



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19a
Donostia, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 3.0

INGENIARITZA ETA ARKITEKTURA

**3D inprimaketa eta elektrohiratze
bidez ekoiztako
kitina/gelatina/PVA aldamiok**

*Teresa Carranza Fernandino,
Jone Uranga Gama,
Ainhoa Irastorza Lorenzo,
Pedro Guerrero Manso
eta Koro De la Caba Ciriza*

51-54 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.v.03.06>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



3D inprimaketa eta elektrohiratze bidez ekoizitako kitina/gelatina/PVA aldamiok

Teresa Carranza¹, Jone Uranga¹, Ainhoa Irastorza², Pedro Guerrero^{1,3,4}, Koro de la Caba^{1,3}

¹BIOMAT research group, University of the Basque Country (UPV/EHU), Engineering College of Gipuzkoa, Plaza de Europa 1, 20018 Donostia-San Sebastián, Spain, ²Biodonostia Health Research Institute, Tissue Engineering Group, P^o Dr. Beguiristain s/n, 20014, Donostia-San Sebastián, Spain, ³BCMaterials, Basque Center for Materials, Applications and Nanostructures, UPV/EHU Science Park, 48940, Leioa, Spain, ⁴Proteinmat Materials SL, Avenida de Tolosa 72, 20018 Donostia-San Sebastián, Spain
teresa.carranza@ehu.eus

Laburpena

3D inprimaketa eta elektrohiratze teknikak konbinatuz kitina/gelatina/alkohol polibinilikozko aldamiok sortu ziren, honela hierarkikoki porotsuak ziren egiturak sortuz. Fruta-euliaren pupak, kitina erazteko aukerazko iturri gisa aztertu ziren. Erauzitako kitinak purutasun handia erakutsi zuen, honela txerri gelatinarekin konbinatuz 3D bidez inprima zitekeen tinta lortzeko (3DP tinta). Beste alde batetik, elektrohiratu zitekeen PVA eta gelatinaz sortutako tinta formulatu zen (ES tinta), nanozuntz sarea sortzeko. Polimero hauen elkarketak propietate interesgarriak eman zizkion sortutako egiturari, hala nola, muku-itsaskortasuna eta biobateragarritasuna.

Hitz gakoak: fruta-euliaren pupa; kitina; gelatina; 3D inprimaketa; elektrohiratua; aldamiok

Abstract

Chitin/gelatin/polyvinyl alcohol scaffolds were prepared by combining 3D printing and electrospinning techniques, resulting in structures with hierarchical porosity. Fruit fly pupae were investigated as an alternative source for chitin production. The extracted chitin showed high purity, and was combined with pig gelatin to obtain 3D printable ink (3DP ink). Gelatin with PVA was used as an electrospinnable ink (ES ink) to fabricate nanofibre meshes. The use of different polymers conferred unique properties to the scaffolds, such as mucoadhesive properties and biocompatibility.

Keywords: fruit fly pupae; chitin; gelatin; 3D printing; electrospinning; scaffolds

1. Sarrera eta motibazioa

Nekazaritza eta industria jarduerak urtean milioika tona bio-hondakin sortzen dituzte, hauek sortzen dituzten ingurumen arazoak direla medio. Bio-hondakinek potentziala erakutsi dute balio erantsiko produktuak ekoizteko eta honela ekonomia zirkularra bultzatzeko, hondakin kopurua murriztu eta baliabideak modu eraginkorrago batean erabiliz (Águila-Almanza et. al., 2021). Testuinguru honetan *Ceratis capitala* edo fruta-euliaren pupa kitina erazteko aukerazko iturri bezala aztertu da. *C. capitala* oso erlasionaturik dago fruta kultiboen galera ekonomikoarekin eta beraz estregia desberdinak erabili dira honen populazioa kontrolatzeko, hala nola euli antzuak erabiltzea, ondorioz pupa kantitate handiak sortuz (Wapner et. al., 1995).

Teknologia asko ikertu dira eskuragarri, merke eta biodegradagarriak diren produktuak lortzeko, hala nola 3D inprimaketa eta elektrohiraketa. Fabrikazio gehigarri mota hauek ez dira teknologia berriak, eta gaur egun jakintza arlo askotan daukate beren tokia, hala nola automozioan edota aeronautikan (Dey et. al., 2022). Gaur egun, 3D inprimaketak interesa piztu du ehunen-ingeniaritza arloan osagai biologikoak eta ez-biologikoak jalkitzeko duen ahalmenagatik, non zelulaz kanpoko matrizea imitatzekeo tresna gisa erabilia izan den, honela zelulek atxikidura, migrazioa eta erreplikazioa bermatu dezaketelarik (Dong et. al., 2021). Elektrohiraketak bere aldetik, polimero disoluzio bati tentsio diferentzia handiak aplikatuz mikro- eta nano-zuntzak sortzeko duen gaitasunagatik egin da ezagun, hemen azalera/bolumen erlazio handiko egiturak lortuz (Li et. al., 2022).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

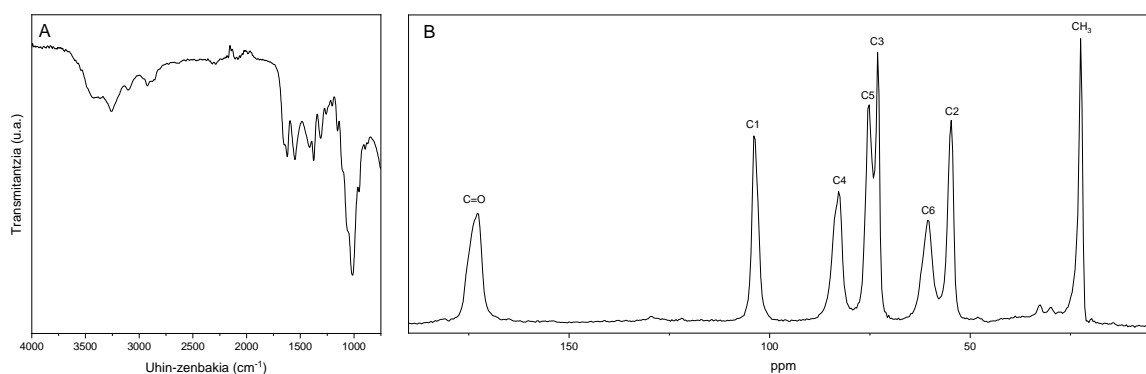
Gaur egungo aldamioren barne-egiturari dagokionez, hierarkia porotsua gai garrantzitsua da, honek gas eta elikagaien banaketa zuzena bermatu eta zelulen atxikitze eta hedapen ona suposatzen duelako (Golebiowska, 2022). Honetarako azken urteotako ikerketen arabera 3D inprimaketa eta elektrohiraketa prozesuen elkartzeak emaitza onak erakutsi dituen arren, egungo ikerketek polimero sintetikoekin egiten dute lan (Yang, 2022). Polimero naturalen erabilpena gerostu eta interesgarriagoa da ehunen ingeniarietza arloan, hauek giza jatorriko ehunekin duten antzekotasunagatik eta beraz hauen prozesaketak aurrerapauso handia suposatzen du ordezko ehunak sortzeko bidean.

Pupa kitina erauzteko iturri bezala erabiliz, aplikazio biomedikoa zuten materialak formulatzea lortu zen, txerri gelatina matrize bezala erabiliz. Beste alde batetik, polimero naturalak elektrohiratzeko duten ahalmen urriagatik PVA gehitu zitzaion gelatina soluzio bati, honela elektrohiraketa gaitasuna zuen tinta sortuz. Material hauek 3D inprimaketa eta elektrohiraketa bidez prozesatu ziren, geruza bakoitzeko tinta bana jalkiz eta sandwich motako egitura porotsua sortuz. Egitura hauek muku-itsaskortasun eta biobateragarritasun propietateak erakutsi zituzten, honela zaurien sendaketarako plataforma suposatu zezaketen materiala sortuz.

3. Emaitzak

Kitinak hiru kristal-forma ditu, α , β eta γ izenekoak, α -kitina izanik forma ugariena. α eta β formak FTIR analisiaren bidez bereiz daitezke. FTIR espektroak bi banda erakutsi zituen 1650 eta 1620 cm^{-1} -tan (1. irudia A), beraz, α -kitina zela adierazi zuen; β -formak berriz, banda bakarra izango luke 1630 cm^{-1} uhin-zenbakian. Beste banda bereizgarri batzuk amida II (1550 cm^{-1}) eta amida III (1309 cm^{-1}) izan ziren. Gainera, banda zabal bat, 3425 cm^{-1} ingurukoa, O-Hri zegokiona, eta beste bi banda, 3255 eta 3107 cm^{-1} -tan, N-Hri zegozkionak ikusi ziren. Baita 1010 cm^{-1} inguruko banda C-O luzatzeari lotuta zegoena. Banda bereizgarri horiek ikusita, fruta-eulitik isolatutako kitinaren purutasuna handia zela baieztatu zen. Beste aldetik, NMR analisiak α -kitina ^{13}C -ren ohiko espektroa erakutsi zuen (1. irudia B). 20 eta 190 ppm arteko zortzi gailur ongi definitu zirelarik, C1-C6, CH₃ eta C=O egiturei zegozkienak. Azkenik, kitinaren azetilazio-maila kalkulatzeko oinarritzko analisia egin zen. Aurkitutako kitinaren nitrogeno-edukia %4,5ekoa izan zen, purutasunaren adierazle esanguratsua.

1. irudia. Erauzitako kitinaren karakterizazio fisiko-kimikoa A) FTIR espektroa, B) ^{13}C NMR espektroa

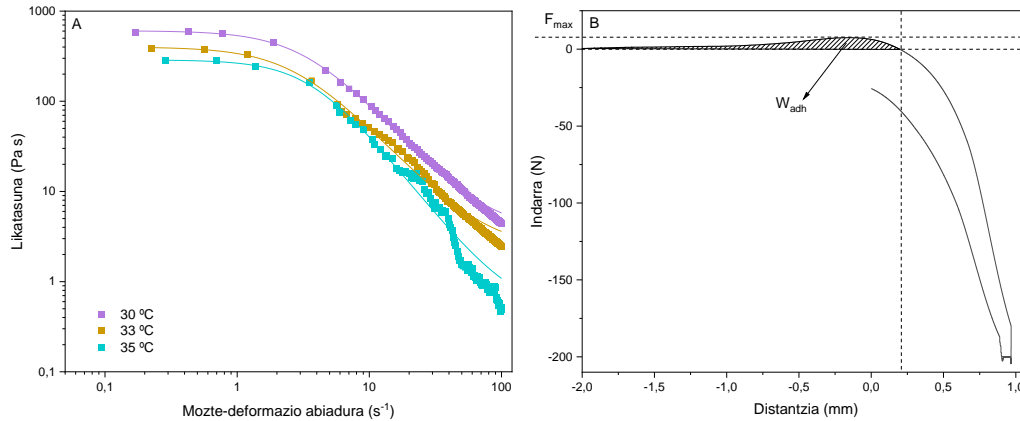


Analisi erreologikoa 3D inprimaketaren tenperatura optimoa zehazteko egin zen (2. irudia A). Liskatasun balioak jaitsi egin ziren mozte-deformazio abiadura handitu zenean, eta adierazi zen 3DP tintak portaera liskaelastikoa izan zuela, 3D inprimaketa-tekniketarako egokia.

3DP tinta eta muzina bereizteko indar maximoaren balioa 7,47 N izan zen, eta itsaste-lana, azalera kurbaren azpian integratzearen bidez kalkulatu, 6,96 mJ izan zen (2. irudia B). Muzinak,

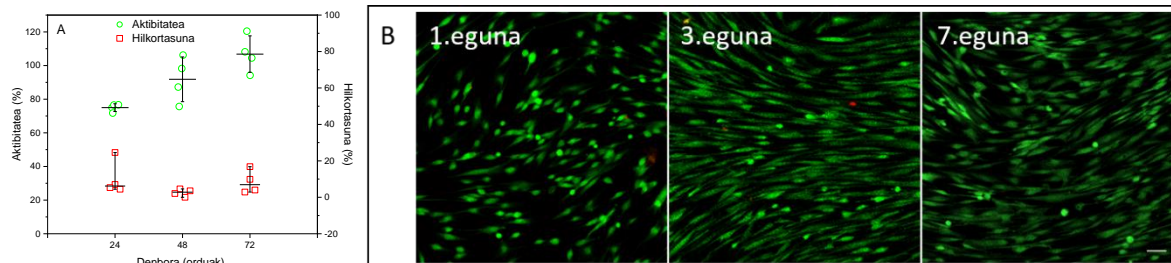
negatiboki kargatutako glikosilazio handiko proteinak, beste polimero batzuekiko elkarrekintza fisikoak (hidrogeno-loturak edo indar elektrostatikoak) eragin ditzake. Beraz, 3DP tintan dagoen gelatinarekin kontaktuan, interakzio ez-kobalenteak sor daitezke bi proteinetan dauden $-COOH$, $-NH_2$ eta $-OH$ talde polarren bidez.

2. irudia. Tinten karakterizazioa fisiko-kimikoa A) 3DP tintaren zizailatze kurbak, eta B) Muku-itsaskortasunaren kurba.



Epe laburreko biobateragarritasuna jarduera metabolikoaren eta zelulen hilkortasunaren arabera ebaluatu zen 72 ordutara. Zelulek jarduera optimoak izan zituzten lehen egunetik eta gorazko joera izan zuten egunak igaro ahala. Zelulen hilkortasuna %10 baino txikiagoa izan zen aztertutako denboran (3. Irudia A). Epe luzeko saiakuntzari dagokionez (3. irudia B), zelulak zazpi eguneko epean bizirik jarraitu zuten. Era berean zelulek fibroblasto fenotipo normala erakutsi zuten.

3. irudia. Aldamioen karakterizazio biologikoa A) HS27 zelulen hazkundeak 24, 48 eta 72 ordutara, B) Live/dead analisia aldamioa zelulen kultibora 1, 3 eta 7 eguneko esposizioaren ondoren (eskala 50 μm).



4. Ondorioak

Euli-pupak kitina erazteko hautagai onak izan ziren, lortutako erazketa-errendimendu handiak erakutsi zuen moduan. Kitina hori 3DPprako gelatinazko tintak prestatzeko erabili zen; ES tintak, berriz, gelatinarekin eta PVArekin. Tintek portaera liskaelastikoa izan zuten, beharrezkoa fabrikazio gehigarriko prozesuetarako, ebaluazio erreologikoak erakutsi zuenez. Gainera, 3DP tintek muku-itsaskortasun eta biobateragarritasun onak zituzten ehun-ingeniaritzako aplikazioetarako interesekoak. Aipatzekoa da 3DP eta ES konbinazioen bidez fabrikatutako aldamioren erreplikagarritasuna handia izan zela. Ondoriozko aldamiok elkarri lotutako poroen arkitektura erakutsi zuten, zelulen atxikimendurako eta hazkuntzarako egokia. Beraz, bideragarritasun zelularra egiaztatu eta biobateragarritasuna berretsi zen. Honela, zaurien sendaketarako egokia izan daitekeen egitura sortu da, material natural eta biobateragarriak konbinatuz. Orain arte hondakina suposatzen duen fruta-euliaren pupa erabiliz, hau balio erantsiko produktua bilakatuz.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetatik abiatuta, ehunak birsortzeko sistema konplexuagoen ikerketa abiatuko da, honetarako erabilitako materialak abiapuntutzat hartuz. Zaurien sendapenaren inguruko entsegu biologikoak prestatuko dira, material sistema honen komenentzia ikertzeko, eta beharrezkoa bada, formulazioa edota fabrikazioa moldatzeko.

6. Erreferentziak

- Águila-Almanza, E., Low, S. S., Hernández-Cocoletzi, H., Atonal-Sandoval, A., Rubio-Rosas, E., Violante-González, J., & Show, P.L. (2021). Facile and green approach in managing sand crab carapace biowaste for obtention of high deacetylation percentage chitosan. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9,105229. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105229>
- Wappner, P., Kramer, K.J., Hopkins, T.L., Merrit, M., Schaefer, J., & Quesada-AlluÉ, L. (1995). White pupa: a *Ceratitis capitata* mutant lacking catecholamines for tanning the puparium. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 25, 365-373. [https://doi.org/10.1016/0965-1748\(94\)00078-V](https://doi.org/10.1016/0965-1748(94)00078-V)
- Dey, D., Srinivas, D., Panda, B., Suraneni, P., & Sitharam, T.G. (2022). Use of industrial waste materials for 3D printing of sustainable concrete: A review. *Journal of Cleaner Production*, 340, 130749. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.130749>
- Dong, J., Jhu, R.J., Wang, L., & Xian, C.J. (2021). A hybrid platform for three-dimensional printing of bone scaffold by combining thermal-extrusion and electrospinning methods. *Microsyst Technol*, 26: 1847-1861. <https://doi.org/10.1007/s00542-019-04730-7>
- Li, T., Sun, M., & Wu, S. (2022). State-of-the-Art Review of Electrospun Gelatin-Based Nanofiber Dressings for Wound Healing Applications. *Nanomaterials*, 12: 784. <https://doi.org/10.3390/nano12050784>
- Golebiowska, A. A., & Nukavarapu, S. A. (2022). Bio-inspired zonal-structured matrices for bone-cartilage interface engineering. *Biofabrication*, 14: 025016. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ac5413>
- Yang, D. L., Faraz, F., Wang J. X., & Radacsi, N. (2022). Combination of 3D Printing and Electrospinning Techniques for Biofabrication, *Adv. Mater. Technol.*, 7: 2101309. <https://doi.org/10.1002/admt.202101309>

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Eusko Jaurlaritzako, Euskal Unibertsitate-sistemako ikerketa-taldeen (IT1658-22) eta Elkartek programa (KK-2022/00019) bidez gauzatu ahal izan da. Biodonostian egindako lana Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) eta Europar Batasunak kofinantzatuako PI19/01621 proiektu bidez gauzatu da. Teresa Carranzak eta Ainhoa Irastorzak eskerrak eman nahi dizkiote Eusko Jaurlaritzari beren (PRE_2022_2_0005) eta (PRE_2019_1_0031) bekagatik. Jone Urangak eskerrak eman nahi dizkio Euskal Herriko Unibertsitateari bere (ESPDOC21/74) bekagatik.