση το PLLA που προορίζεται για εμφύτευμα, το άμορφο κλάσμα του θα είναι σε υαλώδη κατάσταση, διότι πάντα θα βρίσκεται σε θερμοκρασία κάτω από αυτή της υαλώδους μετάπτωσης. (J.F. Mano 2005)

Πίνακας 4. 3: Αποτελέσματα ενθαλιπών τήξης και κρυστάλλωσης για το PLLA Resomer L210

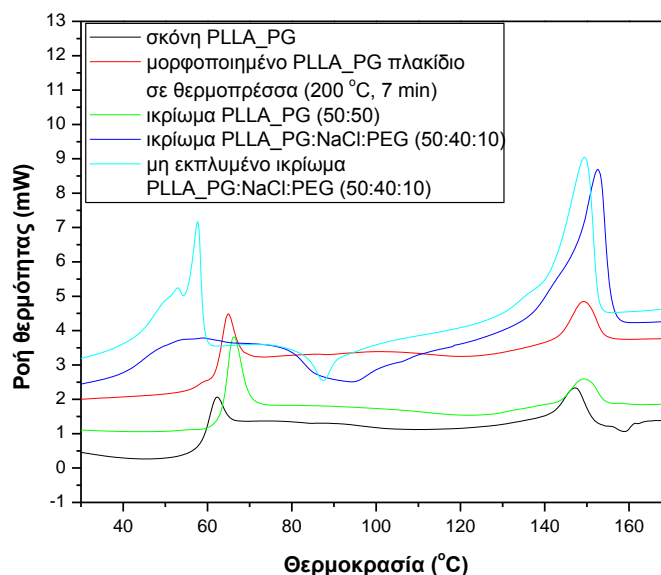
Δείγμα PLLA Resomer L210	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	Κύκλος ψύξης
	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	
	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_m (J/g)	ΔH_m (J/g)	ΔH_c (J/g)
Σκόνη	-7.50±0.23	-34.31±0.62	55.69±0.11	35.25±0.99	-3.07±0.23
Μορφοποιημένο πλακίδιο (200 °C, 7 min)	27.29±0.36	-34.04±0.52	40.32±0.95	37.93±0.43	-4.19±0.52
Ικρίωμα	-26.91±0.74	-27.97±0.03	38.09±1.13	34.48±2.39	-6.10±0.74

Πίνακας 4. 4: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης, τήξης και κρυστάλλωσης για το PLLA Resomer L210

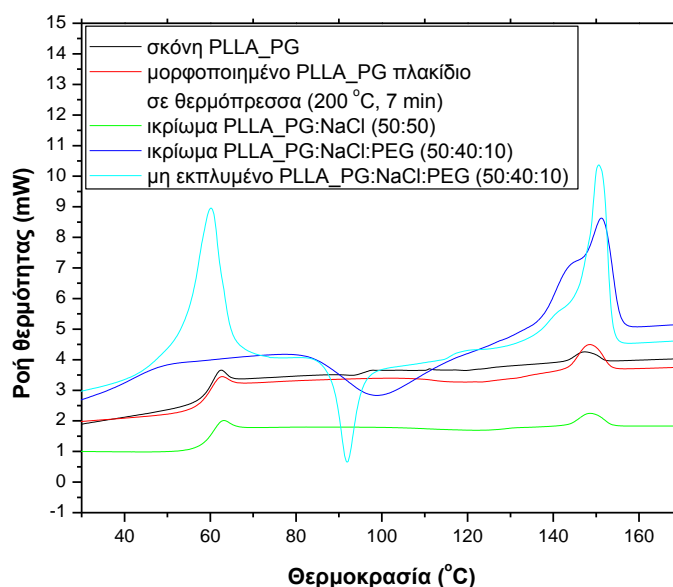
Δείγμα PLLA Resomer L210	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	Κύκλος ψύξης
	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	
	T_g (°C)	T_g (°C)	T_{cc} (°C)	T_{cc} (°C)	T_m (°C)	T_m (°C)	T_c (°C)
Σκόνη	60.2±0.00	61.4±0.13	108.4±0.36	120.3±0.35	181.9±0.40	179.4±0.15	102.5±0.37
Μορφοποιημένο πλακίδιο (200 °C, 7 min)	61.9±1.07	62.2±0.25	112.2±1.4	114.8±0.23	182.2±0.91	180.7±0.29	102.3±0.22
Ικρίωμα	63.0±0.20	61.4±0.17	111.1±0.21	113.1±1.32	181.9±0.16	179.4±0.32	102.8±0.30

4.3.2 PLLA_PG

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα σχήματα του πρώτου, δεύτερου κύκλου θέρμανσης και του κύκλου ψύξης για τα δείγματα του PLLA_PG και οι πίνακες που προέκυψαν από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων.



Σχήμα 4. 7: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA_PG



Σχήμα 4. 8: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα του PLLA_PG

Από τα σχήματα 4.7 και 4.8 και τον πίνακα 4.7 παρατηρείται πως η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης παρουσιάζει μικρές διαφορές για τα δείγματα του PLLA_PG που δεν έχει γίνει προσθήκη της PEG. Στον πρώτο κύκλο θέρμανσης, η σκόνη πολυμερούς παρουσιάζει τη μικρότερη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, ενώ στο μορφοποιημένο πλακίδιο αυξάνεται κατά 3 °C. Το ικρίωμα παρουσιάζει κατά 6 °C μεγαλύτερη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης από τη σκόνη του πολυμερούς. Για τα δείγματα αυτά, στο δεύτερο κύκλο θέρμανσης η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης παρουσιάζει τιμές από 58-60 °C. Γενικά παρατηρείται πως η προσθήκη σωματιδίων άλατος και η διαδικασία μορφοποίησης του πολυμερούς δεν μετατοπίζει σημαντικά τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης.

Στη θερμοκρασιακή περιοχή 55-75 °C παρατηρείται μια κορυφή γύρω από τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης των δειγμάτων PLLA_PG. Αυτή η κορυφή οφείλεται στη φυσική γήρανση του υλικού. Είναι γνωστό πως ότι τα άμορφα υλικά δεν βρίσκονται σε θερμοδυναμική ισορροπία σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από την θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης. Ως σταθεροποιημένα υγρά έχουν υψηλότερη εντροπία, όγκο κ.α. από ότι έχουν στην κατάσταση ισορροπίας. Διαφορετικές μελέτες έχουν δείξει ότι κάτω από την θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης η μοριακή κινητικότητα δεν είναι μηδενική αλλά υπάρχει μια σταδιακή και βαθμιαία προσέγγιση στην ισορροπία. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται φυσική γήρανση και αλλάζει αρκετές από τις ιδιότητες του υλικού.

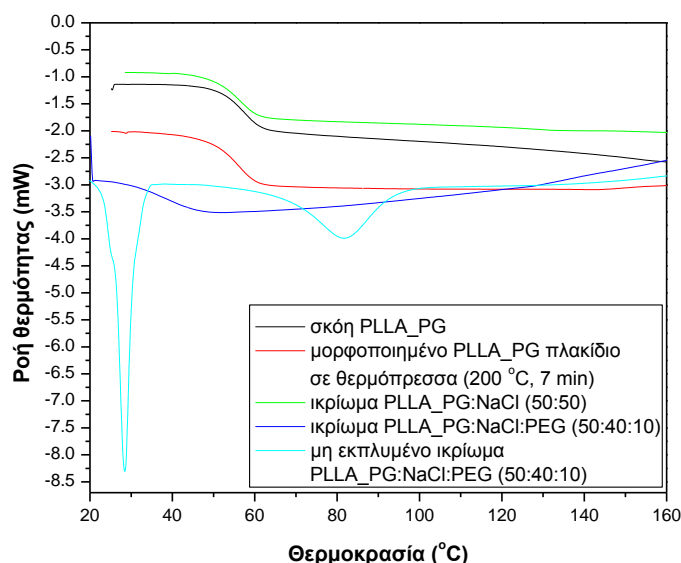
Στην πραγματικότητα η φυσική γήρανση είναι μια συνέχεια της υαλοποίησης σε θερμοκρασίες κοντά στην θερμοκρασία της υαλώδους μετάβασης. Επομένως θα επηρεάζει όλες εκείνες τις ιδιότητες που εξαρτώνται από την θερμοκρασία και υφίστανται δραματικές αλλαγές στην θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης. Κατά την διάρκεια της γήρανσης το υλικό υαλοποιείται, γίνεται πιο δύσκαμπτο και εύθραυστο, και μειώνονται σταδιακά οι τάσεις ερπυσμού, χαλάρωσης καθώς και οι διηλεκτρικές σταθερές.

Από τα διαγράμματα κύκλων θέρμανσης παρατηρείται μετατόπιση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης για τα δείγματα του PLLA_PG με προσθήκη PEG. Σύμφωνα με τον πίνακα 4.8, το εκπλυμένο ικρίωμα 47.1 °C και 44.8 °C, ενώ το μη εκπλυμένο ικρίωμα εμφανίζει μια ενδόθερμη κορυφή στο θερμοκρασιακό εύρος των 55-65 °C. Αυτή η κορυφή συμπίπτει με τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του PLLA κι οφείλεται στην προσθήκη της PEG. Το μη εκπλυμένο ικρίωμα παρουσιάζει μια ενδόθερμη κορυφή κοντά σε θερμοκρασία 60 °C, την οποία δεν παρουσιάζουν τα δείγματα απουσίας της PEG. Αυτό οφείλεται στην τήξη της PEG που συμβαίνει κοντά στους 60 °C και κατά τη θέρμανση του ικριώματος δεν εμφανίζεται η ξεκάθαρη βηματική αλλαγή της θερμοκρασίας

υαλώδους μεταπτώσης, αλλά μια κορυφή η οποία οφείλεται σε ενδόθερμα φαινόμενα χαλάρωσης. Ο συμβολισμός Tendothermal transition χρησιμοποιείται γιατί στο θερμοκρασιακό αυτό εύρος πραγματοποιούνται δύο ενδόθερμες διαδικασίες, η τήξη της PEG και η υαλώδης μετάβαση του PLLA. Το γεγονός αυτό παρατηρείται ξεκάθαρα στο ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG, το οποίο μετά τη διαδικασία έκπλυσης δεν εμφανίζει έντονα αυτή την κορυφή, καθώς η PEG έχει εκπλυθεί αλλά εμφανίζει T_g στους 47.1 °C, θερμοκρασία αρκετά μικρότερη θερμοκρασία από τη T_g του PLLA_PG. Κατά την προσθήκη της PEG σε πολυμερή αυξάνεται η ευκαμψία των μορίων και προκαλείται μείωση του T_g . Αυτό συμβαίνει με την προσθήκη της PEG, τα μόρια της εισέρχονται στην πολυμερική μήτρα και διαχωρίζουν τις αλυσίδες μειώνοντας τις διαμοριακές έλξεις. Αποτέλεσμα είναι όσο ισχυρότερες οι δυνάμεις μεταξύ των πολυμερών τόσο εντονότερο το φαινόμενο

Για τη θερμοκρασία τήξης, δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά στις τιμές των δειγμάτων του PLLA_PG χωρίς PEG. Για το πρώτο κύκλο θέρμανσης, ικρίωμα παρουσιάζει την μικρότερη κρυσταλλικότητα συγκριτικά με τα άλλα δείγματα, αλλά για το δεύτερο κύκλο θέρμανσης η μικρότερη κρυσταλλικότητα αντιστοιχεί στο δείγμα της σκόνης και η μεγαλύτερη αντιστοιχεί στο μορφοποιημένο δείγμα. Γενικά, το PLLA_PG είναι μικρότερου μοριακού βάρους καθώς μικρότερης κρυσταλλικότητας συγκριτικά με το PLLA Resomer L210. Επίσης, από τον πίνακα 4.6 παρατηρείται πως το μη εκπλυμένο ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG εμφανίζει μεγαλύτερη κρυσταλλικότητα συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα. Για τον πρώτο κύκλο θέρμανσης το ποσοστό της κρυσταλλικότητας του ικριώματος PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10) είναι 5.5 φορές μεγαλύτερο από το ποσοστό των άλλων δειγμάτων, ενώ για το δεύτερο κύκλο θέρμανσης το ποσοστό είναι 7-10 φορές μεγαλύτερο από το ποσοστό των άλλων δειγμάτων. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι η προσθήκη της PEG πιθανότατα αυξάνει την κινητικότητα των πολυμερικών αλυσίδων κι αυξάνει το βαθμό κρυστάλλωσης μειώνοντας την ενέργεια, που απαιτείται κατά τη διαδικασία της κρυστάλλωσης για την αναδίπλωση των αλυσίδων. (Feng-Jiao 2015)

Ακόμα μια σημαντική διαφορά που παρατηρείται από τα διαγράμματα των κύκλων θέρμανσης είναι το φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης κατά την θέρμανση που εμφανίζουν τα δείγματα PLLA_PG:NaCl:PEG εν αντιθέση με τα υπόλοιπα. Πιο συγκεκριμένα το φαινόμενο είναι πιο έντονο στο δείγμα του μη εκπλυμένου ικριώματος του PLLA_PG:NaCl:PEG. Αυτό υποδεικνύει πως η PEG επιτρέπει το σχηματισμό κρυστάλλων κατά τη θέρμανση, καθώς ο γρήγορος ρυθμός ψύξης δεν ευνοεί την κρυστάλλωση των δειγμάτων PLLA_PG. Κατά την ψυχρή κρυστάλλωση εμφανίζεται μικρή αλλά σημαντική κινητικότητα των αλυσίδων του πολυμερούς. Η κινητικότητα αυτή συμβάλει στην κατάληψη ευνοϊκότερων θέσεων και στην περαιτέρω ανάπτυξη κρυσταλλικότητας.



Σχήμα 4. 9: Συγκριτικές καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για το PLLA_PG

Από το σχήμα 4.9, παρατηρείται πως το πολυμερές δεν παρουσιάζει θερμοκρασία κρυστάλλωσης κατά την ψύξη και αντίστοιχα την εξώθερμη κορυφή της κρυστάλλωσης, που οφείλεται σε γρήγορο ρυθμό ψύξης του πολυμερούς με αποτέλεσμα να μην προλαβαίνουν οι αλυσίδες να διαταχθούν. Όπως φαίνεται από το σχήμα 4.9, το πολυμερές παρ' ότι ψύχεται δεν προλαβαίνει να κρυσταλλωθεί και παραμένει σε άμορφη φάση. Οι (T. Miyata 1998) μελέτησαν τη μη ισοθερμική κρυστάλλωση του PLLA σε διαφόρους ρυθμούς ψύξης από 0.5 μέχρι 20 °C min⁻¹. Το ποσοστό της κρυσταλλικότητας που αναπτύσσεται στο PLLA εξαρτάται από το ρυθμό ψύξης και τα δείγματα που ψύχθηκαν με ρυθμό ίσο και μεγαλύτερο από 10 °C min⁻¹ δε μπόρεσαν να κρυσταλλωθούν και παρέμειναν σε άμορφη φάση.

Όσον αναφορά το μη εκπλυμένο ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG παρατηρείται πως η προσθήκη της PEG προκαλεί κρυστάλλωση στο πολυμερές. Το ικρίωμα που δεν έχει εκπλυθεί, συνεπώς περιέχει PEG και χλωριούχο νάτριο, παρουσιάζει δύο εξώθερμες κορυφές σε αντίθεση με τη σκόνη, το μορφοποιημένο πλακίδιο και το ικρίωμα του PLLA_PG:NaCl που δεν κρυσταλλώνουν κατά την ψύξη, αλλά ούτε και το ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG μετά την απομάκρυνση της PEG και του άλατος δεν παρουσιάζει κορυφή κρυστάλλωσης. Γεγονός που υποδεικνύει ότι η ύπαρξη της PEG είναι αυτή που επιφέρει κρυστάλλωση στις αλυσίδες του πολυμερούς. Οι δύο κορυφές που παρουσιάζει το μη εκπλυμένο οφείλονται στην ύπαρξη της PEG, η οποία κρυσταλλώνει στους 29.5 °C, ενώ το πολυμερές φαίνεται να μην κρυσταλλώνει κατά την ψύξη με αυτό το ρυθμό, παρ' όλα αυτά εμφανίζει μια δεύτερη κορυφή στους 82.2 °C.

Όπως είναι φανερό η προσθήκη της PEG στο ικρίωμα παρουσιάζει σημαντικές διαφορές από τα υπόλοιπα δείγματα του PLLA_PG όσον αναφορά τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, το ποσοστό της κρυσταλλικότητας και την εμφάνιση του φαινομένου της ψυχρής κρυστάλλωσης. Γενικά, η επιλογή πλαστικοποιητή εξαρτάται από παραμέτρους όπως η φύση της μήτρας, το είδος και η βέλτιστη ποσότητα εισαγωγής, η θερμική σταθερότητα στη θερμοκρασία μορφοποίησης των ικριωμάτων. Η επιλογή της ποσότητας θα πρέπει να είναι η κατάλληλη ώστε να μειώνεται ουσιαστικά η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης της μήτρας PLA και να επιτυγχάνονται οι κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες. Όσον αναφορά την επίδραση του μοριακού βάρους, οι χαμηλού μοριακού βάρους πλαστικοποιητές εμφανίζουν φαινόμενα μετανάστευσης εξαιτίας της υψηλής κινητικότητάς τους στην πολύ(γαλακτική) μήτρα. Σε βιοιατρικές εφαρμογές, η υψηλή κινητικότητα των αλυσίδων δεν είναι επιθυμητό χαρακτηριστικό, γι' αυτό και χρησιμοποιούνται πλαστικοποιητές με υψηλότερο μοριακό βάρος. Οι σχετικά χαμηλού μοριακού βάρους πλαστικοποιητές οδηγούν σε επιθυμητή μείωση του συντελεστή Young και σε αύξηση της αντοχής σε κρούση. (F.Hassouna 2011)

Πίνακας 4. 5: Αποτελέσματα ενθαλπών τήξης για τα δείγματα PLLA_PG

Δείγμα PLLA_PG	1 ^{ος} Κύκλος	2 ^{ος} Κύκλος
	Θέρμανσης	Θέρμανσης
	ΔH_m (J/g)	ΔH_m (J/g)
Σκόνη	5.75±0.13	0.92±0.25
Μορφοποιημένο πλακίδιο (200 °C, 7 min)	7.00±0.51	3.99±0.32
Ικρίωμα PLLA_PG:NaCl (50:50)	5.69±0.46	2.48±0.27

Κεφάλαιο 4: Χαρακτηρισμός ικριωμάτων

Πίνακας 4. 6: Αποτελέσματα ενθαλπών ψυχρής κρυστάλλωσης, τήξης και κρυστάλλωσης για τα δείγματα PLLA_PG με προσθήκη PEG

Δείγμα PLLA_PG:NaCl:PEG	1 ^{ος} Κύκλος	2 ^{ος} Κύκλος	1 ^{ος} Κύκλος	2 ^{ος} Κύκλος	Κύκλος ψύξης
	Θέρμανσης	Θέρμανσης	Θέρμανσης	Θέρμανσης	
	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_m (J/g)	ΔH_m (J/g)	ΔH_c (J/g)
Ικρίωμα					
PLLA_PG:NaCl:PEG (50:40:10)	16.21±0.37	22.47±2.98	29.35±2.33	23.90±04.12	-
Μη εκπλυμένο ικρίωμα					
PLLA_PG:NaCl:PEG (50:40:10)	16.89±0.04	7.31±1.78	33.05±0.00	32.64±0.00	-13.28±0.00
PEG _{3.000}	-	-	199.16±7.00	143.94±4.72	163.99±2.23

Πίνακας 4. 7: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης και τήξης για τα δείγματα PLLA_PG

Δείγμα PLLA_PG	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος
	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης
	T_g (°C)	T_g (°C)	T_m (°C)	T_m (°C)
Σκόνη	58.4±0.7	59.3±0.09	147.6±0.69	147.4±0.31
Μορφοποιημένο πλακίδιο (200 °C, 7 min)	61.4±1.68	58.6±0.45	149.0±0.23	148.3±0.01
Ικρίωμα PLLA_PG:NaCl (50:50)	64.3±1.12	60.1±0.63	149.1±0.96	148.4±0.56

Πίνακας 4. 8: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης και τήξης για τα δείγματα PLLA_PG με προσθήκη PEG

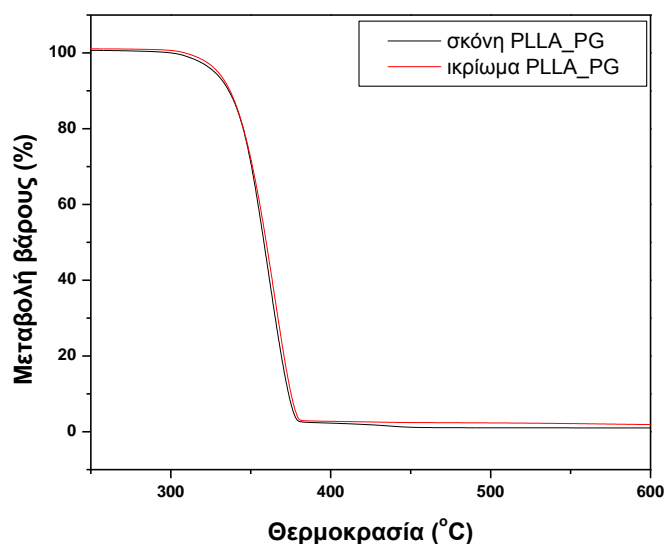
Δείγματα PLLA_PG:NaCl:PEG	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος
	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης	θέρμανσης
	T_g (°C)	T_g (°C)	T_m (°C)	T_m (°C)
Ικρίωμα				
PLLA_PG:NaCl:PEG (50:40:10)	47.1±1.12	44.8±0.04	151.5±0.96	150.8±0.08
	$T_{endotrans}$ (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	
Μη εκπλυμένο ικρίωμα				
PLLA_PG:NaCl:PEG (50:40:10)	60.3±0.49	52.9±0.00	57.5±0.01	150.7±0.73
PEG _{3.000}				61.1±0.39

Πίνακας 4. 9: Αποτελέσματα θερμοκρασιών ψυχρής κρυστάλλωσης και κρυστάλλωσης για τα δείγματα PLLA_PG με προσθήκη PEG

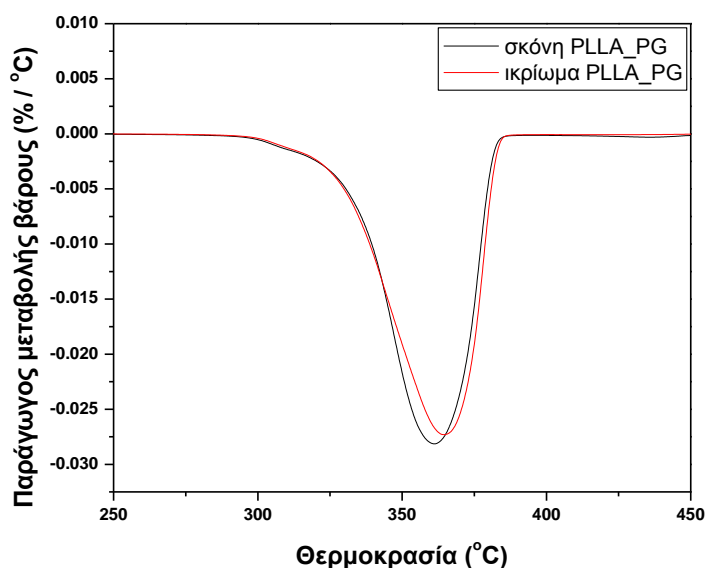
Δείγματα PLLA_PG:NaCl:PEG	1 ^{ος} κύκλος	2 ^{ος} κύκλος	Κύκλος ψύξης	
	θέρμανσης	θέρμανσης	ψύξης	
	T_{cc} (°C)	T_{cc} (°C)	T_c (°C)	T_c (°C)
Ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG (50:40:10)				
	94.2±0.13	100.9±2.6	-	-
Μη εκπλυμένο ικρίωμα				
PLLA_PG:NaCl:PEG (50:40:10)	92.2±0.37	87.3±0.12	T_{c1} (°C) 29.4±0.91	T_{c2} (°C) 82.2±0.35
PEG _{3.000}			29.5±0.86	

4.4 Αποτελέσματα Θερμοβαρυμετρικής Ανάλυσης (TGA)

Η θερμοβαρυμετρική ανάλυση έγινε σε δείγμα σκόνης PLLA_PG και ικριώματος κατασκευασμένο από PLLA_PG. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τη μελέτη της θερμικής σταθερότητας του υλικού μέσω της μεταβολής του βάρους του με την αύξηση της θερμοκρασίας και για να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με την διαδικασία έκπλυσης άλατος που υπέστη το ικρίωμα. Με συνεχή καταγραφή της μεταβολής του βάρους του συναρτήσει της θερμοκρασίας λαμβάνεται η καμπύλη μεταβολής του βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας και φέρονται οι εφαπτόμενες γραμμές στο σημείο πριν την έναρξη της αποδόμησης και στο σημείο όπου επιτυγχάνεται ο μέγιστος ρυθμός αποδόμησης. Η τομή των εφαπτόμενων αυτών γραμμών ορίζει τη θερμοκρασία έναρξης αποδόμησης, T_{onset} . Στη συνέχεια, γίνεται η γραφική παράσταση της πρώτης παραγώγου της καμπύλης βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας του, που αντιστοιχεί στο ρυθμό μεταβολής του βάρους του δείγματος κατά τη θέρμανσή του. Το ακρότατο της καμπύλης αυτής αντιστοιχεί στη θερμοκρασία μέγιστου ρυθμού αποδόμησης T_{peak} . (Α.Παππά 2004) Παράλληλα με τα παραπάνω μεγέθη, γίνεται προσδιορισμός του υπολείμματος της καύσης της σκόνης του PLLA_PG και του ικριώματος.



Σχήμα 4. 10: Η μεταβολή του βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας κατά τη δοκιμή TGA σκόνης και ικριώματος από PLLA_PG



Σχήμα 4. 11: Η παράγωγος μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας κατά τη δοκιμή TGA σκόνης και ικριώματος από PLLA_PG

Από το σχήμα 4.10 παρατηρείται πως η μορφοποίηση του PLLA_PG κατά την κατασκευή του ικριώματος δεν επηρέασε σημαντικά τη θερμική σταθερότητα του πολυμερούς. Το πολυμερές φαίνεται πως διατηρεί τις θερμικές του ιδιότητες σε μεγάλο βαθμό. Το ικρίωμα παρουσιάζει μια μικρή βελτίωση των θερμικών ιδιοτήτων, η οποία παρατηρείται με τη μικρή διαφορά που εμφανίζει από την καμπύλη της σκόνης.

Από τα σχήματα 4.10 και 4.11 και τον πίνακα 4.10 παρατηρείται μια μικρή αύξηση της θερμοκρασίας έναρξης της θερμικής αποδόμησης του ικριώματος, ενώ ο μέγιστος ρυθμός αποδόμησης παρουσιάζει μείωση συγκριτικά με τη σκόνη του PLLA_PG. Το υπόλειμμα καύσης του ικριώματος παρουσιάζει μια μικρή αύξηση, η οποία πιθανότατα οφείλεται σε υπόλειμμα άλατος, το οποίο δεν εκπλύθηκε κατά τη διαδικασία έκπλυσης.

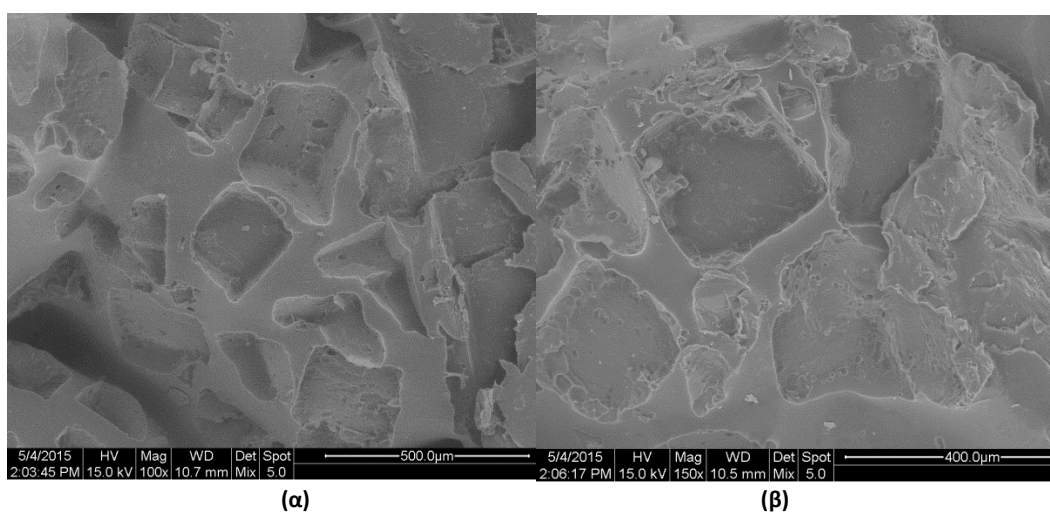
Πίνακας 4. 10: Αποτελέσματα θερμοκρασίας έναρξης αποδόμησης, μέγιστου ρυθμού αποδόμησης και υπολείμματος για τη σκόνη και το ικρίωμα από PLLA_PG

Δείγματα από PLLA_PG	Θερμοκρασία έναρξης αποδόμησης T_{onset} (°C)	Θερμοκρασία μέγιστου ρυθμού αποδόμησης T_{peak} (°C)	Υπόλειμμα (%)
Σκόνη	337.4±1.75	363.9±2.7	1.13±1.17
ικρίωμα	340.0±0.87	361.4±3.02	1.87±0.84

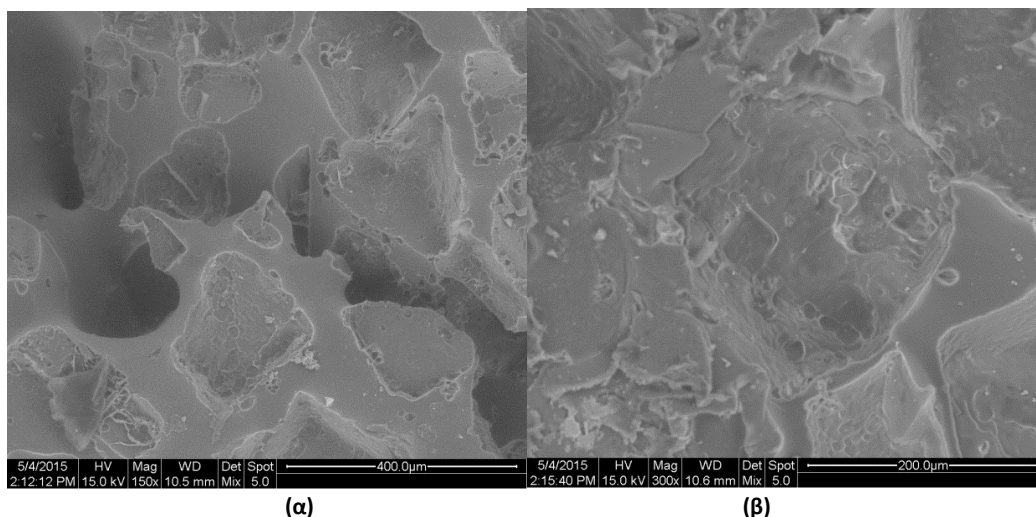
4.5 Αποτελέσματα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM)

Με την τεχνική της Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης λαμβάνονται πληροφορίες για τη διαμόρφωση των επιφανειών των ικριωμάτων και συγκεκριμένα των πόρων και της διασυνδεσιμότητάς τους. Όπως αναφέρθηκε και στην πειραματική διαδικασία, τα ικρίωμα υπέστησαν κρουογενική θραύση με τη χρήση υγρού αζώτου, προκειμένου να σπάσουν χωρίς να τραυματιστεί η δομή της επιφάνειας της τομής τους. Από το κάθε δοκίμιο, ελήφθησαν εικόνες από την κάτω επιφάνεια, η οποία έχει λεία όψη, από την άνω επιφάνεια, η οποία έχει τραχειά όψη και από την τομή του κάθε δοκιμίου. Παρακάτω παρουσιάζονται εικόνες των ικριωμάτων για τις διάφορες αναλογίες που παρασκευάστηκαν από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM).

4.5.1 PLLA Resomer L210:NaCl, 50:50

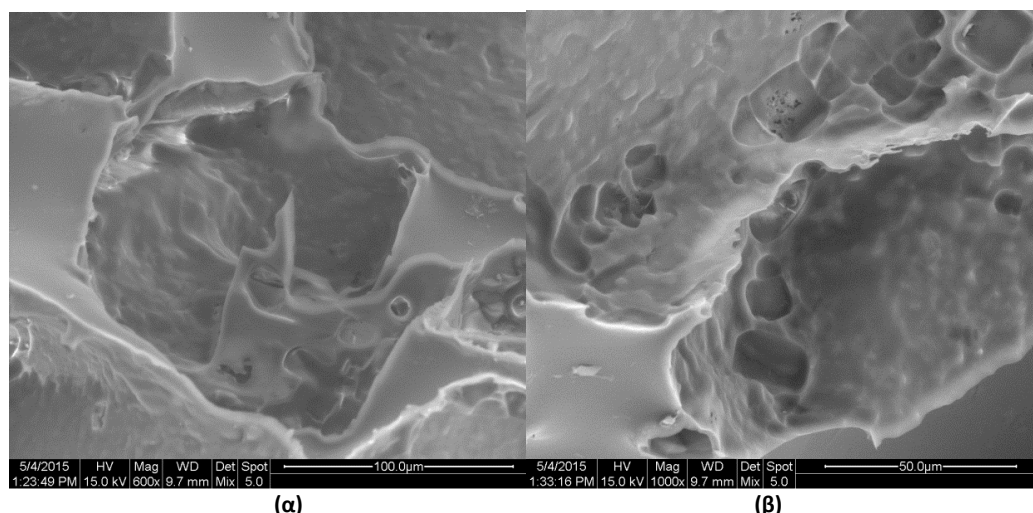


Εικόνα 4. 5: Μικροφωτογραφίες SEM από την άνω επιφάνεια ικριώματος (50:50) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×100 και (β)×150



Εικόνα 4. 6: Μικροφωτογραφίες SEM από την άνω επιφάνεια ικριώματος (50:50) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×150 και (β)×300

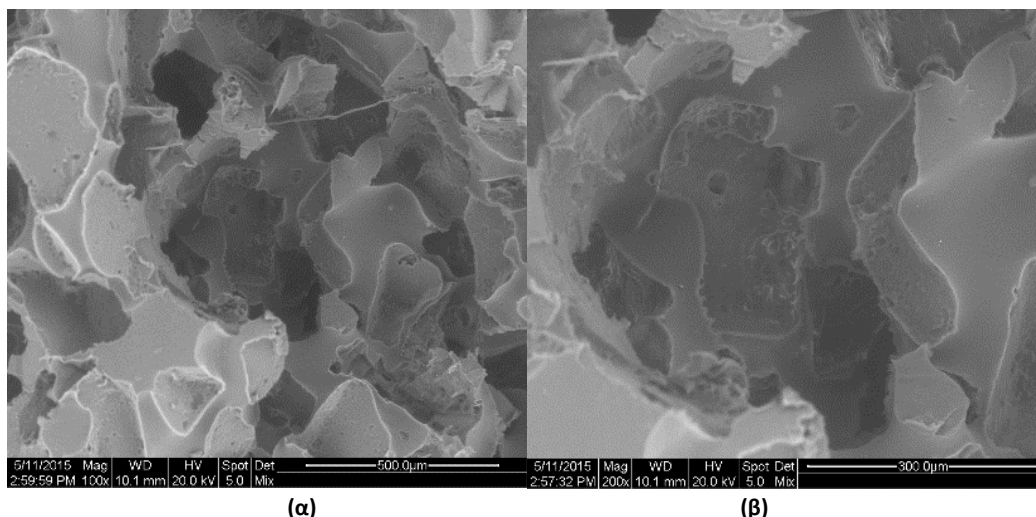
Οι εικόνες 4.5 και 4.6 προέρχονται από την άνω επιφάνεια του ικριώματος, η (β) φωτογραφία είναι μεγέθυνση της (α) και φαίνονται οι κενές θέσεις που προέκυψαν από την έκπλυση άλατος. Παρατηρούνται πολλές εμφανείς διαμορφώσεις με σχήμα ορθογώνιου παραλληλεπίπεδου, που προέρχονται από τα σωματίδια NaCl, που έχουν εκπλυθεί και μικρούς διασυνδεδεμένους πόρους ανάμεσα στα κενά, που έχουν δημιουργηθεί από τη σκόνη αλατιού. (Ch. Yong Sang 2013)



Εικόνα 4. 7: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (50:50) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×600 και (β)×1000

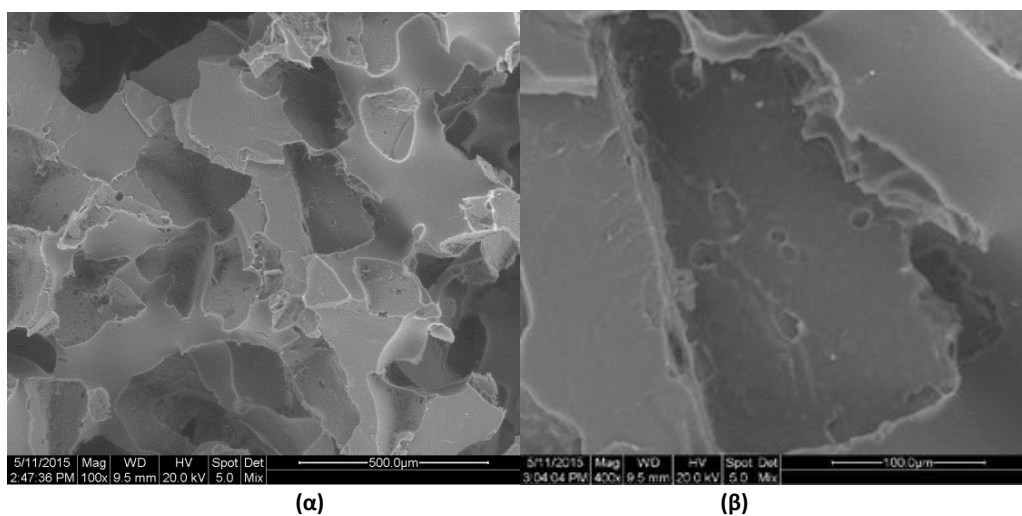
Η εικόνα 4.7 προέρχεται από την τομή του ικριώματος και η (β) είναι μεγέθυνση της (α). Στην (β) φωτογραφία, η οποία έχει μεγαλύτερη ανάλυση παρατηρούνται πόροι μικρού μεγέθους διασυνδεδεμένοι μεταξύ τους και δημιουργούν στην εσωτερική επιφάνεια του κόκκου τραχειά υφή. Παρ' ότι το μέγεθος των κόκκων που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή των ικριωμάτων έχει κοκκομετρία 200-300 μm, παρατηρούνται κι άλλοι μικρότεροι πόροι από αυτό το μέγεθος. Οι μικρότεροι πόροι που σχηματίζονται μπορούν να επισημανθούν ως "προ-πόροι". Το εύρος του μεγέθους των πόρων αντικατοπτρίζει την δυσκολία ελέγχου του πορώδους με αυτή τη μέθοδο, παρ' ότι η ύπαρξη αυτών των μικρότερων πόρων μπορεί να βοηθήσει μετέπειτα στην προσκόλληση κυττάρων κατά την καλλιέργεια. (Ch. Yong Sang 2013)

4.5.2 PLLA Resomer L210:NaCl, 40:60



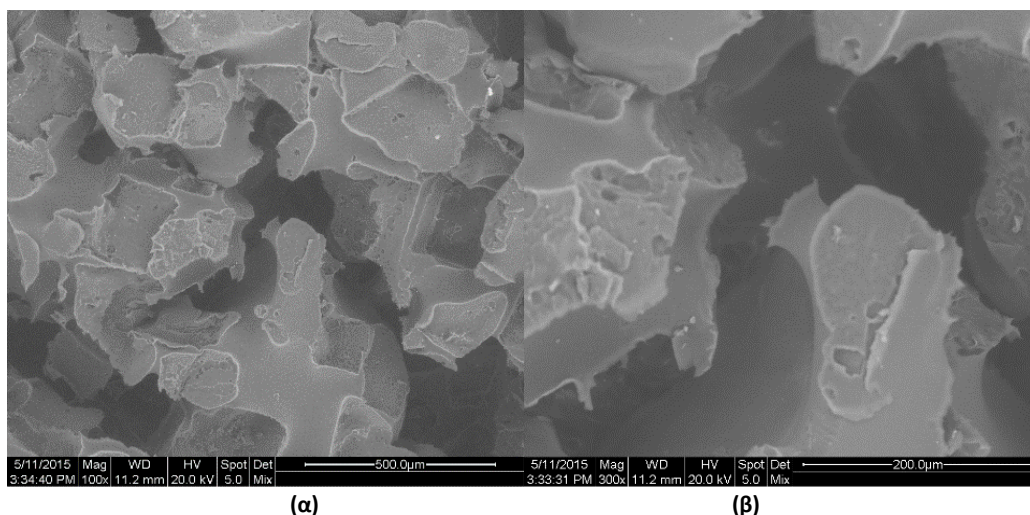
Εικόνα 4. 8: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (40:60) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×100 και (β)×200

Όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 4.8 από την τομή του ικριώματος παρατηρείται ένα δαιδαλώδες σχήμα πόρων στο οποίο τα όρια των πόρων ενώνονται μεταξύ τους. Η παρατήρηση της επιφάνειας του δείγματος μετά την έκπλυση των σωματιδίων NaCl διαμέτρου από 200-300 μm αποκαλύπτει υποκείμενα διασυνδεδεμένα σωματίδια και ρήγματα, τα οποία εμφανίζουν καλή διασυνδεσιμότητα. (K.A.Gross 2004)



Εικόνα 4. 9: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (40:60) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×100 και (β)×400

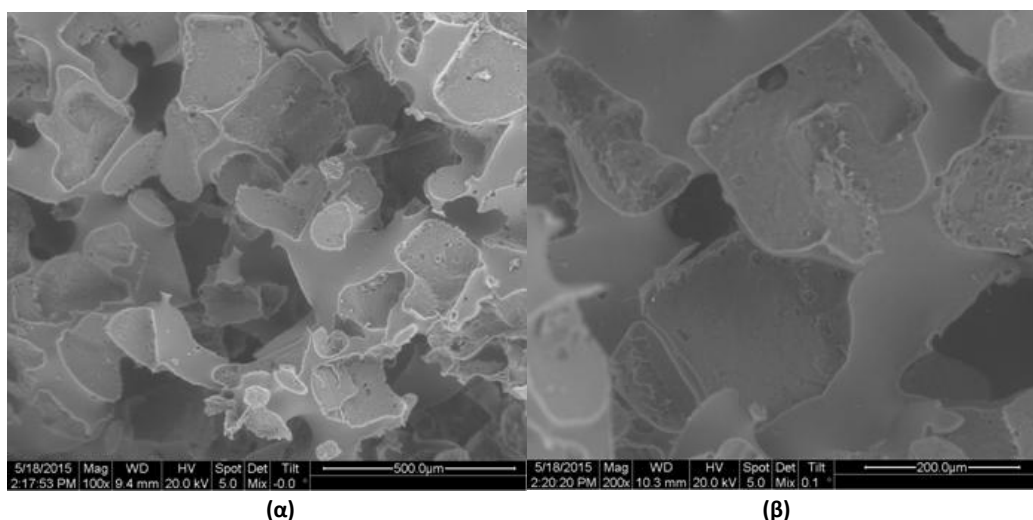
Στην εικόνα 4.9 που προέρχεται από τομή του ικριώματος, παρατηρείται διαμόρφωση σχήματος τούβλου, η οποία έχει προκύψει από έκπλυση κόκκου άλατος και το μέγεθος της προσεγγίζει τα 200-300 μm. Το τελικό μέγεθος των πόρων είναι ισοδύναμο με το μέγεθος του αρχικού πορογενούς, που απομακρύνεται με την τεχνική της έκπλυσης.



Εικόνα 4. 10: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (40:60) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×100 και (β)×300

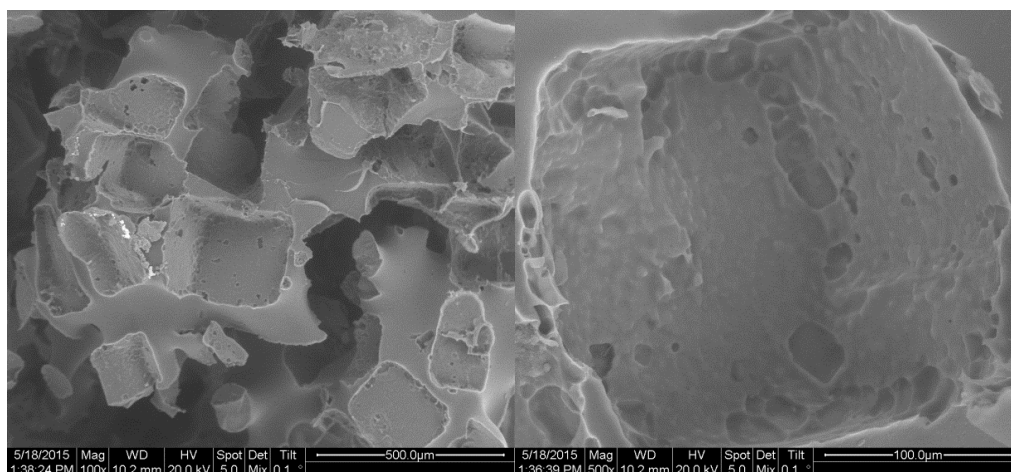
Η εικόνα 4.10 προέρχεται από την κάτω επιφάνεια του ικριώματος, παρατηρείται πως υπάρχουν πολλοί διασυνδεδεμένοι πόροι, οι οποίοι έχουν μέγεθος, που κυμαίνεται από δεκάδες μικρόμετρα σε εκατοντάδες μικρόμετρα. Από τη μεγέθυνση της εικόνας 4.10 παρατηρείται πως οι πόροι συνδέονται μεταξύ τους, καθώς υπάρχει σκούρο χρώμα στις εικόνες που υποδεικνύει βάθος προς το εσωτερικό του ικριώματος. Σύμφωνα με (Ch. Yong Sang 2013) η διασυνδεσιμότητα των πόρων του ικριώματος, που έχουν δημιουργηθεί από την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων, μπορεί να επηρεάσει την ικανότητα πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

4.5.3 PLLA Resomer L210:NaCl, 30:70



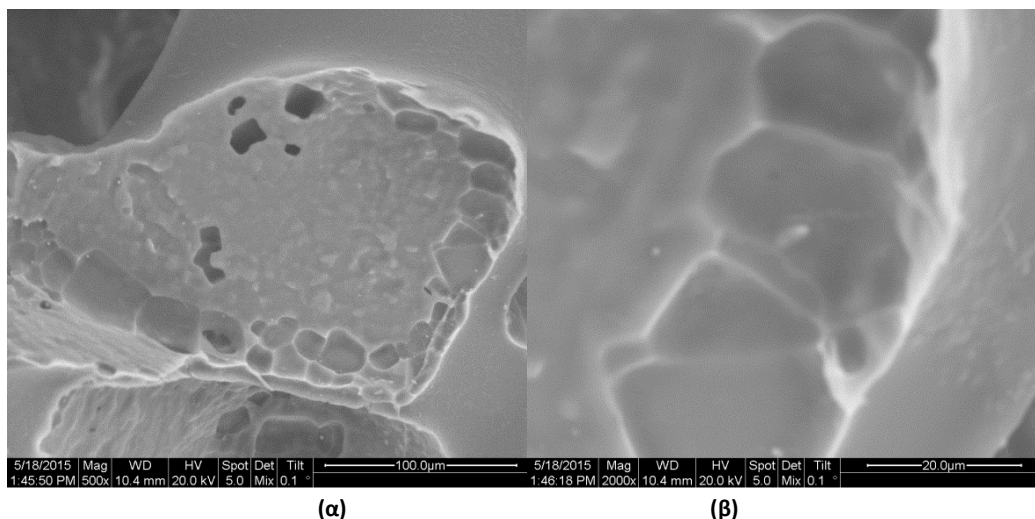
Εικόνα 4. 11: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×100 και (β)×200

Η εικόνα 4.11 προέρχεται από την όψη της τομής του ικριώματος, όπου παρατηρείται ένα σύμπλεγμα πόρων βάθος και στη συνέχεια η μεγέθυνση της δείχνει μόνο τον πόρο και τη δομή των τοιχωμάτων του. Η κατασκευή ικριωμάτων με την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων ενδείκνυται για την επίτευξη σπογγώδων ικριωμάτων με μακροπορώδη δομή, αλλά η πορώδης δομή με διασυνδεδεμένα τοιχώματα πόρων συνήθως βρίσκεται στο κέντρο των ικριωμάτων. (Q. Cai 2002)



Εικόνα 4. 12: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×100 και (β)×500

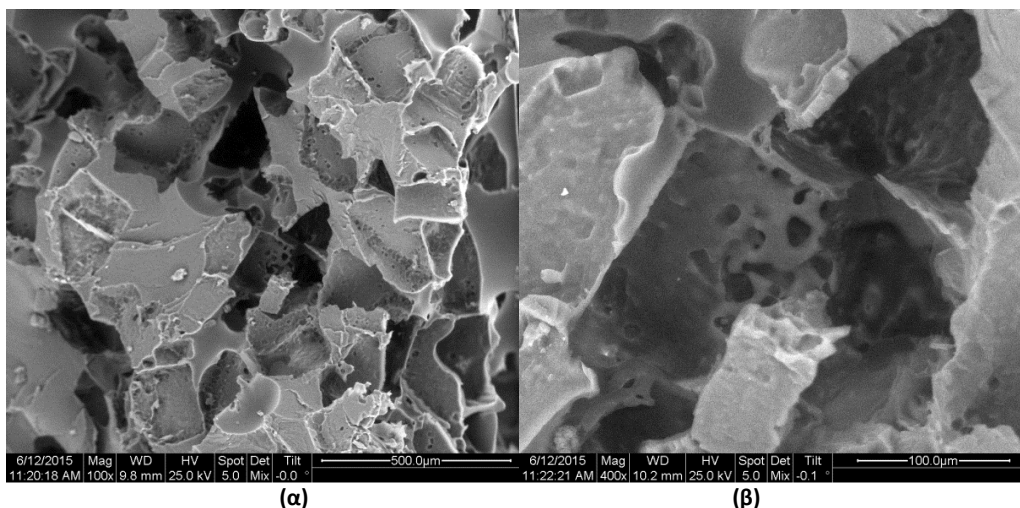
Στην εικόνα 4.12 (β) φαίνεται ένας πόρος σε σχήμα κύβου και μεγέθους περίπου 200 μm. Όπως αναφέρεται από (A. Obata 2010) πόροι >100 μm προάγουν αρκετό χώρο για την προσκόλληση, την ανάπτυξη των κυττάρων και τον πιθανό πολλαπλασιασμό τους.



Εικόνα 4. 13: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA Resomer L210:NaCl (α)×500 και (β)×2000

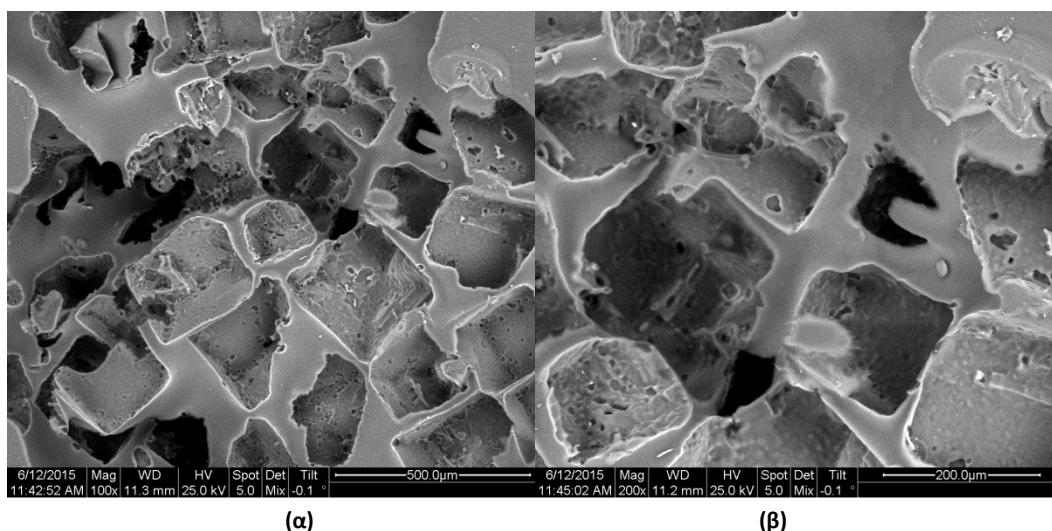
Στην εικόνα 4.13 (α) παρατηρείται ένας πόρος στου οποίου τα τοιχώματα κατά τη μεγέθυνση παρατηρούνται και άλλοι μικροσκοπικοί πόροι. Αυτοί οι μικροσκοπικοί πόροι θα λειτουργήσουν ως δίοδος μεταφοράς των θρεπτικών ή μεταβολικών προϊόντων, αλλά επίσης θα κάνουν τα τοιχώματα των πόρων τραχύτερα, κάτι το οποίο είναι ευεργετικό για βελτίωση της διεπιφανειακής προσκόλλησης μεταξύ κυττάρων και ικριώματος (J. Ferdous 2013). Σύμφωνα με (G. Ozkoc 2010), πολλοί ερευνητές έχουν παρατηρήσει πως οι μικροί σφαιρικοί πόροι μεγέθους <100 μm μπορεί να σχηματιστούν από σωματίδια χλωριούχου νατρίου τα οποία έσπασαν ή/και διαβρώθηκαν κατά τη διάρκεια της ανάμειξης του άλατος και του πολυμερούς στο γουδί ως αποτέλεσμα της τριβής και των συγκρούσεων των σωματιδίων άλατος-πολυμερούς.

4.5.4 PLLA PG:NaCl, 50:50



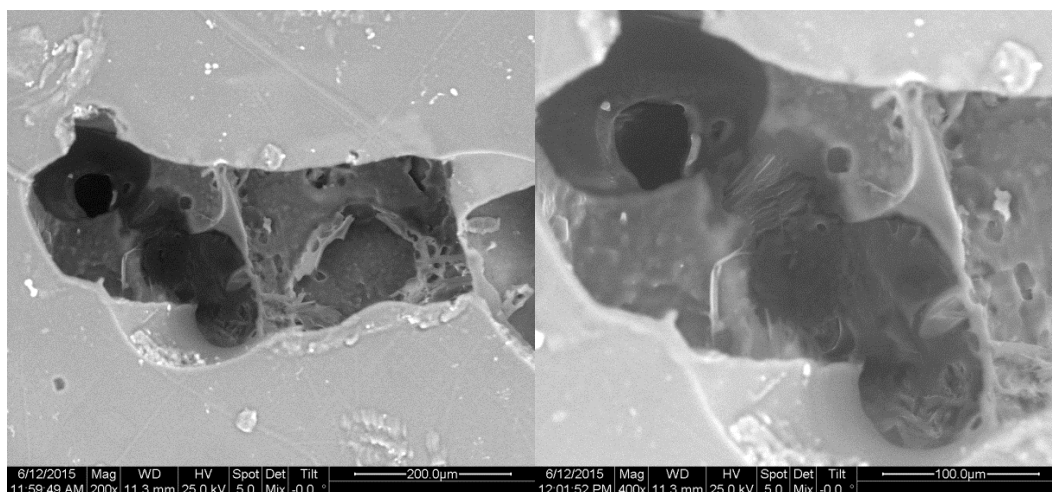
Εικόνα 4. 14: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (50:50) PLLA_PG:NaCl (α)x100 και (β)x400

Η εικόνα 4.14 προέρχεται από την τομή του ικριώματος και παρατηρείται δομή διασυνδεδεμένων πόρων. Αυτό φαίνεται καλύτερα στην φωτογραφία (β), η οποία είναι μεγέθυνση της (α) και φαίνεται έντονα η διασυνδεσιμότητα των πόρων, καθώς στο εσωτερικό του πόρου παρατηρούνται κι άλλες μικρότερες οπές, οι οποίες δημιουργούν δίοδο για τον επόμενο πόρο. Όπως φαίνεται και στην εικόνα 4.14 (α), τα χαρακτηριστικά των πόρων είναι διακλαδώσεις και θραύσματα σε διάφορα σχήματα. Όσον αφορά την κρυσταλλικότητα, η θέρμανση των δειγμάτων μέχρι τους 200 °C επιτρέπει στις αλυσίδες του πολυμερούς να κινούνται και να διαχέονται μέσα στις σχισμές ανάμεσα στα σωματίδια άλατος. Από τα χαρακτηριστικά των πόρων φαίνεται ότι αυτή η κίνηση των αλυσίδων μετακινεί επίσης το πορώδες σε ένα βαθμό και δημιουργεί στενότερο χώρο μεταξύ των πόρων. (R. Huang 2014)



Εικόνα 4. 15: Μικροφωτογραφίες SEM (από την άνω επιφάνεια) του ικριώματος (50:50) PLLA_PG:NaCl (α)x100 και (β)x200

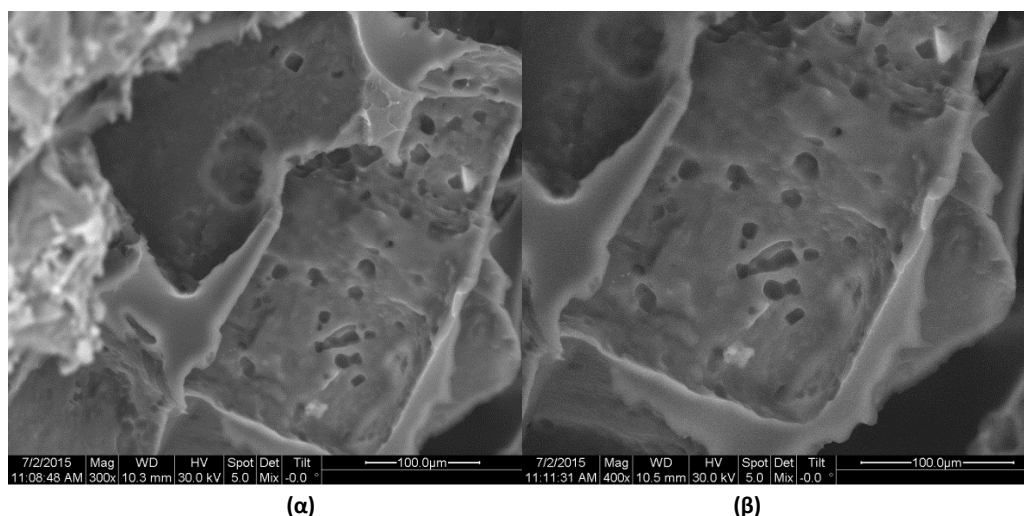
Η εικόνα 4.15 προέρχεται από την άνω επιφάνεια του ικριώματος και παρατηρούνται πόροι, οι οποίοι ξεκινούν από την επιφάνεια του ικριώματος και έχουν βάθος προς το εσωτερικό του. Αυτό παρατηρείται καλύτερα στη φωτογραφία (β), η οποία έχει μεγαλύτερη ανάλυση και φαίνεται από το σκούρο χρώμα το βάθος των πόρων.



Εικόνα 4. 16: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (50:50) PLLA_PG:NaCl (α)×200 και (β)×400

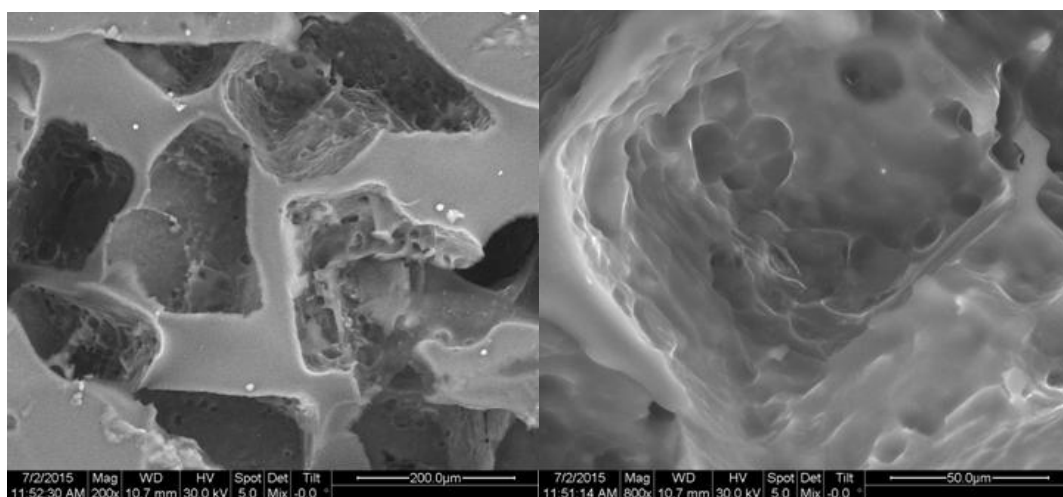
Η εικόνα 4.16 λήφθηκε από την κάτω επιφάνεια του ικριώματος, η οποία έχει λεία όψη. Στην φωτογραφία (α) φαίνεται μια λεία επιφάνεια με μια οπή η οποία οδηγεί στο εσωτερικό του ικριώματος. Η οπή δημιουργήθηκε από την έκπλυση κόκκων άλατος και με αυτό τον τρόπο δημιουργήθηκε μια δίοδος προς το εσωτερικό. Στη φωτογραφία (β) φαίνεται καλύτερα η δίοδος, η οποία επιτρέπει τη διέλευση του νερού προς το εσωτερικό του πόρου, με αποτέλεσμα να έρχεται σε επαφή και με άλλους κόκκους άλατος.

4.5.5 PLLA_PG:NaCl, 40:60



Εικόνα 4. 17: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (40:60) PLLA_PG:NaCl (α)×300 και (β)×400

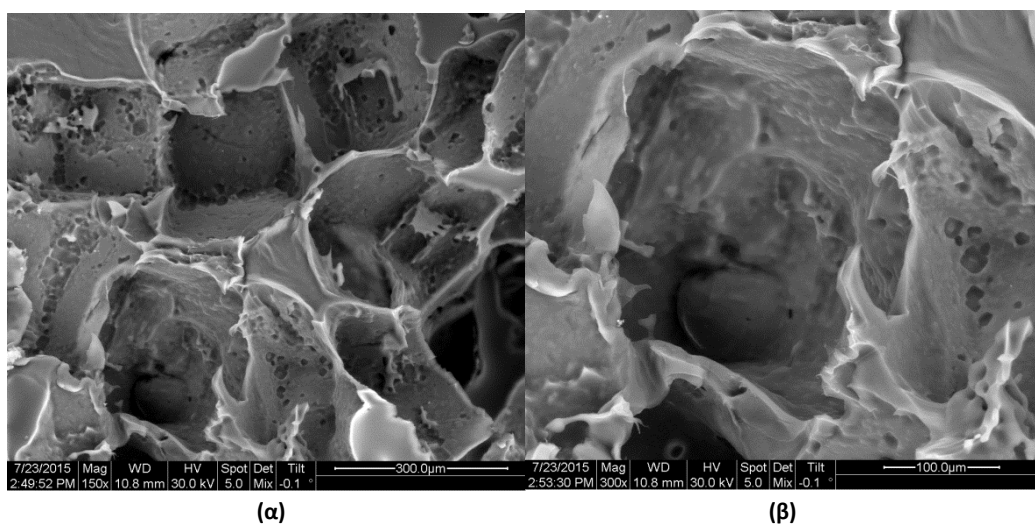
Η εικόνα 4.17 λήφθηκε από την τομή του ικριώματος και παρατηρούνται πόροι που προέκυψαν από έκπλυση κόκκων άλατος. Στην φωτογραφία (β) φαίνεται το εσωτερικό των πόρων, όπου παρατηρείται τραχειά επιφάνεια με μικρές οπές. Οι μικρότερες οπές και η τραχύτητα στην επιφάνεια μπορούν να επιτρέψουν τη διάχυση των θρεπτικών συστατικών μέσα στο ικρίωμα, αλλά και των παραπροϊόντων αποδόμησης, καθώς και την καλύτερη επαφή των κυττάρων σε όλο τον όγκο του ικριώματος, κάτι το οποίο είναι πολύ κρίσιμο για εφαρμογές της ιστικής μηχανικής. (C.E. LeBlon 2012)



Εικόνα 4. 18: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (40:60) PLLA_PG:NaCl (α)x200 και (β)x800

Η εικόνα 4.18 προέρχεται από την κάτω επιφάνεια του ικριώματος και παρατηρούνται πόροι, οποίοι προέκυψαν από έκπλυση άλατος. Οι πόροι εμφανίζουν κάποιο βάθος, το οποίο φαίνεται από τα σκούρα τμήματα της φωτογραφίας (α) και έχουν τραχειά υφή στο εσωτερικό των τοιχωμάτων τους.

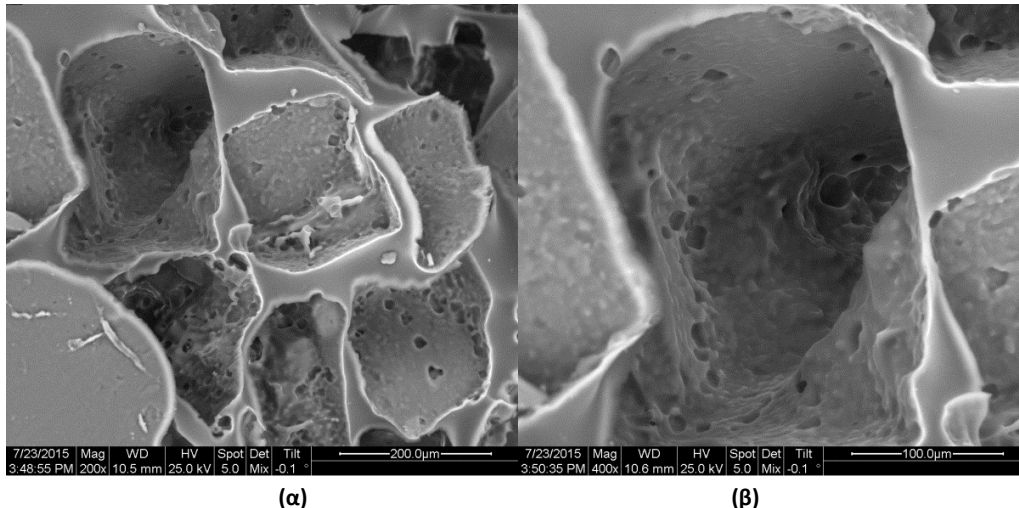
4.5.6 PLLA_PG:NaCl, 30:70



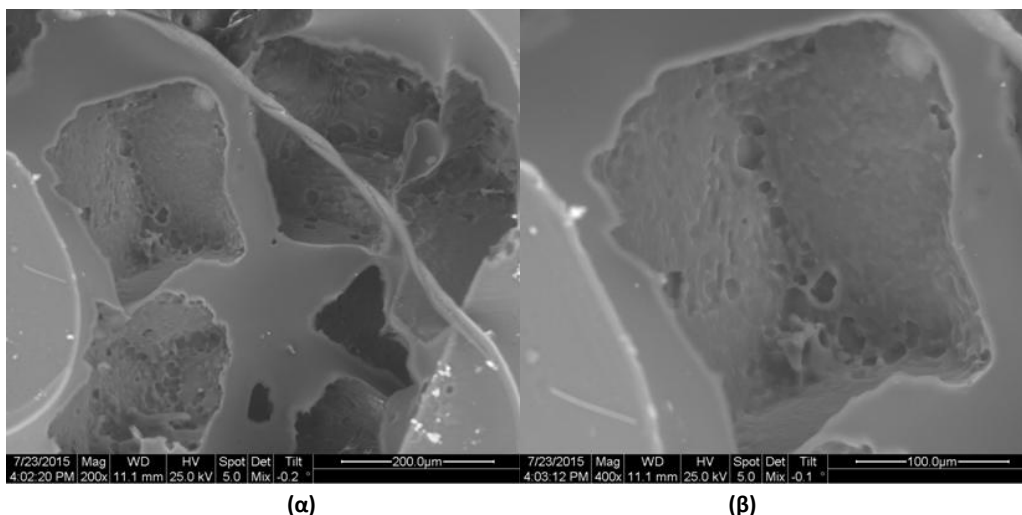
Εικόνα 4. 19: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x150 και (β)x300

Η εικόνα 4.19 προέρχεται από την τομή του ικριώματος και παρατηρούνται διασυνδεδεμένοι πόροι, των οποίων τα τοιχώματα ενώνονται σε πολλά σημεία. Στην φωτογραφία (α) παρατηρείται η επιφάνεια της τομής του ικριώματος, η οποία αποτελείται από πόρους των οποίων τα τοιχώματα εμφανίζουν λεπτές πτυχώσεις και συνδέονται σε διάφορα σημεία. Δεδομένου ότι το προφίλ επιφάνειας καθορίζει τη λειτουργικότητα του ικριώματος, αυτές οι λεπτές προεξοχές μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πλεονέκτημα στην καθοδήγηση του ιστού παρέχοντας μια επιφάνεια ικανή για καλή προσκόλληση των κυττάρων (Κ.Α.Gross 2004). Στη φωτογραφία (β) φαίνεται σε καλύτερη ανάλυση το εσωτερικό ενός πόρου, ενώ φαίνεται να έχει βάθος που καταλήγει σε σκουρόχρωμη περιοχή στη φωτογραφία. Αυτή η περιοχή υποδεικνύει τη πιθανή διασύνδεση του πόρου με τον επόμενο. Σύμφωνα με τους ερευνητές (Κ.Α.Gross 2004) έχει επισημανθεί ότι τα αυλάκια που υποδεικνύουν διασύνδεση μεταξύ των πόρων μπορεί να είναι

χρήσιμα στον έλεγχο της κατεύθυνσης της κυτταρικής μετανάστευσης επί μιας επιφάνειας και αυτό το στοιχείο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταχύτερη πλήρωση της εσωτερικής επιφάνειας ικριώματος. Η διασυμδεσιμότητα των πόρων είναι καθοριστικός παράγοντας για την λειτουργικότητα του ικριώματος, καθώς από αυτή εξαρτώνται οι δίοδοι μεταφοράς των θρεπτικών ή μεταβολικών προϊόντων των κυττάρων.



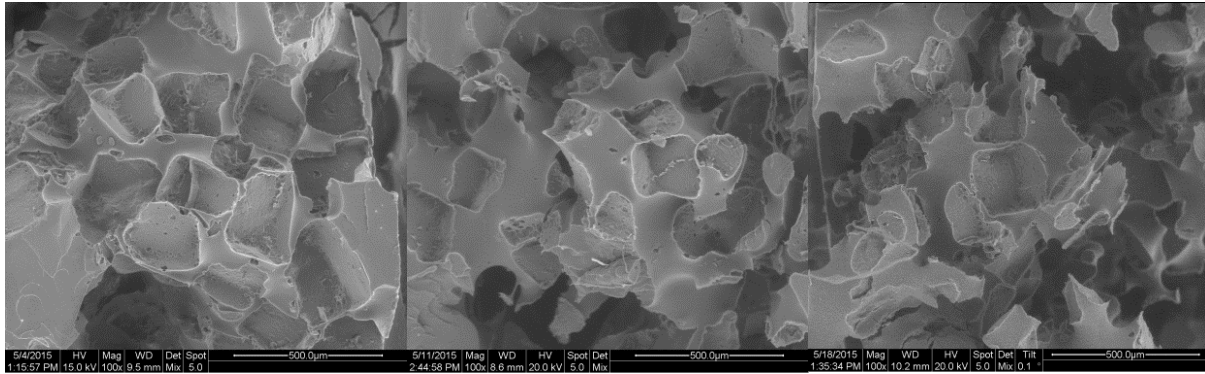
Εικόνα 4. 20: Μικροφωτογραφίες SEM (από την άνω επιφάνεια) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x200 και (β)x400



Εικόνα 4. 21: Μικροφωτογραφίες SEM (από την κάτω επιφάνεια) του ικριώματος (30:70) PLLA_PG:NaCl (α)x200 και (β)x400

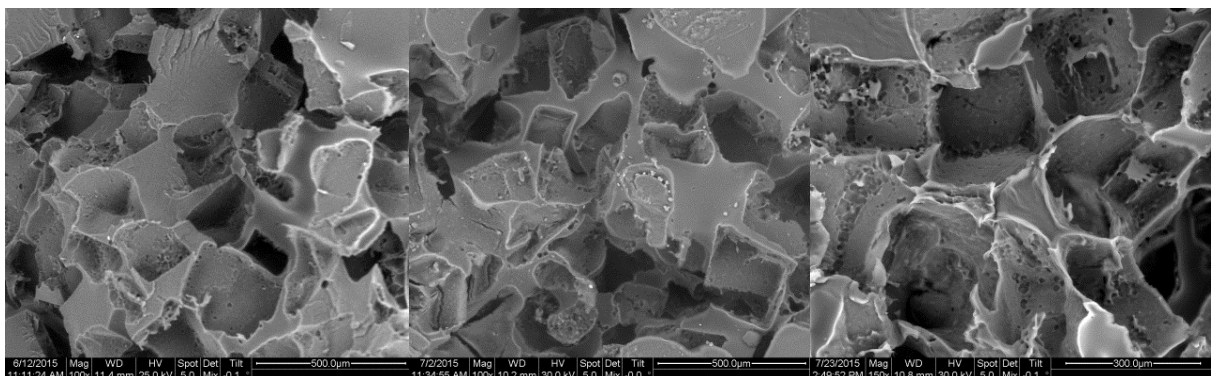
Η εικόνα 4.20 προέρχεται από την άνω επιφάνεια του ικριώματος και η εικόνα 4.21 από την κάτω επιφάνεια. Και στις δύο εικόνες παρατηρούνται πόροι με καθορισμένο σχήμα. Αυτό υποδεικνύει πως οι πόροι δημιουργήθηκαν από την έκπλυση κόκκων άλατος. Στην φωτογραφία (β) της εικόνας 4.20 και 4.21 παρατηρείται το εσωτερικό ενός πόρου, ο οποίος εμφανίζει χαρακτηριστικά τραχειά επιφάνεια με μικροπόρους, το οποίο αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην προσκόλληση, ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των κυττάρων όπως έχει επισημανθεί και σε προηγούμενες φωτογραφίες.

4.5.7 Σύγκριση αναλογιών άλατος έκπλυσης στη δημιουργία των ικριωμάτων PLLA



Εικόνα 4. 22: Ικριώματα αναλογίας PLLA:NaCl, (α) 50:50, (β) 40:60, (γ) 30:70 για το PLLA Resomer L210

Η εικόνα 4.22 προέρχεται από την τομή των ικριωμάτων και παρουσιάζει τη μορφολογία της τομής των τριών αναλογιών PLLA:NaCl. Η εικόνα 4.22 έχει την ίδια ανάλυση (x100) για όλες τις αναλογίες προκειμένου να μπορεί να γίνει σύγκριση του φαινομένου πορώδους. Η φωτογραφία (α) της εικόνας 4.22, προέρχεται από το ικρίωμα 50:50, παρουσιάζει πορώδη δομή με πόρους που έχουν προκύψει από την έκπλυση του άλατος, χωρίς όμως να δείχνουν μεγάλη συνδεσιμότητα μεταξύ τους, καθώς οι πόροι δεν παρουσιάζουν βάθος στη φωτογραφία. Στη συνέχεια, η φωτογραφία (β) της εικόνας 4.22 προέρχεται από το ικρίωμα 40:60, παρουσιάζει πορώδη δομή με πόρους, οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους, καθώς τα όρια των κόκκων ενώνονται και δημιουργείται συνδεσιμότητα μεταξύ τους. Τέλος, η φωτογραφία (γ) της εικόνας 4.22, που προέρχεται από ικρίωμα αναλογίας 30:70, παρουσιάζει πορώδη δομή με μεγάλα κενά όπως φαίνεται από τα σκούρα τμήματα της φωτογραφίας. Αυτό οφείλεται στην μικρή ποσότητα PLLA που χρησιμοποιήθηκε κατά την κατασκευή του ικριώματος εν αντίθεση με τη μεγάλη ποσότητα NaCl, η οποία κατά την έκπλυση απομακρύνθηκε με αποτέλεσμα να δημιουργηθούν μεγάλα κενά από συσσωματώματα άλατος και ελλιπούς ποσότητας πολυμερούς.

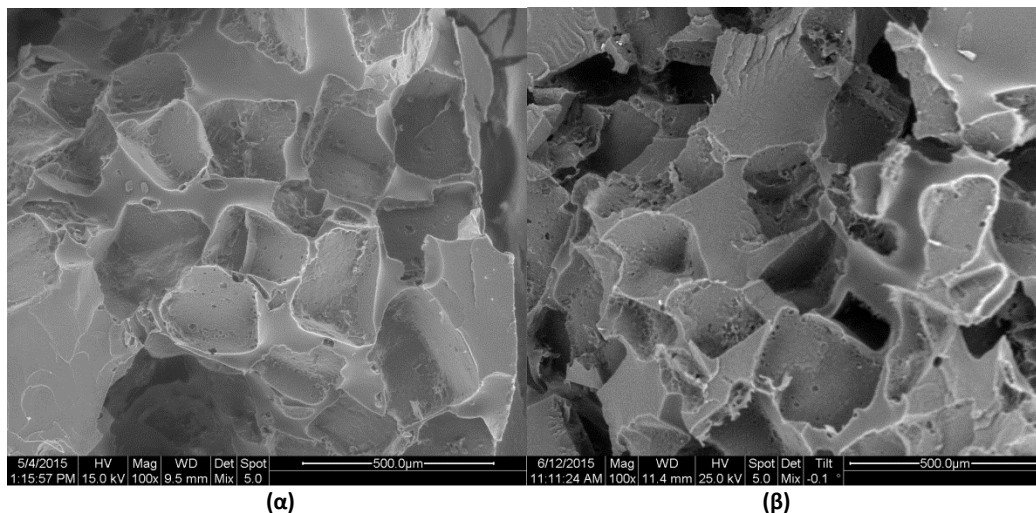


Εικόνα 4. 23: Ικριώματα αναλογίας PLLA:NaCl, (α) 50:50, (β) 40:60, (γ) 30:70 για το PLLA_PG

Η εικόνα 4.23 προέρχεται από την τομή των ικριωμάτων και παρουσιάζει τη μορφολογία της τομής των τριών αναλογιών PLLA:NaCl. Οι φωτογραφίες (α) και (β) έχουν την ίδια ανάλυση (x100), ενώ η φωτογραφία (γ) έχει λίγο μεγαλύτερη ανάλυση x150. Η φωτογραφία (α) της εικόνας 23, προέρχεται από το ικρίωμα 50:50, παρουσιάζει πορώδη δομή με πόρους, οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους. Επίσης, παρουσιάζει διάφορα κενά στη δομή του, τα οποία φαίνονται από τα σκουρόχρωμα σημεία. Στη συνέχεια, η φωτογραφία (β) της εικόνας 4.23 προέρχεται από το ικρίωμα 40:60, παρουσιάζει πορώδη δομή με πόρους, οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους, καθώς τα όρια των κόκκων ενώνονται. Οι πόροι έχουν βάθος και δημιουργείται διασυνδεσιμότητα μεταξύ τους. Τέλος,

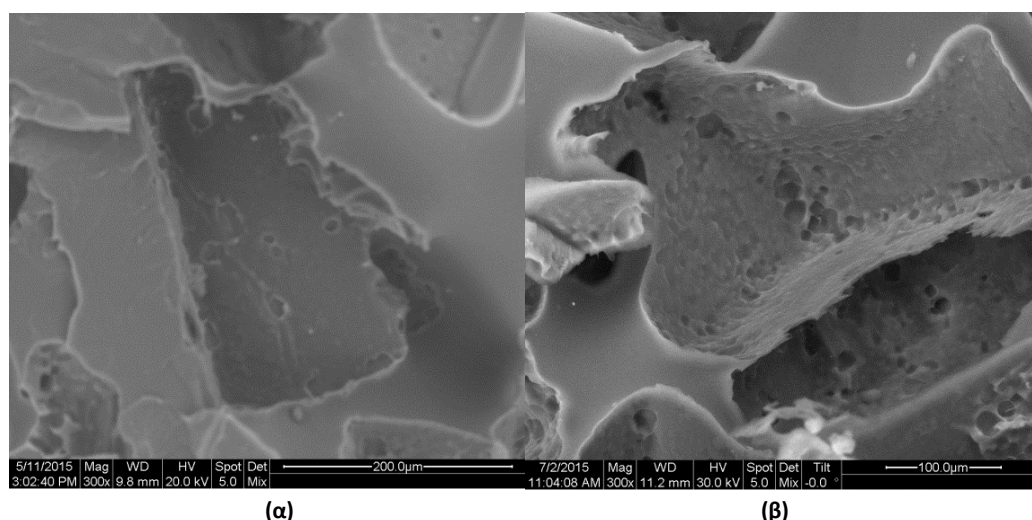
η φωτογραφία (γ) της εικόνας 4.23, που προέρχεται από ικρίωμα αναλογίας 30:70, είναι μεγαλύτερης ανάλυση η φωτογραφία, παρ' όλα αυτά φαίνεται πυκνοί πόροι διασυνδεδεμένοι μεταξύ τους. Αυτό επισημάνθηκε και στη εικόνα 4.23 και οφείλεται στην ελλιπή ποσότητα πολυμερούς που χρησιμοποιήθηκε κατά την κατασκευή του.

4.5.8 Σύγκριση ικριωμάτων PLLA Resomer L210:NaCl και PLLA_PG:NaCl



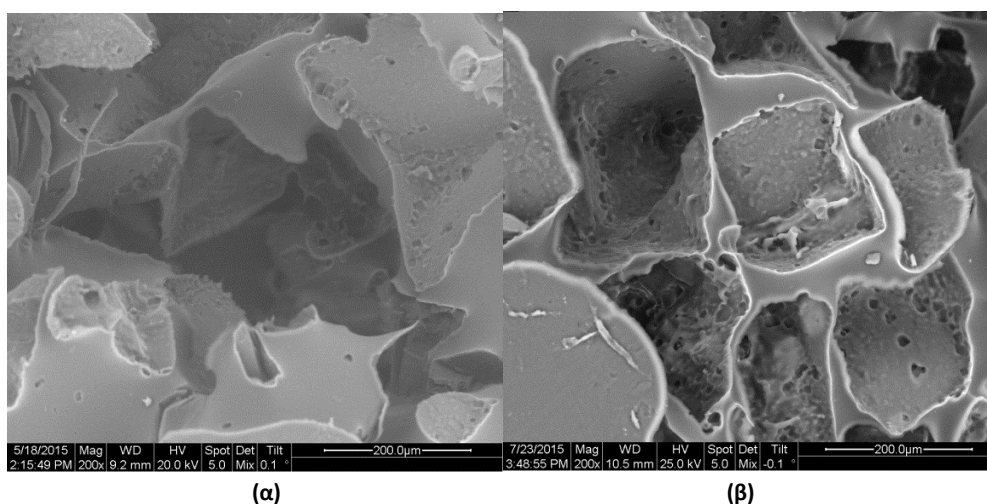
Εικόνα 4. 24: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (50:50)

Η εικόνα 4.24 προέρχεται από την τομή ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (50:50) σε ανάλυση x100. Στη φωτογραφία (α) παρατηρούνται πόροι κυρίως σχήματος ορθογωνίου παραλληλεπipedου, ενώ στη φωτογραφία (β) οι πόροι παρουσιάζονται σε διάφορα σχήματα. Επίσης, στη φωτογραφία (β) υπάρχουν αρκετά σκουρόχρωμα σημεία τα οποία υποδεικνύουν διασυνδεσιμότητα μεταξύ των πόρων που έχουν σχηματιστεί. Σύμφωνα με (A. Rakovsky 2014) κατά τη διάρκεια της μορφοποίησης τα σωματίδια άλατος τείνουν να τυλίγονται πλήρως στο υλικό της μήτρας και δεν είναι εύκολο να εκπλυθούν πλήρως με το νερό. Ως αποτέλεσμα, πολλοί πόροι να είναι απομονωμένοι και η διασυνδεσιμότητα τους να εμφανίζεται περιστασιακά.



Εικόνα 4. 25: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (40:60)

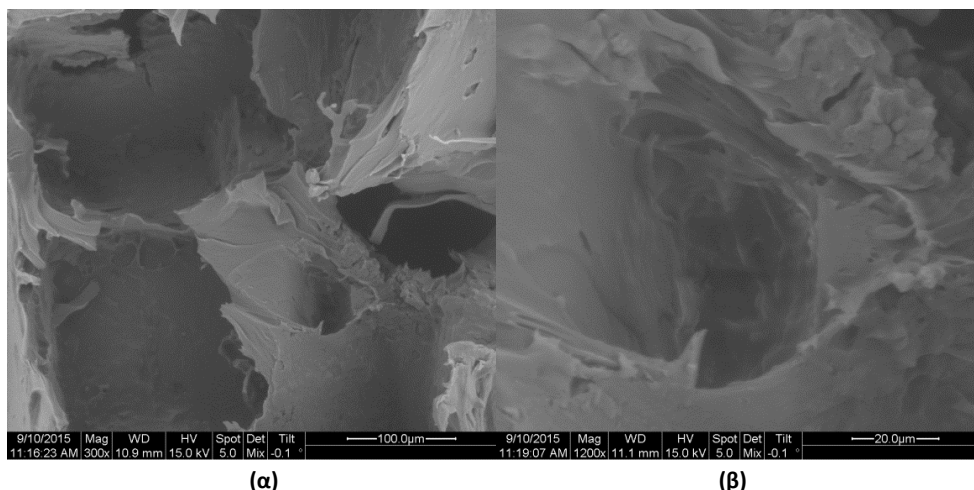
Η εικόνα 4.25 προέρχεται από την τομή ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (40:60). Στην κάθε φωτογραφία παρατηρείται πόρος σε ανάλυση x300, ο οποίος φαίνεται στο εσωτερικό των τοιχωμάτων του να παρουσιάζει κι άλλους μικρότερους μικροπόρους. Το φαινόμενο αυτό είναι πιο έντονο στη φωτογραφία (β), καθώς το εσωτερικό της επιφάνειας του πόρου δείχνει να έχει ιδιαίτερα τραχειά υφή με πολλούς μικροσκοπικούς πόρους. Όπως έχει σχολιαστεί και στην εικόνα 4.13, αυτοί οι μικροσκοπικοί πόροι στο εσωτερικό των τοιχωμάτων είναι επιθυμητοί, διότι λειτουργούν ως δίοδος για τη μεταφορά διαφόρων συστατικών, αλλά και βελτιώνουν τη διεπιφανειακή προσκόλληση των κυττάρων στο ικρίωμα σύμφωνα με (J. Ferdous 2013). Επίσης, το μέγεθος των πόρων είναι της τάξης των 150-300 μm και είναι συγκρίσιμο με το μέγεθος των κόκκων του χλωριούχου νατρίου που χρησιμοποιήθηκαν κατά την κατασκευή των ικριωμάτων. Αυτό αποδεικνύει την ποιοτική υπεροχή της μεθόδου κατασκευής ικριωμάτων με έκπλυση σωματιδίων όσον αναφορά το επιθυμητό μέγεθος των πόρων και την διασυνδεσιμότητα τους. (A. Rakovsky 2014)



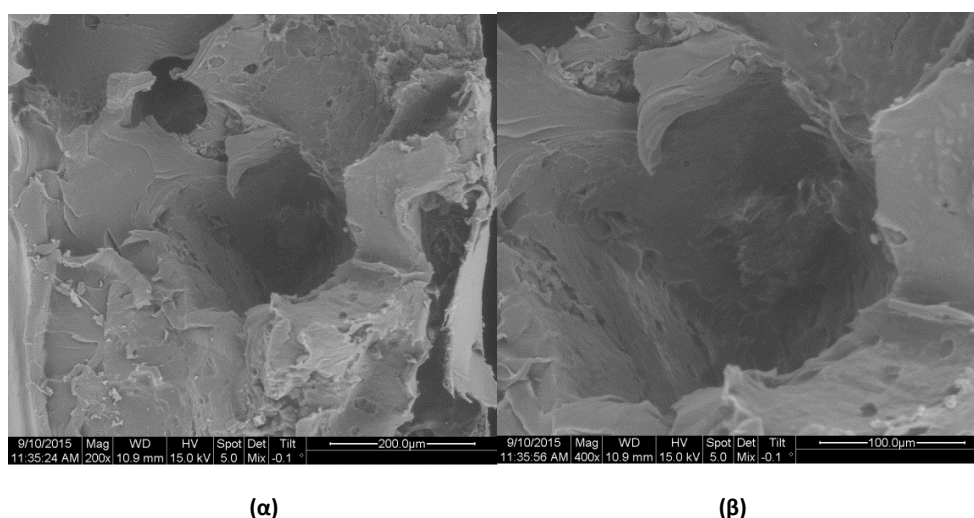
Εικόνα 4. 26: Μικροφωτογραφίες SEM (από την άνω επιφάνεια) ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (30:70)

Η εικόνα 4.26 προέρχεται από την άνω επιφάνεια ικριωμάτων (α) PLLA Resomer L210:NaCl και (β) PLLA_PG:NaCl αναλογίας (30:70). Οι φωτογραφίες των ικριωμάτων είναι σε ανάλυση x200 και παρατηρούνται πόροι διασυνδεδεμένοι μεταξύ τους. Στη φωτογραφία (α) παρατηρείται ένα δαιδαλώδες σχήμα πόρων που φαίνεται να συνεχίζει προς το εσωτερικό του ικριώματος. Στη φωτογραφία (β) παρατηρούνται πόροι με έντονη τραχειά επιφάνεια στο εσωτερικό των τοιχωμάτων τους. Και στις δύο φωτογραφίες η άνω επιφάνεια των ικριωμάτων είναι λεία, λόγω άσκησης φορτίου κατά τη μορφοποίηση στην πρέσσα, ενώ φαίνεται να δημιουργούνται δίοδοι προς το εσωτερικό των ικριωμάτων. Όσο περισσότεροι δίοδοι στο εσωτερικό των πόρων, τόσο μεγαλύτερη διασυνδεσιμότητα και επομένως μεγαλύτερο ποσοστό της ειδικής επιφάνειας του ικριώματος. Σύμφωνα με (E. Rezabeigi 2014) το μεγάλο ποσοστό της ειδικής επιφάνειας είναι πολύ σημαντικό για τις εφαρμογές των ικριωμάτων, καθώς προάγει καλύτερη επαφή μεταξύ των επιφανειών του ικριώματος και των υγρών που αποβάλλει ο οργανισμός κατά τη λειτουργία του και βοηθάει στην προσκόλληση των κυττάρων στα τοιχώματα του ικριώματος και στον πολλαπλασιασμό τους. Τα αυλάκια, που ξεκινούν από την άνω επιφάνεια του ικριώματος και οδηγούν στο εσωτερικό του, έχουν βοηθητικό ρόλο στην ελεγχόμενη διασπορά των κυττάρων και στην πιο γρήγορη πλήρωση της εσωτερικής επιφάνειας του ικριώματος σε συνδυασμό με την καθοδηγούμενη ανάπτυξη των κυττάρων. (C.R.Kotharalli 2005)

4.5.9 PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10)



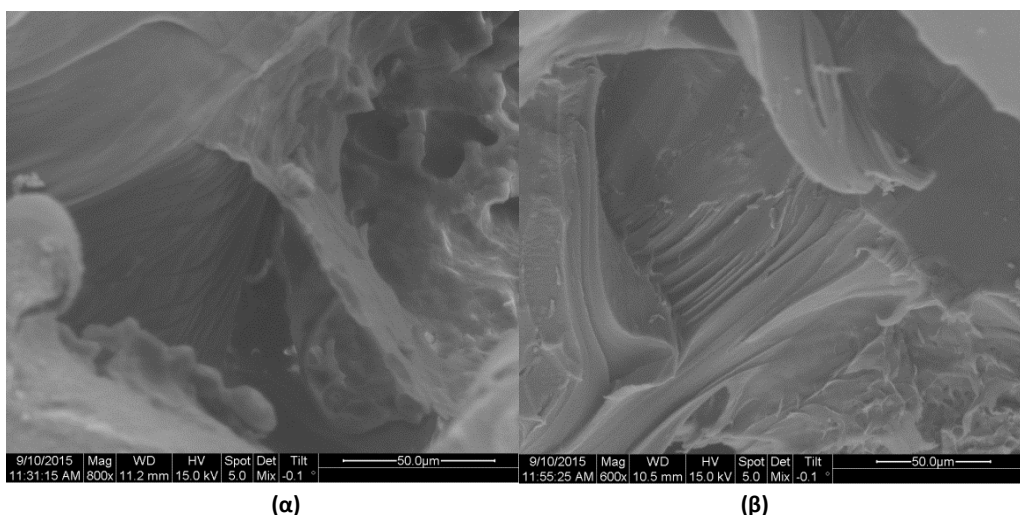
Εικόνα 4. 27: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριώματος PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10), (α) x300, (β) x1200



Εικόνα 4. 28: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριώματος PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10), (α) x200, (β) x400

Οι εικόνες 4.27 και 4.28 προέρχονται από την τομή του ικριώματος PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10) όπου παρατηρούνται οπές σε σχήμα κύβου, οι οποίες έχουν προκύψει από την απομάκρυνση άλατος. Στις εικόνες 4.27 και 4.28 (β) παρατηρούνται το εσωτερικό πόρων με εμφανή τραχεία τοιχώματα. Η προσθήκη υδατοδιαλυτού πλαστικοποιητή όπως είναι η PEG πρόκειται να προκαλέσει καλύτερη διασπορά του άλατος στη μήτρα του πολυγαλακτικού, αλλά και να δημιουργήσει με τη σειρά της κενές θέσεις, καθώς απομακρύνεται μετά τη διαδικασία έκπλυσης άλατος. Στις παραπάνω εικόνες του ικριώματος παρατηρούνται πόροι χωρίς όμως να εντοπίζεται διασυνδεσιμότητα μεταξύ τους, εκτός από κάποια μεμονωμένα σημεία. Η έλλειψη διασυνδεσιμότητας εμποδίζει τη λειτουργικότητα του ικριώματος καθώς η ελλιπής διασύνδεση τους εμποδίζει την ομαλή λειτουργία των κυττάρων και την ανάπτυξη της κυτταροκαλλιέργειας.

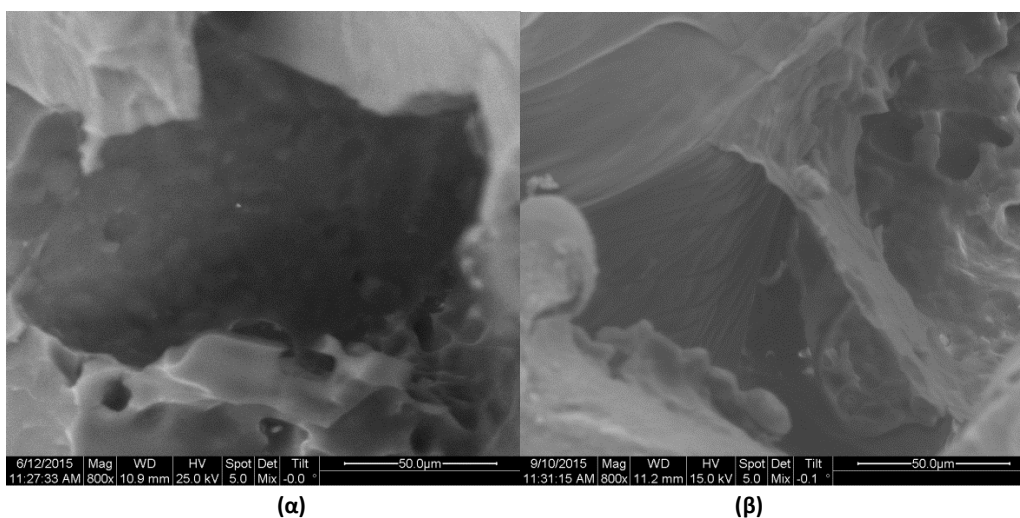
Σύμφωνα με τους (B. Chen 2014) η PEG ως πλαστικοποιητής φαίνεται να βελτιώνει την προσκόλληση μεταξύ PLA και NaCl κατά την ανάμιξη τους στη μήτρα, γεγονός το οποίο βοηθάει στην εκτενέστερη διασπορά των μακροπόρων σε όλο τον όγκο του ικριώματος. Οι ερευνητές (B. Chen 2014) κατασκεύασαν ικριώματα PLLA:NaCl:PEG με αναλογία (50:40:10) και αξίζει να σημειωθεί πως παρά το γεγονός ότι παρατηρήθηκε μεγάλος αριθμός πόρων στις μικροφωτογραφίες SEM των ικριωμάτων αυτής της αναλογίας η έλλειψη διασυνδεσιμότητας των πόρων ήταν εμφανής.



Εικόνα 4. 29: Μικροφωτογραφίες SEM από ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10) x800,(α) από την τομή, (β) από την άνω επιφάνεια

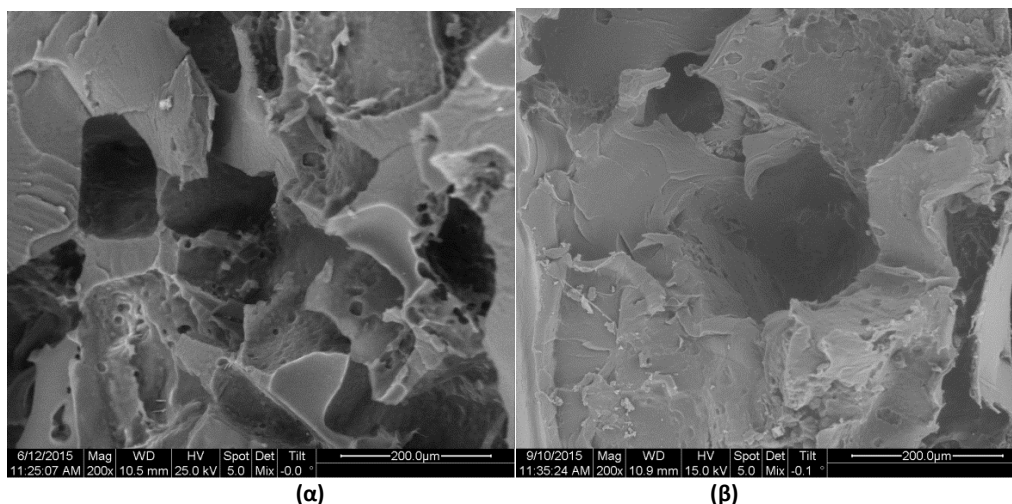
Η εικόνα 4.29 (α) προέρχεται από την τομή του ικριώματος PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10), ενώ η 4.29 (β) από την άνω επιφάνεια του. Και στις δύο εικόνες φαίνεται έντονα η πλαστική παραμόρφωση που προκλήθηκε στο πολυμερές μετά την προσθήκη της PEG. Σύμφωνα με τους (B. Chieng 2014) έχει μελετηθεί ότι η PEG ως πλαστικοποιητής του PLA προκαλεί μεγάλη αύξηση στην επιμήκυνση κατά τη θραύση δεσμών, ενώ παράλληλα συνοδεύεται από μεγάλη μείωση σε αντοχή σε εφελκυσμό και στο μέτρο εφελκυσμού.

4.5.10 Σύγκριση ικριωμάτων PLLA_PG:NaCl, (50:50) με PLLA_PG:NaCl:PEG,(50:40:10)



Εικόνα 4. 30: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων x800 (α) PLLA_PG:NaCl, (50:50), (β) PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10)

Η εικόνα 4.30 προέρχεται από την τομή ικριωμάτων (α) PLLA_PG:NaCl, (50:50) και (β) PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10). Οι μικροφωτογραφίες έχουν την ίδια ανάλυση και πρόκειται για την εσωτερική επιφάνεια πόρων. Η διαφορά που παρουσιάζουν οι εσωτερικές επιφάνειες των πόρων είναι έντονη, στην (α) φωτογραφία η επιφάνεια έχει τραχειά όψη με μικροπόρους σε διάφορα σημεία της, ενώ στη (β) φωτογραφία παρουσιάζει λεία σημεία χωρίς μικροπόρους στο εσωτερικό γεγονός που εξηγείται από την επίδραση της προσθήκης του πλαστικοποιητή στο πολυμερές.



Εικόνα 4. 31: Μικροφωτογραφίες SEM (από την τομή) ικριωμάτων x200 (α) PLLA_PG:NaCl, (50:50), (β) PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10)

Η εικόνα 4.31 προέρχεται από την τομή ικριωμάτων α) PLLA_PG:NaCl, (50:50) και β) PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10) με ανάλυση x200. Στην (α) μικροφωτογραφία παρατηρείται ένα σύμπλεγμα πόρων με περιοχές σκουρόχρωμες που υποδεικνύουν εμφανή σημεία διασύνδεσης κατά τόπους. Στην (β) μικροφωτογραφία παρατηρούνται πόροι διαφόρων σχημάτων και μεγέθους μικρότερου κι από 200 μm που ήταν η αρχική κοκκομετρία του χλωριούχου νατρίου. Αυτή η διαφορά οφείλεται στην προσθήκη της PEG, η οποία κατά την έκπλυση του άλατος απομακρύνθηκε λόγω της υαδατοδιαλυτότητας της. Σύμφωνα με (R. Scaffaro 2012) αυτή η διαφορετική μορφολογία οφείλεται στην παρουσία της PEG, καθώς συνδέεται με τη διάλυση της επιφανειακής PEG στο νερό κατά τη διάρκεια της έκπλυσης. Το γεγονός αυτό προκαλεί ακόμα μεγαλύτερη διείσδυση του νερού σε όλο τον όγκο της δομής του ικριώματος βοηθώντας τη διάλυση του χλωριούχου νατρίου σε μεγαλύτερο βαθμό. Σημειώνεται πως αυτό είναι αδύνατο να συμβεί όταν χρησιμοποιείται στη μήτρα μόνο το πολυγαλακτικό οξύ καθώς δε διαλύεται στο νερό με αποτέλεσμα στο κέντρο της δομής του ικριώματος να είναι πιθανό να υπάρχει υπόλειμμα χλωριούχου νατρίου ακόμα και μετά την έκπλυση του.

Βιβλιογραφία

- A. Obata, T. Hotta, T. Wakita. «Electrospun microfiber meshes of silicon-doped vaterite/poly(lactic acid) hybrid.» *Acta Biomaterialia Vol.6*, 2010: 1248-1257.
- A. Rakovsky, I. Gotman, E. Rabkin, E.Y. Gutmanas. «β-TCP-poly lactide composite scaffolds with high strength and enhanced permeability prepared by modified salt leaching methods.» *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials Vol.32*, 2014: 89-98.
- A. Schindler, D. Harper. «Polylactide. II. Viscosity–molecular weight relationships and unperturbed chain dimensions.» *Journal of Polymer Science, Part A Polymer Chemistry*, 1979: 2593-2599.
- A.G. Mikos, A.J. Thorsen, L.A. Czerwonka. «Preparation and characterization of poly(l-lactic acid) foams.» *Polymer Vol.35*, 1994: 1068-1077.
- A. Παππά. *Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης - Χρωματογραφικές, Θερμικές, Ηλεκτρομετρικές, Φασματομετρία μάζας*. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 2004.
- B. Chen, Y. Wang, H. Mi, P. Yu, T. Kuang. «Effect of Poly(ethylene glycol) on the Properties and Foaming Behaviour of Macroporous Poly(lactic acid)/Sodium Chloride Scaffold.» *Journal of Applied Polymer Science Vol.131*, 2014: 1-10.
- B. Chieng, N. Ibrahim, W. Yunus, Z. Mohd. «Poly(lactic acid)/Poly(ethylene glycol) Polymer Nanocomposites: Effects of Graphene Nanoplatelets.» *Polymers Vol.6*, 2014: 93-104.
- B. Wunderlich. «Theory of cold crystallization of high polymers.» *Journal of Chemical and Physics Vol. 29*, 1958: 1395-1404.
- C.E. LeBlon, R. Pai, C.R. Fodor, A.S. Golding, J.P. Coulter. «In vitro comparative degradation analysis of salt-leached porous polymer scaffolds.» *Applied Polymer Science Vol.128*, 2012: 2701-2712.
- C.R. Kothapalli, M.T. Shaw, M. Wei. «Biodegradable HA-PLA 3-D porous scaffolds: Effect of nano-sized filler content on scaffold properties.» *Acta Biomaterialia Vol.1*, 2005: 653-662.
- Ch. Schugens, V. Maquet, C. Grandfils, R. Jerome. «Biodegradable and macroporous polylactide implants for cell transplantation: 1. Preparation of macroporous polylactide supports by solid-liquid phase separation.» *Polymer Vol.37*, 1996: 1027-1038.
- Ch. Yong Sang, K. Beom-Su. "A novel technique for scaffold fabrication: SLUP (salt leaching using powder)." *Current Applied Physics Vol.14*, 2013: 371-377.
- E. Rezabeigi, P.M. Wood-Adams, R.A.L. Drew. «Production of porous polylactic acid monoliths via nonsolvent induced phase separation.» *Polymer Vol.55*, 2014: 6743-6753.
- F. Hassouna. «New approach on the development of lastisized polylactide (PLA): Grafting of poly(ethylene glycol) (PEG) via extrusion.» *Europa Polymer Journal Vol.47*, 2011: 2134-2144.
- Feng-Jiao, L. «Effect of polyethylene glycol on the crystallization and impact properties of polylactide-based blends.» *Polymers for advanced technologies, Vol. 26*, 2015: 465-475.

- G. Ozkoc, S. Kemaloglu, M. Quaedflieg. «Production of Poly(lactic acid)/Organoclay Nanocomposite Scaffolds by Microcompounding and Polymer/Particle Leaching.» *Polymer Composites Vol.31 Issue 4*, 2010: 674-683.
- H. Tsuji, Y. Ikada. «Properties and morphologies of poly(l-lactide): 1. Annealing condition effects on properties and morphologies of poly(l-lactide).» *Polymer Vol.36*, 1995: 2709.
- J. Ferdous, V.B. Kolachama, T. Shazly. «Impact of polymer structure and composition on fully resorbable endovascular scaffold performance.» *Acta Biomaterialia Vol.9*, 2013: 6052-6061.
- J.F. Mano, J.L. Gomez Ribelles, N.M. Alves, M. Salmeron Sanchez. «Glass transition dynamics and structural relaxation of PLLA studied by DSC: Influence of crystallinity.» *Polymer Vol. 46*, 2005: 8258-8265.
- J.R. Dorgan, J. Janzen, D.M. Knauss, S.B. Hait, B.R. Limoges, M.H. Hutchinson. «Fundamental Solution and Single-Chain Properties.» *Journal of Polymer Science Vol.43*, 2005: 3100–3111.
- K.A.Gross. «Biodegradable composite scaffolds with an interconnected spherical network for bone tissue engineering.» *Biomaterials Vol.25*, 2004: 4955-4962.
- Q. Cai, J. Yang, J. Bei, S. Wang. «A novel porous cells scaffold made of polylactide-dextran blend by combining phase-separation and particle leaching techniques.» *Biomaterials Vol.22*, 2002: 4483-4492.
- R. Huang, X. Zhu, H. Tu, A. Wan. «The crystallization behaviour of porous poly(lactic acid) prepared by modified solvent casting/particulate leaching technique for the potential use of tissue engineering scaffold.» *Materials Letters Vol.136*, 2014: 126-129.
- R. Scaffaro, G. Lo Re, S. Rigogliuso, G. Ghersi. «3D polylactide-based scaffolds for studying human hepatocarcinoma processes in vitro.» *Science and Technology of Advanced Materials Vol. 13*, 2012: 1-12.
- T. Miyata, T. Masuko. «Crystallization behaviour of poly(L-lactide).» *Polymer Vol.39*, 1998: 5515-5521.
- W.D.Callister. *Επιστήμη και τεχνολογία υλικών*. Θεσσαλονίκη: Τζιόλας, 2004.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΜΕΛΕΤΗ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ PLA

5.1 Μελέτη μεταβολής (απώλειας) βάρους

Κατά τη μελέτη αποικοδόμησης του PLA, τα δοκίμια που κατασκευάστηκαν με PLLA_PG:NaCl αναλογίας (50:50) μελετήθηκαν αρχικά ως προς τη μεταβολή του βάρους τους. Στον πίνακα 5.1 παρουσιάζεται η ποσοστιαία μεταβολή του βάρους του ικριώματος για το αντίστοιχο χρονικό διάστημα της εμβάπτισης του στο ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7.4. Όπως φαίνεται στην εικόνα 5.1, η απώλεια μάζας των ικριωμάτων πραγματοποιείται σε όλη τη μάζα του ικριώματος και από τον πίνακα 5.1 που εκφράζει τη μεταβολή του βάρους διαπιστώνεται πως το ποσοστό της αποικοδόμησης του PLA αυξάνεται όσο μεγαλώνει το χρονικό διάστημα εμβάπτισης του στο ρυθμιστικό διάλυμα. Ο 1^{ος} μήνας αποδόμησης εμφανίζει ποσοστιαία μεταβολή βάρους 0,61% , ενώ ο 2^{ος} μήνας 0,96% και ο 3^{ος} μήνας 1.34%.

$$\text{Μεταβολή Βάρους} = \frac{m_{\text{τελική}} - m_{\text{αρχική}}}{m_{\text{αρχική}}} * 100\%$$

Πίνακας 5. 1: Αποτελέσματα μετρήσεων μεταβολής βάρους των εμβαπτισμένων ικριωμάτων

Ικρίωμα PLLA_PG	Μεταβολή Βάρους (%)
1 ^{ος} μήνας αποδόμησης	-0,61
2 ^{ος} μήνας αποδόμησης	-0,96
3 ^{ος} μήνας αποδόμησης	-1.34

Από τις εικόνες των δοκιμών πριν και μετά την εμβάπτιση παρατηρείται επιφανειακή διάβρωση κατά τα πρώτα στάδια της αποικοδόμησης (μέχρι και τους δύο πρώτους μήνες) με εντονότερη διάβρωση στις άκρες των ικριωμάτων και σταδιακή αποκόλληση τμημάτων τους. Παρκάτω παρουσιάζονται οι φωτογραφίες των ικριωμάτων και τα βάρη που ζύγισαν πριν και μετά την εμβάπτιση στο ρυθμιστικό διάλυμα.



Δοκίμιο A: $m_{\text{πριν}} = 0,4597\text{g}$ και $m_{\text{μετά}} = 0,4569\text{g}$



Δοκίμιο B: $m_{\text{πριν}} = 0,4491\text{g}$, $m_{\text{μετά}} = 0,4448\text{g}$



Δοκίμιο Γ: $m_{\text{πριν}} = 0.4693\text{g}$, $m_{\text{μετά}} = 0.4630\text{g}$

Εικόνα 5. 1: Φωτογραφίες των ικριωμάτων πριν και μετά την εμβάπτισή τους στο ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7.4 για το δοκίμιο Γ

Κεφάλαιο 5: Μελέτη υδρολυτικής αποδόμησης ικριωμάτων PLA

Η δομή του υλικού καταστρέφεται σταδιακά, καθώς τις πρώτες ημέρες αποδομούνται οι άμορφες περιοχές του PLA και σιγά σιγά προσβάλλονται κι οι κρυσταλλικές. Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η κρυσταλλικότητα προσωρινά να αυξάνεται σε μικρό ποσοστό και με την πάροδο των ημερών (μήνα) όπου προσβάλλονται κι οι κρυσταλλικές περιοχές, η κρυσταλλικότητα σταδιακά μειώνεται. (L.Avérous 2004)

5.2 Έλεγχος μεταβολής μοριακού βάρους κατά την παραμονή των ικριωμάτων στο ρυθμιστικό διάλυμα

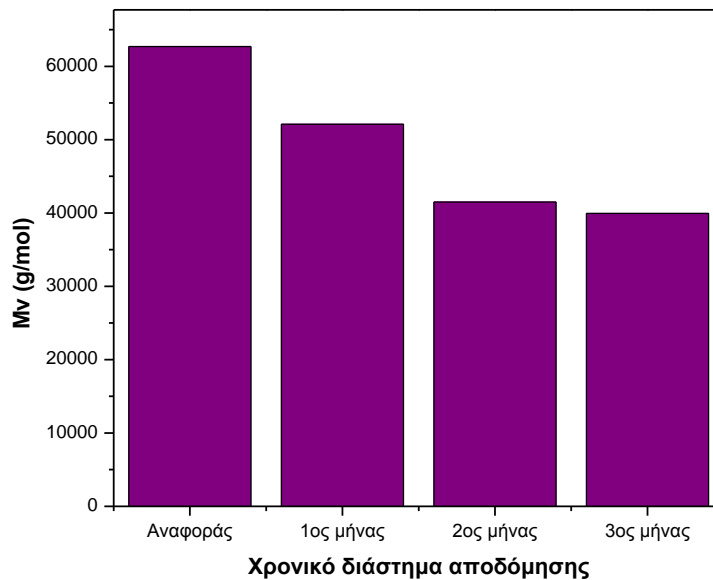
Για την επίδραση της αποικοδόμησης του πολυγαλακτικού οξέος στα μοριακά βάρη των ικριωμάτων πραγματοποιήθηκε μελέτη του ιξώδους με την τεχνική ιξωδομετρίας διαλύματος και μέσω του εσωτερικού ιξώδους και προσδιορίστηκε το μοριακό βάρος των δειγμάτων σύμφωνα με την εξίσωση Mark-Houwling-Sakurada. Η ιξωδομετρία διαλύματος πραγματοποιήθηκε στα διαλύματα των ικριωμάτων PLLA_PG/NaCl, 50:50 στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα αποικοδόμησης. Τα αποτελέσματα ιξωδομετρίας διαλύματος προέκυψαν με τη χρήση των σταθερών Schindler [$K=0.000545\text{dL/g}$, $a=0.73$]. Στο προηγούμενο κεφάλαιο πραγματοποιήθηκε η ίδια τεχνική για τον προσδιορισμό της επίδρασης της διαδικασίας μορφοποίησης στο μοριακό του βάρος. Παρακάτω παρουσιάζεται ο πίνακας 5.2 με τα μοριακά βάρη που υπολογίστηκαν από τα δείγματα προς μελέτη αποικοδόμησης συγκριτικά με το μοριακό βάρος του ικρίωματος αναφοράς, το οποίο μετά την διαδικασία έκπλυσης άλατος δεν εμβαπτίστηκε στο ρυθμιστικό διάλυμα.

Πίνακας 5. 2: Μοριακά βάρη δειγμάτων PLLA_PG και ικριωμάτων

PLLA_PG	M_n (g/mol)
Ικρίωμα PLLA_PG/NaCl, (50:50) αναφοράς	62,685±450
Ικρίωμα PLLA_PG/NaCl, (50:50) 1 μήνας αποδόμησης	52,098±541
Ικρίωμα PLLA_PG/NaCl, (50:50) 2 μήνες αποδόμησης	41,493±318
Ικρίωμα PLLA_PG/NaCl, (50:50) 3 μήνες αποδόμησης	39,947±477

Όπως παρατηρείται από τον πίνακα 5.2, η αποικοδόμηση των ικριωμάτων PLLA_PG επιφέρει αξιοσημείωτες αλλαγές στα μοριακά τους βάρη. Μετά τον πρώτο μήνα εμβάπτισης το μοριακό βάρος μειώνεται κατά 16.9% σε σχέση με το ικρίωμα αναφοράς, η μείωση φτάνει στο 33.8% μετά το δεύτερο μήνα και 36.3% τον τρίτο μήνα. Γενικά, το PLLA παρουσιάζει αργό ρυθμό αποδόμησης σε συνάρτηση και με άλλα χαρακτηριστικά. Στην περίπτωση αυτή η παρουσία πορώδους δομής διευκολύνει την πρόσβαση του νερού και την προσβολή του πολυμερούς από υδρολυτικούς μηχανισμούς. Ο βαθμός της υδρόλυσης εξαρτάται από το μοριακό βάρος, την υδροφιλικότητα και την κρυσταλλικότητα του πολυμερούς, καθώς και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το pH και η θερμοκρασία (G.Kale 2006). Συνήθως ο χρόνος αποδόμησης είναι μικρότερος για χαμηλού μοριακού βάρους, περισσότερο υδρόφιλα και άμορφα πολυμερή. Επιπλέον, μέσω συμπολυμερισμού και κατάλληλης επιλογής του μοριακού βάρους και των ακραίων ομάδων του πολυμερούς, είναι δυνατή η επίτευξη συγκεκριμένου χρόνου αποδόμησης. Αφού το πολυμερές αποδομηθεί, τα προϊόντα της υδρόλυσης είτε μεταβολίζονται, είτε εκκρίνονται. (R.Jien 2011)

Κεφάλαιο 5: Μελέτη υδρολυτικής αποδόμησης ικριωμάτων PLA

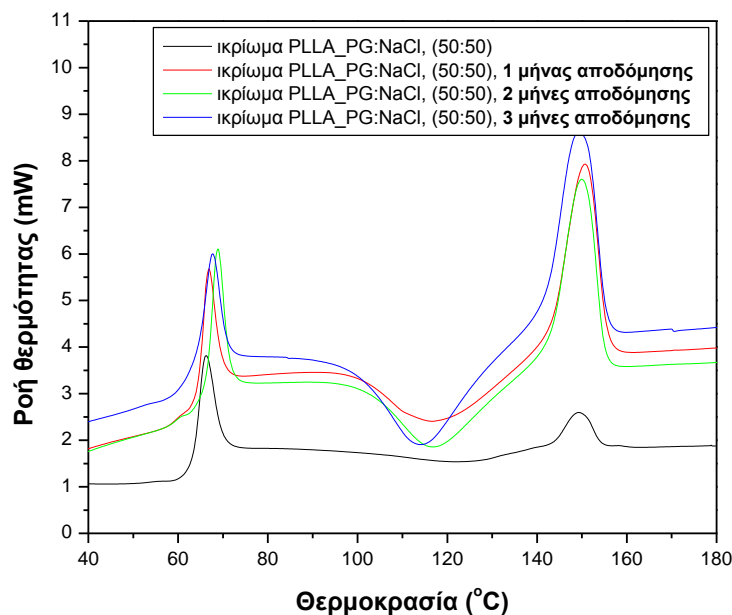


Σχήμα 5. 1: Επίδραση της αποικοδόμησης στο μοριακό βάρος του PLLA_PG

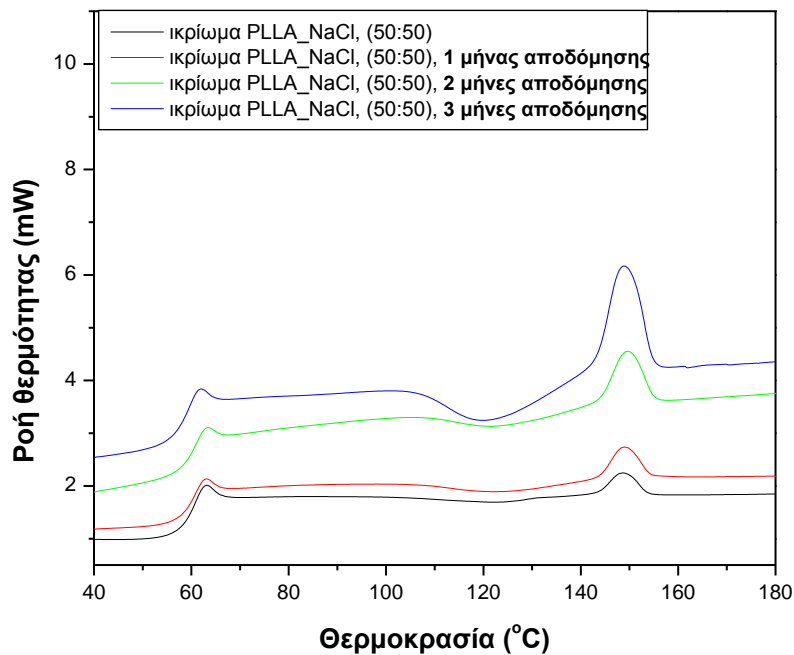
Είναι φανερό πως το χρονικό διάστημα αποικοδόμησης επηρεάζει το μοριακό βάρος του πολυμερούς. Η μείωση του μοριακού βάρους συνεπάγεται του τεμαχισμού ή της θραύσης της μακροαλυσίδας που πραγματοποιείται σε δύο στάδια, τον αποπολυμερισμό (εξωγενής τεμαχισμός) και τον τυχαίο (ενδογενή) τεμαχισμό. Κατά το πρώτο στάδιο, η αλυσίδα τεμαχίζεται στο τελικό της άκρο και ένα υδατοδιαλυτό μονομερές/ολιγομερές απελευθερώνεται στο μέσο το οποίο πραγματοποιείται η αντίδραση και το ποσοστό μείωσης του μοριακού βάρους του εναπομείναντος πολυμερούς είναι μικρό. Σε αντίθεση με τον ενδογενή τεμαχισμό, το κόψιμο της πολυμερικής αλυσίδας είναι τυχαίο και η μείωση του μοριακού βάρους πραγματοποιείται ταχύτατα σε συνδυασμό με την υποβάθμιση των μηχανικών του ιδιοτήτων. (H.Sawada 1986)

5.3 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Για περαιτέρω μελέτη της διαδικασίας αποικοδόμησης πραγματοποιήθηκε μελέτη των θερμικών τους ιδιοτήτων των ικριωμάτων μέσω της Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μετά από ξήρανση των ικριωμάτων μέχρι σταθερού βάρους.



Σχήμα 5. 2: Συγκριτικές καμπύλες DSC ικριωμάτων PLLA_PG:NaCl, (50:50) κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης



Σχήμα 5. 3: Συγκριτικές καμπύλες DSC ικριωμάτων PLLA_PG:NaCl, (50:50) κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης

Από τα σχήματα 5.3 και 5.4 λαμβάνονται πληροφορίες για τον πρώτο και δεύτερο κύκλο αντίστοιχα του ικριώματος αναφοράς PLLA_PG:NaCl, (50:50) και των ικριωμάτων αντίστοιχης αναλογίας που μελετήθηκαν ως προς την αποικοδόμηση του πολυγαλακτικού οξέος για διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Στο Σχήμα 5.3 είναι εμφανείς οι ενδόθερμες κορυφές χαλάρωσης του PLLA κι όσο αυξάνεται ο χρόνος αποδόμησης, η ενδόθερμη κορυφή γίνεται υψηλότερη με μεγαλύτερη ένταση. Όσον αφορά το πρώτο δείγμα αποδόμησης που αντιστοιχεί σε ένα μήνα εμβάπτισης στο ρυθμιστικό διάλυμα, παρατηρείται πως δεν παρουσιάζει σημαντική διαφορά από το ικρίωμα αναφοράς που δεν εμβάπτιστηκε. Πιο συγκεκριμένα, το ικρίωμα αναφοράς και το ικρίωμα ενός 1 μήνα εμβάπτισης στο ρυθμιστικό διάλυμα δεν παρουσιάζουν ουσιαστικές διαφορές, καθώς οι θερμοκρασίες υαλώδους μετάβασης (T_g), οι θερμοκρασίες τήξης τους (T_m) και οι ενθαλπίες τήξης (ΔH_m) είναι πολύ κοντινές τιμές. Αυτό υποδεικνύει το γεγονός ότι ο ένας μήνας εμβάπτισης στο ρυθμιστικό διάλυμα δεν έχει μεταβάλει τις θερμικές του μεταπτώσεις και η αποδόμηση των αλυσιδών δεν έχει ξεκινήσει ακόμα σε έντονο βαθμό.

Από το δεύτερο μήνα αποδόμησης και μετά παρατηρούνται αλλαγές στις θερμικές μεταπτώσεις του πολυμερούς. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης εμφανίζει τάση μείωσης συναρτήσει της του χρόνου αποδόμησης, ενώ η θερμοκρασία τήξης δεν εμφανίζει σημαντική διαφορά συγκριτικά με το ικρίωμα αναφοράς. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η ελάττωση του μοριακού βάρους προκαλεί τη μείωση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης T_g . Ταυτόχρονα, η ελάττωση του μοριακού βάρους οδηγεί σε αύξηση του ελευθέρου όγκου με μεγαλύτερη ελευθερία κινήσεως της αλύσου και το φαινόμενο αυτό οδηγεί σε ελάττωση της T_g . (R.Jien 2011)

Μια ακόμη σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκριτικών καμπυλών που παρουσιάστηκαν στο σχήμα 5.2 και 5.3 είναι το φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης που εμφανίζουν τα ικρίωματα που έχουν εμβάπτιστεί στο ρυθμιστικό διάλυμα εν αντιθέσει με το ικρίωμα αναφοράς το οποίο δεν εμφανίζει ψυχρή κρυστάλλωση κατά την θέρμανση του. Όπως μελετήθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο το πολυμερές PLLA_PG είναι ένα πολυμερές το οποίο δεν εμφανίζει ψυχρή κρυστάλλωση ούτε και κρυστάλλωση κατά την ψύξη με το ρυθμό τον οποίο πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις. Για τη θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης διαπιστώνεται μετατόπιση της εξώθερμης κορυφής σε χαμηλότερες θερμοκρασίες και μεταβολή της τάξης των 5-10°C για τα ικρίωματα προς αποδόμηση και από τον πρώτο στο δεύτερο κύκλο θέρμανσης. Και στους δύο κύκλους θέρμανσης, η αύξηση

Κεφάλαιο 5: Μελέτη υδρολυτικής αποδόμησης ικριωμάτων PLLA

που παρατηρείται στις ενθαλπίες ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των ικριωμάτων συναρτήσει του χρόνου αποδόμησης, συνδέεται κατά πάσα πιθανότητα με την αποδόμηση κατά προτεραιότητα των άμορφων περιοχών με αποτέλεσμα την αύξηση του ποσοστού κρυσταλλικότητας του πολυμερούς.

Γενικά, παρατηρείται πως όσο αυξάνει ο χρόνος εμφάνισης επηρεάζεται η κρυσταλλικότητα των δειγμάτων καθώς αυξάνει συναρτήσει του χρόνου αποδόμησης, ενώ η θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης παρουσιάζει μικρή μείωση. Σύμφωνα με αυτά που έχουν αναφερθεί στη θεωρία, η αποδόμηση αποτελεί συνάρτηση της πολυμερικής δομής, του pH του διαλύματος και της θερμοκρασίας. Το άμορφο κομμάτι του PLLA μετατρέπεται σε κρυσταλλικές φάσεις, καθώς το πολυμερές υπόκειται στους μηχανισμούς υδρόλυσης. Μετά την υδρολυτική αποδόμηση το μοριακό βάρος του πολυμερούς μειώνεται, ενώ φαινόμενα αναδιοργάνωσης των πολυμερικών αλυσίδων μπορεί να επηρεάζουν το μηχανισμό κρυστάλλωσης του πολυμερούς. Στις περιοχές αυτές συμμετέχουν πολυμερικές αλυσίδες μικρότερου μοριακού βάρους γι' αυτό και το φαινόμενο είναι εντονότερο στα δείγματα χαμηλότερου μοριακού βάρους συνεπώς και μεγαλύτερου χρόνου αποδόμησης.

Πίνακας 5. 3: Αποτελέσματα ενθαλπιών. ψυχρής κρυστάλλωσης δειγμάτων PLLA_PG

	1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης
PLLA_PG	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_m (J/g)	ΔH_m (J/g)
Ικρίωμα PLLA_PG:NaCl, (50:50)	-	-	5.74±0.50	2.42±0.22
1^{ος}μήνας αποδόμησης	-16.23±2.12	-3.30±0.34	17.66±0.10	2.56±0.16
2^{ος}μήνας αποδόμησης	-17.35±0.69	-4.29±0.11	21.21±0.06	5.04±0.05
3^{ος}μήνας αποδόμησης	-27.29±1.02	-7.51±1.13	24.48±0.13	8.49±0.55

Πίνακας 5. 4: Αποτελέσματα θερμοκρασιών υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης δειγμάτων PLLA_PG

	1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	1 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης	2 ^{ος} Κύκλος Θέρμανσης
PLLA_PG	T_g (°C)	T_g (°C)	T_{cc} (°C)	T_{cc} (°C)	T_m (°C)	T_m (°C)
Ικρίωμα PLLA_PG:NaCl, (50:50)	63.1±0.67	59.6±0.48	-	-	149.4±0.74	148.6±0.60
1^{ος}μήνας αποδόμησης	63.2±0.48	59.4±0.31	116.6±0.44	124.2±0.54	150.1±0.27	149.1±0.30
2^{ος}μήνας αποδόμησης	64.6±0.01	59.9±0.33	117.1±0.23	122.6±0.47	149.8±0.14	149.6±0.11
3^{ος}μήνας αποδόμησης	68.1±0.078	58.5±0.66	115.2±1.64	120.7±0.46	149.7±1.03	148.9±0.47

Βιβλιογραφία

- Averous, L. «Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review.» *Journal of Macromolecular Science Vol.4*, 2004: 231-274.
- B.Ndazi. «Characterization of hydrolytic degradation of polylactic acid/rice hulls composites in water at different temperatures.» *Express Polymer Letters Vol.5*, 2011: 119-131.
- G.Kale. «Degradation of commercial biodegradable packages under real composting and ambient exposure conditions.» *Journal of Polymer and Environments Vol.14*, 2006: 317-337.
- H.Sawada. «Depolymerization.» Στο *Encyclopedia of Polymer Science & Engineering*, 716-745. New York: Willey, 1986.
- L.Avérous. «Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review.» *Journal of Macromolecular Science C4*, αρ. 3 (2004): 231-274.
- R.Jien. «Biodegradable Poly(Lactic Acid): Synthesis Modification, Processing and Applications.» 273-295. Springer Berlin Heidelberg, 2011.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο πλαίσιο της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας κατασκευάστηκαν ικρίωματα από πολυ(γαλακτικό οξύ) και μελετηθήκαν οι θερμικές μεταπτώσεις τους και η μορφολογία του πορώδους με σκοπό την πρόβλεψη της συμπεριφοράς του πολυμερούς κατά την αξιοποίησή τους σε εφαρμογές ανάπτυξης ιστών. Τα ικρίωματα κατασκευάστηκαν από πολυ(L-γαλακτικό οξύ) που είναι ημικρυσταλλικό και δόθηκε έμφαση στην επίτευξη πορώδους, καθώς και στη διασυνδεσιμότητα των πόρων του ικρίωματος.

Η δημιουργία των τρισδιάστατων δομών των ικριωμάτων έχει μελετηθεί με διάφορες τεχνικές. Η κατάλληλη τεχνική επιλέγεται βάσει του υλικού που θα χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή του ικρίωματος και των ιδιοτήτων του, καθώς και των επιθυμητών διαστάσεων που επιβάλλεται να έχει ανάλογα με την εφαρμογή που προορίζεται. Το πολυ(γαλακτικό οξύ) έχει ευρεία χρήση σε βιοϊατρικές εφαρμογές λόγω της βιοαποικοδομησιμότητας και βιοσυμβατότητάς του, των ανώτερων θερμομηχανικών του ιδιοτήτων και της διαφάνειας που παρουσιάζει. Ωστόσο, το πολυμερές αυτό παρουσιάζει και ορισμένα μειονεκτήματα όπως η χαμηλή ανθεκτικότητα, ο χαμηλός ρυθμός αποδόμησης και η υδροφοβικότητα.

Οι δομές των τρισδιάστατων ικριωμάτων πρέπει να είναι κατάλληλες για την αποίκηση των κυττάρων, την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό τους με σκοπό την αναγέννηση τρισδιάστατων ιστών με κατάλληλη δομή και λειτουργία. Η δυνατότητα εφαρμογής τους σε οποιοδήποτε τομέα της ιστικής μηχανικής (π.χ. αναγέννηση ιστών οστού, χόνδρου, αγγείων κ.α) χαρακτηρίζεται από το μέγεθος των πόρων, το πορώδες και τη διασυνδεσιμότητα τους, την επιφάνεια και τις μηχανικές ιδιότητες των ικριωμάτων. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι κρίσιμης σημασίας, καθώς η αρχιτεκτονική του ικρίωματος θα καθορίσει τη μετανάστευση των κυττάρων στη μήτρα του ικρίωματος μετά την αρχική προσκόλληση τους, τη μεταφορά θρεπτικών και μεταβολικών προϊόντων και θα εξασφαλίσει αρκετό χώρο για την ανάπτυξη αγγειακού συστήματος των νέων ιστών. Οι μεγάλοι πόροι είναι κατάλληλοι για να προάγουν τους μηχανισμούς μεταφοράς και την ανάπτυξη του αγγειακού συστήματος, εν αντιθέσει με τους μικρούς πόρους, οι οποίοι προσφέρουν μεγάλη ειδική επιφάνεια για την προσκόλληση πολλών κυττάρων ανά κύτταρο. Επιπλέον, οι μηχανικές ιδιότητες και η βιοαποικοδομησιμότητα του ικρίωματος έχουν επίσης σημαντικό ρόλο επειδή το ικρίωμα αποτελεί το προσωρινό υποστήριγμα της δομής του ιστού που θα ανπτυχθεί και χρειάζεται να αποδομηθεί στο πέρασμα του χρόνου καθώς το τραύμα επουλώνεται.

Η τεχνική κατασκευής ικριωμάτων που χρησιμοποιήθηκε είναι η έκπλυση σωματιδίων άλατος. Με τη τεχνική αυτή μπορεί να ελεγχθεί το μέγεθος των πόρων, ανάλογα με το μέγεθος των σωματιδίων που θα χρησιμοποιηθεί και το πορώδες από την αναλογία πολυμερούς/σωματιδίων. Λόγω της χαμηλής αντίστασης ροής των σωματιδίων, τα ικρίωματα με σφαιρικούς πόρους έχουν λογικά βελτιωμένη την ικανότητα ανταλλαγής υγρών και θρεπτικών συστατικών για τον ανεφοδιασμό των κυττάρων. Η κανονική γεωμετρία που επιτυγχάνεται με την τεχνική απομάκρυνσης σωματιδίων μπορεί να βελτιώσει την μηχανική συμπεριφορά των ικριωμάτων.

Ο κυριότερος παράγοντας αποτυχίας των τεχνικών κατασκευής ικριωμάτων είναι η αδυναμία ενσωμάτωσης των μορφολογικών χαρακτηριστικών που απαιτούνται σε εφαρμογές της ιστικής μηχανικής. Παρ' όλα αυτά, ικρίωματα που έχουν κατασκευαστεί με

την τεχνική έκπλυσης σωματιδίων τείνουν να έχουν πορώδη δομή με διασυνδεδεμένα τοιχώματα πόρων, αλλά περιορισμένα σημεία διασύνδεσης εξαιτίας της επαφής μεταξύ των προσκείμενων κρυστάλλων στο πολυμερικό δίκτυο. Μία τέτοια πορώδη δομή που θεωρείται σχεδόν κλειστή είναι ανεπιθύμητη διότι εμποδίζει την αποικία των κυττάρων μετά την είσοδο τους στο ικρίωμα και μπλοκάρει τους μηχανισμούς μοριακής μεταφοράς των θρεπτικών και μεταβολικών προϊόντων. Επίσης, αυτή η τεχνική είναι απλή και δεν απαιτεί κάποια ειδική διάταξη ή συσκευή και ούτε απαιτούνται ιδιαίτερες συνθήκες, όπως πίεση και θερμοκρασία. Μειονέκτημα της τεχνική αυτής αποτελεί η αδυναμία ελέγχου του σχήματος των πόρων και της διασύνδεσης τους, επιτρέπει την κατασκευή ικριώματος με λεπτό πάχος καθώς και η εφαρμογή της σε υδρόφιλα πολυμερή.

Η τεχνική της έκπλυσης σωματιδίων ποικίλει ανάλογα με το σύστημα που επιλέγεται κάθε φορά για την κατασκευή του ικριώματος. Αυτό εξαρτάται από το πολυμερές που θα χρησιμοποιηθεί, καθώς και τη μορφή του, τα πορογενή σωματίδια που θα χρησιμοποιηθούν, καθώς και το μέγεθος τους και τη διαδικασία μορφοποίησης. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο έλεγχος του πορώδους με την τεχνική αυτή είναι κατά κάποιο τρόπο πιο εύκολος όταν χρησιμοποιούνται σωματίδια παραφίνης και ζελατίνης με τα οποία διευρύνεται το εύρος των θερμοπλαστικών πολυμερών που μπορεί να βρεί εφαρμογή. Συγκεκριμένα, η έκπλυση σωματιδίων ζελατίνης επιτρέπει αποτελεσματικά την επιλογή διαφορετικών πολυμερών και τη βελτιστοποίηση της μορφολογίας στο σχεδιασμό ικριωμάτων για εφαρμογές ιστομηχανικής.

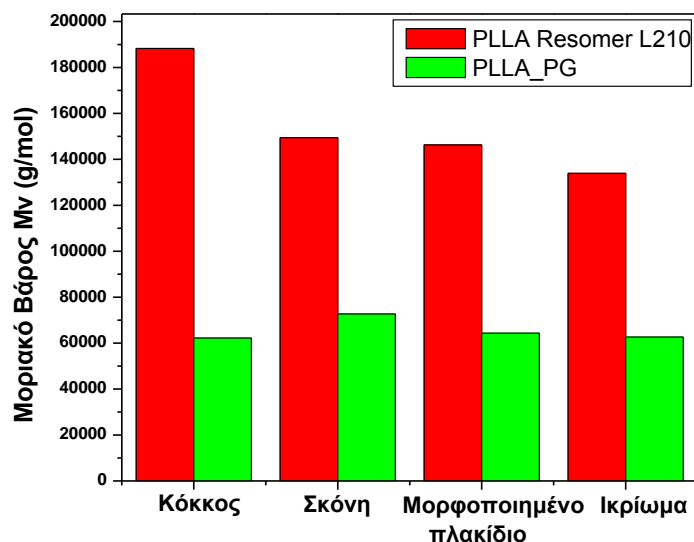
Για την κατασκευή των ικριωμάτων στην εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκε ως πορογενές μέσο άλας χλωριούχου νατρίου (NaCl). Τα σωματίδια του άλατος απομακρύνονται από το ικρίωμα μέσω της έκπλυσης, αφήνοντας κενά στις θέσεις που καταλάμβαναν προηγουμένως με αποτέλεσμα να δημιουργούνται οι πόροι. Η αναλογία του ποσοστού πολυμερούς/άλατος που αναμίχθηκαν για την κατασκευή των ικριωμάτων ήταν (50:50), (40:60) και (30:70) και η μορφοποίηση πραγματοποιήθηκε υπό θερμή συμπίεση. Για την κατασκευή των ικριωμάτων χρησιμοποιήθηκαν δύο τύποι PLLA (PLLA Resomer L210 και το PLLA_PG) πρόκειται για ημικρυσταλλικά πολυμερή με διαφορετικό μοριακό βάρος και ποσοστό κρυσταλλικότητας.

Στα ικρίωματα μελετήθηκε η επίδραση της διαδικασίας μορφοποίησης μέσω του προσδιορισμού του μοριακού βάρους του πολυμερούς καθώς και των θερμικών μεταπτώσεων του πολυμερούς και έγινε μελέτη της μορφολογίας της τρισδιάστατης πορώδους της δομής που αναπτύχθηκε μετά την απομάκρυνση του άλατος.

Επίδραση της διαδικασίας μορφοποίησης των ικριωμάτων στο μοριακό βάρος του πολυμερούς

Ο χαρακτηρισμός των ικριωμάτων έγινε με την τεχνική ιξωδομετρίας διαλύματος, της μεθόδου της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC), της Θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης (TGA) και η μορφολογία του πορώδους εξετάσθηκε με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM). Η τεχνική της ιξωδομετρίας διαλύματος χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμηθεί η επίδραση της διαδικασίας μορφοποίησης του ικριώματος στο μοριακό του βάρος. Κατά την επεξεργασία παρατηρήθηκε μείωση του μοριακού βάρους του PLLA Resomer L210, ενώ το πολυμερές PLLA_PG χαμηλότερου μοριακού βάρους δείχνει να μην

επηρεάζεται σημαντικά από την κονιορτοποίηση, τη διαδικασία μορφοποίησης του πολυμερούς στην πρέσσα και τέλος την έκπλυση. Σε αντίθεση με το PLLA Resomer L210 που είναι μεγαλύτερου μοριακού βάρους πολυμερές, το PLLA_PG παρουσιάζει μεγαλύτερη σταθερότητα κατά την επεξεργασία του.



Σχήμα 6. 1: Συγκριτικό ιστόγραμμα με τα μοριακά βάρη των πολυμερών PLLA Resomer L210 και PLLA_PG

Επίδραση της διαδικασίας μορφοποίησης των ικριωμάτων
στις θερμικές μεταπτώσεις του πολυμερούς

Όσον αναφορά τη μελέτη των θερμικών μεταπτώσεων του πολυμερούς χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC). Για το PLLA Resomer L210 παρατηρείται από τις συγκριτικές καμπύλες μεταξύ της σκόνης του πολυμερούς, του μορφοποιημένου πλακιδίου και του ικριώματος που προέκυψε μετά την έκπλυση, ότι οι θερμοκρασίες τήξης των δειγμάτων παραμένουν σχεδόν σταθερές και για τους δυο κύκλους θέρμανσης κατά τη μορφοποίηση του πολυμερούς, ενώ το ικρίωμα παρουσιάζει τη μικρότερη κρυσταλλικότητα από τα άλλα δείγματα. Επίσης, τα δείγματα του PLLA Resomer L210 παρουσιάζουν εξώθερμες καμπύλες κατά τη θέρμανση που αντιστοιχούν στο φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης. Το PLLA δεν προλαβαίνει να κρυσταλλωθεί καθώς έχει αργό ρυθμό κρυστάλλωσης, με αποτέλεσμα η ανάπτυξη της κρυσταλλικότητας του να συμβαίνει κατά την θέρμανση πριν την τήξη του πολυμερούς. Για το πολυμερές PLLA_PG παρατηρείται επίσης πως το ικρίωμα εμφανίζει τη μικρότερη κρυσταλλικότητα συγκριτικά με τα άλλα δείγματα και υψηλότερη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης (T_g), ενώ από τον κύκλο ψύξης παρατηρείται πως το πολυμερές δεν παρουσιάζει θερμοκρασία κρυστάλλωσης.

Από τη μελέτη της θερμικής αποδόμησης του ικριώματος με TGA, η θερμοκρασία του μέγιστου ρυθμού αποδόμησης παρουσιάζει μείωση συγκριτικά με τη σκόνη του πολυμερούς PLLA_PG, ενώ το υπόλειμμα καύσης του ικριώματος παρουσιάζει μια μικρή αύξηση. Η αύξηση αυτή πιθανότατα οφείλεται σε μικρό υπόλειμμα σωματιδίων άλατος, το οποίο δεν απομακρύνθηκε κατά τη διαδικασία έκπλυσης.

Επίδραση της προσθήκης πολυ(αιθυλενογλυκόλης) PEG
στις θερμικές μεταπτώσεις του ικρίωματος

Από τις συγκριτικές καμπύλες του DSC παρατηρείται μετατόπιση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης για το ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG, (50:40:10). Αυτή η μετατόπιση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης οφείλεται στην προσθήκη της PEG. Η ανάμιξη της PEG με πολυμερή αυξάνει την ευκαμψία των μορίων. Εφόσον αυξάνεται η ευκαμψία των πολυμερών προκαλείται ταυτόχρονη μείωση του T_g . Το μη εκπλυμένο ικρίωμα εμφανίζει μια ενδόθερμη κορυφή στο θερμοκρασιακό εύρος των 55-65 °C, η οποία οφείλεται στην προσθήκη της PEG. Η κορυφή οφείλεται στην τήξη της PEG που συμβαίνει κοντά στους 60 °C και κατά τη θέρμανση του ικρίωματος δεν εμφανίζεται η ξεκάθαρη βηματική αλλαγή της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, αλλά μια κορυφή η οποία οφείλεται σε ενδόθερμα φαινόμενα χαλάρωσης, η τήξη της PEG και η υαλώδης μετάβαση του PLLA. Το γεγονός αυτό παρατηρείται ξεκάθαρα στο ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG, το οποίο μετά τη διαδικασία έκπλυσης δεν εμφανίζει έντονα αυτή την κορυφή, καθώς η PEG έχει εκπλυθεί αλλά εμφανίζει θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης αρκετά μικρότερη από αυτή του PLLA_PG.

Η προσθήκη της PEG πιθανότατα αυξάνει την κινητικότητα των πολυμερικών αλυσίδων κι αυξάνει το βαθμό κρυστάλλωσης μειώνοντας την ενέργεια, που απαιτείται κατά τη διαδικασία της κρυστάλλωσης για την κατάλληλη διευθέτηση των αλυσίδων. Τα ικρίωματα με προσθήκη PEG εμφανίζουν μεγαλύτερη κρυσταλλικότητα συγκριτικά με τα άλλα δείγματα, ενώ κατά τους κύκλους θέρμανσης παρατηρείται το φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης, γεγονός που το διαφοροποιεί από τα άλλα δείγματα εξεταζόμενα δείγματα καθαρού PLLA, τα οποία δεν κρυσταλλώνονται κατά την θέρμανση. Όσον αναφορά το μη εκπλυμένο ικρίωμα PLLA_PG:NaCl:PEG παρατηρείται πως η προσθήκη της PEG δείχνει να ευνοεί την ανάπτυξη κρυσταλλικότητας στο PLLA, καθώς παρουσιάζει δύο ενδόθερμες κορυφές που οφείλονται η πρώτη στην τήξη τη φάσης της PEG και η δεύτερη στη φάση του PLLA το οποίο σε καθαρή μορφή δεν παρουσιάζει κρυστάλλωση κατά την ψύξη., ενώ η προσθήκη της PEG προκαλεί τη δημιουργία κρυστάλλων.

Μορφολογία ικριωμάτων

Η μορφολογία των ικριωμάτων πρέπει να προσφέρει ένα περιβάλλον ικανό για την προσκόλληση, μετανάστευση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση διαφόρων τύπων κυττάρων, προσομοιάζοντας την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Οι πόροι των ικριωμάτων καθορίζουν τον πιθανό χώρο εξάπλωσης του νέου ιστού και πρέπει να διατηρούν μια κατάλληλη απόσταση μεταξύ των κυττάρων που εμφυτεύονται, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η διασυνδεσιμότητα μεταξύ των πόρων και να γίνεται η διάχυση των αερίων, των θρεπτικών ουσιών, αλλά και η ανάπτυξη του αγγειακού συστήματος.

Ο σχηματισμός πόρων είναι πολύ σημαντικός παράγοντας για τη λειτουργικότητα των ικριωμάτων καθώς από τη δημιουργία του πορώδους εξαρτάται πλήθος λειτουργιών. Για τη μελέτη της μορφολογίας των ικριωμάτων ελήφθησαν μικροφωτογραφίες από τις επιφάνειες των ικριωμάτων που κατασκευάστηκαν, όπου παρατηρούνται οι κενές θέσεις που προέκυψαν από την έκπλυση άλατος καθώς και πολλές εμφανείς διαμορφώσεις με σχήμα ορθογώνιου παραλληλεπίπεδου, που προέρχονται από τα σωματίδια NaCl, που έχουν εκπλυθεί και μικρούς διασυνδεδεμένους πόρους ανάμεσα στα κενά, που έχουν δημιουργηθεί από τη σκόνη αλατιού.

Πιο συγκεκριμένα, παρ' ότι το μέγεθος των κόκκων που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή των ικριωμάτων έχει κοκκομετρία 200-300 μm, παρατηρούνται κι άλλοι μικρότεροι πόροι από αυτό το μέγεθος. Οι μικρότεροι πόροι που σχηματίζονται μπορούν να επισημανθούν ως "προ-πόροι". Οι μικρότερες οπές και η τραχύτητα στην επιφάνεια μπορούν να επιτρέψουν τη διάχυση των θεραπευτικών συστατικών μέσα στο ικρίωμα, αλλά και των παραπροϊόντων αποδόμησης, καθώς και την καλύτερη επαφή των κυττάρων σε όλο τον όγκο του ικριώματος, κάτι το οποίο είναι πολύ κρίσιμο για εφαρμογές της ιστικής μηχανικής. Από την άλλη μεριά, το εύρος του μεγέθους των πόρων αντικατοπτρίζει την δυσκολία ελέγχου του πορώδους με αυτή τη μέθοδο, παρ' ότι η ύπαρξη αυτών των μικρότερων πόρων μπορεί να βοηθήσει μετέπειτα στην προσκόλληση κυττάρων κατά την καλλιέργεια.

Από τη σύγκριση των διαφόρων αναλογιών πολυμερούς/άλατος κατά την κατασκευή των ικριωμάτων προκύπτει το συμπέρασμα πως όσο αυξάνεται το ποσοστό χλωριούχου νατρίου κατά τη μορφοποίηση τόσο αυξάνεται και το πορώδες σύμφωνα με τις μικροφωτογραφίες. Όλες οι αναλογίες των ικριωμάτων που κατασκευάστηκαν εμφανίζουν πορώδη δομή με σημεία διασύνδεσης εντοπισμένα σε διάφορες περιοχές. Παρατηρήθηκε πως τα ικρίωματα μεγαλύτερου ποσοστού άλατος παρουσιάζουν καλύτερη διασύνδεση των πόρων με μεγαλύτερες κενές θέσεις και σε ευρύτερες περιοχές των επιφανειών τους συγκριτικά με τις υπόλοιπες αναλογίες. Αυτό οφείλεται στην μικρή ποσότητα PLLA που χρησιμοποιήθηκε κατά την κατασκευή του ικριώματος εν αντίθεση με τη μεγάλη ποσότητα NaCl, η οποία απομακρύνθηκε κατά την έκπλυση με αποτέλεσμα να δημιουργηθούν μεγάλα κενά από συσσωματώματα άλατος και ελλιπούς ποσότητας πολυμερούς.

Από τη σύγκριση των ικριωμάτων που κατασκευάστηκαν από τους δύο τύπους πολυμερών παρατηρήθηκε πως τα ικρίωματα του πολυμερούς PLLA_PG παρουσιάζουν εντονότερα πόρους με τραχύτητα στο εσωτερικό των τοιχωμάτων κι άλλους μικρότερους μικροπόρους στο εσωτερικό. Το γεγονός αυτό αποτελεί πλεονέκτημα για το πολυμερές, καθώς αυτοί οι μικροσκοπικοί πόροι στο εσωτερικό των τοιχωμάτων είναι επιθυμητοί, διότι λειτουργούν ως δίοδος για τη μεταφορά διαφόρων συστατικών, αλλά και βελτιώνουν τη διεπιφανειακή προσκόλληση των κυττάρων στο ικρίωμα.

Όσον αναφορά τη μορφολογία των ικριωμάτων που κατασκευάστηκαν με την προσθήκη της πολύ(αιθυλενογλυκόλης), στις μικροφωτογραφίες εντοπίζονται πόροι χωρίς όμως έντονα σημεία διασύνδεσης μεταξύ τους, εκτός από μεμονωμένα σημεία. Η έλλειψη διασυνδεσιμότητας των πόρων αποτελεί μειονέκτημα για το σύστημα που μελετήθηκε, παρ' όλα αυτά εντοπίζονται αξιοσημείωτες παρατηρήσεις για την επίδραση του πλαστικοποιητή στη μορφολογία της επιφάνειας των ικριωμάτων.

Μελέτη της υδρολυτικής αποδόμησης ικριωμάτων PLLA

Για τη μελέτη της αποδόμησης του πολυ(γαλακτικού οξέος), ικρίωματα αναλογίας PLLA_PG:NaCl, (50:50) εμβαπτίστηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα για διαφορετικά χρονικά διαστήματα (30, 60 και 90 ημέρες) και μελετήθηκε η μεταβολή του μοριακού βάρους και των θερμικών μεταπτώσεων του πολυμερούς κατά τη διαδικασία αποδόμησης τους. Το ποσοστό της αποικοδόμησης του PLA παρατηρήθηκε πως αυξάνεται όσο μεγαλώνει το χρονικό διάστημα εμβάπτισης του στο ρυθμιστικό διάλυμα. Επιπλέον παρατηρείται πως το χρονικό διάστημα αποικοδόμησης επηρεάζει το μοριακό βάρος του πολυμερούς. Το

γεγονός αυτό εξηγείται καθώς ο βαθμός της υδρόλυσης εξαρτάται από το μοριακό βάρος του πολυμερούς, την υδροφιλικότητα και την κρυσταλλικότητα του, καθώς και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το pH και η θερμοκρασία. Συνήθως ο χρόνος αποδόμησης είναι μικρότερος για χαμηλού μοριακού βάρους, περισσότερο υδρόφιλα και άμορφα πολυμερή.

Από τις συγκριτικές καμπύλες του DSC συμπεραίνεται πως ο ένας μήνας εμβάπτισης στο ρυθμιστικό διάλυμα δεν έχει μεταβάλει τις θερμικές του μεταπτώσεις και η αποδόμηση των αλυσίδων δεν έχει ξεκινήσει ακόμα σε εκτεταμένο βαθμό. Από το δεύτερο μήνα εμβάπτισης και έπειτα παρατηρείται σημαντική διαφορά των θερμικών ιδιοτήτων συγκριτικά με το ικρίωμα αναφοράς. Γενικά, παρατηρείται πως όσο αυξάνει ο χρόνος εμβάπτισης, οι μηχανισμοί υδρόλυσης εντείνονται. Μετά την υδρολυτική αποδόμηση το μοριακό βάρος του πολυμερούς μειώνεται, ενώ αυξάνει η κρυσταλλικότητά του. Οι μηχανισμοί της αποδόμησης εντοπίζονται κατά προτεραιότητα στις άμορφες περιοχές του PLLA. Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η κρυσταλλικότητα των δειγμάτων να αυξάνει συναρτήσει του χρόνου αποδόμησης.

Μια ακόμη σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκριτικών καμπυλών που παρουσιάστηκαν για τα δείγματα προς αποδόμηση και του ικρίωματος αναφοράς είναι το φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης. Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται στις καμπύλες θέρμανσης των ικριωμάτων που είναι σε διαδικασία αποδόμησης εν αντιθέσει με το ικρίωμα που δεν έχει εμβαπτιστεί το οποίο δεν εμφανίζει ψυχρή κρυστάλλωση κατά την θέρμανση του. Το πολυμερές PLLA_PG είναι ένα ημικρυσταλλικό πολυμερές το οποίο δεν εμφανίζει ψυχρή κρυστάλλωση κατά την θέρμανση ούτε και κρυστάλλωση κατά την ψύξη με το ρυθμό τον οποίο πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις. Η αύξηση που παρατηρείται στις ενθαλπίες ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης των ικριωμάτων προς μελέτη της αποδόμησης, αποδεικνύει την αποδόμηση κατά προτεραιότητα της άμορφης φάσης του PLLA, αλλά και ενδεχόμενη μεταβολή στον τρόπο κρυστάλλωσης του πολυμερούς. Ενδεχομένως η μείωση στο μοριακό βάρος των αλυσίδων του πολυμερούς τους δίνει τη δυνατότητα κρυστάλλωσης κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες μέτρησης.

Προτάσεις για μελέτη

Από την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία μελετήθηκε η κατασκευή ικριωμάτων πολύ(γαλακτικού) οξέος με την τεχνική της έκπλυσης σωματιδίων. Τα ικρίωματα που κατασκευάστηκαν με αυτή την τεχνική παρουσίασαν πορώδη δομή με εμφανή σημεία διασύνδεσης των πόρων. Όπως έχει αναφερθεί η διασύνδεση των πόρων του ικρίωματος είναι ζωτικής σημασίας όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Πρόκληση αποτελεί η εύρεση του βέλτιστου συστήματος που θα είναι ικανό να δημιουργήσει δομή ομοιογενούς αλλά και ελεγχόμενου πορώδους.

Ο συνδυασμός της τεχνικής έκπλυσης σωματιδίων με κάποια άλλη τεχνική, η ανάμιξη του πολυ(γαλακτικού οξέος) με κάποιο άλλο πολυμερές, η προσθήκη ενός κατάλληλου τροποποιητή είναι μερικές επιλογές που δίνουν τη δυνατότητα βελτίωσης αρκετών χαρακτηριστικών των ικριωμάτων.

Αναρτημένη ανακοίνωση που προέκυψε από την παρούσα
Μεταπτυχιακή εργασία

Study of Poly(Lactic Acid) Hybrid Systems for Preparation of Interconnected Porous Scaffolds, Ioanna-Georgia Athanasoulia, Maria Kanidi, Petroula Tarantili, 27th European Conference on Biomaterials, 30/8-3/9/2015, Krakow, Poland

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: Κανίδη Μαρία

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 12/10/1988

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ: Βλαχέρνας 28, Περιστερί, Αθήνα.

ΤΗΛΕΦΩΝΟ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ: 6978773192, 210 5912284

E- mail: mariakanidi@gmail.com

ΣΠΟΥΔΕΣ

Μεταπτυχιακές Σπουδές

Διατμηματικό Πρόγραμμα Σπουδών:

“Επιστήμη και Τεχνολογία Υλικών”,

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα (2014-2015)

Δίπλωμα Χημικού Μηχανικού

Πολυτεχνική Σχολή – Πανεπιστήμιο Πατρών (2013)

Βαθμός Πτυχίου: 6,91

Διπλωματική εργασία με θέμα:

«Απομάκρυνση πρωτεϊνικών ρύπων από επιφάνειες

ανοξειδωτου χάλυβα με χρήση της μεθόδου Bath-Substrate-Flow».

Πανεπιστήμιο Γρανάδας, Ισπανία (2011)

4ο Ενιαίο Λύκειο Περιστερίου

Θετική Κατεύθυνση (2006)

ΠΡΑΚΤΙΚΗ ΑΣΚΗΣΗ

Φαρμακοβιομηχανία UNI-PHARMA

Τμήμα Ποιοτικού Ελέγχου (Μάρτιος-Απρίλιος 2013)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Πλαστικουργία Micplast

Παραγωγή και Εμπορεία πλαστικών προϊόντων

Τμήμα παραγωγής (Ιούνιος 2015)

Ενισχυτική διδασκαλία μαθητών Γυμνασίου και Λυκείου
(Μαθήματα Φυσικής, Χημείας και Μαθηματικών, 2010-2014).

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

1 **Αγγλικά:** First Certificate in English, University of Cambridge, Certificate of Proficiency, University of Michigan (ECPE), Certificate of Proficiency Edexcel.

2 **Γερμανικά:** Zertifikat Deutsch, Goethe Institut, Κρατικό Πιστοποιητικό Γλωσσομάθειας επιπέδου B2.

3 **Ισπανικά:** Βασικές γνώσεις.

ΓΝΩΣΕΙΣ Η/Υ

Λειτουργικά Συστήματα: Windows

Εφαρμογές: Word, Excel, PowerPoint

Γλώσσες προγραμματισμού: Fortran 90/95

Γνώση και χρήση διαδικτύου και ηλεκτρονικής αλληλογραφίας.

ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ – ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ – ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

- Τετράμηνη παρακολούθηση μαθημάτων στο Universidad de Granada,

Τμήμα Ingenieria Quimica, *(Μάρτιος-Ιούνιος 2011)*.

- 4th EMUNI Research Souk, The Euro-Mediterranean Student Research Multi-conference, Bridging Gaps in the Mediterranean Research Space.

ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ-ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΑ

Αθλήματα στίβου και Tae Kwon Do.