

Opinnäytetyö (AMK)

Prosessi- ja materiaalitekniikka

2020

Pekka Alanne

3D-TULOSTETTAVAN KOMPOSIITIN KEHITYS MATALALÄMPÖSOVELLUKSIIN

Pekka Alanne

3D-TULOSETTAVAN KOMPOSIITIN KEHITYS MATALALÄMPÖSOVELLUKSIIN

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa Turun ammattikorkeakoulun käyttöön matalalämpöiseen 3D-tulostukseen sopiva materiaali. 3D-tulostus on moniulotteisten kappaleiden luomista käyttäen valmistustapaa, jossa tulostus tapahtuu lisäämällä materiaalia erilaisilla tekniikoilla kerroksittain toistensa päälle. 3D-tulostus on kasvava keino tuottaa monenlaisia tuotteita moninaisiin käyttötarkoituksiin ilmailusta biolääketieteeseen. Matalalämpöisessä 3D-tulostuksessa pystytään käsittelemään materiaaleja, jotka eivät kestäisi korkeita lämpötiloja.

3D-tulostuksen prosessi alkaa luomalla halutusta kappaleesta CAD-malli, jonka mukaan tulostin valmistaa kerros kerrallaan valmiin kappaleen. Tässä työssä käytettiin ekstruusio- eli pursotintulostinta. Tähän matalalämpötulostustapaan sopii materiaaliksi suspensio eli dispersion tyyppi, joka sisältää kiintoainepartikkeleja jatkuvassa nestefaasissa. Suspension stabiilisuuteen vaikuttavat erilaiset sähkökemialliset ilmiöt ja mahdolliset lisäaineet. Opinnäytetyössä orgaanista polymeeriä käytettiin reologian säätöön. Reologia on aineen virtauksen tutkimusta. Sen keskeisimmät mittaustavat ovat rotaatio- ja oskillaatiomittaus. Opinnäytetyössä keskityttiin käyttämään rotaatiomittausta.

Työ toteutettiin Turun ammattikorkeakoulun tiloissa käyttämällä 3D-tulostukseen Brinter multimateriaalitulostinta ja reologiaan Anton-Paar MCR 102 -reometriä. Materiaaleiksi valikoituivat gelatiini ja kalsiumkarbonaatti, niiden ominaisuuksien ja varman saatavuuden myötä. Työssä tutkittiin kalsiumkarbonaatti- ja kalsiumkarbonaatti-gelatiinisuspensioita vesiliuoksessa. Havainnoitiin suspensioiden tulostettavuutta erilaisilla kiintoainepitoisuuksilla. Osasta suspensioista tehtiin myös reologisia rotaatiomittauksia.

Tulosten mukaan reseptillä 50 %-m kalsiumkarbonaattia, 45 %-m vettä ja 5 %-m gelatiinia oli lupaavimmat ominaisuudet matalalämpöistä 3D-tulostusta ajatellen. Suspensio vaikutti säilyttävän ominaisuutensa ainakin kahden vuorokauden ajan oikein käsiteltynä. Haasteena oli suspension homogeenisuuden ylläpitäminen. Jatkotutkimuskohteena olisi mielenkiintoista tutkia materiaalin tulostusta lämmitetyllä ruisku-suutin-yhdistelmällä ja viilennettävällä alustalla.

ASIASANAT:

Matalalämpöinen 3D-tulostus, keraami, kalsiumkarbonaatti, gelatiini, reologia, Brinter, suspensio

BACHELOR'S THESIS ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Chemical and Materials Engineering

2020 | 45 pages

Pekka Alanne

DEVELOPMENT OF 3D-PRINTABLE COMPOSITE FOR APPLICATIONS IN LOW TEMPERATURE 3D-PRINTING

The purpose of this thesis was to create a novel 3D printable material for Turku University of applied sciences. In 3D printing the wanted object is made layer-by-layer until the wanted object is finished. 3D printing has applications in many different sectors from aviation to biomedical field. In low temperature 3D printing it is possible to use materials which do not tolerate high temperatures.

The 3D printing process starts when the object is first created with CAD software, and from this model the printer will manufacture the object one layer at a time until completion. In this thesis extrusion-based 3D printing technique was deployed. For this 3D printing technique a 3D printable suspension was created. In suspension, by definition, there are solid particles in continuous liquid phase. Many different factors have an influence on the stability of suspension such as different electrical phenomena and possible additives. In this thesis an organic polymer was used to adjust the rheological properties of the suspension. Rheology is the study of flow. Two of its most important ways to measure the flow are rotational and oscillatory tests. In this thesis, only rotational tests were used.

This thesis was created in the laboratory of Turku University of Applied Sciences. A Brinter multimaterial 3D printer was used to perform all the 3D printing tasks. and an Anton-Paar MCR 102 rheometer was used to study the rheology of the samples. The materials used were calcium carbonate and gelatin. These materials were chosen because of their availability and qualities in general. In this thesis the printability of calcium carbonate- and calcium carbonate-gelatin suspensions were studied.

The results show us that for 3D printability the best recipe contained 50 %-m of calcium carbonate, 45 %-m of water and 5 %-m of gelatin. The suspension also remained printable atleast 2 days after the creation of the material if properly handled. The challenge was to create a material that would stay homogenous long enough to create homogenous 3D-printed object. Interesting further research might include the use of a heatable chamber and nozzle and a cooled printing platform to minimize the effects on pre-mature gelation of the gelatin itself.

KEYWORDS:

low temperature 3D-printing, ceramic, calcium carbonate, gelatin, reology, Brinter, suspension

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	6
2 3D-TULOSTUS	7
2.1 Tulostusprosessit	7
2.2 Keraamien 3D-tulostus	10
2.3 Biomateriaalien 3D-tulostus	11
3 DISPERSIOT	13
3.1 Suspension valmistus	14
3.2 Sähkökemialliset ilmiöt suspensiossa	15
3.2.1 pH:n merkitys suspensioissa	15
3.2.2 Suolat	15
3.3 Elektroninen kaksoiskerros ja rakenne	16
3.3.1 Point of zero charge (PZC)	17
3.3.2 zeta-potentiaali	17
3.3.3 Isoelektroninen piste (IEP)	18
3.3.4 Dispersion stabiilisuus	18
4 REOLOGIA	20
4.1 Viskositeetti	20
4.2 Viskoelastisuus	21
4.3 Rotaatiomittaus	21
4.4 Oskillaatiomittaus	22
5 MATERIAALIT JA MENETELMÄT	24
5.1 Kalsiumkarbonaatti	24
5.2 Gelatiini	24
5.3 Reologiset menetelmät	25
5.4 Kalsiumkarbonaattisuspension valmistaminen	25
5.5 Kalsiumkarbonaatti-biopolymeerisuspensiot	27
6 TULOKSET JA POHDINTA	29
6.1 Kalsiumkarbonaattisuspensiot	29
6.2 Kalsiumkarbonaatti-biopolymeerisuspensiot	35
6.2.1 Jatkotutkimuskohteita	40

6.3 Päätelmät	41
7 LÄHDELUETTELO	43

KUVAT

Kuva 1 $\text{CaCO}_3\text{-H}_2\text{O}$ suspensio 66 %-m / 20 m.....	31
Kuva 2 Kalsiumkarbonaattia HCl-vesi liuoksessa (pH 2).....	32
Kuva 3 pH-mittaustuloksia	33
Kuva 4 $\text{CaCO}_3\text{-H}_2\text{O}$ suspensiot (pH arvot ennen CaCO_3 -lisäystä)	34
Kuva 5 Rotaatiomittaus tulokset CaCO_3 66 %-m (aikapisteet 2h, 2h-v2 sekä 3h)	35
Kuva 6 Epäonnistunut tulostus.....	36
Kuva 7. Lupaava tulos (50 %-m CaCO_3 , 45 %-m H_2O , 5 %-m gelatiini)	37
Kuva 8: Kuivunut tuloste	38
Kuva 9: Tuloste aikapisteessä 90 min.....	38
Kuva 10: Kuvan yhdeksän kappale kuvattuna ylhäältä	39
Kuva 11: Rotaatiomittaus: 50 %-m CaCO_3 / 45 %-m H_2O / 5 %-m gelatiinia eri aikapisteissä	40

TAULUKOT

Taulukko 1 Yleisimmät 3D-tulostus tekniikat keraameille (Chen, et al., 2019)	11
Taulukko 2 Ensimmäisissä testeissä käytetyt neste- ja kuivaainemäärät	26
Taulukko 3 Kalsiumkarbonaatti-biopolymeerisuspensioresepti	27
Taulukko 4 Kalsiumkarbonaatti-vesi suspension tulostettavuus käsin	30
Taulukko 5 Kalsiumkarbonaatti-vesi suspension tulostettavuus tulostimella	30

1 JOHDANTO

Työn tarkoituksena oli tutkia matalalämpöistä 3D-tulostusta ja luoda siihen sopiva yksinkertainen materiaali Turun ammattikorkeakoulun tarpeisiin. Matalalämpöinen 3D-tulostus on nopeasti kasvava poikkitieteellinen tieteenala, jonka käyttötarkoitukset ovat laajat tekniikan ja osaamisen kehittyessä. Eräs kiinnostavimmista matalalämpöisen 3D-tulostuksen tutkimuskohteista on biotulostus ja biomateriaalit.

Materiaalia valittaessa haluttiin löytää samankaltaiset aineet, kuin hydroksiapatiitti ja kollageeni, samalla haluttiin varmistaa hyvä saatavuus. Valittu materiaali koostui gelatiinista ja kalsiumkarbonaatista, jotka täyttävät edellä mainitut kriteerit. Tärkeää materiaalia valittaessa on, että kappaleen ja sen liukoisuustuotteiden tulee olla ihmiselle ja soluille haittomia ja myrkyttömiä. Tuotteella pitää myös olla oikeanlainen koostumus, jotta sen tulostaminen onnistuu tietyssä ajassa tai lämpötilassa tarkoitukseen sopivasti, esimerkiksi orgaanista ainetta tulostettaessa. Materiaalia voidaan myös hyödyntää esimerkiksi lämpökäsittelmällä sitä tulostuksen jälkeen, jolloin lämpötilasta riippuen saadaan erilaisia tuloksia. Esimerkiksi orgaanista materiaalia voidaan käyttää pelkästään reologian säätöön ja valmiista tulostuksesta se voidaan poistaa kuumentamalla.

Työ toteutettiin kokonaan Turun AMK:n tiloissa Brinter multimateriaalitulostinta sekä Anton-Paar MCR 102 -reometriä käyttämällä.

2 3D-TULOSTUS

3D-tulostuksessa tulostetaan kolmiulotteisia kappaleita lisäämällä materiaalia kerroksittain toistensa päälle. 3D-tulostuksen historia alkaa 1980-luvulla, jolloin Charles Hull patentoi ensimmäisen hyväksytyn patentin koskien 3D-tulostusta. Hull keksi käyttää pöydän pinnoitteena aikaisemmin ollutta photopolymeeriä kolmiulotteisten kappaleiden tulostukseen. Näin oli syntynyt ensimmäinen 3D-tulostustekniikka stereolitografia (SLA). 3D-tulostamisen hyötyjä ovat esimerkiksi suunnittelun vapaus, vähäinen jätemäärä, prototyyppien nopea valmistus, monimutkaisten kappaleiden toteuttaminen sekä mahdollisuus luoda yksilöllisiä tuotteita, jotka pystytään valmistamaan massatuotantonopeudella. (Ngo, et al., 2018) Välttämättä valitusta tekniikasta, 3D-tulostus alkaa halutun kappaleen mallinnuksesta tietokoneella 3D-suunnitteluohjelmalla (esimerkiksi SolidWorks). Tämän jälkeen kyseinen kappale tallennetaan *.STL (Standard tessellation language) tiedostomuotoon. STL muodossa kappaleesta tallentuvat koneelle sen pintamuodot kolmioinnin avulla (Hakala, 2018). Seuraavaksi tulostin käyttää ohjelmaa, joka viipaloi mallin valittujen parametrien mukaiseksi (*engl. Slicer*). Tämän jälkeen printteri muuttaa mallin G-koodiksi, joka on yleisin koneistuksessa (esim. CNC) käytetty koodi. G-koodi kertoo tietokoneelle jatkuvasti, missä kohtaa ja millä korkeudella suutin on tulostusalueella. G-koodi kertoo tulostimelle myös muut perusparametrit, kuten tulostusnopeuden sekä printattavan materiaalin syöttönopeuden.

2.1 Tulostusprosessit

Sidosaineruiskutus (Binder Jetting)

Sidosaineruiskutus on tulostustapa, jossa kappale muodostetaan käyttäen jauhetta ja sidosainetta. Yleensä tulostus tapahtuu levittämällä jauhetta, yleensä keraami tai metalli, tasaisesti kappaletta itseään laajemmalle alueelle, jonka jälkeen levitettävä sidosaine tulostetaan haluttavan kappaleen muotoon. Näitä kahta askelta toistamalla luodaan valmis kappale. Useasti tällä tekniikalla saadut tulosteet ovat vielä keskeneräisiä (*engl. green*) ja lämpökäsittely on tarpeellista. Tekniikan huonona puolena voidaan pitää sen tuottamaa ylijäämämateriaalia, joka poistetaan yleensä lopuksi paineilmalla. (Shahrubudin, et al., 2019)

Materiaaliruiskutus (Material Jetting)

Materiaaliruiskutuksessa kappale tulostetaan ruiskuttamalla pieniä photosensitiivisiä tippoja tai tulostamalla yhtenäistä nauhaa kerroksittain. Jokainen valmis kerros usein kovetetaan valolla, jonka jälkeen voidaan tulostaa toinen kerros tämän päälle. Materiaaliruiskutuksella saadaan pinnaltaan sekä mittasuhteiltaan hyvin tarkkoja mallinmukaisia kappaleita. Materiaaliruiskutusta varten on saatavilla hyvin laaja valikoima erilaisia materiaaleja, esimerkiksi keraameja, polymeerejä, komposiitteja ja erilaisia orgaanisia ja hybridimateriaaleja. (Shahrubudin, et al., 2019)

Nesteenpolymerointi (Vat Polymerization)

Nesteenpolymerointitulostuksessa käytetään altaassa olevaa photopolymeeriä, joka selektiivisesti kovetetaan UV-valon avulla. Tähän 3D-tulostusprosessiin kuuluvat mm. SLA-tekniikka (stereolitografia-tekniikka), jossa materiaali kovetetaan kerros kerrokselta UV-laserin ja peilien avulla, sekä DLP-tekniikka (suoravaloprosessointi), jossa UV-laserin sijaan käytetään tavanomaisempaa valonlähdettä esimerkiksi LCD-valoa koko tulostusalueella. Nesteenpolymerisoinnissa tulostusmateriaali on aina nestemäisessä muodossa ja kappaleen muodostumiseen vaikuttaa huomattavasti materiaalin lisäksi aallonpituus, valovoima sekä kovettamiseen käytetty aika. (Shahrubudin, et al., 2019)

Jauhepetimenetelmä (Powder Bed Fusion)

Jauhepetimenetelmässä käytetään nesteen sijaan jauhetta, esimerkiksi metalli- tai keraamijauhetta, kappaleen raaka-aineena. Tässä menetelmässä jauhe joko sulatetaan tai fuusiodaan kerros kerrokselta, jonka jälkeen se muodostaa halutun kiinteän kappaleen. Tähän menetelmään kuuluvia tekniikoita ovat SLS (Selective Laser Sintering), SHS (Selective Heat Sintering) ja EBM (Electronic Beam Melting). Nämä tekniikat sopivat keskenään hieman erilaisiin materiaaleihin. SLS-tekniikkaa voidaan käyttää keraameihin, muoveihin ja metalleihin. Tällöin valittu jauhe fuusiodaan toisiinsa voimakkaan laserin avulla lämmittämällä se juuri sulamispisteensä alapuolelle. SHS-tekniikassa taas jauhe lämmitetään suoraan tulostimessa olevalla lämmittimellä. Metodi on käytössä termoplastisten materiaalien kanssa, joissa voidaan käyttää lämmitettyä tulostuspäätä kerroksien luomiseen voimakkaan laserin sijaan. EBM-tekniikka tarjoaa keskitetyn elektronisäteiden ja hyvin tehokkaan tavan tuottaa lämpöä laserin sijaan. EBM-tekniikka on energiatehokkaampi, kuin vanhempi SLS-tekniikka. (Shahrubudin, et al., 2019)

Laminointimenetelmä (Sheet Lamination)

Laminointimenetelmässä kappale tulostetaan ohuina laminaatteina, yleensä rullan avulla, toistensa päälle ja jokaisen kerroksen jälkeen laminaattilevyt yhdistetään toisiinsa materiaalista riippuen käyttämällä lämpöä tai esimerkiksi ultraääntä kerrosten kiinnittämiseen toisiinsa. (Shahrubudin, et al., 2019)

Materiaalin ja lämmön suorakohdistusmenetelmä (Direct Energy Deposition)

Materiaalin ja lämmön suorakohdistusmenetelmää eli DED-menetelmää käytetään yleisimmin jo olemassa olevan kappaleen korjaamiseen tai materiaalin lisäämiseen kappaleeseen. Tekniikassa suuttimeen syötetään esimerkiksi metalli- tai keraamijauhetta, joka fuusioituu kerroksittain laserin tai elektronisuihkun avulla kokonaiseksi kappaleeksi. Metodin etuna on sen kyky tulostaa poikkeuksellisen suuria, jopa metrien kokoisia, kappaleita ja se onkin käytössä ilmailu- ja öljyteollisuudessa. (Shahrubudin, et al., 2019)

Materiaalipursotus (Materials Extrusion)

Pursotuksella tarkoitetaan tekniikkaa, jossa pursotukseen tarvittava paine tuotetaan männällä tai ruuvilla yleensä pneumaattisesti tai sähköisesti. Tekniikan etuja ovat edullisuus ja mahdollisuudet matalalämpöisessä 3D-tulostuksessa. Materiaalin pursotuksella pystytään tulostamaan muoveja, elintarvikkeita tai esimerkiksi soluja. Eräs tunnetuimmista pursotusmenetelmistä on FDM (Fused Deposition Modelling), jossa muovifilamenttia sulatetaan tulostimen suuttimessa juuri ennen tulostusta, jonka jälkeen se kovettuu kerros kerrokselta muodostaen kiinteän kappaleen. Toinen pursotukseen ja matalalämpötulostukseen liitettävä termi on suoramustetulostus (DIW). (Shahrubudin, et al., 2019)

Tässä työssä käytettiin yksinomaan DIW-pursotusmenetelmää, jossa materiaalia ei erikseen tarvinnut lämmittää vaan se voitiin tulostaa huoneenlämmössä. Tässä matalalämpöiseksi 3D-tulostukseksi kutsutussa metodissa tulostettavalla materiaalilla on niin korkea viskositeetti, että se tulostuu yhtenä nauhana, tuottaen yhtenäisen kappaleen (Shahrubudin, et al., 2019). Tässä työssä materiaali valmistettiin keraamista (kalsiumkarbonaatti) sekä orgaanisesta aineesta (gelatiini).

2.2 Keraamien 3D-tulostus

Keraamit ovat eräs mielenkiintoisimmista tutkimuskohteista 3D-tulostuksen parissa. Keraameita käytetään monilla eri aloilla, kuten kemianteollisuudessa, konetekniikassa, sähkötekniikassa, ilmailu- ja avaruusteollisuudessa sekä biolääketieteessä. Keraamimateriaaleja käytetään käyttötarkoituksesta riippuen esimerkiksi niiden mekaanisen kestävyys-, lämmönkestävyyden ja kemiallisen kestävyys- takia. Eräitä keraamien käyttötarkoituksia ovat eristeet, optiikka ja niiden magneettiset ominaisuudet. Keraamisia komponentteja voidaan valmiista esimerkiksi jauheesta, johon tarkoituksen mukaan saataan lisätä erilaisia lisäaineita. Keraamin sisältävä seos käy yleensä läpi valmistusprosessin, kuten esimerkiksi ruiskuvalun, meistikprässäämisen, kasettivalun ja geelivalun. Ruiskuvalussa keraami ruiskutetaan tavallisesti hyvin kuumana suljettuun muottiin, jossa kappale jäähtyy täysin ennen irrottamista. Meistikprässäämisessä keraami asetetaan haluttuun muottiin, jossa siihen kohdistetaan suuri paine. Kasettivalussa kaadetaan hyvin ohut kerros keraamia alustalle (kasettiin) ja täten voidaan tuottaa erittäin ohuita kappaleita. Geelivalu yleensä pitää sisällään keraamin sekä orgaanisen komponentin, jolla keraami geelautetaan muottiin ja käyttötarkoituksesta riippuen orgaaninen aine poistetaan lämpökäsittelyllä. Näiden perinteisten menetelmien haittapuolia ovat niiden suhteellinen kalleus, aikaavievyys ja monimutkaisten muotojen valmistamiseen liittyvät rajoitukset. Yleisesti valutekniikoilla on mahdoton valmistaa kappaleita, joiden sisällä tarvitsee olla monimutkaista avointa tilaa, kuten erikokoisia risteäviä aukkoja tai monimutkaisia tarkkoja muotoja. Tällaisia muotoja on kallista ja vaikeaa työstää myös valmiista keraamikappaleesta. (Chen, et al., 2019)

Keraamien 3D-tulostusta kokeiltiin jo 1990-luvulla ja tietotekniikan sekä tiedon kehittymisen myötä keraamien 3D-tulostaminen on sittemmin yleistynyt. 3D-tulostaminen poistaa useita aikaisemmin rajoitteena olleita asioita. Keraamien 3D-tulostaminen on mahdollista useimmilla tulostustekniikoilla. Tulostustekniikka riippuu yleensä käytetystä materiaalista (TAULUKKO 1). (Chen, et al., 2019)

Taulukko 1 Yleisimmät 3D-tulostus tekniikat keraameille (Chen, et al., 2019)

Materiaalin muoto:	3D-tulostuksen muoto:	Yleinen lyhenne:
Massa- tai geelipohjaiset:	Stereolitografia	SLA
	Suoravaloprosessointi	DLP
	Kaksi-fotoni polymerisaatio	TPP
	Mustesuihkutulostus	IJP
	Suoramustetulostus (pursotus)	DIW
	Sidosaineruiskutus	3DP
Jauhepohjaiset:	Lasersintterointi	SLS
	Lasersulatus	SLM/SHS
Kiinteä materiaali:	Laminointimenetelmä	LOM
	(kuuma)pursotus	FDM

Huomattavaa on, että keraamien 3D-tulostamiseen voidaan käyttää tarkoituksesta riippuen miltei kaikkia 3D-tulostamisen päätyyppejä. Kappaleen lopullinen käyttötarkoitus ratkaisee käytetyn tekniikan ja käytetyn keraamin. Eri tekniikoilla on rajoitteet minkälaisia konsentratiota voidaan tulostaa. Esimerkiksi DIW-menetelmällä voidaan saavuttaa tasainen laatu aina 60 vol % asti, jos massa valmistetaan vesipohjaiseen polymeeriä sisältävään liuokseen. DLP-tekniikalla taas on pystytty tulostamaan kappaleita, joiden suhteelliset osuudet ovat olleen 97-99% zirkonium / alumiinikappaleille, 90% Biolasi / alumiinikappaleille sekä tricalciumfosfaatille 50% (β -TCP). (Chen, et al., 2019)

Opinnäytetyössä käytettiin ainoastaan pursotusmenetelmää (DIW), joka sopii hyvin orgaanisia komponentteja sisältäviin tulostuksiin, joissa materiaali ei kestä suurta lämpöä tai esimerkiksi UV-valon läsnäoloa.

2.3 Biomateriaalien 3D-tulostus

Biomateriaalilla tarkoitetaan synteettistä tai orgaanista materiaalia, jota voidaan käyttää elävän kudoksen yhteydessä, kuten keinoonivelissä (Merriam-Webster, ei pvm). Viime

vuosikymmenien aikana on pyritty kehittämään 3D-tulostettavia materiaaleja käytettäväksi biolääketieteen sovelluksissa. Biomateriaaleja voidaan tulostaa käytännössä kaikilla jo mainituilla tulostusmateriaaleilla riippuen niiden käyttötarkoituksesta. (Wang, et al., 2016)

3D-tulostus, tai 3D-biotulostus, on lupaava biomateriaalien luomisen väline, sillä CAD-mallin pohjalta voidaan luoda hyvin tarkat parametrit tulostettavien solujen tai materiaalien sijainnille kappaleessa. Biomateriaalien tulostus toimii samankaltaisesti, kuin mikä tahansa muu 3D-tulostaminen. Tulostusteknologian ja materiaalin tulee olla sopivat, jotta oikeankaltainen lopputuote syntyy. Eräs suurista biotulostuksen mahdollisuuksista on elävän materiaalin tulostus yhdistettynä 3D-tulostamisen mahdollistamaan tarkkuuteen. Wang et. al esittää kolme päätyyppiä orgaanisen materiaalin ja solujen tulostamiseen. Nämä ovat mustesuihkutulostus, laserpohjaiset metodit ja pursotusmenetelmät. (Wang, et al., 2016) 3D-Biotulostuksen ensimmäisiä askeleita oli tuottaa kirurgeille kappaleita leikkausten visualisoimiseksi ennen varsinaista operaatiota. Nykyään 3D-biotulostusta käytetään implanttien valmistukseen, diagnostiikkaan, lääkeannosteluun ja kudosteknologian sovelluksiin. (Wang, et al., 2016)

3 DISPERSIOT

Dispersio tarkoittaa vähintään kahden aineen muodostamaa systeemiä, jossa aineet muodostavat homogeenisen (stabiilin tai epästabiilin) seoksen, dispersion. Dispersioilla on useita tyyppejä riippuen siitä, missä muodossa aineet ovat. Tyypit ovat emulsio, vaahto ja suspensio. Emulsioissa on nestepisaroita nestefaasissa ja niitä ovat esimerkiksi suurin osa voiteista. Vaahdossa on kaasua nesteessä tai kiintoaineessa, kylpyvaahto ja kiinteät eristevaahdot ovat esimerkkejä tästä. Suspensiossa kiintoainefaasi on sekoittuneena nesteeseen, tähän tyyppiin kuuluvat mm. useat maalit (Tadros, 2014)

Geeli on dispersion alatyyppejä, jossa on koko näytteen pituisia polymeeriketjuja nesteessä. Nämä pitkät polymeeriketjut sitovat tai muuten estävät niiden välillä olevan veden virtaamisen. Geelitymiseksi kutsutaan reaktiota, jossa nestemäisessä muodossa oleva liuos muodostaa koko näytteen pituisia molekyyliketjuja. (Burkus & Temelli, 1998) On olemassa kaksi geelautumisen päätyyppiä, joita kutsutaan fysikaaliseksi ja kemialliseksi metodiksi. Fysikaalisessa metodissa polymeeriketjut yhdistyvät esimerkiksi vetysidoksin, tällainen on mm. gelatiini. Toinen geelautumistapa on kemiallinen tapa, tästä esimerkkinä on kalsiumionien lisääminen alginaattiliuokseen, jolloin muodostuu kovalenttinen geeli. Tämän kaltainen geelautuminen on peruuttamaton. (Lewis, 1990)

Komposiitti on eräs dispersion tyypeistä. Komposiitti on rakenne, jonka katsotaan koostuvan vähintään kahdesta materiaalista, matriisista ja lujittavasta faasista. Komposiitin voidaan sanoa olevan sekoitus joko nano-, mikro- tai makrokokoluokan aineita, joista valmistetulla materiaalilla on ominaisuuksia, joita millään komposiitin osilla ei yksinään ole. (Pech-Canul & Valdez, 2015)

Kolloideiksi kutsutaan dispersioita, jotka ovat joko sooleja (kiinteä / neste) tai aerosoleja (kiinteä tai neste / kaasu). Kolloidisessa dispersiossa partikkelikoko on aina pienempi kuin 1 μm . Täydellinen kolloidinen suspensio näyttää usein partikkelikokonsa vuoksi yhdestä faasista koostuvalta nesteeltä. (Tadros, 2014) (Brinker & Scherer, 1990)

Tässä opinnäytetyössä suspensioita tehtiin käyttäen kalsiumkarbonaattia ja gelatiini-vesi-seosta.

3.1 Suspension valmistus

Suspensiot voidaan jakaa kahteen päätyyppiin ja niiden valmistaminen taas voidaan jakaa puolestaan kahteen päätyyppiin. Ensimmäiseksi suspensiot pitää jakaa kiintoainepartikkelien hydrofobisuuden (useat keraamit, orgaaniset pigmentit jne.) tai hydrofiilisyyden (esim. silika) mukaan. Seuraavat kaksi päätyyppiä ovat valmistusmenetelmät, joita kutsutaan kondensaatio- ja dispersiometodeiksi. Kondensaatiometodeiksi kutsutaan tapoja, joissa nestefaasiin lisätyt aineet käyvät läpi nukleaation. Nukleaatio on näennäisesti spontaani reaktio, jossa metastabiilissa tilassa oleva liuos muodostaa sisäänsä uuden, kiinteän partikkeleiden faasin. (Tadros, 2014) Sooli-geelimenetelmä on esimerkki tämän tyyppisestä reaktiosta. Nanokokoisen silikan muodostuminen veteen tetraetyyliorthosilikaatin kanssa on esimerkki sooli-geelimenetelmän käytöstä. (Brinker & Scherer, 1990) (Tadros, 2014) Kaikki kolloidiset dispersiot eivät kuitenkaan toimi tällä tavalla. Esimerkiksi hydroksiapatiitin luominen sooli-geeli-metodilla tuottaa hyvin epästabiilin dispersion, jossa faasit erottuvat nopeasti toisistaan. Tämä erottuminen on haluttua silloin, kun kiintoaine halutaan säilyttää erikseen ilman sen ympäröivää nestettä. (Chang, et al., 2003)

Dispersiomenetelmän tarkoitus on lisätä valmis kuiva-ainepartikkeli suoraan nesteeseen. Dispersiomenetelmässä kiintoaine voi usein olla aggregoitunutta nesteeseen jouutuessaan, siksi kiintoaine dispergoidaan vielä tämän jälkeen voimakkaalla sekoituksella. Metodissa usein käytetään erilaisia dispersantteja eli dispersion muodostamista helpottavia aineita sekä erilaisia surfaktantteja eli dispersion stabilaatioon ja stabiilisuuteen vaikuttavia aineita. Käytettävät dispersantit ja surfaktantit riippuvat käytettävästä nesteestä ja kiintoainepartikkeleista. Dispersion kyky muodostaa stabiileja suspensioita on liittyväinen erilaisiin sähkökemiallisiin ilmiöihin, joihin liittyy mm. zeta-potentiaali, isoelektrinen piste sekä elektronin kaksoiskerros yleisesti. (Tadros, 2014)

Tässä opinnäytetyössä käytettiin dispersiomenetelmää suspension valmistamiseen. Suspension homogeenisuus pyrittiin varmistamaan käyttämällä sekoituksessa homogenisaattoria. Gelatiinia käytettiin suspension stabiloitumiseen

3.2 Sähkökemialliset ilmiöt suspensiossa

Sähkökemialliset ilmiöt ovat dispersioiden perusta. Dispersioiden perusta taas on sähköinen yhteensopivuus eri faasien välillä. Sähköinen vuorovaikutus on tärkein tekijä dispersioiden stabiilisuutta tai esimerkiksi kiintoaineen sakkautumista ajatellen. Jokaisessa partikkelissa on varaus ja käytännössä jokaisessa nestefaasissa on myös varaus. Nämä varaukset määräävät lopulta systeemin stabiilisuuden ja osan sen reologisista ominaisuuksista. (Tadros, 2014) Tärkeimmät huomioon otettavat ilmiöt ja parametrit on käyty lyhyesti läpi alla.

3.2.1 pH:n merkitys suspensioissa

pH on yleisesti eräs tärkeimmistä yksittäisistä parametreista suspensioita ja yleisimmin dispersioita valmistettaessa. Miltei jokaisella nesteellä on olemassa tietyt pH:lla mitattavissa olevat pisteet, joissa suspensio on stabiileimmillaan. Varsinkin kolloidisissa dispersioissa, jos kiintoaine on hyvin pientä, sähköisten vuorovaikutusten minimoiminen partikkelien välillä on erittäin tärkeää. pH vaikuttaa itsessään elektroniseen kaksoiskerrokseen sijaitseviin alueisiin (Shear plane). pH:n muutoksella halutaan usein saavuttaa mahdollisimman otolliset olosuhteet suspension / dispersion stabilisaatioon. (Tadros, 2014) (Brinker & Scherer, 1990) Yksin pH:lla voidaan vaikuttaa dispersioiden stabiilisuuteen, partikkelien tai partikkeliaggregaattien kokoon, niiden yleiseen sähkövaraukseen ja mm. geeliytymiseen. (Brinker & Scherer, 1990)

3.2.2 Suolat

Dispersion nestefaasiin lisätyt suolat vaikuttavat sähköisesti varautuneina atomeina tai molekyyleinä, ioneina. Suolan ionit vaikuttavat elektroniseen kaksoiskerrokseen. Erilaisia suoloja käyttämällä voidaan vaikuttaa esimerkiksi geelautumisaikaan. (Brinker & Scherer, 1990) Suolan lisääminen tarkoittaa ionivahduuden kasvattamista liuoksessa ja suolan ionit vaikuttavat suoraan suspension kiintoaineen käyttäytymiseen nesteen rajapinnassa. Suoloilla voi vaikuttaa aineesta ja nesteestä riippuen aineen reologiaan sekä sen stabiilisuuteen. Suoloja käytetään surfaktanttien adsorptiopotentiaalin kasvattamiseen, suspension kiintoaineen aggregoitumiseen flokkulaatioon sekä koaguloitumiseen.

Kun partikkeli on isoelektronisessa pisteessään (pH), suolan/elektrolyyttien lisääminen yleensä pyrkii destabiloimaan suspensiota. (Tadros, 2014)

Käytännössä suspensiossa kaksoiskerros luo repulsiivisen voiman toista partikkelia kohtaan, kun van der Waalsin voiman ajamana hiukkaset yrittävät aggregoitua keskenään. Van der Waalsin voima pysyy vakiona ionivahvuuden muuttuessa, kun taas kaksoiskerros repulsiivinen voima kasvaa ionivahvuuden eli potentiaalieron myötä. Jos nestefaasissa ei ole lainkaan tai on vain vähän elektrolyyttejä, on kaksoiskerros aiheuttama repulsiivinen voima vähäinen van der Waalsin voiman pysyessä vakiona. Tällöin esimerkiksi kolloidisissa dispersioissa tapahtuu yksittäisten partikkelien aggregoitumista, kun van der Waalsin voimat ja brownin liike voittavat kaksoiskerros repulsiivisen voiman. (Tadros, 2014)

3.3 Elektroninen kaksoiskerros ja rakenne

Kun kiintoainepartikkelin upottaa elektrolyyttejä sisältävään nesteeseen, kiintoaineen varaus vetää välittömästi puoleensa vastakkaisesti varautuneita ioneita ja tapahtumaketju luo elektronisen kaksoiskerros. Elektronisessa kaksoiskerrossa tapahtuvat kaikki suspension stabiilisuuteen vaikuttavat vuorovaikutusvoimat. Elektroninen kaksoiskerros alkaa partikkelin (kiintoaineen) pinnalta, jolla on yleensä joko negatiivinen tai positiivinen varaus. Suoraan pinnan päällä on toinen vastakkaisesti varautuneiden ionien kerros nimeltään Sternin kerros, joka tavallisesti on tiukasti kiinni kiintoaineessa. Tämän jälkeen saavutaan ulompaan kerrokseen, josta käytetään nimeä Shear (slipping) -kerros. Alue on varattu usein erilaisia varauksia omaaville ioneille nestekerroksessa, joka liukuu kiintoaineen mukana nesteen rajapinnassa. (Tadros, 2014)

Opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda mahdollisimman stabiili suspensio synteettisestä kalsiumkarbonaatista, vedestä ja orgaanisesta polymeeristä. Kalsiumkarbonaatin rae-
koko oli valmistajan mukaan max. 2 µm. Ymmärrys pintakemiallisista ilmiöistä on tärkeää yrittettäessä ymmärtää, kuinka stabiili $\text{CaCO}_3\text{-H}_2\text{O}$ suspensio voi olla ilman apuaineita. Kaksoiskerros luomat olosuhteet kertovat siitä, minkälainen stabilointitapa on mahdollinen kyseiselle suspensiolle. Kaksoiskerros yksin mahdollistaa partikkeleiden stabiloinnin, joko elektrostaattisesti, eli käyttämällä korkeaa kiintoaineen ja nesterajapinnan potentiaaliero (sähkövarausta) hyödykseen, tai molekyylin pinnan varauksen mahdollistamana kiinnittää eli adsorptoi apuaineita kiintoaineen pintaan. Jälkimmäinen on eräs

steerisistä stabilointi tavoista. (Tadros, 2014) Tässä opinnäytetyössä käytettiin stabilointiin orgaanista molekyyliä, joka auttoi stabiloimaan suspensiota ilman sen varsinaista adsorptoitumista keraamin pintaan.

3.3.1 Point of zero charge (PZC)

Point of zero charge on pintakemiallinen ilmiö, joka sijaitsee elektronisen kaksoiskerroksen Sternin kerroksessa. Jokaisen kiintoainepartikkelin pinnalla (suspensio) on siihen niin tiukasti kiinnittyneitä ioneita, että niiden katsotaan kuuluvan itse partikkeliin. Niitä kutsutaan potentiaalin määrittäviksi ioneiksi ja ilmiötä kutsutaan adsorptioksi, nesteen ionien kiinnitymiseksi kiintoaineen pintaan. PZC on riippuvainen nesteen pH:sta, eri aineissa PZC sijaitsee eri pH-arvoissa (esim. silika pH 2-3). PZC:n alapuolella olevilla pH-arvoilla partikkeli on positiivisesti varautunut ja sen yläpuolella negatiivisesti varautunut. (Tadros, 2014) Ainakin tietyissä tapauksissa PZC:n voidaan todeta olevan piste, jossa kiintoaineen pinta on sähköisesti inertti nestefaasin ionivahvuuden vaihtelusta huolimatta. (Alves & Lavorenti, 2005)

Esimerkiksi saostetun silikan PZC on määritetty olevan pH 2-3, joka voidaan todeta esimerkiksi käyttämällä eri konsentraation omaavia KCl-liuoksia ja tutkimalla missä pH:ssa sekä positiivisesti varautuneet K-ionit että negatiivisesti varautuneet Cl-ionit eivät kumpikaan adsorptoidu silikan pintaan. Suolan lisääminen (ionivahvuuden nostaminen) ja sen jälkeinen pH:n nostaminen tuottaa suuresti varautuneen hiukkasen vaikuttamatta dispersioiden stabiilisuuteen. Yksittäisten kiintoainepartikkelien stabiilisuuteen nestefaasissa vaikuttaa eniten kaksoiskerroksen ulompi kerros ja zeta-potentiaali. (Tadros, 2014)

3.3.2 zeta-potentiaali

Zeta-potentiaali sijaitsee elektronisen kaksoiskerroksen uloimmalla tasolla. Zeta-potentiaali mitataan kohdassa, jossa ”kiinteästi” kiintoainetta seuraava nestekerros (Slipping taso) kohtaa nesteen bulkkikerroksen. Tässä kohdassa nesteellä sekä kiintoaineella (mukaan lukien adsorption kautta siihen kiinnittyneet ionit nesteessä) on potentiaaliero. Tämän potentiaalieron yksikkö on millivoltti (mV). Mitä suurempi zeta-potentiaali dispersiolla on, sitä stabiilimpi se on ja sitä voidaan muokata helpoiten pH:ta muokkaamalla. Zeta-potentiaali on siis käytännössä kahden eri nestefaasin välinen potentiaaliero, eikä suoraan kiintoaineen pinnan ja nesteen potentiaaliero. (Tadros, 2014) Zeta-potentiaali

liittyy hyvin vahvasti nykyisin vallalla olevaan DLVO-teoriaan, joka yksinkertaisesti tarkoittaa, että dispersion stabiilisuus pystytään selittämään zeta-potentiaalilla. (Tadros, 2012)

3.3.3 Isoelektroninen piste (IEP)

Isoelektroninen piste on miltei aina kuvattavissa pH-arvolla. Tässä pH:ssa kiintoainepartikkelin nettovaraus on aina 0. Tämä käytännössä tarkoittaa sitä, että partikkelin eri osissa olevat sähköiset varaukset eivät ole 0, mutta yhteenlaskettuna näiden nettovaraus on 0. Täten siihen sähköisesti vaikuttavat voimat ovat minimissään, eli toiset partikkelit tai sähkökentät eivät vedä partikkelia itsessään puoleensa. Tämä arvo on useissa tapauksissa sama kuin PZC, mutta adsorptoituneet ionit kiintoaineen pinnalla vaikuttavat eriaivasti näihin kahteen ilmiöön. (Tadros, 2014)

3.3.4 Dispersion stabiilisuus

Dispersioiden stabiilisuuden määrittäminen on erittäin tärkeää, sillä se mahdollistaa monipuolisten tuotteiden, kuten lääkkeiden, maalien tai kosmetiikan valmistuksen. Kuten aiemmin on mainittu, van der Waalsin voimat ovat jatkuvasti läsnä dispersioissa ja täten stabiilisuuden saavuttaminen on suuresti kiinni sopivien repulsiivisten voimien tuottamisesta. Tämän repulsiivisen energian tuottamiseen on kaksi päätapaa, elektrostaattinen ja steerinen tapa. (Tadros, 2012)

Elektrostaattisessa vuorovaikutuksessa sähköinen kaksoiskerros luo repulsiivisen voiman, jota käytetään van der Waalsin voiman voittamiseen ja täten aggregoitumisen / flokkulaation estämiseen. Tätä repulsiivista voimaa voidaan säädellä nesteen ionivahvuutta säätämällä. Repulsio kahden kaksoiskerroksen välillä kasvaa eksponentiaalisesti shear-tasojen lomittuessa keskenään. Tämä voima lopulta ylittää van der Waalsin voiman ja pakottaa partikkelit erilleen. (Tadros, 2012) Elektrostaattista vuorovaikutusta kutsutaan pehmeäksi vuorovaikutukseksi. Tämä nimi johtuu siitä, miten partikkelien lähestymistä vastustavat voimat luovat kasvavan repulsiivisen voiman partikkelien lähestyessä toisiaan, kun taas erkaantuessaan niiden vuorovaikutus pienenee etäisyyden kasvaessa. Kaksoiskerroksen vuorovaikutuksen laajuus riippuu elektrolyyttien määrästä nesteessä, sekä sähköisesti vuorovaikuttavan surfaktantin mahdollisesta käytöstä. (Tadros, 2012)

Toinen tärkeä tapa suspensioiden stabilointiin on steerinen tapa. Steerisen repulsion luominen tapahtuu käyttämällä ei-ionista surfaktanttia (nonionic) tai vastaavasti käyttämällä molekyylin pintaan adsorptoituvia polymeerejä. Käytännössä surfaktantti toimii seuraavalla tavalla. Polymeerin toisella osalla on suuri affiniteetti adsorptoitua kiintoaineen pintaan ja polymeerin toinen osa taas on stabiloiva osa. Stabiloiva osa, jatkuvan faasin ollessa vettä, on hydrofiilinen ja se valitaan vallitsevan nestefaasin mukaan. Kyseinen kerros vuorovaikuttaa nestefaasin kanssa ottaen itseensä molekyylejä nestefaasista ja reaktio nestefaasin kanssa auttaa dispersiota stabiloitumaan valikoidussa nesteessä. Steerisen polymeerin voi ajatella sijoittuneen kuten karvat partikkelin pinnalla. Kun partikkelilla on polymeerikerroksen paksuus X ja etäisyys toiseen partikkeliin on pienempi kuin $2X$, aiheuttaa se tilapäisen polymeerimäärän nousun paikallisesti. Tämä kompressio aiheuttaa reaktio-vastareaktio-tyyppisen reaktion, joka tuottaa palautukseen suuren repulsiivisen voiman, täten voittaen van der Waalsin voiman. Tämä repulsiivinen voima estää partikkelien aggregoitumista ja sakkautumista tehden suspensiosta stabiilimman. (Tadros, 2012)

4 REOLOGIA

Reologia tarkoittaa aineen deformaation sekä virtauksen tutkimista. Reologia juontaa juurensa kreikan sanasta "rhein", joka tarkoittaa jonkin asian virtausta. (Mezger, 2011) (Goodwin & Hughes, 2008) Reologia on huomioitu omana tieteenalanaan vasta 1900-luvun alkupuolella, vaikka aineen ominaisuuksista oltiin kiinnostuneita jo aiemmin. Ensimmäisen askeleen kohti modernia reologiaa otti Robert Hooke (1678), joka esitti ensimmäisenä lineaarisen elastisuuden lain. Hän huomasi, että jousa venytettäessä voiman tuplaantuessa, myös jousen venymä tuplaantui. Tämä oli klassisen elastisuuden perusta. Isaac Newton esitti hypoteesin teoksessaan Principia, että "Vastus, mikä syntyy aineen liukkauden puutteesta on suoraan verrannollinen siihen vauhtiin millä nesteen osat erottuvat toisistaan". Myöhemmin termi "liukkauden puute" vaihdettiin termiin viskositeetti. Yleisin "liukkauden puutteen" käsitteeseen kuuluva aine on vesi. Kuitenkin vasta 1800-luvulla luotiin Navier-Stokes -yhtälöt, jotka loivat käsitteen: Newtonilainen neste. (Barnes, et al., 1993 (3rd edition)).

4.1 Viskositeetti

Kaikki virtaavat nesteet sisältävät molekyylejä, jotka liikkuvat suhteessa toisiinsa aiheuttaen sisäisen kitkan nesteen sisälle. Tätä kutsutaan viskositeetiksi ja se on pääsyy nesteiden pyrkimykselle vastustaa liikettä. Viskositeetin yksikkö on Pascal-sekunti. Newtonilaisessa nesteessä aineen viskositeetti pysyy aina samana, riippumatta siihen kohdistetusta paineesta. Ei-newtonilaisissa nesteissä aineeseen kohdistuvan paineen kasvaessa, kyseisen aineen viskositeetti muuttuu paineen funktiona. Ei-newtonilaisia nesteitä kutsutaan leikkausohentuviksi eli pseudoplastisiksi tai leikkauspaksuuntuviksi eli dilatanteiksi. Leikkausohentuvuus johtuu aineen makromolekyylien ja / tai partikkelien kyvystä järjestyä, kun siihen kohdistetaan voimaa. Esimerkiksi monet orgaanisia makromolekyylejä sisältävät nesteet ovat pseudoplastisia. Tämä johtuu siitä, että levossa toisiinsa ja itseensä sotkeutuneet molekyylit suoristuvat ja orientoituvat yhä enemmän siihen kohdistettavan voiman kasvaessa, tämä taas pienentää molekyylien välistä kitkaa ja täten vähentää viskositeettia. Leikkauspaksuuntuva neste taas ideaalitapauksessa toimii vastakkaisesti leikkausohentuvasta eli sen viskositeetti kasvaa huomattavasti newtonilaista nestettä nopeammin siihen kohdistettavan voiman lisääntyessä. (Mezger, 2011)

4.2 Viskoelastisuus

Aineella on kolme perusolomuotoa: kiinteä, neste ja kaasu. Kuitenkin aineilla eri muodoissaan voi olla toistensa ominaisuuksia eli kiinteällä aineella voi olla nestemäiselle ja nesteellä kiinteälle aineelle ominaisia ominaisuuksia. Näitä aineita kutsutaan viskoelastisiksi aineiksi. Reologia on siis viskoelastisen käyttäytymisen tutkimista. (Barnes, et al., 1993 (3rd edition)) (Mezger, 2011)

Käytännössä viskoelastiset (VE) aineet käyttäytyvät aina sekä viskoottisesti, että elastisesti. Viskoelastisia materiaaleja kuvataan erilaisilla yhtälöillä. Maxwellin mallia käytetään viskoelastisille nesteille ja Kelvin-Voight -mallia käytetään viskoelastisille kiinteille aineille. Viskoelastisille nesteille on myös ominaista, että sekoituksen yhteydessä nesteeseen voi muodostua vastakkaiseen suuntaan virtaavia virtauksia. Tämä on yhteydessä esimerkiksi Weissenbergin ilmiöön, jossa leikkausohentuva neste ei muodosta vortexia, kuten ideaali neste (newtonilainen) vaan pyrkii kiipeämään sekoitusvälinettä pitkin ylöspäin. (Mezger, 2011)

4.3 Rotaatiomittaus

Rotaatiomittaus tarkoittaa mittausta, jossa kahden tason väliin aseteltuun aineeseen kohdistetaan ulkoinen rotaationaalinen eli pyörivä voima. Reologian perussuureita ovat leikkausnopeus ja leikkausrasitus. Leikkausnopeus kuvastaa aineen sisäisen deformaation nopeutta. Leikkausnopeutta kasvattamalla saadaan selville, onko mitattava aine pseudoplastinen (leikkausohentuva), dilatantti (leikkauspaksuuntuva), newtonilainen tai onko kyseisellä aineella juoksevuusrajaa. (Mezger, 2011)

Leikkausnopeuden yksikkö on s^{-1} eli käänteislukusekunnit ja sen merkki on $\dot{\gamma}$ ja se lasketaan gammapiste. Leikkausrasituksen yksikkö on Pa (Pascal). Pascal on myös paineen yksikkö ja täten $100 \text{ Pa} = 1 \text{ mbar}$. Jos elastinen moduli osoittaa selvää dominanssia $G' > G''$, ovat usein viskositeettimittaukset turhia, sillä niitä ei voida suorittaa, ellei aine virtaa siihen voimaa kohdistettaessa. (Mezger, 2011)

4.4 Oskillaatiomittaus

Oskillaatiomittausta käytetään aineen ominaisuuksien tutkimiseen. Alle on kuvattu oskillaatiomittauksen termistöä.

G' , eli varastomoduli, kertoo viskoelastisen aineen varastoiman deformaatioenergian siltä ajalta, kun mittaus on käynnissä. Kun näytteeseen kohdistettava deformaiva voima (oskillaatio) rasittaa kappaletta, se varastoi tämän deformaivan energian itseensä. Jos aine on varastoinut kaiken siihen käytetyn energian, se pystyy jokaisen oskillaation lopuksi palautumaan alkuperäiseen muotoonsa. G' kuvastaa siis aineen elastisia ominaisuuksia. (Mezger, 2011)

G'' , eli häviömoduli, nimensä mukaisesti kuvastaa prosessin aikana kadonnutta eli dissipoitunutta energiaa. Energia katoaa, sillä viskoelastiseen aineeseen kohdistunut voima aiheuttaa molekyylien liikettä aiheuttaen kitkaa, joka taas puolestaan tuottaa lämpöä. Tämä viskoottinen lämpeneminen tuottaa energiahävikkiä. G'' kuvastaa aineen viskoottisia ominaisuuksia. (Mezger, 2011)

$\tan \delta$ (tan delta), eli häviötekijä, lasketaan yhtälöllä $\tan \delta = G''/G'$, joka kertoo aineen viskoottisen ja elastisen osan suhteesta toisiinsa. $\tan \delta$ on tärkeä esimerkiksi tutkittaessa soolin geelautumispistettä. Geelautumispiste on se piste, jossa geelautuminen tapahtuu, eli $\tan \delta = 1$ (45 astetta). Kun $G'' > G'$ eli viskoottinen moduli on dominoiva, tällöin $\tan \delta > 1$, kyseinen näyte omaa siis enemmän nestemäisiä ominaisuuksia. Kun taas $G' > G''$ eli elastinen moduli on dominoiva, tällöin $\tan \delta < 1$, kyseisellä näytteellä on siis enemmän kiinteän aineen ominaisuuksia. (Mezger, 2011)

Amplitudipyyhkäisyssä määritetään aineelle sopiva amplitudi. Amplitudilla tarkoitetaan käytännössä reometrin mittaukseen käyttämän liikeradan laajuutta. Tällä mittauksella määritetään yleensä lineaarinen viskoelastinen alue (LVE-alue). Tämä tarkoittaa amplitudialuetta, jolla näyte ei osoita suuria deformaation merkkejä. LVE-alueen ylittämisen pystyy näytteestä huomaamaan katsomalla G' -kuvaajaa. Kun G' -kuvaajan arvo näyttää poikkeavan lineaarisesta viivasta, voidaan testi vielä lopettaa ja näytettä mitata myöhemmin, usein amplitudisweeppi voidaan myös ajaa tämän rajan yli tahallisesti, jolloin kyseistä informaatiota voidaan käyttää seuraavan samanlaisen näytteen kanssa. Jos sekä G' ja G'' arvot ehtivät romahtaa, näyte deformoituu lopullisesti, eikä samaa näytettä enää voida käyttää myöhemmin. Amplitudipyyhkäisy tuottaa kuvaajan sekä G' sekä G'' -moduulille. (Mezger, 2011)

Frekvenssipyyhkäisy on oskillaatiomittaus, jossa mittauspään liikenopeutta kasvatetaan ajan funktiona amplitudin pysyessä vakiona. Frekvenssipyyhkäisyllä määritetään aineen lyhyen tai pitkän aikavälin reologinen käytös. Lyhyen aikavälin testiin käytetään nopeita frekvenssejä ja pidemmän aikavälin testiin hitaita. (Mezger, 2011)

5 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

Materiaaleina opinnäytetyössä on käytetty kalsiumkarbonaattia ja gelatiinia. Opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda materiaali, joka sisälsi keraamia ja orgaanista komponenttia. Tähän kalsiumkarbonaatti ja gelatiini sopivat erittäin hyvin tunnettujen ominaisuuksien sekä edullisuutensa ja saatavuutensa myötä. Materiaaleja on pääosin valmistettu ultraturrex -homogenisaattorilla ja ominaisuuksia tutkittu Anton-Paar MCR 102 -reometrillä sekä Brinter multimateriaalitulosimella.

5.1 Kalsiumkarbonaatti

Kalsiumkarbonaatti (CaCO_3) tunnetaan myös kalsiittina, aragoniittina sekä vateriittinä. Kalsiumkarbonaatti on yksi yleisimmistä maankuoren mineraaleista. Se on muodostunut vuosimiljoonien aikana erilaisista fossiileista ja esiintyy pääsääntöisesti liidussa ja kalkkikivessä. Kalkkikiven kalsiumkarbonaattipuhkaus voi olla jopa 98%. (Maier & Calafut, 1998)

Kalsiumkarbonaatti on käytetyin täyteaine muoviteollisuudessa ja paperiteollisuudessa. Kalsiumkarbonaatti on todettu erittäin hyväksi materiaaliksi, koska sitä on saatavilla luonnosta liki rajattomasti ja sitä voidaan myös valmistaa synteettisesti. Kalsiumkarbonaatti on erittäin vakaa termisesti, se pysyy vakaana aina 800 celsiusen lämpötilaan asti. (Mallick, 2000) Kalsiumkarbonaatin isoelektrinen piste on 7,3, jossa sen zeta-potentiaali on 0 (Tari & Ferreira, 1998).

5.2 Gelatiini

Gelatiini valmistetaan yleisesti teuraseläinten luista tai nahasta happo- tai emäskäsittelyn kautta. Nämä gelatiinin valmistustavat eroavat isoelektrisen pisteen (IEP) osalta. Hapokäsittelyn eli A tyypin gelatiinin IEP sijaitsee pH 5:ssä ja emäskäsittelyn eli tyypin B gelatiinin IEP sijaitsee pH 9:ssä. Tyypin A ja B gelatiinia voidaan laajasti käyttää gastro-nomiassa ja biolääketieteessä. (Zhang, et al., 2014)

Gelatiini valmistetaan kollageenista hydrolysoimalla. Hydrolysaation peruseriaatteena voidaan pitää aineen reagoimista veden kanssa joko happamassa tai emäksisessä ympäristössä. Kun reaktio-olosuhteet ovat oikeat, hydrolyysireaktio tapahtuu kokonaan tai osittain. Gelatiinia valmistettaessa hydrolysaatio on osittainen. Yleensä ruoan tuotantoon käytettävä gelatiini on tehty nahasta ja sen osista, kun taas lääketieteen sovelluksiin valmistettu gelatiini on aina valmistettu luusta tai rustosta. Gelatiini yleisesti sisältää 8-13 % jäännöskosteutta. Kun gelatiinia pidetään kylmässä vedessä, se imee vettä itseensä. Kun gelatiinia lämmitetään, se muodostaa veden kanssa liuoksen. Gelatiinin sulamislämpötila on 35 - 37 °C. Kun gelatiinin kuivattaa ja lämmittää n. 45 celsiusasteessa ja korkeassa kosteudessa, se menettää kykynsä imeä vettä itseensä uudestaan. Gelatiinin valmistuksessa onkin tärkeä muistaa, että sen lämmittäminen tekovaiheessa yli 40 celsiusasteen lämpötilaan saattaa hajottaa osan gelatiinista peruuttamattomasti. (GMIA, 2019)

Gelatiini valikoitui opinnäytyöhön, sillä sen ominaisuudet ovat hyvin tunnetut, se on edullista ja sillä on ominaisuus pysyä nestemäisenä pitkään ja valmiin geelin voi sulattaa uudelleen tarpeen vaatiessa. Gelatiinilla oli tärkeä osuus työssä reologian säätäjänä ja se toimi kalsiumkarbonaattia stabiloivasti vesiliuoksessa.

5.3 Reologiset menetelmät

Työssä käytettiin Anton-Paar MCR 102 -reometriä. Mittauksiin käytettiin suuren kuiva-ainepitoisuuden vuoksi levy-levy-metodia. Leikkausnopeus oli välillä 0-450 1 / s ja joidenkin mittausten aikana leikkausnopeus oli vakioasetuksilla 0-100 1 / s.

Mittaukset suoritettiin osalle kalsiumkarbonaattisuspensioita ja komposiittimateriaalille aikapisteessä 55 min, 75 min, sekä 90 min. Nämä aikapisteet valittiin, koska tällä aikavälillä komposiittinäytteet, silmämääräisesti arvioituna, saavuttivat gelatiinin geelautumisen kannalta optimaaliset olosuhteet tulostusta ajatellen.

5.4 Kalsiumkarbonaattisuspension valmistaminen

Ensimmäiseksi tutkittiin puhtaan kalsiumkarbonaatin ominaisuuksia vesiliuoksessa. Tämä vaihe työstä suoritettiin tutkimalla syntyneitä suspensioita silmämääräisesti sekä käyttämällä suutin-ruisku-yhdistelmää käsin. Kaikkien suspensioiden valmistamiseen

käytettiin Ultra-Turrax -homogenisaattoria. Homogenisaattorin tehtävä on tehokkaalla sekoituksella varmistaa suspension homogeenisuus eli tasalaatuisuus. Suspensiot valmistettiin dispersiometodilla eli lisäämällä kuiva-ainepartikkelit suoraan nesteeseen. Kaikkien suspensioiden sekoitukset aloitettiin homogenisaattorin ollessa nopeudella 8000 rpm. Tätä nopeutta nostettiin tarpeen mukaan aina n. 12000 rpm:ään asti.

Ensin tutkittiin, mikä olisi pienin tilavuus, jossa käytettävä astia olisi tarpeeksi pieni pitämään nestepinnan homogenisaattorin minimin yläpuolella ollen samalla tarpeeksi suuri, jotta kalsiumkarbonaatin vaatima tilavuus mahtuisi vielä astiaan. Nämä ensimmäiset testit on kuvattu taulukkoon 2.

Taulukko 2 Ensimmäisissä testeissä käytetyt neste- ja kuivaainemäärät

H ₂ O (ml)	CaCO ₃ (g)	CaCO ₃ (m-%)
10	22,5	69,2
20	40,0	66,6
30	62,5	67,5

Lopullinen sekoitusaika oli riippuvainen kalsiumkarbonaatin määrästä. Kalsiumkarbonaatin lisäys tehtiin lisäämällä sitä hitaasti nesteeseen. Lisäykset tehtiin noin 0,5-1 g kerrallaan ja tämä tapahtui aina kun edellinen kalsiumkarbonaatin lisäys oli kadonnut suspension pinnalta. Lisäykset tehtiin näin, koska tämä helpotti suspension sekoittumisen valvomista silmämääräisesti.

Silmämääräisesti tutkittiin kalsiumkarbonaatin käyttäytymistä, kun sitä lisätään vesimäärään nähden vain vähän. Tämä testattiin lisäämällä 2 g kalsiumkarbonaattia 100 ml sekä 250 ml dekanttereihin, jotka oli täytetty ultrapuhtaalla vedellä. Tutkimuksen tarkoitus oli demonstroida kalsiumkarbonaatin epästabiilia käyttäytymistä puhtaassa vesiliuoksessa.

Tutkittiin myös pH:n vaikutusta vesi-kalsiumkarbonaattiliuoksessa. Valmistettiin säilöpulloon pH 2 omaava vesiliuos käyttämällä 0,1 M HCl-liuosta pH:n säätöön. pH nostettiin tästä ylöspäin lisäämällä joukkoon 0,1 M NaOH. pH-sarja sisälsi pH 2, 4, 6, 7.3 ja 9 liuokset.

Tämän jälkeen liuoksen pH:ta mitattiin pH-papereilla samalla, kun kalsiumkarbonaattiliösäys tehtiin edellä mainitulla tavalla käyttäen homogenisaattoria ja lisäämällä kalsiumkarbonaattia vähän kerrallaan. Kalsiumkarbonaattikonsentraatioksi valikoitui 66 %-m,

jolloin suspensio on vielä sekoitettavaa. Käytetty resepti sisälsi 40 g kalsiumkarbonaattia ja 20 ml H₂O. Tämä kyseinen resepti oli ainoa pH-sarjaan käytetty, sillä käytössä olleilla välineillä tällä saatiin silmämääräisesti paras sekoitus kalsiumkarbonaatin lisäämisen aloituksesta loppuun asti. pH-paperia käytettiin, koska kalsiumkarbonaattisuspensio ei sovellu pH-anturille. Kyseiselle pH-sarjalle tehtiin rotaatiomittauksia, jotka suoritettiin samassa järjestyksessä, kuin missä suspensiot tehtiin, jotta kaikkiin mittauksiin saataisiin sama mittausajankohta, tämä aikapiste oli kaksi tuntia. Kahden tunnin aikapiste valikoitui käytännön syistä, koska näytteiden valmistamiseen ja testien valmisteleamiseen kului aikaa.

Valmistettiin myös eri konsentraatioita omaavia kalsiumkarbonaattisuspensioita ilman lisäaineita ja testattiin näiden tulostettavuutta käsin sekä printterissä. Kaikissa testatuissa tulostustesteissä veden määrä pidettiin 20 ml:ssa, kalsiumkarbonaatin pitoisuuden ollessa 40 g, 45 g, 50 g ja 62,5 g. Nämä pitoisuudet valikoituivat niiden silmämääräisen koostumuksen takia, pienimmän pitoisuuden (40 g) ollessa juuri tarpeeksi kiinteä tulostusta ajatellen ja suurimman pitoisuuden (62,5 g) ollessa jo hieman yli arvosta, jossa tulostuksen riittävyys voidaan enää varmistaa silmämääräisesti. Näitä suspensioita yritettiin tulostaa 0,22 mm sekä 0,41 mm suuttimien läpi.

5.5 Kalsiumkarbonaatti-biopolymeerisuspensiot

Suspensiot tehtiin printtausta varten käyttämällä gelatiinia kalsiumkarbonaatin stabiloimiseen ja reologian muokkaamiseen. Gelatiinin päätehtävänä oli muokata suspension reologiaa ja käyttötarkoituksesta riippuen toimia osana valmista kappaletta.

Taulukko 3 Kalsiumkarbonaatti-biopolymeerisuspensioresepti

materiaali:	määrä (g):	%-m
CaCO ₃	50	50
Gelatiini	5	5
H ₂ O	45	45

Kokeiltiin erilaisia valmistusmetodeita. Lisättiin hieman CaCO₃ kerrallaan gelatiiniliuokseen samalla sekoittaen 8000 rpm. Toinen suspensio tehtiin sekoittamalla gelatiini ja

kalsiumkarbonaatti keskenään valmistusastiaan ja kuiva-aineet sekoitettiin käsin. Kaadettiin päälle vesi (+4 °C) ja sekoitettiin käsin neste kuiva-aineiden päälle. Viiden minuutin kuluessa gelatiini on imenyt vettä itseensä ja on valmis sulatukseen. Liuos lämmitettiin yli 37 °C lämpötilaan (mitattu 37.5-42 °C) mikroaaltouunilla tai lämpöhauteella. Mikroaaltouunissa kokonaislämmitysaika ei noussut yli 10 sekuntiin, liuoksen lämpötila mitattiin 3 sekunnin välein varovaisen sekoituksen jälkeen. Lämmin suspensio homogenisoitiin sekoittamalla sitä 8000 rpm 5 minuutin ajan. Tehtiin myös kokeilu kuiva-aineiden lisäämisjärjestyksen vaikutuksesta itse tuotteeseen ja testattiin mahdollisesti huoneenlämpöisen veden käyttöä gelatiinin kanssa. Etsittiin aikapiste, jolloin geelautuminen on tapahtunut niin paljon, että tulostaminen on mahdollista.

Tehtiin myös kokeiluja, miten ikä vaikuttaa geelin / suspension stabiilisuuteen. Tällaisia testejä tehtiin ruiskussa geelautuneille näytteille, jotka olivat jopa kaksi viikkoa vanhoja. Testattiin myös miten uudelleen sulatettu komposiitti toimii tulostukseen. Uudelleen geelautumista kokeiltiin niin, että toinen tulostussäiliö geelautettiin staattisessa pidossa pöydällä ja toinen geelautettiin ravistimessa.

Alussa 3D-tulostimen perusparametrit olivat tehdasasetuksilla koskien tulostusnopeutta ja kerroksen korkeutta. Alkuperäinen kerroskorkeus oli 0,25 mm, tätä nostettiin 0,5 mm kalsiumkarbonaattisuspensiota tulostettaessa, jotta tulostuspää ei pikkuhiljaa uponnut tulosteeseen. Käytetty painealue vaihteli materiaalista ja sen iästä riippuen huomattavasti n. 243-1500 mbar:n välillä. Erilaisia suuttimia kokeiltiin, mutta käytännössä kaikki kappaleet valmistettiin 0,44 mm tulostuspäällä (sininen). Kalsiumkarbonaatti-gelatiinitulosteista ensimmäinen tehtiin 0,22 mm suuttimella (punainen) (KUVA 7).

6 TULOKSET JA POHDINTA

Tässä kappaleessa esitetään tulokset aloittamalla kalsiumkarbonaatti-vesisuspensiosta, joista läpi käydään käsin injektoidut kokeilut, tämän jälkeen 3D-printterillä tulostetut tulokset sekä saadut reologiset tulokset. Lopuksi esitetään tulokset kalsiumkarbonaatti-biopolymeerisuspensioiden tulostamisesta sekä näiden reologiaan liittyvät tulokset.

6.1 Kalsiumkarbonaattisuspensiot

Suurin osa näistä testeistä testattiin eri pH:arvoissa. 40 g / 20 ml (66 %-m CaCO_3) tehtiin esimerkiksi arvoilla pH. 2, 4, 6, 7.3 sekä 9. Ennen kalsiumkarbonaatin lisäämistä säädetyllä nesteen pH-arvolla ei ollut vaikutusta tuloksiin. Käsin tulostettaessa huomattiin, että aivan tuoreena suspensiot tulostuivat ulos ilman ongelmaa, mutta jo hyvin pian, viimeistään kahden tunnin aikapisteen kohdalla huomattiin voimakasta tarvetta lisätä tulostuspainetta. Tällöin ruiskua ei voinut enää puristaa tyhjäksi asti, vaan tarvittava paine oli suurempi, kuin se mitä käsin pystyi tuottamaan. Tärkeä huomio tämän kaltaisessa epästabiilissa suspensiossa on se, että kun siihen kohdistetaan painetta, nestefaasi lähtee helposti liikkumaan nopeammin eteenpäin, kuin kiintoaine partikkelit nesteessä. (Mezger, 2011) Tämä aiheuttaa paikallisen konsentraation kasvun ruiskun yläpäässä ja sen aleneman suuttimen kohdalla. Täten on loogista todeta, että pelkkä kalsiumkarbonaatti-vesisuspensio on hyvin epästabiili, eikä sitä ilman apuaineita voi käyttää tasalaatuisen tulostamiseen. Taulukossa 4 onnistunut käsintulostus on merkitty "OK", tähän riitti tasainen viivan tulostus heti materiaalin sekoittamisen jälkeen. "X" on merkinä epäonnistuneesta tulostuksesta, täydestä tukoksesta tai tukkeutumisesta heti aloittamisen jälkeen. Viivalla merkittyjä kohtia ei kokeiltu. Taulukossa 5 "3D-tulostettavuus" on "varauksin", tämä johtuu aikaisemmasta huomiosta, jolloin paine liikuttaa nestefaasia nopeammin kuin kiintoainetta.

Taulukko 4 Kalsiumkarbonaatti-vesisuspension tulostettavuus käsin

Konsentraatio: x / 20 ml H ₂ O	66 %-m	69 %-m	71 %-m	75 %-m
Injektoitavuus:				Huono
G18	OK	OK	OK	x
G22	OK	OK	OK	x
G30	-	-	x	-
Pelkkä ruisku:	OK	OK	OK	OK

Taulukko 5 Kalsiumkarbonaatti-vesisuspension tulostettavuus tulostimella

3D-tulostetta- vuus:	66 %-m	69 %-m	71 %-m	75 %-m
Tulostuspäät:				
Sininen (G18)	varauksin	varauksin	x	x
Punainen (G22)	varauksin	x	x	x

Tulostus pelkällä kalsiumkarbonaattisuspensiolla onnistui varauksin. Kuvasta 1 nähdään selkeästi kaksi usein toistunutta ongelmakohtaa, jotka kertovat materiaalin epästabiiliisuudesta. Siistiltä näyttävien kerrosten väliin on (kuvassa takareunassa) muodostunut paksunnos. Tämä kuvastaa äkillistä muutosta viskositeetissa. Yläkerroksessa edessä nähdään reikiä, jotka ovat syntyneet viskositeetin äkillisen kasvun seurauksena.

Käytetty kerrospaksuus on 0,25 mm. Tulostuspaine 700 mbar. Tulostusnopeus oli tehdasasetuksella.



Kuva 1. $\text{CaCO}_3\text{-H}_2\text{O}$ suspensio 66 %-m / 20 m

On todettu, että luonnollinen tai synteettinen CaCO_3 vesifaasissa ei tuota stabiilia suspensiota, koska esimerkiksi elektroforeettisesti mitattuna CaCO_3 ei pysty luomaan tässä ympäristössä vahvaa pintavarausta itselleen (Tari & Ferreira, 1998). Kuten aiemmin dispersioita käsittelevässä osassa käsiteltiin, heikko ionisten surfaktanttien adsorptio, kiintoainepartikkelin pintaan tuottaa heikon zeta-potentiaalin. Kun zeta-potentiaali (potentiaaliero) on alle ± 30 mV, kuvataan usein suspensiota epästabiiliksi. (Tadros, 2012)

Käytännössä tämä näkyy hyvin taulukossa 4, josta näemme että suurin osa kaikista kokeiluista toimi käsintulostuksessa hyvin suoraan valmistuksen jälkeen. Kuitenkin noin 10-15 minuuttia valmistushetken jälkeen huomattiin epästabilisuus tukoksina ja muutoin epätasaisena virtauksena tulostimella tulostettaessa, kuten kuvassa 1.

Kalsiumkarbonaatti-vesisuspensiota oli mahdollista tulostaa (KUVA 1), mutta hyvää toistettavuutta ei voitu luoda ja suurempien kappaleiden tulostus oli mahdotonta. Epästabiilisuuden vuoksi tulosteen kalsiumkarbonaattipitoisuus oli alussa pienempi, kuin mitä sen laskennallisesti olisi pitänyt olla. Tämän pystyi silmämääräisesti näkemään suspension paksuuntumisena ruiskussa, kunnes jäljelle jäi vain kosteaa kalsiumkarbonaattia ruiskuun.

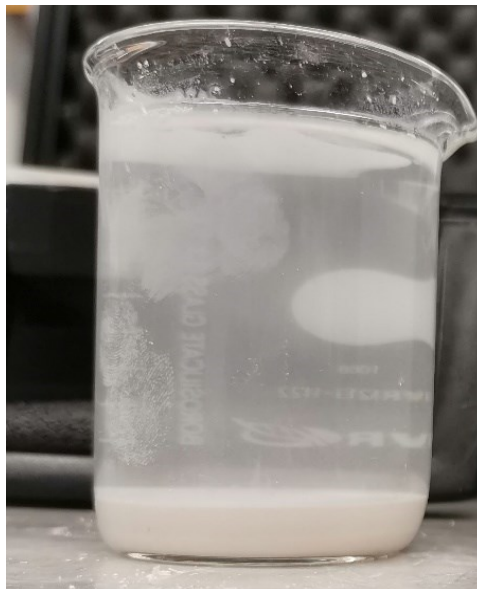
3D-tulostuksessa, miltei välittämättä käyttökohteesta, materiaalin homogeenisuus on tärkeää. Homogeeninen tarkoittaa sitä, että tulostus on samankaltainen välittämättä siitä, mistä kohtaa kappaletta näyte otetaan. Tässä työssä gelatiinia on lisätty suspensioon, koska se muokkaa reologiaa sopivaksi tulostamista ajatellen ja auttaa pitämään kalsiumkarbonaattisuspension stabiilimpana pidempään. Luultavasti kaikkein paras ratkaisu olisi käyttää steeristä stabilisaatiota suoraan kalsiumkarbonaatin kanssa. Tarij et.al ehdottaa

tutkimuksessaan käyttämään esimerkiksi ammoniumpolykarbonaattia, tällöin on pystytty luomaan stabiileita kalsiumkarbonaattisuspensioita aina 60 m-% saakka (Tari & Ferreira, 1998).

Erilaiset sekoitusongelmat nousivat haasteeksi kalsiumkarbonaattisuspensioita tehtäessä. Mitä paksummaksi suspensio muodostui sitä vaikeampi oli luoda olosuhteita, joissa tehokas sekoitus voitiin varmentaa.

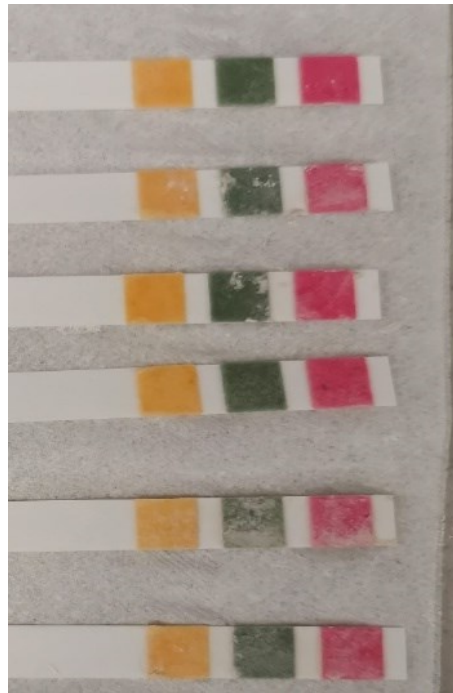
Kalsiumkarbonaattisuspensioiden pH-mittauksessa jouduttiin käyttämään pH-paperia, sillä suspension paksuuden vuoksi pH-anturia ei voitu käyttää. Kalsiumkarbonaatin reaktiivisyyttä hapon kanssa (HCl) kokeiltiin. Jo pieni määrä kalsiumkarbonaattia riitti neutralisoimaan suuren määrän happoa. Jo muutaman gramman lisääminen happoon (pH 2) sai hapon neutraloitumaan. Nestettä lisättiin n. 100 ml:aa ja pH pysyi silti hyvin vakiona.

pH:ta ei pystytty laskemaan neutraalista (pH 7), vaikka HCl-vesi seosta (pH 2) lisätään ylenmäärin aina noin 100 ml:aan asti (KUVA 2). pH:n mittaamiseksi suspensiosta käytettiin pH-paperia. pH-paperi valikoitui pääosin siksi, että kalsiumkarbonaatti saattaa vahingoittaa pH-mittarin antureita, koska sitä on vaikea puhdistaa kokonaan ja sen olemassaolo saattaa vaikuttaa myöhempiin mittauksiin anturilla.



Kuva 2 Kalsiumkarbonaattia HCl-vesi liuoksessa (pH 2)

Minkäänlaista pH:n muutosta nesteen lisäämisen funktiona ei tapahtunut, vaan pH-paperit näyttivät pH:n pysyvän neutraalina (pH 7) (KUVA 3). pH-paperia käytettiin myös siksi, ettei tarkkaa pH määrittystä tarvittu, vaan haluttiin sen sijaan saada selville aluksi pH-alue. pH:ta on mitattu aina noin 10 ml:n välein. Kuvassa 3 on kuvattu ylhäältä alas 10, 20, 30, 40, 50 sekä 100 ml:aa HCl-vesi liuosta (pH 2). Näiden tulosten perusteella voidaan tarkastella myös reologisia tuloksia. pH-sarjaa (66 m-% CaCO_3) tehdessä huomattiin, että viskositeettikäyrä pysyi hyvin samankaltaisena välittämättä näennäisestä pH:n muutoksesta. Tästä voidaan huomata, että kalsiumkarbonaatin happoja neutralisoiva luonne tekee pH:n säädöstä haasteellista.



Kuva 3 pH-mittaustuloksia

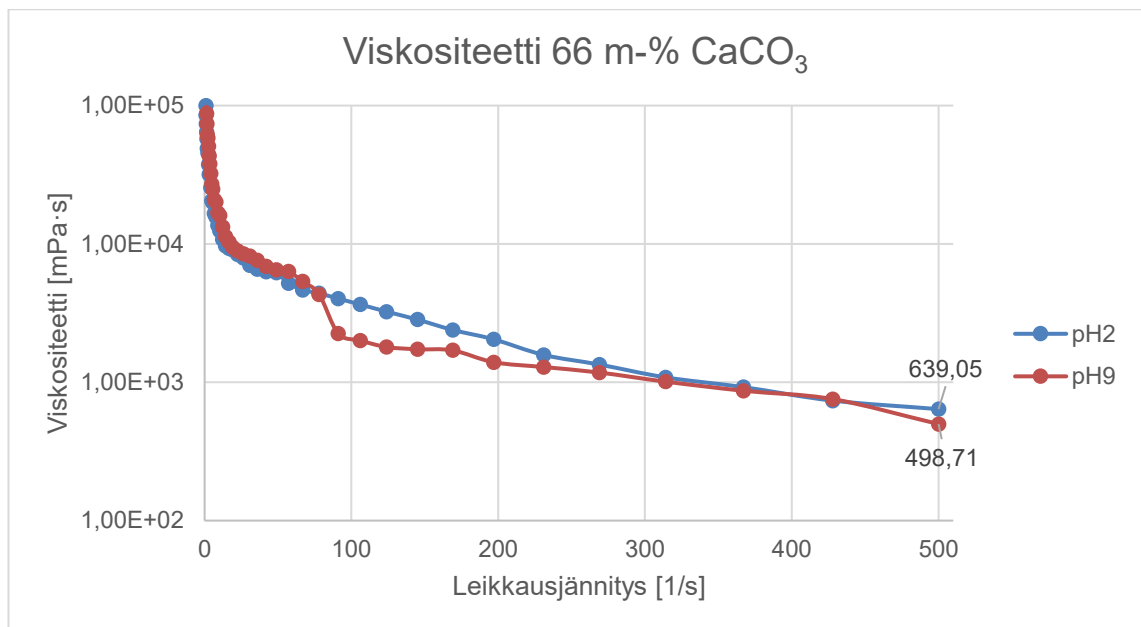
Hyvänä puolena voidaan todeta, että kalsiumkarbonaatti pyrkii tehokkaasti neutralisoidaan happoja. Neutraali pH on monesti toivottavata ominaisuus biolääketieteessä, mutta se myös saattaa rajoittaa sen käyttöä muiden lisäaineiden kanssa.

Multivalentit ionit ovat lähes aina reaktiivisempia kuin monovalentit. Sekä kalsium-osa että karbonaatti-osa molemmat haluavat reagoida useiden happojen ja emästen kanssa. Täten pH:n säätäminen niin, että CaCO_3 ei reagoi hapon / emäksen kanssa vaatii vielä lisäselvityksiä. Kalsiumkarbonaattisuspension reologisista mittauksista ei voida siis tehdä päätelmiä viskositeetin muuttumisesta pH:n funktiona. Kun rotaatiomittauksia tehtiin 2 tunnin aikapisteessä, kaikki mittaukset olivat reologiseseti hyvin lähellä toisiaan. Täten rotaatiomittaukset eivät tuottaneet yksiselitteistä dataa pH:n muutoksesta.

Sergeeva et. al tutkimuksessaan pyrkivät luomaan hyvin huokoisen alginaattigeelin peruseriaatteeltaan niin, että kalsiumkarbonaatti ja alginaatti sekoitettiin yhteen, jonka jälkeen HCl lisällä pyrittiin hajoittamaan kalsiumkarbonaatti seuraavan reaktion mukaisesti.

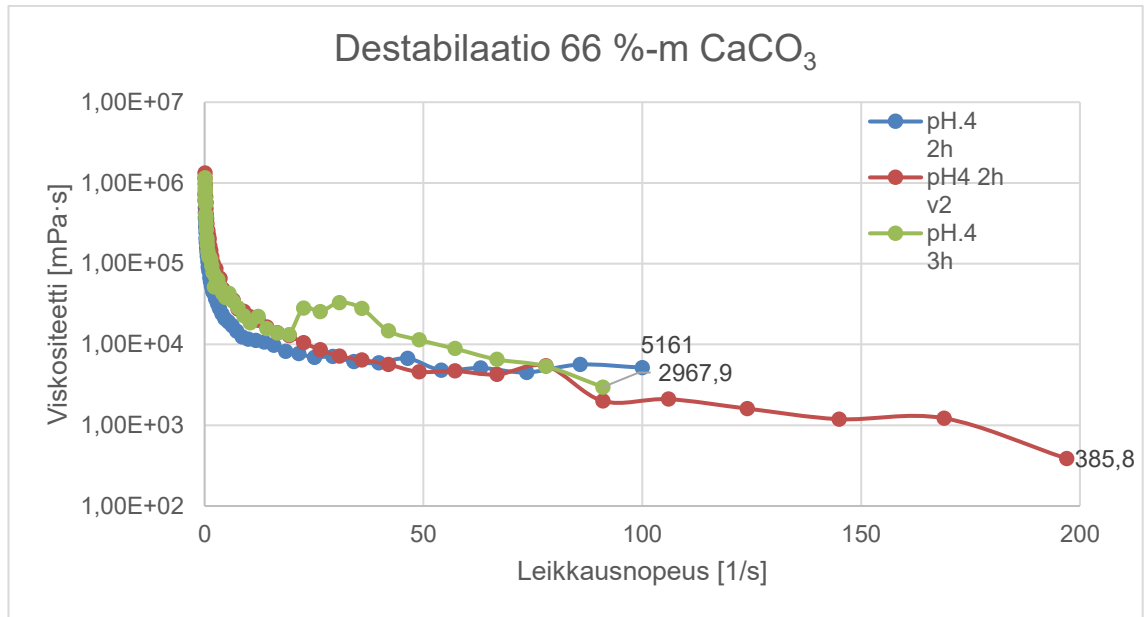


Tällöin kalsiumkarbonaatin reagoidessa suolahapon kanssa, syntyi hiilidioksidia muodostamaan huokosia ja kalsiumkloridia muodostamaan alginaattigeeli. (Sergeeva, et al., 2019) Voidaan olettaa vastaavan reaktion joltain osin on tapahtuneen tässäkin työssä. Kun tarkastellaan pH-mittausten tuloksia (KUVA 3) ja rotaatiomittausten tuloksia, joissa nesteen pH on ollut 2 ja 9 valmistuksen alussa (KUVA 4) sekä yllä mainittua tutkimusta, voidaan todennäköisin perustein todeta kalsiumkarbonaatin neutralisoineen liuoksen.



Kuva 4. $\text{CaCO}_3\text{-H}_2\text{O}$ suspensiot (pH arvot ennen CaCO_3 -lisäystä)

Kuvasta 4 huomataan, viskositeettien olevan hyvin lähellä toisiaan. Tämä luultavimmin johtuu pH:n säädön hankaluudesta kalsiumkarbonaattisuspensioissa, kuten edellä on mainittu. Kalsiumkarbonaattisuspensioiden rotaatiomittauksissa huomattiin myös kalsiumkarbonaattisuspensioiden epästabiilikäytös (KUVA 5).



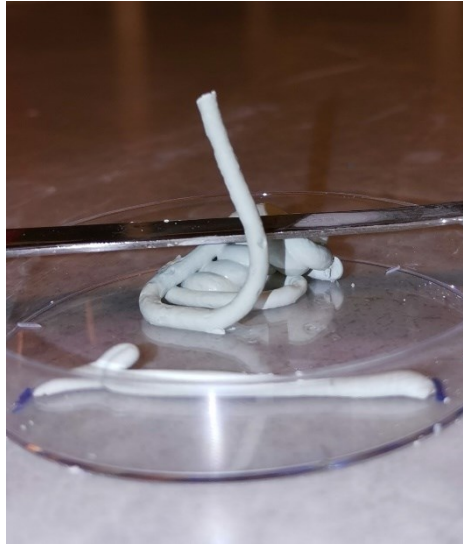
Kuva 5 Rotaatiomittaukset CaCO_3 66 %-m (aikapisteet 2h, 2h-v2 sekä 3h)

Kaikki kuvassa 5 nähdyt mittaukset olivat tehty samasta valmistuserästä. Tästä samasta erästä otettiin ensin kaksi näytettä kahden tunnin kohdalla ja yksi näyte kolmen tunnin kohdalla. Mittauksen alussa eri näytteet toimivat hyvin samalla tavoin, mutta kun tarkastellaan saman aikapisteen viskositeettikäyrää (aikapisteet 2h ja 2h-v2) huomataan niissä jo eroja. Ensimmäinen mittaus mitattiin välillä 0-100 1/s, tämän vuoksi otettiin vielä uusi mittaus, joka ylettyisi vielä 200 1/s asti. Tällöin tulokset ovat kohtuullisesti vielä linjassa keskenään. Mittauspistettä 2 h kurvia tarkasteltaessa huomataan kuitenkin että jo 50 1/s jälkeen kurvi on tasoittunut pitkälti. Sama tapahtuu näytteessä 2h-v2 mutta tässä tapauksessa leikkausvoiman ollessa n. 75 1/s tapahtuu viskositeetissa muutos alaspäin. Samanlainen tapahtuu vielä noin 175 1/s kohdalla. Näytteessä (aikapiste 3h) voidaan havainnoida jo huomattavaa poikkeamaa aikaisemmasta noin 30 1/s kohdalla. Tämän jälkeen jälkeen viskositeetti lähtee taas laskemaan tasaisesti, kunnes ennen mittauksen valmistumista, ilmeisesti kuivumisen seurauksena, lisätuloksia ei enää saatu.

6.2 Kalsiumkarbonaatti-biopolymeerisuspensioidet

Kalsiumkarbonaattisuspensioiden kanssa, suurimmaksi haasteeksi muodostui sekoitus. Ongelmana oli, että kun CaCO_3 :n pitoisuus vesiliuoksessa saavutti pitoisuuden, joka ylitti

60 %-m muuttui sekoitus vaikeaksi. Homogenisaattorin varren ollessa nesteessä, nesteen pinta ei sekoittunut lainkaan, vaan sekoitusta piti jatkuvasti vahvistaa siirtämällä astiaa, jotta kaikki CaCO_3 varmasti sekoittuisi kunnolla. Suspensioita tehtäessä tärkein yksittäinen tekijä dispersiometodilla, on mahdollistaa kiintoaineen kastuminen täydellisesti niin, ettei ilmakuplia jää kiintoaineen ja nesteen väliin (Tadros, 2014).



Kuva 6. Epäonnistunut tulostus

Kalsiumkarbonaatin epästabiilikäytös ja / tai gelatiinin liian nopea geelautuminen huoneenlämmössä aiheuttivat tulostusongelmia (KUVA 6). Kuvassa 6 nähtyyn materiaaliin on käytetty 61,5 %-m kalsiumkarbonaattia, 30,8 %-m vettä ja 7,7 %-m gelatiinia. Kokeiltiin myös tulostaa materiaalia jäähauteessa olevaan petrimaljaan, mutta ilman lämmitystä suuttimessa materiaali jähmettyi aina ennen tulostuksen aloittamista tai pian sen aloittamisen jälkeen.

Epäonnistuneista 3D-printtauksesta huolimatta tällä reseptillä voidaan huomata, etteivät tulosteet välittämättä muodosta epämuodostuneita, kun CaCO_3 konsentraatio on ainakin 66 m-%. Tulostettu muoto pysyi silmämääräisesti täysin samanlaisena. Testejä tehtiin viivottimella ja piirtämällä tulosteen ääriviivat ja tarkistamalla muodon pysymistä.

Tulostuksellisesti onnistuneet printtaukset tehtiin huomattavasti pienemmällä CaCO_3 konsentraatiolla. Materiaali onnistuneissa tulostuksissa oli 50 m-% CaCO_3 / 45 %-m H_2O / 5 %-m gelatiinia. Ensimmäiset tulostukset näyttivät lupaavilta (KUVA 7). Aikapisteeksi valikoitui kohta, jossa neste ei enää valunut pisaroina, vaan valui ulos yhtenäisenä korkeaviskooittisena nesteinä.



Kuva 7. Lupaava tulos (50 %-m CaCO_3 , 45 %-m H_2O , 5 %-m gelatiini)

Tulostus tehtiin 256 mbar:n aloituspainella. Tulostuksen alussa epämuodostumista ei tapahtunut, mutta muutaman minuutin tulostuksen jälkeen viimeistään huomattiin selkeää epämuodostumista tulostuksen ensimmäisissä kerroksissa. Tätä ei enää tapahtunut myöhemmässä aikapisteessä tehdyissä tulostuksissa. Halkaisija kappaleella oli tulostushetkellä 20 mm. Kuivuttuaan kappaleen halkaisijaksi muodostui n. 17 mm (KUVA 8). Tämä muodon vääristyminen johtuu veden haihtumisesta suspensiosta.



Kuva 8: Kuivunut tuloste

Kuivuneesta kappaleesta (KUVA 8) huomataan, että vaikka pientä kutistumista on tapahtunut, on tuloste säilyttänyt muotonsa erittäin hyvin. Tulosten perusteella voidaan sanoa materiaalin olleen liian matalaviskootista varsinkin tulostuksen alussa. Täten tästä voidaan päätellä, että tulostus aloitettiin liian aikaisessa aikapisteessä.

Seuraavan tulostuksen aikapiste oli 1,5 tuntia. Käytetty paine tässä vaiheessa oli välillä 1207 - 1300 mbar. Ennen tulostuksen aloittamista ja suuttimen täytön jälkeen, suuttimen uloin kärki (noin 1 - 2 mm matkalta) upotettiin lämpimään veteen, joka poisti tarpeen alun



Kuva 9: Tuloste aikapisteessä 90 min.

paineen nostolle, jotta tulostus saataisiin alkamaan. Tämä edesauttoi sitä, että suspensiosta ei jäänyt jäämiä suuttimen reunoihin.

90 min aikapisteessä tehdyt tulosteet antoivat parhaat tulokset. Nämä geelit myös säilyivät hyvin. Kuvien 9 ja 10 tulostus on tehty perjantai-iltapäivällä ja käytetty seuraavan maanantain aamupäivästä. Tätä testiä varten kaksi säiliötä oli täytetty samasta valmistuserästä. Molemmat suspensiot käytettiin vesihauteessa kunnes gelatiini oli liennut sil-



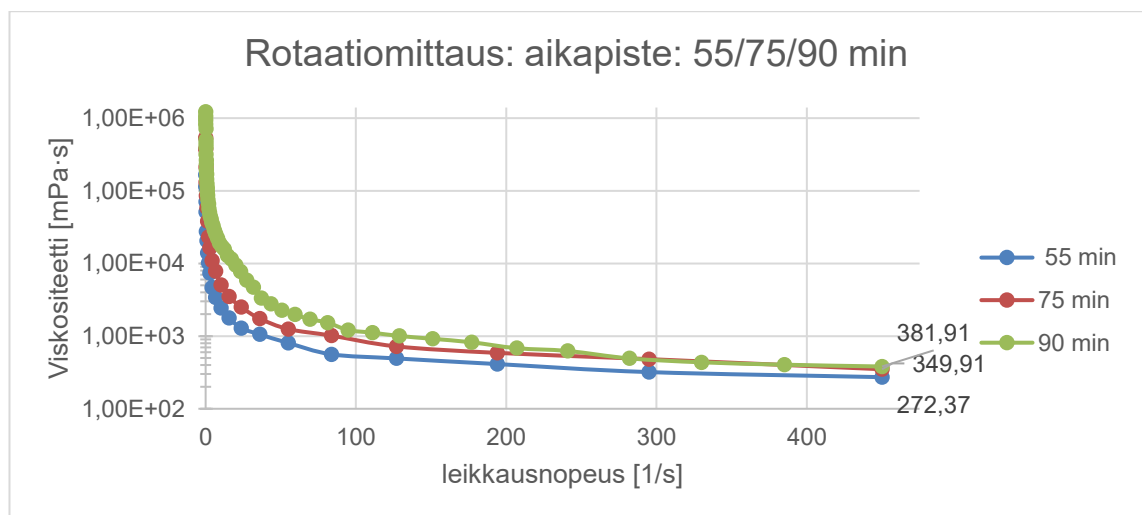
Kuva 10: Kuvan yhdeksän kappale kuvattuna ylhäältä

määräisesti. Toisen annettiin tekeytyä uudelleen pöydällä "staattisesti" ja toinen lämpökäsittelyn jälkeen asetettiin pyörimään 30 min ravistelijaan, joka pyöritti sitä ympäri n. 60 rpm ja ravisti kevyesti n. 15 sekunnin välein. Staattisessa pidossa geelattu tuote ei enää 90 min aikapisteessä tulostunut lainkaan, mutta ravistelijassa käytetty materiaali oli 90 min kohdalla tulostettavissa kuvissa näkyvin tuloksin (KUVA 9). Tämäkin tuoste kutistui kuivuessaan kuivan tulosteen läpimitan ollessa n. 17 mm. Ylhäältä otetussa kuvassa nähdään ylhäältä kohtuullisen hyvin muodossa pysynyt kappale (KUVA 10).

Kuvan 11 rotaatiomittauksista huomataan, että ne eroavat ainoastaan siinä missä kohtaa viskositeettikäyrä rupeaa tasoittumaan. Jos oletetaan, että jokainen näistä näytteistä oli täydellisen homogeeninen ja mittausta oli täydellisesti toteutettu, voidaan nähdä kalsiumkarbonaatin ja gelatiinin muodostaman kokonaisuuden muuttavan orientaatiotaan siihen kohdistuvan voiman funktiona niin, että se käyttäytyy pseudoplastisesti. Materiaalin osat

siis alkavat liikkua / kääntyä niihin kohdistuvan voiman suuntaan samalla alentaen viskositeettia. Mitä lineaarisempi suspension virtaus on, sitä vähemmän turbulenttisia virtaksia on havaittavissa ja niiden vähetessä virtausta vastustava voima laskee, jolloin myös viskositeetti laskee (Mezger, 2011).

Kuvaajasta 11 huomataan, että aikapisteestä huolimatta, gelatiinin makromolekyylit ja kalsiumkarbonaattipartikkelit reagoivat paineen kasvuun. Kuitenkin 3D-tulostuksessa aikapisteessä 55 min tarvittava tulostuspaine oli 256 mbar, kun taas 90 min kohdalla tarvittava paine oli 1200-1300 mbar. Tästä voidaan päätellä suuttimen toimivan pullonkaulana virtaukselle 3D-tulostuksen aikana. Jo aikaisemmin opinnäyttyön kalsiumkarbonaattisuspensio-osiossa todettiin, että kun epästabiliin suspensioon ruiskussa kohdistetaan painetta, nestefaasi lähtee liikkeelle nopeammin aiheuttaen konsentraation laskua suuttimessa ja sen nousua toisella puolella. Tämän ilmiön olemassaoloa ei voi poissulkea kalsiumkarbonaatti-gelatiinisuspensioiden osalta.



Kuva 11: Rotaatiomittaus: 50 %-m CaCO_3 / 45 %-m H_2O / 5 %-m gelatiinia eri aikapisteissä

6.2.1 Jatkotutkimuskohteita

He, et al. ovat tutkimuksessaan rakentaneet tulostimen, jossa gelatiinia ja natriumalgiinaattia sisältävä neste on säiliössä tasaisessa 37 °C lämpötilassa ja jossa tulostinpäätä lämmitetään jatkuvasti, kun taas alusta pidetään +4 °C lämpöisenä. Näin he ovat onnistuneet tulostamaan gelatiinipohjaista materiaalia, joka tulostuu tasaisella paineella, mutta jähmettyy käytännössä samantien tulostuksen jälkeen lämpötilaerosta johtuen.

(He, et al., 2016). Omassa työssäni yritettiin myös tulostaa lämmintä suspensiota jäähauteessa olleeseen petrimaljaan, mutta ilman tulostinpään erillistä lämmitystä tulostuspää jäähdytti liian kylmäksi ja tukkeutui. He, et. al käyttämä tapa myös poistaisi tarpeen säätää painetta käsin kesken tulostuksen gelatiinin aiheuttaman viskositeetin kasvun seurauksena. Jatkotutkimuskohteeksi ehdottaisin Brinterin päivittämistä näillä lisäosilla, mikäli gelatiinipohjaisia materiaaleja halutaan jatkossa kehittää.

Soudupe-Ortega et, al käsitteli tutkimuksessaan oikeanlaisia 3D-biotulostuksen kalibraatioon käytettäviä tapoja ja mainitsee, että useat "Slicerit" jotka ovat käytössä 3D-printtauksen maailmassa, eivät suoraan sovi bioprinttaukseen, sillä ne ovat suunniteltu alun perin korkealämpötulostukseen, missä lanka syötetään mekaanisesti suoraan sulatukseen/suutimeen. (Sodupe-Ortega, et al., 2018) Myös omassa työssäni ongelmia loi tulostuspaksuuden optimointi ja se että tulostuskorkeus kappaleelle ei vastannut tarkasti alkuperäistä kappaletta. Tällaisen mainitun mahdollisen ongelman olemassaolo olisi mahdollisesti myös hyvä selvittää.

Oskillaatiomittausten tekeminen tulevaisuudessa auttaisi ymmärtämään materiaalia ja tulostusolosuhteita paremmin. Oskillaatiomittausten avulla pystyttäisiin tutkimaan tarkemmin muun muassa geelautumista sekä suspension pyrkimystä destabiloitumaan. Näin olisi mahdollista luoda reologinen pohja materiaalin toimivuudelle, josta työtä voidaan jatkaa.

6.3 Päätelmät

Tulostinpää 0,44 mm (sininen) sopi parhaiten tulostustarkoituksiin. Tällöin kerrospaksuuden säätäminen oli helpompaa. Oletustulostuskorkeus oli määritetty olevan 0,25 mm, mutta ainoastaan tulostuskorkeutta nostamalla manuaalisesti n. 0,25 mm, saatiin haluttuja tuloksia, todellinen kerroskorkeus oli siis 0,5 mm. Paras aikapiste tulostukselle vaikutti olevan 90 minuuttia. Tulostettava materiaali pysyi varmistetusti tulostettavana ainakin 2 vuorokautta (KUVA 9), kun se käytetään lämpöhauteessa, jonka jälkeen sitä sekoi-tetaan ainakin 30 minuuttia ravistelijassa. CaCO_3 -suspensioidet eivät ole stabiileja vesiliuoksessa ilman stabiilisaatiota.

Gelatiini- CaCO_3 -suspensioiden viskositeetti näyttäisi olevan reologisesti soveltuva 3D-printtaukseen. Lämmitettävä suutin ja säiliö sekä viilennettävä tulostusalusta saattaisi

tulosten ja kirjallisuuden valossa helpottaa tulostamista gelatiinia sisältävillä materiaaleilla.

7 LÄHDELUETTELO

Alves, M. E. & Lavorenti, A., 2005. Point of Zero Salt Effect Relationships with Clay Mineralogy of Representative Soils of the São Paulo State Brazil. *An International Pedosphere journal*, 15(5), pp. 545-553.

Barnes, H. A., Hutton, J. F. & Walters, K., 1993 (3rd edition). *An Introduction to Rheology*. 3rd edition toim. Aberystwyth: Elsevier Publishing.

Brinker, J. & Scherer, G. W., 1990. *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel processing*. San Diego: Academic Press Inc / Elsevier.

Burkus, Z. & Temelli, F., 1998. Gelation of Barley β -Glucan Concentrate. *Journal of food science*, 64(2), pp. 198-201.

Chang, M. C., Ching-Chang, K. & Douglas, W. H., 2003. Preparation of hydroxyapatite-gelatin nanocomposite. *Materials today: Biomaterials*, 24(17), pp. 2853-2862.

Chen, Z. ym., 2019. 3D printing of ceramics: A review. *Journal of the European Ceramic Society*, 4, 39(4), pp. 661-687.

GMIA, 2019. *Gelatin Handbook*. [Online] Available at: http://www.gelatin-gmia.com/uploads/1/1/8/4/118450438/gmia_gelatin_manual_2019.pdf [Haettu 18 12 2020].

Goodwin, J. W. & Hughes, R. W., 2008. *Rheology for chemists, introduction*. 2 toim. Cambridge: Royal Society of chemistry.

Hakala, J., 2018. *3D-TULOOSTAMINEN & 3D-tulostimet*, Vaasa: Vaasan Ammattikorkeakoulu.

He, Y. ym., 2016. Research on the Printability of Hydrogels in 3D Bioprinting. *Scientific Reports*, 6(6), pp. -.

Lewis, M., 1990. *Physical Properties of Foods and Food Processing Systems*. 1 toim. Cambridge: Woodhead publishing.

Maier, C. & Calafut, T., 1998. Fillers and reinforcements. Teoksessa: -, toim. *Polypropylene: Definitive user's guide and databook*. Norwich: ScienceDirect/ William Andrew Publishers, pp. 49-56.

Mallick, P. K., 2000. Particulate and Short Fiber Reinforced Polymer Composites. Teoksessa: A. Kelly, toim. *Comprehensive Composite Materials*. Oxford: Pergamon Press / Elsevier, pp. 291-331.

Merriam-Webster, ei pvm *Merriam-Webster Dictionary*. [Online] Available at: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/biomaterial> [Haettu 2 12 2020].

Mezger, T. G., 2011. *The Rheology Handbook*. 3. painos toim. Hanover: Vincentz Network GmbH & Co..

Ngo, T. D. ym., 2018. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Composites Part B: Engineering*, 22(143), pp. 172-196.

Pech-Canul, M. I. & Valdez, S., 2015. *UPDATING THE DEFINITION AND CONCEPTS IN THE FIELD*. Columbus, ResearchGate.

Sergeeva, A., Vikulina, A. S. & Volodkin, D., 2019. Porous alginate scaffolds assembled using vaterite CaCO₃ crystals. *micromachines journal*, 10(6), p. ei saatavilla.

Shahrubudin, N., Lee, T. & Ramlan, R., 2019. An overview on 3D printing Technology: Technological, Materials and Applications. Teoksessa: J. Tien-Chien, Esther Akinlabi, P. Olulambi & C. Augbavboa, toim. *Procedia Manufacturing* 35. Sun city: Elsevier, pp. 1286-1296.

Sodupe-Ortega, E., Sanz-Garcia, A., Pernia-Espinoza, A. & Escobedo-Lucea, C., 2018. *Helda*. [Online] Available at: https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/245179/materials_11_01402.pdf?sequence=1&isAllowed=y [Haettu 18 12 2020].

Tadros, T., 2012. Electrostatic and steric stabilisation of colloidal dispersions. Teoksessa: H. Ohshima, toim. *Electrical Phenomena at Interfaces and Biointerfaces*. 1st edition toim. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., pp. 153-172.

Tadros, T., 2014. *Formulation of disperse systems*. 1st toim. Weinheim: Wiley-vch Verlag GmbH & co, KGaA.

Tari, G. & Ferreira, J. M., 1998. Colloidal processing of calcium carbonate. *Ceramics International*, 9, 24(7), pp. 527-532.

Wang, X. ym., 2016. 3D Bioprinting Technologies for Hard Tissue and Organ Engineering. *Materials*, - 9, 9(102), p. ei mainittu.

Zhang, Z., Ortiz , O., Goyal, R. & Kohn, J., 2014. Biodegradable polymers. Teoksessa: K. Modjarrad & S. Ebnesajjad, toim. *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices*. 1st toim. Baltimore: Elsevier / William Andrew Publishers, pp. 303-335.

