

DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.098

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO SCAFFOLD POLYLACTIC ACID BẰNG PHƯƠNG PHÁP TÁCH PHA DUNG MÔI

Hồ Quốc Phong^{1*}, Tao Thế Dương², Huỳnh Liên Hương¹ và Trần Sỹ Nam³

¹Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

²Học viên cao học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

³Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Hồ Quốc Phong (email: hqphong@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 14/01/2019

Ngày nhận bài sửa: 02/03/2019

Ngày duyệt đăng: 29/08/2019

Title:

Study on preparation of polylactic acid scaffold using nonsolvent induced phase separation method

Từ khóa:

Cấu trúc khung xốp, kỹ thuật mô, polylactic acid, scaffold, tách pha dung môi

Keywords:

Porous structure, phase separation, polylactic acid, scaffold, tissue engineering

ABSTRACT

Scaffold - a porous structure is an important component in tissue engineering, because it supports the formation of 3D structure. Therefore, this study was conducted to fabricate scaffold from polylactic acid (PLA). Nonsolvent induced phase separation method (NIPS) was applied and important factors affecting the formation of scaffold such as solvent types, polymer concentration, temperature of solvent system, the ratio of ethanol/water, and the ratio of solvent/nonsolvent (v/v) were investigated. Experimental results showed that when increasing the concentration of polymer and the water content in the nonsolvent were reducing pore size of scaffold. In contrast, when increasing the temperature and the ratio of solvents/nonsolvent were increasing the pore size of scaffold. Scaffold in the pore size of 42.4 μm could be prepared at condition of PLA 150 g/L, 40 $^{\circ}\text{C}$, the ethanol to water volume ratio of 96/4, the solvent/nonsolvent volume ratio of 1/20. In addition, the results of mechanical tests showed that tensile strength of scaffold decreased as the pore size increased. Tensile strength of scaffold in pore size of 42.4 μm was 65.5 MPa and its specific surface area was 25.7 m^2/g .

TÓM TẮT

Scaffold - dạng cấu trúc khung xốp, là một thành phần quan trọng trong kỹ thuật mô vì nó góp phần vào việc tạo nên cấu trúc mô ba chiều. Vì thế, đề tài này được tiến hành nhằm nghiên cứu chế tạo scaffold từ polymer phân hủy sinh học polylactic acid (PLA). Phương pháp tách pha dung môi được sử dụng và các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành scaffold như loại dung môi, nồng độ polymer, nhiệt độ trao đổi, tỉ lệ ethanol/nước của hệ dung môi trao đổi, tỉ lệ dung dịch và dung môi trao đổi được tiến hành khảo sát. Kết quả thí nghiệm cho thấy khi tăng nồng độ polymer và lượng nước của dung môi trao đổi làm giảm kích thước lỗ xốp. Ngược lại, khi tăng nhiệt độ trao đổi và tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi làm tăng kích thước lỗ xốp. Scaffold có kích thước lỗ xốp 42,4 μm có thể được chế tạo ở nồng độ PLA là 150 g/L, nhiệt độ trao đổi là 40 $^{\circ}\text{C}$, dung môi trao đổi có tỉ lệ ethanol/nước là 96/4, tỉ lệ thể tích dung môi hòa tan/dung môi trao đổi là 1/20. Ngoài ra, kết quả thử nghiệm cơ học cho thấy độ bền kéo của scaffold giảm khi tăng kích thước lỗ xốp. Scaffold với lỗ xốp 42,4 μm có độ bền kéo là 65,5 MPa và diện tích bề mặt riêng là 25,7 m^2/g .

Trích dẫn: Hồ Quốc Phong, Tao Thế Dương, Huỳnh Liên Hương và Trần Sỹ Nam, 2019. Nghiên cứu chế tạo scaffold polylactic acid bằng phương pháp tách pha dung môi. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(4A): 82-91.

1 GIỚI THIỆU

Kỹ thuật mô xuất hiện như là một khái niệm đầy hứa hẹn cho sự phát triển và sửa chữa lại cấu trúc mô hay tái tạo xương bằng cách sử dụng các tế bào thích hợp và các vật liệu tự nhiên hoặc tổng hợp. Một trong những phương pháp chính của kỹ thuật cấy mô là nuôi dưỡng các tế bào thành mô hay cơ quan có cấu trúc ba chiều (3D). Tuy nhiên, trong thực tế các tế bào không thể tự phát triển thành cấu trúc 3D mà sẽ phát triển một cách ngẫu nhiên tạo thành lớp tế bào có cấu trúc hai chiều (2D) (Burg, Porter *et al.*, 2000). Vì vậy, cần phải có khung xốp hay còn gọi là scaffold, được xem như là khung kiến trúc nhân tạo đóng vai trò như là khuôn nền ngoại bào nhân tạo (extracellular matrix - ECM) để hướng các tế bào phát triển theo cấu trúc 3D. Scaffold với cấu trúc 3D xốp giúp điều tiết tế bào, là nơi để các tế bào bám lên, sinh trưởng và phát triển hình thành mô 3D. Khi các tế bào bám lên scaffold, chúng sẽ biệt hóa, tổ chức thành mô khỏe mạnh bình thường đồng thời tiết ra các thành phần nền ngoại bào để tạo mô (Shajkumar, 2015).

Scaffold có rất nhiều hình thái khác nhau như mạng xốp, hạt, sợi, gel,... Trong kỹ thuật mô, tùy vào hình thái và đặc tính riêng biệt mà mỗi loại scaffold sẽ có những ứng dụng riêng. Chẳng hạn, đối với những scaffold có diện tích bề mặt riêng lớn, độ tương hợp sinh học cao có thể dùng để dẫn truyền thuốc, tái tạo mô da, dây chằng, dây thần kinh hoặc scaffold cơ tính tốt có thể dùng tái tạo xương, sụn. Tùy theo mục đích sử dụng mà scaffold có thể được chế tạo từ nhiều nguồn vật liệu khác nhau, thường từ 3 nguồn chính là: polymer tự nhiên, polymer tổng hợp và gốm sứ (ceramic). Scaffold được chế tạo từ ceramic thường có cơ tính rất cao, tương đối trơ về sinh học nên thường được sử dụng trong xương nhân tạo, chỉnh hình. Scaffold chế tạo từ polymer thường có độ mềm dẻo cao. Tuy nhiên, những loại scaffold này lại có một nhược điểm là cơ tính yếu (Okamoto and John, 2013). Việc này có thể được khắc phục bằng cách phối trộn nhiều loại polymer lại với nhau hoặc bổ sung thêm khoáng ceramic.

Ngoài việc lựa chọn nguyên liệu thích hợp, việc lựa chọn phương pháp chế tạo cũng ảnh hưởng rất lớn đến cấu trúc, hình thái và tính chất lý hóa của scaffold. Hiện nay, có rất nhiều phương pháp chế tạo scaffold từ polymer được sử dụng rộng rãi trên thế giới, ví dụ như kết sợi (fiber bonding), ép đùn (extrusion), ép khuôn (compression molding), kéo sợi điện thể (electrospinning), tách pha (phase separation) hay in 3D (3D printing). Mỗi phương pháp đều có ưu, nhược điểm riêng và tùy vào mục đích sử dụng, phương pháp chế tạo scaffold phù hợp

sẽ được sử dụng. Trong đó, tách pha dung môi là một phương pháp đơn giản, dễ sử dụng trong việc chế tạo vật liệu polymer có cấu trúc xốp (Guillen, Pan *et al.*, 2011).

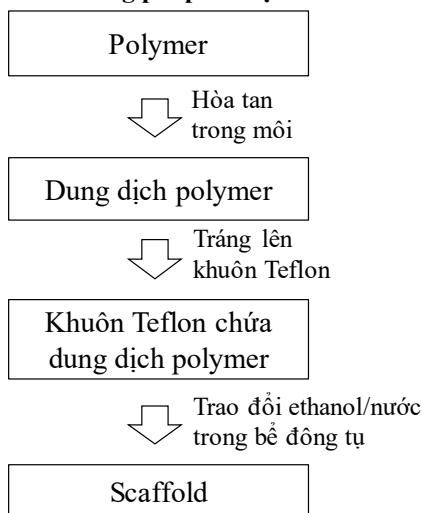
Tách pha dung môi hay còn được gọi là tách pha bằng bề đồng tụ, là phương pháp làm tách pha giữa dung môi và polymer để tạo thành cấu trúc polymer xốp. Polymer được hòa tan trong dung môi thích hợp (solvent) để tạo thành dung dịch polymer đồng nhất. Dung dịch polymer sau đó trao đổi với chất lỏng không hòa tan polymer (nonsolvent). Quá trình trao đổi giữa dung môi của polymer và dung môi không hòa tan diễn ra, dẫn đến quá trình tách pha nhằm hình thành nên cấu trúc xốp. Đặc tính quan trọng của phương pháp là sự trao đổi giữa dung môi hòa tan polymer (solvent) và chất lỏng trao đổi (nonsolvent). Như vậy, sự hình thành cấu trúc polymer xốp phụ thuộc nhiều vào các yếu tố khác nhau như loại dung môi hòa tan (solvent), dung môi trao đổi (nonsolvent), nhiệt độ quá trình trao đổi và tỉ lệ thể tích solvent/nonsolvent.

2 HÓA CHẤT VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Hóa chất

Poly(lactic acid (PLA) là polymer phân hủy sinh học được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu chế tạo vật liệu sử dụng trong lĩnh vực y học. Trong nghiên cứu này, PLA có khối lượng phân tử 60,000, được cung cấp bởi Sigmaaldrich. Các dung môi chloroform (CHCl₃), tetrahydrofuran (THF), 1,4-dioxane, 1,2-Dichloromethane (CH₂Cl₂) được cung cấp từ Công ty Merck Việt Nam và còn tuyệt đối xuất xứ Việt Nam.

2.2 Phương pháp chế tạo



Hình 1: Sơ đồ chế tạo scaffold bằng phương pháp tách pha dung môi

Phương pháp chế tạo scaffold được mô tả theo sơ đồ của Hình 1. Poly(lactic acid) (PLA) được hòa tan trong dung môi ở nhiệt độ phòng để tạo thành dung dịch đồng nhất với nồng độ xác định. Dung dịch polymer (20 mL) được tráng lên khuôn Teflon (60 mm x 100 mm x 5 mm). Khuôn chứa dung dịch polymer được loại bỏ hoàn toàn bọt khí, sau đó được cho vào bể đông tụ chứa hệ chất lỏng trao đổi là ethanol/nước. Sự trao đổi của hệ chất lỏng trao đổi

ethanol/nước với dung môi dẫn đến sự hình thành nên polymer cấu trúc khung xốp. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành scaffold cấu trúc xốp được khảo sát theo phương pháp luân phiên từng biến cho các yếu tố như loại dung môi, nồng độ polymer, nhiệt độ trao đổi, tỉ lệ ethanol/nước và tỉ lệ dung môi hòa tan/chất lỏng trao đổi. Chi tiết các khoảng khảo sát được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1: Các yếu tố khảo sát

Yếu tố khảo sát	Khoảng khảo sát			
	Dioxane	Chloroform	THF	DM
Loại dung môi				
Nồng độ polymer, g/L	75	100	125	150
Nhiệt độ chế tạo, °C	10	20	30	40
Tỉ lệ ethanol/nước, v/v	90/10	80/20	70/30	60/40
Tỉ lệ dung môi/chất lỏng trao đổi, v/v	1/10	1/15	1/20	1/25

THF: Tetrahydrofuran; DM: Dichloromethane.

2.3 Các phương pháp phân tích đánh giá

2.3.1 Xác định hình thái và kích thước scaffold

Hình thái và kích thước lỗ xốp của scaffold được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) Hitachi Tabletop Microscope TM-1000. Để phân tích hình thái và kích thước lỗ xốp, các mẫu scaffold sẽ được cắt với kích thước 1 cm x 1 cm, xử lý bằng phương pháp bề gãy tự nhiên để không ảnh hưởng đến cấu trúc xốp. Mỗi mẫu được chụp ở 3 vị trí khác nhau với các độ phóng đại x200, x500 và x1000 ở điều kiện điện áp 20 kv. Kích thước lỗ xốp trên hình được xác định bằng phần mềm phân tích ảnh ImageJ.

2.3.2 Xác định diện tích bề mặt scaffold

Diện tích bề mặt riêng của scaffold sẽ được xác định bằng phương pháp của Brunauer - Emmett - Teller (BET) trên máy Quantachrome Nova 2200. Thiết bị hoạt động với chất hấp phụ là khí nitơ có áp suất hơi bão hòa $P_0 = 765$ mmHg, nhiệt độ bùồng mẫu $-195,65$ °C, thể tích xi lanh $V_s = 0,07645$ cm³.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của hệ dung môi/dung môi trao đổi đến tính chất scaffold

Các nghiên cứu cho thấy các loại dung môi thường được sử dụng để hòa tan PLA là chloroform (Mikos, Thorsen *et al.*, 1994, Zoppi, Contant *et al.*, 1999, Ghorbani, Nojehdehian *et al.*, 2016), tetrahydrofuran (THF) (Wei and Ma, 2004), 1,4-dioxane (Yamaguchi, Shinbo *et al.*, 2004, Ellis and Chaudhuri, 2007, Niu, Feng *et al.*, 2009) và dichloromethane (Liu, Lee *et al.*, 2004). Vì thế, ảnh hưởng của dung môi hòa tan đến cấu trúc của PLA scaffold được khảo sát. Các loại dung môi hòa tan khác nhau như dichloromethane, 1,4-dioxane, THF,

chloroform được sử dụng chế tạo mẫu scaffold. Mẫu scaffold được tiến hành với điều kiện thí nghiệm cố định nồng độ PLA 150 g/L, nhiệt độ phòng và hệ dung môi trao đổi ethanol/nước = 95/5 và tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi là 1/20. Kết quả khảo sát cho thấy scaffold không hình thành từ dung môi dichloromethane. Scaffold tạo từ 1,4-dioxane rất mỏng và khó hình thành scaffold (Hình 2a). Scaffold được chế tạo từ dung môi hòa tan là THF có bọt khí xuất hiện rất nhiều trên bề mặt (Hình 2b). Scaffold được tạo thành từ dung môi chloroform có dạng tấm và bề mặt phẳng đẹp (Hình 2c).

Như vậy, có thể nói dung môi đóng vai trò rất quan trọng trong sự hình thành scaffold. Dung môi hòa tan được lựa chọn phải có khả năng hòa tan tốt PLA và có khả năng trộn lẫn với dung môi trao đổi. Theo Hansen, sự hòa tan của polymer vào dung môi sẽ phụ thuộc vào sự chênh lệch năng lượng tương đối RED (relative energy difference) của polymer và dung môi hòa tan. RED được tính bằng R_a/R_o , trong đó: R_o là bán kính tương tác của polymer trong không gian Hansen và R_o của PLA là 10,7. R_a là tham số khoảng cách hòa tan được phát triển bởi Skaarup (Hansen, 1967) và được tính bằng công thức sau:

$$R_a = \sqrt{4(\delta_{d2} - \delta_{d1})^2 + (\delta_{p2} - \delta_{p1})^2 + (\delta_{h2} - \delta_{h1})^2}$$

Trong đó: $\delta_d, \delta_p, \delta_h$ lần lượt là tham số phân tán, độ phân cực, liên kết hydro. Chỉ số 1 và 2 được kí hiệu tương ứng cho polymer và dung môi. Các giá trị $\delta_d, \delta_p, \delta_h$ của các chất được tham khảo từ sổ tay của Hansen (Hansen, 1967, Auras, Lim *et al.*, 2010). Trong đó, giá trị RED tiến về 0 thì khả năng hòa tan polymer càng tốt.

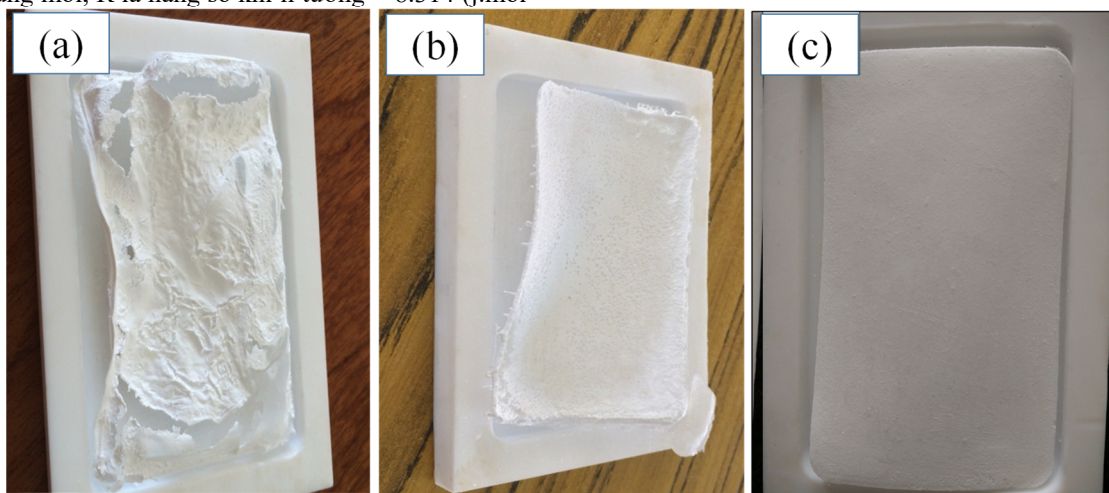
Bên cạnh sự chênh lệch năng lượng tương đối RED, χ_{12} - tham số tương tác Flory cũng được

sử dụng để xác định khả năng hòa tan của polymer vào dung môi (Flory and Krigbaum, 1950, Koningsveld, Kleintjens *et al.*, 1974). χ_{12} được tính bằng công thức:

$$\chi_{12} = \frac{v_m}{RT} [(\delta_{d2} - \delta_{d1})^2 + (\delta_{p2} - \delta_{p1})^2 + (\delta_{h2} - \delta_{h1})^2]$$

Trong đó: v_m ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$) là thể tích mol của dung môi, R là hằng số khí lí tưởng = 8.314 ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$

$\cdot \text{K}^{-1}$), $T = 298\text{K}$. Tương tự như RED, khả năng hòa tan của PLA vào dung môi sẽ tăng khi giá trị χ_{12} giảm. Giá trị của RED và χ_{12} được tính toán và trình bày trong Bảng 2. Kết quả từ Bảng 2 cho thấy độ hòa tan của PLA vào 4 dung môi giảm dần theo thứ tự sau dichloromethane > THF > chloroform > 1,4-dioxane.



Hình 2: Hình scaffold được chế tạo từ các loại dung môi hòa tan khác nhau: (a) 1,4-dioxane, (b) THF, (c) chloroform. Mẫu được tiến hành với điều kiện cố định nồng độ PLA 150 g/L, nhiệt độ phòng và hệ dung môi trao đổi ethanol/nước = 95/5 và tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi là 1/20.

Bảng 2: Giá trị RED và χ_{12} tương tác giữa PLA và một số dung môi

Polymer/Dung môi	PLA	1,4-dioxane	Chloroform	THF	Dichloromethane
Thể tích mol, cm^3/mol	-	85,7	80,7	81,7	63,9
Nhiệt độ sôi, $^{\circ}\text{C}$	-	101	61	66	40
Khối lượng riêng, g/cm^3	1250	1033	1498	0,886	1327
δ_d , ($\text{MPa}^{1/2}$)	18,6	19,0	17,8	16,8	18,2
δ_p , ($\text{MPa}^{1/2}$)	9,9	1,8	3,1	5,7	6,3
δ_h , ($\text{MPa}^{1/2}$)	6,0	7,4	5,7	8,0	6,1
Ra	10,7	8,3	7,0	5,5	3,7
RED	-	0,8	0,7	0,5	0,3
χ_{12}	-	2,34	1,53	0,82	0,34

Tuy nhiên, bên cạnh sự hòa tan tốt của PLA vào dung môi hòa tan thì sự trộn lẫn giữa dung môi hòa tan vào dung môi trao đổi cũng quan trọng không kém. Dung môi hòa tan và dung môi trao đổi phải trộn lẫn tốt vào nhau. Trong nghiên cứu này, ethanol được chọn làm dung môi trao đổi. Khả năng trộn lẫn của dung môi hòa tan vào ethanol được xác định bởi enthalpy tự do của hỗn hợp theo công thức:

$$\frac{\Delta G_m}{RT} = n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2 + \chi_{12}(\phi) n_1 \phi_2$$

Trong đó: n là nồng độ mol riêng phần, ϕ là thể tích riêng phần. Trong đó, ethanol được kí hiệu bằng

chỉ số 1 và dung môi hòa tan kí hiệu là chỉ số 2, χ_{12} là tham số tương tác Flory giữa ethanol và dung môi. Trong trường hợp này, tham số tương tác Flory χ_{12} được tính bằng công thức:

$$\chi_{12} = \frac{1}{n_1 \phi_1} \left[n_1 \ln \frac{n_1}{\phi_1} + n_2 \ln \frac{n_2}{\phi_2} + \frac{G^E}{RT} \right]$$

G^E là enthalpy tự do dư thừa và được xác định bởi biểu thức:

$$G^E = RT (n_1 \ln \gamma_1 + n_2 \ln \gamma_2)$$

Trong đó, các hệ số hoạt động $\ln \gamma_1$, $\ln \gamma_2$ được xác định bằng phương trình bán thực nghiệm van Laar:

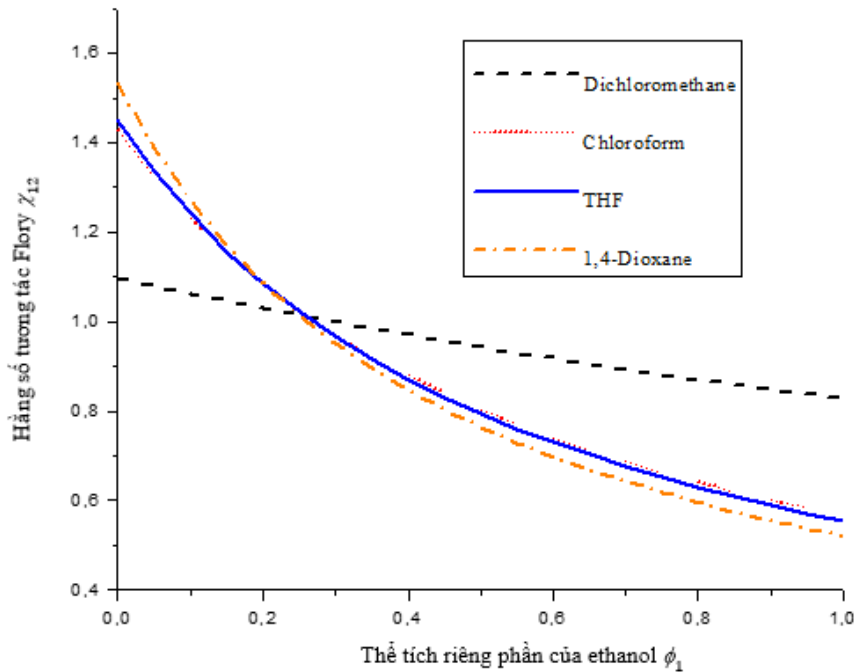
$$\ln\gamma_1 = \frac{\Lambda_{12}}{\left(1 + \frac{\Lambda_{12}n_1}{\Lambda_{21}n_2}\right)^2}; \ln\gamma_2 = \frac{\Lambda_{21}}{\left(1 + \frac{\Lambda_{21}n_2}{\Lambda_{12}n_1}\right)^2}$$

Trong đó, Λ_{ij} được xác định bởi phương pháp của Shigetoshi Kobuchi như sau (Kobuchi, Takakura *et al.*, 2013):

$$\Lambda_{ij} = \frac{v_j}{v_i} \exp\left(-\frac{\lambda_{ij} - \lambda_{ii}}{RT}\right)$$

$$\lambda_{ij} = -(1 - \varepsilon_{ij})(v_i v_j)^{0.5} \delta_i \delta_j; i=j \Rightarrow \varepsilon_{ij} = 0$$

$$\varepsilon_{ij} = 1 - \left(\frac{v_i}{v_j}\right)^{0.5} \frac{\delta_i}{\delta_j}$$



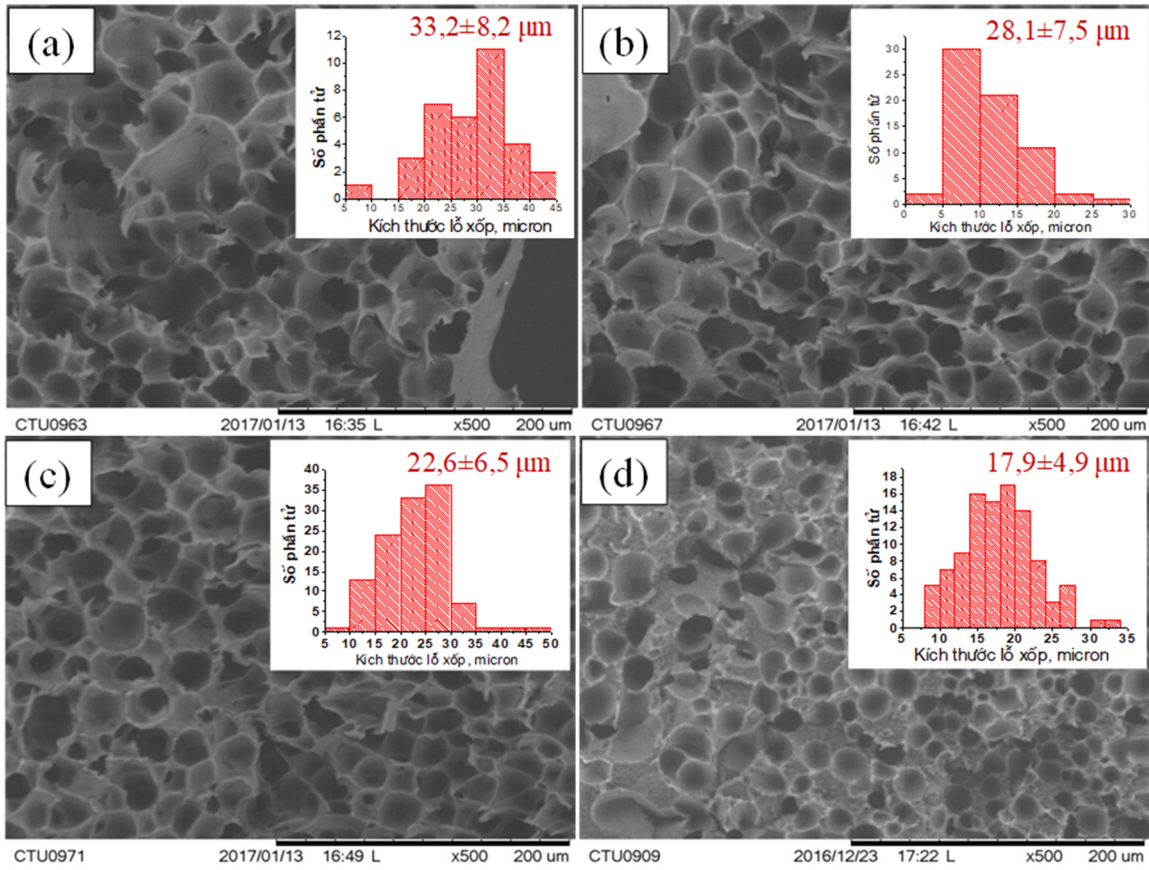
Hình 3: Sự tương quan giữa tham số tương tác Flory giữa dung môi hòa tan và thể tích riêng phần của ethanol

Như vậy, dung môi 1,4-dioxane có khả năng trộn lẫn với ethanol tốt nhất nhưng hòa tan PLA kém nhất nên scaffold được chế tạo từ 1,4-dioxane rất mỏng và khó hình thành. THF có khả năng trộn lẫn tốt với ethanol, tuy nhiên THF lại có khối lượng riêng thấp, điều này làm cho THF có xu hướng nổi lên trên bề mặt của hỗn hợp, dẫn đến quá trình kéo sợi cũng như xuất hiện bọt khí. Dichloromethane có khả năng hòa tan PLA tốt nhất nhưng khả năng trộn lẫn với ethanol lại không lý tưởng, hơn nữa nhiệt độ sôi của dichloromethane quá thấp, chỉ khoảng 40 °C nên không phù hợp với điều kiện khảo sát. Scaffold tạo thành từ dung môi chloroform có bề mặt và cấu trúc liên khối (Hình 2c) nên phù hợp làm dung môi hòa tan PLA.

Khi χ_{12} tăng thì khả năng trộn lẫn của 2 dung môi vào nhau giảm, χ_{12} tiến về 0 thì khả năng trộn lẫn của 2 dung môi là lý tưởng. Hình 3 thể hiện đồ thị sự phụ thuộc của χ_{12} vào ϕ_1 - thể tích riêng phần của ethanol. Khi thể tích riêng phần của ethanol tăng thì χ_{12} của 4 loại dung môi hòa tan đều giảm. Đồ thị Hình 3 cho thấy khả năng trộn lẫn của dichloromethane trong ethanol là thấp nhất, do $\chi_{12} = 0.83$ ở $\phi_1 = 1$. 1,4-dioxane có khả năng trộn lẫn trong ethanol là tốt nhất, do có $\chi_{12} = 0.6$ ở $\phi_1 = 1$. Chloroform và THF cho khả năng trộn lẫn ethanol là tương đương nhau với $\chi_{12} = 0.5$ ở $\phi_1 = 1$

3.2 Ảnh hưởng của nồng độ polymer đến hình thái scaffold

Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ polymer đến cấu trúc, scaffold được chế tạo từ dung dịch polymer có nồng độ thay đổi từ 75 g/L đến 150 g/L). Trong đó, điều kiện thí nghiệm cố định: nhiệt độ 25 °C, tỉ lệ ethanol/nước 96/4; tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi là 1/20. Kết quả ảnh SEM cho thấy kích thước lỗ xốp hay độ xốp giảm khi tăng nồng độ polymer. Trong đó, kích thước lỗ xốp là 33,2 μm, 28,1 μm, 24,7 μm và 17,9 μm tương ứng với nồng độ polymer là 75 g/L, 100 g/L, 125 g/L và 150 g/L. Ngoài ra, khi nồng độ PLA tăng, độ dày của vách ngăn giữa các lỗ xốp cũng trở nên dày hơn (Hình 4).



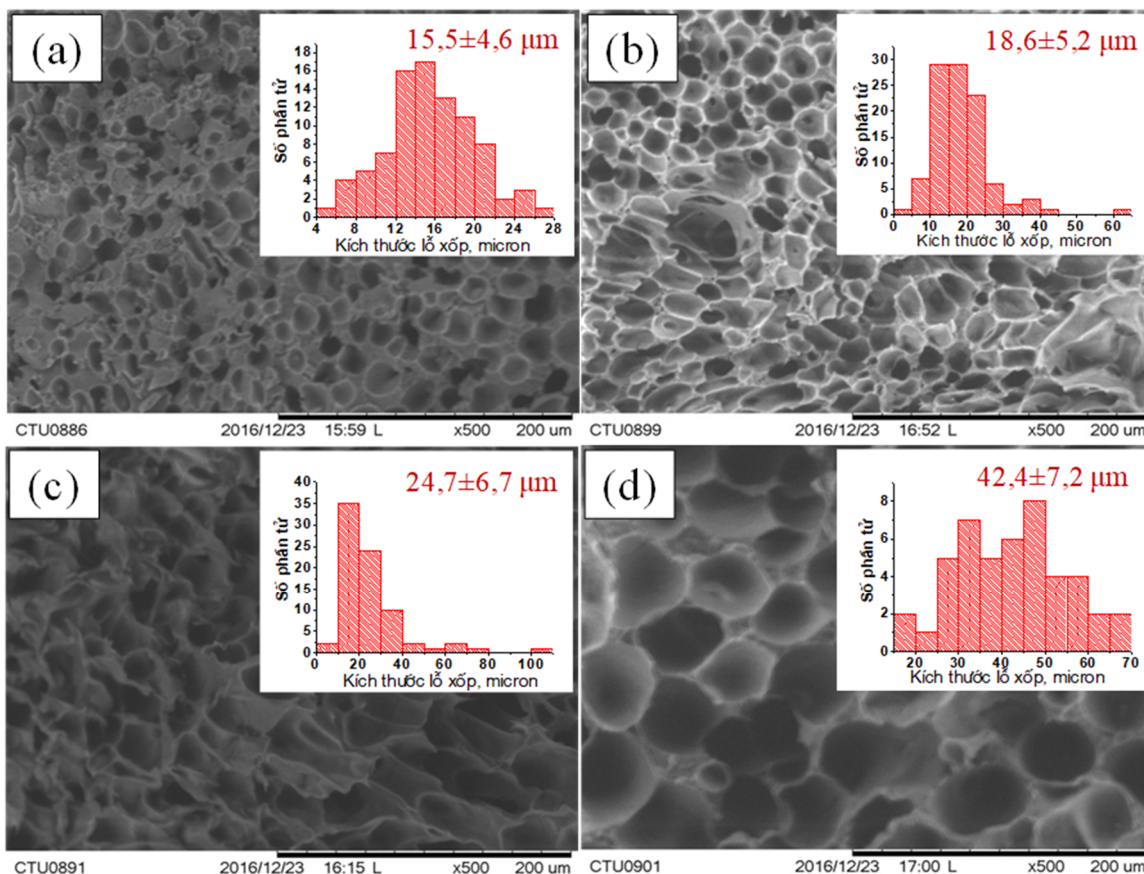
Hình 4: Hình thái mặt cắt ngang của scaffold được hình thành từ dung dịch polymer ở các nồng độ khác nhau: (a) 75 g/L, (b) 100 g/L, (c) 125 g/L và (d) 150 g/L. Điều kiện cố định: nhiệt độ 25 °C, tỉ lệ ethanol/nước 96/4; tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi là 1/20.

Điều này có thể được thấy, khi nồng độ của PLA tăng thì thời gian trao đổi hay tách pha giảm xuống từ đó dẫn đến giảm kích thước lỗ xốp. Hơn nữa, ở nồng độ cao thì lượng phân tử PLA trên bề mặt lớp dung dịch polymer cũng tăng, những phân tử PLA trên bề mặt sẽ ngăn cản sự di chuyển, làm tốc độ di chuyển của chloroform vào chất lỏng trao đổi giảm đi, đồng nghĩa dẫn đến kích thước lỗ xốp cũng nhỏ lại, vách ngăn lại trở nên dày hơn. Ở những mẫu scaffold có nồng độ thấp, việc chloroform di chuyển dễ dàng và thời gian tách pha lâu hơn dẫn đến kích thước lỗ xốp to đồng thời vách ngăn lỗ xốp mỏng. Đối với scaffold dùng cho kỹ thuật mô, kích thước lỗ xốp là một trong những yếu tố quan trọng. Lỗ xốp lớn và độ xốp cao sẽ giúp cho việc vận chuyển các chất cần thiết để tái tạo mô xảy ra dễ dàng hơn. Tuy nhiên, nếu độ xốp quá cao thì độ bền cơ lại không đảm bảo vì thế việc chọn lựa nồng độ polymer để chế tạo scaffold phụ thuộc vào mục đích sử dụng.

3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ chế tạo đến hình thái scaffold

Sự thay đổi nhiệt độ dẫn đến thay đổi tốc độ trao đổi giữa hai dung môi, vì thế nhiệt độ là một trong

những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hình thái của scaffold. Trong thí nghiệm này, nhiệt độ thay đổi từ 10 °C đến 40 °C để khảo sát sự ảnh hưởng đến cấu trúc của scaffold. Trong đó, điều kiện cố định: nồng độ PLA 150 g/L; tỉ lệ ethanol/nước 96/4 và tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi 1/20. Kết quả ảnh SEM (Hình 5) cho thấy khi nhiệt độ tăng kích thước của lỗ xốp tăng và vách ngăn cũng trở nên mỏng hơn. Kích thước lỗ xốp là 15,5 μm, 18,6 μm, 24,7 μm, và 42,4 μm tương ứng với nhiệt độ trao đổi là 10 °C, 20 °C, 30 °C và 40 °C. Do nhiệt độ ảnh hưởng trực tiếp đến độ nhớt của dung dịch, khi nhiệt độ tăng thì độ nhớt của dung dịch giảm, các phân tử chloroform dễ dàng di chuyển vào hệ dung môi hòa tan làm tăng tốc độ trao đổi. Khi tốc độ trao đổi dung môi tăng sẽ dẫn đến kích thước lỗ xốp tăng và ngăn giữa các lỗ xốp cũng mỏng dần. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Zheng và cộng sự (Zheng, Wang *et al.*, 2006). Đối với scaffold dùng cho mô thì kích thước lỗ xốp chỉ cần lớn hơn 10 μm, song kích thước lỗ xốp càng cao thì càng tốt (Singh, Kasper *et al.*, 2013). Do đó, nhiệt độ 40 °C được chọn cố định để tiếp tục khảo sát các yếu tố còn lại.

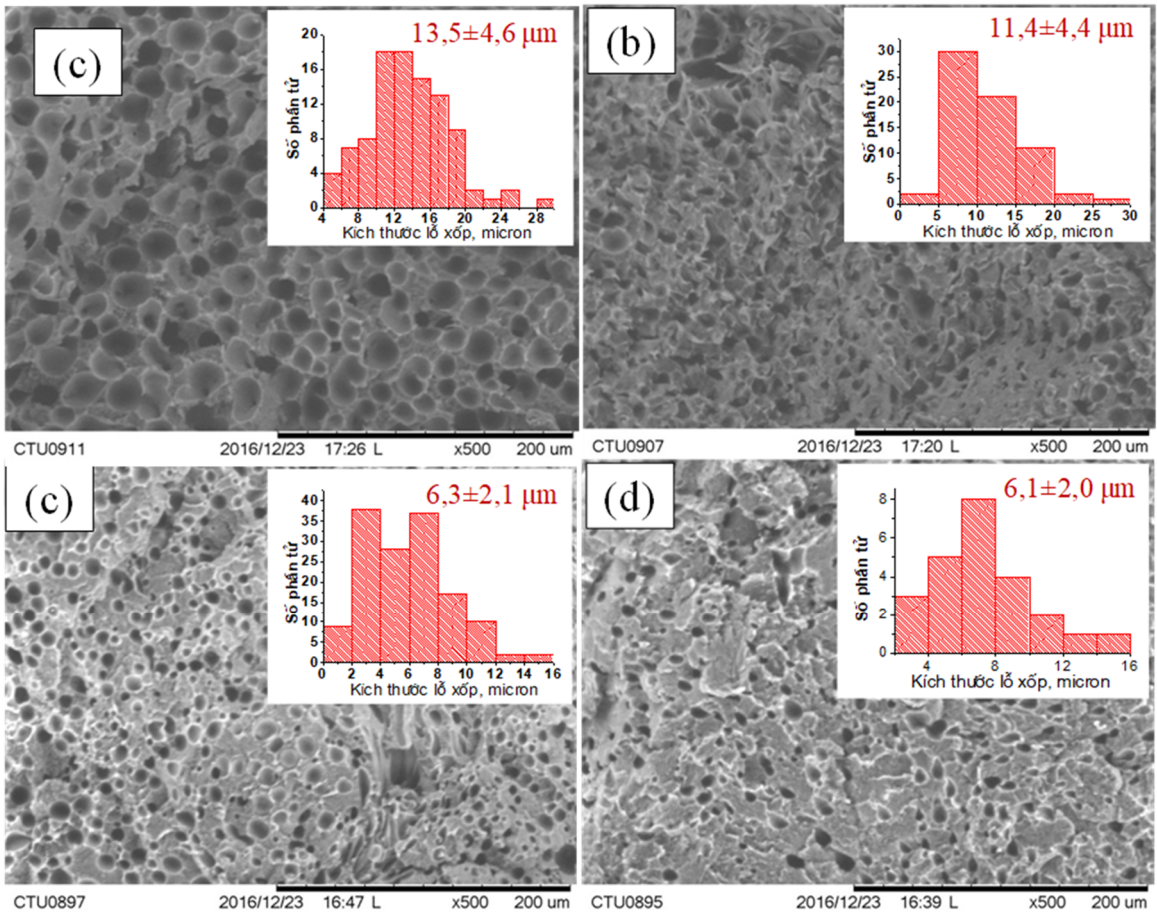


Hình 5: Hình thái mặt cắt ngang mặt của scaffold được chế tạo ở nhiệt độ khác nhau: (a) 10 °C, (b) 20 °C, (c) 30 °C và (d) 40 °C. Điều kiện cố định: nồng độ PLA 150 g/L; tỉ lệ ethanol/nước 96/4 và tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi 1/20

3.4 Ảnh hưởng của tỉ lệ ethanol/nước đến hình thái scaffold

Tính chất của hệ dung môi trao đổi ảnh hưởng đến cấu trúc scaffold được tiến hành khảo sát. Scaffold được chế tạo sử dụng hệ dung môi trao đổi ethanol/nước có tỉ lệ khác nhau. Mẫu scaffold được khảo sát ở điều kiện cố định: nồng độ PLA 150 g/L; tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi 1/20; nhiệt độ chế tạo 40 °C. Phân tích ảnh SEM (Hình 6) cho thấy kích thước lỗ xốp lần lượt là 13,5 μm, 11,4 μm, 6,3 μm và 6,1 μm tương ứng với tỉ lệ thể tích ethanol/nước là 90/10, 80/20, 70/30 và 60/40. Như

vậy, khi lượng nước tăng lên thì kích thước lỗ xốp giảm đáng kể. Kết quả tính toán thể hiện sự tương thích giữa hai dung môi (Hình 3) và số liệu đo moment lưỡng cực của chloroform là 1,04 D, của ethanol là 1,69 D và của nước là 1,85 D. Điều này cho thấy chloroform phân tán tốt trong ethanol nhưng lại không phân tán tốt trong nước. Như vậy, việc sử dụng một lượng vừa phải nước để kiểm chế tốc độ trao đổi và dung lượng trao đổi để tạo và kiểm soát kích thước lỗ xốp. Tuy nhiên, nếu lượng nước quá lớn ở các tỉ lệ 70/30 hay 60/40 thì sự trao đổi khó diễn ra nên khó hình thành lỗ xốp.

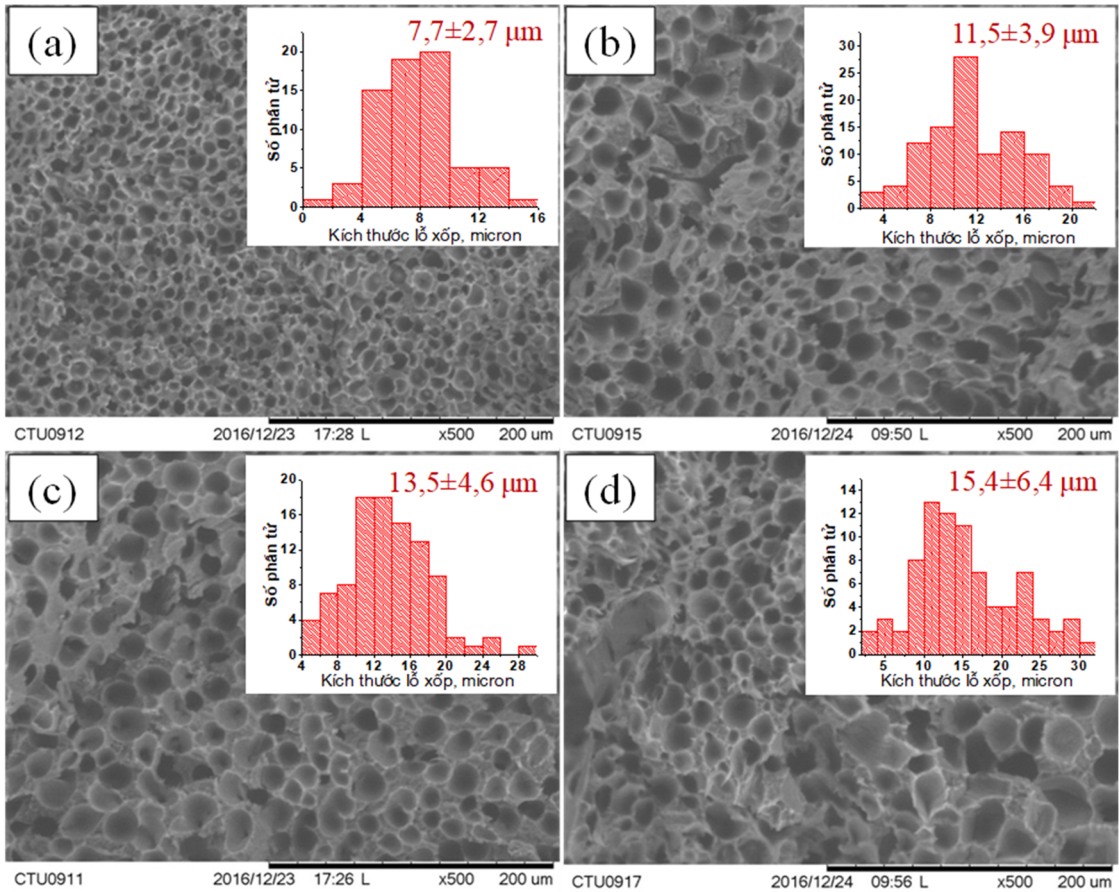


Hình 6: Hình thái mặt cắt ngang của scaffold được chế tạo sử dụng hệ dung môi trao đổi ethanol/nước có tỉ lệ thể tích: (a) 90/10, (b) 80/20, (c) 70/30 và (d) 60/40. Điều kiện cố định: nồng độ PLA 150 g/L; tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi 1/20; nhiệt độ chế tạo 40 °C

3.5 Ảnh hưởng của tỉ lệ (v/v) dung môi hòa tan và dung môi trao đổi đến hình thái scaffold

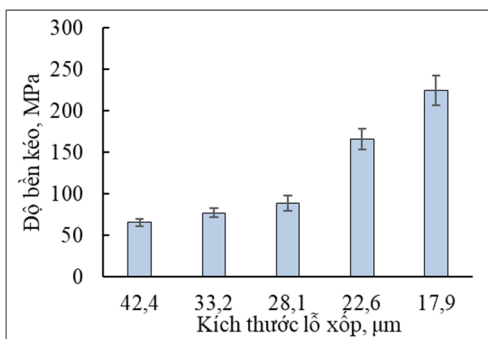
Theo như đồ thị thể hiện mối tương quan giữa thể tích riêng phần của ethanol (ϕ) và tham số tương tác Flory (χ_{12}), khi thể tích riêng phần của ethanol tăng thì χ_{12} của hệ chloroform/ethanol giảm dẫn đến khả năng trộn lẫn của chloroform vào ethanol tốt hơn. Ở thí nghiệm này, lượng dung môi hòa tan và dung môi trao đổi sẽ được khảo sát tại các tỉ lệ thể tích khác nhau. Trong đó, điều kiện thí nghiệm cố

định: nhiệt độ 40 °C, tỉ lệ ethanol/nước là 90/10, nồng độ PLA là 150 mg/L. Kết quả ảnh SEM cho thấy lỗ xốp của scaffold có xu hướng tăng lên khi tăng lượng dung môi trao đổi (Hình 7). Kích thước lỗ xốp của scaffold là 7,7 μm, 11,5 μm, 13,5 μm và 15,4 μm, tương ứng với tỉ lệ dung môi hòa tan/dung môi trao đổi 1/10, 1/15, 1/20 và 1/25. Tuy nhiên, sử dụng lượng lớn dung môi trao đổi sẽ tốn nhiều chi phí vì thế sử dụng lượng dung môi như thế nào cho phù hợp còn tùy kích thước lỗ xốp mong muốn.



Hình 7: Hình thái mặt cắt ngang của scaffold được chế tạo ở các tỉ lệ thể tích dung dịch/dung môi trao đổi: (a) 1/10, (b) 1/15, (c) 1/20 và (d) 1/25 (d). Điều kiện cố định: nhiệt độ 40 °C, tỉ lệ ethanol/nước là 90/10, nồng độ PLA là 150 mg/L

3.6 Ảnh hưởng kích thước lỗ xốp đến cơ tính của scaffold



Hình 8: Quan hệ giữa cơ tính và kích thước lỗ xốp của của vật liệu scaffold

Cơ tính vật liệu scaffold được đánh giá thông qua độ bền kéo đo trên thiết bị Zwick/Roell BDO – FB050TN. Thiết bị có công suất 0.6 kW, tải tác dụng khi kéo-nén là 50 KN. Tốc độ của con trượt là 0.001 – 180 mm/phút. Vận tốc kéo mẫu là 500 ± 50 mm/phút. Độ bền kéo được ghi nhận tại thời điểm vật liệu bị đứt. Kết quả đo ghi nhận được lực kéo cực

đại của mẫu scaffold lần lượt là 65,5 MPa, 77,2 MPa, 88,7 MPa, 166,3 MPa và 224,7 MPa tương ứng với kích thước lỗ xốp 42,4, 33,2 μm, 28,1 μm, 22,6 μm và 17,9 μm (Hình 8). Như vậy, cơ tính của mẫu giảm khi tăng kích thước lỗ xốp. Ngoài ra, kết quả đo BET cho thấy rằng bề mặt riêng của mẫu scaffold có độ xốp 42,4 μm là 25,7 m²/g.

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chế tạo thành công scaffold từ polylactic acid bằng phương pháp tách pha dung môi sử dụng dung môi hòa tan chloroform và hệ dung môi trao đổi là hỗn hợp ethanol/nước. Có thể chế tạo được scaffold có kích thước lỗ xốp 42,4 μm, độ bền kéo là 65,5 Mpa và diện tích bề mặt riêng là 25,7 m²/g. Với đặc điểm về kích thước lỗ xốp và cơ tính cho thấy vật liệu scaffold có thể sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật mô.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn Quỹ nghiên cứu khoa học của Bộ Giáo dục & Đào tạo đã hỗ trợ cho nghiên cứu này. Mã số đề tài: B2017-TCT-20ĐT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Auras, Rafael A, Loong-Tak Lim, Susan EM Selke and Hideto Tsuji, 2010. Poly (lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications, John Wiley & Sons. 10: 67-82.
- Burg, Karen J. L., Scott Porter and James F. Kellam, 2000. Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 21(23): 2347-2359.
- Ellis, Marianne J and Julian B Chaudhuri, 2007. Poly (lactic-co-glycolic acid) hollow fibre membranes for use as a tissue engineering scaffold. *Biotechnology and bioengineering*. 96(1): 177-187.
- Flory, PJ and WR Krigbaum, 1950. Statistical mechanics of dilute polymer solutions. II. The *Journal of Chemical Physics*. 18(8): 1086-1094.
- Ghorbani, Farnaz, Hanieh Nojehdehian and Ali Zamanian, 2016. Physicochemical and mechanical properties of freeze cast hydroxyapatite-gelatin scaffolds with dexamethasone loaded PLGA microspheres for hard tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering: C*. 69: 208-220.
- Guillen, Gregory R, Yinjin Pan, Minghua Li and Eric MV Hoek, 2011. Preparation and characterization of membranes formed by nonsolvent induced phase separation: a review. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 50(7): 3798-3817.
- Hansen, Charles M, 1967. The three-dimensional solubility parameter-key to paint component affinities: solvents, plasticizers, polymers, and resins. II. Dyes, emulsifiers, mutual solubility and compatibility, and pigments. III. Independent calculation of the parameter components. *Journal of paint technology*. 39(511): 505-510.
- Hansen, Charles M, 1967. The three dimensional solubility parameter. Danish Technical: Copenhagen, 387-483.
- Kobuchi, Shigetoshi, Kei Takakura, Setsuko Yonezawa, Kenji FUKUCHI and Yasuhiko Arai, 2013. Prediction of Vapor-Liquid Equilibria of Binary Systems Consisting of Homogeneous Components by Using Wilson Equation with Parameters Estimated from Pure-Component Properties. *山口大学工学部研究報告*. 64(1): 7-12.
- Koningsveld, R, LA Kleintjens and HM Schoffeleers, 1974. Thermodynamic aspects of polymer compatibility. *Pure and Applied Chemistry*. 39(1-2): 1-32.
- Liu, Hwa-Chang, I-Chi Lee, Jyh-Horng Wang, Shu-Hua Yang and Tai-Horng Young, 2004. Preparation of PLLA membranes with different morphologies for culture of MG-63 Cells. *Biomaterials*. 25(18): 4047-4056.
- Mikos, Antonios G., Amy J. Thorsen, Lisa A. Czerwonka, Yuan Bao, Robert Langer, Douglas N. Winslow and Joseph P. Vacanti, 1994. Preparation and characterization of poly(l-lactic acid) foams. *Polymer*. 35(5): 1068-1077.
- Niu, Xufeng, Qingling Feng, Mingbo Wang, Xiaodong Guo and Qixin Zheng, 2009. Porous nano-HA/collagen/PLLA scaffold containing chitosan microspheres for controlled delivery of synthetic peptide derived from BMP-2. *Journal of Controlled Release*. 134(2): 111-117.
- Okamoto, Masami and Baiju John, 2013. Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds. *Progress in Polymer Science*. 38(10-11): 1487-1503.
- Shajkumar, Aruni, 2015. Chapter 17 - Future of Nanotechnology in Tissue Engineering. *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering*. Sabu Thomas Yves Grohens Neethu Ninan. Oxford, William Andrew Publishing, 289-306.
- Singh, Milind, F Kurtis Kasper and Antonios G Mikos, 2013. CHAPTER II. 6.3 tissue engineering scaffolds. SECTION II, 6: 1138-1159.
- Wei, Guobao and Peter X. Ma, 2004. Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 25(19): 4749-4757.
- Yamaguchi, Manae, Toshio Shinbo, Toshiyuki Kanamori, Pi-chao Wang, Motohiro Niwa, Hiroyoshi Kawakami, Shoji Nagaoka, Kohichiro Hirakawa and Masahiro Kamiya, 2004. Surface modification of poly (L-lactic acid) affects initial cell attachment, cell morphology, and cell growth. *Journal of Artificial Organs*. 7(4): 187-193.
- Zheng, Qing-Zhu, Peng Wang and Ya-Nan Yang, 2006. Rheological and thermodynamic variation in polysulfone solution by PEG introduction and its effect on kinetics of membrane formation via phase-inversion process. *Journal of membrane science*. 279(1): 230-237.
- Zoppi, RA, S Contant, EAR Duck, FR Marques, MLF Wada and SP Nunes, 1999. Porous poly (L-lactide) films obtained by immersion precipitation process: morphology, phase separation and culture of VERO cells. *Polymer*. 40(12): 3275-3289.