



WPŁYW PROMIENIOWANIA MIKROFALOWEGO ORAZ UV NA WŁAŚCIWOŚCI HYDROŻELI CHITOZANOWYCH

Katarzyna Bialik-Wąs, Sonia Kudlacik, Anna Drabczyk, Bożena Tyliszczak
Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

INFLUENCE OF MICROWAVE AND UV RADATION ON PROPERTIES OF CHITOSAN HYDROGELS

Streszczenie

W prezentowanym artykule porównano wpływ promieniowania mikrofalowego oraz UV na przebieg reakcji sieciowania hydrożeli chitozanowych. Syntezy prowadzono zarówno w oparciu o chitozan komercyjny, jak i Beetosan – chitozan pochodzący z pszczoł z osypu zimowego oraz dla układów mieszanych chitozan – Beetosan. Otrzymane materiały hydrożelowe zostały poddane badaniom zdolności pęcznienia i badaniom inkubacyjnym w wodzie destylowanej oraz symulowanych płynach ustrojowych. Ponadto, dla wybranych układów określono morfologię powierzchni przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego. Wyznaczono również kąty zwilżania θ metodą geometryczną poprzez naniesienie kropli cieczy na powierzchnię badanego materiału.

Słowa kluczowe: hydrożele, chitozan, Beetosan, promieniowanie UV, promieniowanie mikrofalowe

Abstract

In this paper, the impact on microwave radiation and UV cross-linking of the course of reaction of obtaining chitosan hydrogels was presented. The synthesis were conducted using either commercial chitosan and Beetosan – chitosan derived from naturally died honeybees as well

as using mixed systems containing both chitosan and Beetosan. The swelling capacity of obtained hydrogel materials as well as their tendency to degradation in distilled water and simulated body fluid have been tested. Moreover, morphology of the surface of selected samples using scanning electron microscope was characterized. Furthermore, the contact angles (θ) of attained materials were defined using geometrical method by applying a drop of liquid on the surface of the tested material.

Keywords: *hydrogels, chitosan, Beetosan, UV radiation, microwave radiation*

WPROWADZENIE

W dobie zrównoważonego rozwoju i zgodnie z zasadami zielonej chemii, zastosowanie promieniowania mikrofalowego i promieniowania UV w reakcjach otrzymywania hydrożeli wydaje się interesującym rozwiązaniem w porównaniu do tradycyjnych metod syntezy związków wielkocząsteczkowych. Hydrożele to usieciowane polimery o trójwymiarowej strukturze, które posiadają zdolność absorpcji wody i innych roztworów, w tym również płynów ustrojowych w sposób odwracalny. Hydrożele chitozanowe należą do grupy materiałów biodegradowalnych, biokompatybilnych oraz nietoksycznych. Co równie ważne, omawiane materiały charakteryzują się również działaniem przeciwbakteryjnym. Dzięki temu znajdują szerokie zastosowanie w kosmetyce, biotechnologii, biomedycynie, medycynie i farmacji. Najbardziej powszechnym źródłem pozyskiwania chityny i chitozanu są pancerze skorupiaków, ściana komórkowa drożdży, pleśni i grzybów. Jednakże obserwuje się również wzrost zainteresowania chitozanem pochodzącym z obróbki owadów, m.in. z martwych pszczoł z osypu zimowego. Dlatego też, w prezentowanym artykule porównano właściwości materiałów hydrożelowych, które zostały otrzymane z chitozanu komercyjnego oraz z Beetosanu – chitozanu pochodzącego z pszczoł.

Technologia otrzymywania materiałów polimerowych pod wpływem promieniowania mikrofalowego i UV zalicza się do technologii bezodpadowej oraz jest przyjazna dla środowiska. Główną zaletą naświetlania mikrofalowego jest zdolność do molekularnego ogrzewania, które prowadzi do homogenicznych i szybkich reakcji termicznych, co zdecydowanie skraca czas procesu i obniża straty energii w odniesieniu do metod tradycyjnych. Gotowy produkt można otrzymać zaledwie w kilka minut, podczas gdy w obecności ogrzewania konwencjonalnego bardzo często czas prowadzenia reakcji jest znacznie dłuższy. Ponadto, prowadzenie reakcji w możliwie jak najszybszym czasie pozwala przede wszystkim na mniejsze zużycie energii, co jest zgodne z zasadami „zielonej chemii”.

Jednakże opisywana metoda ma również pewne wady, podobnie jak w przypadku promieniowania radiacyjnego pojawiają się trudności z dobraniem odpowiedniej dawki i czasu promieniowania, aby w trakcie syntezy nie zachodziła degradacja otrzymywanego żelu oraz żeby zachować powtarzalność. Ponadto, w układzie dochodzi do miejscowych przegrzań (*ang. hot-spots effect*), co bezpośrednio wpływa na strukturę otrzymanego materiału hydrożelowego.

MATERIAŁY I METODY

Materiały: W przeprowadzonych syntezach zastosowano chitozan (Sigma-Aldrich), Beetosan (otrzymywany na Politechnice Krakowskiej), diakrylan poli(glikolu etylenowego) (PEGDA) o $M_w = 700$ (Sigma-Aldrich), Darocur 1173 (Sigma-Aldrich), nadsiarczan amonu (Avantor Performance Materials Poland).

Synteza: Materiały hydrożelowe zostały otrzymane na drodze polimeryzacji rodnikowej pod wpływem promieniowania UV oraz dla porównania również promieniowania mikrofalowego. W tym celu chitozan lub Beetosan lub układ zawierający chitozan i Beetosan oraz żelatynę rozpuszczano w 0,05 % roztworze kwasu octowego. Do tak przygotowanej mieszaniny reakcyjnej dodawano odpowiednią ilość czynnika sieciującego – PEGDA 700, fotoinicjatora – 2-hydroksy-2-metylopropiofenonu lub inicjatora redoksowego – nadsiarczanu amonu. W dalszej kolejności wylewano ją na szalkę i poddawano działaniu promieniowania UV lub promieniowania mikrofalowego przez 2 min. Źródło promieniowania UV stanowiła lampa EMITA VP-60 o mocy 180W, natomiast źródłem promieniowania mikrofalowego była kuchenka mikrofalowa DAEVOO o mocy 800W. Szczegółowy skład wylewanych kompozycji został przedstawiony w Tab. 1.

Tabela 1. Skład kompozycji.

Table 1. The composition of reserved mixtures

Lp.	Chitozan (3% r-r) v/v [ml]	Beetosan/Chitozan (3% r-r) v/v [ml]	Beetosan (3% r-r) v/v [ml]	żelatyna (2% r-r) v/v [ml]	PEGDA 700 [ml]	Fotoinicjator [ml]	Inicjator [ml]
1	30	0	0	20	8	0	6
2	0	30	0	20	8	0	6
3	0	0	30	20	8	0	6
4	30	0	0	20	8	0,25	0
5	0	30	0	20	8	0,25	0
6	0	0	30	20	8	0,25	0

Badanie zdolności sorpcyjnych: Jednym z podstawowych badań właściwości hydrożeli jest wyznaczenie współczynnika pęcznienia. W związku z tym w kubkach polipropylenowych o pojemności 100 ml umieszczono próbki suchego hydrożelu o $m = 0,5$ g, które zalewano wodą destylowaną, symulowanym płynem ustrojowym ($\text{pH} = 7,4$) lub sztuczną śliną ($\text{pH} = 5,2 - 5,5$). Następnie pozostawiano je do spęcznienia przez okres 1 i 24 h. Po upływie określonego czasu spęczniały hydrożel odsączano i ważono. Zdolność pęcznienia obliczano według wzoru:

$$Q = \frac{W_1 - W_0}{W_0}$$

gdzie:

W_1 – masa hydrożelu po spęcznieniu [g]

W_0 – masa hydrożelu przed spęcznieniem [g].

Badania inkubacyjne: W zamykanych kubkach polipropylenowych o pojemności 100 ml umieszczano próbki otrzymanych hydrożeli o $m = 0,5$ g, a następnie zalewano je wodą destylowaną lub symulowanym płynem ustrojowym. Badane próbki były inkubowane w temperaturze 37°C przez okres 10 dni. W tym czasie mierzono wartość pH układów.

Analiza mikrofotografii SEM: Mikrofotografie SEM zostały wykonane na skaningowym mikroskopie elektronowym Helios NanoLab H50HP firmy FEI z detektorem EDS firmy EDAX. Obrazy SEM rejestrowano przy napięciu przyspieszającym 5 kV.

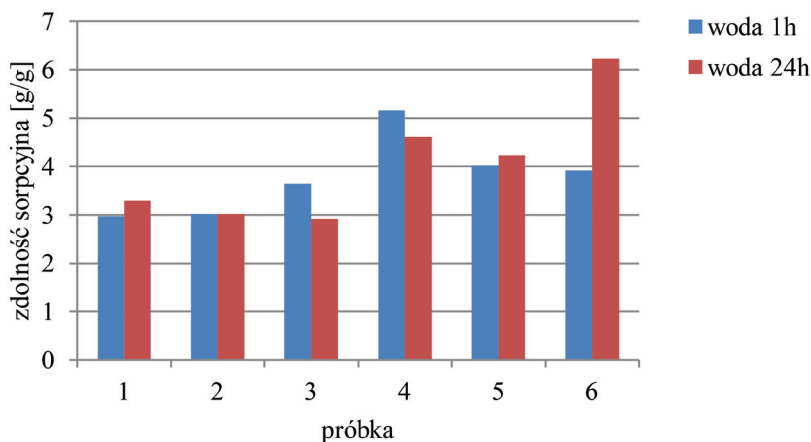
Wyznaczanie kąta zwilżania metodą geometryczną: (Kruss DSA 100M): Na wysuszoną próbkę otrzymanego hydrożelu наносzono kroplę wody destylowanej o stałej objętości. Wyznaczono kąty zwilżania powierzchni dla wybranych materiałów.

WYNIKI I DYSKUSJA

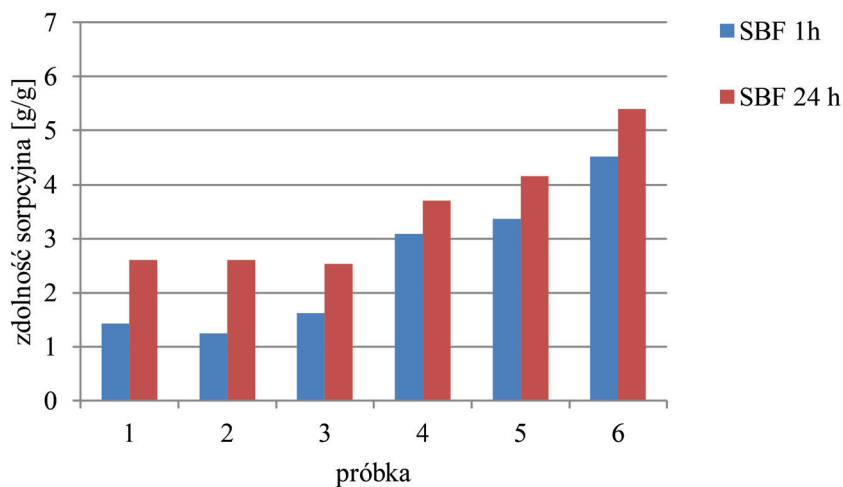
Badanie zdolności sorpcyjnych

Na **Rysunku 1.** zostały przedstawione wyniki dotyczące zdolności sorpcyjnych otrzymanych materiałów hydrożelowych w wodzie destylowanej, symulowanym płynie ustrojowym oraz sztucznej ślinie. Przeprowadzone badania wykazały, że dla większości analizowanych próbek stopień pęcznienia jest znacznie większy po 24 h pomiarowych niż po 1 h, co wynika z trójwymiarowej struktury oraz jest związane z przejściem hydrożelu ze stanu suchego w spęczniały. We wszystkich przygotowanych płynach największy stopień pęcznienia został wyznaczony dla matrycy polimerowej zsyntezowanej w polu promieniowania UV w oparciu o Beetosan. Najprawdopodobniej uzyskany materiał jest słabiej usieciowany w porównaniu z pozostałymi, co ułatwia oddziaływanie

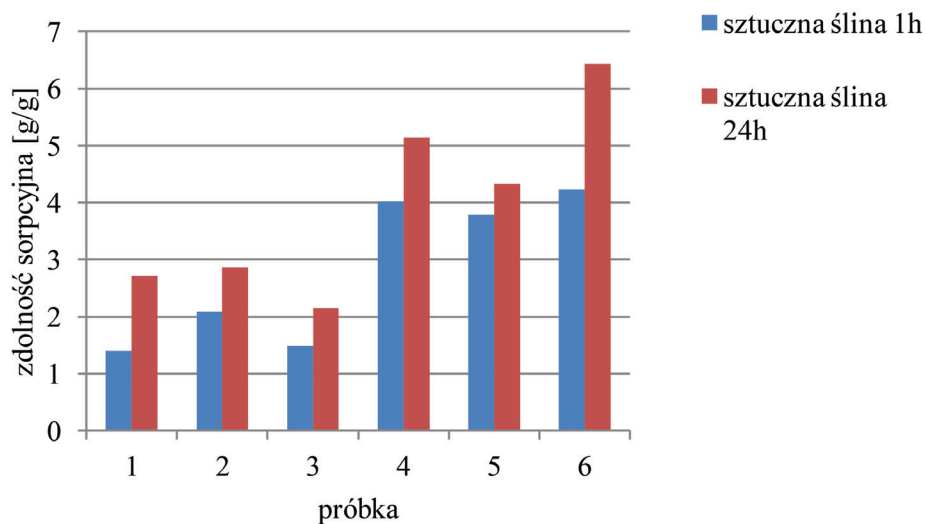
między łańcuchami polimerowymi a jonami obecnymi w badanym roztworze. Na stopień pęcznienia hydrożeli chitozanowych wpływa nie tylko obecność jonów w roztworze, ale również wartość pH. Okazało się, że najmniejszą zdolność pęcznienia uzyskano w przypadku zastosowania symulowanego płynu ustrojowego o pH = 7,4, natomiast nieznacznie większą w środowisku sztucznej śliny o pH = 5,2 – 5,5. Wynika to z faktu, że otrzymane materiały należą do hydrożeli kationowych, w związku z czym ulegają dysocjacji w środowisku kwaśnym. Tworzą się wówczas grupy $-NH_4^+$, które pod wpływem oddziaływania elektrostatycznego odpychają się i mogą zaabsorbować znacznie więcej rozpuszczalnika o odczynie kwaśnym.



a)



b)



c)

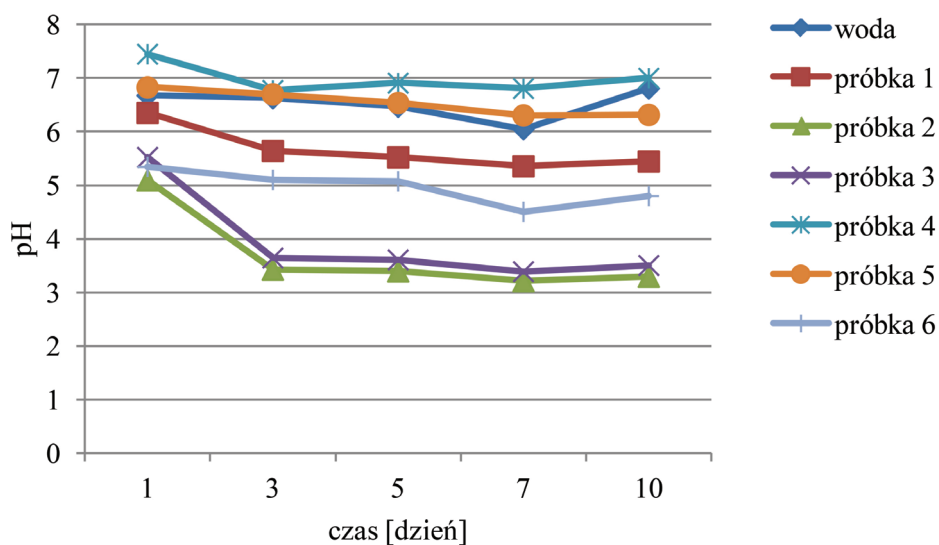
Rysunek 1. Porównanie zdolności sorpcyjnych dla materiałów hydrożelowych uzyskanych pod wpływem promieniowania UV oraz mikrofalowego w: a) wodzie destylowanej, b) symulowanym płynie ustrojowym, c) sztucznej ślinie po 1 h i 24 h.

Figure 1. Comparison of swelling abilities of hydrogel materials obtained by means of UV and microwave radiation in: a) distilled water, b) simulated body fluid, c) artificial saliva after 1 h and 24 h.

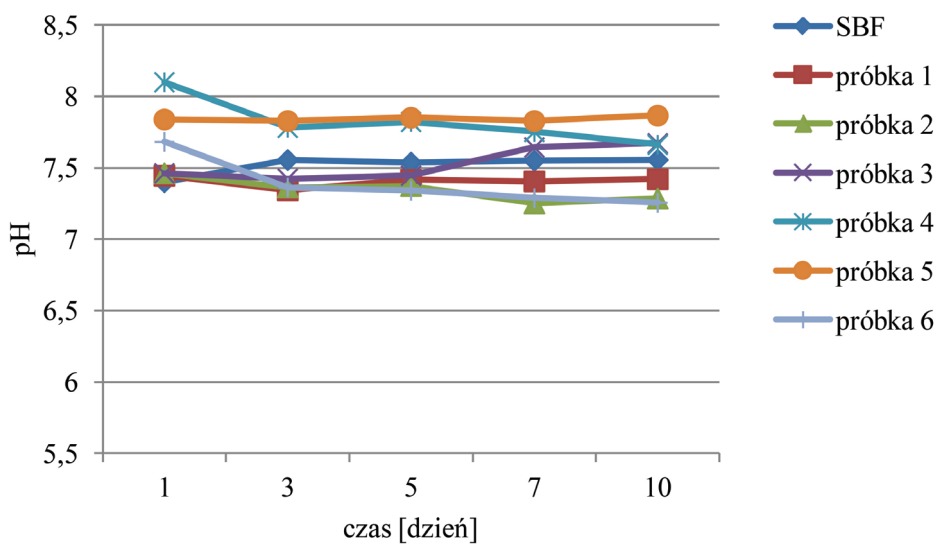
Badania inkubacyjne

Na **Rysunku 2.** umieszczono wyniki dotyczące badań inkubacyjnych w wodzie destylowanej oraz w symulowanym płynie ustrojowym.

W trakcie prowadzonych badań nie zaobserwowano znaczących zmian wartości pH dla próbek inkubowanych w środowisku symulowanego płynu ustrojowego. Hydrożele chitozanowe zachowywały się w nim stabilnie. Natomiast znacznie większe wahania wartości pH zostały zarejestrowane dla próbek inkubowanych w wodzie destylowanej, zwłaszcza w przypadku próbek 2 i 3. Najprawdopodobniej wynika to z faktu, że otrzymane hydrożele charakteryzują się nieco większym stopniem pęcznienia w środowisku obojętnym niż lekko zasadowym, co bezpośrednio wpłynęło na oddziaływania zachodzące w układzie.



a)



b)

Rysunek 2. Zmiany wartości pH próbek inkubowanych w środowisku: a) wody destylowanej i b) symulowanego płynu ustrojowego w czasie 10 dni.

Figure 2. Changes of pH values of incubated samples in: a) distilled water and in b) simulated body fluid for 10 days.

Wyznaczanie kąta zwilżania metodą geometryczną

Materiały hydrożelowe należą do grupy związków silnie hydrofilowych, jednakże wyznaczanie kąta zwilżania metodą geometryczną pozwoliło ocenić jaki jest wpływ promieniowania mikrofalowego oraz UV na ich właściwości. Dla wybranych próbek otrzymanych hydrożeli chitozanowych zostały wyznaczone kąty zwilżania, które zestawiono w **Tabeli 2**.

Tabela 2. Kąty zwilżania wybranych materiałów hydrożelowych.

Table 2. Contact angles of the hydrogel materials

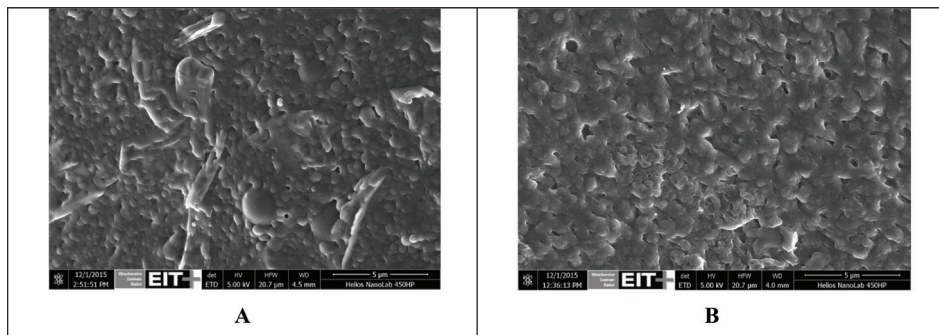
Próbka	Kąt pierwszy [deg.]	Kąt drugi [deg.]	Kąt średni [deg.]
1	81	80	80,5
2	70	69	69,5
3	79	80	79,5
4	55	56	55,5

Na podstawie wyznaczonych kątów zwilżania można stwierdzić, że materiałem hydrożelowym charakteryzującym się największą hydrofilowością jest próbka 6. Została ona zsyntezowana w polu promieniowania UV w oparciu o Beetosan. Natomiast najsłabszą hydrofilowość wykazała próbka 2, która została otrzymana w polu promieniowania mikrofalowego z zastosowaniem układu mieszanego zawierającego chitozan komercyjny i Beetosan.

Analiza mikrofotografii SEM

Poniżej na **Rysunku 3**, przedstawiono mikrofotografie SEM dla materiału hydrożelowego otrzymanego pod wpływem promieniowania mikrofalowego oraz promieniowania UV.

Na podstawie uzyskanych mikrofotografii SEM można stwierdzić, że w obu przypadkach udało się otrzymać materiały o porowatej strukturze. Jednakże zastosowanie promieniowania mikrofalowego spowodowało, że na powierzchni utworzyły się bąbelki powietrza, co w perspektywie potencjalnych możliwości aplikacyjnych nie jest pożądane. Wynika to przede wszystkim z termodynamiki, ponieważ zarówno reakcje polimeryzacji, jak i sieciowania są silnie egzotermiczne. W polu promieniowania mikrofalowego dochodzi do miejscowych przegrzań, co bezpośrednio wpływa na przebieg reakcji i zachodzi ona bardziej gwałtowniej.



Rysunek 3. Mikrofotografie SEM materiału hydrożelowego otrzymanego pod wpływem promieniowania: A – mikrofalowego, B – UV.

Figure 3. SEM microphotographs of hydrogel material obtained by means of: A – microwave radiation, B – UV radiation.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych syntez i wykonanych badań można stwierdzić, że rodzaj promieniowania wpływa w sposób bezpośredni na strukturę i morfologię otrzymanych hydrożeli chitozanowych. Mikrofotografie SEM wyraźnie potwierdzają, że zastosowanie promieniowania mikrofalowego spowodowało, że reakcja sieciowania przebiegała bardzo gwałtownie i na powierzchni materiałów powstawały bąbelki powietrza, co nie zostało zaobserwowane w przypadku użycia promieniowania UV. Ponadto, wyznaczone kąty zwilżania wskazują, że materiały hydrożelowe zsyntezowane w polu promieniowania UV w oparciu o Beetosan charakteryzują się największą hydrofilowością w porównaniu z pozostałymi, co wpłynęło również na poprawę zdolności pęcznienia. Podsumowując, w zależności od potencjalnego zapotrzebowania rynku można tak sterować parametrami reakcji i składem kompozycji, aby otrzymać produkt o ściśle określonych właściwościach.

LITERATURA

Berger J., Reist M., Mayer J.M., Felt O., Gurny R., (2004) *Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 57: 35–52.

Bogdal D. (1999) *Zastosowanie promieniowania mikrofalowego w reakcjach przeniesienia międzyfazowego w układach bezrozpuszczalnikowych*. Monografia 248, Politechnika Krakowska, Kraków.

Bogdal D., (2005) *Microwave-Assisted Organic Synthesis: One Hundred Reaction Procedures*, Elsevier, 2005, 216.

Draczyński Z.,(2013) *Zeszyty Naukowe* nr 1159, Politechnika Łódzka, 32-55.

Hennink W.E, Van Nostrum C.F, (2012) *Novel crosslinking methods to design hydrogels*, *Advanced Drug Delivery Reviews*, (64): 223-236.

Hoffman A.S., (2012) *Hydrogels for biomedical applications*, *Advanced Drug Delivery Reviews*, (64): 18-23.

Mucha M., (2010) *Chitozan wszechstronny polimer ze źródeł odnawialnych*, Wyd. Naukowo-Techniczne.

Nemtsev S.V., Zueva O., Khismatullin M.R., Albulov A.I., Varlamov V.P., (2004) *Isolation of Chitin and Chitosan from Honeybees*, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40 (1): 39-43.

Peppas N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H., (2000) *Hydrogels in pharmaceutical formulations*, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, (50): 27–46.

*Badania realizowane w ramach projektu LIDER/033/697/L-5/13/NCBR/2014
finansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBR).*

Dr inż. Katarzyna Bialik-Wąs, inż. Sonia Kudłacik, Mgr inż. Anna Drabczyk,
dr inż. Bożena Tylińczak Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki
Katedra Chemii i Technologii Polimerów
Ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków

Wpłynęło: 18.04.2016

Akceptowano do druku: 1.06.2016