

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 242810 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **435877**

(22) Data zgłoszenia: **2020.11.04**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.05.09 BUP 19/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.04.24 WUP 17/2023**

(51) MKP:

C08L 67/04 (2006.01)

B33Y 70/00 (2020.01)

B29C 64/118 (2017.01)

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA GDAŃSKA, Gdańsk, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

SZYMON MANIA, Łęgowo, PL

ROBERT TYLINGO, Gdańsk, PL

ADRIANNA BANACH, Stegna, PL

(74) Pełnomocnik:

Magdalena Leśnik, Gdańsk, PL

(54) Tytuł:

Sposób wytwarzania materiału termoplastycznego

PL 242810 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania materiału termoplastycznego, zawierającego składniki biodegradowalne: polikaprolakton i poli(alkohol winylowy) oraz składnik biodegradowalny pochodzenia naturalnego, posiadający aktywność przeciwdrobnoustrojową – chitozan, mający zastosowanie jako materiał do produkcji rusztowań do hodowli komórkowych, również jako nośnik preparatów leczniczych lub innych składników bioaktywnych.

Z opisu patentowego PL223280 znany jest sposób wytwarzania chitozanowo-białkowego materiału biopolimerowego, mającego zastosowanie do leczenia ubytków tkanek, zwłaszcza trudno gojących się ran, jak również jako nośnik preparatów leczniczych, kosmetycznych i spożywczych. Sposób ten polega na przygotowaniu chitozanu w mieszaninie kwasów, który następnie poddaje się zobojętnieniu, separacji, przemywaniu i nasycaniu zawiesiny osadu chitozanu ditlenkiem węgla w postaci gazowej i/lub suchego lodu do momentu jego rozpuszczenia, a następnie miesza się z dyspersją białek kolagenu i/lub żelatyny.

Z opisu patentowego PL222739 znana jest kompozycja na bazie wodnego roztworu chitozanu, m. in. w postaci aerozolu oraz hydrożelowej membrany, mających zastosowanie jako matryca dla preparatów ochrony roślin, wyrobów medycznych, kosmetycznych i spożywczych. W opisanej metodzie aerozol składa się z fazy dyspersyjnej, którą jest hydrożel chitozanu w ilości od 90% do 98% wagowych, związek biologicznie czynny do 5% wagowych oraz gaz pędny w ilości 2% do 10% wagowych. Membranę przygotowuje się poprzez wytworzenie roztworu chitozanu, zastosowanie dodatku związku biologicznie czynnego i kondycjonowanie w temperaturze nie niższej niż 1°C, w czasie korzystnie 24 godzin.

Z publikacji *M. Matet, M.-C. Heuzey, E. Pollet, A. Aji, L. Avérons, Carbohydr. Polym. 2013, 95, 241–251* znany jest sposób otrzymywania termoplastycznego chitozanu, który polega na dodaniu roztworu mocnego kwasu do proszku chitozanu lub polioliu i roztworu mocnego kwasu i mechaniczne ugniatanie w temperaturze 80°C przez 15 min przy stałej prędkości 100 obr/min.

Z publikacji *A. Golchin i M.R. Nourani, Polym. Adv. Technol. 2020, 31, 2443–2452* znany jest sposób tworzenia nanofibrylarnych dwuwarstwowych rusztowań techniką elektroprzędzenia do zastosowań biomedycznych przy użyciu polikaprolaktanu (PCL) jako górnej warstwy i chitozanu (CS) /poli(alkoholu winylowego) (PVA) jako dolnej warstwy opatrunku. W rozwiązaniu tym chitozan rozpuszcza się w 2% kwasie octowym przez 6 godzin w temperaturze pokojowej. Tyle samo czasu rozpuszczaniu w temperaturze 80°C poddaje się poli(alkohol winylowy) i łączy w stosunku 3:1 (CS:PVA). Mieszanina ta stanowi roztwór A. Równolegle przygotowuje się roztwór B, zawierający polikaprolakton rozpuszczony w mieszaninie dimetyloformamidu i chloroformu w stosunku 1:9. Roztwory w kolejności alfabetycznej poddaje się elektroprzędzeniu.

W publikacji *F. Chogan, T. Mirmajidi, A.H. Rezayan, M. Sharifi, A. Ghahary, J. Nourmohammadi, A. Kamali, M. Rahaie, Acta Biomater. 2020, 113, 144–163* zaproponowano podobne rozwiązanie mające na celu wykorzystanie techniki elektroprzędzenia. Proponowane rusztowanie składa się z trzech warstw: dwóch warstw nośnych wykonanych z kompozytu polikaprolaktanu (PCL) i chitozanu (CS) stanowiących warstwy zewnętrzne otaczające środkową warstwę wykonaną z poli(alkoholu winylowego) (PVA). Obecność PCL w warstwach zewnętrznych ma na celu kontrolowanie szybkości uwalniania wprowadzonego leku przez rusztowanie, podczas gdy chitozan, naturalny polimer, służy jako środek przeciwbakteryjny zdolny do zapobiegania infekcji w miejscu rany. PVA wykorzystano jako nośnik substancji aktywnej chlorowodoru metforminy.

Znany jest sposób wytwarzania hybrydowego materiału opatrunkowego z publikacji *A. Shamloo, M. Sarmadi, Z. Aghababaie, M. Vossoughi, Int. J. Pharm. 2018, 537, 278–289*. Polega on na wytworzeniu i unieruchomieniu czynnika wzrostu komórek w emulsji roztworu poli(alkoholu winylowego) i polikaprolaktanu rozpuszczonego w chloroformie i wkropleniu jej do roztworu surfaktantu w celu wytworzenia mikrokapsulek. Następnie roztwór chitozanu w 3% kwasie octowym jest doprowadzany do pH 7,4 z wykorzystaniem 0,1M NaOH, łączony z 10% roztworem PVA i 5% roztworem żelatyny w stosunku objętościowym 2:2:1, mieszany z mikrosferami, zamrażany i suszony sublimacyjnie.

Z opisu zgłoszenia patentowego WO2018031491 znany jest sposób wytwarzania jedno lub kilkuwarstwowych trójwymiarowych rusztowań tkankowych na bazie co najmniej jednego z nierozpuszczalnych w wodzie składników, którymi mogą być: termoplastyczny poliuretan (TPU), polikaprolakton (PCL), poli(kwas glikolowy) (PLGA), poli(kwas mlekowy) (PLA) lub polistyren wysokoudarowy (HIPS) oraz co najmniej jeden z rozpuszczalnych w wodzie składników, którymi mogą być: poli(alkohol winylowy)

(PVA), sól, cukier, szkło cukrowe, glikol polietylenowy (PEG) lub jego dowolna nieusieciowana pochodna, żelatyna i jej pochodne, poli(kwas ko-glikolowy), alginian i wodorowęglan sodu. Rusztowania te mogą być otrzymywane z powyższych składników lub ich kompozytów znanymi metodami szybkiego prototypowania jak: SLA, DLP, FDM, SLS, SLM, EBM i/lub LOM.

Z opisu zgłoszenia patentowego CN1238063 znany jest sposób wytwarzania porowatych rusztowań polegający na przygotowaniu roztworu materiału termoplastycznego np. polikaprolaktonu w rozpuszczalniku organicznym, dodaniu kulistych cząstek parafiny o wielkości cząstek 355–450 μm i polimeru, wymieszanie, częściowe odparowanie rozpuszczalnika i wtłoczenie powstałej pasty do silikonowej formy i jej odpowiedni nacisk. Następnie rusztowanie o nadanym kształcie dosusza się i poddaje ekstrakcji w n-pentanie w celu usunięcia parafinowego porogenu. Niedogodnością powyższej metody jest zużywanie dużych ilości rozpuszczalników organicznych.

W opisie zgłoszenia patentowego WO2017040156 ujawniony został układ do jednoczesnego osadzania materiałów termoplastycznych i materiałów termoutwardzalnych, mający zastosowanie do budowy rusztowań tkankowych metodą biodruku 3D. Jako materiał termoplastyczny użyty może być m.in. polikaprolakton (PCL) i/lub poli(alkohol winylowy) (PVA). Natomiast jako materiały termoutwardzalne można wykorzystać pochodne związków akrylowych: akrylan, diakrylan, metakrylan, a także epoksydy, silikon, diakrylan glikolu polietylenowego (PEGDA), kwas hialuronowy i chitozan. Opisany układ jest bardzo złożony i wymagający kontroli poszczególnych etapów. Niedogodnością tego rozwiązania jest również to, że rusztowania wytworzone na bazie związków akrylowych wymagają odpowiedniego oczyszczenia. W przeciwnym razie mogą działać cytotoksycznie na osadzone komórki.

Sposób wytwarzania materiału termoplastycznego jako filamentu do druku 3D zawierającego poli(alkohol winylowy), polikaprolakton oraz chitozan polega na tym, że roztwór chitozanu przygotowuje się w kwasie hydroksoctowym lub mlekowym lub octowym, z którego następnie strąca się rozpuszczony chitozan roztworem zasady, uzyskany osad poddaje się separacji i przemycaniu, następnie zawieszeniu w odpowiedniej objętości wody destylowanej, tak aby w przeliczeniu na masę nieuwodnionego polimeru uzyskać 1% wodny roztwór, kolejno homogenizuje się i nasycy ditlenkiem węgla przy jednoczesnym mieszaniu mechanicznym zawiesiny do momentu rozpuszczenia chitozanu, charakteryzuje się według wynalazku tym, że w kolejnym etapie chitozan poddaje się kompatybilizacji do przetwórstwa z surowcami termoplastycznymi poprzez zmieszanie jego roztworu nasycanego dwutlenkiem węgla z wodnym roztworem hydrolizowanego poli(alkoholu winylowego), o stopniu hydrolizy co najmniej 75%, korzystnie 80%, gdzie udział masowy obu polimerów w odniesieniu do ich bezwodnych form wynosi 1:1. Dalej mieszaninę zamraża się w temperaturze w zakresie od -80°C do -18°C i wysusza sublimacyjnie w warunkach ciśnienia w zakresie 0,9–6,0 mbar, przy różnicy temperatur pomiędzy kondensatorem liofilizatora a temperaturą półki, na której odbywa się suszenie w zakresie od 70°C do 140°C a następnie tak wysuszony kompozyt chitozanu i poli(alkoholu winylowego) po rozdrobnieniu miesza się z polikaprolaktonem zaś otrzymany filament poddaje się ekstruzji, korzystnie dwustopniowej.

Wysuszony kompozyt chitozanu i poli(alkoholu winylowego) stanowi 20 do 40% udziału masowego, korzystnie 20% wytwarzanego materiału w postaci filamentu w osnowie z polikaprolaktonu, natomiast stężenie ditlenku węgla w finalnym roztworze chitozanu wykorzystywanym do tworzenia kompozytu z poli(alkoholem winylowym) o pH w zakresie 5,5–6,5 wynosi od 10 do 500 ppm.

Korzystnie filament do druku 3D ekstruduje się metodą osadzania topionego materiału FDM przy temperaturze dyszy: $130\text{--}60^{\circ}\text{C}$ i średnicy dyszy 0,4–3,0 mm.

Poli(alkohol winylowy) podczas ekstruzji pełni rolę plastyfikatora/kompatybilizatora pomiędzy różniącymi się charakterem chemicznym chitozanem a polikaprolaktonem, stąd ważne jest uzyskanie jego jednorodnej mieszaniny z chitozanem bez udziału kwasu. Otrzymywanie materiału termoplastycznego wyżej opisaną metodą składa się z kilku nieskomplikowanych etapów, których efektem finalnym jest materiał biodegradowalny i biozgodny o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, która zależy od stężenia chitozanu, stopnia deacetylacji i masy cząsteczkowej polimeru w gotowym materiale. Aby uzyskać możliwie najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową korzystne jest zastosowanie chitozanu o niskiej masie cząsteczkowej, wysokim stopniu deacetylacji i 20% stężeniu (40% kompozytu CS-PVA) w filamencie.

Zaletą tego sposobu otrzymywania materiału termoplastycznego jako filamentu do druku 3D jest to, że materiał ten nie wykazuje efektu cytotoksycznego względem linii komórkowej fibroblastów L929. Ponadto uzyskany sposobem według wynalazku filament zawierający od 10% do 20% masowych chitozanu posiada aktywność przeciwdrobnoustrojową.

Wynalazek przedstawiony jest bliżej w przykładach wykonania.

Przykład 1

Do wytworzenia materiału termoplastycznego o aktywności przeciwdrobnoustrojowej użyto polikaprolakton (PCL) o niskiej masie cząsteczkowej w zakresie 50–60 kDa, temperaturze topnienia 60°C i indeksie topnienia 8 g/10 min, mierzonej w temperaturze 100°C, poli(alkohol winylowy) (PVA) o masie cząsteczkowej 9–10 kDa i stopniu hydrolizy 80% oraz chitozan (CS) o niskiej masie cząsteczkowej w zakresie 50–100 kDa i stopniu deacetylacji co najmniej 75%. W pierwszym etapie wytwarzania materiału termoplastycznego o aktywności przeciwdrobnoustrojowej przygotowano kompozyt chitozanu z poli(alkoholem winylowym).

25 g chitozanu rozpuszczono się w 975 g 0,3 M wodnego roztworu kwasu hydroksyoctowego i mieszano z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego przy prędkości obrotowej w zakresie 100–200 RPM do momentu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu. Następnie w trakcie mieszania do roztworu chitozanu porcjami dodawano 1 M roztwór wodorotlenku sodu, do momentu uzyskania wartości pH roztworu równego 8. Uzyskany w ten sposób osad chitozanu odseparowano z wykorzystaniem zestawu do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem. Oddzielony osad naprzemiennie przemywano wodą destylowaną i odsączano, do momentu kiedy pH wody przemywającej osiągnie wartość w zakresie 6,5–7. Przemyty i oddzielony pod obniżonym ciśnieniem osad uzupełniono wodą destylowaną w takiej ilości, aby w przeliczeniu na masę nieuwodnionego polimeru (przed strąceniem), uzyskać 1% wodny roztwór. Przygotowaną w ten sposób zawiesinę osadu chitozanu poddano homogenizacji przez 1 minutę przy prędkości obrotowej równiej 10000 RPM, a następnie nasycaniu gazowym ditlenkiem węgla w ilości 100 mL/min w otwartym zbiorniku przy jednoczesnym mieszaniu mechanicznym z prędkością obrotową 300 RPM do momentu uzyskania jednorodnego i przejrzystego roztworu, co jest jednoznaczne z rozpuszczeniem się chitozanu przy stężeniu ditlenku węgla w zakresie 10–500 ppm. pH otrzymanego w ten sposób roztworu chitozanu mieści się w zakresie 5,5–6,5. Roztwór poli(alkoholu winylowego) przygotowano poprzez rozpuszczenie jego odpowiedniej naważki w wodzie destylowanej o temperaturze w zakresie 50–60°C, tak aby stężenie roztworu polimeru wyniosło 10% (m/m). W kolejnym kroku gotowe roztwory chitozanu w kwasie węglowym oraz poli(alkoholu winylowego) zmieszano się ze sobą w taki sposób, aby udział masowy obu polimerów w odniesieniu do ich form bezwodnych wyniósł 1:1.

W kolejnym etapie roztwory kompozytowe poddano mrożeniu w temperaturze -24°C przez okres 12 godzin, a następnie suszeniu sublimacyjnemu przy ciśnieniu max. 1 mbara i różnicy temperatur między temp. kondensatora liofilizatora a temperaturą półki, na której odbywa się suszenie równej co najmniej 70°C, w czasie 72 godzin. Wyszuszony sublimacyjnie kompozyt CS/PVA poddano mechanicznemu rozdrobnieniu z wykorzystaniem młynka do postaci gruboziarnistego proszku. Rozdrobniony kompozyt zmieszano z granulatem polikaprolaktonu, tak aby jego udział stanowił 40% masowych mieszaniny. Po dokładnym wymieszaniu składników, mieszaninę poddano ekstruzji w temperaturze 130°C. Wyłaczane włókno o średnicy 2–5 mm wychładzano powietrzem o temperaturze 20–30°C i poddano granulacji w procesie ciągłym. Następnie uzyskany granulát poddano ponownej ekstruzji w temperaturze 130°C przy zastosowaniu głowicy o średnicy w zakresie 1–3 mm.

Przykład 2

Do wytworzenia materiału termoplastycznego o aktywności przeciwdrobnoustrojowej użyto polikaprolakton (PCL) średniej masie cząsteczkowej w zakresie 70–80 kDa, temperaturze topnienia 60°C i indeksie topnienia w zakresie 11 g/10 min, mierzonej w temperaturze 100°C, poli(alkohol winylowy) (PVA) o masie cząsteczkowej 10 kDa i stopniu hydrolizy 80%, chitozan (CS) o średniej masie cząsteczkowej w zakresie 200–250 kDa i stopniu deacetylacji co najmniej 75%. W pierwszym etapie wytwarzania materiału termoplastycznego o aktywności przeciwdrobnoustrojowej przygotowano kompozyt chitozanu z poli(alkoholem winylowym).

25 g chitozanu rozpuszczono w 975 g 0,1 M wodnego roztworu kwasu mlekowego i mieszano z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego przy prędkości obrotowej 200 RPM do momentu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu. Następnie w trakcie mieszania do roztworu chitozanu porcjami dodawano 1 M roztwór wodorotlenku sodu, do momentu uzyskania wartości pH roztworu równego 8. Uzyskany w ten sposób osad chitozanu odseparowano z wykorzystaniem zestawu do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem. Oddzielony osad naprzemiennie przemywano wodą destylowaną i odsączano, do momentu kiedy pH wody przemywającej osiągnie wartość w zakresie 6,5–7. Przemyty i oddzielony pod obniżonym ciśnieniem osad uzupełniono wodą destylowaną w takiej ilości, aby w przeli-

czeniu na masę nieuwodnionego polimeru (przed strąceniem), uzyskać 1% wodny roztwór. Przygotowaną w ten sposób zawiesinę osadu chitozanu poddano homogenizacji przez 1 minutę przy prędkości obrotowej równiej 10000 RPM, a następnie nasycaniu gazowym ditlenkiem węgla w ilości 75 mL/min w otwartym zbiorniku przy jednoczesnym mieszaniu mechanicznym z prędkością obrotową w zakresie 200 RPM do momentu uzyskania jednorodnego i przejrzystego roztworu, co jest jednoznaczne z rozpuszczeniem się chitozanu przy stężeniu ditlenku węgla w zakresie 10–500 ppm. pH otrzymanego w ten sposób roztworu chitozanu mieści się w zakresie 5,5–6,5. Roztwór poli(alkoholu winylowego) przygotowano poprzez rozpuszczenie jego odpowiedniej naważki w wodzie destylowanej o temperaturze w zakresie 50–60°C, tak aby stężenie roztworu polimeru wyniosło 7,5% (m/m).

W kolejnym kroku gotowe roztwory chitozanu w kwasie węglowym oraz poli(alkoholu winylowego) zmieszano ze sobą w taki sposób, aby udział masowy obu polimerów w odniesieniu do ich form bezwodnych wyniósł 1:1. W kolejnym kroku roztwory kompozytowe poddano mrożeniu w temperaturze -18°C przez okres 18 godzin, a następnie suszeniu sublimacyjnemu przy ciśnieniu max. 1 mbara i różnicy temperatur między temp. kondensatora liofilizatora a temperaturą półki, na której odbywa się suszenie równej co najmniej 100°C, w czasie 68 godzin. Wysuszony sublimacyjnie kompozyt CS/PVA poddano mechanicznemu rozdrobnieniu z wykorzystaniem młynka do postaci gruboziarnistego proszku. Rozdrobniony kompozyt zmieszano z granulatem polikaprolaktonu, tak aby jego udział stanowił 30% masowych mieszaniny. Po dokładnym wymieszaniu składników, mieszaninę poddano ekstruzji w temperaturze 150°C. Wytłaczane włókno o średnicy 1–3 mm wychładzane było powietrzem o temperaturze 20–30°C i poddane granulacji w procesie ciągłym. Następnie uzyskany granulát poddano ponownej ekstruzji w temperaturze 150°C przy zastosowaniu głowicy o średnicy w zakresie 0,4–3 mm.

Przykład 3

Do wytworzenia materiału termoplastycznego o aktywności przeciwdrobnoustrojowej użyto polikaprolakton (PCL) wysokiej masy cząsteczkowej w zakresie 100–120 kDa, temperaturze topnienia 60°C i indeksie topnienia 5 g/10 min, mierzonego w temperaturze 160°C, poli(alkohol winylowy) (PVA) o masie cząsteczkowej 10 kDa i stopniu hydrolizy 75%, chitozan (CS) o wysokiej masie cząsteczkowej w zakresie 300–400 kDa i stopniu deacetylacji co najmniej 75%. W pierwszym etapie wytwarzania materiału termoplastycznego o aktywności przeciwdrobnoustrojowej przygotowano kompozyt chitozanu z poli(alkoholem winylowym).

10 g chitozanu rozpuszczono w 990 g 0,5 M wodnego roztworu kwasu hydroksooctowego i mieszano z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego przy prędkości obrotowej w zakresie 100–200 RPM do momentu uzyskania jednorodnego, klarownego roztworu. Następnie w trakcie mieszania do roztworu chitozanu porcjami dodawano 0,5 M roztwór wodorotlenku sodu, do momentu uzyskania wartości pH roztworu równego 8. Uzyskany w ten sposób osad chitozanu odseparowano z wykorzystaniem zestawu do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem. Oddzielony osad naprzemiennie przemywano wodą destylowaną i odsączano, do momentu kiedy pH wody przemywającej osiągnie wartość w zakresie 6,5–7. Przemyty i oddzielony pod obniżonym ciśnieniem osad uzupełniono wodą destylowaną w takiej ilości, aby w przeliczeniu na masę nieuwodnionego polimeru (przed strąceniem), uzyskać 1% wodny roztwór. Przygotowaną w ten sposób zawiesinę osadu chitozanu poddano homogenizacji przez 2 minuty przy prędkości obrotowej równiej 20000 RPM, a następnie nasycaniu gazowym ditlenkiem węgla w zbiorniku ciśnieniowym wyposażonym w zawór bezpieczeństwa przy ciśnieniu roboczym 2 barów, przy jednoczesnym mieszaniu mechanicznym z prędkością obrotową 300 RPM do momentu uzyskania jednorodnego i przejrzystego roztworu, co jest jednoznaczne z rozpuszczeniem się chitozanu przy stężeniu ditlenku węgla w zakresie 10–500 ppm. pH otrzymanego w ten sposób roztworu chitozanu mieści się w zakresie 5,5–6,5. Roztwór poli(alkoholu winylowego) przygotowano poprzez rozpuszczenie jego odpowiedniej naważki w wodzie destylowanej o temperaturze w zakresie 50–60°C, tak aby stężenie roztworu polimeru wyniosło 5% (m/m).

W kolejnym kroku gotowe roztwory chitozanu w kwasie węglowym oraz poli(alkoholu winylowego) zmieszano ze sobą w taki sposób, aby udział masowy obu polimerów w odniesieniu do ich form bezwodnych wyniósł 1:1. W kolejnym kroku roztwory kompozytowe poddano mrożeniu w temperaturę -80°C przez okres 6 godzin, a następnie suszeniu sublimacyjnemu przy ciśnieniu max. 6 mbara i różnicy temperatur między temp. kondensatora liofilizatora a temperaturą półki, na której odbywa się suszenie równej co najmniej 140°C, w czasie 24 godzin. Wysuszony sublimacyjnie kompozyt CS/PVA poddano mechanicznemu rozdrobnieniu z wykorzystaniem młynka do postaci gruboziarnistego proszku. Rozdrobniony kompozyt zmieszano z granulatem polikaprolaktonu, tak aby jego udział stanowił 20% maso-

wych mieszaniny. Po dokładnym wymieszaniu składników, mieszaninę poddano ekstruzji w temperaturze 160°C. Wytłaczane włókno o średnicy 2–3 mm wychładzano powietrzem o temperaturze 20–30°C i poddano granulacji w procesie ciągłym. Następnie uzyskany granulat poddano ponownej ekstruzji w temperaturze 160°C przy zastosowaniu głowicy o średnicy w zakresie 0,4–3 m.

Przykład 4

W celu potwierdzenia otrzymania przeciwdrobnoustrojowego materiału termoplastycznego, który nie ulega degradacji wskutek obecności pozostałości kwasu do rozpuszczania chitozanu, przeprowadzono testy termostatowania kompozytu CS-PVA (Tabela 1) oraz pomiary właściwości mechanicznych, aktywności wobec bakterii *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*, cytotoksyczności oraz drukowalności metodą osadzania topionego włókna (FDM) dla włókien otrzymanych według przykładów 1–3.

Tabela 1. Potwierdzenie destrukcyjnej roli kwasów mineralnych standardowo wykorzystywanych do rozpuszczania chitozanu w jego kompozytach z poli(alkoholem winylowym) po 5-godzinnej obróbce temperaturowej w 160°C.

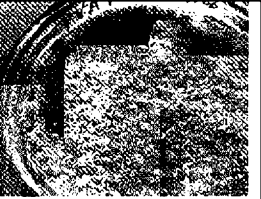
Rodzaj kwasu	Węglowy	Octowy	Chlorowodorowy
Kompozyt CS/PVA 1:1 m/m			

Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne, biologiczne i użytkowe otrzymanych włókien według przykładu 1–3.

		Przykład 1	Przykład 2	Przykład 3
Wytrzymałość na rozciąganie [MPa]		7,5	8,1	9,2
Wydłużenie przy rozciąganiu [%]		112	110	110
Logarytmiczny Stopień redukcji <i>S. aureus</i>		2,38	1,64	0,95
Logarytmiczny Stopień redukcji <i>E.coli</i>		2,05	1,25	0,56
Cytotoksyczność względem linii komórkowej L929 jako przeżywalność komórek [%]		91	90	88
Drukowalność metodą FDM				
	Twardość [kPa]	6,2	5,5	4,8
	Elastyczność [-]	0,51	0,54	0,65

Przeprowadzony test termostatowania kompozytów potwierdził, że zastosowanie metody ich przygotowania poprzez połączenie hydrożelu chitozanu w kwasie węglowym oraz roztworu poli(alkoholu winylowego), a następnie liofilizację zamrożonej mieszaniny tych polimerów, pozwala na uzyskanie stabilnego termicznie kompozytu, który nie ulega degradacji w temp. do 160°C w trakcie kilkugodzinnego

ogrzewania. Cechy tej nie posiadają kompozyty chitozanu z poli(alkoholem winylowym), w których obecny jest kwas mineralny (np. octowy, chlorowodorowy) wykorzystywany w klasycznych metodach rozpuszczania chitozanu. Tym samym udowodniono, że materiały wyprodukowane tym sposobem nie będą degradować podczas procesu ekstruzji, który wymaga podwyższonej temperatury, a kompozyt chitozan poli(alkohol winylu) może stanowić składnik materiałów termoplastycznych z wykorzystaniem osnowy w postaci polikaprolaktonu. Testy aktywności przeciwdrobnoustrojowej potwierdziły, że oba materiały wykazują aktywność co najmniej bakteriostatyczną, przy czym materiał zawierający 20% chitozanu, opisany w przykładzie wykonania 1, pozwala na redukcję bakterii *S. aureus* i *E. coli* o co najmniej 99% przy początkowym obciążeniu mikrobiologicznym komórkami wyżej wymienionych bakterii na poziomie $1-5 \times 10^7$ jtk/ mL hodowli. Natomiast materiał zawierający 10% chitozanu, opisany w przykładzie wykonania 3, pozwala na redukcję bakterii *S. aureus* i *E. coli* o 50 do 90% przy takim samym początkowym obciążeniu mikrobiologicznym komórkami wyżej wymienionych bakterii. Test cytotoxyczności metodą MTT względem linii fibroblastów mysich L929 potwierdził, że przeżywalność komórek w kontakcie z wytworzonym materiałem jest wyższa niż 80%. Taki wynik oznacza brak efektu cytotoxycznego i potencjalną zgodność materiału jako rusztowania do hodowli komórkowej.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania materiału termoplastycznego jako filamentu do druku 3D zawierającego poli(alkohol winylowy), polikaprolakton oraz chitozan, gdzie roztwór chitozanu przygotowuje się w kwasie hydroksyoctowym lub mlekowym lub octowym, z którego następnie strąca się rozpuszczony chitozan roztworem zasady, uzyskany osad poddaje się separacji i przemywaniu, następnie zawieszeniu w odpowiedniej objętości wody destylowanej, tak aby w przeliczeniu na masę nieuwodnionego polimeru uzyskać 1% wodny roztwór, kolejno homogenizuje się i nasycy ditlenkiem węgla przy jednoczesnym mieszaniu mechanicznym zawiesiny do momentu rozpuszczenia chitozanu, **znamienny tym**, że chitozan w kolejnym etapie poddaje się kompatybilizacji do przetwórstwa z surowcami termoplastycznymi poprzez zmieszanie jego roztworu nasycanego dwutlenkiem węgla z wodnym roztworem hydrolizowanego poli(alkoholu winylowego), o stopniu hydrolizy co najmniej 75%, korzystnie 80%, gdzie udział masowy obu polimerów w odniesieniu do ich bezwodnych form wynosi 1:1, dalej mieszaninę zamraża się w temperaturze w zakresie od -80°C do -18°C i wysusza sublimacyjne w warunkach ciśnienia w zakresie 0,9–6,0 mbar, przy różnicy temperatur pomiędzy kondensatorem liofilizatora a temperaturą półki, na której odbywa się suszenie w zakresie od 70°C do 140°C a następnie tak wysuszony kompozyt chitozanu i poli(alkoholu winylowego) po rozdrobnieniu miesza się z polikaprolaktonem zaś otrzymany filament poddaje się ekstruzji, korzystnie dwustopniowej.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że wysuszony kompozyt chitozanu i poli(alkoholu winylowego) stanowi 20 do 40% udziału masowego, korzystnie 20% wytwarzanego materiału w postaci filamentu w osnowie z polikaprolaktonu.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stężenie ditlenku węgla w finalnym roztworze chitozanu wykorzystywanym do tworzenia kompozytu z poli(alkoholem winylowym) o pH w zakresie 5,5–6,5 wynosi od 10 do 500 ppm.
4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że filament do druku 3D ekstruduje się metodą osadzania topionego materiału FDM przy temperaturze dyszy: $130-160^{\circ}\text{C}$ i średnicy dyszy 0,4–3,0 mm.