

Patryk ZIÓLKOWSKI, Piotr OWCZARZ, Marek DZIUBIŃSKI

e-mail: patryk.ziolkowski.89@gmail.com

Katedra Inżynierii Chemicznej, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka, Łódź

Wpływ szybkości nagrzewania na proces żelowania hydrożeli chitozanowych

Wstęp

Kontrolowane uwalnianie substancji czynnych jest jednym z głównych nurtów badań w przemyśle farmaceutycznym. Sprzyja to tworzeniu nowych leków, wykazujących wyższą skuteczność oraz ograniczone działania niepożądane. Podstawową formę leków w kontrolowanych systemach uwalniania stanowi połączenie substancji czynnej z polimerową matrycą o specjalnie dobranej przepuszczalności. Jednym z rozwiązań stosowanych obecnie w farmakologii jest użycie matryc polimerowych tworzących układy koloidalne.

Przemiany fazowe żol-żel takich układów wywołane są zmianami *pH* lub temperatury. Układy te można zaliczyć do tzw. inteligentnych systemów dystrybucji leków. Wzbudzają one szczególne zainteresowanie zwłaszcza w aspekcie stosowania ich jako nośników leków oraz jako materiałów do hodowli komórkowej. Układy polimerowe inteligentnych systemów dostarczania leków oparte są głównie na związkach zwanych hydrożelami. Są to trójwymiarowe sieci, cechujące się dużą absorpcją i zdolnością utrzymania wody w swojej strukturze. Hydrożele mogą powstać zarówno z polimerów naturalnych jak i syntetycznych [Van Tomme *i in.*, 2008].

Wykorzystanie wspomnianych powyżej układów do zastosowań farmaceutycznych wymusza spełnienie szeregu wymagań takich jak biokompatybilność, biodegradowalność, nietoksyczność oraz aktywność antybakteryjna. W ostatnich latach do tego typu układów najczęściej wykorzystuje się chitozan. Jest to naturalny biopolimer otrzymywany w wyniku deacetylacji chityny, która stanowi główny składnik budulcowy skorupiaków. Oprócz odpowiednich cech fizykochemicznych, chitozan (dokładniej chityna, z której jest produkowany) powszechnie występuje w przyrodzie, a jego produkcja nie jest kosztowna oraz nie wpływa negatywnie na środowisko [Berger *i in.*, 2004].

Badania doświadczalne

Medium badawcze

Medium badawczym był roztwór soli chitozanu z dodatkiem disodowego β -glicerofosforanu (β -GP) jako środka zobojętniającego. Dodatek β -GP pozwala na utrzymanie *pH* roztworu w zakresie fizjologicznym, zapobiega nagłemu strąceniu się bądź zżelowaniu i pozwala na kontrolowanie procesu przemiany fazowej poprzez regulację temperatury.

Aparatura pomiarowa

Pomiar właściwości reologicznych roztworów chitozanowych przeprowadzono w układzie stożek-płytki reometru rotacyjnego Anton Paar Physica MR 301. Zastosowano układ pomiarowy stożka o średnicy 50 mm i kącie nachylenia 1°. Płytkę układu pomiarowego wyposażoną była w układ regulacji temperatury (ogniwo Peltiera) w celu zapewnienia dokładnej regulacji zadanej temperatury pomiaru oraz umożliwienia sterowania szybkością nagrzewania/chłodzenia badanej próbki.

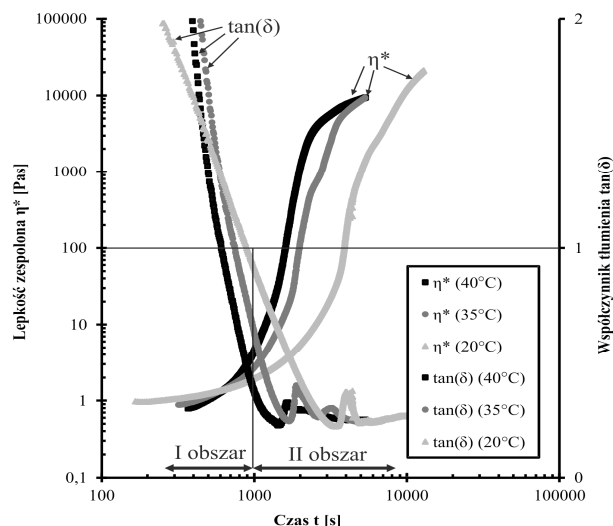
Metodyka pomiarów

Roztwór soli chitozanu umieszczano w temperaturze 4°C (temperatura przechowywania próbki) w układzie pomiarowym reometru. Następnie próbkę podgrzewano do temperatury 20°C z szybkością 0,1 K/s. W warunkach stałej temperatury dokonywano pomiaru widm oscylacyjnych, przy stałej amplitudzie odkształceń γ oraz stałej częstotliwości ω , wyznaczając przebiegi krzywych lepkości zespolonej oraz modułów zachowawczego i stratności. W kolejnych pomiarach próbkę podgrzewano do temperatur 25, 30, 35 i 40°C (przy zachowaniu szybkości nagrzewania 0,1 K/s), powtarzając

pomiary w każdej z temperatur. W drugim wariancie pomiarowym próbkę umieszczano w temperaturze 4°C w układzie reometru, po czym podgrzewano do temperatury 25°C (z szybkością 9 K/s). Następnie próbka poddana była ciągłemu podgrzaniu z określoną stałą szybkością nagrzewania – kolejno 0,1 K/s, 0,01 K/s oraz 0,005 K/s – dokonując dla każdej z nich pomiaru właściwości reologicznych.

Wyniki i dyskusja

Wyniki pomiarów uzyskane w warunkach termostatowania próbek w różnych temperaturach posłużyły do wyznaczenia zmian lepkości zespolonej oraz współczynnika tłumienia w czasie trwania pomiaru. Przebiegi zmian tych parametrów w funkcji czasu dla wybranych temperatur przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Przebieg zmian lepkości zespolonej i współczynnika tłumienia w funkcji czasu dla próbek termostatowanych w temperaturach 20°C, 35°C, 40°C.

W przebiegach krzywych na rys. 1 można wyróżnić dwa charakterystyczne obszary. W pierwszym obszarze medium wykazuje właściwości cieczy lepko-sprężystej. Obszar ten kończy się punktem przemiany fazowej, przecięciu ulegają krzywe modułów zachowawczego i stratności – współczynnik tłumienia $\tan(\delta) = G''/G'$ przyjmuje wartość 1. Powstająca struktura ma charakter miękkiej gumy, w badanym medium właściwości sprężyste zaczynają dominować nad właściwościami lepkości. W literaturze przedmiotu, punkt ten określa się jako przemianę fazową żol-żel.

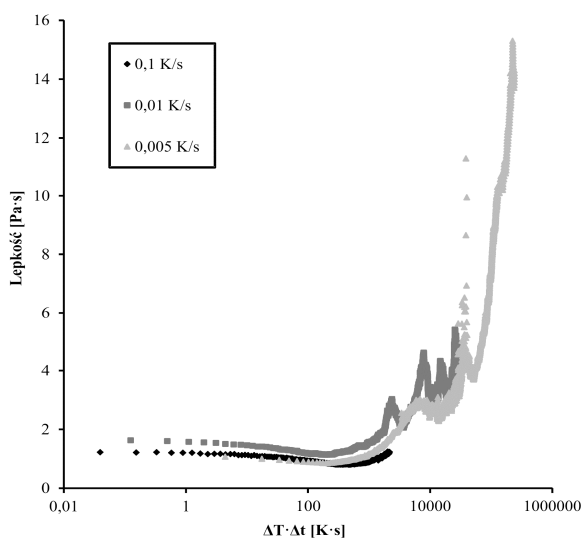
Drugiemu charakterystycznemu obszarowi, otrzymanemu w trakcie dalszego termostatowania próbki, odpowiadają gwałtowne wzrosty lepkości zespolonej, które korelują również z charakterystycznymi pikami krzywych współczynnika tłumienia. W obszarze tym następuje proces właściwego żelowania z wytworzeniem się struktury szklistej.

Można zauważyć, że termostatowanie próbek w wyższych temperaturach powoduje szybsze zainicjowanie procesu żelowania. Czas zainicjowania (przecięcie się krzywych współczynnika tłumienia z wartością 1) dla poszczególnych temperatur przedstawiono w tab. 1. Krótsze czasy dla temperatur wyższych są wynikiem intensywniejszego dostarczania energii termicznej do próbki. Można zatem stwierdzić, iż mechanizm żelowania badanych próbek jest bezpośrednio związany z ilością dostarczanej do układu energii termicznej.

Tab. 1. Czasy zainicjowania procesu żelowania dla próbek termostatowanych w różnych temperaturach.

Temperatura termostatowania T [°C]	Czas zainicjowania procesu żelowania t [s]
20	891
35	743
40	608

Pomiary właściwości reologicznych próbek poddanych ciąglemu podgrzewaniu przy różnych szybkościach pozwoliły na wyznaczenie zależności lepkości w funkcji temperatury. Z przebiegów tych wynika, że w przypadku szybkiego nagrzewania próbki (0,1 K/s), zjawisko żelowania praktycznie nie występuje. Zmniejszenie szybkości nagrzewania próbki (0,01 K/s oraz 0,005 K/s) prowadzi z kolei do osiągnięcia punktu żelowania, przy czym wolniejsza szybkość nagrzewania skutkuje niższą temperaturą położenia punktu żelowania. Prowadzi to do wniosku, że położenie (temperatura) punktu żelowania zależy nie tylko od samego wzrostu temperatury, ale także od szybkości jej narastania czyli od całkowitej ilości doprowadzonej energii. Ilość ta jest proporcjonalna do iloczynu gradientu temperatury i czasu, w którym ten gradient wystąpił. Krzywe zmian lepkości w funkcji iloczynu $\Delta T \cdot \Delta t$ dla różnych szybkości nagrzewania przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Przebieg zmian lepkości w funkcji dostarczonej energii dla różnych szybkości nagrzewania próbki.

Jak wynika z przebiegu krzywych na Rys. 2, w początkowej fazie następuje spadek lepkości dla wszystkich trzech szybkości nagrzewania. Odpowiada to zasadzie spadku lepkości cieczy wraz ze wzrostem temperatury. Początkowy spadek lepkości umożliwia również szybszą dyfuzję cząstek zgodnie z równaniem Stokesa-Einsteina [Kruger i Rauscher, 2009]. W dalszej fazie nagrzewania, lepkość medium w funkcji iloczynu $\Delta T \cdot \Delta t$ gwałtownie wzrasta, co odpowiada położeniu punktu przemiany fazowej żol-żel, praktycznie dla tych samych wartości dostarczonej energii. Niewielkie różnice mogą wynikać z niedoskonałości termostatowania przestrzeni nad stożkiem pomiarowym – niekontrolowanym stratom energii do otoczenia.

W literaturze przedmiotu, hydrożele otrzymywane z soli chitozanowych zaliczane są do grupy żeli fizycznych. Wobec tego większość badań nad strukturą tych układów przedstawionych w literaturze dotyczy pomiarów prowadzonych w stałej temperaturze 37°C – fizjologicznej temperaturze organizmu człowieka. Przedstawione w niniejszej pracy wyniki pomiarów właściwości reologicznych uzyskane w trakcie pomiarów prowadzonych przy wzroście temperatury pozwalają stwierdzić, iż mechanizm przemiany fazowej hydrożeli chitozanowych jest bardziej złożony.

Wpływ ilości dostarczonej energii na proces przemiany fazowej żol-żel, przedstawiony przez autorów, potwierdzają badania Lavertu i in. [2008]. Zaproponowali oni mechanizm, w którym dostarczenie energii cieplnej wywołuje transport protonów z cząstkami chitozanu do cząstki β -GP. Efektem tego przeniesienia jest neutralizacja dodatniego ładunku grupy NH_3^+ w hydrofilowej cząsteczce chitozanu. Następuje zanik sił odpychających o charakterze elektrostatycznym pomiędzy sąsiednimi łańcuchami polimeru, wywołując zmianę charakteru polimeru na hydrofobowy, jednocześnie prowadząc do dominacji sił przyciągających między jego cząsteczkami. Takie podejście sugeruje, że za wzajemne oddziaływanie pomiędzy łańcuchami chitozanu odpowiadają wiązania nie-kowalencyjne – wodorowe (oddziaływania charakterystyczne dla przemiany fizycznej), ale w trakcie procesu następuje oderwanie jonu H^+ i przeniesienie go do cząsteczki β -glicerofosforanu (oddziaływanie o charakterze chemicznym).

Dalsze badania będą dotyczyć opisu modelowego przemian fazowych hydrożeli chitozanowych z wykorzystaniem podejścia zaproponowanego przez Zaccone i in. [2014], co pozwoli określić charakter przemiany fazowej. Przedstawili oni klasyfikację reologiczną różnych mechanizmów dla przemian fazowych materii miękkiej opartą na wartości wykładnika n w równaniu:

$$H(\tau) \sim \tau^n \quad (1)$$

gdzie:

$H(\tau)$ – widmo czasu relaksacji

τ – czas relaksacji

n – wykładnik potęgowy

W zależności od charakteru przemiany fazowej, wykładnik potęgowy n w równaniu (1) przyjmuje wartości:

$n = 0$ – dla warunku całkowitej nieodwracalności,

$n < 0$ – dla przemian odwracalnych

$n > 0$ – dla przemian szklistych w ciałach amorficznych.

Podsumowanie i wnioski

W pracy przedstawiono wyniki pomiarów zmian właściwości reologicznych w warunkach termostatowania próbki oraz pod wpływem wzrostu temperatury (przy różnych szybkościach nagrzewania) dla roztworów soli chitozanu z dodatkiem disodowego β -glicerofosforanu.

Stwierdzono, że temperatura punktu przemiany fazowej (charakterystyczna dla przemiany fizycznej) nie jest stała, lecz jest zależna od szybkości nagrzewania próbki.

Mechanizm żelowania takiego układu nie ma zatem charakteru czysto fizycznego, ale w pewnym stopniu wykazuje cechy żelowania chemicznego.

LITERATURA

- Berger J., Reist M., Mayer J.M., Felt O., Gurny R., (2004). Structure and interaction in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 57, 35-52. DOI: 10.1016/S0939-6411(03)00160-7
- Kruger M., Rauscher M., (2009). Diffusion of a sphere in a dilute solution of polymer coils. *J. Chem. Phys.*, 131, 094902. DOI: 10.1063/1.3216108
- Lavertu M., Filion D., Buschmann M.D., (2008). Heat-induced transfer of protons from chitosan to glycerol phosphate produces chitosan precipitation and gelation. *Biomacromolecules*, 9, 640-650. DOI: 10.1021/bm700745d
- Van Tomme S.R., Storm G., Hennink W.E., (2008). In situ gelling hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications. *Int. J. Pharm.*, 355, 1-18. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.01.057
- Zaccone A., Winter H.H., Siebenbürger M., Ballauff M., (2014). Linking self-assembly, rheology, and gel transition in attractive colloids. *J. Rheology*, 58, 1219-1243. DOI: 10.1122/1.4878838

Praca została wykonana w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki pt. "Badanie kinetyki przemiany fazowej układów chitozanowych wrażliwych na wzrost temperatury" UMO-2014/15/B/ST8/02512.