

tygodniu ponownie stwierdzono, iż powstająca w grupie D nowa tkanka miała dużo bardziej zbity strukturę niż w grupie K i była bardziej zbliżona wartością gęstości do tkanek otaczających. Podobne wyniki uzyskano podczas pomiarów gęstości kości przy użyciu densytometru rentgenowskiego ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ). Ujawniły one dla grupy D wyższe wartości gęstości kości i większą dynamikę kościotworzenia.

## Wnioski

Ze wstępnych badań doświadczalnych wynika, iż mieszanina złożona z odbiałzonej kości ludzkiej, bioszklą i TCP nie wywołuje żadnych negatywnych reakcji u badanych zwierząt. Czas i efekt procesu gojenia tkanki kostnej w miejscach ubytków są w pełni zadawalające. Potwierdzeniem tego wniosku są głównie badania radiologiczne i badania gęstości kości, które wykazały, iż odbudowa tkanką kostną miejsc wypełnionych badaną mieszaniną następowała znacznie szybciej niż tych na bazie skrzepu krwi.

14th day and 4th week of examinations these differences slightly decreased. Just after 8th a new bone tissue in group D had denser structure than in group K and its density was more similar to density of surrounding tissues. During bone density examinations with the use of X-ray densitometer similar measurements were carried out. They showed for group D higher values of bone density and higher dynamics of a new bone regeneration.

## Conclusion

The preliminary examinations show that the mixture which consist of deproteinized human bone, bio-glass and TCP do not cause any negative (harmful) effects with the animals under examination. The time and effect of healing of bone tissue in the places of bone defects are fully satisfying. Confirmation of this conclusion are mainly radiological and bone density examinations, which showed that bone tissue regeneration of places filled with the tested material was progressed significantly faster than these based on the blood clot.

## Piśmiennictwo

- [1] Cieślak-Bielecka A., Sabat D., Cieślak T. i wsp.: Odbiałzona kość bydłowa w rekonstrukcji ubytków kostnych – badania in vivo. Inż. Biomat., 2002, 23-25, 54-56.  
 [2] Haberkowicz K., Bućko M., Haberkowicz M. i wsp.: Hydroksyapatyt naturalny – preparatyka, właściwości. Inż. Biomat., 2003, 30-33, 32-37.  
 [3] Markowska M., Radwan-Oczko M., Ziętek M.: Clinical and radiographic evaluation of Bio-Oss for the treatment of periodontal intra-bony defects-6 months study. Polim Med., 2005, 35(3), 67-74.

## References

- [4] Niedzielski K., Synder M., S. Mazurkiewicz i wsp.: Badania biomechaniczne nowej generacji ceramiki Sz2 jako materiałów kośćco-zastępczych stosowanych w wypełnieniu ubytków kostnych wytworzonych doświadczalnie. Inż. Biomat., 2003, 28, 8-12.  
 [5] Ślósarczyk A. Piekarczyk J.: Ceramic materials on the basis of hydroxyapatite and tricalcium phosphate. Ceramics International. 1999, 25(6), 561-565.

## WSTĘPNE BADANIA NAD WYTWORZENIEM KOMPOZYTÓW GRADIENTOWYCH O STEROWANYM CZASIE RESORPCJI

M. ZIĄBKA\*, E. STODOLAK, K. KILANOWICZ, J. CHŁOPEK

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA BIOMATERIAŁÓW AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA

\*E-MAIL: ZIABKAMAGDALENA@OP.PL

## Streszczenie

Celem pracy były wstępne badania nad wytworzeniem i scharakteryzowaniem biopolimerowego materiału, który stanowiłby jedną z faz modyfikujących resorbowalną osnowę. Tak wytworzony materiał wykorzystany został do otrzymania kompozytowych materiałów gradientowych różniących się trwałością w środowisku in vitro. Wyjściowym materiałem był alginian sodu (NaAlg), który poddawano kąpielom formującym w roztworach soli:  $\text{CaCl}_2$  lub  $\text{ZnCl}_2$ . W ten sposób otrzymano dwa rodzaje modyfikatora różniącego się średnicą (300-400 $\mu\text{m}$ ). Dla otrzymanego materiału określono: skurcz (ds), czas resorpcji (woda/37°C, płyn Ringera/37°C) oraz morfologię powierzchni (mikroskop stereoskopowy). W następnym

## FABRICATION AND PRELIMINARY STUDY OF GRADED COMPOSITES WITH CONTROLLED RESORPTION TIME

M. ZIĄBKA\*, E. STODOLAK, K. KILANOWICZ, J. CHŁOPEK

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

\*E-MAIL: ZIABKAMAGDALENA@OP.PL

## Abstract

The aim of this study was estimation of production a new biopolymeric material, which could be use as a modification phase for resorbable matrix. Such material was used to fabricate graded composites with various durability in in vitro conditions. An initial material was sodium alginate (NaAlg), which was put into shaping bath in saline solutions such as:  $\text{CaCl}_2$  or  $\text{ZnCl}_2$ . It allowed to produce two types of modifiers in form of spheres with different diameters (300-400 $\mu\text{m}$ ). For this material (air-dried) shrinkage (ds), resorption time in different media (water/37°C, Ringer solution/37°C) and the surface morphology were examined (stereoscopic microscope). In the next stage, biopolymeric material (alginate spheres with

etapie materiał biopolimerowy (kulki alginianowe o różnej średnicy i wyjściowy proszek z alginianu sodu) wprowadzano do osnowy z poli-L-laktydu (PLLA) otrzymując w ten sposób serię materiałów kompozytowych o zróżnicowanym czasie resorpcji. Kompozyty o różnym udziale objętościowym modyfikatora poddano badaniom degradacji stosując jako medium immersyjne bufor fosforanowy (PBS). Stopień degradacji określano na podstawie zmian pH medium a także na podstawie zmian powierzchniowych - obserwacje w mikroskopie optycznym.

**Słowa kluczowe:** kompozytowe materiały gradientowe, alginiany, degradacja polimerów

[Inżynieria Biomateriałów, 69-72, (2007), 106-110]

## Wprowadzenie

Wprowadzenie do resorbowalnej osnowy fazy modyfikującej, której czas degradacji jest różny od czasu degradacji osnowy stanowi nowy rodzaj materiału kompozytowego, w którym kontrolować można czas i szybkość degradacji implantu, dopasowany do szybkości odtwarzania się regenerującej się tkanki. Poszukiwania materiałów charakteryzujących się gradientem resorpcji stanowi wciąż otwarty problem. Podstawową trudnością tego rodzaju materiałów jest technologia ich wytwarzania. Stosowane dotychczas metoda odlewania a następnie prasowania ciśnieniowego folii kompozytowych, jest źródłem wielu defektów i obniżenia parametrów mechanicznych spowodowanych rozwarstwianiem się laminatów złożonych z folii kompozytowych [1-2]. Dodatkowo, problemem w tego rodzaju materiałach jest oszacowanie czasu resorpcji. Badania modelowe wykonane na pojedynczych foliach polimerowych charakteryzują się odmiennym zachowaniem w środowisku in vivo niż laminaty z nich wykonane. Idealny materiał gradientowy przeznaczony do leczenia tkanki kostnej powinien mieć z jednej strony określony czas degradacji w środowisku żywego organizmu a z drugiej strony powinien w początkowej fazie stymulować komórki kostne do zwiększonej aktywności na granicy faz: tkanka-implant [2-3]. Słaba integracja z tkanką kostną, brak bioaktywności materiału stanowi podstawę dla utrzymujących się stanów zapalnych spowodowanych produktami degradacji materiału resorbownego.

W nurcie zainteresowań inżynierii biomateriałów pozostają resorbowalne materiały polimerowe pochodzenia syntetycznego (PLLA, P(DL)LA, PGLA, PCL), jak i naturalnego (alginiany-Alg, chitozan-CS, hialuronian-HA). Poznany czas trwałości materiałów syntetycznych jak i nieszkodliwość produktów ich degradacji są podstawą, dla której popularność tej grupy materiałów sięga około 20% całkowitej produkcji biomateriałów. Im dłuższy czas potrzebny na regenerację uszkodzonej tkanki tym materiał implantacyjny powinien charakteryzować się dłuższym czasem trwałości w środowisku żywego organizmu [2]. Szereg trwałości materiałów syntetycznych przedstawia się następująco: PCL < PLLA < PDLLA < PGA [4]. Czas degradacji materiałów biopolimerowych jest krótszy i zależy od rodzaju materiału (kwas alginowy AlgA, hialuronowy HA - kilka godzin; chitoza CS - kilka dni). W grupie biopolimerów na szczególną uwagę zasługują polisacharydy takie jak sole hialuronowe jak i alginianowe. Hialuroniany wchodzi w skład glikozaminoglikanów obecnych w macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Alginiany dzięki swemu podobieństwu chemicznemu (należą do tej samej grupy polisacharydów) mogą być również wykorzystane jako materiały mimetyczne stymulujące odtwarzanie ECM w warunkach uszkodzonej tkanki [5-6].

Wykorzystując informacje dostępne w literaturze zaprojektowano i zoptymalizowano proces wytwarzania gra-

different diameter, and initial sodium alginate powder) were introduced into poly-L-lactide (PLLA) matrix. By this method, a number of composite materials with diversified resorption time were received.

Composites with various volume fraction of modifier were put to the degradation tests, in which as an immersion medium phosphate buffer (PBS) was used. Degradation degree was defined on the basis of pH changes of the immersion medium, as well as the material surface changes – optical microscopic study.

**Keywords:** graded composite, alginate, polymer degradation

[Engineering of Biomaterials, 69-72, (2007), 106-110]

## Introduction

Introduction of modifying phase with different degradation characteristics than a matrix into a resorbable matrix leads to a new type of composite material which allows to control time and rate of degradation of an implant. The main problem concerning materials with gradual resorption is lack of appropriate method of their fabrication. Most popular production method of such materials i.e. casting and than pressing of composite polymeric films but this methods lead materials to defects and inferior mechanical properties[1-2]. It was caused by composite delamination. Additional problem is estimation of the materials resorption time. Literature result showed that resorption time of single polymeric films cannot be transferred to the laminate composites [2-3]. An ideal graded material should have specified degradation time in in vivo condition and stimulate bone cells to higher activity in the bone defect. Weak integration of the between material and bone tissue, caused by lack of bioactivity of implants. Resorbable polymers such as PLLA, P(DL)LA, PGLA, PCL, and natural polymers (alginates - Alg, chitosan - CS, hialuronates - HA) are most popular materials in medicine. Well-known durability time of the synthetic materials as well as harmlessness of their degradation products are main reasons why this group is about 20% of the whole production of biomaterials. The longer tissue regeneration time is required, the longer durability is in in vivo condition [2]. The durability time of the synthetic materials is as follows: PCL < PLLA < PDLLA < PGA [4]. The durability time of biopolymers (as alginate) is shorter and, depending on the material type (f.e. alginate acid - AlgA - several hours, or several days – chitosane CS).

Intersting biopolymeric group of materials are polysaccharides such as hialuronates and alginate's salt. Hialuronates are components of glycoaminoglicans which are present in extra cellular matrix (ECM). Alginates are chemical similarity to hialuronate because of their belonging to the same group of polysaccharides. So its can be used as mimetic materials stimulating reconstruction of ECM in conditions of damage tissue [5-6]. Using information gained from the literature production process of graded composite materials with controlled resorption time was designed and optimized.

These materials were made of PLLA (synthetic polymer) by casting method. The dispersion phase was biopolymeric spheres made of sodium alginate (NaAlg). The alginate spheres were made as a result of gelling process of sodium alginate in inorganic salt solution (CaCl<sub>2</sub>). The introduction of the biopolymeric spheres into the polymeric matrix (PLLA) was to decrease composites resorption time. Futhermore, the ability to control size of the bio-polymeric spheres gives opportunity to produce composites with controlled resorption time which can be applied for osseous tissue healing.

dientowych materiałów kompozytowych o kontrolowanym czasie resorpcji. Materiały te wytwarzano metodą odlewania z polimeru syntetycznego PLLA, w której fazę zdyspergowaną stanowiły biopolimerowe kule z alginianu wapnia. Sfery alginianowe otrzymano w wyniku procesu żelowania soli alginianu sodu (NaAlg) w roztworze soli nieorganicznej  $\text{CaCl}_2$ . Wprowadzenie kul z biopolimeru do matrycy z syntetycznego polimeru miało na celu obniżenie czasu resorpcji kompozytu, a możliwość sterowania wielkością kul biopolimerowych daje szansę sterowania czasem resorpcji materiału kompozytowego przeznaczonego do leczenia tkanki kostnej.

## Materiały i metody

Podstawową fazą kompozytów gradientowych stanowiły kulki alginowe otrzymane z soli sodowej kwasu alginowego (NaAlg). Do wytworzenia kulek alginowych zastosowano biopolimer w postaci proszku (NovaMatrix-Biopolimer, Norwegia) o zawartości 60-65% monomeru G (reszty kwasu guluronowego). Formowanie biopolimeru do postaci kul przeprowadzono rozpuszczając sól sodowa alginianu w 0.3% roztworze NaCl. Roztwór NaAlg poddano homogenizacji w podwyższonej temperaturze (ok. 40-60°C) uzyskując dwa stężenia soli poddawane dalszej obróbce (formowaniu) a mianowicie: 1.6% i 3% NaAlg. Proces formowania przeprowadzono wkraplając przygotowany roztwór alginianu sodu do kąpielii żelującej, która stanowiły roztwory soli 8%  $\text{CaCl}_2$  lub 10%  $\text{ZnCl}_2$ . Stosując igły o różnych średnicach ( $d_1=0,5$  mm i  $d_2=0,7$ mm) otrzymano dwa rodzaje kulek alginowych różniących się wielkością. Gotowe kulki zostały wysuszone w temperaturze 60°C w suszarce przez okres 12 godzin. Obserwacje powierzchni kul alginowych i skurczu materiału na skutek suszenia prowadzono w mikroskopie stereoskopowym Opticon 300 (CarlZeiss, Niemcy). Na podstawie obserwacji i pomiarów stwierdzono skurcz materiału. Materiał biopolimerowy poddano badaniom degradacji w warunkach in vitro: woda/37°C/2 miesiące oraz płyn Ringera/37°C/2 miesiące. Stopień degradacji kontrolowano przez pomiar przewodnictwa płynu immersyjnego (wody destylowanej, konduktometr Elmetron typ CC-315) lub zmian pH płynu Ringera (pH-metr Elmetron typ CP – 315). Równolegle prowadzono obserwacje mikroskopowe powierzchni kul alginowych inkubowanych w płynach immersyjnych (Nikon 3000, Japonia).

W drugim etapie badań zaprojektowano układ kompozytowy złożony z syntetycznej osnowy poli-L-laktydu (Biomer, Niemcy), do której wprowadzono kule alginianowe. Kompozyty otrzymano metodą odlewania. Nierównomierny rozkład fazy zdyspergowanej (kul alginowych) otrzymano dzięki różnemu rozmiarowi kul z biopolimeru. Do dalszych badań degradacji wybrano materiały kompozytowe:

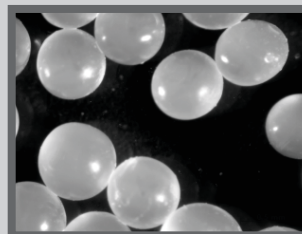
PLLA/NaAlg żelowany w  $\text{ZnCl}_2$  (igła  $d=05$ ), dalej oznaczony jako K1

PLLA/NaAlg żelowany w  $\text{ZnCl}_2$  (igła  $d=07$ ), dalej oznaczony jako K2

PLLA/NaAlg żelowany w  $\text{CaCl}_2$  (igła  $d=05$ ), dalej oznaczony jako K3

PLLA/NaAlg żelowany w  $\text{CaCl}_2$  (igła  $d=07$ ), dalej oznaczony jako K4

Otrzymane kompozyty inkubowano w płynie Ringera i buforze fosforanowym (PBS). Stopień degradacji materiałów oceniano na podstawie zmian pH płynów immersyjnych (37°C/3 miesiące) równocześnie prowadzono obserwacje mikroskopowe optycznym (CarlZeiss, Niemcy). Materiałem odniesienia stanowiła folia z czystego polimeru PLLA, poddawana degradacji w tych samych warunkach, co materiały kompozytowe.



**RYS.1. Fotografia mikroskopowa 3% kulek  $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ .**  
**FIG.1. Microphotograph of 3%  $\text{Ca}(\text{Alg})_2$  spheres.**

## Materials and methods

The main phase of the graded composites was alginate spheres obtained from sodium alginate (NaAlg). The alginate spheres were made from the biopolymer powder (NovaMatrix-Biopolymer, Norway) containing 60-65% of G monomer (guluronate acid radical). Formation of the biopolymer spheres carried out by dissolving sodium alginate in 0.3% NaCl solution. NaAlg solution was homogenized in temperature about 40-60°C. Two kind of alginate solutions 1.6% and 3% were prepared. The spheres were formed by dropping in the sodium alginate solution into a gelling bath of 8%  $\text{CaCl}_2$  or 10%  $\text{ZnCl}_2$  solution. Two types of the alginate spheres with different size (needles with various diameters  $d_1=0.5$  mm i  $d_2=0.7$ mm) were received. The spheres were dried at 60°C for 12 hours. Surface of the alginate spheres and their air-dried shrinkage were investigated using stereoscope microscope Opticon 300 (CarlZeiss, Germany). On the basis of observations and measurements the material shrinkage was estimated. The biopolymeric material was put to in vitro degradation tests: water solution/37°C/2 months and Ringer solution/37°C/2 months. Rate of degradation was controlled by measuring of immersion fluid (distilled water) conductivity and pH changes of Ringer solution (pH-meter Elmetron, type CP – 315). Changes of surface after incubation were observed by using optical microscope (Nikon 3000, Japan).

In the next stage of investigation, composite systems made based on synthetic matrix poly-L-lactide (Biomer Germany) modified with alginate spheres was designed, and fabricated by casting process. Non-uniform distribution of dispersed phase (alginate spheres) was reached by using the biopolymeric spheres with different size.

Further degradation tests were carried on such composite materials as:

PLLA/NaAlg gelled in  $\text{ZnCl}_2$  solution (needle  $d=0.5$ ), named as K1

PLLA/NaAlg gelled in  $\text{ZnCl}_2$  solution (needle  $d=0.7$ ), named as K2

PLLA/NaAlg gelled in  $\text{CaCl}_2$  solution (needle  $d=0.5$ ), named as K3

PLLA/NaAlg gelled in  $\text{CaCl}_2$  solution (needle  $d=0.7$ ), named as K4

The composite materials were incubated in Ringer solution and in phosphate buffer solution (PBS). Rate of the composites degradation was evaluated on the pH changes (37°C/3 months). The pure synthetic foil was used as the reference material. Both the foil and composite materials were investigated in the same in vitro conditions.

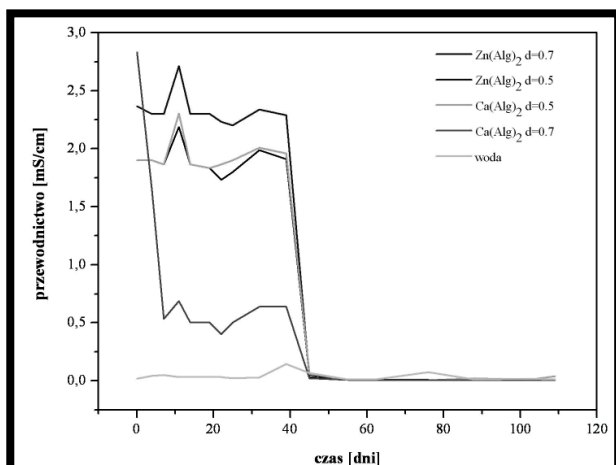
## Results and discussion

### Degradation of alginate spheres (composite dispersed phase)

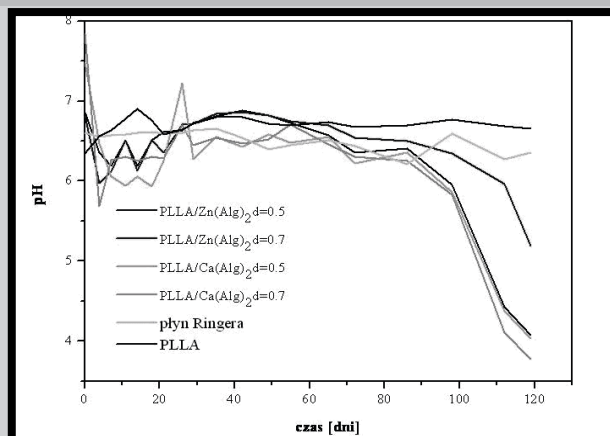
The alginate spheres were result of exchange reaction between monovalent and divalent cation  $\text{Na}^+ \rightarrow \text{Zn}^{2+}$  or  $\text{Na}^+ \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ . The following reactions proceed depending on gelling bath:  $2\text{NaAlg} + \text{ZnCl}_2 \rightarrow 2\text{NaCl} + \text{Zn}(\text{Alg})_2$  or  $2\text{NaAlg} + \text{CaCl}_2 \rightarrow 2\text{NaCl} + \text{Ca}(\text{Alg})_2$ . It is arisen an "egg-box" structure. Microscopic observations of the spheres (FIG.1) showed, that

	Roztwór żelujący $\text{CaCl}_2$		Roztwór żelujący $\text{ZnCl}_2$	
	1.6% NaAlg	3% NaAlg	1.6%NaAlg	3%NaAlg
Średnica kulek mokrych ( $d_1=0.5$ mm)	0.53±0.04	0.56±0.06	0.64±0.05	0.63±0.05
Średnica kulek suchych ( $d_2=0.5$ mm)	0.33±0.03	0.31±0.03	0.34±0.06	0.35±0.06
Średnica kulek mokrych ( $d_1=0.7$ mm)	0.56±0.03	0.58±0.07	0.76±0.1	0.68±0.07
Średnica kulek suchych ( $d_2=0.7$ mm)	0.38±0.05	0.35±0.03	0.39±0.08	0.35±0.06
<b>Skurcz kulek (<math>d_1</math>) [%]</b>	<b>24.14±2.2</b>	<b>17.11±2.5</b>	<b>15.16±2.5</b>	<b>16.83</b>
<b>Skurcz kulek (<math>d_2</math>) [%]</b>	<b>30.67±2.4</b>	<b>22.08±2.6</b>	<b>13.78±2.5</b>	<b>13.78</b>

TABELA 1. Średnica i skurcz kul alginowych.  
TABLE 1. Diameter and air-dried shrinkage of alginate spheres.



RYS.2. Zmiana przewodnictwa kulek alginowych.  
FIG.2. Change of conductivity alginate spheres.



RYS.3. Zmiana pH płynu Ringera kompozytów modyfikowanych kulkami alginowymi.  
FIG.3. Change of pH Ringer solution composite materials modified by alginate spheres.

## Wyniki i dyskusja

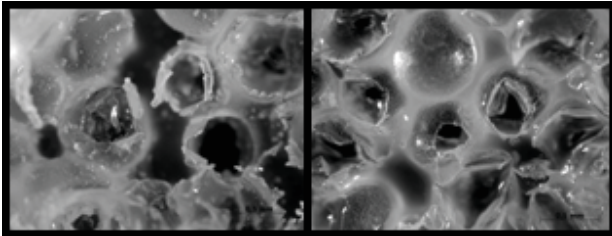
### Degradacja kulek alginowych (fazy zdyspergowanej kompozytu)

Otrzymane kulki alginianowe powstają w wyniku reakcji wymiany kationu jednowartościowego na dwuwartościowy  $\text{Na}^+ \rightarrow \text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Na}^+ \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ . W zależności od zastosowanej kąpieli zestalającej (żelującej) dochodzi do reakcji:  $2\text{NaAlg} + \text{ZnCl}_2 \rightarrow 2\text{NaCl} + \text{Zn}(\text{Alg})_2$  i  $2\text{NaAlg} + \text{CaCl}_2 \rightarrow 2\text{NaCl} + \text{Ca}(\text{Alg})_2$  i powstawania struktury zwanej 'egg-box'. Obserwacje mikroskopowe (RYS.1) wykazały, że stopień skurczu materiału biopolimerowego zależy w pierwszej kolejności od średnicy zastosowanej igły, ale równie istotnym parametrem jest stężenie soli zestalającej alginianu sodu (niskie stężenie soli powoduje deformacje kulistego kształtu). Największy skurcz ok. 30%, zaobserwowano dla niskiego stężenia roztworu NaAlg (1.6%) żelowanego w roztworze  $\text{CaCl}_2$  (TABELA 1). W trakcie inkubacji kulek alginowych w środowisku *in vitro* (woda/37°C/4 m-ce) stwierdzono wysokie zmiany przewodnictwa jonowego płynu immersyjnego w pierwszych dwóch miesiącach inkubacji. Po tym czasie wszystkie rodzaje kul alginowych pozostawały stabilne, przewodnictwo płynu immersyjnego pozostało na poziomie przewodnictwa wody destylowanej (RYS.2). Drugim rodzajem badań trwałości kulek z biopolimeru była inkubacja w wieloelektrolitowym płynie izotonicznym (tzw. płyn Ringera). Oceny degradacji materiałów był pomiar pH (RYS.3). Największe zmiany stężenia jonów wodorowych obserwowane są w pierwszych dniach inkubacji, po tym czasie pH stabilizuje się na poziomie ok. pH=6. Obserwacje mikroskopowe

air-dried shrinkage rate of biopolymeric material depends on the forming needle diameter, and also on the concentration of gelling salt solution ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ). Low salt concentration causes deformation of spherical shape. The greatest shrinkage (ca. 30%) was observed for lower concentration of NaAlg (1.6% solution gelled in  $\text{CaCl}_2$  solution, TAB.1). Durability tests were carried out on biopolymeric spheres. It was found that ionic conductivity of the alginate spheres (water/37°C/4 months), changed in the first two months. After this time all types of the alginate spheres were stable. The conductivity of immersion solution was similar to conductivity of distilled water (FIG.2). An incubation in multi-electrolytic isotonic solution (Ringer), and degradation rate of these materials were estimated by pH measurement (FIG.3). The highest changes in concentration of hydrogen ions were noticed in the first days of incubation. After that time pH was stabilized at the level of pH=6. Microscopic observation the alginate spheres showed; the first step of degradation was surface. Then the deformation shape was occurred (degradation in bulk). There was not observed completely degradation alginate spheres after experiment time.

### Degradation of PLLA/alginate spheres composites

An introduction of calcium or zinc alginate spheres with different size into resorbable polymeric matrix (PLLA) was caused change in composite behavior in *in vitro* conditions. This change was not observed in comparing to polymeric foil. The studies carried out on K1-K4 materials showed, that during the first three months of incubation in multi-electrolytic isotonic solution the composites were stable (pH about 6.5-7). After this time composites containing the calcium alginate spheres (K3-K4) started to degrade (FIG.4).



**RYS.4.** Zdjęcie mikroskopowe kompozytu PLLA/ $Zn(Alg)_2$  ( $d=0,7$ ).  
**FIG.4.** Microphotography of composite PLLA/ $Zn(Alg)_2$  spheres ( $d=0,7$ ).

**RYS.5.** Zdjęcie mikroskopowe kompozytu PLLA/ $Ca(Alg)_2$  ( $d=0,7$ ).  
**FIG.5.** Microphotography of composite PLLA/ $Ca(Alg)_2$  spheres ( $d=0,7$ ).

powierzchni kulek alginowych wykazały, że początkowo degradacji uległa powierzchnia kuli a następnie stwierdzono deformacje kształtu kuli. Do końca trwania eksperymentu nie stwierdzono kompletnej degradacji biopolimeru.

#### Degradacja kompozytów PLLA/kulki alginowe

Wprowadzenie kul z alginianu wapnia lub alginianu cynku, o różnych wielkościach do osnowy z resorbownego polimeru jakim był poli-L-laktyd powoduje zmianę zachowania się kompozytu w sztucznym środowisku biologicznym. Przeprowadzone badania nad układami K1-K4 świadczą, że przez pierwsze trzy miesiące inkubacji w wieloelektrolitowym płynie izotonicznym, kompozyty pozostają stabilne (pH ok. 6.5-7) po tym czasie materiały, w których fazę zdyspergowaną stanowiły kulki z alginianu wapnia (K3-K4) zaczynają się degradować (RYS.4). Lity do tej pory materiał kompozytowy staje się materiałem o wysokiej porowatości, i wielkości porów równej średnicy wprowadzonych kul alginowych (RYS.5). Materiały kompozytowe, w których zastosowano kulki z alginianu cynku (K1-K2) są trwalsze, ich degradacja postępuje wolniej. Morfologia powierzchni nie wykazuje tak istotnych zmian w porównaniu z folia polimerową ani z kompozytami K3-K4.

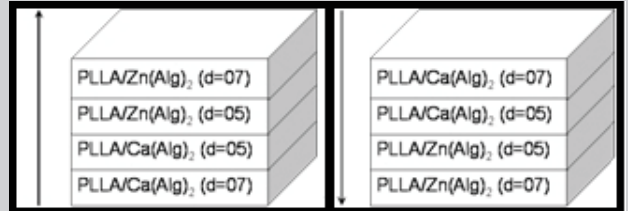
#### Wnioski

Wprowadzenie do osnowy z resorbownego polimeru, kulek alginowych o różnym czasie resorpcji wpływa na proces degradacji materiału kompozytowego. Obecność resorbownej fazy biopolimerowej może przyspieszać proces degradacji materiału - kompozyt z kulkami z alginianu wapnia,  $Ca(Alg)_2$  lub też opóźniać go (kompozyt z kulkami z  $Zn(Alg)_2$ ). Optymalizacja procesu wytwarzania fazy modyfikującej – kulek alginowych, które stanowią jedną z faz kompozytu oraz umiejętność regulowania parametrami wpływającymi na trwałość fazy biopolimerowej daje możliwość modelowania gradientowych materiałów kompozytowych o gradiencie trwałości a także gradiencie porowatości. Materiały takie mogą być wprowadzane do organizmu zarówno w postaci już gotowych struktur porowatych ale także jako materiały o porowatości tworzącej się *in situ*.

Na podstawie uzyskanych wyników opracowano kompozyt gradientowy o kontrolowanym czasie degradacji (RYS.6) oraz o zróżnicowanej porowatości (RYS.7).

#### Podziękowania

Praca powstała finansowana w ramach projektu PBZ-KBN-100/T08/2003.



**RYS.6.** Schemat kompozytu gradientowego (gradient degradacji)

**FIG.6.** Schematic diagram of graded composite (gradient of degradation rate).

**RYS.7.** Schemat kompozytu gradientowego (gradient porowatości).

**FIG.7.** Schematic diagram of graded composite (porosity gradient).

The composites which were monolithic became porous, with the pore size equal to the diameter of the alginate spheres (FIG.5). The composites materials containing the zinc alginate spheres (K1-K2) were more durable and their degradation process was slower. Their surface did not observe such important changes as the surface of the pure polymeric foil or K3-K4 composites.

#### Conclusions

The introduction of alginate spheres with different resorption time into resorbable polymeric matrix influences on degradation process of composites. The resorbable biopolymeric phase can accelerate the degradation process in the material (composite with calcium alginate spheres  $Ca(Alg)_2$ ) or can retard it (composite with zinc alginate spheres  $Zn(Alg)_2$ ). The studies of optimalization process with alginate spheres showed that parameters such as durability and porosity can be controlled. This method gives opportunity to composites modelling with different gradients. This type of composite materials can be introduced into organism in two forms i.e. as already porous structures and as materials with *in situ* porosity.

As a conclusion these investigations occurred that graded composites with controlled degradation time (FIG.6.) and composites with diversified porosity (FIG.7) would be designed.

#### Acknowledgements

This work was financially supported by Ministry of Science and Higher Education (grant No.PBZ-KBN-100/T08/2003).

#### Piśmiennictwo

#### References

- [1] K. Rezwan, Q.Z. Chen, J.J. Blaker, A. R. Boccaccin Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. Review, Biomaterials 27 (2006) 3413–3431
- [2] Bianying Wen, Gang Wu, Jian Yu, A flat polymeric gradient material: preparation, structure and property, Polymer 45 (2004) 3359–3365
- [3] Tony G. van Tienen, J.C. Heijkant, P. Buma, Jacqueline H. de Groot, Albert J. Penning, Rene P.H. Veth, Tissue ingrowth and degradation of two biodegradable porous polymers with different porosities and pore sizes; Biomaterials 23 (2002) 1731–1738
- [4] Lakshmi S. Nair, Cato T. Laurencin, Biodegradable polymers as biomaterials, Prog. Polym. Sci. 32 (2007) 762–798
- [5] N. Itano, F. Atsumi, T. Sawai, Y. Yamada et al., Abnormal accumulation of hyaluronan matrix diminishes contact inhibition of cell growth and promotes cell migration, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99 (2002), 3609–3614.
- [6] L.W. Chan, Y. Jin, P.W.S. Heng; Cross-linking mechanisms of calcium and zinc in production of alginate microspheres; International Journal of Pharmaceutics 242 (2002) 255–258