

WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE I TERMICZNE MIESZANIN POLI(ALKOHOLU WINYLOWEGO) I ELASTYNY

J. SKOPINSKA-WISNIEWSKA*, A. SIONKOWSKA, A. WIECZOREK, J. KOZŁOWSKA, A. PŁANECKA

UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA, WYDZIAŁ CHEMII,
UL. GAGARINA 7, 87-100 TORUŃ,
*MAILTO:JOANNA@CHEM.UNI.TORUN.PL

[*Inżynieria Biomateriałów*, 109-111, (2011), 29-31]

Wstęp

Od wielu już lat do otrzymywania biomateriałów oraz matryc dla inżynierii tkankowej szeroko stosuje się zarówno polimery syntetyczne jak i naturalne. Jak wiadomo, materiały do zastosowań medycznych powinny charakteryzować się odpowiednimi parametrami fizykochemicznymi i mechanicznymi, biokompatybilnością i brakiem toksyczności. Nie powinny wywoływać odczynów zapalnych oraz odpowiedzi immunologicznej organizmu gospodarza oraz ulegać degradacji w określony sposób. By sprostać tym wymaganiom zaczęto badać mieszaniny polimerów syntetycznych i naturalnych. Zwykle składnik syntetyczny zapewnia odpowiednie właściwości mechaniczne i fizyczne, podczas gdy biopolimer poprawia parametry biologiczne materiału [1,2].

Poli(alkohol winylowy) (PVA) jest syntetycznym polimerem rozpuszczalnym w wodzie. Charakteryzuje go znaczna stabilność chemiczna i dość duża elastyczność. Jest on biokompatybilny i biodegradowalny. Dzięki tym właściwościom PVA znalazł wiele zastosowań medycznych, m.in. jako soczewki kontaktowe, systemy dostarczania leków, membrany, substytut kości i chrząstek oraz składnik rusztowań dla inżynierii tkankowej. PVA wykazuje ponadto niską adsorpcję białek i adhezję komórek [2-6].

Elastyna jest białkiem włóknistym stanowiącym składnik macierzy zewnątrzkomórkowej. Zapewnia ona sprężystość wielu tkankom i organom, np. naczyniom krwionośnym, skórze, ścięgnom, płucem. Łańcuch elastynowy zbudowany jest z dwóch rodzajów domen. Pierwsze z nich to mobilne, bogate w glicynę, hydrofobowe obszary o strukturze β odpowiedziane za elastyczność białka. Drugi typ to regiony α -helikalne. Zbudowane są one głównie z alaniny. Zawierają też reszty lizynowe, które uczestniczą w tworzeniu wielofunkcyjnych wiązań sieciujących – desmozyny (DES) i izodesmozyny (IDES). Dzięki ich obecności tworzona jest bardzo wytrzymała i elastyczna, trójwymiarowa sieć polimerowa [7,8]. Właściwości mechaniczne i aktywność biologiczna elastyny sprawiły, że budzi ona coraz większe zainteresowanie jako surowiec do otrzymania biomateriałów, np. substytutów skóry czy naczyń krwionośnych [9]. Należy jednak pamiętać, że wysoki stopień usieciowania tego białka, z jednej strony zapewnia znakomite właściwości mechaniczne, z drugiej jednak ogranicza możliwości jego zastosowania. Dlatego też stosuje się hydrolizaty elastyny, które wykazują gorsze właściwości mechaniczne, lecz chemiczne i biologiczne zbliżone do natywnego białka, dzięki czemu ich obecność w mieszaninie poprawia biokompatybilność materiału [10].

Wcześniejsze badania wykazały, iż hydrolizaty elastyny sprzyjają adhezji i proliferacji komórek fibroblastów mysich 3T3 [10]. Stąd, w celu otrzymania atrakcyjnych matryc dla inżynierii tkankowej postanowiono zastosować mieszaniny

THE MECHANICAL AND THERMAL PROPERTIES OF POLY(VINYL ALCOHOL) /ELASTIN HYDROLYSATES BLENDS

J. SKOPINSKA-WISNIEWSKA*, A. SIONKOWSKA, A. WIECZOREK, J. KOZŁOWSKA, A. PŁANECKA

NICOLAUS COPERNICUS UNIVERSITY, FACULTY OF CHEMISTRY,
7 GAGARINA STR.7, 87-100 TORUN, POLAND,
*JOANNA@CHEM.UNI.TORUN.PL

[*Engineering of Biomaterials*, 109-111, (2011), 29-31]

Introduction

Many natural and synthetic polymers have been extensively used in biomedical applications. The macromolecular biomaterials have to possess appropriate physicochemical and mechanical properties. They also should be degradable, biocompatible, non-toxic, and do not cause inflammatory response of the host tissues. The blends of synthetic and natural polymers are extensively investigated as a materials for medical applications. Synthetic component usually ensures appropriate mechanical and physical properties while biopolymer improves biocompatibility of the material [1,2].

Poly(vinyl alcohol) (PVA) is water-soluble synthetic polymer, with stable chemical properties and high elasticity. It is biocompatible and biodegradable. PVA because of its attractive properties is applicable in several biomedical applications such as contact lenses, bone and cartilage substitutes, delivery systems and membranes, for tendon repair or scaffolds for tissue engineering. PVA exhibits low protein adsorption and cell adhesion [2-6].

Elastin is a fibrous protein, one of the main components of extracellular matrix. It provides resilience to many organs, e.g. blood vessels, skin, ligaments and lung. In amino acids sequence of the protein two kinds of domains are observed. One, are glycine-rich, very mobile hydrophobic regions, which possesses β -structure and are responsible for elastin elasticity. Second kind alterate domains are alanine-rich, α -helical regions. They consist also lysine residues which participate in creation of multifunctional cross-linking bonds, desmosine (DES) and isodesmosine (IDES). They are responsible for the formation of three-dimensional network of this protein and ensure the stability, elasticity and flexibility of elastin [7,8]. Due to its remarkable mechanical properties and biological activity, elastin is becoming more and more popular as a biomaterial, e.g. as a skin substitutes, vascular grafts and cartilage [9]. However, high insolubility of elastin gives problems with processing of this protein. That is why elastin hydrolysates are more useful for biomedical applications. Elastin hydrolysates have similar chemical properties to native protein and improve the biocompatibility of materials [10].

Our previous investigations showed, that the elastin hydrolysates promotes 3T3 cells adhesion and proliferation [10]. So, for the purpose of obtaining an attractive scaffolds for tissue engineering the blends of PVA and elastin hydrolysates were used. As the mechanical properties of elastin hydrolysates are unsatisfactory, the aim of first stage of our work was to study the mechanical parameters of poly(vinyl alcohol)/elastin hydrolysates blends. Tensile strength and elasticity of these materials depends on occurrence of crosslinking bounds and water molecules in the material structure. Thermal analysis was carried out due to determine these factors.

ny poli(alkoholu winylowego) z hydrolizatami elastyny. Ponieważ właściwości mechaniczne hydrolizatów elastyny nie są zadowalające, dlatego celem pierwszego etapu badań było określenie wpływu dodatku tego białka na parametry wytrzymałościowe uzyskanych materiałów. Wytrzymałość i elastyczność materiałów PVA/hydrolizaty elastyny jest warunkowana między innymi obecnością wiązań sieciujących oraz cząsteczek wody w strukturze materiału. By oszacować te dwa parametry przeprowadzono analizę termiczną badanych materiałów.

Materiały i metody

PVA zakupiono w firmie Fluca (stopień hydrolizy 90,98%). Nerozpuszczalną elastynę oczyszczono metodą Lansing'a. Suchy materiał rozdrobniono w ciekłym azocie i poddano hydrolizie alkalicznej [10]. Przygotowano roztwory PVA i hydrolizatów elastyny o odpowiednich stężeniach, a następnie mieszaniny zawierające 3 i 5% hydrolizatów elastyny.

TABELA 1. Wartości naprężenia zrywającego (σ) oraz wydłużenia względnego przy zerwaniu (ϵ_r) dla filmów PVA i jego mieszanin z hydrolizatami elastyny.

TABLE 1. The values of ultimate tensile strength at breaking point (σ) and ultimate percentage elongation at breaking point (ϵ_r) of PVA films and its blends with elastin hydrolysates.

Próbka/Specimen	I etap/stage		II etap/stage		III etap/stage	
	Δm [%]	T_{max} [°C]	Δm [%]	T_{max} [°C]	Δm [%]	T_{max} [°C]
PVA	4,96	269	78,72	426	14,95	
PVA + 3%	5,17	269	72,66	437	15,90	
PVA + 5%	5,49	264	71,46	443	16,83	
Elastyna/Elastin	11,3	298	55,77	-	-	

Właściwości mechaniczne uzyskanych filmów badano przy użyciu maszyny wytrzymałościowej Zwick&Roell Z 0.5. Analizę termiczną przeprowadzono wykorzystując aparat TA Instruments SDT 2960. Badanie prowadzono z szybkością grzania 10°C/min w zakresie temperatur 20-600°C w atmosferze azotu.

Wyniki i dyskusja

Zgodnie z oczekiwaniami, najwyższą wytrzymałością mechaniczną charakteryzują się filmy z poli(alkoholu winylowego). Dodatek hydrolizatów elastyny obniża odporność na zerwanie badanych materiałów (TABELA 1.). Zauważono jednak, że obecność tego białka poprawia elastyczność filmów. Elastyna jest bardzo hydrofobowym polimerem, lecz by mogła być elastyczna konieczna jest obecność wody. Obecnie rozważa się różne modele elastyczności elastyny. Jeden z nich zakłada, że z hydrofobowych domen zrelaksowanej cząsteczki białka wystają nieliczne polarne reszty aminokwasowe biorące udział w jej zwilżaniu. Przy rozciąganiu odsłonięty zostaje hydrofobowy rdzeń. Po zwolnieniu naprężenia cząsteczka wraca do pierwotnego kształtu wskutek występowania oddziaływań hydrofobowych reszt aminokwasowych z polarnym środowiskiem [7,8]. Z tego powodu suche filmy elastynowe są zbyt kruche by mogły zostać poddane badaniu wytrzymałościowemu. Stwierdzono jednakże, że suche filmy zawierające oba polimery wykazują większą elastyczność niż jednoskładnikowe. Prawdopodobnie grupy hydroksylowe pochodzące z PVA pełnią funkcję zbliżoną do cząsteczek wody i dzięki temu wartość wydłużenia przy zerwaniu filmów z mieszanin ulega zwiększeniu. Tezę tę zdają się potwierdzać wyniki analizy termicznej. Pierwszy etap przemian termicznych wszystkich

Materials and methods

PVA was obtained from Fluca (90,98% degree of hydrolysis). Insoluble elastin was purified from pig's aortas by Lansing's method. Dry material was minced in liquid nitrogen. After this procedure elastin powder was hydrolysed in alkaline medium [10]. The solutions of PVA, elastin hydrolysates, and PVA/elastin hydrolysates blend were prepared. The ratio of elastin in PVA blends was: 97:3, 95:5.

The mechanical properties have been investigated by Zwick&Roell Z 0.5. Thermal analysis was performed using TA Instruments SDT 2960 at a rate of 10°C/min from 20 to 600°C in an atmosphere of nitrogen.

Results and discussion

As it was expected, the films of poly(vinyl alcohol) exhibits the highest tensile strength. The elastin hydrolysates addition causes decrease of the mechanical strength (TABLE

1). However, the presence of elastin improves the elasticity of materials. Elastin is very hydrophobic polymer but it is elastic only in wet state. Nowadays various models of elastin elasticity are discussed. One theory is based on the assumption that in relaxed state polar amino acids residues stick out the hydrophobic domains of the protein and participate in the moisture of the biopolymer chain. During stretching the hydrophobic core is exposed. The interactions between hydrophobic residues and polar environment causes recovery to previous conformation after force elimination [7,8]. For this reason dry samples of elastin were to fragile to be tested on Zwick&Roell. Dry films of blends were more elastic than samples made from pure polymers. Probably the hydroxyl groups which are present in PVA work like a water

TABELA 2. Wartości temperatur i ubytków masy występujące w procesie degradacji termicznej filmów z PVA, hydrolizatów elastyny i ich mieszanin; temperatura w maksimum szybkości procesu (T_{max}) i ubytek masy następujący w czasie ogrzewania (Δm).

TABLE 2. The parameters of the thermal decomposition of PVA, elastin hydrolysates and PVA/elastin films; the temperature of the maximum speed of the process (T_{max}) and the mass decrement during the heating (Δm).

Próbka/Specimen	σ , [Mpa]	ϵ_r [%]
PVA	38,44	10,85
PVA + 3%	30,70	13,09
PVA + 5%	20,92	14,63

rodzajów próbek związany jest z parowaniem wody obecnej w materiale. Na podstawie wyników zaprezentowanych w TABELI 2. stwierdzono, że najwięcej wody zaabsorbował film elastynowy. Choć układy mieszane wykazują tylko nieznacznie większą ilość wody związanej niż filmy PVA, to jednak materiały tego typu zyskują większą elastyczność.

Analiza termiczna wykazała, że degradacja termiczna hydrolyzatów elastyny przebiega w dwóch etapach, natomiast PVA i mieszanin w trzech. Wartość T_{max} drugiego etapu degradacji termicznej jest najwyższa w przypadku hydrolyzatów elastyny (298°C). Niewielkie dodatki białka do PVA nie zmieniają znacząco temperatury w maksimum szybkości przebiegu tego procesu (264-269°C). Jednocześnie, najmniejszy ubytek masy na tym etapie degradacji termicznej charakteryzuje filmy z hydrolyzatów elastyny (56%), a największe filmy z PVA (79%). Próbki z mieszanin PVA/elastyna wykazują ubytek masy nieco niższy niż w przypadku filmów z PVA (71%, 73%). Te różnice w stabilności termicznej materiałów z PVA, hydrolyzatów elastyny oraz mieszanin obu polimerów mogą być spowodowane obecnością wiązań sieciujących DES i IDES w strukturze białka. Trzeci pik, występujący tylko na krzywej DTG poli(alkoholu winylowego) i mieszanin pojawia się przy temperaturze 426°C. Zwiększenie zawartości elastyny w materiale powoduje wzrost T_{max} oraz ubytków masy w trzecim etapie degradacji termicznej badanych próbek. To sugeruje obecność oddziaływań pomiędzy łańcuchami polimeru syntetycznego i naturalnego. Jednak by określić naturę tych oddziaływań konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań.

Podsumowanie

Dodatek hydrolyzatów elastyny obniża wytrzymałość mechaniczną materiałów z PVA, lecz jednocześnie zwiększa ich elastyczność. Prawdopodobnie wynika to z obecności dużej ilości grup hydroksylowych wzdłuż łańcucha PVA oraz silnie hydrofobowego charakteru łańcuchów hydrolyzatów elastyny. Uzyskane wyniki sugerują, że oddziaływania hydrofobowo-hydrofilowe pomiędzy oboma polimerami mają większy wpływ na właściwości mechaniczne mieszanin niż obecność niewielkiej liczby wiązań sieciujących (DES, IDES).

molecules necessary for elastin elasticity and improve the ability to elongation of the blends materials. Also the results of thermal analysis stay in agreement with this thesis. The first stage of thermal decomposition of all samples is connected with evaporation of water absorbed to polymer chains. The results presented in TABLE 2. showed that elastin film contains much more water molecules than PVA and blends. The elasticity of blends increases, despite they absorb only a few more water molecules than PVA films.

Thermal analysis demonstrates that elastin hydrolysates destruction had been proceeded in two stages but PVA and blends in three stages. It was observed that T_{max} of the second stage of thermal degradation is the highest for elastin hydrolysates (298°C). The small additions of the protein to poly(vinyl alcohol) do not change significantly temperature of the process (264-269°C). At this stage the lowest value of weight loss was noted for elastin sample (56%) and the highest for PVA film (79%). The mass decrements of PVA/elastin samples are a little lower than in case of pure PVA film (71%, 73%). This differences in thermal stability of elastin, PVA and blends are caused by presence of cross-linking bounds – desmosine and isodesmosine in the protein structure. The third peak on the DTG curve of poly(vinyl alcohol) samples appeared with a maximum at 426°C. The higher amount of elastin in the sample causes increase of T_{max} but also increase the mass decrement of third stage of thermal decomposition. It suggests the presence of interactions between protein and synthetic polymer chains. However, further analysis are necessary for determination of the interactions nature.

Summary

The addition of elastin hydrolysates decreases mechanical strength but increases elasticity of PVA materials. It is probably caused by the presence of hydroxyl groups in PVA chains and highly hydrophobic nature of elastin hydrolysates. It is suggested that hydrophobic-hydrophilic interactions between polymer macromolecules are more important for mechanical properties than small amount of crosslinking bounds (DES, IDES).

Piśmiennictwo

- [1] A. Sionkowska, "Current research on the blends of natural and synthetic polymers as a new biomaterials: Review", *Prog. Polym. Sci.* 36 (2011) 1254-1276.
- [2] M.S. Shoichet, *Polymer scaffolds for biomaterials applications*, *Macromolecules* 43 (2010) 581-591.
- [3] A. Sionkowska, J. Skopinska, M. Wisniewski, *Photochemical stability of collagen/poly(vinyl alcohol) blends*, *Polym. Degrad. Stab.* 83 (2004) 117-125.
- [4] M.-H. Huang, M.-C. Yang, *Evaluation of glucan/poly(vinyl alcohol) blend wound dressing using rat models*, *Int. J. Pharm.* 346 (2008) 38-46.
- [5] Y.-S. Pan, D.-S. Xiong, R.-Y. MA, *A study on the friction properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels as articular cartilage against titanium alloy*, *Wear* 262 (2007) 1021-1025.
- [6] S. Moscato, L. Mattii, D. D'Alessandro, M.G. Cascone, L. Lazzeri, L.P. Serino, A. Dolfi, N. Bernardini, "Interaction of human gingival fibroblasts with PVA/gelatine sponges" *Micron* 39 (2008) 569-579.

References

- [7] L. Dabelle, A.M. Tamburro, *Elastin: molecular description and function*, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31 (1999) 261-272.
- [8] L. Dabelle, A.J.P. Alix, *The structures of elastins and their function*, *Biochimie* 81 (1999) 981-994. [6] T.B.W.N.T. Sosokel, L.B. Sandberg, *Isolation and characterization of insoluble and soluble elastin*, *Methods of Enzymology* 144 (1987) 196-214.
- [9] W.F. Daamen, J.H. Veerkamp, J.C.M. van Hest, T.H. van Kuppevelt, *Elastin as a biomaterial for tissue engineering*, *Biomaterials* 28 (2007) 4378-4398.
- [10] J. Skopińska-Wiśniewska, A. Sionkowska, A. Kamińska, A. Kaźnica, R. Joachimiak, T. Drewna, "Surface characterization of collagen/elastin based biomaterials for tissue regeneration", *Applied Surface Science*, 2009, 255, 8286-8292