

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ



УДК 544.777

Реологические свойства полисахаридных гидрогелей альгината с малыми добавками нанотрубок галлуазита для экструзионной 3D-печати

В.С. Молчанов^{*} , С.А. Глухова, О.Е. Филиппова 

Кафедра физики полимеров и кристаллов, физический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, г. Москва, 119991, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

**e-mail: molchan@polly.phys.msu.ru*

Исследованы реологические свойства гидрогелей природного полисахарида альгината натрия при наполнении матрицы нанотрубками глины галлуазита в малых концентрациях. Выявлены изменения реологических свойств при переходе от полуразбавленного раствора полимера к гидрогелю при сшивании ионами кальция. В состоянии геля образцы обладают пределом текучести, и их вязкость при течении падает при увеличении скорости сдвига, но реологические свойства достаточно быстро восстанавливаются после снятия нагрузки. Обнаружено, что добавление до 0,3 об.% нанотрубок природной глины галлуазита приводит к увеличению модуля упругости и предела текучести гидрогеля в несколько раз, но при этом сохраняются практически важные свойства псевдопластичности и быстрого восстановления свойств после снятия нагрузки, что делает нанокompозитные гидрогели альгината и нанотрубок галлуазита перспективными для применения в качестве чернил для экструзионной 3D-печати.

Ключевые слова: реология, вязкоупругость, гидрогель, галлуазит, альгинат, сетки

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-3S-11

Введение

Трехмерная (3D) печать, также известная как аддитивное производство или быстрое прототипирование, является передовым способом создания объектов заданной формы для огромного числа приложений [1–4]. Она состоит в послойном управляемом изготовлении 3D-объектов по заранее определенным цифровым моделям путем постепенного добавления материалов (чернил) [5, 6].

Особый интерес представляет 3D-печать с использованием биосовместимых и биоразлагаемых компонентов, например полисахаридных гидрогелей [7–11]. Однако однокомпонентные гидрогели, например на основе альгината натрия, имеют недостаточно высокие значения предела текучести и модуля упругости, ограничивающие их применение [12, 13]. Одним из перспективных способов решения этой проблемы является использование нанокompозитных гелей с небольшой долей наполнителя, который может не только упрочнять гель, но и придавать ему новые функциональные свойства [14, 15]. Например, полый наполнитель — нанотрубки (НТ) природной глины галлуазита — может быть использован как наноконтанер, обеспечивающий инкапсулирова-

ние активных веществ в гидрогель и их пролонгированное выделение [16, 17].

Одним из наиболее доступных способов 3D-печати гидрогелями является экструзионная печать. Для ее успешного применения гидрогели должны обладать определенными реологическими характеристиками. В покое гидрогели должны иметь довольно высокие значения модуля упругости и предела текучести, чтобы из них можно было создавать крупные объекты [5]. При этом при экструзии гидрогель должен переходить в вязкотекучее состояние, чтобы его можно было нанести на поверхность [18]. Однако после нанесения материал должен достаточно быстро восстанавливать исходные свойства, чтобы чернила не растекались [5].

Ранее было описано влияние добавления относительно большого количества НТ галлуазита в сшитые гели альгината, где НТ образовали собственную трехмерную структуру [19]. В данной работе мы опишем влияние добавления малого количества НТ (намного ниже порога перколяции) на реологические свойства гелей «в покое» и при течении, чтобы оценить перспективы их использования в качестве чернил для 3D-печати.

Материалы и методы

Материалы. Альгинат натрия (Sigma-Aldrich, США) использовался без дальнейшей очистки. Ранее показано, что исследуемый альгинат натрия содержит 65 моль% гулуруновой кислоты (G) и 35 моль% маннуруновой (M) кислоты со следующим содержанием блока: 45 моль% блоков GG, 15 моль% блоков MM, 40 моль% чередующихся блоков GM/MG [20]. Молекулярная масса полимера равна 220000 г/моль [20]. В качестве сшивателя альгината натрия использовали соль CaCl_2 (Sigma-Aldrich, США). Во всех образцах поддерживали $\text{pH} = 7$, чтобы обеспечить наличие заряженных карбоксильных групп альгината, за счет которых происходит сшивание цепей двухвалентными ионами [21].

В качестве наполнителя использовали НТ галлуазита (Sigma-Aldrich, США). Они представляют собой природный алюмосиликатный глинистый минерал в форме НТ, имеющих многослойные стенки и полость в середине [22]. По оценкам, полученным на основе данных просвечивающей электронной микроскопии [20], средний наружный диаметр составляет около 50 нм, а средняя длина — 1000 нм. Плотность НТ составляет 2,53 г/см³ [22].

Метод. Реологические свойства растворов и гелей были исследованы на реометре Anton Paar Physica MCR 301 (Anton Paar, Австрия) с использованием ячейки плоскость-плоскость диаметром 25 мм, зазор 1 мм. В статическом режиме к образцу прикладывали напряжение сдвига от 0,01 до 500 Па и измеряли скорость деформации от 0,0006 до 100 с⁻¹. Предел текучести определяли при аппроксимации кривых течения моделью Гершеля-Балкли. При динамических испытаниях получали

компоненты упругого отклика (модуль накопления G' и неупругого отклика (модуль потерь G''). Измеряли зависимости модулей от амплитуды деформации при фиксированной частоте 10 рад/с и зависимости от частоты при фиксированной амплитуде 1%, соответствующей области линейного вязкоупругого отклика. Для исследования восстановления структуры проводили интервальные измерения вязкости при высокой скорости деформации 100 с⁻¹ в течение минуты, затем при малой скорости деформации 0,1 с⁻¹ в течение минуты. Эксперименты проводили при 25°C.

Результаты и обсуждение

Раствор альгината натрия. Были приготовлены растворы 2,7 вес.% альгината натрия в воде при концентрации выше концентрации перекрывания клубков полимера 1,5 вес.% (полуразбавленный раствор), чтобы создать сетку переплетенных цепей [20]. Из рис. 1А видно, что вязкость такого раствора 0,5 Па·с, т.е. в 500 раз выше вязкости воды, так как зацепления макромолекул препятствуют их течению. Вязкость слабо зависит от скорости сдвига. Также стоит отметить, что уже при небольших напряжениях сдвига ниже 0,1 Па скорость течения раствора значительная, т.е. раствор проявляет типичное ньютоновское поведение (рис. 1А).

При кратковременном гармоническом воздействии с частотой 10 рад/с были получены значения модуля накопления и потерь (рис. 1Б) при разных амплитудах воздействия. Видно, что значения модуля накопления невысокое (0,2–0,4 Па) и на порядок ниже значений модуля потерь. Преобладание модуля потерь указывает на вязкий отклик раствора.

Таким образом, до сшивания полуразбавленный раствор альгината натрия находится в вязко-

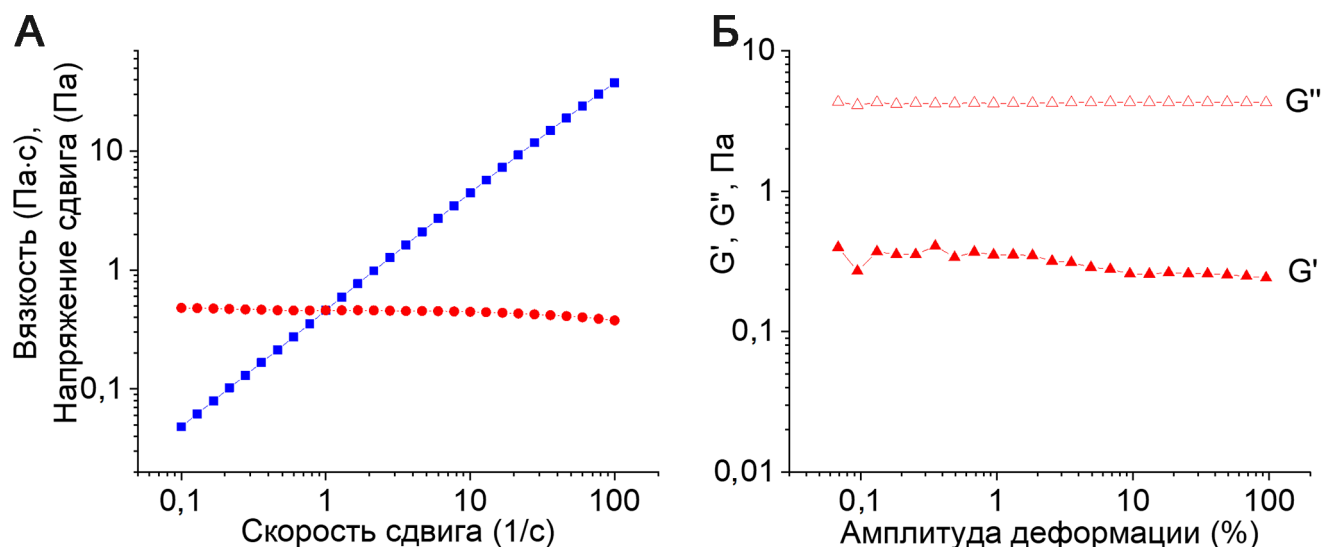


Рис. 1. Реологические свойства растворов альгината натрия без сшивателя. (А) Зависимости вязкости (красные круги) и напряжения сдвига (синие квадраты) от скорости сдвига. (Б) Зависимости модуля накоплений G' (закрашенные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) от амплитуды напряжения сдвига при частоте 10 рад/с для 2,7 вес.% раствора альгината натрия.

текущем состоянии, его вязкость в 500 раз выше вязкости воды (0,5 Па·с) и слабо зависит от скорости сдвига. Далее исследовали сшитые гели в результате добавления двухвалентных ионов Ca^{2+} .

Сшитые гели альгината натрия с добавлением нанотрубок. Для образования гелей в раствор альгината натрия добавляли неорганическую соль CaCl_2 . Необходимая концентрация соли была выбрана на основе литературных данных [19] и составляла 0,56 вес.%.

Из рис. 2А видно, что при приложении напряжения сдвига ниже некоторого критического значения образцы не текут. Эти данные указывают на то, что гель обладает пределом текучести. Значения предела текучести были рассчитаны согласно модели Гершеля-Балкли $\sigma = \sigma_0 + k \cdot \dot{\gamma}^n$, где σ_0 — предел текучести [24]. Такое изменение свойств объясняется кооперативным сшиванием жестких GG-блоков соседних макромолекул ионами кальция по принципу «коробки яиц», который хорошо описан в литературе [21]. Благодаря кооперативности, т.е. сшиванию целого ряда соседних звеньев в GG-блоках, данные сшивки достаточно прочные. Они могут быть разрушены достаточно сильным механическим воздействием (при напряжении выше предела текучести), при котором образец течет. Это необходимое свойство для чернил для экструзионной 3D-печати, так как чернила послойно наносят на поверхность.

При добавлении небольшого количества НТ галлуазита 0,1–0,3 об.% предел текучести значительно возрастает с 30 до 100 Па, т.е. увеличивается прочность геля в покое. Ранее было показано, что цепи альгината адсорбируются на НТ за счет взаимодействия карбоксилатной и гидроксильной групп с галлуазитом [20]. Можно предположить, что адсорбированные на поверхности нанотрубок цепи альгината сшиваются ионами кальция с цепями в растворе, поэтому НТ встраиваются в сетку геля и делают ее более прочной.

При гармоническом воздействии были получены значения модуля накоплений и модуля потерь в широкой области значений амплитуды деформации и частотные зависимости для геля без НТ (рис. 2Б, В). При небольших амплитудах и соответственно небольших напряжениях модуль накоплений имеет значение 1100 Па и на порядок превышает модуль потерь. Значения модулей слабо зависят от частоты. Это типичное гелеподобное поведение сеток альгината, сшитых ионами кальция [18, 21, 25]. Модуль накоплений характеризует упругие свойства геля при напряжениях ниже предела текучести. Переход в состояние вязкого течения $G' = G''$ наблюдается при амплитуде 30%. По мере добавления небольшого количества НТ (от 0,1 до 0,3 об.%) наблюдается рост модуля упругости до 2500 Па. Граница перехода к вязкому течению слабо изменяется от 30 до 35%. Стоит отметить, что рост модуля упругости можно получить

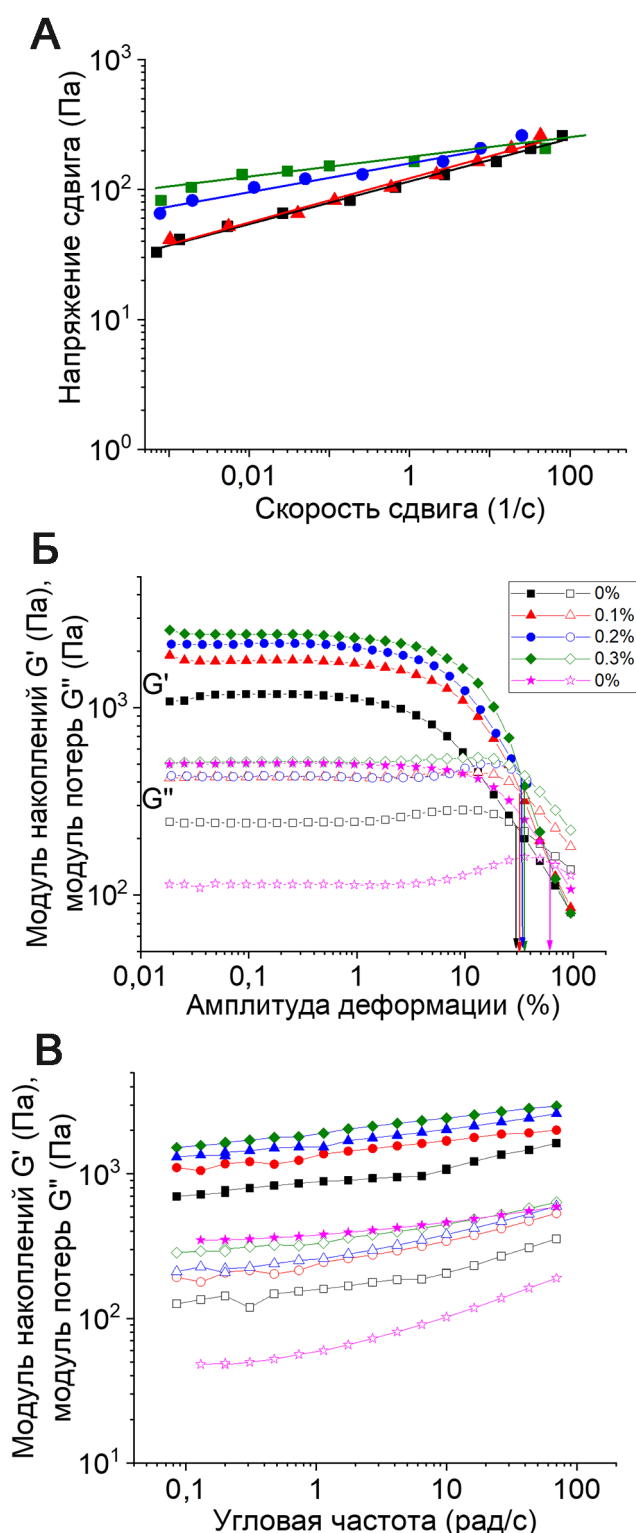


Рис. 2. Реологические свойства гелей альгината натрия, сшитых ионами кальция, в присутствии нанотрубок. (А) Зависимости напряжения сдвига от скорости сдвига (прямые линии — аппроксимация моделью Гершеля-Балкли). Зависимости модуля накоплений G' (закрашенные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) от амплитуды сдвига при частоте 10 рад/с (Б) и от угловой частоты (В) для гелей альгината натрия, содержащих 2,7 вес.% полимера, 0,28 вес.% CaCl_2 (фиолетовые звезды), 0,56 вес.% CaCl_2 (черные квадраты), и разное количество нанотрубок галлуазита: 0,1 об.% (красные треугольники), 0,2 об.% (синие круги), 0,3 об.% (зеленые ромбы). Стрелками отмечены точки перехода гелей к вязкому течению.

при увеличении количества ионов кальция [26]. На рис. 2Б и В показано, что при увеличении количества шшивок в 2 раза (0,28 вес.% и 0,56 вес.% CaCl_2) модуль упругости растет в 2 раза, но уменьшается область амплитуд, где гель проявляет упругие свойства и не течет с 62% до 30%, поэтому добавление НТ оказывается более предпочтительным способом увеличения упругости геля. Таким образом, добавление НТ приводит к увеличению модуля упругости геля без уменьшения диапазона упругого отклика.

Далее были получены зависимости вязкости образцов гелей от скорости сдвига в вязкотекучем состоянии при приложении напряжения сдвига выше предела текучести (рис. 3А). Вязкость геля без НТ при скорости сдвига $0,1 \text{ с}^{-1}$ очень высокая и превышает $1000 \text{ Па}\cdot\text{с}$, но по мере увеличения нагрузки на образец она падает и при 100 с^{-1} уже составляет $3 \text{ Па}\cdot\text{с}$. Такое сильное падение вязкости со скоростью сдвига объясняется разрывом шшивок и выстраиванием цепей вдоль направления течения [5, 27]. Это свойство используется для экструзии геля при 3D-печати. Условия экструзионной печати обычно соответствуют скоростям сдвига $50\text{--}100 \text{ с}^{-1}$ [5, 14, 15]. При добавлении НТ вязкость при малых скоростях растет, что согласуется с увеличением предела текучести за счет дополнительных шшивок альгината с НТ, но при высоких скоростях значения вязкости практически не отличаются от значений для ненаполненного геля, что можно объяснить тем, что эти связи тоже рвутся [28]. Таким образом, показано, что при добавлении НТ сохраняется свойство сильного падения вязкости со скоростью сдвига, а при условиях, соответствующих экструзии, вязкости не изменяются.

На следующем этапе было исследовано восстановление свойств гелей после течения при высоких скоростях сдвига (рис. 3Б). К образцам прикладывали напряжение сдвига, соответствующее скорости деформации 100 с^{-1} , в течение минуты, а затем уменьшали нагрузку на образец до скоростей $0,1 \text{ с}^{-1}$. Измерения вязкости производили в течение нескольких таких циклов. Это стандартный протокол исследования способности к восстановлению свойств гелей для экструзионной 3D-печати [5, 14, 18].

Из рис. 3Б видно, что после уменьшения нагрузки на образец в первые секунды вязкость скачкообразно росла до значений, близких к значениям вязкости при $0,1 \text{ с}^{-1}$, представленным на рис. 3А. Для ненаполненного геля альгината натрия через 3 с после уменьшения нагрузки вязкость возрастает в 200 раз, а через 6 с вязкость восстанавливается на 85%. Для гелей это высокие показатели для экструзионной 3D-печати [5, 15]. При добавлении НТ скорость восстановления остается высокой (рис. 3Б). При добавлении 0,3 об.% НТ через 3 с после уменьшения нагрузки вязкость возрастает в 270 раз, а после 6 с вязкость восстанавливается на 82%. Этот эффект можно объяснить тем, что разрыв нековалентных связей альгината и НТ полностью обратим.

Заключение

В данной работе показано, что добавление небольшого количества (до 0,3 об.%) НТ галлуазита в несколько раз увеличивает модуль упругости и предел текучести геля, т.е. делает его более прочным. При добавлении НТ гели сохраняют

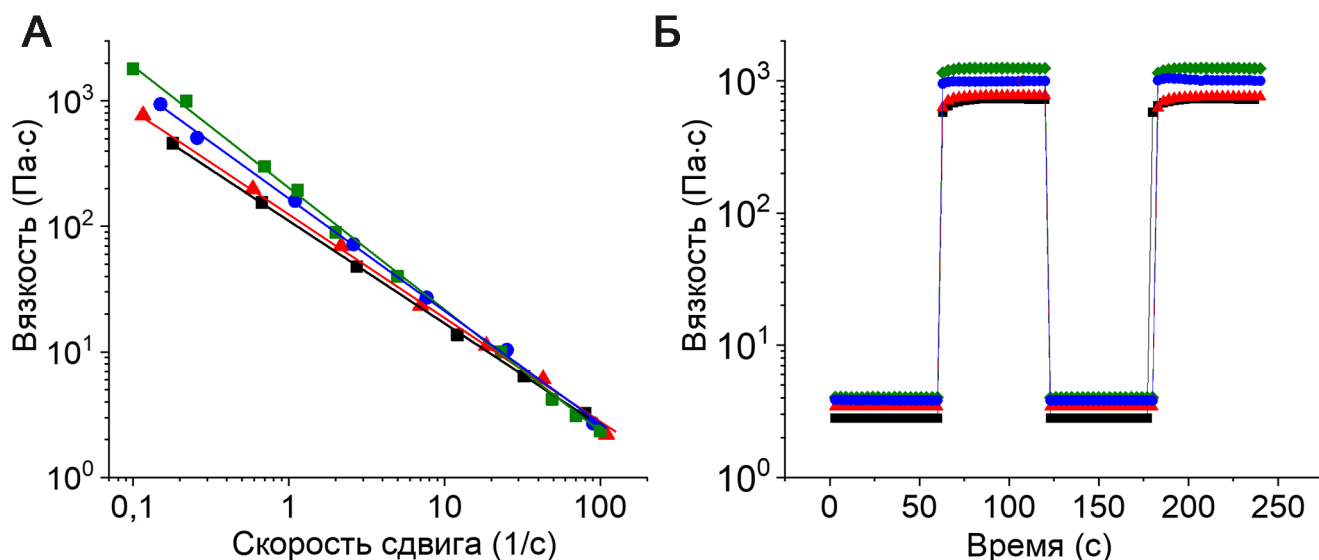


Рис. 3. Свойства гелей альгината натрия с нанотрубками при течении и восстановление после течения. (А) Зависимости вязкости от скорости сдвига при увеличении напряжения сдвига и (Б) зависимости вязкости от времени при изменении скорости сдвига от 100 с^{-1} до $0,1 \text{ с}^{-1}$ для гелей альгината натрия, содержащих 2,7 вес.% полимера, 0,56 вес.% CaCl_2 и разное количество нанотрубок галлуазита: 0 об.% — черные квадраты, 0,1 об.% — красные треугольники, 0,2 об.% — синие круги, 0,3 об.% — зеленые ромбы.

свойство псевдопластичности при напряжениях выше предела текучести, а также свойство быстрого восстановления вязкости и, соответственно, структуры после снятия нагрузки. Таким образом, добавление малого количества НТ галлуазита в гели альгината натрия позволяет создавать более прочные гели, перспективные для применения в качестве чернил для экструзионной 3D-печати. Более того, такие гели позво-

лят инкапсулировать различные вещества в полость нанотрубок.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №23-13-00177). Исследования проведены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liu J., Sun L., Xu W., Wang Q., Yu S., Sun J. Current advances and future perspectives of 3D printing natural-derived biopolymers. *Carbohydr. Polym.* 2019;207:297–316.
2. Mobaraki M., Ghaffari M., Yazdanpanah A., Luo Y., Mills D.K. Bioprinting and bioprinting: A focused review. *Bioprinting*. 2020;18:e00080.
3. Valentine A.D., Busbee T.A., Boley J.W., Raney J.R., Chortos A., Kotikian A., Berrigan J.D., Durstock M.F., Lewis J.A. Hybrid 3D printing of soft electronics. *Adv. Mater.* 2017;29(40):1703817.
4. Arzhakova O.V., Arzhakov M.S., Badamshina E.R., et al. Polymers for the future. *Russ. Chem. Rev.* 2022;91(12):RCR5062.
5. Li H., Tan C., Li L. Review of 3D printable hydrogels and constructs. *Mater. Des.* 2018;159:20–38.
6. Truby R.L., Lewis J.A. Printing soft matter in three dimensions. *Nature*. 2016;540(7633):371–378.
7. Heinrich M.A., Liu W., Jimenez A., Yang J., Akpek A., Liu X., Pi Q., Mu X., Hu N., Schiffelers R.M., Prakash J., Xie J., Zhang Y.S. 3D bioprinting: from benches to translational applications. *Small*. 2019;15(23):1805510.
8. Stanton M.M., Samitier J., Sánchez S. Bioprinting of 3D hydrogels. *Lab Chip*. 2015;15(15):3111–3115.
9. Rastogi P., Kandasubramanian B. Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering. *Biofabrication*. 2019;11(4):42001.
10. Díaz I., Gallegos C., Brito-de la Fuente E., Martínez I., Valencia C., Sánchez MC., Díaz M.J., Franco J.M. 3D printing in situ gelification of κ -carrageenan solutions: Effect of printing variables on the rheological response. *Food Hydrocoll.* 2019;87:321–330.
11. Hu C., Du Z., Tai X., Mao X., Liu X. The property study of sodium dodecyl benzenesulfonate and polyvinylpyrrolidone complexes. *Colloid Polym. Sci.* 2018;335–340.
12. Axpe E., Oyen M.L. Applications of alginate-based bioinks in 3D bioprinting. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(12):1976.
13. Murphy S.V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat. Biotechnol.* 2014;32(8):773–785.
14. Dávila J.L., d'Ávila M.A. Rheological evaluation of Laponite/alginate inks for 3D extrusion-based printing. *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 2019;101(1–4):675–686.
15. Peak C.W., Stein J., Gold K.A., Gaharwar A.K. Nanoengineered colloidal inks for 3D bioprinting. *Langmuir*. 2018;34(3):917–925.
16. Liu L., Wan Y., Xie Y., Zhai R., Zhang B., Liu J. The removal of dye from aqueous solution using alginate-halloysite nanotube beads. *Chem. Eng. J.* 2012;187:210–216.
17. Del Buffa S., Rinaldi E., Carretti E., Ridi F., Bonini M., Baglioni P. Injectable composites via functionalization of 1D nanoclays and biodegradable coupling with a polysaccharide hydrogel. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 2016;145:562–526.
18. Li H., Liu S., Li L. Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide. *Int. J. Bioprinting*. 2016;2(2):58–66.
19. Glukhova S.A., Molchanov V.S., Lokshin B.V., Rogachev A.V., Tsarenko A.A., Patsaev T.D., Kamyshinsky R.A., Philippova O.E. Printable alginate hydrogels with embedded network of halloysite nanotubes: Effect of polymer cross-linking on rheological properties and microstructure. *Polymers*. 2021;13(23):4130.
20. Glukhova S.A., Molchanov V.S., Chesnokov Y.M., Lokshin B.V., Kharitonova E.P., Philippova O.E. Green nanocomposite gels based on binary network of sodium alginate and percolating halloysite clay nanotubes for 3D printing. *Carbohydr. Polym.* 2022;282:119106.
21. Stokke B.T., Dragnet K.I., Smidsrod O., Yuguchi Y., Urakawa H., Kajiura K. Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels. 3. Alginic acid gels. *Macromolecules*. 2000;33(5):1853–1863.
23. Cavallaro G., Chiappisi L., Pasbakhsh P., Gradziel-ski M., Lazzara G. A structural comparison of halloysite nanotubes of different origin by small-angle neutron scattering (SANS) and electric birefringence. *Appl. Clay Sci.* 2018;160:71–80.
24. Hernández R., Sacristán J., Mijangos C. Sol/gel transition of aqueous alginate solutions induced by Fe^{2+} cations. *Macromol. Chem. Phys.* 2010;211(11):1254–1260.
25. Li H., Liu S., Li L. Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide. *Int. J. Bioprinting*. 2016;2(2):54–66.
26. Hashemnejad S.M., Kundu S. Rheological properties and failure of alginate hydrogels with ionic and covalent crosslinks. *Soft Matter*. 2019;15(39):7852–7862.
27. Molchanov V.S., Efremova M.A., Kiseleva T.Y., Philippova O.E. Injectable ultra-soft hydrogel with natural nanoclay. *Nanosyst.: Phys. Chem. Math.* 2019;10(1):76–85.
28. Shishkhanova K.B., Molchanov V.S., Baranov A.N., Kharitonova E.P., Orekhov A.S., Arkharova N.A., Philippova O.E. A pH-triggered reinforcement of transient network of wormlike micelles by halloysite nanotubes of different charge. *J. Mol. Liq.* 2023;370:121032.

Поступила в редакцию 27.07.2023

После доработки 18.10.2023

Принята в печать 22.10.2023

SHORT COMMUNICATION

Rheological behavior of polysaccharide hydrogels of alginate reinforced by small amount of halloysite nanotubes for extrusion 3D printing

V.S. Molchanov^{*} , S.A. Glukhova, O.E. Philippova 

*Department of Polymers and Crystals Physics, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University,
1–2 Leninskie Gory, 119991, Moscow, Russia*

^{}e-mail: molchan@polly.phys.msu.ru*

The rheological properties of hydrogels of a natural polysaccharide sodium alginate and small amount of clay nanotubes of halloysite were investigated. Changes of rheological properties during the transition from a semi-dilute polymer solution to a hydrogel upon cross-linking by calcium ions were shown. In the gel state, the samples have a yield stress, and their viscosity decreases with the shear rate, but the properties are quickly recovered after the load removal. It was obtained that the addition of up to 0.3 vol.% nanotubes of natural clay halloysite leads to an increase by several times of a storage modulus and an yield stress of the hydrogels. At the same time, the practically important properties of shear thinning and the rapid recovery of properties after the load removing make the nanocomposite hydrogels of alginate and halloysite nanotubes promising for use as ink for extrusion 3D printing.

Keywords: *rheology, viscoelasticity, hydrogel, halloysite, alginate, networks*

Finding: This work was supported by the Russian Science Foundation, project number 23-13-00177.

Сведения об авторах

Молчанов Вячеслав Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-64; e-mail: molchan@polly.phys.msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2846-0784>

Глухова Светлана Анатольевна — аспирантка кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-64; e-mail: glukhova@polly.phys.msu.ru

Филиппова Ольга Евгеньевна — докт. физ.-мат. наук, проф. кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-64; e-mail: phil@polly.phys.msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1098-0255>