

Katarzyna TARABASZ-KOSOWSKA, Marek HENCZKA

e-mail: k.tarabasz@ichip.pw.edu.pl

Zakład Inżynierii i Dynamiki Reaktorów Chemicznych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Wpływ warunków spieniania polimerów przy użyciu CO₂ w stanie nadkrytycznym na morfologię i właściwości otrzymywanych struktur porowatych

Wstęp

W ostatnich latach rozwój współczesnej inżynierii chemicznej jest ukierunkowany na opracowanie i badanie przebiegu nowatorskich, skutecznych, efektywnych ekonomicznie oraz bezpiecznych dla środowiska naturalnego technologii umożliwiających wytwarzanie funkcjonalnych struktur porowatych. Technologie z wykorzystaniem płynów w stanie nadkrytycznym stanowią alternatywę wobec tradycyjnych metod spieniania materiałów polimerowych realizowanych z użyciem szkodliwych dla środowiska lotnych substancji organicznych [Duarte i in., 2009]. Wykorzystanie powszechnie znanego bezpiecznego medium jakim jest ditlenek węgla w stanie nadkrytycznym do produkcji funkcjonalnych struktur porowatych pozwala ominąć wymienione ograniczenia.

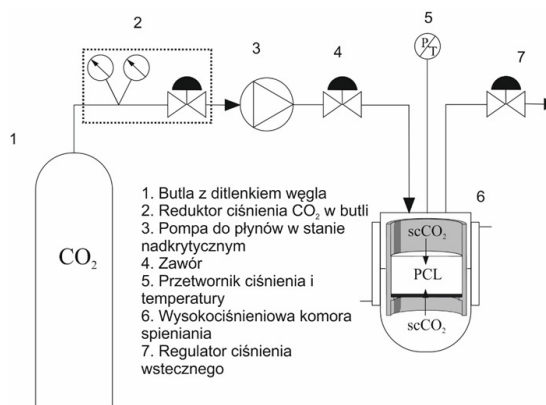
Proces spieniania polimerów przy użyciu płynów w stanie nadkrytycznym jest realizowany w trzech etapach. Pierwszym etapem jest nasywanie matrycy polimerowej płynem w stanie nadkrytycznym w warunkach zwiększonego ciśnienia i temperatury. W wyniku tego procesu następuje plastyfikacja i pęcznienie materiału oraz obniżenie temperatury jego zeszklenia, lepkości oraz napięcia powierzchniowego. Na skutek dyfuzji gazu wewnątrz materiału dochodzi do wytworzenia jednofazowego roztworu polimer/CO₂. Drugi i trzeci etap procesu obejmuje chłodzenie i gwałtowną dekompresję układu, w wyniku czego dochodzi do przesunięcia stanu równowagi termodynamicznej mieszaniny oraz nukleacji i wzrostu obszarów gazowych w matrycy przetwarzanego polimeru [Reverchon i in., 2008; Tsvintzelis i in., 2012]. Otrzymane trójwymiarowe struktury stanowią tymczasowy nośnik dla rosnących i różnicujących się komórek, dlatego powinny się charakteryzować szczególnymi cechami, takimi jak duża porowatość, odpowiedni rozmiar porów, stopień i szybkość degradacji determinowane przebiegiem proliferacji komórek, biokompatybilność oraz odpowiednie właściwości mechaniczne [Karimi i in., 2012]. Cechy te zależą w dużej mierze zarówno od specyfiki wykorzystanego materiału, jak i stosowanej metodyki wytwarzania, w tym parametrów prowadzenia procesu. Jednym z najczęściej wykorzystywanych materiałów w dziedzinie inżynierii tkankowej jest poli(ε-kaprolakton). Jest on biodegradowalny, półkryształiczny poliestrem o stosunkowo niskiej temperaturze topnienia wynoszącej 60°C [Karimi i in., 2012].

Celem pracy było zbadanie przebiegu procesu spieniania oraz analiza morfologii i właściwości mechanicznych otrzymanych pian stałych w celu zidentyfikowania cech umożliwiających wykorzystanie porowatych struktur w biomedycynie jako biodegradowalne rusztowania do hodowli komórek kostnych. Istotnym aspektem pracy jest ocena wpływu parametrów prowadzenia procesu (temperatury, ciśnienia, czasu nasycania i szybkości dekompresji) na przebieg formowania trójwymiarowych struktur porowatych o odpowiednich właściwościach.

Badania doświadczalne

Materiały. Modelowym materiałem polimerowym był komercyjnie dostępny poli(ε-kaprolakton) (PCL) w formie granulek (D = 3 mm) o masie Mn = 80 000 i gęstości 1,19 g/cm³ dostarczony przez Sigma-Aldrich (Włochy). Czynnikiem rodmuchującym polimer był ditlenek węgla o czystości 4,5 firmy Linde Gaz (Polska).

Aparatura. W pierwszej części badań doświadczalnych przeprowadzono spienianie poli(ε-kaprolaktonu) przy użyciu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym w wysokociśnieniowej instalacji badawczej. Na rys. 1 przedstawiono schemat doświadczalnego układu



Rys. 1. Schemat wysokociśnieniowej instalacji doświadczalnej

wysokociśnieniowej do spieniania polimeru przy użyciu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym. Wysokociśnieniowa instalacja badawcza zawierała butlę z ditlenkiem węgla, pompę do płynów w stanie nadkrytycznym, termostatowaną komorę wysokociśnieniową, przetworniki ciśnienia i temperatury oraz regulator ciśnienia wstecznego BPR. Pompa do dozowania płynów w stanie nadkrytycznym (*Supercritical Fluids Technologies, Inc., USA*) umożliwiała dostarczanie ditlenku węgla z butli do termostatowanej wysokociśnieniowej komory o objętości 50 cm³ wykonanej ze stali nierdzewnej. Kontrolę parametrów realizacji procesu realizowano przy wykorzystaniu układów regulacji automatycznej. Utrzymanie stałej wartości ciśnienia oraz sterowanie szybkością dekompresji było możliwe dzięki zastosowaniu regulatora ciśnienia wstecznego BPR (*Tescom, USA*).

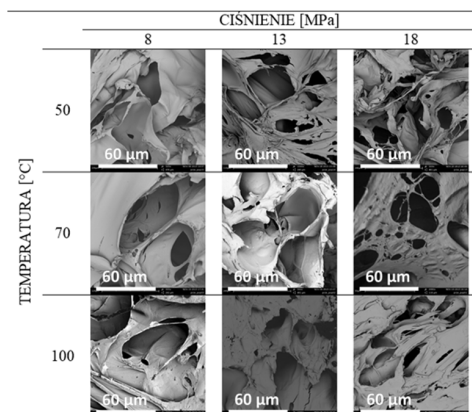
Metodyka. Spienianie poli(ε-kaprolaktonu) było przeprowadzone w trzyetapowym procesie realizowanym w sposób okresowy. Granulki polimeru były umieszczane w komorze wysokociśnieniowej, gdzie przeprowadzono ich topnienie i nasywanie ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym w odpowiednich warunkach procesowych. Następnie otrzymany roztwór była poddawany szybkiemu chłodzeniu i dekompresji, czemu towarzyszyło powstawanie i wzrost pęcherzy gazowych wewnątrz materiału polimerowego.

Testy spieniania poli(ε-kaprolaktonu) przeprowadzono w następującym zakresie zmienności parametrów operacyjnych: temperatury 50÷100°C, ciśnienia 7÷18 MPa, czasu nasycania 1-6 h z zastosowaniem dwóch różnych wartości szybkości dekompresji.

W drugiej części badań doświadczalnych przeprowadzono ocenę użyteczności otrzymanych stałych polimerowych struktur porowatych do zastosowań biomedycznych poprzez zastosowanie specjalistycznych metod badań analitycznych. W celu wykonania analizy właściwości struktur porowatych zastosowano trzy metody analityczne: skaningową mikroskopię elektronową (SEM), mikrotomografię (μ-CT) i statyczną próbę ściskania. Wykorzystanie wymienionych metod umożliwiło identyfikację wpływu parametrów i sposobu realizacji procesu spieniania na właściwości otrzymanych pian stałych.

Wyniki i dyskusja

Morfologię przekroju poprzecznego i powierzchni bocznej polimerowych struktur porowatych wytworzonych w różnych warunkach realizacji procesu spieniania analizowano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego SEM firmy Phenom. Na rys. 2 przedstawiono zdjęcia mikroskopowe przekroju poprzecznego otrzymanych pian stałych wytworzonych techniką spieniania przy użyciu



Rys. 2. Zdjęcia mikroskopowe SEM przekroju poprzecznego pian stałych wytworzonych w warunkach zmiennego ciśnienia i temperatury w stałym czasie nasycania 1h

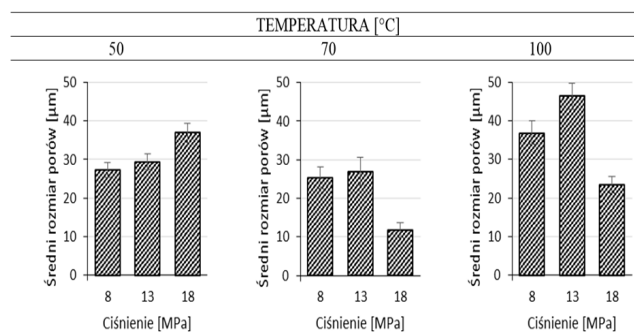
ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym w różnych warunkach ciśnienia i temperatury przy stałym czasie nasycania polimeru ditlenkiem węgla wynoszącym 1 godzinę. Zastosowana metoda analityczna umożliwiła określenie wpływu parametrów operacyjnych na morfologię i właściwości jakościowe struktur porowatych.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników stwierdzono istotny wpływ parametrów procesowych na morfologię otrzymanych struktur porowatych. Analizowane piany stałe charakteryzowały się dużą niejednorodnością struktury wewnętrznej oraz różnorodnym kształtem porów. Ponadto struktury te były pokryte jednolitą nieporowatą powierzchnią. Zaobserwowano wzrost gęstości powierzchniowej porów o niewielkich rozmiarach ze zwiększaniem czasu nasycania polimeru ditlenkiem węgla. Ponadto zwiększanie ciśnienia i zmniejszanie temperatury procesu powodowało zwiększenie niejednorodności wytwarzanej struktury porowatej, co jest korzystne dla przebiegu procesu wzrostu regenerowanej tkanki w polimerowym rusztowaniu kostnym.

W tab. 1 zestawiono wartości graniczne parametrów charakteryzujących wytworzone piany stałe istotnych w kontekście oceny ich użyteczności do zastosowań biomedycznych jako rusztowania kostne. W nawiasach przedstawiono warunki realizacji procesu wytwarzania pian, dla których została zidentyfikowana wartość odpowiedniego parametru. Wytworzone materiały porowate charakteryzowały się porowatością osiągającą 90%, co pozwala na zastosowanie wytworzonego biomateriału w medycynie regeneracyjnej. Ponadto, średni rozmiar porów zawierał się w szerokim zakresie zmienności, co umożliwia wykorzystanie wytwarzanych pian dla zastosowań w inżynierii biomedycznej do regeneracji różnego typu tkanek. Zaobserwowano wzrost średnich rozmiarów porów oraz zmniejszenie ich średniej gęstości powierzchniowej wraz z wzrostem ciśnienia i temperatury realizacji procesu spieniania. Bardzo istotnym parametrem charakteryzującym własności mechaniczne biomateriału jest wartość modułu *Younga* jako miara jego sprężystości. Wartości tego parametru dla całego rozważanego w pracy zakresu zmienności warunków operacyjnych realizacji procesu zawierały się w przedziale dopuszczalnym dla zastosowań wytwarzanych struktur porowatych jako rusztowania kostne w medycynie regeneracyjnej.

Tab. 1. Zestawienie właściwości wytworzonych struktur porowatych

Parametr	Wartość	
	minimalna	maksymalna
Średni rozmiar porów [µm] (ciśnienie/temp./czas nasycania)	11,75 (±1,99) (18/70/1)	46,52 (±3,07) (13/100/1)
Porowatość [%] (ciśnienie/temp./czas nasycania)	48,00 (±2,01) (13/50/1)	89,33 (±2,05) (18/70/1)
Gęstość powierzchniowa porów [10 ³ porów/cm ²]	1,75 (±0,18) (8/100/1)	10,42 (±2,40) (18/70/1)
Moduł <i>Younga</i> [MPa] (ciśnienie/temp./czas nasycania)	1,03 (±0,62) (8/70/6)	20,20 (±6,62) (8/50/1)



Rys. 3. Wpływ parametrów operacyjnych procesu spieniania polimeru na średni rozmiar porów

Na rys. 3 przedstawiono wpływ parametrów operacyjnych realizacji procesu spieniania na średni rozmiar porów wytworzonych porowatych struktur polimerowych. Wykazano wzrost rozmiarów porów wraz ze zwiększaniem temperatury realizacji procesu, przy czym zakres zmienności tych rozmiarów jest odpowiedni dla wykorzystania wytworzonych struktur do zastosowań biomedycznych jako rusztowania do namazania komórek kostnych.

Podsumowanie i wnioski

W pracy przedstawiono wyniki badań doświadczalnych procesu spieniania poli(ε-kaprolaktonu) przy użyciu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym. W szczególności zbadano wpływ temperatury, ciśnienia i czasu nasycania polimeru ditlenkiem węgla na właściwości wytwarzanych polimerowych struktur porowatych.

Na podstawie wykonanych zdjęć mikroskopowych SEM przeprowadzono analizę ilościowych i jakościowych właściwości otrzymanych polimerowych pian stałych, co umożliwiło określenie silnego wpływu warunków operacyjnych realizacji procesu spieniania poli(ε-kaprolaktonu) na cechy otrzymanych struktur porowatych.

Wykazano, że zwiększenie ciśnienia i temperatury realizacji procesu powoduje wzrost średniego rozmiaru i zmniejszenie średniej gęstości powierzchniowej porów. Wytworzone struktury porowate charakteryzują się właściwościami spełniającymi wymagania medycyny regeneracyjnej, co umożliwia ich zastosowania w inżynierii tkankowej.

Ponadto zbadano wpływ parametrów operacyjnych realizacji procesu spieniania polikaprolaktonu na morfologię i właściwości mechaniczne wytworzonych struktur porowatych w kontekście spełnienia wymagań inżynierii tkankowej. Wykazano spełnienie tych wymagań przez materiały porowate wytworzone w rozważanym w pracy zakresie zmienności parametrów operacyjnych procesu spieniania, co pozwala na kontynuację badań ich użyteczności jako rusztowania kostne. W szczególności materiały te zostaną poddane testom cytotoxycywności poprzez wykonanie odpowiednich badań biologicznych w warunkach *in vitro*.

LITERATURA

- Duarte A. R. C., Mano J. F., Reis R. L., (2009). Perspectives on: supercritical fluid technology for 3d tissue engineering scaffold applications. *J. Bioact. Comp. Polym.*, 24(4), 385-400. DOI: 10.1177/0883911509105796
- Karimi M., Heuchel M., Weigel T., Schossig M., Hofmann D., Lendlein A., (2012). Formation and size distribution of pores in poly(ε-caprolactone) foams prepared by pressure quenching using supercritical CO₂. *J. Supercrit. Fluids*, 61, 175-190. DOI: 10.1016/j.supflu.2011.09.022
- Reverchon E., Cardea S., Rapuano C., (2008). A new supercritical fluid-based process to produce scaffolds of tissue replacement. *J. Supercrit. Fluids*, 45, 365-373. DOI: 10.1016/j.supflu.2008.01.005
- Tsivintzelis I., Panayiotou C., (2012). Designing issues in polymer foaming with supercritical fluids. *Macromol. Symp.*, 331-332, 109-114. DOI: 10.1002/masy.201300064