



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΝΑΝΟΣΥΝΘΕΤΩΝ
ΠΟΛΥ(ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ)/ΤΙΤΑΝΙΑΣ ΚΑΙ
ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΤΟΥΣ
ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ
ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΣΤΩΝ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μαρία Ε. Μικροπούλου

ΕΠΙΒΛΕΨΗ:
Π.Α. ΤΑΡΑΝΤΙΛΗ
Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2017



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΝΑΝΟΣΥΝΘΕΤΩΝ
ΠΟΛΥ(ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ)/ΤΙΤΑΝΙΑΣ ΚΑΙ
ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΤΟΥΣ
ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ
ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΣΤΩΝ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μαρία Ε. Μικροπούλου

ΕΠΙΒΛΕΨΗ:
Π.Α. ΤΑΡΑΝΤΙΑΗ
Αναπλ. Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2017

Στους γονείς μου

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	i
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	v
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	vii
ABSTRACT.....	xi
Κατάλογος εικόνων.....	xv
Κατάλογος πινάκων.....	xvii
Κατάλογος διαγραμμάτων.....	xix
Κεφάλαιο 1 ^ο	1
Νανოსύνθετα πολυ(γαλακτικού οξέος)/TiO ₂	1
1.1 Πολυ(γαλακτικό οξύ)	1
1.1.1 Εισαγωγή	1
1.1.2 Σύνθεση	2
1.1.3 Ιδιότητες	4
1.2 Διοξείδιο του τιτανίου	9
1.2.1 Ιδιότητες	9
1.2.2 Εφαρμογές	10
1.3 Νανοςύνθετα πολυ(γαλακτικού οξέος)/TiO ₂	13
1.3.1 Εισαγωγή	13
1.3.2 Τρόποι παρασκευής νανοσυνθέτων	14
1.4 Εφαρμογές συστημάτων πολυ(γαλακτικού οξέος).....	15
1.4.1 Βιοϊατρικές εφαρμογές	15
1.4.2 Εφαρμογές ευρείας χρήσης	21
2 Κεφάλαιο 2 ^ο	23
Μηχανισμός αντιμικροβιακής δράσης TiO ₂	23
2.1 Θεωρητικό υπόβαθρο	23
2.2 Βιβλιογραφική ανασκόπηση αντιμικροβιακής δράσης TiO ₂	26
3 Κεφάλαιο 3 ^ο	33
Αποδόμηση PLA σε ακτινοβολία UV.....	33

3.1	Εισαγωγή	33
3.2	Εργαστηριακή προσομοίωση της UV ακτινοβολίας	35
3.3	Μηχανισμός φωτοαποδόμησης PLA.....	38
3.4	Μηχανισμός αποδόμησης νανοσυνθέτων πολύ(γαλακτικού οξέος)/TiO ₂	42
3.5	Βιβλιογραφική ανασκόπηση αποδόμησης σε UV ακτινοβολία πολυ(γαλακτικού οξέος) και νανοσυνθέτων του	45
4	Κεφάλαιο 4 ^ο	51
	Παρασκευή ικριωμάτων από PLA για εφαρμογές στη μηχανική ιστών	51
4.1	Εισαγωγή	51
4.2	ΙΚριώματα PLA/PEG	52
4.3	Τεχνικές παρασκευής ικριωμάτων PLA/PEG.....	54
4.4	Βιβλιογραφική ανασκόπηση κατασκευής ικριωμάτων PLA/PEG	59
5	Κεφάλαιο 5 ^ο	67
	Πειραματική μελέτη αντιβακτηριακής δράσης νανοσυνθέτων TiO ₂ /PLLA σε καλλιέργειες <i>E. Coli</i>	67
5.1	Εισαγωγή	67
5.2	Πρώτες ύλες.....	68
	Προετοιμασία βακτηρίων.....	68
5.3	Παρασκευές διαλυμάτων.....	72
	• Παρασκευή αραιώσης θρεπτικού υλικού (nutrient broth) και της 1/500 αραιώσης του:.....	72
	• Παρασκευή θρεπτικού άγαρ (nutrient agar)	72
	• Παρασκευή θρεπτικού υλικού σόγιας-καζεΐνης (soybean-casein digest broth) με λεκιθίνη (lecithin) και polysorbate 80 (SCDLP).	72
	• Παρασκευή φυσιολογικού αλατούχου διαλύματος (physiological saline solution) για έκπλυση.	73
5.4	Εξοπλισμός	73
5.5	Προετοιμασία εξεταζόμενων δειγμάτων	79
5.6	Πειραματική διαδικασία	80
5.7	Μέτρηση βακτηρίων	85
5.8	Αποτελέσματα	88
6	Κεφάλαιο 6 ^ο	95
	Πειραματική μελέτη αποδόμησης PLLA σε συνθήκες UV	95
6.1	Εισαγωγή	95

6.2	Πρώτες ύλες.....	96
6.3	Εξοπλισμός	97
6.4	Μέθοδοι χαρακτηρισμού	98
6.4.1	Προσδιορισμός Μοριακού Βάρους- Ιξωδομετρία	98
6.4.2	Περίθλαση ακτίνων Χ (X-Ray Diffraction, XRD).....	101
6.4.3	Φασματοσκοπία Raman.....	104
6.4.4	Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier - (Fourier Transform Infrared Spectrometry, FT-IR)	108
6.4.5	Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)	112
6.4.6	Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (TGA)	116
6.4.7	Δοκιμή σε Εφελκυσμό	117
6.5	Αποτελέσματα	121
6.5.1	Ιξωδομετρία διαλύματος.....	121
6.5.2	Περίθλαση ακτινών Χ	123
6.5.3	Φασματοσκοπία Raman.....	127
6.5.4	Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier.....	131
6.5.5	Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)	135
6.5.6	Θερμοβαρυμετρική ανάλυση.....	145
6.5.7	Δοκιμή εφελκυσμού	148
7	Κεφάλαιο 7	153
	Παρασκευή ικριωμάτων PLA με τεχνική έκπλυσης άλατος και χαρακτηρισμός τους.....	153
7.1	Πρώτες ύλες.....	153
7.2	Παρασκευή ικριωμάτων.....	155
7.3	Μέθοδοι χαρακτηρισμού	156
7.3.1	Αρχή της μεθόδου SEM	156
	Πειραματική διαδικασία	157
7.3.2	Μέτρηση πυκνότητας (ASTM D792)	158
	Διαδικασία	158
	Χαρακτηρισμός πορώδους	159
7.4	Αποτελέσματα	160
7.4.1	Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)	160
7.4.2	Θερμοβαρυμετρική ανάλυση.....	169
7.4.3	Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)	175

7.4.4 Μέτρηση πορώδους.....	179
Συμπεράσματα.....	180
8 Βιβλιογραφία.....	187
Εργασίες που προέκυψαν.....	193

Πρόλογος

Το παρόν σύγγραμμα αποτελεί τη διπλωματική μου εργασία, όπως απαιτείται για την ολοκλήρωση του κύκλου σπουδών μου στη Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2017. Η διεξαγωγή της έγινε στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Πολυμερών υπό την επίβλεψη της Αναπλ. Καθηγήτριας κας Πετρούλας Α. Ταραντίλη.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα. Ταραντίλη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση ενός τόσο ενδιαφέροντος θέματος, την επιστημονική υποστήριξη και καθοδήγησή της καθ'όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας, καθώς και τις συμβουλές της εντός και εκτός εργαστηρίου.

Η παρούσα Διπλωματική δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί χωρίς την αμέριστη βοήθεια και στήριξη της υποψήφιας διδάκτορα του ΕΜΠ Ιωάννας-Γεωργίας Αθανασούλια την οποία και αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα. Η υπομονή της κατά τη διάρκεια της εξοικείωσής μου με τις πειραματικές τεχνικές, το σύνολο των γνώσεων που μου μετέδωσε, η άμεση ανταπόκριση στις απορίες μου και το ειλικρινές ενδιαφέρον της για την πρόοδό μου συντέλεσαν καταλυτικά στη διεκπεραίωση του στόχου μου.

Ιδιαίτερη μνεία πρέπει να γίνει και στους Καθηγητές κ. Ανδρέα Ανδρέοπουλο και κ. Κωνσταντίνο Παπασπυρίδη καθώς και στην Επίκ. Καθηγήτρια κα. Σταματίνα Βουγιούκα, οι οποίοι μαζί με την κα. Ταραντίλη τοποθέτησαν τα θεμέλια των γνώσεών μου πάνω στον τομέα της Μηχανικής Πολυμερών.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω για την πολύτιμη συνεισφορά τους στα αντιμικροβιακά πειράματα καθώς και στη μελέτη της UV αποδόμησης τον Δρ. Χρήστο Τράπαλη, Διευθύνων Ερευνητή στο Εργαστήριο Νανοσυνθέτων και Νανολειτουργικών Υλικών στο ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, καθώς και τις Δρ. Μαριάννα Τριάντου και Υ.Δ. Σοφία Καραπάτη επίσης από το ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος. Ακόμη, την Αναπλ. Καθηγήτρια κα. Ευαγγελία Παυλάτου καθώς και τη Δρ. Πηνελόπη Γύφτου (ΕΔΙΠ) για τη βοήθειά τους στα πειράματα Raman, το Δρ. κ. Δημήτριο Κορρέ (ΕΔΙΠ) για την βοήθειά του στις μετρήσεις DSC και TGA, το Δρ. κ. Πέτρο Σχοινά (ΕΔΙΠ) για τη συμβολή του στην ανάλυση SEM, και τον κ. Πέτρο Ταραντίλη, καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για τη βοήθειά του με τη φασματοσκοπία FT-IR.

Εκφράζω τις ευχαριστίες μου και στους υποψήφιους διδάκτορες και το προσωπικό του εργαστηρίου για την προθυμία τους να με βοηθήσουν όπου χρειαζόταν και το ευχάριστο κλίμα που δημιουργούσαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένειά μου που με έχουν στηρίξει καθ'όλη τη διάρκεια των σπουδών μου, με εμπιστεύονται σε κάθε βήμα της πορείας μου και με παροτρύνουν διαρκώς να κυνηγώ τους στόχους μου.

Περίληψη

Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε παρασκευή νανοσυνθέτων πολυ(L-γαλακτικού οξέος) (PLLA) με διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2) και μελετήθηκαν οι λειτουργικές ιδιότητές τους για το σχεδιασμό βιοϋλικών. Το PLLA είναι ένας αλειφατικός ημικρυσταλλικός, θερμοπλαστικός πολυεστέρας που ανήκει στην κατηγορία των βιοπολυμερών. Τα πλεονεκτήματά του, όπως οι καλές μηχανικές του ιδιότητες, η βιοαποικοδόμησή του, αλλά και το γεγονός ότι προέρχεται από το μονομερές γαλακτικό οξύ, το οποίο υπάρχει φυσικά στον ανθρώπινο οργανισμό, το καθιστούν ιδανικό για χρήση σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Από την άλλη, τα TiO_2 έχουν ενδιαφέρουσα φωτοκαταλυτική δραστηριότητα, βιοσυμβατότητα καθώς και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Τα πολυμερικά νανοσύνθετα που παράγονται από τα δύο αυτά υλικά χρησιμοποιούνται σε πολλές εφαρμογές όπως ως ικρίωματα στην ιστική μηχανική, που περιλαμβάνει τη χρήση συνδυασμού κυττάρων για τη βελτίωση ή την αντικατάσταση βιολογικών λειτουργιών. Τα ικρίωματα είναι πορώδη βιοϋλικά 3 διαστάσεων που υποστηρίζουν τη δημιουργία του καινούργιου ιστού καθώς τα κύτταρα μπορούν να αναπτυχθούν πάνω σε αυτά και βιοδιασπώνται με ρυθμιζόμενο ρυθμό χωρίς την ανάγκη αφαίρεσής τους από τον οργανισμό. Τα νανοσύνθετα του PLA με TiO_2 ευνοούν την ανάπτυξη κρυστάλλων υδροξυαπατίτη και διαθέτουν επαρκή μηχανική αντοχή, επομένως μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ανάπτυξη οστών.

Όσον αφορά την αντιμικροβιακή δράση του TiO_2 , αυτή λειτουργεί ως εξής: όταν το TiO_2 εκτεθεί στο φως δημιουργεί ζεύγη από οπές και ηλεκτρόνια, τα οποία μεταναστεύουν στην επιφάνεια του καταλύτη, αντιδρούν με το νερό και το οξυγόνο και παράγουν έτσι υδροξυλικές ρίζες και αντιδρώσες ρίζες οξυγόνου που διασπούν τα κυτταρικά συστατικά των μικροοργανισμών. Για την αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης των νανοσυνθέτων TiO_2 /PLLA χρησιμοποιήθηκε πληθυσμός βακτηρίων *Escherichia coli*. Μεμβράνες νανοσυνθέτων με περιεκτικότητες 0/100, 5/95, 10/90 και 20/80 (w/w) TiO_2 /PLLA χωρίς και με ενεργοποίηση της τιτανίας, μέσω UV ακτινοβολίας α) αφέθηκαν στο σκοτάδι και β) εκτέθηκαν σε ακτινοβολία UV για 4, 8, 24 και 48 ώρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στο σκοτάδι, τα νανοσύνθετα στα οποία δεν είχε προηγηθεί ενεργοποίηση της τιτανίας είχαν απλά βακτηριοστατική και όχι βακτηριοκτόνο δράση, ενώ τα νανοσύνθετα με ενεργοποιημένη τιτανία επέδειξαν έντονη αντιμικροβιακή δράση, η οποία και αυξήθηκε

μετά τις 8 ώρες. Σε περιβάλλον UV ακτινοβολίας, τα μη ενεργοποιημένα νανοσύνθετα παρουσίασαν αντιβακτηριακή δράση 3 βημάτων, ενώ τα νανοσύνθετα στα οποία προηγήθηκε ενεργοποίηση της τιτανίας απλή εκθετική μείωση ενός βήματος, με το θάνατο των βακτηρίων να επέρχεται σε συντομότερα χρονικά διαστήματα με αύξηση της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων.

Στη συνέχεια έγινε μελέτη της αποδόμησης του PLLA και των νανοσυνθέτων του με διοξείδιο του τιτανίου σε περιβάλλον ακτινοβολίας UV. Η φωτοαποδόμηση οφείλεται στην απορρόφηση φωτονίων και είναι μια διεργασία κατά την οποία το υπεριώδες φως οξειδώνει την πολυμερική δομή, διευκολύνοντας το μηχανικό και μοριακό σπάσιμο του πολυμερούς σε μικρότερα τμήματα. Το PLA συγκεκριμένα, αποδομείται με το μηχανισμό παραγωγής δραστικών ελευθέρων ριζών και αντίδραση αυτών με το οξυγόνο. Για τα νανοσύνθετα που εξετάζονται, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η αποδόμησή τους οφείλεται στη δημιουργία ελευθέρων ριζών, οι οποίες επιταχύνουν τη διάσπαση της πολυμερικής μήτρας ξεκινώντας την αντίδραση αποδόμησης με την προσβολή γειτονικών πολυμερικών αλυσίδων. Η εργαστηριακή προσομοίωση της UV ακτινοβολίας έγινε με συσκευή έκθεσης σε λάμπα ξένου, η οποία παρέχει φάσμα συγκρίσιμο με αυτό της UV ακτινοβολίας. Εξετάστηκαν δείγματα PLLA καθώς και νανοσύνθετα 10/90 TiO₂/PLLA χωρίς ακτινοβολία, και μετά από ακτινοβολία για 50, 114 και 210 ώρες. Τα αποτελέσματα ιξωδομετρίας έδειξαν μείωση του μοριακού βάρους των δειγμάτων PLLA με την αύξηση του χρόνου έκθεσης στη UV ακτινοβολία, κάτι που δείχνει ότι η σχάση της αλυσίδας διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό αποδόμησης. Από τα φάσματα XRD βρέθηκε ότι το εμβαδόν της άμορφης περιοχής του PLLA παρουσίασε μικρή αυξητική τάση με το χρόνο ακτινοβολίας. Αντίθετα, το εμβαδόν της άμορφης περιοχής των νανοσυνθέτων μειώθηκε με το χρόνο ακτινοβολίας, γεγονός που οφείλεται στην ευχερέστερη αποδόμηση της άμορφης φάσης της πολυμερικής μήτρας, και επίσης υπήρξε αύξηση της έντασης της χαρακτηριστικής κορυφής της κρυσταλλικής φάσης, λόγω της δημιουργίας κρυσταλλιτών.

Η φασματοσκοπία Raman έδειξε αύξηση της έντασης της κορυφής που σχετίζεται με τη δόνηση τάσης της εστερομάδας του PLLA στα νανοσύνθετα, μετά από 210 ώρες ακτινοβολίας, πιθανώς λόγω παραγωγής προϊόντων οξείδωσης. Επίσης, με το πέρας του

χρόνου ακτινοβόλησης παρατηρήθηκε μείωση της έντασης πολλών χαρακτηριστικών κορυφών. Συμπληρωματικά με τη δοκιμή Raman, η μελέτη με φασματοσκοπία FT-IR-ATR των δειγμάτων έδειξε ότι η κορυφή που οφείλεται στη δόνηση των καρβονυλικών ομάδων μειώθηκε σε ένταση τόσο στο καθαρό PLLA όσο και στα νανοσύνθετα, γεγονός που υποδηλώνει την επίδραση της UV ακτινοβολίας στον εστερικό δεσμό. Από τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης, διαπιστώθηκε ότι, ενώ τα δοκίμια αναφοράς δεν παρουσίασαν κρυστάλλωση κατά την ψύξη, όλα τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε UV ακτινοβόληση παρουσίασαν αυτήν τη μετάπτωση, η οποία ήταν πιο έντονη στα νανοσύνθετα με την τιτανία. Στον κύκλο θέρμανσης, στο πολυγαλακτικό οξύ, η αρχικά στενή κορυφή τήξης αναλύθηκε σε δύο διακριτές κορυφές με την πάροδο του χρόνου ακτινοβόλησης και αυτό αποδόθηκε στην παρουσία διαφορετικών κρυσταλλικών μορφών. Στα νανοσύνθετα, με την έκθεση στη UV ακτινοβολία, η κορυφή τήξης του PLLA έγινε πιο συμμετρική και μετατοπίστηκε σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Επίσης, ο βαθμός κρυσταλλικότητας αυξήθηκε ελαφρώς με την αύξηση του χρόνου ακτινοβόλησης και στις δύο περιπτώσεις. Τα αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης παρουσίασαν βελτιωμένη τη θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων σε σχέση με το καθαρό PLLA. Όσον αφορά τις μηχανικές ιδιότητες, τόσο στο PLLA όσο και στα νανοσύνθετα το μέτρο ελαστικότητας αυξάνει με την αύξηση του χρόνου ακτινοβόλησης, με την αύξηση αυτή να είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση των δεύτερων λόγω του ανόργανου μέσου ενίσχυσης που προσδίδει ακαμψία στην πολυμερική μήτρα. Η αντοχή σε εφελκυσμό βρέθηκε μικρότερη στα νανοσύνθετα γεγονός που αποδίδεται στην απουσία ισχυρής διασύνδεσης μεταξύ της πολυμερικής μήτρας και των νανοσωματιδίων.

Τέλος, έγινε προσπάθεια παρασκευής ικριωμάτων PLLA/PEG με την προσθήκη άλατος (NaCl) ως το υδατοδιαλυτό πορογενές μέσο. Τα μίγματα παρασκευάστηκαν με τεχνική ανάμειξης τήγματος με χρήση δικόχλιου εκβολέα και ακολούθησε έκπλυση των σωματιδίων. Η PEG είναι γνωστή για την υδροφιλικότητα και τη βιοσυμβατότητά της και αποτελεί έναν από τους πιο αποτελεσματικούς πλαστικοποιητές για το PLA. Πολυμερικά μίγματα βιοαποδομήσιμων πολυμερών όπως αυτό του PLLA/PEG μελετώνται εκτενώς για την κατασκευή ικριωμάτων λόγω του μεγάλου φάσματος μηχανικών ιδιοτήτων που προσφέρουν. Από τη μελέτη DSC βρέθηκε ότι για τα μεν ικρίωματα PLLA/NaCl, η

θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης ήταν ελαφρώς χαμηλότερη από αυτή του καθαρού PLLA, επομένως το αλάτι φάνηκε να διευκολύνει την κρυσταλλική διαμόρφωση των πολυμερικών αλυσίδων. Παρόμοια επίδραση είχε και η εισαγωγή της PEG στα ικρίωματα, που μείωσε τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης και ψυχρής κρυστάλλωσης του PLLA, σε σχέση με τα μίγματα PLLA/NaCl. Τα αποτελέσματα TGA έδειξαν καλύτερη απομάκρυνση του χλωριούχου νατρίου στην περίπτωση των μιγμάτων PLLA/PEG/NaCl σε σχέση με τα μίγματα PLLA/NaCl, ωστόσο παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση της θερμικής σταθερότητας της πολυμερικής μήτρας των πρώτων. Τέλος, η μελέτη με SEM τομών των ικριωμάτων έδειξε ότι η προσθήκη της PEG στο PLLA βοηθά στην αποτελεσματικότερη απομάκρυνση του άλατος και στη δημιουργία πορώδους δομής με καλύτερη διασύνδεση και επικοινωνία μεταξύ των πόρων.

Συνοψίζοντας, η τροποποίηση του PLLA με τιτανία βελτιώνει σημαντικά τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες, τροποποιεί την κρυσταλλικότητά του και βελτιώνει τη θερμική σταθερότητα και την ακαμψία του κατά την έκθεση σε περιβάλλον UV ακτινοβολίας. Επίσης θετική επίδραση έχει η προσθήκη PEG σε PLA για τη δημιουργία τρισδιάστατης πορώδους δομής με την τεχνική έκπλυσης άλατος.

Abstract

The purpose of this diploma thesis was the preparation of poly(L-lactic acid) nanocomposites filled with titanium dioxide (TiO_2) and the study of their functional properties for the design of biomaterials. PLA is a semicrystalline, aliphatic, thermoplastic polyester, which appertains to the category of biopolymers. Its advantages, such as good mechanical properties, biodegradability, and the fact that its decomposition product is lactic acid, which naturally exists in the human body, make it ideal for use in biomedical applications. On the other hand, TiO_2 nanoparticles show interesting photocatalytic activity, biocompatibility, as well as antimicrobial properties. The polymeric nanocomposites produced by combining these two materials are used in many applications, such as in tissue engineering, for the improvement or replacement of biological functions. Related to those applications are the scaffolds, i.e. 3-dimensional porous biomaterials that can promote the creation of new tissue, and while the cells grow on them, they biodegrade at an adjustable rate, eliminating the need of removal from the body. PLA nanocomposites with TiO_2 support the development of hydroxyapatite crystals and they have adequate mechanical strength, therefore they can be used for bone development. Regarding the antimicrobial action of TiO_2 , it works as follows: when TiO_2 is exposed to light it creates pairs of holes and electrons that migrate to the surface of the catalyst, react with water and oxygen, and, thus, produce hydroxyl radicals and reactive oxygen radicals that break down the cellular components of microorganisms.

To assess the antimicrobial activity of the TiO_2 /PLLA nanocomposites, a population of *Escherichia coli* was used. Nanocomposite membranes with 0/100, 5/95, 10/90 and 20/80 (w/w) TiO_2 /PLLA compositions without and with activation of titanium dioxide by UV irradiation a) were left in the dark and b) were exposed to UV irradiation for 4, 8, 24 and 48 hours. The results showed that in the dark, the non-activated nanocomposites displayed bacteriostatic activity, while the activated nanocomposites displayed intense antimicrobial activity, which increased after 8 hours. After exposure to UV irradiation, the non-activated nanocomposites showed an antibacterial effect consisting of a 3 step mechanism, while the activated nanocomposites showed a simple exponential reduction of one step and the bacterial death occurred at shorter times with increasing nanoparticle concentration.

Subsequently, the degradation of PLLA and its nanocomposites with titanium dioxide under UV radiation, was studied. Photodegradation proceeds by photon absorption and is a process where ultraviolet light oxidizes the polymeric structure, facilitating the mechanical and molecular breakdown of the polymer into smaller fractions. PLA, in particular, is degraded by a mechanism of free radicals which react with oxygen. For the nanocomposites tested, as discussed above, their degradation is due to the generation of free radicals, which accelerate the breakdown of the polymeric matrix by initiating the degradation reaction by invasion of adjacent polymer chains. Laboratory simulation of UV irradiation was carried out with a xenon bulb, which provides a spectrum comparable to that of UV irradiation. PLLA samples, as well as 10/90 TiO₂/PLLA nanocomposites, were examined before and after irradiation for 50, 114 and 210 hours. The viscosimetry results showed a decrease in the molecular weight of PLLA samples by increasing the exposure time to UV radiation, indicating that scission takes place during the degradation process. From the XRD spectra, it was found that the area of the amorphous region of PLLA showed a slightly increasing tendency with irradiation time. On the other hand, the area of the amorphous region of the nanocomposites decreased with irradiation time, due to the easier decomposition of the amorphous phase of the polymeric matrix. An increase in the characteristic peak of the crystalline phase was also observed, due to the formation of small crystallites. Raman spectroscopy showed an increase in the intensity of the peak associated with the stretching vibration of the carbonyl group of PLLA at the nanocomposites after 210 hours of radiation, possibly due to the formation of oxidation products. Moreover, a decrease in the intensity of many characteristic peaks was also observed. In addition to Raman, the FT-IR-ATR spectroscopy study showed that the peak due to the vibration of carbonyl groups decreased in intensity in both pure PLLA and its nanocomposites, suggesting the attack of UV radiation on the ester linkage. From DSC, it was found that although the reference specimens did not show crystallization on cooling, all samples subjected to UV irradiation showed this kind of transition, which was more intense in the case of nanocomposites. During the heating cycle of PLA, the initially narrow melting peak was converted into two distinct peaks over the irradiation time and this was attributed to the polymorphism of the different crystalline forms. For the nanocomposites exposed to UV radiation, the melting peak of PLLA became

more symmetric and shifted to higher temperatures. Also, the degree of crystallinity slightly increased with the increase of irradiation time in both cases. The results of TGA showed that the thermal stability of nanocomposites is improved in comparison to pure PLLA. Regarding the mechanical properties of both PLLA and its nanocomposites, the elastic modulus increases with the increase of irradiation time, and this increase is more evident in the case of nanocomposites, possibly due to the TiO₂ nanoparticles which stiffen the polymeric matrix. The tensile strength was lower for the nanocomposites and that is attributed to the lack of a strong interfacial bonding between the polymeric matrix and the nanoparticles.

In the end, an attempt was made to prepare PLLA/PEG scaffolds by the addition of NaCl, acting as a water-soluble porogenic medium. The blends were prepared by melt mixing technique using an extruder, followed by leaching of the particles. PEG is known for its hydrophilicity and biocompatibility and is one of the most effective plasticizers for PLA. Polymeric mixtures of biodegradable polymers such as PLLA/PEG are studied for the construction of scaffolds because of the wide range of mechanical properties that they can display. From the DSC study it was found that for PLLA/NaCl scaffolds, the cold crystallization temperature was slightly lower than that of pure PLLA, therefore NaCl seemed to facilitate crystallization of polymer chains. A similar effect was also observed with the addition of PEG into the scaffolds, which reduced the glass transition and the cold crystallization temperature of PLLA, in comparison with the PLLA/NaCl mixtures. TGA results showed better removal of sodium chloride in the case of PLLA/PEG/NaCl mixtures with respect to PLLA/NaCl mixtures, whereas a greater decrease in the thermal stability of the polymeric matrix of the former was also observed. Finally, the SEM study showed that the addition of PEG into PLLA contributes to more efficient removal of the salt and to the creation of a porous structure with better interconnection between the pores.

In summary, the incorporation of TiO₂ into PLLA significantly improves its antimicrobial properties, modifies its crystallinity and improves its thermal stability and rigidity when exposed to UV radiation. Moreover, the addition of PEG to PLA has a positive effect on the creation of a three-dimensional porous structure with the salt leaching technique.

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1.1: Στερεομορφές του γαλακτικού οξέος (4).	2
Εικόνα 1.2: Τρόποι πολυμερισμού του γαλακτικού οξέος (5).	3
Εικόνα 1.3: Βήματα παραγωγής PLA μέσω πολυμερισμού ανοίγματος δακτυλίου και εκκινητή τον οκτανοϊκό κασσίτερο (1).	4
Εικόνα 1.4: Εξάρτηση ιξώδους από ρυθμό διάτμησης του PLA στους 180°C (8).	6
Εικόνα 1.5: Οι 3 κρυσταλλογραφικές φάσεις του TiO ₂ (11).	9
Εικόνα 1.6: Εφαρμογές των νανοσωματιδίων TiO ₂ (14).	12
Εικόνα 1.7: Επιφανειακή τροποποίηση νανοσωματιδίων TiO ₂ με προπιονικό οξύ και αλκυλαμίνη για καλύτερη διασπορά στη μήτρα PLA (2).	15
Εικόνα 1.8: Βιοϊατρικές εφαρμογές PLA (13).	16
Εικόνα 1.9: Αντιμετώπιση κατάγματος οστού με εμφυτεύματα που περιέχουν σύνθετο PLA και BMP (8).	18
Εικόνα 1.10: α)Βίδες και στηρίγματα κατασκευασμένα από PLA β) Άνω σιαγόνα με τις βίδες και το στήριγμα γ) Κεφαλογράφημα τραβηγμένο αμέσως μετά την εγχείρηση δ) Κεφαλογράφημα 6 μήνες μετά (8).	21
Εικόνα 1.11: Εφαρμογές PLA που αξιοποιούν τη συμπεριφορά σε μηχανική καταπόνηση του PLA (7).	22
Εικόνα 2.1: Μηχανισμός 3 βημάτων για τη φωτοεξουδετέρωση των βακτηρίων από νανοσύνθετα TiO ₂ (21).	24
Εικόνα 3.1: Έλεγχος της ακτινοβολίας σε συστήματα ψυχόμενα με αέρα (35).	37
Εικόνα 3.2: Σύγκριση φάσματος λάμπας ξένου με UV ακτινοβολία του ήλιου (36).	37
Εικόνα 3.3: Norrish II φωτοοξειδωτικός μηχανισμός του PLLA	39
Εικόνα 3.4: Μηχανισμός φωτοαποδόμησης του PLA σύμφωνα με τον Bocchini et al. (38).	42
Εικόνα 4.1: Δημιουργία πορώδους στα ικρίωματα μέσω τεχνικής έκπλυσης σωματιδίων. (58)	55
Εικόνα 4.2: Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου αφρισμού με χρήση αερίων. (58)	57
Εικόνα 4.3: Συσκευή για την εφαρμογή της ηλεκτροστατικής ινοποίησης. (58)	58
Εικόνα 4.4: Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου χύτευσης τήγματος/έκπλυσης σωματιδίων. (58)	58
Εικόνα 5.1: 'Κρική' από την αρχική καλλιέργεια	69
Εικόνα 5.2: Χημική δομή χρησιμοποιούμενου PLLA	69
Εικόνα 5.3: Δικόχλιο σύστημα εκβολής Haake PTW 16.	74
Εικόνα 5.4: Σχηματική απεικόνιση ενός δικόχλιου συστήματος εκβολής.	74
Εικόνα 5.5: Τρεις ζώνες ενός συστήματος εκβολής.	75
Εικόνα 5.6: Κοκκοποιητής της εταιρίας Brabender Co.	76
Εικόνα 5.7: Υδραυλική πρέσσα.	77
Εικόνα 5.8: Σχηματικό διάγραμμα του πειραματικού εξοπλισμού.	78
Εικόνα 5.9: Μέτρηση έντασης φωτός ακτινοβολήσης.	79
Εικόνα 5.10: Συνθήκες αποστείρωσης.	80
Εικόνα 5.11: Αρχική καλλιέργεια (α) και μεταφορά καλλιέργειας (β) στελέχους E.Coli.	80

Εικόνα 5.12: Με τη σειρά από αριστερά προς τα δεξιά οι καλλιέργειες με συγκεντρώσεις: $2 \cdot 10^7$ CFU/ml, $2 \cdot 10^6$ CFU/ml, $2 \cdot 10^5$ CFU/ml και $2 \cdot 10^4$ CFU/ml.....	81
Εικόνα 5.13: Καλλιέργειες με συγκεντρώσεις 2×10^6 CFU / mL και 2×10^5 CFU / mL.....	82
Εικόνα 5.14: Μέτρηση πληθυσμού μικροβίων σε φωτόμετρο.....	82
Εικόνα 5.15: Οι διαδοχικές αραιώσεις που ακολουθούνται.....	82
Εικόνα 5.16: Πειραματική διάταξη με τα <i>erpendorfs</i>	83
Εικόνα 5.17: Πειραματική διάταξη με τα τριβλία.....	84
Εικόνα 5.18: Τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης – <i>Spread Plating</i>	86
Εικόνα 5.19: Παρασκευή <i>petri-dish</i> με το θρεπτικό υλικό, άγαρ.....	86
Εικόνα 5.20: Υπολογισμός αποικιών στο τριβλίο ανάλογα με τις διαδοχικές αραιώσεις που ακολουθούνται.....	86
Εικόνα 5.21: Θάλαμος ενεργοποίησης της τιτανίας με ακτινοβολία με UV.....	87
Εικόνα 5.22: Δείγματα στο σκοτάδι (α) και υπό συνθήκες συνεχούς ακτινοβολίας (β)....	88
Εικόνα 6.1: Χημική δομή PLLA	96
Εικόνα 6.2: Συσκευή ATLAS SUNTEST XLS+	97
Εικόνα 6.3: Δοκίμια σε μορφή <i>dogbones</i> τοποθετημένα στη συσκευή SUNTEST XLS+	98
Εικόνα 6.4: Ιξωδόμετρο τύπου <i>Ubbelohde</i> . Α: Σωλήνας με τριχοειδές, Γ: Σωλήνας εξισορρόπησης πίεσης, Β: Σωλήνας εισόδου δείγματος, α: Υποδοχέας ένδειξης υγρού.....	101
Εικόνα 6.5: Παρακολουθείται πάντα το κάτω άκρο (α) του μηνίσκου του μετώπου του διαλύματος ή του διαλύτη.	101
Εικόνα 6.6: Ανάκλαση ακτίνων Χ από παράλληλα επίπεδα.	102
Εικόνα 6.7: Ανάκλαση ακτίνων Χ.	103
Εικόνα 6.8: <i>5000 Diffractometer Siemens</i>	104
Εικόνα 6.9: Ενεργειακό διάγραμμα για την κατανόηση της σκέδασης.....	105
Εικόνα 6.10: Πειραματική διάταξη <i>Raman</i>	106
Εικόνα 6.11: Μερικές επιτρεπτές μορφές δονήσεων και κάμψεων	108
Εικόνα 6.12: Εξάρτημα ATR.....	111
Εικόνα 6.13: <i>Nicolet 6700 FTIR</i>	111
Εικόνα 6.14: Το δείγμα αναφοράς και το υπό εξέταση δοκίμιο θερμαίνονται σε δύο διαφορετικά θερμοκρασιακά στοιχεία.	112
Εικόνα 6.15: Πειραματική διάταξη DSC: Α) Σύστημα ψύξης, για παροχή υγρού αζώτου, Β) κύρια μονάδα DSC (φούρνος και πίνακας ελέγχου), Γ) Σύστημα σταθεροποίησης ηλεκτρικής τάσης.	113
Εικόνα 6.16: Συσκευή TGA.	117
Εικόνα 6.17: Τυπικό δοκίμιο εφελκυσμού κατά τις προδιαγραφές του ASTM D638-03.	118
Εικόνα 6.18: Μηχανή εφελκυσμού <i>Instron</i> . Α) κεντρική μονάδα <i>Instron</i> , Β) ηλεκτρονικός υπολογιστής καταγραφής και χειρισμού της μηχανής.	119
Εικόνα 6.19: Δοκιμή εφελκυσμού	120
Εικόνα 7.1: Χημική δομή χρησιμοποιούμενου PLLA.....	153
Εικόνα 7.2: Μοριακός τύπος πολυαιθυλενογλυκόλης.....	154
Εικόνα 7.3: Εμβάπτιση των δοκιμίων σε απεσταγμένο νερό στους 45°C.....	156
Εικόνα 7.4: Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.....	157

Εικόνα 7.5 : Διάταξη μέτρησης πυκνότητας με τη μέθοδο της εκτόπισης.....	159
Εικόνα 7.6: Φωτογραφίες SEM (x50) (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40).....	175
Εικόνα 7.7: Φωτογραφίες SEM (x100) (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40).....	176
Εικόνα 7.8: Φωτογραφίες SEM (x200) (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40).....	177
Εικόνα 7.9: Φωτογραφίες SEM (x400) (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40).....	177

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1.1: Φυσικές και χημικές ιδιότητες του PLA.....	5
Πίνακας 2.1: Αποτελέσματα μελετών Altan et al. (27).....	30
Πίνακας 3.1: Εύρη μήκους κύματος των ακτινοβολιών που απαρτίζουν την ηλιακή ακτινοβολία.....	35
Πίνακας 5.1: Παράμετροι μεθόδου ISO για τη μελέτη της αντιβακτηριακής δράσης σύνθετων φωτοκαταλυτικών υλικών.	68
Πίνακας 5.2: Ιδιότητες χρησιμοποιούμενου PLLA.....	69
Πίνακας 5.3: Συνθήκες εκβολής των νανοσυνθέτων συνθέτωνσυνθέτων.	75
Πίνακας 6.1: Ιδιότητες χρησιμοποιούμενου PLLA.....	96
Πίνακας 6.2: Οι σταθερές των Mark–Houwink για το PLA σε επιλεγμένους διαλύτες (45)..	99
Πίνακας 6.3: Αποτελέσματα ιξωδομετρίας για το PLLA μετά από τις διάφορες κατεργασίες του.	121
Πίνακας 6.4: Αποτελέσματα ιξωδομετρίας για το PLLA μετά την έκθεση σε ακτινοβολία UV.....	122
Πίνακας 6.5: Πίνακας εντάσεως κορυφής-γωνίας 2θ για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	123
Πίνακας 6.6: Πίνακας εντάσεως κορυφής-γωνίας 2θ για τα δείγματα 10/90 TiO ₂ /PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	124
Πίνακας 6.7: Χαρακτηριστικές ομάδες του πολυ(γαλακτικού) οξέος στο φάσμα Raman..	129
Πίνακας 6.8: Χαρακτηριστικές κορυφές φασμάτων FT-IR πολυ(γαλακτικού οξέος).	132
Πίνακας 6.9: Εμβαδόν των κορυφών που εμφανίζονται στο φάσμα FT-IR του PLLA.....	133
Πίνακας 6.10: Εμβαδόν των κορυφών που εμφανίζονται στο φάσμα FT-IR του 10/90 TiO ₂ / PLLA.....	133
Πίνακας 6.11: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO ₂ /PLLA κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.	137

Πίνακας 6.12: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO ₂ /PLLA κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τις 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	137
Πίνακας 6.13: Αποτελέσματα θερμοκρασίας κρυστάλλωσης και ενθαλπίας κρυστάλλωσης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO ₂ /PLLA κατά την ψύξη για τις 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	139
Πίνακας 6.14: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO ₂ /PLLA κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τις 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	142
Πίνακας 6.15: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO ₂ /PLLA κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τις 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	143
Πίνακας 6.16: Αποτελέσματα πειραμάτων TGA για τα δείγματα PLLA στις 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	146
Πίνακας 6.17: Αποτελέσματα πειραμάτων TGA για τα δείγματα 10/90 TiO ₂ /PLLA στις 0, 50, 114 και 210 ώρες ακτινοβολίας σε UV ακτινοβολία.....	147
Πίνακας 6.18: Αποτελέσματα αντοχής σε εφελκυσμό και μέτρου ελαστικότητας του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 w/w TiO ₂ /PLLA για τις 0, 50, 114 και 210h έκθεσης σε UV ακτινοβολία	150
Πίνακας 6.19: Αποτελέσματα επιμήκυνσης στη θραύση του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 w/w TiO ₂ /PLLA για τις 0, 50, 114 και 210h έκθεσης σε UV ακτινοβολία	150
Πίνακας 7.1: Ιδιότητες χρησιμοποιούμενου PLLA.....	153
Πίνακας 7.2: Ιδιότητες χλωριούχου νατρίου.....	154
Πίνακας 7.3: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.....	162
Πίνακας 7.4: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.....	162
Πίνακας 7.5: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.....	166
Πίνακας 7.6: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης, ενθαλπίας τήξης και βαθμού κρυσταλλικότητας των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.....	166
Πίνακας 7.7: Αποτελέσματα πειραμάτων TGA για τα δείγματα PLLA, PEG, 80/20 w/w PLLA/PEG ως αναφορά καθώς και για τα μίγματα 60/40 w/w PLLA/NaCl και 50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.....	171

Κατάλογος διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια <i>E. Coli</i> , των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO ₂ μη ενεργοποιημένων, στο σκοτάδι	89
Διάγραμμα 2: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια <i>E. Coli</i> , των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO ₂ ενεργοποιημένων, στο σκοτάδι	90
Διάγραμμα 3: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια <i>E. Coli</i> , των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO ₂ μη ενεργοποιημένων, υπό UV ακτινοβολία	91
Διάγραμμα 4: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια <i>E. Coli</i> , των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO ₂ ενεργοποιημένων, υπό UV ακτινοβολία	93
Διάγραμμα 5: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα βακτηριοστατικής/βακτηριοκτόνου δράσης των δειγμάτων PLA και PLA/TiO ₂	94
Διάγραμμα 6: Τυπικό διάγραμμα DSC.....	114
Διάγραμμα 7: Φάσματα XRD των δειγμάτων PLLA για τις 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	123
Διάγραμμα 8: Φάσματα XRD των δειγμάτων 10/90 TiO ₂ /PLLA για τις 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	124
Διάγραμμα 9: Φάσμα XRD νανοσωματιδίων TiO ₂	126
Διάγραμμα 10: Φάσματα Raman PLLA και νανοσυνθέτων 10/90 w/w TiO ₂ /PLLA πριν και μετά την έκθεση σε ακτινοβολία UV για 210 ώρες.....	128
Διάγραμμα 11: Φάσμα IR πολυ(γαλακτικού οξέος) αρχικά, και μετά από 210 h UV ακτινοβολίας.....	131
Διάγραμμα 12: Φάσμα IR νανοσυνθέτων 10/90 TiO ₂ /PLLA αρχικά, και μετά από 210 h UV ακτινοβολίας.....	132
Διάγραμμα 13: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	136
Διάγραμμα 14: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα 10/90 TiO ₂ /PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	136
Διάγραμμα 15: Καμπύλες DSC κατά την ψύξη για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	138
Διάγραμμα 16: Καμπύλες DSC κατά την ψύξη για τα δείγματα 10/90 TiO ₂ /PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	138
Διάγραμμα 17: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	140
Διάγραμμα 18: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα 10/90 TiO ₂ /PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.....	140

Διάγραμμα 19: Καμπύλες μεταβολής βάρους και πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 έκθεσης σε UV ακτινοβολία	145
Διάγραμμα 20: Καμπύλες μεταβολής βάρους και πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα 10/90 TiO ₂ /PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία	146
Διάγραμμα 21: Καμπύλες τάσης-παραμόρφωσης κατά τη δοκιμή σε εφελκυσμό δοκιμίων του PLLA και των νανοσυνθέτων του.....	149
Διάγραμμα 22: Καμπύλες τάσης-παραμόρφωσης κατά τη δοκιμή σε εφελκυσμό για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες ακτινοβολήσης σε UV ακτινοβολία.....	149
Διάγραμμα 23: Καμπύλες τάσης-παραμόρφωσης κατά τη δοκιμή σε εφελκυσμό για τα δείγματα 10/90 TiO ₂ /PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες ακτινοβολήσης σε UV ακτινοβολία.....	150
Διάγραμμα 24: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση.....	161
Διάγραμμα 25: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/PEG/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση.....	161
Διάγραμμα 26: Καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για τα δείγματα PLLA/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση.....	163
Διάγραμμα 27: Καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για τα δείγματα PLLA/PEG/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση.....	163
Διάγραμμα 28: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση.....	165
Διάγραμμα 29: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/PEG/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση.....	165
Διάγραμμα 30: Καμπύλες μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA και για τα μίγματα 60/40 w/w PLLA/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.....	169
Διάγραμμα 31: Καμπύλες μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA , 80/20 w/w PLLA/PEG και PEG ως αναφορά, καθώς και για τα μίγματα 50/10/40 PLLA/PEG/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.....	170
Διάγραμμα 32: Καμπύλες πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA, καθώς και για τα μίγματα 60/40 w/w PLLA/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.....	170
Διάγραμμα 33: Καμπύλες πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA , 80/20 w/w PLLA/PEG και PEG ως αναφορά, καθώς και για τα μίγματα 50/10/40 PLLA/PEG/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.....	171

Κεφάλαιο 1^ο

Νανοσύνθετα πολυ(γαλακτικού οξέος)/TiO₂

1.1 Πολυ(γαλακτικό οξύ)

1.1.1 Εισαγωγή

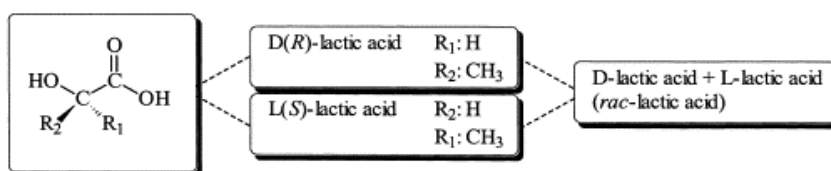
Το πολυγαλακτικό οξύ (PLA) είναι ένας αλειφατικός θερμοπλαστικός πολυεστέρας, που μπορεί να είναι ημικρυσταλλικός ή τελείως άμορφος και έχει ως βασική επαναλαμβανόμενη μονάδα το γαλακτικό οξύ. Αποτελεί ένα μοναδικό πολυμερές, που με πολλούς τρόπους συμπεριφέρεται όπως το PET, αλλά επίσης μοιάζει και με το πολυπροπυλένιο που είναι πολυολεφίνη. Θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι διαθέτει το μεγαλύτερο εύρος εφαρμογών εξαιτίας της ικανότητάς του να μπορεί να κρυσταλλωθεί θερμικά, να μορφοποιηθεί και να συμπολυμεριστεί σε συνήθη εξοπλισμό επεξεργασίας. Το PLA δεν είναι καινούργιο στο χώρο των πολυμερών. Ο Carothers το συνέθεσε για πρώτη φορά στην εταιρία DuPont το 1932. Αρχικά, παράχθηκε PLA μικρού μοριακού βάρους με θέρμανση γαλακτικού οξέος υπό κενό και ταυτόχρονη απομάκρυνση του συμπυκνωμένου νερού. Έτσι, το ζήτημα ήταν η παραγωγή προϊόντων υψηλού μοριακού βάρους, κάτι που τελικά επιτεύχθηκε με πολυμερισμό ανοιχτού δακτυλίου του λακτιδίου (1).

Τα πολυμερή που προέρχονται από ανανεώσιμες πηγές, όπως το PLA, θεωρούνται ως μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική έναντι των πολυμερών της πετροχημικής βιομηχανίας καθώς εκπληρώνουν τις περιβαλλοντικές προδιαγραφές όσον αφορά τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου και την κατανάλωση ορυκτών καυσίμων. Υπό αυτήν τη σκοπιά, το PLA θεωρείται ότι υπερέχει έναντι άλλων πολυμερών λόγω των καλών μηχανικών του ιδιοτήτων, της βιοαποικοδόμησής του και του σχετικά χαμηλού του κόστους (2). Επίσης, σε αντίθεση με άλλα βιοπολυμερή, η παραγωγή του PLA έχει πολλά πλεονεκτήματα όπως την παραγωγή του μονομερούς λακτιδίου από το γαλακτικό οξύ, το οποίο παράγεται μέσω ζύμωσης ανανεώσιμης αγροτικής πηγής καλαμποκιού, την εξοικονόμηση ενέργειας και την

ικανότητα της ανακύκλωσης και της μετατροπής του PLA πάλι σε γαλακτικό οξύ με υδρόλυση ή αλκοόλυση (1). Έτσι λοιπόν, η βιοσυμβατότητα και η δυνατότητα βιοαποικοδόμησης, το καθιστούν ιδανικό για τη χρήση του σε βιοϊατρικές εφαρμογές, καθώς μπορεί να υποστεί σχάση στο μονομερές γαλακτικό οξύ μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό, ως φυσικό παραπροϊόν του μεταβολισμού (3).

1.1.2 Σύνθεση

Όσον αφορά τη παραγωγή του, αυτό προέρχεται από το μονομερές γαλακτικό οξύ. Το γαλακτικό οξύ (2-υδροξυπροπανικό οξύ), παράγεται μέσω ζύμωσης ή χημικής σύνθεσης και έχει δύο οπτικά ενεργές μορφές, τα L(+) και D(-) στερεοϊσομερή.

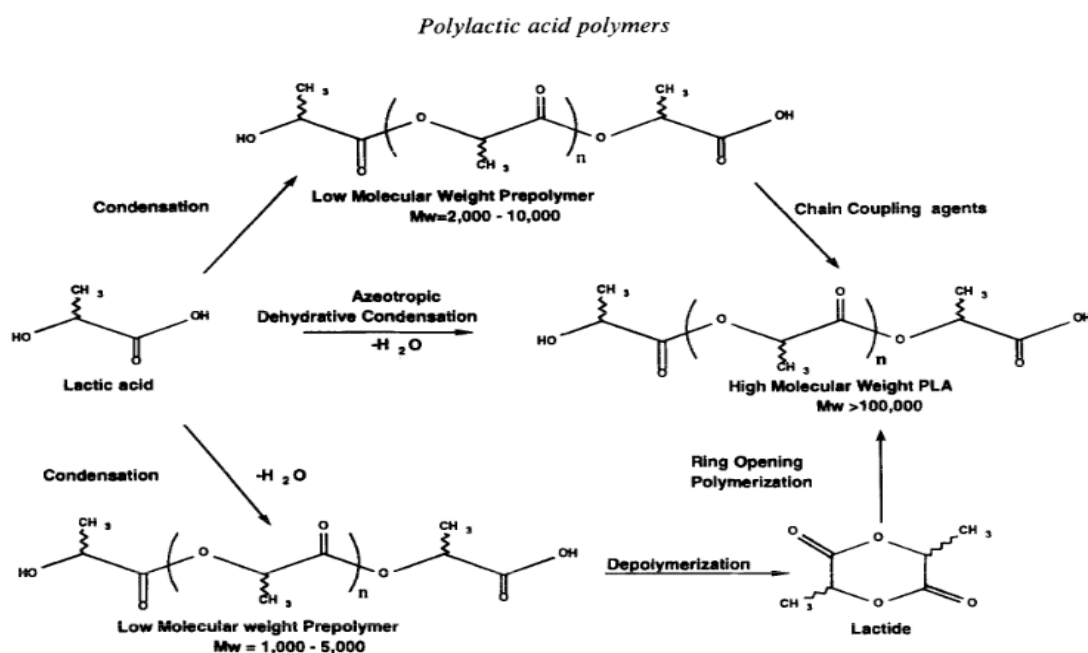


Εικόνα 1.1: Στερεομορφές του γαλακτικού οξέος (4).

Βιομηχανικά, εφαρμόζεται περισσότερο η γαλακτική ζύμωση αντί της χημικής σύνθεσης, καθώς η δεύτερη εμφανίζει σοβαρούς περιορισμούς, όπως την περιορισμένη δυναμικότητα λόγω της εξάρτησης από ένα παραπροϊόν μιας άλλης διεργασίας, την αδυναμία να παραχθεί μόνο το επιθυμητό στερεοϊσομερές (L-γαλακτικό οξύ), και τέλος τα υψηλά κόστη παραγωγής. Για τη ζύμωση, προτιμάται η ομοζυμωτική μέθοδος καθώς εμφανίζει μεγαλύτερη απόδοση σε παραγωγή γαλακτικού οξέος και μικρότερες ποσότητες παραπροϊόντων. Η γενική διεργασία περιλαμβάνει τη χρήση βακτηρίων του γένους των λακτοβάκιλλων (*Lactobacillus*) σε pH μεταξύ 5.4 και 6.4, θερμοκρασίες μεταξύ 38 και 42°C και μικρή συγκέντρωση οξυγόνου. Για την παραγωγή του PLA χρησιμοποιείται κυρίως L-γαλακτικό οξύ.

Υπάρχουν τρεις πιθανοί τρόποι πολυμερισμού του γαλακτικού οξέος: α) με απευθείας πολυμερισμό συμπύκνωσης, β) με απευθείας πολυσυμπύκνωση σε αζεοτροπικό διάλυμα

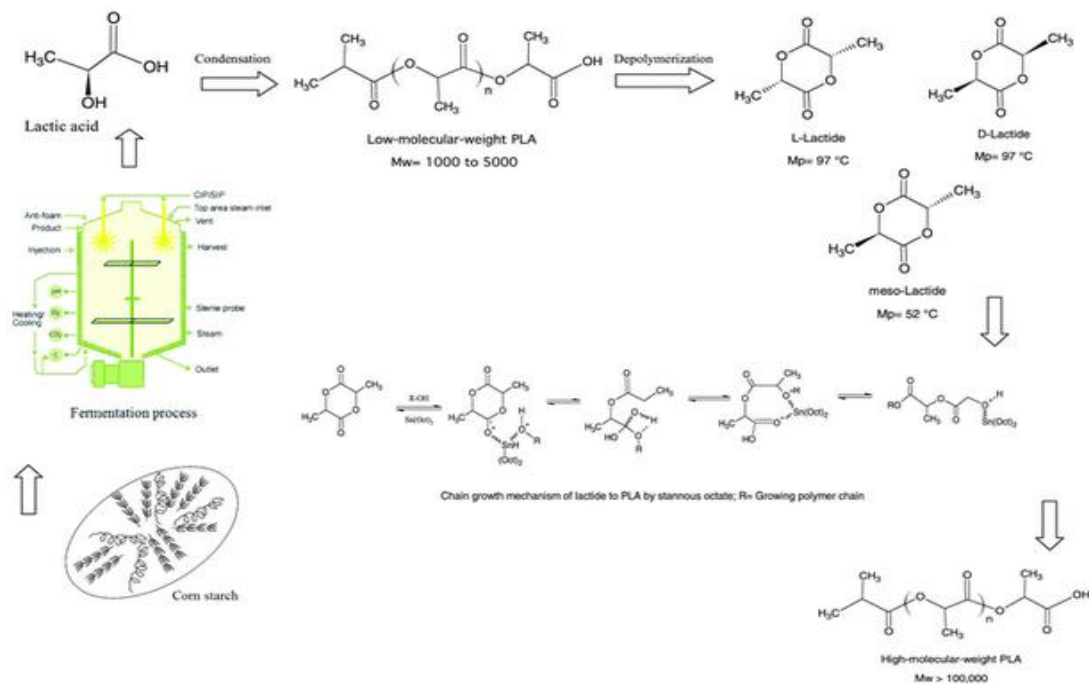
και γ) με πολυμερισμό ανοίγματος δακτυλίου του λακτιδίου και παρουσιάζονται στην Εικόνα που ακολουθεί (5).



Εικόνα 1.2: Τρόποι πολυμερισμού του γαλακτικού οξέος (5).

Η πρώτη μέθοδος βασίζεται στην εστεροποίηση των μονομερών με τη βοήθεια ορισμένων διαλυτών και την απομάκρυνση του παραγόμενου νερού με την εφαρμογή κενού και υψηλών θερμοκρασιών. Ωστόσο, με αυτόν τον τρόπο δεν είναι δυνατή η παραγωγή πολυεστέρων με υψηλά μοριακά βάρη και καλές μηχανικές ιδιότητες. Με τη δεύτερη μέθοδο, κάτι τέτοιο είναι πιο ρεαλιστικό, καθώς το αζεotropικό διάλυμα βοηθά στη μείωση των πιέσεων απόσταξης και καθιστά δυνατό το διαχωρισμό του PLA από το διαλύτη με τη βοήθεια κοσκίνων. Έτσι, καθίσταται δυνατή η παραγωγή PLA μοριακού βάρους $6.6 \cdot 10^4$ g/mol. Τέλος, η τρίτη μέθοδος είναι και αυτή που χρησιμοποιείται κυρίως βιομηχανικά για την παραγωγή PLA υψηλού μοριακού βάρους, και γίνεται μέσω του σχηματισμού λακτιδίου. Το λακτίδιο είναι ένα κυκλικό διμερές που σχηματίζεται με την απομάκρυνση του νερού σε ήπιες συνθήκες και χωρίς τη χρήση διαλύτη. Ο καθαρισμός του λακτιδίου γίνεται με απόσταξη υπό κενό σε υψηλές θερμοκρασίες. Στη συνέχεια, το PLA σχηματίζεται μέσω πολυμερισμού ανοίγματος δακτυλίου (ring-opening polymerization), σε κατάσταση τήγματος ή διαλύματος. Ο πιο συνηθισμένος εκκινητής που χρησιμοποιείται στην πράξη είναι ο οκτανοϊκός κασσίτερος (stannous octoate, $SnOct_2$) που προκαλεί χαμηλό βαθμό ρακεμοποίησης σε υψηλή θερμοκρασία. Το παρακάτω σχήμα απεικονίζει τα

βήματα της παραγωγής του PLA μέσω πολυμερισμού ανοίγματος δακτυλίου και εκκινήτη τον οκτανοϊκό κασσίτερο (1).



Εικόνα 1.3: Βήματα παραγωγής PLA μέσω πολυμερισμού ανοίγματος δακτυλίου και εκκινήτη τον οκτανοϊκό κασσίτερο (1).

1.1.3 Ιδιότητες

Όσον αφορά τις ιδιότητές του, η κρυσταλλικότητα του πολυμερούς μπορεί να επηρεάσει πολλές από αυτές όπως τη σκληρότητα, την αντοχή σε εφελκυσμό, την ακαμψία και το σημείο τήξης. Η κρυσταλλικότητα είναι η ένδειξη του ποσού της κρυσταλλικής περιοχής στο πολυμερές ως προς την άμορφη περιοχή. Οι κρύσταλλοι του PLA μπορούν να αναπτυχθούν σε 3 δομές που ονομάζονται α, β και γ μορφές. Χαρακτηρίζονται από διαφορετική διαμόρφωση έλικας και συμμετρία κελιού. Έχει βρεθεί ότι ο βαθμός κρυσταλλικότητας του PLA σε θερμοκρασίες μεταξύ 100 και 118°C είναι πολύ υψηλός και αυτό οφείλεται στον υψηλό βαθμό ακτινικής ανάπτυξης των σφαιρουλιτών σε αυτό το εύρος θερμοκρασιών.

Φυσικές ιδιότητες: Το PLA μπορεί να είναι είτε άμορφο είτε ημικρυσταλλικό, και αυτό εξαρτάται από τη στερεοχημεία του και τη θερμική του ιστορία. Λόγω του ότι έχει 2 οπτικές διατάξεις για το γαλακτικό οξύ (L-γαλακτικό οξύ, D-γαλακτικό οξύ) και 3 οπτικές

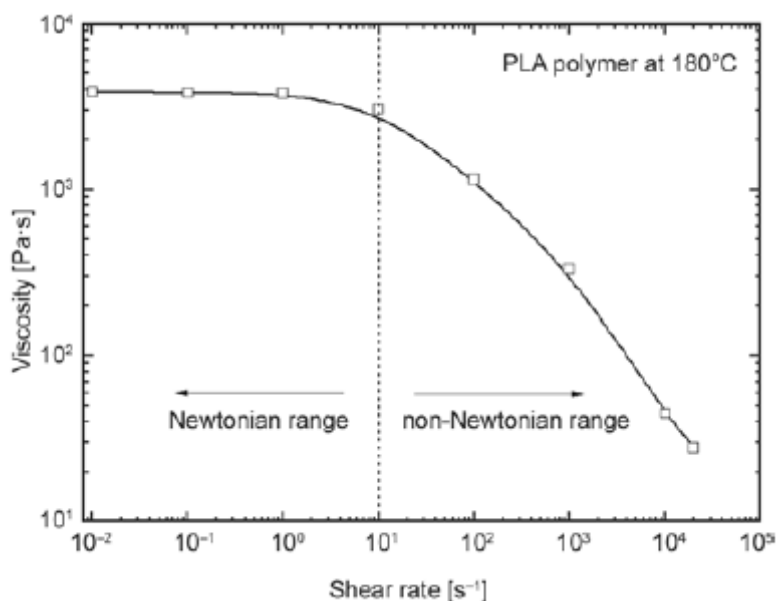
διατάξεις για το λακτίδιο (L-λακτίδιο, D-λακτίδιο, μεσο-λακτίδιο), υπάρχει μεγάλη ποικιλία κύριων δομών για το PLA. Από τα δύο αυτά ισομερή του γαλακτικού οξέος μπορούν να προκύψουν 4 διαφορετικά προϊόντα: το πολύ(D-γαλακτικό οξύ) (PDLA), που είναι ένα κρυσταλλικό υλικό με τακτική δομή αλυσίδας, το πολύ(L-γαλακτικό οξύ) (PLLA), το οποίο είναι ημικρυσταλλικό και, παρόμοια με το προηγούμενο, με τακτική δομή αλυσίδας, το πολύ(D,L-γαλακτικό οξύ) (PDLLA), το οποίο είναι άμορφο και τέλος, το μέσο-PLA, που προκύπτει από τον πολυμερισμό του μεσο-λακτιδίου. Τα PDLA, PLLA και PDLLA είναι διαλυτά στους συνήθεις διαλύτες όπως πχ στο χλωροφόρμιο και αποδομούνται με τη συνήθη υδρόλυση του εστερικού δεσμού ακόμα και απουσία κάποιας υδρολύσης (6). Η αποδόμησή τους συμβαίνει σε 2 στάδια: Αρχικά, η τυχαία μη ενζυματική σπάση της αλυσίδας των εστερικών ομάδων οδηγεί σε μείωση του μοριακού βάρους. Σε δεύτερο στάδιο, το μοριακό βάρος μειώνεται μέχρι που το γαλακτικό οξύ και τα oligομερή χαμηλού μοριακού βάρους μεταβολίζονται φυσικά από μικροοργανισμούς για να παράγουν διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Ο ρυθμός της πολυμερικής αποδόμησης καθορίζεται κυρίως από την αλληλεπίδραση του πολυμερούς με το νερό και τους καταλύτες. Κάθε παράγοντας που επηρεάζει αυτήν την αλληλεπίδραση, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία, η κρυσταλλικότητα, το ποσοστό των ισομερών και το μοριακό βάρος, θα έχει επίδραση στο ρυθμό αποδόμησης. Το PLA έχει χρόνο ημιζωής αποδόμησης στο περιβάλλον από 6 μήνες έως 2 χρόνια (7).

Κάποιες από τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του PLA συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 1.1: Φυσικές και χημικές ιδιότητες του PLA

Ιδιότητα	PDLA	PLLA	PDLLA
Κρυσταλλική δομή	Κρυσταλλικό	Ημικρυσταλλικό	Άμορφο
Θερμοκρασία τήξης (°C)	180	180	Κυμαινόμενη
Θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (°C)	50-60	55-60	Κυμαινόμενη
Θερμοκρασία αποδόμησης (°C)	200	200	185-200

Ρεολογικές ιδιότητες: Παρόμοια με όλα τα θερμοπλαστικά πολυμερή, το PLA εμφανίζει νευτωνική συμπεριφορά σε χαμηλούς ρυθμούς διάτμησης ($<10 \text{ s}^{-1}$), ενώ εμφανίζει μη νευτωνική συμπεριφορά (shear thinning) σε υψηλούς ρυθμούς διάτμησης, δηλαδή το ιξώδες του μειώνεται αυξανόμενου του ρυθμού διάτμησης (8). Έτσι, το PLA θεωρείται ένα ψευδοπλαστικό, μη νευτωνικό ρευστό. Πάνω από τη θερμοκρασία τήξης, συμπεριφέρεται ως ένα κλασικό θερμοπλαστικό πολυμερές (9).



Εικόνα 1.4: Εξάρτηση ιξώδους από ρυθμό διάτμησης του PLA στους 180°C (8).

Επίσης, έχει καταγραφεί και η επίδραση της σύστασης του πολυ(γαλακτικού οξέος) (L- και D-ισομερή) στις ρεολογικές ιδιότητες που εμφανίζει. Έχουν εξεταστεί δύο τύποι PLA, το άμορφο που περιέχει 82% L-λακτίδιο και 18% D-λακτίδιο και το ημικρυσταλλικό που περιέχει 95% L-λακτίδιο και 5% D-λακτίδιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το ιξώδες του πολυμερούς αυξάνεται αυξανόμενου του ποσού του L-ισομερούς, εξαιτίας της αύξησης της κρυσταλλικότητας του PLA (8).

Μηχανικές ιδιότητες: Το PLA έχει καλές μηχανικές ιδιότητες (ιδιαίτερα μέτρο ελαστικότητας κατά Young και αντοχή σε εφελκυσμό) σε σχέση με τα παραδοσιακά πολυμερή όπως το πολυπροπυλένιο, το πολυστυρένιο και το πολυαιθυλένιο, ωστόσο ιδιότητες όπως η αντοχή στην κρούση και η επιμήκυνση στη θραύση είναι χαμηλότερες από αυτές του πολυπροπυλενίου, του πολυαιθυλενίου και των πολυαμιδίων. Έτσι, η

χαμηλή σκληρότητά του, το έχει αποκλείσει από εφαρμογές που απαιτούν καταπόνηση σε υψηλές τάσεις, κάτι που αύξησε το ενδιαφέρον για την εύρεση τεχνικών αύξησης της σκληρότητας του PLA τα τελευταία χρόνια (8). Συγκεκριμένα, το ημικρυσταλλικό PLA έχει αντοχή σε εφελκυσμό περίπου 50-70 MPa, μέτρο ελαστικότητας 3000-4000 MPa, επιμήκυνση στη θραύση 2-10% και αντοχή σε κάμψη στα 100 MPa (10). Γενικά, το ημικρυσταλλικό PLA προτιμάται σε σχέση με το άμορφο όταν είναι επιθυμητές καλύτερες μηχανικές ιδιότητες.

Θερμικές ιδιότητες: Το ποια κρυσταλλική συμπεριφορά θα εμφανίσει το PLA εξαρτάται από τη στερεοχημεία του και τη θερμική ιστορία του. Οι θερμικές του ιδιότητες μπορούν να επηρεαστούν από διάφορες δομικές παραμέτρους όπως το μοριακό βάρος και τη σύστασή του (περιεχόμενο σε στερεοϊσομερή). Έχει αποδειχθεί ότι η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του PLA αυξάνει, αυξανόμενου του μοριακού βάρους, μέχρι που φτάνει μια σταθερή τιμή. Επίσης, αυξανόμενου του ποσοστού στο πολυμερές του L-στερεοϊσομερούς, η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης αυξάνει (8).

Συμπερασματικά, και σε σύγκριση με άλλα βιοπολυμερή, το PLA έχει πολλά πλεονεκτήματα, μεταξύ των οποίων και τα παρακάτω:

- (1) Είναι περιβαλλοντικά φιλικό: εκτός του ότι παράγεται από ανανεώσιμες πηγές όπως προαναφέρθηκε, είναι βιοδιασπώμενο, ανακυκλώσιμο, διαθέτει τη δυνατότητα κομποστοποίησης και η παραγωγή του καταναλώνει διοξείδιο του άνθρακα.
- (2) Είναι βιοσυμβατό, κάτι που το καθιστά ιδανικό για τη χρήση του σε βιοϊατρικές εφαρμογές αφού δεν παράγει τοξικά ή καρκινικά προϊόντα που βλάπτουν τους ιστούς, και τα προϊόντα αποδόμησής τους δεν επηρεάζουν την ίαση της βλάβης. Επίσης, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) έχει επιτρέψει την άμεση επαφή του με τα βιολογικά υγρά.
- (3) Είναι επεξεργάσιμο: Το PLA δίνει καλύτερη θερμική δυνατότητα επεξεργασίας συγκρινόμενο με άλλα βιοπολυμερή όπως η πολυ(καπρολακτόνη) και η πολυ(αιθυλογλυκόλη). Μπορεί να επεξεργαστεί με έγχυση, εκβολή με φιλμ, έγχυση με φύσημα και θερμομόρφωση.

- (4) Συμβάλλει στην εξοικονόμηση ενέργειας αφού απαιτεί περίπου 25-55% λιγότερη ενέργεια για να παραχθεί απ'ότι τα συνθετικά πολυμερή και μελέτες δείχνουν ότι το ποσοστό αυτό μπορεί να γίνει και 10% στο μέλλον.
- (5) Η χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας επιφέρει επίσης πλεονεκτήματα αναφορικά με το κόστος.

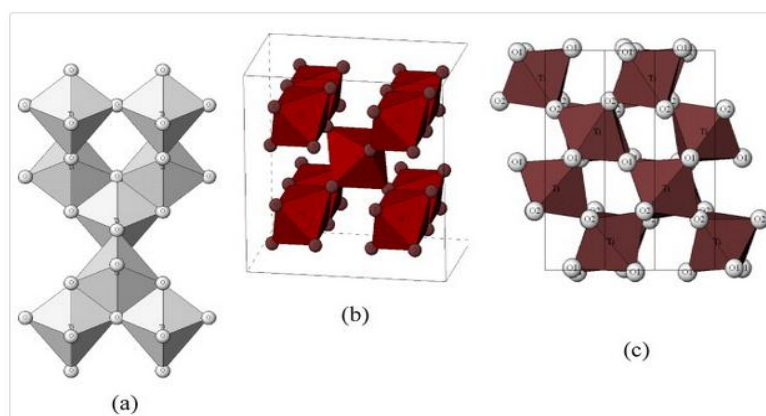
Ωστόσο, το PLA έχει και μειονεκτήματα, που περιορίζουν τη χρήση του σε συγκεκριμένες εφαρμογές, και τα βασικότερα είναι:

- (1) Η χαμηλή σκληρότητα: το PLA είναι πολύ ψαθυρό με μικρότερη από 10% αντοχή σε θραύση, παρόλο που το μέτρο ελαστικότητας και η αντοχή σε εφελκυσμό είναι συγκρίσιμα με αυτά του πολυαιθυλενίου.
- (2) Ο χαμηλός ρυθμός αποδόμησης, που εξαρτάται από το ποσό κρυσταλλικότητας, το μοριακό του βάρος, τη μορφολογία του, το ρυθμό διάχυσης του νερού μέσα στο πολυμερές, και το περιεχόμενο σε στερεοϊσομερή.
- (3) Η υδροφοβικότητα: Το PLA είναι σχετικά υδρόφοβο, κάτι που οδηγεί σε χαμηλή κυτταρική συγγένεια και, σε ορισμένες περιπτώσεις, φλεγμονώδη αντίδραση από τον οργανισμό δέκτη σε περίπτωση απευθείας επαφής με τα βιολογικά υγρά (7).

1.2 Διοξείδιο του τιτανίου

1.2.1 Ιδιότητες

Το τιτάνιο είναι το τέταρτο κατά σειρά σε αφθονία μέταλλο στη γη (προηγούνται ο άργυρος, ο σίδηρος και το μαγνήσιο) και ανακαλύφθηκε το 1971 από τον *William Gregor*, ο οποίος αναγνώρισε την παρουσία ενός καινούργιου στοιχείου στο ορυκτό ιλμενίτη (iron titanium oxide, $FeTiO_3$). Το διοξείδιο του τιτανίου είναι το οξείδιο του τιτανίου που υπάρχει φυσικά και η πυκνότητά του ισούται με 4.23 g/cm^3 και η μοριακή του μάζα με 79.9378 g/mol . Το σημείο τήξης ανέρχεται στους 1843°C , ενώ το σημείο βρασμού στους 2972°C . Εμφανίζεται στη φύση σε 3 διαφορετικές κρυσταλλογραφικές φάσεις: τη φάση του ανατάση, του ρουτιλίου και του μπρουκίτη (anatase, rutile, brookite), με τη φάση του ρουτιλίου να είναι η πιο σταθερή μορφή θερμοδυναμικά. Και οι τρεις φάσεις μπορούν να συντεθούν στο εργαστήριο και θεωρητικά οι ασταθείς φάσεις της ανατάσης και του μπρουκίτη θα μετατραπούν στη θερμοδυναμικά σταθερή φάση ρουτιλίου με πύρωση σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 600°C . Και στις τρεις μορφές, τα άτομα του τιτανίου είναι συνδιατεταγμένα σε 6 άτομα υδρογόνου, σχηματίζοντας οκτάεδρα TiO_6 (11).



Εικόνα 1.5: Οι 3 κρυσταλλογραφικές φάσεις του TiO_2 (11).

Τα TiO_2 ρουτίλη και μπρουκίτη χρησιμοποιούνται συνήθως ως φωτοκαταλύτες, αν και επίσης ένα μίγμα των δύο αυτών φάσεων επιδεικνύει βελτιωμένη φωτοκαταλυτική ικανότητα (11). Ο ανατάσης έχει κερδίσει σημαντική προσοχή λόγω της δράσης του ως

φωτοκαταλύτης και για τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες (13). Γενικά, τα προϊόντα που περιέχουν διοξείδιο του τιτανίου παράγονται με ένα μεγάλο εύρος μεγέθους σωματιδίων. Πολλές εφαρμογές του TiO_2 μπορούν να ωφεληθούν από ένα μικρότερο μέγεθος σωματιδίων, και προς απόδειξη αυτού, το ποσοστό του TiO_2 που παράγεται στη νανοκλίμακα ή κοντά σε αυτή αναμένεται να αυξηθεί ραγδαία. Ο πιο κοινός τρόπος για τη σύνθεση των νανοσωματιδίων αυτών είναι η υδρόλυση αλάτων τιτανίου σε όξινο διάλυμα. Για τη σταθεροποίηση της δομής του μεγέθους και του σχήματός τους, μπορεί να χρησιμοποιηθεί διάλυμα sol-gel. Για την αύξηση της φωτοσταθερότητας και την πρόληψη μιας πιθανής συσσωμάτωσης, τα νανοσωματίδια καλύπτονται συνήθως με άργυλο, σιλικόνη ή πολυμερή (14).

Τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου διαθέτουν μεγάλη επιφάνεια και πολύ καλές ιδιότητες όπως ενδιαφέρουσα φωτοκαταλυτική δραστηριότητα, καλή μαγνητική φύση και υδρόφιλες και αντιμικροβιακές ιδιότητες (11). Το TiO_2 είναι ένας εξαιρετικός καταλύτης στη φωτοαποδόμηση γιατί εμφανίζει φωτοσταθερότητα και είναι ένας αποτελεσματικός, επαναχρησιμοποιήσιμος, φθηνός, μη τοξικός και εύκολα διαθέσιμος καταλύτης. Επίσης, έχει βρεθεί ότι με την ενσωμάτωση νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου σε οργανικά πολυμερή, επιτυγχάνεται ελάττωση του χρόνου αποδόμησης υπό ακτινοβολία UV (12). Αυτές οι ιδιότητες καθιστούν το TiO_2 ιδανικό υποψήφιο σε πολλές εφαρμογές όπου οι επιφάνειες είναι δυσπρόσιτες για παραδοσιακό καθάρισμα ή σε περιπτώσεις που πρέπει να κατασταλούν πιθανά παθογόνα βακτήρια όπως πχ για την απομάκρυνση βακτηρίων και επιζήμιων οργανικών υλικών από το νερό και τον αέρα, καθώς επίσης και σε αυτοκαθαριζόμενες επιφάνειες σε ιατρικά κέντρα (13).

1.2.2 Εφαρμογές

Η φωτοκατάλυση, όπως θα αναλυθεί και στα επόμενα κεφάλαια, είναι η χημική αντίδραση που συμβαίνει όταν το φως προσκρούει πάνω σε μια χημική ένωση που είναι φωτοευαίσθητη, όπως το διοξείδιο του τιτανίου. Η αντίδραση αυτή προκαλεί τη διάσπαση οργανικών τοξινών, οσμών και άλλων και έχει πολλά αξιολογικά αποτελέσματα. Ορισμένες σημαντικές εφαρμογές παρατίθενται παρακάτω:

Περιβαλλοντικές εφαρμογές: Το TiO_2 έχει την ικανότητα να απομακρύνει από την ατμόσφαιρα ενώσεις που προέρχονται από περιβαλλοντική μόλυνση όπως τα οξείδια του αζώτου και τα οξείδια του θείου που είναι επίσης επιζήμια.

Εφαρμογές απόσμησης: Το διοξείδιο του τιτανίου δεν καλύπτει τις οσμές όπως τα συνηθισμένα προϊόντα ανανέωσης αέρα, αλλά επιτίθεται στη ρίζα της μυρωδιάς, προκαλώντας τη διάσπαση της πηγής της οσμής (πχ αμμωνία, καπνός κ.ά.)

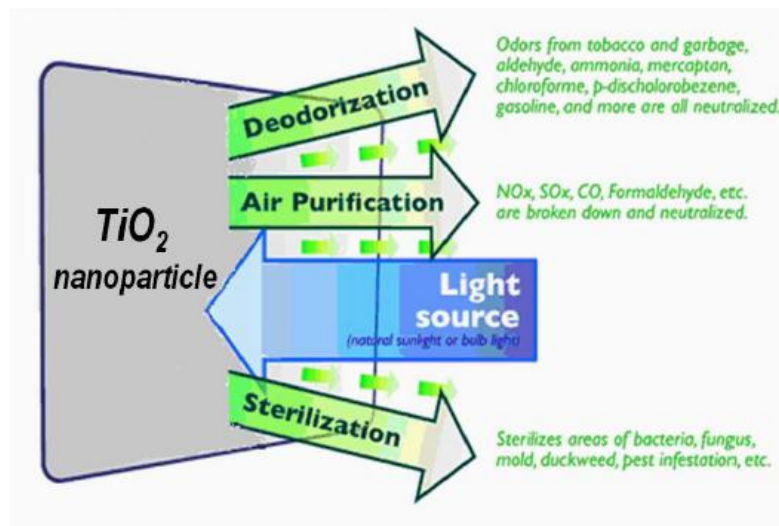
Εφαρμογές καθαρισμού νερού: Το TiO_2 επίσης προκαλεί την αποδόμηση επιζήμιας οργανικής ύλης, όπως οι ενώσεις οργανικού χλωρίου, το τετραχλωροαιθυλένιο και το τριχλωρομεθάνιο.

Φαρμακευτικές εφαρμογές: Αφορούν την αποστείρωση και τον περιορισμό ιών: Το διοξείδιο του τιτανίου ως φωτοκαταλύτης μπορεί να καταστρέψει τη μεμβράνη των κυττάρων και είναι αποτελεσματικό απέναντι στα βακτήρια *Escherichia coli* (14).

Επίσης, τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου, σε αντίθεση με τα σωματίδια σε διάσταση μικρο, δεν χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα σε τρόφιμα. Αντίθετα, έχουν ευρεία χρήση σε αντηλιακά υψηλής προστασίας, ίνες υφασμάτων και συντηρητικά ξύλου. Για πολύ καιρό, τα αντηλιακά παρασκευάζονταν με μικροσωματίδια TiO_2 , τα οποία έδιναν στα προϊόντα μια κολλώδη υφή, που άφηνε ένα ορατό φιλμ στο δέρμα, και έτσι η εφαρμογή δεν ήταν εύκολη ούτε ευχάριστη για το δέρμα. Τα αντηλιακά με νανοσωματίδια, μπορούν να εφαρμοστούν πολύ πιο εύκολα, και η προστατευτική τους επίδραση απέναντι στη UV ακτινοβολία είναι πολύ καλύτερη. Σήμερα, τα αντηλιακά με υψηλούς δείκτες προστασίας παράγονται με τη χρήση μόνο νανοσωματιδίων TiO_2 .

Τέλος, λόγω του υδρόφιλου χαρακτήρα του, το TiO_2 σχηματίζει ένα κλειστό φιλμ στην επιφάνειά του, μέσα στο οποίο οι ρυπαντές και τα προϊόντα αποδόμησης μπορούν εύκολα να απομακρυνθούν. Γι'αυτό μάλιστα, τα νανοσωματίδια αυτά που περιέχονται και σε βαφές για σπίτια, θεωρούνται αυτοκαθαριστικά. Ακόμα και οι επιστρώσεις που

χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του θολώματος των τζαμιών (anti-fog coatings) επωφελούνται από αυτές τις υδρόφιλες ιδιότητες, καθώς το πολύ λεπτό στρώμα νερού πάνω σε μια επιφάνεια τζαμιού, επικαλυμμένη από ένα διάφανο στρώμα νανοσωματιδίων TiO_2 παρεμποδίζει τη δημιουργία σταγονιδίων νερού, και επίσης προλαμβάνει το θόλωμα (12).



Εικόνα 1.6: Εφαρμογές των νανοσωματιδίων TiO_2 (14).

1.3 Νανοσύνθετα πολυ(γαλακτικού οξέος)/TiO₂

1.3.1 Εισαγωγή

Τα πολυμερικά νανοσύνθετα αποτελούν υλικά πολλών φάσεων, όπου τουλάχιστον μια από τις συνεχείς φάσεις έχει τουλάχιστον μια διάσταση στην κλίμακα των νανομέτρων (<100 nm). Τα νανοσύνθετα έχουν μελετηθεί από πλήθος ερευνητών λόγω των ιδιοτήτων τους ακόμα και σε μικρές περιεκτικότητες σε νανοσωματίδια. Επιπλέον, οι πρόσφατες τεχνολογικές καινοτομίες επέτρεψαν το σχεδιασμό και τη δημιουργία καινούργιων νανოსυνθέτων και δομών με μεγάλη ελαστικότητα και τη βελτίωση των φυσικών ιδιοτήτων τους. Πράγματι, η ενσωμάτωση νανοπροσθέτων στα πολυμερή, δημιουργεί σύνθετα με βελτιωμένες μηχανικές, ηλεκτρικές, οπτικές, θερμικές ή μαγνητικές ιδιότητες. Τα νανοπρόσθετα είναι διαθέσιμα σε διαφορετικά μεγέθη και σχήματα και μπορούν να χωριστούν σε 3 κατηγορίες ανάλογα με τις διαστάσεις των σωματιδίων:

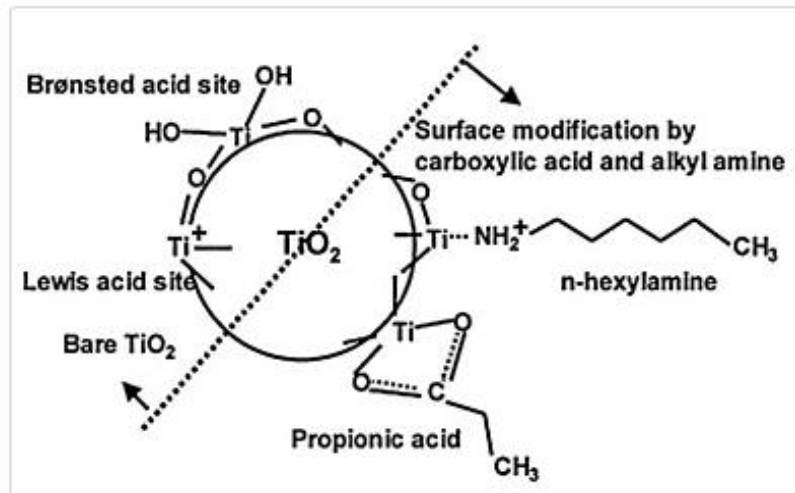
- 1) Νανοπρόσθετα με τη μορφή πλακών (Plate-like nanofillers, 1D): είναι υλικά με τυπικό πάχος γύρω στο 1 nm αλλά με ένα λόγο πλευρών στις άλλες δύο διαστάσεις τουλάχιστον 25.
- 2) Νανοϊνες (Nanofibers, 2D): έχουν διάμετρο μικρότερη από 100 nm και χαρακτηρίζονται από έναν λόγο των πλευρών τουλάχιστον ίσο με 100. Σε αυτή τη κατηγορία ανήκουν οι νανοσωλήνες άνθρακα.
- 3) Νανοσωματίδια (Nanoparticles, 3D) : εμφανίζουν 3 διαστάσεις κάτω από 100 nm. Τα πιο γνωστά είναι τα νανοσωματίδια πυριτίου.

Κύριο χαρακτηριστικό όλων των νανοπροσθέτων είναι ότι, λόγω των διαστάσεών τους στη νανοκλίμακα, διαθέτουν μεγάλη επιφάνεια σε σχέση με όγκο. Μάλιστα, για την περίπτωση των ινών και των σωματιδίων, όσο μικρότερη η διάμετρος, τόσο μεγαλύτερη η επιφάνεια ανά μονάδα όγκου (2).

1.3.2 Τρόποι παρασκευής νανοσυνθέτων

Για την παρασκευή των πολυμερικών νανοσυνθέτων υπάρχουν 4 κύριοι δρόμοι: α) με μέθοδο διάλυσης, όπου το πολυμερές διαλύεται σε κατάλληλο διαλύτη μαζί με τα νανοσωματίδια και ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη, β) με ανάμιξη τήγματος όπου γίνεται απευθείας ανάμιξη του τήγματος του πολυμερούς με τα νανοσωματίδια, γ) με *in situ* πολυμερισμό, όπου τα νανοσωματίδια αρχικά διασπείρονται σε ρευστό μονομερές ή διάλυμα μονομερούς και ύστερα ακολουθεί πολυμερισμός, και δ) με σύνθεση μήτρας όπου τα νανοσωματίδια συνθέτονται από ένα πρόδρομο διάλυμα χρησιμοποιώντας πολυμερή ως μήτρα.

Στη παρούσα διπλωματική εργασία μελετώνται νανοςύνθετα πολυ(γαλακτικού οξέος) με διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2) τα οποία παρήχθησαν με την τεχνική της ανάμιξης τήγματος. Είναι γενικά αποδεκτό ότι η απευθείας ανάμιξη νανοσωματιδίων όπως αυτά του TiO_2 με το PLA, οδηγεί στη συσσωμάτωσή τους στην πολυμερική μήτρα. Με αυτό το σκεπτικό, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι τροποποίησης της επιφάνειας των νανοσωματιδίων για να βελτιώσουν τη διασπορά τους στο PLA, όπως πχ η χρήση προπιονικού οξέος και αλκυλαμίνων μεγάλης αλυσίδας. Για παράδειγμα, η επιφανειακή τροποποίηση των νανοσωματιδίων TiO_2 (*g-TiO₂*), έγινε παρουσία γαλακτικού οξέος προκειμένου να βελτιωθεί η διασπορά των νανοσωματιδίων στο PLA. Όταν έγινε διασπορά με ανάμιξη τήγματος επιτεύχθηκε καλύτερη διασπορά στην περίπτωση των *g-TiO₂*, όπως παρατηρήθηκε από αναλύσεις SEM. Επιπλέον, η κρυσταλλικότητα του PLA αυξήθηκε, όπως επίσης και οι μηχανικές του ιδιότητες, πιθανότατα λόγω της αλληλεπίδρασης των νανοσωματιδίων με την πολυμερική μήτρα (2).



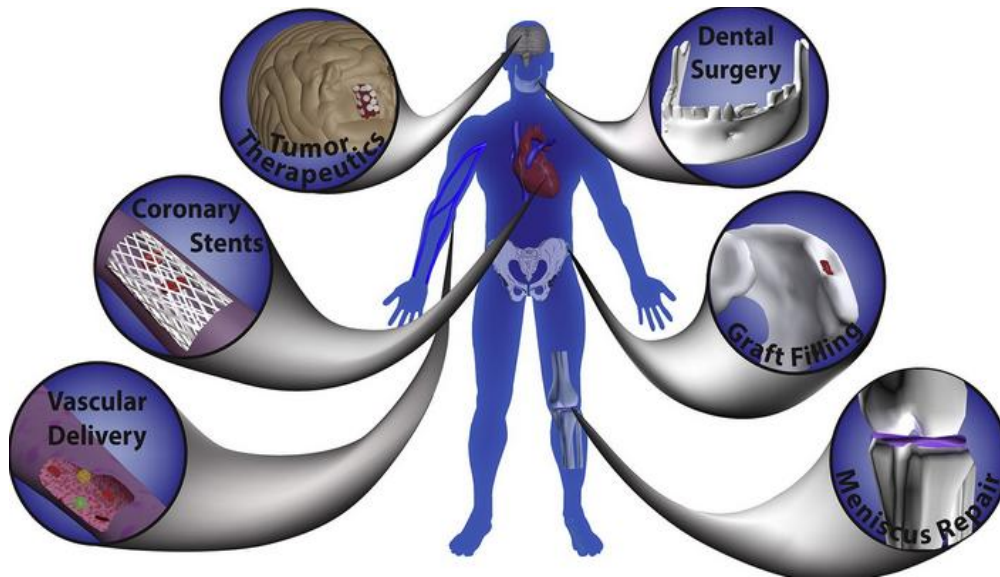
Εικόνα 1.7: Επιφανειακή τροποποίηση νανοσωματιδίων TiO_2 με προπιονικό οξύ και αλκυλαμίνη για καλύτερη διασπορά στη μήτρα PLA (2).

1.4 Εφαρμογές συστημάτων πολυ(γαλακτικού οξέος)

1.4.1 Βιοϊατρικές εφαρμογές

Το PLA λόγω των ενδιαφέροντων ιδιοτήτων του, χρησιμοποιείται κατά κόρον σε βιοϊατρικές εφαρμογές, οι οποίες μπορούν να συνοψιστούν στα παρακάτω σημεία:

1. Ιστική μηχανική
2. Φορείς φαρμάκων
3. Γναθοπροσωπική χειρουργική
4. Ορθοπεδικές συσκευές
5. Αντιμικροβιακοί παράγοντες
6. Ουρολογικά stents



Εικόνα 1.8: Βιοϊατρικές εφαρμογές PLA (13).

Η μηχανική των ιστών είναι ένα πεδίο που επικεντρώνεται στην προσπάθεια εύρεσης λύσεων για κρίσιμα ιατρικά ζητήματα, όπως στην απώλεια ενός ιστού ή βλάβης ενός οργάνου, χρησιμοποιώντας γνώσεις χημείας, φυσικής και μηχανικής. Περιλαμβάνει τη χρήση συνδυασμού κυττάρων για τη βελτίωση ή την αντικατάσταση βιολογικών λειτουργιών. Οι ασθενείς θεραπεύονται με τα δικά τους κύτταρα, τα οποία αναπτύσσονται σε ένα πολυμερές, ώστε ένα κομμάτι ιστού να ξανααπτυχθεί από τα φυσικά κύτταρα (8).

Τα ικρίωματα ορίζονται ως πορώδη στερεά βιοϋλικά 3 διαστάσεων, σχεδιασμένα για να εκτελούν κάποιες ή όλες τις παρακάτω λειτουργίες: (α) προωθούν την αλληλεπίδραση μεταξύ κυττάρου και βιοϋλικού και την κυτταρική συνάφεια, (β) επιτρέπουν την επαρκή μεταφορά αερίων και θρεπτικών συστατικών για να είναι δυνατή η επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός και η διαίρεση του κυττάρου, (γ) βιοδιασπώνται με ρυθμιζόμενο ρυθμό, τέτοιο που πλησιάζει το ρυθμό της αναδημιουργίας του κανονικού ιστού, και, (δ) προκαλούν έναν ελάχιστο βαθμό τοξικότητας in vivo. Η ανάπτυξη ικριωμάτων με τα ιδανικά χαρακτηριστικά, όπως η καλή αντοχή, ο σωστός ρυθμός αποδόμησης, το πορώδες και η μικροδομή, όπως επίσης και τα σχήματα και τα μεγέθη τους μπορεί να ελεγχθεί καλύτερα σε πολυμερικές μήτρες (14).

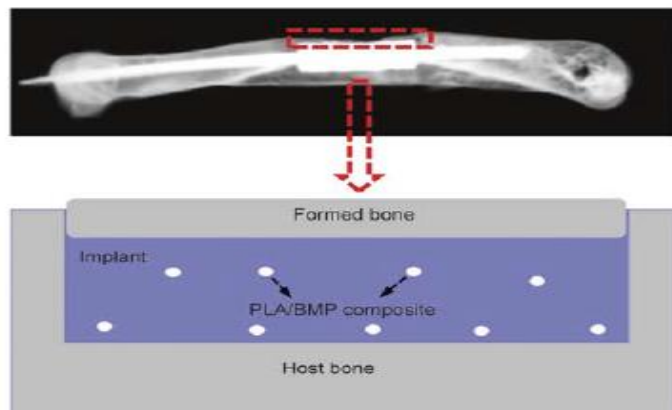
Οι βιοϊατρικές εφαρμογές του PLA προκύπτουν από τη βιοσυμβατότητά του και την ικανότητα διάλυσής του στον ανθρώπινο οργανισμό με την υδρόλυση του εστερικού δεσμού και τη δημιουργία αβλαβών και μη τοξικών ενώσεων αποδόμησης. Έτσι, το PLA

έχει εξεταστεί για εφαρμογές μηχανικής των ιστών όπως σε ικρίωματα για οστά, λόγω της καλής βιοσυμβατότητας που επιδεικνύει, ωστόσο έχει φτωχές μηχανικές ιδιότητες (8).

Τα πορώδη ικρίωματα τριών διαστάσεων του PLA φτιάχνονται για την καλλιέργεια διαφορετικών κυτταρικών τύπων, με τη χρήση γονιδιακής θεραπείας για καρδιαγγειακές ασθένειες: μυικοί ιστοί, αναδημιουργία οστού και άλλες θεραπείες καρδιαγγειακών, νευρολογικών και ορθοπεδικών καταστάσεων. Τα οστεογενετικά κύτταρα που τοποθετούνται στα ικρίωματα και εμφυτεύονται σε ελαττώματα οστών μπορούν να εκτελέσουν και τις δυο διεργασίες ανάπτυξης του σχηματισμού οστού: ενδοχονδρική οστεοποίηση και ενδομεμβρανική οστεοποίηση. Λόγω της υψηλής σκληρότητας του PLA, είναι δυνατόν να δημιουργηθούν 3D δομές (15). Η εφαρμογή γίνεται ως εξής: Κύτταρα μπορούν να αναπτυχθούν σε ένα ικρίωμα από PLA, το οποίο στη συνέχεια τοποθετείται στο σημείο του ελαττώματος του οργάνου. Όταν εισάγεται in vivo, μπορεί να διασπαστεί απλά με υδρόλυση χωρίς τη χρήση ενζύμων ή καταλυτών, και κυρίως, χωρίς την ανάγκη δεύτερου χειρουργείου για αφαίρεση. Με την υδρολυτική αποδόμηση, μετατρέπεται πάλι σε γαλακτικό οξύ, το οποίο είναι ένα οργανικό οξύ το οποίο υπάρχει φυσικά στο ανθρώπινο σώμα (8).

Η βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων του PLA επιτυγχάνεται με πληθώρα μεθόδων όπως πχ με συμπολυμερισμό ή σχηματισμό συνθέτων. Ο Zhang et al. (16) παρασκεύασε νανοσύνθετα PLA/οκταδεκυλαμίνης (octadecylamine) για χρήση στην ιστική μηχανική. Τα σύνθετα παρήχθησαν με μέθοδο διάλυσης όπου το PLA διαλύθηκε σε χλωροφόρμιο και έπειτα αναμείχθηκε με τη διασπορά της οκταδεκυλαμίνης και το χλωροφόρμιο εξατμίστηκε για να παραληφθούν λεπτά φιλμ των συνθέτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μηχανικές ιδιότητες του PLA (μέτρο ελαστικότητας κατά Young και σκληρότητα), βελτιώθηκαν μετά την παραπάνω ανάμιξη λόγω της καλής αλληλεπίδρασης μεταξύ του πολυμερούς και του πληρωτικού στα σύνθετα, κάτι που δείχνει την εφαρμοσιμότητα αυτού του συνθέτου στην ιστική μηχανική. Επίσης, έχουν μελετηθεί και τα συμπολυμερή του PLA, όπως το PLA-PEG, που χρησιμοποιήθηκε ως φορέας για τις μορφογενετικές πρωτεΐνες οστών (bone morphogenetic proteins, BMPs). Οι BMPs είναι βιολογικά ενεργά μόρια, ικανά να προκαλέσουν σχηματισμό καινούργιου οστού. Ο Saito και ο Takaoka et al. (17) εξέτασαν τη χρησιμότητα του PLA ως φορέα των BMP και βρήκαν ότι αποτελεί έναν

πολύ καλό υποψήφιο. PLA χαμηλού μοριακού βάρους αναμίχθηκε με BMP προς σχηματισμό ενός συνθέτου που μετά εμφυτεύτηκε στο οστό-δέκτη, και κατά τη διάρκεια της αποδόμησης της πολυμερικής μήτρας σχηματίστηκαν καινούργια κύτταρα οστού (8).



Εικόνα 1.9: Αντιμετώπιση κατάγματος οστού με εμφυτεύματα που περιέχουν σύνθετο PLA και BMP (8).

Τέλος, έχει εξεταστεί και η σύνθεση ικριωμάτων από πολυμερικά νανοσύνθετα με διοξείδιο του τιτανίου. Γενικά, τα ικρίωματα για τα κόκκαλα πρέπει να εκπληρώνουν 3 απαιτήσεις, που είναι η καλή μηχανική υποστήριξη, ο επαρκής χώρος για τα καινούργια κύτταρα και η παραλαβή παραγόντων ανάπτυξης. Ένα ιδανικό ικρίωμα για μηχανική οστού θα πρέπει να ικανοποιεί τα παρακάτω κριτήρια: (α) βιοσυμβατότητα για να υπάρχει η δυνατότητα διασύνδεσης των κυττάρων και διαφοροποίησης (β) βιοαποδόμηση με ρυθμό τέτοιο που να είναι ίδιος με το ρυθμό δημιουργίας του νέου ιστού (γ) οστεομετάδοση και οστεοεπαγωγή (δ) μηχανικές ιδιότητες (για παράδειγμα η αντοχή των ικριωμάτων θα πρέπει να είναι αρκετή για να παρέχει μηχανική σταθερότητα στην επιβολή φορτίων), και (ε) πορώδη δομή με πορώδες μεγαλύτερο από 90% και μέγεθος πόρου μεταξύ 300 και 500 μm για μέγιστη κυτταρική διείσδυση και ανάπτυξη ιστού. Τα πολυμερικά νανοσύνθετα με διοξείδιο του τιτανίου αποτελούν καλά ικρίωματα γιατί ικανοποιούν πολλές από τις παραπάνω απαιτήσεις. Εμφανίζουν υψηλό πορώδες, εξαιρετική εσωτερική διασύνδεση και επαρκή μηχανική αντοχή τόσο για ορθοπεδικές όσο και για οδοντιατρικές εφαρμογές. Λόγω της μεγαλύτερης αντοχής σε θλίψη που παρουσιάζει το διοξείδιο του τιτανίου σε σχέση με άλλα υλικά όπως η βιοενεργός ύαλος και τα κεραμικά φωσφορικού ασβεστίου, μπορεί να παρέχει καλύτερη μηχανική αντοχή στο ικρίωμα ακόμα και σε μεγάλο πορώδες. Γενικά, τα υλικά με νανοδομή διαδραματίζουν θεμελιώδη ρόλο στην ορθοπεδική έρευνα

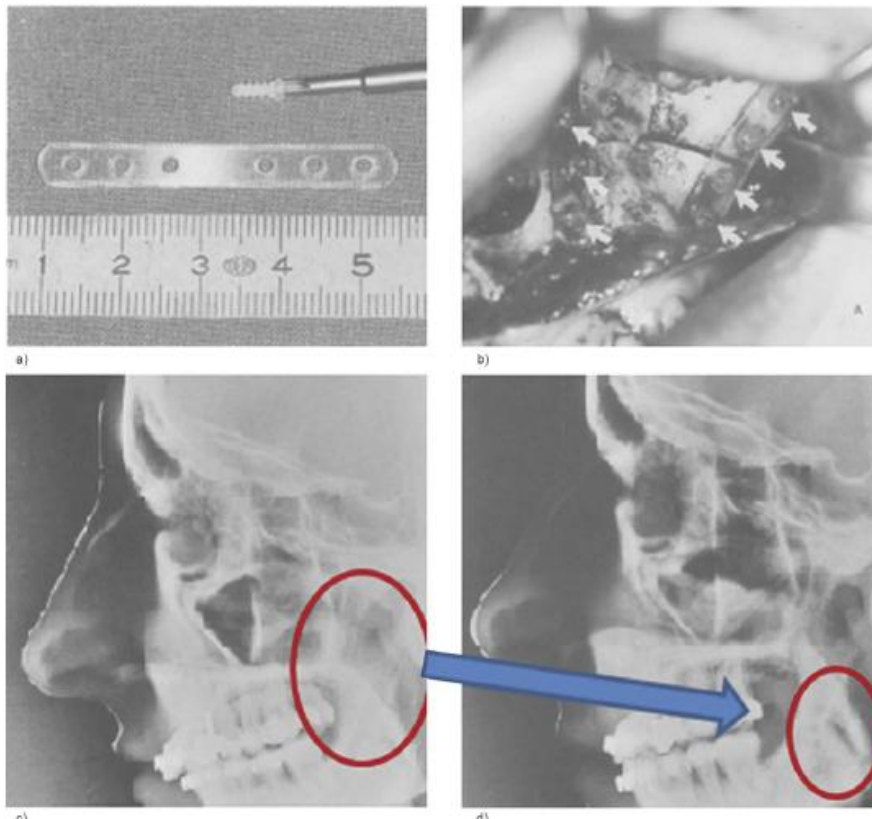
καθώς το οστό έχει δομική ιεραρχία στην κλίμακα των νανομέτρων και δομείται από νανοδομημένα ινίδια κολαγόνου και νανοκρυστάλλους απατίτη. Μία ιεραρχική δομή, έτσι, η οποία αποτελείται από συστατικά στη μικρο και νανο κλίμακα προσφέρει μια κατάλληλη επιφανειακή τοπογραφία για τις λειτουργίες των κυττάρων, αφού μιμείται την εξωκυτταρική μήτρα.

Οι δύο τύποι κυττάρων με τους οποίους έρχονται σε επαφή τα ορθοπεδικά εμφυτεύματα είναι οι οστεοβλάστες και τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοβλαστών (osteo-progenitor cells, MSCs). Οι οστεοβλάστες είναι ώριμα ενήλικα κύτταρα υπεύθυνα για το χτίσιμο του οστού και την τοποθέτηση ανόργανων στοιχείων για τη δομή της μήτρας του οστού. Τα MSCs έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους όπως οστεοβλάστες, χονδροκύτη (chondrocytes) και αδιποκύτη (adipocytes). Σχετικά με την επίδραση των νανοσυνθέτων στη συμπεριφορά των οστεοβλαστικών κυττάρων, έχει παρατηρηθεί ότι τα ικρίώματα οστών με διοξείδιο του τιτανίου παρουσιάζουν βελτιωμένη συμπεριφορά σε σχέση με το ρυθμό ανάπτυξης και την ικανότητα σχηματισμού οστού (18).

Ένας ακόμη τομέας που αξιοποιείται το PLA είναι στη διαχείριση πληγών, όπως πχ στα ιατρικά ράμματα, στην ίαση των πληγών από οδοντικές εξαγωγές και στην πρόληψη μετεγχειρητικών προσκολλήσεων. Επίσης, ιδιαίτερα δημοφιλές είναι και στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων (drug delivery systems). Η φαρμακευτική ουσία μπορεί να απελευθερώνεται συνεχώς για διαφορετικές περιόδους χρόνου, μέχρι και 1 χρόνο. Στα βιοδιασπώμενα πολυμερή όπως το PLA, που χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό, η απελευθέρωση του φαρμάκου γίνεται με έναν από τους τρεις τρόπους: διάβρωση, διόγκωση ή διάχυση. Η αποδόμηση ξεκινά μετά την είσοδο νερού στη συσκευή. Ακολουθεί σπάσιμο των εστερικών δεσμών, που οδηγεί σε διάβρωση της συσκευής. Επίσης, το PLA και τα συμπολυμερή του σε μορφή νανοσωματιδίων, έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διαδικασία ενσωμάτωσης (encapsulation) πολλών φαρμάκων. Για την παραλαβή αυτών των νανοσωματιδίων έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικές μέθοδοι όπως εξάτμιση διαλύτη, αντικατάσταση διαλύτη και αφαλάτωση (8).

Η επιδιόρθωση καταγμάτων προσώπου αποτελεί έναν τομέα που περιλαμβάνει ασφαλείς κλινικές εφαρμογές και μελέτες βιοχημικών ιδιοτήτων βιοαπορροφήσιμων πολυμερικών υλικών και αφορά γναθοχειρουργικές επεμβάσεις. Η χρήση πολυμερών όπως το PLA στη χειρουργική έχει πολλά πλεονεκτήματα καθώς είναι υλικά παρόμοια με τις μεταλλικές συσκευές, ασφαλή σε κλινικές εφαρμογές και εύκολα στη διαχείριση. Συνήθως χρησιμοποιούνται ως στερεωτικά υλικά γιατί είναι βιοσυμβατά, χάνουν σταδιακά τη δύναμή τους και δεν απαιτούν τη μετέπειτα αφαίρεσή τους.

Τέλος, το PLA έχει χρησιμοποιηθεί σε ορθοπεδικές συσκευές: Κύριος στόχος είναι η αποφυγή μιας δεύτερης χειρουργικής επέμβασης για την απομάκρυνση αχρείαστου εξοπλισμού και συνήθως χρησιμοποιούνται για τη σταθεροποίηση καταγμάτων, την επανασύναψη συνδέσμων, τεντώνων κλπ. Έτσι, το PLA αποτέλεσε την πρώτη ύλη για την κατασκευή βιοδιασπώμενων βιδών και στηριγμάτων για ράμματα σε πεδία εφαρμογής όπως πχ το γόνατο, ο ώμος, το πόδι, ο αστράγαλος και το χέρι και μείωσε το ρίσκο οστεοπόρωσης και τους κινδύνους που αφορούν πιθανές μολύνσεις. Σε ορισμένες περιπτώσεις, απαιτήθηκε PLA υψηλής απόδοσης και έτσι χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές για βελτίωση των μηχανικών του ιδιοτήτων, και κυρίως την αντοχή σε εφελκυσμό και την αντοχή σε κρούση (8).



Εικόνα 1.10: α) Βίδες και στηρίγματα κατασκευασμένα από PLA β) Άνω σιαγόνα με τις βίδες και το στήριγμα γ) Κεφαλογράφημα τραβηγμένο αμέσως μετά την εγχείρηση δ) Κεφαλογράφημα 6 μήνες μετά (8).

1.4.2 Εφαρμογές ευρείας χρήσης

Βέβαια, επιπρόσθετα με τη βιοϊατρική αγορά, τα υλικά που βασίζονται στο PLA αξιοποιούνται επίσης στην αγορά υφασμάτων (κυρίως στην Ιαπωνία) και στη συσκευασία (όπως πχ στη συσκευασία φαγητού). Το πολυγαλακτικό οξύ θεωρείται ένα οικονομικό υλικό για τη συσκευασία και χρησιμοποιείται κατά κόρον στη βιοδιασπώμενη συσκευασία. Μία από τις πρώτες εταιρίες που το χρησιμοποίησε ως υλικό συσκευασίας ήταν η Danone σε κεσεδάκια γιαουρτιού, και τα τελευταία χρόνια η εφαρμογή του υλικού αυτού εξαπλώθηκε σε όλη την Αμερική, την Ασία και την Ευρώπη, κυρίως στη συσκευασία φρέσκων προϊόντων. Σήμερα, μπορεί να βρεθεί σε ποτήρια, τυλίγματα για γλυκά, φιλμ πλαστικοποίησης, μπουκάλια νερού και χαρτόνια.

Για την αγορά αυτή, τα κυριότερα μειονεκτήματα είναι οι περιορισμένες μηχανικές ιδιότητες και η αντίσταση στη θέρμανση (15).



Εικόνα 1.11: Εφαρμογές PLA που αξιοποιούν τη συμπεριφορά σε μηχανική καταπόνηση του PLA (7).

Κεφάλαιο 2^ο

Μηχανισμός αντιμικροβιακής δράσης TiO_2

2.1 Θεωρητικό υπόβαθρο

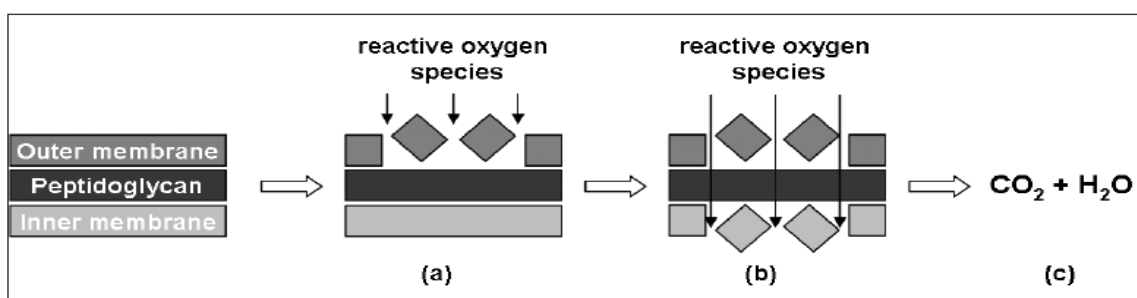
Τα νανοϋλικά γενικότερα θεωρούνται ως ένα θαύμα της σύγχρονης ιατρικής. Τα πολύ ανθεκτικά είδη μικροοργανισμών αποτυγχάνουν να αναπτυχθούν αν εφαρμοστούν σχηματισμοί βασισμένοι στα νανοσωματίδια στην καλλιέργειά τους. Σε εργαστηριακά τεστ με νανοσωματίδια, τα βακτήρια και οι ιοί σκοτώνονται εντός λίγων λεπτών επαφής (19). Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του TiO_2 συγκεκριμένα, έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια, καθώς εμφανίζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι άλλων χημικών και μεταλλικών συστημάτων. Αρχικά, τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου έχουν ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δραστηριότητας έναντι πολλών ειδών μικροοργανισμών. Επίσης, τα νανοςύνθετα PLA/TiO_2 είναι περιβαλλοντικά ασφαλή και εκτελούν βιοκτόνα δράση χωρίς την προϋπόθεση επαφής με το αντικείμενο. Κατά συνέπεια, δεν απαιτείται απελευθέρωση πιθανά τοξικών νανοσωματιδίων προκειμένου να επιτευχθούν οι αντιμικροβιακές ιδιότητες (20). Επίσης, η στείρα επιφάνεια που δημιουργείται πάνω στο διοξείδιο του τιτανίου, όπως θα αναλυθεί και παρακάτω, λειτουργεί χωρίς τη χρήση ηλεκτρικού ρεύματος ή χημικών αντιδραστηρίων, αφού απαιτούνται μόνο φως, οξυγόνο και νερό. Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες αυτές προκύπτουν από το συνδυασμό δύο χαρακτηριστικών του υλικού αυτού, που είναι η ιδιότητα αυτοκαθαρισμού (self-cleaning) και η ικανότητα αυτοαπολύμανσης (self-disinfection). Η ιδιότητα αυτοκαθαρισμού μπορεί να θεωρηθεί σαν μια έμμεση δράση ενάντια στα βακτήρια (21).

Ο αντιμικροβιακός μηχανισμός λειτουργεί ως εξής: Όταν το διοξείδιο του τιτανίου εκτίθεται στο φως με μια ακτινοβολία μεγαλύτερη από την ενέργεια διακένου ζώνης (band gap energy) του κρυστάλλου του, δημιουργεί ζεύγη από οπές h^+ και ηλεκτρόνια με μοριακή διέγερση, τα οποία μπορούν να μεταναστεύσουν στην επιφάνεια του καταλύτη

για να αντιδράσουν με νερό και οξυγόνο, παράγοντας έτσι υδροξυλικές ρίζες ($OH\cdot$) και αντιδρώσες ρίζες οξυγόνου που είναι ικανές να διασπάσουν τα κυτταρικά συστατικά των μικροοργανισμών και να δράσουν έτσι ως αντιμικροβιακοί παράγοντες (22). Έτσι λοιπόν, μέσω της φωτοκατάλυσης του TiO_2 , οι αντιδρώσες ρίζες που παράγονται από αυτήν αποσυνθέτουν αρχικά τον κυτταρικό τοίχο και στη συνέχεια μερικώς την εξωτερική μεμβράνη των μικροοργανισμών. Η μερική αποσύνθεση της μεμβράνης αλλάζει τη διαπερατότητα σε αντιδρώσες ρίζες και οδηγεί σε υπεροξείδωση των μεμβρανικών λιπιδίων, απώλεια της κυτταρικής βιωσιμότητας και τέλος, κυτταρικό θάνατο.

Οι Sunada et al. (23) πρότειναν ένα μηχανισμό 3 βημάτων για τη φωτοεξουδετέρωση των βακτηρίων από νανοσύνθετα με TiO_2 : (α) επίθεση στον κυτταρικό τοίχο από τις αντιδρώσες ρίζες οξυγόνου, (β) διατάραξη της εσωτερικής κυτοπλασματικής μεμβράνης και εξουδετέρωση του κυττάρου, και (γ) αποσύνθεση των τοξικών συστατικών των βακτηρίων.

Στο πρώτο στάδιο, η εξωτερική μεμβράνη καταστρέφεται μερικώς. Αυτή η πρώτη επίθεση δεν επηρεάζει συγκεκριμένα τη ζωτικότητα του κυττάρου, αλλά αλλάζει τη διαπερατότητα του βακτηρίου σε αντιδρώσες ρίζες, οι οποίες μπορούν να εισέλθουν στο κύτταρο και να επιτεθούν στην κυτοπλασματική μεμβράνη με λιπιδική υπεροξείδωση (lipid peroxidation) (δεύτερο βήμα). Σε αυτό το βήμα η δομική και λειτουργική διατάραξη της εσωτερικής μεμβράνης οδηγεί σε θάνατο του κυττάρου. Στο τρίτο βήμα, τα νεκρά βακτήρια μετατρέπονται, σε μεγαλύτερους χρόνους αντίδρασης, κυρίως σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό, λόγω της αυτοκαθαριστικής ιδιότητας του TiO_2 , όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.



Εικόνα 2.1: Μηχανισμός 3 βημάτων για τη φωτοεξουδετέρωση των βακτηρίων από νανοσύνθετα TiO_2 (21).

Στο σημείο αυτό να αναφερθεί ότι το μέγεθος του σωματιδίου του TiO_2 έχει καθοριστικό ρόλο όσον αφορά τις αντιμικροβιακές ιδιότητές του. Σε προηγούμενες μελέτες, έχει παρατηρηθεί ότι τα νανοσύνθετα εμφανίζουν πολύ καλύτερες αντιμικροβιακές ιδιότητες από τα μικροσύνθετα. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην πιο αποτελεσματική απελευθέρωση ιόντων τιτανίου στην περίπτωση των νανοσυνθέτων λόγω της μεγαλύτερης διαθέσιμης επιφάνειας (22).

Πάντως, τα σύνθετα του διοξειδίου της τιτανίας αποτελούν καλύτερους φορείς, σε σχέση με το σκέτο οξείδιο, σε θεραπευτικές εφαρμογές όπου απαιτείται ακτινοβολήση για την ενεργοποίηση της τιτανίας για να επιτευχθεί η μικροβιοκτόνος δράση. Το κύριο εμπόδιο στην ικανότητα στόχευσης των νανοσωματιδίων στα μη επιθυμητά κύτταρα και την παροχή υπεριώδους φωτός σωστού μήκους κύματος για την επαγωγή της κυτταροτοξικότητας, είναι η μικρή ικανότητα διείσδυσης του υπεριώδους φωτός μέσω του δέρματος (λιγότερο από 1 mm). Επομένως, γίνεται χρήση οπτικών ινών ή χειρουργείων για την ακτινοβολήση των νανοσυνθέτων. Με τη χρήση νανοσυνθέτων TiO_2 είναι δυνατή η αποφυγή των επιπλοκών βακτηριακής μόλυνσης σε χειρουργεία ορθοπεδικών παθήσεων αλλά και η συστηματική τοπική αντιβιοτική θεραπεία από εμφυτεύματα που περιλαμβάνουν νανοϋλικά TiO_2 σε μία συγκεκριμένη χειρουργική θέση. Επιπλέον, τα νανοσωματίδια έχουν αποδειχτεί πιο αποτελεσματικά από τα αντίστοιχα μικροσωματίδια στη βελτίωση των λειτουργιών των οστεοβλαστών (προσκόλληση, σύνθεση αλκαλικής φωσφατάσης και εναπόθεση ορυκτών που περιέχουν ασβέστιο) (24). Έχει γίνει αναφορά της ικανότητας των επιφανειακών ομάδων Ti-OH των κρυσταλλικών μορφών του οξειδίου του τιτανίου και ειδικότερα του ανατάση, να επάγουν επιταξιακή πυρηνοποίηση υδροξυαπατίτη από προσομοιωμένο υγρό σώματος (SBF) (25), κάτι απαραίτητο για την ανάπτυξη συνδετικού ιστού γύρω από ένα εμφύτευμα.

2.2 Βιβλιογραφική ανασκόπηση αντιμικροβιακής δράσης TiO_2

Το κομμάτι της αντιμικροβιακής δράσης του διοξειδίου του τιτανίου απασχόλησε πολλούς ερευνητές. Από τη διαπίστωση της δράσης αυτής και μετά, το TiO_2 έχει χρησιμοποιηθεί σε διασπορά, σε υγρά ή έχει ακινητοποιηθεί σε επιφάνειες προκειμένου να εξουδετερώσει τα Gram-αρνητικά και Gram-θετικά βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων των ενδοσπορίων, των μυκήτων, των πρωτόζωων και των αλγών, όπως επίσης και για να εξουδετερώσει τις μικροβιακές τοξίνες. Ιόντα όπως αυτά του χαλκού και του αργύρου σε συνδυασμό με το TiO_2 , έχει βρεθεί ότι βελτιώνουν την αντιμικροβιακή του δράση. Η φωτοκατάλυση έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να εξουδετερώσει περισσότερα Gram αρνητικά από Gram θετικά βακτήρια. Η διαφορά συνήθως έγκειται στη διαφορετική δομή του κυτταρικού τοίχου και στο πάχος της πεπτιδογλυκάνης μεταξύ αυτών των δύο ειδών βακτηρίων. Στα μεν Gram θετικά βακτήρια, ο κυτταρικός τοίχος συντίθεται από ένα πολύ παχύ πεπτιδογλυκανικό στρώμα, ενώ στα δε Gram αρνητικά βακτήρια το στρώμα αυτό είναι πολύ λεπτό και περιβάλλεται εξωτερικά από μια μεμβράνη που αποτελείται κυρίως από πολυσακχαρίτες και λιποπρωτεΐνες. Η πεπτιδογλυκάνη είναι ένας διασταυρωμένος από πεπτίδια πολυσακχαρίτης που περιβάλλει τα βακτηριακά κύτταρα και παρέχει ακαμψία για τη διατήρηση του σχήματος και της εσωτερικής πίεσης: στα Gram-θετικά αποτελεί το 90% του κυτταρικού τοίχου ενώ στα Gram-αρνητικά μόνο το 10%. Έτσι, στα τελευταία, η εξωτερική μεμβράνη είναι η πρώτη γραμμή της άμυνας, ενώ στα πρώτα είναι το παχύ πεπτιδογλυκανικό στρώμα. Ωστόσο, δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο εάν ο στόχος της επίθεσης από τις δραστικές ρίζες είναι το στρώμα αυτό ή απλά καθυστερεί τη διάχυσή τους στο εσωτερικό του κυττάρου.

Μέχρι τώρα, οι περισσότερες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σε αποικίες E.coli, ωστόσο και άλλα Gram-αρνητικά βακτήρια έχει βρεθεί ότι είναι ευάλωτα στη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα του διοξειδίου του τιτανίου. Όσον αφορά τα Gram-θετικά βακτήρια, 17 διαφορετικά είδη έχει βρεθεί ότι εξουδετερώνονται (21).

Οι Fonseca et al. (22) μελέτησαν την αντιμικροβιακή επίδραση σε διαφορετικά δείγματα νανοσυνθέτων PLA/TiO₂ χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ISO 20143 και η ανάλυση έγινε με τη μικροβιακή καλλιέργεια E.coli ATCC 25922. Μια φρέσκια κοινότητα μικροβίων συγκέντρωσης 1 * 10⁵ CFU/mL αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο BHI broth plus Triton 100 μέσα σε υγρό θάλαμο. Το PLA που χρησιμοποιήθηκε αποτελείται κατά 95.7% από το L-ισομερές της εταιρίας Nature Works LLC. Η προετοιμασία των νανοσυνθέτων έγινε σε μίξερ GUIX στους 170° C και ανάδευση 10 λεπτών, και η περιεκτικότητά τους σε νανοσωματίδια τέθηκε ίση με 1, 3, 5 και 8 % κ.β. Το ποσοστό μείωσης των αποικιών υπολογίστηκε με την παρακάτω εξίσωση που συσχετίζει τον αριθμό των αποικιών από το καθαρό πολυμερές με τον αριθμό από τα νανοσύνθετα:

$$\%R = \frac{CFU_{\text{καθαρο } \dot{\cup} \text{ PLA}} - CFU_{\text{νανοσυνθ } \dot{\epsilon} \text{ του}}}{CFU_{\text{καθαρο } \dot{\cup} \text{ PLA}}} * 100 \quad (1)$$

Τα δείγματα εκτέθηκαν σε ακτινοβολία UVA για 2 ώρες και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα νανοσύνθετα έχουν βακτηριοκτόνο δράση που αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων και υπό την επίδραση της UV ακτινοβολίας. Η αποτελεσματικότητα ενάντια στα βακτήρια έφτασε συγκεκριμένα το 94.3% στα νανοσύνθετα περιεκτικότητας 8% σε TiO₂, και μετά από 2 ώρες ακτινοβολίας. Επίσης, βρέθηκε ότι τα παραπάνω νανοσύνθετα είναι αποτελεσματικά ενάντια στα βακτήρια σε ποσοστό 82.4%, ανεξαρτήτως UV ακτινοβολίας. Οι Chawengskijwanich et al. (25) συμπέραναν ότι η έκταση της αντιμικροβιακής επίδρασης των φιλμ TiO₂ ήταν σχετική με την ένταση της UVA ακτινοβολίας και το είδος των τεχνητών πηγών φωτός. Τα πειράματα των Fonseca διεξήχθησαν σε χαμηλή ένταση ακτινοβολίας (0.2 mW/cm²) και τα νανοσύνθετα έδειξαν εξάρτηση από την ακτινοβολία. Τα νανοσύνθετα περιεκτικότητας 8% κ.β. έδειξαν καλή συμπεριφορά και χωρίς ακτινοβολία. Αυτά τα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στο μικρό μέγεθος των νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου (διάμετρος περίπου 10nm) και στην καλή κατανομή τους στην πολυμερική μήτρα. Όπως έχει αναφερθεί, η διαθέσιμη επιφάνεια του νανοσωματιδίου και η ομογένεια της διασποράς αποτελούν στοιχεία κλειδιά στη βιοκτόνο δράση των νανοσυνθέτων.

Οι Haghí et al. (19) εξέτασαν την αντιμικροβιακή επίδραση σε καλλιέργεια *E.coli* νανοσωματιδίων TiO_2 σε συγκέντρωση 0.01 , 0.5 , 1 και 1.5% μέσω μέτρησης οπτικής πυκνότητας, και μελέτησαν επίσης και τη βακτηριακή αντίσταση σε αντιβιοτικά. Τα νανοσωματίδια είχαν διάμετρο 60 nm και προμηθεύτηκαν από την εταιρία Dr. Reddy Corporation, και η καλλιέργεια *E.coli* απομονώθηκε από νοσοκομειακό περιβάλλον και προστέθηκε σε 100 ml θρεπτικού διαλύματος, χωρίς, και με τις παραπάνω συγκεντρώσεις TiO_2 και επώαστηκε στους 37°C για 24 ώρες. Για τη μελέτη της βακτηριακής συγκέντρωσης, οι τιμές οπτικής πυκνότητας ελήφθησαν στα 600 nm. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το βακτήριο *E.coli* ήταν ανθεκτικό σε όλα τα αντιβιοτικά και ότι η μείωση της οπτικής πυκνότητας παρατηρήθηκε με αύξηση της συγκέντρωσης σε νανοσωματίδια. Αυτή η αντιμικροβιακή δράση αποδίδεται σύμφωνα με πολλές έρευνες στην εξής θεωρία: τα μεταλλικά οξείδια όπως το TiO_2 είναι φορτισμένα θετικά ενώ οι μικροοργανισμοί είναι φορτισμένοι αρνητικά, και αυτό προκαλεί ηλεκτρομαγνητική έλξη μεταξύ τους που οδηγεί σε οξείδωση και τελικά σε θάνατο των μικροοργανισμών. Έτσι, σε περιβάλλον νοσοκομείου, όπου υπάρχουν πολλά ανθεκτικά στελέχη τα οποία μπορούν να μεταφερθούν εύκολα και να προκαλέσουν μόλυνση σε χειρουργικές πληγές, το διοξείδιο του τιτανίου θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως κατάλληλος απολυμαντής.

Οι Xiu-ke Fu et al. (26) μελέτησαν την αντιμικροβιακή δράση φιλμ PLA μοριακού βάρους $1 * 10^5$ g/mol τροποποιημένο με ανόργανα νανοσωματίδια TiO_2/Ag^+ σε καλλιέργειες *E.coli* και *staphylococcus aureus*. Τα παρθένα και τροποποιημένα φιλμ PLA προετοιμάστηκαν με μέθοδο εκβολής με φύσημα. Πριν την ανάμιξη των νανοσωματιδίων με το PLA, προστέθηκαν πλαστικοποιητές με διασπορά σε υπέρηχο για 30 λεπτά. Ο αντιμικροβιακός ρυθμός των φιλμ καθορίστηκε με τη μέθοδο της διάχυσης σε δίσκους (standard discs diffusion method): Αρχικά τοποθετήθηκαν σε Petri dishes 15 ml θρεπτικού μέσου και μετά τη στερεοποίηση του μέσου, η διασπορά (100 μl) τοποθετήθηκε στην επιφάνεια. Τα δείγματα (με διάμετρο 6 mm) μπήκαν στο κέντρο των Petri dishes και στη συνέχεια αφέθηκαν να αναπτυχθούν για 24 ώρες στους 37°C. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αντιμικροβιακή δραστηριότητα στο PLA ήταν μικρότερη από 5%, ενώ στα νανوسύνθετα ξεπέρασε το 95%. Ο αντιμικροβιακός μηχανισμός των νανοσωματιδίων TiO_2/Ag^+ ήταν ουσιαστικά η διπλή επίδραση των Ag^+ και TiO_2 , τα οποία έρχονται σε επαφή με τα

κύτταρα των μικροοργανισμών, καταστρέφουν το κυτταρικό τοίχωμα και προκαλούν το θάνατο του κυττάρου.

Οι M. Altan et al. (27) εξέτασαν την επίδραση της ενσωμάτωσης νανοσωματιδίων TiO_2 (Nabond Company, Κίνα) μέσου μεγέθους 20 nm σε μήτρα πολυπροπυλενίου (56 M10, Sabic Company) και υψηλής πυκνότητας πολυαιθυλενίου (Lanufene, HDI-6507UV) όσον αφορά τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Η σκόνη των νανοσωματιδίων και τα πολυμερή τοποθετήθηκαν σε δικόχλιο εκβολέα (Rondol MicroLab, Αγγλία) με λόγο L/D ίσο με 20. Η θερμοκρασία τέθηκε ίση με 220°C και η ταχύτητα εκβολής 60 rpm. Τα νανοσωματίδια προστέθηκαν σε περιεκτικότητες 1, 3 και 5% κ.β. Σύμφωνα με το πρότυπο JIS, η λογαριθμική μείωση των μικροοργανισμών θα πρέπει να είναι ίση ή υψηλότερη από 2 για να θεωρηθεί ένα υλικό αντιμικροβιακό. Στη συγκεκριμένη μελέτη, τα παρθένα υλικά δείχνουν αύξηση στις βακτηριακές αποικίες, λόγω απουσίας κάποιου αντιβακτηριακού μέσου. Από την άλλη πλευρά, τα νανოსύνθετα έδειξαν κάποια λογαριθμική μείωση, αλλά η μείωση αυτή ήταν μικρότερη από 2. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα καταγράφονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Πίνακας 2.1: Αποτελέσματα μελετών Altan et al. (27)

Υλικό	E.coli (αρχικά) [cfu/ml]	Μείωση E.coli μετά από 24h [cfu/ml]	Λογαριθμική μείωση [cfu/ml]
PP	$1.6 * 10^5$	15.8 μείωση	-1.2 αύξηση
HDPE	$4 * 10^5$	15.1 αύξηση	-1.18 αύξηση
PP/ TiO_2	$4 * 10^5$	27.23	1.38
HDPE/ TiO_2	$2.76 * 10^5$	79.30	1.90

Στη μελέτη αυτή, τα δοκίμια τοποθετήθηκαν σε φως UV (200-300 nm) για περίπου 2 ώρες. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι και η ποσότητα των νανοσωματιδίων είναι σημαντική στην αντιμικροβιακή δραστηριότητα. Η μικρότερη μείωση των μικροοργανισμών εμφανίστηκε στα νανοςύνθετα περιεκτικότητας 5% σε διοξείδιο του τιτανίου και αυτό δείχνει ότι μπορεί

να υπάρχει συσσωμάτωση και τα μη καλά διεσπαρμένα σωματίδια προκάλεσαν μείωση της φωτοκαταλυτικής ιδιότητας.

Οι Kubacka et al. (28) περιέγραψαν την παρασκευή με διεργασία τήξης φιλμ συμπολυμερούς ΕVΟΗ με διοξείδιο του τιτανίου σε διάφορες συγκεντρώσεις με το TiO_2 σε δομή ανατάσης και μέγεθος σωματιδίου 9nm. Τα νανοσωματίδια συντέθηκαν με τεχνική μικρογαλακτώματος. Τα νανοςύνθετα επέδειξαν εξαιρετικές αντιμικροβιακές ιδιότητες απέναντι σε βακτήρια όπως το *E.coli*, *E.caratonoza* και *E.faecalis* και αυτό συμβαίνει γιατί ολόκληρη η επιφάνεια του νανοςύνθετου καθίσταται βιοκτόνα και δεν απαιτείται η άμεση επαφή του με το μικροοργανισμό.

Τέλος, οι Verdier et al. (29) μελέτησαν την αντιμικροβιακή δράση των σκέτων νανοςωματιδίων TiO_2 υπό και χωρίς την επίδραση της UV ακτινοβολίας σε καλλιέργεια *E.coli*. Τα νανοςωματίδια (KRONOClean 7050) αφέθηκαν να αιωρηθούν σε θρεπτικό διάλυμα 1/500 NB σε συγκέντρωση 13.9 g/l. 9 χιλιοστά του αιωρήματος αυτού τοποθετήθηκαν σε Petri dish, ούτως ώστε να καλύπτεται όλη η επιφάνεια, και το φιλμ του διοξειδίου του τιτανίου ήταν ορατό από την πάνω πλευρά. Έπειτα, 11 ml από την καλλιέργεια πυκνότητας μεταξύ $8 * 10^4$ και $2 * 10^5$ κύτταρα/ml τοποθετηθήκαν πάνω στο φιλμ. Επίσης, μελετήθηκαν και δείγματα αναφοράς, χωρίς TiO_2 . Για να αποφευχθεί η ζημία μόνο από την ακτινοβολία UV, η μέγιστη ακτινοβολία τέθηκε ίση με $2.5 W/m^2$. Προηγούμενες μελέτες με μεγαλύτερη ένταση ακτινοβολίας έδειξαν πλήρες στέγνωμα του δείγματος κατά τη διάρκεια του πειράματος και αυτό οδήγησε σε απενεργοποίηση των βακτηρίων στα δείγματα αναφοράς. Η ένταση της ακτινοβολίας μετρήθηκε με UV-A radiometer (Gigahertz-Optik, GmbH Turkenfeld, Γερμανία), σε εύρος 310-400 nm. Μελετήθηκαν δείγματα υπό την επίδραση της UV ακτινοβολίας, καθώς και δείγματα που αφέθηκαν στο σκοτάδι. Τα αποτελέσματα στο σκοτάδι έδειξαν ότι η βακτηριακή συγκέντρωση των κυττάρων *E.coli* στην πρώτη επαφή με το διοξείδιο του τιτανίου και μετά από 24 ώρες, εμφάνισε μια μικρή μείωση ($-0.91 \pm 0.14 \log$), ενώ αντίθετα στα δείγματα control παρουσιάστηκε αύξηση ($+2.25 \pm 0.06 \log$). Είναι λοιπόν πιθανό, η δραστηριότητα του διοξειδίου του τιτανίου στο *E.coli* στο σκοτάδι να σχετίζεται κυρίως με μια εμπόδιση της βακτηριακής ανάπτυξης και δευτερευόντως με βακτηριοκτόνο δράση. Τα

αποτελέσματα αυτά φανερώνουν τη φυσική αντιμικροβιακή επίδραση του TiO_2 , χωρίς τη συσχέτιση με τη φωτοκαταλυτική διεργασία, και συμφωνούν με προηγούμενες παρατηρήσεις των Liu et al. (30) και Gogniat et al. (31), που παρατήρησαν μείωση της βακτηριακής κοινότητας μετά από επαφή με νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου στο σκοτάδι. Όσον αφορά την επίδραση της UV ακτινοβολίας, διαπιστώθηκε μια βακτηριακή μείωση της τάξεως $0.92 \pm 0.09 \log$ μετά από 6 ώρες ακτινοβολίας, η οποία θεωρήθηκε μικρή, δεδομένου ότι σε άλλα πειράματα της βιβλιογραφίας, η αντιβακτηριακή δραστηριότητα βρέθηκε μεγαλύτερη από 3 log μετά από 90 λεπτά ακτινοβολίας. Βέβαια, η αντίστοιχη ένταση της ακτινοβολίας ήταν ίση με 10 W/m^2 , επομένως, υποτέθηκε ότι η πολύ μικρότερη ένταση ακτινοβολίας που χρησιμοποιήθηκε, όπως επίσης και η διασπορά των νανοσωματιδίων και των βακτηρίων (μικρή πιθανότητα επαφής), αποτέλεσαν τους λόγους αυτού του αποτελέσματος. Μετά την τοποθέτηση του διαφανούς φιλμ πάνω ακριβώς στην καλλιέργεια, υπήρξε μια αξιοσημείωτη αύξηση στην αντιμικροβιακή δραστηριότητα, η οποία βρέθηκε ίση με $3.74 \pm 0.1 \log$ μετά από 6 ώρες ακτινοβολίας. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν την ιδέα ότι μειώνοντας την απόσταση μεταξύ των βακτηριακών κυττάρων και των νανοσωματιδίων, ενισχύεται η φωτοκαταλυτική διεργασία. Επιπρόσθετα, με το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από τις αντιδρώσες ρίζες οξυγόνου, στα κύτταρα, η επαφή με την επιφάνεια του TiO_2 οδηγεί σε απευθείας οξείδωση των κυττάρων από φωτοπαραγώμενες οπές h^+ . Επίσης, έχει προταθεί ότι η απευθείας επαφή προκαλεί απώλεια της μεμβρανικής συνοχής και μια διεργασία φαγοκύτωσης των νανοσωματιδίων από τα κύτταρα, γεγονός που οδηγεί σε μείωση του αριθμού των κυττάρων, αν όχι σε κυτταρικό θάνατο.

Κεφάλαιο 3^ο

Αποδόμηση PLA σε ακτινοβολία UV

3.1 Εισαγωγή

Η αποδόμηση είναι μια διεργασία κατά την οποία διαφορετικοί παράγοντες όπως πχ μηχανικοί, θερμικοί ή το φως, προκαλούν υποβάθμιση των ιδιοτήτων ενός πολυμερούς, κάτι το οποίο οδηγεί σε μικρότερα θραύσματα. Το πολυμερές γίνεται ψαθυρό και αυτό περιορίζει το χρόνο ζωής του. Αφορά όλες τις διεργασίες που οδηγούν σε υποβάθμιση των πολυμερικών ιδιοτήτων. Μπορεί να περιλαμβάνει φυσικές διαδικασίες όπως η επανακρυστάλλωση των πολυμερών, ή και χημικές διαδικασίες οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της μέσης μοριακής μάζας όταν επέρχεται σχάση των μακρομοριακών αλυσίδων ή την αύξηση της μοριακής μάζας εξαιτίας σταυροδεσμών που καθιστούν το πολυμερές αδιάλυτο. Ο όρος γήρανση των πολυμερών συνήθως σχετίζεται με μακροπρόθεσμες αλλαγές των πολυμερικών ιδιοτήτων (32). Η αποδόμηση των πολυμερών συνήθως αρχίζει από την εξωτερική επιφάνεια και προχωρά σταδιακά στην κύρια μάζα. Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι πολυμερικής αποδόμησης, οι κυριότεροι από τους οποίους αναφέρονται παρακάτω:

Χημική αποδόμηση: Αναφέρεται αποκλειστικά σε διεργασίες που συμβαίνουν υπό την επίδραση ενός χημικού αντιδραστηρίου (πχ οξέα, βάσεις, διαλύτες κ.ά.)

Θερμική αποδόμηση: Αναφέρεται στην περίπτωση όπου το πολυμερές, σε υψηλές θερμοκρασίες, υπόκειται σε χημικές αλλαγές χωρίς να εμπλέκεται παράλληλα κάποια άλλη ένωση.

Βιοαποικοδόμηση: Σχετίζεται στενά με τη χημική αποδόμηση, αφού εμπλέκεται κάποιο μικρόβιο. Οι μικροοργανισμοί παράγουν μια ποικιλία ενζύμων που είναι ικανά να αντιδράσουν με συνθετικά πολυμερή ή βιοπολυμερή.

Ραδιολυτική αποδόμηση: Όταν τα πολυμερικά υλικά υπόκεινται σε ακτινοβολία υψηλής ενέργειας όπως η γάμμα παρατηρούνται αλλαγές στη μοριακή τους δομή, κυρίως σχάση αλυσίδας, που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της μοριακής τους μάζας.

Μηχανική αποδόμηση: Αναφέρεται κυρίως σε μακροσκοπική επίδραση που γίνεται με την εφαρμογή διατμητικών δυνάμεων. Αυτές οι δυνάμεις έχουν ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μακροριζών, οι οποίες, απουσία υδρογόνου, μπορούν να επανασυνδυαστούν, ενώ παρουσία υδρογόνου σχηματίζονται υπεροξειδικές ρίζες, κάτι που οδηγεί στην αποδόμηση των πολυμερικών αλυσίδων (33).

Τέλος, η φωτοαποδόμηση που εξετάζεται στην παρούσα διπλωματική εργασία, είναι μια διεργασία κατά την οποία το υπεριώδες φως (μήκη κύματος 295-400 nm) οξειδώνει την πολυμερική δομή, διευκολύνοντας το μηχανικό και μοριακό σπάσιμο ενός πολυμερούς σε μικρότερα κομμάτια (34). Η φωτοαποδόμηση οφείλεται στην απορρόφηση φωτονίων, ιδίως εκείνων των συχνοτήτων που απαντώνται στο ηλιακό φως. Περιλαμβάνει διεργασίες όπως τη σχάση των αλυσίδων, τη δημιουργία σταυροδεσμών, καθώς και δευτερεύουσες οξειδωτικές αντιδράσεις και λαμβάνει χώρα μέσω δραστικών αντιδράσεων. Η αποδόμηση του PLA συγκεκριμένα, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως το μοριακό βάρος, το βαθμό κρυσταλλικότητας, τη θερμοκρασία, το pH, την παρουσία τερματικών καρβοξυλικών ή υδροξυλικών ομάδων, τη διαπερατότητα σε νερό και την παρουσία τυχόν προσθέτων που μπορεί να έχουν καταλυτική δράση (32).

Γενικά, πολλοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι για τη φωτοαποδόμηση των πολυμερών και μπορούν να χωριστούν σε 2 κατηγορίες:

- 1) Εσωτερικές ακαθαρσίες που μπορεί να περιέχουν χρωμοφόρες ομάδες που εισάγονται στα πολυμερή κατά τη διάρκεια του πολυμερισμού ή της αποθήκευσής τους. Περιλαμβάνουν υπεροξειδία, καρβονύλια, ακόρεστους αλειφατικούς δεσμούς και υπολείμματα καταλύτη.
- 2) Εξωτερικές ακαθαρσίες που μπορεί να περιέχουν χρωμοφόρες ομάδες και είναι πχ ίχνη καταλύτη, διαλυτών, ενώσεις από τη μολυσμένη αστική ατμόσφαιρα, πρόσθετα

(βαφές, χρωστικές, θερμικοί σταθεροποιητές) και ίχνη από μέταλλα ή μεταλλικά οξειδία από τον εξοπλισμό της επεξεργασίας (33).

3.2 Εργαστηριακή προσομοίωση της UV ακτινοβολίας

Ποια είναι όμως η UV ακτινοβολία και πως μπορεί αυτή να προσομοιωθεί στο εργαστήριο; Η ενέργεια που έρχεται από τον ήλιο αποτελείται από φωτόνια και είναι ανάλογη της συχνότητάς τους, σύμφωνα με την εξίσωση:

$$E = h\nu = hc/\lambda \quad (2)$$

Όπου h είναι η σταθερά του Planck

c είναι η ταχύτητα του φωτός στο κενό, και

λ είναι το μήκος κύματος.

Η ηλιακή ακτινοβολία που φτάνει στην επιφάνεια της γης αποτελείται από μήκη κύματος μεταξύ 295 και 3000 nm, και χωρίζεται σε 3 επιμέρους εύρη μήκους κύματος: το UV (ultraviolet, υπεριώδες), το VIS (visible, ορατό) και το IR (infrared, υπέρυθρο). Τα μήκη κύματος μεταξύ 295 και 400 nm θεωρούνται ως το υπεριώδες τμήμα της ηλιακής ακτινοβολίας, και αποτελούν περίπου το 4-7% της συνολικής ακτινοβολίας.

Πίνακας 3.1: Εύρη μήκους κύματος των ακτινοβολιών που απαρτίζουν την ηλιακή ακτινοβολία

Όνομα ακτινοβολίας	Εύρος μήκους κύματος	% συνολικής ηλιακής ακτινοβολίας
Υπεριώδες (UV)	295-400 nm	6.8
Ορατό (VIS)	400-800 nm	55.4
Υπέρυθρο	800-2450 nm	37.8

Η υπεριώδης ακτινοβολία λοιπόν είναι η ακτινοβολία εκείνη, της οποίας τα μήκη κύματος των συστατικών είναι μικρότερα από αυτά της ορατής ακτινοβολίας. Χωρίζεται στις επιμέρους κατηγορίες:

UV-A 315-400 nm

UV-B 280-315 nm

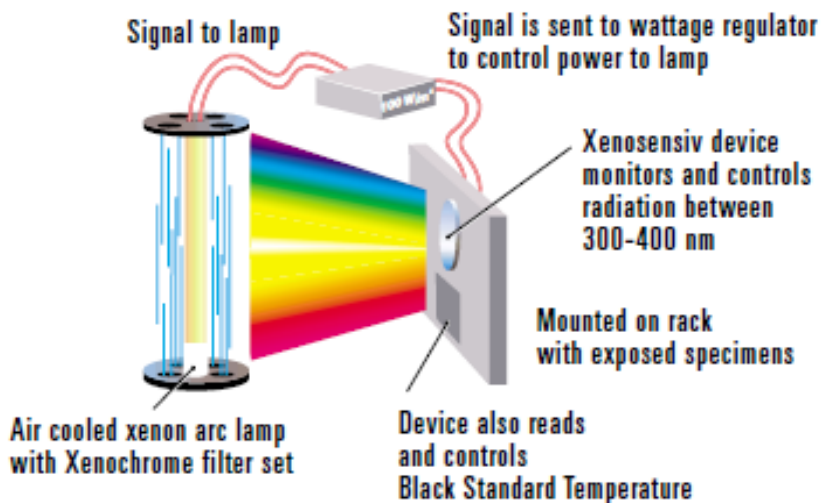
UV-C <280 nm (35)

Η UV-A ακτινοβολία προκαλεί ζημιά στα πολυμερή, η UV-B, που περιλαμβάνει τα μικρότερα μήκη κύματος που απαντώνται στην επιφάνεια της γης, ευθύνεται για σοβαρές ζημιές στα πολυμερή, και τέλος, η UV-C ακτινοβολία συναντάται μόνο στο διάστημα γιατί φιλτράρεται εκτός της ατμόσφαιρας της γης (36).

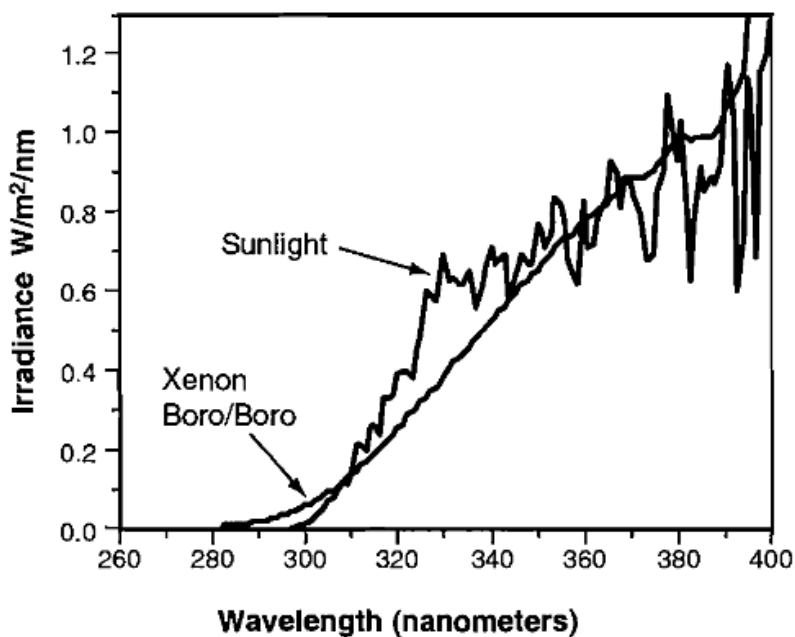
Ο όρος ακτινοβολία αναφέρεται στη προσπίπτουσα ροή πάνω σε μια επιφάνεια προς το εμβαδόν της επιφάνειας αυτής και εκφράζεται συνήθως σε W/m^2 .

Οι μελέτες που αφορούν την αποδόμηση του PLA και των νανοσυνθέτων του γίνονται με συσκευές που προσομοιάζουν τις εξωτερικές συνθήκες (πχ Weather-Ometer, Xenontester, Suntester κ.ά.). Έχει αποδειχθεί ότι οι λάμπες ξένου ειδικότερα έχουν ένα φάσμα το οποίο είναι συγκρίσιμο με το φάσμα UV, και αν λειτουργήσουν σε όχι πολύ υψηλές θερμοκρασίες, μπορούν να προσομοιάσουν καλύτερα τις συνθήκες γήρανσης. Η λάμπα ξένου είναι μια λάμπα αερίου επικαλυμμένη με χαλαζία που απελευθερώνει ακτινοβολία κάτω από τα 270 nm στο υπεριώδες, μέσω του ορατού φάσματος και μέσα στο υπέρυθρο. Προκειμένου να προσομοιωθεί η UV ακτινοβολία, χρησιμοποιούνται φίλτρα ώστε να απομακρυνθεί η μικρού μήκους κύματος UV ακτινοβολία, όπως επίσης και η υπέρυθρη ακτινοβολία, ώστε να αποφευχθεί πιθανή θέρμανση του υλικού που θα μπορούσε να προκαλέσει θερμική αποδόμηση. Η πρώτη λάμπα ξένου που χρησιμοποιήθηκε για την προσομοίωση συνθηκών γήρανσης αναπτύχθηκε το 1954 (*XENONTEST*[®] 150). Σήμερα, υπάρχουν δύο κατηγορίες συσκευών λάμπας ξένου: οι ψυχόμενες με νερό και οι ψυχόμενες με αέρα. Ο τύπος της ψύξης έχει αμελητέα επίδραση στο φάσμα της λάμπας, ωστόσο επιδρά στο γενικό σχεδιασμό και στο σύστημα οπτικού φιλτραρίσματος (optical filtering). Η λάμπα ξένου που ψύχεται με νερό περιβάλλεται από δύο κυλινδρικά οπτικά φίλτρα. Το νερό ψύξης ρέει μεταξύ της λάμπας, του εσωτερικού φίλτρου και του εξωτερικού φίλτρου, και εκτός από το να ψύχει, εξυπηρετεί και έναν επιπρόσθετο σκοπό: την απομάκρυνση ενός ποσοστού της ανεπιθύμητης υπεριώδους ακτινοβολίας. Η ακτινοβολία ελέγχεται μέσω ενός μικροεπεξεργαστή. Ένα μέρος της ακτινοβολίας της λάμπας ξένου κατευθύνεται από μια ακτίνα φωτός χαλαζία και φιλτράρεται μέσω ειδικής συσκευής. Ένας φωτοανιχνευτής τότε, στέλνει σήμα σε ένα ρυθμιστή της ισχύος για να

αυξήσει ή να μειώσει τη δύναμη της λάμπας. Αντίστοιχα, τα συστήματα που ψύχονται με αέρα, ελέγχουν την UV ακτινοβολία απευθείας στο επίπεδο του δείγματος, χρησιμοποιώντας τον πολυανιχνευτή Xenosensiv για την ακτινοβολία (35).



Εικόνα 3.1: Έλεγχος της ακτινοβολίας σε συστήματα ψυχόμενα με αέρα (35).



Εικόνα 3.2: Σύγκριση φάσματος λάμπας ξένου με UV ακτινοβολία του ήλιου (36).

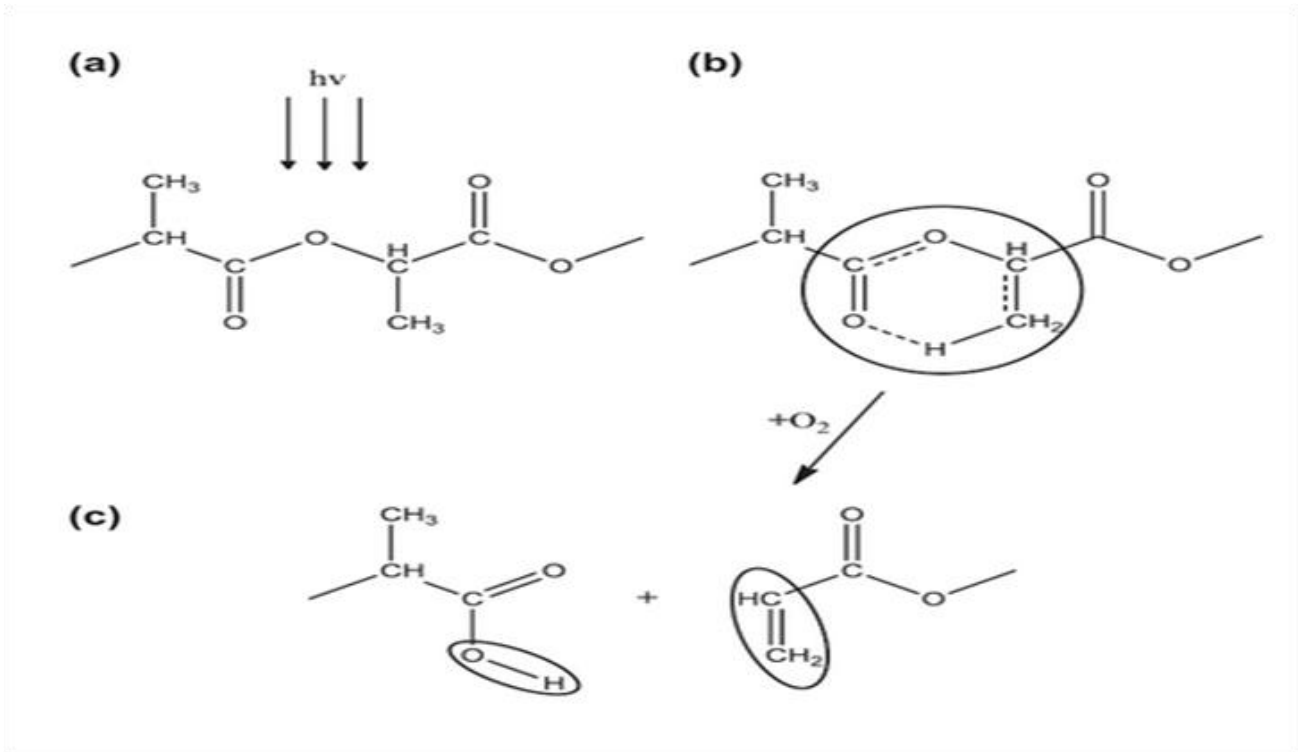
3.3 Μηχανισμός φωτοαποδόμησης PLA

Έχουν προταθεί δύο μηχανισμοί που εξηγούν τη φωτοοξείδωση των πολυμερών: Ο πρώτος συμβαίνει μέσω απευθείας αντίδρασης του μονήρους οξυγόνου με το υπόστρωμα ενώ ο δεύτερος περιλαμβάνει την παραγωγή δραστικών ελευθέρων ριζών και την αντίδρασή τους με το οξυγόνο (33). Το PLA έχει βρεθεί ότι φωτοαποδομείται με το δεύτερο μηχανισμό. Αυτός περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα: έναρξη, πρόοδο και τερματισμό.

Έναρξη: Εσωτερικές ή/και εξωτερικές χρωμοφόρες ομάδες απορροφούν φως και παράγουν χαμηλού μοριακού βάρους ελεύθερες ρίζες σύμφωνα με την αντίδραση:



Αυτή η αντίδραση ξεκινά με την επίδραση της UV ακτινοβολίας. Λόγω της χρωμοφόρας ομάδας C=O που περιέχει, το PLA απορροφά τη UV ακτινοβολία κάτω από τα 295 nm. Στη συνέχεια παράγονται υδροϋπεροξειδία μετά την αντίδραση με οξυγόνο. Τα υδροϋπεροξειδία είναι πολύ ασταθή: συνήθως αποσυντίθενται και παράγουν ελεύθερες ρίζες που προσλαμβάνουν άτομα υδρογόνου από το πολυμερές και επιπλέον εκκινούν τη φωτοοξείδωση. Μαζί με την οξείδωση του πολυμερούς από τη φωτόλυση υπεροξειδικών ομάδων, ένας δεύτερος κύριος παράγοντας που συνεισφέρει στη φωτοδιάσπαση του PLA είναι η κετονική φωτόλυση (ketone photolysis) που συμβαίνει μέσω των αντιδράσεων τύπου Norrish. Οι κετόνες εισάγονται στο κορμό της πολυμερικής αλυσίδας μέσω της φωτοοξείδωσης. Με την έκθεση στο φως, αυτές οι κετονικές ομάδες απορροφούν φωτόνια συγκεκριμένης ενέργειας, σπάνε τους δεσμούς άνθρακα-άνθρακα και προκαλούν σχάση της αλυσίδας. Οι αντιδράσεις Norrish μετασχηματίζουν τα πολυμερή μέσω φωτοϊονισμού (Norrish I) και σχάσης αλυσίδας (Norrish II). Ο μηχανισμός φωτοαποικοδόμησης του PLLA έχει προταθεί ότι συμβαίνει μέσω της φωτοσχάσης με τις αντιδράσεις τύπου Norrish και ιδιαίτερα την αντίδραση τύπου Norrish II, η οποία και εξηγεί τη σχάση της αλυσίδας (μείωση του μοριακού βάρους) και το σχηματισμό διπλών δεσμών άνθρακα-άνθρακα και υπεροξειδίου (37).



Εικόνα 3.3: Norrish II φωτοοξειδωτικός μηχανισμός του PLLA

Στην Εικόνα 3.3 φαίνονται α) η ακτινοβόληση UV του PLA, β) η φωτοφυσική διέγερση που ακολουθεί και γ) η οξείδωσή του και οι επακόλουθες αντιδράσεις σχάσης.

Το στάδιο της προόδου μπορεί να χωριστεί σε 6 διαφορετικά βήματα: (33)

A) Αντίδραση των δραστικών ριζών μικρού μοριακού βάρους με την πολυμερική αλκυλική ρίζα σε μια αλυσιδωτή αντίδραση παρόμοια με την πρόσληψη του υδρογόνου από το πολυμερικό μόριο:



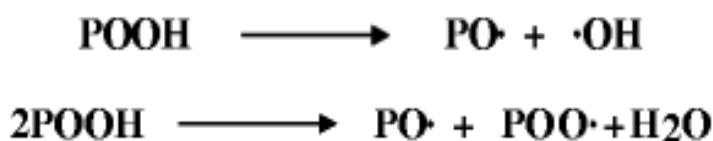
B) Αντίδραση των δραστικών ριζών του πολυμερούς με το οξυγόνο και παραγωγή υπεροξειδικών ριζών:



Γ) Πρόσληψη υδρογόνου από το ίδιο ή άλλο μόριο πολυμερούς από την πολυμερική υπεροξειδική ρίζα και παραγωγή υδροϋπεροξειδικής ομάδας:



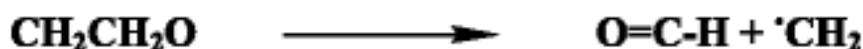
Δ) Φωτοαποδόμηση των υδροϋπεροξειδικών ομάδων με το σχηματισμό ελευθέρων ριζών ($PO\cdot, POO\cdot, HO\cdot$):



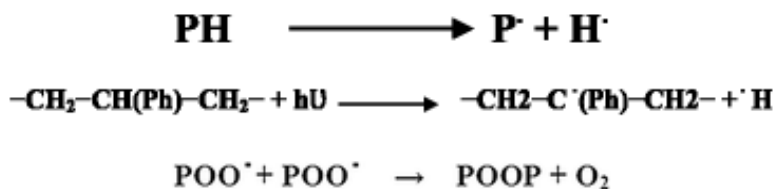
Ε) Πρόσληψη υδρογόνου από το μόριο του ίδιου ή άλλου πολυμερούς από τις πολυμερικές αλκοξυλικές ρίζες με παραγωγή υδροξυλικών ομάδων στο πολυμερές:



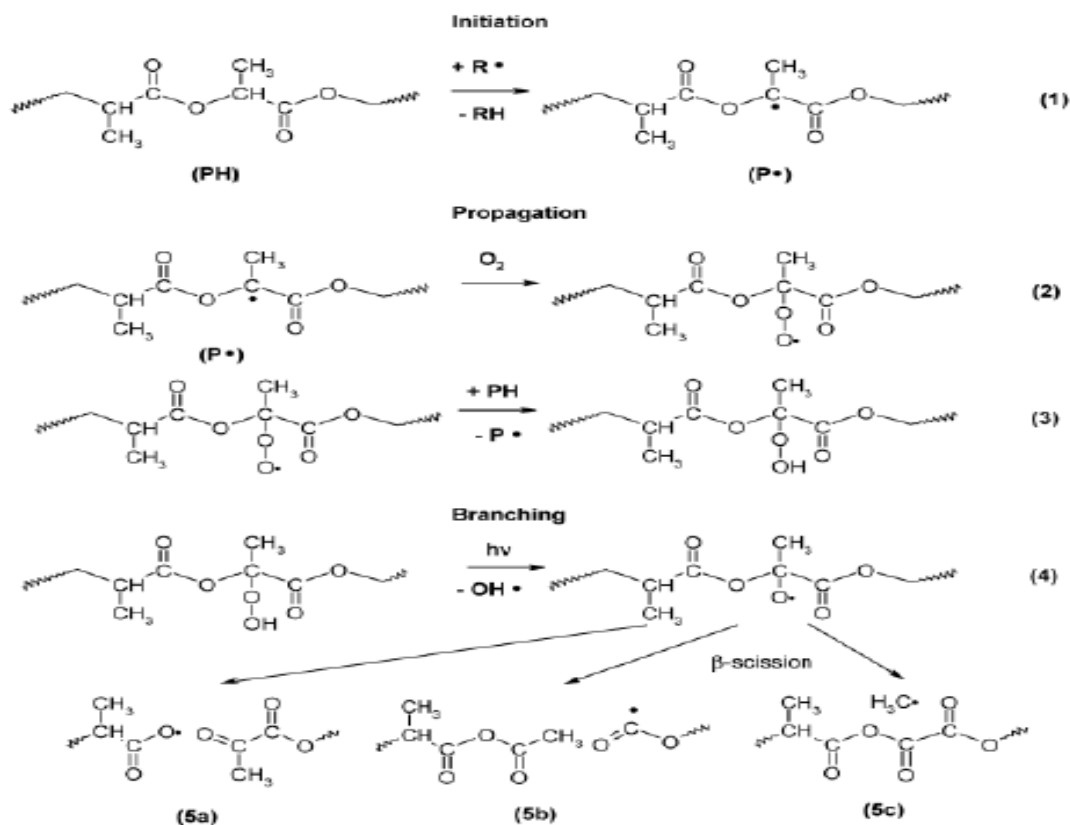
ΣΤ) Αντίδραση σχάσης των πολυμερικών αλκοξυλικών ριζών με σχηματισμό αλδεϋδικών ομάδων και αλκυλικών ελευθέρων ριζών:



Κατά το στάδιο του τερματισμού, οι δραστικές ρίζες που παράγονται από την αποδόμηση των πολυμερών μπορούν να τερματιστούν από πολυάριθμες διαφορετικές αντιδράσεις συνδυασμού μεταξύ τους, κατά τις οποίες παράγονται μη δραστικά προϊόντα (33):



Ο μηχανισμός που αφορά την αντίδραση Norrish II κυριαρχεί στη βιβλιογραφία, ωστόσο παρουσιάζει τα εξής μελανά σημεία: προτάθηκε βασιζόμενος σε αποτελέσματα που αφορούν πηγή φωτός που εκπέμπει στο UV φάσμα από τα 220nm, και επιπλέον σε μία περιοχή όπου οι καρβονυλικές ομάδες από τους αλειφατικούς πολυεστέρες μπορούν να απορροφήσουν ενέργεια που θα οδηγήσει σε φωτοαντίδραση. Ωστόσο, αυτές οι συνθήκες, δεν προσομοιάζουν τις εξωτερικές συνθήκες της UV ακτινοβολίας, και επιπλέον, στις περισσότερες περιπτώσεις, τα μήκη κύματος του φωτός κάτω από τα 300 nm φιλτράρονται. Έτσι, έχει προταθεί ένας καινούργιος μηχανισμός που βασίζεται στο σχηματισμό ενός ανυδρίτη, σύμφωνα με τους Bocchini et al. (38). Συνήθως ξεκινά με την αντίδραση πρόσληψης του τριτοταγούς υδρογόνου από την αλυσίδα του PLA και το σχηματισμό μιας τριτοβάθμιας ρίζας P^{\cdot} . Αυτή η δραστική ρίζα μπορεί να αντιδράσει με το οξυγόνο και να σχηματίσει μια υπεροξειδική ρίζα, η οποία και μπορεί εύκολα να προσλάβει ένα άλλο υδρογόνο από έναν τριτοταγή άνθρακα και να σχηματίσει ένα υδροϋπεροξειδίο και την αρχική ρίζα P^{\cdot} . Στη συνέχεια, το υδροϋπεροξειδίο υπόκειται σε φωτόλυση, με το σχηματισμό των ριζών HO^{\cdot} και PO^{\cdot} , που μπορούν περαιτέρω να εξελιχθούν με β-σπάση. Λαμβάνοντας υπόψη τη σταθερότητα των διαφορετικών κλασμάτων, η πιο πιθανή β-σπάση είναι αυτή που απεικονίζεται ως (5b) παρακάτω και οδηγεί στον σχηματισμό των ομάδων ανυδριτών.



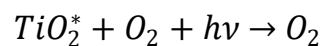
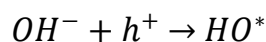
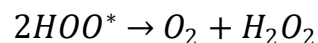
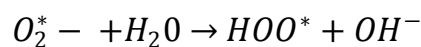
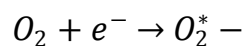
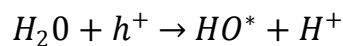
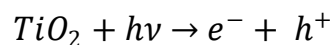
Εικόνα 3.4: Μηχανισμός φωτοαποδόμησης του PLA σύμφωνα με τους Bocchini et al. (38).

3.4 Μηχανισμός αποδόμησης νανοσυνθέτων πολύ(γαλακτικού οξέος)/TiO₂

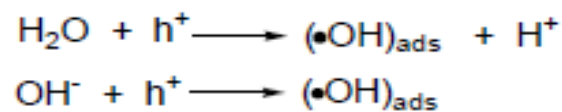
Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, οι φωτοκαλυτικές διεργασίες που προάγονται από ημιαγωγούς, βρίσκουν μεγάλη εφαρμογή σε πολλούς τομείς, και οι λόγοι για το αυξανόμενο αυτό ενδιαφέρον είναι η απαίτηση για μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης και για ανάπτυξη περισσότερων περιβαλλοντικά φιλικών και φθηνών διεργασιών. Είναι γνωστό ότι ένας ημιαγωγός χαρακτηρίζεται από ένα κενό ζώνης μεταξύ της ζώνης χαμηλότερου σθένους (lower valence gap), που είναι πλήρως καλυμμένη με ηλεκτρόνια και της κενής ζώνης υψηλότερης ενεργητικής επαγωγής. Όταν ο ημιαγωγός ακτινοβολείται με φως το οποίο έχει ενέργεια φωτονίου τουλάχιστον ίση με το κενό ζώνης, τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται στην κατειλημμένη ζώνη, φωτοδιεγείρονται και μετακινούνται στη ζώνη υψηλότερης ενεργητικής επαγωγής, αφήνοντας μια θετικά φορτισμένη οπή στη ζώνη χαμηλότερου σθένους. Όταν δημιουργείται, το ζεύγος ηλεκτρονίου- οπής h^+ μπορεί να υποστεί είτε

γρήγορο ανασυνδυασμό σε χρόνο της τάξεως των picoseconds είτε παγίδευση φορτίου, εάν υπάρχει παρουσία δεσμευτών ηλεκτρονίων ή οπών h^+ (πχ μοριακό οξυγόνο και νερό, αντίστοιχα). Στην τελευταία περίπτωση συμβαίνει φωτοκαταλυτική αντίδραση, που οδηγεί στην ανάπτυξη μεγάλου εύρους χρήσιμων διεργασιών. Το διοξείδιο του τιτανίου είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος ημιαγωγός, χάρις στην υψηλή φωτοδραστηριότητα και σταθερότητά του. Από τις 3 μορφές που υπάρχει το TiO_2 , ο ανατάσης εμφανίζει ένα διάκενο ζώνης 3.2 eV, που αντιστοιχεί σε μια απορρόφηση μήκους κύματος UV της τάξης των 385 nm. Αντίθετα, το ρουτίλιο έχει ένα μικρότερο διάκενο ζώνης (3 eV) με μήκη κύματος διέγερσης που επεκτείνονται μέχρι και το φάσμα του ορατού φωτός (410 nm). Εξάλλου, ο ανατάσης θεωρείται ότι αποτελεί την πιο φωτοχημικά ενεργή φάση της τιτανίας. Η εξήγηση για αυτήν την υψηλότερη δραστηριότητα μπορεί να αποδοθεί στη συνδυασμένη επίδραση της υψηλότερης επιφανειακής απορροφητικής ικανότητας του ανατάσης και του υψηλότερου ρυθμού δέσμευσης οπών h^+ . Τελευταία, μελέτες έχουν δείξει ότι μίγματα από ανατάση-ρουτίλη ή βρουκίτη-ανατάση ήταν πιο ενεργά από ότι ο ανατάσης μόνος του (21).

Ο φωτοκαταλυτικός μηχανισμός της τιτανίας και οι κύριες διεργασίες που αυτός περιλαμβάνει είναι οι εξής: (39)



Η UV ακτινοβολία νανοσυνθέτων TiO_2 υπό αερόβιες συνθήκες δημιουργεί ζεύγη ηλεκτρονίων/οπών h^+ . Το μοριακό οξυγόνο μπορεί να δράσει ως δεσμευτής ηλεκτρονίων και να παρέχει την αντίστοιχη υπεροξειδική ελεύθερη ρίζα. Η αντίδραση αυτή, η οποία ανταγωνίζεται με την αντίδραση γρήγορου ανασυνδυασμού ηλεκτρονίου-οπής h^+ , αποτελεί την αρχή αλυσωτών αντιδράσεων ελευθέρων ριζών που προωθούνται από το νερό και σχηματίζουν αντιδρώσες ρίζες οξυγόνου όπως O_2^- , HOO^* , και HO^* . Οι τελευταίες μπορούν επίσης να παραχθούν μέσω άμεσης οξείδωσης του νερού από τις οπές h^+ , όπως παρουσιάζεται στις 2 παρακάτω αντιδράσεις: (21)



Αυτές οι ελεύθερες ρίζες επιταχύνουν τη φωτοδιάσπαση της μήτρας του πολυγαλακτικού οξέος. Οι παραπάνω δραστικές ελεύθερες ρίζες ξεκινούν την αντίδραση αποδόμησης με την προσβολή γειτονικών πολυμερικών αλυσίδων. Η διεργασία αποδόμησης συνεχίζεται μέσα στην πολυμερική μήτρα μέσω της διάχυσης των ενεργών ριζών οξυγόνου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη σχάση της πολυμερικής αλυσίδας και τη δημιουργία δομών που περιέχουν καρβοξυλικές ομάδες. Αυτά τα ενδιάμεσα προϊόντα μπορούν να οξειδωθούν περαιτέρω σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό με τη δράση των ενεργών ριζών (39). Έτσι λοιπόν προκύπτει ότι η ενσωμάτωση του TiO_2 στη μήτρα του PLA μπορεί να αλλάξει το μηχανισμό φωτοοξείδωσης: Τα νανοσωματίδια TiO_2 διαδραματίζουν 2 ρόλους: πρώτον μπλοκάρουν τη UV ακτινοβολία κάτω από τα 295 nm, και έτσι μειώνουν τη φυσική φωτοοξείδωση του PLA, και δεύτερον προκαλούν ριζική οξείδωση στην επιφάνειά τους λόγω του διαχωρισμού ηλεκτρονίων/ h^+ . Η φανερά βελτιωμένη ικανότητα φωτοαποικοδόμησης των νανοσυνθέτων έναντι του καθαρού PLA οφείλεται στην ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων TiO_2 , τα οποία συνδυάζουν μικρό μέγεθος και μεγάλη επιφάνεια. Έχει διαπιστωθεί ότι οι κρύσταλλοι TiO_2 με μέγεθος μικρότερο από 10nm επιδεικνύουν μεγαλύτερη βελτίωση στη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα, κάτι που μπορεί να αποδοθεί στην επίδραση του κβαντικού μεγέθους (40).

3.5 Βιβλιογραφική ανασκόπηση αποδόμησης σε UV ακτινοβολία πολυ(γαλακτικού οξέος) και νανοσυνθέτων του

Στο θέμα της αποδόμησης του PLA καθώς και νανοσυνθέτων PLA με TiO_2 μέσω της UV ακτινοβολίας, έχουν διεξαχθεί πλήθος μελετών από διάφορους ερευνητές.

Οι Buzarovska et al. (11) μελέτησαν νανοσύνθετα πολυ(L-γαλακτικού οξέος) μοριακού βάρους 100,000 g/mol με συγκεντρώσεις 0.5, 1, 2, 5, και 10 % κ.β. TiO_2 (Anatase P25, Degussa AG, Γερμανία) και παρατήρησαν το πώς η προσθήκη του μετά την αποδόμηση επηρέασε τις θερμικές ιδιότητες και την κρυσταλλικότητα της πολυμερικής ρητίνης. Τα νανοσύνθετα παρήχθησαν με τεχνική διαλύματος με διαλύτη χλωροφόρμιο σε μορφή φιλμ πάχους 200 μm και εκτέθηκαν σε μονοχρωματικό φως μήκους κύματος 365 nm και έντασης ακτινοβολίας $1950 \mu\text{Wcm}^{-2}$. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη θερμική ανάλυση με DSC δείχνουν ότι δεν υπάρχουν ιδιαίτερες αλλαγές στις κορυφές κρυστάλλωσης των ακτινοβολημένων δειγμάτων σε σύγκριση με τα μη ακτινοβολημένα, αφού η θερμοκρασία κρυστάλλωσης παραμένει σχεδόν ίδια. Ο βαθμός κρυσταλλικότητας σχεδόν διπλασιάζεται σε όλα τα νανοσύνθετα μετά την ακτινοβολία, ενώ ο βαθμός κρυστάλλωσης του ακτινοβολημένου PLA είναι ελαφρά μόνο υψηλότερος από αυτόν του μη ακτινοβολημένου. Παρατηρείται επίσης, ελαφριά μείωση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης σε όλα τα ακτινοβολημένα δείγματα, γεγονός που αποδίδεται στη μικρή αύξηση της κινητικότητας των πολυμερικών αλυσίδων. Προφανώς αυτό οφείλεται στη μείωση του μοριακού βάρους λόγω αποδόμησης. Η αυξημένη κρυσταλλικότητα μπορεί επίσης να οφείλεται στο γεγονός ότι τα μικρού μοριακού βάρους μόρια έχουν αυξημένη κρυσταλλικότητα και ρυθμό κρυστάλλωσης. Μία δεύτερη αιτία αποτελεί η υπόθεση ότι η αποδόμηση διεξάγεται κατά προτίμηση στις άμορφες περιοχές του PLA, και γι' αυτό η ολική κρυσταλλικότητα αυξάνεται φαινομενικά. Τέλος, από το φάσμα FT-IR διαπιστώθηκε ότι οι εντάσεις όλων των ζωνών απορρόφησης των ακτινοβολημένων δειγμάτων μειώθηκαν.

Οι Araujo et al. (38) μελέτησαν τη UV αποδόμηση PLA 3251D, το οποίο είναι ένα βιοπολυμερές χαμηλού % D, και των νανοσυνθέτων του με Cloisite 30B (C30B), Cloisite 15A (C15A) και Dellite 43B (D43B), τα οποία και παρασκευάστηκαν με τεχνική ανάμιξης τήγματος σε αναμικτήρα διαλείποντος έργου Haake batch mixer (HAAKE Rheomix 600 OS, όγκος 69 mL) με ταχύτητα ανάμιξης 80 rpm σε θερμοκρασία 190°C και χρόνο ανάμιξης 5 λεπτά και έπειτα μορφοποιήθηκαν σε λεπτά φιλμ με θερμή συμπίεση στους 200°C για 1 λεπτό και πίεση 30 ton. Χρησιμοποιήθηκε η συσκευή XenonTest 150 S με λάμπα ξένου εντάσεως 60 W/m² με ακτινοβολία κάτω από 300 nm. Με μετρήσεις εσωτερικού ιξώδους βρέθηκε ότι πριν την αποδόμηση, όλα τα νανοσύνθετα είχαν χαμηλότερο ιξώδες από το PLA. Η εξήγηση που δόθηκε ήταν ότι αυτή η μείωση πιθανώς να σχετίζεται με σχάση της αλυσίδας που συνέβη κατά τη διάρκεια της παρασκευής τους. Το ιξώδες του PLA μειώθηκε ελαφρώς μετά από 200 ώρες έκθεσης και μετά η τιμή του παρέμεινε πρακτικά σταθερή μέχρι και τις 600 ώρες. Από την άλλη, το ιξώδες των νανοσυνθέτων μειώθηκε σταδιακά με αυξανόμενο το χρόνο αποδόμησης. Η μείωση του ιξώδους και για τα δύο δείγματα καταδεικνύει ότι η σχάση της αλυσίδας διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό αποδόμησης. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί και με το μηχανισμό αποδόμησης που αναφέρθηκε και παραπάνω, καθώς η αποδόμηση του PLA προκαλεί σχάση της αλυσίδας και σχηματισμό ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους. Στη συνέχεια, στα φάσματα FTIR, δεν παρατηρήθηκε καμία ιδιαίτερη αλλαγή πριν και μετά την αποδόμηση στις χαρακτηριστικές ζώνες του PLA, αποτέλεσμα λογικό, αφού και το αποδομημένο PLA δεν παρουσίασε καμία ιδιαίτερη αλλαγή στην τιμή του εσωτερικού ιξώδους. Όσον αφορά τα νανοσύνθετα, αν και το φάσμα FTIR πριν την αποδόμηση είναι παρόμοιο με αυτό του PLA, η ένταση των ζωνών δείχνει να αυξάνεται μετά την αποδόμηση. Ακόμα, παρατηρήθηκε διεύρυνση της ζώνης που αντιστοιχεί στο δεσμό C=O και εμφάνιση ενός ώμου σε συχνότητα 1845 cm⁻¹. Με θερμική ανάλυση με DSC μελετήθηκε ο βαθμός κρυσταλλικότητας του PLA και των νανοσυνθέτων μετά από 600 h ακτινοβολίας. Στο σύστημά τους παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη νανοσωματιδίων αύξησε την κρυσταλλικότητα του PLA, καθώς έδρασαν ως πυρήνες κρυστάλλωσης. Μετά την αποδόμηση παρατηρήθηκε, όπως αναμενόταν, μια περαιτέρω αύξηση της κρυσταλλικότητας για όλα τα δείγματα, αλλά υψηλότερη για τα νανοσύνθετα. Η αύξηση

αυτή σχετίζεται με τη μεγαλύτερη κινητικότητα που επιδεικνύουν τα μικρά μόρια που προκύπτουν από τη σχάση της αλυσίδας.

Οι Araujo et al. (32) σε μετέπειτα εργασία τους, μελέτησαν ξανά την αποδόμηση του συγκεκριμένου PLA και των νανοσυνθέτων του, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Τα δείγματα εκτέθηκαν σε UV ακτινοβολία και απομακρύνθηκαν σε διαφορετικούς χρόνους για να μελετηθούν στη συνέχεια με διάφορες τεχνικές. Χρησιμοποιήθηκε λάμπα ξένου εντάσεως 60 W/m^2 με ακτινοβολία κάτω από 300 nm και τα δείγματα κόπηκαν σε μορφή λεπτών φιλμ διαστάσεων 135*45 mm. Μελετήθηκαν τα φάσματα FTIR πριν και μετά από 600 ώρες φωτοαποδόμησης. Μετά τη φωτοαποδόμηση ανιχνεύτηκε μεγαλύτερη ένταση κορυφής για τα νανοςύνθετα, σε σχέση με πριν την ακτινοβολία, διεύρυνση της κορυφής που αντιστοιχεί στο δεσμό C=O, και εμφάνιση ενός ώμου σε συχνότητα 1845 cm^{-1} . Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αυτή η κορυφή οφείλεται στις ομάδες ανυδριτών, και συμφωνεί με το μηχανισμό φωτοαποδόμησης που προτάθηκε από τον Bocchini. Για τη σύγκριση του ιξώδους έγιναν πειράματα μέτρησης εσωτερικού ιξώδους. Πριν από την έκθεση, τα νανοςύνθετα εμφάνιζαν χαμηλότερο ιξώδες σε σχέση με το PLA και αυτή η μείωση μπορεί να σχετίζεται με τη σχάση της αλυσίδας που επήλθε κατά τη διάρκεια της παρασκευής τους, εξαιτίας της υψηλής θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της ανάμιξης τήγματος, καθώς επίσης και με τις αντιδράσεις μεταξύ της μήτρας και των δραστικών ομάδων των νανოსωματιδίων. Πάντως, η ενσωμάτωση των νανοςωματιδίων στο PLA μείωσε τη σταθερότητα στη UV ακτινοβολία μετά από τις 600 ώρες που μελετήθηκαν. Τα νανοςύνθετα αποδομήθηκαν γρηγορότερα από το παρθένο πολυμερές ως αποτέλεσμα της μείωσης του χρόνου οξειδωτικής επαγωγής (oxidation induction time, OIT). Ορισμένες υποθέσεις για την εξήγηση της μείωσης αυτής είναι η απορρόφηση αντιοξειδωτικών από το νανοςωματίδιο και η καταλυτική επίδραση της μετάβασης μεταλλικών ακαθαρσιών στο νανοςωματίδιο.

Οι Zhuang et al. (41) παρασκεύασαν τα νανοςύνθετα TiO_2/PLA με in situ πολυμερισμό γαλακτικού οξέος PLLA παρουσία νανοςωματιδίων ανατάσης οργανικά τροποποιημένου διοξειδίου του τιτανίου. Παρήχθησαν νανοςύνθετα με συγκεντρώσεις 1,3,5 και 10% σε διοξείδιο του τιτανίου. Τα δοκίμια κατασκευάστηκαν σε μορφή αλτήρα (dumbbell) και

εκτέθηκαν σε λάμπα UV εντάσεως 25 mW/cm^2 μέσα σε κουτί γήρανσης μέσω ακτινοβολίας για διαφορετικούς χρόνους και σε θερμοκρασία $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Η απόσταση των δοκιμών από τη λάμπα τέθηκε ίση με 10 εκατοστά. Αυτό που βρέθηκε όσον αφορά τις θερμικές ιδιότητες είναι ότι τα νανοσωματίδια μπορούν να βελτιώσουν τη θερμική σταθερότητα του πολυμερούς γιατί περιορίζουν την κινητικότητα των μοριακών αλυσίδων και ταυτόχρονα δρουν ως θερμαντικοί μονωτές κατά τη διάρκεια της μεταφοράς θερμότητας. Κατά συνέπεια, όλα τα νανوسύνθετα επιδεικνύουν μεγαλύτερη θερμική σταθερότητα απ' ό,τι το καθαρό PLA, και αυτή η επίδραση των σωματιδίων μπορεί να αυξηθεί, αυξανόμενης της περιεκτικότητας των νανοσυνθέτων σε διοξείδιο του τιτανίου. Όσον αφορά τις μηχανικές ιδιότητες παρατηρήθηκε ότι η αντοχή σε εφελκυσμό, τόσο του PLA όσο και των νανοσυνθέτων μειώνεται όσο ο χρόνος ακτινοβολίας αυξάνει. Η αποδόμηση των νανοσυνθέτων είναι πιο υψηλή όσο αυξάνει η περιεκτικότητα σε διοξείδιο του τιτανίου. Η μείωση του βάρους είναι μεγαλύτερη σε περιεκτικότητα 10% και αυτό αποδεικνύει ότι τότε επιτυγχάνεται η μέγιστη αποδόμηση με ακτινοβολία UV. Ωστόσο, η μείωση της αντοχής σε εφελκυσμό για τα νανοσύνθετα 10% περιεκτικότητας σε διοξείδιο του τιτανίου είναι μικρότερη από την αντίστοιχη με 5% περιεκτικότητα, και αυτό μπορεί να οφείλεται στη συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων στη μήτρα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η σχετικά χαμηλή αποτελεσματικότητα αποδόμησης του PLA βελτιώνεται θεαματικά με την εισαγωγή των νανοσωματιδίων TiO_2 . Η καλύτερη καταλυτική απόδοση των συνθέτων μπορεί να αποδοθεί στο μικρό μέγεθος των σωματιδίων, που σημαίνει μεγαλύτερη επιφάνεια.

Οι Yonghui Li et al. (40) παρασκεύασαν νανοσύνθετα 1% TiO_2/PLA με PLA 2002D, νανοσωματίδια NanoActive από τη Nanoscale Co και νανοσωματίδια SA TiO_2 (μίγμα TiO_2 ανατάσης και ρουτιλίου) από τη Sigma-Aldrich. Η παρασκευή τους έγινε χρησιμοποιώντας τεχνική ανάμιξης διαλύματος και χύτευσης φιλμ, τα φιλμ κόπηκαν σε διαστάσεις 1.25×1.25 εκατοστά και ακτινοβολήθηκαν σε λάμπα UV μήκους κύματος 254 nm και έντασης ακτινοβολίας $2300 \mu\text{Wcm}^{-2}$ μέσα σε θάλαμο (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL). Αρχικά, παρατηρώντας τα δείγματα οπτικά διαπίστωσαν ότι τα φιλμ καθαρού PLA, ενώ ήταν αρχικά διαφανή, μετά την ακτινοβολία απέκτησαν ένα υποκίτρινο χρώμα. Τα

νανοσύνθετα είχαν πριν την ακτινοβολία άσπρο χρώμα, αφού τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου είναι πολύ γνωστά ως άσπρες χρωστικές, ενώ μετά την ολοκλήρωση του πειράματος, άλλα δοκίμια μετατράπηκαν σε κίτρινα-καφέ, ενώ άλλα παρέμειναν άσπρα. Όσον αφορά τις θερμικές ιδιότητες, μετά την UV ακτινοβολία, η θερμοκρασία αποδόμησης του PLA μειώθηκε κατά 37°C, λόγω της σχάσης της πολυμερικής αλυσίδας και της μείωσης του μοριακού βάρους, ενώ η αποδόμηση των νανοσυνθέτων ήταν πιο δραματική, με τη θερμοκρασία να πέφτει κατά 50°C. Οι διαφορές στη θερμική σταθερότητα του καθαρού PLA και των νανοσυνθέτων του, αποδόθηκαν από τους παραπάνω ερευνητές στους εξής λόγους: πρώτον, τα ενσωματωμένα νανοσωματίδια μπορούν να δράσουν ως τέλειοι μονωτές και φραγμοί στη μεταφορά θερμότητας στα ασταθή προϊόντα που παράγονται κατά την αποδόμηση, και έτσι να βελτιώσουν τη θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων, και, δεύτερον, τα νανοσωματίδια διαθέτουν επιφανειακές ομάδες υδροξυλίων, που μπορούν να καταλύσουν τη θερμική αποικοδόμηση του PLA σε υψηλές θερμοκρασίες.

Οι Haichen Zhang et al. (42) τέλος, έκαναν κάποιες πολύ ενδιαφέρουσες παρατηρήσεις, μελετώντας διαφορετικές περιεκτικότητες νανοσυνθέτων PLA 4032D με διοξείδιο του τιτανίου (Anatase) σε περιεκτικότητες 0.5, 1, 2, 5, 10 και 15% κ.β., και καταγράφοντας τα προφίλ DSC και TGA τους. Το μίγμα PLA και νανοσωματιδίων τοποθετήθηκε αρχικά σε αναδευτήρα στις 400 rpm για 5 λεπτά και μετά σε εκβολέα (vane extruder) για ανάμιξη, όπου και τελικά το προϊόν κόπηκε με κοκκοποιητή. Με ένα σταθερό ρυθμό θέρμανσης και ψύξης στους 10°C/min, η θερμοκρασία τήξης για όλα τα δείγματα βρέθηκε ίση με περίπου 170°C. Επίσης, συγκρινόμενος με το καθαρό PLA, ο βαθμός κρυσταλλικότητας δεν είχε καμία διαφορά όταν η περιεκτικότητα αυξήθηκε στο 15%. Αυτά τα αποτελέσματα ίσως υποδεικνύουν ότι τα νανοσωματίδια δεν διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στην ετερογενή πυρήνωση της πολυμερικής μήτρας κατά τη διαδικασία ψύξης. Η θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης, αντίθετα, φαίνεται να επηρεάζεται από την περιεκτικότητα σε TiO₂. Αυξανόμενης της περιεκτικότητας, και μέχρι αυτή να γίνει περίπου ίση ή μικρότερη από 2%, η θερμοκρασία αυξάνεται και στη συνέχεια μειώνεται και γίνεται περίπου ίση με αυτήν του καθαρού PLA, όταν η περιεκτικότητα γίνει περίπου ίση ή μεγαλύτερη από 5%.

Για συγκέντρωση ίση με 10%, που εξετάζεται και στην παρούσα εργασία, η θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης είναι περίπου ίση με αυτή του PLA. Από τα πειράματα TGA διαπιστώθηκε ότι ο υψηλότερος ρυθμός αποδόμησης συνέβη σε υψηλότερη θερμοκρασία για τα νανοσύνθετα σε σχέση με το καθαρό PLA, συνεπώς η θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων βελτιώθηκε, καθώς τα νανοσωματίδια έδρασαν ως φραγμοί της θερμότητας στα αρχικά στάδια της αποδόμησης.

Κεφάλαιο 4^ο

Παρασκευή ικριωμάτων από PLA για εφαρμογές στη μηχανική ιστών

4.1 Εισαγωγή

Τα πολυμερικά ικριώματα διαδραματίζουν ένα σπουδαίο ρόλο στην ιστική μηχανική μέσω της κυτταρικής ανάπτυξης, του πολλαπλασιασμού, καθώς και του σχηματισμού νέου ιστού σε τρεις διαστάσεις και έτσι είναι πολύ υποσχόμενα για την έρευνα πάνω στο σχεδιασμό μιας ποικιλίας ιστών. Το μέγεθος του πόρου, το πορώδες και η διαθέσιμη επιφάνεια είναι ευρέως αναγνωρισμένα ως σημαντικοί παράμετροι για την κατασκευή ικριωμάτων. Ακόμη, και άλλα χαρακτηριστικά όπως το σχήμα του πόρου, η μορφολογία του τοιχώματος του πόρου, αλλά και η ενδοεπικοινωνία μεταξύ των πόρων είναι εξίσου σημαντικά για την κυτταρική ανάπτυξη και μετανάστευση καθώς και για τη μεταφορά μάζας και το σχηματισμό του ιστού (43). Να σημειωθεί ωστόσο, ότι το μέγεθος του πόρου είναι η βασική παράμετρος για την κατασκευή ικριωμάτων, καθώς θα πρέπει να ρυθμιστεί προσεκτικά ώστε το παραχθέν δοκίμιο να είναι κατάλληλο για την εκάστοτε εφαρμογή. Για παράδειγμα, οι πόροι θα πρέπει να είναι κοντά στα 20 μm όταν τα ικριώματα χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των κυττάρων του ήπατος, μεταξύ 20 και 150 μm για την αναδημιουργία του δέρματος, και σε ένα εύρος 100-300 μm για την αναδημιουργία άκαμπτου ιστού. Επομένως, αποζητείται η κατασκευή ικριωμάτων με μια καλά ελεγχόμενη διάμετρο πόρων σε εύρος 50-300 μm (44). Πάνω από τις τελευταίες 3 δεκαετίες, βιοδιασπώμενα πολυμερή όπως το πολυ(γαλακτικό) οξύ PLA, το πολυ(γλυκολικό οξύ) PGA και η πολυ(ϵ -καπρολακτόνη) PCL έχουν αναδειχτεί ως μια τάξη βιοϋλικών με αυξανόμενο ενδιαφέρον σε εφαρμογές στη χειρουργική, στην ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων και στην ιστική μηχανική. Εξαιτίας των χημικών και δομικών ιδιοτήτων τους, αποδομούνται με παρόμοιο τρόπο μέσω των διεργασιών εστερικής υδρόλυσης και αποκαρβοξύλωσης (decarboxylation) από τα άκρα της αλυσίδας, εξασφαλίζοντας έτσι την πλήρη

απομάκρυνσή τους από τον ανθρώπινο οργανισμό μέσω φυσικών μονοπατιών. Ωστόσο, μεταξύ τους, εμφανίζουν διαφορές ως προς την κινητική της αποδόμησης, η οποία εξαρτάται από τη συγκεκριμένη ενδομοριακή σύνδεση της κάθε ένωσης και προκαλεί διαφορετική ευαισθησία στην υδρολυτική διάσπαση. Για παράδειγμα, η πολυ(ε-καπρολακτόνη) χρησιμοποιείται πολύ στην ιστική μηχανική εξαιτίας της καλής βιοσυμβατότητάς της και της επεξεργασιμότητάς της αλλά ο υψηλός βαθμός υδροφοβικότητας που εμφανίζει και η χαμηλή αποδόμηση in vivo, την κάνουν λιγότερο κατάλληλη για μακροπρόθεσμες εφαρμογές. Αντίθετα, το PLA και το PGA εμφανίζουν ρυθμούς αποδόμησης, φυσικές και μηχανικές ιδιότητες ρυθμιζόμενες σε ένα μεγάλο εύρος με τη χρήση διάφορων μοριακών βαρών καθώς και συμπολυμερών (45). Ειδικά το PLA, που εξετάζεται και στην παρούσα εργασία, θεωρείται ότι είναι ο πιο πολλά υποσχόμενος βιοδιασπώμενος πολυεστέρας εξαιτίας του προφίλ μηχανικών ιδιοτήτων που κατέχει (υψηλό μέτρο ελαστικότητας), της ευκολίας στην επεξεργασία, της βιοσυμβατότητας, της βιοδιάσπασής του, του χαμηλού του κόστους, καθώς και της δυνατότητας που παρέχει για τρισδιάστατη εκτύπωση (3D- printing) (46).

4.2 Ικριώματα PLA/PEG

Ένας προβληματισμός στη σχεδίαση ικριωμάτων είναι ότι η περίπλοκη σύνθεση και η δομική οργάνωση που παρουσιάζουν τα ανθρώπινα οστά δεν μπορούν εύκολα να προσομοιωθούν από μόνο ένα υλικό που προσφέρει ένα περιορισμένο εύρος ιδιοτήτων. Συγκεκριμένα, τα ικριώματα για την αναγέννηση του οστού, πρέπει να παρέχουν μια πορώδη δομή με υψηλό βαθμό ενδοεπικοινωνίας, έτσι ώστε να καθοδηγηθεί η κυτταρική ανάπτυξη για το σχηματισμό του ιστού, και ταυτόχρονα να επιδεικνύουν επαρκή μηχανική αντοχή για να υποστηρίξουν το υποκατάστατο οστό (45). Ωστόσο, πολλές φορές οι δύο αυτές απαιτήσεις είναι ασύμβατες καθώς με την αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των πόρων, η ακαμψία των ικριωμάτων μπορεί να καταστραφεί. Σύμφωνα με τους Chandrasekhar et al. (47) όταν το πορώδες δοκιμίων PLA αυξάνεται στο 92%, το μέτρο ελαστικότητας είναι μόλις 4.72 MPa. Επίσης, όπως έχει ήδη αναφερθεί, παρόλο που το PLA εκπληρώνει τις απαιτήσεις που είναι απαραίτητες για τη χρήση του σε ικριώματα στον

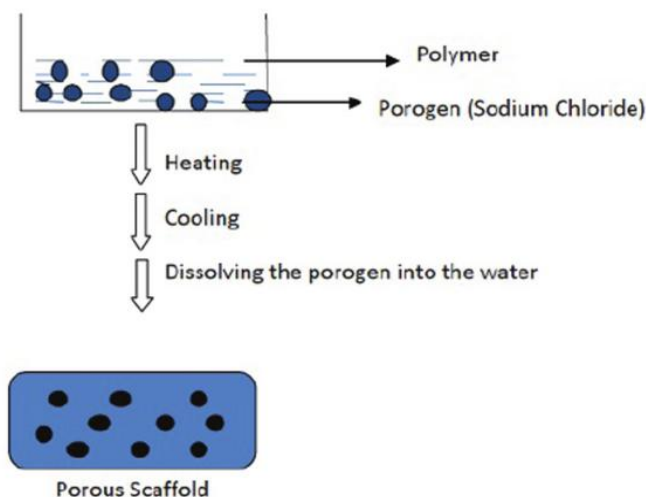
τομέα της ιστικής μηχανικής (πχ σε θερμοκρασία και πίεση 190°C και 1000 MPa αντίστοιχα, τα ικρίωματα του PLA παρέχουν υψηλό πορώδες για τη διευκόλυνση της ανάπτυξης του ιστού και εγγυώνται τη βελτίωση της μηχανικής αντοχής (48)), ορισμένα μειονεκτήματα του, όπως η ευθραυστότητα, ο ρυθμός αποδόμησης, η υδροφοβικότητα που παρουσιάζει, καθώς και η έλλειψη σημάτων αναγνωρίσιμων από τα κύτταρα που βοηθούν στην κυτταρική μετανάστευση, έχουν περιορίσει την εφαρμογή του. Συγκεκριμένα, τα πορώδη ικρίωματα από πολυ(γαλακτικό οξύ) εμφανίζουν ένα μέτρο ελαστικότητας σε θλίψη μεταξύ 190 και 10 MPa σε ένα εύρος πορώδους μεταξύ 78-92%, ενώ μηχανικές ιδιότητες παρόμοιες με αυτές του οστού μπορούν να προσομοιωθούν μόνο με τη χρήση προσθέτων. Επίσης, επιδιώκεται και η παραγωγή ικριωμάτων με χαμηλό μέτρο ελαστικότητας, για την αντικατάσταση πιο μαλακών ιστών, όπως αυτών του χόνδρου (46). Έτσι, για την παρασκευή των πορώδων ικριωμάτων χρησιμοποιούνται πολλές φορές πολυμερικά μίγματα, τα οποία προσφέρουν το πλεονέκτημα ενός μεγάλου φάσματος μηχανικών ιδιοτήτων και ρυθμών αποδόμησης μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό, με τη μεταβολή της περιεκτικότητας της άλλης φάσης του PLA. Βέβαια, και στα πολυμερικά μίγματα τίθενται προβληματισμοί, με το βασικότερο την επίτευξη διεπιφανειακής συμβατότητας μεταξύ των υλικών καθώς και βιοσυμβατότητας. Ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα συστήματα είναι αυτά του PLA/PEG. Η πολυ(αιθυλενογλυκόλη) (PEG) είναι ένα κρυσταλλικό, μη τοξικό και διαλυτό στο νερό πολυμερές, που είναι γνωστό για τις υδρόφιλες ιδιότητές του και για τη βιοσυμβατότητά του (49). Αποτελεί έναν από τους πιο αποτελεσματικούς πλαστικοποιητές για το PLA. Η ενσωμάτωσή του σε διάλυμα πολυ(γαλακτικού οξέος) όχι μόνο διευκολύνει τη διαδικασία παρασκευής των ικριωμάτων με την πλαστικοποιητική του επίδραση, αλλά και προκαλεί ενδιαφέρουσες δομικές και φυσικοχημικές μεταβολές στα παραχθέντα ικρίωματα (50). Πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει το πώς η ανάμιξη του πολυ(γαλακτικού οξέος) με την PEG μπορεί να βελτιώσει τις μηχανικές ιδιότητες του πρώτου. Οι Sheth et al. (51) παρασκεύασαν μίγματα PLA/PEG με διάφορες περιεκτικότητες σε PEG, και βρήκαν ότι τα μίγματα παρουσίασαν μεγαλύτερες επιμηκύνσεις και χαμηλότερα μέτρα ελαστικότητας σε περιεκτικότητες σε PEG μικρότερες από 50%. Επίσης, η ενζυματική αποδόμηση έδειξε ότι η απώλεια βάρους για όλα τα δείγματα ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη του σκέτου PLA. Οι Park et al. (52) έδειξαν

ότι το πολυμερές PEG στα μίγματα PLA/PEG που συνέθεσαν, μπορεί να αυξήσει τη σκληρότητα της μήτρας του PLA, χωρίς ιδιαίτερη μείωση της αντοχής σε εφελκυσμό. Ακόμη, και επειδή η πολυ(αιθυλενογλυκόλη) δρα ως πλαστικοποιητής, θεωρείται ότι αυξάνει την ευκαμψία και την υδροφιλικότητα του πολυ(γαλακτικού οξέος) (53). Οι Jiang και Liao et al. (54) που ετοίμασαν πορώδη ικρίωματα PLLA-b-PEG με ηλεκτροστατική ινοποίηση, πράγματι παρατήρησαν βελτίωση της ευκινησίας και της υδροφιλικότητας.

4.3 Τεχνικές παρασκευής ικριωμάτων PLA/PEG

Για την κατασκευή των ικριωμάτων και τη δημιουργία πορώδους δομής οι διαθέσιμες τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής: χύτευση τήγματος, έκπλυση σωματιδίων, ηλεκτροστατική ινοποίηση, ξήρανση με κατάψυξη, αφρισμός με χρήση αερίου, 3D εκτύπωση και διαχωρισμός φάσεων. Μεταξύ των μεθόδων αυτών, η τεχνική έκπλυσης σωματιδίων, και ιδιαίτερα σωματιδίων χλωριούχου νατρίου, είναι μία από τις πιο κοινές για την κατασκευή των ικριωμάτων, που έχει αποδειχτεί ότι είναι αποτελεσματική για τον έλεγχο του πορώδους και του μεγέθους των πόρων. Το επιθυμητό πορώδες μπορεί να ρυθμιστεί από το κλάσμα του χλωριούχου νατρίου που χρησιμοποιείται, και το μέγεθος των πόρων μπορεί να ρυθμιστεί από το μέγεθος των σωματιδίων του αλατιού. Οι υπόλοιπες μέθοδοι είναι πιο δύσκολο να οδηγήσουν σε ικρίωματα που να προσομοιάζουν ιστούς και όργανα, καθώς δεν τους προσδίδουν τις απαραίτητες μηχανικές ιδιότητες που απαιτούνται σε συνθήκες εφαρμογής υψηλών τάσεων (55). Παρόλα αυτά, και στην έκπλυση σωματιδίων, η πιθανή τοξικότητα που μπορεί να παρουσιαστεί από εναπομείναντες οργανικούς διαλύτες, θέτει ένα σημαντικό περιορισμό στην εφαρμογή της. Για την εύρεση ενός μονοπατιού που δεν περιέχει οργανικούς, και πιθανά επιβλαβείς διαλύτες, φαίνεται ότι ένας συνδυασμός επεξεργασίας τήγματος (melt processing) όπως πχ η εκβολή και έκπλυση σωματιδίων για την αφαίρεση του αλατιού είναι πιο άμεσος και βολικός. Ουσιαστικά, πρόκειται περί δημιουργίας ενός μίγματος πολυμερούς και χλωριούχου νατρίου με τεχνολογία τήγματος, ψύξης, και στη συνέχεια αφαίρεσης των σωματιδίων του NaCl με επακόλουθη τη δημιουργία πορωδών ικριωμάτων. Τα ικρίωματα που προκύπτουν αποτελούνται από ανοιχτούς πόρους που επικοινωνούν μεταξύ τους και

αυτό συμβάλλει στη μεταφορά θρεπτικών υλικών και αποβλήτων καθώς και στη διεργασία δημιουργίας του καινούργιου ιστού. Ωστόσο, τα ικρίσματα αυτά δεν διαθέτουν καλές μηχανικές ιδιότητες και μετά βίας εκπληρώνουν τις απαιτήσεις που έχει το οστό δέκτης στα πλαίσια της ιστικής μηχανικής. Επίσης, η πιθανή θερμική αποδόμηση που μπορεί να προκύψει από την επεξεργασία σε υψηλές θερμοκρασίες επιβαρύνει ακόμα περισσότερο τις μηχανικές ιδιότητες. Επομένως, η βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων των ικριωμάτων είναι ένας τομέας που εγείρει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Πάντως, η μορφοποίηση των ικριωμάτων με εκβολή στερεάς κατάστασης (solid state extrusion, SSE) εγγυάται την αποφυγή της θερμικής αποδόμησης και βασίζεται στην εκβολή του πολυμερούς μέσω συγκλινόντων μητρών ακριβώς κάτω από τη θερμοκρασία τήξης. Κατά τη διάρκειά της, η διατμητική παραμόρφωση προκαλεί το σχηματισμό καλά καθορισμένων δομών ινιδίων στο πολυμερές, κάτι που βελτιώνει τις μηχανικές ιδιότητες. Οι Ferguson et al. (56) έδειξαν ότι η αντοχή σε κάμψη αυξήθηκε σχεδόν στο διπλάσιο για PLA που είχε παραχθεί με εκβολή στερεάς κατάστασης σε σχέση με PLA με εκβολή τήγματος. Γενικά, η εκβολή στερεάς κατάστασης, επιδεικνύει πολλά τεχνικά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες τεχνικές, όπως η αποφυγή χρήσεως οργανικών διαλυτών, η βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων και η αποτροπή της αποδόμησης του μοριακού βάρους (57).



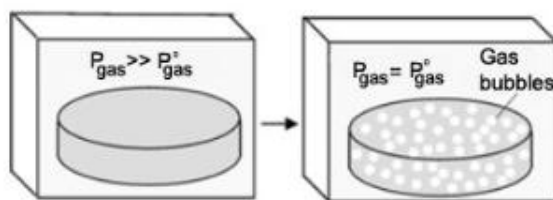
Εικόνα 4.1: Δημιουργία πορώδους στα ικρίσματα μέσω τεχνικής έκπλυσης σωματιδίων. (58)

Ένας άλλος συνδυασμός μεθόδων που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία πορώδους στα ικρίσματα είναι αυτός της χύτευσης με υψηλή πίεση (high pressure compression molding) και της έκπλυσης σωματιδίων NaCl. Η τεχνική της χύτευσης σε υψηλή πίεση των

πολυμερών έχει κερδίσει το ενδιαφέρον τα τελευταία 40 χρόνια. Ένας από τους λόγους είναι ότι μπορεί να βελτιώσει τις μηχανικές ιδιότητες και τη θερμική συμπεριφορά των προκύπτοντων αντικειμένων. Για παράδειγμα, το πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας (HDPE) που έχει μορφοποιηθεί με την τεχνική αυτή εμφανίζει αντοχή σε εφελκυσμό ίση με 260 MPa, που είναι περίπου πέντε φορές υψηλότερη σε σχέση με το συμβατικό HDPE. Έτσι, ο συνδυασμός των τεχνικών που αναφέρθηκαν οδηγεί στην κατασκευή ικριωμάτων με επαρκή μηχανική σταθερότητα και ένα πολύ καλά καθορισμένο δίκτυο από πόρους που επικοινωνούν μεταξύ τους (55). Πρόσφατα, χρησιμοποιήθηκε και η μέθοδος της ξήρανσης με κατάψυξη μέσω θερμικά προκαλούμενου διαχωρισμού φάσεων (thermally induced phase separation, TIPS) για την προετοιμασία τρισδιάστατου μακροπορώδους ικριώματος PLLA. Η τεχνική αυτή βασίζεται στο θερμοδυναμικό διαχωρισμό ενός ομογενούς πολυμερικού διαλύματος σε 2 φάσεις μέσω ψύξης: μια φάση πλούσια σε πολυμερές και μια φάση φτωχή σε πολυμερές. Η πλούσια φάση στερεοποιείται και η φτωχή απομακρύνεται. Η πορώδης δομή αναπτύσσεται τελικά μέσω της ξήρανσης με κατάψυξη για την απομάκρυνση του διαλύτη. Τελικά, παραλαμβάνονται ικριώματα με ενιαίο μέγεθος πόρων (80-100 μm), υψηλό βαθμό ενδοεπικοινωνίας, ποικίλες μορφολογίες και καλές μηχανικές ιδιότητες. Η μορφολογία μπορεί να καθοριστεί με διάφορες πειραματικές παραμέτρους όπως τη θερμοκρασία ψύξης, το ρυθμό ψύξης, τη συγκέντρωση του πολυμερούς, τη μοριακή δομή και το χρόνο γήρανσης. Οι Schugens et al. (59) εξέτασαν την επίδραση του ρυθμού ψύξης στη μορφολογία των ικριωμάτων και διαπίστωσαν ότι η γρηγορότερη ψύξη είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του μέσου μεγέθους των πόρων. Ωστόσο, ένα μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι θεωρείται χρονοβόρα και ενεργειακά επιζήμια (60).

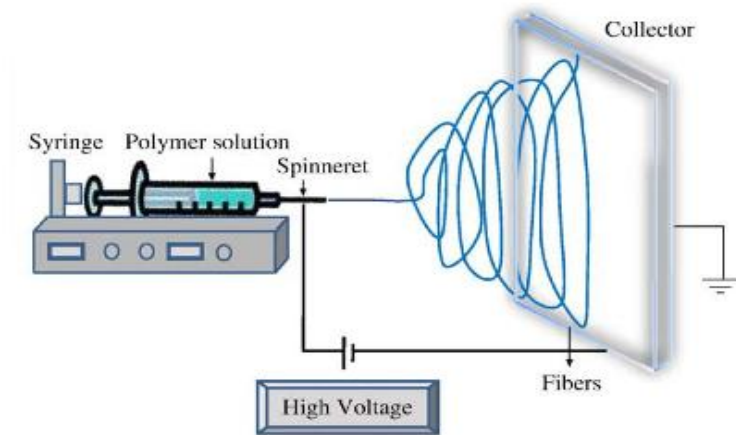
Μια άλλη μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι αυτή του αφρισμού με χρήση αερίων. Κατά τη διάρκεια της διεργασίας αυτής, ασκείται στο πολυμερές σε μορφή τήγματος πολύ υψηλή πίεση με διάφορους παράγοντες όπως το διοξείδιο του άνθρακα, το άζωτο και το νερό, μέχρις ότου το πολυμερές καταστεί κορεσμένο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία και την ανάπτυξη φυσαλίδων αερίου μέσα στο πολυμερές με μεγέθη που κυμαίνονται μεταξύ 100 και 500 μm. Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι δεν περιλαμβάνει οργανικούς διαλύτες, ενώ το μειονέκτημα που παρουσιάζει είναι ότι ίσως

προκύψουν ικριώματα με πόρους που δεν επικοινωνούν μεταξύ τους καθώς και με απουσία πόρων στην εξωτερική επιφάνεια (58).



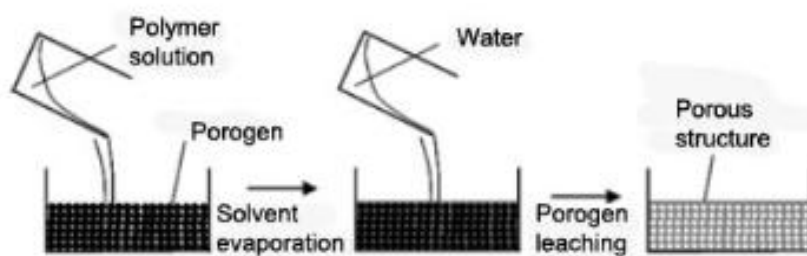
Εικόνα 4.2: Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου αφρισμού με χρήση αερίων. (58)

Όσον αφορά την τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης που αναφέρθηκε παραπάνω, αυτή περιλαμβάνει τη χρήση ενός πεδίου υψηλής τάσης για τη φόρτιση της επιφάνειας μιας σταγόνας διαλύματος πολυμερούς που κρατιέται στην άκρη ενός τριχοειδούς σωλήνα και τη δημιουργία ενός υγρού πίδακα που εξέρχεται και κατευθύνεται σε έναν καθηλωμένο σε οριζόντιο επίπεδο στόχο. Η επιλογή κατάλληλων πειραματικών συνθηκών για ένα δοθέν πολυμερές (πχ διαλύτης, συγκέντρωση πολυμερούς, καθώς και λειτουργικοί παράμετροι όπως το εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο) μπορεί να οδηγήσει σε ίνες με διαμέτρους που κυμαίνονται από πολλά μικρόμετρα έως και μερικά νανόμετρα, σε μία εξαιρετικά γρήγορα διεργασία της τάξεως των milliseconds. Τα ικριώματα που προκύπτουν από την τεχνική αυτή, διαθέτουν πόρους που επικοινωνούν μεταξύ τους, έχουν μορφολογίες αρκετά παρόμοιες με τις δομές της φυσικής εξωκυτταρικής μήτρας και επίσης μεγάλο λόγο εμβαδού επιφάνειας προς όγκο, κάτι που διευκολύνει την κυτταρική προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό, και παρέχει μια ιδανική πορώδη δομή για τις μεταβολικές διεργασίες (61).



Εικόνα 4.3: Συσκευή για την εφαρμογή της ηλεκτροστατικής ινοποίησης. (58)

Τέλος, έχει εξεταστεί και η παρασκευή ικριωμάτων PLA με χύτευση τήγματος και έκπλυση σωματιδίων αλατιού που μοιάζει με τη μέθοδο εκβολής/έκπλυσης σωματιδίων που αναφέρθηκε στην αρχή. Η μέθοδος βασίζεται στη χρήση ενός πολυμερικού διαλύματος που αναμιγνύεται ομοιόμορφα με σωματίδια χλωριούχου νατρίου συγκεκριμένης διαμέτρου. Ο διαλύτης στη συνέχεια εξατμίζεται αφήνοντας την πολυμερική μήτρα με ενσωματωμένα σωματίδια. Το σύνθετο τοποθετείται στη συνέχεια σε νερό, όπου το αλάτι εκπλένεται παράγοντας έτσι μια πορώδη δομή (58). Οι Gong et al. (62) επιχείρησαν τη μέθοδο αυτή για την παραγωγή παχιών ικριωμάτων πολυ(γαλακτικού οξέος) με ελεγχόμενο μέγεθος πόρου και πορώδες, καθώς και σημαντικά μικρότερο χρόνο επεξεργασίας σε σχέση με άλλες μεθόδους. Το πλεονέκτημα αυτής της τεχνικής έγκειται στη δημιουργία ικριωμάτων με σχετικά μεγάλο πάχος με τη βοήθεια εξάχνωσης κενού (vacuum volatilization), χωρίς τη χρήση ειδικών και περίπλοκων συσκευών.



Εικόνα 4.4: Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου χύτευσης τήγματος/έκπλυσης σωματιδίων. (58)

4.4 Βιβλιογραφική ανασκόπηση κατασκευής ικριωμάτων PLA/PEG

Με το θέμα της κατασκευής ικριωμάτων από συστήματα PLA έχουν ασχοληθεί διάφοροι ερευνητές. Οι Yin et al. (57) κατασκεύασαν πορώδη ικριώματα από PLA/PEG με το συνδυασμό μεθόδων εκβολής στερεάς κατάστασης και έκπλυσης σωματιδίων. Το PLA είχε περιεκτικότητα στο L-λακτίδιο της τάξης του 99.8% και μοριακό βάρος ίσο με 195000 g/mol, ενώ η PEG είχε μοριακό βάρος ίσο με 3350 g/mol. Τα σωματίδια χλωριούχου νατρίου που χρησιμοποιήθηκαν για τη διαδικασία της έκπλυσης είχαν μέγεθος στο εύρος 25-74 μm. Πριν την επεξεργασία, και τα 3 παραπάνω αντιδραστήρια ξηράνθηκαν σε φούρνο κενού στους 45°C για 48 ώρες. Στη συνέχεια, η διεργασία ανάμιξης έγινε με τη βοήθεια ροόμετρου ροπής (torque rheometer, μοντέλο XSS-300, της εταιρίας Shanghai Kechuang Rubber Plastic Mechanical Equipment Co.) σε θερμοκρασία 190°C και ταχύτητα 30 rpm για 7 λεπτά. Τα πειράματα έγιναν σε 5 διαφορετικές αναλογίες των NaCl/PEG/PLA: 75/1.25/23.75 , 75/2.5/22.5 , 75/5/20 , 80/4/16 και 85/3/12. Τα παραπάνω μίγματα αρχικά επεξεργάστηκαν θερμικά με χύτευση με συμπίεση στους 185°C για 15 λεπτά και στη συνέχεια αφέθηκαν να ψυχθούν έως τους 55°C με ρυθμό ψύξης 3°C/min. Ακολούθησε θέρμανση στους 155°C και διατήρηση για 10 λεπτά προκειμένου να επιτευχθεί θερμική ισορροπία. Τέλος, πραγματοποιήθηκε εκβολή στερεάς κατάστασης σε συσκευή κατασκευασμένη από τους ίδιους με διαμέτρους του κυλινδρικού καναλιού και της συγκλίνουσας μήτρας ίσες με 20 και 10 mm αντίστοιχα. Για την έκπλυση του αλατιού και της PEG, τα δοκίμια αφέθηκαν σε απεσταγμένο νερό στους 37°C στο κενό μέχρι σταθερού βάρους. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η ενσωμάτωση του συστατικού χλωριούχου νατρίου στο PLA μειώνει την κινητικότητα των αλυσίδων του και έχει ως αποτέλεσμα να το κάνει λιγότερο ρευστό (63). Πράγματι, και οι παραπάνω ερευνητές διαπίστωσαν ότι υπήρχαν ορατές ρωγμές στην επιφάνεια των δοκιμών PLA/NaCl, επομένως το μίγμα κατέρρευσε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της έκπλυσης λόγω κάποιου δομικού ελαττώματος. Επίσης, όταν η περιεκτικότητα των σωματιδίων αλατιού ήταν μικρότερη από 70 %, τα ικριώματα εμφάνιζαν μικρό πορώδες και χαμηλή διασύνδεση μεταξύ των πόρων. Περαιτέρω αυξήσεις στην περιεκτικότητα αυτή είχαν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση

δυσκολίας στη ροή. Ωστόσο, στην εργασία τους, ακόμα και στα δοκίμια με αναλογία NaCl μεγαλύτερη από 80%, η εκβολή διεξήχθη χωρίς προβλήματα και αυτό οφείλεται στην παρουσία της PEG, που προκαλεί μείωση του ιξώδους και άρα κάνει τη ροή πιο εύκολη. Στα πειράματα TGA που έγιναν για τον καθορισμό της υπολειπόμενης μάζας του αλατιού και της διασύνδεσης των πόρων, τα δείγματα θερμάνθηκαν με ένα σταθερό ρυθμό 20°C/min από τους 30 στους 600°C. Το ποσοστό της μάζας που παρέμεινε βρέθηκε σε όλα τα ικρίσματα ίσο με 2%, κάτι που υποδεικνύει πλήρη έκπλυση του αλατιού. Επίσης, αποδείχτηκε ότι η ενσωμάτωση της υδατοδιαλυτής PEG βοηθά στη βελτίωση της διασύνδεσης μεταξύ των πόρων. Όλα τα δοκίμια που εξετάστηκαν εμφάνισαν υψηλή διασύνδεση της τάξεως πάνω από 97%. Αυτό είναι ενδεικτικό του εύκολου σχηματισμού μιας συνδεόμενης πορώδους αρχιτεκτονικής μέσω της προσέγγισης πολυμερισμού στερεάς κατάστασης/έκπλυσης σωματιδίων. Η παρατήρηση αυτή υπερτερεί έναντι άλλων μελετών, όπου τα σωματίδια του αλατιού, ακόμα και σε περιεκτικότητα 80% παγιδεύονταν μέσα στη μήτρα, οδηγώντας έτσι σε μη ικανοποιητική διασύνδεση εξαιτίας της δυσκολίας πρόσβασης του νερού (64). Η έκπλυση της PEG επομένως, βοηθά στην απομάκρυνση του NaCl. Τα πειράματα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM), κατέδειξαν στα 4 πρώτα δείγματα μια πορώδη αρχιτεκτονική σε 3 διαστάσεις, κάτι που συμφωνεί με τα αποτελέσματα TGA. Αντίθετα, στο δείγμα NaCl/PEG/PLA 85/3/12 παρατηρήθηκε μια κατάρρευση της πορώδους δομής, πιθανότατα λόγω των ασυνεχών συνδέσεων των πόρων που προκαλούνται από την υψηλή περιεκτικότητα του αλατιού. Επίσης, αποδεικνύεται ότι η έκπλυση της PEG δημιουργεί μια σκληρή πορώδη επιφάνεια τοίχου που ενισχύει την προσκόλληση και την ανάπτυξη των κυττάρων. Το πορώδες εμφάνισε αύξηση, με την αύξηση της περιεκτικότητας σε PEG και NaCl. Το μέσο μέγεθος των πόρων βρέθηκε ίσο με 9μm. Το γεγονός ότι το μέγεθος αυτό είναι μικρότερο από το μέγεθος του σωματιδίου του χλωριούχου νατρίου αποδόθηκε στον κατακερματισμό που αυτό υφίσταται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Από τη μελέτη της θερμικής συμπεριφοράς των δειγμάτων με DSC βρέθηκε ότι όλα τα ικρίσματα εκτός από το NaCl/PEG/PLA 85/3/12 εμφάνισαν σχετικά υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητας και αυτό αποδίδεται στην εισαγωγή της PEG, όπου η αύξηση της κινητικότητας των αλυσίδων που αυτή προκαλεί έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό τακτικής δομής. Αντίθετα, στο δείγμα με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε

αλάτι παρατηρήθηκε μείωση του βαθμού κρυσταλλικότητας, καθώς το NaCl παρεμποδίζει την κινητικότητα των αλύσων και άρα και την κρυστάλλωση. Τέλος, σε πειράματα για την εύρεση του μέτρου θλίψης, παρατηρήθηκε ότι αυτό αρχικά αυξάνει στα δύο πρώτα δείγματα, με την τιμή του για το δείγμα NaCl/PEG/PLA 75/2.5/22.5 να φτάνει τα 207.4 MPa και μετά για τα επόμενα 3 να μειώνεται βαθμιαία. Αυτή η τόσο μεγάλη τιμή που επιτυγχάνεται σχετίζεται με το δομικό μετασχηματισμό που προκαλείται από την εκβολή στερεάς κατάστασης. Επίσης, η αύξηση της περιεκτικότητας σε PEG από 1.25 σε 2.5 wt% καθιστά την πολυμερική αλυσίδα πιο ικανή να ανταπεξέλθει στην άσκηση εξωτερικών τάσεων.

Οι Chen et al. (63) μελέτησαν επίσης σύστημα PLA/PEG/NaCl σε αναλογία 50:10:40 wt% και κατασκεύασαν ικρίωμα με τη μέθοδο της εκβολής και της έκπλυσης σωματιδίων. Χρησιμοποιήθηκε PLA 2002D μοριακού βάρους 250000 g/mol, πυκνότητας 1.29 g/cm³, και PEG μοριακού βάρους 6000 g/mol. Τα σωματίδια αλατιού είχαν μέσο μέγεθος 40-75 μm. Αρχικά, το PLA ξηράνθηκε σε φούρνο κενού στους 80°C για 8 ώρες και η PEG στους 40°C για 4 ώρες. Η PEG αναμίχθηκε με τα σωματίδια χλωριούχου νατρίου και το PLA με τη βοήθεια τριπλοκόχλιου δυναμικού εκβολέα και η ταχύτητα των κοχλίων τέθηκε ίση με 60 rpm και το θερμοκρασιακό προφίλ από τους 130 στους 170°C. Στη συνέχεια έγινε μορφοποίηση με χύτευση με συμπίεση σε πλακίδια με πάχος 1 και 4 mm στους 190°C. Η διαδικασία της έκπλυσης σωματιδίων έγινε σε λουτρό νερού στους 45°C και το νερό αλλαζόταν κάθε 12 ώρες μέχρις ότου αποκτήσουν όλα τα δείγματα σταθερό βάρος. Από τα πειράματα DSC βρέθηκε ότι σε σύγκριση με το σκέτο PLA, η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης των μιγμάτων PLA/NaCl μειώθηκε ελαφρώς, ενώ στην περίπτωση των μιγμάτων PLA/PEG/NaCl δεν παρατηρήθηκε θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, πιθανότατα λόγω της αυξημένης κινητικότητας των αλυσίδων PLA, εξαιτίας της παρουσίας του πλαστικοποιητή PEG. Επίσης, η θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης των μιγμάτων μεταπίπτει σε χαμηλότερη τιμή σε σχέση με το PLA, λόγω της αύξησης του ρυθμού κρυστάλλωσης του PLA παρουσία PEG. Ακόμη, μελετήθηκαν οι μηχανικές ιδιότητες των κατασκευασθέντων δοκιμίων με δοκιμή σε εφελκυσμό. Όπως αναμενόταν, η προσθήκη της PEG μεταβάλλει αισθητά τη μηχανική συμπεριφορά του PLA. Μετά την προσθήκη του χλωριούχου νατρίου στο PLA, η μέση αντοχή σε εφελκυσμό μειώθηκε αισθητά. Για τα

μίγματα PLA/PEG/NaCl παρατηρήθηκε περαιτέρω μείωση. Συγκεκριμένα, η τιμή της βρέθηκε ίση με 16.62 MPa έναντι του 54.9 MPa που είχε μετρηθεί αρχικά για το σκέτο PLA. Ενδιαφέρον παρουσίασε το γεγονός ότι η μέση επιμήκυνση κατά τη θραύση αυξήθηκε αισθητά με την προσθήκη της PEG, όπως παρατηρήθηκε και από τους Sheth et al. (51) και Park et al. (52). Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η προσθήκη της PEG αυξάνει την ευλυγισία του συστήματος. Για τον καθορισμό του σχήματος και του μεγέθους των πόρων καθώς και της διασποράς του χλωριούχου νατρίου στην πολυμερική μήτρα έγιναν πειράματα SEM. Βρέθηκε ότι η επιφάνεια των μιγμάτων εμφάνιζε ρωγμές και αυτό αποδόθηκε στον τρικόχλιο εκβολέα που εφαρμόζει μεγάλη τάση στο δείγμα, ωστόσο είναι απαραίτητος για την καλή ανάμιξη και διασπορά του αλατιού. Επίσης, η μορφολογία υπέδειξε ότι η πλειοψηφία των σωματιδίων αλατιού υπέπεσαν σε μικρότερο μέγεθος λόγω της επεξεργασίας. Τα σωματίδια του αλατιού καθώς και τα κενά που δημιουργήθηκαν από αυτά, φάνηκαν ξεκάθαρα στα μικρογραφήματα, γεγονός που δείχνει την ανίσχυρη επιφανειακή συνάφεια μεταξύ του PLA και του NaCl. Αντίθετα, με την ενσωμάτωση της PEG, τα σωματίδια του NaCl διείσδυσαν καλύτερα στην πολυμερική μήτρα, και δεν παρατηρήθηκαν κενά ούτε γύρω από τα σωματίδια, ούτε στον κύριο όγκο του ικρίωματος. Επομένως, είναι λογικό να ειπωθεί ότι το μίγμα PLA/PEG/NaCl παρουσιάζει καλύτερη επιφανειακή προσκόλληση από ότι το μίγμα PLA/NaCl. Ο πλαστικοποιητής PEG βοηθά στην καλύτερη προσκόλληση μεταξύ του PLA και του αλατιού, κάτι που βελτιώνει τη διασπορά των μακροπόρων μετά την έκπλυση του τελευταίου. Τέλος, το μέσο μέγεθος των πόρων βρέθηκε ίσο με 50 μm και το πορώδες έδειξε να αυξάνεται αυξανόμενης της περιεκτικότητας σε χλωριούχο νάτριο. Όσον αφορά την εύρεση των υπολειπόμενων σωματιδίων αλατιού, έγιναν αναλύσεις TGA. Μετά την έκπλυση βρέθηκε για τα μίγματα PLA/PEG υπόλειμμα ίσο με 7%. Η αποδόμηση της PEG συμβαίνει σε θερμοκρασία μεταξύ 360 και 440°C. Επειδή η PEG είναι διαλυτή στο νερό, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας έκπλυσης συγκεκριμένη ποσότητα PEG χάνεται. Τα αποτελέσματα έδειξαν υπόλειμμα ίσο με 5%. Στα μίγματα PLA/PEG/NaCl το υπόλειμμα σε αλάτι βρέθηκε ακόμα πιο χαμηλό, ίσο με 3%, που αποδόθηκε στη βελτιωμένη επιφανειακή αλληλεπίδραση μεταξύ του PLA και του NaCl.

Οι Zhang et al. (55) μελέτησαν σύστημα PLLA/CaCO₃ 10:90 wt% και κατασκεύασαν ικρίωματα με το συνδυασμό μεθόδων χύτευσης με συμπίεση υψηλής πίεσης (high pressure compression molding) και έκπλυσης σωματιδίων. Χρησιμοποίησαν PLA 4032D με μοριακό βάρος ίσο με 117000 g/mol και σωματίδια ανθρακικού ασβεστίου μεγέθους 2-8 μm και πυκνότητας 2.7 g/cm³. Η διάμετρος του εμβολέα στην αυτοσχέδια συσκευή χύτευσης με συμπίεση ήταν ίση με 20 mm ενώ το μήκος του κυλινδρικού καναλιού ίσο με 88 mm. Αρχικά, τοποθετήθηκε μια συγκεκριμένη ποσότητα του μίγματος, θερμάνθηκε στους 165°C και διατηρήθηκε σε αυτή τη θερμοκρασία για 30 λεπτά. Έπειτα ασκήθηκε πίεση της τάξεως των 640 MPa για 2 λεπτά και τέλος, το υλικό ψύχθηκε μέχρι τη θερμοκρασία περιβάλλοντος με σταθερό ρυθμό ψύξης ίσο με 2.5°C/min. Για την αποφυγή της θερμικής αποδόμησης του δοκιμίου χρησιμοποιήθηκε ροή αζώτου. Τα κομμάτια που ελήφθησαν κόπηκαν σε διαστάσεις 35*10*4 mm³. Η διεργασία της έκπλυσης σωματιδίων έγινε με τη χρήση αιθυλικού οξέος χαμηλής συγκέντρωσης μέχρι σταθερού βάρους και στη συνέχεια με εμβάπτιση σε απεσταγμένο νερό για 2 μέρες προκειμένου να απομακρυνθούν τυχόν εναπομείναντες διαλύτες. Από την ανάλυση των στοιχείων που προέκυψαν από τις αναλύσεις SEM, DSC και DMA, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι όταν η περιεκτικότητα του πορογενούς μέσου (CaCO₃) ήταν ίση με 90 wt%, τα ικρίωματα δεν εμφάνιζαν μόνο πολύ καλή δομή συνδεδεμένων ανοιχτών πόρων, αλλά και πολύ υψηλό πορώδες, μεγαλύτερο από 80%. Επίσης, πολύ ενδιαφέρον είναι και το γεγονός ότι η δομική σταθερότητα των ικριωμάτων επεξεργασμένων με την τεχνική χύτευσης με συμπίεση υψηλής πίεσης βελτιώθηκε αισθητά, βασιζόμενοι στο γεγονός ότι η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης αυξήθηκε κατά περίπου 20°C, σε σύγκριση με τα ικρίωματα PLA μορφοποιημένα με την τεχνική της συμβατικής συμπίεσης. Τέλος, στις αναλύσεις μηχανικών ιδιοτήτων, το μέτρο εφελκυσμού των ικριωμάτων PLA βρέθηκε ίσο με 283.7 MPa με την αριστοποίηση της θερμοκρασίας και πίεσης επεξεργασίας, και σε σύγκριση με προηγούμενη εργασία όπου το ίδιο μέτρο είχε βρεθεί ίσο με 107.5 MPa με παρόμοιο πορώδες και σύνθεση.

Τέλος, οι Gong et al. (62) ασχολήθηκαν με την κατασκευή ικριωμάτων από PLA μέσω της μεθόδου προοδευτικής υγρής χύτευσης/έκπλυσης σωματιδίων χλωριούχου νατρίου. Τα σωματίδια του PLA προμηθεύτηκαν από την εταιρία Shenzhen Bright China Industrial Co., με πυκνότητα 1.270 g/ml και θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης και τήξης στους 55 και

175°C αντίστοιχα. Το χλωριούχο νάτριο κατεργάστηκε έτσι ώστε να αποκτήσει συγκεκριμένη κοκκομετρία ίση με 100-210, 210-310, 310-420 και 420-500 μm . Τελικά, το ικρίωμα κατασκευάστηκε μέσω υγρής χύτευσης προοδευτικά κατά στρώμα (layer-by-layer). Για να επιτευχθεί πορώδες ίσο με 90%, ο λόγος του PLA προς το NaCl τέθηκε ίσος με 1:9. Το διάλυμα χύτευσης παρασκευάστηκε με διάλυση 0.33 g PLA σε 2 ml χλωροφορμίου και τελικά το χλωριούχο νάτριο με το επιθυμητό μέγεθος αφέθηκε να διαλυθεί ομοιόμορφα στο διάλυμα αυτό. Έγιναν συνολικά 13 τέτοια διαλύματα με μείωση κάθε φορά του μεγέθους του κόκκου του χλωριούχου νατρίου. Εκτελέστηκαν πειράματα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης και για το σκοπό αυτό τα δείγματα πάχους 2-3 mm κόπηκαν και επιχρυσώθηκαν. Οι μετρήσεις έγιναν στα 20 kv και από τη μικρογραφία που παραλήφθηκε βρέθηκε ότι η πάνω επιφάνεια είχε πολλούς πόρους. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι κάποια σωματίδια χλωριούχου νατρίου έμειναν στην επιφάνεια όταν φτιάχτηκε το ικρίωμα. Το φαινόμενο αυτό συμφωνεί και με το αποτέλεσμα ότι το PLA δεν μπορεί να γεμίσει τα κενά μεταξύ των σωματιδίων χλωριούχου νατρίου. Πράγματι, δεν παρατηρήθηκε κανένα διακριτό όριο μεταξύ των διαφορετικών στρωμάτων στις μικρογραφίες SEM. Επίσης, παρατηρήθηκε μια βαθμιαία δομή με μειούμενα μεγέθη πόρων από τη μία επιφάνεια στην άλλη. Τα αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης έδειξαν ότι οι θερμογραφικές καμπύλες από την πυρόλυση τόσο του καθαρού PLA όσο και των πορωδών ικριωμάτων ήταν παρόμοιες. Ο μέγιστος ρυθμός μείωσης βάρους βρέθηκε μεταξύ 270 και 400°C, ενώ δεν παρατηρήθηκε κάποιο υπόλειμμα αλατιού ή διαλύτη στα ικρίσματα. Όσον αφορά το πορώδες, όλα τα στρώματα των ικριωμάτων είχαν υψηλό πορώδες περίπου ίσο με $87.3\% \pm 0.4\%$. Παρατηρήθηκε ότι το πορώδες εμφάνιζε ελαφρά μείωση, όσο το μέγεθος των σωματιδίων μειωνόταν. Το μέγεθος των πόρων πάντως, ταίριαζε με το μέγεθος των σωματιδίων χλωριούχου νατρίου, κάτι που δείχνει ότι πράγματι οι πόροι δημιουργήθηκαν από την έκπλυση των σωματιδίων. Τέλος, από τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων βρέθηκε ότι το μέτρο θλίψης των ικριωμάτων μειωνόταν αυξανόμενου του μεγέθους του πόρου, κάτι που συμφωνεί και με τη βιβλιογραφία. Το μεγαλύτερο μέγεθος των πόρων οδηγεί σε πιο ετερογενή κατανομή της μάζας του PLA μέσα στο ικρίωμα, και έτσι οι μηχανικές ιδιότητες του τελευταίου υποβιβάζονται. Αυτή η

υποβίβαση αποδίδεται εν μέρει και στο γεγονός ότι το πορώδες του PLA αυξάνεται ελαφρώς όσο αυξάνεται το μέγεθος των σωματιδίων του NaCl.

Κεφάλαιο 5^ο

Πειραματική μελέτη αντιβακτηριακής δράσης νανοσυνθέτων TiO_2 /PLLA σε καλλιέργειες *E. Coli*

5.1 Εισαγωγή

Για τη μελέτη της αντιβακτηριακής (βακτηριοστατικής ή βακτηριοκτόνου) δράσης των σύνθετων φωτοκαταλυτικών υλικών χρησιμοποιήθηκε το Διεθνές Πρότυπο ISO 27447:2009(E). Με αυτήν τη μέθοδο πραγματοποιείται εκτίμηση της φωτοκαταλυτικής αντιβακτηριακής δραστηριότητας μέσω της μέτρησης του πληθυσμού των βακτηρίων που αναπτύσσονται υπό την επίδραση υπεριώδους φωτός. Να σημειωθεί ότι η μέθοδος αυτή δεν μπορεί να εξετάσει σκόνες ή πορώδη φωτοκαταλυτικά υλικά. Στις εφαρμογές της συμπεριλαμβάνονται δομικά υλικά και επίπεδες επιφάνειες στις οποίες έχουν ενσωματωθεί φωτοκαταλυτικά ημιαγώγιμα υλικά.

Συγκεκριμένα η μέθοδος η οποία χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη της αντιβακτηριακής δραστηριότητας βασίζεται στη συγκόλληση film (film adhesion method), η οποία είναι κατάλληλη για επίπεδες επιφάνειες (τσιμεντοειδή υλικά, film χρωμάτων ή φωτοκαταλυτών).

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι κυριότερες παράμετροι της μεθόδου ISO που εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία.

Πίνακας 5.1: Παράμετροι μεθόδου ISO για τη μελέτη της αντιβακτηριακής δράσης σύνθετων φωτοκαταλυτικών υλικών.

ISO 27447:2009(E)	
Βακτήριο	Escherichia coli
Προετοιμασία βακτηριακής καλλιέργειας	Ανάπτυξη σε θρεπτικό μέσο nutrient broth
Βακτηριακή ανάπτυξη	Θρεπτικό άγαρ
Μέγεθος δοκιμίου	30*30±1 mm ²
Μέγεθος δείγματος με συγκολλητικό φιλμ	875 mm ²
Όγκος βακτηριακής καλλιέργειας	150μL
Αρχική βακτηριακή συγκέντρωση	2x10 ⁶ CFU / mL
Χρόνος ενεργοποίησης	72 h
Ένταση UV ακτινοβολίας	0.001-0.25 mW cm ⁻²

5.2 Πρώτες ύλες

Προετοιμασία βακτηρίων

Για τη διενέργεια των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε πληθυσμός βακτηρίων Escherichia coli και συγκεκριμένα το στέλεχος Dh5α (αρχική καλλιέργεια), το οποίο και διατηρούνταν σε κατάψυξη στους -80 °C σε μέσο Eugon συμπληρωμένο με 10% γλυκερόλη. Η χρήση των μικροοργανισμών απαιτεί ασηπτικούς χειρισμούς σε κατάλληλο αποθηκευτικό χώρο προστασίας. Όλες οι διεργασίες έγιναν κάτω από την επιφάνεια φλόγας από γκαζάκι, όπου οι συνθήκες είναι στείρες. Επίσης, όλα τα διαλύματα βρίσκονταν συνεχώς σε παγόλουτρο ώστε να μη γίνεται ανεξέλεγκτη ανάπτυξη του πληθυσμού των βακτηρίων. Σε κάθε σειρά πειραμάτων χρειάζεται καινούριο στέλεχος μικροβίων. Επομένως, λαμβάνεται μία πυκνή 'κρική' από την αρχική καλλιέργεια, εισάγεται σε μέσο θρεπτικού άγαρ και φυλάσσεται για 24 ώρες στους 37±1°C.

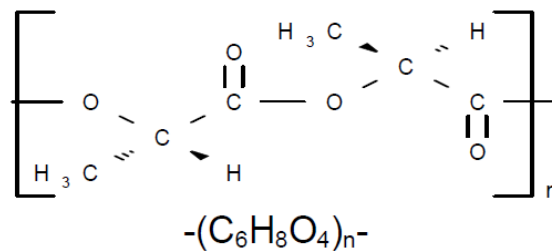


Εικόνα 5.1: 'Κρικιά' από την αρχική καλλιέργεια

Επίσης χρησιμοποιήθηκαν:

- Πολυ-L-γαλακτικό οξύ (Poly-L-lactide, PLLA)

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) που χρησιμοποιήθηκε ήταν της εταιρείας NatureWorks® (τύπος Ingeo™ 4032D Poly-L-lactide). Η χημική δομή και οι ιδιότητές του παρουσιάζονται παρακάτω:



Εικόνα 5.2: Χημική δομή χρησιμοποιούμενου PLLA

Πίνακας 5.2: Ιδιότητες χρησιμοποιούμενου PLLA

Περιγραφή	Λευκοί κόκκοι
Οσμή	Σχεδόν άοσμο
Εσωτερικό ιξώδες	4 dl/g (0.2% σε χλωροφόρμιο, 30°C)
Υπολείμματα μονομερούς	Μέχρι 0.1%
Υπολείμματα διαλύτη	μέχρι 0.1% σε ακετόνη μέχρι 890 ppm τολουολίου μέχρι 0.1% συνολικά
Νερό	μέχρι 0.5%
Κασσίτερος	μέχρι 60 ppm
Βαρέα μέταλλα	μέχρι 10 ppm
Θεϊκή τέφρα	μέχρι 0.1%

Πριν την επεξεργασία του, το πολυ(γαλακτικό οξύ) ξηραίνεται σε φούρνο κενού στους 80°C για 4 ώρες και πίεση 600mmHg και στη συνέχεια φυλάσσεται σε ξηραντήρες.

- Νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου Aeroxide® TiO₂ P 25 της εταιρίας Evonik Industries με αναλογία βάρους ανατάση/ρουτυλίου 80/20, ειδική επιφάνεια 50±15 m²/g και διάμετρο 21 nm.
- εκχύλισμα κρέατος (meat extract) για μικροβιολογική χρήση της εταιρίας Sigma-Aldrich. Οι ιδιότητές του παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Συγκέντρωση	≤7% Cl ⁻
Ακαθαρσίες	11.5-12.5 % συνολικό άζωτο
pH	6.0-7.0 (2% σε νερό)
Διαλυτότητα	Σε νερό: διαλυτό 2%, χρώμα κίτρινο προς καφέ

- ειδική πεπτόνη (special peptone) για μικροβιολογική χρήση της εταιρίας Sigma-Aldrich, με τις παρακάτω ιδιότητες:

Ακαθαρσίες	≤15% τέφρα
	≤5% χλωριούχο νάτριο
	≤5% νερό
	≥12% συνολικό άζωτο
pH	6.5-7.5
Διαλυτότητα	Σε νερό: διαλυτό 2%, χρώμα κίτρινο

- χλωριούχο νάτριο (NaCl BioXtra) της εταιρίας Sigma-Aldrich, με τις παρακάτω ιδιότητες:

Μορφή	Σκόνη
pH	5.0-8.0 (20°C, 1 M στο νερό)
Διαλυτότητα	Στο νερό 1 M, χωρίς χρώμα

- θρεπτικό άγαρ για μικροβιολογική χρήση της εταιρίας Sigma-Aldrich, με την εξής σύνθεση: 15 g/L περιεκτικότητα σε άγαρ, 1 g/L περιεκτικότητα σε εκχύλισμα κρέατος, 5 g/L περιεκτικότητα σε πεπτόνη και 5 g/L περιεκτικότητα σε χλωριούχο νάτριο. Το τελικό pH είναι 7.1 ± 0.2 στους 25°C .
- πεπτόνη από καζεΐνη για βιοτεχνολογική χρήση της εταιρίας Sigma-Aldrich, με τις παρακάτω ιδιότητες:

Απώλειες	<6% απώλειες σε ξήρανση
pH	7.0 ± 0.5
Διαλυτότητα	Σε νερό: διαλυτό 2%, χρώμα καφέ-κίτρινο

- polysorbate 80 της εταιρίας Sigma-Aldrich (TWEEN® 80), που είναι μία μη ιονική τασιενεργός ουσία και χρησιμοποιείται και ως γαλακτωματοποιητής. Έχει χημικό τύπο $C_{64}H_{124}O_{26}$, μοριακό βάρος ίσο με 1310 g/mol και πυκνότητα 1.064 g/ml στους 25°C .
- μονοβασικό φωσφορικό κάλιο (potassium phosphate monobasic) της εταιρίας Sigma-Aldrich, σε μορφή σκόνης και πυκνότητα 2.338 g/ml στους 25°C .
- γλυκόζη (D-(+)-Glucose) της εταιρίας Sigma-Aldrich σε μορφή σκόνης.
- λεκιθίνη από σόγια της εταιρίας Merck.

5.3 Παρασκευές διαλυμάτων

- Παρασκευή αραιώσης θρεπτικού υλικού (nutrient broth) και της 1/500 αραιώσης του:

Σε 1L απιονισμένου νερού προστέθηκαν 3g εκχυλίσματος κρέατος (meat extract), 10g πεπτόνης και 5g χλωριούχου νατρίου (NaCl) και διαλύθηκαν πλήρως. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ρύθμιση του pH περίπου στην τιμή του 7.1 ± 0.1 με χρήση υδροχλωρικού οξέος (HCl) ή υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί αραιώση 1/500 με χρήση απιονισμένου νερού και επαναρύθμιση του pH στην τιμή του 7. Τέλος, πραγματοποιήθηκε αποστείρωση σε αυτόκλειστο στους $121 \pm 2^\circ\text{C}$ για περίπου 30 λεπτά.

- Παρασκευή θρεπτικού άγαρ (nutrient agar)

Σε 1L απιονισμένου νερού προστέθηκαν 3g εκχυλίσματος κρέατος (meat extract) και 15g σκόνης άγαρ. Ακολούθησε ανάδευση του αιωρήματος και θέρμανση στους 100°C με σκοπό την πλήρη διαλυτοποίηση του περιεχομένου του υδατικού διαλύματος. Ακολούθως, χρησιμοποιήθηκε 0.1mol/L διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) προκειμένου να σταθεροποιηθεί το διάλυμα σε τιμές pH 6.8 ± 0.2 στους 25°C . Το διάλυμα καλύφθηκε με μία βαμβακερή τάπα και αποστειρώθηκε σε αυτόκλειστο. Μετά την προετοιμασία, το θρεπτικό άγαρ αποθηκεύτηκε σε χαμηλές θερμοκρασίες μεταξύ 5 και 10°C . Όταν πραγματοποιήθηκε επίσης η ανάμειξη του με στελέχη βακτηρίων η θερμοκρασία του μέσου κυμάνθηκε μεταξύ των 45 και 48°C .

- Παρασκευή θρεπτικού υλικού σόγιας-καζεΐνης (soybean-casein digest broth) με λεκιθίνη (lecithin) και polysorbate 80 (SCDLP).

Σε 1L απιονισμένου νερού προστέθηκαν 17g πεπτόνης καζεΐνης (casein peptone), 3g πεπτόνης σόγιας, 5g χλωριούχου νατρίου (NaCl), 2.5g μονοβασικού φωσφορικού καλίου, 2.5g γλυκόζης, 1g λεκιθίνης και 7g της μη ιοντικής επιφανειοδραστικής ένωσης polysorbate 80, και αναδεύτηκαν έως ότου διαλυθούν πλήρως. Ακολούθως, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα

υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) ή υδροχλωρικού οξέος (HCl) προκειμένου να σταθεροποιηθεί το διάλυμα σε τιμές pH 7 ± 0.2 στους 25°C.

- Παρασκευή φυσιολογικού αλατούχου διαλύματος (physiological saline solution) για έκπλυση.

Σε 1L απιονισμένου νερού προστέθηκαν 8.5g χλωριούχου νατρίου (NaCl) και αναδεύτηκαν έως ότου διαλυθούν πλήρως.

Όλα τα παραπάνω διαλύματα που παρασκευάστηκαν δεν χρησιμοποιήθηκαν άμεσα αλλά αποθηκεύτηκαν σε χαμηλές θερμοκρασίες μεταξύ 5 και 10°C. Η παραμονή αποθήκευσης δεν διήρκησε πάνω από 1 μήνα.

5.4 Εξοπλισμός

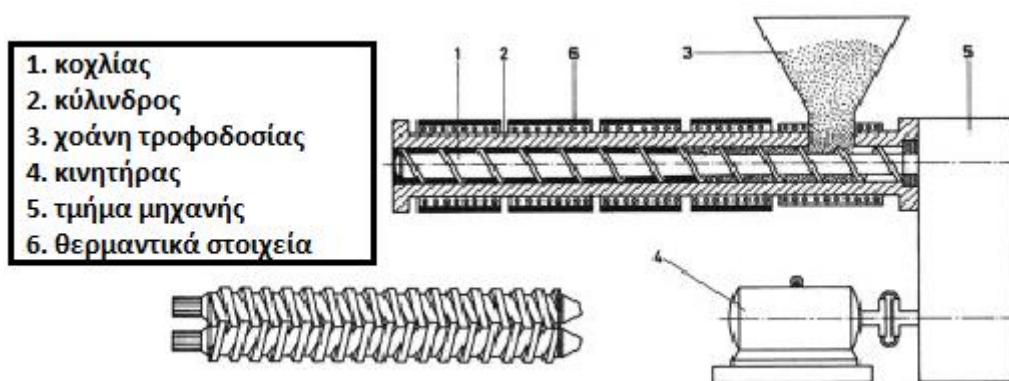
Τα νανοσύνθετα TiO₂/PLLA με συστάσεις 5/95, 10/90, 20/80 (w/w), καθώς και το σκέτο PLLA παρασκευάστηκαν με τεχνική ανάμειξης τήγματος σε δικόχλιο εκβολέα. Ωστόσο, επειδή το PLLA είναι επιρρεπές στη θερμική οξειδωτική αποδόμηση κατά την έκθεσή του για μεγάλο χρονικό διάστημα σε συνθήκες θερμότητας παρουσία οξυγόνου, το πρώτο βήμα για την παρασκευή των συνθέτων είναι η ξήρανση των πρώτων υλών σε φούρνου κενού (600mbar). Τόσο το PLLA 4032D όσο και τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου απαιτούν ξήρανση για 4 ώρες στους 80°C. Μετά τη ξήρανση ακολουθεί η εκβολή. Ο εκβολέας είναι μια διάταξη τήξης, ανάμειξης και προώθησης του πολυμερούς μέσω μιας μήτρας μορφοποίησης, χρησιμοποιώντας ένα ή δυο περιστρεφόμενους κοχλίες μέσα σε ένα θερμαινόμενο κύλινδρο. Η λειτουργία ενός εκβολέα συνίστανται στην μετατροπή των στερεών κόκκων του πολυμερούς τροφοδοσίας σε ομογενές τήγμα το οποίο στη συνέχεια προωθείται με ομοιόμορφο ρυθμό στη μήτρα. Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε ο δικόχλιος εκβολέας μοντέλου Haake PTW 16 (twin screw extruder), όπου οι δύο παράλληλοι κοχλίες περιστρέφονται μέσα σε κατάλληλα σχεδιασμένο κύλινδρο. Ακόμη, οι κοχλίες είναι ομόστροφοι, δηλαδή περιστρέφονται κατά την ίδια φορά, και έτσι το υλικό μεταφέρεται από τον έναν κοχλία στον άλλο. Επιπλέον, οι κοχλίες είναι τμηματικοί και συμπλεκόμενοι, δηλαδή οι σπείρες του ενός κοχλία εισχωρούν στην

εκγλυφή του άλλου κοχλία. Στην Εικόνα 5.3 παρουσιάζεται ο εκβολέας που χρησιμοποιήθηκε.



Εικόνα 5.3: Δικόχλιο σύστημα εκβολής Haake PTW 16.

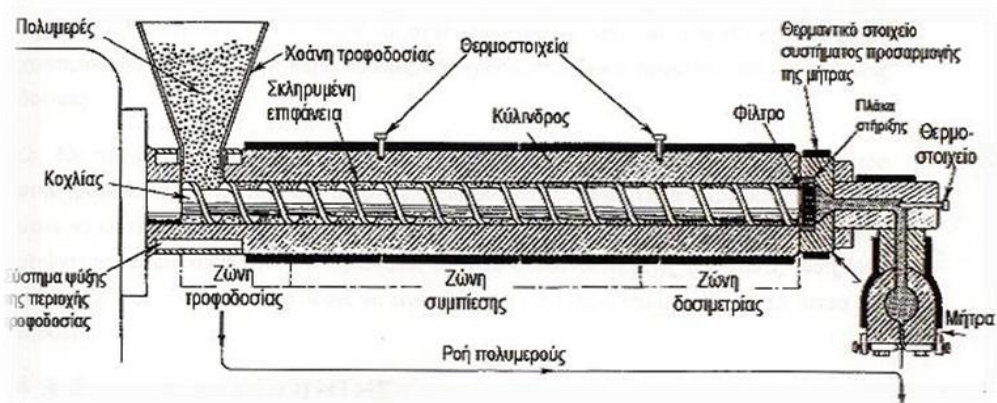
Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των κοχλίων του εκβολέα είναι: μήκος $L=400\text{mm}$, διάμετρος $D=16\text{mm}$ και ο λόγος μήκος/διάμετρο είναι $L/D=25$. Οι στροφές ανά λεπτό που περιστρέφονται οι κοχλίες ποικίλουν ανάλογα με την εφαρμογή. Εδώ, η ταχύτητα περιστροφής των κοχλίων τέθηκε ίση με 40 στροφές/λεπτό (rpm). Η μήτρα στο τέλος της διάταξης έχει κυκλικό άνοιγμα διαμέτρου 2mm.



Εικόνα 5.4: Σχηματική απεικόνιση ενός δικόχλιου συστήματος εκβολής.

Στο παραπάνω σχήμα παρουσιάζονται οι τρεις ζώνες ενός συστήματος εκβολής. Σε κάθε εκβολέα διακρίνονται τρεις ζώνες: 1) η ζώνη τροφοδοσίας, που συνίσταται στην προθέρμανση του πολυμερικού μίγματος και στη μεταφορά του στην επόμενη ζώνη, 2) η ζώνη συμπίεσης, όπου πραγματοποιείται η τήξη του πολυμερικού μίγματος λόγω της θέρμανσης από τα θερμαντικά στοιχεία αλλά και λόγω της διάτμησης που προκαλεί η

κίνηση του κοχλία (ιξώδης θερμότητα) και, τέλος, 3) η ζώνη δοσιμετρίας, όπου το πολυμερικό τήγμα ομογενοποιείται έτσι ώστε με ομοιόμορφη σύσταση, θερμοκρασία και πίεση να οδηγείται με σταθερή παροχή προς τη μήτρα εκβολής (65).



Εικόνα 5.5: Τρεις ζώνες ενός συστήματος εκβολής.

Όπως προκύπτει και από την Εικόνα 5.5, ο εκβολέας χωρίζεται σε έξι θερμοκρασιακές ζώνες, όπου κάθε μία μπορεί να οριστεί ξεχωριστά η θερμοκρασία της στο λογισμικό με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Ανάλογα με τη σύνθεση και την περιεκτικότητα των υλικών στο μίγμα που πραγματοποιείται η εκβολή, γίνεται και η επιλογή της κατάλληλης θερμοκρασιακής κατανομής στις ζώνες του εκβολέα, στην ταχύτητα περιστροφής των κοχλιών και στην ταχύτητα περιστροφής του τροφοδότη (65). Οι τελικές θερμοκρασίες που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από πειραματικά δεδομένα και ανάλογες δοκιμές. Στο παρόν πείραμα, το θερμοκρασιακό προφίλ από τη χοάνη τροφοδοσίας μέχρι και τη μήτρα ήταν 200-205-210-210-210-215°C.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι συνθήκες εκβολής των παρασκευασθέντων συνθέτων:

Πίνακας 5.3: Συνθήκες εκβολής των ναοσυνθέτων

TiO ₂ /PLLA4032D	Θερμοκρασία ζωνών εκβολέα (°C)						Ταχύτητα στρέψης κοχλίας (rpm)
	1 ^η	2 ^η	3 ^η	4 ^η	5 ^η	6 ^η	
0/100	200	205	210	210	210	215	40
5/95	200	205	210	210	210	215	40
10/90	200	205	210	210	210	215	40
20/80	200	205	210	210	210	215	40

Πριν την παρασκευή των νανοσυνθέτων με την τεχνική της ανάμιξης τήγματος, είχε προηγηθεί ξηρή ανάμιξη του PLA και των νανοσωματιδίων στις εξεταζόμενες αναλογίες.

Αφού το πολυμερικό μίγμα περάσει από το δικόχλιο εκβολέα, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, θα βγει με τη μορφή μακαρονιού. Αυτή η μορφή δεν είναι εύχρηστη για την περαιτέρω μορφοποίηση και επεξεργασία του υλικού γι'αυτό και έγινε χρήση του ειδικού εργαστηριακού κοκκοποιητή της εταιρίας Brabender Co. για τον υποβιβασμό του μεγέθους του επεξεργασμένου υλικού. Ο συγκεκριμένος κοκκοποιητής είναι ειδικά σχεδιασμένος για τη μετατροπή μορφοποιημένων πλαστικών τμημάτων σε κόκκους μικρού μεγέθους, οι οποίοι στην συνέχεια μπορούν να τροφοδοτηθούν σε μονάδα μορφοποίησης. Είναι εφοδιασμένος με ένα γρανάζι που φέρει αιχμηρά εξογκώματα, το οποίο λόγω της περιστροφής του προκαλεί το θρυμματισμό του υλικού, καθώς και από έναν ισχυρό κινητήρα, που περιστρέφει το γρανάζι αυτό με μέγιστη ταχύτητα 15 m/min. Εδώ η ταχύτητα τέθηκε ίση με 12 m/min.

Μετά την κοκκοποίηση, και μέχρι να πραγματοποιηθεί η τελική μορφοποίηση, τα δείγματα φυλάσσονται σε ξηραντήρες για την απομάκρυνση της υγρασίας. Οι απώλειες σε υλικό κατά τη διάρκεια της εκβολής και της κοκκοποίησης είναι 25g. Στο ακόλουθο σχήμα, απεικονίζεται ο κοκκοποιητής που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα.



Εικόνα 5.6:Κοκκοποιητής της εταιρίας Brabender Co.

Στη συνέχεια, και για την τελική μορφοποίηση των δειγμάτων, χρησιμοποιείται υδραυλική πρέσσα. Με την υδραυλική πρέσσα εκτελείται η μορφοποίηση των κόκκων των νανοσυνθέτων σε μορφή λεπτών μεμβρανών, οι οποίες και χρησιμοποιούνται στα αντιμικροβιακά πειράματα. Η μορφοποίηση γίνεται υπό πίεση και θερμοκρασία. Η συσκευή αποτελείται από δύο θερμαινόμενες πλάκες, όπου η άνω πλάκα κινείται με τη βοήθεια υδραυλικού συστήματος. Ο έλεγχος της πρέσσας είναι χειροκίνητος και η θέρμανση των πλακών γίνεται μέσω ηλεκτρικών αντιστάσεων και είναι ανεξάρτητη για κάθε πλάκα. Τέλος, η ψύξη των πλακών γίνεται μέσω κυκλώματος νερού.

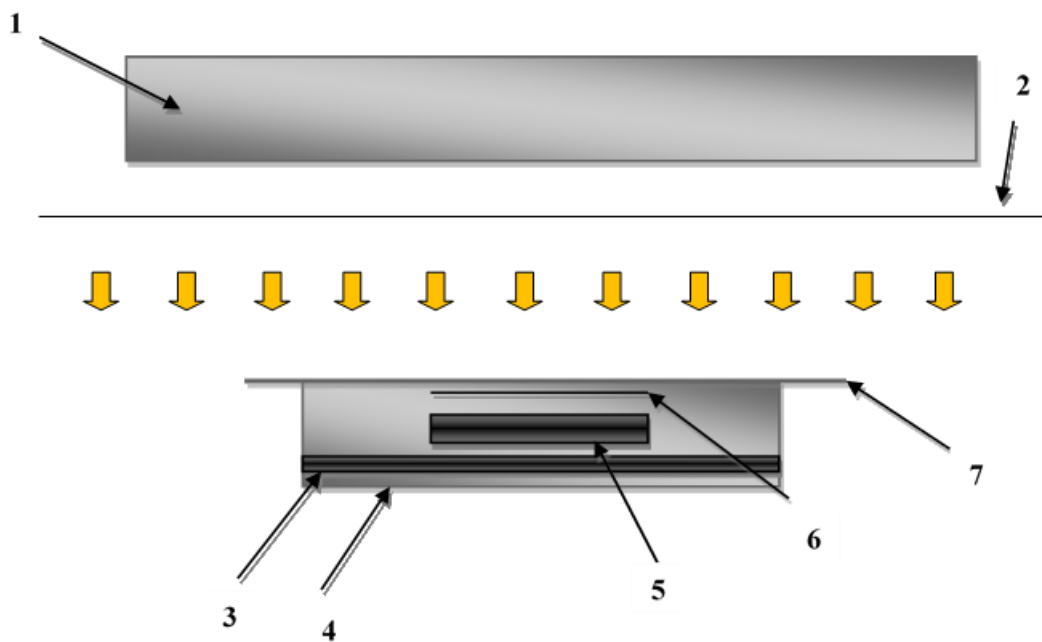
Για τη δημιουργία φιλμ, ορισμένη ποσότητα από το κάθε σύνθετο μορφοποιήθηκε στην πρέσσα. Η θερμοκρασία των πλακών είναι στους 200°C. Το δείγμα τοποθετείται ανάμεσα σε δυο αντικολλητικά φύλλα από τεφλόν. Το υλικό μαζί με τα φύλλα τοποθετείται ανάμεσα στις θερμαινόμενες πλάκες, όπου και παραμένει για 1 λεπτό, ώστε να γίνει τήγμα ο όγκος του υλικού. Στη συνέχεια μετακινούνται οι πλάκες και συμπιέζουν το τήγμα του νανοσυνθέτου ανάμεσα στα φύλλα του τεφλόν για ακόμη 1 λεπτό. Τέλος, ακολουθεί ψύξη μέχρι τη θερμοκρασία περιβάλλοντος.



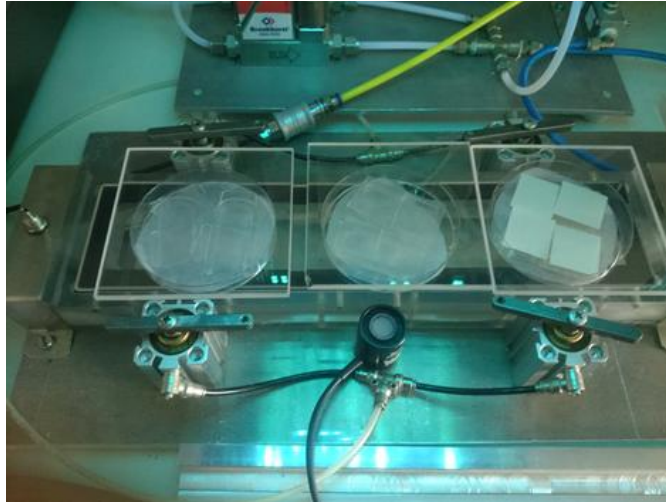
Εικόνα 5.7:Υδραυλική πρέσσα

Ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της φωτοκαταλυτικής δραστηριότητας των δειγμάτων περιλαμβάνει τα ακόλουθα μέρη (Εικόνα 5.8) :

1. Πηγή φωτός: λάμπα φθορισμού (UV) μαύρου φωτός με μέγιστη ένταση στα 351 nm.
2. Διάτρητη λαμαρίνα: χρησιμοποιήθηκε όταν δεν ήταν δυνατή η επίτευξη της επιθυμητής έντασης (0.01 mW/cm^2 σε απόσταση 3m από το παράθυρο με φως ημέρας) μέσω της ρύθμισης του ύψους της λάμπας. Η διάμετρος των οπών είναι 2 mm.
3. Γυάλινη ράβδος: προετοιμάστηκε μέσω της κοπής ενός γυάλινου σωλήνα μήκους 10 cm ο οποίος λυγίστηκε σε μορφή σχήματος U.
4. Διηθητικό χαρτί.
5. Εξεταζόμενο δείγμα.
6. Συγκολλητικό φιλμ (adhesive film) από πολυπροπυλένιο.
7. Γυαλί διατήρησης υγρασίας (borosilicate glass) με πάχος $\leq 1.1 \text{ mm}$ και βαθμό διαφάνειας πάνω από 85% .



Εικόνα 5.8:Σχηματικό διάγραμμα του πειραματικού εξοπλισμού



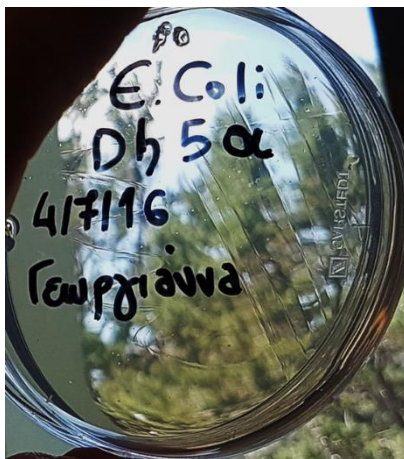
Εικόνα 5.9: Μέτρηση έντασης φωτός ακτινοβολήσης

5.5 Προετοιμασία εξεταζόμενων δειγμάτων

Τα εξεταζόμενα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν τετράγωνες επιφάνειες διαστάσεων $25\pm 1 \times 25\pm 1 \text{ mm}^2$ και πάχος έως 0.2 mm . Για κάθε μέτρηση παρασκευάζονταν 3 δείγματα σκέτου PLLA και 3 δείγματα από κάθε αναλογία προσθήκης νανοσωματιδίων TiO_2 . Εξετάσθηκαν δοκίμια που ενεργοποιήθηκαν με UV ακτινοβολία (σε ένταση 7 W/m^2 για 3 μέρες), σε σύγκριση με μη ενεργοποιημένα δοκίμια. Η μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης των δοκιμίων πραγματοποιήθηκε σε περιβάλλον UV φωτός (351 nm , 0.01 mW/cm^2), καθώς και στο σκοτάδι, για διάφορα χρονικά διαστήματα (4, 8, 24 και 48 ώρες). Δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή έτσι ώστε να αποφευχθεί η μικροβιακή μόλυνση των εξεταζόμενων δειγμάτων. Όλα τα υλικά που παρασκευάστηκαν αποστειρώθηκαν σε χύτρα για 45 λεπτά και μετά τοποθετήθηκαν σε λουτρό (Εικόνα 5.10). Η θερμοκρασία του λουτρού ρυθμίζεται στους 65°C όταν ψύχεται το άγαρ, γιατί πήζει στους 40°C .



Εικόνα 5.10: Συνθήκες αποστείρωσης



(α)



(β)

Εικόνα 5.11: Αρχική καλλιέργεια (α) και μεταφορά καλλιέργειας (β) στελέχους *E. Coli*

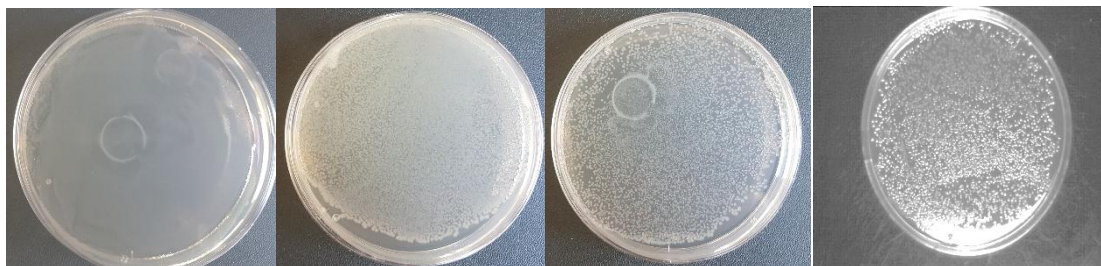
5.6 Πειραματική διαδικασία

Τα αποθηκευμένα βακτήρια μεταφέρονται σε τριβλία που περιέχουν θρεπτικό άγαρ με χρήση κρικοφόρων συλεών και φυλάσσονται για 24 ώρες στους $37 \pm 1^\circ\text{C}$ (Εικόνα 5.11). Στη συνέχεια, με τη χρήση ενός κρικοφόρου συλεού πραγματοποιείται ομοιόμορφη διαλυτοποίηση μικρής ποσότητας των εξεταζόμενων βακτηρίων στο παρασκευασμένο

αραιωμένο (1/500) θρεπτικό υλικό (nutrient broth). Γίνεται βαθμονόμηση του φωτόμετρου (640 nm) θέτοντας ως 0 την απορρόφηση του 'τυφλού' διαλύματος nutrient broth 1/500. Στη συνέχεια, σε ένα αποστειρωμένο δοχείο erpendorf εισάγονται 2ml nutrient broth 1/500 και δύο 'κρικίες' από τη φρέσκια κάθε φορά καλλιέργεια (διάλυμα erpendorf1). Το σύστημα τίθεται υπό ανάδευση στη διάταξη VORTEX. Από αυτό το διάλυμα λαμβάνεται 1ml και εισάγεται στην κυψελίδα του φωτόμετρου για μέτρηση. Στο φωτόμετρο πάντα η σταθερή κυψελίδα περιέχει το τυφλό διάλυμα. Ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης του βακτηριακού αιωρήματος και αντιστοίχισή της σε πληθυσμό μικροβίων σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση:

$$10^6 \text{ CFU/ml} = 0.001 \text{ OD (3)}$$

Σκοπός είναι η αριθμητική προσέγγιση των βακτηρίων να είναι 2×10^6 CFU/mL, γι' αυτό και πραγματοποιούνται ανάλογα με τον αρχικό υπολογισμό αραιώσεις. Η συγκέντρωση αυτή βρέθηκε να είναι η βέλτιστη δυνατή για τη διεξαγωγή των πειραμάτων μετά από προκαταρκτικά πειράματα με το στέλεχος Dh5a που περιελάμβαναν και τις συγκεντρώσεις: 2×10^4 CFU / mL, 2×10^5 CFU / mL και 2×10^7 CFU / mL. Συγκεκριμένα, οι καλλιέργειες αναφοράς που εξετάστηκαν απεικονίζονται παρακάτω:



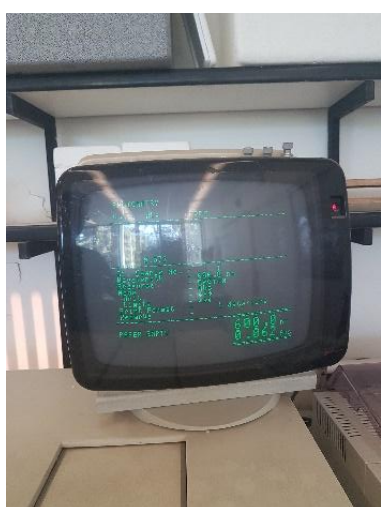
Εικόνα 5.12: Με τη σειρά από αριστερά προς τα δεξιά οι καλλιέργειες με συγκεντρώσεις: 2×10^7 CFU / mL, 2×10^6 CFU / mL, 2×10^5 CFU / mL και 2×10^4 CFU / mL.

Όπως φαίνεται, η καλλιέργεια της πρώτης φωτογραφίας, με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση καθίσταται αδύνατη να μετρηθεί, επομένως απορρίπτεται. Για τις συγκεντρώσεις 2×10^5 CFU/mL και 2×10^4 CFU/mL βρέθηκε ότι οι αποικίες σκοτώνονται μέσα στα πρώτα 45 λεπτά για όλα τα δείγματα, επομένως δεν κρίνεται σκόπιμο να μελετηθούν. Ενδεικτικά, στο παρακάτω σχήμα συγκρίνονται οι καλλιέργειες συγκεντρώσεων 2×10^6 CFU/mL και 2×10^5 CFU/mL στο δείγμα αναφοράς και στο δείγμα με προσθήκη δοκιμίου 20/80 TiO₂/PLLA για διάφορες χρονικές στιγμές.

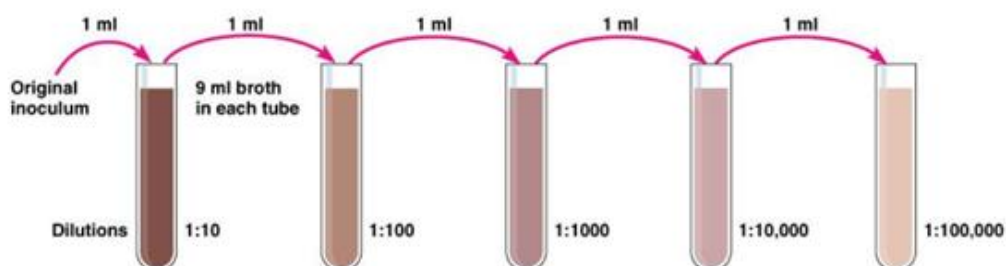
Control (CFU/mL)		20/80 $TiO_2/PLLA_{act}^{UV}$ (CFU/mL)					
0		45min		2h		4h	
2×10^6	2×10^5	2×10^6	2×10^5	2×10^6	2×10^5	2×10^6	2×10^5

Εικόνα 5.13: Καλλιέργειες με συγκεντρώσεις 2×10^6 CFU / mL και 2×10^5 CFU / mL.

Άρα, τα πειράματα διεξάγονται με τη μικροβιακή συγκέντρωση 2×10^6 CFU/mL.



Εικόνα 5.14: Μέτρηση πληθυσμού μικροβίων σε φωτόμετρο



Εικόνα 5.15: Οι διαδοχικές αραιώσεις που ακολουθούνται.

Πίσω στο φωτόμετρο, η απορρόφηση που μετρήθηκε ήταν 0.062Abs που αντιστοιχεί σε 6.2×10^7 CFU/ml.

Επομένως χρειάζεται αραιώση $\frac{2 \times 10^6}{6.2 \times 10^7} = 0.033$.

Σε 1 ml nutrient broth 1/500 θα πρέπει να υπάρχουν 33 μl από το διάλυμα του errendorf₁.

Επομένως, σε καινούριο αποστειρωμένο errendorf₂ εισάγονται 967μl nutrient broth 1/500 και προστίθενται 33μl από το διάλυμα του errendorf₁.

Πιο συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.16:

Το errendorf₁ περιέχει 6.4×10^7 CFU/ml

Το errendorf₂ περιέχει 2×10^6 CFU/ml.



Εικόνα 5.16: Πειραματική διάταξη με τα errendorfs

Από το errendorf₂ λαμβάνονται 100μl και απλώνονται σε petri dish που περιέχει το στερεοποιημένο θρεπτικό υλικό άγαρ και αφήνονται για 24 ώρες στους 37°C ώστε να σχηματιστούν οι αποικίες και στη συνέχεια να μετρηθούν. Το δείγμα αυτό θα αποτελεί το δείγμα αναφοράς (control).

Ακολουθεί η τοποθέτηση αποστειρωμένου διηθητικού χαρτιού σε τριβλία. Το χαρτί βρέχεται με απεσταγμένο νερό (4-6 ml) και στην επιφάνειά του τοποθετείται γυάλινη

ράβδος σχήματος U για να αποφευχθεί η επαφή του εξεταζόμενου δείγματος με το υγρό διηθητικό χαρτί. Στη συνέχεια μεταφέρεται το εξεταζόμενο δείγμα πάνω στη γυάλινη ράβδο. Με αποστειρωμένη πιπέττα συλλέγονται 0.15 mL από το παραπάνω αιώρημα βακτηρίων (διάλυμα του erppendorf₂ που περιέχει 2×10^6 CFU/ml) και απλώνονται όσο το δυνατόν ομοιόμορφα στην επιφάνεια του δείγματος. Έπειτα χρησιμοποιείται συγκολλητικό φιλμ για να καλύψει τη διασπορά των βακτηρίων και τέλος το τριβλίο καλύπτεται με το γυαλί διατήρησης υγρασίας. Για το control δείγμα της καλλιέργειας τοποθετείται γυάλινη βάση πάνω από τη βάση 'U'. Για να είναι αξιόπιστα τα αποτελέσματα επαναλαμβάνονται σε 3 δείγματα.

Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα, ως ποσοστό μείωσης των αποικιών υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{Antibacterial activity (\%)} = \frac{N_{control} - N_{sample}}{N_{control}} \quad (4)$$

όπου, $N_{control}$ και N_{sample} είναι οι ποσότητες των ορατών βακτηριακών αποικιών στο δείγμα αναφοράς (control) του E.coli και των εξεταζόμενων δειγμάτων PLLA και νανοσυνθέτων $TiO_2/ PLLA$, αντίστοιχα.



Εικόνα 5.17: Πειραματική διάταξη με τα τριβλία

Στην αρχική φάση του πειράματος, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό θάλαμο για 24 ώρες.

Χρησιμοποιήθηκαν petri dishes με:

δείγμα control από το erpendorf₂

δείγμα με 0/100 TiO₂/PLLA (σκοτάδι χωρίς ενεργοποίηση 24 ώρες)

δείγμα με 5/95 TiO₂/PLLA (σκοτάδι χωρίς ενεργοποίηση 24 ώρες)

δείγμα με 10/90 TiO₂/PLLA (σκοτάδι χωρίς ενεργοποίηση 24 ώρες)

δείγμα με 20/80 TiO₂/PLLA (σκοτάδι χωρίς ενεργοποίηση 24 ώρες)

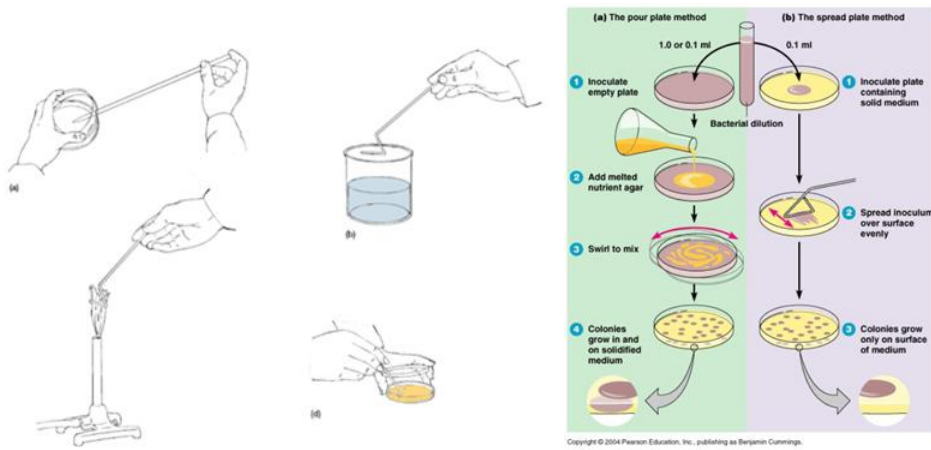
5.7 Μέτρηση βακτηρίων

Μετά το πέρας των 24 ωρών, σε χαμηλού ύψους stomach bag εισάγονται 10ml διαλύματος SCDLP. Ακολουθεί πολύ καλή έκπλυση του εκάστοτε δείγματος και του γυάλινου parafilm και το διάλυμα αναδεύεται για 3 λεπτά.

Σε αποστειρωμένο erpendorf₃ εισάγονται 900ml saline solution και προστίθενται 100ml από το διάλυμα που έχει αναδευτεί στο stomach bag.

Στη συνέχεια, σε αποστειρωμένο erpendorf₄ εισάγονται 900ml saline solution και προστίθενται 100ml από το διάλυμα που υπάρχει στο erpendorf₃.

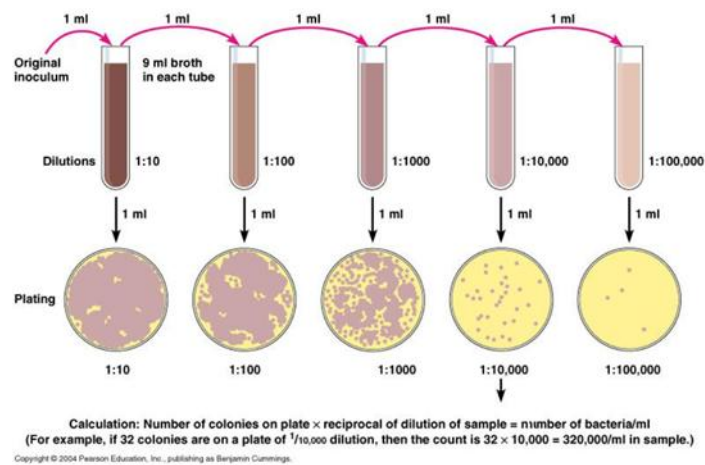
Από το erpendorf₃ λαμβάνονται 100ml και απλώνονται σε petri dish που περιέχει στερεοποιημένο θρεπτικό υλικό άγαρ με τη μέθοδο της επιφανειακής επίστρωσης. Το petri dish αφήνεται για 10 λεπτά μέχρι να εξατμιστεί η υγρή φάση. Στη συνέχεια αναποδογυρίζονται και αφήνονται για 24ώρες σε θερμοκρασία 37°C. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται και για το erpendorf₄.



Εικόνα 5.18: Τεχνική της επιφανειακής επίστρωσης –Spread Plating.



Εικόνα 5.19: Παρασκευή petri-dish με το θρεπτικό υλικό, άγαρ.



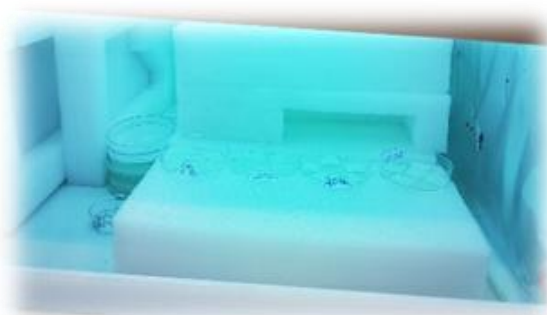
Εικόνα 5.20: Υπολογισμός αποικιών στο τριβλίο ανάλογα με τις διαδοχικές αραιώσεις που ακολουθούνται.

Τα συστήματα που τελικά εξετάστηκαν είναι:

1. Μικροβιακή καλλιέργεια
2. 0/100 TiO₂/PLLA
3. 5/95 TiO₂/PLLA
4. 10/90 TiO₂/PLLA
5. 20/80 TiO₂/PLLA

Η αντιβακτηριακή δράση μετράται στα δείγματα TiO₂/PLLA:

1. Χωρίς προηγούμενη ακτινοβολία της πολυμερικής μήτρας και χωρίς ενεργοποίηση των νανοσωματιδίων TiO₂ στα νανοσύνθετα.
2. Με ακτινοβολία της πολυμερικής μήτρας και ενεργοποίηση των νανοσωματιδίων TiO₂ στα νανοσύνθετα με UV ακτινοβολία (7 W/m²) για 24h (Εικόνα 5.21).



Εικόνα 5.21: Θάλαμος ενεργοποίησης της τιτανίας με ακτινοβολία με UV

Η αντιβακτηριακή δράση της μικροβιακής καλλιέργειας, των μη ακτινοβολημένων και των ακτινοβολημένων δειγμάτων μετράται:

1. στο σκοτάδι (Εικόνα 5.22 (α))
2. υπό ακτινοβολία UV (0.01 mW/cm²) (Εικόνα 5.22(β))



Εικόνα 5.22: Δείγματα στο σκοτάδι (α) και υπό συνθήκες συνεχούς ακτινοβολήσης (β)

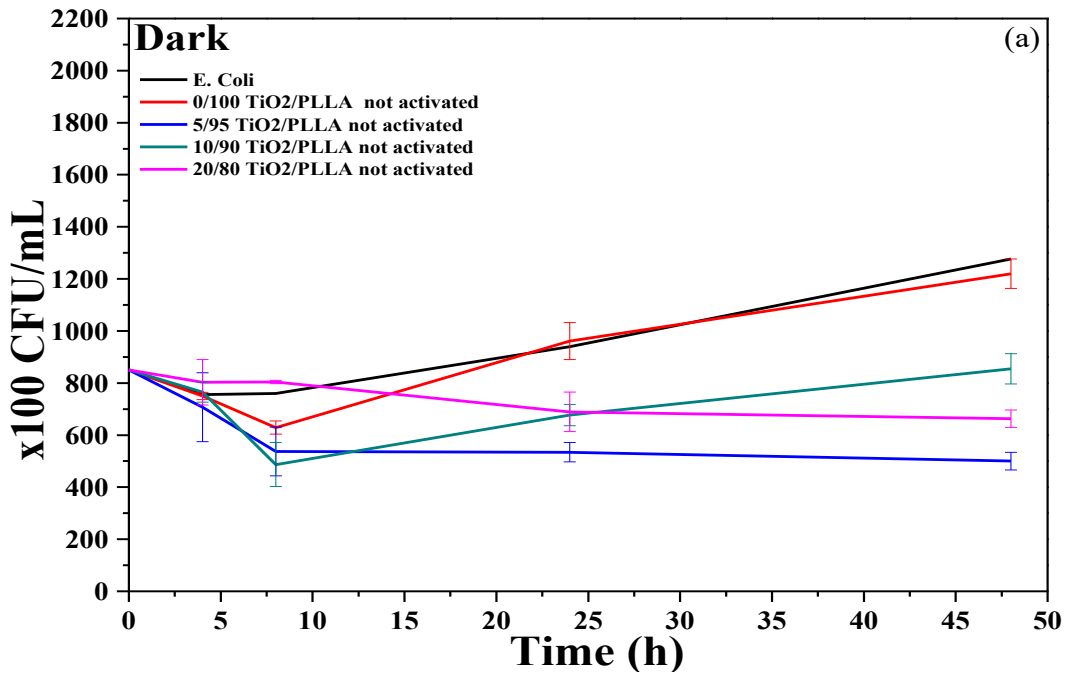
Οι χρονικές διάρκειες που επιλέχθηκαν μετά από τα προκαταρκτικά πειράματα είναι:

1. 4h
2. 8h
3. 24h
4. 48h

Για κάθε χρονική διάρκεια απαιτούνταν 3 δείγματα από κάθε σύστημα ώστε να μπαίνει ο μέσος όρος στον υπολογισμό.

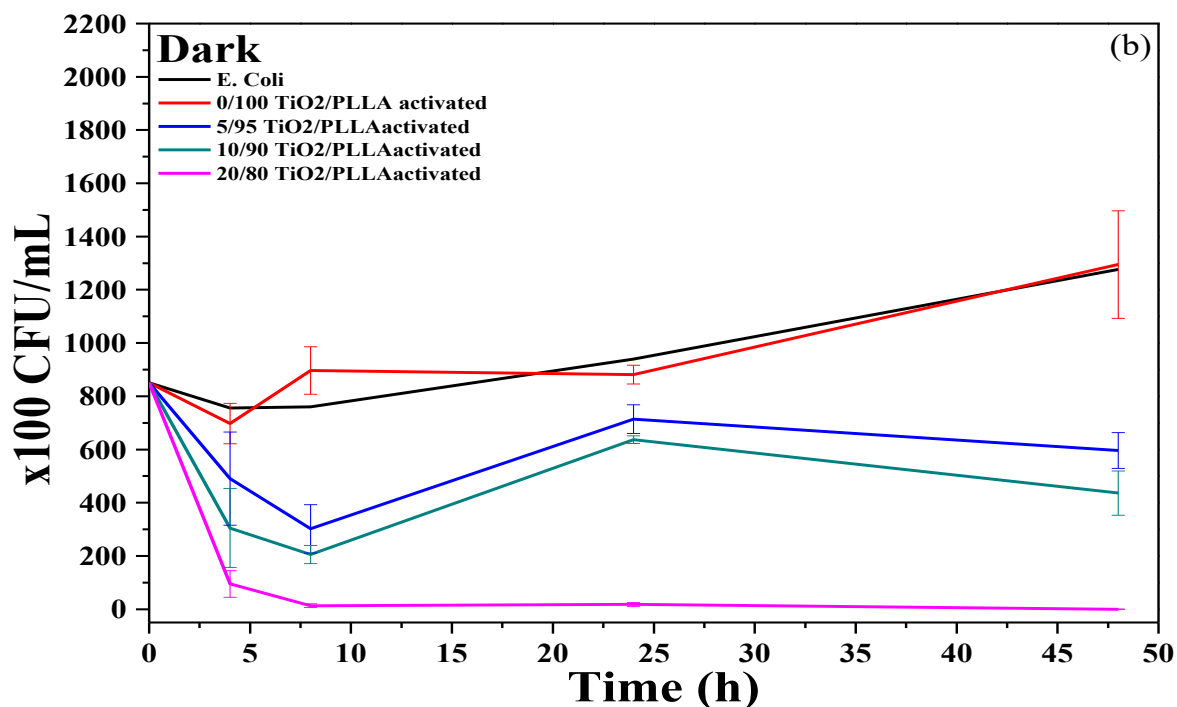
5.8 Αποτελέσματα

Σύμφωνα με τις καμπύλες βακτηριακής ανάπτυξης των μη ακτινοβλημένων και των ακτινοβλημένων μεμβρανών μη ενισχυμένου PLLA στο σκοτάδι (Διαγράμματα 1,2) δεν παρατηρήθηκε αντιβακτηριακή δράση, ανεξάρτητα από τη διάρκεια των πειραμάτων. Η διαπίστωση αυτή έγινε και οπτικά από την εξέταση των βακτηριακών αποικιών στα τρυβλία με το άγαρ, όπου δε διαπιστώθηκε επίδραση στο ρυθμό ανάπτυξης του βακτηριακού πληθυσμού συγκριτικά με το δείγμα αναφοράς. Η μείωση του αριθμού των βακτηρίων στην επιφάνεια των μεμβρανών με μη ακτινοβλημένα νανοσωματίδια διοξειδίου της τιτανίας δεν ήταν τόσο σημαντική στο σκοτάδι. Παρόλα αυτά, τα συγκεκριμένα νανოსύνθετα εμφάνισαν βακτηριοστατική συμπεριφορά περιορίζοντας τον αριθμό των βακτηριακών αποικιών.



Διάγραμμα 1: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια *E. Coli*, των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO₂ μη ενεργοποιημένων, στο σκοτάδι.

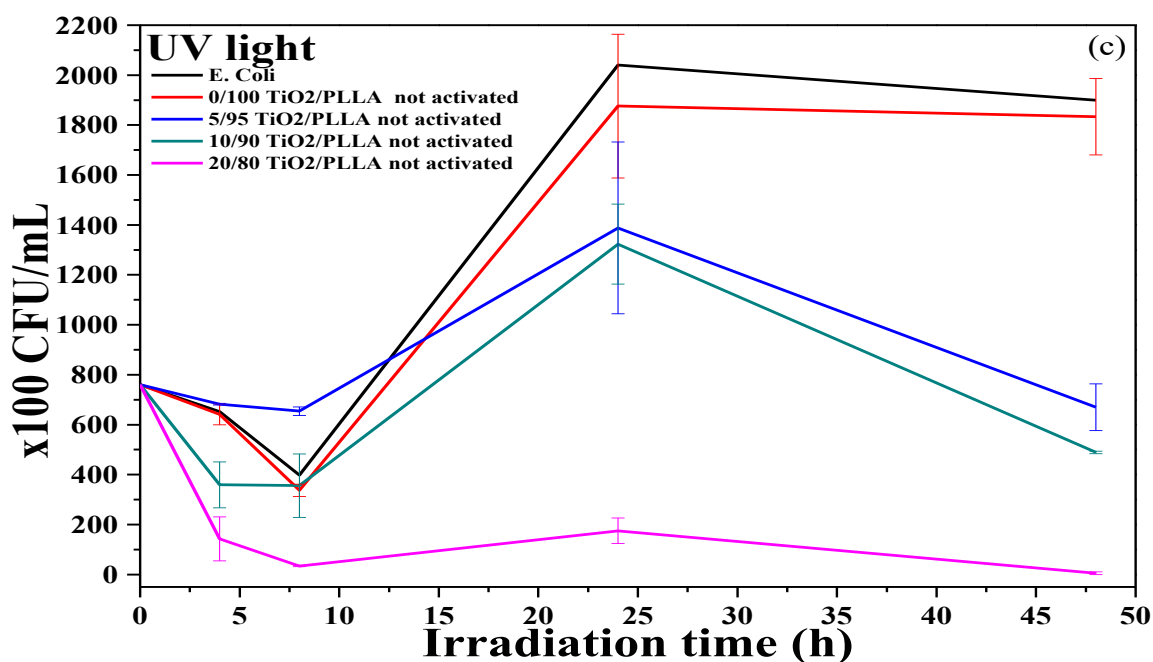
Στο Διάγραμμα 2 φαίνεται η αντιβακτηριακή δράση στο σκοτάδι των νανοσυνθέτων στα οποία έχει προηγηθεί η ενεργοποίηση της τιτανίας. Η συγκέντρωση των μονάδων σχηματισμού αποικιών/ mL στα νανοσύνθετα με 5, 10 και 20 wt% τιτανία μειώθηκε κατά 40, 65 και 90% αντίστοιχα τις 4 πρώτες ώρες. Μετά το πέρας των 8 ωρών στο σκοτάδι, η αντιβακτηριακή δράση αυξήθηκε φτάνοντας το 65, 76 και 100 % αντίστοιχα. Στα νανοσύνθετα του πολυ(γαλακτικού οξέος) με 5 και 10 wt% ενεργοποιημένη τιτανία έγινε σημαντική καταστολή της βακτηριακής ανάπτυξης. Μετά την κατανάλωση των οξειδωτικών ριζών, που είχαν σχηματιστεί κατά τη διαδικασία της φωτοενεργοποίησης, διαπιστώθηκε αύξηση του βακτηριακού πληθυσμού καθώς ο αντιβακτηριακός παράγοντας δεν ήταν πλέον παρόν στην επιφάνεια των νανοσυνθέτων. Παρόλα αυτά, μετά τις 24 ώρες στο σκοτάδι, τα νανοσύνθετα εμφάνισαν βακτηριοστατική συμπεριφορά. Τα νανοσύνθετα με 20 wt% ενεργοποιημένη τιτανία εμφάνισαν βακτηριοκτόνο δράση εμποδίζοντας την ανάπτυξη των βακτηρίων με αυτήν τη συγκέντρωση μετά τις 8 ώρες.



Διάγραμμα 2: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια *E. Coli*, των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO₂ ενεργοποιημένων, στο σκοτάδι.

Η άμεση μείωση του βακτηριακού πληθυσμού τις πρώτες 8 ώρες συνεχούς ακτινοβολήσης στο θάλαμο UV, τόσο στο δείγμα αναφοράς όσο και στην επιφάνεια των νανοσυνθέτων (Διαγράμματα 3,4) υποδηλώνει τον ταχέως επαγόμενο κυτταρικό θάνατο, μετά την έκθεση των δειγμάτων στη UV ακτινοβολία. Στο διάγραμμα 3 παρατηρείται μία δυναμική αντιβακτηριακής δράσης τριών βημάτων στην επιφάνεια των νανοσυνθέτων με ποσοστό μικρότερο του 20 wt% σε μη ενεργοποιημένη τιτανία. Η καμπύλη επιβίωσης των βακτηρίων φαίνεται να αποτελείται από ένα αρχικά 'φωτοκτόνο' βήμα μέχρι τις 8 ώρες ακτινοβολήσης. Αυτό το φαινόμενο εμφανίζεται πιο έντονο με την αύξηση της συγκέντρωσης της τιτανίας στα νανοσύνθετα. Τα δείγματα με 10 wt% μη ακτινοβολημένη τιτανία εμφάνισαν βακτηριοστατική συμπεριφορά ανάμεσα στις 4 και τις 8 ώρες ακτινοβολήσης. Μετά την κατανάλωση της πλειοψηφίας των ριζών στην καταστροφή των βακτηριακών κυττάρων, παρατηρήθηκε αύξηση του βακτηριακού πληθυσμού στο χρονικό διάστημα μεταξύ 8 και 24 ωρών λόγω της έλλειψης του αντιβακτηριακού παράγοντα από την επιφάνεια των νανοσυνθέτων. Μία άλλη ερμηνεία θα μπορούσε να είναι η ανεπαρκής επαφή των βακτηρίων με τα νανοσωματίδια, λόγω του όγκου των νεκρών κυττάρων στη βακτηριακή διασπορά και υπολειμμάτων από τις αντιδράσεις που προκαλούν την απώλεια ενεργών κέντρων λόγω συσσώρευσής τους στην επιφάνεια του φωτοκαταλύτη. Επίσης

είναι πιθανό να έχουν απορροφηθεί χημικά κάποια ενδιάμεσα προϊόντα, καθυστερώντας σταδιακά τη φωτοκαταλυτική αντίδραση μέχρι να σταματήσει λόγω έλλειψης οξειδωτικών ριζών. Τελικά, ακολουθεί μία ακόμη 'φωτοκτόνος' δράση συναρτήσει του χρόνου έκθεσης στη UV ακτινοβολία. Έγινε παραγωγή καινούριων ριζών, ως αποτέλεσμα του φωτοκαταλυτικού μηχανισμού των νανοσωματιδίων της τιτανίας, που λάμβανε χώρα κατά τη συνεχή έκθεση των δειγμάτων στη UV ακτινοβολία από τις 8 μέχρι τις 24 ώρες. Είναι εμφανές από τα προφίλ βακτηριακής ανάπτυξης (Διάγραμμα 3) ότι η καμπυλότητα των νανοσυνθέτων με μη ενεργοποιημένα νανοσωματίδια τιτανίας, υπό συνεχή UV ακτινοβολία, εξαρτάται από τη συγκέντρωση της τιτανίας. Δίνεται έτσι έμφαση στο ρόλο των νανοσωματιδίων της τιτανίας στην καταστολή της βακτηριακής ανάπτυξης. Επομένως, τα δείγματα ανέστειλαν τη βακτηριακή αναπαραγωγή δρώντας ως βακτηριοστατικοί παράγοντες. Όσον αφορά στο νανοσύνθετο με 20 wt% μη ενεργοποιημένη τιτανία, η ανάπτυξη των βακτηριακών αποικιών είχε αποτελεσματικά κατασταλεί με 80 % μείωση, υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες, σε 4 ώρες (Διάγραμμα 3).

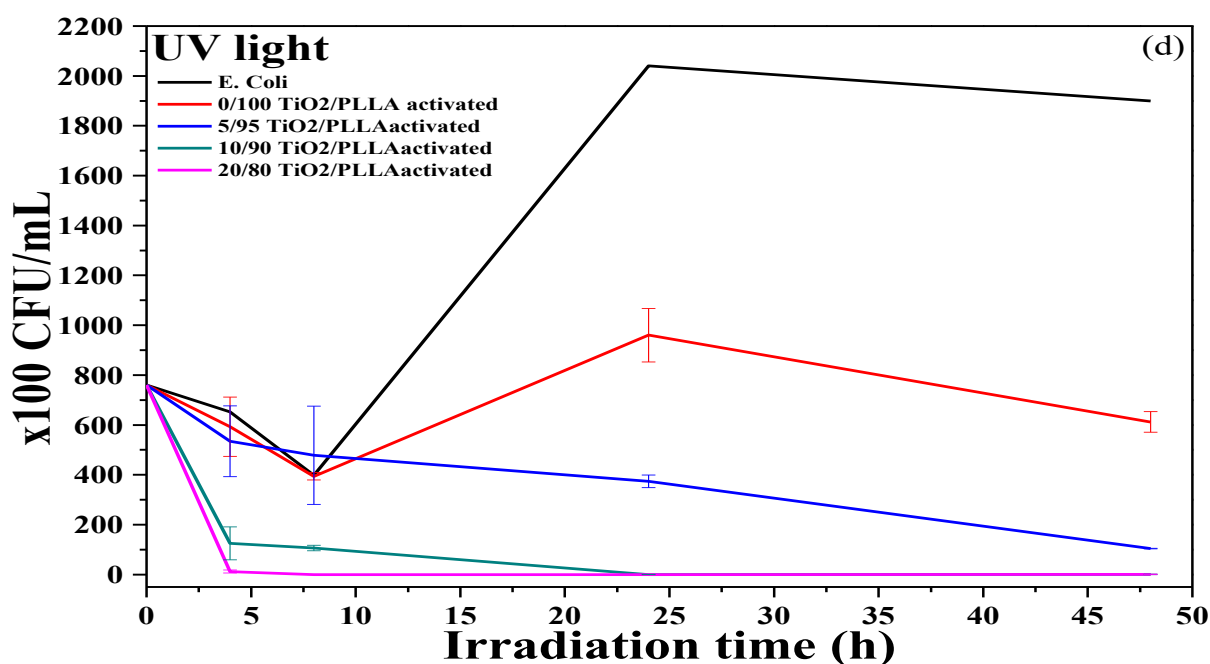


Διάγραμμα 3: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια *E. Coli*, των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO₂ μη ενεργοποιημένων, υπό UV ακτινοβολία ακτινοβολία.

Η φθίνουσα πορεία του βακτηριακού πληθυσμού στην επιφάνεια των νανοσυνθέτων, που περιείχαν 5, 10 και 20 wt% νανοσωματίδια ενεργοποιημένης τιτανίας, υπό συνεχή ακτινοβολία ακολουθεί απλή εκθετική μείωση, ενός βήματος, σε αντίθεση, με τη σκέτη πολυμερική μήτρα, που όμως έχει ακτινοβοληθεί στις ίδιες συνθήκες προεργασίας (Διάγραμμα 4). Ο θάνατος του συνολικού αριθμού των βακτηρίων πραγματοποιήθηκε σε προοδευτικά συντομότερα χρονικά διαστήματα με την αύξηση της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων ενεργοποιημένης τιτανίας στα νανοςύνθετα. Η αύξηση της περιεκτικότητας σε νανοσωματίδια στην επιφάνεια των ακτινοβολημένων νανοσυνθέτων οδήγησε σε αύξηση της κατανομής των οξειδωτικών ριζών που παρήχθησαν κατά τη φωτοενεργοποίηση αλλά και λόγω του μηχανισμού φωτοκαταλυτικής δράσης. Η αύξηση του αντιβακτηριακού παράγοντα προκάλεσε υπεροξείδωση της πολυακόρεστης φωσφολιπιδιακής κυτταρικής μεμβράνης των βακτηρίων, οδηγώντας στην απώλεια της αναπνευστικής τους δραστηριότητας, κάτι που τα σκότωσε (66). Είναι εμφανές ότι συγκριτικά με τα προηγούμενα εξεταζόμενα συστήματα, τα συγκεκριμένα νανοςύνθετα όχι μόνο καταστέλλουν ολοκληρωτικά τη βακτηριακή ανάπτυξη αλλά είναι επιπλέον ικανά να σκοτώσουν τις αρχικές αποικίες E.coli, έχοντας βακτηριοκτόνο δράση.

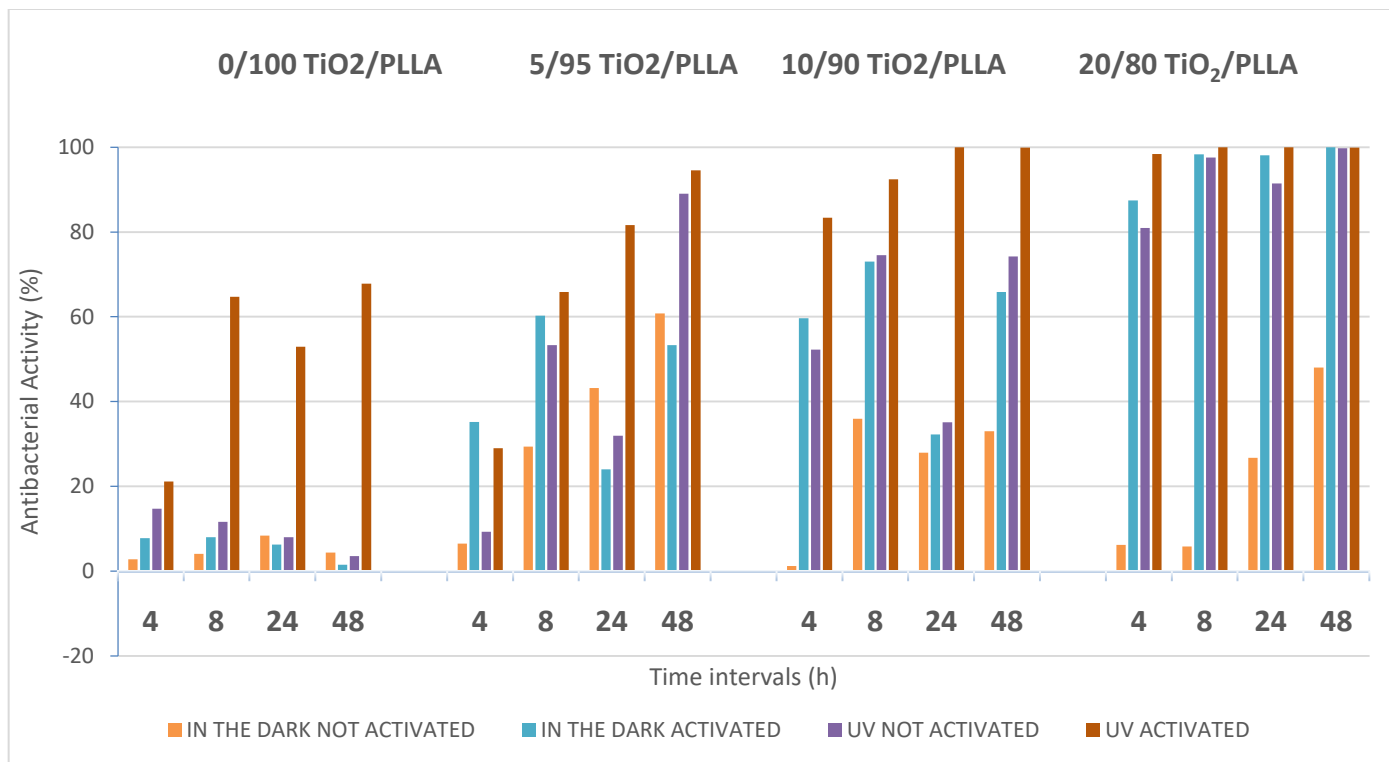
Η μήτρα του πολυ(L-γαλακτικού οξέος) δεν εμφάνισε αντιβακτηριακή δράση όταν εξετάστηκε στο σκοτάδι, είτε με είτε χωρίς να έχει προηγηθεί ακτινοβολία της. Η εξέλιξη της ανάπτυξης των βακτηρίων E. Coli στην επιφάνεια των μεμβρανών του πολυ(L-γαλακτικού οξέος) ακολούθησε την ίδια πορεία με την ανάπτυξη των βακτηρίων χωρίς υπόστρωμα. Η συνεχής έκθεση στη UV ακτινοβολία των μεμβρανών του πολυ(γαλακτικού οξέος) που είχαν ακτινοβοληθεί για 36 ώρες πριν τη μελέτη της αντιμικροβιακής τους δράσης φαίνεται να οδηγεί στη μείωση των βακτηριακών αποικιών σε ποσοστό 53% στις 24 ώρες και 68% στις 48 ώρες, σε σύγκριση με τις βακτηριακές αποικίες χωρίς υπόστρωμα. Ο μηχανισμός που προτείνεται για τη συμπεριφορά του PLLA στην έκθεσή του σε ακτινοβολία UV, αφορά σε αποτελέσματα που ελήφθησαν με πηγή φωτός που εκπέμπει στην περιοχή UV από τα 200 nm, επομένως, σε μία περιοχή όπου οι καρβονυλικές ομάδες (C=O) ενός αλειφατικού πολυεστέρα μπορούν να απορροφήσουν ενέργεια και συνεπώς οδηγούν σε φωτοαντίδραση. Σύμφωνα, λοιπόν, με το μηχανισμό Norrish II του καρβονυλίου ενός πολυεστέρα, το σπάσιμο της αλυσίδας του πολυ(L-γαλακτικού οξέος)

οδηγεί στο σχηματισμό υδροϋπεροξειδίου (R-O-OH), δηλαδή υδροξυλίου (O-H) στα νέα άκρα των αλυσίδων που δημιουργούνται (67). Επομένως, οι εξαιρετικά δραστικές ρίζες -OH[•] που απελευθερώθηκαν τόσο κατά την ακτινοβόληση της επιφάνειας των μεμβρανών PLLA, κατά την προεργασία των δειγμάτων αυξήθηκαν λόγω του μηχανισμού αναγέννησης των οξειδωτικών ριζών λόγω οξείδωσης κατά την έκθεση των δοκιμίων στην ακτινοβολία UV οδηγούν στην εμφάνιση βακτηριοστατικής δράσης ενάντια στα κύτταρα των E.coli.



Διάγραμμα 4: Η βακτηριοστατική/βακτηριοκτόνος δράση ενάντια στα βακτήρια E. Coli, των δειγμάτων αναφοράς και των νανοσυνθέτων PLA/TiO₂ ενεργοποιημένων, υπό UV ακτινοβολία ακτινοβολία.

Συγκεντρικώς, τα αποτελέσματα για όλα τα δείγματα φαίνονται στο σχήμα που ακολουθεί:



Διάγραμμα 5: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα βακτηριοστατικής/βακτηριοκτόνου δράσης των δειγμάτων PLA και PLA/TiO₂

Συμπερασματικά, παρατηρήθηκε ότι τα φιλμ καθαρού PLLA χωρίς διοξείδιο του τιτανίου δεν έδειξαν ιδιαίτερη βακτηριοκτόνο δράση. Τα νανοσύνθετα με μη ενεργοποιημένη τιτανία στο σκοτάδι εμφάνισαν την ικανότητα καταστολής της βακτηριακής ανάπτυξης. Η ενεργοποίηση της τιτανίας και η μελέτη της συμπεριφοράς των νανοσυνθέτων στο σκοτάδι είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση εντονότερης βακτηριοστατικής δράσης, και μάλιστα αυξανόμενης, όσο αυξάνεται και η περιεκτικότητα του νανοσυνθέτου σε διοξείδιο του τιτανίου. Στην περίπτωση των νανοσυνθέτων με ενεργοποιημένη τιτανία σε συνθήκες συνεχούς έκθεσης σε υπεριώδες φως, η μείωση των αποικιών E.coli, διατηρείται με το πέρασ του χρόνου ενώ στην περίπτωση της μη ενεργοποιημένης τιτανίας, μετά από ένα χρονικό σημείο φαίνεται να αναστέλλεται η αντιμικροβιακή δράση λόγω εξάντλησης του βακτηριοκτόνου παράγοντα, ο οποίος όμως φαίνεται να αναγεννάται στη συνέχεια. Η ενεργοποιημένη τιτανία με τη συνεχή ακτινοβολία οδήγησε στην παραγωγή του βέλτιστου αριθμού ριζών οδηγώντας σε βακτηριοκτόνο δράση η οποία λάμβανε χώρα συντομότερα αυξανόμενης της περιεκτικότητας των νανοσυνθέτων σε τιτανία. Ιδιαίτερα τα νανοσύνθετα 20/80 TiO₂/PLLA εμφανίζουν την υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση σε σχέση με τα άλλα δείγματα υπό συνεχή ακτινοβολία UV.

Κεφάλαιο 6^ο

Πειραματική μελέτη αποδόμησης PLLA σε συνθήκες UV

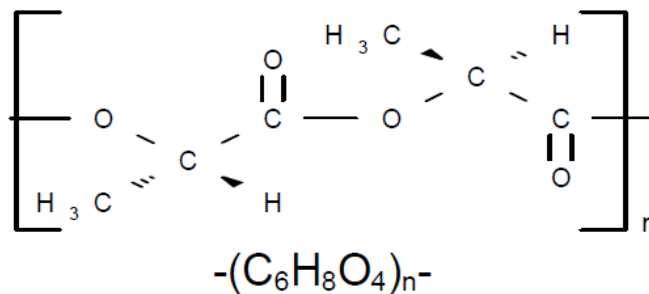
6.1 Εισαγωγή

Η μελέτη της αποδόμησης του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 wt% PLLA με TiO_2 για διάφορες χρονικές στιγμές έγινε με βάση το πρότυπο ISO 4892-2:2006(E) που αφορά μεθόδους έκθεσης πλαστικών σε εργαστηριακές πηγές φωτός και συγκεκριμένα σε λάμπες ξένου, παρουσία υγρασίας ούτως ώστε να προσομοιωθούν οι καιρικές επιδράσεις όταν τα υλικά εκτίθενται στο φυσικό περιβάλλον υπό την παρουσία του ηλιακού φωτός. Χρησιμοποιείται λάμπα ξένου με κατάλληλα φίλτρα που ομοιάζουν τη φασματική κατανομή της δύναμης του ηλιακού φωτός στο υπεριώδες (UV) και στο ορατό φάσμα. Η πηγή φωτός περιλαμβάνει μία ή περισσότερες λάμπες ξένου επικαλυμμένες από χαλαζία που εκπέμπουν ακτινοβολία κάτω από τα 270 nm στο υπεριώδες, μέσω του ορατού φάσματος και μέσα στο υπέρυθρο. Χρησιμοποιούνται φίλτρα προκειμένου να απομακρυνθεί η χαμηλού μήκους κύματος UV ακτινοβολία. Επίσης, σύμφωνα με το πρότυπο, η ακτινοβολία σε κάθε θέση που χρησιμοποιείται για τα δείγματα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον ίση με το 80% της μέγιστης ακτινοβολίας. Όταν δεν τηρείται αυτή η προϋπόθεση, θα πρέπει να γίνεται περιοδική επανατοποθέτηση των δειγμάτων. Επίσης, προτείνεται η τοποθέτηση 3 δειγμάτων από το κάθε είδος για να είναι δυνατή η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Τα δείγματα θα πρέπει να τοποθετούνται με τέτοιο τρόπο που να μην υφίστανται κάποια μηχανική καταπόνηση κατά τη διάρκεια της έκθεσής τους, και η συγκράτησή τους στη συσκευή θα πρέπει να γίνεται από υλικά που αφήνουν την επιφάνειά τους εκτεθειμένη, ώστε να μην επηρεάζεται η ακτινοβολία.

6.2 Πρώτες ύλες

- Πολυ-L-γαλακτικό οξύ (Poly-L-lactide, PLLA)

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) που χρησιμοποιήθηκε ήταν της εταιρείας NatureWorks® (τύπος Ingeo™ 4032D Poly-L-lactide). Η χημική δομή και οι ιδιότητές του παρουσιάζονται παρακάτω:



Εικόνα 6.1: Χημική δομή PLLA

Πίνακας 6.1: Ιδιότητες χρησιμοποιούμενου PLLA

Περιγραφή	Λευκοί κόκκοι
Οσμή	Σχεδόν άοσμο
Εσωτερικό ιξώδες	4 dl/g (0.2% σε χλωροφόρμιο, 30°C)
Υπολείμματα μονομερούς	Μέχρι 0.1%
Υπολείμματα διαλύτη	μέχρι 0.1% σε ακετόνη μέχρι 890 ppm τολουολίου μέχρι 0.1% συνολικά
Νερό	μέχρι 0.5%
Κασσίτερος	μέχρι 60 ppm
Βαρέα μέταλλα	μέχρι 10 ppm
Θεϊκή τέφρα	μέχρι 0.1%

Πριν την επεξεργασία του, το πολυγαλακτικό οξύ ξηραίνεται σε φούρνο κενού στους 80°C για 4 ώρες και πίεση 600mmHg και στη συνέχεια φυλάσσεται σε ξηραντήρες.

- Νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου Aeroxide® TiO₂ P 25 της εταιρείας Evonik Industries με αναλογία βάρους ανατάση/ρουτυλίου 80/20, ειδική επιφάνεια 50±15 m²/g και διάμετρο 21 nm.

6.3 Εξοπλισμός

Πειραματική διάταξη έκθεσης σε UV ακτινοβολία

Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε η συσκευή ATLAS SUNTEST XLS+. Η επιφάνεια έκθεσής της ισούται με 1100 cm^2 και περιλαμβάνει μία λάμπα ξένου (Xenon Lamp) ισχύος 1700 W, η οποία εκπέμπει ταυτόχρονα στα φάσματα UV, ορατού και IR. Η λάμπα ψύχεται με ρεύμα αέρα, σε αντίθεση με άλλα μοντέλα που ψύχονται με νερό. Η ψύξη είναι πολύ σημαντική καθώς η λάμπα ξένου, παρόμοια με τον ήλιο, όχι μόνο εκπέμπει φως αλλά και παράγει μεγάλη ποσότητα θερμικής ακτινοβολίας. Παρόλο που η θέρμανση των δειγμάτων μπορεί να είναι επιδιωκόμενη, τα φίλτρα, η ίδια η λάμπα, καθώς και τα περιβαλλόμενα στοιχεία θα πρέπει να ψύχονται προκειμένου να αποφευχθεί η υπερθέρμανση, μια πιθανή ζημιά και η γήρανση. Το είδος της τεχνολογίας της ψύξης της συσκευής (ψύξη με αέρα ή νερό) δεν επηρεάζει την κατανομή του φάσματος.



Εικόνα 6.2: Συσκευή ATLAS SUNTEST XLS+

Οι πειραματικές συνθήκες που εφαρμόστηκαν είναι οι εξής: ακτινοβολήση στα 300-800 nm με ένταση 765 W/m^2 και θερμοκρασία εντός θαλάμου ίση με 50°C .

Εξετάστηκαν δείγματα PLLA και νανοσύνθετα 10/90 TiO_2 /PLLA χωρίς ακτινοβολήση, και με ακτινοβολήση για χρονικές διάρκειες 50, 114 και 210 ωρών.

Τα νανοσύνθετα παρήχθησαν με τεχνική ανάμειξης τήγματος σε δικόχλιο εκβολέα, όπως ακριβώς και στα αντιμικροβιακά πειράματα. Για την τελική μορφοποίηση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε υδραυλική πρέσσα και τα δείγματα είχαν τελική μορφή dogbone.



Εικόνα 6.3: Δοκίμια σε μορφή dogbones τοποθετημένα στη συσκευή SUNTEST XLS+

6.4 Μέθοδοι χαρακτηρισμού

6.4.1 Προσδιορισμός Μοριακού Βάρους- Ιξωδομετρία

Το μοριακό βάρος είναι μια από τις πιο θεμελιώδεις παραμέτρους για το χαρακτηρισμό ενός πολυμερούς. Στη βιομηχανία πολυμερών χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο 2 μέθοδοι προσδιορισμού του μοριακού βάρους: η χρωματογραφία μέσω πηκτής, GPC (Gel Permeation Chromatography), που είναι επίσης γνωστή ως χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών, SEC (Size Exclusion Chromatography) και η ιξωδομετρία διαλυμάτων, που θα χρησιμοποιηθεί και στην παρούσα εργασία. Η πρώτη τεχνική είναι μια χρωματογραφική τεχνική που επιστρατεύει εξειδικευμένες στήλες για το διαχωρισμό φυσικών και συνθετικών πολυμερών, βιοπολυμερών ή πρωτεϊνών με βάση το μέγεθός τους. Η ανάλυση είναι πολύ γρήγορη συγκρινόμενη με παλαιότερες τεχνικές και μπορεί να γίνει μέσα σε

λίγες ώρες. Ωστόσο, αποτελεί μια σχετική μέθοδο και χρειάζεται σταθερές μοριακού βάρους για τη βαθμονόμηση ούτως ώστε να καθοριστεί η σχέση μεταξύ του όγκου έκλυσης και του μοριακού βάρους. Έτσι, η ιξωδομετρία διαλύματος αποτελεί την πιο εύκολη, οικονομική και ταχεία μέθοδο για τον καθορισμό του μοριακού βάρους ενός πολυμερούς, παρόλο που δεν είναι απόλυτη και απαιτεί επίσης τον καθορισμό συγκεκριμένων σταθερών.

Προσδιορισμός του μοριακού βάρους από το εσωτερικό ιξώδες

Το 1930, ο Staudinger και ο Heuer ήταν οι πρώτοι που επιχείρησαν να συσχετίσουν το εσωτερικό ιξώδες $[\eta]$ με το μοριακό βάρος M του διαλυμένου πολυμερούς.

Ο οριακός αριθμός ιξώδους συνδέεται με το μέσου-ιξώδους μοριακό βάρος, μέσω της εξίσωσης των Mark-Houwink-Sakurada:

$$[\eta] = KM_v^a \quad (5)$$

όπου K και a σταθερές για ορισμένη θερμοκρασία και σύστημα πολυμερούς-διαλύτη.

Πίνακας 6.2: Οι σταθερές των Mark-Houwink για το PLA σε επιλεγμένους διαλύτες (68)

Polymer types	Equations	Conditions
(1) PLLA	$[\eta] = 5.45 \times 10^{-4} M_v^{0.73}$	25 °C in chloroform
(2) PDLLA	$[\eta] = 1.29 \times 10^{-3} M_v^{0.40}$	25 °C in chloroform
(3) PDLLA	$[\eta] = 2.21 \times 10^{-4} M_v^{0.70}$	25 °C in chloroform
(4) Linear PLLA	$[\eta] = 4.41 \times 10^{-4} M_v^{0.72}$	25 °C in chloroform
(5) "Star" PLLA (six arms)	$[\eta] = 2.04 \times 10^{-4} M_v^{0.77}$	25 °C in chloroform
(6) PDLLA	$[\eta] = 2.59 \times 10^{-4} M_v^{0.40}$	35 °C in THF
(7) PDLLA	$[\eta] = 5.50 \times 10^{-4} M_v^{0.48}$	31.15 °C in THF
(8) PLLA (amorphous)	$[\eta] = 6.40 \times 10^{-4} M_v^{0.48}$	30 °C in THF
(9) PLLA (amorphous/semi-crystalline)	$[\eta] = 8.50 \times 10^{-4} M_v^{0.46}$	30 °C in THF
(10) PLLA (semi-crystalline)	$[\eta] = 1.00 \times 10^{-2} M_v^{0.25}$	30 °C in THF
(11) PDLLA	$[\eta] = 2.27 \times 10^{-4} M_v^{0.75}$ (one point method)	30 °C in benzene Tsun-Fuoss viscometer
(12) PDLLA	$[\eta] = 1.58 \times 10^{-4} M_v^{0.78}$	25 °C in ethyl acetate

Στη συνέχεια, αναφέρονται οι σταθερές K και a , που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους των δειγμάτων PLLA (69).

$K=5.45 \times 10^{-4} \text{ dl/g}$ και $a= 0.73$ (σε χλωροφόρμιο, 30°C)

Τριχοειδές Ιξωδόμετρο

Η αρχή λειτουργίας των τριχοειδών ιξωδομέτρων βασίζεται στη μέτρηση της ταχύτητας ροής των προς εξέταση υγρών, διαμέσου τριχοειδών σωλήνων, υπό την επίδραση της βαρύτητας ή εξωτερικώς εφαρμοζόμενης πίεσεως. Είναι όργανα που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση του κινηματικού ιξώδους διάφανων νευτωνικών υγρών.

Η διάλυση ενός πολυμερούς σ' ένα διαλύτη περιλαμβάνει δύο διαδικασίες μεταφοράς: τη διάχυση του διαλύτη και την απεμπλοκή των αλυσίδων. Όταν ένα άμορφο, υαλώδες ή χωρίς σταυροδεσμούς πολυμερές έρθει σε επαφή με ένα θερμοδυναμικά συμβατό διαλύτη, ο διαλύτης διαχέεται στο πολυμερές. Λόγω της πλαστικοποίησης του πολυμερούς από το διαλύτη, σχηματίζεται ένα διογκωμένο στρώμα στην επιφάνεια με μορφή γέλης, με δύο διαφορετικές διεπιφάνειες, μία μεταξύ του υαλώδους πολυμερούς και της γέλης και μία μεταξύ της γέλης και του διαλύτη. Μετά το πέρας του χρόνου, το πολυμερές διαλύεται.

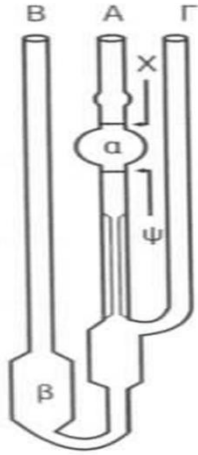
Διαδικασία παρασκευής δειγμάτων

Για τον υπολογισμό του μοριακού βάρους του παρθένου πολυγαλακτικού οξέος και των νανοσυνθέτων με διοξείδιο του τιτανίου πριν αλλά και μετά τις διαδικασίες μορφοποίησης και αποικοδόμησης γίνεται παρασκευή δειγμάτων 0.2% w/v σε διαλύτη χλωροφόρμιο (CH_3Cl). Τα δείγματα αυτά τίθενται υπό μαγνητική ανάδευση για 4 ώρες ώστε να διαλυθεί το πολυγαλακτικό οξύ. Κάθε φορά οι συνθήκες είναι οι ίδιες και μετρούνται δύο δείγματα για την εξασφάλιση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων.

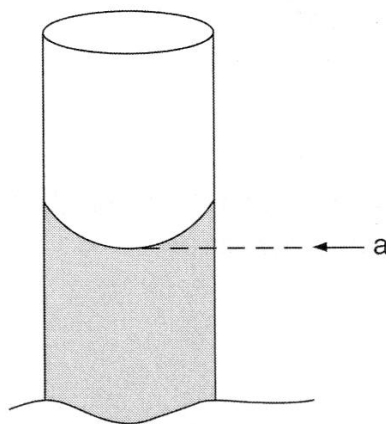
Το τριχοειδούς ροής ιξωδομέτρο της πειραματικής διαδικασίας ήταν τύπου Ubbelohde (Calibrated UBC Series 9721-R53 Size 0C) σταθεράς $K_{\text{ιξωδομέτρου}}=0,002807 \text{ mm}^2/\text{sec}^2$ και τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 30°C .

Διαδικασία μέτρησης

Εισάγονται 11-12 ml του διαλύματος στο δοχείο αραιώσεων του ιξωδομέτρου μέσω του σωλήνα εισόδου δείγματος. Στη συνέχεια, το ιξωδομέτρο τοποθετείται στο λουτρό και αφήνεται 10 λεπτά για να αποκτήσει τη θερμοκρασία του λουτρού. Τοποθετείται το πουάρ στο σωλήνα με το τριχοειδές, κλείνεται ο σωλήνας εξισορρόπησης πίεσης και γίνεται αναρρόφηση του διαλύματος, μέχρι ο μηνίσκος (μέτωπο) να φτάσει στον υποδοχέα υπερχείλισης. Κατόπιν ελευθερώνονται οι σωλήνες εξισορρόπησης πίεσης και τριχοειδούς και μετράται ο χρόνος που χρειάζεται το μέτωπο για να περάσει ανάμεσα από τις δύο ενδείξεις, που βρίσκονται πάνω και κάτω από τον υποδοχέα του προς μέτρηση δείγματος. Η μέτρηση επαναλαμβάνεται μέχρις ότου να προκύψουν μετρήσεις με διαφορά μικρότερη των 0.1 sec.



Εικόνα 6.4: Ιξωδόμετρο τύπου Ubbelohde. Α: Σωλήνας με τριχοειδές, Γ: Σωλήνας εξισορρόπησης πίεσης, Β: Σωλήνας εισόδου δείγματος, α: Υποδοχέας ένδειξης υγρού



Εικόνα 6.5: Παρακολουθείται πάντα το κάτω άκρο (α) του μηνίσκου του μετώπου του διαλύματος ή του διαλύτη.

6.4.2 Περίθλαση ακτίνων Χ (X-Ray Diffraction, XRD)

Αρχή της μεθόδου

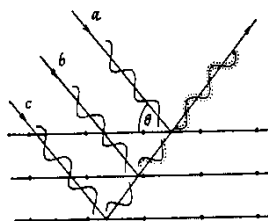
Στην οπτική περιοχή, η μελέτη του φάσματος και της κατανομής της ενέργειας στα διάφορα μήκη κύματος επιτυγχάνεται κυρίως με δύο μεθόδους:

1. της διάθλασης από πρίσματα, και
2. της περίθλασης από κατάλληλο φράγμα.

Επειδή όμως και οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν δυσκολίες, η κυριότερη μέθοδος έρευνας του φάσματος στηρίζεται στην περίθλαση των ακτινών Χ από τους κρυστάλλους οι οποίοι

ενεργούν σαν φυσικά τρισδιάστατα φράγματα. Η χρησιμοποίηση αυτή των κρυστάλλων είναι άμεση συνέπεια της θεώρησης του φαινομένου της περίθλασης από τον Bragg σαν ισοδύναμο με ανάκλαση της προσπίπτουσας δέσμης από τα διάφορα δικτυωτά επίπεδα του κρυστάλλου. Η περίθλαση μελετάται περισσότερο στην κρυσταλλογραφία, κι αυτό γιατί τα μήκη κύματος των ακτινών X είναι περίπου ίσα με τις αποστάσεις μεταξύ των ατόμων μέσα στον κρύσταλλο.

Ο William L. Bragg έδειξε ότι οι ακτίνες X συμπεριφέρονται ως δημιουργοί της απεικόνισης της κρυσταλλικής δομής, όταν αυτές περιθλώνται σε έναν κρύσταλλο. Η διασπορά από ένα μέσο συνεχές σε δύο διαστάσεις, όπως ένα επίπεδο ατόμων σε μια δομή κρυστάλλου, καλείται ανάκλαση. Ωστόσο, οι όροι περίθλαση και ανάκλαση μπορούν να χρησιμοποιηθούν αδιακρίτως και οι δύο. Έτσι, αν ακτίνες X πέσουν σε ένα επίπεδο ατόμων με γωνία πρόσπτωσης θ , οι ακτίνες θα διαπεράσουν τα στρώματα των ατόμων και θα δώσουν την απεικόνισή τους. Αυτό διαφαίνεται και στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 6.6: Ανάκλαση ακτίνων X από παράλληλα επίπεδα.

Από το παραπάνω σχήμα φαίνεται ότι η a ακτίνα ανακλάται από το πρώτο επίπεδο, η b από το δεύτερο και η c από το τρίτο κλπ. Αυτές οι ακτίνες όμως βρίσκονται σε φάση. Οι περιθλώμενες ακτίνες που βρίσκονται σε φάση πρέπει να ικανοποιούν το νόμο του Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (6)$$

όπου:

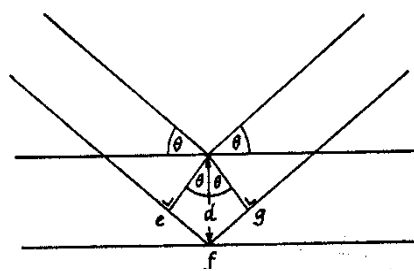
n ακέραιος αριθμός,

λ το μήκος κύματος των ακτινών X,

d η απόσταση μεταξύ των επιπέδων των ατόμων και

θ η συμπληρωματική της γωνίας πρόσπτωσης (70).

Αυτό φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα:



Εικόνα 6.7: Ανάκλαση ακτίνων Χ.

Οι παράμετροι λοιπόν που βρίσκονται στη διάθεση ενός πειραματικού ερευνητή είναι το μήκος κύματος λ της ακτινοβολίας και η γωνία θ . Ζητούμενο είναι τα διαφορετικά d . Έτσι τυπικά μπορεί κανείς να μεταβάλλει είτε το μήκος κύματος της ακτινοβολίας με σταθερή γωνία, είτε τη γωνία με σταθερό μήκος κύματος μέχρι να πάρει σύμφωνη σκέδαση. Έτσι, είτε διατηρείται σταθερό το θ και μεταβάλλεται το λ (Μέθοδος Laue), είτε διατηρείται σταθερό το λ και μεταβάλλεται η γωνία θ (μέθοδοι κόνεως και περιστροφής).

Από τα σημαντικότερα προβλήματα, τα οποία εμφανίζονται κατά την εξέταση των υλικών με ακτίνες Χ είναι η απορρόφηση των ακτίνων Χ από τα υλικά, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα τον περιορισμό της διεισδυτικότητας των ακτίνων Χ σε ικανό βάθος και κατά συνέπεια η μη άντληση ικανών στοιχείων, τα οποία είναι χρήσιμα για την ποιοτική και κυρίως την ποσοτική ανάλυση του εξεταζόμενου υλικού (71).

Πειραματική διαδικασία

Τα δείγματα PLLA καθώς και τα νανοσύνθετα $TiO_2/PLLA$, που παρασκευάστηκαν με την τεχνική ανάμιξης τήγματος, τήχθηκαν σε θερμοκρασία $200^\circ C$ για 5 λεπτά σε θερμόπρεσσα. Τα films, που προέκυψαν κόπηκαν σε κυκλικά δοκίμια διαμέτρου 3cm και πάχους περίπου 1mm και τοποθετήθηκαν στη διάταξη XRD της Εικόνας 6.8, σε θερμοκρασία δωματίου. Τα πειράματα διεξήχθησαν με περιθλασίμετρο (40 kV, 30 mA), με ακτινοβολία Cu (μήκος κύματος $\lambda=0.154$ nm), ρυθμού $2^\circ/\text{min}$ σε εύρος $5-50^\circ C$.



Εικόνα 6.8: 5000 Diffractometer Siemens

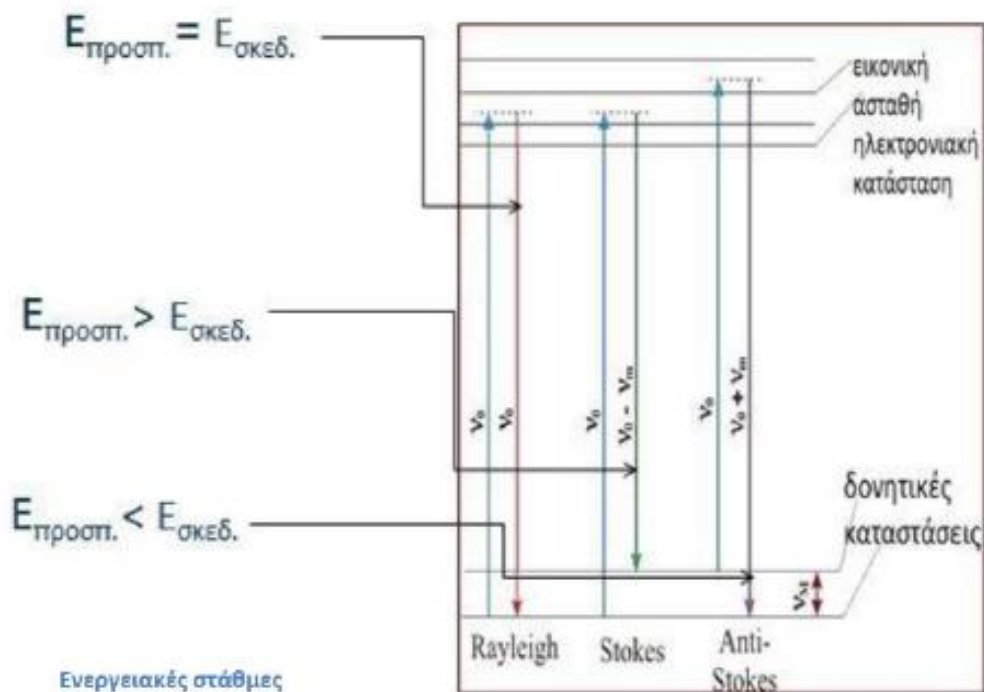
6.4.3 Φασματοσκοπία Raman

Περιγραφή μεθόδου

Η φασματοσκοπία Raman είναι μια μέθοδος που ερευνά την ανελαστική σκέδαση του ορατού φωτός, η οποία προκαλείται από τα μόρια της ύλης. Η διεργασία αυτή είναι γνωστή ως φαινόμενο Raman. Όταν ένα φωτόνιο ορατού φωτός, με ενέργεια αρκετά χαμηλή ώστε να διεγείρει ηλεκτρονική μετάπτωση, αλληλεπιδρά με ένα μόριο, δύναται να σκεδαστεί ανελαστικά είτε δίνοντας είτε παίρνοντας ενέργεια από αυτό.

Φωτόνια που υπόκεινται σε ανελαστικό χάσιμο ενέργειας, δίνουν τη σκέδαση Stokes που συνδέεται με μετάπτωση του μορίου σε επίπεδο υψηλότερης ενέργειας. Αντίθετα, φωτόνια που κερδίζουν ενέργεια, δίνουν τη σκέδαση anti-Stokes που προέρχεται από μετάπτωση σε χαμηλότερη ενεργειακή στάθμη από αυτή που βρισκόταν πριν το μόριο.

Στην Εικόνα 6.9 παρουσιάζεται το ενεργειακό διάγραμμα αυτών των ειδών σκέδασης καθώς και της ελαστικής σκέδασης Rayleigh (72).

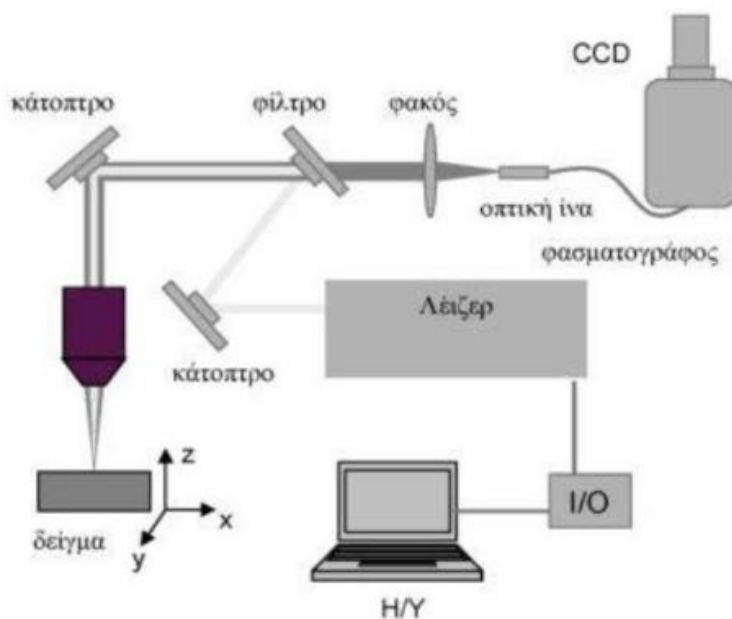


Εικόνα 6.9: Ενεργειακό διάγραμμα για την κατανόηση της σκέδασης

Κάθε χημικό είδος δίνει το δικό του χαρακτηριστικό δονητικό φάσμα Raman, το οποίο μπορεί εύκολα να χρησιμοποιηθεί για τον ποιοτικό του προσδιορισμό. Γενικά, το φάσμα ενός είδους επηρεάζεται ελάχιστα από την ανάμιξή του με άλλα είδη. Είναι σημαντικό να αναφερθεί, ότι μιας και το φάσμα αποτελείται συνήθως από καλά σχηματισμένες οξείες γραμμές (κορυφές), παραμένει ευδιάκριτο και αναγνωρίσιμο για σκοπούς ποιοτικής ανάλυσης. Σε αντίθεση με τη φασματοσκοπία IR, η μέθοδος Raman είναι πολύ εύκολα εφαρμόσιμη και σε υγρά μέσα.

Σε συστήματα όπου συμβαίνουν χημικές αλληλεπιδράσεις, η παρουσία νέων χημικών ειδών μπορεί να ανιχνευτεί με την εμφάνιση νέων κορυφών στο φάσμα. Η μέθοδος δεν διαταράσσει καταστάσεις χημικής ισορροπίας, δίνοντας έτσι πληροφορίες για χημικώς κινητικά είδη τα οποία δεν θα μπορούσαν με κανένα τρόπο να γίνουν αντιληπτά με τις συνήθεις αναλυτικές μεθόδους. Έτσι, είναι προφανώς το πιο ισχυρό διαθέσιμο μέσο μελέτης ιοντικών ειδών και της ισορροπίας τους σε υδατικά διαλύματα ή τήγματα. Καθώς η ένταση μιας χαρακτηριστικής κορυφής Raman προσεγγιστικά αναλογεί στην κατ'όγκον συγκέντρωση του μελετούμενου είδους, μετρήσεις σχετικών εντάσεων Raman παρέχουν τη βάση και για ποσοτική ανάλυση.

Μια τυπική πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται για τις αναλύσεις με την τεχνική Raman φαίνεται στην Εικόνα 6.10.



Εικόνα 6.10: Πειραματική διάταξη Raman

Η διάταξη αποτελείται από τα εξής βασικά στοιχεία: (i) Λείζερ, το οποίο ως επί το πλείστον είναι συνεχούς λειτουργίας, (ii) Οπτικά στοιχεία για την καθοδήγηση (κάτοπτρα) και εστίαση της δέσμης (φακούς εστίασης). Συνήθως για την εστίαση στο προς ανάλυση δείγμα χρησιμοποιείται αντικειμενικός φακός μέσω του οποίου πραγματοποιείται και η συλλογή της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας. Επίσης είναι απαραίτητη η χρήση κατάλληλου

φίλτρου (edge filter) πριν την είσοδο της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας Raman στο φασματογράφο το οποίο υποβάλλει την ακτινοβολία σκέδασης Rayleigh στο μήκος κύματος του λέιζερ και επιτρέπει τη διέλευση και ανίχνευση μόνο της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας Raman (Stokes), η οποία αντιστοιχεί σε μήκος κύματος $\lambda > \lambda_{\text{laser}}$. Αυτό το φίλτρο είναι απαραίτητο γιατί οι κορυφές Raman είναι δυνατόν να εμφανίζονται κοντά στη γραμμή του λέιζερ και να μην είναι δυνατόν να γίνουν διακριτές αν η γραμμή τις επικαλύπτει λόγω της έντασής της, δεδομένου ότι η σκέδαση Rayleigh είναι πολύ εντονότερη της σκέδασης Raman, (iii) Οπτική ίνα για τη συλλογή και μεταφορά της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας στην είσοδο του φασματογράφου, (iv) Απεικονιστικό φασματογράφο, (v) Ανιχνευτή CCD για την καταγραφή του σήματος εκπομπής, (vi) Ηλεκτρονικό υπολογιστή με κατάλληλο λογισμικό για τον έλεγχο του πειράματος και την απεικόνιση των φασμάτων (73).

Πειραματική διαδικασία

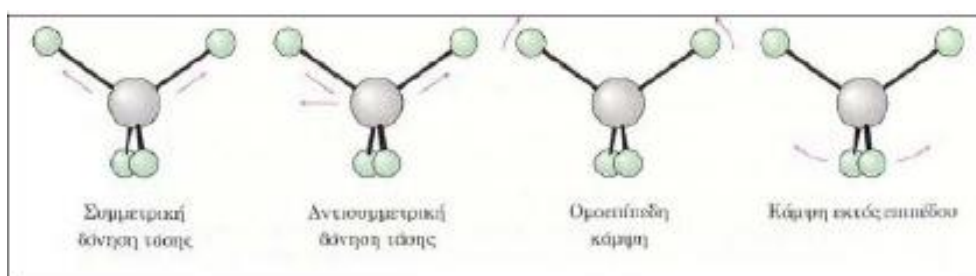
Για το χαρακτηρισμό με φασματοσκοπία Raman χρησιμοποιήθηκε μικροσκόπιο της εταιρίας Renishaw και συγκεκριμένα το μοντέλο inVia. Η ανάλυση εφαρμόστηκε στα δείγματα σε εύρος φάσματος από 400 σε 4000 raman shift/cm⁻¹ και εστιακό μήκος φασματόμετρου ίσο με 532 nm. Τα φάσματα ελήφθησαν σε θερμοκρασία δωματίου και ο χρόνος έκθεσης ήταν 10 sec. Χρησιμοποιήθηκαν 2 πηγές διέγερσης λέιζερ, αυτή του Ar⁺ ($\lambda=514,5$ nm, 2,41 eV) και λέιζερ εγγύς υπέρυθρης ακτινοβολίας NIR ($\lambda=785$ nm, 1,58 eV) με μέγιστη ισχύ 1W. Κατά τη διάρκεια της μέτρησης, η ακτίνα του λέιζερ εστιάζει σε ένα σημείο στην επιφάνεια των δειγμάτων μέσω ενός 100x φακού με τελική ισχύ λέιζερ κάτω των 0,3 mW, ώστε να αποφευχθούν τοπικές θερμάνσεις και μεταπτώσεις φάσεων.

6.4.4 Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier - (Fourier Transform Infrared Spectrometry, FT-IR)

Αρχή της μεθόδου

Η φασματοφωτομετρία υπερύθρου βασίζεται στην απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας από τα μόρια μιας ένωσης, τα οποία διεγείρονται σε υψηλότερες στάθμες δόνησης ή περιστροφής. Ενεργά υπέρυθρες ενώσεις είναι αυτές στις οποίες οι δονήσεις και οι περιστροφές των ατόμων τους έχουν μια διαρκή διπολική ροπή, όπως για παράδειγμα στα μόρια που αποτελούνται από ετεροάτομα ή στα μόρια που αλλάζει η διπολική ροπή κατά τη διάρκεια της περιστροφικής και δονητικής διαδικασίας. Η περιοδική αλλαγή της διπολικής ροπής λόγω περιστροφής ή δόνησης επιτυγχάνεται μόνο με ορισμένες συχνότητες. Απορρόφηση συμβαίνει όταν η προσπίπτουσα ακτινοβολία έχει την ίδια συχνότητα με τη συχνότητα του διπόλου.

Όλα τα μόρια διαθέτουν κάποια συγκεκριμένη ποσότητα ενέργειας κατανομημένη σε όλη τη δομή τους, που προκαλεί στους δεσμούς δονήσεις (επιμηκύνσεις) και κάμψεις. Ταυτόχρονα, εξαιτίας της, τα άτομα πάλλονται και περιστρέφονται, ενώ παρατηρούνται και διάφορες άλλες μοριακές δονήσεις. Μερικές επιτρεπτές μορφές δονήσεων και κάμψεων παρουσιάζονται παρακάτω:



Εικόνα 6.11: Μερικές επιτρεπτές μορφές δονήσεων και κάμψεων

Η ποσότητα ενέργειας που περιλαμβάνει ένα μόριο δε μεταβάλλεται κατά συνεχή τρόπο, αλλά είναι κβαντισμένη, δηλαδή ένα μόριο μπορεί να επιμηκύνεται, να κάμπτεται ή να πάλλεται, σε συγκεκριμένες συχνότητες που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένα ενεργειακά επίπεδα. Αν και συνήθως η αναφορά στα μήκη δεσμών είναι σαν να ήταν σταθερά, οι αριθμοί που αναφέρονται αποτελούν μέσους όρους. Στην πραγματικότητα, οι δεσμοί

συνεχώς δονούνται και κάμπτονται, με συνέπεια το μήκος τους να αυξάνεται και να μειώνεται. Έτσι, ένας τυπικός δεσμός C-H, με μέσο μήκος 1,10Å, στην πραγματικότητα πάλλεται με ορισμένη συχνότητα και διαδοχικά εκτείνεται και συμπιέζεται, σαν να συνέδεε τα δύο άτομα ένα ελατήριο. Όταν το μόριο δέχεται ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, απορροφάται ενέργεια όταν η ενέργεια της ακτινοβολίας είναι ίδια με την ενεργειακή διαφορά μεταξύ των δύο δονητικών συχνοτήτων. Αυτός είναι και ο λόγος που ένα οργανικό μόριο απορροφά κάποια μήκη κύματος της ακτινοβολίας IR και άλλα όχι. Όταν ένα μόριο απορροφά ακτινοβολία IR, η μοριακή δόνηση που έχει συχνότητα ίση με εκείνη της ακτινοβολίας αυξάνει το πλάτος της. Με άλλα λόγια, το “ελατήριο” που συνδέει τα δύο άτομα διαδοχικά εκτείνεται και συμπιέζεται λίγο περισσότερο. Εφόσον κάθε συχνότητα που απορροφάται από ένα μόριο αντιστοιχεί σε μια προκαθορισμένη μοριακή κίνηση, μπορούν να διαπιστωθούν οι κινήσεις του μορίου, μελετώντας το φάσμα IR. Από την ερμηνεία αυτών των κινήσεων μπορούν να βρεθούν τι είδους δεσμοί (λειτουργικές ομάδες) υπάρχουν στο μόριο (74).

Ερμηνεία φασμάτων IR

Συνήθως στα φάσματα απορρόφησης ο οριζόντιος άξονας καταγράφει το μήκος κύματος και ο κατακόρυφος την ένταση των διαφόρων απορροφήσεων ενέργειας ως εκατοστιαία διαπερατότητα (transmittance). Η γραμμή βάσης, που αντιστοιχεί σε απορρόφηση 0% (ή διαπερατότητα 100%), βρίσκεται στην άνω πλευρά του γραφήματος. Έτσι, η δημιουργία μιας κορυφής προς τα κάτω σημαίνει ότι σ' αυτό το μήκος κύματος έλαβε χώρα απορρόφηση ενέργειας. Η πλήρης ερμηνεία ενός φάσματος IR είναι δύσκολη, επειδή τα περισσότερα οργανικά μόρια είναι τόσο μεγάλα, ώστε εμφανίζουν δεκάδες μορφές επιμήκυνσης και κάμψης. Έτσι ένα φάσμα IR περιλαμβάνει δεκάδες περιοχές απορρόφησης.

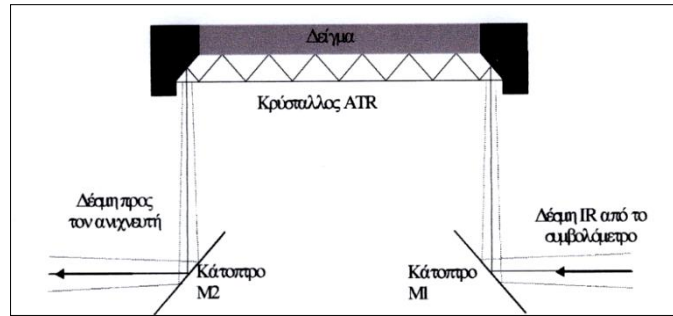
Αυτή η περιπλοκότητα είναι εξαιρετικά χρήσιμη, επειδή ένα φάσμα IR μπορεί να λειτουργήσει σαν ένα είδος δακτυλικού αποτυπώματος για μία συγκεκριμένη ένωση. Για το λόγο αυτό, η περιοχή του φάσματος IR μεταξύ 1500 cm^{-1} και 400 cm^{-1} περίπου αποκαλείται περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος. Εάν δύο ενώσεις έχουν πανομοιότυπα φάσματα IR, τότε είναι σχεδόν βέβαιο ότι είναι όμοιες. Δεν είναι απαραίτητο να

ερμηνευτεί πλήρως ένα φάσμα IR, προκειμένου να ληφθούν χρήσιμες πληροφορίες για τη δομή του μορίου. Οι περισσότερες λειτουργικές ομάδες διαθέτουν συγκεκριμένες περιοχές απορρόφησης, που δεν διαφέρουν από ένωση σε ένωση. Μαθαίνοντας που εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές απορροφήσεις των διαφόρων λειτουργικών ομάδων, μπορούν να αποκτηθούν δομικές πληροφορίες από τα φάσματα IR (74).

Λήψη φάσματος FT-IR με την τεχνική της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης, (ATR)

Η φασματοσκοπία εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (ATR) χρησιμοποιείται για συλλογή φασμάτων από ρευστά υλικά και δειγμάτων σε μορφή φιλμ, όπως πολυμερή, ελαστικά, υφάσματα κτλ. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τη χρήση ενός εξαρτήματος που ονομάζεται ATR. Η υπέρυθη ακτινοβολία μέσω του κατόπτρου M_1 ανακλάται εσωτερικά στον κρύσταλλο από ZnSe με μια γωνία 45° . Η ακτινοβολία στον κρύσταλλο παράγει πρόσκαιρο κύμα και από τις δύο πλευρές του κρυστάλλου. Έτσι, είναι δυνατή η λήψη φασμάτων ουσιών σε υδατικά μειώνοντας έντονα την απορρόφηση του διαλύτη. Όταν το δείγμα τοποθετείται στην επιφάνεια του κρυστάλλου απορροφά ακτινοβολία. Η εναπομένουσα ακτινοβολία ανιχνεύεται απευθείας από τον ανιχνευτή μέσω του κατόπτρου M_2 .

Η φασματοσκοπία εξασθενημένης ανάκλασης αποτελεί μέθοδο εξέτασης της επιφάνειας του δείγματος που σημαίνει ότι το εσωτερικό της μάζας του δείγματος μπορεί να έχει διαφορετική σύσταση. Η λήψη των φασμάτων με το εξάρτημα ATR είναι σχετικά εύκολη διαδικασία. Αρχικά, λαμβάνεται το φάσμα του διαλύτη (φάσμα αναφοράς) και στη συνέχεια το φάσμα του δείγματος. Ο υποδοχέας του δείγματος πρέπει να καθαρίζεται επιμελώς γιατί υπολείμματα στην κρυσταλλική επιφάνεια επηρεάζουν την ποιότητα των φασμάτων που λαμβάνονται. Όταν στο λογισμικό του οργάνου ενεργοποιείται η διόρθωση για τη χρήση του ATR, το φάσμα που λαμβάνεται διορθώνεται αυτόματα ως προς τον κυματαριθμό λαμβάνοντας υπόψη το βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας στο δείγμα (74).



Εικόνα 6.12: Εξάρτημα ATR

Πειραματική διαδικασία

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Nicolet 6700 FTIR (Εικόνα 6.13) για τη μελέτη των δειγμάτων PLLA καθώς και των νανοσυνθέτων 10/90 $TiO_2/PLLA$, που παρασκευάστηκαν με την τεχνική ανάμιξης τήγματος. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν τοποθετήθηκαν επιμελώς στον υποδοχέα που ήταν το smart ARK Accessory. Τα φάσματα συλλέχθηκαν από την πάνω και την κάτω επιφάνεια του κάθε δείγματος σε εύρος $4000-650\text{ cm}^{-1}$ με 100 σκαναρίσματα κατά μέσο όρο, ακρίβεια ανάλυσης 4 cm^{-1} και ταχύτητα 0.6327.



Εικόνα 6.13: Nicolet 6700 FTIR

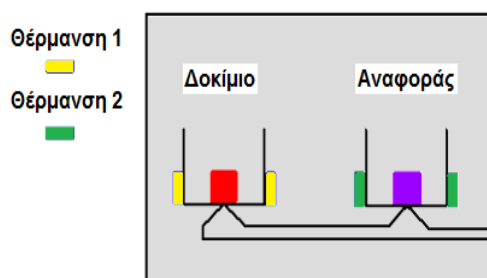
6.4.5 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Αρχή λειτουργίας

Τα σύνθετα που παρασκευάστηκαν, αναλύθηκαν με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC), για την παρατήρηση και τον προσδιορισμό των θερμικών τους μεταπτώσεων.

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 αυτόν 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°C 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 και 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.



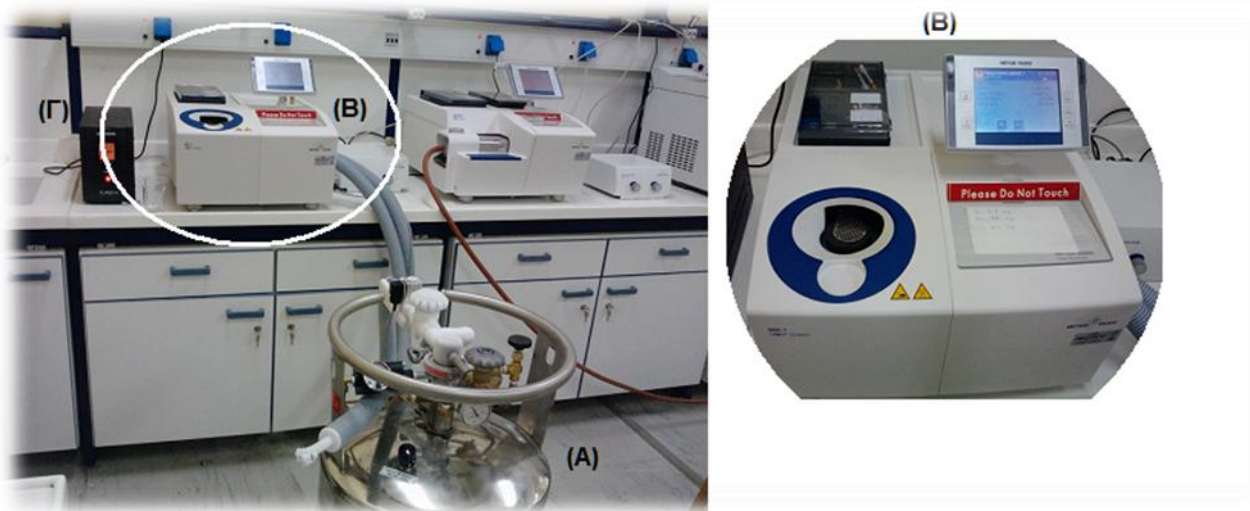
Εικόνα 6.14: Το δείγμα αναφοράς και το υπό εξέταση δοκίμιο θερμαίνονται σε δύο διαφορετικά θερμαντικά στοιχεία.

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. Έτσι, λαμβάνεται ένα διάγραμμα της ροής θερμότητας q/t ως προς τη 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.

Η διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης είναι μια τεχνική που προσδιορίζει τις θερμικές ιδιότητες των υλικών που μελετώνται. Σε μια μέτρηση DSC λαμβάνεται ένα διάγραμμα ροής θερμότητας προς την θερμοκρασία (75).

Πειραματική διαδικασία

Η συσκευή DSC του εργαστηρίου είναι της εταιρίας Hellamco και το μοντέλο είναι το METTLER TOLEDO (STARe System).



Εικόνα 6.15: Πειραματική διάταξη DSC: Α) Σύστημα ψύξης, για παροχή υγρού αζώτου, Β) κύρια μονάδα DSC (φούρνος και πίνακας ελέγχου), Γ) Σύστημα σταθεροποίησης ηλεκτρικής τάσης.

Η συσκευή περιέχει 2 καψίδια, ένα αναφοράς και ένα όπου τοποθετείται το δείγμα. Τα καψίδια είναι από αλουμίνιο ώστε να αντέχουν τις υψηλές θερμοκρασίες. Η ροή του αζώτου για τη διατήρηση του ξηρού περιβάλλοντος τέθηκε ίση με 25 ml/min. Αρχικά ζυγίστηκαν δείγματα μάζας 8-10 mg, τα οποία εγκλείστηκαν στο ειδικό καψίδιο και στη

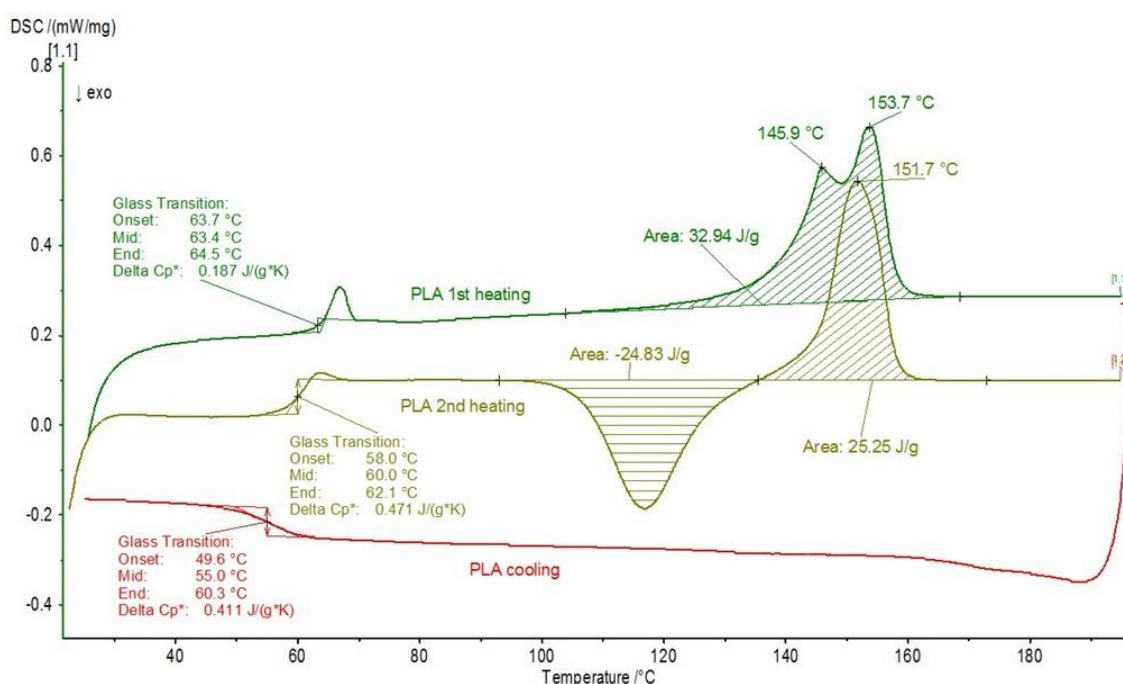
συνέχεια τοποθετήθηκαν στη θέση του DSC. Αφού ανοίχτηκαν οι παροχές αζώτου και νερού ψύξης, εισάγονται στον υπολογιστή οι παράμετροι της μέτρησης, το βάρος του δείγματος, το θερμοκρασιακό εύρος σάρωσης και δίνεται η εντολή για εκκίνηση.

Ο θερμοκρασιακός προγραμματισμός της μεθόδου DSC που εκτελέστηκε περιελάμβανε τα παρακάτω βήματα:

1. θέρμανση από τη θερμοκρασία δωματίου (25°C) στους 190°C με ρυθμό +10°C/min, με σκοπό την ομογενοποίηση του δείγματος κατά την τήξη του και την εξάλειψη της θερμικής ιστορίας του υλικού,
2. παραμονή για 3 λεπτά στους 190°C,
3. ψύξη στους 20°C με ρυθμό -10°C/min,
4. θέρμανση από τους 20°C στους 190°C με ρυθμό +10°C,
5. και τέλος, παραμονή για 3 λεπτά στους 190°C.

Ερμηνεία διαγραμμάτων DSC

Παρακάτω, παρατίθεται ένα παράδειγμα ενός τυπικού διαγράμματος της μεθόδου DSC για το πολυ(γαλακτικό οξύ).



Διάγραμμα 6: Τυπικό διάγραμμα DSC

Οι μεταβάσεις που διακρίνονται είναι οι ακόλουθες:

➤ Κύκλοι θέρμανσης:

- Αρχικά συναντάται η υαλώδης μετάπτωση, που είναι μία ενδόθερμη διαδικασία, κατά την οποία το υλικό μεταβαίνει στην ελαστοειδή κατάσταση. Η ανύψωση της καμπύλης αντιστοιχεί στη μεταβολή της θερμοχωρητικότητας του υλικού (ΔC_p) και είναι ένα ενδόθερμο γεγονός.
- Ακολουθεί το φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης, που είναι μια εξώθερμη διαδικασία κατά την οποία οι αλυσίδες καθώς θερμαίνονται αποκτούν την απαραίτητη ενέργεια για να αναπτύξουν κινητικότητα και να διαταχθούν σε κρυσταλλικές περιοχές.
- Τέλος, συναντάται η τήξη, που είναι ενδόθερμη διαδικασία και κατά τη διάρκεια της οποίας το κρυσταλλικό υλικό τήκεται (λιώνει). Πολλές φορές, δίπλα στην κύρια κορυφή τήξης υπάρχει και μία άλλη, μικρότερη, που καταγράφει την τήξη της λιγότερο οργανωμένης κρυσταλλικής δομής.

➤ Κύκλος ψύξης:

- Αρχικά, γίνεται η κρυστάλλωση, που είναι μια εξώθερμη διαδικασία, αντίστροφη της τήξης, που παρατηρείται μόνο στα ημικρυσταλλικά ή κρυσταλλικά πολυμερή. Στη θερμοκρασία κρυστάλλωσης το υλικό μεταβαίνει στην κρυσταλλική του κατάσταση, στην οποία είναι ακόμα αρκετά μαλακό. Η κρυστάλλωση στον κύκλο ψύξης δεν είναι ιδιαίτερα έντονη για το PLA καθώς οι αλυσίδες δεν προλαβαίνουν να αναπτύξουν κρυσταλλικότητα με ρυθμό $10^\circ\text{C}/\text{min}$.
- Τέλος, γίνεται η υαλώδης μετάβαση, που είναι μια ενδόθερμη διαδικασία, κατά την οποία το PLA γίνεται σκληρότερο, δηλαδή μεταβαίνει στην υαλώδη κατάσταση και διατηρεί την κρυσταλλικότητά του.

6.4.6 Θερμοβαρυμετρική Ανάλυση (TGA)

Αρχή της μεθόδου

Η θερμοβαρυμετρική ανάλυση (thermogravimetric analysis) είναι μια τεχνική μέτρησης με την οποία προσδιορίζονται τα θερμοδυναμικά χαρακτηριστικά οξείδωσης και αποδόμησης των δειγμάτων που εξετάζονται. Κατά την εξέταση των δειγμάτων με την τεχνική TGA το δείγμα θερμαίνεται και παράλληλα μετράται το βάρος του κατά τη διάρκεια της θέρμανσής του. Η θέρμανση του δοκιμίου γίνεται κυρίως υπό σταθερό ρυθμό θέρμανσης και το δείγμα βρίσκεται σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα (οξειδωτική, αναγωγική ή αδρανή).

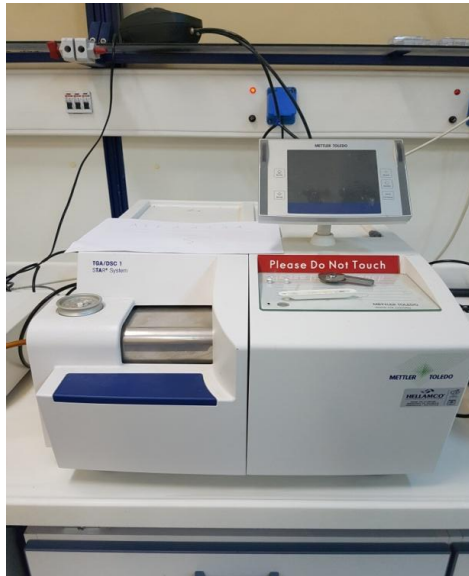
Η συσκευή αποτελείται από ένα φούρνο, μέσα στον οποίο υπάρχει ένας ζυγός ακριβείας. Τα δείγματα μπαίνουν μέσα σε πυρίμαχα κεραμικά δοχεία, τα οποία στη συνέχεια τοποθετούνται μέσα στο ζυγό του φούρνου. Έπειτα ξεκινάει η θέρμανση του φούρνου και η συνεχής μέτρηση του βάρους του δοκιμίου.

Το αποτέλεσμα αυτής της μέτρησης είναι μία καμπύλη της εκατοστιαίας απώλειας βάρους σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία του δείγματος. Η μέτρηση TGA είναι ευρέως εφαρμόσιμη σε δείγματα πολυμερών για τον προσδιορισμό του βαθμού αποικοδόμησής τους συναρτήσει της θερμοκρασίας που εφαρμόζεται σε αυτά (75).

Πειραματική διαδικασία

Η συσκευή TGA που χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση των δειγμάτων είναι της εταιρίας Hellamco και το μοντέλο είναι το METTLER TOLEDO (STARe System). Τα δείγματα είναι της τάξης των 8-10 mg και οι μετρήσεις γίνονται σε θερμοκρασιακό εύρος 25°C-600°C, με ρυθμό αύξησης 10 °C/min και με παράλληλη διοχέτευση αδρανούς αερίου αζώτου με παροχή 10ml/min. Κατά τη διεξαγωγή των μετρήσεων, το υπό εξέταση δείγμα θερμαίνεται υπό ελεγχόμενες συνθήκες και καταγράφεται συνεχώς η μεταβολή του βάρους του συναρτήσει της θερμοκρασίας. Στο τέλος της κάθε ανάλυσης λαμβάνεται η γραφική παράσταση του βάρους του σώματος σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία. Εκεί, φέρονται οι εφαπτόμενες γραμμές στο σημείο πριν την έναρξη της αποδόμησης και στο σημείο που επιτυγχάνεται ο μέγιστος ρυθμός αποδόμησης. Η τομή των εφαπτόμενων αυτών γραμμών

ορίζει τη θερμοκρασία έναρξης αποδόμησης, T_{onset} . Στη συνέχεια, χαράσσεται η πρώτη παράγωγος 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} .



Εικόνα 6.16: Συσκευή TGA.

6.4.7 Δοκιμή σε Εφελκυσμό

Γενικές αρχές

Η δοκιμή του εφελκυσμού είναι μια διαδικασία προσδιορισμού των μηχανικών ιδιοτήτων των υλικών. Ο εφελκυσμός είναι η διαδικασία με την οποία το δοκίμιο που εξετάζεται τανύζεται και παράλληλα μετρώνται κάποιες μηχανικές του ιδιότητες. Μερικές από αυτές είναι το μέτρο ελαστικότητας (Young's Modulus), η τάση θραύσης, το όριο διαρροής, η μέγιστη παραμόρφωση κ.ά.

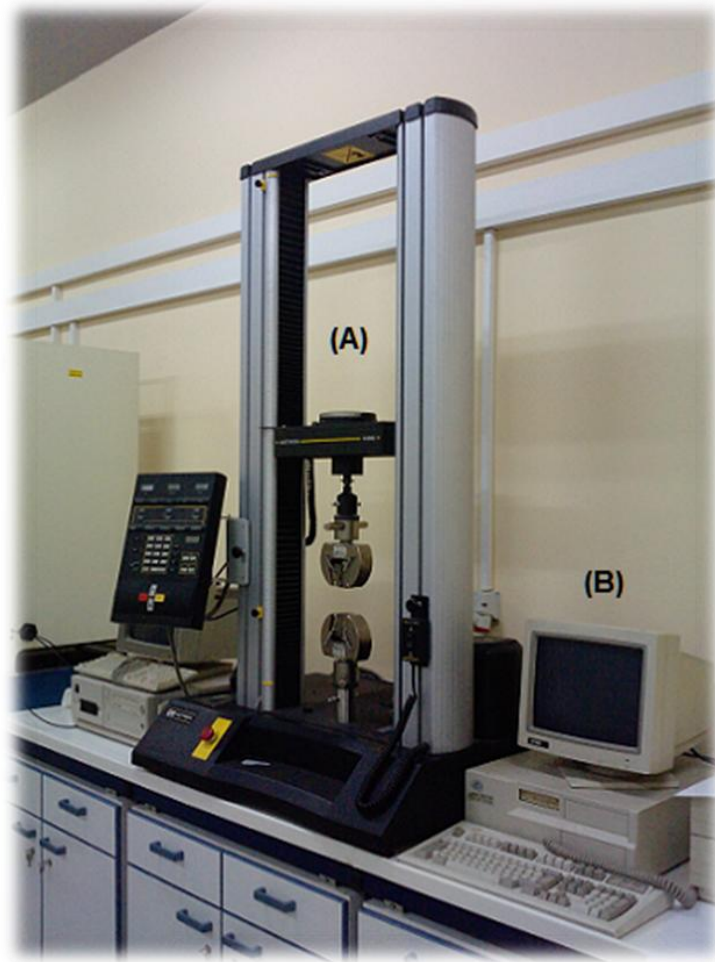
Τα δοκίμια του εφελκυσμού πρέπει να έχουν συγκεκριμένη γεωμετρία, η οποία ακολουθεί το πρότυπο ASTM D638-03 και λαμβάνεται υπόψη στους υπολογισμούς των διαφόρων ιδιοτήτων του υλικού μετά τη μέτρησή του. Η πιο συνηθισμένη γεωμετρία είναι αυτή της Εικόνας 6.17. Οι διαστάσεις του δοκιμίου ποικίλουν και καθορίζονται από το πρότυπο το οποίο ακολουθείται κατά την μέτρηση (76).



Εικόνα 6.17: Τυπικό δοκίμιο εφελκυσμού κατά τις προδιαγραφές του ASTM D638-03.

Πειραματική διαδικασία

Η μηχανή εφελκυσμού που χρησιμοποιήθηκε είναι της εταιρίας Instron (μοντέλο: 1121) και αποτελείται από δύο αρπάγες (ή σφικτήρες), στις οποίες και σταθεροποιείται το δοκίμιο για να μετρηθεί, όπου η μία είναι σταθερά τοποθετημένη και η άλλη κινείται με τη βοήθεια μοτέρ. Η κίνησή του είναι κατακόρυφη και μπορεί είτε να απομακρύνεται η μια από την άλλη (δοκιμή εφελκυσμού) είτε να πλησιάζει (δοκιμή θλίψης). Η δύναμη και η ταχύτητα με την οποία κινείται η αρπάγη καθορίζεται μέσω προγράμματος από το χρήστη. Η μηχανή του εφελκυσμού συνοδεύεται από έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή στον οποίο υπάρχει το κατάλληλο λογισμικό για τον υπολογισμό των διαφόρων ιδιοτήτων των δοκιμίων καθώς και για την εισαγωγή των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των δοκιμίων. Το αποτέλεσμα της μέτρησης αυτής είναι ένας αναλυτικός πίνακας με τα στοιχεία των μετρήσεων και τα ανάλογα διαγράμματα τάσης-παραμόρφωσης για το δοκίμιο που μετρήθηκε.



Εικόνα 6.18: Μηχανή εφελκυσμού Instron. Α) κεντρική μονάδα Instron, Β) ηλεκτρονικός υπολογιστής καταγραφής και χειρισμού της μηχανής.

Τα δοκίμια που μορφοποιήθηκαν στη θερμόπρεσσα σε μορφή dogbone υποβλήθηκαν σε δοκιμή εφελκυσμού τουλάχιστον μετά από μια ημέρα, για να μπορέσουν να σταθεροποιηθούν οι διαστάσεις τους. Για κάθε εξεταζόμενο δοκίμιο εκτελέστηκαν 3 δοκιμές εφελκυσμού για να διαπιστωθεί η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Τα δοκίμια τοποθετήθηκαν στις αρπάγες της μηχανής εφελκυσμού και εξασκήθηκε εφελκυστική τάση μέχρι τη θραύση τους. Ο ρυθμός παραμόρφωσης τέθηκε ίσος με 10 mm/min. Από τη διαδικασία αυτή λήφθηκε το διάγραμμα τάσης-παραμόρφωσης των δοκιμίων και οι τιμές για τις διάφορες μηχανικές ιδιότητες των υλικών (όπως μέτρο ελαστικότητας, αντοχή σε θραύση, όριο διαρροής κ.α.).



Εικόνα 6.19: Δοκιμή εφελκυσμού

Για την πραγματοποίηση μιας δοκιμής εφελκυσμού, μετριοούνται το πάχος του λαιμού του δοκιμίου σε τρία σημεία (πάνω, κάτω και μέση) και υπολογίζεται ο μέσος όρος.

Το κάθε δοκίμιο τοποθετείται στις αρπαγές αφού προηγουμένως έχει ρυθμιστεί η σωστή απόσταση μεταξύ τους. Στο συγκεκριμένο πείραμα, η αρχική απόσταση των αρπαγών για το ενεργό μήκος του κάθε δοκιμίου ρυθμίστηκε στα 6.4 cm. Ο κύριος άξονας κατά μήκος του δοκιμίου ευθυγραμμίζεται όσο το δυνατόν καλύτερα με τις αρπαγές. Κάθε φορά προτού ξεκινήσει μια δοκιμή μηδενίζονται οι ενδείξεις του φορτίου και της επιμήκυνσης από τον πίνακα ελέγχου. Μέσω του μεταβιβαστή γίνεται η εισαγωγή δεδομένων στο πρόγραμμα της μέτρησης όπου καταγράφεται το όνομα του δοκιμίου, το πάχος και το πλάτος του, καθώς επίσης δίνεται κάθε φορά η εντολή για την έναρξη της προεπιλεγμένης δοκιμής εφελκυσμού (start test). Μετά το τέλος κάθε δοκιμής απομακρύνεται το δείγμα και το κινητό μέρος επανέρχεται στην αρχική του θέση. Τελικά, λαμβάνονται από τον υπολογιστή τα αρχεία με τις καμπύλες τάσης–παραμόρφωσης και τις χαρακτηριστικές τιμές για τις αντίστοιχες μηχανικές ιδιότητες.

6.5 Αποτελέσματα

6.5.1 Ιξωδομετρία διαλύματος

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα της ιξωδομετρίας διαλύματος για το PLLA 4032D, σε μορφή κόκκου (αρχική μορφή), σε μορφή σκόνης (μετά από κονιοποίηση), κόκκου μετά από εκβολή, και κόκκου μορφοποιημένου σε θερμόπρεσσα.

Πίνακας 6.3: Αποτελέσματα ιξωδομετρίας για το PLLA μετά από τις διάφορες κατεργασίες του.

PLLA _{4032D}	[η] dl/g	M _v (g/mol)
Κόκκος (αρχική μορφή)	1.72±0.01	62,234±437
Σκόνη (μετά από κονιοποίηση)	1.82±0.004	67,361±213
Κόκκος μετά από εκβολή	1.65±0.002	58,758±494
Κόκκος μετά από εκβολή μορφ/νος σε θερμόπρεσσα	1.57±0.003	55,113±168

Το αρχικό μοριακό βάρος του PLLA σε μορφή κόκκου, όπως αυτό παραλήφθηκε από την κατασκευάστρια εταιρία υπολογίστηκε στα 62,234 g/mol. Μετά τη διαδικασία κονιοποίησης με τη χρήση υγρού αζώτου, όπου και παραλήφθηκε προϊόν σε μορφή σκόνης, το μοριακό βάρος αυξήθηκε στα 67,361 g/mol. Μετά την εκβολή, όπου παραλήφθηκε το PLLA ως ράβδος κυκλικής διατομής διαμέτρου ~1.5mm και τεμαχίστηκε με κοκκοποιητή σε μικρούς κυλίνδρους μήκους 3 mm και διαμέτρου 1.5 mm, το μοριακό του βάρος έπεσε στα 58,758 g/mol. Μετά τη διεργασία μορφοποίησης στη θερμόπρεσσα το μοριακό βάρος έπεσε κι άλλο και έφτασε τα 55,113 g/mol.

Η παρατήρηση αύξησης του M_v της σκόνης του PLLA μετά την κονιοποίηση αποδίδεται στο γεγονός ότι κατά τη διάρκεια της κονιοποίησης με ταχύτητα 15000 rpm, αναπτύσσονται υψηλές διατμητικές τάσεις, που οδηγούν σε σχάση της αλυσίδας και δημιουργία ελευθέρων ριζών. Αυτές οι ελεύθερες ρίζες μπορούν δυνητικά να επανασυνδεθούν, με αποτέλεσμα τη δημιουργία διακλαδώσεων, οι οποίες αυξάνουν το ιξώδες (77).

Σε κάθε περίπτωση, η θερμική και μηχανική καταπόνηση στην οποία υποβάλλεται το πολυμερές τόσο κατά τη διάρκεια της εκβολής όσο και κατά τη διάρκεια μορφοποίησής

του στη θερμόπρεσσα, μπορεί να προκαλέσει τμηματική διάσπαση κάποιων μεγάλου μοριακού βάρους αλυσίδων. Έτσι, η μείωση του μοριακού βάρους είναι αναμενόμενη.

Σε συνέχεια της μελέτης εξέλιξης του M.W. του πολυ(γαλακτικού οξέος), μετρήθηκαν τα ιξώδη και τα αντίστοιχα μοριακά βάρη του PLLA μετά τη μελέτη γήρανσης για 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε ακτινοβολία UV. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρατίθενται στον πίνακα που ακολουθεί:

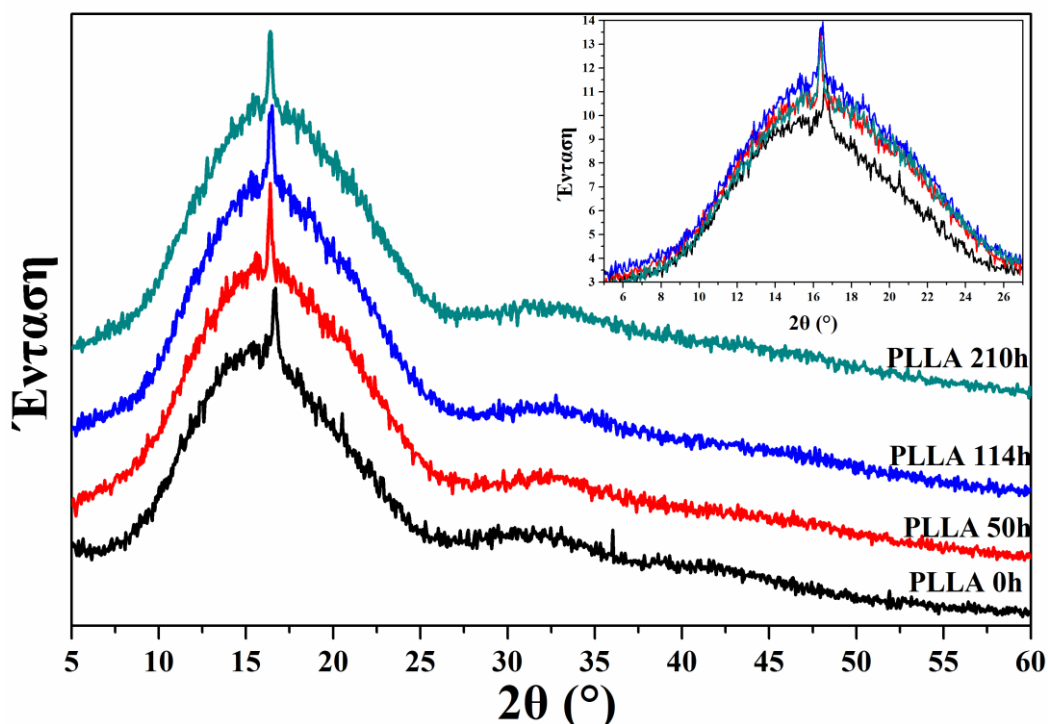
Πίνακας 6.4: Αποτελέσματα ιξωδομετρίας για το PLLA μετά την έκθεση σε ακτινοβολία UV.

Χρόνος (h)	$[\eta]$ (dl/g)	M_v (g/mol)
0	1.57±0.003	55,113±168
50	1.25±0.03	39,945±702
114	1.53±0.02	52,960±955
210	1.39±0.02	46,632± 236

Από τον Πίνακα 6.4, παρατηρείται μείωση του εσωτερικού ιξώδους και άρα και του μοριακού βάρους με την αύξηση του χρόνου παραμονής του δείγματος στη συσκευή υπό ακτινοβολία UV, γεγονός που υποδεικνύει ότι η σχάση της αλυσίδας διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό αποδόμησης. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί και με τη βιβλιογραφία, όπου αναφέρεται ότι η φωτοαποδόμηση του PLLA προκαλεί σχάση αλυσίδας και σχηματισμό ενώσεων μικρότερου μοριακού βάρους (38). Επίσης, να σημειωθεί ότι ο μηχανισμός αυτός ξεκινά με την έναρξη της ακτινοβολήσης και όχι μετά από κάποιες ώρες.

6.5.2 Περίθλαση ακτίνων Χ

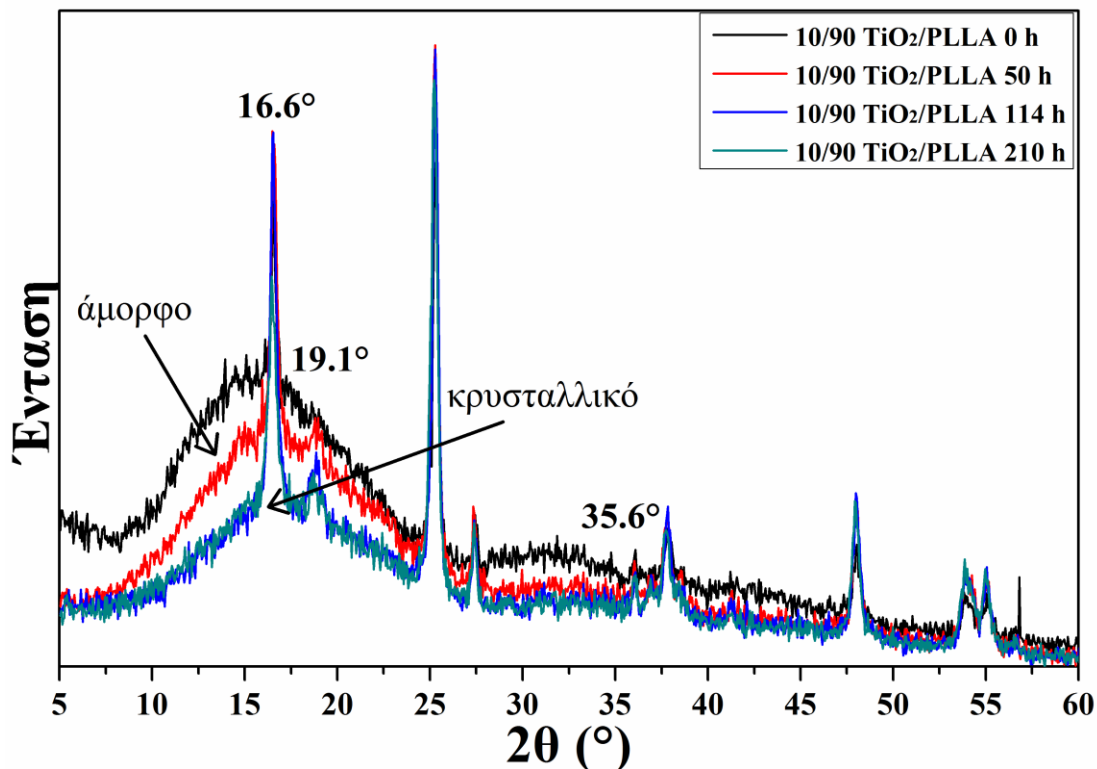
Τα πειράματα διεξήχθησαν στα δείγματα καθαρού PLLA και νανοσυνθέτου 10/90 TiO₂/PLLA για τις 0, 50, 114 και 210 ώρες ακτινοβολίας, ούτως ώστε να διαπιστωθούν οι τελικές δομικές μεταβολές σε κρυσταλλικό επίπεδο. Στα φάσματα που ελήφθησαν (Διαγράμματα 7 και 8) δεν παρατηρήθηκε μετατόπιση της γωνίας των χαρακτηριστικών κορυφών, πριν και μετά την έκθεση των δειγμάτων στις συνθήκες γήρανσης.



Διάγραμμα 7: Φάσματα XRD των δειγμάτων PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Πίνακας 6.5: Πίνακας εντάσεως κορυφής-γωνίας 2θ για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Γωνία 2θ (°)	16.6
0 h	1195
50 h	1412
114 h	1777
210 h	1387



Διάγραμμα 8: Φάσματα XRD των δειγμάτων 10/90 TiO₂/PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Πίνακας 6.6: Πίνακας εντάσεως κορυφής-γωνίας 2θ για τα δείγματα 10/90 TiO₂/PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Γωνία 2θ (°)	16.6	19.1	35.6
0 h	832	64.5	82.4
50 h	921	109	97.8
114 h	1059	130	81.9
210 h	644	136	83.0

Το φάσμα του PLLA (Διάγραμμα 7) αποτελείται από μια ευρεία περιοχή ($2\theta=10^{\circ}-25^{\circ}$), χαρακτηριστική της άμορφης φάσης του ημικρυσταλλικού πολυεστέρα. Η περιοχή αυτή έχει στο κέντρο της μια οξεία κορυφή που εντοπίζεται σε γωνία $2\theta=16.6^{\circ}$ και αποδίδεται στην πιο οργανωμένη α -κρυσταλλική φάση του PLLA και συγκεκριμένα στα κρυσταλλογραφικά επίπεδα (200)/(110). Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί και με τους Ali et al. (78) που βρήκαν μια κορυφή στις 16.58° εξετάζοντας PLA AI-1001 πυκνότητας 1.25 g/cm^3 αλλά και με τους Batteazzone et al. (79) που βρήκαν ότι το φάσμα του PLA χαρακτηρίζεται από μια κορυφή σε $2\theta=16.6^{\circ}$.

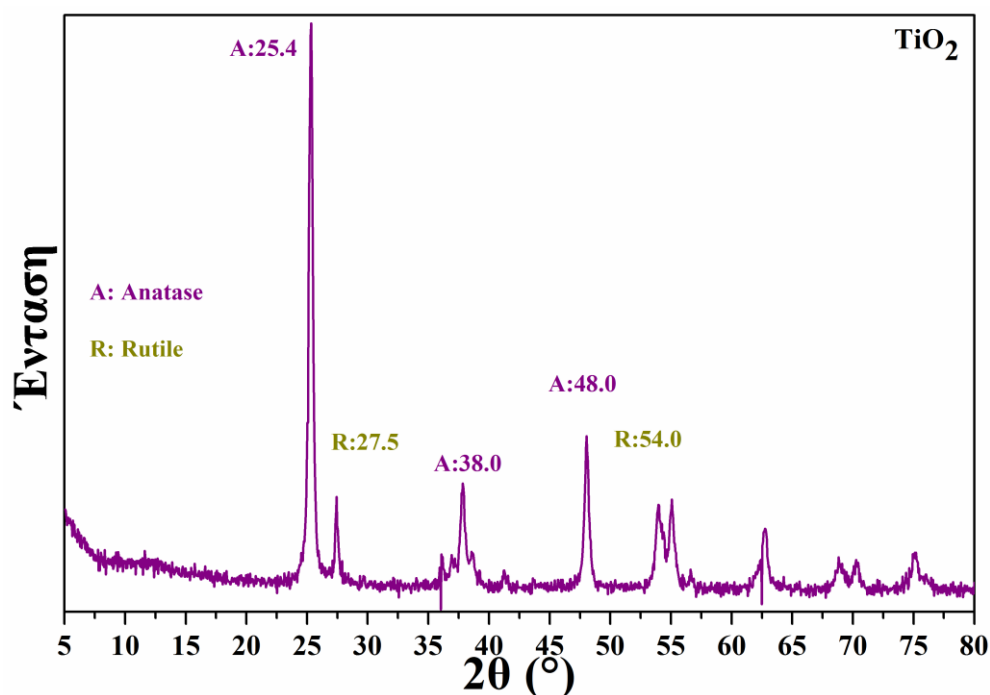
Σύμφωνα με το Διάγραμμα 7, με την αύξηση του χρόνου UV ακτινοβολήσης, το εμβαδόν της ευρείας περιοχής παρουσιάζει αυξητική τάση, γεγονός που δείχνει ότι έχει αυξηθεί η άμορφη φάση του πολυμερούς ως αποτέλεσμα της αποδόμησης των πολυμερικών αλυσίδων.

Συγκριτικά με τα φάσματα του μη εκτεθειμένου σε συνθήκες γήρανσης PLLA, στα μη εκτεθειμένα νανοσύνθετα (Διάγραμμα 8), η περιοχή $2\theta=10-25^\circ$ έχει μικρότερο εμβαδόν. Το μεγαλύτερο άμορφο κομμάτι της καθαρής πολυμερικής μήτρας την καθιστά πιο ευάλωτη στη φωτοαποδόμηση. Επίσης, τα νανοσύνθετα εμφάνισαν την ίδια κορυφή στη θέση $2\theta=16.6^\circ$ αλλά με μεγαλύτερη ένταση. Σύμφωνα με τις παραπάνω παρατηρήσεις, διαπιστώνεται η δράση των νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου ως παράγοντες πυρήνωσης, που ευνοούν την ανάπτυξη κρυσταλλικότητας. Παράλληλα, εμφανίστηκε μία καινούρια κορυφή στη θέση $2\theta=19.1^\circ$, χαρακτηριστική του κρυσταλλογραφικού επιπέδου (203) του PLLA. Αυτή η κορυφή υποδηλώνει την οργάνωση της άμορφης φάσης του PLLA σε μία περισσότερο οργανωμένη κρυσταλλική α-δομή.

Στα φάσματα των εκτεθειμένων σε συνθήκες γήρανσης νανοσυνθέτων φαίνεται ότι το εμβαδόν της άμορφης περιοχής μειώνεται όσο αυξάνει ο χρόνος έκθεσης στη UV ακτινοβολία, γεγονός που οφείλεται στην ευχερέστερη αποδόμηση της άμορφης φάσης της πολυμερικής μήτρας, οδηγώντας σε αύξηση του κλάσματος της κρυσταλλικής φάσης. Επίσης, αυξάνεται η ένταση της κορυφής $2\theta=16.6^\circ$, γεγονός που δείχνει τη μετατροπή της λιγότερο οργανωμένης κρυσταλλικής δομής σε μια καλύτερα οργανωμένη διαμόρφωση (80).

Αυτή η αύξηση της έντασης των κορυφής διάθλασης του PLLA στα νανοσύνθετα όσο αυξάνει ο χρόνος έκθεσης σε συνθήκες γήρανσης, φαίνεται και από τον Πίνακα 6.6. Σύμφωνα με τους Bolio-Lopez et al. (81) καθώς οι άμορφες περιοχές στη διεπιφάνεια μεταξύ των κρυσταλλιτών στους σφαιρουλίτες προσβάλλονται πρώτες, δημιουργούνται νέοι κρυσταλλίτες. Επειδή η αποδόμηση των μικρών κρυστάλλων είναι ευχερέστερη από ότι των μεγαλύτερων, το μέσο μέγεθος των εναπομεινάντων κρυστάλλων αναμένεται να αυξηθεί (82).

Γενικά, τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου έχουν διαφορετικές χαρακτηριστικές κρυσταλλικές δομές και επίσης δίνουν κορυφές διάθλασης με διάφορες εντάσεις, όπως φαίνεται και από το Διάγραμμα 9.



Διάγραμμα 9: Φάσμα XRD νανοσωματιδίων TiO_2

Στην πράξη, οι δύο κορυφές που παρατηρούνται σε γωνία $2\theta = 25.40^\circ$ και 48.01° είναι ξεκάθαρες και οξείες για το διοξείδιο του τιτανίου, κάτι που δείχνει την κρυσταλλική φύση της φάσης του ανατάση στο νανοσωματίδιο. Σύμφωνα με το International Centre for Diffraction Data reference file για τον ανατάση TiO_2 : 21-1272 και για το ρουτίλιο TiO_2 : 21-12176, η γωνία διάθλασης $2\theta = 25.4^\circ$ αντιστοιχεί στην (101) κρυσταλλική δομή του ανατάση. Οι χαρακτηριστικές κορυφές για τη φάση του ρουτιλίου τοποθετούνται σε γωνίες $2\theta = 27.5^\circ$ και 54.0° και αντιστοιχούν στην (110) κρυσταλλική δομή της φάσης του ρουτιλίου (83).

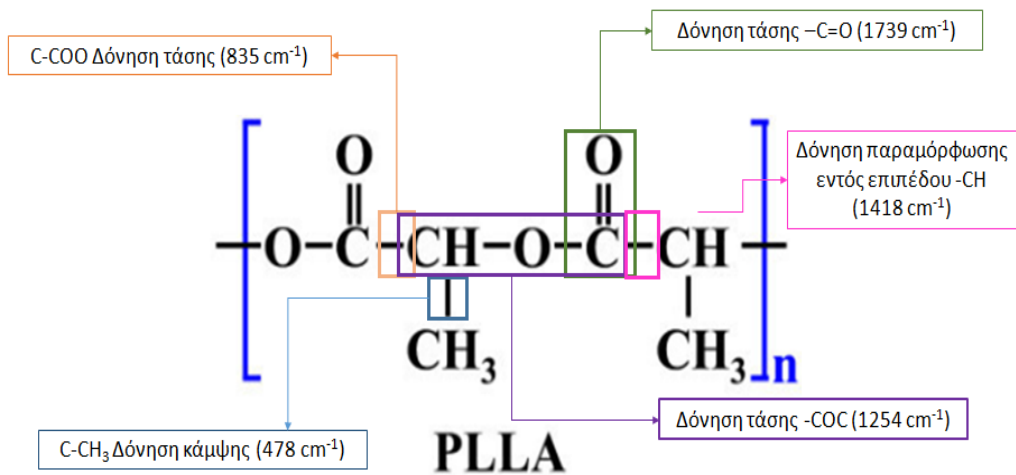
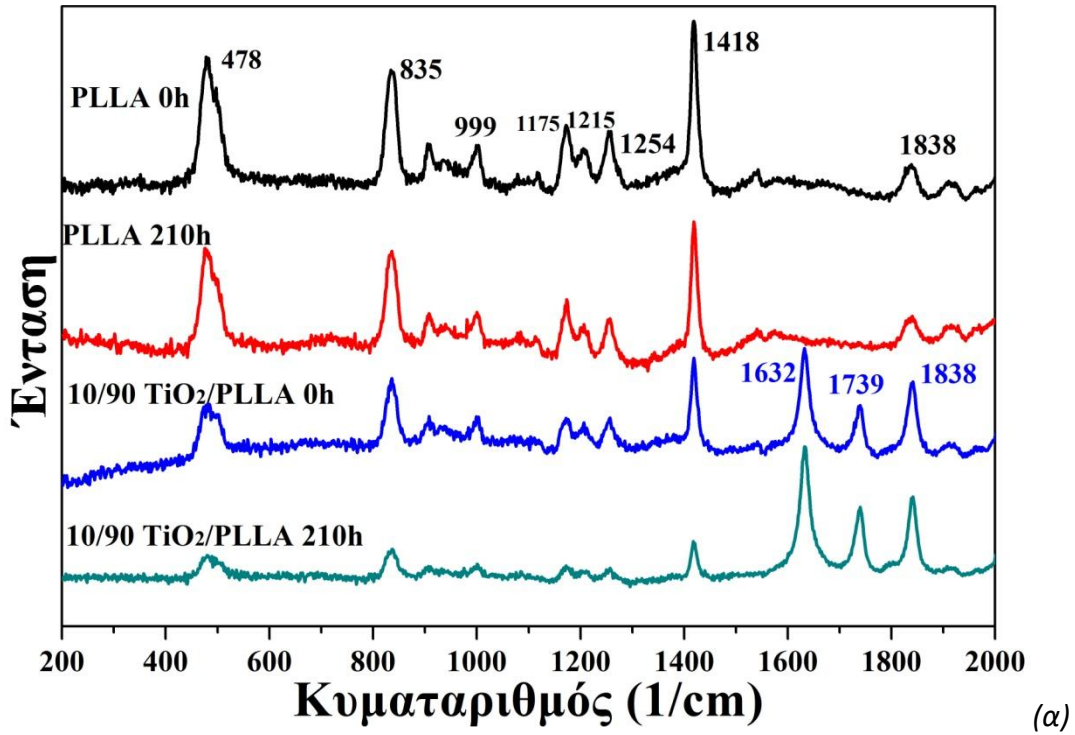
Από το φάσμα των νανოსυνθέτων, που παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 9, οι δύο μεγαλύτερες κορυφές παρατηρούνται σε $2\theta = 25.27^\circ$ και 16.56° και άλλες μικρότερες σε γωνίες 27.35 , 38.51 , 48.02 και 54.04° . Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η ανάκλαση του Bragg στις γωνίες 25 , 38 , 48 και 54° αντιστοιχούν στις (101), (004), (200) και (211) αντίστοιχα τετραγωνικές κρυσταλλικές δομές (tetragonal crystal planes) της φάσης του ανατάση του διοξειδίου του τιτανίου (22). Οι γωνίες αυτές εμφανίζονται με σχετικά χαμηλότερη ένταση

από ότι στα καθαρά σωματίδια διοξειδίου του τιτανίου. Επομένως προκύπτει το συμπέρασμα ότι η φάση του ανατάση κυριαρχεί στα συγκεκριμένα νανοσωματίδια που περιέχονται στα νανوسύνθετα. Οι διαφορές που εντοπίζονται στα φάσματα των καθαρών νανοσωματιδίων και των νανοσυνθέτων οφείλονται στις αλληλεπιδράσεις των νανοσωματιδίων με τη μήτρα του PLLA. Οι Fonseca et al. (22) εντόπισαν στα πειράματά τους τις προαναφερθείσες κορυφές, καθώς και μια κορυφή περίθλασης στις 31°, η οποία και αντιστοιχεί σε ένα μικρό κλάσμα του μπρουκίτη. Στην παρούσα εργασία τέτοιο κλάσμα δεν βρέθηκε.

Συμπερασματικά, από το μηχανισμό αποδόμησης των νανοσυνθέτων, διαπιστώνεται μείωση της άμορφης φάσης του PLLA, εμφάνιση δύο καινούργιων κορυφών χαρακτηριστικών της πιο οργανωμένης κρυσταλλικής δομής, και αύξηση της έντασης των χαρακτηριστικών κορυφών της κρυσταλλικής φάσης του PLLA. Επειδή προσβλήθηκαν πρώτα οι άμορφες περιοχές και έτσι, καταστράφηκαν, αυξήθηκε φαινομενικά το κλάσμα της κρυσταλλικής φάσης στα νανوسύνθετα, η οποία οργανώθηκε σε καλύτερης ποιότητας κρυσταλλικές δομές που πιθανά ευνοούνται από την παρουσία της τιτανίας.

6.5.3 Φασματοσκοπία Raman

Τα φάσματα Raman του καθαρού PLLA καθώς και των νανοσυνθέτων 10/90 w/w TiO₂/PLLA πριν και μετά την έκθεση σε ακτινοβολία UV για 210 ώρες φαίνονται στο Διάγραμμα που ακολουθεί. Η ανάλυση των φασμάτων αυτών φανερώνει τη χημική δομή καθώς και τη διαφοροποίηση διάφορων λειτουργικών ομάδων μετά την ακτινοβολήση.



Διάγραμμα 10: (α) Φάσματα Raman PLLA και νανοσυνθέτων 10/90 w/w TiO₂/PLLA πριν και μετά την έκθεση σε ακτινοβολία UV για 210 ώρες και (β) επεξηγηματικό διάγραμμα των χαρακτηριστικών ομάδων που επηρεάζονται από την αποδόμηση σε συνθήκες UV.

Πίνακας 6.7: Χαρακτηριστικές ομάδες του πολυ(γαλακτικού οξέος) στο φάσμα Raman.

Κυματαριθμός (cm ⁻¹)	Χαρακτηριστική ομάδα
3423	Δόνηση τάσης –OH
1739	Δόνηση τάσης καρβονυλίου –C=O
1418	Δόνηση κάμψης (ασύμμετρη) –CH ₃
1254	Δόνηση κάμψης –CH και δόνηση τάσης –COC
1180	Δόνηση τάσης (ασύμμετρη) –COC
1080	Δόνηση τάσης (συμμετρική) της –COC
835	Δόνηση τάσης της –C-COO
478	Δόνηση κάμψης C-CH ₃

Χαρακτηριστικές κορυφές υψηλής έντασης βρέθηκαν για το PLLA στους κυματαριθμούς 1838 cm⁻¹ (ομάδες ανυδριτών), 1418 cm⁻¹, 1254 cm⁻¹, 1186 cm⁻¹, 835 cm⁻¹ και 478 cm⁻¹ (84). Με εξαίρεση την κορυφή στα 1838 cm⁻¹, η ένταση της οποίας αυξάνεται στην περίπτωση των νανοσυνθέτων TiO₂, η ένταση των υπόλοιπων χαρακτηριστικών κορυφών μειώνεται με το πέρας της ακτινοβολήσης.

Στα φάσματα των νανοσυνθέτων 10/90 w/w TiO₂/PLLA, οι κορυφές του PLLA φαίνονται ξεκάθαρα, ενώ οι κορυφές της τιτανίας είναι δυσδιάκριτες. Αυτό αποδίδεται στην αλληλεπικάλυψη της χαρακτηριστικής κορυφής δόνησης του ανατάση στα 516 cm⁻¹ και των δύο ευρέων κορυφών στα 446 και 612 cm⁻¹ της φάσης του ρουτιλίου από τις διασκορπισμένες κορυφές του PLLA. Άλλες χαρακτηριστικές κορυφές χαμηλής έντασης του ανατάση τοποθετούνται στα 499, 519 και 641 cm⁻¹ ενώ της φάσης του ρουτιλίου στα 143 και 236 cm⁻¹ (85). Οι κορυφές αυτές είναι επίσης δυσδιάκριτες αφού αλληλεπικαλύπτονται από κορυφές του PLLA.

Στα φάσματα του καθαρού PLLA παρατηρείται μια ευρεία κορυφή στα 922 cm⁻¹, που είναι χαρακτηριστική των α-κρυστάλλων τόσο πριν όσο και μετά την αποδόμηση σε συνθήκες UV. Η εισαγωγή των νανοσωματιδίων στην πολυμερική μήτρα οδηγεί στην εμφάνιση καινούργιων κορυφών στα φάσματα Raman, εξαιτίας της αλληλεπίδρασης των νανοσωματιδίων με την πολυμερική μήτρα. Το φάσμα του νανοσυνθέτου πριν την ακτινοβολία παρουσιάζει μια ισχυρή ζώνη απορρόφησης στα 1632 cm⁻¹, που αποδίδεται στη δόνηση τάσης του καρβονυλικού δεσμού (C=O) (86). Η ένταση της κορυφής αυτής αυξάνεται μετά την UV ακτινοβολήση για 210 ώρες. Η αύξηση αυτή αποδίδεται στην αύξηση του αριθμού των ακραίων καρβοξυλικών ομάδων στην πολυμερική αλυσίδα που

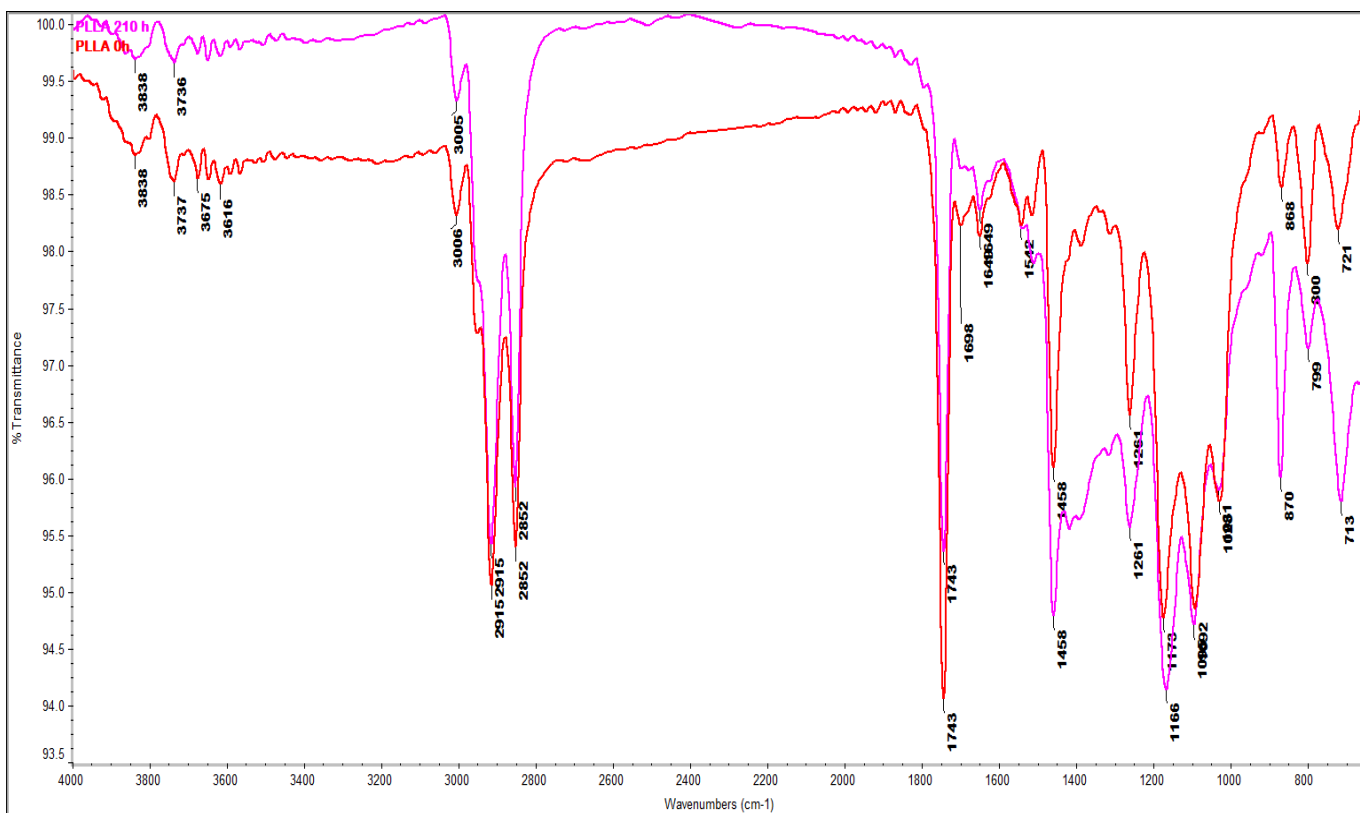
λαμβάνει χώρα κατά την αποδόμηση. Επίσης, στο φάσμα του νανοσυνθέτου εμφανίζεται και μια κορυφή απορρόφησης στα 1739 cm^{-1} , που αποδίδεται στη δόνηση τάσης της εστερομάδας -C=O του PLLA (86). Η επεξεργασία αυτής της κορυφής έχει επίσης συσχετιστεί με την κρυσταλλική φάση του PLLA (87). Η ένταση αυτής της κορυφής επίσης αυξάνεται μετά τις 210 ώρες ακτινοβολήσης, πιθανώς λόγω της αύξησης των προϊόντων οξειδωσης. Η κορυφή που παρατηρήθηκε πριν για το καθαρό PLLA και τοποθετείται στα 1838 cm^{-1} γίνεται πιο στενή, και η έντασή της αυξάνεται με την εισαγωγή του TiO_2 .

Στα φάσματα του PLLA, όπως προαναφέρθηκε, η κορυφή στα 1418 cm^{-1} οφείλεται στην ασύμμετρη δόνηση κάμψης της μεθυλομάδας. Η ένταση της κορυφής αυτής μειώθηκε στα νανοςύνθετα, και επίσης μετά τις 210 ώρες ακτινοβολήσης η απορρόφησή της μειώθηκε τόσο στο καθαρό PLLA όσο και στα νανοςύνθετα. Η κορυφή στα 835 cm^{-1} , έδειξε να μειώνεται σε ένταση με το πέρας του χρόνου ακτινοβολήσης, τόσο για το καθαρό PLLA όσο και για τα νανοςύνθετα, με τη μείωση να είναι μεγαλύτερη στη περίπτωση των δευτέρων. Η κορυφή στα 1254 cm^{-1} , που αντιστοιχεί στη δόνηση κάμψης -CH και στη δόνηση τάσης -COC επέδειξε επίσης την ίδια συμπεριφορά. Η συγκεκριμένη μείωση θα μπορούσε να επεξηγηθεί από τον Babanalbandi et al. (88), ο οποίος μελέτησε τα φάσματα ESR για δείγματα PLLA μετά από ακτινοβολήση με ακτινοβολία γάμμα στους 77 K , και βρήκε ότι παράγονται δύο δραστικές ρίζες από το σπάσιμο των δεσμών -C-C- της κύριας πολυμερικής αλυσίδας. Επίσης, δημιουργούνται άλλες δύο δραστικές ρίζες ως αποτέλεσμα της σχάσης του δεσμού -C-O- . Η διπλή κορυφή στα 1175 και 1215 cm^{-1} που μειώνεται επίσης σε ένταση στο καθαρό PLLA και τα νανοςύνθετα με το πέρας του χρόνου ακτινοβολήσης, αποδίδεται στις συμμετρικές δονήσεις έκτασης της εστερικής ομάδας. Οι αντίστοιχες ασύμμετρες δονήσεις παρατηρήθηκαν στα 999 cm^{-1} (84).

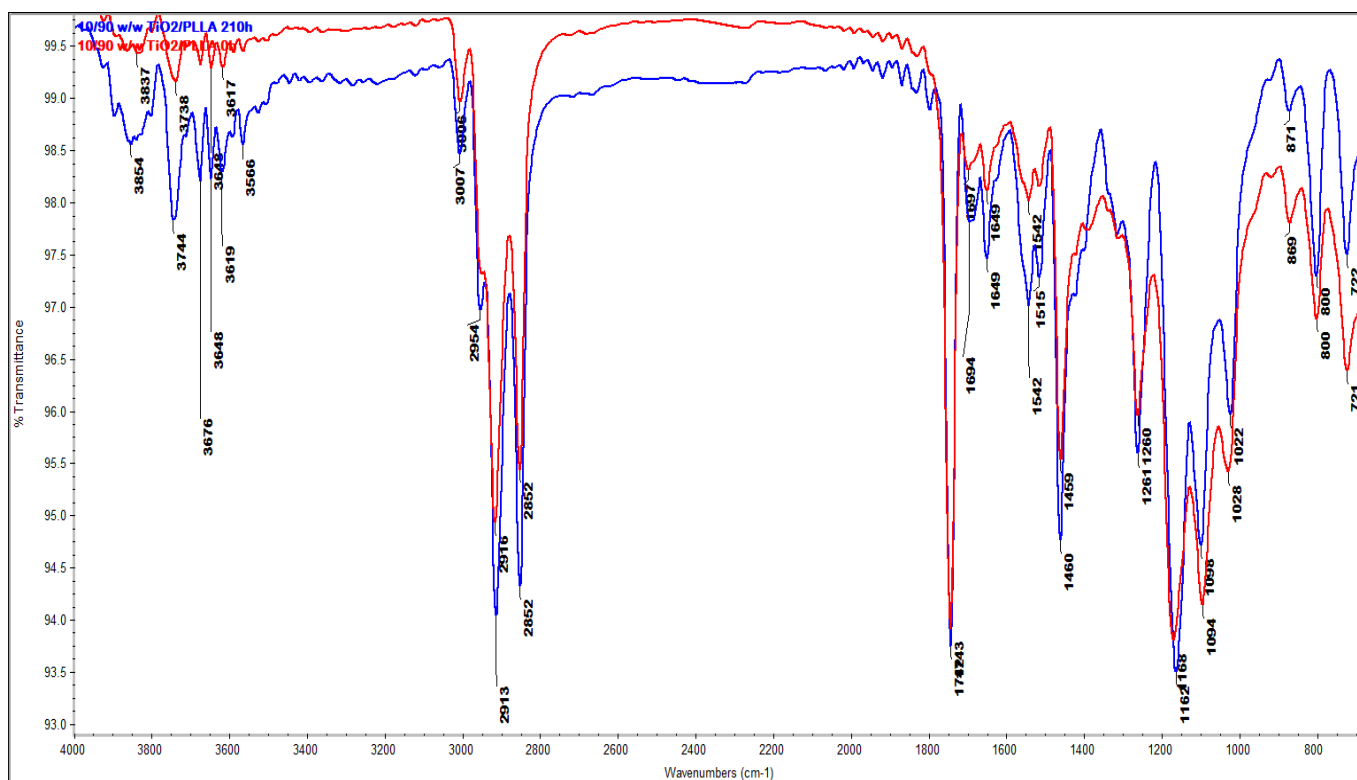
6.5.4 Φασματοσκοπία υπερώθρου με μετασχηματισμό Fourier

Η μελέτη των φασμάτων FT-IR έγινε για να διαπιστωθούν μικρές μεταποίσεις ή η δημιουργία ή η απουσία χαρακτηριστικών κορυφών μετά τη UV αποδόμηση του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 TiO₂/PLLA.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα IR του PLLA και των νανοσυνθέτων, αρχικά, και μετά από 210 ώρες ακτινοβολήσης με λάμπα UV.



Διάγραμμα 11: Φάσμα IR πολυ(γαλακτικού οξέος) αρχικά, και μετά από 210 h UV ακτινοβολήσης.



Διάγραμμα 12: Φάσμα IR νανοσυνθέτων 10/90 TiO₂/PLLA αρχικά, και μετά από 210 h UV ακτινοβολίας.

Καταρχάς να σημειωθεί ότι στα αρχικά στάδια της έκθεσης στη UV ακτινοβολία (50 και 114 ώρες) δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες αλλαγές στα φάσματα, και οι παρακάτω παρατηρήσεις εμφανίστηκαν στις 210 ώρες ακτινοβολίας, γι'αυτό και παρατίθενται τα αντίστοιχα διαγράμματα.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές που εμφανίζονται στα φάσματα του PLLA.

Πίνακας 6.8: Χαρακτηριστικές κορυφές φασμάτων FT-IR πολυ(γαλακτικού οξέος).

Θέση κορυφής (cm ⁻¹)	Χαρακτηρισμός
2910, 2850	Δόνηση τάσης -CH
1743	Δόνηση καρβονυλικών ομάδων -C=O
1460	Δόνηση κάμψης (ασύμμετρη) -CH ₃
1170	Δόνηση τάσης (συμμετρική) -COC
870	Δόνηση τάσης της -C-COO

Επίσης, παρουσιάζονται και τα εμβαδά των κορυφών που εμφανίζονται στα φάσματα του PLLA και των νανοσυνθέτων:

Πίνακας 6.9: Εμβαδόν των κορυφών που εμφανίζονται στο φάσμα FT-IR του PLLA

		Θέση κορυφής (cm ⁻¹)						
PLLA		1743	870	1460	1515	1180	2850	2910
0 h	Περιοχή κορυφής	221.4	62.7	162.3	59.2	383.2	210.3	238
50 h		199.3	71.5	121.3	54.5	270.8	150	155.7
114 h		188.9	71.7	144	64	319.7	202.9	235.4
210 h		146.7	162.2	253.4	83	458.3	154.1	210

Πίνακας 6.10: Εμβαδόν των κορυφών που εμφανίζονται στο φάσμα FT-IR του 10/90 TiO₂/ PLLA

		Θέση κορυφής (cm ⁻¹)						
10/90 TiO ₂ / PLLA		1743	870	1460	1515	1180	2850	2910
0 h	Περιοχή κορυφής	197.3	1.9	92.7	48.8	124.7	118.8	114.6
50 h		123.4	6.5	135.6	51.4	255.8	155.2	189.2
114 h		110.3	7.1	131.1	52.8	250.7	144.7	160.6
210 h		133.6	6.4	150.1	63.5	276.6	162.6	183.7

Οι κορυφές στα 2910 και 2850 cm⁻¹ που εμφανίζονται τόσο στα φάσματα του PLLA, όσο και των νανοσυνθέτων του, αντιστοιχούν σε δόνηση τάσης του δεσμού -CH του PLLA. Δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στην περιοχή των κορυφών μεταξύ 2850-2910 cm⁻¹ μεταξύ του σκέτου PLLA και των αποδομημένων του δειγμάτων. Στα νανοσύνθετα παρατηρήθηκε αύξηση στο εμβαδόν των παραπάνω κορυφών σε σχέση με τις 0 ώρες, η οποία και διατηρήθηκε σταθερή με το πέρας των ωρών.

Η κορυφή που εμφανίζεται σε θέση 1743 cm⁻¹ και οφείλεται στη δόνηση των καρβονυλικών ομάδων (-C=O) μειώνεται σε ένταση τόσο στο σκέτο PLLA σε ποσοστό 33% όσο και στα νανοσύνθετα σε ποσοστό 32% με το πέρας του χρόνου ακτινοβολίας. Αυτό πιθανώς να υποδηλώνει την επίδραση της UV ακτινοβολίας στον εστερικό δεσμό. Παρόμοια κορυφή απορρόφησης παρατήρησαν και οι Buzarovska et al. (11) σε συχνότητα 1748 cm⁻¹. Επίσης, τόσο στην εργασία τους, όσο και στην παρούσα, παρατηρείται κορυφή απορρόφησης στα 1180 cm⁻¹, αποδιδόμενη στη δόνηση τάσης C-O-C.

Η περιοχή πάνω από την κορυφή που αντιστοιχεί στη δόνηση τάσης του δεσμού -C-COO (870 cm⁻¹) αυξήθηκε συναρτήσει του χρόνου αποδόμησης. Η κορυφή αυτή έχει συσχετιστεί με μεταβολές στο βαθμό κρυσταλλικότητας του πολυμερούς (89), επομένως μια αύξησή

της πιθανώς υποδεικνύει μια φαινομενική αύξηση της κρυσταλλικότητας, παρατήρηση που επιβεβαιώνεται και από τη μελέτη Raman.

Για τα δείγματα PLLA, σύμφωνα με τους Bocchini et al. (90), η οξείδωση του πολυμερούς οδηγεί στο σχηματισμό καρβονυλικών προϊόντων που χαρακτηρίζονται από μια καινούργια απορρόφηση στα 1845 cm^{-1} . Τη δημιουργία και την αύξηση ενός ώμου σε αυτήν τη συχνότητα βρήκαν και οι Araujo et al. (38). Στην παρούσα εργασία για το PLLA δεν ανιχνεύτηκε αυτή η καινούργια κορυφή. Ωστόσο, η κορυφή αυτή παρατηρήθηκε στα νανოსύνθετα, λόγω του σχηματισμού ανυδριτών.

Στα νανοςύνθετα παρουσιάστηκε επίσης ένας ώμος στη θέση 1755 cm^{-1} που αντιστοιχεί σε μια κορυφή ευαίσθητη στην κρυσταλλικότητα λόγω των δονήσεων έκτασης (stretching vibrations) του δεσμού C=O.

Οι άλλες παρατηρούμενες κορυφές στις θέσεις 1452 και 1382 cm^{-1} οφείλονται στους ασύμμετρους και συμμετρικούς αποσχηματισμούς του CH_3 και αυξάνονται σε ένταση με το πέρασμα του χρόνου έκθεσης στη UV ακτινοβολία τόσο στο καθαρό PLLA όσο και στα νανοςύνθετα.

Το μονομερές λακτιδίου που παράγεται κατά την αποδόμηση τόσο του καθαρού πολυ(γαλακτικού οξέος) όσο και της φάσης του στα νανοςύνθετα εμφανίζεται στα 1265 cm^{-1} και 1095 cm^{-1} .

Η κορυφή απορρόφησης στα 850 cm^{-1} που αποδίδεται στις δονήσεις κάμψης έξω από το κρυσταλλογραφικό επίπεδο των δεσμών υδροξυλίου των καρβοξυλικών οξέων εμφανίζει αύξηση κατά την έκθεση του καθαρού PLLA για 210h σε UV ακτινοβολία ενώ παραμένει αμετάβλητη στα νανοςύνθετα του PLLA με τα νανοσωματίδια TiO_2 .

Η ένταση της κορυφής απορρόφησης στα 1715 cm^{-1} εμφανίζει αύξηση με το πέρασμα του χρόνου αποδόμησης μόνο στα νανοςύνθετα του PLLA. Η κορυφή αυτή συνδέεται με την ομάδα C=O και τον αριθμό των άκρων στην πολυμερική καρβοξυλική αλυσίδα μετά το σπάσιμο του εστερικού δεσμού και τις δονήσεις του C=O του αλειφατικού πολυεστέρα.

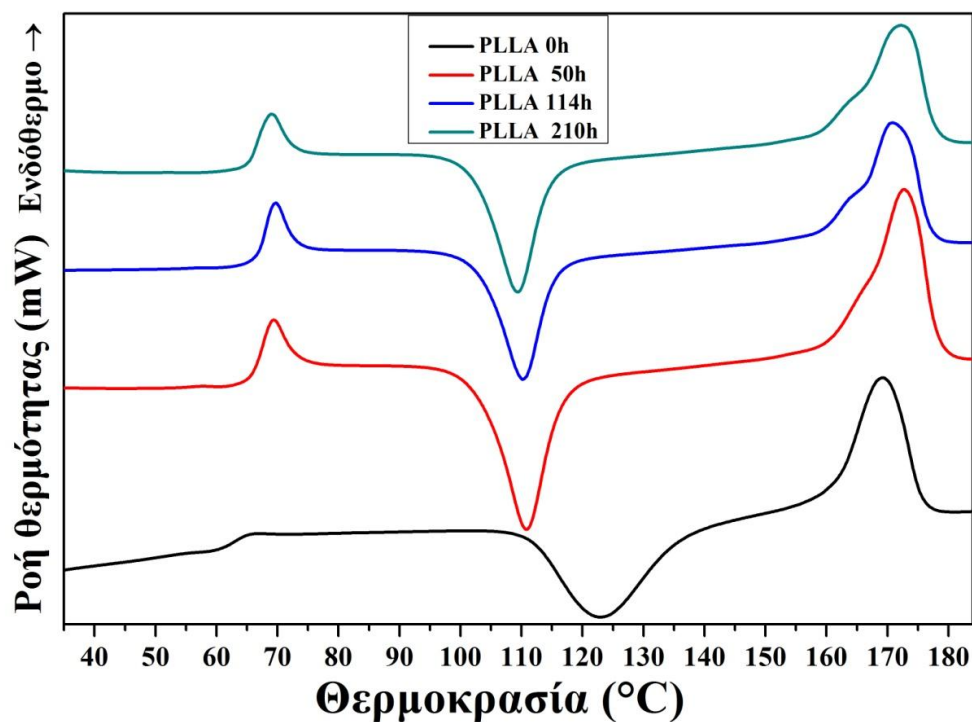
6.5.5 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Για το θερμικό χαρακτηρισμό των δειγμάτων PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 w/w TiO₂/PLLA, αρχικά, και έπειτα από UV ακτινοβολήση για 50, 114 και 210 ώρες πραγματοποιήθηκαν πειράματα διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης με βάση τις συνθήκες που αναλύθηκαν σε προηγούμενη παράγραφο. Έτσι, θα παρατεθούν τα αποτελέσματα που λήφθηκαν κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης, κατά τον κύκλο ψύξης, καθώς και κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης.

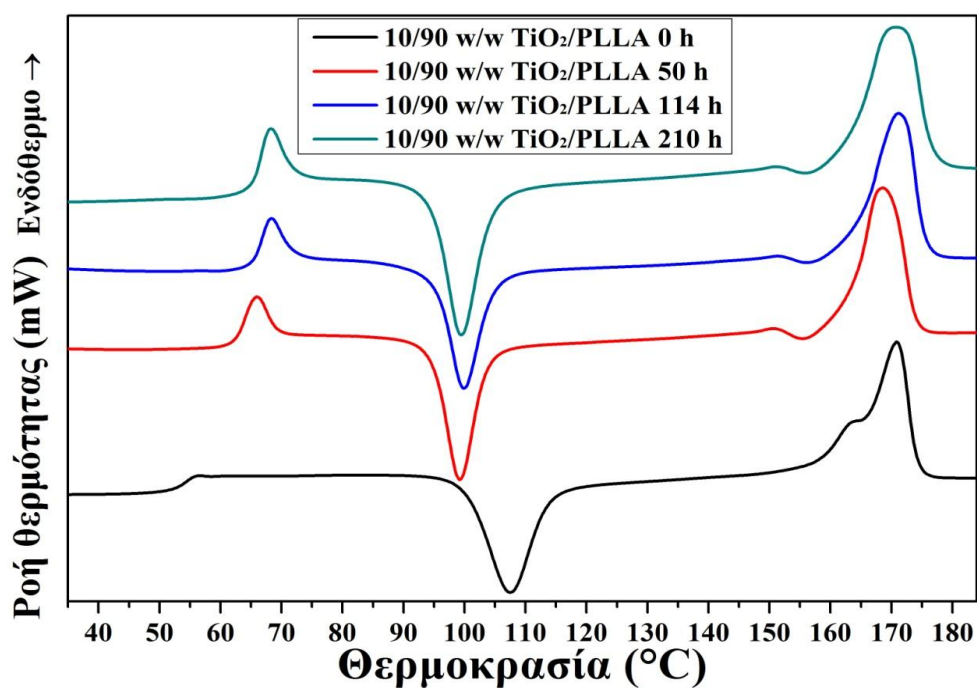
1^{ος} κύκλος θέρμανσης

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο πρώτος κύκλος θέρμανσης έχει ως σκοπό την εξάλειψη της θερμικής ιστορίας του υλικού, ούτως ώστε όλα τα δείγματα να ξεκινούν από μια κοινή βάση για να μελετηθεί η συμπεριφορά τους.

Παρακάτω παρατίθενται οι καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης καθώς και οι πίνακες με τις θερμικές μεταπτώσεις που παρουσιάζονται.



Διάγραμμα 13: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.



Διάγραμμα 14: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα 10/90 TiO₂/PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Πίνακας 6.11: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO₂/PLLA κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τις 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

PLLA	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _m (°C)
0 h	59.6 ±0.0	123.0 ±0.0	168.8 ±0.2
50 h	64.7 ±0.8	110.4 ±0.8	172.1±0.1
114 h	65.2 ±0.9	110.0±0.4	170.7±0.4
210 h	65.1 ±0.3	109.5±0.0	171.5 ±0.4

10/90 w/w TiO ₂ /PLLA	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
0 h	53.5 ±0.2	107.8 ±0.3	-	170.4±0.0
50 h	61.3 ±0.7	99.2 ±0.2	150.7 ±0.3	169.1±1.2
114 h	64.4 ±0.4	99.9 ±0.03	151.3 ±0.1	170.4±0.6
210 h	64.4 ±0.1	99.7 ±0.1	150.9 ±0.1	169.7 ±0.6

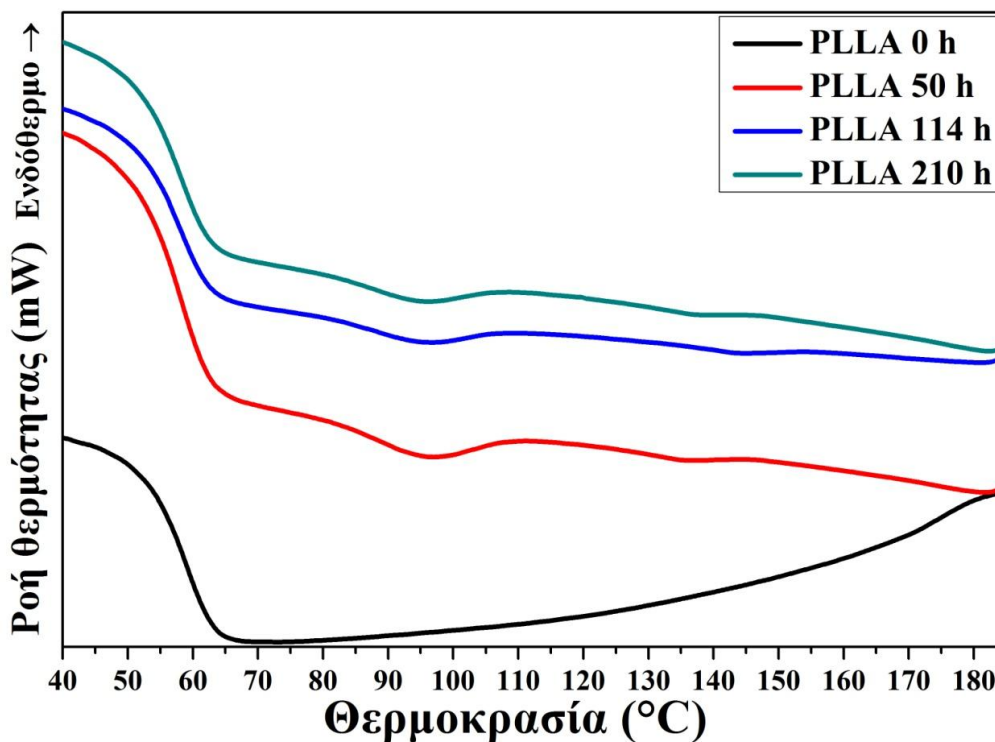
Πίνακας 6.12: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO₂/PLLA κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τις 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

PLLA	ΔH _{cc} (J/g)	ΔH _m (J/g)
0 h	-35.04 ±0.7	35.40 ±0.2
50 h	-31.16 ±0.8	42.45 ±2.2
114 h	-32.31 ±0.6	42.18 ±0.3
210 h	-31.29 ±0.4	43.21 ±0.7

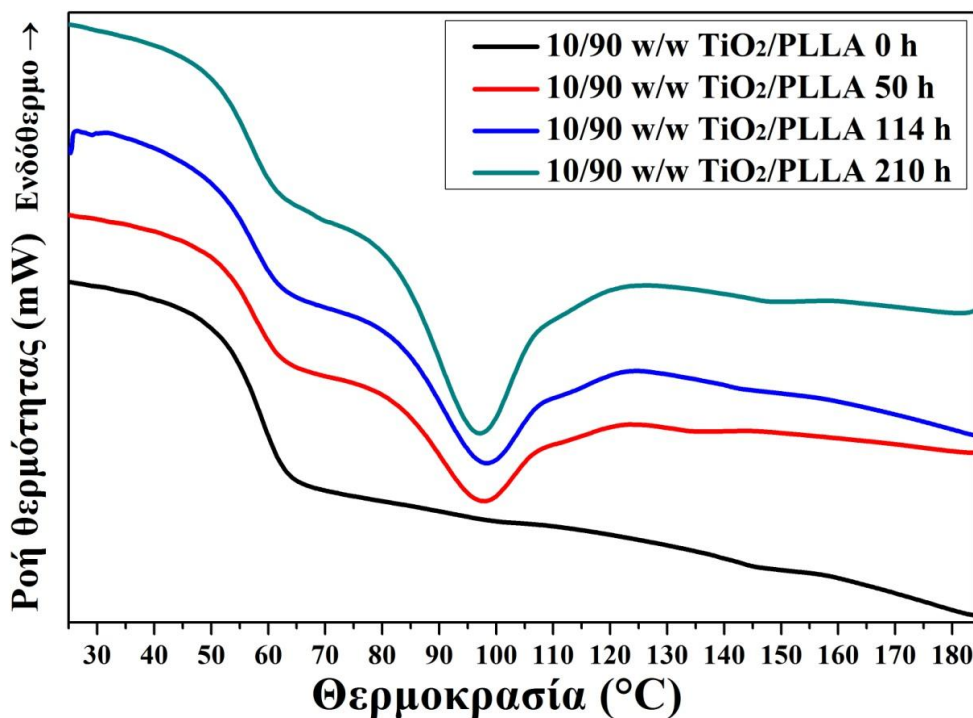
10/90 w/w TiO ₂ /PLLA	ΔH _{cc,PLLA} (J/g)	ΔH _{m,PLLA} (J/g)
0 h	-34.24 ±0.7	31.80 ±2.1
50 h	-28.47 ±1.2	42.89 ±1.7
114 h	-32.98 ±2.1	41.79 ±1.3
210 h	-27.89 ±1.5	40.25 ±2.7

Κύκλος ψύξης

Από την επεξεργασία των φασμάτων κατά την ψύξη προσδιορίζονται οι τιμές της θερμοκρασίας και της ενθαλπίας κρυστάλλωσης.



Διάγραμμα 15: Καμπύλες DSC κατά την ψύξη για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.



Διάγραμμα 16: Καμπύλες DSC κατά την ψύξη για τα δείγματα 10/90 TiO₂/PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 15, αν και η κρυστάλλωση του PLLA δεν ανιχνεύεται κατά το στάδιο αυτό, ωστόσο κρύσταλλοι σχηματίζονται, αλλά μερικώς (34). Τα δοκίμια που υποβλήθηκαν σε έκθεση σε UV ακτινοβολία παρουσίασαν κρυστάλλωση κατά την ψύξη. Η εμφάνιση αυτή της κρυσταλλικότητας κατά την έκθεση σε ακτινοβολία UV πιθανώς να οφείλεται στη μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς λόγω της σχάσης της αλυσίδας και στην εμφάνιση χαμηλού μοριακού βάρους παραπροϊόντων της αποδόμησης. Η κορυφή κρυστάλλωσης του PLLA είναι πιο εμφανής στα σύνθετα με TiO₂, όπως φαίνεται από τη σύγκριση των Διαγραμμάτων 15 και 16.

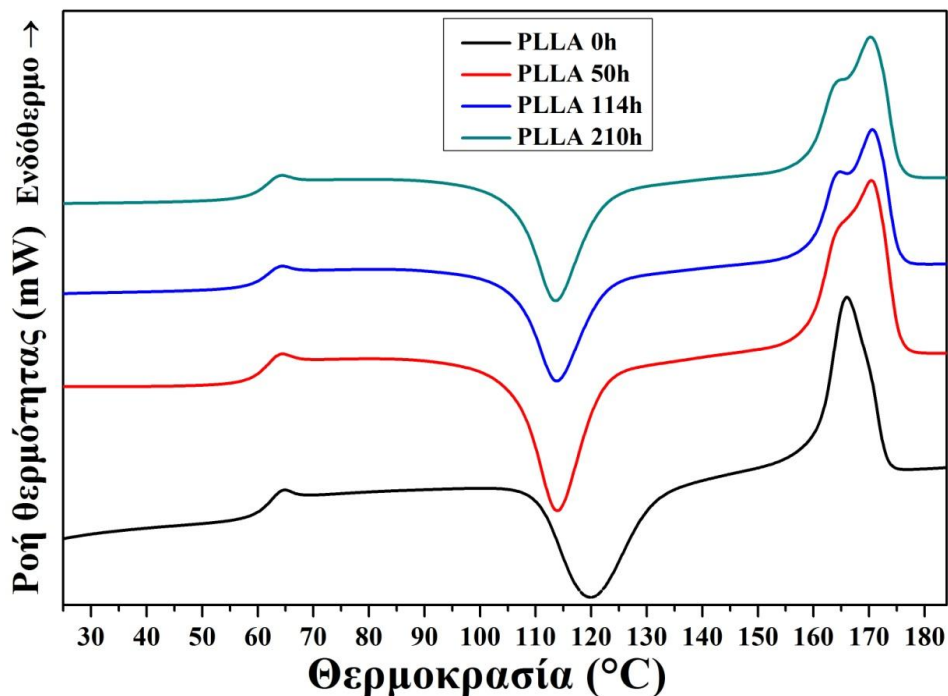
Πίνακας 6.13: Αποτελέσματα θερμοκρασίας κρυστάλλωσης και ενθαλπίας κρυστάλλωσης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO₂/PLLA κατά την ψύξη για τις 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

PLLA	T _c (°C)	ΔH _c (J/g)
0 h	-	-
50 h	95.3 ±0.7	-0.97±0.1
114 h	95.3 ±0.2	-0.83 ±0.0
210 h	94.8 ±0.2	-0.92 ±0.0
10/90 w/w TiO ₂ /PLLA	T _c (°C)	ΔH _{c, PLLA} (J/g)
0 h	-	-
50 h	97.6 ±0.2	-7.31 ±0.1
114 h	97.9 ±0.1	-8.36 ±0.6
210 h	96.8 ±0.0	-8.6±0.5

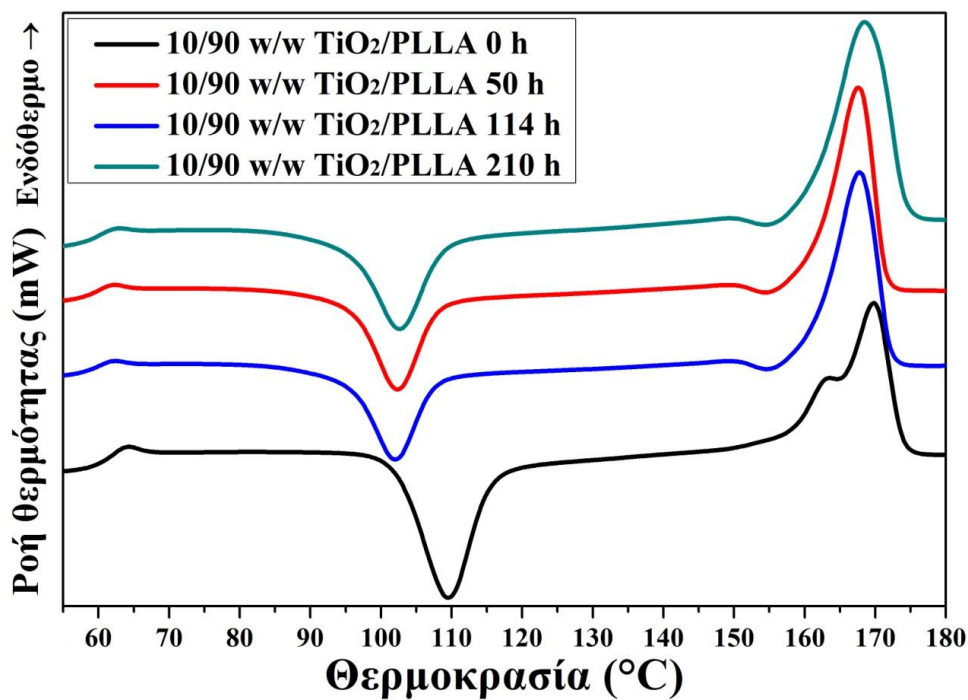
Από τον Πίνακα 6.13 παρατηρείται ότι οι θερμοκρασίες κρυστάλλωσης (T_c) του PLLA στα νανοσύνθετα είναι ελαφρά μόνο υψηλότερες από αυτές του καθαρού PLLA. Την ίδια παρατήρηση έκαναν και οι Buzarovska et al. (11) οι οποίοι, όπως αναφέρθηκε και στο 3^ο κεφάλαιο μελέτησαν τις θερμικές ιδιότητες PLLA και νανοσυνθέτων του περιεκτικότητας 0.5 , 1, 2, 5 και 10 wt% σε TiO₂, και διαπίστωσαν επίσης ότι η θερμοκρασία κρυστάλλωσης είναι σχεδόν ανεξάρτητη από την περιεκτικότητα σε διοξείδιο του τιτανίου. Ακόμη, αυτή η ελαφρά υψηλότερη τιμή της θερμοκρασίας κρυστάλλωσης στα νανοσύνθετα υποδεικνύει ότι το διοξείδιο του τιτανίου διευκολύνει την κρυστάλλωση του PLLA.

2^{ος} κύκλος θέρμανσης

Κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης καταγράφονται τα αποτελέσματα των τιμών υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης, καθώς και των ενθαλιπών ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης.



Διάγραμμα 17: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.



Διάγραμμα 18: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα 10/90 TiO₂/PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Στη μήτρα πολυ(γαλακτικού οξέος) (Διάγραμμα 17) η φωτοαποδόμηση είχε ως αποτέλεσμα η αρχικά στενή κορυφή τήξης του πολυ(γαλακτικού οξέος) για τις 0 ώρες να εμφανίσει μία διεύρυνση προς την περιοχή των χαμηλότερων θερμοκρασιών η οποία πήρε τη μορφή μικρής κορυφής. Επίσης, παρατηρείται και μια μετατόπιση προς την πλευρά των υψηλότερων θερμοκρασιών. Έτσι, με την πάροδο του χρόνου ακτινοβολήσης, εμφανίζονται δύο διακριτές κορυφές που αποδίδονται στον πολυμορφισμό των διαφορετικών κρυσταλλικών μορφών (22). Όπως διαπιστώθηκε και από τους Nakayama et. al. (39) που μελέτησαν τις θερμικές ιδιότητες PLLA (με <2% D λακτίδιο) και νανοσυνθέτων του με 1, 5 και 10 wt% TiO₂ μετά από πειράματα φωτογήρανσης σε λάμπα UV έντασης 0.68 mW/cm² για 1, 2, 3, 4, 7 και 11 ημέρες, φαίνεται να υπάρχει κατανομή στο βαθμό φωτόλυσης των κρυσταλλικών περιοχών του δείγματος.

Στο νανοσύνθετο 10/90 TiO₂/PLLA με το πέρας του χρόνου γήρανσης η αρχική κορυφή τήξης απέκτησε μία μικρή κορυφή σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Υποδηλώνεται έτσι η τήξη μεγάλου εύρους κατανομής μεγέθους κρυστάλλων. Έχει αυξηθεί η ανομοιογένεια των κρυσταλλικών φάσεων του δείγματος καθώς προσβάλλονται οι κρυσταλλικές περιοχές και υποβιβάζεται η ποιότητά τους με τη δημιουργία λιγότερο τέλειων και μη οργανωμένων κρυσταλλικών δομών. Επίσης, παρατηρείται και μια μετατόπιση της κορυφής με το πέρας του χρόνου ακτινοβολήσης προς την πλευρά των υψηλότερων θερμοκρασιών λόγω μηχανισμών ανακρυστάλλωσης του πολυμερούς.

Για τα νανοσύνθετα, η φωτοκαταλυτική αποδόμηση ήταν η κύρια αντίδραση, η οποία ήταν διαφορετική από τη φωτοκαταλυτική αποδόμηση του καθαρού PLLA.

Στις καμπύλες τόσο του PLLA όσο και των νανοσυνθέτων, η ενδόθερμη διεργασία που εμφανίζεται σε χαμηλή θερμοκρασία σχετίζεται με την τήξη των ημισταθερών κρυστάλλων (meso-stable crystals) που σχηματίζονται κατά την ψύξη. Αμέσως μετά από τη διαδικασία αυτή, συμβαίνει μια εξώθερμη διεργασία (επανακρυστάλλωση), κατά την οποία σχηματίζονται πιο σταθεροί κρύσταλλοι, οι οποίοι στη συνέχεια τήκονται, όπως φαίνεται και από το ενδόθερμο φαινόμενο σε υψηλότερη θερμοκρασία. Επομένως, οι κρύσταλλοι του PLLA έχουν μία τάση να αναδιοργανώνονται σε πιο σταθερές δομές μέσω αυτού του συνεχούς μηχανισμού τήξεως-ανακρυστάλλωσης-τελειοποίησης. Τελικά, οι μικροί ή

ατελείς κρύσταλλοι που δημιουργήθηκαν κατά την ψύξη αναδιοργανώνονται και τήκονται (22).

Πίνακας 6.14: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO₂/PLLA κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

PLLA	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
0 h	60.8 ±0.1	120.2 ±0.3	-	165.6±0.3
50 h	60.3 ±0.01	114.0 ±0.1	-	170.2±0.2
114 h	60.2 ±0.2	113.8 ±0.2	164.7 ±0.2	170.2 ±0.1
210 h	60.1 ±0.2	113.6 ±0.2	164.6 ±0.9	169.7 ±0.1
10/90 w/w TiO ₂ /PLLA	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
0 h	61.6 ±0.0	109.6 ±0.1	-	169.3±0.1
50 h	58.4 ±0.2	102.6 ±0.2	149.4 ±0.4	167.3±0.4
114 h	58.3 ±0.4	102.1 ±0.01	148.9 ±0.5	167.3 ±0.1
210 h	58.6 ±0.2	102.9±0.2	149.2 ±0.02	167.9 ±0.1

Σύμφωνα με τα δεδομένα του Πίνακα 6.14, η ενδόθερμη κορυφή τήξης του νανοσυνθέτου μετατοπίστηκε σε χαμηλότερα θερμοκρασιακά εύρη. Φαίνεται ότι η αρχική κορυφή για τις 0 ώρες διαχωρίστηκε κι απέκτησε έναν ώμο στους περίπου 149°C.

Επίσης, από τη σύγκριση των τιμών της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης και τήξης μεταξύ του καθαρού PLLA και του PLLA της μήτρας των νανοσυνθέτων, διαπιστώνεται ότι το διοξείδιο του τιτανίου δεν έχει ιδιαίτερη επίδραση στην κινητικότητα των μακρομοριακών αλυσίδων, καθώς οι τιμές είναι αρκετά κοντά μεταξύ τους. Αντίθετα, η θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης εμφανίζει σημαντική μείωση στα νανοσύνθετα σε σχέση με το καθαρό PLLA και αυτό αποτελεί μια σημαντική ένδειξη των κρυσταλλικών ανακατατάξεων που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της διεργασίας θέρμανσης.

Όσον αφορά το PLLA και τα νανοσύνθετα ξεχωριστά, παρατηρείται ότι κυρίως για τα νανοσύνθετα, υπάρχει μια ελαφριά μείωση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης (T_g), με αύξηση του χρόνου έκθεσης στην UV ακτινοβολία.

Οι Raselet et al. (91) έκαναν την ίδια παρατήρηση και απέδωσαν τη μείωση αυτή στη σχάση της αλυσίδας που συμβαίνει κατά την οξειδωση. Πράγματι, για την περίπτωση των γραμμικών πολυμερών, η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης και το μέσου αριθμού μοριακό βάρος συνδέονται μέσω της σχέσης Fox-Flory:

$T_g = T_{g,\infty} - k/M_n$, όπου k είναι η σταθερά Fox-Flory και $T_{g,\infty}$ είναι η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης του PLLA για άπειρο μοριακό βάρος.

Επίσης, και για τις δύο περιπτώσεις υπάρχει ελαφριά μείωση της θερμοκρασίας ψυχρής κρυστάλλωσης. Η δημιουργία του κρυσταλλικού πυρήνα κατά τη θερμική καταπόνηση, που υποβοηθήθηκε και από το μειωμένο μοριακό βάρος λόγω της UV ακτινοβολίας οδήγησε στη μείωση της θερμοκρασίας ψυχρής κρυστάλλωσης (92). Στο συμπέρασμα αυτό κατέληξαν και οι Tsuji et al. (92) που μελέτησαν PLLA σε συνθήκες φωτοαποδόμησης χρησιμοποιώντας λάμπα άνθρακα σε ακτινοβολία UV εντάσεως 255 Wm^{-2} για περιόδους μέχρι και 200 ώρες και παρατήρησαν μείωση της θερμοκρασίας ψυχρής κρυστάλλωσης κατά τη διάρκεια της ακτινοβολίας.

Πίνακας 6.15: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA και 10/90 TiO₂/PLLA κατά τον δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τις 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

PLLA	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_m (J/g)	X_c
0 h	-35.70 ±0.7	35.64 ±0.7	0.38
50 h	-33.43 ±0.6	46.22 ±1.5	0.49
114 h	-36.22 ±0.6	47.36 ±1.2	0.51
210 h	-35.13 ±0.6	47.69 ±0.7	0.51
10/90 w/w TiO₂/PLLA			
10/90 w/w TiO ₂ /PLLA	$\Delta H_{cc, PLLA}$ (J/g)	$\Delta H_{m, PLLA}$ (J/g)	X_c
0 h	-33.95 ±0.0	34.95 ±0.6	0.37
50 h	-25.46 ±0.4	47.81 ±0.8	0.51
114 h	-26.10 ±0.2	46.93 ±1.5	0.51
210 h	-24.17 ±1.2	46.43 ±0.2	0.49

Στον Πίνακα 6.15 υπολογίστηκε και ο βαθμός κρυσταλλικότητας του κάθε δείγματος σύμφωνα με τη σχέση: $X_c = \Delta H_m / \Delta H_m^\circ$, όπου ΔH_m είναι η ενθαλπία τήξης και ΔH_m° είναι η ενθαλπία τήξης ενός ιδανικού κρυστάλλου και λαμβάνεται ίση με 93.2 Jg^{-1} . Παρατηρείται ότι ο βαθμός κρυσταλλικότητας αυξάνεται ελαφρώς με την αύξηση του χρόνου αποδόμησης και αυτό μπορεί να οφείλεται στη διευκόλυνση της κρυστάλλωσης των χαμηλότερου μοριακού βάρους προϊόντων αποδόμησης του πολυεστέρα. Το φαινόμενο σύνδεσης της κρυσταλλικότητας με τη σχάση της αλυσίδας αποκαλείται συχνά χημική κρυστάλλωση (chemi-crystallization). Πράγματι, στα ημικρυσταλλικά πολυμερή η σχάση της αλυσίδας συμβαίνει ευχερέστερα στην άμορφη φάση με την απελευθέρωση καινούργιων τμημάτων αλυσίδας. Αυτά τα τμήματα μπορούν να ενσωματωθούν στην κρυσταλλική φάση, εάν έχουν επαρκή κινητικότητα. Την αύξηση αυτή του βαθμού κρυσταλλικότητας συναρτήσε του χρόνου έκθεσης διαπίστωσαν και οι Rasselet et al. (91) που μελέτησαν PDLLA με περιεχόμενο σε D ίσο με 4.25% το οποίο και μορφοποίησαν σε εκβολέα σε μορφή φιλμ και έπειτα μελέτησαν την οξειδωση των δειγμάτων σε φούρνο για διάφορες θερμοκρασίες. Παρατήρησαν ότι ανεξαρτήτως θερμοκρασίας έκθεσης, ο βαθμός κρυσταλλικότητας παρουσιάζει αύξηση με το πέρασ του χρόνου.

Πάντως, κατά τη διαδικασία της αποδόμησης αρχικά προσβάλλονται οι άμορφες φάσεις της μήτρας πολυ(γαλακτικού οξέος). Τελικά, μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα έκθεσης στον παράγοντα γήρανσης αποδομείται πλήρως η πολυμερική μήτρα. Με την τεχνική της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης καταγράφεται η τήξη των κρυσταλλικών περιοχών. Έτσι λοιπόν, μια αύξηση στο βαθμό κρυσταλλικότητας δε σημαίνει απαραίτητα ότι έχει αυξηθεί η κρυσταλλικότητα του δείγματος με την παρατεταμένη έκθεση στην UV ακτινοβολία αλλά ότι καταγράφεται η κρυστάλλωση των κρυσταλλικών περιοχών που είναι ανθεκτικότερες και δεν έχουν προσβληθεί ακόμα.

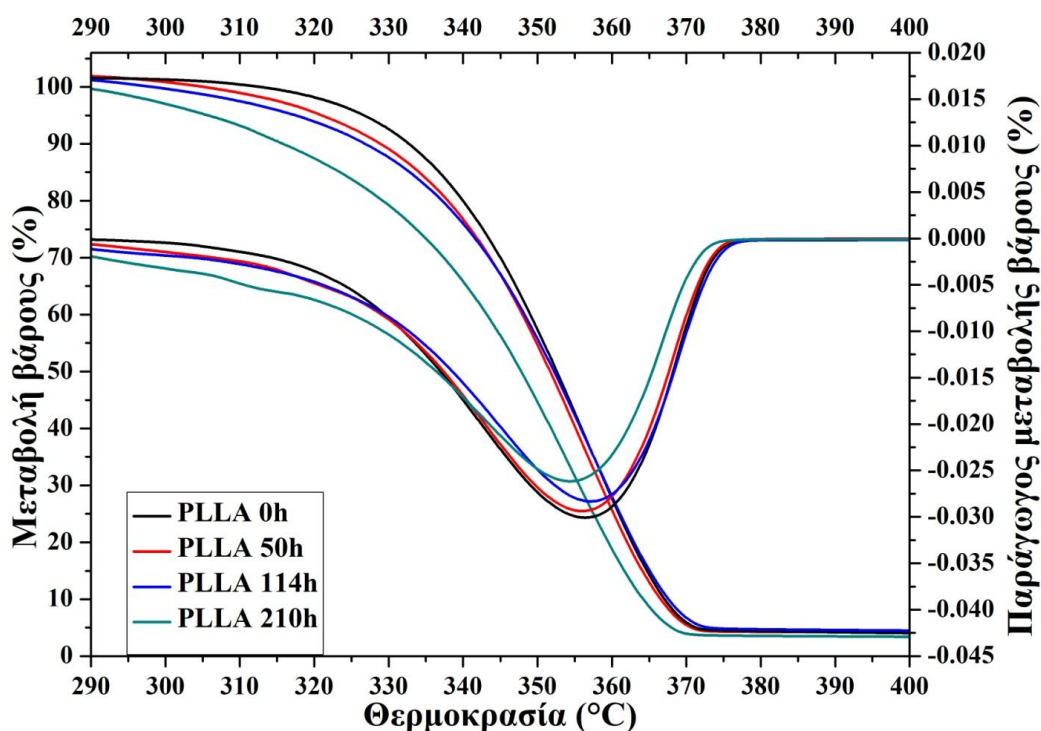
Η κρυστάλλωση της μήτρας πολυγαλακτικού οξέος, λαμβάνει χώρα τόσο κατά τον κύκλο ψύξης ως κρυστάλλωση (ΔH_c), όσο και κατά τον κύκλο θέρμανσης ως ψυχρή κρυστάλλωση (ΔH_{cc}). Οι κρυσταλλικές περιοχές, που έχουν σχηματιστεί κατά τις δύο αυτές διεργασίες, τήκονται κατά την τήξη (ΔH_m). Επειδή η συνολική καταγεγραμμένη ενθαλπία τήξης του PLLA στις διάφορες χρονικές στιγμές έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία είναι μεγαλύτερη από το άθροισμα των ενθαλπιών που έχουν εκλυθεί κατά τους δύο τύπους

κρυσταλλώσεως, επομένως δεν καταγράφεται πλήρως το φαινόμενο με τους παραπάνω δύο μηχανισμούς. Η ίδια τάση ακολουθήθηκε και στα νανοςύνθετα 10/90 w/w TiO₂/PLLA.

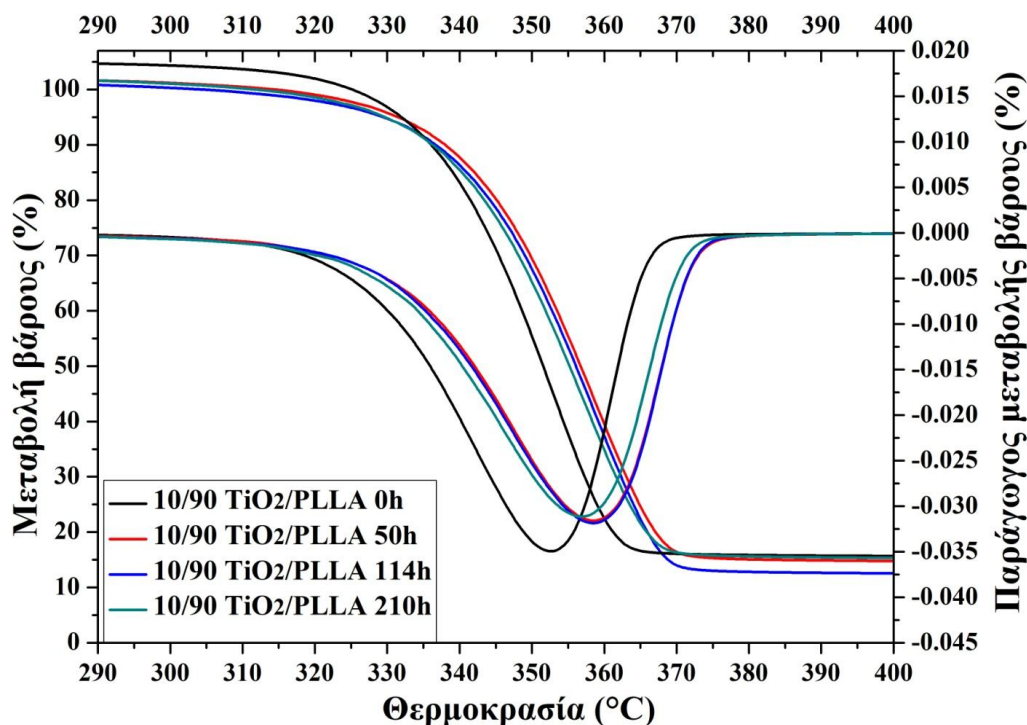
6.5.6 Θερμοβαρυμετρική ανάλυση

Η θερμοβαρυμετρική ανάλυση (TGA) εφαρμόστηκε για τη μελέτη της θερμικής σταθερότητας του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 TiO₂/PLLA κατά τη διάρκεια της UV ακτινοβολίας.

Παρακάτω παρατίθενται οι καμπύλες μεταβολής του βάρους και πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα, καθώς και οι πίνακες που παρουσιάζουν τις θερμοκρασίες T_{onset} , T_{peak} , και το υπόλειμμα μετά τη θερμική καταπόνηση.



Διάγραμμα 19: Καμπύλες μεταβολής βάρους και πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.



Διάγραμμα 20: Καμπύλες μεταβολής βάρους και πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα 10/90 TiO₂/PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

Πίνακας 6.16: Αποτελέσματα πειραμάτων TGA για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

PLLA	T _{onset} (°C)	T _{peak} (°C)	Residue (%)
0 h	347.2 ±0.6	366.1 ±0.2	3.8 ±0.2
50 h	342.1 ±1.5	362.8 ±0.7	3.7 ±0.5
114 h	340.8 ±0.6	363.0±0.2	3.8±0.2
210 h	338.5 ±3.6	362.2±1.0	2.6±0.6

Γενικά, ως T_{onset} ορίζεται η θερμοκρασία που ξεκινά η θερμική αποδόμηση και ως T_{peak} η θερμοκρασία στο μέγιστο ρυθμό θερμικής αποδόμησης. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 6.16, η θερμοκρασία T_{onset} για το PLLA μειώνεται αυξανόμενου του χρόνου έκθεσης στη UV ακτινοβολία, και αυτό είναι ένα αποτέλεσμα αναμενόμενο λόγω της σχάσης της πολυμερικής αλυσίδας που λαμβάνει χώρα και της συνεπαγόμενης μείωσης του μοριακού βάρους.

Πίνακας 6.17: Αποτελέσματα πειραμάτων TGA για τα δείγματα 10/90 TiO₂/PLLA στις 0, 50, 114 και 210 ώρες ακτινοβολίας σε UV ακτινοβολία.

10/90 w/w TiO ₂ /PLLA	T _{onset} (°C)	T _{peak} (°C)	Residue (%)
0 h	348.6 ±0.3	365.6 ±0.0	16.7 ±0.6
50 h	347.7 ±0.1	364.6 ±0.3	13.9 ±1.0
114 h	347.5 ±0.3	364.6±0.2	11.7±0.0
210 h	346.3 ±1.2	363.7±1.0	13.7±0.2

Παρόμοια τάση με το PLLA (μείωση της θερμοκρασίας T_{onset} με αύξηση του χρόνου ακτινοβολίας) παρατηρείται και για τα νανοσύνθετα, με τη μείωση αυτή ωστόσο να μην είναι τόσο έντονη όσο στην πρώτη περίπτωση.

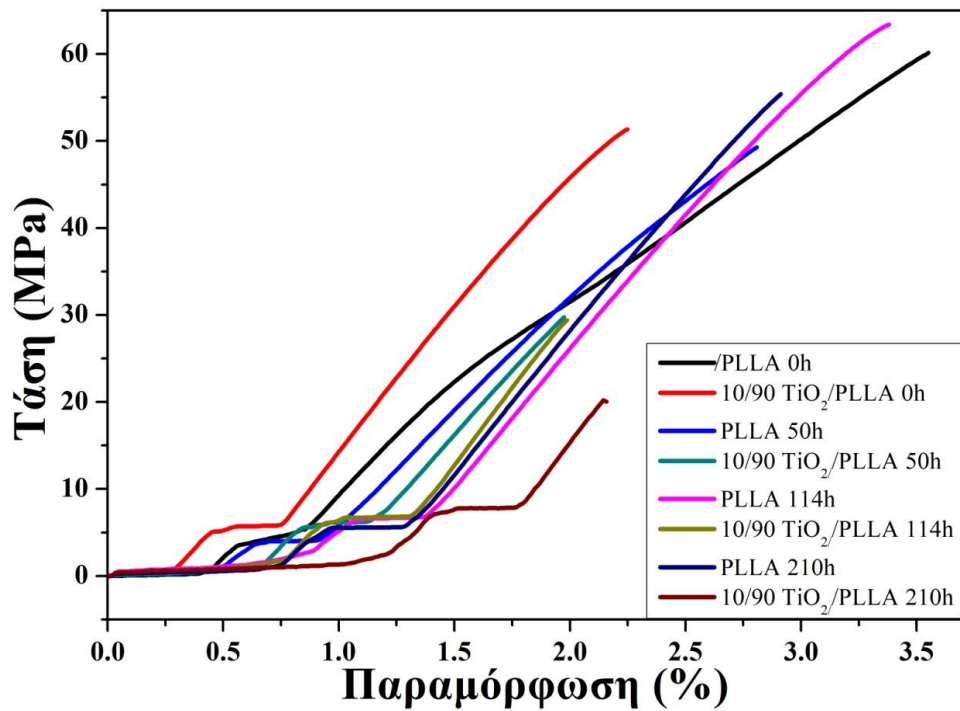
Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του PLLA και των νανοσυνθέτων μεταξύ τους, παρατηρείται ότι οι καμπύλες θερμικής αποδόμησης των νανοσυνθέτων είναι μετατοπισμένες σε υψηλότερες θερμοκρασίες σε σύγκριση με τα δοκίμια του καθαρού PLLA με τον ίδιο χρόνο έκθεσης σε ακτινοβολία UV. Από τους πίνακες 6.16 και 6.17 παρατηρείται ότι οι θερμοκρασίες T_{onset} των νανοσυνθέτων είναι μεγαλύτερες από αυτές του PLLA. Παρόμοια παρατήρηση έκαναν και οι Li et al. (40) που μελέτησαν PLLA 2002D και νανοσύνθετα αυτού περιεκτικότητας 1% σε SA TiO₂ (<100 nm, μίγμα ρουτίλη και ανατάση) και είδαν ότι η θερμοκρασία T_{onset} αυξήθηκε κατά 7°C στα νανοσύνθετα.

Επίσης, ο μέγιστος ρυθμός αποδόμησης (με εξαίρεση τις τιμές για τις 0 ώρες, όπου η θερμοκρασία T_{peak} για το PLLA είναι ελαφρώς υψηλότερη από εκείνη του νανοσυνθέτου) συμβαίνει σε υψηλότερη θερμοκρασία για τα νανοσύνθετα 10/90 w/w TiO₂ /PLLA σε σχέση με το καθαρό PLLA. Επομένως, η θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων είναι βελτιωμένη σε σχέση με το μη ενισχυμένο PLLA. Οι αλλαγές αυτές στη θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων προκλήθηκαν από δύο πιθανούς παράγοντες: 1) τα ενσωματωμένα νανοσωματίδια μπορούν να δράσουν ως πολύ καλοί μονωτές και φραγμοί στη μεταφορά μάζας στα ασταθή προϊόντα που παράγονται κατά τη διάρκεια της αποδόμησης και έτσι να βελτιώσουν τη θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων, και, 2) τα νανοσωματίδια διαθέτουν επιφανειακές υδροξυλικές ομάδες που μπορούν να καταλύσουν τη θερμική αποδόμηση του PLLA σε αυξημένες θερμοκρασίες (40). Το ίδιο

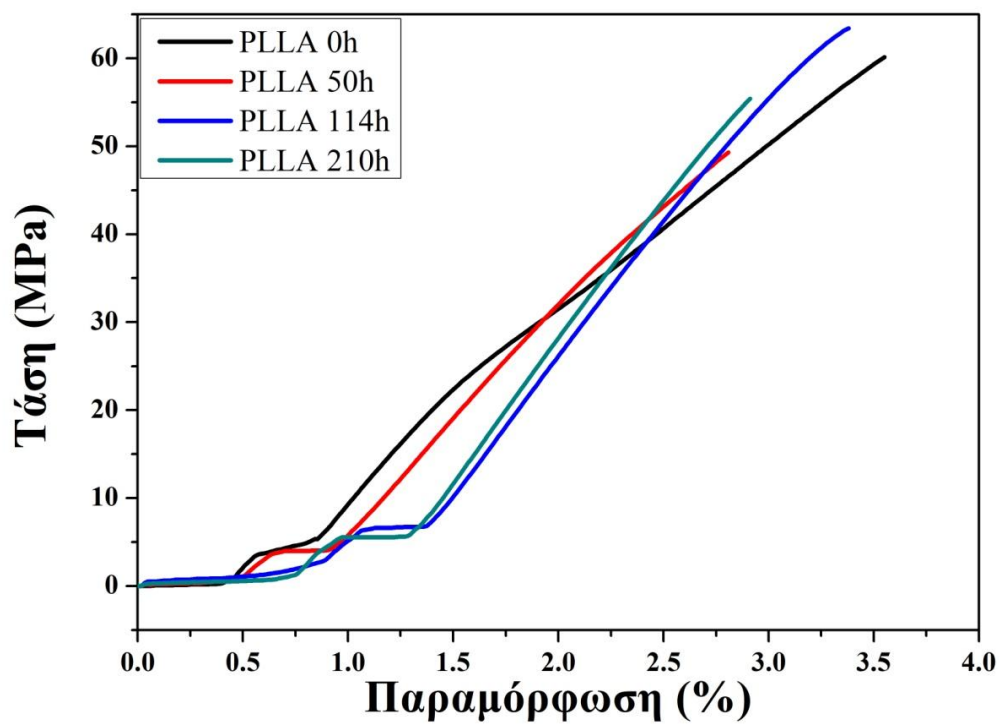
αποτέλεσμα για τη θερμική σταθερότητα εξήγαγαν και οι Zhang et al. (42) που μελέτησαν PLLA 4032D και νανοσύνθετα αυτού περιεκτικότητας 0.5 και 5 wt% σε διοξείδιο του τιτανίου και διαπίστωσαν τη μεγαλύτερη θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων, την οποία και απέδωσαν στην ταυτόχρονη δράση των νανοσωματιδίων ως θερμικοί μονωτές στα αρχικά στάδια της θερμικής αποδόμησης και στη παρεμπόδιση της κίνησης των πολυμερικών αλυσίδων.

6.5.7 Δοκιμή εφελκυσμού

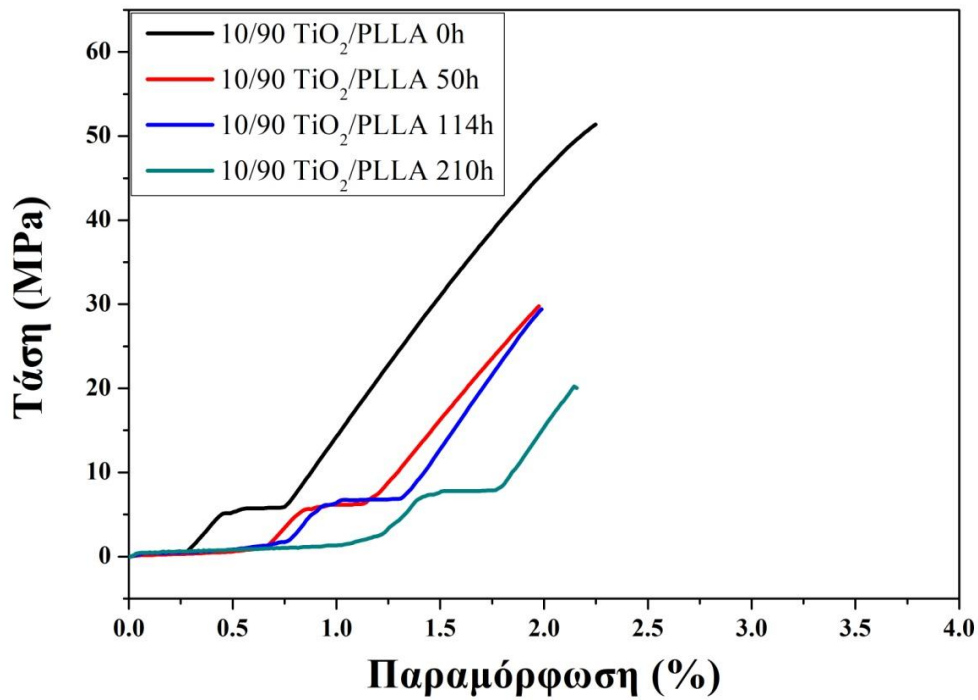
Στα παρακάτω Διαγράμματα παρουσιάζονται οι καμπύλες τάσης-παραμόρφωσης για το PLLA και τα νανοσύνθετα 10/90 TiO₂/PLLA για τις διάφορες ώρες έκθεσης στη UV ακτινοβολία. Το υψηλότερο σημείο της καμπύλης αντιστοιχεί στο όριο διαρροής, που αποτελεί μια ιδιότητα που είναι ανεξάρτητη από το μέγεθος του εξεταζόμενου δοκιμίου και επηρεάζεται από παράγοντες όπως η προετοιμασία του δείγματος, αστοχίες κατά την κοπή, η παρουσία ή η απουσία επιφανειακών ελαττωμάτων, η θερμοκρασία διεξαγωγής των μετρήσεων και τα ίδια τα υλικά.



Διάγραμμα 21: Καμπύλες τάσης-παραμόρφωσης κατά τη δοκιμή σε εφελκυσμό δοκιμίων του PLLA και των νανοσυνθέτων του.



Διάγραμμα 22: Καμπύλες τάσης-παραμόρφωσης κατά τη δοκιμή σε εφελκυσμό για τα δείγματα PLLA για 0, 50, 114 και 210 ώρες ακτινοβολήσης σε UV ακτινοβολία.



Διάγραμμα 23: Καμπύλες τάσης-παραμόρφωσης κατά τη δοκιμή σε εφελκυσμό για τα δείγματα 10/90 $TiO_2/PLLA$ για 0, 50, 114 και 210 ώρες ακτινοβολήσης σε UV ακτινοβολία.

Πίνακας 6.18: Αποτελέσματα αντοχής σε εφελκυσμό και μέτρου ελαστικότητας του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 w/w $TiO_2/PLLA$ για 0, 50, 114 και 210h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

	Αντοχή σε εφελκυσμό (MPa)		Μέτρο ελαστικότητας(MPa)	
	PLLA	10/90 w/w $TiO_2/PLLA$	PLLA	10/90 w/w $TiO_2/PLLA$
0 h	59.86±1.43	52.17±1.16	2719±114	3125±237
50 h	41.21±0.83	29.89±2.69	2676±46	3249±242
114 h	62.86±1.46	31.12±1.44	3055±231	3537±93
210 h	54.87±0.74	31.37±2.69	3288±11	3893±36

Πίνακας 6.19: Αποτελέσματα επιμήκυνσης στη θραύση του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 w/w $TiO_2/PLLA$ για 0, 50, 114 και 210h έκθεσης σε UV ακτινοβολία.

	Επιμήκυνση σε θραύση (%)	
	PLLA	10/90 w/w $TiO_2/PLLA$
0 h	3.50±0.27	2.37±0.16
50 h	2.84±0.56	2.13±0.43
114 h	3.13±0.77	2.29±0.22
210 h	2.91±0.24	2.11±0.25

Όλα τα δοκίμια κατά τη δοκιμή εφελκυσμού θραύονται με τρόπο ψαθυρό και χωρίς τη δημιουργία λαιμού.

Όσον αφορά τα δοκίμια PLLA, παρατηρείται ότι για την αντοχή σε εφελκυσμό δεν υπάρχει κάποια σαφής τάση και η διαφοροποίηση γενικά στις τιμές είναι σχετικά μικρή. Το μέτρο ελαστικότητας δείχνει να αυξάνει με αύξηση του χρόνου έκθεσης στη UV ακτινοβολία, ενώ η επιμήκυνση σε θραύση παρουσιάζει τάση μείωσης.

Για τα νανοσύνθετα 10/90 w/w TiO₂/PLLA, η αντοχή σε εφελκυσμό εμφανίζει μείωση με το πέρας του χρόνου που δεν επηρεάζεται από τον εξεταζόμενο χρόνο έκθεσης. Με το πέρας του χρόνου έκθεσης στη UV ακτινοβολία, η φαινομενική αύξηση της κρυσταλλικότητας, όπως διαπιστώθηκε και από τα αποτελέσματα DSC, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του μέτρου ελαστικότητας και άρα την αύξηση της ακαμψίας της πολυμερικής μήτρας. Παρόμοια με το σκέτο PLLA, η επιμήκυνση στη θραύση παρουσιάζει τάση μείωσης με διακυμάνσεις στις τιμές της.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του PLLA και των νανοσυνθέτων μεταξύ τους, διαπιστώνεται ότι τα νανοσύνθετα εμφανίζουν γενικά χαμηλότερη αντοχή σε εφελκυσμό στο σημείο θραύσης σε σχέση με το καθαρό PLLA για όλες τις ώρες. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να οφείλεται στην απουσία ισχυρής διασύνδεσης μεταξύ της πολυμερικής μήτρας και των νανοσωματιδίων, επειδή η τιτανία δεν έχει υποστεί επιφανειακή τροποποίηση, καθώς και πιθανής δημιουργίας συσσωματωμάτων νανοσωματιδίων. Την ίδια παρατήρηση έκαναν και οι Zhang et al. (42) που μελέτησαν νανοσύνθετα PLLA 4032D με διάφορες περιεκτικότητες σε διοξείδιο του τιτανίου και είδαν ότι όταν το περιεχόμενο σε TiO₂ είναι μεγαλύτερο ή ίσο με 2%, τα νανοσύνθετα εμφανίζουν χαμηλότερη αντοχή σε εφελκυσμό σε σχέση με το καθαρό PLLA. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις που μελέτησαν, δηλαδή 0,5 και 1% , εμφάνιζαν μεγαλύτερη αντοχή σε εφελκυσμό. Αυτό δείχνει η ενσωμάτωση νανοσωματιδίων στην πολυμερική μήτρα μέχρι μια συγκεκριμένη συγκέντρωση μπορεί να αυξήσει τη σκληρότητά της.

Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, το μέτρο ελαστικότητας δείχνει να αυξάνεται στα νανοσύνθετα και αυτό πιθανώς να οφείλεται στην παρουσία του ανόργανου μέσου ενίσχυσης που προσδίδει ακαμψία στην πολυμερική μήτρα. Στα πειράματα των Fonseca et al. (22) βρέθηκε ότι το μέτρο ελαστικότητας αυξήθηκε κατά 55%

με τη προσθήκη 5% wt νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου σε σύγκριση με το σκέτο PLLA. Επίσης, παρόμοιες μηχανικές ιδιότητες βρέθηκαν και από τους Wu et al. (93) οι οποίοι διαπίστωσαν ότι νανοπρόσθετα όπως το SiO₂ στο PLLA μπορούν να αυξήσουν το μέτρο ελαστικότητας.

Τέλος, η επιμήκυνση κατά τη θραύση, δείχνει να μειώνεται με την προσθήκη των νανοσωματιδίων.

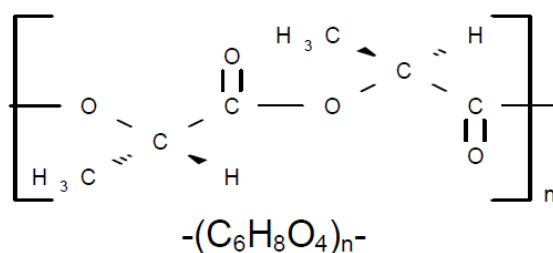
Κεφάλαιο 7

Παρασκευή ικριωμάτων PLA με τεχνική έκπλυσης άλατος και χαρακτηρισμός τους

7.1 Πρώτες ύλες

- Πολυ-L-γαλακτικό οξύ (Poly-L-lactide, PLLA)

Το πολυ(γαλακτικό οξύ) που χρησιμοποιήθηκε ήταν της εταιρείας NatureWorks® (τύπος Ingeo™ 4043D Poly-L-lactide). Η χημική δομή και οι ιδιότητές του παρουσιάζονται παρακάτω:



Εικόνα 7.1: Χημική δομή χρησιμοποιούμενου PLLA.

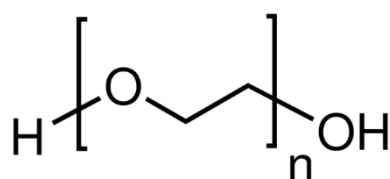
Πίνακας 7.1: Ιδιότητες χρησιμοποιούμενου PLLA.

Περιγραφή	Λευκοί κόκκοι
Οσμή	Σχεδόν άοσμο
Εσωτερικό ιξώδες	4 dl/g (0.2% σε χλωροφόρμιο, 30°C)
Υπολείμματα μονομερούς	Μέχρι 0.1%
Υπολείμματα διαλύτη	μέχρι 0.1% σε ακετόνη μέχρι 890 ppm τολουολίου μέχρι 0.1% συνολικά
Νερό	μέχρι 0.5%
Κασσίτερος	μέχρι 60 ppm
Βαρέα μέταλλα	μέχρι 10 ppm
Θεϊκή τέφρα	μέχρι 0.1%

Πριν την επεξεργασία του, το πολυγαλακτικό οξύ ξηραίνεται σε φούρνο κενού στους 80°C για 4 ώρες και πίεση 600mmHg και στη συνέχεια φυλάσσεται σε ξηραντήρες.

- Πολυαιθυλενογλυκόλη (Polyethylene glycol, PEG)

Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε πολυαιθυλενογλυκόλη (polyethylene glycol, PEG) με μοριακό βάρος $M_w=10,000$ g/mol της εταιρίας Alfa Aesar ως υδρόφιλο πρόσθετο στη μήτρα PLLA. Η πολυαιθυλενογλυκόλη ανήκει στην κατηγορία των πολυμερών αιθέρων και είναι λευκή, στερεή ουσία υπό μορφή νιφάδων και λεπτόκοκκης σκόνης αντίστοιχα. Οι πολυαιθυλενογλυκόλες αποτελούν υδρόφιλα γραμμικά πολυμερή με γενικό χημικό τύπο $H-(OCH_2CH_2)_n-OH$ και μοριακό τύπο που φαίνεται στο παρακάτω σχήμα. Η διαλυτότητα της PEG στο νερό είναι 500 g/l (20°C) και η πυκνότητά της είναι 1.20g/cm^3 (20 °C). Το σημείο τήξης κυμαίνεται από 58 – 63 °C.



Εικόνα 7.2: Μοριακός τύπος πολυαιθυλενογλυκόλης

- Άλας χλωριούχου νατρίου (NaCl)

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

Πίνακας 7.2: Ιδιότητες χλωριούχου νατρίου

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	<0.5%

Η επιθυμητή κοκκομετρία του χλωριούχου άλατος είναι 200-300 μm , γι' αυτό και χρησιμοποιήθηκαν κόσκινα με διάμετρο σίτας 200-300 μm προκειμένου να γίνει ο κατάλληλος διαχωρισμός.

7.2 Παρασκευή ικριωμάτων

Στην παρούσα εργασία παρασκευάστηκαν ικριώματα PLLA/NaCl 60/40% wt και PLLA/PEG/NaCl 50/10/40% wt, με τρισδιάστατη πορώδη δομή με τη μέθοδο της εκβολής τήγματος και της έκπλυσης σωματιδίων σε υδατικό περιβάλλον. Πριν την έναρξη της διαδικασίας και για να αποφευχθεί η ύπαρξη υγρασίας στο αλάτι, αυτό ξηραίνεται σε φούρνο υπό κενό 600 mbar στους 60°C για 4 ώρες. Επίσης, η PEG ξηραίνεται σε φούρνο κενού για 4 ώρες στους 40°C. Στη συνέχεια ζυγίστηκαν οι ποσότητες του πολυμερούς, της PEG και του άλατος για να φτιαχτούν οι επιθυμητές αναλογίες. Τα συστατικά αναμείχθηκαν αρχικά με μηχανική ξηρή ανάμειξη προκειμένου να εξασφαλιστεί μια ομοιογενής σκόνη. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε εκβολή με την ίδια διάταξη που αναφέρθηκε και στο 5^ο κεφάλαιο και το παραγόμενο 'μακαρόνι' κοκκοποιήθηκε στον pelletizer. Για τη μορφοποίηση του πολυμερούς χρησιμοποιήθηκε η υδραυλική θερμόπρεσσα και τα τελικά δοκίμια είχαν μορφή dogbone. Τα μορφοποιημένα δοκίμια, τέλος, ζυγίστηκαν και εμβαπτίστηκαν σε υδατόλουτρο με απεσταγμένο νερό στους 45°C που διαλύει τα σωματίδια του αλατιού αλλά όχι το πολυμερές, με συνέπεια να σχηματίζονται πόροι στις θέσεις όπου πριν υπήρχαν τα σωματίδια. Η αλλαγή του νερού γίνεται μια φορά ημερησίως και κάθε φορά το δοκίμιο, 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. Τελικά τα δοκίμια παρέμειναν για 10 μέρες σε απεσταγμένο νερό, ύστερα αφέθηκαν για 3 μέρες στον ατμοσφαιρικό αέρα, τοποθετήθηκαν σε φούρνο κενού για 4 μέρες για πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας, και παρέμειναν σε ξηραντήρα μέχρι να ξεκινήσουν οι αναλύσεις.



Εικόνα 7.3: Εμβάπτιση των δοκιμίων σε απεσταγμένο νερό στους 45°C.

7.3 Μέθοδοι χαρακτηρισμού

Για το χαρακτηρισμό των μιγμάτων PLLA/NaCl καθώς και PLLA/PEG/NaCl πριν και μετά την έκπλυση σε υδατικό περιβάλλον έγιναν δοκιμές διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC), θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης (TGA), μέτρησης πορώδους καθώς και μελέτη της μορφολογίας των πόρων με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM). Στη συνέχεια θα αναλυθούν οι αρχές καθώς και οι πειραματικές διαδικασίες των μεθόδων SEM και μέτρησης πορώδους που δεν έχουν αναφερθεί σε προηγούμενα κεφάλαια.

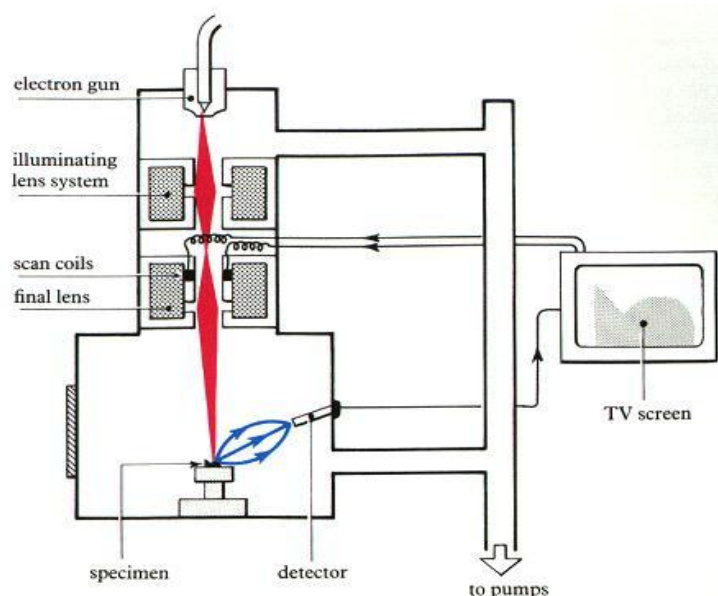
7.3.1 Αρχή της μεθόδου SEM

Για να υπάρξει μία σαφής εικόνα της μορφολογίας των μιγμάτων, που μελετώνται, η πιο κατάλληλη μέθοδος είναι αυτή της ηλεκτρονικής μικροσκοπικής ανάλυσης, (SEM). Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM: Scanning Electron Microscopy) (Εικόνα 7.4) είναι ένας τύπος ηλεκτρονικού μικροσκοπίου ικανού να παράγει εικόνες υψηλής ευκρίνειας της επιφάνειας ενός δείγματος. Η ευκρίνεια της εικόνας μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 0.5 nm. Η στήλη παραγωγής και εστίασης της δέσμης ηλεκτρονίων λαμβάνει χώρα σε κενό ($<10^{-3}$ 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.

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 (70).



Εικόνα 7.4: Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.

Η παρατήρηση της μορφολογίας των δοκιμίων, στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, έγινε σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (SEM) 515 της εταιρίας Philips, σε τάση 15-30 kV, υπό γωνία προσπτώσεως της ακτινοβολίας 20°.

Πειραματική διαδικασία

Για τη μελέτη της πορογενούς δομής στην επιφάνεια και το εσωτερικό των ικριωμάτων 60/40 w/w PLLA/NaCl και 50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl που προέκυψαν από την τεχνική έκπλυσης άλατος, ελήφθησαν τομές μετά από κρυογενική θραύση σε υγρό άζωτο.

Προκειμένου να ληφθεί εικόνα, απαιτείται η επικάλυψη με χρυσό λόγω της μονωτικής ιδιότητας των πολυμερών. Η επιχρύσωση των δοκιμίων έγινε με ιοντοβολή σε μηχανήμα Polaron 5100. Για να γίνει επαρκής επικάλυψη με χρυσό, 5 έως 10 nm, χρειάζεται η παραμονή τους στο θάλαμο από 90 έως 150 sec. Όταν το κενό στο θάλαμο φτάσει στα 0.08 torr, αυξάνεται η τάση στα 2.5 kV. Τότε αρχίζει η επικάλυψη των δοκιμίων με χρυσό, που πρέπει να γίνεται με ρεύμα 20 έως 25 mA.

7.3.2 Μέτρηση πυκνότητας (ASTM D792)

Η μέτρηση της πυκνότητας των ικριωμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl μετά την έκπλυση των πορογενών μέσων σε υδατικό περιβάλλον έγινε βάσει του προτύπου ASTM D792 (94) για τον υπολογισμό πυκνότητας πλαστικών με τη μέθοδο της εκτόπισης.

Διαδικασία

Για τη μέτρηση της πυκνότητας έγινε χρήση ηλεκτρονικού ζυγού τύπου Mettler Toledo AB204-S. Αρχικά, σε ποτήρι ζέσεως των 250 mL γίνεται εισαγωγή επαρκούς ποσότητας υγρού βύθισης ώστε να καλύπτεται το βυθισμένο δοκίμιο. Καθώς τα πλαστικά έχουν ειδικό βάρος μικρότερο από 1.00 είναι απαραίτητη η χρήση 'βαριδίου βύθισης' (sinker). Το 'βαρίδιο βύθισης' πρέπει να χαρακτηρίζεται από αντοχή στη διάβρωση, ειδικό βάρος τουλάχιστον 7.0, ομαλές επιφάνειες, κανονικό σχήμα και να είναι ελαφρώς βαρύτερο από το απαραίτητο βάρος για να βυθίζεται το δοκίμιο. Το βαρίδιο αυτό προσαρμόζεται στο δοκίμιο και στο σύστημα στήριξης. Το 'υγρό βύθισης' δε θα πρέπει να διαλύει, να διογκώνει ή να επηρεάζει με άλλο τρόπο το δοκίμιο, αλλά θα πρέπει μόνο να το διαβρέχει. Στη θέση αυτού του υγρού επιλέχθηκε η μεθανόλη με ειδική πυκνότητα 0.792 g/cm³. Σύμφωνα με το πρότυπο, τα δοκίμια πρέπει να είναι μονοκόμματα και το βάρος τους να κυμαίνεται μεταξύ 1-50 g. Για κάθε δείγμα απαιτούνται δύο δοκίμια ώστε τελικά να ληφθεί ο μέσος όρος των μετρήσεων. Η κατάλληλη θερμοκρασία για να πραγματοποιηθεί η μέτρηση θεωρείται ότι είναι στους 23 ± 0.1 °C.

Όταν η θερμοκρασία του υγρού βύθισης σταθεροποιείται, εισάγεται στο δοχείο το σύστημα στήριξης μαζί με το βαρίδιο βύθισης. Καταγράφεται η ένδειξη του ζυγού και στη συνέχεια μηδενίζεται. Τοποθετείται το δοκίμιο στο άνω μέρος του συστήματος στήριξης

και ζυγίζεται στον αέρα. Καταγράφεται η ένδειξη του ζυγού (A) (Εικόνα 7.5). Μηδενίζεται ο ζυγός κι έπειτα το δοκίμιο τοποθετείται στην κάτω θέση του συστήματος στήριξης έτσι ώστε να συγκρατείται από το 'βαρίδιο στήριξης' και ζυγίζεται εκ νέου, αυτή τη φορά ενώ είναι βυθισμένο στο υγρό βύθισης κατά 10 mm. Καταγράφεται η ένδειξη του ζυγού (P), η οποία αναμενόμενα είναι αρνητική. Η ζύγιση πραγματοποιείται όσο το δυνατόν πιο γρήγορα με σκοπό την ελαχιστοποίηση εισχώρησης του υγρού στο δοκίμιο.

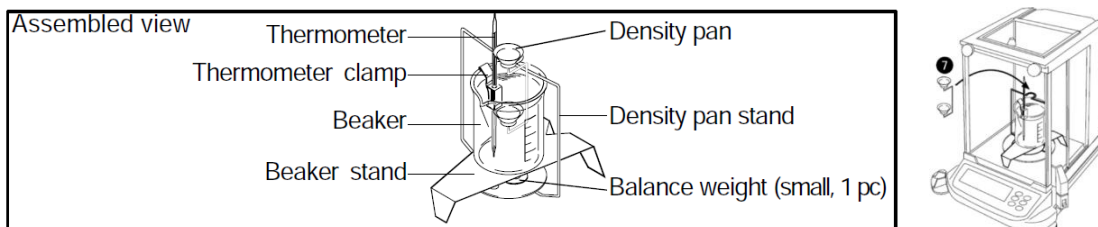
Στην παρούσα διπλωματική εργασία τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους 25°C. Η θερμοκρασία μετρήθηκε με θερμόμετρο ακρίβειας ± 0.1 °C. Η πυκνότητα του δοκιμίου υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\rho_{\text{δοκιμίου}} = \frac{A}{A-P} \cdot (\rho_{\text{υγρού βύθισης}} - d) + d \quad (7)$$

Όπου: $\rho_{\text{δοκιμίου}}$: η πυκνότητα του εξεταζόμενου πλαστικού,

$\rho_{\text{υγρού βύθισης}}$: η πυκνότητα του υγρού βύθισης, εδώ $\rho_{\text{μεθανόλης}}^{25^\circ\text{C}} = 791.8 \text{ kg/m}^3$ και

d : η πυκνότητα του αέρα ($\approx 1 \text{ kg/m}^3$).



Εικόνα 7.5 : Διάταξη μέτρησης πυκνότητας με τη μέθοδο της εκτόπισης

Χαρακτηρισμός πορώδους

Το πορώδες υπολογίζεται στη συνέχεια σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{Porosity (void fraction)} \quad \varepsilon = 1 - \frac{\rho_s}{\rho_p} \times 100\% \quad (8)$$

Όπου ε : πορώδες (κλάσμα κενού)

ρ_s : η πυκνότητα του ικριώματος

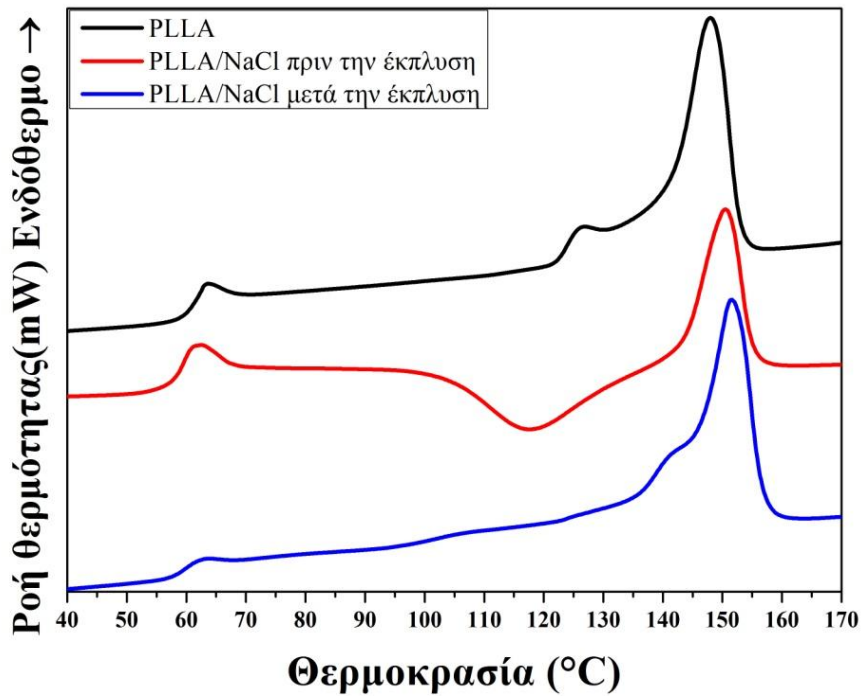
ρ_p : η πυκνότητα του πολυμερούς, εδώ : $\rho_{\text{PLLA}}: 1240 \text{ kg/m}^3$

7.4 Αποτελέσματα

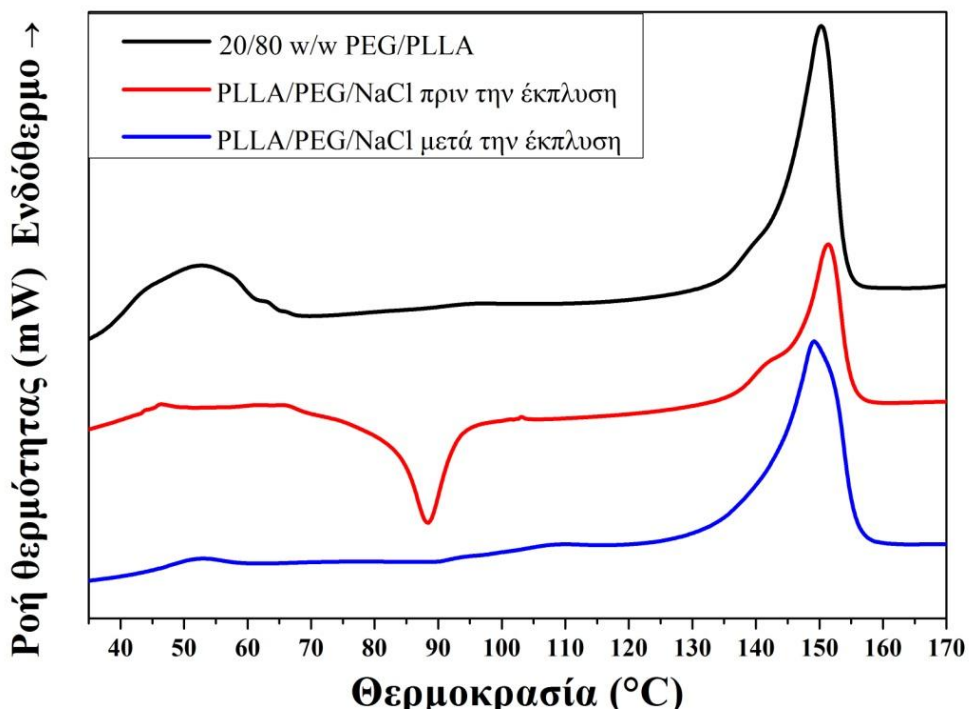
7.4.1 Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Στα διαγράμματα και τους πίνακες που ακολουθούν παρατίθενται τα αποτελέσματα της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης τα οποία ελήφθησαν για τα μίγματα PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl πριν την έκπλυση, καθώς και τα αντίστοιχα ικρίσματα που προέκυψαν μετά την έκπλυση σε υδατικό περιβάλλον. Από τα διαγράμματα αυτά είναι δυνατή η εύρεση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης T_g , της θερμοκρασίας ψυχρής κρυστάλλωσης T_{CC} , της ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης ΔH_{CC} , του μέγιστου ρυθμού τήξης T_m , και της ενθαλπίας τήξης ΔH_m ως βηματική αλλαγή στη γραμμή βάσης, ως εξώθερμη κορυφή και ως ενδόθερμη κορυφή αντίστοιχα.

1^{ος} κύκλος θέρμανσης



Διάγραμμα 24: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/NaCl, πριν και μετά την έκλυση.



Διάγραμμα 25: Καμπύλες DSC κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/PEG/NaCl, πριν και μετά την έκλυση.

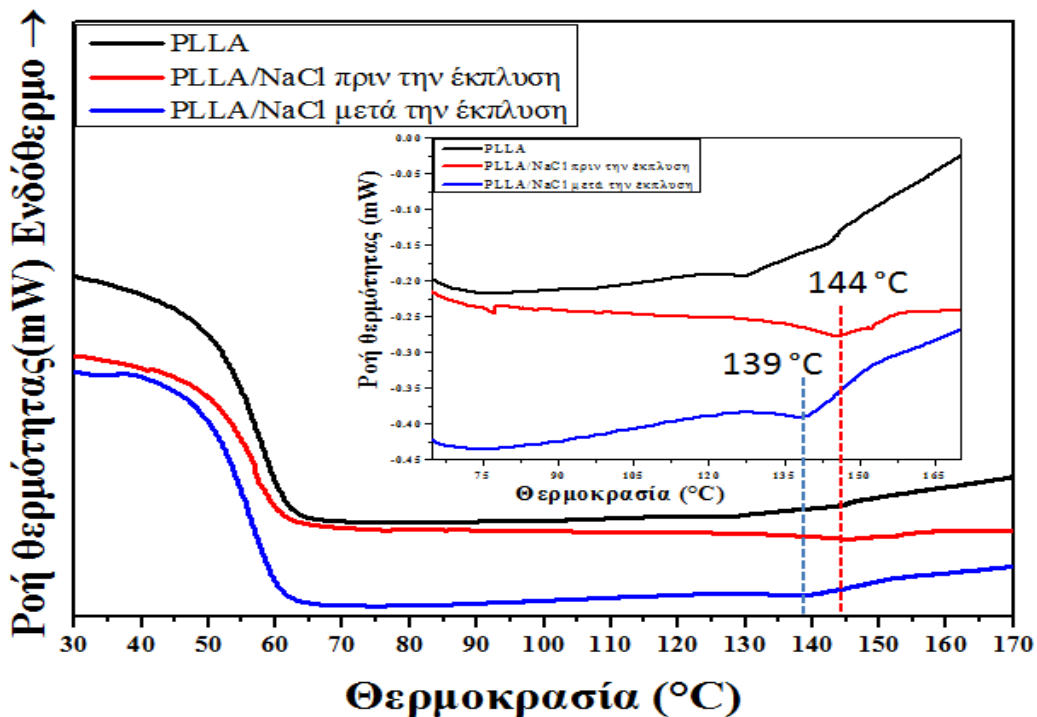
Πίνακας 7.3: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.

Δείγμα	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _m (°C)
PLLA	62.0 ±0.4	-	147.60 ±0.0
60/40 w/w PLLA/NaCl			
Πριν την έκπλυση	57.06 ±0.0	103.78 ±0.0	142.92 ±0.2
Μετά την έκπλυση	56.88 ±0.5	-	143.85±0.1
20/80 w/w PEG/PLLA	42.8 ±1.6	-	150.0±0.1
50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl			
Πριν την έκπλυση	40.23 ±0.8	79.83 ±0.8	144.25 ±0.7
Μετά την έκπλυση	42.88 ±0.8	-	141.99±0.7

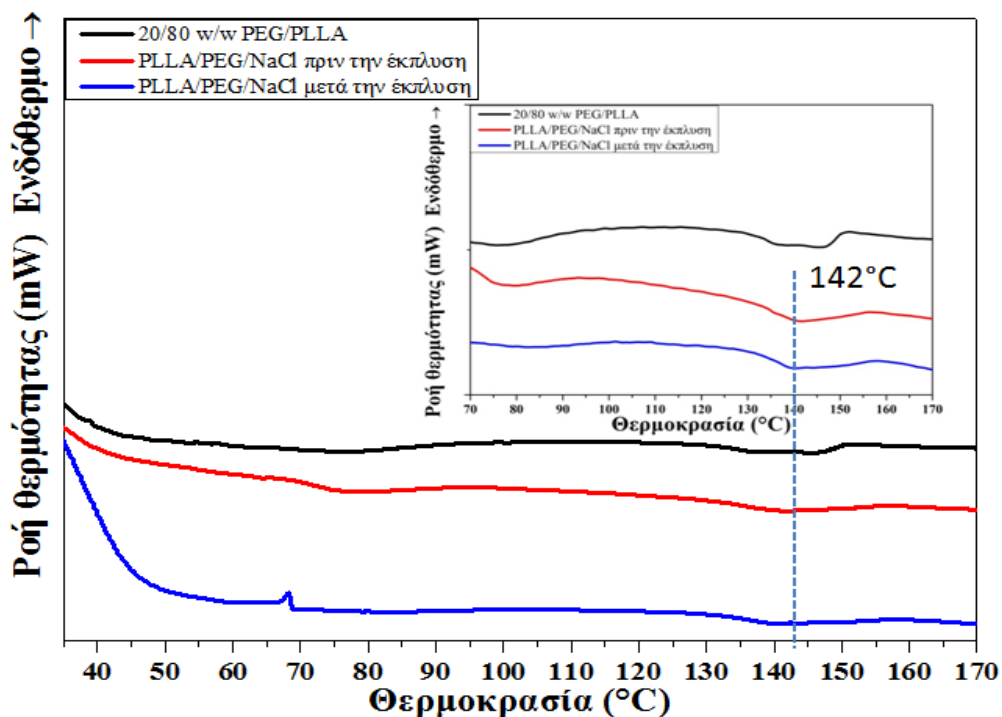
Πίνακας 7.4: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl, κατά τον πρώτο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.

Δείγμα	ΔH _{cc, PLLA} (J/g)	ΔH _{m, PLLA} (J/g)
PLLA	-	32.50 ±0.9
60/40 w/w PLLA/NaCl		
Πριν την έκπλυση	-19.85 ±0.0	23.68 ±0.0
Μετά την έκπλυση	-	23.57 ±0.9
20/80 w/w PEG/PLLA	-	29.56±0.9
50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl		
Πριν την έκπλυση	-26.78 ±0.06	33.46 ±0.6
Μετά την έκπλυση	-	27.34 ±0.9

Κύκλος ψύξης



Διάγραμμα 26: Καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για τα δείγματα PLLA/NaCl, πριν και μετά την έκλυση.

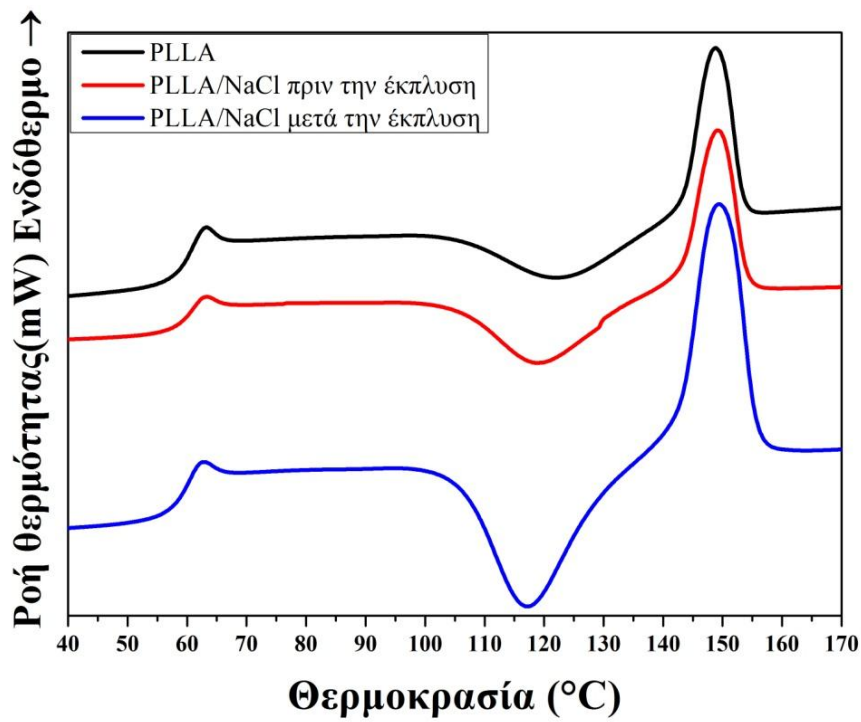


Διάγραμμα 27: Καμπύλες DSC κατά τον κύκλο ψύξης για τα δείγματα PLLA/PEG/NaCl, πριν και μετά την έκλυση.

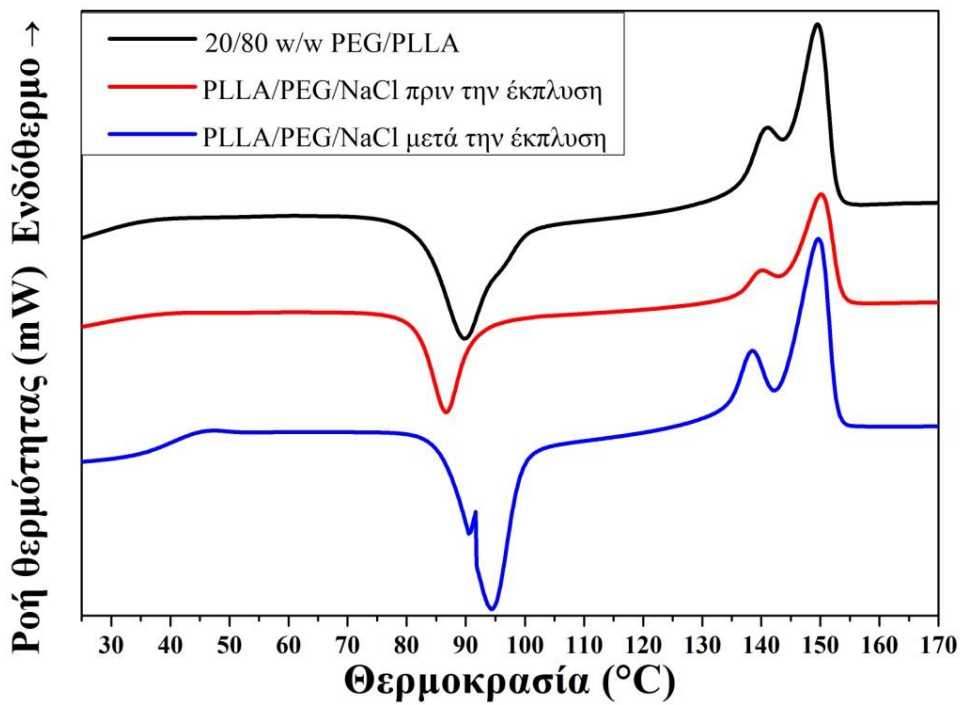
Κατά τον κύκλο ψύξης των μιγμάτων PLLA/NaCl παρατηρείται κορυφή κρυστάλλωσης στους 144°C. Μετά την έκπλυση του χλωριούχου νατρίου η κορυφή αυτή παραμένει, μετατοπίζεται όμως σε χαμηλότερη θερμοκρασιακή περιοχή (139°C). Η παρουσία του NaCl φαίνεται να διευκολύνει σε ένα βαθμό τη διαδικασία της κρυστάλλωσης, η οποία ξεκινάει συντομότερα από την έναρξη του κύκλου ψύξης σε σχέση με το μίγμα μετά την έκπλυση. Η κρυσταλλικότητα, που αναπτύχθηκε στην πολυμερική μήτρα λόγω της παρουσίας του αλατιού, παραμένει ακόμα και μετά την απομάκρυνσή του.

Παρόλο που κατά τον κύκλο ψύξης των μιγμάτων PLLA/PEG/NaCl δεν υπάρχει εμφανής κορυφή κρυστάλλωσης, σε κάποιο στάδιο αναπτύσσεται κρυσταλλικότητα η οποία δεν καταγράφεται είτε λόγω των ορίων ακρίβειας του οργάνου είτε λόγω του ρυθμού ψύξης (10°C/min). Εστιάζοντας σε μία πιο στενή θερμοκρασιακή περιοχή, διαπιστώθηκε η ύπαρξη κορυφής κρυστάλλωσης του μίγματος 20/80 w/w PEG/PLLA στους 142°C. Η κορυφή αυτή υπάρχει και κατά τον κύκλο ψύξης των δειγμάτων PLLA/PEG/NaCl τόσο πριν όσο και μετά την έκπλυση των πορογενών μέσων. Συνεπώς, η επίδραση της ενσωμάτωσης του χλωριούχου νατρίου στην κρυσταλλικότητα του PLLA είναι μόνιμη.

2^{ος} κύκλος θέρμανσης



Διάγραμμα 28: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση



Διάγραμμα 29: Καμπύλες DSC κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης για τα δείγματα PLLA/PEG/NaCl, πριν και μετά την έκπλυση.

Πίνακας 7.5: Αποτελέσματα θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης, ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.

Δείγμα	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _{m1} (°C)	T _{m2} (°C)
PLLA	60.1 ±0.0	122.60 ±0.2	-	148.5 ±0.8
60/40 w/w PLLA/NaCl				
Πριν την έκπλυση	57.76 ±0.0	105.54 ±0.0	-	142.81 ±0.2
Μετά την έκπλυση	57.06 ±0.1	105.85±0.2	-	142.34±0.1
20/80 w/w PEG/PLLA	32.7 ±1.7	93.7 ±1.6	141.7±0.8	149.3 ±0.2
50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl				
Πριν την έκπλυση	26.76 ±0.8	81.14 ±0.6	139.93 ±0.4	146.42 ±0.8
Μετά την έκπλυση	36.58 ±0.8	85.91±0.8	138.62±0.5	142.45 ±0.2

Πίνακας 7.6: Αποτελέσματα ενθαλπίας ψυχρής κρυστάλλωσης, ενθαλπίας τήξης και βαθμού κρυσταλλικότητας των δειγμάτων PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl κατά το δεύτερο κύκλο θέρμανσης πριν και μετά την έκπλυση.

Δείγμα	ΔH _{cc,PLLA} (J/g)	ΔH _{m,PLLA} (J/g)	X _c (%)
PLLA	-11.89±0.5	11.97 ±0.5	0.1
60/40 w/w PLLA/NaCl			
Πριν την έκπλυση	-20.10 ±0.0	22.13 ±0.0	2.2
Μετά την έκπλυση	-21.08±0.9	21.68 ±0.9	0.6
20/80 w/w PEG/PLLA			
	-28.29±0.3	31.14 ±1.5	
50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl			
	ΔH _{cc,PLLA} (J/g)	ΔH _{m,PLLA} (J/g)	X _c (%)
Πριν την έκπλυση	-25.44 ±0.9	34.22 ±0.3	9.4
Μετά την έκπλυση	-26.19 ±0.7	31.83 ±0.9	6.0

Να σημειωθεί ότι στους παραπάνω πίνακες έχει γίνει κανονικοποίηση των ενθαλπιών ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης πριν την έκπλυση ως προς το PLLA ώστε να βρεθεί ο πραγματικός βαθμός κρυσταλλικότητας που στη συνέχεια υπολογίζεται μέσω του τύπου:

$$X_c = \left[\frac{\Delta H_m - |\Delta H_{cc}|}{\Delta H_0} \right] * 100\% \quad (9)$$

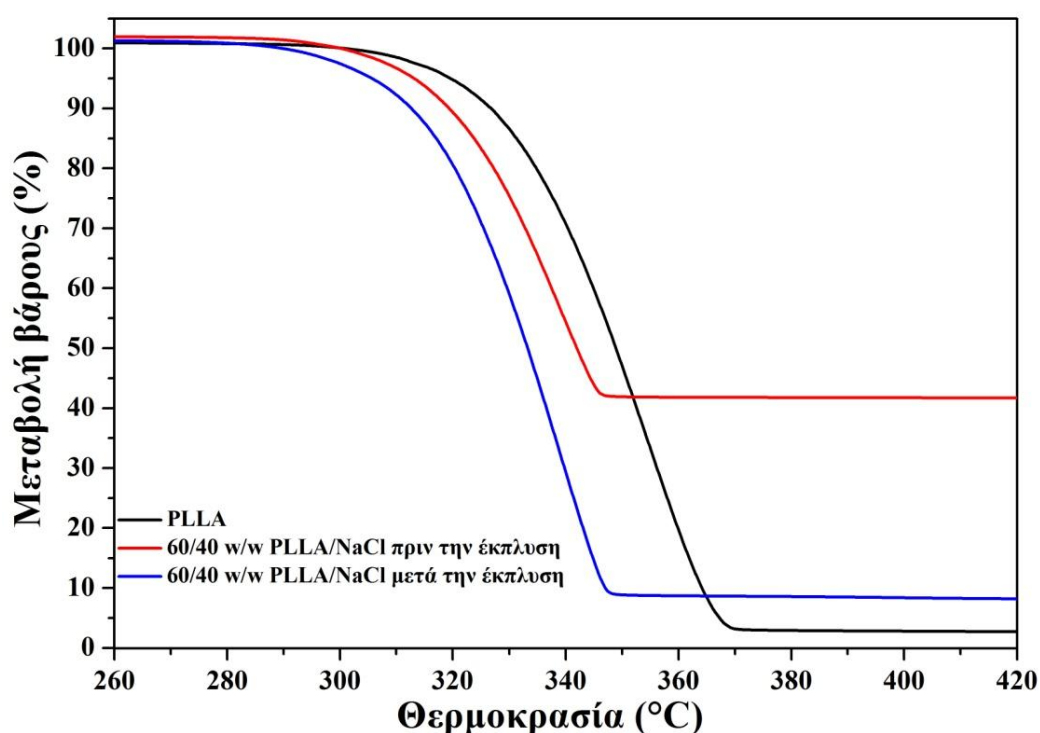
όπου η ΔH₀ είναι η ενθαλπία τήξης του 100% κρυσταλλικού PLA και λαμβάνεται ίση με 93.7 J/g.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 28, πάνω από τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης, τα δείγματα PLLA/NaCl πριν και μετά την έκπλυση παρουσιάζουν μια ευρεία εξώθερμη κορυφή ψυχρής κρυστάλλωσης, η ένταση της οποίας φαίνεται να αυξάνει μετά την έκπλυση. Σύμφωνα με τον πίνακα 7.5, η θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης των μιγμάτων PLLA/NaCl πριν και μετά την έκπλυση είναι σχεδόν ίδια, ωστόσο παρουσιάζει ελαφρά μείωση σε σχέση με το καθαρό PLLA, γεγονός που οφείλεται πιθανώς στην προσθήκη του χλωριούχου νατρίου. Η επίδραση αυτή είναι μόνιμη, ακόμα και μετά την απομάκρυνσή του. Επίσης, για τα μίγματα αυτά, και σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 7.6, φαίνεται ότι το ποσοστό κρυσταλλικότητας μετά την απομάκρυνση του χλωριούχου νατρίου παραμένει σχεδόν ίδιο με αυτό του καθαρού PLLA. Βέβαια, διαπιστώνεται αύξηση των ενθαλπιών ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης των μιγμάτων PLLA/NaCl σε σχέση με την πολυμερική μήτρα, γεγονός που αποδίδεται αρχικά στην παρουσία των σωματιδίων NaCl. Τα σωματίδια του ανόργανου αυτού μέσου φαίνεται να διευκολύνουν την κρυσταλλική διαμόρφωση των πολυμερικών αλυσίδων του PLLA. Με την εισαγωγή της PEG, το εξώθερμο φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης υπάρχει ακόμα, ωστόσο μεταφέρεται σε χαμηλότερη θερμοκρασία, άρα πιθανώς η PEG να διευκολύνει την κρυστάλλωση του PLLA. Παρόμοια αποτελέσματα μείωσης της θερμοκρασίας ψυχρής κρυστάλλωσης στα δείγματα PLLA/PEG/NaCl σε σχέση με τα δείγματα PLLA/NaCl βρήκαν και οι Wang et al. (95), που πρότειναν ότι η PEG καθιστά πιο ευχερή την κρυστάλλωση του πολυγαλακτικού οξέος. Σύμφωνα με τους Li et al. (96) η χρήση ενός πλαστικοποιητή δεν θα έπρεπε να επηρεάζει τη θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης, καθώς η κρυστάλλωση κατά την ψύξη περιορίζεται από το ρυθμό πυρήνωσης και όχι από την κινητικότητα των αλυσίδων. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, μεταβολές στην κρυσταλλική συμπεριφορά του μίγματος PLLA/PEG/NaCl πιθανώς να οφείλονται στην αύξηση της κινητικότητας των αλυσίδων, λόγω της προσθήκης της PEG, που προκαλεί αναδιάταξη των πολυμερικών αλυσίδων ώστε να κρυσταλλωθούν πιο εύκολα. Ένα δεύτερο φαινόμενο που σχετίζεται με την παραπάνω παρατήρηση και παρατηρείται στα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας είναι και η γρηγορότερη έναρξη της κρυστάλλωσης κατά τον κύκλο θέρμανσης, λόγω της παρουσίας πυρήνων κρυστάλλωσης που έχουν σχηματιστεί ήδη από τον κύκλο ψύξης (96). Παρότι αυτοί οι πυρήνες εκπροσωπούν ένα μικρό κρυσταλλικό κλάσμα, ωστόσο αυξάνουν

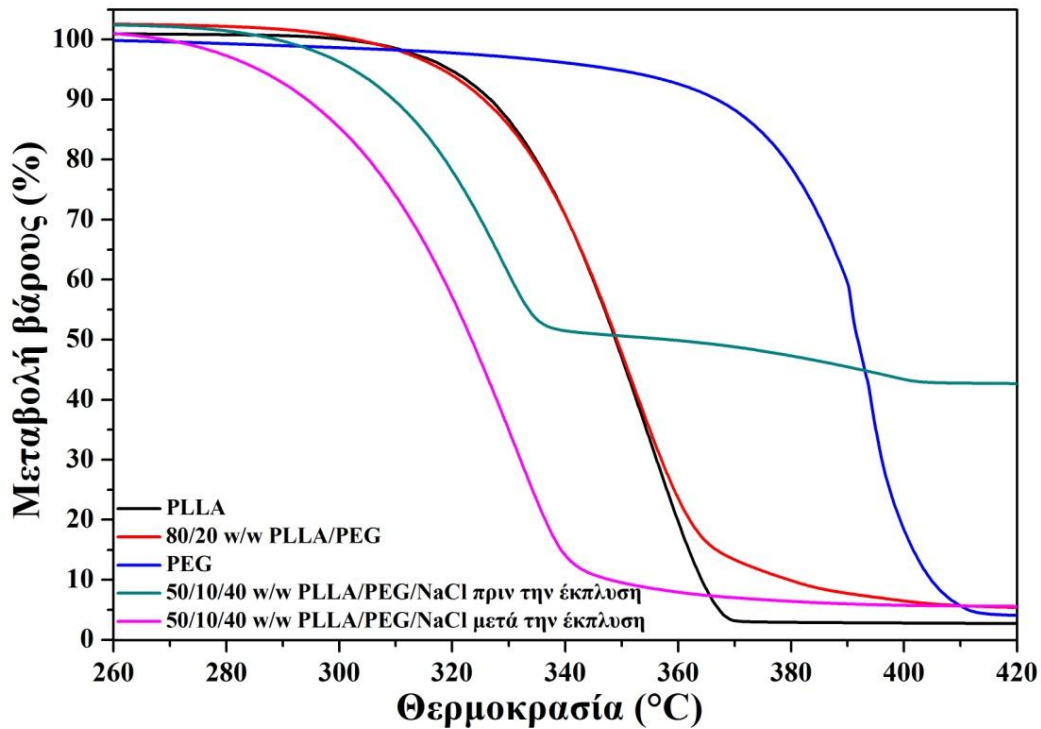
το ρυθμό κρυστάλλωσης καθώς η κρυσταλλική δομή είναι ήδη πιο πυκνά δομημένη απ'ότι όταν το πολυμερές ψύχεται μετά από την τήξη (96). Επίσης, παρατηρείται και μείωση της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης στα δείγματα PLLA/PEG/NaCl σε σχέση με το καθαρό PLLA και τα μίγματα PLLA/NaCl, η οποία δίνει τη δυνατότητα στην κρυστάλλωση να ξεκινήσει από χαμηλότερη θερμοκρασία κατά τη θέρμανση. Ακόμη, για τα δείγματα PLLA/PEG/NaCl η κανονικοποιημένη ως προς το PLLA ενθαλπία που απορροφάται αυξάνεται με την προσθήκη του χλωριούχου νατρίου στα μη εκπλυμένα δοκίμια, ωστόσο μετά την απομάκρυνσή του, γίνεται σχεδόν ίδια με αυτή του δείγματος αναφοράς 20/80 PEG/PLLA. Βέβαια, η ενθαλπία αυτή είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με τα δοκίμια PLLA/NaCl, γεγονός που αποδίδεται στη διευκόλυνση ανάπτυξης της κρυσταλλικότητας του PLLA από τη φάση της PEG. Πράγματι, συμπληρωματικά με τις παραπάνω παρατηρήσεις, από την εύρεση του βαθμού κρυσταλλικότητας, ο οποίος και επηρεάζει πολύ την προσκόλληση των κυττάρων στο ικρίωμα (97), συμπεραίνεται ότι τα ικρίσματα που προέκυψαν με την προσθήκη της PEG πριν την έκπλυση εμφανίζουν σχετικά υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητας σε σχέση με τα αντίστοιχα μίγματα PLLA/NaCl. Με την εισαγωγή της PEG, η αυξημένη κινητικότητα των αλυσίδων του PLA συνεισφέρει στο σχηματισμό τακτικής δομής. Μια τέτοια καλά οργανωμένη κρυσταλλική δομή θεωρείται ότι βελτιώνει την αντίσταση σε θλιπτική παραμόρφωση (97). Για τα μίγματα PLLA/PEG/NaCl, παρατηρείται η ύπαρξη δύο κορυφών τήξεως αντί μίας, οι οποίες και αποδίδονται στην τήξη δυο κύριων κρυσταλλικών διαμορφώσεων με διαφορετική μορφολογία που πιθανώς οφείλονται στο PLLA, που έχει κρυσταλλωθεί κατά τη θέρμανση και κατά την ψύξη. Θεωρητικά, η χαμηλότερης θερμοκρασίας κορυφή τήξης οφείλεται στην τήξη λεπτότερων κρυσταλλικών φυλλιδικών πλακιδίων και η πιο ευρεία κορυφή τήξης σε υψηλότερες θερμοκρασίες, στην τήξη των παχύτερων, πιο τέλειων κρυστάλλων που σχηματίστηκαν κατά τη διαδικασία αναδιοργάνωσης κατά τη θέρμανση (98).

7.4.2 Θερμοβαρυμετρική ανάλυση

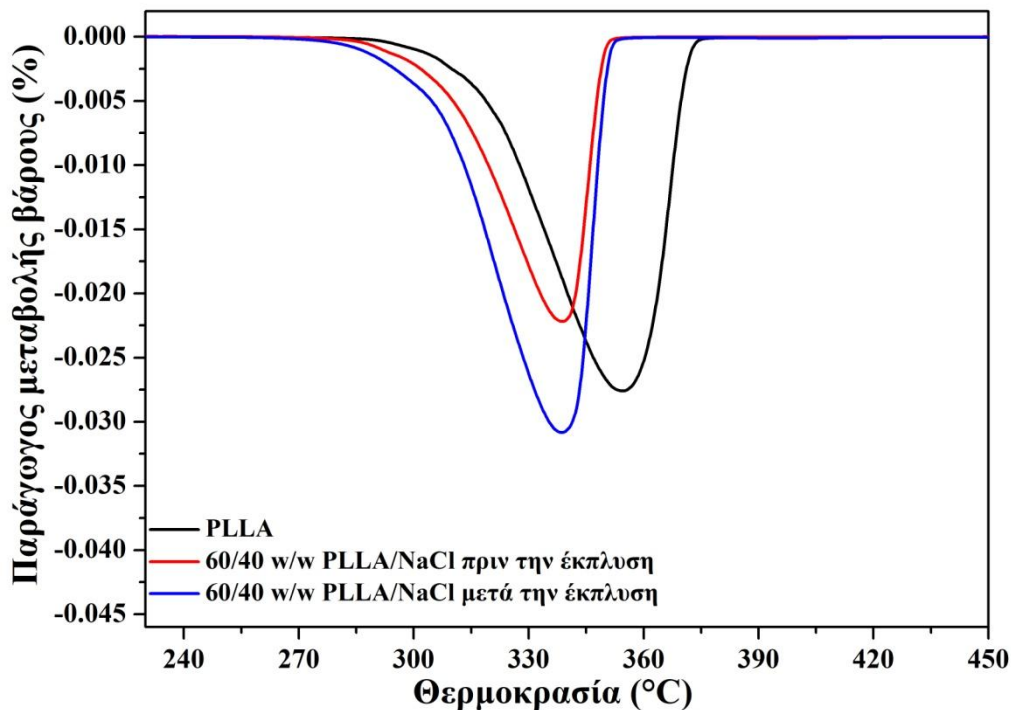
Η θερμοβαρυμετρική ανάλυση (TGA) εφαρμόστηκε για τη μελέτη της θερμικής σταθερότητας και για την εύρεση τυχόν υπολείμματος στα μίγματα 60/40 w/w PLLA/NaCl και 50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl πριν την έκπλυση καθώς και στα αντίστοιχα ικρίσματα που παρήχθησαν με τεχνική έκπλυσης σε υδατικό περιβάλλον. Παρακάτω παρατίθενται οι καμπύλες μεταβολής βάρους (Διαγράμματα 30, 31), οι καμπύλες πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους (Διαγράμματα 32, 33) συναρτήσει της θερμοκρασίας καθώς και οι πειραματικές τιμές T_{onset} , T_{peak} και υπολείμματος που προέκυψαν. (Πίνακας 7.7).



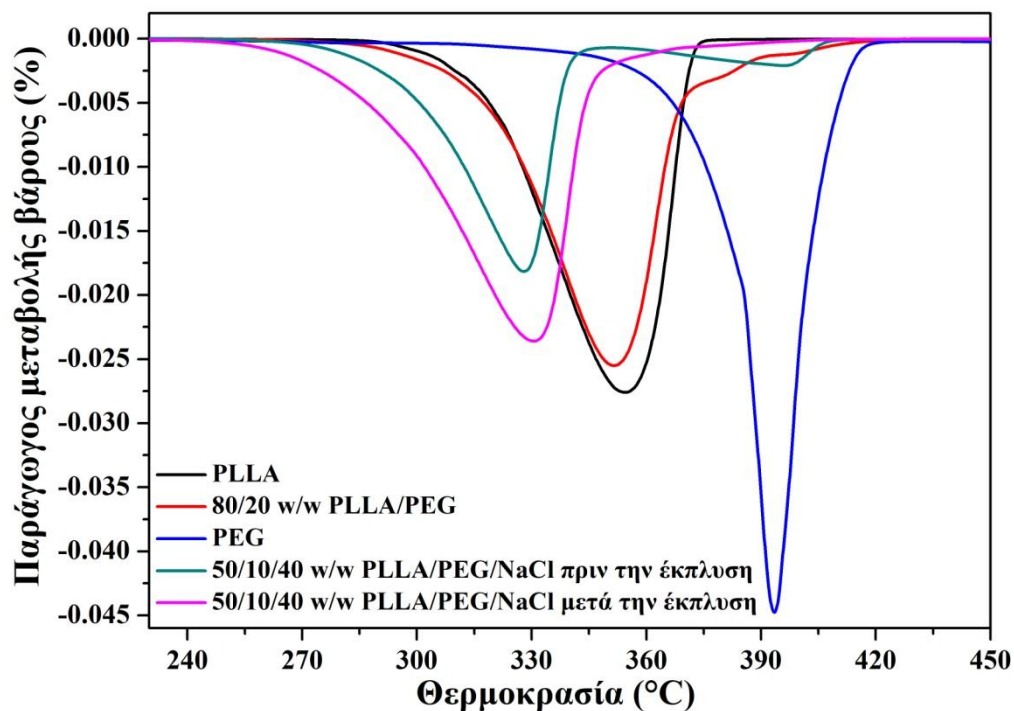
Διάγραμμα 30: Καμπύλες μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA και για τα μίγματα 60/40 w/w PLLA/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.



Διάγραμμα 31: Καμπύλες μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA, 80/20 w/w PLLA/PEG και PEG ως αναφορά, καθώς και για τα μίγματα 50/10/40 PLLA/PEG/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.



Διάγραμμα 32: Καμπύλες πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA καθώς και για τα μίγματα 60/40 w/w PLLA/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.



Διάγραμμα 33: Καμπύλες πρώτης παραγώγου μεταβολής βάρους συναρτήσει της θερμοκρασίας για τα δείγματα PLLA, 80/20 w/w PLLA/PEG και PEG ως αναφορά, καθώς και για τα μίγματα 50/10/40 PLLA/PEG/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.

Πίνακας 7.7: Αποτελέσματα πειραμάτων TGA για τα δείγματα PLLA, PEG, 80/20 w/w PLLA/PEG ως αναφορά καθώς και για τα μίγματα 60/40 w/w PLLA/NaCl και 50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl πριν και μετά την έκπλυση.

Δείγμα	T _{onset} (°C)	T _{peak,PLLA} (°C)	T _{peak,PEG} (°C)	Residue (%)
PLLA	329.7 ±0.4	359.3 ±0.9	-	3.5 ±0.3
60/40 w/w PLLA/NaCl				
Πριν την έκπλυση	311.2 ±0.9	343.3 ±0.9	-	41.6 ±0.1
Μετά την έκπλυση	310.9 ±0.7	345.5 ±0.4	-	8.8 ±1.2
50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl				
Πριν την έκπλυση	297.9 ±0.5	335.9 ±0.9	406.1 ±0.0	41.2 ±1.4
Μετά την έκπλυση	287.7 ±0.1	337.7 ±0.1	-	5.4 ±0.2
80/20 w/w PLLA/PEG	327.5 ±0.1	360.0 ±0.2	-	5.4 ±0.1
PEG	393.5.7 ±0.1	-	404.3 ±0.0	1.6 ±0.7

Από τα αποτελέσματα του υπολείμματος (Πίνακας 7.7) για το κάθε δείγμα διαπιστώνεται ότι:

α) για το μίγμα 60/40 w/w PLLA/NaCl πριν την έκπλυση με υπόλειμμα 41.6% : Το PLLA εάν ήταν σε αναλογία 100% θα είχε υπόλειμμα 3.5%, σε αναλογία 60% έχει υπόλειμμα 2.1%. Το χλωριούχο νάτριο δεν παθαίνει κάποια θερμική μεταβολή στο εξεταζόμενο θερμοκρασιακό εύρος, επομένως αναμένεται να παραληφθεί εξ'ολοκλήρου στο υπόλειμμα. Επομένως, θεωρητικά, το προβλεπόμενο υπόλειμμα είναι 42.1%, άρα επιβεβαιώνεται ο κανόνας των μιγμάτων των δύο συστατικών καθώς η πειραματική τιμή (41.6%) βρίσκεται εντός των ορίων της τυπικής απόκλισης.

β) για το ικρίωμα 60/40 w/w PLLA/NaCl που προέκυψε μετά την έκπλυση με υπόλειμμα 8.8%, το προβλεπόμενο υπόλειμμα θα ήταν περίπου ίσο με 2.1%, δηλαδή το υπόλειμμα του PLLA σε αναλογία 60%, δεδομένου ότι έχει απομακρυνθεί όλο το χλωριούχο νάτριο. Η διαφορά της πειραματικής τιμής από την προβλεπόμενη ισούται με 6.7% και αυτό δείχνει ότι το αλάτι δεν έχει απομακρυνθεί πλήρως. Για τον περαιτέρω χαρακτηρισμό των ικριωμάτων χρησιμοποιήθηκε η τεχνική SEM. Οι Chen et al. (63) βρήκαν αντίστοιχα για μίγμα PLLA μοριακού βάρους 250,000 g/mol και NaCl κοκκομετρίας 40-75μm σε αναλογία 60/40 w/w μετά την έκπλυση των πορογενών μέσων, υπόλειμμα αλατιού ίσο με 7 wt%.

γ) για το μίγμα 50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl πριν την έκπλυση με υπόλειμμα 41.2%: Το PLLA εάν ήταν σε αναλογία 100% θα είχε υπόλειμμα 3.5%, σε αναλογία 50% έχει υπόλειμμα 1.75%. Η PEG εάν ήταν σε αναλογία 100% θα είχε υπόλειμμα 1.6%, σε αναλογία 10% έχει υπόλειμμα 0.16%. Επομένως, το προβλεπόμενο υπόλειμμα είναι 41.91%, άρα επιβεβαιώνεται επίσης ο κανόνας των μιγμάτων καθώς η πειραματική τιμή (41.2%) βρίσκεται εντός των ορίων της τυπικής απόκλισης.

δ) για το ικρίωμα 50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl μετά την έκπλυση με υπόλειμμα 5.4%: Θεωρητικά, μετά από μια επιτυχή έκπλυση θα πρέπει να έχει απομακρυνθεί όλη η ποσότητα χλωριούχου νατρίου καθώς και η υδατοδιαλυτή PEG. Επομένως, το προβλεπόμενο υπόλειμμα ισούται μόνο με το υπόλειμμα του PLLA, δηλαδή 1.75%. Για λόγους σύγκρισης, έγινε προσθήκη της καμπύλης του μίγματος 80/20 w/w PLLA/PEG καθώς η αναλογία PLLA:PEG στη δεύτερη περίπτωση είναι περίπου ίδια με την πρώτη (80:20 και 83.4 : 16.6 αντίστοιχα). Από το Διάγραμμα 32 παρατηρείται ότι δεν υπάρχει η

χαρακτηριστική κορυφή αποδόμησης της PEG στο διάγραμμα του ικρίωματος PLLA/PEG/NaCl, σε σύγκριση όμως με το ικρίωμα 60/40 w/w PLLA/NaCl η ολοκλήρωση της θερμικής αποδόμησης εμφανίζει μια καθυστέρηση. Αν είχε απομακρυνθεί εντελώς η PEG, η μορφή των καμπύλης θα έπρεπε να ήταν παρόμοια με την καμπύλη του ικρίωματος 60/40 w/w PLLA/NaCl. Διαπιστώνεται έτσι ότι η διαφορά 3.65% μεταξύ της προβλεπόμενης και της πειραματικής τιμής του υπολείμματος οφείλεται στην παρουσία τόσο μη εκπλυμένων σωματιδίων χλωριούχου νατρίου, όσο και PEG. Σε κάθε περίπτωση όμως, το υπόλειμμα του ικρίωματος PLLA/PEG/NaCl είναι μικρότερο από το αντίστοιχο του PLLA/NaCl. Οι Chen et al. (63), σε μελέτη τους με δοκίμια PLLA μοριακού βάρους 250,000 g/mol, PEG μοριακού βάρους 6,000 g/mol και NaCl κοκκομετρίας 40-75μm σε αναλογία 60/10/30 w/w, βρήκαν υπόλειμμα ίσο με 5%, το οποίο και απέδωσαν στην PEG, και παρατήρησαν πλήρη απομάκρυνση του χλωριούχου νατρίου λόγω της βελτιωμένης αλληλοσυνδεόμενης δομής και της επιφανειακής αλληλεπίδρασης μεταξύ της PEG και του NaCl. Σύμφωνα με την παραπάνω μελέτη, η υδατοδιαλυτή PEG προώθησε την απομάκρυνση των σωματιδίων χλωριούχου νατρίου. Επίσης, λόγω αυτής της υδατοδιαλυτότητας της PEG, μετά την έκπλυση παρατηρείται και πλήρη απομάκρυνσή της. Οι Yin et al. (97) διαπίστωσαν και αυτοί πλήρη απομάκρυνση των σωματιδίων NaCl κοκκομετρίας 25-74 nm σε μίγματα PLLA μοριακού βάρους 195000 g/mol, PEG μοριακού βάρους 3350 g/mol και NaCl σύστασης w/w 24/1/75, 23/2/75 και 20/5/75, δηλαδή ακόμα και σε πολύ μεγαλύτερες περιεκτικότητες σε αλάτι απ' ότι στο παρόν πείραμα. Οι Chen et al. (99), σε συνέχεια της μελέτης τους συνέκριναν μίγματα PLLA 2002D/NaCl και PLLA 2002D/PEG/NaCl σε αναλογίες 60/30 και 60/10/30 και παρατήρησαν ότι μετά την έκπλυση για το μεν πρώτο δείγμα το υπόλειμμα σε PLLA ήταν ίσο με 4%, ενώ για το δεύτερο το ποσοστό έπεσε στο 3%, δίνοντας ως εξήγηση την αλληλοσυνδεόμενη δομή που προκαλεί η PEG.

Όσον αφορά τη θερμική σταθερότητα των μιγμάτων πριν την έκπλυση, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του PLLA και PLLA/PEG με αυτά των μιγμάτων, διαπιστώνεται ότι η θερμοκρασία έναρξης της θερμικής αποδόμησης και η θερμοκρασία μέγιστου ρυθμού θερμικής αποδόμησης είναι αρκετά χαμηλότερες στην περίπτωση των εξεταζόμενων μιγμάτων, γεγονός που δείχνει ότι η παρουσία του χλωριούχου νατρίου μειώνει τη θερμική

σταθερότητα της πολυμερικής μήτρας. Συγκεκριμένα, η μείωση της T_{onset} των μιγμάτων PLLA/NaCl ήταν της τάξης των 18 °C σε σύγκριση με το καθαρό PLLA.

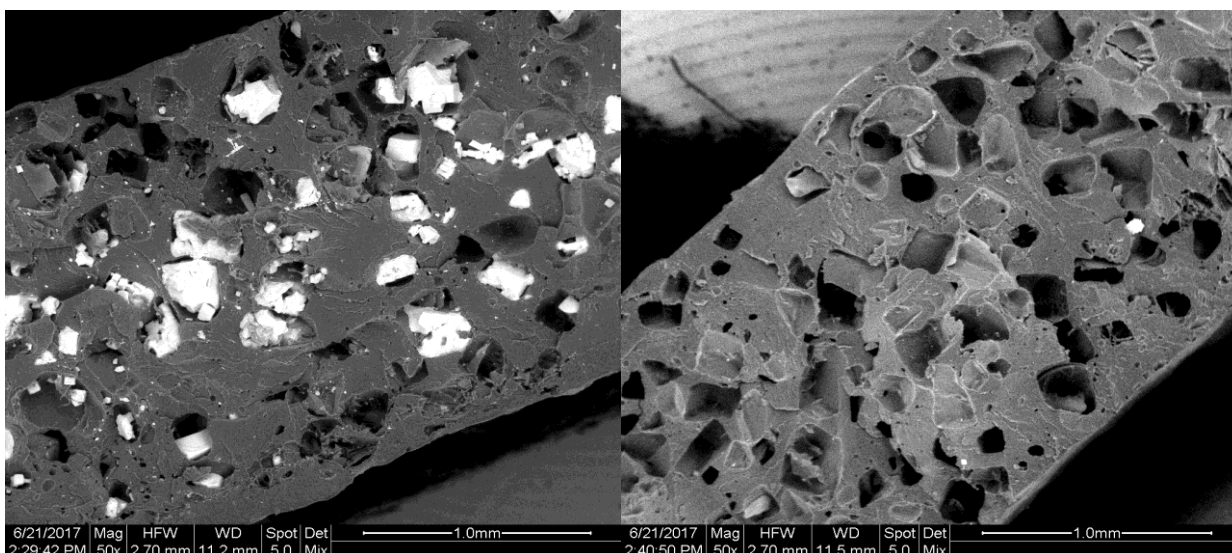
Η T_{onset} των μιγμάτων PLLA/PEG/NaCl καταγράφηκε μικρότερη κατά περίπου 30°C από την αντίστοιχη των παραπλήσιας σύστασης μιγμάτων PLLA/PEG (Πίνακας 7.7), γεγονός που αποδίδεται στην παρουσία του NaCl. Επιπρόσθετα, στο μίγμα PLLA/PEG/NaCl πριν την έκπλυση καταγράφεται ξεκάθαρα η κορυφή της PEG ($T_{\text{peak,PEG}}$, Πίνακας 7.7), κάτι που δείχνει ότι η παρουσία του χλωριούχου νατρίου δεν επηρεάζει τη θερμική σταθερότητα της PEG.

Όσον αφορά τη θερμική σταθερότητα των μιγμάτων μετά την έκπλυση, αυτό που παρατηρείται για το σύστημα 60/40 w/w PLLA/NaCl είναι ότι η διαδικασία της έκπλυσης δεν επηρεάζει τη θερμική σταθερότητα της πολυμερικής μήτρας, καθώς οι θερμοκρασίες T_{onset} και T_{peak} είναι παρόμοιες πριν και μετά την έκπλυση (Πίνακας 7.7). Στην περίπτωση του μίγματος 50/10/40 w/w/w PLLA/PEG/NaCl διαπιστώνεται μείωση της τάξης των 10°C της θερμοκρασίας έναρξης αποδόμησης της πολυμερικής μήτρας μετά την απομάκρυνση των πορογενών μέσων από αυτήν. Η T_{peak} της πολυμερικής μήτρας σε αυτά τα ικρίσματα δε φαίνεται να επηρεάστηκε από την τεχνική της έκπλυσης.

Από βιβλιογραφική ανασκόπηση σε μίγματα PLLA/PEG/NaCl και ικρίσματα που προέκυψαν μετά από την έκπλυση, σχολιάζεται ότι η PEG διευκολύνει την κίνηση της κύριας αλυσίδας της πολυμερικής μήτρας και έτσι η αποδόμηση συμβαίνει σε χαμηλότερη θερμοκρασία (100). Επίσης, οι He et al. (101) διαπίστωσαν ότι η προσθήκη PEG σε καθαρό PLLA μειώνει κατά πολύ την T_{onset} καθώς αυξάνει την υδροφιλικότητα και επιταχύνει έτσι την υδρόλυση των εστερικών δεσμών.

7.4.3 Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)

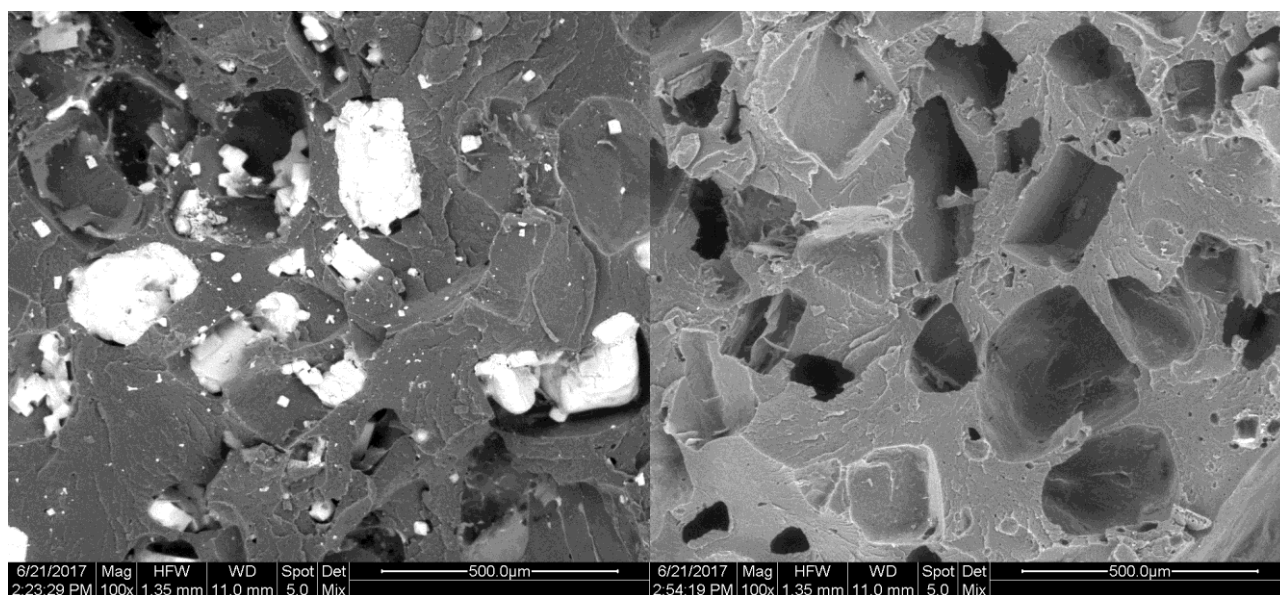
Η μελέτη SEM χρησιμοποιήθηκε για να διερευνηθεί η μορφολογία των ικριωμάτων που έχουν παρασκευαστεί με την τεχνική έκπλυσης άλατος σε υδατικό περιβάλλον. Για τη χρήση των ικριωμάτων σε εφαρμογές της μηχανικής των ιστών είναι απαραίτητο να μελετηθεί το μέγεθος και η διασυνδεσιμότητα των πόρων. Οι εικόνες που ακολουθούν (Εικόνες 7.6-7.9 (α) και (β)) προέρχονται από την τομή με κρυογενική θραύση σε υγρό άζωτο, ικριωμάτων μετά από έκπλυση των πορογενών μέσων μιγμάτων (α) 60/40 w/w PLLA/NaCl και (β) 50/10/40 w/w PLLA/PEG/NaCl. Οι πληροφορίες που ελήφθησαν αφορούν στα μορφολογικά χαρακτηριστικά, την κατανομή μεγέθους και την επικοινωνία των πόρων της πλάγιας τομής των ικριωμάτων.



Εικόνα 7.6: Φωτογραφίες SEM (x50) (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40)

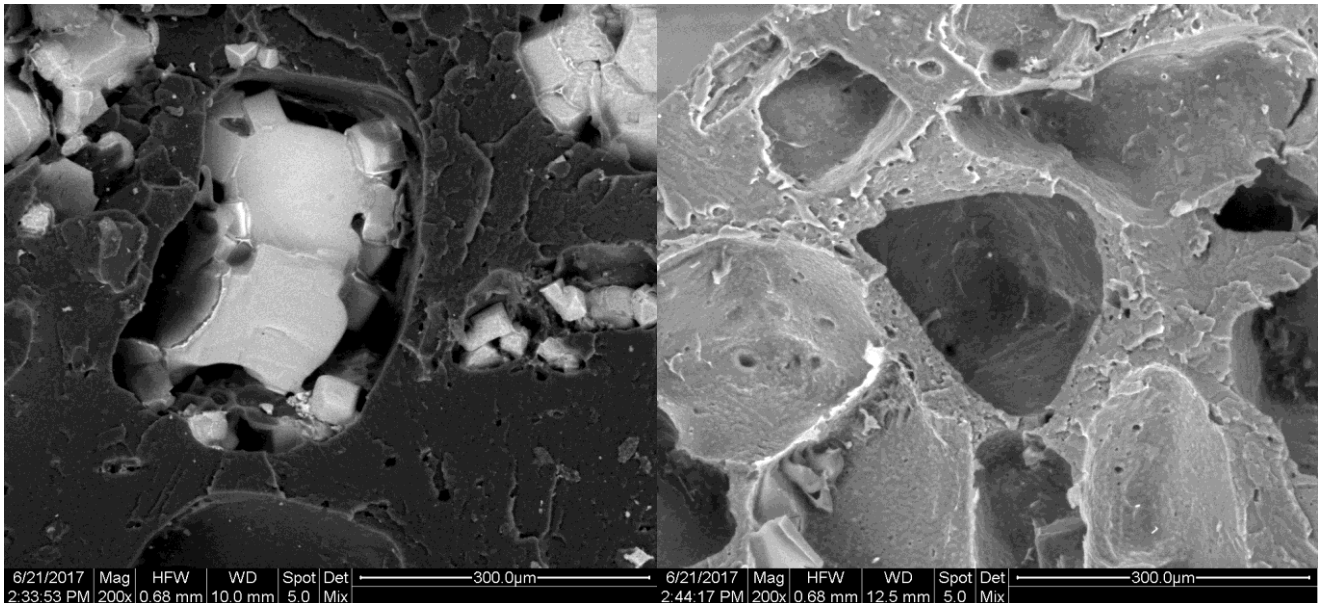
Όπως φαίνεται και από τις Εικόνες 7.6(α) και (β), η επιφάνεια των δοκιμίων αποτελεί μια τυπική ψαθυρή επιφάνεια χωρίς εμφανή πλαστική παραμόρφωση κάτι που δείχνει ότι τα δείγματα έσπασαν με ψαθυρό τρόπο (63). Ο δικόχλιος εκβολέας ασκώντας υψηλή διατμητική τάση και επιμηκύνοντας το χρόνο παραμονής στη ζώνη τήξης του υλικού, ευνοεί την εντατικοποίηση της αναμειξιμότητας και της διασποράς των σωματιδίων NaCl στην πολυμερική μήτρα. Βέβαια, όπως διαπιστώνεται από τη σύγκριση των Εικόνων 7.7(α) και (β), η επίδραση αυτή δεν είναι τόσο έντονη στα ικριώματα που προκύπτουν από την

έκπλυση των μιγμάτων PLLA/NaCl, όπου οι πόροι εμφανίζονται σε διάφορα τμήματα της επιφάνειας της πλάγιας τομής.



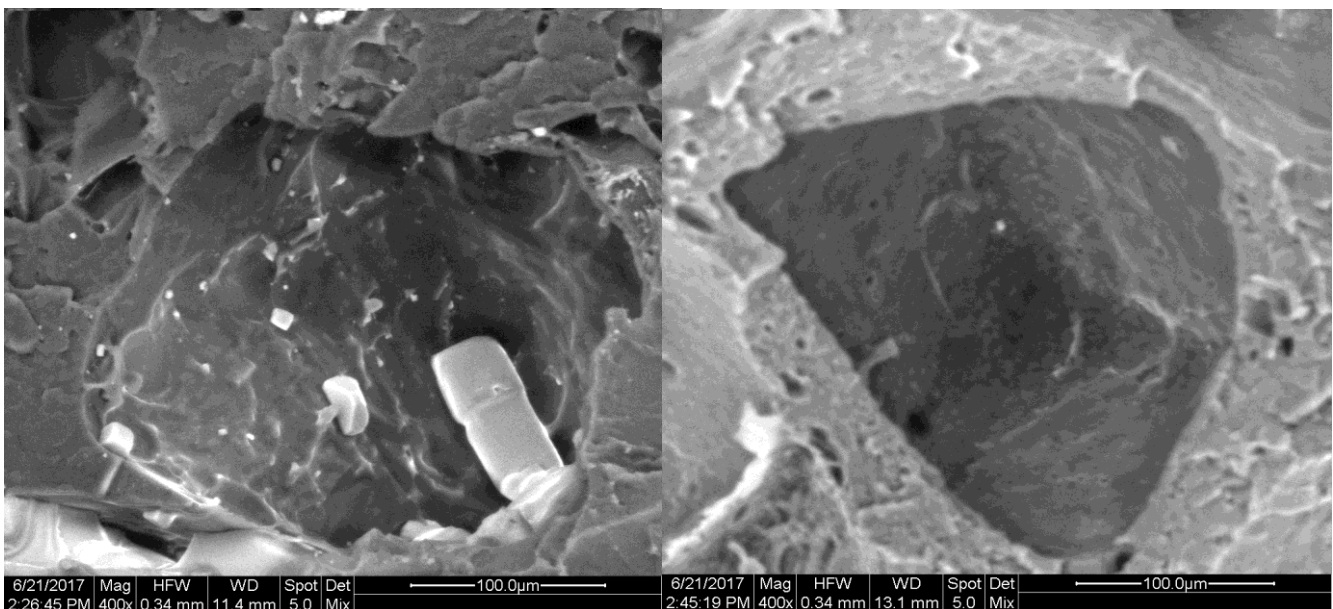
Εικόνα 7.7: Φωτογραφίες SEM (x100) (από την τομή) ικριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40)

Τα αρχικά σωματίδια NaCl που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία των μιγμάτων είχαν διάμετρο 200-300 µm. Στις Εικόνες 7.7(α) και (β), διαπιστώνεται η ύπαρξη σωματιδίων NaCl (Εικόνα 7.7(α)) και πόρων (Εικόνες 7.7(α) και (β)) με μικρότερη διάμετρο από την αναμενόμενη, μετά δηλαδή την απομάκρυνση των συγκεκριμένης κοκκομετρίας σωματιδίων NaCl. Επιπλέον, υπάρχει ευρεία κατανομή στο μέγεθος των πόρων αυτών. Πιθανότατα, λόγω των εντατικών συνθηκών που επικρατούν κατά τη διάρκεια της εκβολής, η πλειονότητα των σωματιδίων χλωριούχου νατρίου να έσπασαν σε μικρότερα κομμάτια (63). Αξίζει να σημειωθεί ότι η μικρότερη και τυχαία κοκκομετρία είναι αυτή, που κατά την έκπλυση των μιγμάτων οδηγεί στην εμφάνιση δαιδαλώδους και διασυνδεδεσιμότητας των πόρων. Το σχήμα ορθογωνίου παραλληλεπίπεδου που εμφανίζεται είναι χαρακτηριστικό της μορφολογίας σωματιδίων NaCl (102).



Εικόνα 7.8: Φωτογραφίες SEM (x200) (από την τομή) κριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40)

Στα κριώματα PLLA/NaCl (Εικόνα 7.8(α)) οι πόροι που έχουν δημιουργηθεί ξεχωρίζουν ο ένας από τον άλλον και δεν επικοινωνούν μεταξύ τους. Η παρατήρηση αυτή ισχύει και για τα κριώματα στα οποία συμμετείχε και η υδατοδιαλυτή PEG.



Εικόνα 7.9: Φωτογραφίες SEM (x400) (από την τομή) κριωμάτων (α) PLLA/NaCl, (60/40), (β) PLLA/PEG/NaCl, (50/10/40)

Από τα μίγματα PLLA/PEG/NaCl (Εικόνα 7.9(β)) για τα οποία διαπιστώθηκε ότι έχει απομακρυνθεί το περισσότερο αλάτι, έχοντας αφήσει στη θέση του ανοιχτούς μεγάλους πόρους, προκύπτει ότι η επιτυχής απομάκρυνση των πορογενών μέσων οφείλεται στο ότι οι πόροι συνδέονται σε ένα βαθμό μεταξύ τους και συνθέτουν μια πιο συνεχόμενη μορφολογία. Αξίζει να σημειωθεί ότι η απομάκρυνση του χλωριούχου νατρίου από τα αρχικά μίγματα PLLA/NaCl δεν έχει γίνει τόσο αποτελεσματικά όσα στα μίγματα που περιείχαν PEG, κάτι που φάνηκε και από τα αποτελέσματα του TGA για το υπόλειμμα στην προηγούμενη παράγραφο.

Στην ίδια παρατήρηση κατέληξαν και οι Chen et al. (63), που έχουν προαναφερθεί και οι οποίοι μελέτησαν ικρίωματα 60/40 w/w PLLA/NaCl και 60/10/30 w/w PLLA/PEG/NaCl και διαπίστωσαν ότι στα ικρίωματα με την PEG σε σχέση με αυτά χωρίς αυτήν, υπάρχει μια μεταβολή από μια μορφολογία διακριτών πόρων σε μια αλληλοσυνδεόμενη δομή. Έτσι, γίνεται φανερό ότι το μίγμα PLLA/PEG/NaCl επιδεικνύει καλύτερη διεπιφανειακή προσκόλληση των κόκκων NaCl στην πολυμερική μήτρα σε σχέση με το μίγμα PLLA/NaCl. Σε ένα ιδανικό ικρίωμα ένα τρισδιάστατο πορώδες αποτελούμενο από ένα ενδοσυνδεόμενο δίκτυο πόρων είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη του ιστού και για τη μεταφορά των θρεπτικών συστατικών και μεταβολικών προϊόντων (63), γι'αυτό και τα ικρίωματα με την PEG καθίστανται ιδανικότερα για εφαρμογές στην ιστική μηχανική. Το παραπάνω συμπέρασμα ενισχύεται και από την παρατήρηση ότι στα μεν μίγματα PLLA/NaCl παρατηρούνται κενά γύρω από τα σωματίδια χλωριούχου νατρίου, κάτι που δείχνει ότι δεν υπάρχει μεγάλη επιφανειακή συμβατότητα μεταξύ της πολυμερικής μήτρας και του NaCl, ενώ στα δε μίγματα PLLA/PEG/NaCl δεν παρατηρούνται τέτοια κενά, σημάδι ότι το αλάτι είχε εισχωρήσει καλά στο PLLA και ότι η PEG συνέβαλε στη βελτίωση της διασποράς των μακροπόρων μετά την έκπλυση.

Οι διάφοροι μικρότεροι πόροι που παρατηρούνται στα ικρίωματα PLLA/PEG/NaCl μπορεί και να οφείλονται στην απομάκρυνση μορφωμάτων της PEG. Σύμφωνα με τους Yin et al. (97) οι μικρότεροι αυτοί πόροι μπορούν να αυξήσουν τη συνδεσιμότητα μεταξύ των πόρων και να ενισχύσουν την προαναφερθείσα ιδιότητα μεταφοράς θρεπτικών ουσιών μέσα στα ικρίωματα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των κυττάρων. Επιπλέον, η απομάκρυνση της υδατοδιαλυτής PEG δημιουργεί μια σκληρή επιφάνεια πορώδους

τοιχώματος, που έχει θετική επίδραση στην προώθηση της κυτταρικής ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού και επίσης βελτιώνει την επιφανειακή προσκόλληση μεταξύ των κυττάρων και του ικριώματος. Σύμφωνα με τους Ghosh et al. (103) οι διαπερατοί πόροι που βρίσκονται σε πορώδες τοίχωμα επιταχύνουν την απομάκρυνση του NaCl μέσω της διάλυσης της PEG.

7.4.4 Μέτρηση πορώδους

Το πορώδες μετρήθηκε για τα μίγματα PLLA/NaCl και PLLA/PEG/NaCl μετά την έκπλυση. Αρχικά, υπολογίστηκε η πυκνότητα για καθένα από τα δείγματα σύμφωνα με την εξίσωση (7) και βρέθηκε ίση με $451,75 \text{ kg/m}^3$ για το πρώτο και $389,59 \text{ kg/m}^3$ για το δεύτερο. Το πορώδες υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση (8) και βρέθηκε ίσο με 63,6% για το πρώτο και 68,6% για το δεύτερο αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι αναμενόμενα καθώς η μειωμένη πυκνότητα και το αυξημένο πορώδες των ικριωμάτων με την PEG σε σχέση με τα ικριώματα PLLA/NaCl φάνηκαν και από την ανάλυση SEM, αφού στην περίπτωση των πρώτων εντοπίστηκαν περισσότεροι πόροι και μεγαλύτερη διασυνδεσιμότητα. Στα ικριώματα PLLA/NaCl, οι εναπομείναντες κόκκοι χλωριούχου νατρίου πιθανώς να μείωσαν το αναμενόμενο πορώδες (49). Πάντως, έχοντας ως δεδομένο ότι η βασική απαίτηση για το πορώδες στην ιστική μηχανική είναι γύρω στο 60% (97), και τα δύο πορώδη ικριώματα που κατασκευάστηκαν, προσφέρουν επαρκή χώρο για να ενισχύσουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και ανάπτυξη.

Συμπεράσματα

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η τροποποίηση του πολυ(γαλακτικού οξέος) με διοξείδιο του τιτανίου για τη βελτίωση των λειτουργικών ιδιοτήτων του με έμφαση τη χρήση του σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Η μήτρα PLA που χρησιμοποιήθηκε ήταν ημι-κρυσταλλικής δομής (PLLA) και τα νανοσωματίδια TiO_2 ενσωματώθηκαν μέσω τεχνολογίας τήγματος με τη χρήση δικόχλιου συστήματος εκβολής. Επίσης, έγινε προσπάθεια παρασκευής ικριωμάτων για εφαρμογές στη μηχανική ιστών, σε συστήματα PLLA και PLLA/PEG με την προσθήκη άλατος (NaCl) ως υδατοδιαλυτό πορογενές μέσο, και στη συνέχεια απομάκρυνσής του μέσω έκπλυσης για τη δημιουργία τρισδιάστατης πορώδους δομής με καλή διασύνδεση μεταξύ των πόρων.

Μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης νανοσυνθέτων TiO_2 /PLLA

Για τα μεν νανοσύνθετα έγινε αρχικά αξιολόγηση της αντιμικροβιακής τους δράσης απέναντι σε βακτηριακό πληθυσμό *Escherichia coli*. Τα νανοσύνθετα με περιεκτικότητες 0/100, 5/95, 10/90 και 20/80 (w/w) TiO_2 /PLLA χωρίς και με ενεργοποίηση της τιτανίας με UV ακτινοβολία α) αφέθηκαν στο σκοτάδι και β) εκτέθηκαν σε περιβάλλον με ακτινοβολία UV για 4, 8, 24 και 48 ώρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στο σκοτάδι, τα νανοσύνθετα στα οποία δεν είχε προηγηθεί ενεργοποίηση της τιτανίας είχαν απλά βακτηριοστατική και όχι βακτηριοκτόνο δράση. Στα αντίστοιχα δείγματα που είχε προηγηθεί ενεργοποίηση των νανοσωματιδίων, υπήρξε έντονη αντιμικροβιακή δράση, η οποία και αυξήθηκε μετά το πέρας των 8 ωρών και έφτασε μέχρι και το 100% για το νανοσύνθετο με 20 wt% τιτανία. Μετά τις 24 ώρες στο σκοτάδι όλα τα νανοσύνθετα εμφάνισαν βακτηριοστατική συμπεριφορά. Μετά την έκθεση των δειγμάτων σε περιβάλλον UV ακτινοβολίας παρατηρήθηκε άμεση μείωση του βακτηριακού πληθυσμού. Συγκεκριμένα, για τα δείγματα με μη ενεργοποιημένη τιτανία, υπήρξε μια αντιβακτηριακή δράση τριών βημάτων στην επιφάνεια των νανοσυνθέτων: Αρχικά εμφανίζεται ένα 'φωτοκτόνο' βήμα μέχρι τις 8 ώρες ακτινοβολίας, το οποίο είναι πιο έντονο με την αύξηση της συγκέντρωσης της τιτανίας, ακολουθεί αύξηση του βακτηριακού πληθυσμού στο χρονικό διάστημα μεταξύ 8 και 24 ωρών λόγω έλλειψης του αντιβακτηριακού

παράγοντα, και, τέλος, υπάρχει μια 'φωτοκτόνος' δράση λόγω παραγωγής καινούργιων ριζών ως αποτέλεσμα του φωτοκαταλυτικού μηχανισμού των νανοσωματιδίων της τιτανίας. Ειδικά για το νανοσύνθετο με 20 wt% μη ενεργοποιημένη τιτανία, η ανάπτυξη των βακτηριακών αποικιών είχε αποτελεσματικά κατασταλεί με 80% μείωση, υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες σε 4 ώρες. Για τα δείγματα με ενεργοποιημένη τιτανία, η φθίνουσα πορεία του βακτηριακού πληθυσμού στην επιφάνεια των νανοσυνθέτων ακολούθησε απλή εκθετική μείωση ενός βήματος, και ο θάνατος των βακτηρίων επήλθε σε συντομότερα χρονικά διαστήματα με την αύξηση της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων ενεργοποιημένης τιτανίας σε αυτά. Η αύξηση της περιεκτικότητας σε νανοσωματίδια στην επιφάνεια των ακτινοβολημένων νανοσυνθέτων οδήγησε σε αύξηση της κατανομής των οξειδωτικών ριζών που παρήχθησαν κατά τη φωτοενεργοποίηση, και αυτό προκάλεσε υπεροξείδωση της πολυακόρεστης φωσφολιπιδιακής κυτταρικής μεμβράνης των βακτηρίων, κάτι που οδήγησε στο θάνατό τους.

Μελέτη της επίδρασης της έκθεσης σε UV ακτινοβολία νανοσυνθέτων TiO₂/PLLA

Στη συνέχεια έγινε μελέτη της αποδόμησης του PLLA και των νανοσυνθέτων 10/90 wt% PLLA με TiO₂ σε περιβάλλον ακτινοβολίας UV για χρόνους έκθεσης 50, 114 και 210 ωρών. Η εργαστηριακή προσομοίωση της UV ακτινοβολίας έγινε με συσκευή έκθεσης σε λάμπα ξένου, η οποία παρέχει φάσμα συγκρίσιμο με αυτό της UV ακτινοβολίας. Τα αποτελέσματα ιζωδομετρίας έδειξαν ότι υπάρχει μείωση του εσωτερικού ιξώδους και άρα του μοριακού βάρους του καθαρού PLLA με την αύξηση του χρόνου παραμονής του δείγματος στη συσκευή, γεγονός που δείχνει ότι η σχάση της αλυσίδας διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό αποδόμησης. Από τα φάσματα XRD για το καθαρό PLLA διαπιστώθηκε μια κορυφή με μεγάλο εύρος, χαρακτηριστική της άμορφης φάσης του πολυμερούς, η οποία καταλήγει σε μια οξεία κορυφή σε γωνία $2\theta=16.6^\circ$ που αποδίδεται στην πιο οργανωμένη κρυσταλλική φάση του PLLA. Με την αύξηση του χρόνου ακτινοβολίας το εμβαδόν της άμορφης περιοχής έγινε μεγαλύτερο, ως αποτέλεσμα της αποδόμησης των πολυμερικών αλυσίδων. Στα μη εκτεθειμένα νανοσύνθετα, το άμορφο κομμάτι ήταν μικρότερο και βρέθηκε η ίδια κορυφή σε γωνία $2\theta=16.6^\circ$ αλλά με μεγαλύτερη ένταση. Πιθανώς τα νανοσωματίδια TiO₂ έδρασαν ως παράγοντες πυρήνωσης,

ευνοώντας την ανάπτυξη κρυσταλλικότητας στο PLLA. Στα εκτεθειμένα σε UV ακτινοβολία νανοσύνθετα το εμβαδόν της άμορφης περιοχής μειώθηκε αυξανόμενου του χρόνου έκθεσης, κάτι που αποδίδεται στην ευχερέστερη αποδόμηση της άμορφης φάσης της πολυμερικής μήτρας. Επίσης, η κορυφή στις 16.6° αυξήθηκε σε ένταση πιθανά λόγω της δημιουργίας νέων κρυσταλλιτών. Επειδή η αποδόμηση των μικρών κρυστάλλων είναι ευχερέστερη από των μεγαλύτερων, αναμένεται να αυξηθεί το μέσο μέγεθος των εναπομείναντων κρυστάλλων. Από τη μελέτη με φασματοσκοπία Raman, στα νανοσύνθετα υπήρξε αύξηση της έντασης της κορυφής στα 1739 cm^{-1} , η οποία έχει συσχετιστεί με τη δόνηση τάσης της εστερομάδας του PLLA. Πιθανώς αυτό οφείλεται στην αύξηση των προϊόντων οξείδωσης μετά τις 210 ώρες UV ακτινοβολίας. Επίσης, με το πέρας του χρόνου ακτινοβολίας παρατηρήθηκε μείωση της έντασης πολλών χαρακτηριστικών κορυφών. Συμπληρωματικά με τη δοκιμή Raman, έγινε και μελέτη των εκτεθειμένων δειγμάτων με φασματοσκοπία FTIR-ATR. Από την επεξεργασία των φασμάτων προέκυψε ότι η κορυφή που εμφανίζεται στη θέση 1743 cm^{-1} , και οφείλεται στη δόνηση των καρβονυλικών ομάδων (-C=O), μειώθηκε σε ένταση τόσο στο καθαρό PLLA όσο και στα νανοσύνθετα με το πέρας του χρόνου ακτινοβολίας, γεγονός που υποδηλώνει την επίδραση της UV ακτινοβολίας στον εστερικό δεσμό.

Από τη μελέτη με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης, παρατηρήθηκε ότι ενώ τα μη εκτεθειμένα δείγματα PLLA δεν παρουσιάζουν κορυφή κρυστάλλωσης κατά την ψύξη, όλα τα δοκίμια που υποβλήθηκαν σε UV ακτινοβολία παρουσίασαν αυτή την κορυφή, πιθανώς λόγω της ευχερέστερης κρυστάλλωσης των χαμηλότερου M.W. προϊόντων αποδόμησης του πολυμερούς που δημιουργήθηκαν. Η κορυφή κρυστάλλωσης κατά την ψύξη του PLLA ήταν πιο εμφανής στα νανοσύνθετα με την τιτανία και επίσης οι θερμοκρασίες κρυστάλλωσης του PLLA σε αυτά βρέθηκαν ελαφρά υψηλότερες από τις αντίστοιχες του καθαρού PLLA, επιβεβαιώνοντας ότι η παρουσία TiO_2 διευκολύνει την κρυστάλλωση του πολυμερούς. Στο δεύτερο κύκλο θέρμανσης, στο πολυ(γαλακτικό οξύ) με την πάροδο του χρόνου ακτινοβολίας εμφανίζονται δύο διακριτές κορυφές τήξης που αποδίδονται στον πολυμορφισμό των διαφορετικών κρυσταλλικών μορφών. Για το νανοσύνθετο, η αρχικά ευρεία κορυφή τήξης του PLLA, με την έκθεση στη UV ακτινοβολία, γίνεται πιο συμμετρική και μετατοπίζεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες λόγω μηχανισμών

ανακρυστάλλωσης του πολυμερούς. Η θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης εμφάνισε σημαντική μείωση στα νανοσύνθετα σε σχέση με το καθαρό PLLA. Και στις δύο περιπτώσεις παρατηρήθηκε μια ελαφριά αύξηση του βαθμού κρυσταλλικότητας με την αύξηση του χρόνου αποδόμησης, που μπορεί να οφείλεται στη διευκόλυνση της κρυστάλλωσης των χαμηλότερου μοριακού βάρους προϊόντων αποδόμησης του πολυεστέρα. Επίσης, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η τεχνική DSC καταγράφει την τήξη των κρυσταλλικών περιοχών του ημικρυσταλλικού πολυμερούς, επομένως η αύξηση στην κρυσταλλικότητα μπορεί να προέρχεται και από το γεγονός ότι προσβάλλονται πρώτα οι άμορφες περιοχές της πολυμερικής μήτρας με αποτέλεσμα να αυξάνεται το κλάσμα της κρυσταλλικής φάσης στη μάζα του πολυεστέρα.

Τα αποτελέσματα θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης παρουσίασαν βελτιωμένη τη θερμική σταθερότητα των νανοσυνθέτων σε σχέση με τη μήτρα του PLLA, καθώς οι καμπύλες θερμικής αποδόμησης των πρώτων ήταν μετατοπισμένες σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Όσον αφορά τις μηχανικές ιδιότητες, τα νανοσύνθετα εμφάνισαν χαμηλότερη επιμήκυνση σε θραύση και χαμηλότερη αντοχή σε εφελκυσμό σε σχέση με το PLLA. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην απουσία ισχυρής διασύνδεσης μεταξύ της πολυμερικής μήτρας και των νανοσωματιδίων καθώς και πιθανής δημιουργίας συσσωματωμάτων από τα νανοσωματίδια. Ωστόσο, τόσο στο PLLA όσο και στα νανοσύνθετά του, το μέτρο ελαστικότητας αυξήθηκε με την αύξηση του χρόνου ακτινοβολήσης πιθανώς λόγω της παρατηρούμενης αυξημένης κρυσταλλικότητας, με την αύξηση αυτή να είναι μεγαλύτερη στα νανοσύνθετα TiO_2 , λόγω της παρουσίας του ανόργανου μέσου ενίσχυσης που προσδίδει περαιτέρω ακαμψία στην πολυμερική μήτρα.

Παρασκευή ικριωμάτων PLA με την τεχνική της έκπλυσης άλατος

Για τη μελέτη βιοϊατρικών εφαρμογών του PLLA εξετάστηκε η κατασκευή ικριωμάτων για μηχανική ιστών. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της έκπλυσης άλατος (NaCl) από PLLA και μίγμα PLLA/PEG. Η μελέτη με DSC των δειγμάτων έδειξε ότι στην περίπτωση του συστήματος PLLA/PEG για όλα τα μίγματα εντοπίστηκε κορυφή κρυστάλλωσης του PLLA κατά την ψύξη, η οποία παρέμεινε και μετά την έκπλυση. Η κορυφή αυτή για τα δείγματα PLLA/NaCl μετατοπίστηκε όμως ελαφρώς σε χαμηλότερες θερμοκρασίες μετά την έκπλυση,

κάτι που δείχνει ότι πιθανώς το χλωριούχο νάτριο διευκολύνει σε ένα βαθμό την κρυσταλλική διαμόρφωση των πολυμερικών αλυσίδων του PLLA. Το συμπέρασμα αυτό επιβεβαιώθηκε και από το δεύτερο κύκλο θέρμανσης, όπου βρέθηκε ότι η μεν θερμοκρασία ψυχρής κρυστάλλωσης των μιγμάτων PLLA/NaCl ήταν ελαφρώς μικρότερη από αυτή του καθαρού PLLA, ενώ οι ενθαλπίες ψυχρής κρυστάλλωσης και τήξης ήταν μεγαλύτερες. Με την εισαγωγή της PEG, το εξώθερμο φαινόμενο της ψυχρής κρυστάλλωσης παραμένει, ωστόσο μεταφέρεται σε χαμηλότερη θερμοκρασία, κάτι που αποδίδεται στο γεγονός ότι η PEG διευκολύνει την κρυστάλλωση του πολυγαλακτικού οξέος. Επίσης, παρατηρήθηκε και αύξηση της ενθαλπίας τήξης του PLLA στα δείγματα με την PEG σε σχέση με το καθαρό PLLA και τα μίγματα PLLA/NaCl. Από τον προσδιορισμό του βαθμού κρυσταλλικότητας διαπιστώνεται ότι τα ικρίωματα που προέκυψαν με την προσθήκη της PEG πριν την έκπλυση εμφανίζουν σχετικά υψηλότερο βαθμό κρυσταλλικότητας σε σχέση με τα αντίστοιχα μίγματα PLLA/NaCl. Τέλος, στα μίγματα PLLA/PEG/NaCl στην περιοχή τήξης του PLLA παρατηρήθηκαν δύο κορυφές τήξης αντί μίας, που οφείλονται στην τήξη δύο κύριων κρυσταλλικών διαμορφώσεων με διαφορετική μορφολογία. Από τα αποτελέσματα της θερμοβαρυμετρικής ανάλυσης και του προσδιορισμού του υπολείμματος καύσης των δειγμάτων βρέθηκε ότι για το ικρίωμα PLLA/NaCl που προέκυψε μετά την έκπλυση, το υπόλειμμα είναι ίσο με 6.7%, άρα το αλάτι δεν έχει απομακρυνθεί πλήρως. Για το ικρίωμα PLLA/PEG/NaCl μετά την έκπλυση βρέθηκε υπόλειμμα ίσο με 5.4% που οφείλεται στην παρουσία τόσο μη εκπλυμένων σωματιδίων χλωριούχου νατρίου, όσο και υπόλειμμα που προέρχεται από την PEG. Σε κάθε περίπτωση όμως, το υπόλειμμα του ικρίωματος PLLA/PEG/NaCl ήταν μικρότερο από το αντίστοιχο του PLLA/NaCl. Ίσως η υδατοδιαλυτή PEG να προώθησε την απομάκρυνση των σωματιδίων NaCl. Όσον αφορά τη θερμική σταθερότητα των μιγμάτων πριν την έκπλυση διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του χλωριούχου νατρίου μειώνει τη θερμική σταθερότητα της πολυμερικής μήτρας, ωστόσο δεν επηρεάζει τη θερμική σταθερότητα της PEG. Μετά την έκπλυση, η θερμική σταθερότητα της πολυμερικής μήτρας δεν επηρεάστηκε για το σύστημα PLLA/NaCl, ενώ για το PLLA/PEG/NaCl παρατηρήθηκε μείωση της τάξης των 10°C της θερμοκρασίας έναρξης αποδόμησης της πολυμερικής μήτρας μετά την απομάκρυνση των πορογενών μέσων. Τέλος, από τα αποτελέσματα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης,

διαπιστώθηκε ότι στα μίγματα PLLA/PEG/NaCl έχει απομακρυνθεί περισσότερο αλάτι, οι πόροι που δημιουργήθηκαν επικοινωνούν ως ένα βαθμό μεταξύ τους και συνθέτουν μια πιο συνεχόμενη μορφολογία. Αντίθετα, στα ικρίωματα PLLA/NaCl οι πόροι που έχουν δημιουργηθεί ξεχωρίζουν ο ένας απ'τον άλλον και δεν επικοινωνούν μεταξύ τους.

Με βάση τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής διαπιστώθηκε ότι η τροποποίηση του PLLA με τιτανία βελτιώνει την αντιμικροβιακή του δράση, αυξάνει την κρυσταλλικότητα, βελτιώνει τη θερμική σταθερότητα και την ακαμψία του πολυμερούς κατά την έκθεση σε UV ακτινοβολία, μειώνοντας όμως την αντοχή του σε εφελκυστική φόρτιση. Η μελέτη της δημιουργίας PLA πορώδους δομής με την τεχνική έκπλυσης άλατος (NaCl), έδειξε ότι η προσθήκη της PEG βελτιώνει την ικανότητα απομάκρυνσης του άλατος και οδηγεί σε πορώδες με καλύτερη διασύνδεση μεταξύ των πόρων, προϋπόθεση απαραίτητη για τη δημιουργία ικριωμάτων μηχανικής ιστών.

Μελλοντική Έρευνα

Μελετώντας τα παραπάνω συστήματα του PLA, προκύπτουν ερωτήματα και προτάσεις για μελλοντική μελέτη.

Όσον αφορά το κομμάτι των αντιμικροβιακών πειραμάτων, θα μπορούσε να επεκταθεί η μελέτη και σε άλλα στελέχη του βακτηριακού πληθυσμού E.coli ή και σε άλλα βακτήρια που αναπτύσσονται σε βιοϊατρικές εφαρμογές του PLA, ώστε να διαπιστωθεί η δράση των νανοσυνθέτων $TiO_2/PLLA$ απέναντι σε αυτά.

Στο κομμάτι της UV αποδόμησης σκόπιμο θα ήταν να αλλάξει το είδος και η διάρκεια της ακτινοβολήσης και να εξεταστεί σε συνδυασμό ή μεμονομένα η επίδραση και άλλων παραμέτρων γήρανσης όπως πχ η έκθεση σε υγρασία ή/και θερμοκρασία. Δεδομένου ότι τα υλικά αυτά προορίζονται για βιοϊατρικές εφαρμογές, η παράμετρος της υγρασίας είναι σημαντική καθώς τέτοιες συνθήκες επικρατούν και στον ανθρώπινο οργανισμό.

Τέλος, όσον αφορά τα προκαταρκτικά πειράματα της παρασκευής ικρωμάτων, είναι φανερό ότι θα πρέπει να εξεταστούν μίγματα με καινούργιες αναλογίες PLLA/PEG/NaCl ώστε να σχηματιστεί το βέλτιστο πορώδες και να υπάρχει όσο το δυνατόν καλύτερη διασυνδεσιμότητα μεταξύ των πόρων για να ενισχυθούν οι διεργασίες της κυτταρικής ανάπτυξης. Στόχος είναι να επιτευχθεί η πλήρης απομάκρυνση του χλωριούχου νατρίου, επιλέγοντας το κατάλληλο μίγμα PLA/PEG και τις συνθήκες έκπλυσης (χρόνος, θερμοκρασία, ανάδευση).

Βιβλιογραφία

1. **Jamshidian, M., και συν.** Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010, Τόμ. 9, 5, σσ. 552-571.
2. **Raquez, J., και συν.** Polylactide (PLA)-based nanocomposites. *Poly(lactide) (PLA)-based nanocomposites*. 2013, Τόμ. 38, 10-11, σσ. 1504-1542.
3. **Chen, c., και συν.** Poly(lactic acid) (PLA) based nanocomposites—a novel way of drug-releasing. *Biomedical Materials*. 2007, Τόμ. 2, 4, σσ. L1-L4.
4. **Sodergard, A. και Stolt, M.** Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Progress in Polymer Science*. 2002, Τόμ. 27, 6, σσ. 1123-1163.
5. **Lunt, James.** Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers. *Polymer Degradation and Stability*. 1998, Τόμ. 59, 1-3, σσ. 145-152.
6. **Xiao, Lin, και συν.** Poly(Lactic Acid)-Based Biomaterials: Synthesis, Modification and Applications. *Biomedical Science, Engineering and Technology*. 2012.
7. **Farah, S., Anderson, D.G. και Langer, R.** Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016, Τόμ. 107, σσ. 367-392.
8. **Hamad, K., και συν.** Properties and medical applications of polylactic acid:. *eXPRESS Polymer Letters*. 2015, Τόμ. 9, 5, σσ. 435-455.
9. **Henton, D.E., και συν.** *Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites*.
10. **Auras, R.A., και συν.** *Poly(lactic acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. s.l. : Willey, 2011.
11. **Buzarovska, A. και Grozdanov, A.** Biodegradable Poly(L-lactic acid)/TiO₂ Nanocomposites: Thermal Properties and Degradation. *Willey Online Library*. 2011.
12. nanopartikel.info/en. [Ηλεκτρονικό]
13. **Tyler, B., και συν.** Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016, Τόμ. 107, σσ. 163-175.
14. **Dhandayuthapani, B., και συν.** Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. *International Journal of Polymer Science*. 2011.
15. **Lasprilla, A.J.R., και συν.** Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices—A review. *Biotechnology Advances*. 2012, σσ. 321-328.
16. **Zhang, Q., και συν.** Fluorescent PLLA-nanodiamond composites for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2011, σσ. 87-94.
17. **Saito, N. και Takaoka, k.** New synthetic biodegradable polymers as BMP carriers for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2003, σσ. 2287-2293.
18. **Wu, S., και συν.** Functionalized TiO₂ based nanomaterials for biomedical applications. *Advanced Functional Materials*. 2014.
19. **Haghi, Morteza, και συν.** Antibacterial effect of TiO₂ nanoparticles on pathogenic strain of E.coli. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 3, 2012, Τόμ. 3, σσ. 621-624.

20. **Kubacka, A., και συν.** Understanding the antimicrobial mechanism of TiO₂-based nanocomposite films in a pathogenic bacterium. 2014.
21. **Visai, Livia, και συν.** Titanium oxide antibacterial surfaces in biomedical devices. *Int J Artif Organs*. 2011, Τόμ. 34, 9, σσ. 929-946.
22. **Fonseca, C., και συν.** Poly(lactic acid)/ TiO₂ nanocomposites as alternative biocidal and antifungal materials. *Materials Science and Engineering C*. 2015, σσ. 314-320.
23. **Sunada, K., Wanatabe, T. και Hashimoto, K.** Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. *J Photochem Photobiol A*. 2003, Τόμ. 156, 1-3, σσ. 227-233.
24. *Structural characterization and antibacterial activity of PP/TiO₂ nanocomposites prepared by in situ sol-gel method.* **Bahloul, W., και συν.** 2012, Mater. Chem. Phys., Τόμ. 9, σσ. 399-406.
25. *Non-UV-Induced Radical Reactions at the Surface of TiO₂ Nanoparticles That May Trigger Toxic Responses.* **Fenoglio, I. , και συν.** 2009, Chem. Eur. J. , Τόμ. 15 , σσ. 4614-4621.
26. **Fu, Xiu-Ke, Wang, Jian-qing και Jin, Zheng-wei.** Preparation and Properties of functionalization for PLA film. *Proceedings of the 17th IAPRI World Conference on Packaging*.
27. **Altan, M. και Yildirim, H.** Comparison of Antibacterial Properties of Nano TiO₂ and ZnO Particle Filled Polymers. *Proceedings of the 3rd International Congress*. 2013.
28. **Munoz-Bonilla, A., Cerrada, M.L. και Garcia, M.F.** *Polymeric Materials with Antimicrobial Activity*. s.l. : RSC Publishing.
29. **Verdier, T., και συν.** Antibacterial Activity of TiO₂ photocatalyst alone or in coatings on E.coli: The influence of methodological aspects. *Coatings*. 2014, σσ. 670-686.
30. **Liu, L., και συν.** Non-UV based germicidal activity of metal-doped TiO₂ coating on solid surfaces. *J. Environ. Sci*. 2007, Τόμ. 19, σσ. 745-750.
31. **Gogniat, G., και συν.** The bactericidal effect of TiO₂ photocatalysis involves adsorption onto catalyst and the loss of membrane integrity. *FEMS Microbiol. Lett*. 2006, Τόμ. 258, σσ. 18-24.
32. **Araujo, A., και συν.** Biodegradation assessment of PLA and its nanocomposites. *Environ Sci Pollut Res*. 2014, σσ. 9477-9486.
33. **Yousif, E. και Haddad, R.** Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review. *Springer Plus*. 2013.
34. **Zhang, C., και συν.** The Effect of UV Treatment on the Degradation of Compostable Polylactic Acid. *Journal of Emerging Investigators*. 2013.
35. *Atlas Weathering Testing Guidebook*.
36. **Brennan, P. και Fedor, C.** *Sunlight, UV, and accelerated weathering*.
37. **Michael, Niaounakis.** *Biopolymers Reuse, Recycling, and Disposal*. s.l. : Elsevier.
38. *UV Stability of Poly(Lactic Acid) Nanocomposites.* **Araújo, A., και συν.** 2, 2013, Journal of Materials Science and Engineering B, Τόμ. 3, σσ. 75-83.
39. **Nakayama, N. και Hayashi, T.** Preparation and characterization of poly(L-lactic acid)/TiO₂ nanoparticle nanocomposite films with high transparency and efficient photodegradability. *Polymers degradation and stability*. 2007, σσ. 1255-1264.

40. **Li, Y., και συν.** Photoactivity of poly(lactic acid) nanocomposites modulated by nanofillers. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013, Τόμ. 131, 10.
41. **Zhuang, W., και συν.** Preparation, Characterization and Properties of TiO₂/PLA Nanocomposites by In Situ Polymerization. *Wiley InterScience*. 2008.
42. **Zhang, H., και συν.** Preparation, characterization and properties of PLA/TiO₂ nanocomposites based on a novel vane extruder. *Royal Society of Chemistry*. 2014.
43. **Okamoto, M. και John, B.** Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds. *Progress in polymer science*. 2013, Τόμ. 38, σσ. 1487-1503.
44. **Hua, F.J., Nam, J.D. και Lee, D.S.** Preparation of a macroporous poly(L-lactide) scaffold by liquid-liquid phase separation of a PLLA/1,4-Dioxane/Water ternary system in the presence of NaCl. *Macromol. Rapid Commun*. 2001, Τόμ. 22, 13, σσ. 1053-1057.
45. **Guarino, V., και συν.** Polylactic acid fibre-reinforced polycaprolactone scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2008, Τόμ. 29, σσ. 3662-3670.
46. **Cuenoud, M., και συν.** Plasticization of poly-L-lactide for tissue engineering. *Journal of applied polymer science*. 2011, Τόμ. 121, σσ. 2078-2088.
47. **Kothapalli, C.R., Shaw, M.T. και Wei, M.** *Acta Biomater*. 2005, Τόμ. 1, σ. 653.
48. **Zhang, J., και συν.** Biodegradable poly(lactic acid)/hydroxyl apatite 3D porous scaffolds using high-pressure molding and salt leaching. *J. Mater. Sci*. 2014, Τόμ. 49, σσ. 1648-1658.
49. **Chen, B., και συν.** Fabrication of polylactic acid/polyethylene glycol (PLA/PEG) porous scaffold by supercritical CO₂ foaming and particle leaching. *Polym. Eng. Sci*. 2015, Τόμ. 55, σσ. 1339-1348.
50. **Serra, T., και συν.** Relevance of PEG in PLA-based blends for tissue engineering 3D-printed scaffolds. *Materials Science and Engineering C*. 2014, Τόμ. 38, σσ. 55-62.
51. **Sheth, M., και συν.** *Applied Polymer Science*. 1997, Τόμ. 66.
52. **Park, B.S., και συν.** *J. Appl. Polym. Sci*. 2012, Τόμ. 123, σ. 2360.
53. **Ma, C., και συν.** *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2012, Τόμ. 100, σ. 2897.
54. **Jiang, S.B. και Liao, G.Y.** *Polymer Plastic Technology*. 2012, Τόμ. 51, σ. 1237.
55. **Zhang, J., και συν.** Ultraporous poly(lactic acid) scaffolds with improved mechanical performance using high-pressure molding and salt leaching. *Journal of applied polymer science*. 2013, σσ. 3509-3520.
56. **Ferguson, S., Wahl, D. και Gogolewski, S.** Enhancement of the mechanical properties of polylactides by solid state extrusion. *J. Biomed. Mater. Res*. 30, 1996, σσ. 543-551.
57. **Yin, H., και συν.** Engineering Porous Poly(lactic acid) scaffolds with high mechanical performance via a solid state extrusion/ porogen leaching approach. 2016.
58. **Zhu, N. και Chen, X.** Biofabrication of tissue scaffolds. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*. 2012.
59. **Schugens, C., και συν.** Biodegradable and macroporous polylactide implants for cell transplantation: 1. Preparation of macroporous polylactide supports by solid-liquid phase separation. *Polymer*. 1996, Τόμ. 6, σσ. 1027-1038.
60. **Shin, K.C., και συν.** A facile preparation of highly interconnected macroporous PLGA scaffolds by liquid-liquid phase separation II. *Polymer*. 2005, Τόμ. 46, σσ. 3801-3808.

61. **Llorens, E., και συν.** Scaffolds with tuneable hydrophilicity from electrospun microfibers of polylactide and poly(ethylene glycol) mixtures: morphology, drug release behavior and biocompatibility. *J. Polym. Res.* 2014, Τόμ. 21, 360.
62. **Gong, X., και συν.** Fabrication of graded macroporous poly(lactic acid) scaffold by a progressive solvent casting/porogen leaching approach. *Journal of applied polymer science.* 125, 2012, σσ. 571-577.
63. **Chen, B.Y., και συν.** Effect of poly(ethylene glycol) on the properties and foaming behavior of macroporous poly(lactic acid)/sodium chloride scaffold. *J. Appl. Polym. Sci.* 2014, Τόμ. 131.
64. **Cui, Z.X., και συν.** Fabrication and characterization of injection molded poly(ϵ -caprolactone) and poly(ϵ -caprolactone)/hydroxyapatite scaffolds for tissue engineering. *Mater. Sci. Eng.* 2012, Τόμ. 32, σσ. 1674-1681.
65. **Ταραντίλη, Π.Α.** Σημειώσεις του μαθήματος 'Μηχανική Πολυμερών'. Αθήνα : Εκδόσεις ΕΜΠ, 2006. σσ. 163-4, 166, 170, 185.
66. **Guth, E. J.** *Appl. Phys.* Τόμ. 16, 1, σσ. 20-25.
67. **Nicolais, L. και Narkis, M.** *Polym. Eng. Sci.* 1971, Τόμ. 11, σσ. 194-199.
68. **Lim, L.T.** Processing technologies for poly(lactic acid). *Progress in Polymer Science.* 2008, σσ. 820-852.
69. **Schindler, A. και Harper, D. J.** *Polymer Sci.* 1979, Τόμ. 17, σσ. 2593-2599.
70. **Όξενκιουν-Πετροπούλου, Μ.** Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης-Φασματομετρικές Μέθοδοι. Αθήνα : Συμμετρία, 2006. σ. 270.
71. **Στεργιούδης, Γ.** Ακτίνες Χ (XRD). ΑΠΘ : s.n., 2007-2008.
72. **Παυλάτου, Ε.Α.** Σκέδαση Φωτός από Αλογονίδια Ψευδαργύρου στην Υγρή και Υαλώδη Κατάσταση, Διδακτορική Διατριβή. Τμήμα Χημικών Μηχανικών Πανεπιστημίου Πατρών : s.n., 1994.
73. **Κούσουλας, Ν. και Τζούτζης, Ε.-Α.** Φασματοσκοπία Raman και εφαρμογές. Λαμία: Τμήμα Ηλεκτρονικής, Τ.Ε.Ι. Λαμίας : s.n., 2013.
74. **Ταραντίλης, Π.Α.** Σύγχρονες Μέθοδοι Ενόργανης Χημικής Ανάλυσης, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις. Αθήνα : s.n., 2006. σσ. 74-5, 77-80.
75. **Παππά, Α.** Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης: Χρωματογραφικές, Θερμικές, Ηλεκτρομετρικές, Φασματομετρία Μάζας. Αθήνα : Εκδόσεις ΕΜΠ, 2004. σσ. 119-121.
76. **Καμπούρης, Μ. και Παπασπυρίδης, Κ.** Τεχνολογία Πολυμερών, δομή και ιδιότητες. Αθήνα : s.n., 1998.
77. **Khait, Klementina και Carr, Stephen.** *Solid- state shear pulverization* . s.l. : Technomic publishing co.
78. **Ali, N.A. και Noori, F.T.M.** Gas Barrier Properties of biodegradable polymer nanocomposites films. *Chemistry and Materials research.* 2014, Τόμ. 6, 1.
79. **Battegazzore, D., Bocchini, S. και Frache, A.** Crystallization kinetics of poly(lactic acid)-talc composites. *Express Polymer Letters.* 5, 2011, Τόμ. 10, σσ. 849-858.
80. **Da Silva, V., και συν.** *S. Polym.Bull.* 2013, Τόμ. 70, σσ. 1819-1833.

81. **Bolio Lopez, G.I., και συν.** Weathering and biodegradation of polylactic acid composite reinforced with cellulosewhiskers. *Revista Mexicana de Ingenieria Quimica*. 2013, Τόμ. 12, 1, σσ. 143-153.
82. **Kawai, F., και συν.** Different enantioselectividad of two types of poly(lactic acid) depolymerases toward poly(l-lactic acid) and poly(D-lactic acid). *Polymer degradation and stability*. 2011, Τόμ. 95, σσ. 1342-1348.
83. **Skorski, M., και συν.** *Science Technol. Adcanc. Mater.* 17, 2016, σσ. 89-97.
84. **Kister, G., Cassanas, G. και Vert, M.** Effects of morphology, conformation and configuration on the IR and Raman spectra of various poly(lactic acid)s. *Polymer*. 1998, Τόμ. 39, 2, σσ. 267-273.
85. **Castrejon-Sanchez, V.H. και Camacho-Lopez, M.** Quantification of phase content in TiO₂ thin films by Raman spectroscopy. *Superficies y Vacto*. 2014, Τόμ. 27, 3, σσ. 88-92.
86. **Marra, A., Cimmino, S. και Silvestre, C.** Effect of TiO₂ and ZnO on PLA degradation in various media. *Adv Mater Sci*. 2017, Τόμ. 2, σσ. 1-8.
87. **Meaurio, C., και συν.** Analysis of the C=O Stretching Band of the α -Crystal of Poly(L-lactide). *Macromolecules*. 2009, Τόμ. 42, σσ. 5717-5727.
88. **Babanalbandi, A., και συν.** An electron spin resonance study on γ -irradiated poly(L-lactic acid) and poly(D,L-lactic acid). *Polymer degradation and stability*. 1995, Τόμ. 50, 3, σσ. 297-304.
89. **Kister, G., και συν.** A vibrational analysis of poly(l-lactic acid). *J. Raman Spectrosc.* 1995, Τόμ. 26, σσ. 307-311.
90. **Bocchini, S., και συν.** Polylactic acid and polylactic acid-based nanocomposite photooxidation. *Biomacromolecules*. 2010, σσ. 2919-2926.
91. **Rasselet, D., και συν.** Oxidative degradation of PLA and its effects on physical and mechanical properties. *European Polymer Journal*. 2014, Τόμ. 50, 1, σσ. 109-116.
92. **Tsuji, H., Echizen, Y. και Nishimura, Y.** Photodegradation of biodegradable polyesters: a comprehensive study on poly(L-lactide) and poly(ϵ -caprolactone). *Polymer degradation and stability*. 2006, σσ. 1128-1137.
93. **Wu, J., και συν.** Physical properties and crystallization behavior particulates reinforced poly(lactic acid) composites. *Mater. Chem. Phys.* 2013, σσ. 726-733.
94. Standard Test Methods for Density and Specific Gravity (Relative Density) of Plastics by Displacement. *Designation: D 792 – 08*. West Conshohocken, United States : ASTM International, June 2008, σσ. 1-6.
95. **Wang, B., και συν.** *Biomed. Mater. Res.* 2012, Τόμ. 100, 441.
96. **Li, H. και Huneault, M.A.** *Polymer*. 2007, Τόμ. 48, σσ. 6855-6866.
97. **Yin, H-M., και συν.** Engineering Porous Poly(lactic acid) Scaffolds with High Mechanical Performance via a Solid State Extrusion/ Porogen Leaching Approach. *Polymers*. 2016, Τόμ. 8, 213.
98. **Tabi, T.** Crystalline structure of annealed polylactic acid and its relation to processing. *Express Polymer Letters*. 2010, Τόμ. 4, σσ. 659-668.

99. **Chen, B-Y., και συν.** Fabrication of polylactic acid/polyethylene glycol(PLA/PEG) porous scaffold by supercritical CO₂ foaming and particle leaching. *Society of plastics engineers*. 2015, Τόμ. 55, σσ. 1339-1348.
100. **Douglas, P., και συν.** Effect of poly ethylene glycol on the mechanical and thermal properties of bioactive poly (ε-caprolactone) melt extrudates in pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016.
101. **He, X., Xiao, C. και Xu, J.** Synthesis and characterization of a novel poly(ester-urethane) containing short lactate sequences and PEG moieties. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013, Τόμ. 128, 5, σσ. 3156-3162.
102. **Cho, Y.S.** A novel technique for scaffold fabrication:SLUP (salt leaching using powder). *Current Applied Physics*. 2013, Τόμ. 14, 3, σσ. 371-377.
103. **Ghosh, S., και συν.** The double porogen approach as a new technique for the fabrication of interconnected poly(L-lactic acid) and starch based biodegradable scaffolds. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2007, Τόμ. 18, σσ. 185-193.
104. **Ahmad, R. και Sardar, M.** TiO₂ nanoparticles as an antibacterial agent against E.coli. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. 2013, Τόμ. 2, 8.
105. *Applications of Titanium Dioxide Nanocoating.* **Rezai, b. και Mosaddeghi, H.** 2006. Nano-technology in Environments Conference.
106. **Panagou E. Z., Trifinopoulou P. και Stamatiou, A.** *Food microbiology I: Laboratory*. Athens : Agricultural University of Athens, 2003.
107. **Chen, W., Qian, Ch. και Liu, X.** Two dimensional correlation spectroscopic analysis on the interaction between humic acids and TiO₂ nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* 2014, σσ. 11119-11126.
108. **Wang, W-W., και συν.** Stability of poly(L-lactide)/TiO₂ nanocomposite thin films under UV irradiation at 254 nm. *Polymer degradation and stability*. 2012, Τόμ. 98, σσ. 885-893.
109. **Rathi, S.** Utilization of Oligo(lactic acid) for Studies of Chain Conformation and Chain Packing in Poly(lactic acid). *Macromolecules*. 2011, Τόμ. 44, σσ. 3410-3415.

Εργασίες που προέκυψαν

Δημοσίευση σε διεθνές επιστημονικό περιοδικό με κριτές

Athanasoulia I.-G., Mikropoulou M., Tarantili P.A., Karapati S., Trapalis C. Study of thermomechanical and antibacterial properties of TiO₂/Poly(lactic acid) nanocomposites. Accepted in *Materials Today: Proceedings 2017*

Αναρτημένη ανακοίνωση σε διεθνές συνέδριο με κριτές

1. Athanasoulia I.-G., Mikropoulou M., Tarantili P.A., Karapati S., Trapalis C., “Thermomechanical properties and antimicrobial performance of poly(lactic acid) (PLA)/titanium dioxide nanocomposites”, 28th European Conference on Biomaterials, 4th-8th September 2017, Athens, Greece
2. Athanasoulia I.-G., Mikropoulou M., Triantou M., Tarantili P.A., Trapalis C. “The effect of UV ageing on the structure and properties of PLLA and its nanocomposites with TiO₂”, 28th European Conference on Biomaterials, 4th-8th September 2017, Athens, Greece

Προφορική ανακοίνωση σε ελληνικό συνέδριο με κριτές

Αθανασούλια Ι.-Γ., Μικροπούλου Μ., Ταραντίλη Π.Α., Καραπάτη Σ., Τράπαλης Χ. “Μελέτη θερμομηχανικών και αντιμικροβιακών ιδιοτήτων νανοσυνθέτων τιτανίας/πολυ(γαλακτικού οξέος)”, 11^ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Χημικής Μηχανικής, 25-27 Μαΐου 2017, Θεσσαλονίκη