

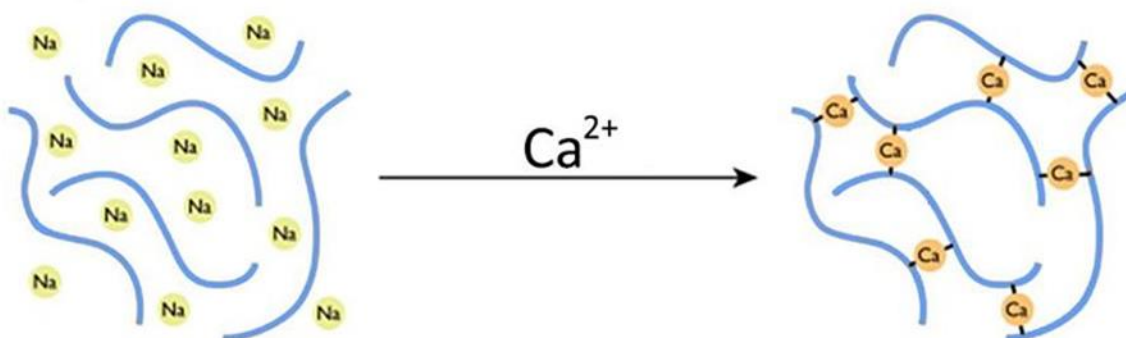
**ΡΕΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ****Κ. Πάττας, Μ. Ναούμ, Ε. Ρίζος & Α. Αγγελή**Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα  
(kspattas@auth.gr , aggeli@auth.gr)**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Το αλγινικό άλας είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης, ο οποίος παρασκευάζεται από το αλγινικό οξύ. Απομονώνεται από διάφορα είδη καφέ φύκης σε αλκαλικό περιβάλλον, συνήθως με υδροξείδιο του νατρίου. Είναι μία μη-τοξική και βιοσυμβατή ουσία, γεγονός που την κάνει ιδανική για φορέα φαρμακευτικών ουσιών και για μέσο επούλωσης τραυμάτων, ανάπλασης ιστών και κυτταρικής ανάπτυξης. Στη παρούσα μελέτη εξετάστηκαν με συστηματικό τρόπο οι ρεολογικές ιδιότητες του αλγινικού νατρίου υπό φυσιολογικές συνθήκες με την εφαρμογή ταλαντωτικής τάσης. Συγκεκριμένα, έγιναν μετρήσεις του μέτρου ελαστικότητας ( $G'$ ) και του μέτρου ιξώδους ( $G''$ ) για πηκτώματα αλγινικού άλατος με τη βοήθεια περιστροφικού ρεομέτρου ελεγχόμενης τάσης TA AR-G2. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν συναρτήσει της συχνότητας ταλάντωσης της ταλαντευόμενης τάσης, της παραμόρφωσης και της θερμοκρασίας. Αρχικά, εξετάστηκε η εξάρτηση των μηχανικών ιδιοτήτων από τη συγκέντρωση του αλγινικού νατρίου χρησιμοποιώντας 1% εύρος παραμόρφωσης (strain amplitude). Έπειτα, για συγκέντρωση 5% w/v, έγιναν ιξωδοελαστικές μετρήσεις συναρτήσει του εύρους ταλάντωσης της ταλαντευόμενης τάσης παραμόρφωσης (strain sweep), προκειμένου να προσδιορισθεί η γραμμική ιξωδοελαστική περιοχή (LVR) του υλικού. Τα αποτελέσματα της μελέτης μπορούν να προσφέρουν χρήσιμες πληροφορίες για τη χρήση του αλγινικού άλατος σε ένα μεγάλο εύρος πρακτικών βιοϊατρικών εφαρμογών.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ****Αλγινικό άλας και πηκτωματοποίηση**

Το αλγινικό άλας είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης, ο οποίος παρασκευάζεται από το αλγινικό οξύ. Απομονώνεται από διάφορα είδη καφέ φύκης σε αλκαλικό περιβάλλον, συνήθως με υδροξείδιο του νατρίου. Είναι μία μη-τοξική και βιοσυμβατή ουσία, γεγονός που την κάνει ιδανική για φορέα φαρμακευτικών ουσιών και για μέσο επούλωσης τραυμάτων, ανάπλασης ιστών και κυτταρικής ανάπτυξης<sup>[1]</sup>.

Κατά τη διάλυση του άλατος σε νερό, τα θετικά ιόντα νατρίου  $\text{Na}^+$  αποσπώνται από το άλας και δημιουργείται ένα αρκετά ιξώδες ρευστό (υδρογέλη). Η πηκτωματοποίηση πραγματοποιείται όταν στο ρευστό προστεθεί ένα δισθενές κατιόν, όπως για παράδειγμα ιόντα ασβεστίου  $\text{Ca}^{2+}$ . Τα ιόντα αυτά συνδέουν δύο αλυσίδες πολυμερούς όπως φαίνεται στο σχήμα 1 και έτσι δημιουργείται το διασυνδεδεμένο δίκτυο πολυμερών αλυσίδων, δηλαδή το πηκτωμα<sup>[2]</sup>.



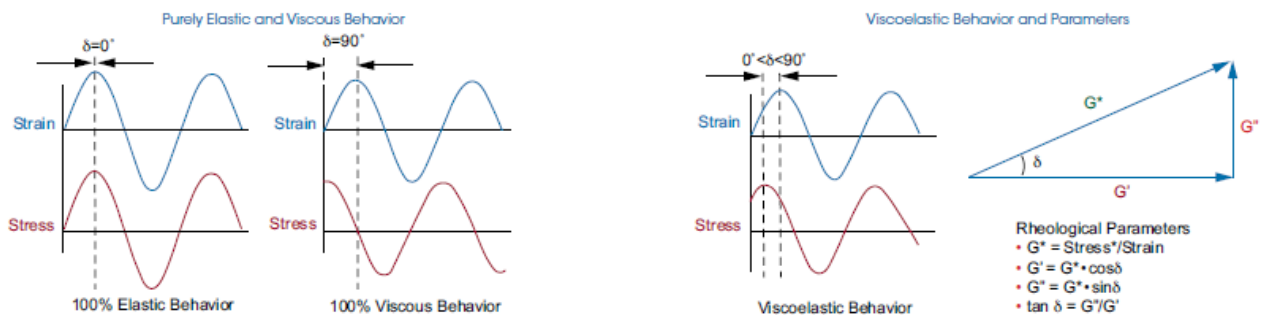
**Σχήμα 1.** Ο μηχανισμός πηκτωματοποίησης αλγινικού άλατος με ιόντα  $\text{Ca}^{2+}$

## Θρεπτικό μέσο DMEM

Το DMEM είναι ένα θρεπτικό μέσο το οποίο χρησιμοποιείται για καλλιέργεια κυττάρων, κυρίως θηλαστικών (ανθρώπινα, πιθηκοειδή, ποντίκια). Το μέσο αυτό προσομοιάζει τις φυσιολογικές συνθήκες των κυττάρων καθώς περιέχει τα απαραίτητα αμινοξέα, άλατα, βιταμίνες και γλυκόζη. Επιπλέον, προκειμένου να εξασφαλιστούν οι σωστές συνθήκες pH, προστίθεται ερυθρό της φαινόλης<sup>[3]</sup>.

## Ταλαντωτικές μετρήσεις

Οι ταλαντωτικές μετρήσεις είναι μακράν η πιο κοινή μέθοδος μελέτης για τη μέτρηση των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων ενός υλικού. Τόσο τα ελαστικά όσο και τα ιξώδη χαρακτηριστικά του υλικού μπορούν να μελετηθούν με επιβολή μιας ημιτονοειδούς τάσης (stress) και τη μέτρηση της προκύπτουσας ημιτονοειδούς τάσης παραμόρφωσης (strain) μαζί με τη διαφορά φάσης μεταξύ των δύο ημιτονοειδών κυμάτων (είσοδος και έξοδος). Η γωνία φάσης  $\delta$  ισούται με  $0^\circ$  για καθαρά ελαστικά υλικά και  $90^\circ$  για καθαρά ιξώδη υλικά. Τα ιξωδοελαστικά υλικά παρουσιάζουν μια γωνία φάσης οπουδήποτε μεταξύ αυτών των δύο ιδανικών περιπτώσεων, ανάλογα με το ρυθμό παραμόρφωσης. Στο σχήμα 2 παρουσιάζονται οι ημιτονοειδείς αυτές αποκρίσεις και οι διάφορες ρεολογικές παράμετροι που εξάγονται από αυτές<sup>[4]</sup>.



**Σχήμα 2.** Ρεολογικές ιδιότητες για ελαστικά ιξώδη και ιξωδοελαστικά υλικά<sup>[4]</sup>.

Οι ιξωδοελαστικές ιδιότητες ενός υλικού μπορούν να μελετηθούν συναρτήσει του εύρους παραμόρφωσης (strain amplitude), της συχνότητας, του χρόνου και της θερμοκρασίας.

Στις μετρήσεις συναρτήσει του εύρους ταλάντωσης της ταλαντευόμενης τάσης παραμόρφωσης (strain sweep) η συχνότητα και η θερμοκρασία διατηρούνται σταθερές ενώ παράλληλα μεταβάλλεται η τάση παραμόρφωσης. Οι μετρήσεις αυτού του τύπου χρησιμοποιούνται για την εύρεση της γραμμικής ιξωδοελαστικής περιοχής (Linear Viscoelastic Range) των υλικών. Η περαιτέρω μελέτη των υλικών μέσα στα όρια της περιοχής αυτής μπορεί να προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες για τη σχέση μεταξύ της δομής και των ιδιοτήτων ενός υλικού, καθώς η μοριακή διάταξη του υλικού μέσα σε αυτή τη περιοχή δεν μεταβάλλεται σημαντικά σε σχέση με τη σταθερή της κατάσταση<sup>[4]</sup>.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Για τη μελέτη του αλγινικού άλατος πραγματοποιήθηκαν ρεολογικές μετρήσεις σε μορφή πηκτωμάτων σε συγκεντρώσεις από 1 % w/w ως 10 % w/w. Επίσης, μελετήθηκαν λεπτομερώς οι ιξωδοελαστικές ιδιότητες πηκτωμάτων σε συγκέντρωση 5 % w/v συναρτήσει του εύρους ταλάντωσης της ταλαντευόμενης τάσης παραμόρφωσης (strain sweep), προκειμένου να προσδιορισθεί η γραμμική ιξωδοελαστική περιοχή (LVR) του υλικού. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν με τη βοήθεια περιστροφικού ρεομέτρου ελεγχόμενης τάσης (AR-G2 Rheometer, TA Instruments, USA).

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη πειραματική διαδικασία περιλαμβάνουν αλγινικό νάτριο, χλωριούχο ασβέστιο  $\text{CaCl}_2$ , θρεπτικό μέσο DMEM και αζίδιο του νατρίου  $\text{NaN}_3$ .



**Σχήμα 3.** Διάλυμα αλγινικού άλατος σε DMEM.

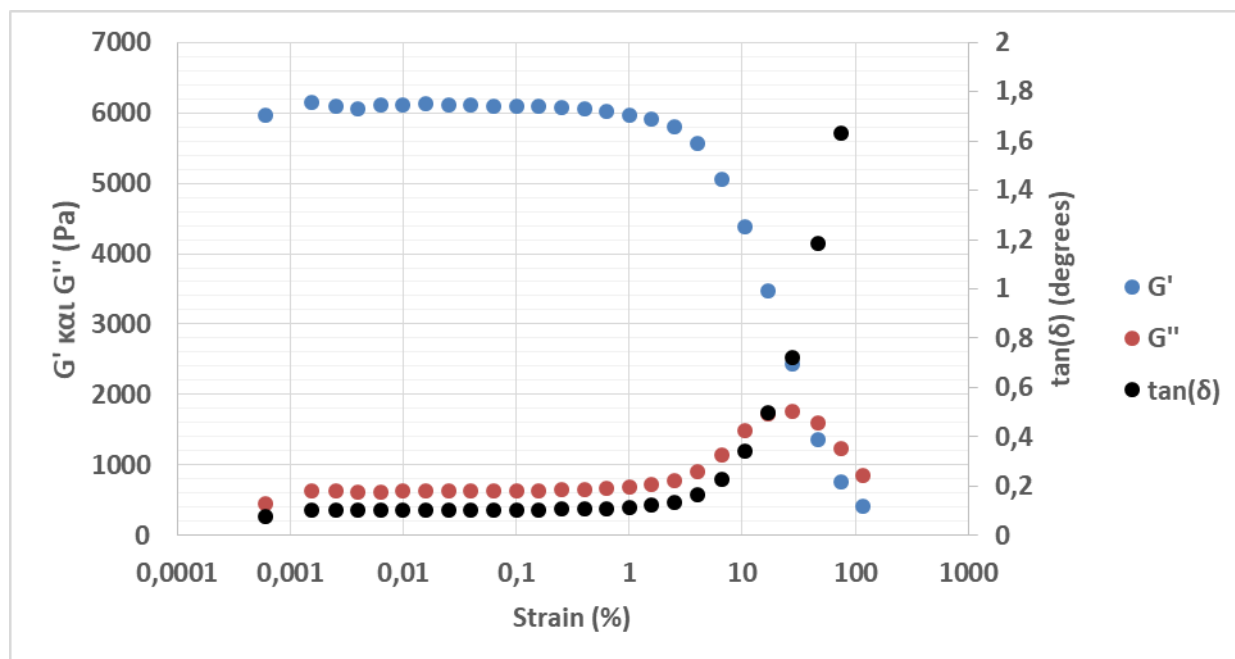
Τα δείγματα στη συνέχεια μελετήθηκαν στο ρεόμετρο (σχήμα 4) αφού πρώτα επεξεργάστηκαν για να έχουν τη κατάλληλη μορφή. Στην πρώτη μέτρηση εξετάστηκε η εξάρτηση των μηχανικών ιδιοτήτων από τη συγκέντρωση του αλγινικού νατρίου χρησιμοποιώντας 1% εύρος παραμόρφωσης. Στη συνέχεια, για την εύρεση της γραμμικής ιξωδοελαστικής περιοχής, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του μέτρου ελαστικότητας  $G'$  και του μέτρου ιξώδους  $G''$  συναρτήσει του εύρους ταλάντωσης της ταλαντευόμενης τάσης παραμόρφωσης από τάσεις παραμόρφωσης 0,0001 % έως 100 %.



**Σχήμα 4.** Ρεόμετρο AR-G2 (TA Instruments).

#### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πραγματοποιήθηκε ταλαντωτική μέτρηση μέτρου ελαστικότητας ( $G'$ ) και μέτρου ιξώδους ( $G''$ ). Η θερμοκρασία διατηρήθηκε σταθερή στους 25°C. Τα αποτελέσματα της μέτρησης παρουσιάζονται στο σχήμα 5 που ακολουθεί.



**Σχήμα 5.** Μέτρο ελαστικότητας ( $G'$ ), μέτρο ιξώδους ( $G''$ ) και η διαφορά φάσης μεταξύ τους ( $\tan(\delta)$ ) συναρτήσει της τάσης παραμόρφωσης.

Όπως φαίνεται, η μέτρηση παρουσιάζει αρκετό θόρυβο για μικρές τιμές τάσης παραμόρφωσης. Ο θόρυβος φαίνεται πως μειώνεται σημαντικά για τιμές τάσης παραμόρφωσης μεγαλύτερες από 0,08 %. Μετά από αυτό το σημείο, η τιμή του μέτρου ελαστικότητας ( $G'$ ) μένει σταθερή στα 60.000 Pa αλλά μειώνεται ραγδαία μετά από 0,5 % τάσης παραμόρφωσης. Ομοίως, το μέτρο ιξώδους ( $G''$ ) παραμένει σταθερό στα 650 Pa και μετά από 0,5 % τάσης παραμόρφωσης αυξάνεται σημαντικά. Επομένως το υλικό παρουσιάζει τυπική ιξωδοελαστική συμπεριφορά μέχρι 0,5 % τάσης παραμόρφωσης, με το μέτρο ελαστικότητας να υπερیشύει ως 28% παραμόρφωση. Μετά από αυτό το σημείο, το υλικό αποκτά περισσότερο ιξώδη χαρακτήρα, όπως υποδεικνύεται και από την παράμετρο  $\tan(\delta)$ , η οποία γίνεται μεγαλύτερη της μονάδας.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν πως το αλγινικό άλας μπορεί να δημιουργήσει εντυπωσιακά πηκτώματα σε συγκέντρωση 5% w/v και στις φυσιολογικές συνθήκες που εξασφαλίζει το μέσο DMEM. Στους 25°C όπου πραγματοποιήθηκε η μέτρηση, το υλικό φαίνεται να είναι αρκετά ελαστικό, με μέτρο ελαστικότητας 60.000 Pa και μέτρο ιξώδους 650 Pa, μια διαφορά δύο τάξεων μεγέθους. Επιπλέον, από το σχήμα 5 φαίνεται πως η γραμμική ιξωδοελαστική περιοχή (LVR) εκτείνεται ως 0,5% τάσης παραμόρφωσης, γεγονός το οποίο υποδεικνύει πως το υλικό είναι αρκετά εύθραυστο. Σύμφωνα με τα παραπάνω, το αλγινικό άλας φαίνεται πως είναι ένα πολλά υποσχόμενο υλικό για μια πληθώρα βιοϊατρικών εφαρμογών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] A.D. Augst, H.J. Kong, D.J. Mooney. *Macromolecular Bioscience*, 6(8), 623–633.
- [2] S.H. Ching, N. Bansal, B. Bhandari. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1133–1152.
- [3] Sigma Aldrich
- [4] TA Instruments