

ENGINEERING OF BIOMATERIALS

INŻYNIERIA BIOMATERIAŁÓW

JOURNAL OF POLISH SOCIETY FOR BIOMATERIALS AND FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS AGH-UST
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW I WYDZIAŁU INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH

Number 139

Numer 139

Volume XX

Rok XX

JANUARY 2017

STYCZEŃ 2017

ISSN 1429-7248

PUBLISHER:

WYDAWCA:

**Polish Society
for Biomaterials
in Krakow**

Polskie
Stowarzyszenie
Biomateriałów
w Krakowie

EDITORIAL

COMMITTEE:

KOMITET

REDAKCYJNY:

Editor-in-Chief

Redaktor naczelny

Jan Chłopek

Editor

Redaktor

Elżbieta Pamuła

Secretary of editorial

Sekretarz redakcji

Design

Projekt

Katarzyna Trała

Augustyn Powroźnik

ADDRESS OF

EDITORIAL OFFICE:

ADRES REDAKCJI:

AGH-UST

30/A3, Mickiewicz Av.

30-059 Krakow, Poland

Akademia

Górnictwo-Hutnicza

al. Mickiewicza 30/A-3

30-059 Kraków

Issue: 250 copies

Nakład: 250 egz.

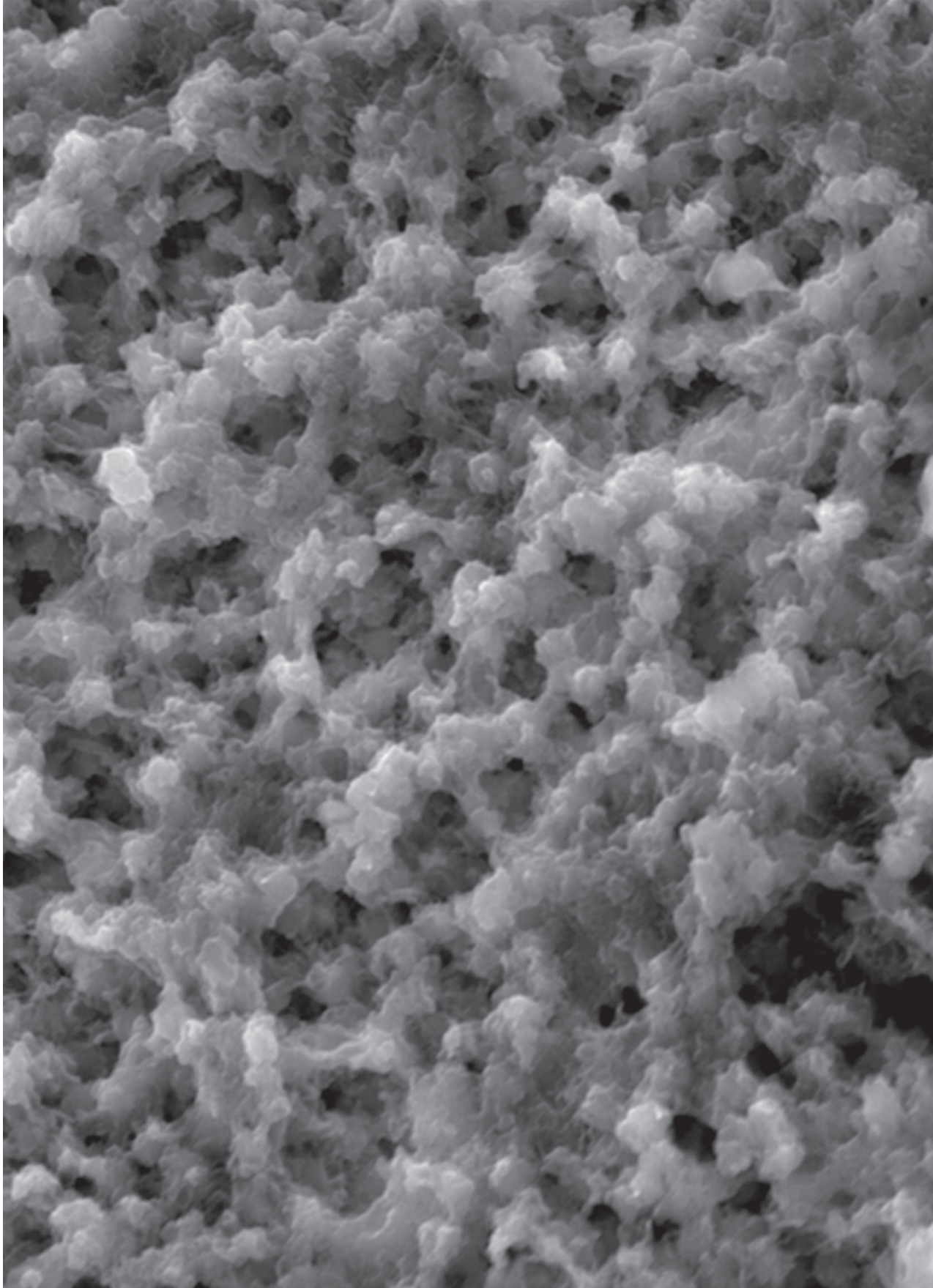
Scientific Publishing

House AKAPIT

Wydawnictwo Naukowe

AKAPIT

e-mail: wn@akapit.krakow.pl



**EDITORIAL BOARD
KOMITET REDAKCYJNY**

EDITOR-IN-CHIEF

Jan Chłopek - AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW, POLAND

EDITOR

Elżbieta Pamuła - AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW, POLAND

**INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD
MIĘDZYNARODOWY KOMITET REDAKCYJNY**

Iulian Antoniac - UNIVERSITY POLITEHNICA OF BUCHAREST, ROMANIA

Lucie Bacakova - ACADEMY OF SCIENCE OF THE CZECH REPUBLIC, PRAGUE, CZECH REPUBLIC

Romuald Będziński - UNIVERSITY OF ZIELONA GÓRA, POLAND

Marta Błażewicz - AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW, POLAND

Stanisław Błażewicz - AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW, POLAND

Maria Borczuch-Łączka - AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW, POLAND

Wojciech Chrzanowski - UNIVERSITY OF SYDNEY, AUSTRALIA

Jan Ryszard Dąbrowski - BIAŁYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY, POLAND

Timothy Douglas - UNIVERSITY OF GENT, BELGIUM

Christine Dupont-Gillain - UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN, BELGIUM

Matthias Epple - UNIVERSITY OF DUISBURG-ESSEN, GERMANY

Robert Hurt - BROWN UNIVERSITY, PROVIDENCE, USA

James Kirkpatrick - JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITY, MAINZ, GERMANY

Ireneusz Kotela - CENTRAL CLINICAL HOSPITAL OF THE MINISTRY OF THE INTERIOR AND ADMINISTR. IN WARSAW, POLAND

Małgorzata Lewandowska-Szumieł - MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW, POLAND

Jan Marciniak - SILESIA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, ZABRZE, POLAND

Ion N. Mihailescu - NATIONAL INSTITUTE FOR LASER, PLASMA AND RADIATION PHYSICS, BUCHAREST, ROMANIA

Sergey Mikhailovsky - UNIVERSITY OF BRIGHTON, UNITED KINGDOM

Stanisław Mitura - KOSZALIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, POLAND

Piotr Niedzielski - TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

Abhay Pandit - NATIONAL UNIVERSITY OF IRELAND, GALWAY, IRELAND

Stanisław Pielka - WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY, POLAND

Vehid Salih - UCL EASTMAN DENTAL INSTITUTE, LONDON, UNITED KINGDOM

Jacek Składzień - JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM, KRAKOW, POLAND

Andrei V. Stanishevsky - UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM, USA

Anna Ślósarczyk - AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW, POLAND

Tadeusz Trzaska - UNIVERSITY SCHOOL OF PHYSICAL EDUCATION, POZNAŃ, POLAND

Dimitris Tsipas - ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI, GREECE

Wskazówki dla autorów

1. Prace do opublikowania w kwartalniku „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” przyjmowane będą wyłącznie z tłumaczeniem na język angielski. Obcokrajowców obowiązuje tylko język angielski.
2. Wszystkie nadsyłane artykuły są recenzowane.
3. Materiały do druku prosimy przysyłać na adres e-mail: kabe@agh.edu.pl.
4. Struktura artykułu:
 - TYTUŁ • Autorzy i instytucje • Streszczenie (200-250 słów) • Słowa kluczowe (4-6) • Wprowadzenie • Materiały i metody • Wyniki i dyskusja • Wnioski • Podziękowania • Piśmiennictwo
5. Autorzy przesyłają pełną wersję artykułu, łącznie z ilustracjami, tabelami, podpisami i literaturą w jednym pliku. Ilustracje, tabele, podpisy i literatura powinny być umieszczone również w wersji angielskiej. Artykuł w tej formie przesyłany jest do recenzentów. Dodatkowo autorzy proszeni są o przesłanie materiałów ilustracyjnych (rysunki, schematy, fotografie, wykresy) w oddzielnych plikach (format np. .jpg, .gif, .tiff, .bmp). Rozdzielczość rysunków min. 300 dpi. Wszystkie rysunki i wykresy powinny być czarno-białe lub w odcieniach szarości i ponumerowane cyframi arabskimi. W tekście należy umieścić odnośniki do rysunków i tabel. W tabelach i na wykresach należy umieścić opisy polskie i angielskie.
6. Na końcu artykułu należy podać wykaz piśmiennictwa w kolejności cytowania w tekście i kolejno ponumerowany.
7. Redakcja zastrzega sobie prawo wprowadzenia do opracowań autorskich zmian terminologicznych, poprawek redakcyjnych, stylistycznych, w celu dostosowania artykułu do norm przyjętych w naszym czasopiśmie. Zmiany i uzupełnienia merytoryczne będą dokonywane w uzgodnieniu z autorem.
8. Opinia lub uwagi recenzentów będą przekazywane Autorowi do ustosunkowania się. Nie dostarczenie poprawionego artykułu w terminie oznacza rezygnację Autora z publikacji pracy w naszym czasopiśmie.
9. Za publikację artykułów redakcja nie płaci honorarium autorskiego.
10. Adres redakcji:
 - Czasopismo
 - „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów”
 - Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica
 - Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
 - al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków
 - tel. (48) 12 617 25 03, 12 617 25 61
 - tel./fax: (48) 12 617 45 41
 - e-mail: chlopek@agh.edu.pl, kabe@agh.edu.pl

Szczegółowe informacje dotyczące przygotowania manuskryptu oraz procedury recenzowania dostępne są na stronie internetowej czasopisma:
www.biomat.krakow.pl

Warunki prenumeraty

Zamówienie na prenumeratę prosimy przysyłać na adres:
apowroz@agh.edu.pl, tel/fax: (48) 12 617 45 41
Cena pojedynczego numeru wynosi 20 PLN
Konto:
Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3
ING Bank Śląski S.A. O/Kraków
nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

Prenumerata obejmuje 4 numery regularne i nie obejmuje numeru specjalnego (materiały konferencyjne).

Instructions for authors

1. Papers for publication in quarterly journal „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” should be written in English.
2. All articles are reviewed.
3. Manuscripts should be submitted to editorial office by e-mail to kabe@agh.edu.pl.
4. A manuscript should be organized in the following order:
 - TITLE • Authors and affiliations • Abstract (200-250 words) • Keywords (4-6) • Introduction • Materials and Methods • Results and Discussions • Conclusions • Acknowledgements • References
5. All illustrations, figures, tables, graphs etc. preferably in black and white or grey scale should be additionally sent as separate electronic files (format .jpg, .gif, .tiff, .bmp). High-resolution figures are required for publication, at least 300 dpi. All figures must be numbered in the order in which they appear in the paper and captioned below. They should be referenced in the text. The captions of all figures should be submitted on a separate sheet.
6. References should be listed at the end of the article. Number the references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text.
7. The Editors reserve the right to improve manuscripts on grammar and style and to modify the manuscripts to fit in with the style of the journal. If extensive alterations are required, the manuscript will be returned to the authors for revision.
8. Opinion or notes of reviewers will be transferred to the author. If the corrected article will not be supplied on time, it means that the author has resigned from publication of work in our journal.
9. Editorial does not pay author honorarium for publication of article.
10. Address of editorial office:
 - Journal
 - „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów”
 - AGH University of Science and Technology
 - Faculty of Materials Science and Ceramics
 - 30/A-3, Mickiewicz Av., 30-059 Krakow, Poland
 - tel. (48) 12) 617 25 03, 12 617 25 61
 - tel./fax: (48) 12 617 45 41
 - e-mail: chlopek@agh.edu.pl, kabe@agh.edu.pl

Detailed information concerning manuscript preparation and review process are available at the journal's website:
www.biomat.krakow.pl

Subscription terms

Subscription rates:
Cost of one number: 20 PLN
Payment should be made to:
Polish Society for Biomaterials
30/A3, Mickiewicz Av.
30-059 Krakow, Poland
ING Bank Śląski S.A.
account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

Subscription includes 4 issues and does not include special issue (conference materials).

26th Conference on
**BIOMATERIALS
IN MEDICINE
AND
VETERINARY
MEDICINE**

12-15 October 2017
Rytro, Poland

www.biomat.agh.edu.pl



SPIS TREŚCI

| | |
|--|-----------|
| CONDUCTIVE POLYMER BASED NANOCOMPOSITE MEMBRANES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS EWA STODOLAK-ZYCH, MAŁGORZATA CHMIELEWSKA, PIOTR JELEŃ | 2 |
| MONTMORILLONIT JAKO NOŚNIK LEKU ALICJA RAPACZ-KMITA | 8 |
| PRZEMIANA FAZOWA ROZTWORÓW CHLORKU CHITOZANU JAKO POTENCJALNEGO MATERIAŁU DO ZASTOSOWAŃ W INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ PIOTR OW CZARZ, PATRYK ZIÓŁKOWSKI, ZOFIA MODRZEJEWSKA, MAREK DZIUBIŃSKI | 18 |
| BADANIE HISTEREZY MECHANICZNEJ ŚCIĘGIEN WIEPRZOWYCH ANETA LIBER-KNEĆ, SYLWIA ŁAGAN | 26 |

CONTENTS

| | |
|--|-----------|
| CONDUCTIVE POLYMER BASED NANOCOMPOSITE MEMBRANES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS EWA STODOLAK-ZYCH, MAŁGORZATA CHMIELEWSKA, PIOTR JELEŃ | 2 |
| MONTMORILLONITE AS A DRUG CARRIER ALICJA RAPACZ-KMITA | 8 |
| PHASE TRANSITION OF CHITOSAN CHLORIDE SOLUTIONS AS POTENTIAL MATERIAL FOR APPLICATION IN BIOMEDICAL ENGINEERING PIOTR OW CZARZ, PATRYK ZIÓŁKOWSKI, ZOFIA MODRZEJEWSKA, MAREK DZIUBIŃSKI | 18 |
| MECHANICAL HYSTERESIS TESTS FOR PORCINE TENDONS ANETA LIBER-KNEĆ, SYLWIA ŁAGAN | 26 |

WERSJA PAPIEROWA CZASOPISMA „ENGINEERING OF BIOMATERIALS / INŻYNIERIA BIOMATERIAŁÓW” JEST JEGO WERSJĄ PIERWOTNĄ
PRINTED VERSION OF „ENGINEERING OF BIOMATERIALS / INŻYNIERIA BIOMATERIAŁÓW” IS A PRIMARY VERSION OF THE JOURNAL

WYDANIE DOFINANSOWANE PRZEZ MINISTRA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO

EDITION FINANCED BY THE MINISTER OF SCIENCE AND HIGHER EDUCATION

CONDUCTIVE POLYMER BASED NANOCOMPOSITE MEMBRANES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

EWA STODOLAK-ZYCH^{1*}, MAŁGORZATA CHMIELEWSKA²,
PIOTR JELEŃ³

¹ AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND

² AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING, AUTOMATICS,
COMPUTER SCIENCE AND BIOMEDICAL ENGINEERING,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW

³ AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF SILICATES CHEMISTRY,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW

* E-MAIL: STODOLAK@AGH.EDU.PL

Abstract

The aim of this work was to examine composite membranes obtained by means of phase inversion from a synthetic stable polymer – polyvinylidene difluoride (PVDF). The piezoelectric polymer was modified with 0.5-1wt% addition of commercial carbon fillers: graphite oxide (GO, 1wt%), multiwalled carbon nanotubes (CNT, 1wt%) and functionalized nanotubes (CNT-COOH, 0.5wt%). The membranes were obtained by solidification of nanocomposite solutions in coagulation bath (CH₃OH). The obtained series of materials differed in surface porosity (P), electric conductivity (σ) and surface free energy (SFE). It was proved that presence of carbon nanoadditive influenced microstructure of the membranes: the mean size of pores in the membrane rose in the following order: GO→CNT→CNT-COOH. The very same system depicted the influence of the filler on the membrane structure: the increase in membrane crystallinity (λ) and the β phase share (FT Raman). From all the examined nanocomposite systems, the PVDF modified with 0.5wt% CNT-COOH displayed the most advantageous electric properties. These nanocomposite membrane (PVDF/CNT-COOH) could be used as a low-voltage electrodes in biomedical application. Yet, taking into account the other physicochemical, mechanical and structural properties, the membranes modified with 1wt% CNT and 1wt% GO were also interesting.

Keywords: porous membranes, carbon fillers, polyvinylidene difluoride (PVDF), conductive, phase inversion

[*Engineering of Biomaterials* 139 (2017) 2-7]

Introduction

The use of polymer conductive composites and nanocomposites based on carbon (nano)fillers (like carbon nanotube-CNT, graphite-GO, graphene-GR, carbon fiber-CNF etc.) was found to be greater in many electrical (i.e. sensors, actuators and transducers), biomedical (i.e. artificial muscles, drug release) and engineering elements (i.e. ferroelectric random access memory) [1-5]. Different form of carbon (nano)filler enhance the electrical conductivity, mechanical properties, and electromagnetic interference (EMI) shielding effectiveness of the composites [4-9]. When the carbon fillers into polymer matrix approaches the percolation threshold, the dielectric constant of composites can dramatically increase. The literature shows that direct connection between carbon fillers are a guarantee of microcapacitor network and strengthen the interfacial bonding between carbon fillers and polymer matrix [10-11]. On the other hand, the nanofiller plays a role of a nucleation center increasing an amount of crystalline structures within the polymer matrix. For this reason poly(vinylidene fluoride) (PVDF) and (nano) composites based on PVDF show advantageous properties suitable for biomedical and engineering applications [12-14]. Some of the authors reported that electrical threshold was determined by 1.2wt% MWNT into polymer matrix (PVDF) whereas the rheological percolation threshold was about 0.9-1.0wt% MWNT [15]. Chiu et al. showed that graphene sheets incorporated into PVDF/PMMA blends were characterized by good dispersion and high crystallization degree, similar to PVDF/PMMA nanocomposites modified with organoclay [16-18]. The results suggested that carbon nanofillers in PVDF have synergetic effect; their presence changes conductivity of the nanocomposite (if dispersion and nanoparticles amount guarantee to exceed the percolation threshold) and stimulates polymorphic forms (i.e. α , β of PVDF) which influence electrical properties of the system (PVDF/carbon nanoform). These effects are interesting for biomedical engineering particularly for biomaterials, which can be used for implants manufacturing. More and more frequently neurology and neurosurgery employ materials that facilitate nerve regeneration processes and restoration of proper nerve conductivity. In the case of peripheral nerve damage that exceeds critical loss the materials known from guided bone regeneration techniques are used [19,20]. These are usually aliphatic polyesters (PLA, PCL, PGLA and their co-polymers) of a defined degradation time. They are applied to provide the regenerating tissue with a proper environment. These materials may be scaffolds themselves (cases, tubes), facilitating the directional guidance of nerve growth, or they may fill the tissue loss (as a gel injected to improve cell growth and adhesion) [21]. Some of the biomaterials are available as implants on the medical market, e.g. Neurolac and NeuroGen.

The other group of promising materials are hydrogels. They are insoluble hydrophilic polymers with high level of swelling and cell-like mechanical properties used to fill resorbable cases or to fill the tissue loss on their own [22,23]. Chitosan, alginate, collagen and hyaluronan belong to this group. The latter material is applied in the form of a gel in microsurgical reconstructions of peripheral nerves and it is called Hyloglide [24]. Another challenging task for biomaterials application in neurosurgery is to facilitate nerve regeneration (axons) using electro-stimulation. Gordon et al. proved that short electrical stimulation with low-frequency (20 Hz for 1 h) accelerates the axon growth after the nerve cut [25,26]. It was shown that electro-stimulation modulates changes after the damage: it blocks the setback of transporting signal, resulting in acceleration of regenerative processes [27].

In other works it was also stated that during additional electro-stimulation Schwann cells increase the speed of conducting the action potential down the nerve [26]. In order to fulfil such tasks only conductive biomaterials that are both biocompatible and stable during electro-stimulation can be used [25]. Among materials that meet the requirements there are composites, nanocomposites and inert conductive materials (e.g. polyaniline PANI). Enriching the polymer matrix with a certain amount of a conductive modifier may lead to temporary or partial electric conductivity, that is why the frequent additives are carbon nanotubes (CNT). Even though their biocompatibility is a controversial issue - when closed in the matrix - CNTs may be a replacement for e.g. PANI.

The last group of materials applied in neurosurgery are substrates used for in vitro cultures of nerve cells. In these cases biomaterials must be endowed with such properties that will imitate or guarantee the environment similar to extracellular matrix (ECM) [22,28-30]. Both resorbable and inert materials (PVDF) are used here, providing they enable chemical and biological surface modifications which facilitate the growth and proliferation of nerve cells [29,30]. Based on the presented literature data, the aim of this study is to examine whether a system of an inert fluoropolymer (PVDF) modified with carbon fillers (CNT, CNT-COOH and GO) is a potential material for neurosurgical applications. A series of nanocomposite membranes were produced by means of the phase inversion method, using methanol as a coagulant. The obtained porous systems were tested to establish their mechanical, physicochemical and electric properties. The impact of nanoadditives on the structure and microstructure of the materials was also assessed.

Materials and Methods

Commercially available polymer - polyvinylidene difluoride (PVDF) of molecular weight 80 kDa and density 1.18 g/cm³ (Sigma-Aldrich) was used. The matrix modifiers were: multiwalled carbon nanotubes - CNT (NanoAmor, US) and nanotubes modified with COOH groups (NanoAmor, US). The third carbon additive used in the study was graphene oxide (Graphen Market, Germany). The properties of the materials essential for this work are presented in TABLE 1. N,N-Dimethylmethanamide (DMF, Avantor) was applied as a solvent, while methanol (CH₃OH, Avantor) was used as a solidifier.

Homogenous solution of polymer PVDF:DMF (1:4) was obtained through 24-hour mixing at the temperature of 60°C at the first stage of the study. The additives were homogenized in DMF by means of ultrasounds (1 min / 20 Hz). Afterwards, the polymer was combined with the mixture and again dispersed with ultrasounds (2 min / 60 Hz). The mixture was distributed on the glass plate fixed in the device (doctor blade system).

The preliminary evaporation took place in a vacuum chamber (50°C, pressure 0.5 atm), then the substrate with the polymer film was transferred into a coagulation bath (methanol, 21°C). The thickness of the membranes was 150-180 µm. The microstructure of the membranes was observed using scanning electron microscope (Nova NanoSEM, FEI). Thanks to this technique the surface porosity and the mean size of pores were also assessed. The water contact angle (Θ) and surface free energy (SFE) were established using the goniometer DSA 10 Kruss. The electric conductivity assay was based on establishing the resistivity value of the tested membrane (Ohm's law) and dependence of resistivity (R) and electric conductivity (σ), using the universal digital multimeter (Fluke 177). The crystallinity of the materials was assessed upon the analysis of DSC curves (Netsch STA 449 F3) in the temperature range 25-600°C (protective atmosphere: nitrogen). The impact of modifying additives on the behaviour of the polymer chain was established by means of FT Raman spectroscopy (FTS 300 Excalibur, BioRad), applying the helium-neon laser of the 543.5 nm wavelength. The mechanical properties of the membranes were measured by means of tensile testing (Zwick 1435).

Results and Discussions

The microstructure of polymer membranes modified with carbon nanoforms depends largely on the coagulant itself. In the literature there are reports of using other non-solvents that contribute to the process of spherulitic crystallization of semicrystal PVDF [31-33]. Methanol is a weak coagulant for PVDF, which results in its slow washing out of the solution and thus it facilitates spherulite crystallization. The size of spherulites in the tested systems also depends on the carbon nanoadditive. Graphene oxide flakes (GO) impede formation of spherulites (they reduce chain mobility, FIG. 1b). In SEM images a higher number of tiny spherulites is observed in comparison to the polymer membrane (PVDF, FIG. 1a). In turn, addition of CNT promotes formation of crystallites (FIG. 1c-d). Nanotubes, particularly the surface-modified ones, make heterogenic seeds of crystallization. It makes spherulites bigger and less numerous (FIG. 1). On all the membrane surfaces the characteristic network of interconnected spherulites is observed. The estimated size of surface pores in the tested membranes decreases in the following order: 1wt% GO (max. diameter up to 2.5 µm) → 0.5wt% CNT (max. diameter up to 6 µm) → 1wt% CNT-COOH (to 8 µm). Having analysed the porosity results obtained by means of a bubble point method, it was stated that the highest porosity characterizes two kinds of the examined membranes: the nanocomposite membranes with 0.5wt% of CNT (approx. 52%) and the membranes with 1wt% of CNT-COOH (48%). In reference to the literature data they are porosity values suitable for neurosurgical applications - they promote selective transfer of cells and nutrients [20,22,34].

TABLE 1. Key properties of nanoadditives as provided by manufacturers.

| Material | Producer | Morphology | Tensile strength [GPa] | Electric conductivity [S/m] |
|----------|-------------------|--|------------------------|-----------------------------|
| GO | Graphen Market Co | flake thickness 60 nm flake size 3-7 µm | 130 | 7200 |
| CNT | NanoAmor, US | diameter 1-5 nm length 1 µm | 60-150 | 3000-4000 |
| CNT-COOH | NanoAmor, US | diameter 3-10 nm length 2 µm | 50-80 | 3500-4500 |

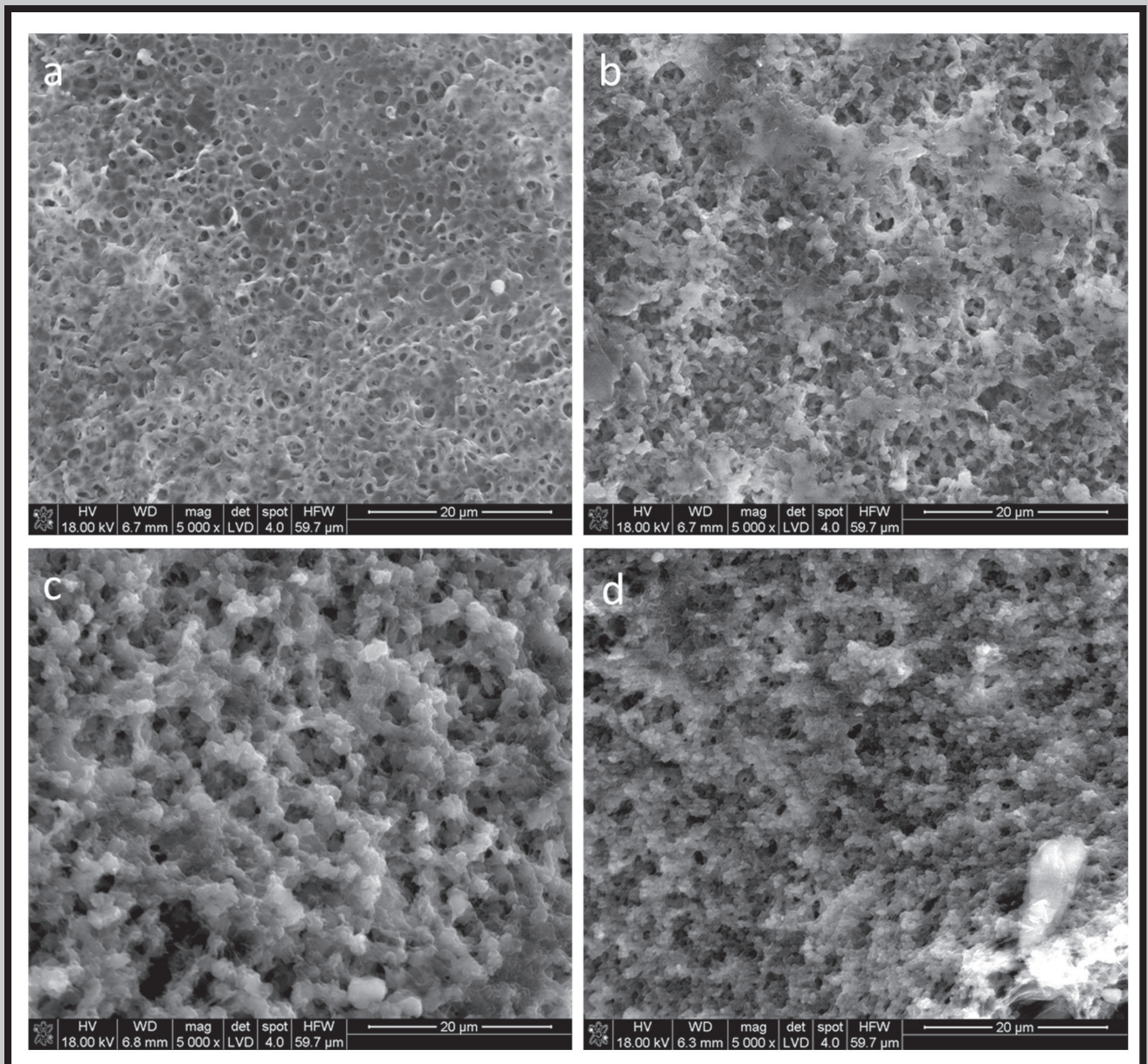


FIG. 1. Microstructure of membranes based on PVDF modified with carbon nanofillers: 0.5wt% CNT (c), 1wt% CNT-COOH (b), 1wt% GO (d). Reference membrane with neat PVDF (a).

Crystallinity of the membrane materials was determined in the first place by the precipitating agent – methanol. The analysis of DSC curves confirms that typical effects i.e. melting point of the crystalline phase (T_m) is exothermic, unlike in the case of membranes precipitated with e.g. water. This effect may be explained by the reorganization of the chains to improve their order. Another factor affecting the size of spherulites is the type of carbon filler. CNT initiates the formation of spherulites, that is why the crystalline phase share increases (TABLE 2). The bigger size of the filler (CNT-COOH, GO) is, the more slowly crystallinity increases. In the case of PVDF/CNT-COOH membrane, the essential factor is the amount of the filler twice as big as in the case of CNT. During the precipitation polymer chains form lamellas and/or spherulites (observed by SEM).

TABLE 2. Thermal properties of membrane nanocomposite system PVDF/carbon nanofiller and the pure polymer membrane (reference).

| | PVDF membrane | PVDF/CNT membrane | PVDF/CNT-COOH membrane | PVDF/GO membrane |
|------------------|---------------|-------------------|------------------------|------------------|
| ΔH [J/g] | 60.6 | 62.8 | 58.7 | 46.5 |
| λ [%] | 57.9 | 60.1 | 55.8 | 44.2 |
| T_m [°C] | 165.0 | 165.0 | 165.0 | 157.5 |
| T_r [°C] | 474.0 | 476.0 | 478.0 | 460.0 |

Modification of the pure PVDF leads to lowering the surface free energy (SFE) and components γ_p and γ_d in relation to the unmodified polymer PVDF (SFE = 30.3 mJ/m² when γ_d = 23.3 mJ/m² and γ_p = 7 mJ/m²) [35]. Graphite oxide lowers the surface free energy of the membrane, while sustaining its hydrophobic character (the γ_d value bigger than γ_p). It is not a surprising phenomenon: a slight amount of hydrophilic filler exposes the polar groups on the membrane surface. In turn, carbon nanotubes significantly raise the SFE (for CNT it is 35 mJ/m², for CNT-COOH it is 53.5 mJ/m²). In both cases (PVDF/CNT and PVDF/CNT-COOH) the material remains highly hydrophobic (FIG. 2a). It seems that carbon nanotubes during the solidification process are surrounded with polymer chains (thus bigger spherulites are observed), that is why fluoropolymer groups get exposed on the membrane surface (thus SEM similar to pure PVDF). The wettability results indicate that GO-modified membranes do not differ from pure polymer membranes, contrary to the membranes modified with nanotubes. In their case the 15% increase in hydrophobicity is noted (FIG. 2b). Physicochemical properties of the surface confirm potential applications of the materials for GNR (especially PVDF/GR membranes). The materials may be also used as coatings for electrodes in electro-stimulation (PVDF/CNT, PVDF/CNT-COOH) [25,36]. Also the values of electric conductivity confirm the possibilities of the materials in question. The membranes with CNT addition endowed with well-developed spherulitic microstructure display higher conductivity (approx. 28300-32800 [S]). Electric conduction in nanocomposite systems with carbon additive is based on so-called "hopping" in lamellar or spherulitic structures, provided that the nanoadditive is distributed homogeneously [37]. It seems that during the membrane precipitation the more numerous phase β -PVDF with increased electric conductivity is formed [38,39]. The microstructure with higher crystallinity and better-organized order of PVDF chains enriched with a conductive addition provides more conductive paths.

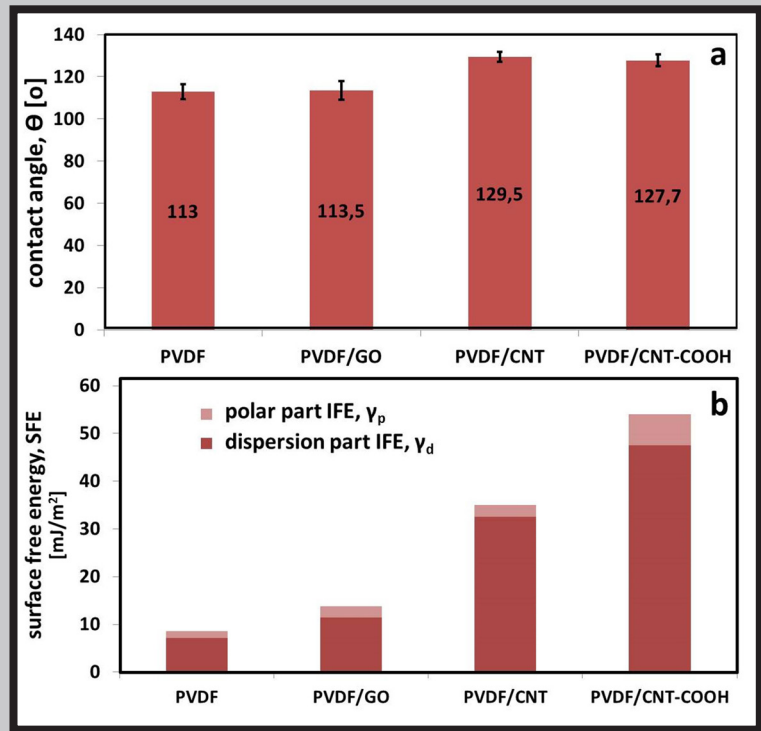


FIG. 2. Physicochemical properties of surface of membrane with carbon nanofiller: water contact angle (a), surface free energy (b).

The Raman spectroscopy analysis showed that in the spectrum of PVDF membranes there are bands characteristic for α , β and γ phases (FIG. 3). The α phase may be present either on its own (it is confirmed by the bands at 615 cm⁻¹, 795 cm⁻¹) or as a mixture of α and β phases (at 880 cm⁻¹) or as α , β and γ mixture (at 1130 cm⁻¹). The other characteristic bands may be assigned to the γ phase (810 cm⁻¹) or the β and γ mixture (840 cm⁻¹) [40]. The application of modifiers diminishes the share of the α and γ phases, while the phase β share increases. Additionally, in the spectrum of membranes with carbon additives there are bands typical for carbon structures i.e. CNT and GO: D band (at 1340 cm⁻¹), G band (at 1580 cm⁻¹) and G' band (at 2680 cm⁻¹) [18, 41].

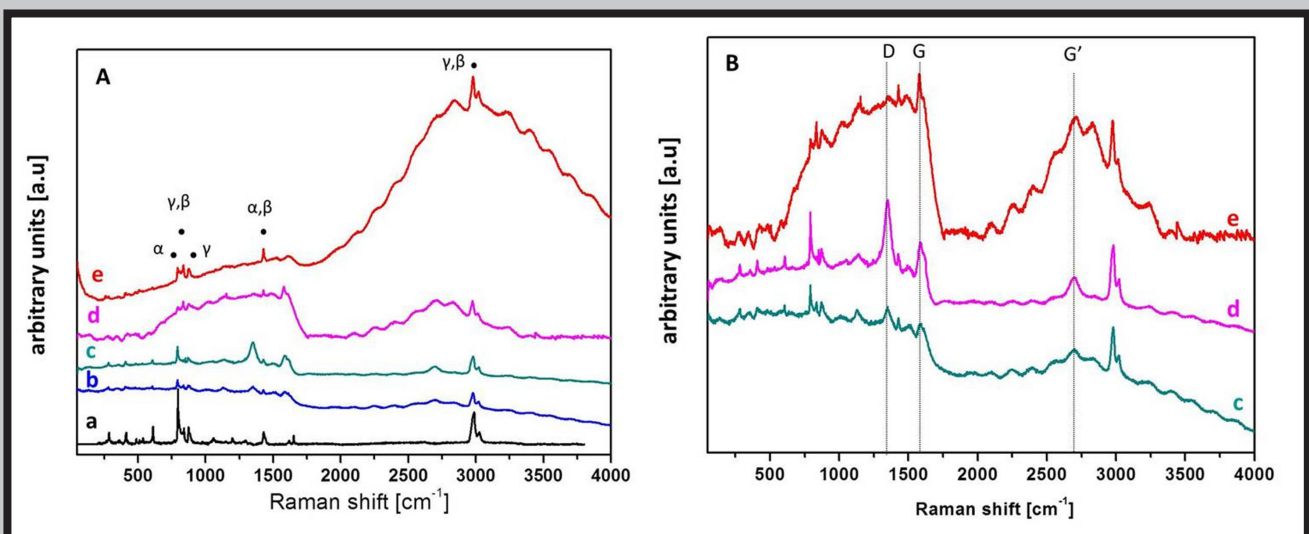


FIG. 3. Raman spectra of various type of materials: neat PVDF pallets (a), reference membrane base on PVDF (e), polymer membrane modified by carbon nanofiller: 0.5wt% CNT (b), 1wt% CNT-COOH (c), 1wt% GO (d).

TABLE 3. Mechanical properties of nanocomposite membrane based on PVDF.

| | PVDF membrane | PVDF/CNT membrane | PVDF/CNT-COOH membrane | PVDF/GO membrane |
|--|------------------|-------------------|------------------------|------------------|
| Young's modulus E [MPa] | 187.8 ±2.5 | 54.3 ±1.2 | 36.7 ±0.5 | 164.8 ±1.9 |
| Mechanical strength R _M [MPa] | 2.41 ±0.12 | 1.27 ±0.18 | 3.17 ±0.19 | 10.28 ±0.5 |
| Conductivity σ [S] | 10 ⁻⁶ | 32800 | 28300 | 18400 |

The lack of the D band in PVDF/GO membrane is caused by the absence of disordering that results from the sp³ hybridization which is not present in graphite (there is only sp²). Comparing the intensity of bands D and G for membranes with carbon additives the better interaction between the carbon filler and the polymer chain is expected for PVDF/CNT and PVDF/CNT-COOH ($I_D/I_G > 1.1$). The opportunity to create interactions between π electrons and fluorine electrons from the PVDF chain takes place already during the membrane formation (precipitation with methanol). Thus the obtained membrane is a more stable system with a higher degree of crystallinity and increased electric conductivity.

Unfortunately, the carbon additive of CNT negatively affects the mechanical properties of the membranes (TABLE 3). It significantly decreases the Young's modulus (E) value and the tensile strength (R_M), as compared to the membrane made of pure polymer. It is not a surprising result when confronted with the increased surface porosity of polymer-carbon membranes. However, this parameter does not play a key role in medical applications – neither implants for peripheral nerve regeneration nor coatings modifying the surfaces of electrodes require higher values of E or R_M.

Conclusions

The method applied makes it possible to manufacture the PVDF-based membranes with homogeneous microstructures. The time it takes methanol to wash out the solvent enables the formation of interconnected spherulites. These forms are characterized by high crystallinity and strong conductive phase β PVDF. The addition of carbon nanoparticles and crystallization from the solution also increases the amount of the phase β. All the examined nanocomposite systems display conductive properties. The effect depends on a kind of nanoadditives. It was shown that a flaked filler (GO) displays the least electric conductivity, low crystallinity and surface porosity, while sustaining the surface wettability and energy on the level comparable to the properties of a pure membrane. It results from the behaviour of a polymer chain in contact with a flake of graphite. Such a form significantly limits the mobility of polymer chains, impeding crystallinity and destabilizing the membrane morphology (lack of effective connections between spherulites, thus low mechanical properties). In turn, nanotube filler increases the values of electrical conductivity, surface porosity and size of pores. Also the hydrophobicity of the membranes increases distinctly, which will probably hinder the adhesion and proliferation of cells. Thereby, the PVDF membranes modified with CNT are better coatings for low-voltage electrodes, due to their stability of microstructure, high electric conductivity and low wettability.

To sum up, the use of methanol and a selected carbon modifier may result in a synergic effect connected with improvement of structural, electrical and surface properties of the materials, which will make them more suitable for neurosurgical applications.

Acknowledgments

This study was performed within the framework of funding for statutory activities of AGH University of Science and Technology in Krakow, Faculty of Materials Science and Ceramics (11.11.160.616).

References

- [1] Thomas P.S., Abdullateef A.A., Al-Harhi M.A., Atieh M.A., De S.K., Rahaman M. et al.: Electrical properties of natural rubber nanocomposites: effect of 1-octadecanol functionalization of carbon nanotubes. *M J Mater Sci*, 47 (2012) 3344-3349.
- [2] Feng C., Jiang L.: Micromechanics modeling of the electrical conductivity of carbon nanotube (CNT)-polymer nanocomposites. *Compos Part A* 47 (2013) 143-149.
- [3] Wu J., Chung D.D.L.: Increasing the electromagnetic interference shielding effectiveness of carbon fiber polymer-matrix composite by using activated carbon fibers. *Carbon* 40 (2002) 445-467.
- [4] Cao M., Wang X., Cao W., Yuan J.: Ultrathin graphene: electrical properties and highly efficient electromagnetic interference shielding. *J Mater Chem C* 3 (2015) 6589-6599.
- [5] Zhang X., Liang G., Chang J., Gu A., Yuan L., Zhang W.: The origin of the electric and dielectric behavior of expanded graphite-carbon nanotube/cyanate ester composites with very high dielectric constant and low dielectric loss. *Carbon* 50 (2012) 4995-5007.
- [6] Chung D.D.L.: Electromagnetic interference shielding effectiveness of carbon materials. *Review, Carbon* 39 (2001) 279-285.
- [7] Nayak L., Rahaman M., Khastgir D., Chaki T.K.: Thermal and electrical properties of carbon nanotubes based polysulfone nanocomposites. *Polym Bull* 67 (2011) 1029-1044.
- [8] Verdejo R., Bernal M.M., Romasanta L.J., Lopez-Manchado M.A.: Graphene filled polymer nanocomposites. *J Mater Chem* 21 (2011) 3301-3310.
- [9] Li B., Zhong W.H.: Review on polymer/graphite nanoplatelet nanocomposites. *J Mater Sci* 46 (2011) 5595-5614.
- [10] Wan Y.J., Yang W.H., Yu S.H., Sun R., Wong C.P., Liao W.H.: Covalent polymer functionalization of graphene for improved dielectric properties and thermal stability of epoxy composites. *Compos. Sci. Technol.* 122 (2016) 27-35.
- [11] Zhi X., Mao Y., Yu Z., Wen S., Li Y., Zhang L.: γ -Aminopropyl triethoxysilane functionalized graphene oxide for composites with high dielectric constant and low dielectric loss. *Compos Part A: Appl Sci Manuf* 76 (2015) 194-202.
- [12] Lin J.C., Tiong S.L., Chen C.Y.: Surface characterization and platelet adhesion studies on fluorocarbons prepared by plasma-induced graft polymerization. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 11 (2000) 701-714.
- [13] Yu Y., Sun H., Orbay H., Chen F., England C.G., Cai W., Wan X.: Biocompatibility and in vivo operation of implantable mesoporous pvdf-based nanogenerators. *Nano Energy* 27 (2016) 275-287.
- [14] Spasova M., Manolova N., Markova N., Rashkov I.: Superhydrophobic PVDF and PVDF-HFP nanofibrous mats with antibacterial and anti-biofouling properties. *App. Surf. Sci.* 363 (2016) 363-371.
- [15] Martins J.N., Bassani T.S., Barra G.M., Oliveira R.V.B.: Electrical and rheological percolation in poly(vinylidene fluoride)/multi-walled carbon nanotube nanocomposites. *Polym. Int.* 60 (2011) 430-435.
- [16] Chiu F.C., Yeh S.C.: Comparison of PVDF/MWNT, PMMA/MWNT, and PVDF/PMMA/MWNT nanocomposites: MWNT dispersibility and thermal and rheological properties. *Polym. Test.* 45 (2015) 114-123.
- [17] Chiu F.C., Chen Y.J.: Evaluation of thermal, mechanical, and electrical properties of PVDF/GNP binary and PVDF/PMMA/GNP ternary nanocomposites. *Compos. Part A: Appl. Sci. Manuf.* 68 (2015) 62-71.
- [18] Chiu F.C.: Comparisons of phase morphology and physical properties of PVDF nanocomposites filled with organoclay and/or multi-walled carbon nanotubes. *Mater. Chem. Phys.* 143 (2014) 681-692.
- [19] Siemionow M., Brzezicki G.: Current techniques and concepts in peripheral nerve repair. *International Review of Neurobiology* 87 (2009) 141-172.
- [20] Xiaosong Gu, Fei Ding, Yumin Yang, Jie Liu: Peripheral nerve regeneration. *Prog. Neurobiol.* 93 (2011) 204-230.
- [21] Kijeńska E., Prabhakaran M.P., Swieszkowski W., Kurzydowski K.J., Ramakrishna S.: Electrospun bio-composite P(LLA-CL)/collagen I/collagen III scaffolds for nerve tissue engineering. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 100 (2012) 1093-1102.
- [22] Kucharska M., Niekraszewicz A., Kardas I.: Developing a model of peripheral nerve graft based on natural polymers. *Fibres Text. East. Eur.* 96 (2012) 107-120.
- [23] Van Vlierberghe S., Dubrue P., Schacht E.: Biopolymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering applications: A review. *Biomacromolecules* 12 (2011) 1387-1408.
- [24] Kulicki M., Jethon J.: Aktualne sposoby rekonstrukcji niewielkich ubytków nerwów dłoniowych wspólnych i właściwych, *Postępy Nauk Medycznych* 9 (2009) 673-677.
- [25] Deumens R., Bozkurt A., Meek M.F.: Repairing injured peripheral nerves: Bridging the gap. *Prog. Neurobiol.* 92 (2010) 245-267.
- [26] Gordon T., Gordon K.: Nerve regeneration in the peripheral nervous system versus the central nervous system and the relevance to speech and hearing after nerve injuries. *J Commun Disord* 43 (2010) 274-285.
- [27] Asensio-Pinilla E., Udina E.: Electrical stimulation combined with exercise increase axonal regeneration after peripheral nerve injury. *Exper. Neurol.* 219 (2009) 258-265.
- [28] Young T.H., Hu W.W.: Covalent bonding of lysine to EVAL membrane surface to improve survival of cultured cerebellar granule neurons. *Biomaterials* 24 (2003) 1477-1486.
- [29] Lin D.J., Lin D.T., Young T.H., Huang F.M., Chen C.C., Cheng L.P.: Immobilization of heparin on PVDF membranes with microporous structures. *J. Membr. Sci.* 245 (2004) 137-146.
- [30] Young T.H., Lu J.N., Lin D.J., Chang C.L., Chang H.H., Cheng L.P.: Immobilization of L-lysine on dense and porous poly(vinylidene fluoride) surfaces for neuron culture. *Desalination* 234 (2008) 134-143.
- [31] Mago G., Fisher F.T.: Membranes of polyvinylidene fluoride and PVDF nanocomposites with carbon nanotubes via immersion precipitation. *J Nanomater.* (2008) ID 759825
- [32] Bottino A., Camera-Roda G., Capannelli G., Munari S.: The formation of microporous polyvinylidene difluoride membranes by phase separation. *J. Membr. Sci.* 57 (1991) 1-20.
- [33] Yeow M.L., Liu Y.T., Li K.: Morphological study of poly(vinylidene fluoride) asymmetric membranes: Effects of the solvent, additive, and dope temperature. *J. Appl. Polym. Sci.* 92 (2004) 1782-1789.
- [34] Kehoe S., Zhang X.F., Boyd D.: FDA approved guidance conduit and wraps for peripheral nerve injury: A review of materials and efficacy. *Injury, Int. J. Care Injured* 43 (2012) 553-572.
- [35] Zhao C., Xu X.: Effect of graphene oxide concentration on the morphologies and antifouling properties of PVDF ultrafiltration membranes. *J. Environ. Chem. Eng.* 1 (2013) 349-354.
- [36] Cunha C., Panseri S., Antonini S.: Emerging nanotechnology approaches in tissue engineering for peripheral nerve regeneration. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 7 (2011) 50-59.
- [37] Ferreira A., Rocha J.G., Ansón-Casaos A., Martínez M.T., Vaz F., Lanceros-Mendez S.: Electromechanical performance of poly(vinylidene fluoride)/carbon nanotube composites for strain sensor applications. *Sens. Actuators* 178 (2012) 10-16.
- [38] Xingyi H., Pingkai J., Choung K., Fei L., Yi Y.: Influence of aspect ratio of carbon nanotubes on crystalline phases and dielectric properties of poly(vinylidene fluoride). *Eur. Polym. J.* 45 (2009) 377-386.
- [39] Ke K., Wang Y., Yang M.B.: Crystallization and reinforcement of poly(vinylidene fluoride) nanocomposites: Role of high molecular weight resin and carbon nanotubes. *Polym. Test* 31 (2012) 117-126.
- [40] Veitmann M., Chapron D., Bizet S., Devisme S., Guilment J., Royaud I., Poncot M., Bourson P.: Thermal behavior of PVDF/PMMA blends by differential scanning calorimetry and vibrational spectroscopies (Raman and Fourier-Transform Infrared). *Polym. Test.* 48 (2015) 120-124.
- [41] Huang L., Lu C., Wang F., Dong X.: Piezoelectric property of PVDF/graphene composite films using 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorooctyltriethoxysilane as a modifying agent. *J. Alloys Compd.* 688 (2016) 885-892.

ALICJA RAPACZ-KMITA*

AGH AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW
* E-MAIL: KMITA@AGH.EDU.PL

Streszczenie

Zastosowanie minerałów ilastych, a w szczególności montmorillonitu, dla celów medycznych, sięga czasów prehistorycznych. Szczególne własności tej grupy minerałów, ich powszechność, niski koszt, zdolności wymiany jonowej, zdolności absorpcyjne, inertywność w kontakcie z tkankami ludzkimi oraz budowa sprawiły, iż znalazły się one w kręgu zainteresowania jako potencjalne nośniki substancji leczniczych w systemach kontrolowanego dostarczania leków. Obecnie, minerały ilaste, a w szczególności montmorillonit, są stosowane na szeroką skalę w preparatach farmaceutycznych, jako substancje pomocnicze oraz składniki aktywne. Możliwość interkalacji związków organicznych, jakimi są leki, pomiędzy warstwy montmorillonitu, stwarza nowe możliwości wykorzystania tego minerału. W systemach kontrolowanego dostarczania leków kluczowym elementem jest zastosowanie odpowiedniego materiału nośnika, który przede wszystkim musi charakteryzować się brakiem toksyczności, biokompatybilnością, ale także spełniać odpowiednie wymogi technologiczne, jak np.: duża wydajność produkcji oraz stabilność w środowisku żywego organizmu. Zastosowanie montmorillonitu jako nośnika leku może przyczynić się do uzyskania kontrolowanego i przedłużonego uwalniania leku, ale także do eliminacji skutków ubocznych działania leku na organizm. Dzięki słabym wiązaniom van der Waalsa i wodorowym istniejącym pomiędzy warstwami montmorillonitu, możliwe jest zainterkalowanie cząstek leku pomiędzy warstwy minerału i tym samym utworzenie nietrwałego połączenia z farmaceutykiem. Zainteresowanie minerałami ilastymi w systemach kontrolowanego dostarczania leków potwierdza systematycznie rosnąca liczba publikacji powiązanych z tą tematyką. Praca stanowi podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat wykorzystania minerałów ilastych, a w szczególności montmorillonitu, w zastosowaniach medycznych.

Słowa kluczowe: surowce ilaste, montmorillonit, nośnik leku, systemy dostarczania leków

[Inżynieria Biomateriałów 139 (2017) 8-17]

Wstęp

Minerały ilaste, naturalne oraz syntetyczne, to szeroka gama surowców o dużej dostępności, niskim koszcie, ale także o unikatowych własnościach wynikających z warstwowej budowy. W warunkach naturalnych powstają one w skorupie ziemskiej w wyniku wietrzenia chemicznego skał lub przemian hydrotermalnych pyłów i skał wulkanicznych i występują w postaci złóż kopalnych. Zdolności sorpcyjne, zdolności wymiany jonowej, czy też zdolność pochłaniania wody i jonów z roztworów wodnych, rozmiar cząstek, a w konsekwencji wielkość powierzchni właściwej to tylko część z wielu wyjątkowych cech tej grupy minerałów. Jednocześnie należą one do minerałów stabilnych i inertywnych, co gwarantuje biokompatybilność i pozwala na ich zastosowanie w medycynie i farmacji [1-2].

ALICJA RAPACZ-KMITA*

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND
* E-MAIL: KMITA@AGH.EDU.PL

Abstract

The use of clay minerals for medical applications dates back to prehistoric times. Specific properties of this group of minerals, their universality, low cost, ability to ion exchange, absorption capacity, inertness in contact with human tissues as well as their structure, caused that they had been included in the area of interest as potential carriers of medicinal substances in controlled drug delivery systems. At present, clay minerals, in particular montmorillonite, are extensively used in pharmaceutical formulations both as excipients and the active components. The possibility of intercalation of organic compounds, which are drugs among the others, between the layers of montmorillonite, creates new possibilities for the use of this mineral. In the controlled drug delivery systems, the key element is the use of a suitable material for carrier, which primarily must be characterized by a lack of toxicity, good biocompatibility, but also is expected to meet the relevant technological requirements, such as: high efficiency of production and stability in a living organism. The use of a montmorillonite carrier may help to achieve a controlled and sustained release of the drug but also to eliminate the side effects of the drug on the human's body. Due to the weak van der Waals and hydrogen bonds which exist between montmorillonite layers, it is possible to intercalate the drug particles between the layers and thus forming the impermanent connection to the pharmaceutical. Interest in clay minerals in controlled drug delivery systems is confirmed by the steadily growing number of publications related to this topic. The work is a summary of current knowledge on the use of clay minerals, particularly montmorillonite, in medical applications.

Keywords: clays, montmorillonite, drug carrier, drug delivery systems

[Engineering of Biomaterials 139 (2017) 8-17]

Introduction

Clay minerals, both natural and synthetic, are a wide range of materials with a high availability, low cost, but also with the unique properties resulting from the layered structure. Under natural conditions, they are formed in the earth's crust as a result of chemical weathering of rock or hydrothermal transformation of dust and volcanic rocks and occur in the form of fossil deposits. Sorptive capacity, the ion exchange capacity or ability to absorb water and ions from aqueous solutions, particle size, and consequently the surface area is only a part of the many unique features of this group of minerals. At the same time, they belong to the stable and inert minerals, which ensures biocompatibility and allows their use in medicine and pharmacy [1-2].

Minerały ilaste od lat znajdują zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, jako substancje pomocnicze, a także aktywne. Dopiero niedawno stały się przedmiotem zainteresowania naukowców w obszarze kontrolowanego dostarczania leków [2-4]. U podstaw koncepcji systemów kontrolowanego dostarczania leków leży założenie, że skuteczna farmakoterapia wymaga utrzymania stabilnego, terapeutycznego stężenia leku w miejscu przeznaczenia, przez cały czas trwania kuracji. Standardowe sposoby podawania leków nie spełniają tych warunków, przez co terapeutyczne możliwości leków nie są w pełni wykorzystywane.

Obecnie, większość stosowanych leków należy do związków organicznych o małej masie cząsteczkowej. Do głównych wad takich substancji leczniczych należą: szybki metabolizm i wydalanie z organizmu, niewielka wybiórczość działania terapeutycznego oraz niekorzystna biodystrybucja. Dlatego też pacjentowi podczas terapii podaje się lek w krótkich odstępach czasu, ponieważ zostaje on przekształcony w metabolity za pomocą enzymów i szybko usuwany z organizmu. Postępowanie takie ogranicza działanie terapeutyczne leku i powoduje konieczność zastosowania dużych i częstych dawek, powodując tym samym występowanie licznych efektów ubocznych. Zbyt wysokie stężenie podawanego leku może mieć działanie toksyczne, zbyt niskie natomiast może nie dawać efektu terapeutycznego. W celu poprawy efektów terapii leczniczych stosuje się tzw. *systemy dostarczania leku* (DDS). Jednym ze sposobów realizacji tego zadania jest stosowanie nośników leków.

Technologia systemów dostarczania leków bazujących na minerałach ilastych polega głównie na wytworzeniu koniugatów nośnik mineralny-lek na drodze interkalacji cząsteczek substancji leczniczej w przestrzeniach międzypakietowych [4,5]. Potencjał minerałów ilastych w tym zakresie wynika przede wszystkim z ich zdolności pęcznienia oraz wymiany jonowej, które pozwalają na wprowadzenie leku w przestrzenie międzypakietowe, a także z faktu powstawania licznych oddziaływań pomiędzy nośnikiem a lekiem, co korzystnie wpływa na profil uwalniania zainterkalowanego leku.

Śród wszystkich grup minerałów ilastych, wyjątkowo reaktywne są smektyty, a zwłaszcza montmorillonit (MMT), którego skład opisany jest ogólnym wzorem $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$, gdzie M oznacza kation jednowartościowy, a x – stopień podstawienia izomorficznego wynoszący od 0,5 do 1,3. MMT zbudowany jest z pakietów typu 2:1, tworzonych przez jedną warstwę oktaedryczną zamkniętą pomiędzy dwiema zewnętrznymi warstwami tetraedrycznymi, obdarzonych niewielkim ładunkiem ujemnym kompensowanym przez kationy międzywarstwowe. Rodzaj kationów międzywarstwowych wpływa na odległość międzywarstwową, zdolności adsorpcji, pęcznienie i inne właściwości minerału. W konsekwencji struktury warstwowej pojedyncze kryształy montmorillonitu występują w postaci płytek, przy czym grubość warstwy pakietowej montmorillonitu wynosi 0,96 nm, a odległość bazowa, na którą składa się grubość pakietu i odległość międzywarstwowa, może być nawet dwukrotnie większa, a pozostałe wymiary sięgają kilkuset nanometrów [6]. Łatwość modyfikacji struktury, możliwość przyjmowania pomiędzy pakiety wody, a także różnorodnych związków organicznych, stwarza szerokie spektrum możliwości zastosowania montmorillonitu w systemach dostarczania leków.

O sukcesie minerałów ilastych w farmacji decyduje ich stosunkowo łatwa dostępność, jak również, a może przede wszystkim, możliwość ich uniwersalnego użycia zarówno jako substancji pomocniczej jak i aktywnej. Szersza koncepcja wykorzystania minerałów ilastych w medycynie i farmacji opiera się natomiast na możliwości ich zastosowania w bezpiecznych oraz terapeutycznie efektywnych systemach dostarczania leków, od których w obecnych czasach wymaga się zwłaszcza zdolności dopasowywania się do potrzeb pacjenta.

The clay minerals have been used for years in the pharmaceutical industry as both excipients, and active substances. But only recently have become a subject of interest to researchers in the field of controlled drug delivery [2-4]. At the root of the concept of controlled drug delivery systems was the assumption that the effective drug treatment requires to maintain a stable therapeutic concentration of the drug in the place of destination for the duration of the treatment. Standard methods of administration of drugs do not meet these requirements, and therefore therapeutic potential of drugs are not fully utilized.

Currently, most drugs belong to organic compounds of low molecular weight. The main disadvantages of such therapeutic substances are: rapid metabolism and excretion from the body, a small selectivity of the therapeutic effect and unfavorable biodistribution. Therefore, during treatment the patient is administered with the drug at short intervals as it is quickly metabolised by enzymes and removed from the body. This procedure reduces the therapeutic effect of the drug and creates necessity for the use of large and frequent doses, thus involving a number of side effects. Too high concentration of the administered drug may be toxic but too low one may not produce a therapeutic effect. In order to improve the therapeutic effects of medicinal products the so-called drug delivery systems (DDS) are used and one way to achieve this is the use of drug carriers.

Technology of drug delivery systems, which uses clay minerals, is mainly based on the formation of the mineral carrier-drug particles conjugates obtained by intercalation of the drug substance in the interlayer spaces of the carrier [4,5]. The potential of clay minerals in this area mainly results from their ability to swell and ion exchange, which allows to introduce medicament into the interlayer spaces of clay, and from the fact that numerous interactions appears between the carrier and the drug, which is favorable for the drug release profile of the intercalated clay.

Among all the groups of clay minerals, especially reactive are smectites, and particularly montmorillonite (MMT), whose composition is described by the general formula $M_x(Al_{4-x}Mg_x)Si_8O_{20}(OH)_4$, wherein M is a monovalent cation, and x - the degree of isomorphous substitution ranged from 0.5 to 1.3. MMT is composed of 2:1 type packages, produced by one octahedral layer enclosed between two external tetrahedral layers, which possess a small negative charge compensated by the interlayer cations. The type of interlayer cations affects the interlaminar distance, the adsorption capacity, swelling and other properties of the mineral. As a result of the layered structure, the montmorillonite single crystals are in the form of tiles, where the thickness of the packet layer of montmorillonite equals 0.96 nm, but the basal spacing, which consists of the thickness of the packet layer and the interlayer distance can be up to twice higher, and the other dimensions can reach up to a few hundred of nanometers [6]. The ease of modifying the structure, the possibility of introducing of water and a variety of organic compounds into interlayers, provides a wide range of applicability of montmorillonite in drug delivery systems.

The success of clay minerals in the pharmaceutical applications is due their relatively common availability, as well as, and perhaps above all, the possibility of their widespread use, both as an excipient and the active substance. A wider concept of using of clay minerals in medicine and pharmacy is based on the possibility of their use in the safe and therapeutically effective drug delivery systems, for which a specific adaptation to the patient's needs is nowadays required. Research carried out for many years on a large scale have led to development of new strategies in the administration and the definition of specific functions of drug delivery systems. Most of these strategies involve a new concept of "excipient".

Prowadzone od wielu lat na szeroką skalę badania skutkują nowymi strategiami podawania leków oraz definiowaniu określonych funkcji w systemach dostarczania leków. Większość z tych strategii zakłada nową koncepcję „substancji pomocniczej”. Zgodnie z nią substancje pomocnicze (a wśród nich minerały ilaste) są nie tylko „składnikami obojętnymi” (inertnymi), ale mogą również być używane do osiągnięcia celów biofarmaceutycznych (podwyższona lub obniżona szybkość rozpuszczania, opóźnione lub ukierunkowane uwalnianie, poprawa dystrybucji), farmakologicznych (zapobieganie lub ograniczenie powstawania skutków ubocznych), technologicznych (maskowanie smaku) lub chemicznych (podwyższenie stabilności). Całokształt tych założeń zawarty został w technologii modyfikowanych systemów dostarczania leku (*MDDS – modified drug delivery system*), której główna koncepcja zakłada, iż formuła farmaceutyczna powinna zapewniać dostarczenie dawki leku do miejsca, w którym ma on działać i utrzymać jego stężenie w czasie leczenia na odpowiednim poziomie. Cele te mogą zostać osiągnięte poprzez modyfikację szybkości i/lub czasu i/lub miejsca uwalniania leku w porównaniu z formułą konwencjonalną leku. MDDS obejmują obecnie szeroką gamę technologii, włączając koncepcje „uwalniania opóźnionego”, „uwalniania wydłużonego w czasie”, „uwalniania z ukierunkowaniem celu” oraz „uwalniania z ukierunkowaniem receptora” [1-14].

Oddziaływanie minerałów ilastych ze związkami organicznymi

Spośród licznych mechanizmów badanych w kierunku opracowania preparatów o kontrolowanym uwalnianiu substancji leczniczych, znaczną uwagę skupia zjawisko wymiany jonowej. Wymiana jonowa jest procesem odwracalnym i zachodzi pomiędzy fazą stałą a ciekłą. Wymianie podlegają jony o podobnym ładunku, nie powodujące drastycznych zmian w strukturze i właściwościach fazy stałej [15].

Naturalnie występującymi wymiennikami kationowymi są minerały ilaste, a w szczególności montmorillonit, ze względu na wysoką pojemność wymiany jonowej (CEC – cation exchange capacity). W kontekście systemów dostarczania leków stwarza to możliwość wytworzenia koniugatów cząstka ilasta-lek na drodze wymiany jonowej, poprzez mieszanie surowca w roztworze leku. Penetracja przestrzeni międzywarstwowych minerałów ilastych przez cząsteczki organiczne, nazywana interkalacją, zachodzi w roztworze, zaś w środowisku wewnętrznym organizmu człowieka ponownie dochodzi do wymiany jonowej – lek w postaci kationu jest uwalniany, jego miejsce zajmują kationy powszechnie występujące w organizmie, wymiennicz natomiast ulega eliminacji (RYS. 1) [5].

Chemiczna natura oddziaływań minerałów ilastych z cząsteczkami organicznymi może być jednak różna, a zależy ona od rodzaju minerału oraz grup funkcyjnych obecnych w interkalowanym związku [16,17]. Wyróżnić można oddziaływania van der Waalsa, oddziaływania jonowe, wiązania wodorowe, a w niektórych przypadkach tworzą się nawet wiązania kowalencyjne. Najczęściej jednak łączenie cząsteczek leków z minerałami ilastymi może zachodzić na zasadzie interkalacji połączonej z występowaniem wiązań wodorowych, oddziaływań elektrostatycznych lub oddziaływań jon-dipol. Szczególną zdolność pod tym względem wykazują smektyty (montmorillonit, saponit), które charakteryzuje wyjątkowa zdolności do pęcznienia i bardzo wysoka pojemność wymiany kationów (CEC). Mechanizm wiązania leków w strukturze krzemianów zależy w dużej mierze od grup funkcyjnych występujących w cząsteczce leku (np. grupy aminowe lub hydroksylowe),

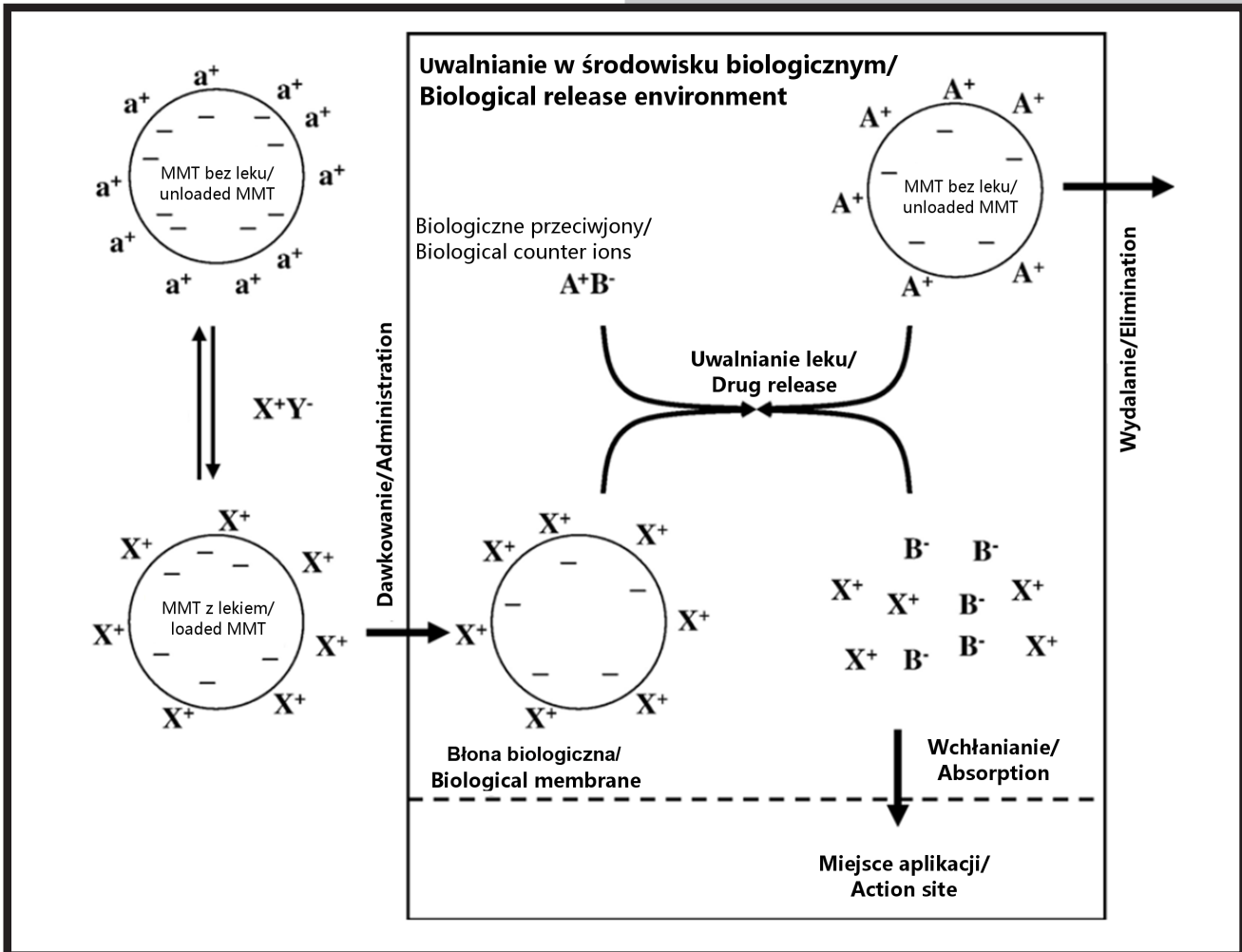
According to it, excipients (among them the clay minerals) are not only “inert ingredients”, but can also be used to achieve the biopharmaceuticals objectives (increased or decreased dissolution rate, delayed or targeted release, improvement of distribution), pharmacological objectives (preventing or reducing the formation of side-effects), technological objectives (taste-masking) or the chemical ones (increased stability). The whole of these assumptions was included in the technology of modified drug delivery systems (MDDS), whose main concept assumes that the pharmaceutical formula should ensure delivery of the dose to the target location and maintains drug concentration during treatment at the appropriate level. These objectives can be achieved by modifying the rate and/or time and/or place of drug release compared to the conventional formulation of the drug. MDDS now comprise a wide range of technologies, including the concepts of “delayed release”, “prolonged time release”, “targeted release” and “receptor-specific targeting release” [1-14].

The interaction of clay minerals with organic compounds

Among the numerous mechanisms tested for the development of controlled release formulations of therapeutic substances, considerable attention has been focused on ion exchange phenomenon. Ion exchange is a reversible process, and occurs between the solid and the liquid, during which ions of similar charge is exchanged without causing drastic changes in the structure and properties of solid phase [15].

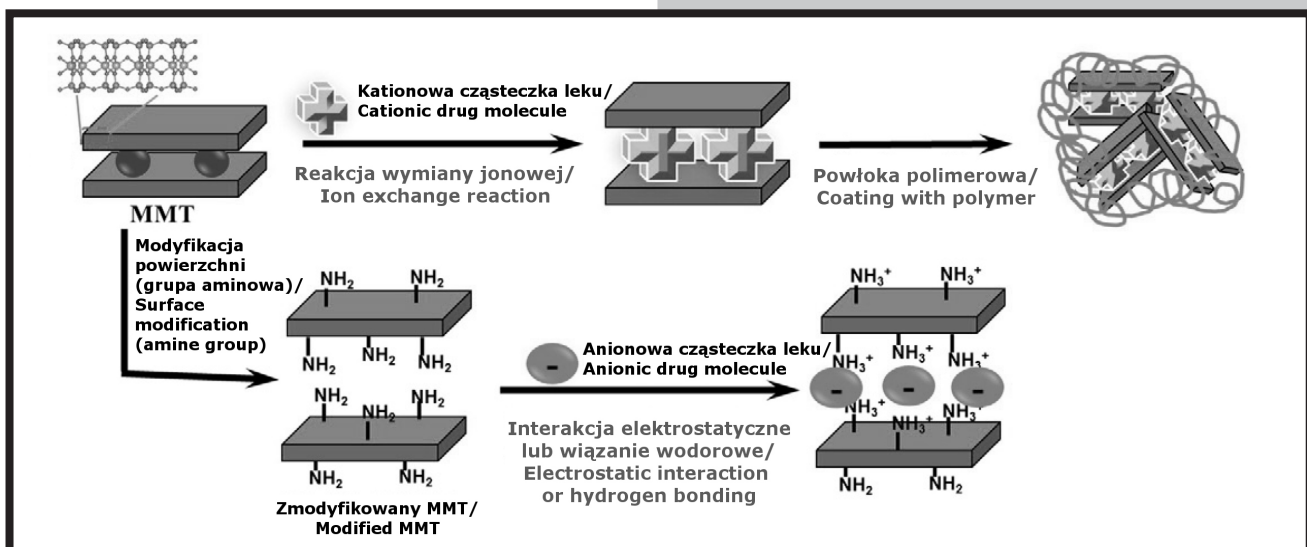
Clay minerals, particularly montmorillonite, are naturally occurring cationic exchangers, due to the high ion exchange capacity (CEC - cation exchange capacity). In the context of drug delivery systems it creates opportunities to produce by ion exchange the particle clay-drug conjugates during mixing process of clay substrate in a drug solution. Penetration of the interlayer of clay by organic molecules of a drug, called intercalation, takes place in a solution while in the human body the ion exchange occurs again, however the drug cations are released from clay and being replaced with cations commonly found in the body and the exchanger is eliminated (FIG. 1) [5].

The chemical nature of the interactions of clay minerals with organic molecules may however be different, and it depends on the type of mineral and the functional groups present in the compound intercalated [16,17]. Van der Waals interactions, ionic interactions, hydrogen bonds, and in some cases even the formation of covalent bonds can be distinguished. Most often, the drug molecules can be introduced to clay minerals by intercalation associated with the occurrence of hydrogen bonding, electrostatic interactions or ion-dipole interactions. The smectites (montmorillonite, saponite) have particular ability in this respect, and possess a unique ability to swell and very high cation exchange capacity (CEC). The incorporation of drugs in the structure of silicates depends largely on the functional groups present in the molecule of the drug (eg. amino or hydroxy groups), wherein the cationic drugs may attach to negatively charged surfaces of clay minerals but, in turn attachment of the anionic drugs requires corresponding modification of the surface of drug carrier (amino groups). Schematic mechanisms of intercalation of drugs in smectites are shown in FIG. 2 [5,18-20].



RYS. 1. Schemat tworzenia koniugatów cząstka ilasta-lek oraz mechanizmu uwalniania leku w warunkach in vivo (ujemny ładunek powierzchni cząstki ilastej (-), kationy wymienne (a^+), lek w postaci kationu (X^+), anion towarzyszący (Y^-), jony występujące w środowisku in vivo: kationy (A^+), aniony (B^-)) [5].

FIG. 1. Scheme of creation of the particle clay-drug conjugates and the mechanism of drug release in vivo (negative charge on the particle surface of the clay (-), exchangeable cations (a^+), drug in the form of cation (X^+), accompanying anion (Y^-), ions present in vivo: cations (A^+), anions (B^-)) [5].



RYS. 2. Schemat metody interkalacji leków w montmorillonit na potrzeby systemów kontrolowanego dostarczenia leków [20].

FIG. 2. A scheme of method for drug intercalation in montmorillonite for use in the controlled drug delivery systems [20].

TABELA 1. Przykłady leków oraz nośników na bazie minerałów ilastych, stosowanych w systemach kontrolowanego dostarczenia i uwalniania [20].

TABLE 1. Examples of drugs and the corresponding drug carriers based on clay minerals for use in the controlled delivery and release systems [20].

| Grupa leków Drug classification | Lek Drug | Nośnik leku Drug carrier |
|---|--|---|
| Antybiotyki Antibiotics | Oksytetracyklina/Oksytetracycline Tetracyklina/Tetracycline Metronidazol/Metronidazole Amoksylicyna/Amoxicilin Gentamycyna/Gentamicin Chlorheksydyna/Chlorhexidine acetate Cyprofloksacyna/Ciprofloxacin | MMT/chitozan/chitosan Laponit/Laponite, haloizyt/Halloysite MMT MMT Haloizyt/Halloysite MMT, kaolinit/kaolinite, Wermikulit/Vermiculite/PE Haloizyt/Halloysite |
| Leki przeciwnowotworowe Anticancer drugs | 5-fluorouracyl/5-fluorouracil Kardanol/Cardanol | MMT Haloizyt/Halloysite |
| Leki przeciwgrzybiczne Antifungal drugs | Intrakonazol/Itraconazole | MMT, laponit/laponite |
| Leki na nadciśnienie Antihypertensives | Propanolol/Propranolol hydrochloride Atenolol Hydralazyna/Hydralazine | MMT/PLGA MMT MMT |
| Leki przeciwzapalne i przeciwbólowe Anti-inflammatory or analgesic drugs | Naprosken/Naproxen Flurbiprofen Ibuprofen | MMT MMT MMT/chitozan/chitosan |
| Leki psychotropowe Psychotropic drugs | Aripiprazol/Aripiprazole Buspiron/Buspirone hydrochloride | MMT MMT |
| Leki na arytmie Anti-arrhythmic drugs | Lidokaina/Lidocaine hydrochloride | MMT |
| Antyoksydanty Anti-oxidants | Glutation/Glutathione Reesweratrol/Resveratrol | MMT Haloizyt/Halloysite |
| Inne Others | Donapenzil/Donapezil Amfetamina/Amphetamine | MMT MMT |

przy czym leki kationowe mogą przyłączać się do ujemnie naładowanych powierzchni minerałów ilastych, a z kolei przyłączenie leków anionowych wymaga wprowadzenia odpowiednich modyfikacji powierzchniowych nośnika (np. grupami aminowymi). Schemat mechanizmów interkalacji leków w smektytach przedstawia RYS. 2 [5, 18-20].

Ogromne znaczenie dla powstawania oddziaływań pomiędzy minerałami ilastymi a cząsteczkami organicznymi mają warunki prowadzenia procesu interkalacji, w szczególności wyjściowe stężenie leku w roztworze, siła jonowa roztworu, temperatura, pH, czas oraz szybkość mieszania [4, 5, 19].

Z uwagi na występowanie omówionych oddziaływań, a także zdolność pęcznienia w roztworach wodnych, minerały ilaste są wykorzystywane w systemach kontrolowanego uwalniania leków do wydłużania czasu uwalniania, miejscowego dostarczenia substancji terapeutycznych, czy nawet poprawy rozpuszczalności leków i zwiększania ich stabilności w określonych warunkach [5].

W TABELI 1 przedstawiono wybrane grupy leków oraz ich nośniki z grupy minerałów ilastych, które były dotychczas badane pod kątem wykorzystania w systemach kontrolowanego dostarczenia i uwalniania.

Rola montmorillonitu w systemach dostarczenia leków

Współczesna technologia farmaceutyczna dąży do osiągnięcia założonego efektu terapeutycznego przy jednoczesnej minimalizacji działań niepożądanych substancji leczniczej. Stąd też wiele ośrodków naukowych i badawczo-rozwojowych zajmuje się opracowaniem takich systemów terapeutycznych, które umożliwią dostarczenie leku w odpowiedniej dawce, w określone miejsce organizmu oraz jego kontrolowane uwalnianie w czasie terapii.

Of great importance for creation of interactions between the clay minerals and organic molecules are the conditions of intercalation process, in particular, the initial concentration of drug in the solution, ionic strength of the solution, temperature, pH, time and stirring speed [4, 5, 19].

Due to the described interactions and the ability to swell in aqueous solutions, clay minerals are used in systems of controlled drug release in order to prolong the release time, target delivery of therapeutic agents, or even to improve solubility of the of drugs and increasing their stability under certain conditions [5].

TABLE 1 shows the selected groups of drugs and their carriers from the group of clay minerals which have been investigated for the use in the systems of controlled delivery and release.

The role of montmorillonite in drug delivery systems

The modern pharmaceutical technology aims at achieving the desired therapeutic effect, while minimizing adverse side effects of the drug substance. Thus numerous scientific institutions, as well as research and development centers were involved in the development of such therapeutic systems which enable delivery of the drug at the right dose, the specific location of the body and controlled release during therapy. Intensive development of medical and pharmaceutical sciences, which has been observed in recent years is largely driven by the development of materials science in the field of materials for implantation, as well as advanced drug delivery systems. The work of materials engineers increasingly provide materials with excellent biocompatibility, fulfilling selectively developed and highly specialized functions associated with meeting the biomedical requirements.

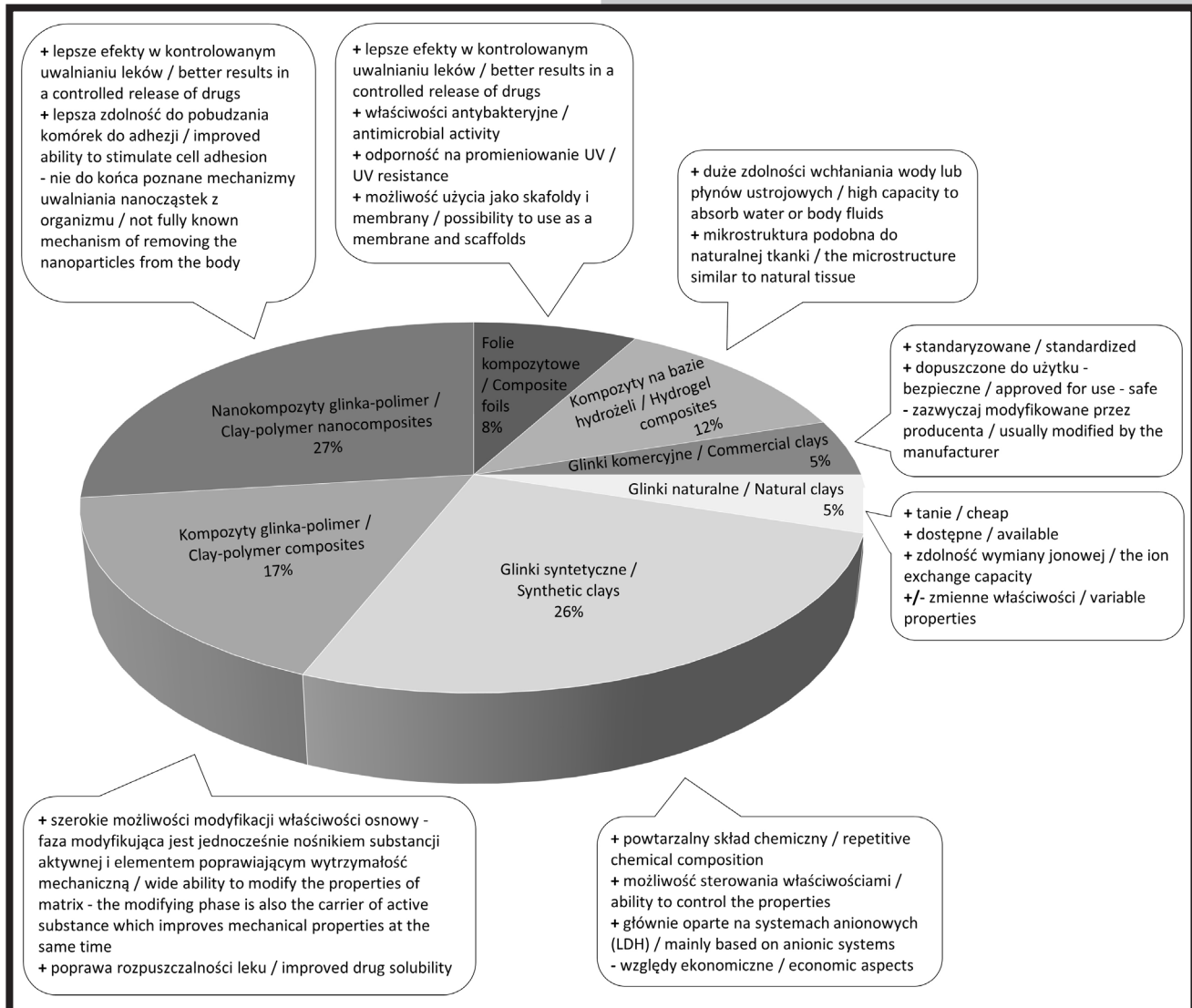
Intensywny rozwój nauk medycznych i farmaceutycznych obserwowany w ostatnich latach jest w znacznym stopniu stymulowany przez rozwój inżynierii materiałowej w dziedzinie materiałów implantacyjnych, jak również zaawansowanych systemów dostarczania leków. Efektem prac inżynierów materiałowych są coraz częściej materiały o bardzo dobrej biogodności, wypełniające selektywnie wypracowane i wysoko wyspecjalizowane funkcje związane ze spełnianiem wymogów biomedycznych. Dotyczy to materiałów implantacyjnych o sterowanej funkcjonalności związanej m.in. ze zdolnością do podejmowania kontrolowanej interakcji z otaczającymi tkankami, jak również materiałów na zaawansowane nośniki leków, będących w stanie precyzyjnie lokować czynne postacie leków w tkankach oraz uwalniać lek według zaprogramowanego scenariusza.

Czynnikami warunkującymi postęp w technologii podawania leków są przede wszystkim: dostępność biologiczna, większa wydajność, niższa toksyczność, kontrolowana dawka oraz bardziej celowe (lokowane) podawanie substancji czynnej. Ma to docelowo prowadzić do jak najpełniejszego zbliżenia nośnika leku do cech nośnika idealnego opisanego przez następujące cechy: maksymalną biogodność, minimalne właściwości antygenowe, dopasowania wielkości cząstki umożliwiające dotarcie leku do odpowiedniego miejsca w organizmie, możliwość przetransportowania leku do wybranych komórek i uwalnianie go w kontrolowany sposób.

This applies to implant materials of controlled functionalities, including the ability to make a controlled interaction with the surrounding tissues, as well as materials for advanced drug carriers, which are able to precisely locate the active forms of drug in the tissue and release the drug according to the programmed scenario.

Determinants of progress in drug delivery technologies are mainly: bioavailability, higher efficiency, lower toxicity, controlled dose and a more targeted administration of the active ingredient. This will eventually lead to the fullest possible approximation of the drug carrier to the characteristics of the perfect carrier described by the following set of features: maximum biocompatibility, minimal antigenic effect, matching the size of the particles to allow drug to reach the appropriate location in the body, the ability to transport the drug into the cells and release it in a controlled manner. Continuous development of new forms of controlled drug delivery is eventually driven by the need to maximize the therapeutic effect while minimizing adverse side effects.

Recently, clay minerals, and particularly montmorillonite, joined a group of inorganic drug carriers. Its potential is mainly based on the ability to interact with organic molecules by the surface adsorption and ion exchange reactions, what positively influence on the final character and properties of the drug, in particular improving solubility and modifying of release profile [5].



RYS. 3. Możliwości wykorzystania minerałów ilastych w systemach dostarczania leków [21].

FIG. 3. The possibilities of using clay minerals in drug delivery systems [21].

Ciągły rozwój nowych kontrolowanych form dostarczania leków jest stymulowany poprzez potrzebę zmaksymalizowania działania leczniczego przy minimalizacji negatywnych skutków ubocznych.

W ostatnim czasie do grupy nośników nieorganicznych dołączyły minerały ilaste, a szczególności montmorillonit. Ich potencjał leży głównie w zdolności oddziaływania z cząsteczkami organicznymi poprzez adsorpcję powierzchniową i reakcje wymiany jonowej, przez co wywierają pozytywny wpływ na końcową postać i właściwości leku, w szczególności poprawiając rozpuszczalność oraz modyfikując profil jego uwalniania [5].

Doniesienia literaturowe dotyczące zastosowania minerałów ilastych w systemach dostarczania leków wskazują, że minerały te dają szerokie możliwości zastosowania, jako samoistny materiał lub w połączeniu z polimerami w różnorodnych formach. Na etapie projektowania systemu kontrolowanego uwalniania konieczne jest jednak rozważenie korzyści i niedogodności oraz dopasowanie projektu do danych potrzeb. Wady i zalety tego typu rozwiązań opartych na minerałach ilastych przedstawiono na RYS. 3 [21].

Montmorillonit jest pozyskiwanym z naturalnych źródeł, łatwo dostępnym krzemianem warstwowym zaliczanym do minerałów ilastych. Obecność słabych wiązań pomiędzy pakietami decyduje o możliwości poddawania montmorillonitu różnorodnym modyfikacjom, wśród których wyróżnia się między innymi: adsorpcję, wymianę jonową, szczepienie związków organicznych, reakcje z kwasami, interkalację. Stwarza to duże możliwości wprowadzania pomiędzy warstwy minerału różnorodnych związków chemicznych, m.in. organicznych molekuł leków.

Montmorillonit nie tylko leczy określone schorzenia w stosowaniu miejscowym, ale może zostać użyty jako substancja pomocnicza lub nośnik w sterowanych systemach dostarczania leku. Zostaje wykorzystany wówczas nie tylko jako nośnik leku, ale wykazując działanie synergiczne jest w stanie łagodzić skutki uboczne podawanego leku, a nawet działać terapeutycznie [3]. Poprawa rozpuszczalności słabo rozpuszczalnych w wodzie leków jest jednym z ważniejszych wyzwań dla nowoczesnych technologii farmaceutycznych. Zastosowanie montmorillonitu w technologii farmaceutycznej stanowi jeden z obiecujących sposobów jednoczesnego wykorzystania możliwości rozpuszczenia leku oraz podwyższenia zdolności do długookresowego kontrolowanego uwalniania [22].

Z uwagi na znaczne rozwinięcie powierzchni montmorillonitu możliwe staje się interkalowanie leku w przestrzenie międzypakietowe. Przy zastosowaniu odpowiedniej procedury prowadzącej do powstania zmian strukturalnych w obrębie cząsteczki montmorillonitu, przestrzeń międzypakietowa może zostać zwiększona w sposób zasadniczy, powiększając objętość dostępną dla substancji czynnej. Substancje warunkujące powstanie zmian strukturalnych zwane są najczęściej aktywatorami lub substancjami modyfikującymi, jednak kluczowe staje się także dobranie aktywatora, aby sam nie zajmował przestrzeni mającej stanowić rezerwuuar uwalnianej postaci leku. W tym kontekście, celowe staje się także prowadzenie procesu aktywacji, aby aktywator stanowił jednocześnie rozpuszczalnik leku. W przypadku montmorillonitu stwierdzono zdolność do skutecznego zwiększania szybkości rozpuszczania *in vitro* niektórych leków trudno rozpuszczalnych. Uwalnianie leku ze smektytu jest promowane przez słabe wiązanie pomiędzy pakietami glinokrzemianu, co jednocześnie zwiększa zwilżalność leku ze względu na właściwości hydrofilowe nośnika. Wpływa to bezpośrednio na poprawę farmakodynamiki, farmakokinetyki oraz redukcję toksyczności podanego leku.

Literature findings on the use of clay minerals in the drug delivery systems indicate that these minerals offer a great potential for use as an inherent material or in combination with polymers in various configurations. It is necessary, however, to consider the advantages and disadvantages of the controlled release system to meet requirements for a given application. The advantages and disadvantages of this type of solutions based on clay minerals are shown in FIG. 3 [21].

Montmorillonite is a layered silicate classified as clay mineral harvested from natural sources and easily accessible. The presence of the weak bonds between its package determines the ability of montmorillonite to undergo various modifications, including adsorption, ion-exchange, grafting of organic compounds, reaction with acids, intercalation, etc. This creates a tremendous opportunity to introduce a variety of chemicals between layers of clay, including organic molecules of drugs.

Montmorillonite, not only treats specified diseases in a local administration, but can be used as an excipient or carrier in controlled drug delivery systems. It is then used not only as a drug carrier, but showing a synergistic effect can mitigate the side effects of administered drug, and even to act therapeutically [3]. Improving the solubility of poorly soluble drugs is one of the major challenges of modern pharmaceutical technology and the use of montmorillonite in pharmaceutical technology is one of the most promising ways to exploit the co-drug dissolution and increase the ability to the long-term controlled release [22].

Due to the large surface area of the montmorillonite it is possible to intercalate drug in the interlayer spaces. Using the appropriate procedures, leading to the formation of structural changes within the particles of montmorillonite, interlayer space can be increased substantially, increasing the volume available for the active substance. Substances conditioning the formation of structural changes are called most frequently activators or modifying substances, but the key is the selection of an activator that itself does not occupy space intended to serve as reservoir for the released form of the drug. In this context, it is expedient to carry out an activation process, using the activator which is the solvent of a drug at the same time. In the case of montmorillonite it has been found the ability to effectively increase the dissolution rate *in vitro* of some poorly soluble drugs. The release of drug from the smectite is promoted by a weak bond between packages of aluminosilicate which at the same time increases the wettability of the drug due to the hydrophilic properties of the carrier. This directly affects the improvement of pharmacodynamics, pharmacokinetics and the reduction of toxicity of a given drug. In addition, the controlled location and release of a drug reduces significantly side effects in the body and the harmful effect of pharmacotherapy in the absence of therapeutic benefits intended for the patient. This is due to the fact that the use of conventional drugs may cause fluctuations in which the concentration of drug in the body can reach a level lower than the minimum effective dose (minimum effective concentration MEC) or higher than the minimum toxic concentration (minimum toxic concentration MTC) [23-25]. Most recent research on the potential use of the montmorillonite drug carrier have been focused either on direct intercalation of commercially available montmorillonite powders or on the use of two-stage process, wherein the drug intercalation was preceded by modification aimed at increase in the interlayer spacing of silicate packets in the first step. In all cases, the materials based on montmorillonite have fulfilled a number of chemical (stability and purity), physical (microstructure, particle size) and toxicological requirements (toxicity and microbiological purity).

Ponadto, sterowane lokowanie i uwalnianie leku wpływa na zdecydowane ograniczenie skutków ubocznych na organizm oraz ograniczenie szkodliwości farmakoterapii w przypadku braku korzyści terapeutycznych przeznaczonych dla pacjenta. Jest to związane z faktem, iż stosowanie konwencjonalnych leków może prowadzić do wahań, w których stężenie leku w organizmie może osiągnąć poziom niższy niż minimalna skuteczna dawka (ang. minimum effective concentration MEC) lub wyższy niż minimalne stężenie toksyczne (ang. minimum toxic concentration MTC) [23-25]. Aktualne badania dotyczące potencjalnego wykorzystania montmorillonitu na nośniki leków koncentrują się bądź na bezpośredniej interkalacji komercyjnie dostępnych proszków montmorillonitowych lub na wykorzystaniu procesu dwustopniowego, w którym interkalacja lekiem jest poprzedzona modyfikacją mającą na celu rozsuniecie pakietów krzemianu w pierwszym etapie. We wszystkich przypadkach materiały na bazie montmorillonitu spełniały szereg wymagań chemicznych (stabilność i czystość), fizycznych (mikrostruktura, wielkość cząstek) oraz toksykologicznych (nietoksyczność i czystość mikrobiologiczna).

Szczególnie wiele uwagi poświęca się wpływowi minerałów ilastych na rozpuszczalność leku, na przykład, kompleksowanie indometacyny (lek przeciwbólowy) ze smektytem zwiększa szybkość przenikania leku przez skórę oraz stabilność leku, jak m.in. jego rozpuszczalność w wodzie [26,27]. Potwierdzono także, że interkalacja 5-fluorouracylu w montmorillonit zmniejsza skutki uboczne leku przez jego powolne uwalnianie z nośnika [28]. Wiele badań dotyczy również otrzymywania hybryd montmorillonit-lek do zastosowań w modyfikowanych systemach dostarczania leków. Zostały już szczegółowo opisane próby interkalacji montmorillonitu niesterydowymi lekami przeciwzapalnymi: ibuprofenem [29], naproksenem [30], diklofenakiem [31], a także donapenzilem, znanym lekiem na chorobę Alzheimera [32]. W każdym z badanych przypadków kinetyka uwalniania leku była zależna od sposobu wytwarzania produktów interkalacji oraz od zmian pH medium rozpuszczającego.

Krótki okres biologicznego półtrwania ibuprofenu, a także częste efekty uboczne, motywują do opracowania systemu dla jego kontrolowanego uwalniania. Badania uwalniania leku z koniugatów montmorillonit-ibuprofen, w warunkach *in vitro* wykazały korzystniejszą kinetykę uwalniania w pH 7.4, odpowiadającym warunkom panującym w jelitach, niż w pH 1.2 (pH treści żołądkowej), co przemawia za zastosowaniem montmorillonitu w systemach przedłużonego uwalniania ibuprofenu.

Szybki metabolizm skutkujący krótkim okresem półtrwania dotyczy także wielu innych leków, na przykład tramadolu – opioidowego leku przeciwbólowego [33]. Dla utrzymania terapeutycznego stężenia we krwi należy przyjmować go co najmniej 5 razy dziennie. Jest to szczególnie niekorzystne z uwagi na fakt, że szybko następuje wzrost tolerancji farmakologicznej na działanie tramadolu, dojść może także do uzależnienia. Charakterystyka fizykochemiczna nośników oraz badania uwalniania w warunkach *in vitro* potwierdziły potencjał montmorillonitu do kontrolowanego uwalniania tramadolu, które w pewnym stopniu niwelowałoby wspomniane skutki uboczne.

Wykonano także próby wykorzystania montmorillonitu jako nośnika tymololu – nieselektywnego leku blokującego receptory β -adrenergiczne [34]. Tymolol został z powodzeniem wprowadzony pomiędzy pakiety montmorillonitu. Stwierdzono, że uwalnianie leku nie następuje w 100%, jako że reakcje wymiany jonowej należą do procesów równowagowych i kationy międzywarstwowe nigdy nie podlegają całkowitej wymianie. Badano także, z powodzeniem, możliwości interkalacji w przestrzeni międzypakietowej innych leków z grupy β -blokerów – propranololu i karwedilolu [35,36].

Special attention was devoted to the influence of clay minerals on the solubility of medicines e.g. complexing of indomethacin (analgesic) with the smectite increased the rate of penetration of the skin and the stability of the drug as well as among others its solubility in water [26,27]. It was also confirmed that the intercalation of montmorillonite with 5-fluorouracil reduced the side effects of the drug by slowing its release from the carrier [28]. Many studies have focused also on the preparation of drug-montmorillonite hybrids for use in the modified drug delivery systems. The attempts to intercalation of montmorillonite with nonsteroidal anti-inflammatory drugs: ibuprofen [29], naproxen [30], diclofenac [31], as well as donapenzil, known as a cure for Alzheimer's disease [32], have already been described in detail. In each of the cases, the release kinetics of the drug was dependent on the method for production of intercalated carriers and changes in pH of the dissolution medium.

A short biological half-life of ibuprofen, as well as the common side effects motivated to develop a system for its controlled release. Drug release studies of the montmorillonite-ibuprofen conjugates *in vitro* showed favorable release kinetics at the pH 7.4 (conditions in the intestine), than at pH 1.2 (the pH of gastric contents), which substantiates the use of montmorillonite in the systems of sustained release of ibuprofen.

Fast metabolism resulting in a short half-life also relates to a number of other drugs, such as tramadol - opioid analgesics [33]. The drug must be taken for at least 5 times per day to maintain therapeutic levels in the blood. This is particularly disadvantageous in view of the fact that pharmacological tolerance to tramadol increases rapidly what may also cause addiction. Physico-chemical characteristics and *in vitro* dissolution studies of montmorillonite-based carriers confirmed the potential for controlled release of tramadol, which in a certain degree would diminish the side effects.

There have been also made attempts to use the montmorillonite as a carrier of timolol - a medicine for the non-selective blocking of β -adrenergic receptors [34]. Timolol has been successfully introduced between packages of montmorillonite and it was found that the drug release does not occur in 100%, as the reactions of ion exchange are equilibrium processes and the interlamellar cations can never be totally replaced. The possibility of intercalation of other drugs from the group of β -blockers - propranolol and carvedilol into the interlayer spaces of montmorillonite was also tested with success [35,36].

Literature also reports the preparation of montmorillonite-drug conjugates to obtain the carriers with controlled release of venlafaxine [37] and nicotine [38]. An evaluation of the obtained conjugate carriers was done and physicochemical studies on the intercalation of the drug release kinetics was carried out, which in each case was dependent on the intercalation conditions, especially pH. The results of those studies on the use of montmorillonite as a carrier for venlafaxine provide an opportunity for reducing the frequency of admission of the drug from four to two times per day.

Another group of drugs, often used for intercalation are antibiotics [39-43] and the antibacterial studies on the obtained montmorillonite-antibiotic conjugates demonstrated that the intercalated drugs after contact with mineral retain their antibacterial properties. The publication [44] on the intercalation of metronidazole also described the study on drug release, in which for the determination of released drug a high performance liquid chromatography was used. Both the registered chromatogram and the retention time were typical of metronidazole, which means that the interaction of the drug with the montmorillonite does not induce any change in the chemical nature of the drug.

Literatura donosi także o przygotowaniu koniugatów montmorillonit-lek celem kontrolowanego uwalniania wena-faksyny [37] czy nikotyny [38]. Badania otrzymanych koniugatów obejmowały ocenę fizykochemiczną nośników oraz badania nad kinetyką uwalniania zainterkalowanego leku, która w każdym przypadku zależna była od warunków procesu interkalacji, w szczególności od pH. Wyniki badań nad zastosowaniem montmorillonitu jako nośnika wena-faksyny stwarzają szansę na redukcję częstotliwości jej przyjmowania z czterech do dwóch razy dziennie.

Grupą leków często używanych do interkalacji są antybiotyki [39-43], a badania antybakteryjne otrzymanych koniugatów montmorillonit-antybiotyk wykazują, że interkalowane leki, po kontakcie z minerałem zachowują swoje właściwości bakteriobójcze. W publikacji [44] dotyczącej interkalacji metronidazolu opisano także badania nad uwalnianiem leku, w których do oznaczania uwolnionego leku wykorzystano wysokosprawną chromatografię cieczową. Zarówno zarejestrowany chromatogram, jak i czas retencji, były typowe dla metronidazolu, co oznacza, że oddziaływanie leku z montmorillonitem nie indukuje żadnych zmian w chemicznej naturze leku.

W zakresie systemów opartych na minerałach ilastych prowadzi się badania nie tylko nad interkalacją leków, ale także witamin. Przykładowo, badano witaminę B₁, która ma istotny wpływ na metabolizm energetyczny komórki i jak wszystkie witaminy, nie jest ona syntetyzowana w organizmie, musi więc być dostarczona z zewnątrz. Badania wykazały, że zarówno montmorillonit pochodzenia naturalnego, jak i syntetycznego może być nośnikiem witaminy B₁ [45-47].

Podsumowanie

Technologie kontrolowanego dostarczania leków stanowią jedną z najszybciej rozwijających się dziedzin nauki. Na obecnym poziomie rozwoju medycyny i farmacji szczególny nacisk kładzie się nie tylko na skuteczność prowadzonej farmakoterapii, ale też na minimalizowanie skutków ubocznych działania leków, zarówno tych podawanych doustnie, dożylnie, ale także domięscowo w formie implantów lub w ich obecności.

Przy wykorzystaniu minerałów ilastych jako substancji pomocniczych w formułach farmaceutycznych, należy wziąć pod uwagę ich interakcje z innymi surowcami farmaceutycznymi, a w szczególności także ich wpływ na końcową postać leku i szybkość jego uwalniania. W tych właśnie zależnościach, stosunkowo niedawno dostrzeżono szansę na wykorzystanie minerałów ilastych w systemach kontrolowanego dostarczania leków. Obecnie jest to jeden z najbardziej obiecujących i najszerzej badanych obszarów wykorzystania minerałów ilastych.

Badania interkalacji leku w strukturze niemodyfikowanego i modyfikowanego montmorillonitu oraz wywołany przez nie wpływ na sposób i szybkość uwalniania leku jest istotnym tematem z punktu widzenia komfortu leczenia pacjenta i możliwości podawania leku w konkretne miejsce organizmu i w ilości zapewniającej długotrwałe i celowe leczenie oraz jego zoptymalizowane koszty. Rosnące zainteresowanie naukowców, lekarzy oraz firm farmaceutycznych nowymi rozwiązaniami materiałowymi na potrzeby MDDS stwarza duże możliwości wykorzystania unikatowych cech minerałów ilastych.

Podziękowania

Praca została wykonana w ramach środków finansowych przeznaczonych na działalność statutową Akademii Górniczo-Hutniczej Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki (11.11.160.617).

Not only drugs, but also vitamins were investigated in the context of intercalation in the clay minerals-based systems. Exemplary research was done among others on the intercalation of Vitamin B₁, which has a significant impact on the energy metabolism of the cell, and as all the vitamins is not synthesized by the body and must be therefore supplied from outside. The results have shown that both natural and synthetic montmorillonite confirmed its capability to be the carrier for vitamin B₁ [45-47].

Summary

Controlled drug delivery technologies represent one of the fastest growing areas of science. At the current level of development in medicine and pharmacy, special emphasis is placed not only on the effectiveness of drug therapy, but also on minimization of the side effects of drugs, administered either orally, intravenously, and topically in the form of implants or in their presence.

The use of clay minerals as excipients in pharmaceutical formulations, must take into account their interactions with other pharmaceutical materials, and in particular their impact on the final form of the drug and its release rate. In the light of these interactions, the possibilities for use of clay minerals in controlled drug delivery systems have been recognized relatively recently. Today, it is one of the most promising and most widely studied areas for application of clay minerals.

Research on the intercalation of the drug in the structure of unmodified and modified montmorillonite and the impact on the manner and rate of drug release has become an important subject from the perspective of comfort of the patient's treatment and the possibility of administering the drug in a specific place of the body and in an amount that provides long lasting and targeted treatment and its optimized costs. The growing interest of scientists, medical doctors and pharmaceutical companies with new material solutions for the MDDS eventually has provided greater opportunities to make use of the unique features of clay minerals.

Acknowledgements

This study was performed within the framework of funding for statutory activities of AGH University of Science and Technology in Krakow, Faculty of Materials Science and Ceramics (11.11.160.617).

- [1] Carretero M.I.: Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. *Applied Clay Science* 21 (2002) 155-163.
- [2] Carretero M.I., Gomes C.S.F., Tateo F.: Clay and human health. *Handbook of Clay Science*, Elsevier 2006.
- [3] Carretero M.I., Pozo M.: Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical industry part I. Excipients and medical applications. *Applied Clay Science* 46 (2009) 73-80.
- [4] Lagaly G., Ogawa M., Dekany I.: Clay mineral-organic interactions. *Handbook of Clay Science*, Elsevier 2006.
- [5] Aguzzi C., Cerezo P., Viseras C., Caramella C.: Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations. *Applied Clay Science* 36 (2007) 22-36.
- [6] Wu L., Liao L., Lv G.: Influence of interlayer cations on organic intercalation of montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science* 454 (2015) 1-7.
- [7] Carretero M.I., Lagaly G.: Clays and health. An introduction. *Applied Clay Science* 36 (2007) 1-3.
- [8] Hadoń T.: Layer silicates as carriers of some active pharmaceutical substances. *Mineralogia Polonica* 19, 2 (1988) 111-115.
- [9] Viseras C., Lopez-Galindo A.: Pharmaceutical applications of some Spanish clays (sepiolite, palygorskite, bentonite): some preformulation studies. *Applied Clay Science* 14 (1999) 69-82.
- [10] Lagaly G., Reese M., Abend S.: Smectites as colloidal stabilizers of emulsions I. Preparation and properties of emulsions with smectites and nonionic surfactants. *Applied Clay Science* 14 (1999) 83-103.
- [11] López-Galindo A., Viseras C.: Pharmaceutical and cosmetic applications of clays. In *Clay Surfaces: fundamentals and applications*. Elsevier, Amsterdam 2004.
- [12] Viseras C., Aguzzi A., Cezaro P., López-Galindo A.: Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products. *Applied Clay Science* 36 (2007) 37-50.
- [13] Murray H.H.: Traditional and new applications for kaolin, smectite, and palygorskite: a general overview. *Applied Clay Science* 17 (2000) 207-221.
- [14] Konta J.: Clay and man: Clay raw materials in the service of man. *Applied Clay Science* 10 (1995) 275-335.
- [15] Anand V., Kandrapu R., Garg S.: Ion-exchange resins: carrying drug delivery forward. *Drug Discovery Today* 6, 17 (2001) 905-914.
- [16] Browne J.E., Feldkamp J.R., White J.L., Hem S.L.: Characterization and adsorptive properties of pharmaceutical grade clays. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 69, 7 (1980) 816-823.
- [17] Legaly G.: Pesticide-clay interactions and formulations. *Applied Clay Science* 18 (2001) 205-209.
- [18] Kevadiya B.D., Bajaj H.C.: The layered silicate, montmorillonite (MMT) as a drug delivery carrier, *Key Engineering Materials* 571 (2013) 111-132.
- [19] Plaizier-Vercammen J.A.: Investigation of the bioavailability of codeine from a cation ion-exchange sulfonic acid: effect of parameters. *International Journal of Pharmaceutics* 85 (1992) 45-50.
- [20] Yang J.-H., Lee J.-H., Ryu H.-J., Elzatahry A.A., Alothman Z.A., Choy J.-H.: Drug-clay nanohybrids as sustained delivery systems. *Applied Clay Science* 130 (2016) 20-32.
- [21] de Sousa Rodrigues L.A., Figueiras A., Veiga F., de Freitas R.M., Nunes L.C.C., da Silva Filho E.C., da Silva Leite C.M.: The systems containing clays and clay minerals from modified drug release: A review. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 103 (2013) 642-651.
- [22] Gibaldi M., Desai A., Lee M.: Pharmacokinetic considerations for drug delivery. *Gibaldi's Drug Delivery Systems in Pharmaceutical Care*. American Society of Health-System Pharmacists 2007.
- [23] Ding X., Alani A.W.G., Robinson J.R.: Extended-release and targeted drug delivery systems. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott Williams & Wilkins 2006.
- [24] Arcos D., Vallet-Regi M.: Bioceramics for drug delivery. *Acta Materialia* 61 (2013) 890-911.
- [25] Viseras C., Cerezo P., Sanchez R., Salcedo I., Aguzzi C.: Current challenges in clay minerals for drug delivery. *Applied Clay Science* 48 (2010) 291-295.
- [26] Rao T., Vidhyadhara S.: Formulation and in vitro evaluation of indomethacin microcapsules. *Sadguru Publications Udaipur* 10 (2012) 1-8.
- [27] Dupeyrón D., Kawakami M., Ferreira A., Cáceras-Vélez P., Rieumont J., Azevedo R., Carvalho J.: Design of indomethacin-loaded nanoparticles: effect of polymer matrix and surfactant. *International Journal of Nanomedicine* 8 (2013) 3467-3477.
- [28] Lin F., Lee Y., Jian J., Wong J., Shieh M., Wang C.: A study of purified montmorillonite intercalated with 5-fluorouracil as drug carrier. *Biomaterials* 23 (2002) 1981-1987.
- [29] Zheng J.P., Luan L., Wang H.Y., Xi L.F., Yao K.D.: Study on ibuprofen/montmorillonite intercalation composites as drug release system. *Applied Clay Science* 36 (2007) 297-301.
- [30] Tabak A., Yilmaz N., Eren E., Caglar B., Afsin B., Sarihan A.: Structural analysis of naproxen-intercalated bentonite (Unye). *Chemical Engineering Journal* 174 (2011) 281-288.
- [31] Kaur M., Datta M.: Diclofenac sodium adsorption onto montmorillonite: adsorption equilibrium studies and drug release kinetics. *Adsorption Science & Technology* 32, 5 (2014) 365-388.
- [32] Park J.K., Bin Choy Y., Oh J.M., Kim J.Y., Hwang S., Choy J.H.: Controlled release of donapenzil intercalated in smectite clays. *International Journal of Pharmaceutics* 359 (2008) 198-204.
- [33] Chen Y., Zhou A., Liu B., Liang J.: Tramadol hydrochloride/montmorillonite composite: preparation and controlled drug release. *Applied Clay Science* 49 (2010) 108-112.
- [34] Joshi G.V., Kevadiya B.D., Patel H.A., Bajaj H.C., Jasra R.V.: Montmorillonite as a drug delivery system: Intercalation and in vitro release of timolol maleate. *International Journal of Pharmaceutics* 374 (2009) 53-57.
- [35] Datta M.: Organoclay Pluronic F68 – Montmorillonite, as a sustained release drug delivery vehicle for propranolol hydrochloride. *European Chemical Bulletin* 3, 6 (2014) 593-604.
- [36] Lakshmi M.S., Sriranjani M., Bakrudeen H.B., Kannan A.S., Mandal A.B., Reddy B.S.R.: Carvedilol/montmorillonite: processing, characterization and release studies. *Applied Clay Science* 48 (2010) 589-593.
- [37] Jain S., Datta M.: Naturally occurring clay, montmorillonite, as a drug delivery vehicle for in vitro extended release of venlafaxine hydrochloride. *European Chemical Bulletin* 3, 7 (2014) 672-681.
- [38] Pongjanyakul T., Khunawattanakul W., Puttipatkhachom S.: Physicochemical characterizations and release studies of nicotine-magnesium aluminum silicate complexes. *Applied Clay Science* 44 (2009) 242-250.
- [39] Parolo M.E., Savini M.C., Valles J.M., Baschini M.T., Avena M.J.: Tetracycline adsorption on montmorillonite: pH and ionic strength effects. *Applied Clay Science* 40 (2008) 179-186.
- [40] Meng N., Zhou N.L., Zhang S.Q., Shen J.: Controlled release and antibacterial activity chlorhexidine acetate (CA) intercalated in montmorillonite. *International Journal of Pharmaceutics* 382 (2009) 45-49.
- [41] Parolo M.E., Avena M.J., Pettinari G., Zajonkovsky I., Valles J.M., Baschini M.T.: Antimicrobial properties of tetracycline and minocycline-montmorillonites. *Applied Clay Science* 49 (2010) 194-199.
- [42] Saha K., Butola B.S., Joshi M.: Synthesis and characterization of chlorhexidine acetate drug-montmorillonite intercalates for antibacterial applications. *Applied Clay Science* 101 (2014) 477-483.
- [43] Rapacz-Kmita A., Stodolak-Zych E., Ziąbka M., Różycka A., Dudek M.: Instrumental characterization of the smectite clay-gentamicin hybrids. *Bulletin of Materials Science* 38, 4 (2015) 1069-1078.
- [44] Calabrese I., Cavallaro G., Scialabba C., Licciardi M., Merli M., Sciascia L., Turco Liveri M.L.: Montmorillonite nanodevices for the colon metronidazole delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 457 (2013) 224-236.
- [45] Joshi G.V., Patel H.A., Kevadiya B.D., Bajaj H.C.: Montmorillonite intercalated with vitamin B1 as drug carrier. *Applied Clay Science* 45 (2009) 248-253.
- [46] Ghebaour A., Garea S.A., Iovu H.: The influence of inorganic host type in the drug-layered silicate biosystems. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science* 73, 3 (2011) 169-176.
- [47] Golubeva O.Y., Pavlova S.V., Yakovlev A.V.: Adsorption and in vitro release of vitamin B1 by synthetic nanoclays with montmorillonite structure. *Applied Clay Science* 112-113 (2015) 10-16.

PRZEMIANA FAZOWA ROZTWORÓW CHLORKU CHITOZANU JAKO POTENCJALNEGO MATERIAŁU DO ZASTOSOWAŃ W INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ

PIOTR OWCZARZ, PATRYK ZIÓLKOWSKI*, ZOFIA MODRZEJEWSKA,
MAREK DZIUBIŃSKI

WYDZIAŁ INŻYNIERII PROCESOWEJ I OCHRONY ŚRODOWISKA,
POLITECHNIKA ŁÓDZKA, UL. WÓLCZAŃSKA 213, 90-924 ŁÓDŹ

* E-MAIL: PATRYK.ZIOLKOWSKI@DOKT.P.LODZ.PL

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań reologicznych roztworów chlorku chitozanu formujących żele pod wpływem wzrostu temperatury. Miały one na celu wyznaczenie podstawowych parametrów określających przemianę fazową: temperaturę żelowania oraz energię potrzebną do przeprowadzenia tej przemiany. Prace te są istotne z uwagi na możliwość zastosowania takich układów jako szkieletów do hodowli komórkowej bądź nośników leków umożliwiających ich wprowadzanie do tkanki zmienionej chorobowo drogą iniekcji. Badania wykonano dla chitozanów o różnym pochodzeniu: crab, shrimp i różnej masie cząsteczkowej. Dla każdego z chitozanów przeprowadzono badania roztworów chlorku chitozanu bez oraz z dodatkiem disodowej soli β -glicerofosforanu (β -NaGP). Punkt przemiany fazowej wyznaczano za pomocą pomiarów zmian właściwości reologicznych prowadzonych w układzie stożek-płytki reometru rotacyjnego. Ponadto wyznaczono zmiany wartości pH roztworów oraz zmianę modułów: zachowawczego G' i stratności G'' w funkcji przyrostu temperatury. Na podstawie wyników pomiarów stwierdzono istotny wpływ pH na temperaturę punktu żelowania. Przeprowadzone pomiary reologiczne pozwoliły wyznaczyć trzy charakterystyczne obszary procesu żelowania: (1) obszar cieczy lepkosprężystej, (2) obszar szybkiego żelowania, (3) obszar wolnego procesu żelowania oraz określić, w oparciu o model kinetyki krystalizacji polimeru, energię aktywacji dla obszarów 2 i 3.

Słowa kluczowe: chitozan, hydrożel, punkt żelowania, przemiana fazowa żol-żel, energia aktywacji

[Inżynieria Biomateriałów 139 (2017) 18-25]

Wprowadzenie

Chitozan jest półkrystalicznym amino-polisacharydem otrzymanym przez deacetylację chityny. Zainteresowanie tym polimerem jest duże a perspektywy stosowania są na tyle rozległe, że chitozan został nazwany polimerem XXI wieku [1,2]. Budowa strukturalna chitozanu jest zbliżona do budowy celulozy. Różnica występuje w pierścieniu piranowym przy drugim atomie węgla, gdzie w miejscu grupy wodorotlenowej występuje grupa $-NH_2$. Ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne chitozan znajduje szerokie zastosowanie w procesach oczyszczania ścieków (właściwości chelatujące), przemyśle spożywczym oraz biomedycynie – w procesach tworzenia inteligentnych nośników leków [3,4].

PHASE TRANSITION OF CHITOSAN CHLORIDE SOLUTIONS AS POTENTIAL MATERIAL FOR APPLICATION IN BIOMEDICAL ENGINEERING

PIOTR OWCZARZ, PATRYK ZIÓLKOWSKI*, ZOFIA MODRZEJEWSKA,
MAREK DZIUBIŃSKI

FACULTY OF PROCESS AND ENVIRONMENTAL ENGINEERING,
ŁÓDŹ UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
213 WÓLCZAŃSKA ST., 90-924 ŁÓDŹ, POLAND

* E-MAIL: PATRYK.ZIOLKOWSKI@DOKT.P.LODZ.PL

Abstract

The paper presents the results of rheological study on chitosan chloride solutions, forming gels under the influence of increased temperature. Its aim was to establish the basic parameters specifying phase transition: gelation temperature and the energy needed for conducting this transition. This study is significant due to the possibility of applying such systems as scaffolds for tissue engineering or drug delivery systems. The research was conducted for chitosans of various origin: crab, shrimp and of various molecular weights. For each chitosan, research was conducted in two variations of the solutions of chitosan chloride, with or without the addition of β -Glycerophosphate disodium salt (β -NaGP). The phase transition point was estimated by measurements of rheological properties, conducted in a cone-plate system of a rotational rheometer. Moreover, the pH value of the solutions and the evolution of storage modulus G' and loss modulus G'' in the function of temperature increase were determined. Based on the measurements results a significant impact of pH on the gelation point temperature was observed. The conducted rheological measurements allowed to estimate three characteristic regions of the gelation process: (1) area of viscoelastic liquid, (2) area of fast gelation, (3) area of a slow gelation process. Based on the kinetics model of polymer crystallization, the activation energy for regions 2 and 3 was determined.

Keywords: chitosan, hydrogel, gelation point, sol-gel phase transition, activation energy

[Engineering of Biomaterials 139 (2017) 18-25]

Introduction

Chitosan is a semi-crystalline amino-polysaccharide obtained through deacetylation of chitin. Interest in this polymer is large, and the perspectives of use so vast that chitosan has been called a polymer of the 21st century [1,2]. The structure of chitosan is close to the structure of cellulose. The difference occurs in the pyranose ring, at the second carbon atom, where hydroxyl group is replaced by an amine $-NH_2$. Due to its physicochemical properties, chitosan has a variety of applications in sewage treatment processes (chelating properties), food industry and biomedicine – in processes of creating smart drug delivery systems [3,4].

Szerokie zastosowanie chitozanu wynika, obok unikalnych własności fizyko-chemicznych, również z łatwości przeprowadzenia go w formy użyteczne takie jak proszki, mikrogranulki, żele, gąbki lub membrany.

Chitozan rozpuszcza się w niskostężonych roztworach kwasów organicznych i nieorganicznych, w których tworzy sole z jonami rozpuszczalnika. W środowisku kwaśnym jon H^+ zostaje przyłączony do grupy $-NH_2$ drugiego atomu węgla w pierścieniu piranozowym [5,6]. Właściwości chitozanu ulegają zmianie z hydrofobowych na hydrofilowe i tworzy się układ koloidalny, w którym łańcuchy polimeru pozostają zdyspergowane w ośrodku ciągłym – roztworze kwasu. Układ taki wykazuje możliwość przemiany fazowej zol-żel. Hydrożele chitozanowe mogą formować się w wyniku zwiększenia stężenia polimeru (żelowanie indukowane stężeniem) [7,8], poprzez zmiany pH roztworu lub poprzez jego podgrzewanie [3,4,9-12]. Podczas podgrzewania roztworu, po przekroczeniu najniższej krytycznej temperatury roztworu (LCST), następuje zmiana budowy łańcucha polimeru z kłęбка statycznego do postaci liniowej i wytworzenie wzajemnych oddziaływań pomiędzy grupami funkcyjnymi łańcuchów polimeru (w szczególności grupami $-NH_2$). Punkt tej przemiany (temperatura punktu żelowania) zależy od rodzaju rozpuszczalnika oraz od obecności innych substancji wpływających na pH roztworu (wzrost pH powoduje obniżenie temperatury przemiany fazowej [9]).

Jednym z najczęściej stosowanych rozpuszczalników chitozanu jest roztwór kwasu chlorowodorowego (HCl). Dodanie do roztworu chlorku chitozanu disodowej soli β -glicerofosforanu (β -NaGP) podnosi wartość pH roztworu. Tak wytworzony układ koloidalny pozostaje w postaci zolu w temperaturze pokojowej, ale podlega przemianie fazowej w stan żelu, po ogrzaniu do około $37^\circ C$. Mechanizm formowania się żelu z roztworów soli chitozanowych w obecności β -NaGP jest w literaturze przedmiotem dyskusji, m.in. Chenite [9], Xueying Qiu [10] oraz Lavertu [11] i Filion [3]. W pracach [3,11] autorzy sugerują, że redukcja pK_a chitozanu wywołana dostarczoną energią cieplną powoduje uwolnienie protonów z cząsteczki chitozanu ($-NH_3^+ \leftrightarrow -NH_2 + H^+$). Efektem neutralizacji dodatniego ładunku cząsteczki chitozanu jest zanik odpychających sił elektrostatycznych, cząsteczki polimeru zmieniają właściwości z hydrofilowych na hydrofobowe. Sprzyja to tworzeniu sztywnego układu przestrzennego w wyniku dominacji sił przyciągania między cząsteczkami polimeru.

Celem pracy było wytworzenie hydrożeli wrażliwych na zmiany temperatury z niskostężonych roztworów chlorku chitozanu bez oraz zawierających β -NaGP i opisanie przemiany fazowej poprzez wyznaczenie punktu żelowania i energii aktywacji.

Materialy i metody

Do badań hydrożeli chitozanowych zastosowano trzy rodzaje chitozanu. Chitozan firmy Sigma-Aldrich pochodzenia krabowego, numer produktu 50494, numer Lot 0001424218 (dalej oznaczony jako 'crab'). Chitozan firmy Sigma-Aldrich pochodzenia krewetkowego, numer produktu 50494, numer Lot BCBB5837 (dalej oznaczony jako 'shrimp'). Chitozan firmy Fluka o nieokreślonym pochodzeniu i oznaczony przez producenta jako niskolepki, numer produktu 50949, numer Lot 1078112 (dalej oznaczony jako 'fluka'). Podstawowe parametry fizykochemiczne w postaci średniej masy cząsteczkowej (Mw) oraz stopnia deacetylacji (DD) dla poszczególnych chitozanów przedstawiono w TABELI 1. Stopień deacetylacji wyznaczono jako różnicę $DD = 1 - DA$. Stopień acetylacji (DA) oznaczono metodą miareczkowania.

The wide application of chitosan results, apart from the unique physicochemical properties, also from the ease of transforming it into useful forms such as powders, micro-pellets, gels, sponges or membranes.

Chitosan is solved in low concentrated solutions of organic and non-organic acids in which it forms salts with solvent ions. In an acidic environment the H^+ ion is linked to the $-NH_2$ group in the pyranose ring [5,6]. Chitosan properties change from hydrophobic to hydrophilic and a colloidal system is created in which the polymer chains remain dispersed in a continuous medium – acid solution. Such a system shows a possibility for a sol-gel phase transition. Chitosan hydrogels may form as a result of increasing the concentration of the polymer (gelation induced by concentration) [7,8], through the change of pH of the solution or through heating it [3,4,9-12]. While heating the solution, after crossing the lower critical solution temperature (LCST), a structural change of the polymer chain from a coil to a line form takes place, and mutual interactions among the functional groups of the polymer chains (in particular the $-NH_2$ groups) are formed. The point of this transition (gelation point temperature) depends on the type of solvents and the presence of other substances influencing the pH of the solution (pH increase causes a reduction of the phase transition temperature [9]).

One of the most frequently used chitosan solvents is the solution of hydrochloric acid (HCl). Addition to the chitosan chloride solution of β -Glycerophosphate disodium salt (β -NaGP) increases the pH value of the solution. The colloidal system created in this manner remains in the form of sol at room temperature, but it undergoes a phase transition into gel after heating to approximately $37^\circ C$. The mechanism of forming a gel from solutions of chitosan salts in the presence of β -NaGP is the subject of discussion in literature, e.g. Chenite [9], Xueying Qiu [10], as well as Lavertu [11] and Filion [3]. In papers [3,11], the authors suggest that a reduction of chitosan pK_a induced by the heat energy causes the release of protons from the chitosan molecule ($-NH_3^+ \leftrightarrow -NH_2 + H^+$). The effect of neutralisation of the positively charged chitosan molecule is the disappearance of repulsion electrostatic forces, the polymer molecules change their properties from hydrophilic to hydrophobic. This promotes the formation of rigid cross-linked system as a result of the domination of attraction forces among the polymer molecules.

The aim of this study was to create hydrogels sensitive to temperature changes from low-concentration solutions of chitosan chloride without and containing β -NaGP and to describe the phase transition by determining the gelation point and activation energy.

Materials and methods

For the research on chitosan hydrogels three types of chitosan were used. Chitosan from Sigma-Aldrich company from crab shells, product no. 50494, lot no. 0001424218 (further labelled as 'crab'). Chitosan from Sigma-Aldrich company from shrimp shells, product no. 50494, lot no. BCBB5837 (further labelled as 'shrimp'). Chitosan from Fluka company of unspecified origin and labelled by the manufacturer as low-viscous (further labelled as 'fluka'). The basic physicochemical parameters as an average molecular weight (Mw) and the degree of deacetylation (DD) for chitosans are presented in TABLE 1. The degree of deacetylation was determined as a difference $DD = 1 - DA$. The degree of acetylation (DA) was determined by titration.

Średnią masę cząsteczkową (Mw) każdego z w/w produktów oznaczono metodą chromatografii żelowej (GPC/SEC) z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) na aparacie firmy KnauerSmartline, wyposażonym w analyticalisocratic Pump1000 i DRI detektor (S-2300/2400, Knauer). Pomiary pH wykonano w termostatowanym naczyniu przy użyciu pH-metru ELMETRON CP-401, wyposażonego w elektrodę do cieczy lepkich ERH-12-6. Jako rozpuszczalnika użyto wodnego roztworu kwasu solnego. Dla każdego typu chitozanu przygotowano dwa roztwory z dodatkiem disodowego β -glicerofosforanu (β -NaGP) oraz bez β -NaGP.

Roztwór chitozanu (2,5% w/v) został przygotowany poprzez rozpuszczenie 0,4 g chitozanu w 16 ml 0,1M roztworu HCl. Po rozpuszczeniu pojemnik z próbką przykrywano (w celu zapobiegania parowaniu) i pozostawiono na 24 h w temperaturze pokojowej. Po tym czasie próbkę umieszczono w temperaturze 5°C na 2 h. Wykonano po dwie próbki roztworów dla każdego z rodzajów chitozanu. Do jednej z nich dodawano przygotowany wcześniej roztwór β -NaGP (2 g β -NaGP w 2 ml wody destylowanej) drugi roztwór pozostawiono bez β -NaGP.

Pomiary właściwości reologicznych roztworów chitozanowych przeprowadzono w układzie stożek-płytki reometru rotacyjnego Anton Paar Physica MR 301. Zastosowano stożek o średnicy 50 mm i kącie nachylenia 1°. Płytkę układu pomiarowego wyposażona była w układ regulacji temperatury (ogniwo Peltiera) zapewniające dokładną regulację zadanej temperatury pomiaru oraz umożliwiające sterowania szybkością nagrzewania/chłodzenia badanej próbki.

Właściwości lepkie roztworów chitozanu określono na podstawie krzywych płynięcia. Pomiary wykonano w temperaturze 20°C w zakresie szybkości ścinania od 0,1 s⁻¹ do 1000 s⁻¹. Pomiary właściwości lepkoprężystych niskostężonego roztworu chitozanu dokonano w liniowym zakresie lepkosprężystości przy niskiej amplitudzie odkształceń γ oraz stałej częstotliwości ω . Proces żelowania prowadzono w warunkach nieizotermicznych. Roztwory chitozanu umieszczano w temperaturze 5°C (temperatura przechowywania próbki) w układzie pomiarowym reometru. Następnie próbkę ogrzewano ze stałą szybkością 1 K/min – wartość zbliżona do szybkości nagrzewania w organizmie ludzkim. Podczas procesu żelowania wyznaczono właściwości reologiczne medium. Temperaturę przemiany fazowej wyznaczono na podstawie punktu przecięcia krzywych modułów zachowawczego G' i stratności G'' ($\tan \delta = 1$).

Wyniki i dyskusja

Na podstawie krzywych płynięcia, opisanych modelem potęgowym Ostwalda – de Waele'a, wyznaczono współczynnik konsystencji K i współczynnik płynięcia n. Współczynniki płynięcia n przyjmowały wartości w zakresie 0,75-0,88 dla próbek z dodatkiem β -NaGP oraz wartości 0,80-0,96 dla próbek bez dodatku β -GPNa. Wszystkie roztwory wykazywały zatem właściwości zbliżone do cieczy newtonowskiej. Występowała natomiast różnica w wartościach współczynnika konsystencji K pomiędzy próbkami typu 'fluka' a pozostałymi. Dla próbek 'crab' oraz 'shrimp' wartość współczynnika konsystencji zawierała się w przedziale 2,1-2,6 [Pa sⁿ]. Przebiegi krzywych płynięcia i lepkości tych dwóch typów próbek były bardzo zbliżone do siebie. Dla próbek typu 'fluka' współczynnik konsystencji wahał się w przedziale 0,28-0,47 [Pa sⁿ]. Wartość lepkości roztworów typu 'fluka' była o rząd wielkości mniejsza w porównaniu do próbek typu 'crab' i 'shrimp'. Można zatem uznać próbki zawierające chitozan 'fluka' jako nisko-lepkie, natomiast próbki typu 'crab' i 'shrimp' określić jako wysoko-lepkie.

TABELA 1. Masa cząsteczkowa oraz stopień deacetylacji badanych chitozanów.

TABLE 1. Molecular weight and deacetylation degree of tested chitosan.

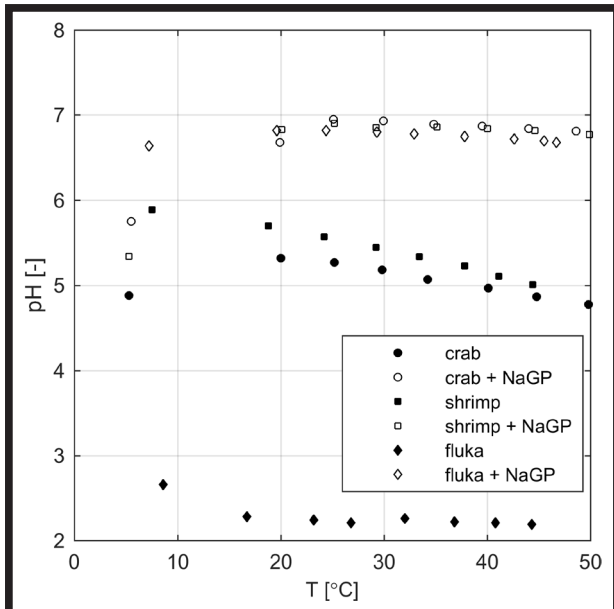
| Próbki chitozanu Chitosan samples | Średnia masa cząsteczkowa Average molecular weight Mw [kDa] | Stopień deacetylacji Degree of deacetylation DD [%] |
|--------------------------------------|---|---|
| crab | 680 | 81.8 |
| shrimp | 862 | 83.4 |
| fluka | 463 | 83.2 |

The average molecular weight (Mw) was determined by gel permeation chromatography (GPC/SEC) with the use of the high performance liquid chromatography (HPLC) on a KnauerSmartline company apparatus, equipped with an analytical isocratic Pump1000 and DRI detector (S-2300/2400, Knauer). pH measurements were performed in a thermostatic vessel with a pH-meter ELMETRON CP-401 equipped with an electrode for viscous liquids ERH-12-6. Aqueous solution of hydrochloric acid was used as a solvent. For each type of chitosans two solutions were prepared with and without β -NaGP.

The chitosan solution (2.5% w/v) was prepared by dispersing 0.4 g chitosan in 16 ml 0.1M HCl solution. After dispersion, the container with the sample was covered (in order to prevent vaporisation) and left for 24 h at room temperature. After that time the sample was left at temperature 5°C for 2 h. Two samples were made for each kind of chitosan. A previously prepared solution of β -NaGP (2 g β -NaGP in 2 ml distilled water) was added to one of them, whereas the other solution was left without β -NaGP.

The measurements of rheological properties of the chitosans solutions were conducted in a cone-plate system of a rotational rheometer Anton Paar Physica MR 301. A cone of 50 mm diameter and 1° slope angle was used. The plate of the measuring system was equipped with a temperature regulation system (a Peltier cell) ensuring accurate regulation of the desired measurement temperature and enabling to steer the speed of heating/cooling the tested sample.

Viscous properties of chitosan solutions were determined based on the flow curves. The measurements were performed at 20°C in the shear rate range from 0.1 s⁻¹ to 1000 s⁻¹. The measurements of viscoelastic properties of low concentrated chitosan solution were made in the linear range of viscoelasticity at low amplitude of deformations γ and constant angular frequency ω . The gelation process was conducted in non-isothermal conditions. Chitosan solutions were loaded at 5°C (sample storage temperature) in the measuring system of a rheometer. Next the samples were heated with a constant speed of 1 K/min – a value approximate to the heating speed in a human body. During the gelation process the rheological properties of the medium were determined. Based on the intersection point of the storage modulus G' and loss modulus G'' curves, the phase transition temperature was determined ($\tan \delta = 1$).



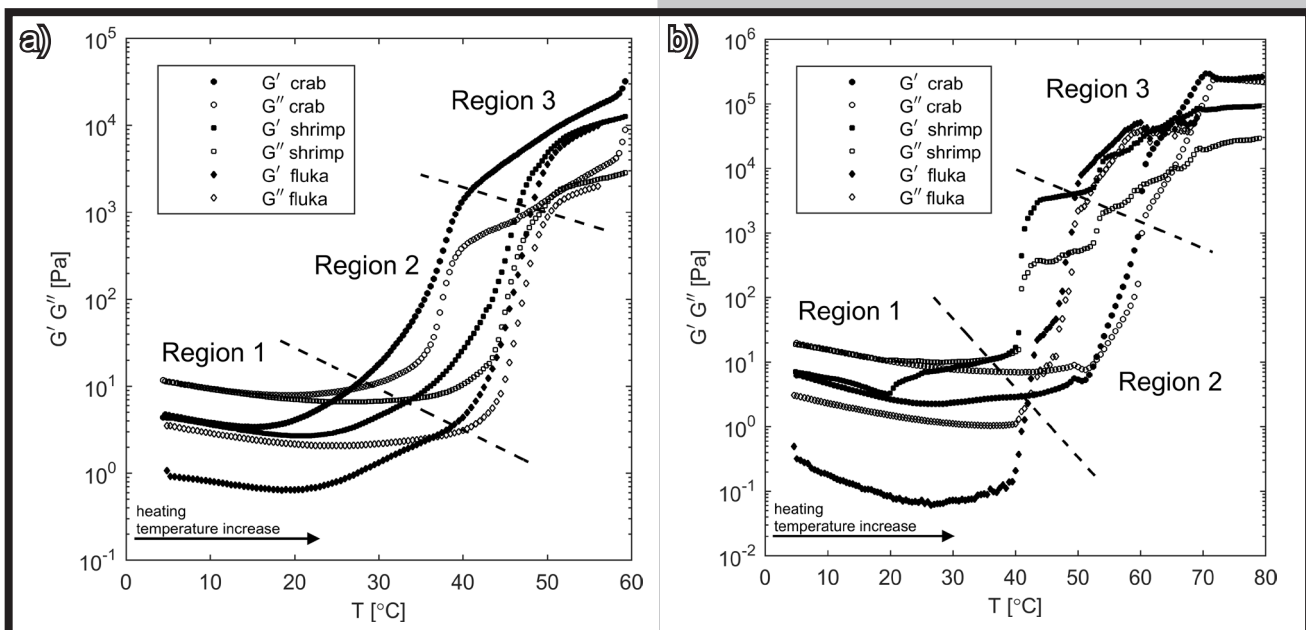
RYS. 1. Wpływ temperatury na wartość pH dla różnych roztworów chitozanu.
FIG. 1. Influence of the temperature on the pH value for different chitosan solutions.

Zmiany wartości pH dla różnych temperatur roztworów przedstawiono na RYS. 1. Z przebiegu tych zmian wynika, że istotny wpływ na wartość pH (ilość jonów H^+ przyłączanych do grup $-NH_2$ chitozanu) ma obecność β -NaGP. Dla próbek zawierających dodatek tej soli wartość pH jest praktycznie stała, niezależna od temperatury, a odczyn roztworu zbliżony do obojętnego ($pH \sim 7$). W przypadku roztworów nie zawierających β -NaGP, wartości pH są niższe. Najniższe pH roztworu uzyskuje się w przypadku chlorku z niskolepkiego chitozanu fluka; jest ono zbliżone do pH rozpuszczalnika chitozanu czyli 0.1 M HCl i wynosi około 2.5, a zatem prawdopodobnie znaczna część grup $-NH_2$ nie uległa protonacji.

Results and discussion

Based on the flow curves described by power law model of a Ostwald - de Waele the flow consistency index K and flow behaviour index n were determined. Flow behaviour index assume values in the range of 0.75-0.88 for the samples with the addition of β -NaGP and the values of 0.80-0.96 for the samples without β -NaGP. Thus all solutions exhibit nature approximating to properties of a Newtonian fluid. Whereas there is a difference in the values of flow consistency index between 'fluka' sample and the others. For a 'crab' and 'shrimp' samples the value of flow consistency index was in the range 2.1-2.6 [$Pa \cdot s^n$]. The courses of the flow and viscosity curves of these two types of samples were very similar to each other. For 'fluka' samples flow consistency index was within the range 0.28-0.47 [$Pa \cdot s^n$]. Viscosity values of 'fluka' solutions were an order of magnitude smaller compared to the 'crab' and 'shrimp' samples. Therefore samples containing 'fluka' chitosan can be considered as low-viscous, whereas the 'crab' and 'shrimp' samples can be described as high-viscous.

The changes in pH values for different temperatures of solutions are presented in FIG. 1. From FIG. 1 it can be seen that the pH value (the number of H^+ ions connected with $-NH_2$ chitosan groups) is significantly influenced by the presence of β -NaGP. For samples containing an addition of β -NaGP the pH value is almost constant, regardless of the temperature, and the pH of the solution is close to neutral ($pH \sim 7$). In the case of solutions not containing β -NaGP, the pH values are lower. The lowest pH of the solution is observed for the low-viscous fluka chitosan; its value is approximately equal to the pH of chitosan solvent, i.e. 0.1 M HCl and amounts to 2.5. Thus a significant fraction of $-NH_2$ groups was probably not ionized. It suggests that this chitosan in the solution forms entangled and rigid coils and access to hydrogen ions is more difficult.



RYS. 2. Zmiany modułów zachowawczego G' i stratności G'' w funkcji przyrostu temperatury: a) próbki z dodatkiem β -NaGP, b) próbki bez dodatku β -NaGP.
FIG. 2. The evolution of storage modulus G' and loss modulus G'' as a function of temperature increase: a) samples with addition of β -NaGP, b) samples without addition of β -NaGP.

Sugeruje to, że chitozan ten występuje w roztworze w postaci sztywnych, zwiniętych kłębków i dostęp jonów wodoru jest utrudniony. pH roztworów chitozanów o większych masach cząsteczkowych jest wyższe niż pH rozpuszczalnika, co wskazuje, że do części grup $-NH_2$ zostały przyłączone jony H^+ , przy czym im większa średnia masa cząsteczkowa tym pH wyższe. Wzrost temperatury dla tych roztworów powoduje zmniejszenie stopnia dysocjacji pK_a , zgodnie z danymi przedstawionymi w literaturze [3,11].

Wpływ temperatury na właściwości reologiczne

Zmiany modułów zachowawczego G' i stratności G'' w funkcji przyrostu temperatury pokazano na RYS. 2 odpowiednio dla układów z dodatkiem β -NaGP oraz bez. Na wykresach można zaobserwować trzy charakterystyczne regiony. W regionie 1, próbki chitozanu przejawiają zachowanie typowe dla cieczy lepkosprężystej. W obszarze tym moduł stratności (reprezentujący właściwości lepkie medium) dominuje nad modułem zachowawczym (reprezentującym właściwości sprężyste medium). Jednocześnie wartości obu modułów, a tym samym lepkości zespolonej zmniejszają się wraz ze wzrostem temperatury i potwierdzają generalną zależność spadku lepkości cieczy ze wzrostem temperatury [13]. Zgodnie z zależnością Stokesa–Einsteina, wzrasta współczynnik dyfuzji i następuje intensyfikacja samoistnego ruchu molekuł wewnątrz roztworu. W regionie 2 wartości modułów zachowawczego i stratności gwałtownie wzrastają. Jest to wynikiem tworzenia się struktury usieciowanej (żelu). Obserwuje się również wzrost dominacji modułu zachowawczego nad modułem stratności. Wartość współczynnika tłumienia $\tan(\delta) = G''/G'$ maleje poniżej jedności. Właściwości sprężyste zaczynają przeważać nad właściwościami lepkiemi. Powstała struktura charakteryzuje się właściwościami ciała stałego. W obszarze końcowym (region 3), proces żelowania przebiega z mniejszą szybkością. Wynika to z dużych wartości lepkości medium, spowalniającej dyfuzję cząstek. Charakter powstałej struktury zmienia się z postaci miękkiej gumy do postaci szklistej.

Przebiegi krzywych na RYS. 2 wskazują również różnicę w kinetyce żelowania roztworów chitozanów z dodatkiem β -NaGP oraz bez udziału tego związku. Pierwszą charakterystyczną różnicą są położenia punktu żelowania czyli temperatury przemiany fazowej, którą wyznacza punkt przecięcia się modułów G' i G'' . Porównując dwa typy roztworów (z oraz bez β -NaGP) dla poszczególnych próbek chitozanu można zaobserwować niższą temperaturę żelowania dla roztworów zawierających β -NaGP. Jest to związane z wyższą wartością pH tych roztworów, ponieważ dodatek β -NaGP pełni rolę buforu i neutralizuje odczyn próbki (RYS. 1). W początkowej fazie procesu w obu typach roztworów, głównym czynnikiem odpowiedzialnym za hydrofilowość (a tym samym stabilność roztworów) jest obecność dodatnio naładowanych grup $-NH_3^+$ w łańcuchach chitozanu. Wraz ze wzrostem temperatury (dostarczania energii) grupy aminowe ulegają dejonizacji [3,11], która prowadzi do zmiany charakteru cząsteczek chitozanu z hydrofilowego na hydrofobowy. Obecność cząstek β -NaGP, które w roztworze występują w postaci zdysocjowanej na jony Na^+ i $\beta-GP^{2-}$, powoduje szybszą neutralizację protonów H^+ i pozwala siłom hydrofobowym (odpowiedzialnym za wzajemne przyciąganie się łańcuchów polisacharydu – formowaniem się żelu) na osiągnięcie przewagi. Brak dodatku β -NaGP utrudnia powstanie oddziaływań między grupami aminowymi chitozanu i tym samym powoduje podwyższenie temperatury żelowania tego typu układów. Druga zasadnicza różnica w zjawisku żelowania, między oboma typami roztworów, uwidacznia się w dynamice przemian w regionie 2. Można zaobserwować gwałtowniejszą przemianę dla roztworów bez dodatku β -NaGP w porównaniu z roztworami zawierającymi bufor.

The pH of solutions from chitosans with greater molecular weight is higher than the pH of the solvent, which indicates that H^+ ions were linked with a part of $-NH_2$ groups. The greater the average molecular weight, the higher the pH. An increase in temperature for these solutions causes a reduction in the degree of dissociation pK_a , in accordance with the data presented in literature [3,11].

Influence of temperature on rheological properties

The evolution of storage modulus G' and loss modulus G'' as a function of temperature increase is shown in FIG. 2 for systems with and without the addition of β -NaGP, respectively. On the graphs three characteristic regions can be observed. In region 1, the chitosan samples show a typical behaviour for a viscoelastic liquid. In this area the loss modulus (representing the viscous properties of the medium) dominates over the storage modulus (representing the elastic properties of the medium). At the same time the values of both moduli, and thus the complex viscosity decrease with the increase of temperature and confirm the general dependency of viscosity decrease of liquid with the temperature increase [13]. In accordance with the Stokes-Einstein dependency, the diffusion coefficient increases and next an intensification of self-induced molecule movement inside the solution takes place. In region 2, the values of the storage modulus and the loss modulus rise rapidly. This is a result of the creation of a crosslinked structure (gel). An increase of domination of the storage modulus over the loss modulus was also observed. The value of the damping factor $\tan(\delta) = G''/G'$ decreases below one. The elastic properties begin to dominate over the viscous properties. The forming structure is characterized by solid-like properties. In the final area (region 3), the gelation process proceeds more slowly. This results from large viscosity values of the medium, slowing down the diffusion of the molecules. The character of the forming structure changes from the form of rubber-like to glass-like form.

The courses of the curves in FIG. 2 also indicate a difference in the gelation kinetics of chitosan solutions with and without β -NaGP. The first characteristic difference is the position of the gelation point, i.e. the phase transition temperature which is determined by the intersection of moduli G' and G'' . Comparing the two types of solutions (with and without β -NaGP) for each chitosan samples, a lower gelation temperature for solutions containing β -NaGP can be noticed. This is related to a higher pH value of these solutions, since the addition of β -NaGP functions as a buffer and neutralizes the pH of the sample (FIG. 1). In the initial phase of the process in both types of solutions the main factor responsible for the hydrophilic properties (and thus the stability of the solutions) is the presence of positively charged $-NH_3^+$ groups in chitosan chains. With the increasing temperature (input of energy) the amino groups are deionized [3,11], which leads to a change of character of the chitosan molecules from hydrophilic to hydrophobic. The presence of β -NaGP molecules which exist in the solution in the form dissociated Na^+ and $\beta-GP^{2-}$ ions causes a faster neutralisation of H^+ protons and allows the hydrophobic forces (responsible for the attraction between the polysaccharide chains – gel formation) to reach an advantage. No addition of β -NaGP makes the interactions among chitosan amino groups difficult to create and thus causes an increase in the gelation temperature of this type of systems. Another basic difference in the gelation phenomenon between the two types of solutions is revealed in the dynamics in region 2. A more rapid modulus increase for solutions without the addition of β -NaGP compared with the solutions containing the buffer can be observed.

Nieizotermiczna kinetyka żelowania

Analiza zmian wartości modułu zachowawczego G' oraz zastosowanie modelu kinetyki krystalizacji polimeru, który jest połączeniem równania Arrheniusa i zależności czasowo-temperaturowej pozwalają wyznaczyć energię aktywacji dla procesu żelowania [14-16]. Dla procesu żelowania, zachodzącego przy wzroście temperatury, równanie kinetyki [14] przyjmuje postać:

$$\ln\left(\frac{1}{G'^n} \frac{dG'}{dt}\right) = \ln k_0 + \left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (1)$$

gdzie:

- G' – moduł zachowawczy [Pa]
- n – rząd szybkości reakcji
- t – czas [s]
- k_0 – współczynnik częstości Arrheniusa
- E_a – energia aktywacji procesu [J mol⁻¹]
- R – stała gazowa [J mol⁻¹ K⁻¹]
- T – temperatura absolutna [K]

Wykładnik n oznacza wymiar rosnących kryształów r oraz typ zarodkowania s ($n = r + s$). Parametr r przyjmuje wartości 1, 2 lub 3 odpowiednio dla struktur jedno-, dwu- lub trzywymiarowych (pręt, dysk, sfera), natomiast s przyjmuje wartość 0 dla układów z istniejącymi już jądrami zarodkowymi lub 1 dla układów z rosnącą w czasie ilością jąder zarodkowych [17]. W obliczeniach przyjęto parametr $n = 2$ w oparciu o badania przedstawione przez autorów [18, 19], dotyczące podobnych układów polimerowych. Wielkość dG'/dt w równaniu (1) oznacza tzw. szybkość rozwoju struktury. W celu określenia wartości dG'/dt wykonano regresję wielomianową zależności modułu G' od czasu t , a następnie zróżniczkowano ten wielomian. Wykreślając zależność $\ln(1/G'^n \cdot dG'/dt)$ vs $1/T$ z nachylenia krzywej wyznaczono wartość energii aktywacji E_a (RYS. 3).

Non-isothermal kinetics of gelation

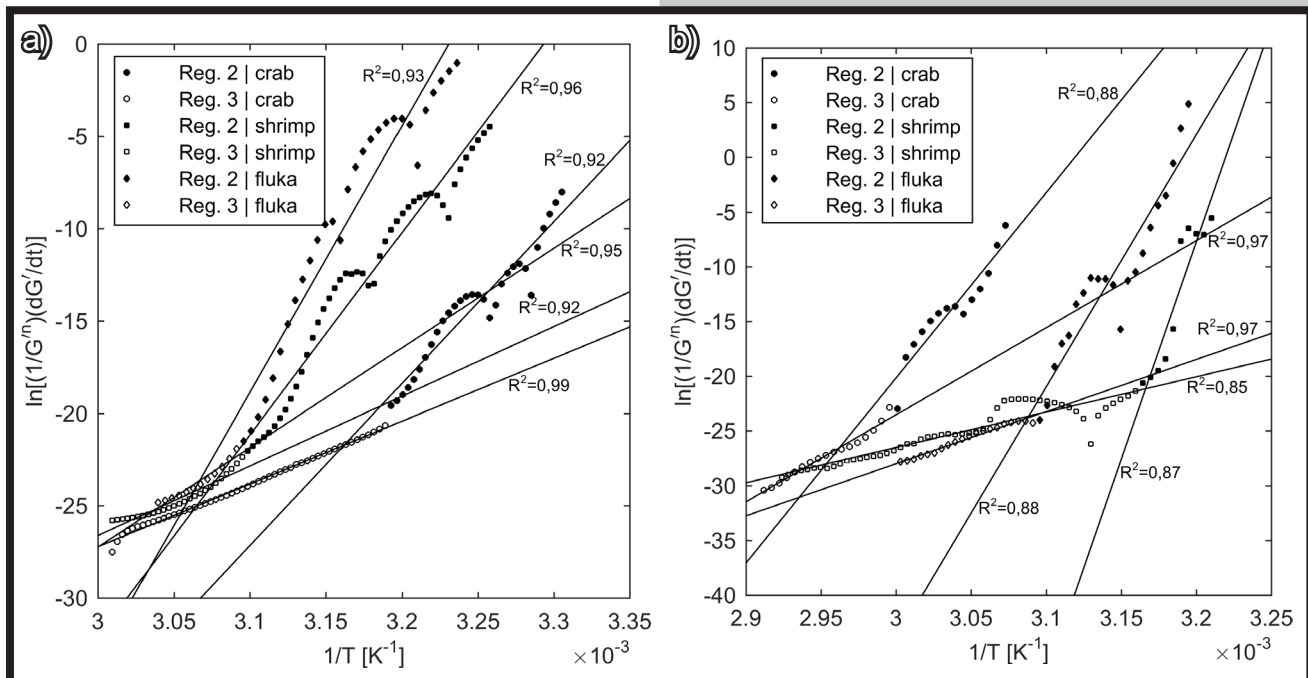
An analysis of the changes in the values of the storage modulus G' and the use of kinetics model of polymer crystallization which is a combination of the Arrhenius equation and the time-temperature relationship allow to determine the activation energy for the gelation process [14-16]. For the gelation process taking place with a temperature increase, the kinetics equation [14] takes the following form:

$$\ln\left(\frac{1}{G'^n} \frac{dG'}{dt}\right) = \ln k_0 + \left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (1)$$

where:

- G' – storage modulus [Pa]
- n – reaction speed rate
- t – time [s]
- k_0 – Arrhenius frequency coefficient
- E_a – process activation energy [J mol⁻¹]
- R – gas constant [J mol⁻¹ K⁻¹]
- T – absolute temperature [K]

Exponent n indicates the dimension of the growing crystals r and the type of nucleation s ($n = r + s$). Parameter r assumes values 1, 2 or 3 respectively for one-, two- or three-dimension structures (rod, disk, sphere), whereas s assumes value 0 for systems with existing nucleation cores (predetermined nucleation), or 1 for systems with a nucleation cores growing with time [17]. In the calculations parameter $n = 2$ was adopted on the basis of research presented by authors [18, 19], regarding similar polymer systems. Value dG'/dt in the equation (1) is the structure development rate. In order to specify the term dG'/dt , polynomial regression was made from data of modulus G' as a function of time t , and next this polynomial was differentiated. The relationship $\ln(1/G'^n \cdot dG'/dt)$ vs $1/T$ allows to determine the value of activation energy E_a from the slope of the plot (FIG. 3).



RYS. 3. Zależność czasowo-temperaturowa na wykresie Arrheniusa pozwalająca wyznaczyć energię aktywacji: a) próbki z dodatkiem β -NaGP, b) próbki bez dodatku β -NaGP.

FIG. 3. The time-temperature relationship on Arrhenius plot enabling to determination of activation energy: a) samples with addition of β -NaGP, b) samples without addition of β -NaGP.

TABELA 2. Wartości wyznaczonych energii aktywacji, czasy oraz temperatury żelowania.
TABLE 2. Determined values of activation energy, gelation times and temperatures.

| Próbki chitozanu Chitosan samples | Energia aktywacji / Activation Energy E_a [kJ mol ⁻¹] | | Czas żelowania Gelation time t_{gel} [s] | Temperatura żelowania Gelation temperature T_{gel} [°C] |
|--------------------------------------|--|----------|--|--|
| | Region 2 | Region 3 | | |
| crab + β -NaGP | 729 | 283 | 1329 | 26.6 |
| crab | 1406 | 661 | 2909 | 53.0 |
| shrimp + β -NaGP | 910 | 313 | 1790 | 34.3 |
| shrimp | 3302 | 269 | 2040 | 38.5 |
| fluka + β -NaGP | 1198 | 448 | 1920 | 36.5 |
| fluka | 1916 | 396 | 2249 | 42.0 |

Na podstawie równania (1) wyznaczono energię aktywacji poszczególnych próbek chitozanu dla regionów 2 i 3. Wartości wyznaczonych energii przedstawiono na RYS. 3 oraz w TABELI 2. Dla regionu 2, porównanie próbek roztworów chitozanu tego samego typu w dwóch wariantach (z dodatkiem i bez β -NaGP) wskazuje, że formowanie się struktury jest bardziej korzystne energetycznie dla roztworów z dodatkiem słabej zasady (β -NaGP). Porównanie wartości energii między obszarami 2 i 3 sugeruje, że w regionie 3 rozwój struktury jest energetycznie łatwiejszy. Jednak jak wspomiano powyżej, proces żelowania w tym regionie jest silnie ograniczony przez dyfuzję z powodu wysokich wartości lepkości roztworu. Potwierdza to dużo niższy przyrost $\Delta G'$ w tym obszarze w porównaniu do przyrostów $\Delta G'$ jakie zaszły w regionie 2. Wskazuje to również na to, że region 2 jest kluczowym obszarem w procesie żelowania, pochłaniającym najwięcej dostarczonej energii cieplnej.

Rozpatrując korzyści energetyczne, chitozan typu shrimp w roztworze HCl bez β -NaGP indukował największy koszt energetyczny (3302 kJ/mol). Jednak roztwór z tego chitozanu z dodatkiem roztworu słabej zasady wykazywał znacząco niższe zapotrzebowanie energetyczne (910 kJ/mol) dla przemiany fazowej. Roztworem wymagającym najmniej energii aktywacji do sieciowania był chlorek z chitozanu crab. Zarówno w wariancie z dodatkiem β -NaGP, jak i bez, wartości energii E_a wyniosły odpowiednio 729 kJ/mol oraz 1406 kJ/mol. Największej ilości dostarczonej energii cieplnej wymagał niskolepki chitozan fluka. Jest to prawdopodobnie spowodowane tym, że występuje w roztworze w postaci sztywnych zwiniętych kłębków, z większością grup hydrofobowych na zewnątrz. Powyższe sugestie wymagają potwierdzenia metodami reologii optycznej np. badaniem zmian rozproszenia światła przez cząstki polimeru podczas deformacji mechanicznej (small-angle light scattering – SALS) lub metodami strukturalnymi (Fourier transform infrared spectroscopy – FTIR, rentgenowskiej spektrometrii fotoelektronów – XPS itp.).

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że układy koloidalne chlorku chitozanu niezależnie od zawartości β -NaGP wykazują przemianę zol-żel pod wpływem wzrostu temperatury niezależnie od pochodzenia chitozanu i jego masy cząsteczkowej.

Punkt żelowania – temperatura tej przemiany zależy od wartości pH roztworu (stopnia dysocjacji pKa [3,9,11]) oraz średniej masy cząsteczkowej polimeru [12].

Based on the equation (1) activation energy of specified chitosan samples for regions 2 and 3 was determined. The determined values of energy are presented in FIG. 3 and in TABLE 2. For region 2, a comparison of chitosan solutions samples of the same type in two versions (with and without the addition of β -NaGP) indicates that the formation of the structure is more energetically advantageous for solutions with the addition of a weak alkali (β -NaGP). A comparison of the energy values between areas 2 and 3 suggests that in region 3 the development of the structure is energetically easier. However, as it was mentioned above, the gelation process in this region is highly restricted by diffusion due to high viscosity values of the solution. This is confirmed by a smaller $\Delta G'$ increase in this area compared with the $\Delta G'$ increase which took place in region 2. This also indicates that region 2 is the key area in the gelation process, absorbing the most input heat energy.

Considering the energetic benefits, the shrimp chitosan in a solution without β -NaGP induced the highest energetic cost (3302 kJ/mole). However, a solution of this chitosan with the addition of a weak alkali showed a significantly lower energetic need (910 kJ/mole) for the phase transition. The solutions requiring the least activation energy for crosslinking were the crab chitosan solutions, both in the version with the addition of β -NaGP and without it. The energy values E_a were 729 kJ/mole and 1406 kJ/mole, respectively. The sample which required the largest amount of input heat energy was the low viscous fluka chitosan. This is probably related with the entangled and rigid form of this chitosan and dominance of hydrophobic groups outside the chain. The above suggestions need to be confirmed with optical rheology methods, e.g. light scattering experiments in polymer molecules during the mechanical deformation (small-angle light scattering – SALS) or with spectroscopy methods (Fourier transform infrared spectroscopy – FTIR, X-ray photoelectron spectroscopy – XPS, etc.).

Conclusions

Based on the conducted research it was stated that colloidal systems of chitosan chloride, regardless of the β -NaGP addition, origins and molecular weight, revealed a sol-gel transition under the effect of a temperature increase.

Gelation point – the temperature of sol-gel transition depends on the pH value of the solution (degree of dissociation pKa [3,9,11]) and the average molecular weight of the polymer [12].

Przemiana fazowa zol-żel chlorku chitozanu podczas ogrzewania ze stałą szybkością narastania temperatury dokonuje się w trzech charakterystycznych obszarach: (1) roztwory przejawiają zachowania cieczy lepkosprężystej, (2) proces szybkiego sieciowania w pobliżu punktu żelowania – tworzenie się struktury miękkiej gumy, (3) proces wolnego żelowania przy wysokich temperaturach – formowanie się struktury szklistej.

Z punktu widzenia zastosowań medycznych, układy z dodatkiem słabej zasady (β -NaGP) są bardziej pożądane. Temperatury przemian fazowych tych układów są zbliżone do temperatury fizjologicznej człowieka ($\sim 37^\circ\text{C}$) w przeciwieństwie do układów bez dodatku β -NaGP, gdzie punkt przemiany fazowej znacznie przekracza tę temperaturę.

Na podstawie modelu kinetycznego wyznaczono energię aktywacji procesu żelowania i stwierdzono, że roztwory chlorku chitozanu z β -NaGP do przejścia zolu w żel wymagają znacznie niższych energii niż analogiczne układy bez β -NaG. Najkorzystniejszym energetycznie układem był roztwór chitozanu krabowego z dodatkiem β -NaGP.

Podziękowania

Praca wykonana w ramach Grantu NCN UMO-2014/15/B/ST8/02512 pt. „Badanie kinetyki przemiany fazowej układów chitozanowych wrażliwych na wzrost temperatury”.

The processes of sol-gel phase transition of chitosans chloride solutions under the effect of constant heating rate revealed in three characteristic regions: (1) the solutions exhibit the behaviours of a viscoelastic liquid, (2) the process of fast crosslinking near to the gelation point – creation of a rubber-like structure, (3) the process of slow gelation at high temperatures – formation of a glass-like structure.

From the viewpoint of medical use, the systems with the addition of a weak alkali (β -NaGP) are more desirable. The phase transition temperatures of these systems are near to the human body temperature ($\sim 37^\circ\text{C}$) as opposed to systems without the addition of β -NaGP where the phase transition point drastically exceeds that temperature.

Based on the kinetics model the activation energy of the gelation process was determined. It was stated that phase transition processes of chitosan chloride solutions with β -NaGP require far lower energy than analogous systems without β -NaG. The most energetically beneficial system was the crab chitosan solution with the addition of β -NaGP.

Acknowledgements

The work was conducted within Grant NCN UMO-2014/15/B/ST8/02512 entitled 'Research on the kinetics of phase transition of chitosan systems sensitive to a temperature increase'.

Piśmiennictwo

- [1] Mochalova A. E., Budruev A. V., Oleinik A. V., Smirnova L. A.: Thermo and pH-sensitive hydrogels on chitosan base, obtained with use of diazide of terephthalic acid. *Perspektivnye Materialy* 5 (2009) 61-65.
- Мочалова А.Е., Бударев А.В., Олейник А.В., Смирнова Л.А.: Термо- и pH- чувствительные гидрогели на основе хитозана полученные с использованием диазида терефталевой кислоты. *Перспективные материалы* 5 (2009) 61-65.
- [2] Ravichandran R., Sundarajan S., Venugopal J.R., Mukherjee S., Ramakrishna S.: *Advances in Polymeric Systems for Tissue Engineering and Biomedical Applications*. *Macromolecular Bioscience* 12 (2012) 286-311.
- [3] Lavertu M., Fillion D., Buschmann M.D.: Ionization and Solubility of Chitosan Solutions Related to Thermosensitive Chitosan/Glycerol-Phosphate Systems. *Biomacromolecules* 8 (2007) 3224-3234.
- [4] Skwarczyńska A.: *Kompozytowe termowrażliwe żele chitozanowe do zastosowań biomedycznych*, (rozprawa doktorska) Politechnika Łódzka, Łódź 2014.
- [5] Park J. W., Choi K.-H., Park K. K.: Acid-Base Equilibria and Related Properties of Chitosan. *Bulletin of the Korean Chemical Society* 4 (1983) 68-71.
- [6] Vachoud L., Zydwicz N., Domard A.: Formation and characterisation of a physical chitin gel. *Carbohydrate Research* 302 (1997) 169-177.
- [7] Hamdine M., Heuzey M.-C., Begin A.: Viscoelastic properties of phosphoric and oxalic acid-based chitosan hydrogels. *Rheologica Acta* 37 (2005) 1-17.
- [8] Iversen C., Kjoniksen A. L., Nystrom B., Nakken T., Palmgren O., Tande T.: Viscosity of Dilute Aqueous Solutions of Hydrophobically Modified Chitosan and Its Unmodified Analogue at Different Conditions of Salt and Surfactant Concentrations. *Langmuir* 13 (1997) 4948-4952.
- [9] Chenite A., Gori S., Shive M., Desrosiers E., Buschmann M.D.: Monolithic gelation of chitosan solutions via enzymatic hydrolysis of urea. *Carbohydr Polym* 64 (2006) 419-424.

References

- [10] Xueying Q., Yuhong Y., Liping W., Shanling L., Zhengzhong Sh., Xin Ch., 2011. Synergistic interactions during thermosensitive chitosan- β -glycerophosphate hydrogel formation. *RSC Advances* 1 (2011) 282-289.
- [11] Lavertu M., Fillion D., Buschmann M.D., 2008. Heat-Induced Transfer of Protons from Chitosan to Glycerol Phosphate Produces Chitosan Precipitation and Gelation. *Biomacromolecules* 9 (2008) 640-650.
- [12] Cho J., Heuzey M.-C., Begin A., Carreau P. J.: Viscoelastic properties of chitosan solutions: Effect of concentration and ionic strength. *Journal of Food Engineering* 74 (2006) 500-515.
- [13] Li L., Thangamathesvaran P. M., Yue C. Y., Tam K. C., Hu X., Lam Y. C.: Gel Network Structure of Methylcellulose in Water. *Langmuir* 17 (2001) 8062-8068.
- [14] Lopes da Silva J.A., Goncalves M.P., Rao M. A.: Kinetics and thermal behaviour of the structure formation process in HMP/sucrose gelation. *International Journal of Biological Macromolecules* 17 (1995) 25-32.
- [15] Fu J.-T., Rao M. A.: Rheology and structure development during gelation of low-methoxyl pectin gels: The effect of sucrose. *Food Hydrocolloids*, 15 (2001) 93-100.
- [16] Ross-Murphy S. B.: The estimation of junction zone size from gel time measurements. *Carbohydrate Polymers* 14 (1991) 281-294.
- [17] McIver R. G., Axford D. W. E., Colwell K. H., Elton G. A. H.: Kinetic study of the retrogradation of gelatinized starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 19 (1968) 560-563.
- [18] Cho J., Heuzey M.-C., Begin A., Carreau P. J.: Chitosan and glycerophosphate concentration dependence of solution behaviour and gel point using small amplitude oscillatory rheometry. *Food Hydrocolloids* 20 (2006) 936-945.
- [19] Cho J., Heuzey M.-C., Begin A., Carreau P. J.: Physical Gelation of Chitosan in the Presence of β -Glycerophosphate - The Effect of Temperature. *Biomacromolecules* 6 (2005) 3267-3275.

BADANIE HISTEREZY MECHANICZNEJ ŚCIĘGIEN WIEPRZOWYCH

ANETA LIBER-KNEĆ*, SYLWIA ŁAGAN

ZAKŁAD MECHANIKI DOŚWIADCZALNEJ I BIOMECHANIKI,
INSTYTUT MECHANIKI STOSOWANEJ, POLITECHNIKA KRAKOWSKA,
AL. JANA PAWŁA II 37, 31-864 KRAKÓW

* E-MAIL: ALIBER@PK.EDU.PL

Abstrakt

Ściągna mogą być czasowo lub trwale uszkodzone w warunkach nadmiernego obciążenia lub obciążenia przyłożonego z dużą szybkością. Z punktu widzenia decyzji chirurga istotnym jest przewidywanie intensywności uszkodzeń ścięgien. Można to zrobić poprzez określenie i zrozumienie odpowiedzi mechanicznej i rodzajów uszkodzeń ścięgien pod wpływem działania obciążenia. Jedną z ważnych cech ścięgien jest histereza mechaniczna, która określa zdolność ścięgna do rozpraszania energii, co oznacza, że napięcie mięsni nie jest w pełni przenoszone na szkielet. Badania przeprowadzono w celu określenia histerezy mechanicznej w modelu ścięgien wieprzowych w warunkach cyklicznego obciążenia w próbie quasi-statycznego rozciągania. Wykonano dziesięć cykli obciążenia-odciążenia w teście quasi-statycznego rozciągania dla trzech poziomów maksymalnego obciążenia: 50 N, 100 N i 150 N. Dla każdego poziomu obciążenia zarejestrowano trzy pętle histerezy (pierwszą, piątą, dziesiątą) i na ich podstawie obliczono wartości energii dyssypacji i histerezy mechanicznej. Średnie wartości energii rozpraszania wyniosły $4,4 \pm 0,7$ mJ, $19,7 \pm 3,7$ mJ, $23,9 \pm 3,9$ mJ odpowiednio dla poziomów obciążenia 50, 100 i 150 N. Między piątym a dziesiątym cyklem, dla których zaobserwowano stabilizację energii rozpraszanej, wartości te wynosiły od 22 do 32%, co stanowiło połowę wartości histerezy dla pierwszego cyklu. Zaobserwowano wpływ zastosowanych obciążeń na wartości, zarówno energii dyssypacji, jak i energii zwróconej. Wpływu tego nie zaobserwowano na wartość histerezy mechanicznej.

Słowa kluczowe: histereza mechaniczna, ścięgno wieprzowe, energia dyssypacji, lepkosprężystość

[Inżynieria Biomateriałów 139 (2017) 26-30]

Wprowadzenie

Podstawową rolą ścięgien jest przenoszenie sił skurczowych pomiędzy kośćmi w celu generowania ruchu stawów. Ściągna zbudowane są z sieci włókien kolagenowych w uwodnionej osnowie z elastyny i proteoglikanów. Włókna kolagenowe nadają ścięgnom wytrzymałość, podczas gdy elastyna zapewnia elastyczność, tak jak osnowa w materiale kompozytowym. Właściwości mechaniczne większości tkanek miękkich, również ścięgien, są opisane jako niejednorodne, anizotropowe, nieliniowe i lepkosprężyste [1,2].

W warunkach nadmiernych obciążeń i ich dużych prędkości, ściągna mogą zostać czasowo lub trwale uszkodzone. Z punktu widzenia decyzji chirurga istotnym jest przewidywanie intensywności uszkodzeń ścięgien. Można to zrobić poprzez określenie i zrozumienia odpowiedzi mechanicznej i rodzajów uszkodzeń ścięgien pod wpływem działania obciążenia [1].

MECHANICAL HYSTERESIS TESTS FOR PORCINE TENDONS

ANETA LIBER-KNEĆ*, SYLWIA ŁAGAN

DIVISION OF EXPERIMENTAL MECHANICS AND BIOMECHANICS,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING,
CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
AL. JANA PAWŁA II 37, 31-864 KRAKÓW, POLAND

* E-MAIL: ALIBER@PK.EDU.PL

Abstract

Tendons may be temporarily or permanently damaged under conditions of excessive high-rate loading. It is important for surgery decisions to predict the intensity of tendons injures. It can be done by the determination and understanding of the mechanical response and the failure modes of tendons under loading. One of the important issues concerned with tendons is mechanical hysteresis, demonstrating the ability of the tendon to dissipate energy, which indicates that the muscular tension is not fully transmitted to the skeleton. The aim of the study was to determine mechanical hysteresis of porcine tendons model under cyclic loading in the quasi-static tensile test. Repeated ten loading-unloading cycles in the quasi-linear tensile test were made for three levels of the maximal load: 50 N, 100 N and 150 N. Three hysteresis loops for each level of load were registered (1st, 5th, 10th) and used for calculation the values of energy dissipation and mechanical hysteresis. The mean values of energy dissipation were 4.4 ± 0.7 mJ, 19.7 ± 3.7 mJ, 23.9 ± 3.9 mJ for load levels 50, 100 and 150 N, respectively. Between fifth and tenth cycle for which the stabilization of the mechanical hysteresis was observed, its values were between 22 and 32%, what was about half of the hysteresis value for the first cycle. The influence of the applied loads on the values of both the energy of dissipation and the returned energy can be seen but the value of mechanical hysteresis is independent of load levels.

Keywords: mechanical hysteresis, porcine tendon, energy of dissipation, viscoelasticity

[Engineering of Biomaterials 139 (2017) 26-30]

Introduction

The primary role of tendons is to transmit contractile forces between the bones to generate joint movement. Tendons are composed of a network of collagen fibrils in a hydrated matrix of elastin and proteoglycans. Collagen fibrils provide strength to the tendon while elastin provides flexibility as matrix of a composite material. Mechanical behavior of the most soft tissues, also tendons, is described as inhomogeneous, anisotropic, nonlinear and viscoelastic [1,2].

High rate and excessive conditions of a load cause that tendons may be temporarily or permanently damaged. It is important for surgery decisions to predict the intensity of tendons injures. It can be done by the determination and understanding of the mechanical response and the failure types of tendons under loading [1]. Many eventual failures are tensile in nature, so properties under the quasi-static tension have been the subject of several investigations.

Wiele ewentualnych uszkodzeń ścięgien następuje w wyniku rozciągania, dlatego ocena właściwości pod wpływem działania quasi-statycznej siły rozciągającej była przedmiotem wielu badań. Dla ludzkiego ścięgna Achillesa w badaniach *in vitro*, uzyskano wartość modułu Younga w zakresie od 1 do 2 GPa, natomiast wartość maksymalnego naprężenia na poziomie około 100 MPa. Wyniki uzyskane *in vivo* różnią się znacząco w porównaniu z testami *in vitro*. Wartość modułu Younga wynosi od 0,3 do 1,4 GPa, wartość naprężenia zawiera się pomiędzy 20 i 42 MPa [2].

Jedną z ważnych kwestii dotyczących ścięgien jest histereza mechaniczna, która określa zdolność ścięgna do rozpraszania energii. Energia dyssypacji oznacza, że napięcie mięśni nie jest w pełni przenoszone na szkielet. Pomiar zdolności ścięgien do pochłaniania i efektywnego zwracania energii podczas ruchu pozwala na ocenę termicznego zniszczenia oraz ilości energii metabolicznej, która podczas ruchu może być zaoszczędzona. Jest to ważne z punktu widzenia biomechaniki sportu oraz rehabilitacji [1,3-5].

Badania zostały przeprowadzone w celu określenia histerezy mechanicznej ścięgien wieprzowych w warunkach cyklicznego obciążenia realizowanego w teście quasi-statycznego rozciągania. Model ścięgna wieprzowego jest powszechnie wykorzystywany w badaniach biomechanicznych różnych technik rekonstrukcji przeszczepów ścięgien [6].

Materiał i Metody

W badaniach wykorzystano piętnaście ścięgien pobranych z kończyn w pełni dorosłych świń domowych o masie około 100 kg. Ścięgna owinięto w folię polipropylenową i zamrożono w temperaturze $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ do momentu badania i następnie rozmrożono w temperaturze pokojowej ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), jedną godzinę przed testem. Średnia średnica badanych ścięgien wynosiła $6,4 \pm 0,9$ mm.

Pierwszym etapem badań było przeprowadzenie testu rozciągania w celu charakterystyki materiału. Właściwości mechaniczne w teście statycznego rozciągania zostały określone przy użyciu maszyny MTS Insight 50. Próbkę zamocowano za pomocą płaskich zacisków i wydłużano z prędkością 5 mm/min. Długość pomiarowa próbki wynosiła 50 mm. Wartości oznaczonych parametrów mechanicznych: moduł Younga oraz wytrzymałość na rozciąganie, zostały przedstawione jako wartości średnie z odchyleniem standardowym ($X \pm \text{SD}$).

Następnie wykonano dziesięć cykli obciążenia-odciążenia w teście quasi-liniowego rozciągania dla trzech poziomów maksymalnego obciążenia: 50 N, 100 N, 150 N. Wartości obciążenia zostały dobrane na podstawie wyników testu rozciągania w zakresie odkształceń sprężystych ścięgien świni. Badanie przeprowadzono przy użyciu maszyny MTS Insight 50 ze stałą prędkością wydłużenia 5 mm/min. Długość początkowa próbki wynosiła 50 mm. Dla każdego poziomu obciążenia zarejestrowano trzy pętle histerezy mechanicznej (pierwszą, piątą i dziesiątą), które wykorzystano do obliczenia wartości:

- energii dyssypacji (powierzchnia pętli),
- całkowitej pracy wykonanej podczas rozciągania ścięgna (powierzchnia pod krzywą przy zwiększającym się odkształceniu),
- energii zwróconej (powierzchnia pod krzywą przy zmniejszającym się odkształceniu),
- histerezy mechanicznej (część energii odkształcenia, która jest rozpraszana poprzez wewnętrzne tłumienie lepkie w każdym cyklu wydłużenia [7]. Została ona obliczona jako stosunek powierzchni pętli (energia odkształcenie rozpraszona) do powierzchni pod krzywą obciążenia (energia odkształcenia zużyta).

Dla każdego poziomu obciążenia wykorzystano dwie próbki. Wartości obliczonych energii zostały pokazane jako średnie z odchyleniem standardowym ($X \pm \text{SD}$).

For the human Achilles tendon tested *in vitro*, the value of Young's modulus ranges between 1 and 2 GPa, while the value of the ultimate stress is approximately 100 MPa. Results obtained *in vivo* differ significantly in comparison to the *in vitro* tests. The value of Young's modulus is between 0.3 and 1.4 GPa, while the value of the ultimate stress ranges between 20 and 42 MPa [2].

One of the important issues concerned with tendons is the mechanical hysteresis, demonstrating the ability of the tendon to dissipate energy. This energy dissipation indicates that the muscular tension is not fully transmitted to the skeleton. The measurement of the tendons ability to store and efficiently return energy during locomotion, allows to assess tendons thermal damage and the amount of metabolic energy that can be saved during locomotion, what is important for biomechanics of sport or rehabilitation [1,3-5]. The porcine tendon model is commonly used for the biomechanical investigation of various reconstruction techniques of tendon grafts [6].

The study was conducted to determine mechanical hysteresis of porcine tendons under cyclic loading in the quasi-static tensile test.

Materials and Methods

Fifteen tendons taken from the lower limbs from fully mature domestic pigs, weighting approximately 100 kg were used in this investigation. Tendons were wrapped in polypropylene foil and frozen at $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ until the tensile testing, and then thawed at room temperature ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) one hour prior the experiment. The average diameter of tested tendons was 6.4 ± 0.9 mm.

First step of the investigations was conducting the tensile test to characterize the material. The mechanical properties under the static tension were determined with the use of the MTS Insight 50 testing machine. The samples were mounted using flat clamps and they were extended at the speed of 5 mm/min. The measurement base of the samples was 50 mm. The determined values of mechanical parameters: Young's modulus and the tensile strength were shown as the mean values (nine specimens) with a standard deviation ($X \pm \text{SD}$).

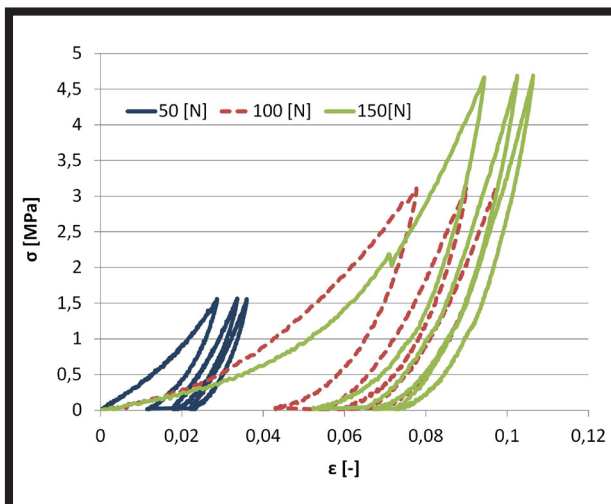
Then, repeated ten loading-unloading cycles in the quasi-linear tensile test were made for three levels of the maximal load: 50 N, 100 N and 150 N. The values of the load were chosen on the base of the tensile test results, within the elastic strain limit of the pig's tendon. The test was made with the use of MTS Insight 50 testing machine at a constant rate of elongation 5 mm/min. The initial samples length was 50 mm. Three mechanical hysteresis loops for each level of load were registered (1st, 5th, 10th) and used for calculation the value of:

- dissipated energy (the area of the loop),
- total work performed on the tendon during stretching (the area under curve for increasing strain),
- energy returned (the area under curve for decreasing strain),
- mechanical hysteresis (the proportion of strain energy that is dissipated by internal viscous damping in each extension cycle [7]. It was calculated as the ratio of the area within the stress-strain loop (strain energy dissipated) to the area beneath the load portion of the curve (strain energy input).

Two samples for each load level were used. The calculated values of energies were shown as the mean values with a standard deviation ($X \pm \text{SD}$).

Wartość modułu sprężystości dla badanych ścięgien wieprzowych wyniosła 256 ± 47 MPa, wartość wytrzymałości na rozciąganie wyniosła $16,1 \pm 2,2$ MPa.

Na RYS. 1 pokazano pętle histerezy mechanicznej dla ścięgien wieprzowych dla trzech poziomów obciążenia. Dla wszystkich poziomów obciążenia, powierzchnia pętli histerezy w pierwszym cyklu obciążenia-odciążenia była znacznie większa, ale zmniejszała się szybko po tym cyklu i pomiędzy piątym i dziesiątym cyklem stawała się prawie stała, co koreluje ze stanem po kondycjonowaniu ścięgien. Wartości energii dyssypacji były najwyższe w pierwszym cyklu obciążenia-odciążenia dla wszystkich poziomów obciążenia (RYS. 2). Oznacza to, że w pierwszym cyklu niska wartość energii pochłoniętej podczas odkształcenia została zwrócona po tym jak obciążenie zostało usunięte. Pomiedzy piątym i dziesiątym cyklem obciążenia-odciążenia zaobserwowano stabilizację wartości energii dyssypacji. Średnie wartości energii dyssypacji dla zarejestrowanych cykli wyniosły $4,4 \pm 0,7$ mJ, $19,7 \pm 3,7$ mJ, $23,9 \pm 3,9$ mJ dla poziomów obciążenia odpowiednio 50, 100 i 150 N. Wartości energii dyssypacji w piątym cyklu były niższe w przybliżeniu o 72, 74 i 77% dla poziomów obciążenia odpowiednio 50, 100 and 150 N w porównaniu do pierwszego cyklu. Wartości te w dziesiątym cyklu były niższe w przybliżeniu o 77, 80 and 82% dla poziomów obciążenia odpowiednio 50, 100 and 150 N w porównaniu do pierwszego cyklu. W przypadku wartości energii zwróconej podczas odciążenia ścięgien, różnice pomiędzy poszczególnymi cyklami są mniej znaczące (RYS. 3). Różnice w wartościach energii wróconej pomiędzy piątym i dziesiątym cyklem wyniosły w przybliżeniu 17, 11 i 7% dla poziomów obciążenia odpowiednio 50, 100 i 150 N. Pomiedzy piątym i dziesiątym cyklem obciążenia-odciążenia, większość energii pochłoniętej podczas odkształcenia została zwrócona, kiedy obciążenie rozciągające zostało usunięte. Zauważono wpływ zastosowanego obciążenia na wartości, zarówno energii dyssypacji, jak i energii zwróconej. Tego rodzaju zależności nie zaobserwowano dla wartości histerezy mechanicznej (RYS. 4).

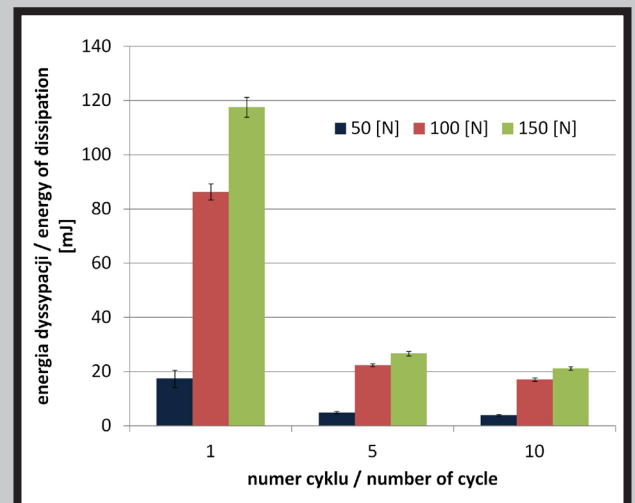


RYS. 1. Pętle histerezy mechanicznej (naprężenie (σ) – odkształcenie (ϵ)) dla ścięgien wieprzowych dla pierwszego, piątego i dziesiątego cyklu obciążenia-odciążenia i trzech poziomów obciążenia.
FIG. 1. Mechanical hysteresis loops (stress (σ) – strain (ϵ)) for porcine tendons for the first, fifth and tenth cycle of the loading-unloading and three load levels.

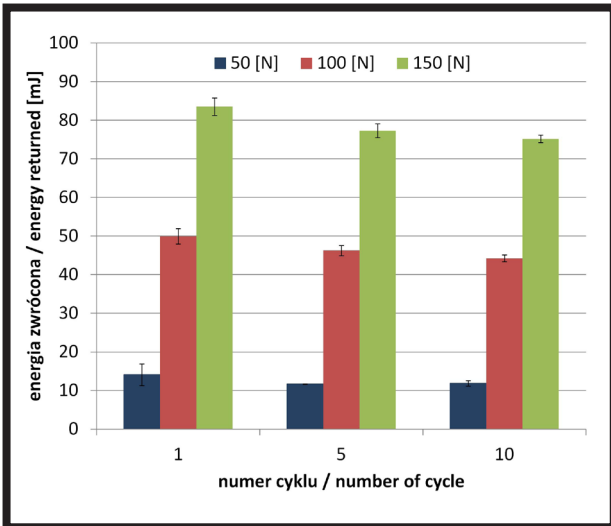
Results and Discussion

The value of Young's modulus for tested porcine tendons was 256 ± 47 MPa, the value of ultimate tensile strength was 16.1 ± 2.2 MPa.

In FIG. 1 mechanical hysteresis loops for porcine tendons for three levels of load were shown. For all load levels, the area of hysteresis loop in the first loading-unloading cycle is significantly larger, but decays quickly after this cycle and between fifth and tenth cycle becomes nearly steady, what corresponds to the preconditioned state of the tendon. The values of dissipated energy were the highest in the first cycle of loading-unloading for all levels of load (FIG. 2). This means that, in the first cycle low value of the energy stored during stretching was returned after the tensile load was removed. Between fifth and tenth cycle of the loading-unloading, the stabilization of value of energy dissipation was observed. The mean values of energy dissipation for recorded cycles were 4.4 ± 0.7 mJ, 19.7 ± 3.7 mJ, 23.9 ± 3.9 mJ for load levels 50, 100 and 150 N respectively. The values of dissipated energy in the fifth cycle were lower by approximately 72, 74 and 77% for load levels 50, 100 and 150 N respectively in comparison to the first cycle. These values in the tenth cycle were lower by approximately 77, 80 and 82% for load levels 50, 100 and 150 N, respectively in comparison to the first cycle. In the case of the values of returned energy during unloading of tendons, the differences between individual cycles were less significant (FIG. 3). The differences of the returned energy values between first and fifth cycle were approximately 17, 11 and 7% for load levels 50, 100 and 150 N, respectively. Between fifth and tenth cycle of the loading-unloading, most of the energy stored during stretching was returned after the tensile load was removed. The influence of the applied loads on the values of both the energy of dissipation and the returned energy can be seen. For the values of mechanical hysteresis, this kind of dependency was not found (FIG. 4). The highest values of mechanical hysteresis were observed in first cycles for all load levels. The stabilization of the value of the mechanical hysteresis was observed between fifth and tenth cycles, its values were between 22 and 32%, respectively, what was about half of the hysteresis value for the first cycle.



RYS. 2. Energia dyssypacji dla ścięgien w pierwszym, piątym i dziesiątym cyklu obciążenia-odciążenia dla trzech poziomów obciążenia.
FIG. 2. The energy of dissipation for tendons in the first, fifth and tenth cycle of the loading-unloading for three levels of load.



RYS. 3. Energia zwrócona dla ścięgien w pierwszym, piątym i dziesiątym cyklu obciążenie-odciążenie dla trzech poziomów obciążenia.

FIG. 3. The returned energy for tendons in the first, fifth and tenth cycle of the loading-unloading for three levels of load.

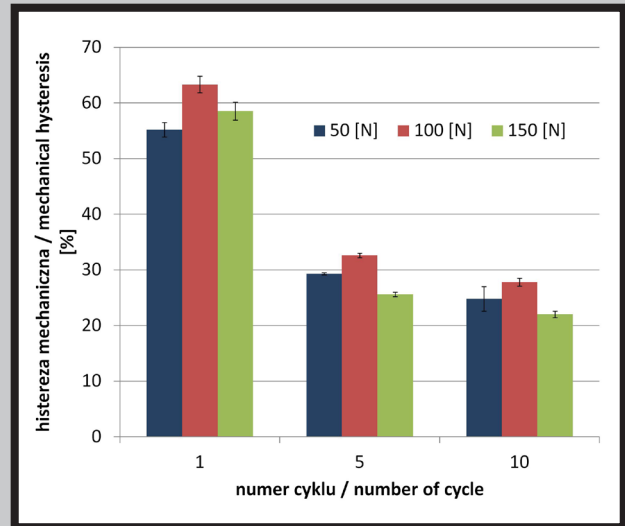
Najwyższa wartość wartości histerezy mechanicznej występowała w pierwszym cyklu dla wszystkich poziomów obciążenia. Pomiędzy piątym i dziesiątym cyklem nastąpiła stabilizacja wartości histerezy mechanicznej, jej wartości wyniosły odpowiednio od 22 do 32%, co stanowiło około połowę wartości histerezy dla pierwszego cyklu.

Natychmiast po pierwszym cyklu obciążenia wystąpiło trwałe odkształcenie. Odkształcenie resztkowe po pierwszym cyklu testu wyniosło 0.027/0.077/0.094 dla poziomów obciążenia odpowiednio 50, 100 i 150 N (RYS. 5). Po cyklu dziesiątym, jego wartość wyniosła 0.035/0.097/0.106 dla poziomów obciążenia odpowiednio 50, 100 i 150 N. Wzrost wartości odkształcenia resztkowego wynika z lepkością ścięgien.

Uzyskane wartości histerezy mechanicznej w piątym i dziesiątym cyklu pokrywają się z wartościami histerezy dla ścięgien ludzkich podanymi przez Maganaris i wsp. [2] w zakresie od 3 do 38% dla testu rozciągania *in vitro* oraz pomiędzy 5 i 25% dla testów *in vivo*. Na podstawie przeglądu literatury, Finni i wsp. [3] podali wartości histerezy mechanicznej dla wybranych ścięgien zwierzęcych pomiędzy 5 i 19% oraz pomiędzy 5 i 40% dla ścięgien ludzkich w warunkach *in vivo*. W badaniach przeprowadzonych dla ścięgien świni przez Shadwicka [7], wartość histerezy mechanicznej była pomiędzy 17,5 i 24,5%. Dla ścięgien szczura, średnia wartość histerezy była na poziomie 14,4% [8]. Zarówno dla ścięgien świni jak i szczura, wartości te były niższe niż uzyskane w tym opracowaniu. Różnice w prezentowanych wartościach histerezy mechanicznej są stosunkowo duże, co wynika z kilku czynników. Największe znaczenie mają różnice metodologiczne pomiędzy badaniami (mocowanie ścięgien, przekrój poprzeczny), anatomiczne miejsce pobrania, starzenie, aktywność fizyczna lub jej brak [4].

RYS. 5. Odkształcenie w funkcji czasu dla ścięgien w pierwszym, piątym i dziesiątym cyklu obciążenie-odciążenie dla trzech poziomów obciążenia.

FIG. 5. Strain versus time for porcine tendons in the first, fifth and tenth cycle of the loading-unloading for three levels of load.

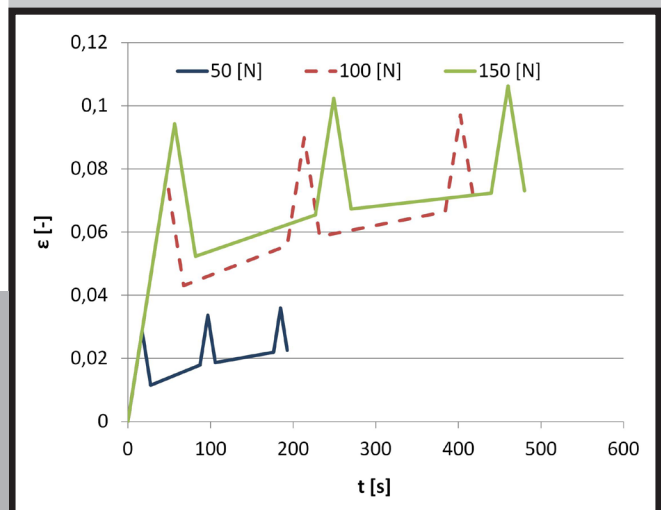


RYS. 4. Histereza mechaniczna dla ścięgien w pierwszym, piątym i dziesiątym cyklu obciążenie-odciążenie dla trzech poziomów obciążenia.

FIG. 4. The mechanical hysteresis for tendons in the first, fifth and tenth cycle of the loading-unloading for three levels of load.

A permanent strain occurred immediately after the first loading cycle. The residual strain after first cycle of test was 0.027/0.077/0.094 for the load levels 50, 100 and 150 N, respectively (FIG. 5). After the tenth cycle it was 0.035/0.097/0.106 for the load levels 50, 100 and 150 N, respectively. The increase in the value of residual strain results from the viscoelastic nature of tendons.

Obtained values of mechanical hysteresis in fifth and tenth cycle are in agreement with hysteresis values given by Maganaris et al. [2] for isolated human tendons in the range between 3 and 38% in tensile testing *in vitro* and between 5 and 25% in testes *in vivo*. Finni et al. [3] based on literature review, reported that the hysteresis values were between 5 and 19% for selected animals tendons and between 5 and 40% for human tendons tested *in vivo*. The investigation conducted on pig's tendons by Shadwick [7] showed the value of the mechanical hysteresis between 17.5 and 24.5%. For rat tendons the mean value of hysteresis was 14.4% [8]. Both for pig and rat tendons, these values were lower than presented in this study. The differences in reported mechanical hysteresis values are quite large due to many factors. The most significant factors are inter study methodological differences (tendon gripping, cross-sectional area), anatomical site, ageing, disuse or physical activity [4].



Badania histerezy mechanicznej ścięgien wieprzowych pokazały, że cykliczne obciążenie ścięgien powoduje pochłanianie energii przez nie oraz niezależność wartości histerezy od wartości zastosowanego obciążenia. Histereza mechaniczna badanych ścięgien była pomiędzy 22 i 32%, co jest zgodne z niektórymi wynikami badań dla ścięgien ludzkich [3-4]. Relatywnie niska wartość histerezy mechanicznej oznacza, że większość energii sprężystej, która jest pochłonięta podczas rozciągania zostaje zwrócona zaraz po usunięciu obciążenia. Mechanizm zwracania energii w ścięgnach pozwala na zaoszczędzenie energii metabolicznej podczas ruchu [9].

Badania histerezy mechanicznej dają możliwość lepszego zrozumienia biomechaniki ścięgien oraz dostarczają danych do modelowania i przewidywania zachowania ścięgien w warunkach obciążenia cyklicznego.

Podziękowania

Praca zrealizowana w ramach działalności statutowej M-1/6/2016/DS.

Conclusions

The investigation of mechanical hysteresis of porcine tendons showed that the cyclic loading of the tendons resulted in elastic energy storage and the value of hysteresis independence of the value of applied load on tendons. Tested porcine tendons exhibited mechanical hysteresis between 22 and 32%, what is with good agreement with some results taken from the literature for human tendons [3-4]. Relatively low value of mechanical hysteresis means that most of the elastic energy stored during stretching is returned once after the tensile load is removed. Mechanism of energy provision in tendons allows to save metabolic energy during locomotion [9].

Mechanical hysteresis experiments give the possibility of a better understanding of tendons biomechanics and provide data for modeling and predicting the tendons behavior under the cyclic loading conditions.

Acknowledgement

The work was realized due to statutory activities M-1/6/2016/DS.

Piśmiennictwo

- [1] Cheng M., Chen W., Weerasooriya T.: Mechanical behavior of bovine tendon with stress-softening and loading-rate effects. *Advances in Theoretical and Applied Mechanics* 2(2) (2009) 59-74.
- [2] Maganaris C.N., Narici M.V., Almekinders L.C., Maffulli N.: *Biomechanics of the Achilles Tendon*, Springer (2007) 17-24.
- [3] Finni T., Peltonen J., Stenroth L., Cronin N.J.: Viewpoint: On the hysteresis in the human Achilles tendon. *Journal of Applied Physiology* 114 (2003) 515-517.
- [4] Maganaris C.N., Paul J.P.: Hysteresis measurements in intact human tendon. *Journal of Biomechanics* 33 (2000) 1723-1727.
- [5] Foure A., Nordez A., Cornu C.: Plyometric training effects on Achilles tendon stiffness and dissipative properties. *Journal of Applied Physiology* 109 (2010) 849-854.

References

- [6] Janjic N., Ninkovic S., Harhaji V., Stankovic M., Savic D., Milanov M.: Biomechanical properties of porcine tendon, ICET-2013, paper no. T.1-1.9, 1-4.
- [7] Shadwick R.E.: Elastic energy storage in tendons: mechanical differences related to function and age. *Journal of Applied Physiology* 68(3) (1990) 1033-1040.
- [8] Eliasson P., Fahlgren A., Pasternak B., Aspenberg P.: Unloaded rat Achilles tendons continue to grow, but lose viscoelasticity. *Journal of Applied Physiology* 103 (2007) 459-463.
- [9] Maffulli N., Renstrom P., Leadbetter W.B.: *Tendon Injuries*. Basic Science and Clinical Medicine, Springer (2005) 14-21.



●●●●●●●●●●●●●●●●

STUDIA PODYPLOMOWE

Biomateriały – Materiały dla Medycyny

2017/2018

| | |
|---|---|
| <p>Organizator: Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Katedra Biomateriałów</p> <p>Kierownik: prof. dr hab. inż. Elżbieta Pamuła Sekretarz: dr inż. Małgorzata Krok-Borkowicz</p> | <p>Adres: 30-059 Kraków, Al. Mickiewicza 30 Pawilon A3, p. 208, 210 lub 501 tel. 12 617 44 48, 12 617 23 38, fax. 12 617 33 71 email: epamula@agh.edu.pl; krok@agh.edu.pl</p> <p>http://www.agh.edu.pl/ksztalcenie/oferta-ksztalcenia/studia-podyplomowe/biomaterialy-materialy-dla-medycyny/</p> |
| <p>Charakterystyka: Tematyka prezentowana w trakcie zajęć obejmuje przegląd wszystkich grup materiałów dla zastosowań medycznych: metalicznych, ceramicznych, polimerowych, węglowych i kompozytowych. Słuchacze zapoznają się z metodami projektowania i wytwarzania biomateriałów a następnie możliwościami analizy ich właściwości mechanicznych, właściwości fizykochemicznych (laboratoria z metod badań: elektronowa mikroskopia skaningowa, mikroskopia sił atomowych, spektroskopia w podczerwieni, badania energii powierzchniowej i zwilżalności) i właściwości biologicznych (badania: <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i>). Omawiane są regulacje prawne i aspekty etyczne związane z badaniami na zwierzętach i badaniami klinicznymi (norma EU ISO 10993). Słuchacze zapoznają się z najnowszymi osiągnięciami w zakresie nowoczesnych nośników leków, medycyny regeneracyjnej i inżynierii tkankowej.</p> | |
| <p>Sylwetka absolwenta: Studia adresowane są do absolwentów uczelni technicznych (inżynieria materiałowa, technologia chemiczna), przyrodniczych (chemia, biologia, biotechnologia) a także medycznych, stomatologicznych, farmaceutycznych i weterynaryjnych, pragnących zdobyć, poszerzyć i ugruntować wiedzę z zakresu inżynierii biomateriałów i nowoczesnych materiałów dla medycyny. Słuchacze zdobywają i/lub pogłębiają wiedzę z zakresu inżynierii biomateriałów. Po zakończeniu studiów wykazują się znajomością budowy, właściwości i sposobu otrzymywania materiałów przeznaczonych dla medycyny. Potrafią analizować wyniki badań i przekładać je na zachowanie się biomateriału w warunkach żywego organizmu. Ponadto słuchacze wprowadzani są w zagadnienia dotyczące wymagań normowych, etycznych i prawnych niezbędnych do wprowadzenia nowego materiału na rynek. Ukończenie studiów pozwala na nabycie umiejętności przygotowywania wniosków do Komisji Etycznych i doboru metod badawczych w zakresie analizy biozgodności materiałów.</p> | |
| <p>Zasady naboru: Termin zgłoszeń: od 20.09.2017 do 20.10.2017 (liczba miejsc ograniczona - decyduje kolejność zgłoszeń) Wymagane dokumenty: dyplom ukończenia szkoły wyższej Osoby przyjmujące zgłoszenia: prof. dr hab. inż. Elżbieta Pamuła (pawilon A3, p. 208, tel. 12 617 44 48, e-mail: epamula@agh.edu.pl) dr inż. Małgorzata Krok-Borkowicz (pawilon A3, p. 210, tel. 12 617 23 38, e-mail: krok@agh.edu.pl) mgr inż. Krzysztof Pietryga (pawilon A3, p. 501, tel. 12 617 47 44, pietryga@agh.edu.pl)</p> | |
| <p>Czas trwania: 2 semestry (od XI 2017 r. do VI 2018 r.) 8 zjazdów (soboty-niedziele) 1 raz w miesiącu</p> | <p>Opłaty: 2 600 zł</p> |



XIII Ogólnopolska Konferencja Naukowa
TYTAN I JEGO STOPY



www.ti2017.pollub.pl

24 - 27 września 2017 r.
Janów Podlaski

POLITECHNIKA LUBELSKA
WYDZIAŁ MECHANICZNY
KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ

Komitet Nauki o Materiałach Polskiej Akademii Nauk
Polskie Towarzystwo Materiałoznawcze
Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów
Oddział SIMP w Lublinie

Komitet Organizacyjny Konferencji

prof. dr hab. Barbara Surowska - Przewodnicząca
dr inż. Krzysztof Pałka - Wiceprzewodniczący
dr inż. Patryk Jakubczak - Sekretarz
mgr Marta Drozd (biuro)
dr inż. Monika Ostapiuk
mgr inż. Krzysztof Majerski
mgr inż. Konrad Dadej

Terminarz

20 III 2017

termin zgłaszania uczestnictwa
i nadsyłania abstraktów

3 IV 2017

akceptacja abstraktów

20 IV 2017

ostateczny termin wnoszenia opłat

30 VI 2017

termin nadsyłania artykułów

Tematyka Konferencji

- Struktura i właściwości tytanu i jego stopów
- Inżynieria powierzchni, zaawansowane technologie obróbki cieplno-plastycznej i powierzchniowej
- Nowe technologie wytwarzania i przetwarzania tytanu, w tym technologie 3D
- Aplikacje tytanu (m.in. w przemyśle chemicznym, lotniczym, okrętowym, budowlanym i medycynie)

Opłaty Konferencyjne

Koszt uczestnictwa w konferencji wynosi 2300 zł. Opłata obejmuje: materiały konferencyjne, zakwaterowanie, pełne wyżywienie oraz imprezy towarzyszące.

Możliwa jest zniżka w wysokości 200 zł w przypadku zakwaterowania w pokoju 2-osobowym.

Publikacje

Artykuły, po rekomendacji Komitetu Naukowego, zostaną opublikowane w czasopiśmie z listy A oraz w punktowanych czasopiśmie krajowych m.in. w Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów.

