

NGHIÊN CỨU SỰ PHÂN HỦY IN VITRO CỦA POLYLACTIT

Đến Tòa soạn 27-4-2009

MAI VĂN TIẾN, PHẠM THẾ TRINH

Viện Hoá học Công nghiệp Việt Nam

ABSTRACT

In this study arrange of homopoly(lactide) were synthesized by bulk copolymerization and subjected to in vitro hydrolytic degradation. In vitro degradation studied was conducted at 37°C in pH 7.4 phosphate buffered saline. The effect of lactide type and molecular weight on biodegradable of PLA was studied. The degradation products form in the saline buffer solutions further characterized by SEM, IR, ¹H-NMR; ¹³C-NMR and GC-MS.

I - ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự phát triển của lĩnh vực vật liệu sinh học trong những năm gần đây, đặc biệt phần lớn các công trình nghiên cứu tập trung vào các loại polyme có khả năng phân hủy sinh học. Đã có rất nhiều sản phẩm được phát triển từ polylactic axit (PLA) và các copolyme của chúng như poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) đã được ứng dụng rộng rãi trong y tế, như chỉ khâu tự tiêu, vật liệu cấy ghép mô, hệ giải phóng thuốc [1]. Những sản phẩm này ngày càng được ứng dụng rộng rãi, vì chúng có tính tương hợp sinh học cao, có khả năng phân hủy bằng thủy phân các liên kết este tốt, sản phẩm phân hủy không độc và rất dễ gia công theo nhiều hình dạng khác nhau [2]. Thời gian phân hủy in vitro của PLA thay đổi trong một khoảng thời gian rộng từ 2 - 36 tháng. Tốc độ và khả năng phân hủy của PLA phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: nhiệt độ, độ pH, môi trường thử nghiệm, khối lượng phân tử và loại polylactic [3]. Trong bài báo này chúng tôi trình bày một số kết quả bước đầu nghiên cứu sự phân hủy thủy phân của PLA trong in vitro.

II - THỰC NGHIỆM

1. Nguyên liệu, hóa chất

- Polylactic: Tổng hợp tại VHHCNVN như mô tả trong tài liệu [5].

- Na₂HPO₄: hàm lượng ≥ 99% hãng sản xuất Merck (Đức).

- NaH₂PO₄: hàm lượng ≥ 98% hãng sản xuất Merck (Đức).

- NaN₃: hàm lượng ≥ 99,5% hãng sản xuất Merck (Đức).

2. Phương pháp nghiên cứu sự phân hủy thủy phân

a) Chuẩn bị mẫu

Để nghiên cứu sự phân hủy thủy phân, các mẫu màng đã được chuẩn bị như sau: tiến hành hòa tan PLA trong dichlorometan để thu được dung dịch polyme có nồng độ 0,16 g/ml. Sau đó tạo màng bằng cách đổ dung dịch đã pha lên đĩa thủy tinh rồi cho dung môi bay hơi ở nhiệt độ phòng. Sau khoảng 5 giờ sau khi dung môi đã bay hết màng PLA hình thành trên đĩa được bóc tách và đem đi sấy khô ở 60°C trong chân không sau 24 giờ trước khi tiến hành nghiên cứu sự phân hủy thủy phân trong in vivo. Đĩa có đường kính là 20 mm, mỗi màng tạo thành có khối lượng xấp xỉ 0,5 g.

b) Sự phân hủy thủy phân của PLA trong in vitro

Các mẫu chính cho nghiên cứu phân hủy thủy phân chuẩn bị trước được đặt trong một dung dịch muối đệm pH = 7,4 tại 37°C. Thành phần dung dịch muối đệm bao gồm: 9 g NaCl, 10,73 g Na₂HPO₄·7H₂O, 2,12 g NaH₂PO₄ được pha trong 1 lít nước cất, pH của dung dịch đệm được điều chỉnh tới 7,4 bằng cách thêm NaOH. Các mẫu thí nghiệm được thực hiện trong 10 ml dung dịch muối đệm. Để ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn, 1 ml của dung dịch NaN₃ nồng độ 0,04% đã được thêm vào. Các mẫu được lắc đều nhẹ nhàng trên máy lắc ngang trong suốt thời gian phân hủy. Sau các khoảng thời gian nhất định là 1, 2, 5, 10, 15 và 23 tuần các mẫu được lấy ra phân tích. Để phân tích xác định các sản phẩm phân hủy, 2 ml dung dịch muối đệm đã đặt mẫu được lấy ra phân tích trên thiết bị GC-MS để xác định thành phần phân hủy. Màng polyme còn lại được rửa bằng nước cất và sấy khô trước khi phân tích các thông số khác [1, 4].

3. Các phương pháp phân tích đặc trưng cấu trúc tính chất của sản phẩm phân hủy

- Xác định khối lượng phân tử của polyme bằng phương pháp đo độ nhớt và phương pháp sắc ký thẩm qua gel.

- Phương pháp chụp ảnh SEM để xác định cấu trúc bề mặt

- GC-MS phân tích xác định sản phẩm phân hủy được thực hiện trên thiết bị Agilent Technologies 7890A GC-System (Nhật Bản).

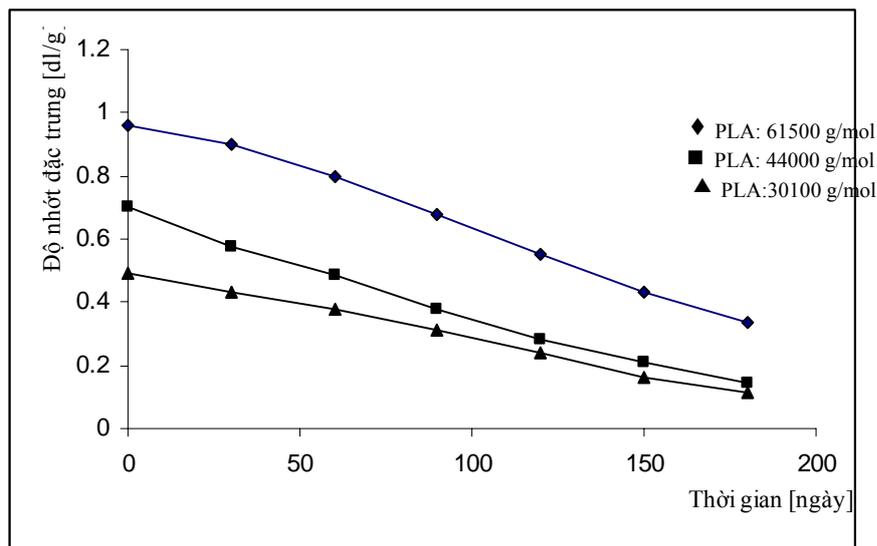
- Độ bền kéo đứt theo tiêu chuẩn ISO-527-2 (1993) trên thiết bị đo đa năng Housfield của Anh.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

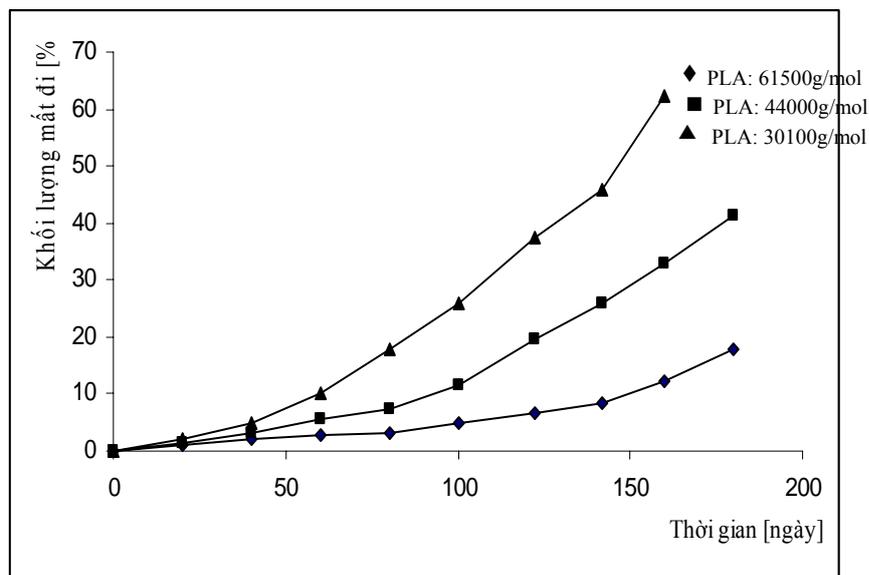
1. Động học phân hủy trong in vitro

Sự có mặt các liên kết este trong polylactide cho phép sự phân hủy thủy phân của polyme diễn ra theo cơ chế bậc. Cơ chế sự phân hủy trong in vitro của homopolylactic tổng hợp trong nghiên cứu này có thể được minh chứng thông qua phép đo độ nhớt đặc trưng và sự mất khối lượng. Hình 1a và 1b chỉ ra sự suy giảm độ nhớt đặc trưng và sự mất khối lượng của PLA theo thời gian thử nghiệm. Kết quả hình 1a cho thấy độ nhớt đặc trưng của polyme giảm liên tục sau khi đặt vào môi trường dung dịch muối đệm ở 37°C.

Từ hình 1a cho thấy, sự suy giảm độ nhớt đặc trưng của các polylactide với khối lượng phân tử khác nhau được thể hiện với tốc độ suy giảm xấp xỉ nhau và xảy ra ngay sau khi các mẫu PLA được đặt vào dung dịch muối đệm.



Hình 1a: Sự suy giảm độ nhớt theo thời gian phân hủy



Hình 1b: Sự mất khối lượng theo thời gian phân hủy

Tuy nhiên sự mất khối lượng lại hoàn toàn khác, sự mất khối lượng chỉ xảy ra sau một khoảng thời gian nhất định tùy thuộc vào KLPT ban đầu của polyme. Sự mất khối lượng tăng nhanh khi thời gian thử tăng lên đặc biệt là sau hơn 120 ngày thử nghiệm. Các polyme có KLPT thấp bị mất khối lượng nhanh hơn so với các polyme có KLPT cao hơn, tại cùng một thời gian phân hủy.

2. Sự thay đổi khối lượng phân tử và suy giảm độ bền kéo của PLA trong quá trình phân hủy

Các mẫu được gia công theo tiêu chuẩn, được ngâm trong môi trường dung dịch muối

đậm. Thí nghiệm thực hiện cho ba mẫu PLA có KLPT ban đầu khác nhau để so sánh. Sau 30 ngày định kỳ một lần, mẫu được lấy ra, lau sạch, sấy khô, đưa đi xác định độ bền kéo và pha thành dung dịch có nồng độ 0,1% trong chloroform ở 25°C để xác định lại KLPT. Kết quả khảo sát sự thay đổi KLPT, sự thay đổi độ bền kéo của PLA được trình bày trong bảng 1.

Kết quả trong bảng 1 cho thấy KLPT và độ bền kéo của các mẫu giảm đi khi kéo dài thời gian ngâm mẫu trong dung dịch muối đậm. Độ suy giảm KLPT và độ bền kéo của PLA xảy ra nhanh hơn sau 120 ngày thử. Các mẫu PLA có KLPT cao hơn có thời gian phân hủy dài hơn. Ở

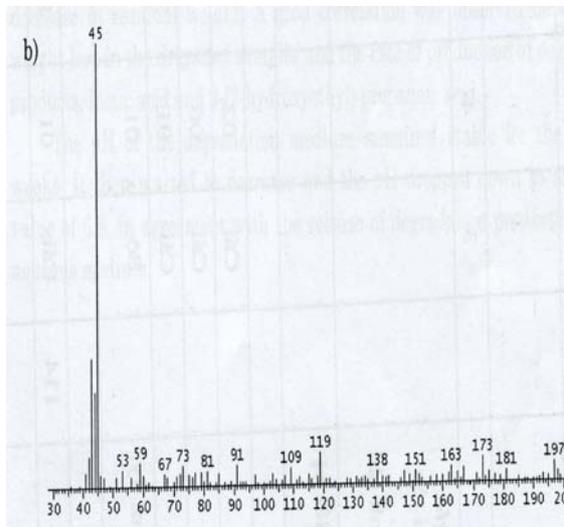
Bảng 1: Sự thay đổi KLPT và độ bền kéo theo thời gian phân hủy của các mẫu PLA

Thời gian phân hủy, ngày	Mẫu PLA: 61500g/mol		Mẫu PLA: 44000g/mol		Mẫu PLA: 30100g/mol	
	KLPT	δ_K , MPa	KLPT	δ_K , MPa	KLPT	δ_K , MPa
0	61500	38,1	44000	35,4	30100	32,2
30	57500	-	36040	-	24260	-
60	30700	14,7	24040	13,6	16060	8,6
90	21020	-	15990	-	7870	-
120	15360	-	9030	5,4	2600	2,2
150	8070	3,8	3140	-	450	-
180	2870	-	630	-	-	-

cùng một giá trị KLPT mẫu PLA đã bị thủy phân cho độ bền kéo thấp hơn rất nhiều so với mẫu PLA chưa thủy phân. Nhìn chung độ bền kéo của tất cả các mẫu PLA sau khi phân hủy trong môi trường in vitro đều giảm mạnh dẫn đến những thử nghiệm tiếp theo là khó khăn, thậm chí không thể xác định được độ bền kéo trong thời gian sau được nữa.

3. Nghiên cứu sản phẩm của sự phân hủy thủy phân

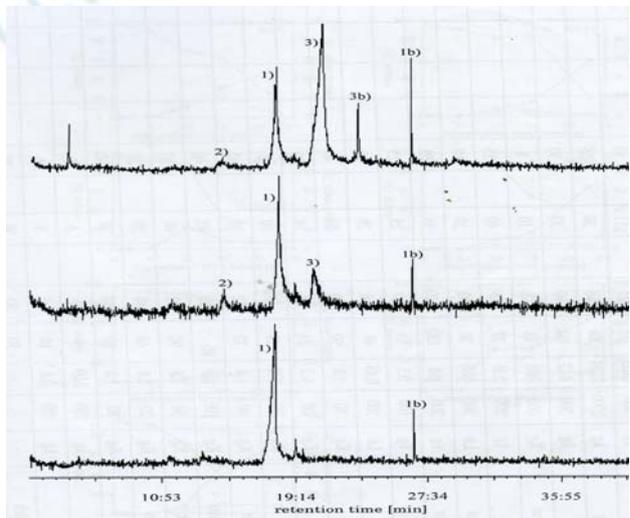
Sản phẩm phân hủy hình thành trong suốt quá trình phân hủy thủy phân của PLA trong dung dịch muối đệm photphat được xác định



Hình 2a: Phổ khối lượng của lactic axit

bằng sắc ký khối phổ. Các hợp chất tạo ra từ sự phân hủy của polyme được xác định bằng cách so sánh với thư viện phổ và các mẫu thử. Hình 2a và 2b chỉ ra phổ khối lượng của lactic axit và giản đồ sắc ký khí của sản phẩm thủy phân hình thành sau 1,10 và 23 tuần.

Kết quả phân tích sản phẩm phân hủy hình 2b cho thấy lactic axit, 2-hydroxyl valeric methyl este hình thành trong suốt quá trình phân hủy. Pic số 1 là 2-hydroxyl valeric, số 2 là lactic axit, số 3 là methyl este. Sự nghiên cứu và xác định sản phẩm phân hủy là rất quan trọng, cho phép dự báo khả năng khả năng phân hủy và tính tương sinh học của vật liệu.



Hình 2b: Giản đồ GC sản phẩm phân hủy sau 1,10 và 23 tuần

4. Nghiên cứu sự thay đổi hình thái học và cấu trúc bề mặt mẫu sản phẩm bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét

Ảnh SEM trên hình 3a, 3b, 3c, cấu trúc hình thái bề mặt của PLA sau các khoảng thời gian phân hủy khác nhau. Hình 3a là ảnh chụp bề mặt của PLA ở thời điểm ban đầu chưa xảy ra sự phân hủy, hình 3b, 3c là ảnh chụp cấu trúc hình thái của PLA sau 2 và 4 tuần tiến hành phân hủy thủy phân trong môi trường invitro. Từ các ảnh SEM có thể thấy rõ sau 2 tuần bề mặt PLA đã xuất hiện các vết nứt gãy, bề mặt bị ăn mòn dần. Cấu trúc bề mặt bị biến đổi mạnh sau 4 tuần ngâm trong môi trường in vitro. Sự đứt

gãy của màng PLA xuất hiện nhiều hơn và rõ hơn. Điều này chứng minh rằng sự phân hủy của PLA đã xảy ra.

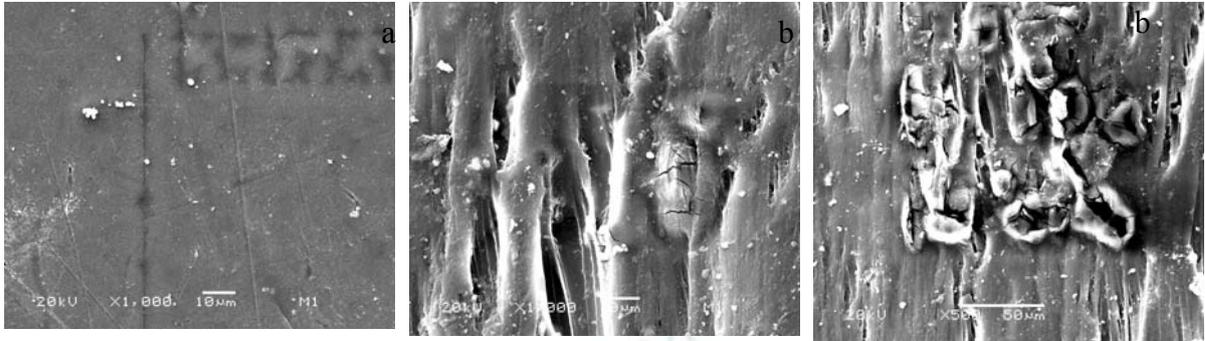
III - KẾT LUẬN

Trong môi trường in vitro PLA ngay lập tức bị phân hủy do phản ứng thủy phân dẫn tới sự suy giảm độ nhớt đặc trưng và KLPT. Khối lượng của mẫu bị tổn thất và tính chất bề mặt đồng thời bị giảm rõ rệt theo thời gian thủy phân. Tốc độ phân hủy xảy ra nhanh hơn sau khoảng 120 ngày ngâm mẫu.

Sản phẩm của quá trình phân hủy của PLA không độc và có tính tương hợp sinh học cao

chúng là những loại axit lactic, axit valeric đã được xác định và minh chứng bằng sắc ký khối phổ và so sánh với phổ chuẩn.

Cấu trúc hình thái của PLA trước và sau thời gian phân hủy được thể hiện rõ nét bằng SEM.



Hình 3: Ảnh SEM của PLA (a), PLA sau 2 tuần phân hủy(b), PLA sau 4 tuần phân hủy

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H. Fururaki, M. Yoshida, M. Asano, Y. Aiba and Kaetsu. Eur. Polym. J., 24, 1029 - 1036 (1988).
2. Sh. Takada, Y. Yamagata, M. Misaki, K. Taira and T. Kurokawa J. Control. Rel. 88, 229 - 242 (2003).
3. J. C. Wu, B. H. Huang, M. L. Hsueh, S. L. Lai. Polymer, 46, 9784 (2005).
4. C. Berklanh, M. King, A. Cox, K. K. Kim and D. W. Pack. J. Control. Rel., 82, 137 - 147 (2002).
5. Mai Văn Tiến, Phạm Thế Trinh, Ngô Duy Cường. Hội thảo về vật liệu polyme và composit—Bộ Khoa học và công nghệ. Chương trình nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ vật liệu KC-02/06-10, 128 - 132, Hà Nội (2008).

Liên hệ: **Phạm Thế Trinh**

Viện Hóa học Công nghiệp
Số 2 Phạm Ngũ Lão, Hoàn Kiếm, Hà Nội.