



**Politecnico
di Torino**

Politecnico di Torino

Ingegneria Biomedica
A.A. 2022/2023
Sessione di Laurea Luglio 2023

Uso di coloranti azo-boronici per la stampa 3D di idrogel autoriparanti

Relatore:

Dott. Ignazio Roppolo

Candidati:

Francesco Schimmenti
S283798

Sommario

ABSTRACT	5
1. Additive Manufacturing.....	7
1.1. Storia e impiego dell'Additive Manufacturing.....	7
1.2. Elementi di fotopolimerizzazione	14
1.2.1 Resine per fotopolimerizzazione	15
1.2.2 Meccanismi di polimerizzazione.....	19
1.3. VAT Photopolymerization.....	20
1.3.1. SLA	21
1.3.2. DLP.....	23
2. Idrogel.....	26
2.1. Classificazione degli idrogel.....	26
2.2. Proprietà degli idrogel	28
2.2.1. Swelling.....	28
2.2.2. Proprietà meccaniche.....	29
2.2.3. Porosità.....	30
2.2.4. Biocompatibilità.....	30
2.2.5. Biodegradabilità.....	30
2.3. Applicazioni.....	31
2.4. Tecniche di produzione degli idrogel.....	32
2.4.1. Metodi fisici	32
2.4.2. Metodi chimici.....	33
3. Self-healing.	36
3.1. Meccanismi di self-healing	37
3.1.1. Meccanismo di autoriparazione estrinseca.....	37
3.1.2. Meccanismo di autoriparazione intrinseca	37
3.2. Interazioni supramolecolari.....	39
3.2.1. Legame a idrogeno	39
3.2.2. Legame idrofobici	40
3.2.3. Legami ionici	40
3.2.4. Host-Guest interction	40
3.3. Interazioni covalenti dinamiche	40
3.3.1. Legami imminici.....	40
3.3.2. Idrazoni.....	40

3.3.3. Reazione Diels-Alder	41
3.3.4. Ossime	41
3.3.5. Legami Disolfuro	42
3.4. Legame estere di boronato	42
4. Materiali e metodi	45
4.1. Materiali	45
4.1.1. Metacrilazione PVA	45
4.1.2. Sintesi del colorante	45
4.1.3. Realizzazione delle formulazioni	46
4.2. Ottenimento campioni	47
4.2.1. Fotopolimerizzazione tramite lampada UV	47
4.2.2. Stampa 3D	47
4.3. Metodi di caratterizzazione	49
4.3.1. Spettroscopia UV/Visibile	50
4.3.2. Reologia	50
4.3.3. Fotoreologia.....	52
4.3.4. Analisi dinamo-meccanica (DMA)	54
4.3.5. Swelling Test	54
4.3.6. Microscopio elettronico a scansione (SEM)	54
4.4. Prove di Self-Healing.....	55
4.4.1. Prove Visive	56
4.4.2. Prove al reometro.....	56
4.4.3. Prove Termiche.....	57
5. Risultati	58
5.1. Ottenimento campioni	58
5.2. Spettroscopia UV/Visibile	59
5.3. Prove Reologiche	60
5.3.1. Prove di Viscosità.....	60
5.3.2 Amplitude Sweep Test.....	61
5.4 Fotoreologia	62
5.4.1 Time sweep test.....	62
5.5. Parametri di stampa e prove di stampa	65
5.6. Prove di swelling.....	69
5.7. Immagini al SEM	70
5.8. Prove Dinamo-Meccaniche	73
5.9 Prove di self-healing	74

5.9.1. Metodi visivi	74
5.9.2. Prove al reometro.....	77
5.9.3. Prove termiche	80
6. Conclusioni e prospettive future	84
Bibliografia.....	87

ABSTRACT

Uno dei più attuali campi di ricerca nell'ambito biomedico riguarda lo sviluppo di idrogel funzionali: questi, se progettati in maniera opportuna sia dal punto di vista compositivo che morfologico, possono trovare diverse applicazioni soprattutto nel campo dell'ingegneria dei tessuti. In particolare, idrogel sintetici e/o naturali sono utilizzati come sistemi artificiali in grado di sostituire o, in alternativa, favorire la rigenerazione di tessuti danneggiati.

Nell'ambito di questa applicazione, i tessuti da mimare sono caratterizzati da una morfologia molto sofisticata e complessa e, in molti casi, possiedono la capacità di ripristinare le loro proprietà dopo che questi subiscono un danno.

Questo lavoro di tesi ha avuto come obiettivo la produzione e la caratterizzazione di un idrogel autoriparante realizzato attraverso stampa 3D mediante tecniche di fotopolimerizzazione a vasca (VAT); nello specifico si è utilizzata la tecnologia Digital Light Processing (DLP) che è una tecnica che permette di realizzare oggetti polimerici partendo da una fase liquida tramite fotopolimerizzazione di layer sovrapposti.

Nelle stampanti 3D di tipo DLP, le formulazioni sono composte da una miscela di monomeri e/o oligomeri insieme ad un fotoiniziatore; spesso viene anche aggiunto un colorante che ha la funzione di migliorare la risoluzione di stampa lungo l'asse z, durante il processo di stampa.

In generale, l'uso del colorante non influisce significativamente su quelle che sono le caratteristiche finali dell'oggetto realizzato; tuttavia, negli ultimi anni si è sviluppata l'idea di utilizzare coloranti funzionali che possono conferire certe proprietà al prodotto finale.

In questo lavoro, si è pensato di realizzare un colorante specifico che, oltre a migliorare la risoluzione di stampa, funga anche da agente per indurre proprietà autoriparanti all'idrogel.

Per far questo si è partiti da un colorante azobenzenico funzionalizzato con dei gruppi pendenti di acido boronico, capaci di stabilire legami covalenti dinamici estere di boronato con un diolo. I coloranti azo hanno la capacità di subire un cambiamento configurazionale cis-trans se irraggiati ad una precisa lunghezza d'onda. L'idea finale è quella di riuscire a creare un sistema autoriparante regolato dalla luce.

Per quanto riguarda il poliolo, si è utilizzato del polivinilalcol (PVA) idratato in quanto, da bibliografia, risulta essere il più adatto per formare reti polimeriche reagendo con acido boronico attraverso legami estere di boronato. Inoltre, il PVA è stato funzionalizzato con gruppi metacrilati

per renderlo compatibile con la fotopolimerizzazione; tale modifica è stata necessaria per ottenere la stampa dell'idrogelo mediante processo VAT.

Scendendo più in dettaglio nell'articolazione della presente tesi, nel primo capitolo viene descritta la storia e l'impiego dell'additive manufacturing, focalizzandosi poi sulla tecniche VAT.

Nel secondo capitolo sono descritte le caratteristiche, la classificazione e le tecniche di produzione degli idrogel.

Nel terzo capitolo sono discussi i meccanismi e la chimica dei processi di self-healing, focalizzandosi infine sul legame chimico covalente estere di boronato.

Segue, quindi, la parte sperimentale, nella quale vengono illustrati i materiali e i metodi utilizzati e successivamente i risultati sperimentali ottenuti. Infine, sono tratte le conclusioni dei risultati ottenuti, prospettando poi i possibili sviluppi futuri della ricerca condotta.

1. Additive Manufacturing

1.1. Storia e impiego dell'Additive Manufacturing

Il termine *Additive Manufacturing* (AM) fa riferimento ad un gruppo di processi di produzione che si basano sulla tecnologia di fabbricazione layer by layer al fine di realizzare strutture tridimensionali direttamente da modelli computer-aided design (CAD)^{1,2}. Il termine 3D printing è concettualmente quasi un sinonimo di AM, anche se generalmente viene utilizzato quando ci si riferisce a tecniche più legate a materiali polimerici.

L'*American Society for Testing and Materials* (ASTM), definisce l'AM come: *"process of joining materials to make objects from 3D models data, usually layer upon layer, as opposed to subtractive methodologies, such as traditional machining"*¹. (ASTM international, 2012)

Questa definizione indica una prima differenza che vi è tra le tecnologie di Additive Manufacturing (*Fig 1.1. A*) e le lavorazioni a controllo numerico computerizzato (CNC) (*Fig 1.1.B*). Quest'ultime, sono tecniche di produzione di tipo sottrattivo; partendo da un blocco intero del materiale da lavorare, da questo viene rimosso via via parte di materiale finché non si ottiene l'oggetto finale.

L'Additive Manufacturing, invece, si basa sulla fabbricazione layer by layer dell'oggetto da realizzare; ossia aggiungere/solidificare e sinterizzare materiale solo dove necessario. Questo approccio permette di conseguire uno spreco di materiale nettamente inferiore rispetto alle tecniche di lavorazione CNC.³

Nel 1984, Charles Hull inventò il primo *solid imaging process* e nel 1986 brevettò questa nuova tecnologia meglio conosciuta come stereolitografia (SLA), un processo in cui una fonte di luce laser a ultravioletti (UV) viene focalizzata sulla superficie di un bagno resina liquida foto-polimerizzabile per realizzare la sezione trasversale di un componente da fabbricare^{4,5}.

Successivamente, Hull fondò un'azienda chiamata 3D System, iniziando a produrre macchine per la stereolitografia; la realizzazione della prima stampante SLA commerciale al mondo risale, infatti, al 1988.⁶

Oltre ad essere stato l'inventore della prima stampante 3D, Hull sviluppò anche il formato di file usato per stampare i modelli digitali CAD progettati, ossia il formato STL (stereolithographic).⁵

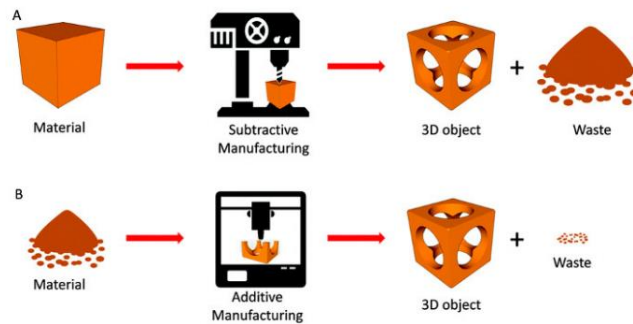


Fig 1.1 A) Schema riassuntivo tecniche di produzione CNC, B) Schema riassuntivo tecniche di produzione AM³

L'AM era inizialmente limitata alla realizzazione rapida di modelli a scopo di convalida o per accelerare lo sviluppo di oggetti da inserire poi all'interno di un contesto di produzione industriale. Tuttavia, questa si è evoluta rapidamente e al giorno d'oggi viene usata in tutto il mondo e grazie alle possibilità di poter creare geometrie complesse con una grossa varietà di materiali, questa tecnica ha guadagnato forte interesse in molti settori⁷. L'AM sta trasformando radicalmente il processo di design, produzione e distribuzione dei prodotti destinati agli utenti finali, aumentando la velocità e riducendo i costi di produzione. Inoltre, i consumatori possono avere molta più influenza sul processo di produzione, in quanto questi possono fornire maggiori input sul prodotto finale e potranno richiederne la produzione su misura secondo le loro necessità².

Il workflow del 3D printing può essere suddiviso in più parti Fig 1.2:

- 1) Ogni processo AM inizia disegnando un modello 3D del componente da realizzare oppure una sezione dello stesso, tramite un qualsiasi software CAD. In alternativa, è possibile realizzare una scansione dell'oggetto da riprodurre, creando quindi un modello digitale di un oggetto fisico¹.
- 2) Il secondo step è quello di convertire il file CAD in un formato compatibile con il macchinario di AM; .STL è il formato standard che viene letto dai macchinari per AM. Il formato .STL approssima le superfici di un modello con una mesh poligonale generalmente triangolare. Il numero di triangoli definisce la precisione delle superfici curve e grazie al software CAD è possibile controllare il numero e la grandezza di questi triangoli¹.
- 3) Una volta convertito il file CAD in formato STL, viene effettuato lo slicing del modello 3D. Il software di slicing prende il modello 3D CAD convertito in formato STL e lo converte in G-code, cioè nella serie di comandi che vengono mandati alla stampante con le istruzioni di stampa. Il modello 3D viene suddiviso in diversi layer e grazie a quest'operazione viene definito il *processo di stampa*, cioè come ogni singolo layer deve essere stampato; vengono,

quindi, definiti i tempi di stampa, lo spessore del layer, l'orientazione di stampa, la temperatura, ecc...¹

- 4) Una volta terminate queste fasi, inizia il processo di stampa vero e proprio.
- 5) Terminata la stampa, i componenti stampati possono aver bisogno di un trattamento di post-processing, che può essere di curing, di sinterizzazione e di pulizia.



Fig 1.2 Work-flow di un processo di 3D printing⁸

Rispetto alle tecniche di produzione tradizionali, l'AM offre una serie di vantaggi, di seguito riportati:

- 1) *Progettazione digitale*: tutti i processi di AM creano parti fisiche direttamente da un file digitale standardizzato; questo assicura che la parte creata rappresenti precisamente l'intento del progettista riducendo così le imprecisioni di produzione che, invece, si trovano nei processi di produzione tradizionale.⁹
- 2) *Aumento della complessità delle parti create*: un altro dei benefici dell'AM è la possibilità di poter creare forme complesse, anche ispirandosi alla natura o addirittura scannerizzando la parte da voler ricreare, senza alcuna limitazione.⁹
- 3) *Riduzione degli sprechi*: i processi AM sono intrinsecamente "green" poiché il materiale, essendo questo aggiunto strato dopo strato, viene usato nella quantità necessaria per la realizzazione del prodotto. Questo entra in netto contrasto con i processi di produzione tradizionali che sono tipicamente di natura sottrattiva.⁹
- 4) *Time-to-Market*: uno dei maggiori vantaggi del 3D printing è quello di velocizzare il processo di sviluppo di un prodotto e quindi di migliorare il tempo necessario affinché questo possa essere poi messo in commercio. Le linee di assemblaggio e le supply chain possono essere ridotte o addirittura eliminate per molti prodotti perché tramite un processo di AM, a differenza delle tecniche di produzione convenzionali, il prodotto finale può essere realizzato tramite un singolo processo senza dover, ad esempio, per forza assemblare diverse parti per realizzare il prodotto finale.⁵

- 5) *Più economico per le piccole produzioni*: le produzioni tradizionali richiedono consistenti quantitativi di prodotti da dover realizzare per poter ammortizzare i costi relativi alle attrezzature, alla manodopera e al processo produttivo. Invece, con l'AM, il costo di fabbricazione di un singolo oggetto è sostanzialmente basso indipendentemente dalla quantità, rendendo così la produzione più economica ¹⁰.
- 6) *Più personalizzabile, più adattabile*: la stampa 3D può essere utilizzata per ottenere dei prototipi dell'oggetto da realizzare prima di passare alla produzione di massa potendo apportare un numero illimitato di modifiche al prodotto, anche durante il processo di produzione, finché non si raggiunge lo standard voluto.

In figura 1.3 sono riportati tutti i vantaggi appena descritti.



Fig 1.3 Grafico dei vantaggi delle tecniche di produzione AM ¹¹

D'altra parte, esistono anche alcuni svantaggi relativi ai processi AM, soprattutto se si parla del campo della produzione di massa, tra cui:

- 1) *Limitazione delle dimensioni degli oggetti*, infatti, la realizzazione di oggetti molto grandi risulta essere non ancora fattibile tramite processi AM a causa dell'eccessivo tempo richiesto per la loro realizzazione ¹²;
- 2) *Imperfezioni*, le parti prodotte tramite i processi AM, una volta terminata la stampa, presentano delle superfici imperfette con una finitura superficiale imprecisa che richiede, come visto precedentemente, una fase di post-processing ¹²;
- 3) *Costo dei macchinari*, i macchinari per l'AM possono richiedere, infatti, un grosso investimento. Si può partire, ad esempio, da un costo di poche centinaia di € per una stampante entry level fino ad arrivare a centinaia di migliaia di € per macchinari più complessi ¹²;

Secondo la norma ISO/ASTM52900-15 sulla categorizzazione dei processi di AM, sono sette i diversi tipi di processi che ricadono in questa casistica ¹³:

- 1) *Binder Jetting*, questo è un processo di prototipazione rapida in cui un agente legante liquido viene depositato selettivamente per unire le particelle di polvere. Tramite questa tecnica si possono stampare una varietà di materiali, tra cui metalli, sabbie, polimeri, materiali ibridi e ceramiche ². Tra le varie tecnologie di AM, questa si distingue per la sua promettente capacità di produrre rapidamente strutture complesse e per ottenere proprietà isotropiche nei campioni stampati in 3D ¹⁴.
- 2) *Direct energy deposition*, è un processo di fabbricazione additiva in cui l'energia termica viene focalizzata sui materiali, mentre vengono depositati, per fonderli ¹⁵. È un processo di stampa complesso e viene comunemente usato per riparare o aggiungere materiale aggiuntivo a componenti già esistenti. Il processo di deposizione è simile, in linea di principio, ai processi di estrusione del materiale con la differenza che l'ugello da cui viene fatto filare il materiale non è fissato su un asse specifico, ma può muoversi in più direzioni. Questa tecnica offre un elevato grado di controllo sulla struttura del singolo grano del materiale utilizzato, tra cui i più comuni sono metalli e ibridi a base di metallo. ²
- 3) *Materials extrusion* la tecnologia di stampa 3D basata sull'estrusione può essere utilizzata per stampare più materiali contemporaneamente. Questo è un processo molto utilizzato per via dei costi bassi e anche per la semplicità con cui è possibile creare parti completamente funzionali di un prodotto. Il *Fused Filamente Fabrication (FFF)*, conosciuta anche come *Fused Deposition Modelling (FDM)* nome però commerciale, è un primo esempio di un processo a estrusione di materiale che costruisce parti strato per strato, partendo dal basso verso l'alto, riscaldando ed estrudendo i filamenti termoplastici del materiale. Il FDM è stato sviluppato all'inizio degli anni '90 del secolo scorso e utilizza i polimeri come materiale principale ².
Un altro esempio è rappresentato dal *Direct Ink Writing (DIW)*, che è una tecnica simile al FFF con la differenza che questa permette la stampa di paste e fluidi viscosi. Una volta che viene estruso il materiale dalla testina di stampa, la solidificazione di questo avviene attraverso l'evaporazione del solvente che viene utilizzato oppure per mezzo di processi di reticolazione attivati tramite temperatura, luce o fasci ionici; affinché si voglia ottenere una buona risoluzione di stampa, questo processo di reticolazione post stampa deve essere molto veloce ¹⁶
Parlando, infine, più nello specifico del settore biomedicale bisogna citare, tra le varie tecniche di stampa 3D basate sull'estrusione di materiale, il bioplotting. La prima applicazione relativa a questa tecnologia risale a circa 20 anni fa ed è stata lo sviluppo di un

tessuto vascolarizzato; oggi, invece, viene utilizzata anche per la realizzazione di scaffold sintetici biocompatibili utili per la coltura cellulare in vitro. Una delle differenze maggiori tra le classiche tecniche di stampa 3D basate sull'estrusione di materiale e il bioplotting è che quest'ultima può essere utilizzata per stampare materiali contenenti già al loro interno le cellule, seguendo, quindi, un approccio di *pre-seeding*; nonostante, questo approccio, sia molto più efficiente, in termini di deposizione cellulare, rispetto ad un approccio di tipo *post-seeding* che prevede, invece, che le cellule vengano seminate all'interno del materiale solo dopo aver terminato la stampa, risulta essere abbastanza complesso in quanto richiede molto più tempo per ottimizzare tutti i parametri di stampa, sia per ottenere la migliore risoluzione possibile ma, soprattutto, per preservare la vitalità cellulare. ¹⁷

- 4) *Materials jetting*, questa tecnica consiste nell'andare a depositare, goccia dopo goccia, selettivamente un materiale. Come nella stampante 2D, una testina di stampa rilascia goccia dopo goccia il materiale fotosensibile che, una volta formato un layer del componente da stampare, viene fatto solidificare tramite la luce UV. Tramite questa tecnica è possibile ottenere pezzi con un'ottima finitura superficiale e un'alta precisione dimensionale ed inoltre è possibile utilizzare una vasta gamma di materiali, tra cui polimeri, ceramiche, compositi e biologici. ²
- 5) *Powder bed fusion*, è una tecnica che usa un fascio di elettroni o un laser per fondere o sinterizzare insieme la polvere di materiale ². Una volta realizzato lo spessore di un singolo strato, il letto di polvere viene abbassato e viene inserito un nuovo strato di polvere e ricomincia il processo di fusione delle polveri; il tutto si ripete finché la parte non viene completamente costruita ¹⁸. I materiali maggiormente utilizzati in questa tecnica sono i metalli, i ceramici, i polimeri e i compositi. Alcuni esempi di processi che si basano su questa tecnica sono l'electron beam melting (EBM) e il selective laser sintering (SLS).
- 6) *Sheet lamination*, viene definita dalla ASTM come un processo di 3D printing in cui i fogli di materiale vengono uniti insieme per produrre una parte di un oggetto. Alcuni esempi di questa tecnologia sono il *laminated object manufacturing (LOM)* e il *ultrasound additive manufacturing (UAM)* ². Si tratta di tecniche estremamente convenienti da un punto di vista economico e permettono di poter produrre pezzi sia di piccole che di grandi dimensioni ¹⁹.
- 7) *Vat Photopolymerization*, si basa sulla fotopolimerizzazione di resine fotosensibili utilizzando un laser, una luce o raggi ultravioletti. Le tecniche principali sono la *stereolitografia (SLA)* e il *digital light processing (DLP)*. I parametri più importanti da impostare sono il tempo di

esposizione, la lunghezza d'onda e l'intensità di energia da fornire; grazie a questa tecnica, è possibile ottenere prodotti con dettagli precisi e superfici molto dettagliate. ²

Nella figura 1.4 vengono riassunti tutti i processi appena descritti e alcuni esempi:





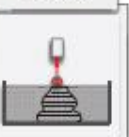


	Material Extrusion	Vat Photo-polymerization	Material Jetting	Binder Jetting	Powder Bed Fusion	Direct Energy Deposition	Sheet Lamination
Scheme							
Process	Layer by layer deposition of molten material	Selective curing of photo-curable material in a liquid container	Material deposition and subsequent curing	Selective dispense of binder for joining powder in a bed	Fusing of powder in a bed by melting the selected region	Direct fusion of the material	Bonding of individual sheets of material
Name	FDM RC MJS SFF	SLA DLP LAMP 2PP	DOD MJ NPJ	BJ	SLS SLM DMLS EBM MJF	LENS EBAM DMT	LOM UC

Fig 1.4 Schema riassuntivo delle tecniche di additive manufacturing ²⁰

Al giorno d'oggi non esiste praticamente alcun campo delle applicazioni ingegneristiche in cui non vengano impiegate tecniche di AM, settori che spaziano dall'aerospaziale, passando per l'automotive fino ad arrivare al settore biomedicale.

Entrando di più nello specifico, i componenti utilizzati nell'industria aerospaziale spesso presentano geometrie complesse e solitamente vengono realizzati con materiali avanzati come leghe di titanio, superleghe di nichel, acciai speciali, i quali richiedono processi di produzione difficili, costosi e che richiedono tempi lunghi di produzione. Proprio per questo motivo, l'AM risulta essere particolarmente adatta per la produzione di componenti aerospaziali in quanto permette la fabbricazione di volumi limitati di parti in poco tempo, garantendo una certa efficienza economica e anche la flessibilità nell'integrare modifiche di progetto.^{21,22}

I processi AM trovano applicazione anche nell'industria automobilistica, consentono, infatti, la creazione di nuovi design, prodotti più leggeri e sicuri riducendo, inoltre, i tempi e i costi di produzione. Nonostante ciò, l'uso di queste tecnologie nel settore in questione presenta ancora delle limitazioni come, ad esempio, la possibilità di produrre componenti di grandi dimensioni come i pannelli della carrozzeria. Tuttavia, sono in corso importanti ricerche in questo ambito; ad esempio, Materialise ha sviluppato una macchina di stereolitografia di grandi dimensioni (con volume 2100mm x 680mm x 800mm), in grado di produrre la maggior parte dei componenti di grandi dimensioni. Sebbene vi sia questa limitazione, i processi AM si stanno inserendo sempre di più

all'interno dei processi produttivo del settore automobilistico; si stima, infatti, che l'uso dei processi AM, invece dei processi CNC tradizionali, abbia permesso una riduzione notevole dei tempi di produzione, dei costi e il tempo necessario per sviluppare nuovi progetti.²²

I recenti progressi dei processi AM, in concomitanza allo studio dei biomateriali, allo sviluppo delle scienze biologiche e della biomedicina hanno fatto sì che questi processi possano essere utilizzati per la produzione di impianti ortopedici, organi artificiali, dispositivi medici e di scaffold utilizzabili nel campo dell'ingegneria tissutale. Molte aziende, o istituti di ricerca, sfruttano l'AM per sviluppare impianti medici nell'ambito protesico e odontoiatrico, poiché questa offre una serie di vantaggi, tra cui la possibilità di creare geometrie complesse, soprattutto personalizzabili in modo da soddisfare le esigenze individuali dei pazienti, e superfici ruvide che permettono una migliore integrazione ossea. Arcam, per esempio, sfrutta la tecnica *electron beam melting (EBM)*, una delle varie tecniche di AM, per realizzare protesi d'anca, ginocchio, spalla e colonna vertebrale.

Rimanendo sempre in ambito biomedico, l'AM viene utilizzato anche nel campo dell'ingegneria tissutale. Lo scaffold tridimensionale, detto in maniera sintetica, rappresenta uno degli elementi chiave dell'ingegneria tissutale in quanto questo svolge il ruolo di matrice extracellulare artificiale su cui le cellule possono attaccarsi, crescere e migrare fino a formare nuovi tessuti. La fabbricazione convenzionale degli scaffold si basa su tecniche come *solvent casting*, *melt molding*, *freeze drying*, liofilizzazione. Tutti questi metodi, tuttavia, presentano alcune limitazioni, tra cui il controllo della struttura complessa interna dello scaffold e, soprattutto, la riproducibilità. I processi di AM superano queste limitazioni poiché consentono di progettare digitalmente la struttura interna dello scaffold e di essere riproducibili; inoltre, i processi di AM possono essere sfruttati sia per produrre direttamente lo scaffold, ottenendo così il prodotto finito, sia per produrre degli stampi che possono essere utilizzati per realizzare, in maniera indiretta, gli scaffold.²³

1.2. Elementi di fotopolimerizzazione

Considerando che in questo lavoro di tesi è stata utilizzata una tecnica (DLP) che ricade all'interno della categoria "VAT photopolymerization", solo questa verrà illustrata nel dettaglio.

Come intuibile dalla parola stessa, il processo di fotopolimerizzazione è un processo di polimerizzazione indotto da una radiazione luminosa, tipicamente nello spettro del UV: questa, irraggiando un'opportuna miscela fotoreattiva, porta ad una rapida reazione chimica, che tipicamente converte un liquido in un solido polimerico.

Solitamente, le reazioni di fotopolimerizzazione vengono descritte come delle reazioni a basso impatto ambientale poiché si contraddistinguono per i bassi consumi e per i bassi requisiti

energetici, possono avvenire a basse temperature e non producono emissioni di composti organici volatili ²⁴

1.2.1 Resine per fotopolimerizzazione

Gli elementi fondamentali di una resina fotosensibile sono: monomeri e oligomeri (definiti anche come precursori) e fotoiniziatori (PI) ²⁵. Più tipicamente nell'ambito della stampa 3D, la maggior parte delle formulazioni contengono anche dei coloranti i quali, assorbendo la luce incidente, migliorano il controllo sulla polimerizzazione e quindi la risoluzione delle parti stampate ^{25,26}.

1.2.1.1. Monomeri

Il monomero è il blocco fondamentale di una catena polimerica, la cui struttura ne influenza le proprietà meccaniche e fisico-chimiche; un oligomero, invece, è una catena composta da pochi monomeri. In base al rapporto monomero/oligomero è possibile regolare la cinetica di polimerizzazione e le proprietà meccaniche e fisico-chimiche del materiale, così come la struttura chimica del monomero/oligomero ²⁵. La condizione necessaria affinché un monomero possa essere utilizzato in un processo di fotopolimerizzazione, è che abbia delle funzionalità reattive (tipicamente doppi legami insaturi come gruppi acrilici o metacrilici, oppure anelli epossidici) che possano dar luogo ad un processo di polimerizzazione (radicalico o cationico) tramite l'interazione delle specie propaganti ²⁷. Per scegliere i monomeri da utilizzare in una formulazione è importante considerare che i gruppi reattivi influenzano la velocità di reazione, mentre la catena principale influenza le proprietà fisico-chimiche del polimero, la resistenza, la fragilità e l'idrofilicità. I gruppi acrilati, per esempio, vengono scelti per via della loro reattività rapida, dovuta al meccanismo di polimerizzazione cui vanno incontro che è di tipo a crescita della catena, e anche all'inibizione da parte dell'ossigeno che consente, invece, una buona adesione tra gli strati di stampa. Tuttavia, questi tendono a contrarsi durante la polimerizzazione il che porta ad avere scarsa risoluzione di stampa, stress meccanici interni o persino danni agli oggetti stampati. ²⁸

I monomeri che presentano gruppi metacrilati, invece, vengono scelti perché riducono il problema legato alla contrazione perdendo, però, in velocità di polimerizzazione.

Altre tipologie di monomeri possono presentare altre tipologie di gruppi reattivi tra cui, il gruppo metacrilammide e il gruppo epossidico; quest'ultimo, a differenza dei monomeri con gruppi acrilati, va incontro a polimerizzazione cationica ²⁸.

1.2.1.2. Fotoiniziatori

I fotoiniziatori (PI) sono composti chimici che, assorbendo una certa radiazione luminosa, sono in grado di generare le specie reattive che permettono l'innesco della reazione di polimerizzazione.

La generazione delle specie reattive può avvenire secondo due meccanismi: 1) in maniera diretta, all'interno della quale ricadono i fotoiniziatori di tipo Norrish 1; 2) o con l'aiuto di un co-iniziatore, all'interno del quale ricadono i fotoiniziatori di tipo Norrish 2. I PI possono essere classificati anche in base alla specie reattiva che generano, dividendosi in radicalici e cationici. In particolare, i fotoiniziatori radicalici favoriscono il processo di fotopolimerizzazione producendo delle specie radicaliche reattive; i fotoiniziatori cationici, invece, favoriscono il processo di polimerizzazione producendo acidi che reagiscono, ad esempio, con le resine epossidiche ^{27,28}.

In commercio esistono una vasta gamma di fotoiniziatori che, in base alle loro proprietà fotochimiche, vengono attivati a diverse lunghezze d'onda (Fig 1.5) andando dall'UV, passando per la luce visibile fino ad arrivare all'infrarosso vicino (NIR). Per la scelta del fotoiniziatore da utilizzare, quindi, è importante tenere in considerazione l'emissione luminosa della stampante 3D che viene utilizzata. La maggior parte dei PI radicalici assorbe luce UV e nel visibile, il che li rende compatibili con tutte le tecniche di stampa 3D a polimerizzazione visibile come, ad esempio, la DLP che spesso utilizza luce emessa a 405 nm. Al contrario, i PI cationici richiedono fonti di luce più energetiche il che li rende adatti alla tecnologia SLA che utilizza fonti di luce a 355 nm. ²⁸

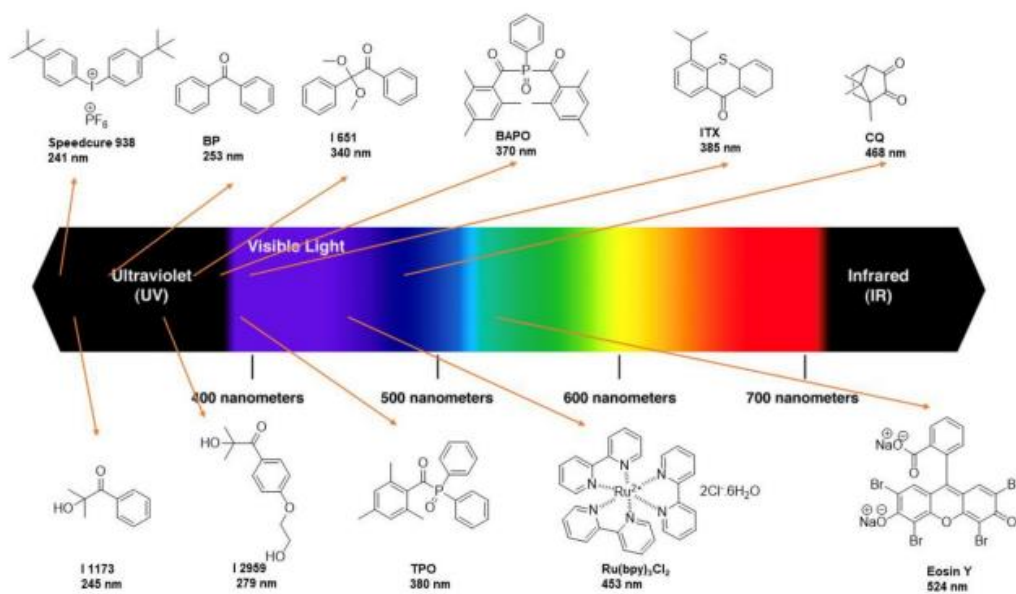


Fig 1.5 Elenco di coloranti commerciali e lunghezza d'onda di attivazione ²⁸

1.2.1.3. Coloranti

Nelle formulazioni fotopolimerizzabili, destinate alle stampanti 3D DLP e SLA, vengono spesso aggiunti coloranti; questi sono dispersi all'interno della formulazione oppure sono legati covalentemente alle catene polimeriche della resina. L'aggiunta dei coloranti nelle resine permette di migliorare alcune caratteristiche degli oggetti stampati, tra le quali la risoluzione o la resistenza meccanica, in quanto questi, assorbendo parte della radiazione incidente, permettono di controllare meglio la reazione di polimerizzazione. Inserendo il colorante, infatti, diminuisce l'intensità della radiazione che viene trasmessa (Fig 1.6) e questo fa sì che il flusso fotonico arrivi in una regione volumetrica limitata, influenzando sia in profondità che in ampiezza, permettendo di evitare fenomeni di sovra-reticolazione e, di conseguenza, migliorare la risoluzione.^{29,30}

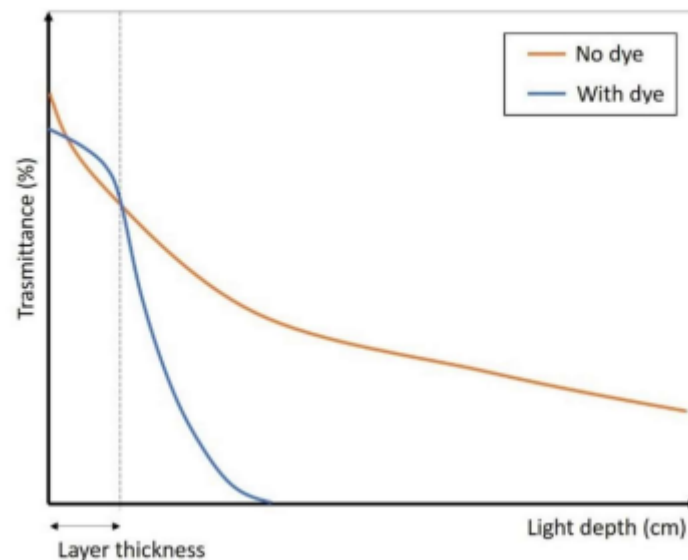


Fig 1.6 Andamento ideale della trasmissione di una radiazione incidente in funzione della profondità di penetrazione in una formulazione con (blu) e senza (giallo) un colorante come additivo²⁵

La quantità di colorante da inserire all'interno delle formulazioni viene scelta in base ad alcuni fattori, tra cui lo spettro di assorbimento e il coefficiente di estinzione molare, al fine di minimizzare l'assorbimento competitivo della luce da parte di altri elementi presenti nella formulazione come ad esempio i fotoiniziatori.

L'obiettivo finale, quindi, è quello di trovare un equilibrio nella composizione della resina in modo da garantire una buona risoluzione e una rapida polimerizzazione.²⁹

La selezione del colorante deve essere fatta considerando lo spettro di assorbimento del fotoiniziatore e, inevitabilmente, la lunghezza d'onda di emissione della stampante utilizzata.²⁸

Tra tutti i coloranti, quelli azoici rappresentano il 70% di tutti i coloranti organici prodotti a livello globale, in termini di volume di produzione. La diffusione di questi coloranti può essere attribuita

alle reazioni semplici usate per sintetizzarli, alla grande quantità di variazioni strutturali che si possono realizzare, all'alto coefficiente di estinzione molare ed anche alla tendenza a non sbiadire sia alla luce che all'umidità. I coloranti azoici, proprio per queste caratteristiche trovano applicazioni in diversi settori industriali, tra cui il settore medico, tessutale, cosmetico, alimentare e di vernici.³¹ Chimicamente i composti azoici sono rappresentati come R-N=N-R', dove il doppio legame -N=N- è il gruppo azo mentre R e R' possono essere composti arilici o alchilici.³²

La maggior parte dei coloranti azoici viene sintetizzata attraverso la diazotazione di una ammina primaria aromatica; successivamente vi è un accoppiamento con uno o più nucleofili ricchi di elettroni, tra cui ammine o idrossili.³³

Un esempio di composto azoico è l'azobenzene, composto da due anelli fenilici interconnessi dal legame azo; tuttavia, il termine azobenzene è comunemente usato per riferirsi a una vasta classe di molecole contenenti come struttura centrale la molecola di azobenzene e in più vari gruppi funzionali che si estendono dagli anelli fenilici.³⁴

La peculiarità di questi coloranti risiede nella loro capacità di subire un'isomerizzazione reversibile cis/trans, dove l'isomero trans è la forma termodinamicamente più stabile rispetto all'isomero cis, nel momento in cui questi assorbono luce UV o visibile.²⁹ La luce UV con lunghezza d'onda superiore a 400nm può essere utilizzata per convertire la forma cis nella forma trans (fig 1.7); viceversa, utilizzando la luce UV con la lunghezza d'onda compresa tra 300 e 400 nm, si può tornare alla forma cis (fig 1.7).³⁵

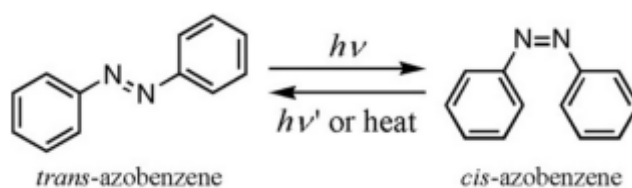


Fig 1.7 Schema della transizione trans e cis dell'azobenzene³⁵

Le caratteristiche appena descritte, unite alla possibilità di poter regolare le proprietà spettroscopiche e fotochimiche, per mezzo della scelta di opportuni sostituenti, contribuiscono a rendere questi coloranti molto duttili; trovano, infatti, molteplici applicazioni nell'ambito sia della ricerca che in quello tecnologico.

Una tipologia tipica di coloranti azo è quella definita *push-pull*. Questa tipologia di coloranti presenta la banda di assorbimento della configurazione *trans* sovrapposta alla banda di assorbimento della configurazione *cis*; quindi, irraggiando un colorante azo di tipo *push-pull* porta ad avere una isomerizzazione di tipo *trans-to-cis* e una di tipo *cis-to-trans* simultaneamente. Questo, porta ad avere difficoltà nel creare un sistema che presenta una configurazione prevalentemente di tipo *cis* dovuto proprio alla sovrapposizione delle due bande di assorbimento ³⁶. Lo spettro di emissione di un colorante azo di tipo *push-pull* viene mostrato in *figura 1.8*.

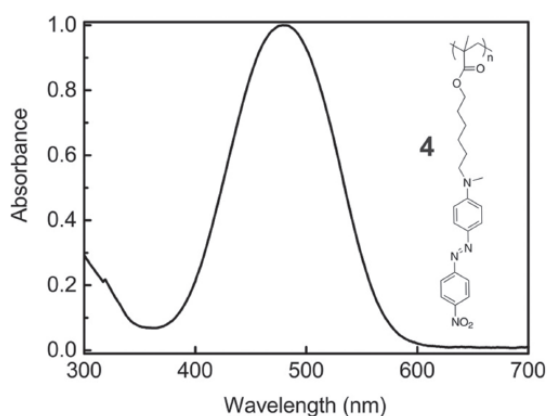


Fig 1.8 Spettro di assorbimento di un colorante azo *push-pull*³⁷

1.2.1.4. Filler

Per superare alcune limitazioni dei materiali polimerici, come ad esempio la mancanza di alcune proprietà, la strategia più utilizzata è quella di aggiungere dei riempitivi all'interno della formulazione. L'uso di questi riempitivi permette di conferire alcune proprietà specifiche come la conducibilità elettrica o termica, luminescenza, proprietà magnetiche, rigidità o proprietà antibatteriche; inoltre, questi possono migliorare l'accuratezza della stampa e ridurre la contrazione dei componenti stampati. I riempitivi possono essere divisi in riempitivi organici, tra cui polimeri naturali o polimeri sintetici, e in riempitivi inorganici, tra cui ossidi e idrossidi ($\text{Al}(\text{OH})_3$, TiO_2), sali, metalli e silicati.

La scelta dei riempitivi deve essere effettuata considerando che la resina deve poi essere stabile e omogenea senza che si verifichino fenomeni di sedimentazione o agglomerazione e, inoltre, questi non devono presentare un'eccessiva assorbanza, che possa compromettere la trasparenza della miscela, e non devono generare fenomeni di scattering. ²⁸

1.2.2 Meccanismi di polimerizzazione

Le resine fotosensibili possono essere divise in due classi, in base al meccanismo di polimerizzazione che seguono:

- 1) Polimerizzazione radicalica indotta dalla luce (le resine acriliche, ad esempio, seguono questa tipologia di polimerizzazione);³⁸
- 2) Polimerizzazione cationica indotta dalla luce (le resine epossidiche, seguono questa tipologia di polimerizzazione);³⁸

Le resine acriliche, che vanno incontro ad un meccanismo di polimerizzazione radicalica, sono tra le resine fotosensibili più utilizzate per le tecniche di stampa 3D basate sulla fotopolimerizzazione; tuttavia, queste presentano diversi problemi, tra i quali l'elevata contrazione volumetrica post fotopolimerizzazione, con conseguente riduzione della precisione di stampa e deformazione degli oggetti stampati³⁹. Per limitare l'effetto del ritiro volumetrico nasce l'interesse nei confronti delle resine epossidiche che, invece, vanno incontro ad una polimerizzazione di tipo cationica; per via della loro limitata contrazione volumetrica che avviene durante la fotopolimerizzazione risultano essere una valida alternativa alle resine acriliche⁴⁰.

Un'altra limitazione delle resine acriliche è l'inibizione da ossigeno, che non permette la completa polimerizzazione della resina, a differenza delle resine epossidiche che, invece, non risultano essere sensibili alla presenza di ossigeno atmosferico. Tuttavia, esistono diverse soluzioni che possono ridurre l'effetto di inibizione, tra cui: 1) utilizzo di una maggiore dose o intensità di luce; 2) utilizzo di una concentrazione di fotoiniziatore maggiore; 3) lavorare in ambiente inerte. Nonostante ci sia questo forte interesse nei confronti di resine che vanno incontro a polimerizzazione cationica, le resine acriliche restano ancora oggi le più utilizzate; questo per via del fatto che il processo di polimerizzazione cationico ha una velocità di reazione più lenta rispetto alla polimerizzazione radicalica³⁸.

1.3. VAT Photopolymerization

Come detto, il processo di VAT photopolymerization (VP) è una tecnologia AM basata sulla fotopolimerizzazione di resine liquide fotosensibili che una volta esposte, in maniera controllata, a radiazione o luce permettono di ottenere degli strati di materiale polimerizzato.^{39,41}

In base alle fonti di luce che colpisce la resina è possibile suddividere questo processo nelle seguenti categorie: *stereolitografia (SLA)*, *Digital Light processing (DLP)*, *Continuous light interface production (CLIP)*, *two-photon polymerization (TPP)*^{27,27,41}

Tutte queste tecniche prevedono la costruzione del componente solido attraverso la sovrapposizione di diversi strati. Inizialmente, la resina liquida viene versata all'interno di un serbatoio (VAT) e successivamente questa viene irraggiata in maniera selettiva, facendola polimerizzare e quindi convertire velocemente da un liquido ad un solido, permettendo la

costruzione di uno strato. Una volta terminata, la piattaforma di costruzione viene sollevata o abbassata di un piccolo spessore pari allo spessore di un singolo layer, permettendo la polimerizzazione di un altro strato di resina che si andrà ad unire al precedente strato.⁴²

Tra queste tecniche, la SLA e la DLP risultano essere le più versatili poiché offrono alta risoluzione e prezzi accessibili in termini di materiali e attrezzature da utilizzare. Entrambe le tecniche si basano sulla solidificazione controllata di resine liquide fotosensibili⁴³, utilizzando una sorgente di luce che viene controllata e programmata tramite un software in termini di intensità, distribuzione del campo e lunghezza d'onda⁴⁴.

1.3.1. SLA

La SLA è stata la prima tecnica di stampa 3D ad essere stata creata⁴¹. Una tipica stampante 3D SLA è formata da:

- 1) Una vasca che contiene la resina liquida;
- 2) Una piattaforma di costruzione su cui viene fabbricato l'oggetto da stampare;
- 3) Una sorgente luminosa;
- 4) Un galvanometro.

La SLA adotta un sistema di illuminazione "puntuale"⁴², attraverso il quale un raggio laser illumina la resina e la solidifica quando la scansione del fascio raggiunge la sua superficie; il laser traccia i contorni della superficie e successivamente polimerizza tutto il resto della sezione tracciata. Una volta terminata la polimerizzazione di un singolo layer, la piattaforma viene abbassata o sollevata di uno spessore pari al valore dello spessore del singolo layer e la polimerizzazione viene ripetuta strato dopo strato finché non viene ottenuto l'oggetto tridimensionale⁴⁵. Terminata la stampa è necessario un processo di post-processing che può essere diviso in 4 parti: i) rimozione del pezzo stampato dalla piattaforma di costruzione; ii) pulizia del pezzo stampato, che prevede la rimozione superficiale della resina non polimerizzata che può essere fatto tramite getti d'aria, oppure immergendo il pezzo in solventi organici come isopropanolo o etanolo; iii) vi è poi una fase di post-polimerizzazione del pezzo che avviene tramite l'utilizzo di luce UV esterna; iv) nel caso in cui fossero presenti, vi è, infine, la rimozione dei supporti di stampa.⁴⁶

In base all'orientamento della stampa e alla posizione della sorgente luminosa e alla sua direzione di proiezione è possibile distinguere due configurazioni di stampanti 3D SLA:

- 1) La configurazione *top-down* (Fig 1.9 B) prevede che la sorgente luminosa si trovi al di sopra del serbatoio. La piattaforma di crescita viene immersa nel serbatoio ad una profondità pari

allo spessore di un singolo layer che viene, quindi, polimerizzato dall'irradiazione UV proveniente dalla sorgente luminosa posizionata al di sopra. Terminata la polimerizzazione del singolo layer, la piattaforma si abbassa nuovamente ad una distanza pari alla dimensione del layer successivo permettendo così alla resina di diffondersi uniformemente; una volta che si è distribuita la resina, viene polimerizzato un nuovo layer e così via fino a quando non si ottiene l'oggetto finale. Questa configurazione presenta delle limitazioni, tra le quali:

- i) Elevato tempo di attesa affinché la resina, che viene perturbata dalla discesa della piattaforma, raggiunga l'equilibrio prima di poter procedere alla polimerizzazione del layer successivo, il che aumenta i tempi necessari per completare la stampa ²⁷.
 - ii) Rischio di non ottenere una completa polimerizzazione della resina poiché lo strato superiore è sempre a contatto con l'ossigeno; infatti, alcune resine, tra le quali le resine acriliche, possono andare incontro al processo di inibizione ossidativa, rischiando così di non ottenere una completa polimerizzazione della resina ²⁷.
 - iii) Utilizzo di una grossa quantità di resina ²⁷.
- 2) La configurazione *bottom-up* (Fig 1.9 A) prevede che il laser si trovi al di sotto del serbatoio che contiene la resina e di conseguenza la parte stampata viene costruita capovolta; il serbatoio, quindi, ha la base trasparente per permettere il passaggio della luce. Una volta stampato un layer la piattaforma di costruzione si muove verso l'alto e la resina scorre per creare uno strato liquido pronto per essere irradiato e quindi polimerizzato ⁴². La piattaforma di costruzione, quindi, viene immersa nella resina e la polimerizzazione non avverrà più all'interfaccia con l'aria; questo vuol dire che, a differenza della configurazione *top-down*, il processo di polimerizzazione è meno influenzato dall'inibizione ossidativa. Inoltre, la configurazione *bottom-up* risulta essere meno costosa rispetto alla configurazione *top-down* ⁴² e richiede l'uso di quantità di resina minori ⁴⁷. Tuttavia, questa configurazione presenta alcune limitazioni, tra cui:
- i) Ogni qual volta viene polimerizzato uno strato di materiale, la piattaforma di costruzione viene sollevata di una distanza pari allo spessore del layer; durante la fase di risalita lo strato appena polimerizzato viene staccato dal fondo del serbatoio e, se questa fase non avviene in maniera adeguata, vi è il rischio che la finitura superficiale del pezzo stampato risulti essere non adeguato. Questo limite, tuttavia,

può essere superato rivestendo il fondo del serbatoio con pellicole in teflon o silicone che favoriscono la rimozione dello strato polimerizzato ⁴⁵.

- ii) Durante la fase di risalita la parte stampata potrebbe andare incontro a rottura per via delle forze applicate durante il processo di risalita; questa limitazione obbliga la stampa di parti di piccole dimensioni ⁴².
- iii) Essendo la parte stampata capovolta questa è soggetta alla forza di gravità; spesso, quindi, è necessario inserire dei supporti che permettono di mantenere la struttura intatta e di evitare la caduta di questa. Tuttavia, questi supporti dovranno poi essere rimossi una volta terminata la stampa ⁴⁵.

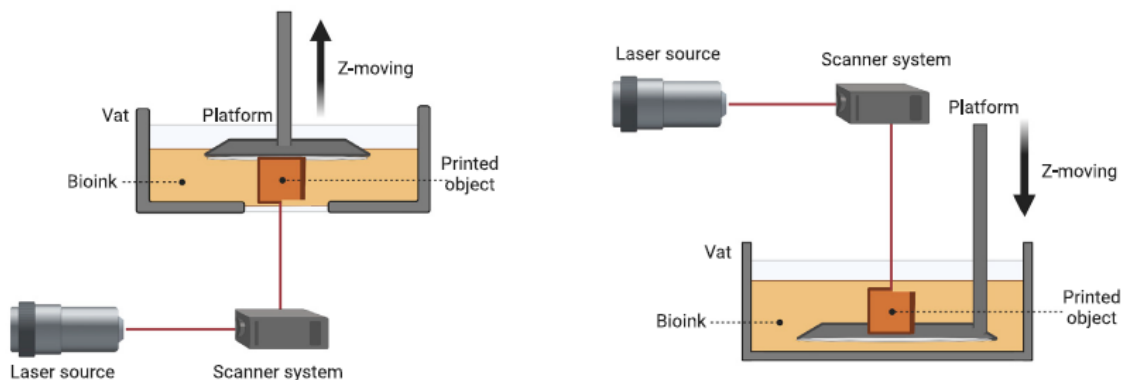


Fig 1.9 Schemi di una stampante SLA con configurazione A) bottom-up ,B) top-down ⁴⁸

In entrambe le configurazioni è necessario effettuare il post-processing, usando una lampada UV, in modo da garantire che tutti i gruppi reattivi della resina reagiscano ⁴⁷.

Tra i parametri che maggiormente influenzano l'accuratezza del macchinario troviamo lo spessore dello strato e i tempi di irradiazione, che possono dipendere da alcuni fattori come, ad esempio, dal sistema di scansione e dalla potenza e dalla lunghezza d'onda della luce incidente. Spesso si cerca di trovare un compromesso tra avere un'alta risoluzione e avere dei tempi di stampa brevi ²⁸, ad esempio, diminuendo la dimensione del layer viene migliorata la risoluzione ma aumentano di conseguenza i tempi di stampa ²⁵.

I classici valori di risoluzione che si raggiungono sono dell'ordine dei 10 μm ²⁸, mentre lo spessore del layer va dai 12 fino ai 150 μm anche se 100 μm è il valore maggiormente utilizzato; la velocità di stampa, invece, va dai 10 fino a 20 mm/h ⁴⁹.

1.3.2. DLP

La DLP è un altro tipo di stampante che si basa sulla tecnica VP che differisce dalla SLA principalmente per il metodo di irraggiamento: mentre la SLA si basa su un sistema di illuminazione puntuale utilizzando un laser che viene proiettato poi sulla resina attraverso uno specchio, la DLP

sfrutta un proiettore di luce digitale che presenta una lampada che emette luce UV o visibile ⁴². L'elemento chiave del sistema di illuminazione è il *Digital Mirror Device (DMD)* che sostituisce il sistema di proiezione del laser della SLA. DMD è un apparecchio composto da milioni di piccoli specchi che possono indipendentemente o simultaneamente essere orientati in modo da indirizzare la luce del proiettore andando così a fotopolimerizzare la resina ²⁵. Ogni piccolo specchio del DMD rappresenta un pixel dell'immagine che viene proiettata e a differenza della SLA, dove la fotopolimerizzazione avviene puntualmente, nella DLP viene proiettata l'intera sezione del layer da dover stampare ²⁶; questo implica che i tempi di stampa vengono notevolmente ridotti ⁴⁹. Così come per la SLA, anche le stampanti 3D DLP possono avere la configurazione *bottom-up* e *top-down* (Fig 1.10 A,B) ⁴⁸ con tutti i vantaggi e svantaggi precedentemente descritti.

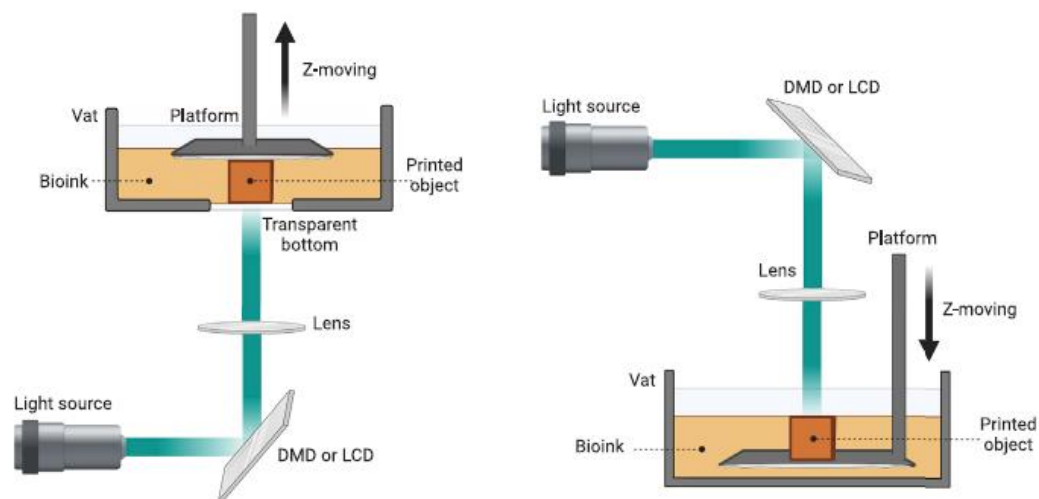


Fig 1.10 Schemi di una stampante DLP con configurazione A) *bottom-up*, B) *top-down* ⁴⁸

Generalmente le stampanti DLP possono avere una risoluzione di $25\ \mu\text{m}$ ²⁶ poiché, utilizzando un proiettore di luce digitale, ogni strato appare pixelato e l'accuratezza della parte stampata dipende molto dalla risoluzione del proiettore. La risoluzione laterale dipende dagli specchietti presenti nel DMD e si trova nell'intervallo di $10\text{-}50\ \mu\text{m}$; la velocità di stampa, infine, è dell'ordine del cm/h ⁴². Quindi, rispetto alla SLA, nella DLP si sacrifica un po' di risoluzione di stampa per ottenere, tuttavia, un notevole aumento della velocità di produzione.

In conclusione, tra i vari processi di stampa, i processi VP forniscono la risoluzione di stampa più elevata; tuttavia, vi sono alcune limitazioni legate a queste tecnologie, tra cui:

- 1) Il tempo di stampa che, nonostante venga ridotto grazie alle stampanti DLP, risulta comunque essere elevato poiché il processo di polimerizzazione richiede tempo;
- 2) La resina nel serbatoio deve essere continuamente inserita e questo aumenta ulteriormente i tempi di stampa;

- 3) Le proprietà meccaniche delle parti stampate vengono influenzate dal processo di post-processing.⁴¹

2. Idrogel

2.1. Classificazione degli idrogel

Gli idrogel rappresentano una classe di *soft materials* costituiti da catene polimeriche idrofiliche e che hanno la capacità di trattenere grandi quantità di acqua ⁵⁰. Questo è dovuto all'affinità dei polimeri usati con l'acqua, dovuta alla presenza di gruppi funzionali presenti all'interno della catena polimerica, come i gruppi idrossilici (-OH), carbossilici (-COOH), sulfonici (-SO₃H), ecc... ⁵¹. Questo network polimerico tridimensionale si crea grazie a delle connessioni tra le varie catene, chiamate *crosslink*, che avvengono tramite entanglement fisici o interazioni chimiche ⁵⁰.

Grazie alla natura idrofila e alla possibilità di utilizzare materiali biocompatibili per produrli, questi hanno attirato l'attenzione, soprattutto, in ambito biomedico come, ad esempio, il settore dell'ingegneria dei tessuti dove gli idrogel possono essere utilizzati come sostituti della matrice extracellulare al fine di garantire la rigenerazione di una vasta gamma di tessuti o organi. ⁵²

In generale, gli elementi chiave presenti in un idrogelo sono: il monomero, l'iniziatore e l'agente reticolante; regolando alcuni parametri di sintesi come la concentrazione dell'iniziatore, la concentrazione del monomero, la temperatura di reazione, il tempo di reazione e il rapporto tra agente di reticolazione e monomero è possibile modificare le caratteristiche degli idrogel ⁵⁰.

Gli idrogel possono essere classificati in base ad una serie di fattori (*Fig 2.1*), tra i quali l'origine dei componenti, la tipologia di cross-linking, la composizione, la carica del network polimeri, la configurazione della struttura, la risposta agli stimoli esterni, la durabilità ⁵³.

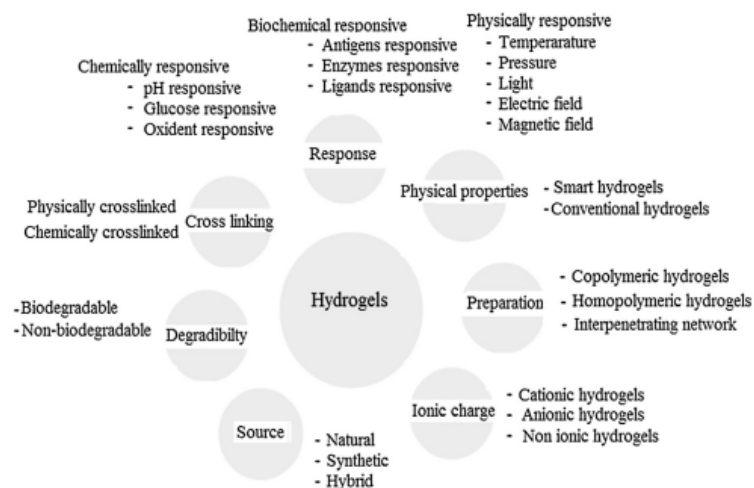


Fig 2.1 Schema riassuntivo delle diverse classificazioni degli idrogel ⁵⁴

1) *In base all'origine* si distinguono in:

- i) *Idrogel naturali*, ossia quelli preparati utilizzando materiali naturali come proteine, polisaccaridi (alginato, chitosano, ecc...);
- ii) *Idrogel sintetici*, ossia quelli preparati utilizzando materiali sintetizzati tramite polimerizzazione chimica di monomeri;
- iii) *Idrogel ibridi*, ossia quelli preparati utilizzando materiali sia naturali che sintetici ⁵¹;

Alternativamente ci possono essere altre suddivisione per gli idrogel.

2) *In base al cross-linking*, si distinguono in idrogel *fisici* e idrogel *chimici*. Gli idrogel fisici si ottengono tramite processi fisici come, ad esempio, cristallizzazione, interazioni idrofobiche ⁵¹ o attraverso interazioni fisiche, quali legami idrogeno o legami ionici; queste tipologie di interazioni non sono permanenti, per cui gli idrogel fisici sono reversibili ⁵³. Gli idrogel chimici, invece, si ottengono tramite dei processi chimici come, ad esempio, cross-linking covalente; queste interazioni sono di tipo permanente, per cui questi idrogel sono irreversibili ⁵⁴;

3) *In base alla composizione* si distinguono in:

- i) *Idrogel omopolimerici*, sono idrogel in cui le catene polimeriche che formano il network sono composte da un singolo monomero ⁵⁵ La struttura di questi idrogel dipende dalla natura del monomero, dalla tecnica utilizzata per la polimerizzazione e dal reticolante utilizzato ⁵¹;
- ii) *Idrogel copolimerici*, sono idrogel in cui le catene polimeriche che formano il network sono composte da due o più monomeri, che possono essere disposti in maniera randomica, alternata o blocchi, di cui uno deve essere idrofobico ⁵⁵;
- iii) *Idrogel multipolimerici*, anche conosciuti come *idrogel interpenetrati (IPN)*, che vengono definiti come la combinazione di due polimeri, almeno uno dei quali viene sintetizzato o reticolato in presenza dell'altro polimero già reticolato. Questa operazione viene fatta immergendo il polimero già reticolato all'interno di una soluzione del monomero dell'altro polimero e di un iniziatore di polimerizzazione; il monomero formerà una catena polimerica che interagirà con il polimero già reticolato ⁵⁶. Il vantaggio di questi idrogel è quello di poter ottenere sistemi con proprietà meccaniche più rigide e resistenti e proprietà fisiche controllabili ⁵⁴.

4) *In base alla carica*, si distinguono *idrogel neutri*, ossia quelli che non presentano carica nella catena principale o nei gruppi laterali, *idrogel ionici*, che possono essere sia cationici, se contengono cariche positive nella catena principale o nei gruppi laterali, o anioni, se

contengono, invece, cariche negative ⁵¹, *idrogel anfolitici*, ossia quelli che contengono sia gruppi acidi che basici e *idrogel zwitteronici*, ossia quelli che contengono sia gruppi anionici che cationici ⁵⁵;

- 5) *In base alla configurazione della struttura*, la classificazione fa riferimento alla struttura fisica e alla composizione chimica degli idrogel, aspetti questi per i quali si distinguono *idrogel amorfi, semicristallini e cristallini* ⁵⁵;
- 6) *In base alla risposta agli stimoli esterni*, gli idrogel possono essere suddivisi, a loro volta, in idrogel convenzionali e *smart idrogel*; questi ultimi hanno la capacità di poter variare alcune loro caratteristiche come le proprietà meccaniche, la permeabilità, la struttura del network allorché vengono sollecitati da stimoli che possono essere di tipo fisico, chimico o biochimico. Gli stimoli fisici comprendono la luce, la pressione, la temperatura, i campi elettrici e magnetici, lo stress meccanico, l'interazione con varie fonti di energie; gli stimoli chimici, invece, comprendono il pH, agenti chimici. Uno stimolo biochimico, infine, coinvolge enzimi antigeni, ligandi e altri agenti biochimici ⁵⁴;
- 7) *In base alla durabilità*, legata alle caratteristiche chimiche del monomero utilizzato per formare le catene polimeriche degli idrogel. Più specificamente, è possibile distinguere *idrogel biodegradabili*, generalmente gli idrogel naturali, per via della natura biodegradabile delle catene polimeriche che le compongono come, ad esempio, catene di chitosano, fibrina, agar; *idrogel non biodegradabili*, ossia gli idrogel che non vanno incontro a biodegradazione, per i quali spesso le catene polimeriche sono formate da monomeri sintetici ⁵⁷.

2.2. Proprietà degli idrogel

Le proprietà degli idrogel sono influenzate da diversi fattori che è possibile dividere in: 1) fattori relativi al network polimerico che dipendono dai monomeri utilizzati, dalla concentrazione, dal tipo e dalla densità di reticolazione 2) fattori ambientali, che possono essere stimoli esterni come, ad esempio, il pH, la forza ionica, la composizione del solvente e la temperatura.

2.2.1. Swelling

Lo swelling è una delle proprietà caratterizzante degli idrogel. Quando un idrogelo viene immerso in un solvente, si vengono a formare dei legami tra il materiale e il solvente; successivamente, l'idrogel è in grado di assorbire dal 10% fino a migliaia di volte il suo peso secco, provocando un aumento del volume di quest'ultimo.

Nella prima fase, le molecole del solvente penetrano nella struttura dell'idrogelo legandosi con i gruppi più polari e idrofilici; questa quantità di solvente che viene assorbita viene chiamata "acqua

primaria legata". Questa prima interazione genera un ulteriore aumento del volume dell'idrogelo che porta all'esposizione di gruppi idrofobici che, grazie alla formazioni di legami idrofobici con le molecole di solvente, permettono l'assorbimento di ulteriore solvente che, in questa fase, prende il nome di "acqua secondaria legata". Infine, una volta che tutti i gruppi idrofilici e idrofobici si sono legati con le molecole di solvente, l'idrogelo tende ad assorbire ulteriore solvente, definito come "acqua libera". Il grado di assorbimento del solvente continua finché non si raggiunge un punto di equilibrio, detto "equilibrio di swelling", in cui l'assorbimento e il rilascio di solvente sono bilanciati.

52

Vi sono una serie di fattori che influenzano il grado di swelling, tra cui:

- 1) Il grado di cross-linking è uno tra i principali fattori che influenzano il grado di swelling di idrogel; in particolare, maggiore è il grado di cross-linking minore sarà la quantità di acqua che verrà assorbita dagli idrogel poiché il cross-linking ostacola la mobilità delle catene polimeriche diminuendo così lo swelling del materiale ⁵⁸.
- 2) La presenza di gruppi idrofilici e idrofobici, quindi la struttura chimica della catena polimerica, influenzano il grado di swelling di un idrogelo; in particolare, maggiore è il numero di gruppi idrofilici presenti nella catena polimerica, maggiore sarà il grado di swelling degli idrogel.
- 3) Infine, parametri come temperatura e pH del solvente influenzano il grado di swelling ⁵³.

2.2.2. Proprietà meccaniche

Le proprietà meccaniche di un idrogelo tipicamente sono viscoelastiche, ossia hanno una componente elastica lineare di risposta a stimoli meccanici e una componente viscosa che invece porta ad una deformazione più lenta irreversibile. Il comportamento elastico degli idrogel è dovuto alle catene polimeriche che compongono il network degli idrogel e che consentono a questo di mantenere la sua forma dopo la deformazione, mentre il comportamento viscoso è dovuto alla presenza di acqua all'interno delle catene polimeriche che consente loro di fluire e cambiare forma nel tempo. ^{53,56}

Proprio per questo loro comportamento viscoelastico, la caratterizzazione meccanica degli idrogel risulta essere più complicata rispetto a quella degli altri materiali tradizionali. Alcuni parametri come la resistenza a trazione o compressione, l'allungamento percentuale alla rottura, la tenacità e il modulo di Young possono essere misurati tramite prove classiche di trazione o compressione; invece, le proprietà viscoelastiche possono essere determinate tramite delle prove meccaniche dinamiche dove un carico sinusoidale viene applicato in modalità di taglio sulla superficie degli

idrogel in modo da determinare come l'idrogelo risponde ad uno sforzo o ad uno stress che viene applicato nel tempo. Lo strumento più utilizzato per realizzare queste prove è il reometro; questi tipi di prove danno informazioni relative alle proprietà viscoelastiche del materiale come, ad esempio, lo *storage* e il *loss moduli*, il coefficiente di smorzamento e il tempo di rilassamento^{53,56,59}. Un fattore che influenza le proprietà meccaniche degli idrogel è il grado di reticolazione; variando il grado di reticolazione, infatti, si possono ottenere caratteristiche meccaniche diverse. Più specificamente, più aumenta il grado di reticolazione più l'idrogelo diventa resistente; tuttavia, un aumento del grado di reticolazione porta a diminuire l'allungamento percentuale alla rottura, il che si traduce in una struttura più fragile. Di conseguenza, esiste un grado di reticolazione ottimale che serve ad ottenere un idrogelo robusto ma elastico allo stesso tempo^{53,58}.

2.2.3. Porosità

Un'altra caratteristica degli idrogel è la *porosità*, questa intesa come una caratteristica morfologica del materiale e che può essere semplicemente descritta come la presenza di cavità vuote all'interno del volume degli idrogel. I pori possono avere diverse morfologie, possono essere chiusi, aperti o interconnessi. I pori si formano durante la fase di sintesi degli idrogel e di questi è importante andare a valutare principalmente la dimensione media, la distribuzione delle dimensioni e le interconnessioni tra loro; questi parametri, che spesso vengono riuniti nell'unico termine *tortuosità*, sono spesso difficili da quantificare e in più questi sono notevolmente influenzati dalla composizione e dalla densità di cross-linking del network polimerico degli idrogel^{53,58}.

2.2.4. Biocompatibilità

La *biocompatibilità* di un materiale, in questo caso di un idrogelo, fa riferimento alla loro capacità di poter essere inseriti all'interno di un ambiente biologico senza che questi causino reazioni avverse. La biocompatibilità è composta, a sua volta, da due componenti, ossia la biosicurezza e la biofunzionalità; affinché un idrogelo possa essere utilizzato per applicazioni biomediche, questo deve rispettare le suddette condizioni, deve quindi essere biocompatibile e non tossico. Esistono molti polimeri sintetici, che possono essere utilizzati per realizzare idrogel, che sono biocompatibili e non citotossici; tuttavia, questi, nonostante posseggano queste caratteristiche, risultano essere meno citocompatibili rispetto a materiali naturali come polisaccaridi che, quindi, vengono spesso usati per sintetizzare idrogel per applicazioni biomediche^{53,58}.

2.2.5. Biodegradabilità

La *biodegradabilità* viene definita come la degradazione degli idrogel, che avviene per mano dell'organismo, in prodotti più piccoli innocui per il corpo umano. Il processo di biodegradabilità

dipende dai gruppi funzionali presenti all'interno della catena polimerica e da come l'idrogel viene preparato.

Idrogel realizzati con polimeri idrofili, sia sintetici che naturali, possono andare incontro a biodegradazione per via idrolitica; questi, una volta che interagiscono con l'acqua rigonfiano assorbendola e, per causa di questo assorbimento, vanno incontro a degradazione di tipo idrolitica. Alcuni fattori che influenzano questa tipologia di biodegradazione sono la natura idrofilica delle catene polimeriche, il peso molecolare delle catene e poi fattori ambientali come il pH e la temperatura.

Esistono poi altri Idrogel realizzati con polimeri che non possono degradare per via di idrolisi semplici ma possono degradare attraverso idrolisi chimica.

Vi sono poi idrogel formati da polimeri naturali come, ad esempio, polisaccaridi e proteine oppure sequenze peptidiche sintetiche, che invece possono andare incontro a degradazione enzimatica^{53,58}.

2.3. Applicazioni

Considerando queste proprietà, gli idrogel risultano essere adatti per essere utilizzati, soprattutto, in ambito biomedicale, in ambito agricolo, in ambito alimentare ecc..

In ambito biomedicale, il "wound healing" rappresenta una delle principali applicazioni; infatti, grazie all'eccellente biocompatibilità, biodegradabilità, idrofilicità, comfort e funzionalità degli idrogel, questi rappresentano un'ottima soluzione per realizzare patch per assistere il processo di cura delle ferite. Inizialmente questi venivano pensati come dei semplici isolanti fisici utilizzati per creare un ambiente umido e per proteggere la ferita dall'ambiente esterno; oggi, invece, si stanno sviluppando nuovi idrogel che, oltre ad avere la funzione di barriera fisica, hanno anche capacità antibatteriche, antiossidanti e antiinfiammatori con lo scopo di ridurre il tempo di guarigione.⁶⁰ Grazie all'eccellente biocompatibilità, biodegradabilità e non tossicità gli idrogel sono tra i materiali più utilizzati per realizzare scaffold da utilizzare nell'ingegneria dei tessuti al fine di promuovere la guarigione o la sostituzione di tessuti danneggiati come il tessuto osseo, cartilagineo, nervoso e cardiaco.⁶⁰ Grazie alle proprietà meccaniche simili a quelle di alcuni tessuti e grazie alla possibilità di contenere un elevato quantitativo di acqua al loro interno, gli idrogel forniscono un ambiente simile a quello dei tessuti nativi, favorendo la proliferazione e la funzionalità cellulare.⁶¹

Un'altra importante applicazione biomedica in cui possono essere utilizzati gli idrogel è il "drug delivery". La struttura porosa degli idrogel, che può essere facilmente regolata, permette di incorporare dei farmaci che possono essere poi rilasciati in maniera controllata, in base al loro

coefficiente di diffusione, attraverso la rete polimerica che forma l'idrogel. Il farmaco può essere caricato in due modi: 1) Viene combinato con il polimero per poi essere fatto polimerizzare insieme a questo e formare, quindi, l'idrogel; 2) Una volta che viene prodotto l'idrogel, questo viene immerso all'interno della soluzione che contiene il farmaco e, grazie alla capacità dell'idrogel di poter inglobare acqua, il farmaco (che può essere anche di natura idrofilica) diffonde all'interno dell'idrogel.⁶⁰

2.4. Tecniche di produzione degli idrogel

I metodi di sintesi degli idrogel possono essere suddivisi in base a come viene ottenuto il cross-linking del network polimerico; in particolare, è possibile distinguere due grandi categorie: *cross-linking fisici* e *cross-linking chimici*⁵⁹.

2.4.1. Metodi fisici

Gli idrogel ottenuti tramite cross-linking fisici si formano attraverso delle interazioni reversibili intermolecolari come interazioni dispersive, ioniche ed elettrostatiche, legami ad idrogeno, entanglements, interazioni idrofobiche ed idrofiliche, ecc..⁶². Gli idrogel sono interessanti poiché la loro sintesi non richiede la presenza di agenti reticolanti i quali possono essere citotossici ed in più, se gli stessi non dovessero reagire durante la fase di sintesi, potrebbero poi rimanere attivi per interagire con il materiale o con l'ambiente. Inoltre, il processo di sintesi di questi idrogel risulta essere sostenibile, in quanto questi possono essere riciclati se fatti solubilizzare o sciogliere in determinate condizioni. Rimanendo poi nell'ambito biomedico, questi idrogel possono essere anche realizzati "in situ", permettendo in tal modo di poterli utilizzare come materiali iniettabili⁶³

Le interazioni ioniche/elettrostatiche si possono ottenere tramite l'interazione tra gruppi con cariche opposte. Gli idrogel formati tramite queste interazioni presentano alcune caratteristiche come, ad esempio, una buona conducibilità ionica, resistenza alla fatica, capacità di adattarsi all'ambiente in cui vengono inseriti e anche capacità di self-healing. Tuttavia, la loro applicazione su larga scala viene ostacolata da alcuni svantaggi, tra i quali le scarse proprietà meccaniche e la complessità del processo con cui questi vengono preparati⁶⁴. I complessi metallici rappresentano un altro tipo di interazione ionica. L'interazione ionica metallo-ligando può essere considerata come un particolare acido-base di Lewis, che risulta essere più forte rispetto a molte interazioni non covalenti ma, allo stesso tempo, più debole delle interazioni covalenti^{65,66}

Le interazioni idrofiliche, in particolare i legami a idrogeno, rappresentano i legami non covalenti più importanti e più forti. Gli idrogel formati tramite legami a idrogeno, tuttavia, non presentano una buona resistenza meccanica; quindi, è necessario sfruttare, oltre ai legami a idrogeno, altre

tipologie di interazioni idrofiliche come, ad esempio, interazioni tra gruppi ammidici, carbossilici, idrossilici, ecc..

Le interazioni idrofobiche, invece, si hanno quando nelle catene polimeriche che formano gli idrogel sono presenti, sia nella catena principale che nelle catene laterali, gruppi idrofobici che quando si trovano in ambiente acquoso si assemblano formando delle micelle che espongono le parti idrofiliche verso l'esterno in contatto con il solvente. Le interazioni idrofobiche vengono spesso guidate termicamente o indotte da trattamenti ultrasonici; ad esempio, vi sono alcuni polimeri, più nello specifico si tratta di copolimeri costituiti da blocchi di parte idrofilica e blocchi di parti idrofobiche, che se vengono immersi in ambiente acquoso formano delle micelle e a determinate temperature, possono legarsi tra loro, formando così un idrogelo. In quest'ultimo caso sono definiti idrogel termoresponsivi e si possono individuare due tipologie di polimeri: polimeri che presentano una temperatura critica di soluzione inferiore (LCST) e polimeri che presentano la temperatura critica di soluzione superiore (UCST). Nel primo caso, la transizione sol-gel si ha nel momento in cui viene aumentata la temperatura; partendo da temperatura ambiente la soluzione è in forma liquida e le micelle non sono legate fra loro, mentre superando la LCST il polimero diventa immiscibile nel solvente e, precipitando, si forma così l'idrogelo. Nel secondo caso, invece, la transizione sol gel si ha nel momento in cui si abbassa la temperatura al di sotto della UCST; al di sopra della UCST il polimero è sciolto nel solvente e le micelle polimeriche non sono legate tra loro, mentre abbassando la temperatura il polimero diventa immiscibile nel solvente e precipitando si viene a formare l'idrogelo ⁶⁷

2.4.2. Metodi chimici

Gli idrogel chimicamente reticolati, a differenza di quelli fisicamente reticolati, offrono una serie di vantaggi in termini di controllabilità di alcune proprietà e funzionalità; quest'ultimi, inoltre, offrono dei vantaggi in termini di semplicità di realizzazione e mancanza di agenti reticolanti o modifiche chimiche.

Tuttavia, scegliendo degli specifici agenti reticolanti o effettuando certe modifiche chimiche, è possibile regolare alcune proprietà come, ad esempio, il tempo di gelificazione, la dimensione dei pori o altre proprietà, riuscendo, così, a personalizzare gli idrogel ottenendo delle caratteristiche desiderate in base all'applicazione per cui questo è previsto. La reticolazione chimica, inoltre, impedisce che l'idrogelo si dissolva quando viene esposto in ambiente acquoso, garantendo così la sua stabilità e funzionalità nel tempo.

La reticolazione chimica utilizza legami covalenti tra le catene polimeriche e la reticolazione può avvenire aggiungendo piccole molecole reticolanti, agenti fotosensibili o mediante delle reazioni catalizzate da enzimi ⁶⁸.

Tra le metodologie di reticolazione chimica più comunemente utilizzate per realizzare idrogel si trovano: la reticolazione indotta da enzimi, la polimerizzazione radicale libera, nell'ambito della quale la fotoreticolazione è la più comune e le reazioni di "*click chemistry*".

Tramite la reticolazione indotta da enzimi è possibile controllare la cinetica di reticolazione in situ controllando, ad esempio, la concentrazione degli enzimi. I vantaggi relativi a questa metodologia sono la forza del legame covalente che si viene a creare ed in più la velocità di gelificazione, sempre entro i 10 minuti, che avviene, inoltre, in condizioni fisiologiche. Esistono diversi metodi di reticolazione enzimatico; tra i più comuni vi è il legame catalizzato dalla transglutaminasi che, insieme agli ioni calcio che agiscono da co-fattori, favorisce la formazione di legami ammidici tra gruppi carbossilici e amminici ⁶².

Un'altra tipologia di idrogel ottenuti tramite reticolazione chimica riguarda quelli realizzati attraverso la fotopolimerizzazione. Tra le varie metodologie appena descritte la fotopolimerizzazione, già discussa nel capitolo precedente, rappresenta una tra le più utilizzate, per la realizzazione di idrogel, in relazione ai seguenti aspetti: 1) la reazione è insensibile alla presenza di acqua, quindi, può essere effettuata in ambiente acquoso; 2) è un processo molto rapido e permette di realizzare idrogel in pochi secondi o minuti; 3) è possibile controllare spazialmente e temporalmente il processo di reticolazione, soprattutto se la fotopolimerizzazione avviene utilizzando tecniche di stampa 3D come la stereolitografia o il bioprinting; 4) operando in condizioni ottimali, gli idrogel ottenuti tramite fotopolimerizzazione possono essere poco citotossici risultando essere, quindi, poco dannosi per la sopravvivenza e la proliferazione cellulare ⁶⁹

La fotopolimerizzazione è legata alla presenza di gruppi insaturi; nella maggior parte dei casi si tratta di gruppi metacrilati che, quando vengono esposti all'irradiazione luminosa, risultano essere altamente reattivi e favoriscono la polimerizzazione a catena di radicali liberi. È necessario, quindi, modificare le macromolecole dei polimeri usati per la formazione di idrogel inserendo gruppi fotopolimerizzabili. Tra questi, ad esempio, troviamo la gelatina metacrilata (GelMA) o altri polisaccaridi, come l'acido ialuronico ^{62,70}

Un'altra tipologia di reticolazione chimica è quella che racchiude una serie di reazioni chimiche che prendono il nome di "*click chemistry*"; questa è caratterizzata da un'alta velocità di reazione, elevata selettività, condizioni di reazione semplici e dalla quasi assenza di prodotti di scarto. La click

chemistry viene ampiamente utilizzata nel campo della preparazione degli idrogel poiché permette di utilizzare diverse strategie di sintesi in modo da poter modulare le proprietà fisiche e chimiche di questi ultimi.

La click chemistry, quindi, raccoglie una serie di reazioni che hanno tutte caratteristiche simili, tra cui la reazione di Diels-Alder, la formazione di basi di Schiff, la reticolazione con formazione di ossima e la reazione di Michael ⁷¹.

3. Self-healing.

Nel secondo capitolo sono state descritte le strategie di preparazione degli idrogel - realizzati tramite una serie di interazioni chimiche o fisiche - i quali presentano delle caratteristiche peculiari tra cui la capacità di risposta a stimoli esterni, la biomimetività, la biocompatibilità e proprietà fisico/chimiche regolabili e anche reversibili, tra cui, la capacità di self-healing.

In questo capitolo viene discusso il meccanismo e la chimica del processo di self-healing.

Gli sforzi meccanici a cui gli idrogel vengono sottoposti e anche l'ambiente, principalmente il corpo umano, in cui questi vengono inseriti, fanno sì che la loro integrità strutturale e funzionale possa venire compromessa, rendendoli così inutilizzabili per il loro scopo. Per superare queste limitazioni nasce la necessità di progettare materiali che presentino la capacità di autoripararsi una volta che subiscono un danno; questo processo prende il nome di self-healing. In questo ambito è bene specificare che la riparazione può essere autonoma come no.

Il processo di self-healing si basa sull'equilibrio dinamico delle interazioni tra le catene polimeriche e questo processo è caratterizzato principalmente da due aspetti:

- 1) il ripristino della micro e macrostruttura (sia morfologica che topografica);
- 2) il recupero delle proprietà meccaniche e reologiche.⁷²

Per assicurare che il processo di autoriparazione di un sistema sia efficace, bisogna considerare tre fattori importanti: la localizzazione, la temporalità, la mobilità.

- La localizzazione fa riferimento alla posizione e alla dimensione del danno subito dagli idrogel. Il danno, infatti, può essere di tipo superficiale, che comprende graffi, micro-crepe o tagli, oppure può essere profondo, ossia una propagazione del danno superficiale, che implichi il disentanglement o la rottura delle catene del network polimerici. Non tutti i meccanismi di autoriparazione sono adatti ai tipi di danni che un sistema può subire; infatti, è necessario prevedere il danno a cui può andare incontro il sistema in base all'applicazione prevista.⁷³
- La temporalità è determinata dalla distanza di tempo che vi è tra quando avviene la rottura dell'idrogelo fino a quando questo non si ripara. È importante che questo lasso di tempo sia il più breve possibile e, per fare ciò, si tende a creare dei sistemi che abbiano una grande mobilità delle catene.⁷³
- La mobilità, infine, favorisce la diffusione sia delle catene polimeriche che degli agenti di riparazione nell'area danneggiata, favorendo, così, la riformazione dei legami.⁷³

Esistono diversi metodi sperimentali per caratterizzare il comportamento autoriparante di un idrogel: Il metodo visivo, test di reologia, test di compressione o trazione ciclica.⁷⁴

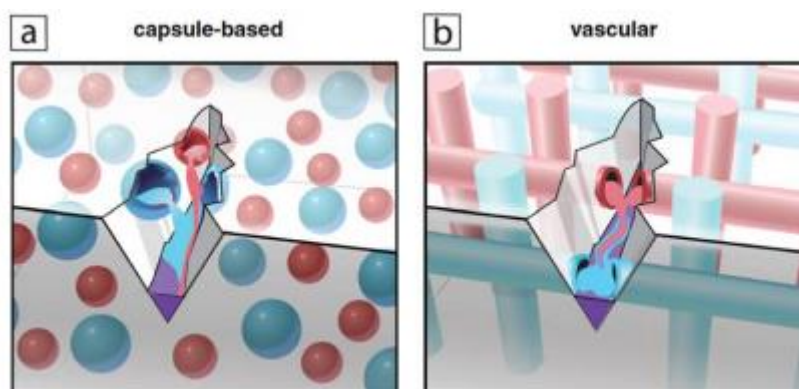
3.1. Meccanismi di self-healing

In generale i materiali autoriparanti possono essere suddivisi, principalmente, in due gruppi distinti: quelli basati su un meccanismo di autoriparazione estrinseca e quelli basati su un meccanismo di autoriparazione intrinseca. I due meccanismi vengono di seguito discussi, ponendo maggiore attenzione al meccanismo di autoriparazione intrinseca.³⁶

3.1.1. Meccanismo di autoriparazione estrinseca

Nei sistemi basati su un meccanismo di autoriparazione estrinseca gli agenti di riparazione, che possono essere monomeri non reattivi, solventi o polimeri che hanno una bassa temperatura di transizione vetrosa, vengono inseriti all'interno di alcuni serbatoi, che possono avere una configurazione a sfera (*fig 3.1 A*) o una configurazione a base di vasi (*fig 3.1 B*), che vengono dispersi all'interno della matrice polimerica dell'idrogel.⁷⁵

Quando il materiale viene sottoposto a sforzi meccanici questo può subire un danno che si traduce in una formazione e una conseguente propagazione di crepe. Queste ultime, se dovessero raggiungere i serbatoi che contengono gli agenti di riparazione causerebbero il rilascio di questi agenti che andranno poi a riparare la frattura. Sebbene il meccanismo di autoriparazione risulti essere estremamente efficiente, anche nel caso di ripristino di ampie porzioni di materiali, questo presenta una grossa limitazione, ossia che il ripristino di una frattura può essere ottenuto solo una volta nello stesso punto.



*Fig 3.1 Meccanismo di autoriparazione estrinseca secondo una configurazione A) a sfera ,B) vascolare*⁷⁵

3.1.2. Meccanismo di autoriparazione intrinseca

Nei sistemi basati su un meccanismo di autoriparazione intrinseca (*fig 3.2*), invece, il processo di self-healing si basa sul ripristino di legami reversibili. Le strategie di autoriparazione intrinseca risultano essere più versatili rispetto a quella estrinseca ed inoltre uno dei principali vantaggi di

questo meccanismo è quello di permettere processi di riparazione multipli ; quest'ultimi, tuttavia, sono limitati soltanto a piccole zone di danni localizzati. ^{36,73}

In generale, il processo di autoriparazione intrinseca si basa inizialmente sull'interdiffusione che avviene tra le superfici rotte del materiale; questo avviene principalmente per questioni termodinamiche. La mobilità delle catene polimeriche dipende da alcuni fattori come la natura chimica delle catene, la struttura e il peso molecolare e questo viene anche innescato da alcuni stimoli esterni come la temperatura, la luce, il pH, ecc... ³⁶ In generale questa parte è favorita in un idrogel rispetto al resto dei materiali polimerici in quanto le catene sono immerse in un solvente (acqua).

Un'altra problematica di questi sistemi è il tempo di autoriparazione, in particolare, affinché si abbia una riparazione efficace dopo la rottura, è necessario che le superfici vengano messe subito a contatto perché altrimenti i gruppi idrofilici delle catene polimeriche, se esposte all'aria, vengono presto sostituiti da gruppi idrofobici e questa sostituzione porta alla formazione di una sorta di barriera che impedisce l'interdiffusione delle catene rendendo, in questo modo, più complicato il processo di autoriparazione. Inoltre, se il tempo di contatto tra le superfici dovesse essere eccessivamente lungo l'autoriparazione potrebbe non avvenire a causa dell'evaporazione del solvente. ³⁶

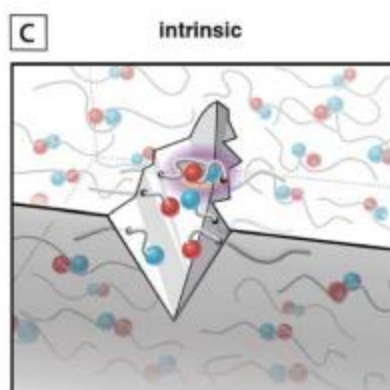


Fig 3.2 Meccanismo di autoriparazione intrinseca ⁷⁵

I meccanismi intrinseci si basano su legami reversibili sia di tipo fisici, attraverso interazioni supramolecolari, sia di tipo chimici, che comprendono legami covalenti dinamici.

Gli idrogel realizzati tramite interazioni supramolecolari mostrano la capacità di potersi autoriparare spontaneamente a differenza di quelli realizzati tramite cross-linking chimici che, invece, hanno bisogno di stimoli esterni affinché questi possano autoripararsi; tuttavia, quest'ultimi mostrano proprietà meccaniche migliori rispetto ai primi. Queste due caratteristiche, ossia la capacità di

autoripararsi senza la presenza di stimoli e le elevate proprietà meccaniche, sono dei requisiti molto importanti da rispettare, soprattutto se gli idrogel sono pensati per essere utilizzati in ambiente biologico.⁷⁶

In figura 3.3 vengono riassunti i diversi tipi di legame divisi in interazioni supramolecolari non covalenti e interazioni covalenti dinamiche.

Di seguito questi legami vengono descritti molto brevemente e considerando che in questo lavoro di tesi è stato utilizzato il legame estere di boronato per conferire proprietà di self-healing all'idrogelo prodotto, solo questo verrà illustrato nel dettaglio.

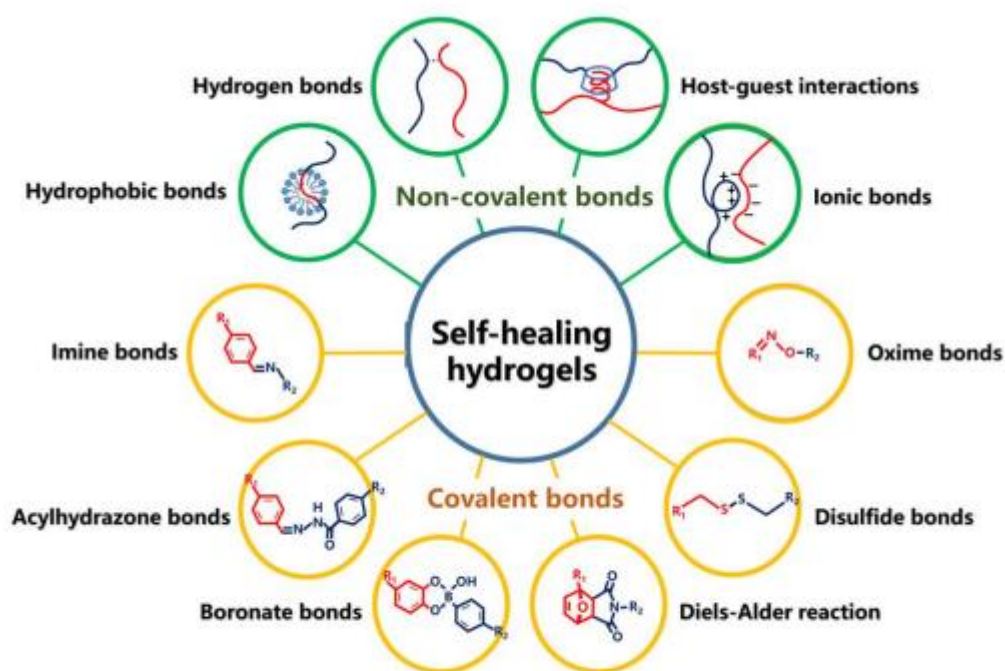


Fig 3.3 Schema riassuntivo dei meccanismi intrinseci di autoriparazione suddivisi in interazioni supramolecolari (in verde) e legami covalenti dinamici (in giallo)⁷²

3.2. Interazioni supramolecolari

3.2.1. Legame a idrogeno

Tra le strategie per realizzare idrogel che si autoriparano tramite interazioni non covalenti, l'uso dei legami a idrogeno rappresenta quella più utilizzata.⁷⁷

Il legame a idrogeno si forma quando un atomo di idrogeno interagisce direttamente con un atomo altamente elettronegativo come ossigeno, azoto e fluoro. Questi legami si formano molto facilmente e possono mostrare diverse proprietà in base alla temperatura e al pH risultando essere,

quindi, reversibili; questa caratteristica fa sì che gli idrogel realizzati tramite questi legami possano ripararsi autonomamente. ^{78,79}

3.2.2. Legame idrofobici

I legami idrofobici sono interazioni reversibili non covalenti che si verificano tra gruppi idrofobici non polari e risultano essere più forti rispetto ai legami idrogeno. Quando le catene polimeriche che contengono monomeri idrofobici si uniscono formano un network polimerico che può facilmente autoripararsi quando viene rotto. ⁷²

3.2.3. Legami ionici

La migrazione di ioni liberi verso le zone in cui è avvenuta la rottura della catena polimerica fa sì che questi si leghino tra loro, tramite dei legami ionici, causando quindi la riparazione. ⁸⁰

3.2.4. Host-Guest interaction

In un'interazione di tipo "host-guest" vi è l'inserimento fisico di un componente, detto ospite, all'interno della cavità di un altro componente detto ospitante; la loro unione avviene tramite legami non covalenti. Poiché quest'interazione è mantenuta da legami non covalenti, come legami idrogeno, ionici, idrofobiche e di van der Waals, la reticolazione è di tipo reversibile riuscendo a conferire, quindi, capacità di autoriparazione. ^{78,79}

3.3. Interazioni covalenti dinamiche

3.3.1. Legami imminici

Il legame imminico (fig 3.4) è un tipo di legame covalente dinamico che si ottiene tramite la condensazione di un gruppo amminico con un gruppo aldeidico o chetonico. Questa tipologia di legame conferisce capacità di autoriparazione agli idrogel in quanto può rompersi e rigenerarsi frequentemente all'interno del network polimerico; inoltre, è uno dei pochi legami covalenti dinamici che si può ottenere senza la necessità di stimoli esterni. ⁸¹



Fig 3.4 Schema della formazione del legame imminico ⁷⁹

3.3.2. Idrazoni

La formazione degli idrazoni (Fig 3.5) avviene mediante una reazione di condensazione rapida tra l'idrazina o l'idrazide e un'aldeide o un chetone. Il legame che porta alla formazione degli idrazoni risulta essere più stabile rispetto ai legami imminici; inoltre, grazie alla loro sensibilità agli stimoli esterni, come il pH, e alla loro rapida riformazione in condizioni fisiologiche, generano degli idrogel che vengono spesso utilizzati in ambito biologico. ³⁶



Fig 3.5 Schema della formazione degli idrazoni⁷⁹

3.3.3. Reazione Diels-Alder

La reazione di Diels-Alder (DA) (fig 3.6) viene considerata come la reazione migliore per realizzare idrogel con proprietà di self-healing; questo perché è una reazione molto veloce, che avviene in ambiente acquoso, con un'efficienza notevole, una migliore selettività e soprattutto per l'assenza di sottoprodotti indesiderati.⁸²

La reazione avviene tra un diene ricco di elettroni (spesso il gruppo funzionale utilizzato è il furano) e un dienofilo povero di elettroni (spesso i gruppi funzionali utilizzati sono alcheni o alchini). I legami che si formano sono termoresponsivi in quanto possono essere rotti se viene aumentata la temperatura, provocando il "decross-linking" a temperature elevate, aumentando così la mobilità del sistema. Una volta che viene abbassata la temperatura, le unità funzionali si riconnettono formando nuovamente il legame. Questa termoresponsività del legame fa sì che questi idrogel abbiano capacità di autoripararsi.³⁶



Fig 3.6 Schema della reazione di DA⁷⁹

3.3.4. Ossime

La formazione di ossime (Fig 3.7) avviene attraverso una reazione di condensazione tra l'idrossilammina e i gruppi aldeici o chetonici. La formazione delle ossime risulta essere un metodo ideale per la realizzazione di idrogel autoriparanti in quanto presenta alcuni vantaggi, tra cui l'elevata efficienza di reazione, una condizione di reazione moderata, assenza di sottoprodotti dannosi e anche una maggiore stabilità, nei confronti della degradazione idrolitica, rispetto ai legami imminici; questa maggiore stabilità risulta in una diminuzione della mobilità della rete degli idrogel fornendo migliori proprietà meccaniche ma una minore tendenza all'autoriparazione.^{36,83}



Fig 3.7 Schema della formazione delle ossime⁷⁹

3.3.5. Legami Disolfuro

I legami disolfuro (Fig 3.8) si basano sulla reazione di scambio tra disolfuri e tioli che avviene in un ambiente neutro o alcalino.⁸² Il meccanismo si basa sulla sostituzione nucleofila condotta dall'atomo di zolfo presente nel tiolo che scinde un legame S-S e ne genera uno nuovo formando, poi, un gruppo tiolo libero.³⁶ Il processo di autoriparazione nei materiali basati sui legami disolfuro coinvolge la rottura e la ricostruzione reversibile dei legami disolfuro in risposta a stimoli esterni. Quando il materiale subisce danni o stress, come crepe o fratture, i legami disolfuro subiscono una rottura, con la conseguente formazione di tioli liberi (gruppi SH). Questi gruppi tiolo reattivi possono, quindi, interagire con altri legami disolfuro presenti nel materiale o con molecole contenenti gruppi tiolo, facilitando la rigenerazione dei legami precedentemente rotti.



Fig 3.8 Schema della formazione di ponti disolfuro⁷⁹

3.4. Legame estere di boronato

I legami estere di boronato si ottengono tramite una reazione di condensazione tra derivati dell'acido boronico con 1,2- e 1,3- dioli o acidi carbossilici in soluzione acquosa (fig 3.4).

L'equilibrio dinamico del legame, quindi la sua reversibilità, può essere influenzato da diversi fattori, tra cui il pH, il calore, l'ambiente acquoso o alcune biomolecole. Proprio per questa proprietà il legame estere di boronato viene ampiamente utilizzato per la realizzazione di materiali autoriparanti, piuttosto che materiali per la somministrazione di farmaci o sensori in grado di rilevare in maniera selettiva biomolecole all'interno di un liquido.⁷⁹

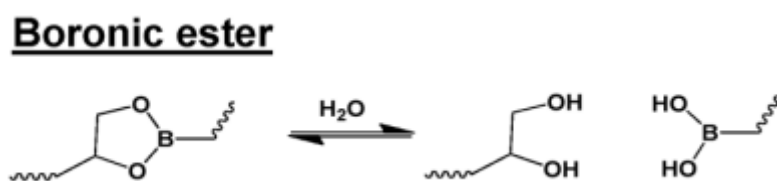


Fig 3.4 Formazione del legame estere di boronato⁸⁴

La stabilità del legame dipende principalmente dal pH, infatti, quando il valore del pH è superiore alla pKa sia dell'acido boronico che del diolo, o acido carbossilico, il legame estere boronato risulta essere stabile; di solito si raggiunge questa situazione in ambienti alcalini. Quando il valore di pH scende al di sotto della pKa degli elementi prima citati, invece, l'atomo di boro diventa suscettibile all'attacco di un reagente nucleofilo, come l'acqua, determinando l'idrolisi del legame.⁸⁵

Diversi sono i lavori che si trovano in letteratura, tra i quali vengono riportati i seguenti.

Il gruppo di Messersmith ⁸⁶ ha realizzato un idrogelo a base di legami estere di boronato composto da un cPEG e da acido 1,3-benzenediborico (BDBA) in soluzione tampone fosfato salino (PBS) a 20° C e a pH alcalino. Nel lavoro si vede che, dopo la rottura, a pH 9 l'idrogelo può recuperare quasi completamente le sue proprietà meccaniche in pochi secondi; viene, inoltre, visto che passando ad un pH neutro fino ad arrivare a un pH acido (pH 3), l'idrogelo passa progressivamente da uno stato di gel a uno stato sol. Questi risultati dimostrano come gli idrogel basati su questi legami siano fortemente influenzati dalle variazioni di pH. ⁸⁷

Il gruppo di Amaral ⁸⁸, ha realizzato un idrogelo a base di β -glucano laminarina funzionalizzato con gruppi di acido fenilboronico e catene di PVA che, reagendo con i gruppi di acido fenilboronico, permette la reticolazione dell'idrogelo in condizioni fisiologiche in pochi secondi. Diversi test effettuati su questi idrogel hanno dimostrato una rapida capacità di autoriparazione.

Accardo e Kalow ⁸⁹, hanno realizzato un idrogelo a base di un tetramero di PEG, contenente gruppi ossidrilici, e coloranti azoici funzionalizzati con acido boronico. In questo lavoro sono state utilizzate diverse lunghezze d'onda per ottenere il cambio di configurazione del colorante azoico, da trans a cis, favorendo, in questo modo, l'interazione tra l'acido boronico e i gruppi ossidrilici presenti nelle catene di PEG. L'idrogelo ottenuto, presenta capacità di self-healing indotto dalla luce. ³⁶

4. Materiali e metodi

4.1. Materiali

Le reazioni di metacrilazione del PVA e della sintesi del colorante sono state realizzate in collaborazione con il Dott. Matteo Gastaldi del Politecnico di Torino e grazie al supporto della Prof.ssa Claudia Barolo dell'Università di Torino. In questo ambito, gli esperimenti sono stati condotti presso le strutture del NIS (Nanomaterials for Industry and Sustainability) dell'Università di Torino.

I materiali utilizzati sono stati: Polivinilalcol (PVA) con un peso molecolare nel range di 13000-23000 g/mol e 98% di idratazione, dimetilsulfossido (DMSO), toluene, acetone, glicidil metacrilato (GMA), Water-soluble TPO based nanoparticle come fotoiniziatore, Disperse Red 1 (DR1), Disperse Red 1 metacrilato (DR1-MA), 2-(Ethyl(4-((4-nitrophenyl)diazenyl)phenylboronic acid)amino)ethyl methacrylate (APAM).

4.1.1. Metacrilazione PVA

La metacrilazione del PVA è stata effettuata secondo il metodo descritto da Zhou e il suo gruppo⁹⁰. 10 g di PVA sono stati dissolti in 200 ml di DMSO a 60°C. Dopodiché è stato aggiunto alla soluzione 4-dimetilamminopiridina (1% mol rispetto al gruppo ossidrilico del PVA), fino a quando la soluzione non diventa trasparente. Successivamente il GMA è stato aggiunto goccia a goccia alla soluzione e la miscela è stata lasciata reagire in agitazione magnetica costante per 6h a 60°C a 300 rpm. La soluzione è stata poi purificata in 500ml di toluene, in modo da stoppare la reazione, estrarre il DMSO dalla soluzione per precipitazione e per rimuovere il GMA e il catalizzatore non reagiti. È stato poi separato il liquido dal materiale depositato, facendolo poi nuovamente precipitare in acetone per un'ulteriore pulizia. L'acetone è stato poi rimosso tramite un evaporatore rotante e la polvere finale è stata raccolta, essiccata sottovuoto e conservata a -5°C. In figura 4.1 viene mostrata la reazione

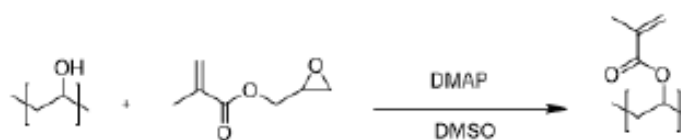


Fig 4.1 Reazione di metacrilazione del PVA

4.1.2. Sintesi del colorante

La sintesi viene sinteticamente mostrata in figura 4.2

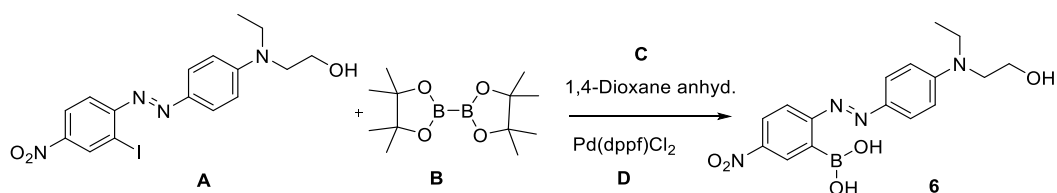


Fig 4.2 Sintesi del colorante azo funzionalizzato con acido boronico

La reazione è stata condotta in condizioni inerti, degassificando la vetreria con argon. 1g di A è stato messo aggiunto ad 1,15g di B e 0,150g di D in un vial. Successivamente il vial è stato sigillato e sono stati aggiunti 20ml di C con una siringa. Il vial viene poi messo in un bagno di olio finché non raggiunge i 95°C e la reazione è stata lasciata reagire per 6 ore e messa in agitazione tramite un agitatore magnetico. Terminata questa fase la miscela è stata filtrata e il solvente è stato fatto evaporare sotto pressione. Il prodotto è stato poi purificato tramite cromatografia flash.

Segue poi la metacrilazione del prodotto 6, secondo la reazione sintetizzata in figura 4.3

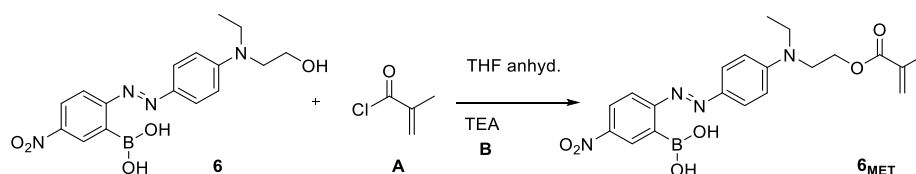


Fig 4.3 Metacrilazione del colorante azo boronico (APAM)

Anche in questo caso si è lavorato in condizioni inerti. 100 mg di prodotto 6 è stato disciolto in 10 mL di THF anidico; 32 mg di A e 34 mg di B sono poi stati aggiunti. La reazione è stata mantenuta overnight.

La soluzione finale è stata poi filtrata, il solvente rimosso sotto pressione, mantenendo una temperatura inferiore a 30°C. Il prodotto solido finale è stato poi disciolto in Etil Acetato e lavato poi con acqua. Il solvente è stato fatto evaporare sotto pressione ottenendo, alla fine, una polvere rossa, cioè il colorante APAM, con una resa del 92%.

4.1.3. Realizzazione delle formulazioni

Per la parte sperimentale sono state impiegate tre diverse formulazioni:

- 1) Una formulazione contenente PVA-MA e il colorante APAM;
- 2) Una formulazione contenente PVA-MA e il colorante Disperse Red 1 metacrilato (DR1);
- 3) Una formulazione contenente PVA-MA.

Per la realizzazione delle formulazioni si è seguita la seguente procedura:

- 1) In una provetta viene inserito 1g di PVA-MA in 10 ml di acqua deionizzata; il monomero viene fatto sciogliere tramite agitazione magnetica, alla velocità di 300 rpm, a temperatura ambiente finché la soluzione diventa omogenea senza alcun residuo.

2) Viene preparata a parte una soluzione 1% w/V di colorante in DMSO (in caso sia presente) a cui viene aggiunto 10% w/w di TPO;

3) Le due soluzioni vengono unite e lasciate poi omogeneizzare tramite l'agitatore magnetico.

L'obiettivo è stato quello di capire principalmente se il processo di autoriparazione fosse dovuto alla sola presenza dell'acido boronico, presente nella catena del colorante APAM, piuttosto che ad altri fattori come, ad esempio, l'uso di un qualsiasi colorante azoico (in questo caso il DR1-MA) o semplicemente la catena polimerica del PVA-MA.

Inoltre, durante l'intero lavoro di tesi sono state prese in esame tutte e 3 le formulazioni per verificare come la presenza del colorante APAM influisce la cinetica di polimerizzazione della resina, le proprietà meccaniche e la risoluzione di stampa dell'idrogelo.

4.2. Ottenimento campioni

4.2.1. Fotopolimerizzazione tramite lampada UV

I campioni realizzati durante la prima fase di sperimentazione sono stati ottenuti utilizzando degli stampi in silicone di forma rettangolare con lo spessore di 0,2 mm e uno stampo cilindrico in plastica.

La reticolazione è stata indotta utilizzando la lampada UV Hamamatsu LC8, irraggiando per 60s.

La sorgente luminosa è stata posta a 10 cm dalla superficie dello stampo e l'intensità della lampada è stata impostata al 60%, con un'intensità di 25 mW/cm², misurato con un radiometro UV EIT Power Puck II. Per evitare di incorrere a fenomeni di inibizione da ossigeno, sopra lo stampo in silicone è stato appoggiato un vetrino da laboratorio.

4.2.2. Stampa 3D

Per la fase di stampa è stata utilizzata la stampante Asiga MAX UVX27, prodotta dall'azienda Asiga (*Fig 4.4*). Questa è una stampante di tipo DLP e presenta una sorgente luminosa LED che emette luce ad una lunghezza d'onda di 385nm. I pixel sono caratterizzati da una risoluzione di 27 μm sul piano xy, mentre lungo il piano z la risoluzione è di 1-500 μm.

La superficie della piattaforma di costruzione è di 51,8 x 29,2 mm² e l'altezza massima degli oggetti da stampare è pari a 75 mm ⁹¹



Fig 4.4 Stampante MAX UVX27⁹¹

La configurazione della stampante è di tipo *bottom-up*, quindi, il movimento verticale della piattaforma avviene dal basso verso l'alto e il campione viene stampato capovolto.

I principali parametri che possono essere modificati, rispetto ai parametri standard imposti dal software Asiga Composer, sono:

- Spessore del layer;
- Intensità della luce;
- Tempo di irraggiamento.

Le fasi di stampa possono essere suddivise nel seguente modo:

- 1) Vi è la prima fase, definita fase di approccio, in cui la piattaforma viene fatta avvicinare alla vasca, fino ad una distanza pari allo spessore del layer indicato durante la fase di selezione dei parametri di stampa, dove è già presente la resina;
- 2) Una volta terminata la prima fase, inizia la cosiddetta fase di irraggiamento, che prevede l'accensione della luce LED che va ad irraggiare la resina per il tempo di irraggiamento selezionato;
- 3) Terminata questa fase avviene la fase di allontanamento, che prevede l'allontanamento della piattaforma dalla vaschetta per permettere la formazione di uno strato continuo di resina liquida, per poi ricominciare con una nuova fase di approccio.

Oltre ai parametri precedentemente indicati, in specifiche occasioni è possibile variare altri parametri, tra cui la velocità del movimento della piattaforma durante la fase di approccio o di allontanamento, oppure, l'aumento dei tempi di attesa, tra un fase e l'altra del processo di stampa del singolo layer, per limitare la formazione di bolle all'interno delle formulazioni che porterebbero

alla presenza di difetti interni nei campioni stampati. Si può inoltre variare la temperatura fino a un massimo di 50°C.

Per favorire l'adesione del materiale reticolato alla piattaforma, solitamente gli strati iniziali, definiti *burn in*, vengono realizzati con tempi di irraggiamento o intensità superiori, differenziando questi parametri da quelli utilizzati per la realizzazione dei layer successivi.

I parametri di stampa per le singole formulazioni utilizzate in questo lavoro verranno definiti nel capitolo successivo. Dopo la stampa dei campioni, questi sono stati asciugati dalla resina non reticolata in eccesso utilizzando un foglio di carta assorbente e il processo di post-curing è stato condotto tramite un forno UV della RobotFactory per 2 minuti; i campioni stampati sono stati poi inseriti in una petri rinchiusa poi con del parafilm, al fine di evitare l'evaporazione del solvente.

Per stampare componenti più grandi e complessi, al fine di evitare l'evaporazione dell'acqua durante il processo di stampa, è stato necessario apportare delle modifiche alla stampante; nel dettaglio è stato realizzato su misura un coperchio per la vasca collegato a un tubo che trasporta aerosol, che viene confinato nella vasca grazie alla presenza del coperchio, generato da un umidificatore domestico (*fig 4.5*). Il set-up in questione è stato realizzato e gentilmente offerto dal dott. PhD Matteo Caprioli.

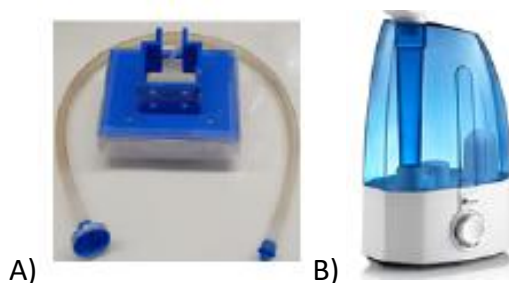


Fig 4.5 A) coperchio e B) umidificatore

4.3. Metodi di caratterizzazione

In questo paragrafo verranno descritte le tecniche di analisi utilizzati per caratterizzare le formulazioni. Le prove e i metodi di analisi utilizzate sono:

1. Spettroscopia UV/Visibile;
2. Reologia;
3. Fotoreologia;
4. Analisi dinamo-meccanica (DMA);
5. Swelling Test;
6. Microscopio elettronico a scansione (SEM).

4.3.1. Spettroscopia UV/Visibile

La spettroscopia UV/Visibile è una tecnica di analisi che esamina come la luce interagisce con la materia nella regione dello spettro UV e visibile. Si basa sulla proprietà delle sostanze di assorbire selettivamente determinate lunghezze d'onda di luce quando queste vengono attraversate dalla radiazione luminosa.

Durante la spettroscopia, una sorgente di luce emette una radiazione che copre un'ampia gamma di lunghezza d'onda nell'intervallo UV e visibile. La luce che attraversa il campione da analizzare viene rilevata da un rivelatore che determinerà la quantità di luce che viene assorbita dal campione in relazione alla lunghezza d'onda.

Il fenomeno fisico dell'attenuazione della radiazione luminosa, monocromatica, quando questa attraversa un materiale, viene modellizzata dalla legge di Lambert-Beer (1.1) :

$$\log \frac{I_0}{I} = A = \epsilon lc$$

1.1

Dove:

- I_0 è l'intensità del raggio monocromatico incidente;
- I è l'intensità del raggio monocromatico trasmesso;
- A è l'assorbimento;
- ϵ è il coefficiente di attenuazione molare caratteristico della specie che causa l'assorbimento della radiazione;
- l è il cammino ottico percorso dalla radiazione
- C è la concentrazione uniforme della specie ;

Per questo lavoro di tesi è stato utilizzato il BioTek™ Synergy™ HTX Multi-Mode Microplate Reader, effettuando prove di assorbimento tra i 300 e i 700 nm con intervalli di 1 nm.

Questa prova è servita per verificare il picco di assorbimento delle tre formulazioni e per verificare la natura *push-pull* dei tre coloranti azo (APAM, DR1 e DR1-MA) analizzati all'inizio.

4.3.2. Reologia

Il reometro è uno strumento utilizzato per studiare le proprietà reologiche di un materiale tra cui, la viscosità, il modulo conservativo (G'), il modulo dissipativo (G'') e così via.

Lo strumento può operare, principalmente, in due modalità: rotazione continua o oscillazione rotazionale.

Il reometro in modalità rotazione continua applica una forza rotazionale costante al campione di materiale misurando la risposta di quest'ultimo allo sforzo di taglio. L'output principale di questo

test è la curva di flusso, che rappresenta la relazione tra lo sforzo di taglio e la velocità di deformazione del materiale; partendo poi dalla curva di flusso è possibile ottenere un serie di parametri reologici, tra cui la viscosità. Quest'ultima è un parametro che può variare in funzione dello sforzo di taglio (o dello stress di taglio), del tempo o della temperatura.

In questo lavoro di tesi è stato condotto lo *shear rate test* dove viene misurata la variazione della viscosità (η) della soluzione, non polimerizzata, in funzione della velocità di deformazione ($\dot{\gamma}$).

Lo strumento utilizzato è il reometro Anton Paar MCR 302 con una configurazione di tipo piatto-piatto. I parametri di processo utilizzati per lo *shear rate test* sono riportati nella Tabella 4.1

Tabella 4.1 Parametri utilizzati per lo *shear rate test*

Distanza tra i piatti [μm]	200
Range di Shear Rate [%]	1-100
Temperatura [$^{\circ}\text{C}$]	25

Il reometro in modalità ad oscillazione rotazionale, invece, applica uno sforzo o una deformazione a taglio sinusoidale al materiale e ne misura la risposta in funzione della temperatura, tempo, ampiezza o frequenza. I parametri reologici principali ottenuti dai test di oscillazione rotazionale includono il modulo conservativo (G') e il modulo dissipativo (G''), che descrivono il comportamento visco-elastico di un materiale polimerico; in particolare il modulo G' descrive la componente elastica della risposta del materiale alla deformazione, mentre G'' descrive quella viscosa.

In questo lavoro di tesi il reometro in modalità ad oscillazione rotazionale è stato utilizzato per effettuare l'*amplitude sweep test*.

L'*amplitude sweep test* è una tecnica di caratterizzazione reologica utilizzata per valutare il comportamento di un materiale in risposta a diverse ampiezze di deformazione.

Durante il test, il materiale viene sottoposto a un'oscillazione sinusoidale ad una frequenza costante, mentre l'ampiezza dell'oscillazione viene variata del tempo partendo da un valore molto basso fino ad arrivare ad un valore massimo desiderato. Tramite questo test è possibile determinare, in particolar modo, la regione di viscoelasticità lineare (LVE), la regione di deformazione non lineare e la regione di rottura del materiale e limiti di resistenza meccanica.

L'output principale di questo test è un grafico, logaritmico, che mette in relazione il logaritmo dei moduli G' e G'' , sull'asse delle "y", con il logaritmo della deformazione percentuale applicata. Prendendo in considerazione la figura 4.6 è possibile osservare un tipico grafico ottenuto successivamente alla prova di amplitude sweep; nella figura, alla sinistra del limite di resistenza

meccanica (γ_L), si trova la regione LVE; nella regione 1, invece, all'interno del gel si sono formate delle microcricche che non comportano la rottura completa del network polimerico, infatti il modulo G' è maggiore del G'' , tuttavia, il gap tra i due moduli inizia a diminuire; nella regione due, quando il modulo G'' e il modulo G' si incontrano, avviene la rottura definitiva del network polimerico.

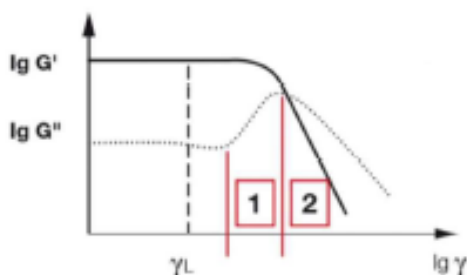


Fig 4.6 Grafico didattico di un amplitude sweep test

Per quanto detto, questo test è la prima analisi da condurre, in quanto quelle successive dovranno essere condotte in modo da scegliere un'ampiezza di deformazione che rientri all'interno della LVE evitando di rompere il campione nelle successive analisi.

Anche in questo caso lo strumento utilizzato è il reometro Anton Paar MCR 302 con una configurazione di tipo piatto-piatto. I parametri di processo utilizzati per lo *shear rate test* sono riportati nella Tabella 4.2

Tabella 4.2 Parametri utilizzati per l'amplitude sweep test

Distanza tra i piatti [μm]	200
Range di ampiezza di oscillazione [%]	0,01-1000
Frequenza di oscillazione [Hz]	1
Temperatura [$^{\circ}\text{C}$]	25

4.3.3. Fotoreologia

La fotoreologia è una disciplina che studia la modifica delle proprietà reologiche di un materiale in risposta all'irradiazione luminosa, in particolare quando viene esposto a specifici tipi di radiazione elettromagnetica, tra cui la luce UV o la luce; questo può coinvolgere l'attivazione di reazioni fotochimiche o il cambiamento della struttura e delle proprietà del materiale. Tramite la fotoreologia è possibile osservare la cinetica di polimerizzazione di una soluzione.

In questo lavoro di tesi è stato condotto il *time sweep test* per valutare la cinetica di polimerizzazioni delle formulazione e per osservare come la presenza del colorante influisce su di questa.

In questo test l'ampiezza della deformazione e la frequenza di oscillazione vengono mantenute costanti e vengono monitorati i valori di G' e G'' nel tempo. La scelta del valore dell'ampiezza della deformazione viene scelta affinché si rientri sempre all'interno della LVE.

Inoltre, a differenza dei setup utilizzati nei test reologici, dove il piatto inferiore può essere in metallo, per i test di fotoreologia è necessario utilizzare un piatto in quarzo o in vetro, in base alla lunghezza d'onda con cui viene irraggiato il campione, per permettere l'irraggiamento luminoso (fornito dal basso). Uno schema del sistema viene mostrato in figura 4.7 Per la prova sono stati utilizzati lo stesso reometro di cui si è detto nel paragrafo 4.3.2. con una configurazione di tipo piatto-piatto, con il piatto inferiore in quarzo, in modo da far passare la luce UV incidente e una lampada UV Hamamatsu LC8 ad ampio spettro.

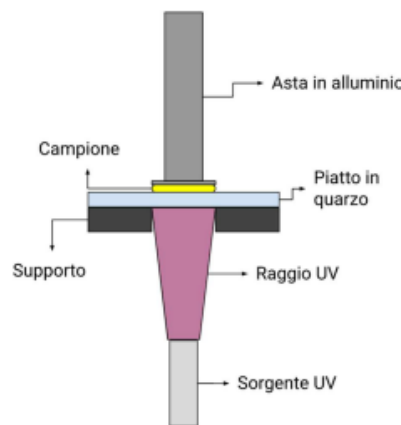


Fig 4.7 Schema illustrativo della configurazione del reometro per fotoreologia ³⁰

Una volta impostati i parametri del test, la prova si suddivide in queste fasi:

- 1) Viene fatta partire la prova monitorando il valore di G' e G'' ;
- 2) Viene accesa la luce e viene irraggiato il campione per un tot di tempo;
- 3) Viene monitorato il valore di G' e G'' fino al raggiungimento del plateau.

Nella tabella 4.3 vengono riassunti i parametri della prova utilizzati.

Tabella 4.3 Parametri utilizzati per la fotoreologia

Distanza tra i piatti [μm]	200
Ampiezza di oscillazione [%]	5
Frequenza di oscillazione [Hz]	1
Temperatura [$^{\circ}\text{C}$]	25
Istante di accensione della lampada UV [s]	60

4.3.4. Analisi dinamo-meccanica (DMA)

Tramite la DMA o, meglio, tramite l'analisi termica dinamo-meccanica (DMTA) è possibile determinare le proprietà termomeccaniche dei campioni. In particolar modo, questa viene utilizzata per osservare come le proprietà meccaniche di un campione variano al variare della temperatura. In questo lavoro di tesi si è utilizzato lo strumento "Triton Technology TTDMA"; la prova DMA è stata svolta per valutare, tramite test a compressione, il valore del modulo E' dei campioni cilindrici dalle dimensioni di 12mm di diametro e 10mm di altezza, a temperatura costante fisiologica a 37°C, ad una frequenza di costante di 1Hz e una deformazione di 50 μm .

4.3.5. Swelling Test

Lo swelling test è un metodo utilizzato per valutare la capacità di un materiale, in genere materiali porosi o materiali contenenti un grande quantitativo di acqua come gli idrogel, di assorbire o rilasciare liquidi in risposta a determinate condizioni.

Durante il test il materiale viene immerso in un liquido specifico e viene misurato il cambiamento di dimensione o di massa nel corso del tempo.

Le prove sono state condotte su dei piccoli cilindri stampati di raggio 2 mm e di altezza 5 mm. Una volta stampati, i campioni sono stati messi all'interno di un frigo a -20°C e poi liofilizzati, overnight, tramite un liofilizzatore CoolSafe 4-15L Freeze Dryers per garantire l'assenza di acqua nel peso iniziale del campione.

Per ogni formulazione sono stati stampati 3 campioni che sono stati, quindi, testati.

Una volta liofilizzati i campioni vengono pesati, viene individuato il peso iniziale (w_0), vengono poi immersi in 2 mL di DMSO. La prova termina quando, per un tempo considerevole, non viene più registrato un aumento di peso del campione. Vengono quindi presi in considerazione questi istanti di tempo: 1h, 3h, 5h 7h e 24h.

Da queste prove viene determinato il grado di swelling attraverso la seguente formula (1.2):

$$S = \frac{w_s - w_0}{w_0} \cdot 100$$

(1.2)

Dove S rappresenta il grado di swelling, w_s è il peso all'istante di tempo t_s , w_0 è il peso all'istante di tempo iniziale.

4.3.6. Microscopio elettronico a scansione (SEM)

Il microscopio elettronico a scansione (SEM) è uno strumento di imaging ad alta risoluzione che, a differenza dei microscopi ottici che utilizzano la luce visibile, utilizza un fascio di elettroni focalizzato

il quale, interagendo con il campione, produce diversi segnali, che forniscono informazioni relative alla morfologia, alla composizione chimica, alla struttura cristallina del campione analizzato.

Il SEM viene principalmente usato per fare imaging della superficie dei campioni; in particolare, quando il fascio di elettroni colpisce la superficie vengono generati una serie di prodotti, tra cui principalmente gli elettroni secondari, che vengono raccolti, elaborati e permettono la generazione di un'immagine ad alta risoluzione che consente di osservare la morfologia e la topografia della superficie del campione.

In questo lavoro di tesi è stato utilizzato il microscopio elettronico a scansione a emissione di campo (FESEM, Zeiss Supra 40) per analizzare la morfologia della superficie e della struttura interna dei campioni stampati. Prima della prova, i campioni sono stati liofilizzati tramite un liofilizzatore CoolSafe 4-15L Freeze Dryers e successivamente, non essendo conduttivi, sono stati sottoposti ad un processo di metallizzazione con platino.

4.4. Prove di Self-Healing

Le prove di self-healing (SH) hanno occupato gran parte del lavoro di tesi e queste sono state effettuate in diversi modi.

Principalmente è possibile dividere le prove di self-healing in due principali categorie:

- 1) Metodi visivi ⁷⁴, dove viene osservato se i due pezzi di campione, che è stato precedentemente tagliato manualmente, dopo un tot di tempo si riuniscono. Per verificare se l'autoriparazione è avvenuta correttamente, è possibile tirare il campione, con l'ausilio di due pinze, dalle due estremità e verificare che queste non si stacchino. In alternativa, per eliminare la variabilità dovuta al fatto che l'operazione di tiro possa essere effettuata da soggetti diversi, è possibile effettuare test di elongazione tramite macchinari specifici che lavorano a determinate condizioni; questo garantirebbe la ripetibilità della prova. Per queste tipologie di prove è consuetudine, inoltre, testare il self-healing utilizzando due parti di campione con colori diversi; questa scelta serve, principalmente, per osservare con maggiore immediatezza che sia effettivamente avvenuta la riparazione all'interfaccia tra le due superfici messe a contatto.
- 2) Tramite misure reologiche ⁷⁴, una volta determinato, tramite *amplitude sweep test* il limite di resistenza meccanica (γ_L), il campione viene sottoposto ad un test, a frequenza costante, che ciclicamente impone per un certo tempo un'ampiezza di deformazione maggiore di γ_L , che porta, quindi alla rottura del campione; successivamente il campione viene sottoposto per un certo tempo ad un'ampiezza di deformazione minore di γ_L , permettendo alla

struttura del campione di potersi autoriparare. Tramite questo test, quindi, è possibile determinare quantitativamente il tasso di recupero del modulo conservativo G' ,

- 3) Test di compressione/tensione ciclica ⁷⁴, tramite questi test viene valutato il modulo elastico o la deformazione del campione prima della rottura e in seguito alla rottura. Viene poi valutato, in percentuale, il tasso di recupero delle proprietà meccaniche.

In questo lavoro di tesi sono stati effettuati sia test basati su metodi visivi che test basati su prove al reometro.

4.4.1. Prove Visive

Per quel che riguarda i metodi visivi, nella prima fase sperimentale sono state condotte prove su campioni ottenuti per fotopolimerizzazione tramite lampada UV, come descritto nel paragrafo 4.2.1., mentre nella seconda fase sono stati utilizzati campioni ottenuti tramite stampa 3D, come descritto nel paragrafo 4.2.2. I campioni sono stati poi inseriti all'interno delle petri, rinchiusi con parafilm, con un pezzo di carta assorbente bagnata al fine di garantire il mantenimento di un ambiente umido.

Entrando nel dettaglio, sono state analizzate 3 situazioni differenti:

- 1) Verifica del processo di SH senza irraggiamento;
- 2) Verifica del processo di SH con irraggiamento tramite una torcia che emette luce alla lunghezza d'onda tra 420-430 nm (luce blu);
- 3) Verifica del processo di SH con irraggiamento tramite una torcia che emette luce alla lunghezza d'onda tra 520-530 nm (luce verde);

Nell *Fig 4.8* viene mostrato il set-up per lo svolgimento della prova.



Fig 4.8 Set-up per lo svolgimento della prova di self-healing

4.4.2. Prove al reometro

Per quel che riguarda le prove al reometro, dopo aver effettuato i test reologici di *amplitude sweep* e i test fotoreologici, sono state condotte delle prove in *time sweep* da 24h, dividendo la prova in 3 step:

- Calcolo del valore del modulo G' del campione polimerizzato;
- Rottura del campione;
- Recupero delle proprietà meccaniche.

I parametri impostati sono riassunti nella tabella 4.4

Tabella 4.4 Parametri utilizzati per la prova di self-healing al reometro

Distanza tra i piatti [μm]	200
Frequenza di oscillazione [Hz]	1
Temperatura [$^{\circ}\text{C}$]	25
Durata della prima fase [s]	60
Ampiezza di oscillazione prima fase [%]	5
Durata seconda fase [s]	30
Ampiezza di oscillazione seconda fase [%]	500
Durata terza fase [h]	24
Ampiezza di oscillazione terza fase [%]	5

4.4.3. Prove Termiche

Un'ulteriore prova condotta è stata di tipo termica; in particolar modo è stata utilizzata una termocamera FLIR E5-XT WiFi per verificare se, durante il processo di SH, vi è un cambiamento di temperatura. Nella *Fig 4.9* viene mostrato il set-up della prova.

Così come per i metodi visivi, anche in questo caso sono state analizzate 3 situazioni diverse: SH senza irraggiamento, SH con luce blu e SH con luce verde.



Fig 4.9 Set-up per lo svolgimento della prova termica di self-healing

5. Risultati

In questo capitolo verranno riportati e analizzati i risultati ottenuti durante tutta la fase sperimentale.

Nella prima parte del capitolo verrà descritta la fase preliminare della sperimentazione dove è stata analizzata la reattività della formulazione, in maniera empirica, tramite la realizzazione di semplici campioni ottenuti tramite una lampada UV.

Seguirà poi la descrizione della fase di caratterizzazione della formulazione e dei campioni ottenuti tramite la stampa 3D

Infine, verrà descritta la fase di verifica del processo di autoriparazione dei campioni ottenuti tramite stampa 3D.

5.1. Ottenimento campioni

Nella prima fase, una volta realizzate le formulazioni, si è iniziato a valutare la reattività delle formulazioni, realizzando dei campioni secondo i metodi descritti nel paragrafo 4.2.1.

Questa fase è importante per capire, anche solo preliminarmente, se la formulazione reticola in maniera adeguata e quindi, eventualmente, pensare a delle modifiche per migliorarne la reattività, come ad esempio la modifica della percentuale di fotoiniziatore, di colorante o di eventuali altri elementi aggiunti durante la preparazione della formulazione.

Le formulazioni realizzate sono risultate molto reattive e si è riuscito a realizzare campioni, di piccolo spessore, da poter utilizzare durante tutta la prima fase di verifica della capacità di self-healing.

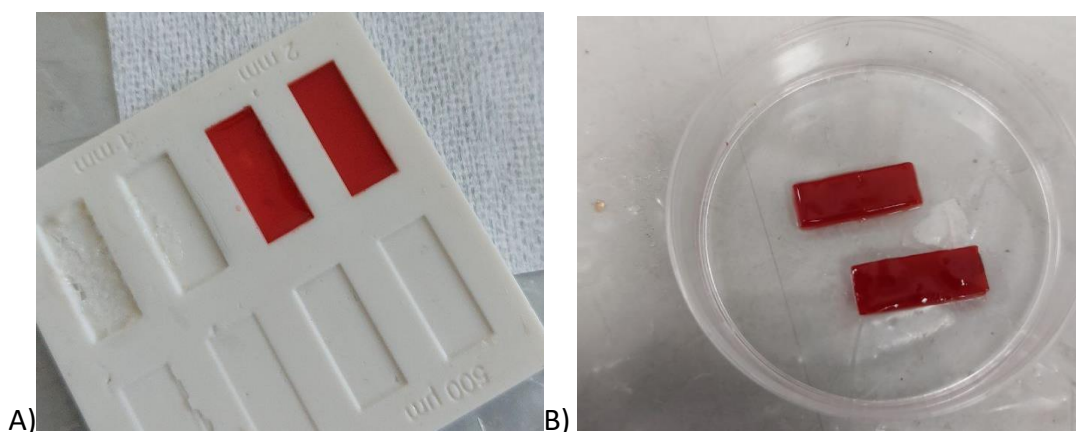


Fig 5.1 Realizzazione di campioni tramite lampada UV, A) stampo in silicone, B) campioni ottenuti

Oltre allo stampo in silicone è stato utilizzato anche uno stampo cilindrico

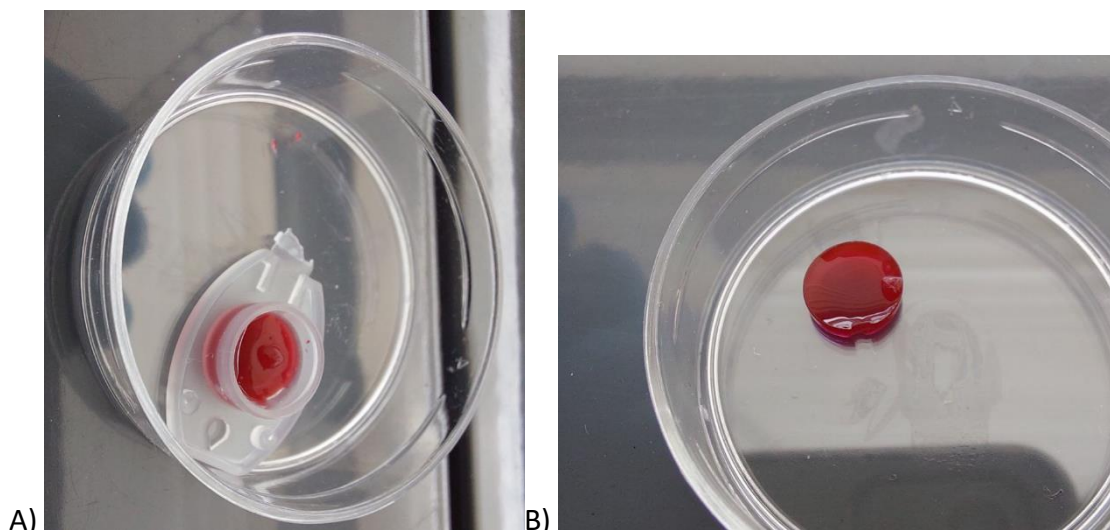


Fig 5.2 Realizzazione di campioni tramite lampada UV, A) stampa cilindrico, B) campione ottenuto

Tuttavia, a causa della non elevata penetrazione della luce associata alla presenza del colorante, i campioni ottenuti in questo modo sono stati utilizzati solamente durante la fase iniziale. Infatti, per quel che riguarda le fasi successive, i campioni da testare sono stati realizzati tramite stampa 3D, come descritta nel paragrafo 4.2.2. e con i parametri che verranno successivamente indicati nel paragrafo 5.5.

5.2. Spettroscopia UV/Visibile

Le prove di spettroscopia sono state condotte per verificare l'assorbimento dei coloranti usati e l'influenza di questi nelle formulazioni. Dal grafico, in figura 5.3 A, è possibile osservare lo spettro di assorbimento dei coloranti usati, caratterizzato proprio dalla sovrapposizione delle due configurazioni cis e trans dei gruppi azo (struttura è raffigurata nella figura 5.3 B). Lo spettro ottenuto mostra proprio la natura push-pull dei coloranti azo, in tutti e tre i casi³⁷; proprio per questo motivo, il continuo cambiamento di conformazione permette, con molta probabilità, che i gruppi OH dell'acido boronico, parlando dell'APAM, possano formare l'estere e quindi favorire la riparazione del materiale. Si può notare, inoltre, che nel caso dell'APAM e del DR1 il picco è centrato a 480nm, mentre per il DR1-MA il picco è centrato a 470 nm³⁶. Nella figura 5.4 viene, invece, mostrato il cambio di configurazione Cis to Trans del DR1⁹²

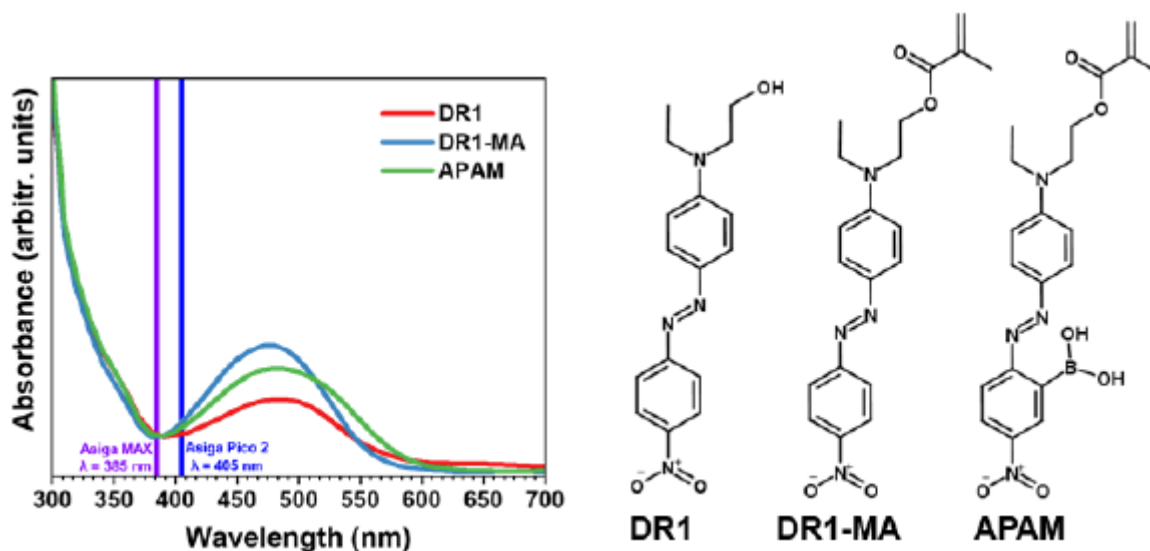


Fig 5.3 A) Spettro di assorbimento UV/Visibile dei tre coloranti confrontati con la lunghezza d'onda di emissione delle sorgenti luminose di due stampanti diverse, B) Struttura chimica dei tre coloranti azoici³⁶

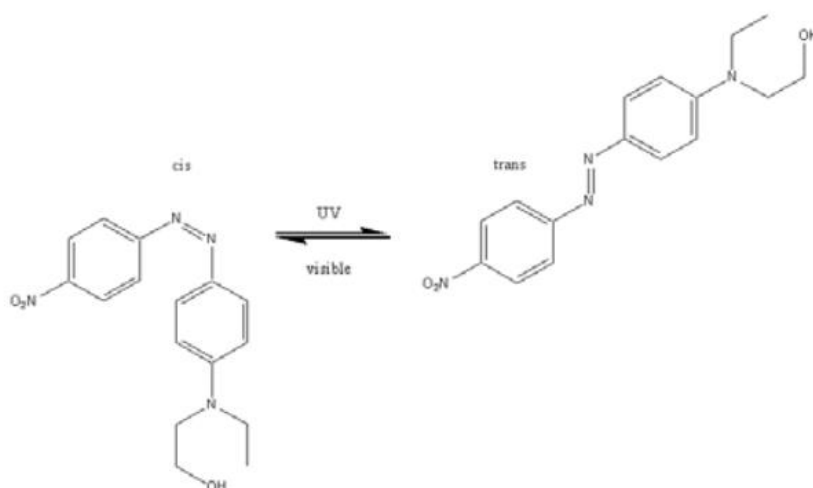


Fig 5.4 Configurazione Cis e Trans del DR1⁹²

Per il prosieguo della di tesi si è deciso di utilizzare solo i coloranti DR1-MA e APAM. Questo perché entrambe le molecole posseggono dei gruppi metacrilati, che quindi reagiscono direttamente con il PVA metacrilato, entrando così a far parte del reticolo polimerico senza rischio di rilascio.

5.3. Prove Reologiche

5.3.1. Prove di Viscosità

Al fine di garantire la stampabilità delle resine fotosensibili è necessario che queste siano stabili, omogenee e poco viscosi, poiché una bassa viscosità garantisce una ridistribuzione uniforme della formulazione durante il processo di stampa. Inoltre, una bassa viscosità favorisce l'interazione tra

le funzionalità reattive presenti nella formulazione, accelerando i processi di polimerizzazione durante la stampa.

In figura 5.5 è riportata la viscosità delle varie formulazioni usate. Si può notare che la formulazione contenente il colorante APAM, quindi quello funzionalizzato con l'acido boronico, ha un valore maggiore rispetto alle altre due formulazioni, soprattutto a bassi shear rate, mentre le altre due formulazioni hanno valori di viscosità simili. Questo può essere attribuito sia ad un maggior ingombro sterico del colorante, che alla formazione di interazioni secondarie fino alla formazione di veri e propri legami chimici (estere boronati) che modificando la catena ne modificano le capacità di scorrimento.

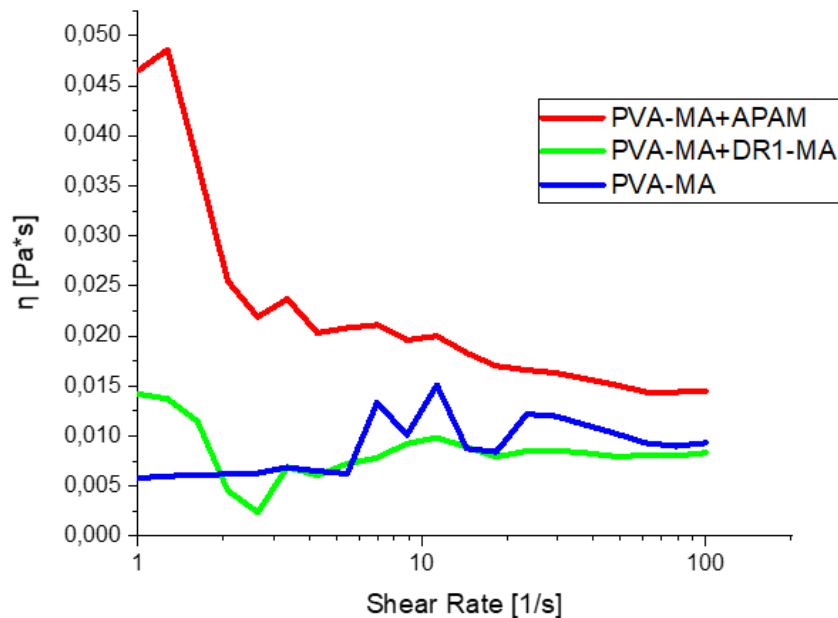


Fig 5.5 Grafici Viscosità vs Shear Rate delle tre formulazioni messe a confronto

Nonostante questa differenza, tutte e tre le formulazioni hanno un valore di viscosità basso; dunque, potenzialmente possono essere stampabili.

5.3.2 Amplitude Sweep Test

L'amplitude sweep test è stato condotto per individuare la regione LVE (linear viscoelastic region). È importante individuare questo regime in quanto le misure di fotoreologia devono essere fatte in questo range, al fine di ottenere risultati con un valore scientifico. In figura 5.6 vengono riportati i risultati ottenuti dalla prova.

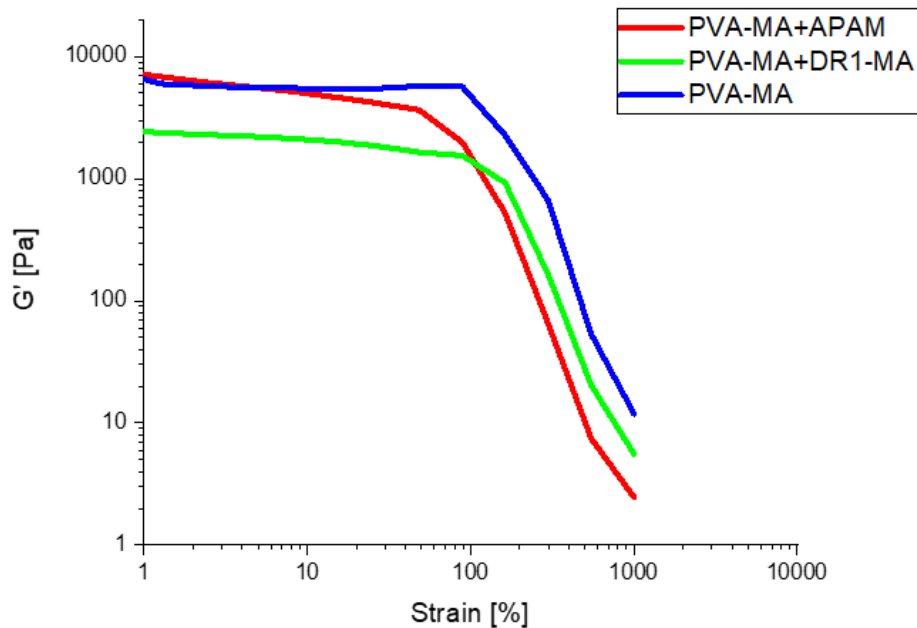


Fig 5.6 Amplitude sweep test delle tre formulazioni messe a confronto

Dalla prova è possibile, quindi, individuare il limite di resistenza meccanica (γ_L), che rappresenta il limite superiore della regione LVE; in particolare, questo valore corrisponde al valore di strain in cui termina il plateau della curva.

Per le tre formulazioni i valori di γ_L vengono riportati nella tabella 5.1

Tabella 5.1 Valori del limite di resistenza meccanica delle tre formulazioni

Formulazioni	(γ_L) [%]
PVA-MA+APAM	50
PVA-MA+DR1-MA	89
PVA-MA	89

Una volta stabilito LVE, si è fissato il valore del 5% di strain per le misure successive, valori in cui tutte le formulazioni risultano avere una risposta lineare.

5.4 Fotoreologia

5.4.1 Time sweep test

I test di fotoreologia sono utili per osservare la reattività delle formulazioni e permettono di individuare il tempo necessario per raggiungere il punto di gelo della formulazione; quest'ultimo coincide con il punto in cui il valore di G' e G'' si intersecano, al seguito del quale il valore di G' diventa maggiore del modulo G'' . I test sono stati condotti su tutte e tre le formulazioni secondo i metodi descritti nel paragrafo 4.3.3.

Di seguito vengono mostrati i grafici ottenuti.

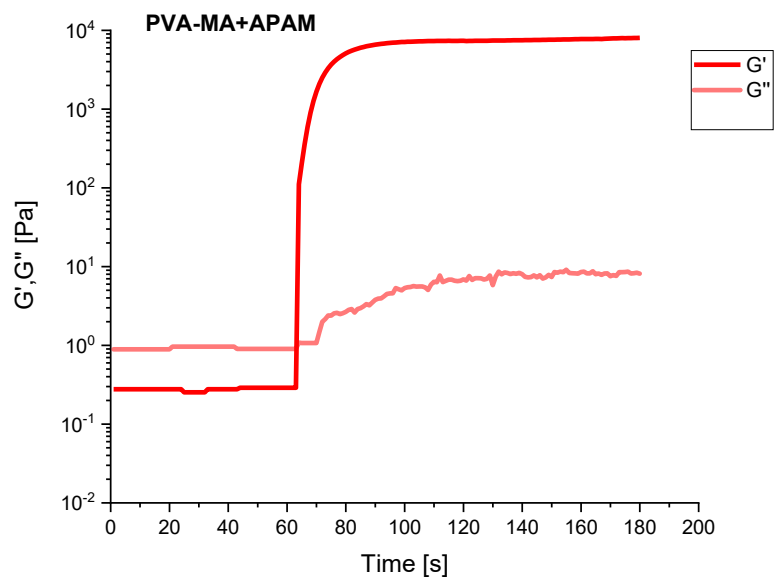


Fig 5.7 Moduli G' e G'' (Pa) in funzione del tempo (s) della formulazione PVA-MA+APAM ottenuti dall'analisi fotoreologica

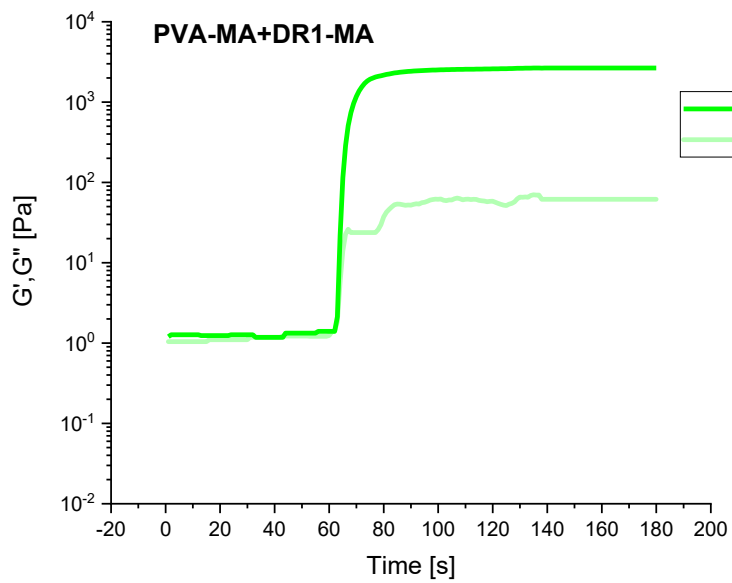


Fig 5.8 Moduli G' e G'' (Pa) in funzione del tempo (s) della formulazione PVA-MA+DR1-MA ottenuti dall'analisi fotoreologica

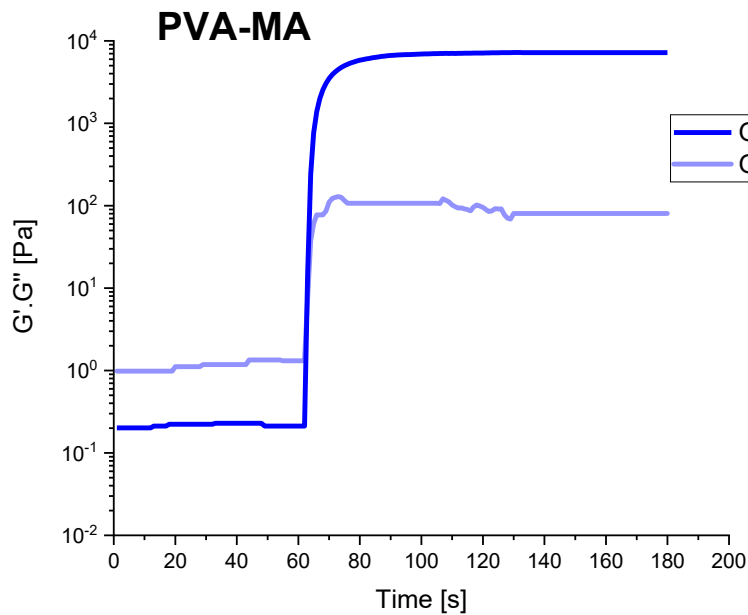


Fig 5.9 Moduli G' e G'' (Pa) in funzione del tempo (s) della formulazione PVA-MA ottenuti dall'analisi fotoreologica

Nelle figure 5.7, 5.8 e 5.9 vengono mostrate le prove di fotoreologia delle tre formulazioni separatamente. Tutte e tre le formulazioni risultano essere reattive ai processi di fotopolimerizzazione e il punto di gelo viene raggiunto pochi secondi dopo l'accensione della lampada UV.

A livello teorico, la presenza del colorante porta ad avere un rallentamento del processo di fotopolimerizzazione. Il colorante, infatti, assorbe parzialmente la luce con cui la formulazione viene irraggiata e questo implica una modifica al processo di fotopolimerizzazione rallentando o ostacolando la fase di inizio; tale fenomeno prende il nome di *delay time*. Nella tabella 5.2 vengono mostrati i parametri più importanti ottenuti dalla prova.

Tabella 5.2 Modulo G' finale, Pendenza e Delay time delle tre formulazioni

	PVA-MA+APAM	PVA-MA+DR1-MA	PVA-MA
G' finale [kPa]	8,02	2,6	7,2
Pendenza	0,15	0,13	0,14
Delay time [s]	4	4	3

Come si può vedere in figura 5.10, dopo che si è raggiunto il plateau relativo alla curva del modulo conservativo G' , è possibile osservare che il modulo G' finale, per tutte e tre le formulazioni, è dello stesso ordine di grandezza (10^3 Pa).

Come si vede in figura 5.10, la formulazione contenente il DR1-MA come colorante e la formulazione contenente l'APAM mostrano un comportamento fotoreologico simile, in quanto sovrapposte, ed avendo queste i grafici leggermente più spostati a destra mostrando aumento del *delay time*; nonostante questo, le formulazioni risultano essere lo stesso molto reattive.

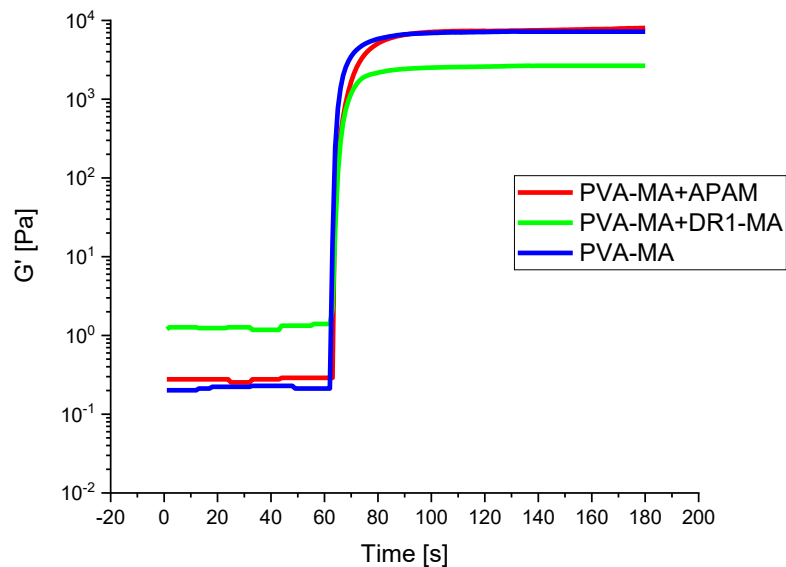


Fig 5.10 Moduli G' in funzione del tempo delle tre formulazioni messe a confronto

5.5. Parametri di stampa e prove di stampa

Partendo dalle prove reologiche e dai parametri di stampa di lavori precedenti³⁶ si è passati alla fase di stampa e alla fase di ottimizzazione dei parametri.

I parametri inizialmente utilizzati per tutte e tre le formulazioni sono riassunti in tabella 5.3:

Tabella 5.3 Parametri di stampa iniziali

Parametri iniziali	Burn In	Layer Generici
Spessore layer [mm]	0,05	0,05
Intensità luminosa [mW/cm^2]	45	45
Tempo di irraggiamento [s]	6	5

Inoltre, è stata selezionata una velocità di approccio e una velocità di separazione, entrambe di 1 mm/min e non è stato inserito nessun tempo di attesa dopo ogni step.

I parametri scelti sono risultati ideali sia per la formulazione contenente il colorante APAM che per quella contenente il colorante DR-MA; tuttavia, al fine di migliorare ulteriormente il processo di stampa, sono stati aggiunti 5s di attesa per ogni step, questo per favorire l'omogenizzazione della resina presente in vasca dopo ogni step.

Per quel che riguarda la formulazione con solo PVA-MA, questi parametri non garantivano la miglior risoluzione possibile (vedi Capitolo 1). Proprio per questo motivo si è deciso di diminuire i tempi di irraggiamento, mantenendo comunque la stessa intensità luminosa. Nella tabella 5.4 vengono indicati, quindi, i parametri utilizzati per stampare campioni con la formulazione contenente solo PVA-MA; mentre, nella tabella 5.5 vengono indicati i parametri finali per le altre due formulazioni.

Tabella 5.4 Parametri di stampa ottimizzati per la formulazione di PVA-MA

Parametri formulazione PVA-MA	Burn In	Layer Generici
Spessore layer [mm]	0,05	0,05
Intensità luminosa [mW/cm²]	45	45
Tempo di irraggiamento [s]	4	3
Approach velocity [mm/min]	1	1
Separation velocity [mm/min]	1	1
Wait Time After each step [s]	5	5

Tabella 5.5 Parametri di stampa ottimizzati per la formulazione di PVA-MA+APAM e PVA-MA+DR1-MA

Parametri finali	Burn In	Layer Generici
Spessore layer [mm]	0,05	0,05
Intensità luminosa [mW/cm²]	45	45
Tempo di irraggiamento [s]	6	5
Approach velocity [mm/min]	1	1
Separation velocity [mm/min]	1	1
Wait Time After each step [s]	5	5

Questi parametri sono stati utilizzati per tutta la fase sperimentale per realizzare i campioni che sono stati poi sottoposti a tutte le caratterizzazioni successive.

Vengono adesso mostrate le immagini di campioni ottenuti dal processo di stampa partendo da geometrie semplici (*Fig 5.11*) fino ad arrivare a geometrie più complesse (geometrie cave, forate e a nido di api) (*Fig 5.12*).

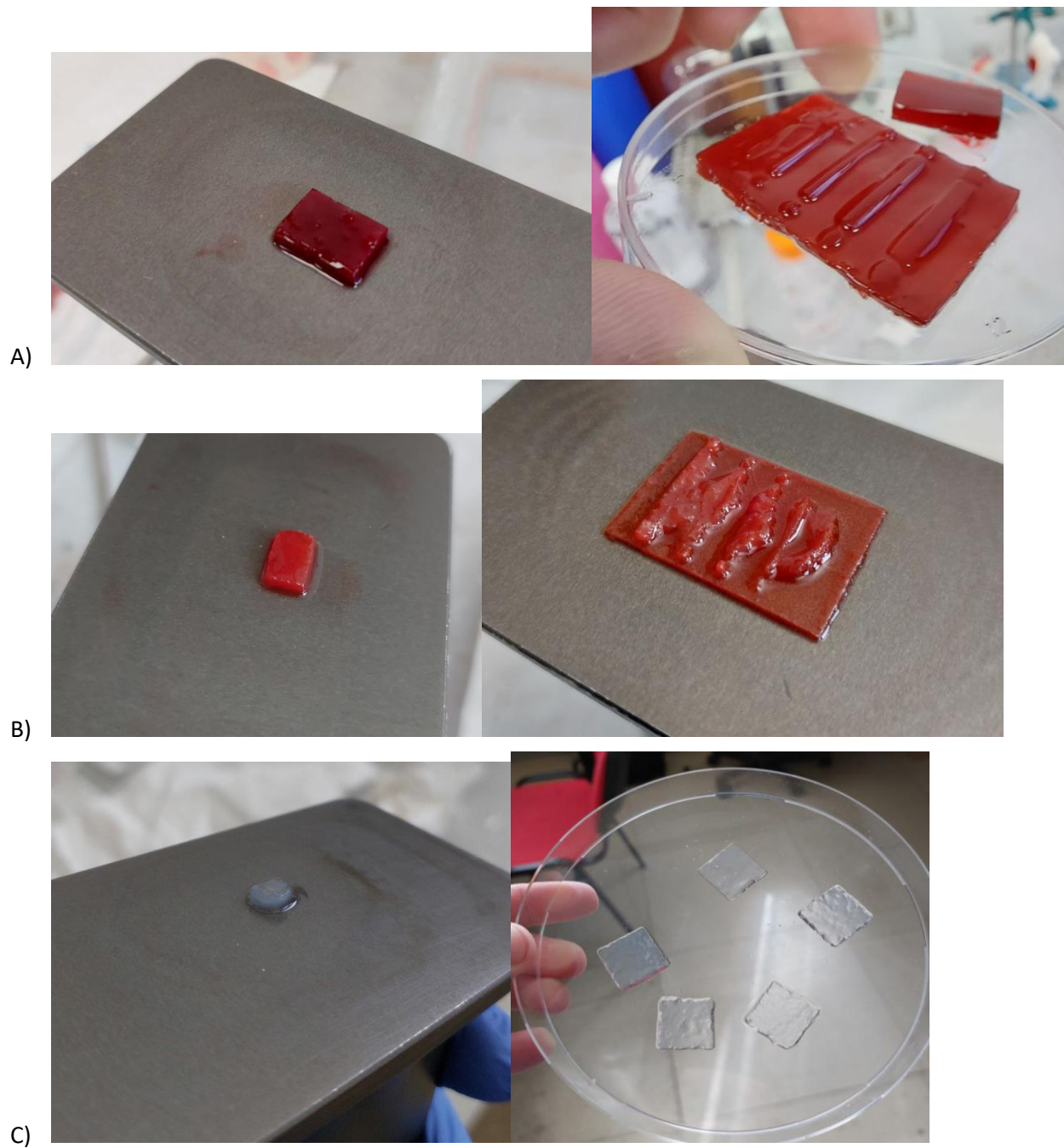
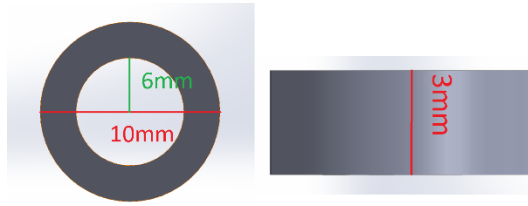
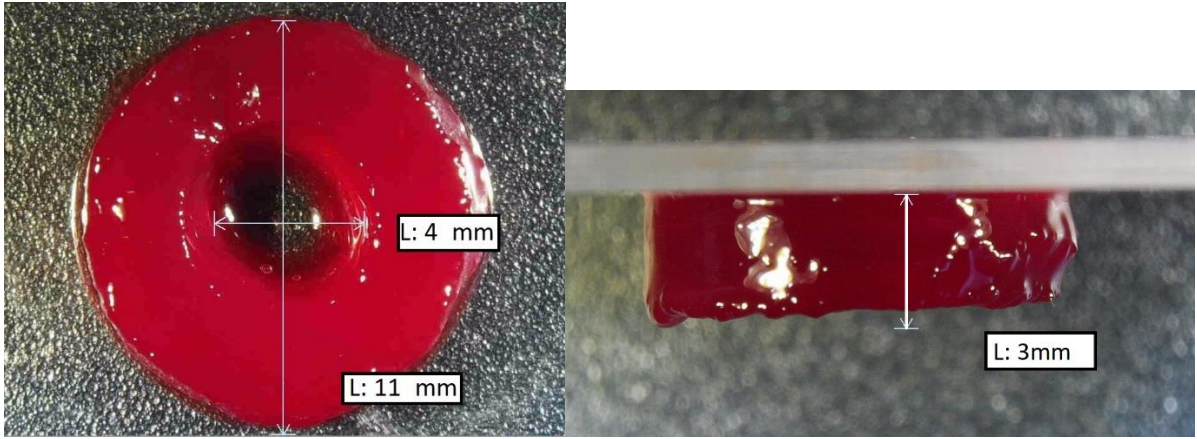


Fig 5.11 Stampa campioni di geometria semplice, di A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA+DR1-MA, C) PVA-MA

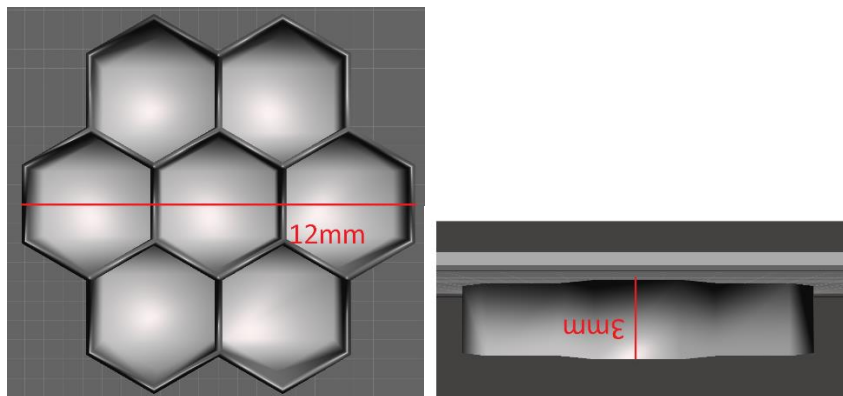
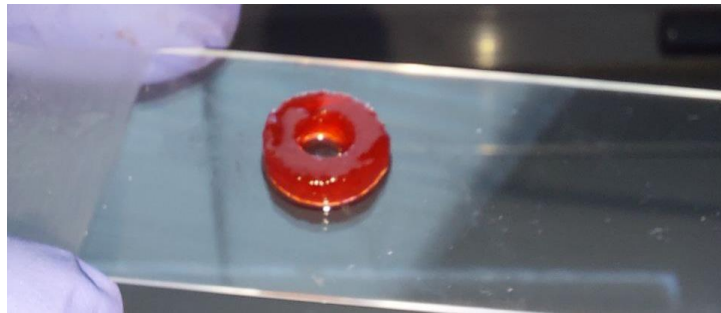
Nelle figura 5.12 A e C vengono mostrati i modelli cad dei campioni , nella figura 5.12 B,D, invece, vengono mostrati i campioni stampati. Dalle immagini si nota come, pur essendo un idrogel, anche campioni con una geometria più complessa, come quelli mostrati in foto, vengono stampati con una discreta risoluzione.



A)



B)



C)

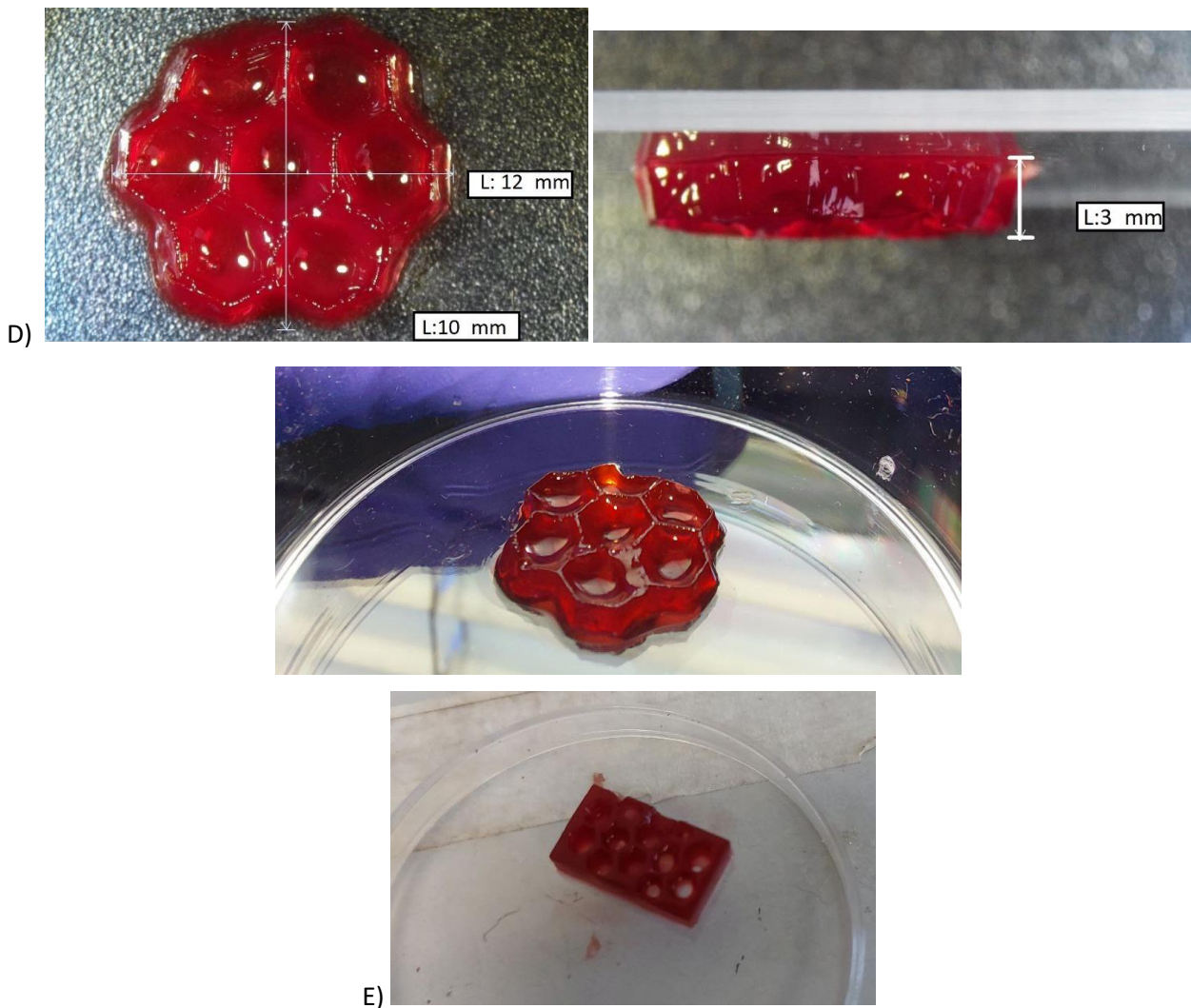
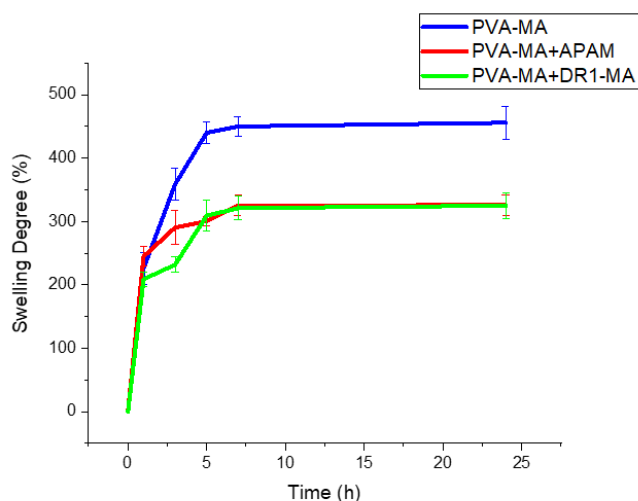


Fig 5.12 Campioni di geometrie complesse in PVA-MA+APAM, A,C) Modelli CAD dei campioni, B,D,E) Campioni stampati

5.6. Prove di swelling

L'abilità di swelling è una proprietà importante per gli idrogel poiché molte delle applicazioni, per cui questi sono previsti, si basano sull'assorbimento e il mantenimento di grandi quantità di liquidi. In figura 5.13 A vengono mostrati un esempio di campioni utilizzati per il test, mentre in figura 5.13 B vengono messe a confronto le curve di swelling dei campioni relativi alle tre formulazioni diverse.





B)

Fig 5.13 A) Campioni in PVA-MA+APAM usati per il test, B) Swelling test dei campioni delle tre formulazioni stampati in 3D

Come si nota dal grafico, il grado di swelling raggiunge l'equilibrio dopo 7 ore per tutte e 3 le formulazioni. Vi è, invece, una differenza del grado di swelling, in particolar modo tra la formulazione contenente PVA-MA con le altre due formulazioni che, viceversa, mostrano un andamento simile.

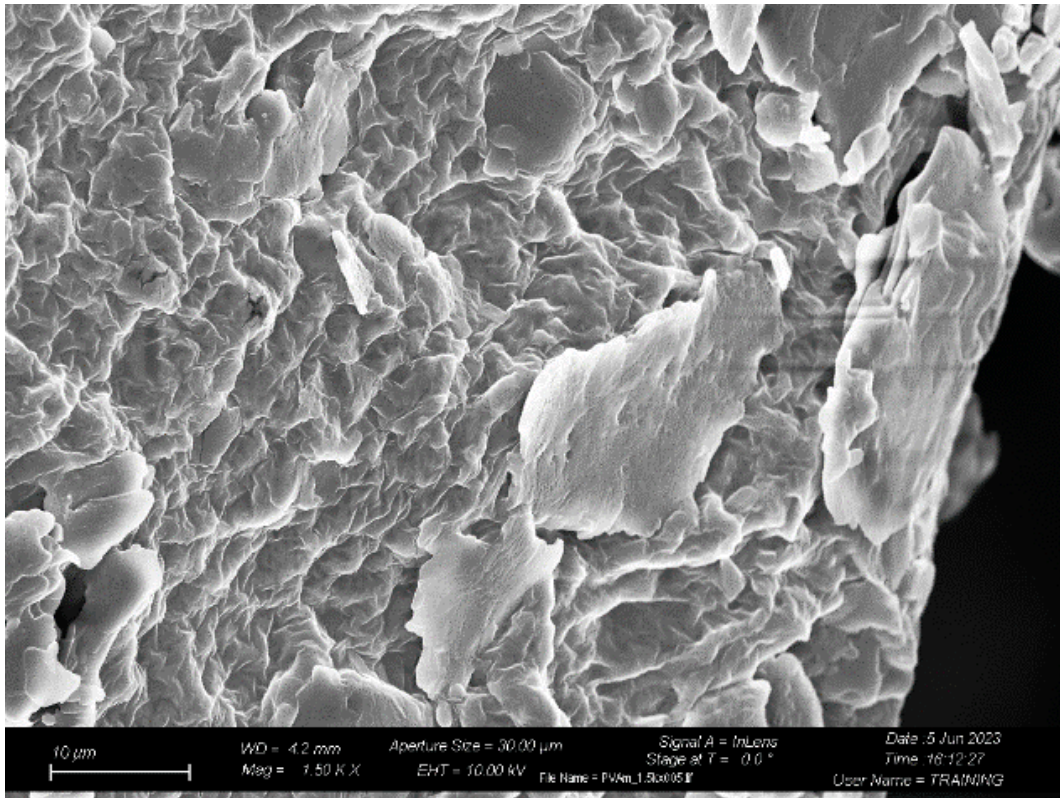
In particolar modo, il grado di swelling dei campioni in PVA-MA è del 455%, per i campioni in PVA-MA+APAM è del 325% e per i campioni in PVA-MA+DR1-MA è del 324%. Questa differenza può essere dovuta al diverso grado di reticolazione che vi è tra i campioni. Inoltre, la presenza del gruppo azo può rendere i campioni meno idrofilici.

5.7. Immagini al SEM

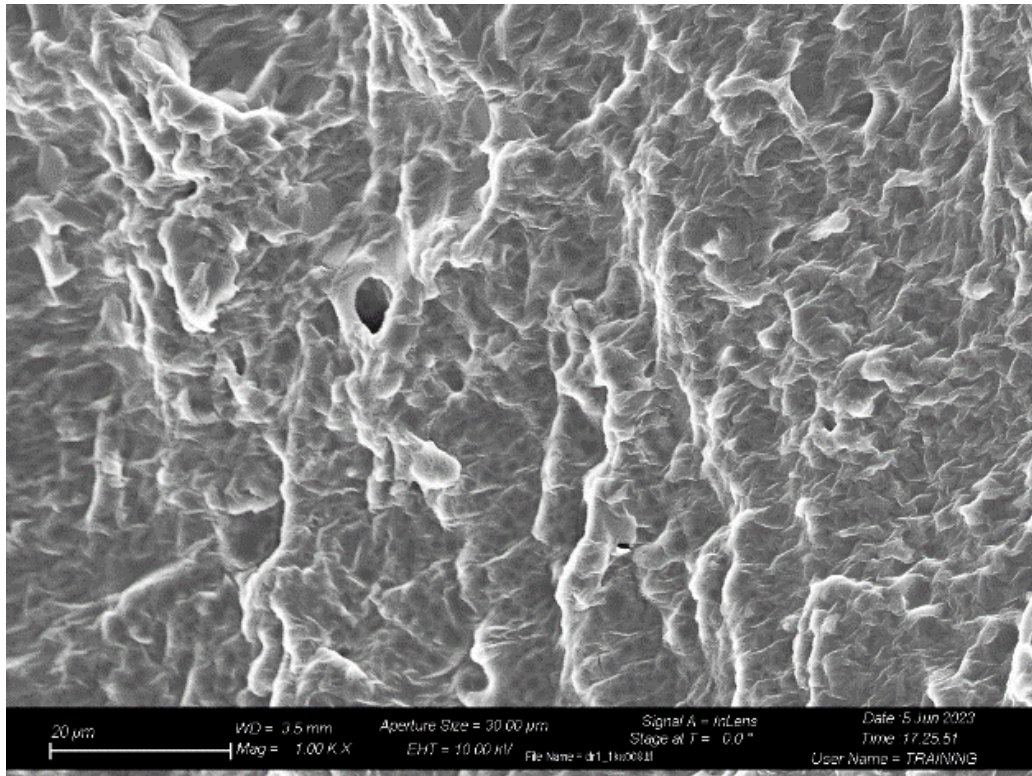
Dalle immagini al SEM è possibile notare la tipica morfologia microporosa degli idrogel. In figura 5.14 viene mostrato il risultato della metallizzazione dei campioni, mentre In figura 5.15 (A,B e C) è possibile osservare la superficie dei campioni che sono stati prima stampati e poi liofilizzati. È possibile notare, inoltre, la presenza di strutture macroscopiche anisotrope e ruvide; questo è dovuto, probabilmente, alla rimozione di acqua avvenuto durante la liofilizzazione.⁹³



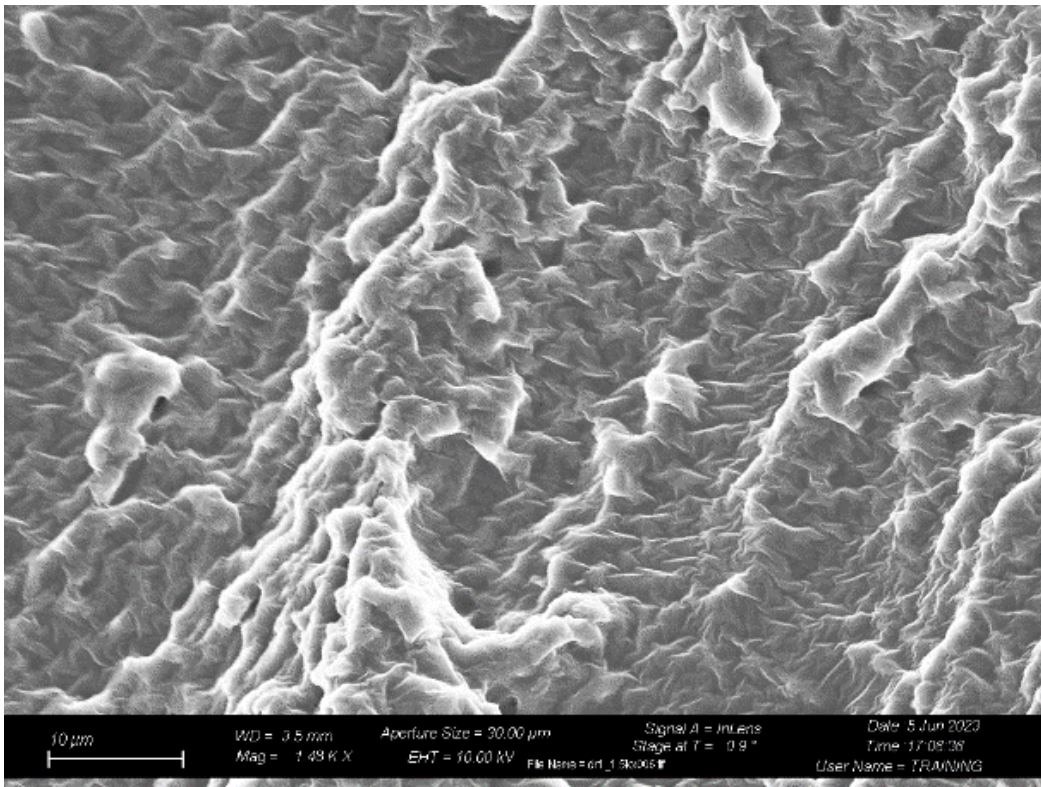
Fig 5.14 Campioni posto metallizzazione



A)



B)



C)

Fig 5.15 Immagini al SEM dei campioni in A) PVA-MA, B) PVA-MA+APAM, C) PVA-MA+DR1-MA

5.8. Prove Dinamo-Meccaniche

Le prove dinamo-meccaniche sono state condotte per valutare, a temperatura fisiologica di 37°C, il comportamento meccanico dei campioni stampati. Nella figura 5.11 (A,B e C) vengono mostrate le foto dei campioni utilizzati per la prova.

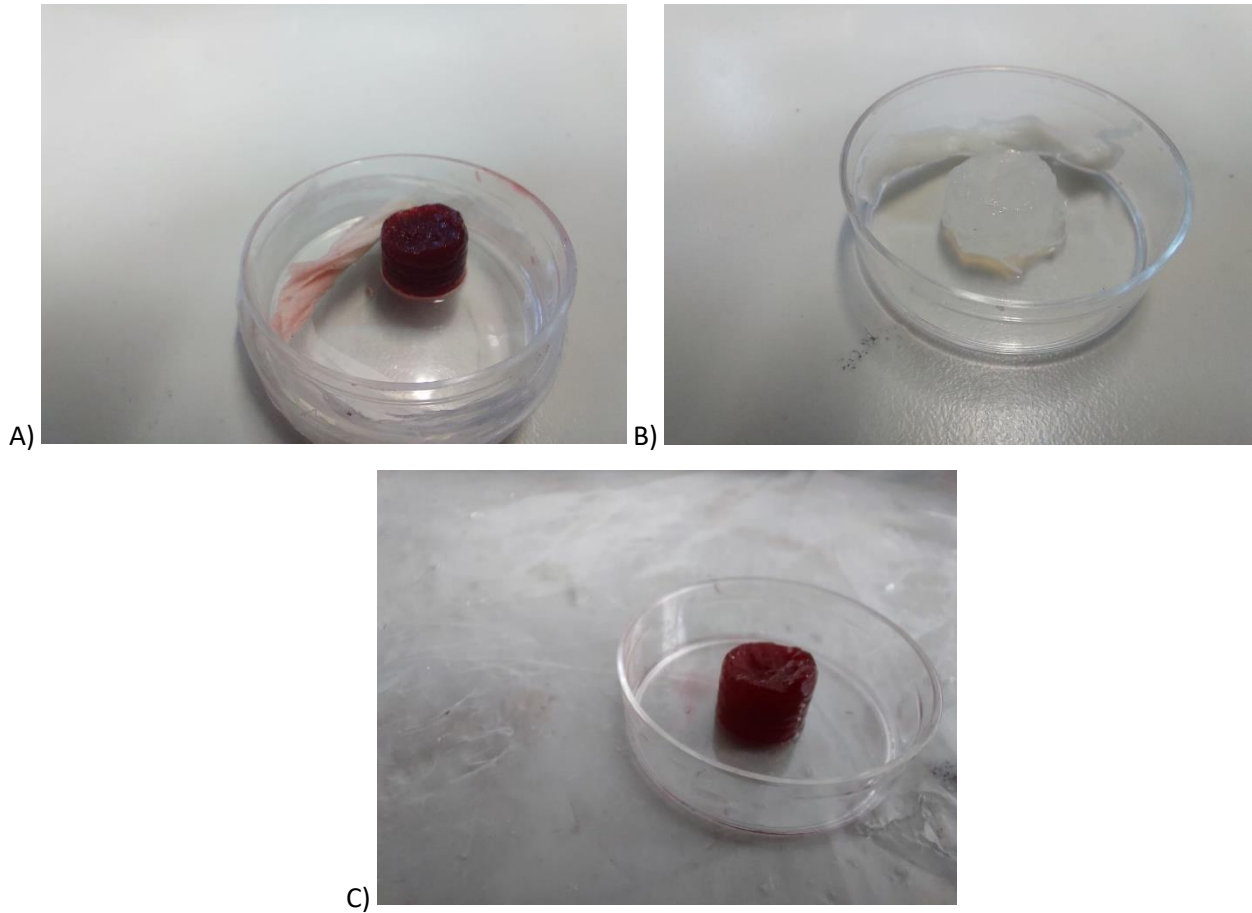


Fig 5.16 Campioni cilindrici stampati in 3D rispettivamente delle formulazioni A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA, C) PVA-MA+DR1-MA

I risultati ottenuti dalle prove vengono mostrati in figura 5.12

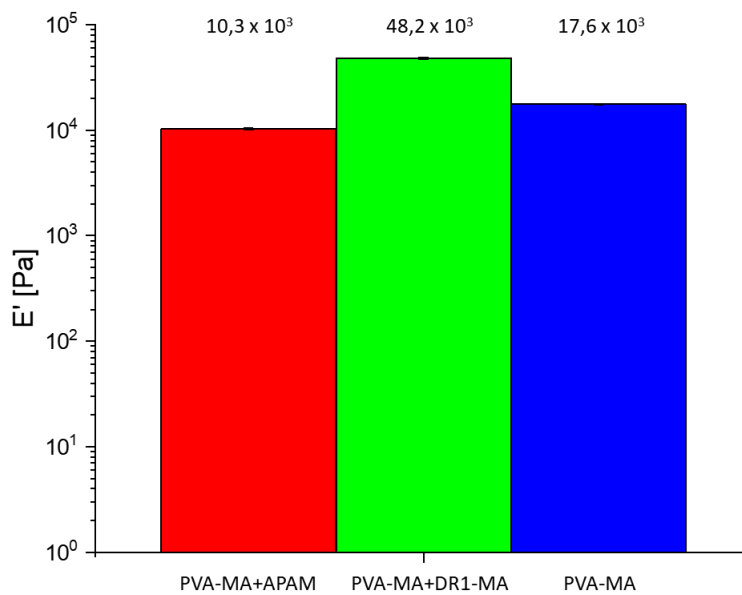


Fig 5.17 Modulo E' (Pa) delle tre formulazioni ottenuti dalla prova DMA

Dall'esame della figura notiamo che i moduli E' ottenuti sono tutti dello stesso ordine di grandezza. E variano tra i 10 kPa e i 50 KPa. Purtroppo, in questa misura, piccoli errori di misura geometrica possono portare a variazioni numeriche anche consistenti e quindi è difficile fare un'analisi puntuale. Tuttavia, i valori trovati in questa prova risultano essere comparabili con quelli di alcuni tessuti organici come il cervello, la pelle, il pancreas, la milza (che sono dell'ordine compreso tra i 5 e i 10 kPa)⁹⁴; quindi, potrebbero essere utili per applicazioni, ad esempio, di rigenerazione di questi tessuti.

5.9 Prove di self-healing

In questo paragrafo verranno illustrati i risultati ottenuti dalle prove di self-healing effettuate durante tutto il lavoro di tesi.

5.9.1. Metodi visivi

Nella prima fase sono stati effettuati test di tipo visivo, prima con i campioni ottenuti tramite la lampada UV Hamamtsu e poi con i campioni ottenuti tramite la stampa 3D.

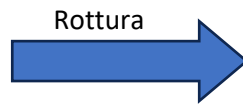
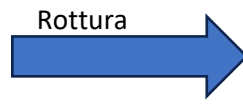
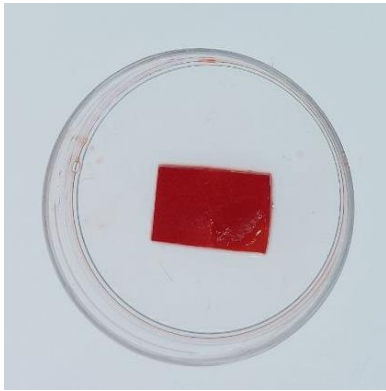
Le prove sono state effettuate con campioni con geometrie semplici; si tratta, infatti, di parallelepipedi o cilindri di piccolo spessore.

Le prove visive sono state condotte con i metodi descritti nel paragrafo 4.4.1., quindi prove senza irraggiamento, prove con irraggiamento con luce blu e prove con irraggiamento con luce verde.

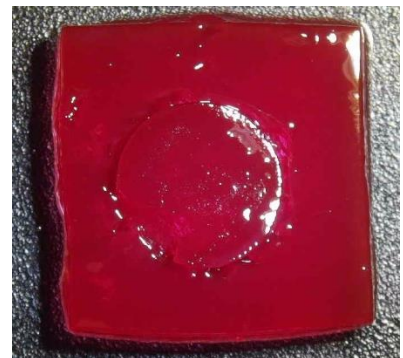
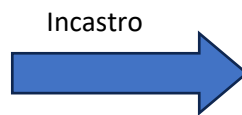
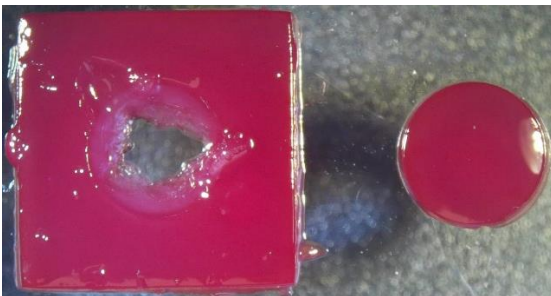
Seguono un serie di immagini (5.18) raccolte durante i vari test.



A)



B)



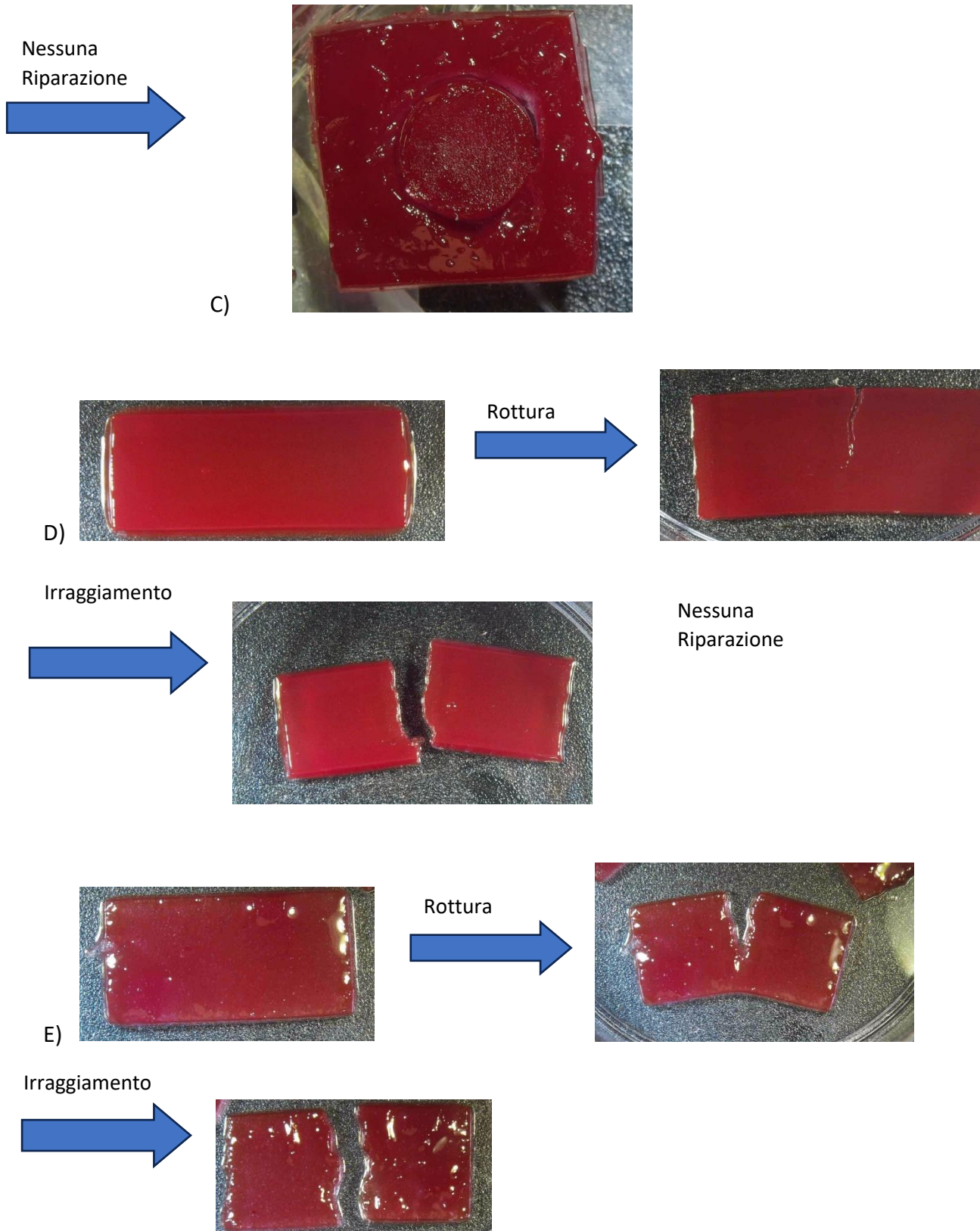


Fig 5.18 A,B) Test di self-healing di campioni in PVA-MA+APAM senza irraggiamento, C) di due campioni in PVA-MA+APAM incastrati, D) di un campione in PVA-MA+APAM irraggiato con luce blu, E) di un campione in PVA-MA+APAM irraggiato con luce verde.

Purtroppo, come si può notare dalle immagini i campioni che sono stati separati a metà non sono riusciti a ripararsi.

Un'ulteriore prova effettuata è stata quella di prendere un campione realizzato con la formulazione di PVA-MA+APAM e un campione realizzato con la formulazione di solo PVA-MA, che si presenta trasparente (figura 5.19). L'idea era quella di mettere a contatto un pezzo di campione di PVA-MA+APAM e un pezzo di campione di PVA-MA per verificare se, quantomeno all'interfaccia, si verificasse un principio di diffusione delle catene, che potrebbe tradursi in un'innesco del processo di autoriparazione.

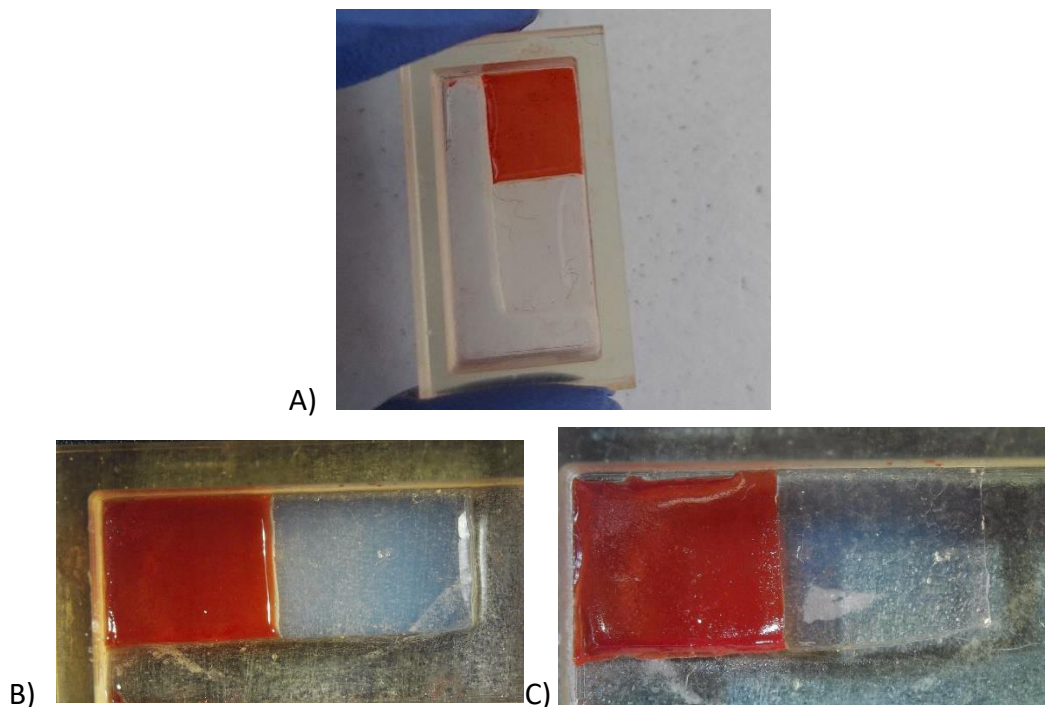
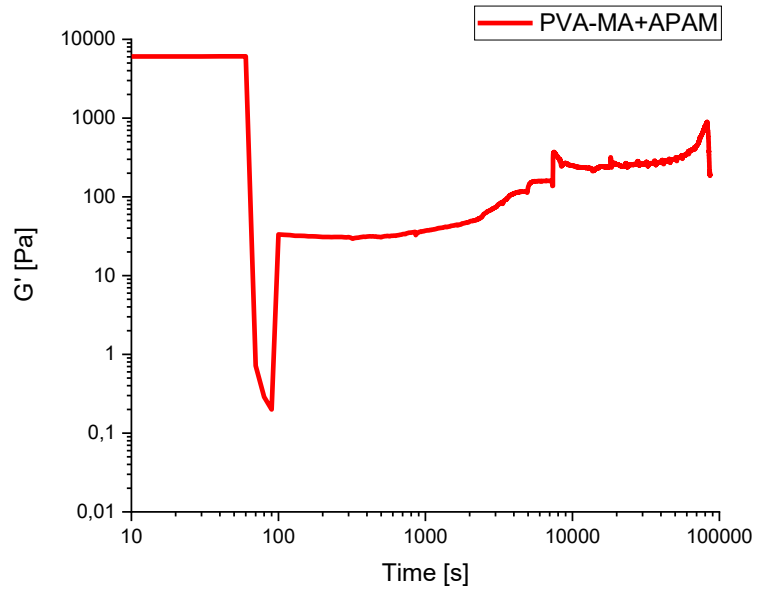


Fig 5.19 A) Campione in PVA-MA+APAM messo a contatto con un campione in PVA-MA , B) Inizio della prova di self-healing, C) fine della prova di self-healing

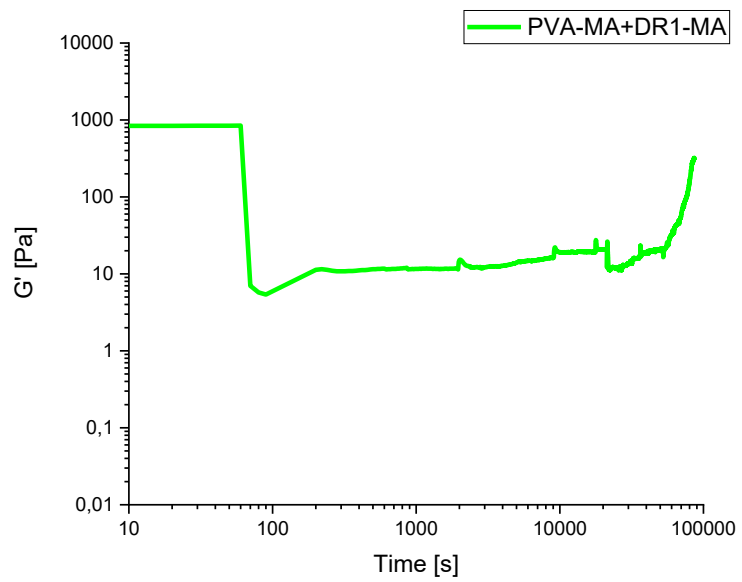
Anche in questo caso, non si è verificato alcun processo di autoriparazione.

5.9.2. Prove al reometro

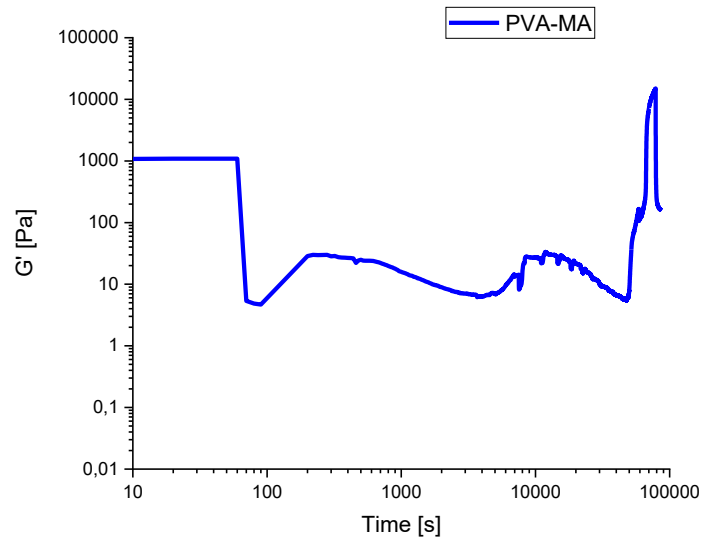
Le prove al reometro sono state condotte secondo i metodi descritti nel paragrafo 4.4.2. L'idea è quella di verificare, in maniera sperimentale, la capacità di autoriparazione dei campioni. In particolar modo si è osservato l'andamento del modulo G' nel tempo dopo la rottura del campione che, nel caso in cui il campione dovesse autoripararsi, dovrebbe tornare al valore iniziale.



A)



B)



C)

Fig 5.20 Grafici della prova di self-healing effettuata al reometro per 24h per le formulazioni A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA+DR1-MA, C) PVA-MA

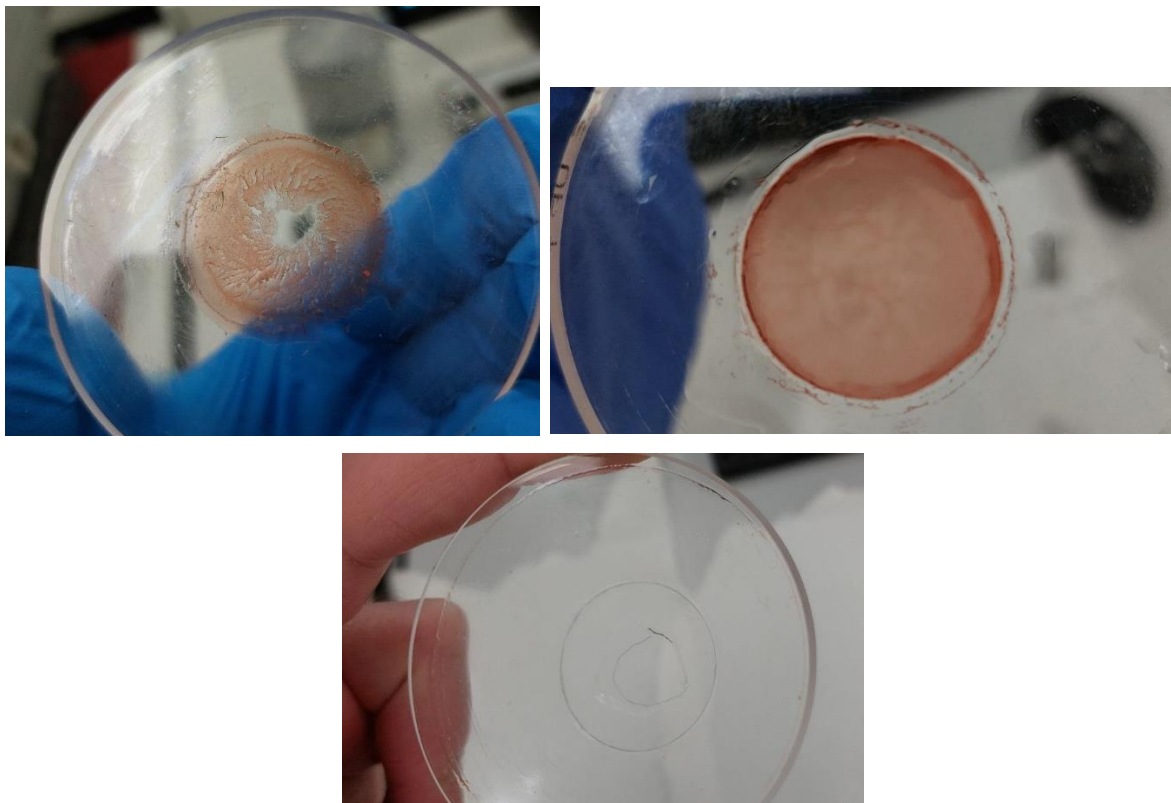


Fig 5.21 Campioni, rispettivamente in PVA-MA+DR1-MA, PVA-MA+APAM, PVA-MA, secchi dopo la prova al reometro

Dai grafici ottenuti si nota che il modulo G' , dopo un certo tempo, inizia a crescere. Tuttavia, tenendo in considerazione i risultati ottenuti e mostrati nel paragrafo 5.9.1, questo incremento del modulo conservativo può essere dovuto al fatto che, dopo un certo lasso di tempo, l'acqua del campione

inizia a evaporare, nonostante i tentavi di creare un ambiente umido tra il piatto superiore e inferiore del reometro, portando, quindi, ad un irrigidimento del campione e di conseguenza un aumento del modulo G' .

5.9.3. Prove termiche

Le prove termiche sono state utilizzate per verificare se durante l'irraggiamento si misurassero incrementi di temperatura, similmente ad esperimenti recentemente effettuati in laboratorio; in questo caso specifico si è misurato l'andamento della temperatura di campioni, contenente al loro interno coloranti azoici, dotati di *shape memory*. Una volta che questi vengono irraggiati, viene misurato un incremento di temperatura durante il recupero della forma iniziale dovuto proprio al cambiamento configurazionale trans *cis* dei coloranti azoici.⁹⁵

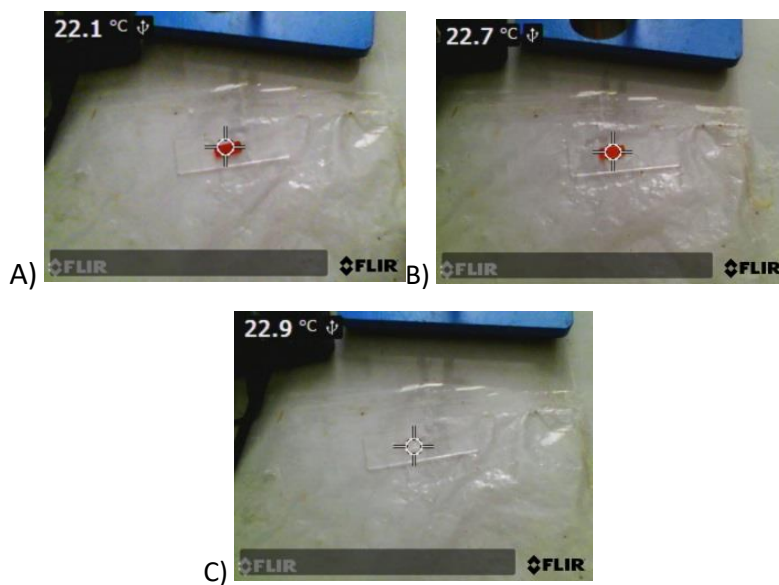
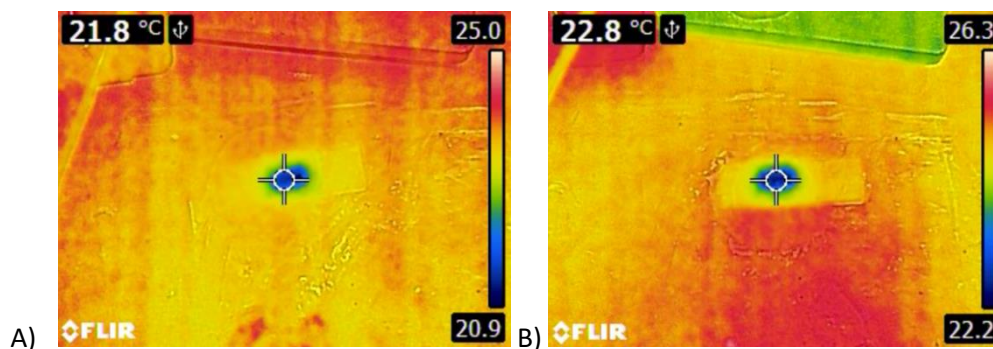


Fig 5.22 Immagini iniziali prova termica campioni di A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA+DR1, C) PVA-MA



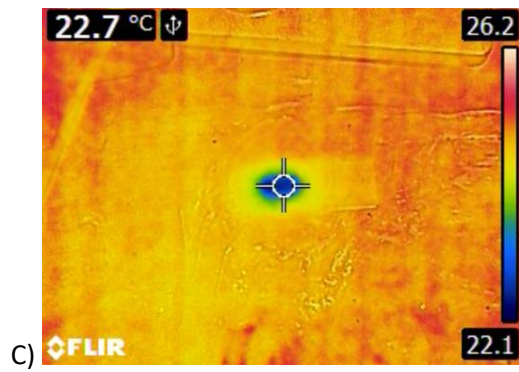


Fig 5.23 Prova termica campioni di A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA+DR1, C) PVA-MA dopo 5 minuti di irraggiamento con luce verde

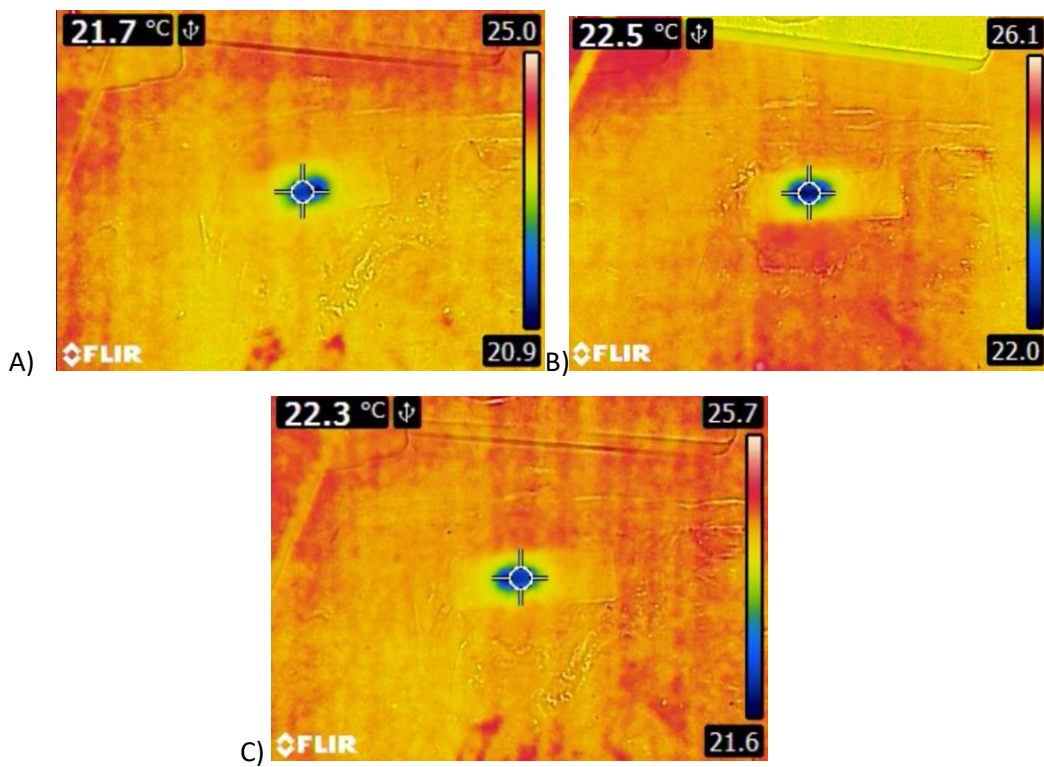
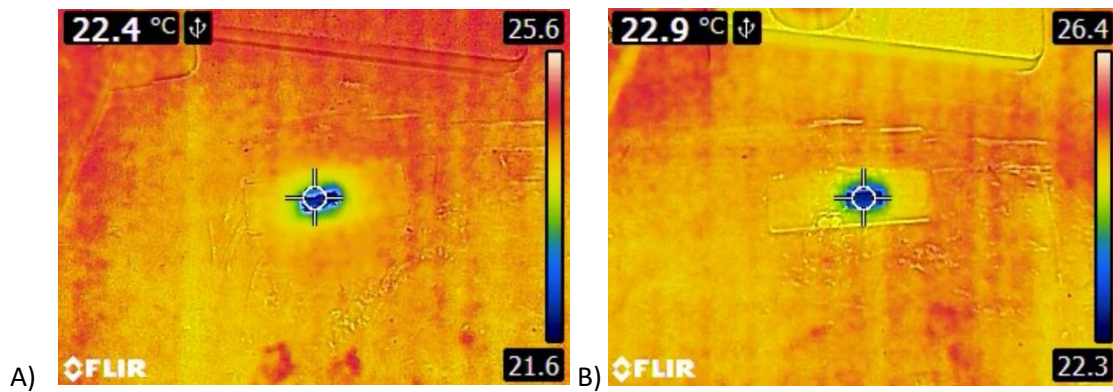


Fig 5.24 Prova termica campioni di A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA+DR1, C) PVA-MA dopo 15 minuti di irraggiamento con luce verde



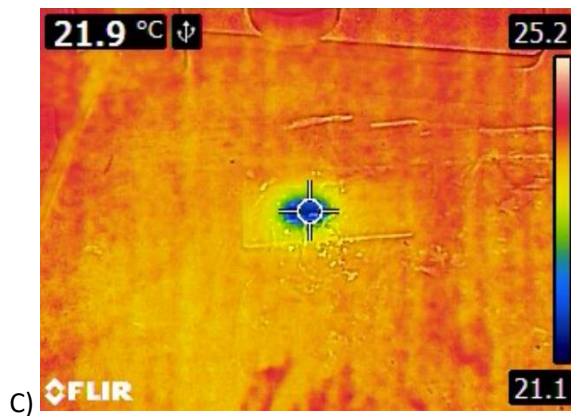


Fig 5.25 Prova termica campioni di A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA+DR1, C) PVA-MA dopo 5 minuti di irraggiamento con luce blu

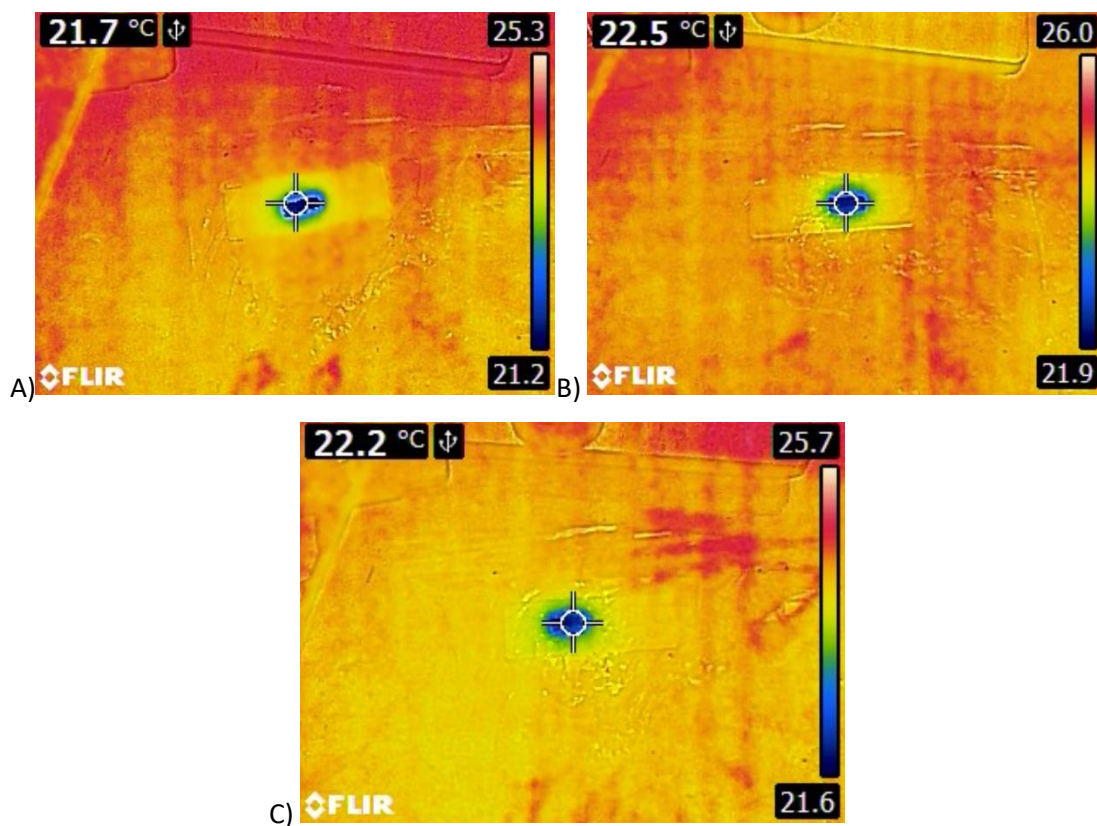


Fig 5.26. Prova termica campioni di A) PVA-MA+APAM, B) PVA-MA+DR1, C) PVA-MA dopo 15 minuti di irraggiamento con luce blu

Dalle immagini possiamo notare che nonostante l'irraggiamento del campione la temperatura rimane pressoché costante. Questo va in contrasto con alcune recenti pubblicazioni [cit] in cui era stato misurato un consistente aumento di temperatura.

D'altra parte l'effetto termico dei coloranti azo all'interno di matrici polimeriche è ancora piuttosto dibattuto nella comunità scientifica.

Gli esperimenti qui effettuati sembrano suggerire che all'interno di una matrice con alta mobilità, quale è un idrogel, la transizione cis trans possa avvenire senza costrizioni e quindi senza aumento di temperatura.

Questi dati sono interessanti per uno studio più di base sull'interazione tra azo e polimeri.

6. Conclusioni e prospettive future

Questo lavoro di tesi ha avuto come obiettivo la sintesi e la caratterizzazione di un idrogel autoriparante processabile attraverso Digital Light Processing (DLP), contenente un colorante azobenzenico metacrilato e funzionalizzato con gruppi pendenti di acido boronico. L'obiettivo è la realizzazione di un sistema che, se irraggiato con luce UV, favorisca la formazione di un legame dinamico estere di boronato; questo porta, possibilmente, a conferire proprietà di autoriparazione all'idrogel.

Nel primo capitolo sono stati discussi lo sviluppo e le attuali applicazioni dell'additive manufacturing, le differenze con le tecniche di produzioni classiche di tipo sottrattivo, i vantaggi e gli svantaggi rispetto a queste ultime, per poi passare a parlare della suddivisione e alla descrizione delle diverse tecniche di produzione AM, focalizzandosi poi sulle tecniche di fotopolimerizzazione a vasca (VAT) che, rispetto alle altre tecniche, garantiscono una migliore risoluzione di stampa, focalizzandosi a parlare, infine, della tecnologia utilizzata per il lavoro di tesi, ossia la DLP.

Nel secondo capitolo sono stati discussi, anzitutto, i diversi metodi di classificazione degli idrogel, i principali metodi di sintesi e le principali applicazioni nel settore industriale, focalizzandosi principalmente su quello biomedicale dove questi trovano largo uso sia per sistemi già in commercio sia per quelli ancora in fase di ricerca.

Nel terzo capitolo sono stati discussi i diversi metodi per conferire ad un materiale la capacità di self-healing, mettendo in risalto la differenza che vi è tra i sistemi con capacità di autoriparazione intrinseca ed estrinseca, elencando le tipologie di legami dinamici appartenenti a queste due categorie di sistemi. Ci si è, infine, focalizzati nella descrizione dei sistemi autoriparanti basati sui legami dinamici estere di boronato.

Nella parte sperimentale ci si è concentrati nella caratterizzazione di una formulazione in PVA-MA con un colorante azo funzionalizzato con un acido boronico e metacrilato; l'idea è stata quella di incorporare il colorante nella catena polimerica di PVA-MA in modo da creare un idrogel con capacità di autoriparazione indotta dalla luce.

Questa formulazione è stata messa a confronto con altre due formulazioni: una contenente il DR1-MA, un colorante sempre di origine azo, e un'altra solo in PVA-MA, quindi senza colorante.

La caratterizzazione è iniziata dalla reologia e dalla fotoreologia di queste formulazioni. I risultati hanno mostrato anzitutto che la viscosità di tutte e tre le formulazioni risulta essere bassa

abbastanza per essere utilizzate in un processo di stampa 3D; inoltre, le prove di amplitude sweep hanno mostrato una buona stabilità delle tre formulazioni per un ampio range di deformazione. Infine, le prove fotoreologiche hanno messo in risalto l'ottima reattività delle formulazioni, quando irraggiate con luce UV.

Le formulazioni sono risultate tutte stampabili 3D tramite tecnologia DLP. Inoltre, la presenza del colorante ha permesso un miglior controllo della reazione di polimerizzazione, permettendo la costruzione di campioni con geometrie più complesse e meglio definite. I materiali prodotti hanno mostrato un modulo elastico dell'ordine delle decine di kPa, confrontabile con quello di alcuni tessuti biologici come cervello, pelle, pancreas o milza; questo può far pensare di poter utilizzare questi materiali per applicazioni relative, ad esempio, alla rigenerazione di questi tessuti; tuttavia, studi di citocompatibilità sono necessari per validare l'utilizzo di questa formulazione per le applicazioni biomediche.

Le prove di swelling hanno messo in risalto, inoltre, una buona capacità da parte dei campioni di assorbire liquidi, risultano essere adatti anche ad applicazione utili al rilascio di farmaci in situ.

Dalle prove di self-healing, purtroppo, nessuno dei campioni testati nelle diverse condizioni descritte, ha mostrato capacità di autoriparazione. Proprio per questo motivo, preliminarmente si sono tentate delle modifiche alla formulazione, in particolare le principali modifiche sono state le seguenti:

- 1) Poiché, come visto già nel paragrafo 3.4., la stabilità del legame estere di boronato viene condizionata dal pH dell'ambiente esterno, si è pensato di far gocciolare all'interfaccia tra le superfici separate del campione, una soluzione di NaOH a pH 10, in modo da favorire la formazione del legame boronato estere;
- 2) In un secondo momento si è fatta una modifica alla metodologia di realizzazione della formulazione; in particolare modo, si è pensato di sostituire l'acqua distillata con la soluzione di NaOH in modo da favorire la formazione dei legami boronato estere;
- 3) Infine, si è pensato di aggiungere alla soluzione un reagente in più. Più specificatamente, si è inserito nella formulazione dell'HEMA (hydroxy ethyl methacrylate) in 10% w/w, in modo da favorire la formazione di legami idrogeno che, così come i legami estere di boronato, possono innescare il processo di autoriparazione del campione.

In tutti e tre i casi non si è raggiunto nel presente lavoro di tesi il risultato sperato.

Uno dei problemi principali, ipotizzati alla fine della sperimentazione, è quello della scarsa mobilità della catena del colorante APAM, dovuta principalmente alla piccola catena di metacrilazione

mostrata nel paragrafo 4.1.2, che limita i gruppi OH dell'acido boronico a formare l'estere e, di conseguenza, di permettere l'autoriparazione del sistema.

In relazione ai risultati conseguiti, sono state ipotizzate, per il proseguimento della ricerca, due ulteriori possibili modifiche della formulazione al fine di risolvere questo problema

- 1) Aggiungere delle catene lunghe idrofiliche, come ad esempio delle catene di PEG, che permettono sia di migliorare la mobilità del sistema sia di aumentarne l'idrofilicità, limitando l'effetto dovuto alla presenza del colorante;
- 2) Modificare la catena di metacrilazione, utilizzandone una più lunga, favorendo la mobilità della catena del colorante.

Bibliografia

- (1) Reddy, K. S.; Dufera, S. ADDITIVE MANUFACTURING TECHNOLOGIES.
- (2) Shahrubudin, N.; Lee, T. C.; Ramlan, R. An Overview on 3D Printing Technology: Technological, Materials, and Applications. *Procedia Manufacturing* **2019**, *35*, 1286–1296. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2019.06.089>.
- (3) *c4fe42fb7663415d09f21453e99ca5d40f4112f5 @ www.3dnatives.com.* (n.d.). <https://www.3dnatives.com/en/3d-printing-vs-cnc-160320184/#!>
- (4) Bandyopadhyay, A.; Bose, S.; Das, S. 3D Printing of Biomaterials. *MRS Bull.* **2015**, *40* (2), 108–115. <https://doi.org/10.1557/mrs.2015.3>.
- (5) Gokhare, V. G.; Raut, D. D. N. A Review Paper on 3D-Printing Aspects and Various Processes Used in the 3D-Printing. *International Journal of Engineering Research* **2017**, *6* (06).
- (6) Su, A.; Al'Aref, S. J. History of 3D Printing. In *3D Printing Applications in Cardiovascular Medicine*; Elsevier, 2018; pp 1–10. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803917-5.00001-8>.
- (7) Gao, W.; Zhang, Y.; Ramanujan, D.; Ramani, K.; Chen, Y.; Williams, C. B.; Wang, C. C. L.; Shin, Y. C.; Zhang, S.; Zavattieri, P. D. The Status, Challenges, and Future of Additive Manufacturing in Engineering. *Computer-Aided Design* **2015**, *69*, 65–89. <https://doi.org/10.1016/j.cad.2015.04.001>.
- (8) *what-is-stl-file @ www.3dsystems.com.* (n.d.). <https://www.3dsystems.com/quickparts/learning-center/what-is-stl-file>
- (9) Wohlers, T. T. *Wohlers Report 2009: State of the Industry Annual Worldwide Progress Report*; Wohlers Associates: Fort Collins, Col., 2009.
- (10) *a9bcc41438090681699eb110506c3c286ca0d93e @ www.sculpteo.com.* (n.d.). <https://www.sculpteo.com/blog/2016/05/25/when-is-3d-printing-the-best-solution-for-production/>
- (11) Attaran, M. The Rise of 3-D Printing: The Advantages of Additive Manufacturing over Traditional Manufacturing. *Business Horizons* **2017**, *60* (5), 677–688. <https://doi.org/10.1016/j.bushor.2017.05.011>.
- (12) Huang, S. H.; Liu, P.; Mokasdar, A.; Hou, L. Additive Manufacturing and Its Societal Impact: A Literature Review. *Int J Adv Manuf Technol* **2013**, *67* (5–8), 1191–1203. <https://doi.org/10.1007/s00170-012-4558-5>.
- (13) Molitch-Hou, M. Overview of Additive Manufacturing Process. In *Additive Manufacturing*; Elsevier, 2018; pp 1–38. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812155-9.00001-3>.
- (14) Mostafaei, A.; Elliott, A. M.; Barnes, J. E.; Li, F.; Tan, W.; Cramer, C. L.; Nandwana, P.; Chmielus, M. Binder Jet 3D Printing—Process Parameters, Materials, Properties, Modeling, and Challenges. *Progress in Materials Science* **2021**, *119*, 100707. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2020.100707>.

- (15) Ahn, D.-G. Directed Energy Deposition (DED) Process: State of the Art. *Int. J. of Precis. Eng. and Manuf.-Green Tech.* **2021**, *8* (2), 703–742. <https://doi.org/10.1007/s40684-020-00302-7>.
- (16) Gastaldi, M.; Cardano, F.; Zanetti, M.; Viscardi, G.; Barolo, C.; Bordiga, S.; Magdassi, S.; Fin, A.; Roppolo, I. Functional Dyes in Polymeric 3D Printing: Applications and Perspectives. *ACS Materials Lett.* **2021**, *3* (1), 1–17. <https://doi.org/10.1021/acsmaterialslett.0c00455>.
- (17) Angelats Lobo; Ginestra. Cell Bioprinting: The 3D-Bioplotter™ Case. *Materials* **2019**, *12* (23), 4005. <https://doi.org/10.3390/ma12234005>.
- (18) Sun, S.; Brandt, M.; Easton, M. Powder Bed Fusion Processes. In *Laser Additive Manufacturing*; Elsevier, 2017; pp 55–77. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100433-3.00002-6>.
- (19) Dermeik, B.; Travitzky, N. Laminated Object Manufacturing of Ceramic-Based Materials. *Adv. Eng. Mater.* **2020**, *22* (9), 2000256. <https://doi.org/10.1002/adem.202000256>.
- (20) Dilberoglu, U. M.; Gharehpapagh, B.; Yaman, U.; Dolen, M. The Role of Additive Manufacturing in the Era of Industry 4.0. *Procedia Manufacturing* **2017**, *11*, 545–554. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2017.07.148>.
- (21) Srivastava, M.; Rathee, S. Additive Manufacturing: Recent Trends, Applications and Future Outlooks. *Prog Addit Manuf* **2022**, *7* (2), 261–287. <https://doi.org/10.1007/s40964-021-00229-8>.
- (22) Bahnini, I.; Rivette, M.; Rechia, A.; Siadat, A.; Elmesbahi, A. Additive Manufacturing Technology: The Status, Applications, and Prospects. *Int J Adv Manuf Technol* **2018**, *97* (1–4), 147–161. <https://doi.org/10.1007/s00170-018-1932-y>.
- (23) Guo, N.; Leu, M. C. Additive Manufacturing: Technology, Applications and Research Needs. *Front. Mech. Eng.* **2013**, *8* (3), 215–243. <https://doi.org/10.1007/s11465-013-0248-8>.
- (24) Tehfe, M.; Louradour, F.; Lalevée, J.; Fouassier, J.-P. Photopolymerization Reactions: On the Way to a Green and Sustainable Chemistry. *Applied Sciences* **2013**, *3* (2), 490–514. <https://doi.org/10.3390/app3020490>.
- (25) Lantean, S. A Novel Approach to Fabricate Bioinspired Programmable Composite Materials: The 3D Printing Way.
- (26) Schmidleithner, C.; Kalaskar, D. M. Stereolithography. In *3D Printing*; Cvetković, D., Ed.; InTech, 2018. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78147>.
- (27) Lakkala, P.; Munnangi, S. R.; Bandari, S.; Repka, M. Additive Manufacturing Technologies with Emphasis on Stereolithography 3D Printing in Pharmaceutical and Medical Applications: A Review. *International Journal of Pharmaceutics: X* **2023**, *5*, 100159. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2023.100159>.
- (28) Salas, A.; Zanatta, M.; Sans, V.; Roppolo, I. Chemistry in Light-Induced 3D Printing. *ChemTexts* **2023**, *9* (1), 4. <https://doi.org/10.1007/s40828-022-00176-z>.
- (29) Gastaldi, M.; Cardano, F.; Zanetti, M.; Viscardi, G.; Barolo, C.; Bordiga, S.; Magdassi, S.; Fin, A.; Roppolo, I. Functional Dyes in Polymeric 3D Printing: Applications and Perspectives. *ACS Materials Lett.* **2021**, *3* (1), 1–17. <https://doi.org/10.1021/acsmaterialslett.0c00455>.
- (30) Magistrale, T. di L. Utilizzo di coloranti sensibili ad agenti nucleofili nello sviluppo di materiali stampabili 3D.

- (31) Bafana, A.; Devi, S. S.; Chakrabarti, T. Azo Dyes: Past, Present and the Future. *Environ. Rev.* **2011**, *19* (NA), 350–371. <https://doi.org/10.1139/a11-018>.
- (32) Chung, K.-T. Azo Dyes and Human Health: A Review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C* **2016**, *34* (4), 233–261. <https://doi.org/10.1080/10590501.2016.1236602>.
- (33) Benkhaya, S.; M'rabet, S.; El Harfi, A. Classifications, Properties, Recent Synthesis and Applications of Azo Dyes. *Heliyon* **2020**, *6* (1), e03271. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03271>.
- (34) Baroncini, M.; Ragazzon, G.; Silvi, S.; Venturi, M.; Credi, A. The Eternal Youth of Azobenzene: New Photoactive Molecular and Supramolecular Devices. *Pure and Applied Chemistry* **2015**, *87* (6), 537–545. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-0903>.
- (35) Purkait, M. K.; Sinha, M. K.; Mondal, P.; Singh, R. Photoresponsive Membranes. In *Interface Science and Technology*; Elsevier, 2018; Vol. 25, pp 115–144. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813961-5.00004-8>.
- (36) Caprioli, M. (n.d.). *Development and Fabrication of Self-Healing Hydrogels via Vat Photopolymerization 3D Printing Technology*.
- (37) Weis, P.; Wu, S. Light-Switchable Azobenzene-Containing Macromolecules: From UV to Near Infrared. *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, *39* (1), 1700220. <https://doi.org/10.1002/marc.201700220>.
- (38) Lang, M.; Hirner, S.; Wiesbrock, F.; Fuchs, P. A Review on Modeling Cure Kinetics and Mechanisms of Photopolymerization. *Polymers* **2022**, *14* (10), 2074. <https://doi.org/10.3390/polym14102074>.
- (39) Li, Y.; Wang, W.; Wu, F.; Kankala, R. K. Vat Polymerization-Based 3D Printing of Nanocomposites: A Mini Review. *Front. Mater.* **2023**, *9*, 1118943. <https://doi.org/10.3389/fmats.2022.1118943>.
- (40) Bagheri, A.; Jin, J. Photopolymerization in 3D Printing. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2019**, *1* (4), 593–611. <https://doi.org/10.1021/acsapm.8b00165>.
- (41) Al Rashid, A.; Ahmed, W.; Khalid, M. Y.; Koç, M. Vat Photopolymerization of Polymers and Polymer Composites: Processes and Applications. *Additive Manufacturing* **2021**, *47*, 102279. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2021.102279>.
- (42) Bongiovanni, R.; Vitale, A. Vat Photopolymerization. In *High Resolution Manufacturing from 2D to 3D/4D Printing*; Marasso, S. L., Cocuzza, M., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2022; pp 17–46. https://doi.org/10.1007/978-3-031-13779-2_2.
- (43) Gonzalez, G.; Chiappone, A.; Dietliker, K.; Pirri, C. F.; Roppolo, I. Fabrication and Functionalization of 3D Printed Polydimethylsiloxane-Based Microfluidic Devices Obtained through Digital Light Processing. *Adv. Mater. Technol.* **2020**, 2000374. <https://doi.org/10.1002/admt.202000374>.
- (44) Hwang, T.-Y.; Choi, Y.; Song, Y.; Eom, N. S. A.; Kim, S.; Cho, H.-B.; Myung, N. V.; Choa, Y.-H. A Noble Gas Sensor Platform: Linear Dense Assemblies of Single-Walled Carbon Nanotubes (LACNTs) in a Multi-Layered Ceramic/Metal Electrode System (MLES). *J. Mater. Chem. C* **2018**, *6* (5), 972–979. <https://doi.org/10.1039/C7TC03576D>.

- (45) Quan, H.; Zhang, T.; Xu, H.; Luo, S.; Nie, J.; Zhu, X. Photo-Curing 3D Printing Technique and Its Challenges. *Bioactive Materials* **2020**, *5* (1), 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.12.003>.
- (46) Piedra-Cascón, W.; Krishnamurthy, V. R.; Att, W.; Revilla-León, M. 3D Printing Parameters, Supporting Structures, Slicing, and Post-Processing Procedures of Vat-Polymerization Additive Manufacturing Technologies: A Narrative Review. *Journal of Dentistry* **2021**, *109*, 103630. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2021.103630>.
- (47) Gross, B. C.; Erkal, J. L.; Lockwood, S. Y.; Chen, C.; Spence, D. M. Evaluation of 3D Printing and Its Potential Impact on Biotechnology and the Chemical Sciences. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (7), 3240–3253. <https://doi.org/10.1021/ac403397r>.
- (48) Li, W.; Wang, M.; Ma, H.; Chapa-Villarreal, F. A.; Lobo, A. O.; Zhang, Y. S. Stereolithography Apparatus and Digital Light Processing-Based 3D Bioprinting for Tissue Fabrication. *iScience* **2023**, *26* (2), 106039. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106039>.
- (49) Pagac, M.; Hajnys, J.; Ma, Q.-P.; Jancar, L.; Jansa, J.; Stefek, P.; Mesicek, J. A Review of Vat Photopolymerization Technology: Materials, Applications, Challenges, and Future Trends of 3D Printing. *Polymers* **2021**, *13* (4), 598. <https://doi.org/10.3390/polym13040598>.
- (50) Vermonden, T.; Klumperman, B. The Past, Present and Future of Hydrogels. *European Polymer Journal* **2015**, *72*, 341–343. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.08.032>.
- (51) Thakur, S.; Thakur, V. K.; Arotiba, O. A. History, Classification, Properties and Application of Hydrogels: An Overview. In *Hydrogels*; Thakur, V. K., Thakur, M. K., Eds.; Gels Horizons: From Science to Smart Materials; Springer Singapore: Singapore, 2018; pp 29–50. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6077-9_2.
- (52) Hoffman, A. S. Hydrogels for Biomedical Applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2012**, *64*, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.010>.
- (53) Ahmad, Z.; Salman, S.; Khan, S. A.; Amin, A.; Rahman, Z. U.; Al-Ghamdi, Y. O.; Akhtar, K.; Bakhsh, E. M.; Khan, S. B. Versatility of Hydrogels: From Synthetic Strategies, Classification, and Properties to Biomedical Applications. *Gels* **2022**, *8* (3), 167. <https://doi.org/10.3390/gels8030167>.
- (54) Ullah, F.; Othman, M. B. H.; Javed, F.; Ahmad, Z.; Akil, H. Md. Classification, Processing and Application of Hydrogels: A Review. *Materials Science and Engineering: C* **2015**, *57*, 414–433. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.07.053>.
- (55) Garg, S.; Garg, A. Hydrogel- Classification, Pro...
- (56) Bashir, S.; Hina, M.; Iqbal, J.; Rajpar, A. H.; Mujtaba, M. A.; Alghamdi, N. A.; Wageh, S.; Ramesh, K.; Ramesh, S. Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. *Polymers* **2020**, *12* (11), 2702. <https://doi.org/10.3390/polym12112702>.
- (57) Malpure, P. S., Patil, S. S., More, Y. M., & Nikam, P. P. (2018). A Review On- Hydrogel. *American Journal of PharmTech Research*, *8*(3), 41–61. <https://doi.org/10.46624/ajptr.2018.v8.i3.005>

- (58) Saini, K. Preparation Method, Properties and Crosslinking of Hydrogel: A Review. *5* (1).
- (59) Yahia, Lh. History and Applications of Hydrogels. *J Biomed Sci* **2015**, *04* (02).
<https://doi.org/10.4172/2254-609X.100013>.
- (60) Ali, F.; Khan, I.; Chen, J.; Akhtar, K.; Bakhsh, E. M.; Khan, S. B. Emerging Fabrication Strategies of Hydrogels and Its Applications. *Gels* **2022**, *8* (4), 205.
<https://doi.org/10.3390/gels8040205>.
- (61) Bryant, S. J.; Anseth, K. S. Hydrogel Properties Influence ECM Production by Chondrocytes Photoencapsulated in Poly(Ethylene Glycol) Hydrogels. *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *59* (1), 63–72. <https://doi.org/10.1002/jbm.1217>.
- (62) Hu, W.; Wang, Z.; Xiao, Y.; Zhang, S.; Wang, J. Advances in Crosslinking Strategies of Biomedical Hydrogels. *Biomater. Sci.* **2019**, *7* (3), 843–855. <https://doi.org/10.1039/C8BM01246F>.
- (63) Voorhaar, L.; Hoogenboom, R. Supramolecular Polymer Networks: Hydrogels and Bulk Materials. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (14), 4013–4031. <https://doi.org/10.1039/C6CS00130K>.
- (64) Su, J.; Li, J.; Liang, J.; Zhang, K.; Li, J. Hydrogel Preparation Methods and Biomaterials for Wound Dressing. *Life* **2021**, *11* (10), 1016. <https://doi.org/10.3390/life11101016>.
- (65) Schubert, U. S.; Eschbaumer, C. Macromolecules Containing Bipyridine and Terpyridine Metal Complexes: Towards Metallosupramolecular Polymers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41* (16), 2892. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020816\)41:16<2892::AID-ANIE2892>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020816)41:16<2892::AID-ANIE2892>3.0.CO;2-6).
- (66) Brassinne, J.; Jochum, F.; Fustin, C.-A.; Gohy, J.-F. Revealing the Supramolecular Nature of Side-Chain Terpyridine-Functionalized Polymer Networks. *IJMS* **2015**, *16* (1), 990–1007.
<https://doi.org/10.3390/ijms16010990>.
- (67) Zhang, K.; Xue, K.; Loh, X. J. Thermo-Responsive Hydrogels: From Recent Progress to Biomedical Applications. *Gels* **2021**, *7* (3), 77. <https://doi.org/10.3390/gels7030077>.
- (68) parhi, R. Cross-Linked Hydrogel for Pharmaceutical Applications: A Review. *Adv Pharm Bull* **2017**, *7* (4), 515–530. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.064>.
- (69) Nicol, E. Photopolymerized Porous Hydrogels. *Biomacromolecules* **2021**, *22* (4), 1325–1345. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c01671>.
- (70) Yao, H.; Wang, J.; Mi, S. Photo Processing for Biomedical Hydrogels Design and Functionality: A Review. *Polymers* **2017**, *10* (1), 11. <https://doi.org/10.3390/polym10010011>.
- (71) Li, X.; Xiong, Y. Application of “Click” Chemistry in Biomedical Hydrogels. *ACS Omega* **2022**, *7* (42), 36918–36928. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c03931>.
- (72) Li, Q.; Liu, C.; Wen, J.; Wu, Y.; Shan, Y.; Liao, J. The Design, Mechanism and Biomedical Application of Self-Healing Hydrogels. *Chinese Chemical Letters* **2017**, *28* (9), 1857–1874.
<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2017.05.007>.
- (73) Utrera-Barrios, S.; Verdejo, R.; López-Manchado, M. A.; Hernández Santana, M. Evolution of Self-Healing Elastomers, from Extrinsic to Combined Intrinsic Mechanisms: A Review. *Mater. Horiz.* **2020**, *7* (11), 2882–2902. <https://doi.org/10.1039/D0MH00535E>.
- (74) Strandman, S.; Zhu, X. X. Self-Healing Supramolecular Hydrogels Based on Reversible Physical Interactions. *Gels* **2016**, *2* (2), 16. <https://doi.org/10.3390/gels2020016>.

- (75) Qamar, I. P. S.; Sottos, N. R.; Trask, R. S. Grand Challenges in the Design and Manufacture of Vascular Self-Healing. *Multifunct. Mater.* **2020**, *3* (1), 013001. <https://doi.org/10.1088/2399-7532/ab69e2>.
- (76) Yang, M.; Wang, L.; Cheng, Y.; Ma, K.; Wei, X.; Jia, P.; Gong, Y.; Zhang, Y.; Yang, J.; Zhao, J. Light- and PH-Responsive Self-Healing Hydrogel. *J Mater Sci* **2019**, *54* (13), 9983–9994. <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03547-z>.
- (77) Wang, W.; Narain, R.; Zeng, H. Rational Design of Self-Healing Tough Hydrogels: A Mini Review. *Front. Chem.* **2018**, *6*, 497. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00497>.
- (78) Wang, Y.; Adokoh, C. K.; Narain, R. Recent Development and Biomedical Applications of Self-Healing Hydrogels. *Expert Opinion on Drug Delivery* **2018**, *15* (1), 77–91. <https://doi.org/10.1080/17425247.2017.1360865>.
- (79) Quan, L.; Xin, Y.; Wu, X.; Ao, Q. Mechanism of Self-Healing Hydrogels and Application in Tissue Engineering. *Polymers* **2022**, *14* (11), 2184. <https://doi.org/10.3390/polym14112184>.
- (80) Devi V. K., A.; Shyam, R.; Palaniappan, A.; Jaiswal, A. K.; Oh, T.-H.; Nathanael, A. J. Self-Healing Hydrogels: Preparation, Mechanism and Advancement in Biomedical Applications. *Polymers* **2021**, *13* (21), 3782. <https://doi.org/10.3390/polym13213782>.
- (81) Zhang, A.; Liu, Y.; Qin, D.; Sun, M.; Wang, T.; Chen, X. Research Status of Self-Healing Hydrogel for Wound Management: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules* **2020**, *164*, 2108–2123. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.109>.
- (82) Zhu, W.; Zhang, J.; Wei, Z.; Zhang, B.; Weng, X. Advances and Progress in Self-Healing Hydrogel and Its Application in Regenerative Medicine. *Materials* **2023**, *16* (3), 1215. <https://doi.org/10.3390/ma16031215>.
- (83) Gupta, D.; Gangwar, A.; Jyoti, K.; Sainaga Jyothi, V. G. S.; Sodhi, R. K.; Mehra, N. K.; Singh, S. B.; Madan, J. Self Healing Hydrogels: A New Paradigm Immunoadjuvant for Delivering Peptide Vaccine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2020**, *194*, 111171. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111171>.
- (84) An, S. Y.; Arunbabu, D.; Noh, S. M.; Song, Y. K.; Oh, J. K. Recent Strategies to Develop Self-Healable Crosslinked Polymeric Networks. *Chem. Commun.* **2015**, *51* (66), 13058–13070. <https://doi.org/10.1039/C5CC04531B>.
- (85) Yan, J.; Springsteen, G.; Deeter, S.; Wang, B. The Relationship among PKa, PH, and Binding Constants in the Interactions between Boronic Acids and Diols—It Is Not as Simple as It Appears. *Tetrahedron* **2004**, *60* (49), 11205–11209. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2004.08.051>.
- (86) He, L.; Fullenkamp, D. E.; Rivera, J. G.; Messersmith, P. B. PH Responsive Self-Healing Hydrogels Formed by Boronate–Catechol Complexation. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (26), 7497. <https://doi.org/10.1039/c1cc11928a>.
- (87) Wei, Z.; Yang, J. H.; Zhou, J.; Xu, F.; Zrínyi, M.; Dussault, P. H.; Osada, Y.; Chen, Y. M. Self-Healing Gels Based on Constitutional Dynamic Chemistry and Their Potential Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (23), 8114–8131. <https://doi.org/10.1039/C4CS00219A>.

- (88) Amaral, A. J. R.; Gaspar, V. M.; Mano, J. F. Responsive Laminarin-Boronic Acid Self-Healing Hydrogels for Biomedical Applications. *Polym J* **2020**, *52* (8), 997–1006. <https://doi.org/10.1038/s41428-020-0348-3>.
- (89) Accardo, J. V.; Kalow, J. A. Reversibly Tuning Hydrogel Stiffness through Photocontrolled Dynamic Covalent Crosslinks. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (27), 5987–5993. <https://doi.org/10.1039/C8SC02093K>.
- (90) Zhou, Y.; Zhang, C.; Liang, K.; Li, J.; Yang, H.; Liu, X.; Yin, X.; Chen, D.; Xu, W. Photopolymerized Water-Soluble Maleilated Chitosan/Methacrylated Poly (Vinyl Alcohol) Hydrogels as Potential Tissue Engineering Scaffolds. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, *106*, 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.002>.
- (91) [6339a8701a7499ae84aebd54142f47685386d6d1 @ www.asiga.com](https://www.asiga.com). (n.d.). <https://www.asiga.com/max/>
- (92) Akitsu, T.; Ishioka, C.; Itoh, T. Polarized Light Spectroscopy of Azobenzene or Disperse Red 1 with Mn12 Single-Molecule Magnets in PMMA Film Hybrid Materials. *Open Chemistry* **2009**, *7* (4), 690–696. <https://doi.org/10.2478/s11532-009-0075-2>.
- (93) Cafiso, D.; Septevani, A. A.; Noè, C.; Schiller, T.; Pirri, C. F.; Roppolo, I.; Chiappone, A. 3D Printing of Fully Cellulose-Based Hydrogels by Digital Light Processing. *Sustainable Materials and Technologies* **2022**, *32*, e00444. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2022.e00444>.
- (94) Liu, J.; Zheng, H.; Poh, P.; Machens, H.-G.; Schilling, A. Hydrogels for Engineering of Perfusable Vascular Networks. *IJMS* **2015**, *16* (7), 15997–16016. <https://doi.org/10.3390/ijms160715997>.
- (95) Gastaldi, M.; Spiegel, C.; Vazquez-Martel, C.; Barolo, C.; Roppolo, I.; Blasco, E. 4D Printing of Light Activated Shape Memory Polymers with Organic Dyes. *Molecular Systems Design & Engineering* **2022**. <https://doi.org/10.1039/D2ME00201A>.