

Opinnäytetyö (AMK)

Prosessi – ja materiaalitekniikka

2022

Heidi Ojama

VISCO BIO - TULOSTUSPÄÄN KÄYTTÖÖNOTTO JA TESTAUS

TURKU AMK 
TURKU UNIVERSITY OF
APPLIED SCIENCES

Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Prosessi - ja materiaalitekniikka

2022 | 65 sivua, 20 liitesivua

Heidi Ojama

VISCO BIO -TULOSTUSPÄÄN KÄYTTÖÖNOTTO JA TESTAUS

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia Brinter Oy:n käyttöön tulevaa epäkeskoruuvipumppupohjaista Visco Bio – tulostuspäätä ja sen tulostustarkkuutta verraten sillä tulostettavia kappaleita ilmanpainepohjaisella Pneuma Tool -tulostuspäällä tulostettuihin kappaleisiin. Opinnäytetyöhön sisältyi teoriakatsaus, tulostuskokeita sekä reometrisiä mittauksia.

Työn teoria osuudessa käsitellään laajasti niin erilaisia lisäävän valmistuksen tekniikoita, reologian teoriaa, materiaalin tulostettavuuden analysointia kuin eri biomusteita ja niiden hyviä ominaisuuksia. Käytännön osuuteen kuuluivat tulostuskokeet Pneuma Tool ja Visco Bio – tulostuspäällä käyttäen testimateriaalina BASF:n Kolliphor® P407 poloksameeria. Käytännön osuuteen kuuluivat lisäksi reologiset mittaukset, joissa pyrittiin selvittämään poloksameerin viskositeettia vakioleikkausnopeudella, muuttuvalla leikkausnopeudella sekä lämpötilan funktiona.

Työn tuloksena saatiin selville, että parhaiten tulostuvat ja viskositeetiltaan soveltuvimmat poloksameerin pitoisuudet ovat 40 m/v%, 35 m/v% ja 30 m/v%. Merkittäviä eroja tulostuspäiden tarkkuudessa ei kuitenkaan havaittu.

Asiasanat:

3D-tulostaminen, biomateriaalit, poloksameeri, viskositeetti, reologia, reometri

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Chemical and Materials Engineering

2022 | 65 pages, 20 pages in appendices

Heidi Ojama

Commissioning and Testing of Visco Bio Print Head

The aim of this thesis was to introduce and test a new progressive cavity pump-based print head, Visco Bio, for Brinter Ltd. The test was done by comparing the printing results and accuracy with the results from a pneumatic extrusion print head Pneuma Tool. The thesis consists of a theory part, printing tests, and rheological analyses. The rheometric analysis were used to determine the optimal viscosity values for each print head.

The theory part covers a broad spectrum of additive manufacturing methods, theory of rheology, printability analysis, and theory about different bioinks and their good properties. The experimental part of this thesis consisted of printing tests with BASF Kolliphor® P407 poloxamer. Printing tests were conducted with Pneuma Tool and Visco Bio print heads. Rheological analysis also played a major role in the experimental part. The rheological analysis aimed to determine the viscosity of Poloxamer as a function of time, shear rate and temperature.

The results of this study showed that the best printing results can be achieved with the poloxamer's concentrations 40 w/v%, 35 w/v%, and 30 w/v%. The study did not show a major difference in printing accuracy between Pneuma Tool and Visco Bio.

Keywords:

3D printing, biomaterial, poloxamer, viscosity, rheology, rheometer

Sisältö

Käytetyt lyhenteet ja sanasto	8
1 Johdanto	9
2 3D-biotulostus	11
2.1 Paineilmaanpohjautuva tulostus	13
2.2 Epäkeskoruuvipumppupohjainen tulostus	15
3 Biomusteet	17
3.1 Poloksameerit	18
4 Tulostettavuuden analysointi	20
4.1 Pr-arvon määrittäminen	22
5 Reologia	24
5.1 Viskositeetti ajan funktiona	29
5.2 Viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella	29
5.3 Viskositeetti lämpötilan funktiona	30
6 Materiaalit ja menetelmät	32
6.1 Materiaalit	33
6.2 Käytetyt laitteet ja välineet	33
6.3 Poloksameeriliuosten valmistus	34
6.4 Reometriset mittaukset	36
6.5 Tulostusparametrien optimointi ja tulostuskokeet	37
7 Tulokset	45
7.1 3D-tulostustulokset	45
7.2 Tulostettujen kappaleiden analysoidut mitat ImageJ-ohjelmalla	50
7.3 Viskositeetti vakioleikkausnopeudella	53
7.4 Viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella	54
7.5 Viskositeetti lämpötilan funktiona	57
8 Yhteenveto ja pohdinta	58

Liitteet

Liite 1. Poloksameerin viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella 0,01 1/s - 300 1/s

Liite 2. Poloksameerin viskositeetti lämpötilan funktiona (4–40°C)

Liite3. Poloksameerin tulostusasetukset, application note

Kaavat

Kaava 1. Pr-arvon (<i>engl.</i> printability rate) määrittäminen (Jongprasitkul et al., 2022)	23
Kaava 2. Leikkausjännityksen määrittäminen (Anton Paar, 2022a)	25
Kaava 3. Leikkausnopeuden määrittäminen (Anton Paar, 2022a):	25
Kaava 4. Viskositeetin määrittäminen (Anton Paar, 2022a).	26
Kaava 5. Viskoelastisen käyttäytymismallin määrittäminen (Siacor et al., 2021):	27
Kaava 6. Poloksameerin valmistamiseen tarvittavan massan määrittäminen	34

Kuvat

Kuva 1. Erilaisia 3D-tulostusmenetelmiä. (Seoane-Viaño et al., 2021).	12
Kuva 2. Paineilmaanpohjautuva - ja epäkeskoruuvipumppuun pohjautuvat tulostuspäät (Fisch et al., 2020)	13
Kuva 3. Brinter® Pneuma Tool -tulostuspää (Brinter Oy, 2022)	14
Kuva 4. Brinter® Visco Bio -tulostuspää (Brinter Oy, 2022)	16
Kuva 5. Poloksameerien yleinen kemiallinen rakenne (Dun et al., 2020)	18
Kuva 6. Poloksameerin geelitymisprosessi (Russo & Villa, 2019)	19
Kuva 7. Poloksameerin eri pitoisuuksilla tulostetut ristikkorakenteet	21
Kuva 8. Pr-arvon vaikutus huokosen muotoon (Jongprasitkul et al., 2022)	23

Kuva 9. Erilaisia reometrinen mittapäitä (Amorim et al., 2021)	24
Kuva 10. Eri materiaalien viskoottinen käyttäytyminen (Musameh, 2015)	28
Kuva 11. Poloksameerin valmistus	35
Kuva 12. Turku AMK:n Anton Paarin valmistama reometri	36
Kuva 13. Reometrinen taso-taso geometria	36
Kuva 14. 1D-tähti malli, täyttö ja mitat	41
Kuva 15. Sylinterin 3D-malli, täyttö ja mitat	41
Kuva 16. Kolmiulotteisen ristikkorakenteen 3D-malli, täyttö ja mitat	42
Kuva 17. Kaksiulotteisen ristikkorakenteen 3D-malli, täyttö ja mitat	42
Kuva 18. Mittakaavan asettaminen ImageJ -ohjelmassa	43
Kuva 19. Tulostettavan kappaleen analysointi	44
Kuva 20. 40 m/v% Poloksameerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet	45
Kuva 21. 40 m/v % Poloksameerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.	46
Kuva 22. 35 m/v % poloksameerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.	46
Kuva 23. 35 m/v% poloksameerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.	47
Kuva 24. 30 m/v % poloksameerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.	47
Kuva 25. 30 m/v % poloksameerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.	48
Kuva 26. 25 m/v% poloksameerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.	48
Kuva 27. 25 m/v% poloksameerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.	49
Kuva 28. 20 m/v% poloksameerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.	49
Kuva 29. 20 m/v% poloksameerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.	50

Kuviot

Kuvio 1. 3D-tulostusprosessin kulku.	12
Kuvio 2. Biomusteiden tärkeimpiä ominaisuuksia	17

Taulukot

Taulukko 1. Poloksameerin punnitut määrät ja PBS-puskurin tilavuus	34
Taulukko 2. 40 m/v % poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset	37

Taulukko 3. 35 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset	38
Taulukko 4. 30 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset	38
Taulukko 5. 25 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset	39
Taulukko 6. 20 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset	39
Taulukko 7. Poloksameerilla tulostettujen 3D-sylinterien mitat	51
Taulukko 8. Poloksameerilla tulostettujen 3D-ristikoiden mitat	51
Taulukko 9. Poloksameerilla tulostettujen 2D-ristikoiden mitat	52
Taulukko 10. Poloksameerin eri pitoisuuksilla tulostettujen yksikerroksisten tähtien mitat	52
Taulukko 11. Poloksameerilla tulostettujen ristikoiden Pr-arvot	53
Taulukko 12. Poloksameerin eri pitoisuuksien juoksevuusindeksit ja leikkausohenevuuskertoimet	56

Käytetyt lyhenteet ja sanasto

Lyhenne	Lyhenteen selitys
3D-tulostus	Lisäävä valmistus (<i>engl.</i> additive manufacturing) on valmistusmenetelmä, jossa voidaan muuttaa 3D-mallinnusohjelmalla luotuja kappaleita kerroksiksi (Papaioannou et al., 2019)
3D-biotulostus	Lisäävän valmistuksen menetelmä, jossa voidaan valmistaa biologisiin tarkoituksiin tulevia kappaleita (Bio et al., 2021).
PBS	Phosphate Buffered Saline, fosfaatti puskuroitu suolaliuos (ThermoFisher Scientific, 2022)
Poloksameeri	Poly(etyleeniglykoli), poly(propyleeni)glykoli, kopolymeeri, hydrogeeli (Sigma-Aldrich, 2022)
Pneuma Tool	Ilmanpaineen aiheuttamaan ekstruusioon pohjautuva 3D-tulostuspää
Visco Bio	Epäkeskoruuvipumppuun pohjautuva 3D-tulostuspää
Tulostettavuus	(<i>engl.</i> printability) kertoo materiaalin käyttäytymisestä tulostettaessa
Pr-arvo	Materiaalilla tulostetun ristikon huokosesta määritettävä arvo, joka kuvaa kuinka hyvin materiaalia voidaan tulostaa. (Jongprasitkul et al., 2022)

1 Johdanto

Lisäävä valmistus (*engl.* additive manufacturing) on tällä hetkellä eräs lupaavimmista tieteenaloista, kun puhutaan uusien elävien kudosten ja elimien valmistamisesta kerroksittain. Eräs lisäävän valmistuksen nykyaikaisista sovelluksista on 3D-biotulostus. Tulostukseen käytettävien musteiden on oltava tarkkaan suunniteltuja, jotta haluttu kappale pystyttäisiin tulostamaan mahdollisimman tarkasti. Tulostettavan kappaleen on lisäksi tärkeää säilyttää lisäävän valmistuksen jälkeen niin kemialliset, biologiset kuin fyysisetkin ominaisuutensa. Tulostettavan kappaleen kolmiulotteinen (3D) malli voidaan tehdä hyödyntäen CAD-pohjaisia ohjelmia tai hyödyntäen lääketieteellisiä kuvantamismenetelmiä. Kuvantamismenetelmiä ovat muun muassa tietokonetomografia (TT) ja magneettikuvantaminen (Fang et al., 2022).

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia Brinter Oy:n käyttöön tulevaa epäkeskoruuviin pohjautuvaa uutta tulostuspäätä ja sen tulostustarkkuutta. Visco Bio -tulostuspään tavoitteena oli luoda ratkaisu korkeamman viskositeetin omaaville materiaaleille, sillä pelkästään ilmanpaineeseen pohjautuvalla Pneuma Tool -tulostuspäällä ei pystytä tarkasti tulostamaan erittäin korkean viskositeetin omaavia materiaaleja. Erittäin viskoottiset materiaalit aiheuttavat usein tulostusruiskun kärjen tukkeutumisen, jolloin tulostuspään kohdistettava paine ei riitä työntämään materiaalia ulos tulostusruiskusta. Uuden epäkeskoruuvipumppupohjaisen tulostuspään toiminta pohjautuu siihen, että tulostusruiskun sisäpuolella oleva kierteinen ruuvi mahdollistaa materiaalin tauottoman ulostulon (Fisch et al., 2020). Tulostusmateriaalina hyödynnettiin poloksameeria, jonka käyttökohteet ja tulostuksessa käytetyt asetukset ovat esitetty liitteessä 3. Visco Biolla tulostettuja kappaleita verrattiin Pneuma Toolilla tulostettuihin kappaleisiin. Vertailu suoritettiin analysoimalla tulostettujen kappaleiden mitat hyödyntäen ImageJ -ohjelmaa. Ristikkorakenteista saatujen mittaustulosten avulla pystyttiin laskemaan PR-arvo (*engl.* printability rate), mikä kuvastaa sitä kuinka tarkkaa jälkeä voitiin tulostaa kullakin poloksameerin pitoisuudella kahdella eri tulostuspäällä.

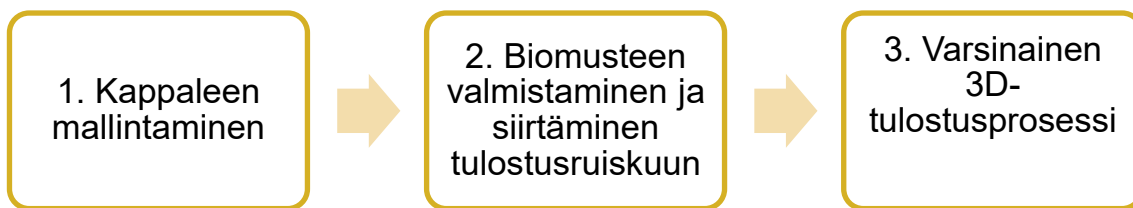
Tässä opinnäytetyössä tutkittiin hyvin tulostuvan materiaalin eli poloksameerin reologisia ominaisuuksia. Poloksameeri on ominaisuuksiltaan hyvin leikkausoheneva ja termosensitiivinen materiaali, joka on jääkaappilämpötilassa nestemäistä ja huoneenlämpötilassa geelimäistä. Reometrian avulla pystyttiin määrittämään esimerkiksi eri poloksameerin pitoisuuksien viskositeetti ajan funktiona, muuttuvalla leikkausnopeudella sekä lämpötilan funktiona. Näiden mittausten avulla pyrittiin saamaan selville, millaisella reometrisellä profiililla pystytään saamaan parhaita mahdollisia tulosteita kummallakin tulostuspäällä. Lisätavoitteena oli mahdollisuuksien mukaan kehittää Brinter Oy:n käyttöön uusi testausprotokolla, jota pystyttäisiin myös jatkossa hyödyntämään uusien tulostuspäiden käyttöönotossa.

2 3D-biotulostus

Lisäävä valmistus (*engl.* additive manufacturing), eli 3D-tulostaminen on valmistusmenetelmä, jonka avulla voidaan muuttaa erilaisilla mallinnusohjelmilla tehtäviä malleja kerroksiksi. 3D-biotulostus on yksi lisäävän valmistuksen menetelmistä, jolla voidaan tulostaa biologisiin tarkoituksiin tulevia lopputuotteita. Biotulostuksessa käytettävät materiaalit mallintavat usein elävien solujen ja molekyylien toimintaa. Joissakin tapauksissa biotulostuksessa käytettyyn musteeseen voidaan lisätä soluja, ja se mahdollistaa biotulostuksen avulla aikaan saatujen kappaleiden hyödyntämisen useissa eri käyttökohteissa. Tulostettavuus on ollut biotulostuksen eräs haastavimmista osa-alueista, sillä vain hyvän tulostettavuuden avulla pystytään saamaan aikaiseksi erittäin monimutkaisia kappaleita. Erittäin monimutkaiset kappaleet ovat hyödyllisiä esimerkiksi lääketieteellisissä tarkoituksissa. (Papaioannou et al., 2019)

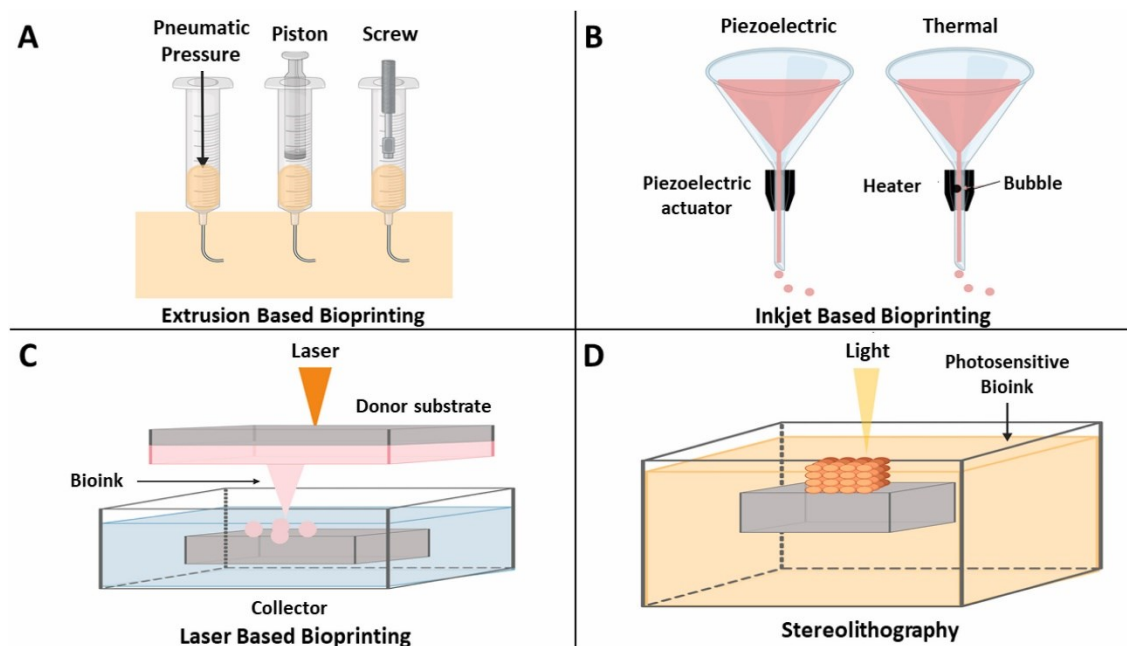
Orgaanisten solujen ja kudosten korvaamiseen tulostettavien tukirakenteiden tulee olla erittäin tarkkoja, mikä johtuu kudosten pienestä koosta. Tukirakenteiden 3D-biotulostaminen on tällä hetkellä yksi tärkeimmistä osa-alueista, mihin 3D-biotulostus tällä hetkellä pyrkii vaikuttamaan (Bejoy et al., 2021). Biotulostuksen avulla pystytään esimerkiksi tuottamaan ratkaisuja lääketieteellisiin sovelluksiin, sairauksien mallintamiseen ja lääkkeiden toiminnan tarkastelemiseen. (Fang et al., 2022)

3D-biotulostukseen sisältyy kappaleen mallintaminen. Mallintaminen voidaan aloittaa esimerkiksi tietokonetomografiakuvien tai CAD-pohjaisten ohjelmistojen avulla riippuen tulosteen käyttökohteesta. Toisena vaiheena on biomusteen valmistaminen ja siirtäminen 3D-tulostusruiskuun. Tärkeimpänä vaiheena on itse 3D-tulostaminen, jossa pyritään saamaan aikaiseksi mahdollisimman tarkasti haluttua muotoa muistuttava kappale. (Bejoy et al., 2021) 3D-tulostuksen prosessin kulku on esitetty tarkemmin kuviossa 1



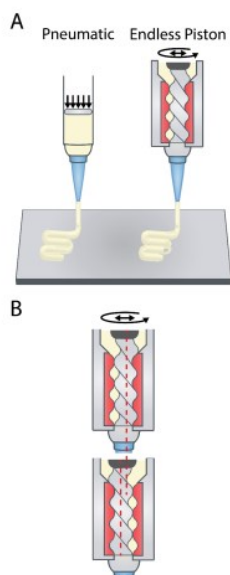
Kuvio 1. 3D-tulostusprosessin kulku.

3D-biotulostuksen prosessi pohjautuu useimmissa tapauksissa ekstruusion eri muotoihin, joihin useimmiten liittyy paineilma sekä ruuviekstruusio. Joissakin tapauksissa tulostusprosessissa saatetaan myös hyödyntää esimerkiksi sähkömagneettisuuteen pohjautuvia menetelmiä. Kuvassa 1 on esitetty erilaisia 3D-biotulostukseen menetelmiä. Kuvan 1 A-kohdassa on esitetty ekstruusion pohjautuvia biotulostusmenetelmiä, B-kohdassa on esitetty mustesuihkuun pohjautuvia menetelmiä, C-kohdassa on esitetty laserpohjaisia menetelmiä ja D-kohdassa on esitetty stereolitografisia menetelmiä. (Seoane-Viaño et al., 2021).



Kuva 1. Erilaisia 3D-tulostusmenetelmiä. (Seoane-Viaño et al., 2021).

Tässä opinnäytetyössä keskitytään ilmanpainepohjaiseen tulostusmenetelmään ja epäkeskoruuvipumppupohjaiseen tulostusmenetelmään, koska työssä käytetyt tulostuspäät pohjautuvat näihin menetelmiin. Molempia tulostusmenetelmiä voidaan hyödyntää samanlaisissa käyttötarkoituksissa. Ilmapainepohjaista sekä epäkeskoruuvipohjaista tulostusmenetelmää voidaan käyttää etenkin hydrogeelejä tulostettaessa. Kuvassa 2 on esitetty ilmanpaineeseen- sekä epäkeskoruuvipumppuun pohjautuvien tulostuspäiden toimintaa. Kuvan 2 A-kohdassa on esitetty ilmanpaineeseen pohjautuvan tulostuspään sekä epäkeskoruuvipumppuun pohjautuvan tulostuspään toimintaa. Kuvan 2B-kohdassa on esitetty tarkemmin materiaalin etenemistä epäkeskoruuvipumppupohjaisen menetelmän tulostusruiskussa ruuvin avulla.



Kuva 2. Paineilmaanpohjautuva - ja epäkeskoruuvipumppuun pohjautuvat tulostuspäät (Fisch et al., 2020)

2.1 Paineilmaanpohjautuva tulostus

Tässä opinnäytetyössä käytettiin Pneuma Tool -tulostuspäätä, joka pohjautuu paineilmaan. Ilmapainepohjaisella tulostuspäällä voidaan tulostaa erilaisia hydrogeelejä kuten poloksameeria. Hydrogeelejä hyödynnetään erityisesti

lääkeannostelussa. Kuvassa 3 on esitetty Brinter® Pneuma Tool, joka pohjautuu paineilmaan.

Paineilmapohjainen 3D-biotulostusmenetelmä perustuu käytettävän tulostusnopeuden, työkaluun kohdistettavan paineen sekä tulostuskärjen ominaisuuksiin. Tämä tulostusmenetelmä on tällä hetkellä eräs yleisimmin käytetyistä tulostusmenetelmistä, koska se sopii käytettäväksi useilla eri materiaaleilla ja se on erittäin helppokäyttöinen menetelmä. (Agarwal et al., 2021)

Paineilmapohjainen tulostaminen perustuu siihen, että tulostusruiškuun kohdistettava ilma työntää ruiskussa olevaa materiaalia kohti tulostuskärkeä. Tulostimen toiminta perustuu venttiiliin, jonka avulla materiaalin ulospääsemistä pystytään kontrolloimaan. Tämä on yleisesti käytetty menetelmä varsinkin matala viskoottisilla materiaaleilla. Korkeampi viskositeettisilla materiaaleilla tulostuskärki menee usein helposti tukkoon, eikä työkaluun syötettävä paine riitä materiaalin pursottamiseen ulos kärjestä. (Seoane-Viaño et al., 2021)



Kuva 3. Brinter® Pneuma Tool -tulostuspää (Brinter Oy, 2022)

2.2 Epäkeskoruuvipumppupohjainen tulostus

Epäkeskoruuvipumppupohjainen (*engl.* progressive cavity pump) tulostusmenetelmä perustuu tulostusputken sisällä olevan ruuvin kierteen aikaan saamaan materiaalia liikuttavaan voimaan. Tässä tulostuspäässä materiaali etenee ruuvin kierteen eli roottorin ja kotelon eli staattorin väliin jäävässä taskussa. Epäkeskoruuvipumppupohjaisessa tulostusmenetelmässä materiaalin tulisi edetä sulavasti ruuvin akselin suuntaisesti, mutta materiaalin etenemiseen vaikuttavat esimerkiksi materiaalin viskositeetti sekä tulostusruiskussa käytetyn ruuvin pituus. (Nesbitt, 2006)

Epäkeskoruuvipumppupohjaista menetelmää pystytään hyödyntämään niin nestemäisillä, kuin erittäin viskoottisilla materiaaleilla tulostusruiskun sisällä olevan ruuvin ansioista. Epäkeskoruuvipumppupohjaisella menetelmällä yritetään tulevaisuudessa mahdollistaa nanopartikkelien, solujen tai biopolymeerien lisäämistä biomusteisiin. Joissakin tapauksessa biomusteina käytetyt materiaalit ovat olleet heterogeenisiä toivotun homogeenisen kemiallisen rakenteen sijasta, jolloin tulostusruiskun kärki on mennyt tukkoon. Epäkeskoruuvipumppupohjaisella menetelmällä pyritään mahdollistamaan myös heterogeenisten materiaalien tulostaminen. Epäkeskoruuvipumppupohjainen tulostusmenetelmä suhteellisen uusi menetelmä, jolla pyritään varmistamaan materiaalin jatkuva virtaus ilman taukoja. (Fisch et al., 2020) Kuvassa 4 on esitetty Brinter Oy:n epäkeskoruuvipumppupohjainen tulostuspää Visco Bio.

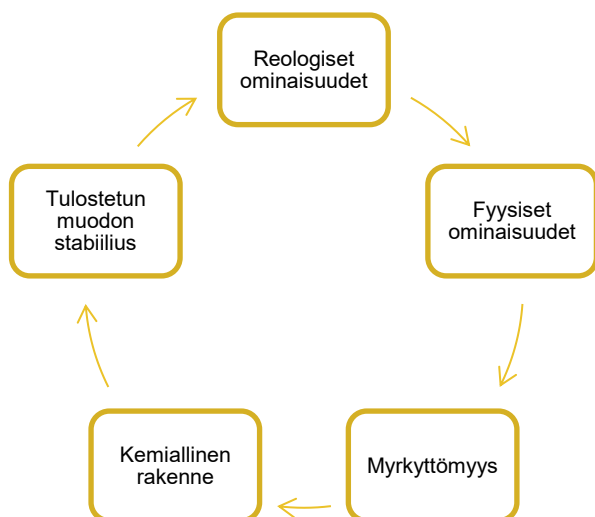


Kuva 4. Brinter® Visco Bio -tulostuspää (Brinter Oy, 2022)

3 Biomusteet

Biomusteet ovat 3D-biotulostuksessa käytettäviä materiaaleja, joista voidaan tulostaa kolmiulotteisia rakenteita. Musteiden kehityksessä pyritään huomioimaan, että ne olisivat mahdollisimman hyvin tulostettavia ja ominaisuuksiltaan sellaisia, että niitä voitaisiin hyödyntää esimerkiksi kudosteknologiassa. Jotkin biomusteet koostuvat soluista sekä biomateriaaleista, mitkä muistuttavat rakenteeltaan solun ulkopuoleisia tukirakenteita. Yleisimmin ilmanpainepohjaisessa sekä epäkeskoruuvipumppupohjaisessa tulostusmenetelmässä käytetyt materiaalit ovat usein hydrogeelejä. Muita mahdollisia tulostettavia materiaaleita ovat polymeerit ja keraamit, mutta tässä opinnäytetyössä tullaan tarkemmin keskittymään hydrogeelipohjaisten materiaalien tulostamiseen. (Merck, 2022)

Biomusteita käytetään myös erilaisten lääkeaineiden tai solujen kuljettamiseen. Biomusteiden tärkeisiin ominaisuuksiin kuuluvat reologiset ominaisuudet (kuten leikkausohenevuus), tulostettavuus, fyysiset ominaisuudet sekä 3D-tulostetun muodon stabiilius. Biomusteiden tärkeimpiin ominaisuuksiin kuuluu myös se, että ne eivät saa olla esimerkiksi tulostuksessa käytetyille solulinjoille myrkyllisiä. (Zhang et al., 2021). Biomusteiden tärkeimmät ominaisuudet on esitetty myös kuviossa 2.



Kuvio 2. Biomusteiden tärkeimpiä ominaisuuksia

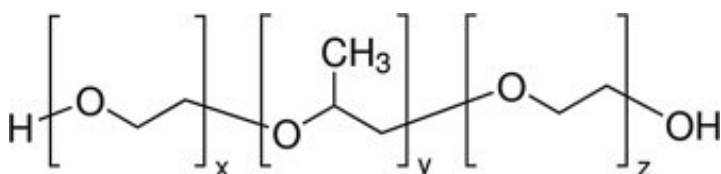
Suurimmat ongelmat biomusteiden tulostettavuudessa liittyvät usein niiden biofysikaalisiin ominaisuuksiin, kuten mekaaniseen stressin sietokykyyn, rakenteellisiin ongelmiin sekä siihen, että ne eivät hajoa kunnolla esimerkiksi ihmisen kudoksessa. (Wang et al., 2022)

Biomusteiden tiedetään pystyvän vastustamaan puristavaa liikettä, mikä saattaa vaikuttaa niiden tulostettavuuteen. 3D-tulostimen on pystyttävä kohdistamaan materiaaliin riittävä voima, jotta materiaali saadaan liikkumaan hallitusti. Huono tulostettavuus voi johtua niiden kemiallisesta rakenteesta.

Tässä opinnäytetyössä käytetty materiaali Poloksameeri on hydrogeeli. Hydrogeelit ovat polymeeriketjuista koostuvia kolmiulotteisia rakenteita. Hydrogeelien erityispiirteisiin kuuluu niiden kyky sitoa itseensä suuria määriä nestettä, joka mahdollistaa niiden käyttämisen lääkeannostelussa. (Batista et al., 2019)

3.1 Poloksameerit

Poloksameerit ovat ionittomia kopolymeerejä, joiden rakenne koostuu hydrofobisista polyoksipropyleeni ketjuista, jotka ovat kietoutuneet polyetyleeniketjujen ympärille. Poloksameerin yleinen kemiallinen rakenne on esitetty kuvassa 5. Veteen liuotettuna poloksameeri muodostaa termosensitiivisen hydrogeelin, joka on alle 22 C°:ssa olomuodoltaan nestemäistä. (Braun, 2011)



Kuva 5. Poloksameerien yleinen kemiallinen rakenne (Dun et al., 2020)

Poloksameerien kemiallinen misellirakenne eli tiiviisti kasautunut molekyyliketju on riippuvainen niiden pitoisuudesta ja lämpötilasta, poloksameerin termosensitiivisen luonteen takia. Poloksameereista on useita eri moolimassoja, joiden

käyttökohteissa on eroavaisuuksia. Tässä opinnäytetyössä käytettyä poloksameeriä P407 voidaan hyödyntää lääkeannostelussa. Muiden poloksameerien käyttökohteina ovat muun muassa pinnoitteet ja stabilointiaineet. Poloksameerien termosensiitivinen luonne vaikuttaa niiden kemialliseen hajoamiseen ja materiaalin bioyhteensopivuuteen. Poloksameeri on bioyhteensopivaa ruumiinlämpötilassa, jolloin se on geelimäistä. Poloksameerejä hyödynnetään laajasti eri kudosteknologian sovelluksissa, koska sitä on helposti saatavilla ja sen geelin valmistusprosessi on erittäin nopea suorittaa. (Shirwaiker et al., 2014)

Poloksameerien sooli-geeli prosessi voidaan suorittaa esimerkiksi kylmämenetelmällä, jossa poloksameeri lisätään veteen ja laitetaan sekoittumaan noin vuorokauden ajaksi 4 °C-asteeseen, jotta soolista tulee mahdollisimman homogeeninen ja väriltään läpinäkyvä. Kun tämä sooli siirretään huoneenlämpötilaan, saadaan aikaan poloksameerin misellirakenne, jolloin se on myös tulostettavissa. Lopullinen geelirakenne saadaan aikaan ruumiinlämpötilassa eli noin 37 °C:ssa. Poloksameerin geeliytymisprosessi on esitetty kuvassa 6, jossa lämpötilaa kohotetaan huoneenlämpötilasta ruumiinlämpötilaan. (White & Calabrese, 2022).

Poloksameerin kohdalla huono tulostettavuus johtuu siitä, että materiaalin sisäiset polymeeriketjut kietoutuvat toisiinsa ja muodostavat niin tiiviitä rakenneosia, että ne eivät ole enää tulostettavissa. (da Silva et al., 2020).

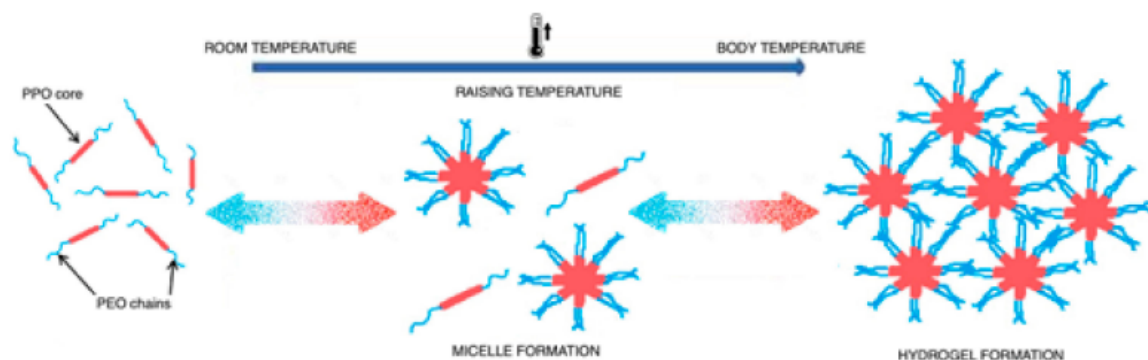


Figure 4. Schematic representation for hydrogel formation.

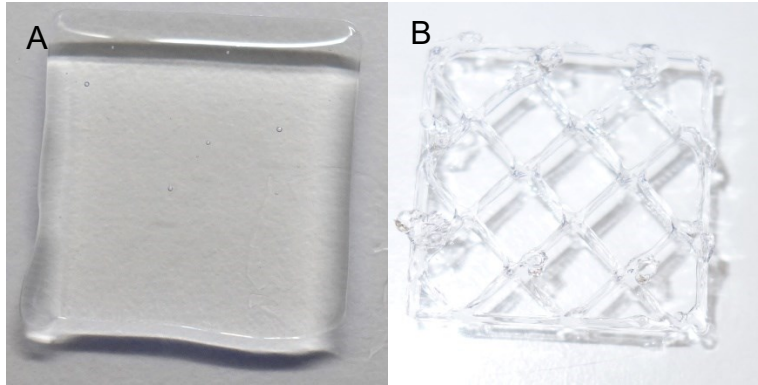
Kuva 6. Poloksameerin geeliytymisprosessi (Russo & Villa, 2019)

4 Tulostettavuuden analysointi

Materiaalien tulostettavuus tarkoittaa tulostuksen tarkkuutta ja tulostusprosessin standardointia, johon sisältyy esimerkiksi toimivan materiaalin valinta ja käytettävien tulostusparametrien optimointi. Tärkein osa materiaalien tulostettavuuden analysointia on yleensä tietyn biomusteen toimivuus. Biomusteena käytetyn materiaalin on oltava ominaisuuksiltaan leikkausohentuvaa. Leikkausohenevuus kuvastaa materiaalin viskositeetin alenemista, kun materiaaliin kohdistetaan painetta. Musteen toimivuutta voidaan tämän lisäksi analysoida tulostamalla erilaisia muotoja, missä tulee kuitenkin huomioida se asia, että osa tulostettavista kappaleista on hyvinkin helppoja tulostaa (kuten esimerkiksi sylinterimallit). Helppoja malleja ovat sellaiset kappaleet, jotka eivät vaadi tukirakennetta pysyäkseen kasassa. Kulmikkaat muodot ovat parempia musteen toimivuuden analysoinnissa, sillä kulmien tarkkuudesta voidaan helpommin analysoida tietyn materiaalin toimivuutta. (Yu et al., 2022a)

Erilaisten materiaalien tulostettavuutta voidaan esimerkiksi analysoida mittaamalla materiaalin turpoamista, lämpötilan vaikutusta, mekaanisia ominaisuuksia, vakautta ja bioyhteensopivuutta. Tulostettavuuteen vaikuttaa lisäksi se pysyykö tuloste kasassa tulostusprosessin jälkeen, vai kasaantuuko tulostettu kappale heti prosessin jälkeen. Näiden analyysien avulla pystytään esimerkiksi säätämään biomusteen ominaisuuksia, ja saamaan aikaan mahdollisimman hyviä biomusteita. Hyvän biomusteen ominaisuuksiin kuuluu esimerkiksi leikkausohenevuus sekä hyvä virtauskyky. (Kakarla et al., 2022)

Kuvassa 7 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksilla 35 m/v% ja 20 m/v% tulostetut kolmiulotteiset ristikkorakenteet. Kuvan A-kohdasta voidaan havaita, että 20 m/v% poloksameerilla tulostettu ristikkorakenne ei ole tulostunut hyvin, sillä yksittäiset ristikkokuukokset eivät ole tarkasti nähtävissä tulostetusta kappaleesta. Kuvan B-kohdasta voidaan havaita, että 35 m/v% poloksameerilla tulostetusta kappaleesta on selkeästi nähtävissä ristikon yksittäiset ruudut ja täten tulostusjälki on myös parempi.



Kuva 7. Poloksameerin eri pitoisuuksilla tulostetut ristikkorakenteet

Tulostettavuuden analysointiin on edellä mainittujen menetelmien lisäksi mahdollista hyödyntää esimerkiksi reometrisia mittauksia, joiden avulla pyritään määrittämään elastisen moduulin ja viskoottisen moduulin ero, ΔM . Elastinen moduuli (*engl.* storage modulus) kuvastaa materiaalin kykyä palautua räsityksestä ja viskoottinen moduuli (*engl.* loss modulus) kuvastaa energian vähentymistä muodonmuutoksen aikana. Joissakin tapauksissa näitä mittauksia hyödynnetään materiaalin tulostusikkunaa analysoitaessa. Tulostusikkunalla tarkoitetaan kullekin materiaalille ominaista aikaa, jolloin se on tulostettavissa ennalta määritellyillä parametreilla. Tulostustarkkuuden analysoinnissa voidaan lisäksi hyödyntää esimerkiksi tiettyjen kappaleiden kaksi – tai kolmiulotteista rakennetta ja tulostusvirhettä. (Yu et al., 2022b)

Kun halutaan tutkia materiaalin tulostettavuutta, voidaan esimerkiksi määrittää myös materiaalin leikkausohenevuutta, myötöjännitystä (*engl.* yield stress) ja materiaalin palautumiskäyttäytymistä. Leikkausohenevuus kertoo siitä, kuinka hyvin materiaali kestää siihen kohdistuvaa räsitystä. Myötöjännityksellä sekä palautumiskäyttäytymisellä kuvataan materiaalin kykyä muodostaa kestäviä rakenteita ja sitä voivatko materiaalilla tulostetut kappaleet hajota heti tulostusprosessin jälkeen (Amorim et al., 2021). Materiaalien reometrinen analysointi aloitetaan usein rotaatiomittauksilla, joiden avulla voidaan esimerkiksi määrittää materiaalin viskositeetti vakioleikkausnopeudella. Kun viskositeetti määritetään vakioleikkausnopeudella, saadaan sen avulla tietää tietyn materiaalin lepotilan viskositeetti.

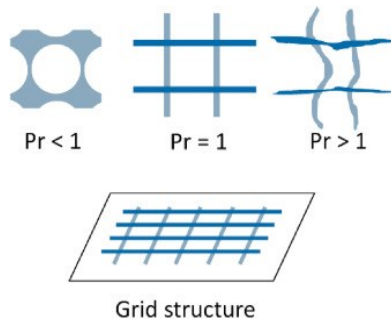
Materiaalista tulostettujen kappaleiden laatua voidaan analysoida esimerkiksi määrittämällä, kuinka hyvin tietty kappale säilyttää muotonsa materiaalin tulostuksen jälkeen. Jos materiaalista tulostettu kappale ei säilytä haluttua muotoa pitkään tulostuksen jälkeen, on sen tulostettavuus myös heikolla tasolla. Jotkin materiaalit käyttäytyvät niin nestemäisesti, että niillä tulostettaessa hyvien kappaleiden aikaan saaminen ei ole mahdollista. Myös liian viskoottiset materiaalit ovat sellaisia, että niitä ei ole mahdollista hyödyntää biomusteina. Näissä tapauksissa materiaali joko virtaa jatkuvasti tai sitten siitä tulostetun kappaleen rakenne on erittäin hauras. Viskoottisuuden reometrisessä määityksessä voidaan käyttää esimerkiksi amplitudimittauksia tai leikkausrasitusmittauksia. (Amorim et al., 2021)

4.1 Pr-arvon määrittäminen

Pr-arvo (*engl.* printability rate) on yksi mahdollisista tulostustarkkuuden mitta-reista, mikä pystytään määrittämään kaksikerroksisten ristikkorakenteiden huokosten muodosta. Jokin materiaali voi olla tulostettavaa, mutta se ei tulostu hyvin, jolloin tulostustarkkuus on huono. Pr-arvon laskeminen on esitetty kaavassa 1. Sen avulla pystytään määrittämään, kuinka hyvin tietyllä materiaalilla pystytään tulostamaan kulmikkaita tai pyöreitä muotoja. Nämä mittaukset voidaan suorittaa esimerkiksi ImageJ-kuvankäsittelyohjelmalla ja siihen saatavalla Fiji-lisäosalla. Pr-arvoa laskettaessa huomioidaan ympyrämäisyys (*engl.* circularity). Ympyrämäisyys määrittyy ImageJ-kuvankäsittelyohjelmassa siten, kuinka pyöreä tietyn huokosen sisäinen rakenne on. Ympyrämäisyys voidaan määrittää vain ristikkorakenteiden huokosten muodosta. Jos Pr-arvo on suurempi kuin 1, materiaali on todennäköisesti yligeeliytynyttä ja muodostaa siksi epätasaista filamenttia.

Jos Pr-arvo on alle 1, materiaali on liian nestemäistä tai huonosti geeliytynyttä tulostuakseen tarkaksi muodoksi. Pr-arvo 1 on kaikista paras Pr-arvo, mikä käytännössä tarkoittaisi sitä, että 3D-tulostimella tulostettu kappale olisi lähes neliömäinen. Huono Pr-arvo tarkoittaa usein sitä, että materiaali ei ole silloittunut (*engl.* crosslinking) tasaisesti tai se on ollut tulostettaessa kovin nestemäistä.

(Jongprasitkul et al., 2022). Kuvassa 8 on kuvattu Pr-arvon arvon vaikutusta yhden huokosen muotoon.



Kuva 8. Pr-arvon vaikutus huokosen muotoon (Jongprasitkul et al., 2022)

Kaava 1. Pr-arvon (*engl.* printability rate) määrittäminen (Jongprasitkul et al., 2022)

$$Pr = \frac{\pi}{4} \cdot \frac{1}{C},$$

missä

Pr = Tulostettavuus arvo (*engl.* Pr-value)

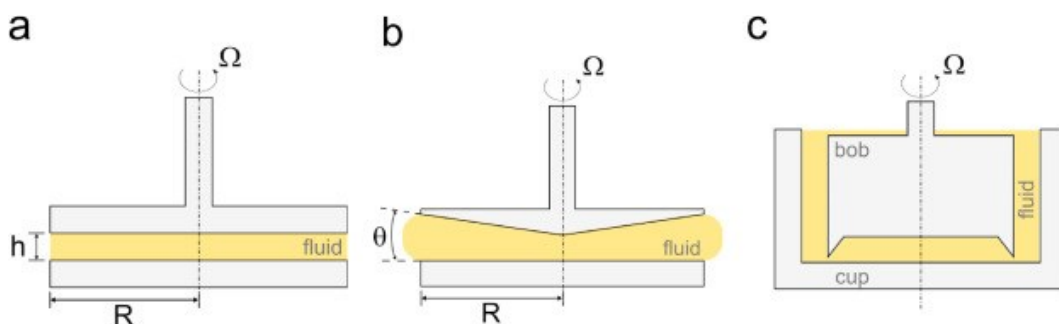
C = Ympyrämäisyys (*engl.* circularity)

Muiden kuin kulmikkaiden 3D-mallien avulla tulostettujen kappaleiden tulostustarkkuutta voidaan verrata mittaamalla tulosteen mitat ja vertaamalla niitä 3D-mallin mukaisiin mittoihin. Vertailu voidaan suorittaa myös punnitsemalla tulostettu kappale ja vertaamalla sitä 3D-mallin tilavuuteen. Tässä opinnäytetyössä keskityttiin tulostettujen kappaleiden mittojen analysointiin.

5 Reologia

Reologian avulla voidaan selvittää materiaalin muodon muuttumista sekä virtauskäyttäytymistä. Materiaalien reometriset ominaisuudet riippuvat niiden fysikaalisista ominaisuuksista. Reologisten ominaisuuksien mittaamiseen käytetään reometriä. (Anton Paar, 2022a). Reologia voidaan myös määritellä ajasta riippuvaisena muodon muuttumisena, kun materiaaliin kohdistetaan rasitusta. (Darvell, 2018). Reometrinen mittausten aikana voidaan esimerkiksi säätää materiaaliin kohdistuvaa leikkausrasitusta (*engl.* shear stress) muuttamalla leikkausnopeutta (*engl.* shear rate). (Anton Paar, 2022a)

Reometrin toiminta perustuu siihen, että reometrissä oleva mittapää mittaa materiaalin vääntömomenttia (*engl.* torque) ja poikkeamiskulmaa (*engl.* deflection angle). Näiden avulla voidaan laskea materiaalille leikkausnopeus sekä leikkausjännitys. Leikkausnopeuden määrittäminen on esitetty kaavassa 2. Kuvassa 9 on esitetty reometrissä käytettäviä erilaisia mittapäitä, joiden avulla vääntömomentin ja poikkeamiskulman suhdetta pystytään laskemaan. Kuvan 9 a-kohdassa on esitetty taso-taso geometria, b-kohdassa on esitetty kartio geometria ja c-kohdassa on esitetty couette geometria. Viskositeetti voidaan määrittää leikkausnopeuden ja leikkausjännityksen avulla. (Amorim et al., 2021)



Kuva 9. Erilaisia reometrin mittapäitä (Amorim et al., 2021)

Eri materiaalien reologinen käyttäytyminen voidaan karkeasti jakaa elastiseen ja viskoottiseen käyttäytymiseen, mutta on myös olemassa joitakin materiaaleita, jotka ovat ominaisuuksiltaan viskoelastisia. Elastisia materiaaleita ovat esimerkiksi metallit. Viskoottisia materiaaleja ovat esimerkiksi öljy. Eräs esimerkki

viskoelastisesta materiaalista on hunaja tai käsirasva. 3D-biotulostuksessa reometrisiä mittauksia voidaan hyödyntää analysoitaessa materiaalin käyttäytymistä tulostusprosessin aikana, esimerkiksi suorittamalla oskillaatio-rotaatio-oskillaatio-mittauksia. Oskillaatio-rotaatio-oskillaatio mittauksilla voidaan mallintaa materiaalin kykyä palautua tulostusprosessin jälkeen. Mahdollisia häiriöitä materiaalin viskoottisessa käyttäytymisessä saattaa aiheuttaa esimerkiksi hiutaloituminen (*engl.* flocculation). (Darvell, 2018).

Leikkausjännitys (τ) voidaan määrittää myös kaavan 2 avulla:

Kaava 2. Leikkausjännityksen määrittäminen (Anton Paar, 2022a)

$$\tau = \frac{F}{A},$$

missä

τ = Leikkausjännitys (Pa)

F = leikkausvoima (N)

A = leikkausalueen pinta-ala (m²)

Leikkausnopeus (γ) voidaan puolestaan määrittää kaavan 3 avulla:

Kaava 3. Leikkausnopeuden määrittäminen (Anton Paar, 2022a):

$$\gamma = \frac{v}{h},$$

missä

γ = leikkausnopeus (1/s)

v = nopeus (m/s)

h = mittauspään ja mittaustason välinen etäisyys (*engl.* shear gap) (m)

Viskositeetti on suure eli materiaalin ominaisuus, mikä kertoo tietyn materiaalin kykyä vastustaa virtausta. Tämä suure on riippuvainen lämpötilasta, mikä tarkoittaa käytännössä sitä, että mitä korkeampi lämpötila on, sitä matalampi viskositeetti aineella on. Jotkin materiaalit saattavat kuitenkin poiketa tästä mallista, kuten esimerkiksi poloksameeri, joka on jääkaappilämpötilassa nesteistä ja huoneenlämpötilassa kiinteää (Harris, 2007). Viskositeetti voidaan määrittää reometrin tai viskosimetrin avulla.

Viskositeetti voidaan laskea kaavassa 4 esitetyllä tavalla hyödyntäen leikkausnopeutta ja leikkausjännitystä.

Kaava 4. Viskositeetin määrittäminen (Anton Paar, 2022a).

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}},$$

missä

η = Viskositeetti (Pa · s)

τ = Leikkausjännitys (Pa)

$\dot{\gamma}$ = Leikkausnopeus (1/s)

Eri materiaaleihin kohdistuvaan voimaan eli rasitukseen vaikuttaa materiaaleihin kohdistettava nopeus, alueen pinta-ala sekä kahden liikkuvan tason väliin jäävä etäisyys. Materiaalille voidaan myös mallintaa sille ominainen käyttäytymismalli. Materiaalit voidaan jakaa viskoelastisen käytöksensä perusteella newtonisiin fluideihin, ei-newtonisiin fluideihin, diletantteihin fluideihin, pseudoplastisiin fluideihin tai binghamisiin fluideihin. Näiden materiaalien käyttäytymistä on esitetty tarkemmin kuvassa 10 (Musameh, 2015). Newtonisten fluidien käyttäytymisen on lineaarista, jolloin leikkausnopeuden kasvaessa myös leikkausjännitys

kasvaa. Newtonisia materiaaleita ovat esimerkiksi vesi ja orgaaniset liuottimet. Binghamplasiset materiaalit tarvitsevat vähäisen leikkausnopeuden noston, jonka jälkeen virtauskäyttäytyminen muuttuu lineaariseksi. Yksi esimerkikki tällaisesta materiaalista on majoneesi. Ei-newtonisia materiaalien viskositeetti riippuu leikkausnopeudesta, jolloin ne ovat käytökseltään joko leikkausohenevia tai leikkauspaksunevia. Leikkausohenevat eli pseudoplastiset materiaaleita ovat esimerkiksi ketsuppi ja veri. Leikkauspaksunevia eli dilantteja materiaaleita ovat esimerkiksi vedestä ja maissitärkelyksestä valmistettu seos. Tässä opinnäytetyössä käytetty poloksameeri on käytökseltään pseudoplastista. (RheoSense, 2022) Materiaalin viskoelastinen käyttäytyminen voidaan määrittää leikkausrasituksen ja leikkausnopeuden avulla kaavassa 5 esitetyllä tavalla (Siacor et al., 2021):

Kaava 5. Viskoelastisen käyttäytymismallin määrittäminen (Siacor et al., 2021):

$$\frac{F}{A} = -\mu \cdot \frac{\Delta v}{\Delta y},$$

missä

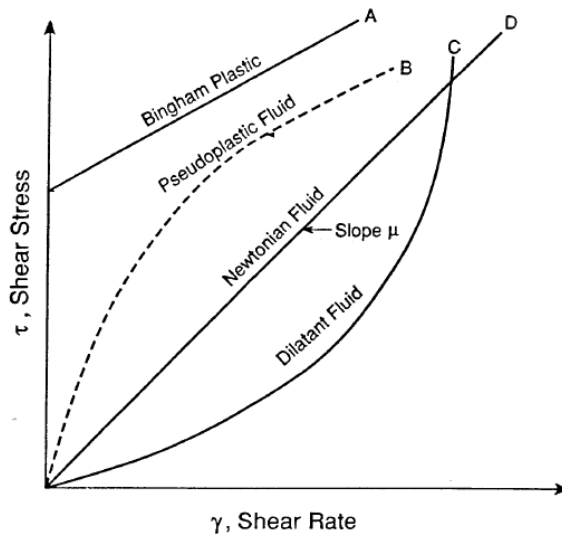
F = Materiaaliin kohdistettava voima

A = pinta – ala

μ = viskositeetti

Δv = nopeuden muutos

Δy = kahden levyn välinen etäisyys toisistaan



Kuva 10. Eri materiaalien viskoottinen käyttäytyminen (Musameh, 2015)

3D-biotulostuksessa reometrisiä mittauksia voidaan hyödyntää analysoitaessa materiaalin käyttäytymistä tulostusprosessin aikana analysoimalla tulostusmateriaalin palautumiskäyttäytymistä tulostusprosessin jälkeen. Palautumiskäyttäytymiseen soveltuva reologinen mittaustapa on oskillaatio-rotaatio-oskillaatio mitaus. Mahdollisia häiriöitä materiaalin käyttäytymisessä saattaa aiheuttaa esimerkiksi hiutaloituminen (*engl.* flocculation). (Darvell, 2018).

Joissakin tapauksissa materiaalit saattavat olla ominaisuuksiltaan leikkausohenevia, mikä käytännössä tarkoittaa sitä, että materiaalin viskositeetti pienenee leikkausnopeuden kasvaessa. Tällaisia aineita ovat esimerkiksi tietyt pinnoitteet, liimat ja polymeeriliuokset. Näiden lisäksi on myös olemassa leikkauspaksuuntuvia materiaaleja, joiden ominaisuudet ovat päinvastaisia kuin leikkausohenevien materiaalien. Näille materiaaleille on tyypillistä se, että viskositeetti kasvaa leikkausnopeuden kasvaessa. Tällaisia aineita ovat esimerkiksi komposiitit ja tärkkelysdispersioidut. Jotkin materiaalit saattavat tämän lisäksi asettua näiden kaikkien väliin, jolloin niitä kutsutaan yleisesti viskoelastisiksi materiaaleiksi. (Anton Paar, 2022a)

5.1 Viskositeetti ajan funktiona

Ajan funktiona tehtäviä viskositeettimittauksia hyödynnetään, kun halutaan selvittää materiaalin lepotilan viskositeettia. Kun halutaan määrittää viskositeettia ajan funktiona, pidetään leikkausnopeus vakiona. Joissakin tapauksissa mittaus suoritetaan intervalleittain, jolloin leikkausnopeutta muutetaan asteittain. Asteittain nousevassa mittaustavassa pyritään esimerkiksi mallintamaan tietyn materiaalin ominaisuuksia lepotilassa ja rasituksen aikana. (Anton Paar, 2022b). Tässä opinnäytetyössä käytettiin kuitenkin vain vakioleikkausnopeutta, eikä suoritettu leikkausnopeuden asteittaista muutosta intervalleittain.

5.2 Viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella

Hydrogeelien käyttäytymisessä elastinen moduuli on usein hallitsevampi. Elastinen moduuli määrittää enemmän niiden käyttäytymistä leikkausrasituksen alaisuudessa, jolloin niille ei voida suoraan määrittää leikkausohenevuutta jatkuvan leikkausrasituksen alaisena.

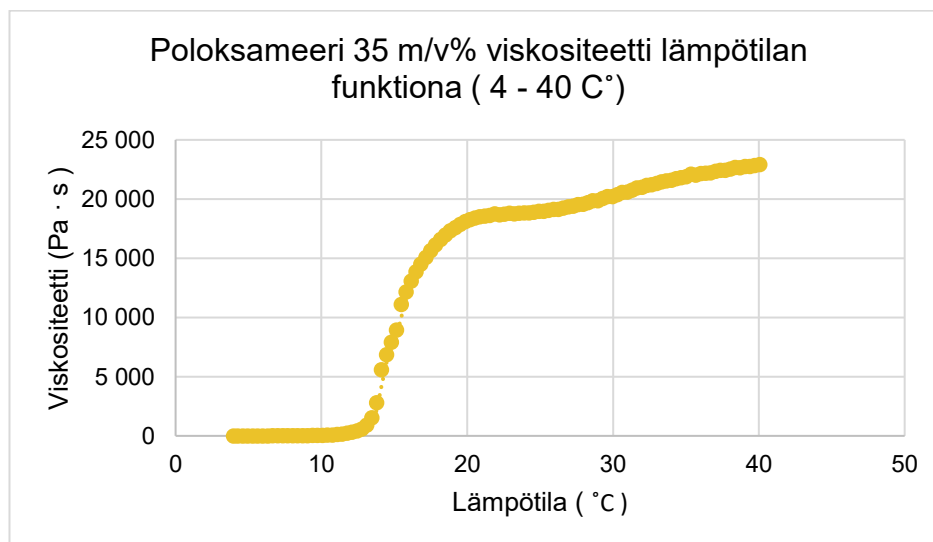
Muuttuvalla leikkausnopeudella tehtävistä reologisista mittauksista voidaan määrittää leikkausohenemiskerroin (*engl.* shear thinning index), n , joka kuvastaa materiaalin käyttäytymistä. Newtoniset materiaalien kerroin on 1, kun taas muut arvot kuvastavat sitä, että materiaali on käytökseltään ei-newtoninen. Kun n -arvo on suurempi kuin 1 on materiaali käytökseltään dilanttinen. Jos n -arvo on arvojen 1 ja 0 välillä, on materiaali käytökseltään leikkausoheneva (eli pseudoplastinen). Juoksevuusindeksi (*engl.* consistency factor), K , kuvastaa taas materiaalin leikkausohenevuutta. (Rig Worker, 2022) Molemmat kertoimet voidaan määrittää tekemällä kuvaaja viskositeetin ja leikkausnopeuden avulla. Juoksevuusindeksi on yhtälön kulmakerroin. Leikkausohenemiskerroin n on yhtälön 1 - eksponentti n (Hall, 2012)

5.3 Viskositeetti lämpötilan funktiona

Lämpötilalla saattaa olla merkittävä vaikutus materiaalin viskositeettiin. Lämpötilan vaikutuksesta materiaali saattaa esimerkiksi kiinteytyä, kiteytyä tai geeliytyä. Viskositeetin mittausta lämpötilan funktiona voidaan hyödyntää materiaalin fyysisten ominaisuuksien (esim. geeliytyminen) muutos pisteiden määrittämisessä. Lämpötilan funktiona tehtävissä viskositeetti mittauksissa käytetään vakioleikkauksnopeutta. Usein näillä mittauksilla voidaan selvittää, mikä on tietyn polymeerin sulamispiste. (Anton Paar, 2022 c)

Kuvaajassa 1 on esitetty esimerkki 35 m/v% poloksameerin viskositeetin muutoksesta lämpötilan funktiona. Kuvaajassa on nähtävissä tasanne kohta noin 37 asteen kohdalla, jossa on poloksameerin geeliytymispiste. Fyysisten ominaisuuksien muutos pystytään määrittämään kuvaajassa olevista tasanne kohdista.

Kuvaaja 1. 35 m/v% poloksameerin viskositeetti lämpötilan funktiona



Lämpötilamittausten avulla pystytään myös määrittämään hydrogeelien geeliytymispiste, ja sitä voidaan hyödyntää tulostusasetuksien valinnassa. Geeliytymislämpötila on hyödyllinen tieto esimerkiksi harkittaessa, tarvitseeko jokin tulostettava materiaali lämmitystä tai viilennystä tulostusprosessin aikana. (Amorim et al., 2021)

Materiaalien tiedetään pystyvän vastustamaan puristavaa liikettä, mutta se kuinka paljon, vaikuttaa tulostettavuuteen. Materiaalit voivat vastustaa puristavaa liikettä, jolloin materiaalin hallittuun liikkeeseen vaaditaan niin suuri voima, että nykyisillä laitteistoilla ei kyetä siihen. Tämä voi olla seurausta materiaalien kemiallisesta rakenteesta.(da Silva et al., 2020).

6 Materiaalit ja menetelmät

Tämä opinnäytetyö jakautui neljään eri työvaiheeseen: biomusteiden valmistamiseen, 3D-tulostusruiskujen täyttöön, reologisiin mittaukseen ja varsinaiseen 3D-tulostusprosessiin. Käytettyjen biomusteiden viskositeettia mitattiin Turun Ammattikorkeakoulun tiloissa sijaitsevalla reometrillä. Biomusteet valmistettiin Brinter Oy:n tiloissa BASF:n Kolliphor P 407 Geismar poloksameerista. Siitä valmistettiin 40 m/v%, 35 m/v%, 30 m/v%, 25 m/v% ja 20 m/v% poloksameeriliuokset. Opinnäytetyön alussa oli tarkoitus valmistaa isompi erä 40 % poloksameeria ja laimentaa siitä alemman pitoisuuden omaavia liuoksia. Tämä osoitautui kuitenkin huonoksi menetelmäksi, koska viskoottisen materiaalin pipetointi oli hyvin epätarkkaa. Tästä syystä päädyttiin valmistamaan poloksameerilaimennukset yksitellen.

Rotaatiomittauksia suoritettiin kolmella menetelmällä, joilla saatiin määritettyä viskositeettia eri parametreilla. Käytetyt mittausmenetelmät olivat viskositeetti vakioleikkausnopeudella, viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella ja viskositeetti lämpötilan funktiona.

Ensimmäisessä rotaatiomittauksessa mitattiin materiaalin viskositeettia vakioleikkausnopeudella 0,01 1/s. Vakioleikkausnopeusmittauksella pyrittiin mallintamaan materiaalin viskositeettia lepotilassa, eli silloin kun materiaali on juuri siirretty tulostusruiskuun. Tämän lisäksi suoritettiin reometrisiä mittauksia muuttuvalla leikkausnopeudella 0,01 1/s - 300 1/s, ja sen avulla pystyttiin mallintamaan materiaalin käyttäytymistä rasituksessa sekä materiaalin leikkausohenevuutta. Muuttuvan leikkausnopeuden mittauksista voitiin määrittää poloksameerin eri pitoisuuksien juoksevuusindeksit (K) ja leikkausohenevuuskertoimet (n). Työssä haluttiin myös tutkia poloksameerin termosensitiivistä luonnetta mittaamalla sen viskositeettiä lämpötilanfunktiona vakioleikkausnopeudella 0,01 1/s, lämpötilan muuttuessa 4–40 °C.

6.1 Materiaalit

Kolliphor P407 Geismar, valmistaja: BASF Corporation, tuotenumero: 50507975
eränumero: GNE12022B

PBS tablets (0,14 M NaCl + 0,0027 M KCL + 0,0010 M Phospate buffer pH 7,5).
tuotenumero: 09-9400-100, vkp 2025-11, eränumero: 264616-01, valmistaja:
Biotop JL, Medicago AB

MilliQ water

1 x PBS buffer non sterile, valmistaja: AV 11.02.2022

1 X PBS buffer non sterile, valmistaja: HO 16.03.2022

6.2 Käytetyt laitteet ja välineet

Automaattipipetti, ecopipette by Capp 100–1000 µL, LA12919

Brinter® One (sarjanumero 1015) 3D-biotulostin

Digitaalinen kamera, Sony RX100 II

Erlenmayer 1000 ml Fisherbrand

Pneuma Tool P 106

Pneuma Tool P 99

Reometri, Anton Paar Modular Compact Rheometer 102, Turku AMK BIO 2103

Reometrin mittapää PP15, halkaisija: 14,975 mm, zero gap: 1,025 mm tuotenu-
mero: 9899, eränumero: 24880, käyttöön otettu 18/5/2011, Turku AMK BIO 2106

Säilöpullo 500 ml, Fisherbrand

Säilöpullo 250 ml, Fisherbrand

Sähköpipetti, Corning Stripettor Ultra

Tarkkuusvaaka, Mettler Toledo SB16001 DeltaRange®, minimipaino 16,4 g. Kalibroitu 3.6.2021 Petri Laakso

Visco Bio Tool 69

Visco Bio Tool 72

6.3 Poloksameeriliuosten valmistus

Poloksameeriliuokset valmistettiin BASF:n Kolliphor P407 Geismar -poloksameerista sekä PBS-puskurista. Poloksameeri valikoitui materiaaliksi sen edullisuuden ja hyvien tulostusominaisuuksien johdosta. Puskurina käytettävän PBS-puskurin tiheys on lähes 1 g/mL, joten voitiin olettaa sen massan olevan sama, kuin tilavuudenkin. Kuhunkin pitoisuuteen punnittiin sopiva määrä poloksameeria kaavassa 6 esitetyllä menetelmällä. Kaavan 6 tulosten avulla punnitut määrät ja massaprosentit (m%) on esitetty taulukossa 1.

Kaava 6. Poloksameerin valmistamiseen tarvittavan massan määrittäminen

$$m(\text{poloxameerin massa}) = V (\text{liuoksen kokonaistilavuus}) \text{ ml} \cdot 1 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \cdot \frac{\text{prosenttisuus} (\%)}{100}$$

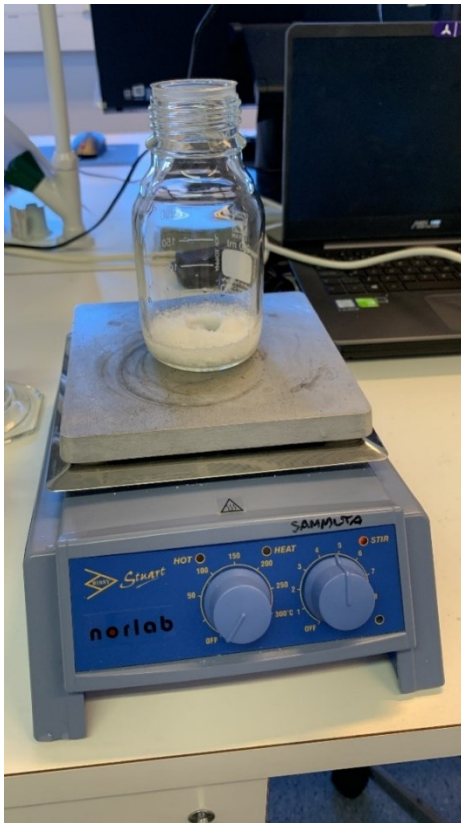
Taulukko 1. Poloksameerin punnitut määrät ja PBS-puskurin tilavuus

Massan suhde tilavuuteen (m/v %)	Poloksameerin pitoisuus (m-%)	Poloksameeria punnittu määrä (g)	PBS-puskurin tilavuus (ml)
40	28,6	100	250
35	25,9	35	100
30	23,1	30	100
25	20,0	25	100
20	16,7	20	100

Työssä poloksameerin pitoisuudet esitetään massan suhteena tilavuuteen m/v% (*engl.* weight per volume, w/v %), koska se on yleisesti Brinter Oy:ssä

käytetty esitystapa. Poloksameerit valmistettiin punnitsemalla aluksi tarvittava poloksameerin määrä tarkkuusvaa'alla. Poloksameerin punnitut massat on esitetty taulukossa 1. Tämän jälkeen kutakin poloksameeria varten mitattiin tarvittava määrä PBS-puskuria mittalasilla.

Dekanterilaslin tai säilöpullon pohjalle asetettiin magneettisekoittaja, ja astiaan lisättiin aluksi PBS-puskuria niin, että reaktioastian pohja peittyi. Magneettisekoittaja asetettiin sekoittamaan liuosta kierrosnopeudella 3. Kuvassa 11 on nähtävissä valmistuksessa käytettävä magneettisekoittaja, kun liuokseen oli lisätty poloksameeria. Tämän jälkeen astiaan lisättiin PBS-puskuria ja poloksameeria vuorotellen, kunnes molemmat olivat käytetty täysin loppuun. Tämän jälkeen poloksameerit vietiin tekeytymään + 4 °C kylmiöön, kunnes poloksameereissa ei ollut enää paljaalla silmällä nähtäviä erottuvia poloksameerikeiteitä.



Kuva 11. Poloksameerin valmistus

6.4 Reometriset mittaukset

Kaikki työssä tehdyt reometriset mittaukset suoritettiin Turun Ammattikorkeakoulun tiloissa Anton Paarin valmistamalla reometrillä, esitetty kuvassa 12. Geometriana käytettiin taso-taso mittapäätä, joka oli halkaisijaltaan 15 mm. Reometrin geometria on esitetty kuvassa 13.



Kuva 12. Turku AMK:n Anton Paarin valmistama reometri



Kuva 13. Reometrin taso-taso geometria

Tässä opinnäytetyössä päädyttiin suorittamaan kolme erilaista rotaatiomittausta: viskositeetti lämpötilan funktiona, viskositeetti vakioleikkausnopeudella (0,01 1/s) sekä viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella (0,01–300 1/s). Lämpötilan vaikutusta viskositeettiin päädyttiin mittaamaan, koska tulostuskokkeiden aluksi havaittiin, että materiaalin sisäinen lämpötila nousi tulostuksen aikana jonkin verran. Näin ollen haluttiin selvittää, onko sillä myös mahdollista vaikutusta materiaalin tulostettavuuteen eri tulostuspäillä vai onko näin pieni noin 2,4 °C lämpötilan nouseminen tulostusprosessin aikana sellainen asia, jolla ei ole merkittävää vaikutusta tulostusprosessin kannalta.

6.5 Tulostusparametrien optimointi ja tulostuskokeet

Kaikille poloksameeripitoisuuksille optimoitiin sopivat tulostuspaineet ja nopeudet sekä Pneuma Toolia, että Visco Bio -tulostuspäitä käytettäessä. Tässä opinnäytetyössä käytetyt tulostusasetukset löytyvät lisäksi Application Noteista liitteestä 3 sekä alla olevista taulukoista. Etenkin tulostuspään liikenopeuden asetuksen kohdalla pyrittiin siihen, että molemmilla työkaluilla olisi samanlaiset asetukset. Näin tulostustuloksiin ei vaikuttaisi tulostusnopeuden aiheuttama mahdollinen tulostusjäljen heikkeneminen.

Taulukossa 3 on esitetty 40 m/v% poloksameerila Visco Biolla sekä Pneumatoolilla käytettävät tulostusasetukset.

Taulukko 2. 40 m/v % poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset

Poloksameeri 40 m/v%		
Tulostuspää:	Pneuma Tool	Visco Bio
Tulostuskärki:	250 µm	250 µm
Tulostuspaine:	1030 mbar	134 mbar
Ekstruusiokerroin	-	2,0
Tulostus lämpötila:	Huoneenlämpötila	Huoneenlämpötila
Tulostusnopeus:	8 mm/s	8 mm/s

Taulukossa 4 on esitetty 35 m/v% poloksameerilla Visco Biolla sekä Pneuma Toolilla käytettävät tulostusasetukset

Taulukko 3. 35 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset

Poloksameeri 35 m/v% tulostusasetukset		
Tulostuspää:	Pneuma Tool	Visco Bio
Tulostuskärki:	250 µm	250 µm
Tulostuspaine:	446 mbar	80 mbar
Ekstruusiokerroin	-	2,0
Tulostus lämpötila:	Huoneenlämpötila	Huoneenlämpötila
Tulostusnopeus:	8 mm/s	8 mm/s

Alla olevassa taulukossa 5 on esitetty 30 m/v% poloksameerilla Visco Bio sekä Pneuma Tool tulostuspäillä käytetyt asetukset.

Taulukko 4. 30 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset

Poloksameeri 30 m/v% tulostusasetukset		
Tulostuspää:	Pneuma Tool	Visco Bio
Tulostuskärki:	250 µm	250 µm
Tulostuspaine:	633 mbar	10 mbar
Ekstruusiokerroin	-	1,0
Tulostus lämpötila:	Huoneenlämpötila	Huoneenlämpötila
Tulostusnopeus:	8 mm/s	8 mm/s

Alla olevassa taulukossa 6 on esitetty 25 m/v% poloksameerilla Visco Biolla sekä Pneuma Toolilla käytettävät tulostusasetukset

Taulukko 5. 25 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset

Poloksameeri 25 m/v% tulostusasetukset		
Tulostuspää:	Pneuma Tool	Visco Bio
Tulostuskärki:	250 µm	250 µm
Tulostuspaine:	22 mbar	80 mbar
Ekstruusiokerroin	-	1,5
Tulostus lämpötila:	Huoneenlämpötila	Huoneenlämpötila
Tulostusnopeus:	8 mm/s	8 mm/s

Alla olevassa taulukossa 7 on esitetty 20 m/v% poloksameerilla Visco Biolla sekä Pneuma Toolilla käytettävät tulostusasetukset

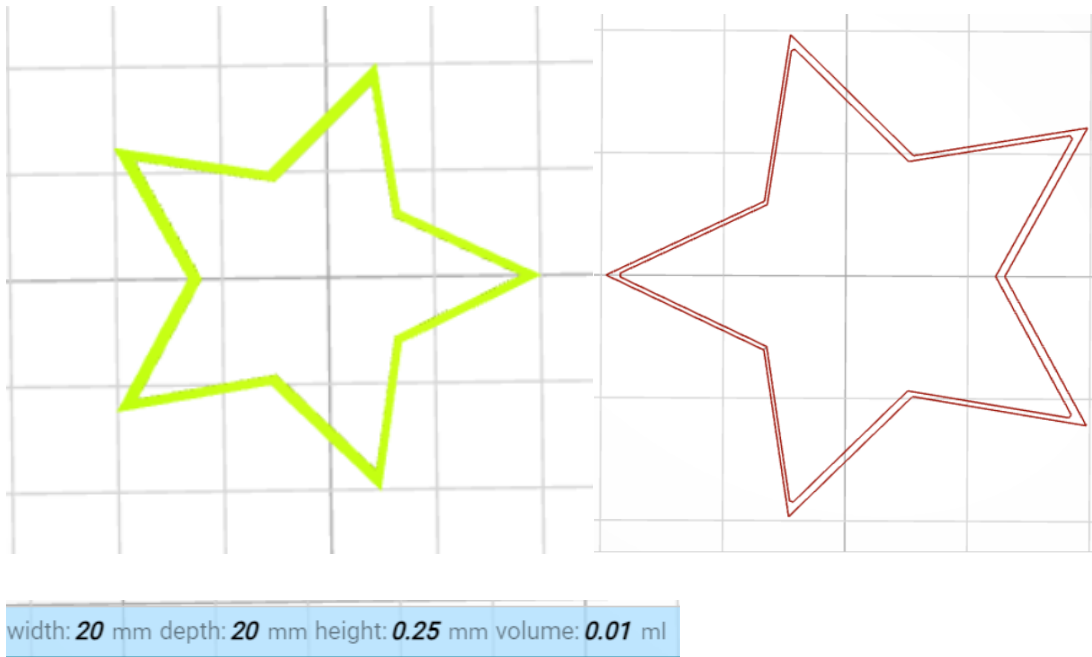
Taulukko 6. 20 m/v% poloksameerilla käytetyt tulostusasetukset

Poloksameeri 20 m/v% tulostusasetukset		
Tulostuspää:	Pneuma Tool	Visco Bio
Tulostuskärki:	250 µm	250 µm
Tulostuspaine:	446 mbar	80 mbar
Ekstruusiokerroin	-	2,0
Tulostus lämpötila:	Huoneenlämpötila	Huoneenlämpötila
Tulostusnopeus:	8 mm/s	8 mm/s

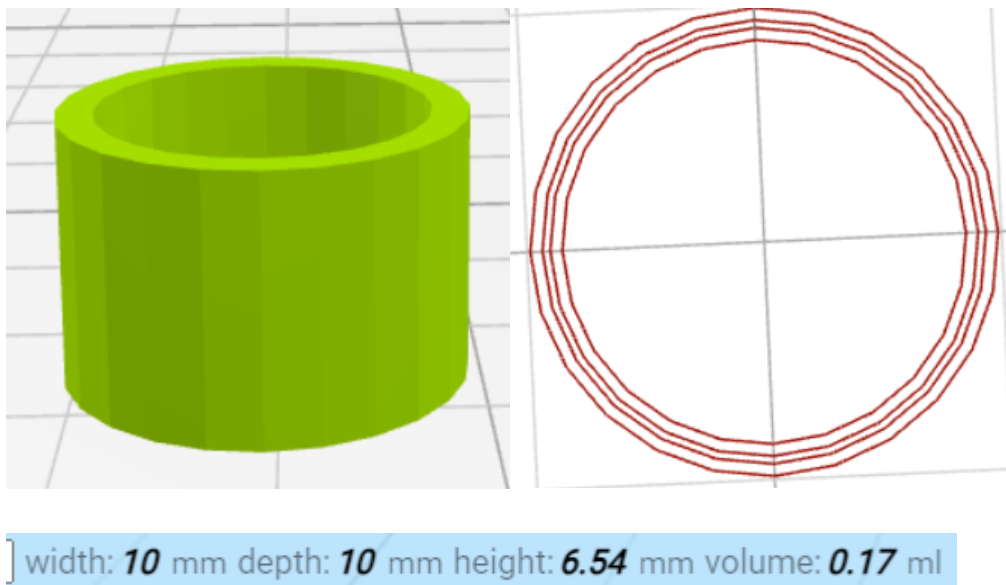
Pneuma Tool -tulostuspään toiminta pohjautuu pneumaattiseen ekstruusioon, kun taas Visco Bio -tulostuspää pohjautuu tulostusputken sisällä olevaan ruuviin, jonka ekstruusiokerrointa (*engl.* extrusion factor) säätämällä pystytään vaikuttamaan tulostustuloksen tarkkuuteen ja materiaalin ulospuristamiseen kohdistuvaan voimaan. Sekä Pneuma Toolin että Visco Bion tulostuspainetta pystyttiin säätämään tulostusprosessin aikana.

Tulostuskokeissa päädyttiin lopulta tulostamaan kaikilla poloksameerin eri pitoisuuksilla neljää erilaista kappaletta. Kappaleet olivat yksiulotteinen (1D) tähti, kaksiulotteinen (2D) ristikko, kolmiulotteinen (3D) sylinteri sekä kolmiulotteinen (3D) ristikko. Yksiulotteinen tähtimalli ei varsinaisesti ole yksiulotteinen, vaan tähtimallissa tulostettiin vain yksi kerros, jonka korkeudeksi asetettiin 0,25 mm. Kuvassa 14 on esitetty tähtimallin 3D-malli, mitat sekä leikkauskuva. Molemmat ristikkomallit tehtiin kuutiomallin pohjalta skaalaamalla sen korkeutta pienemmäksi. 2D-ristikossa kuution korkeus oli 0,5 mm ja 3D-ristikon kohdalla laatikkomallin korkeutena oli 2,0 mm. Ristikkomallien tarkemmat mitat ja leikkauskuvat on esitetty kuvissa 16 ja 17. Täyttömallina käytettiin ristikkoa, josta johtuu alkuperäisen 3D-mallin muoto. 3D-sylinterin tarkemmat mitat ja leikkauskuva on esitetty kuvassa 15. Kaikki mallien kuvat kuvattiin Brinter® slicerissä.

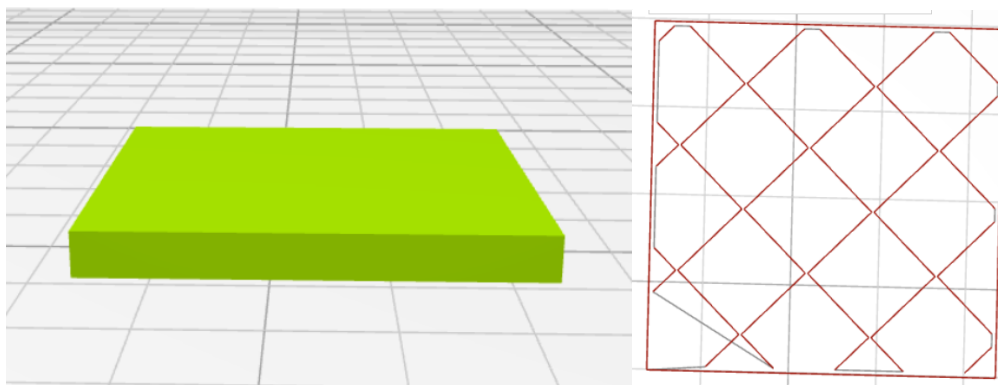
Nämä kappaleet mallinnettiin verkkoselainpohjaista TinkerCad -ohjelmaa sekä SketchUp -mallinnusohjelmaa hyödyntäen. Muodot valittiin testikappaleiksi, koska tarkkojen kulmien tekeminen on ollut haasteellista esimerkiksi silikahydrogeelillä. Näistä kappaleista pystyttiin helposti määrittämään tulostettavuusarvot (*engl.* printability). Kutakin tulostuskoetta toistettiin kolme kertaa kahdella eri materiaalierällä, jotta kullekin pitoisuudelle saatiin mahdollisimman luotettavat sekä tarkat tulokset.



Kuva 14. 1D-tähti malli, täyttö ja mitat

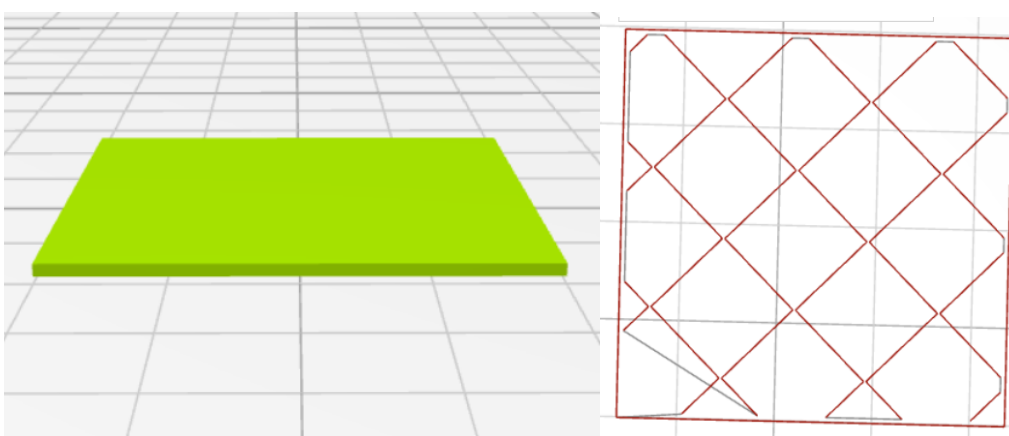


Kuva 15. Sylinterin 3D-malli, täyttö ja mitat



width: **20** mm depth: **20** mm height: **2** mm volume: **0.8** ml

Kuva 16. Kolmiulotteisen ristikkorakenteen 3D-malli, täyttö ja mitat

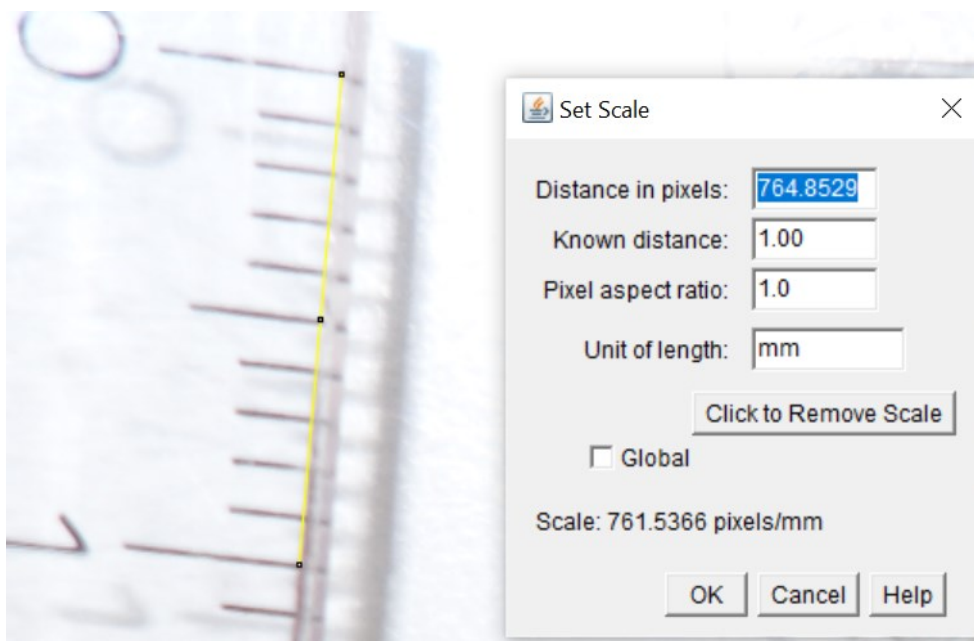


width: **20** mm depth: **20** mm height: **0.5** mm volume: **0.2** ml

Kuva 17. Kaksiulotteisen ristikkorakenteen 3D-malli, täyttö ja mitat

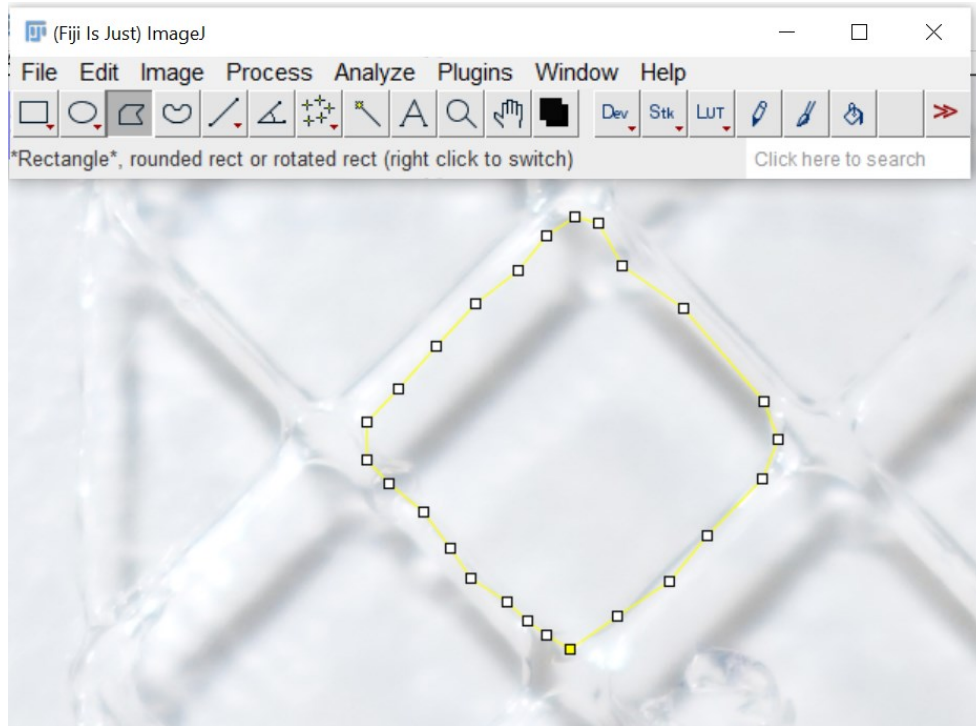
Tulostettujen kappaleiden analysointiin käytettiin ImageJ-ohjelman lisäosaa Fijiä, jonka avulla pystyttiin määrittämään eri tulosteiden kuvista pinta-ala, korkeus, kulmat sekä ympyrämäisyysarvo (*engl.* circularity rate). Näitä tarvittiin tulostustarkkuutta määrittävän printability-arvon laskemisessa.

Tulostetun kappaleen mittojen analysoimiseksi luotiin mittakaava tuomalla kappaleen viereen viivoitin ja valokuva rajattiin siten, että tuloste ja viivain olivat selkeästi näkyvissä. Mittakaavan asettaminen on esitetty kuvassa 18.



Kuva 18. Mittakaavan asettaminen ImageJ -ohjelmassa

Kuvassa 19 on analysoitu erään tulostetun ristikon yhden huokosen mittoja. Keltaisella rajauksella on valittu haluttu mitattava alue, jonka mitat saadaan analysoitua "Analyze" -välilehden "Measure" -toiminnolla. Näitä mittauksia suoritettiin kullekin kappaleelle muutamista eri huokosista, joista laskettiin keskiarvot. Nämä keskiarvot on esitetty taulukoissa 8 ja 9.



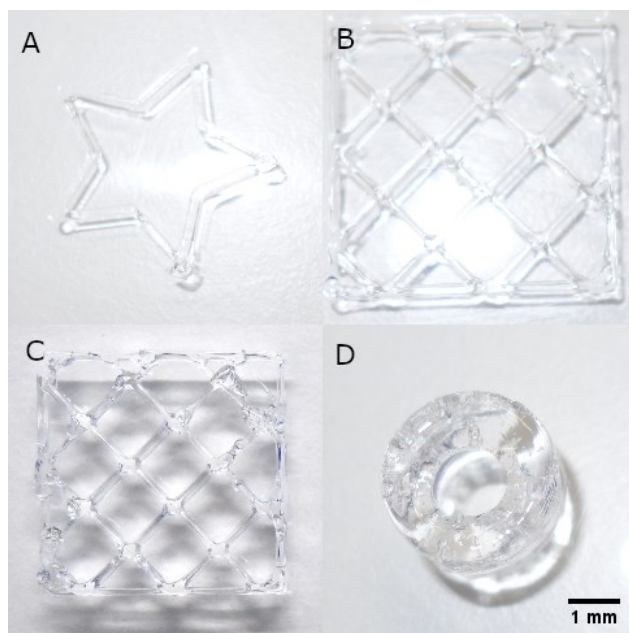
Kuva 19. Tulostettavan kappaleen analysointi

7 Tulokset

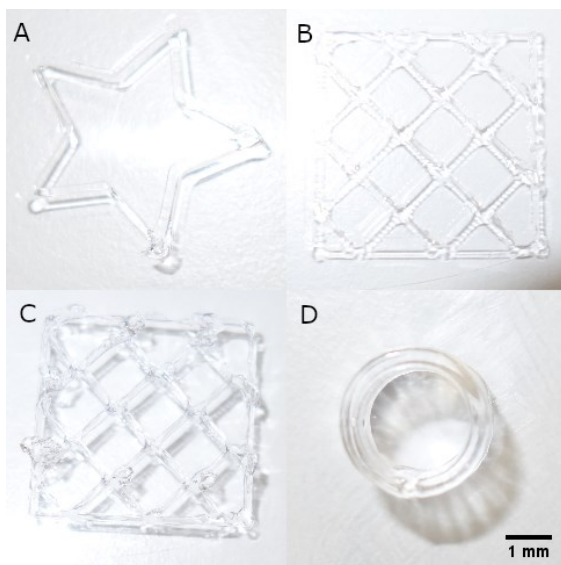
7.1 3D-tulostustulokset

Alla olevissa kuvissa 22–30 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksilla Visco Bio - ja Pneuma Tool -tulostuspäillä tulostetut kappaleet. Kuvien A-kohdissa on yksiulotteinen (1D) tähti, B-kohdissa on kaksiulotteinen (2D) ristikko, C-kohdissa on kolmiulotteinen (3D) ristikko ja D-kohdissa on kolmiulotteinen (3D) sylinteri.

Kuvissa 20 ja 21 on esitetty 40 m/v% poloksameerilla Visco Bio - sekä Pneuma Tool -tulostuspäillä tulostetut kappaleet. Kuvassa 20 on esitetty Visco Biolla tulostetut kappaleet ja kuvassa 21 on esitetty Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

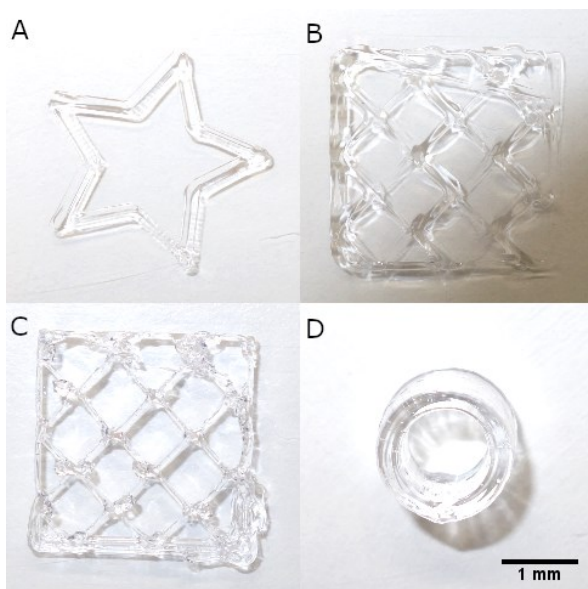


Kuva 20. 40 m/v% Poloksameerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet

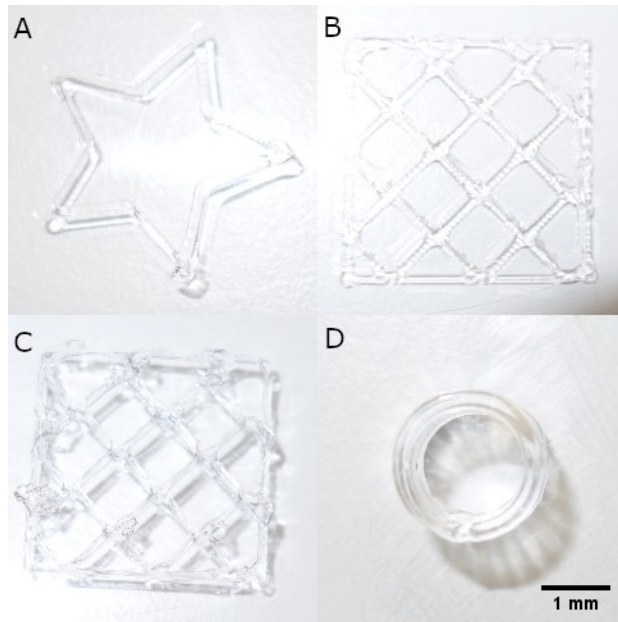


Kuva 21. 40 m/v % Poloksameerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

Alla olevassa kuvissa 22 ja 23 on esitetty 35 m/v% poloksameerilla Visco Bio - sekä Pneuma Tool -tulostuspäillä tulostetut kappaleet. Kuvassa 22 on esitetty Visco Biolla tulostetut kappaleet ja kuvassa 23 on esitetty Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

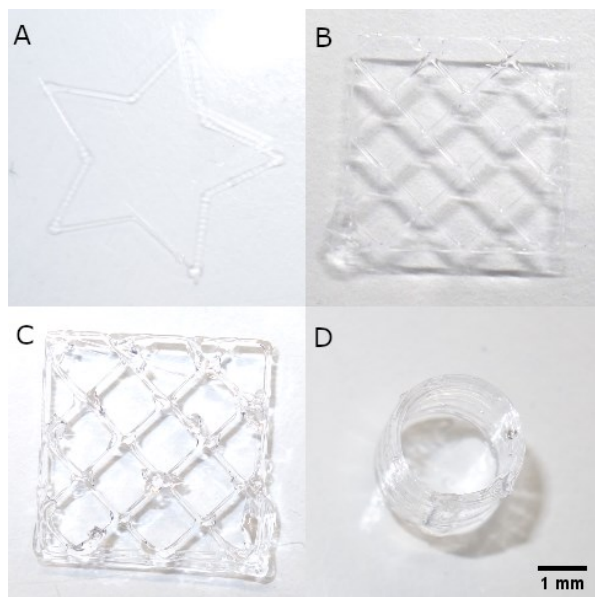


Kuva 22. 35 m/v % poloksameerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.

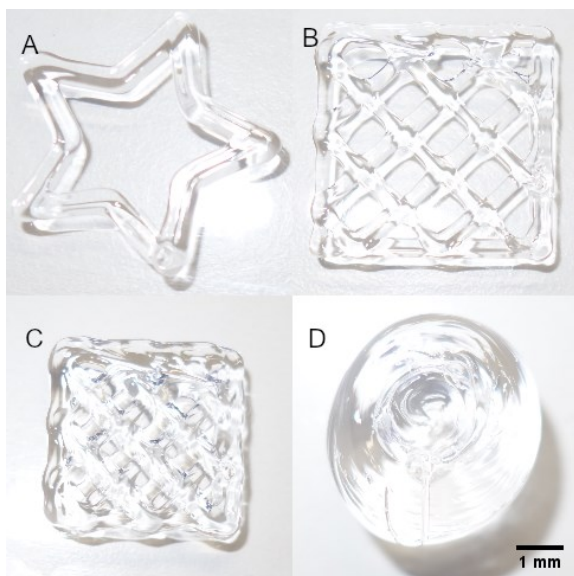


Kuva 23. 35 m/v% poloksamerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

Alla olevassa kuvissa 24 ja 25 on esitetty 30 m/v% poloksamerilla Visco Bio - sekä Pneuma Tool -tulostuspäillä tulostetut kappaleet. Kuvassa 24 on esitetty Visco Biolla tulostetut kappaleet ja kuvassa 25 on esitetty Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

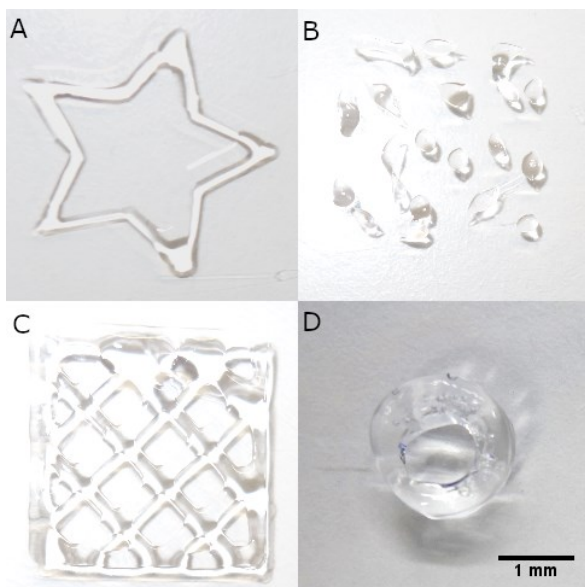


Kuva 24. 30 m/v % poloksamerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.

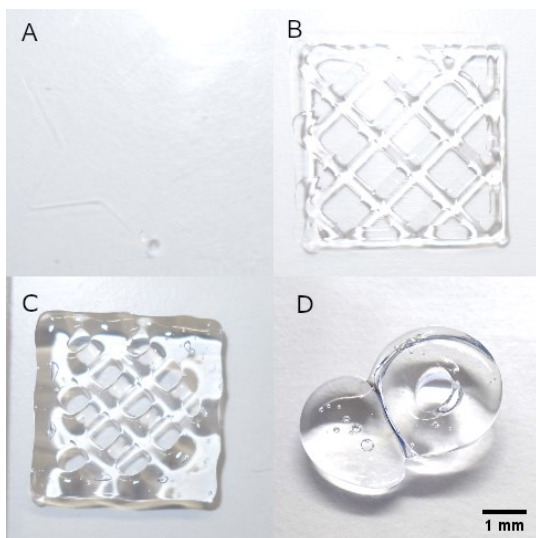


Kuva 25. 30 m/v % poloksamerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

Alla olevassa kuvissa 26 ja 27 on esitetty 25 m/v% poloksamerilla Visco Bio - sekä Pneuma Tool -tulostuspäillä tulostetut kappaleet. Kuvassa 26 on esitetty Visco Biolla tulostetut kappaleet ja kuvassa 27 on esitetty Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

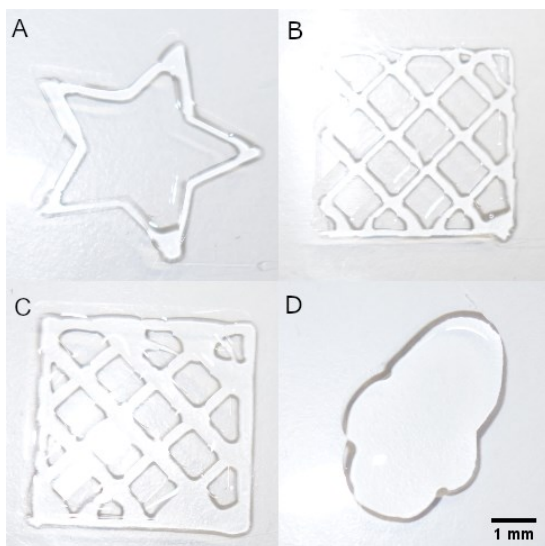


Kuva 26. 25 m/v% poloksamerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.

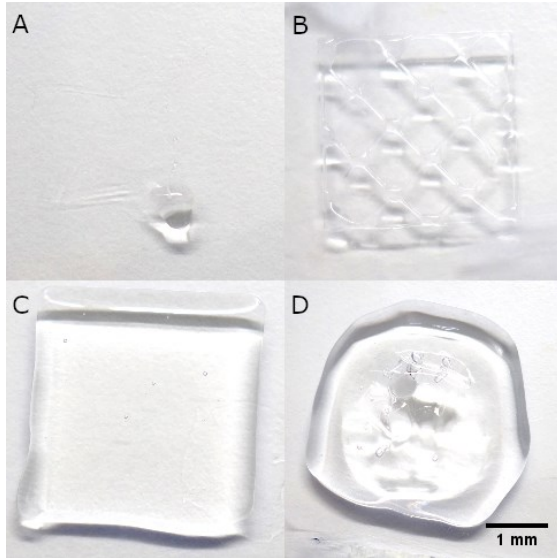


Kuva 27. 25 m/v% poloksamerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

Alla olevissa kuvissa 28 ja 29 on esitetty 20 m% poloksamerilla Visco Bio - sekä Pneuma Tool -tulostuspäillä tulostetut kappaleet. Kuvassa 28 on esitetty Visco Biolla tulostetut kappaleet ja kuvassa 29 on esitetty Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.



Kuva 28. 20 m/v% poloksamerilla Visco Biolla tulostetut kappaleet.



Kuva 29. 20 m/v% poloksameerilla Pneuma Toolilla tulostetut kappaleet.

7.2 Tulostettujen kappaleiden analysoidut mitat ImageJ-ohjelmalla

Alla esitetyissä taulukoissa on ImageJ-ohjelmalla analysoidut mitat tulostetuista kappaleista. Taulukossa 8 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksilla tulostettujen 3D-sylinterien mitat, taulukossa 9 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksilla tulostettujen 3D-ristikoiden mitat, taulukossa 10 on esitetty poloksameerien eri pitoisuuksilla tulostettuiden 2D-ristikoiden mitat ja taulukossa 11 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksilla tulostettujen yksikerroksisten tähtien mitat. Ristikoiden ympyräisyys arvo on laskettu kolmen ristikon huokosen keskiarvoina. Osasta tulostettavista poloksameerin pitoisuuksista ei saatu mitattua kappaleiden tarkkoja mittoja, sillä tulosteet eivät muistuttaneet alkuperäisiä 3D-malleja.

Taulukko 7. Poloksameerilla tulostettujen 3D-sylinterien mitat

3D-sylinteri, poloksameeri	Tulostetun kappaleen mitat (Visco Bio)			Tulostetun kappaleen mitat (Pneuma Tool)			Alkuperäisen 3D-mallin mitat		
	Ulko-halk. (mm)	Sisä-halk. (mm)	Korkeus (mm)	Ulko-halk. (mm)	Sisä-halk. (mm)	Korkeus (mm)	Ulko-halk. (mm)	Sisä-halk. (mm)	Korkeus (mm)
m/v %									
40	15	6	5	11	7,1	4,6	10	8	6,5
35	12	7,3	5,7	11,2	6,4	5,4	10	8	6,5
30	8,7	7	5,1	21,1	1,4	5,9	10	8	6,5
25	11	5,1	-	12,1	3,5	-	10	8	6,5
20	19,1	-	-	40,2	-	-	10	8	6,5

Taulukko 8. Poloksameerilla tulostettujen 3D-ristikoiden mitat

3D-ristikko, poloksameeri	Tulostetun kappaleen mitat (Visco Bio)			Tulostetun kappaleen mitat (Pneuma Tool)			Alkuperäisen 3D-mallin mitat		
	Leveys (mm)	Syvyys (mm)	Ympyrämäisyys	Leveys (mm)	Syvyys (mm)	Ympyrämäisyys	Leveys (mm)	Syvyys (mm)	Ympyrämäisyys
m/v %									
40	21	20	0,9	24,2	23,5	0,83	20	20	1,0
35	12,3	12,3	0,76	20,4	20,7	0,85	20	20	1,0
30	21,2	21,8	0,85	24,7	24,8	0,8	20	20	1,0
25	29,2	31,3	-	22,8	22,5	0,87	20	20	1,0
20	-	-	0,87	-	-	-	20	20	1,0

Taulukko 9. Poloksameerilla tulostettujen 2D-ristikoiden mitat

2D-ristikko, polok- sameeri	Tulostetun kappaleen mitat (Visco Bio)			Tulostetun kappaleen mitat (Pneuma Tool)			Alkuperäisen 3D-mallin mitat		
	Leveys (mm)	Syvyys (mm)	Ympy- rämäi- syys	Leveys (mm)	Syvyys (mm)	Ympy- rämäi- syys	Leveys (mm)	Syvyys (mm)	Ympyrä- mäi- syys(mm)
40	19,6	18,9	0,84	20,4	19,8	0,87	20	20	1
35	20	20,1	0,84	20,2	21,3	0,82	20	20	1
30	23,4	21,5	0,83	22	21,9	0,86	20	20	1
25	-	-	-	21,3	20,9	0,9	20	20	1
20	25,4	24,3	0,78	23,9	23	0,79	20	20	1

Taulukko 10. Poloksameerin eri pitoisuuksilla tulostettujen yksikerroksisten täh-
tien mitat

1D-tähti, po- loksameeri	Tulostetun kappaleen mitat (Visco Bio)		Tulostetun kappaleen mi- tit (Pneuma Tool)		Alkuperäisen 3D-mallin mitat		
	Halkaisija (mm)	Kulma (°)	Halkaisija (mm)	Kulma (°)	Halkaisija (mm)	Korkeus (mm)	Kulma (°)
40	28	50	21,7	51	20	0,25	51
35	21	55,1	26	54,6	20	0,25	51
30	29,6	52,3	20,4	56,3	20	0,25	51
25	-	-	19,3	58	20	0,25	51
20	18,5	57	-	-	20	0,25	51

Taulukossa 6 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksien kaksikulotteisista (2D) ristikoista määritetyt PR-arvot. Laskukaava on esitetty kaavassa

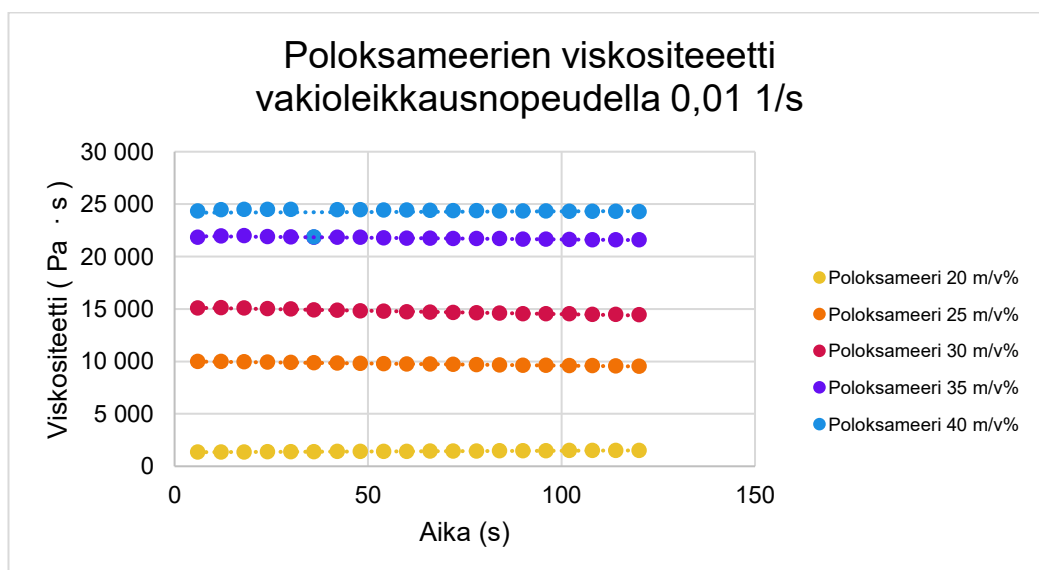
Taulukko 11. Poloksameerilla tulostettujen ristikoiden Pr-arvot

Poloksameerin pitoisuus (m/v %)	Pr-arvo (Visco Bio)	Pr-arvo (Pneuma Tool)
40	0,93	0,90
35	0,94	0,14
30	0,95	0,92
25	0,94	0,87
20	0,90	0,00

7.3 Viskositeetti vakioleikkausnopeudella

Alla esitettyssä kuvaajassa 1 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksilla suoritetut lepotilan viskositeetti mittaukset vakioleikkausnopeudella 0,01 1/s)

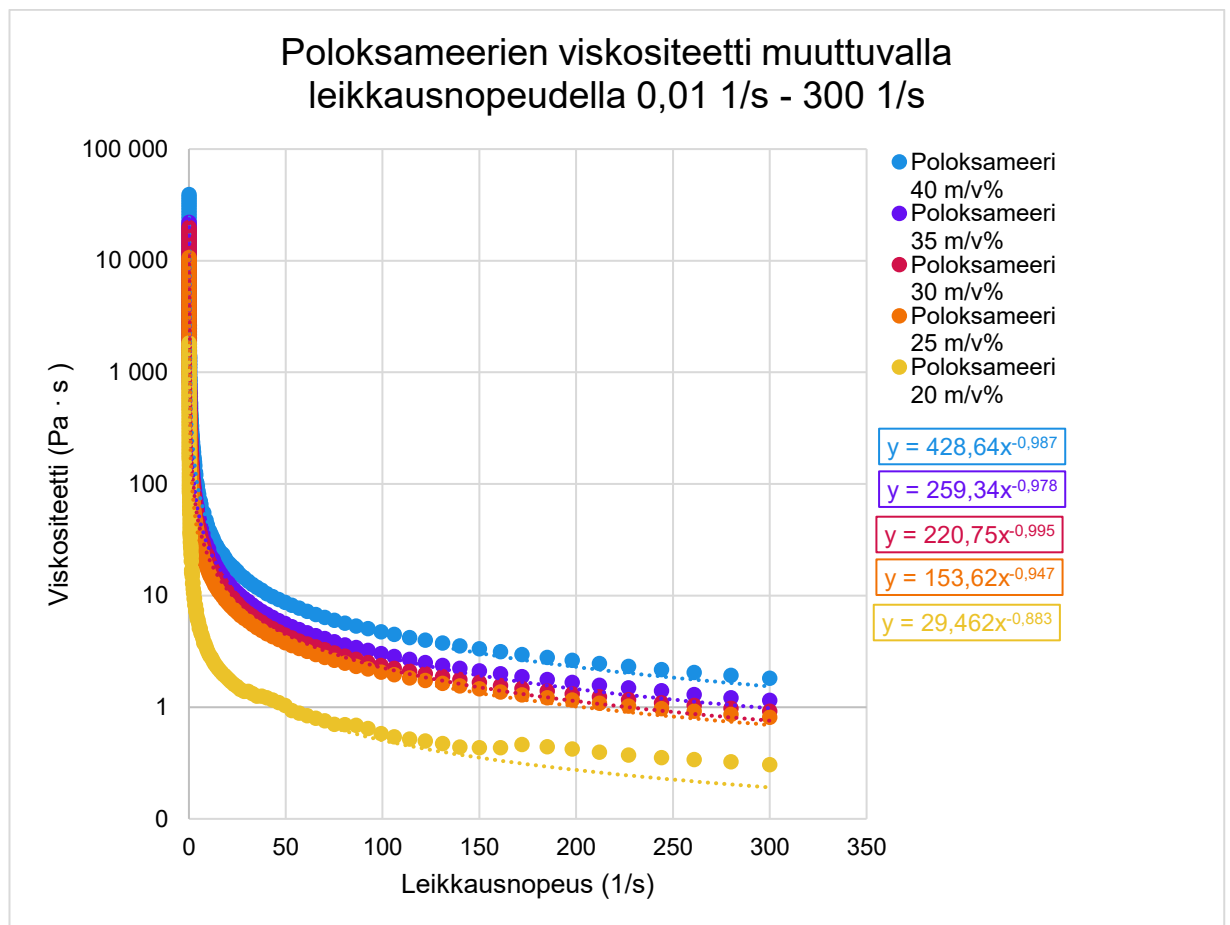
Kuvaaja 2. Poloksameerin viskositeetti vakioleikkausnopeudella 0,01 1/s



7.4 Viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella

Alla esitettyssä kuvaajassa (Kuvaaja 3) on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksilla suoritettut viskositeettimittaukset muuttuvalla leikkausnopeudella. Yksittäisten pitoisuuksien kuvaajat on esitetty liitteessä 1.

Kuvaaja 3. Poloksameerin viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella 0,01 1/s - 300 1/s



Alla olevassa taulukossa on määritetty juoksevuusindeksit (K) ja leikkausohentumiskertoimet (n) eri poloksameerin pitoisuuksista. Juoksevuusindeksi (K)

kuvastaa poloksameerin leikkausohenevuutta. Leikkausohenevuuskerroin (n) kuvastaa puolestaan materiaalin viskoottista käyttäytymismallia.

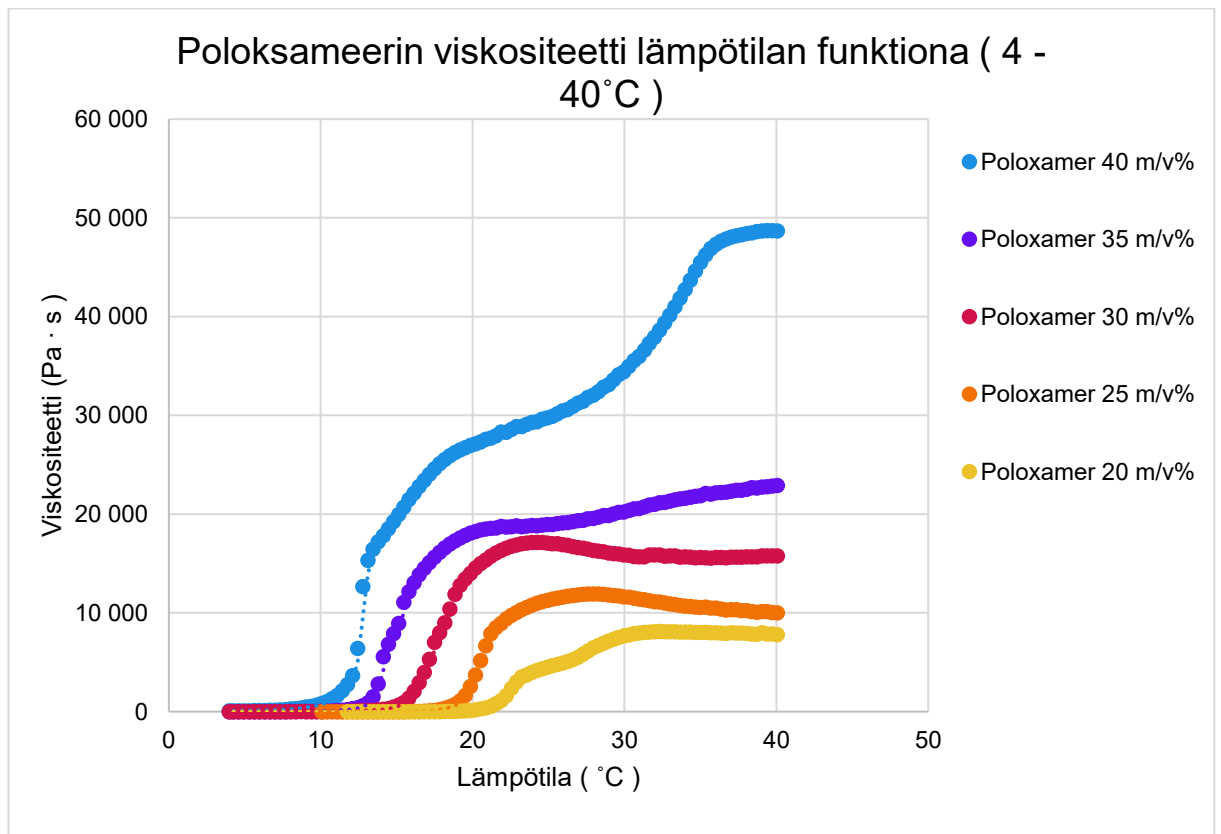
Taulukko 12. Poloksameerin eri pitoisuuksien juoksevuusindeksit ja leikkausohenevuuskertoimet

Poloksameerin pitoisuus(m/v%)	Juoksevuusindeksi (K)	Leikkausohenevuus kerroin (n)
40	428,64	0,013
35	259,34	0,022
30	220,75	0,005
25	153,62	0,053
20	29,462	0,117

7.5 Viskositeetti lämpötilan funktiona

Kuvaajassa 4 on esitetty poloksameerin eri pitoisuuksien viskositeettia lämpötilan funktiona 4–40 °C. Yksittäisten poloksameerin eri pitoisuuksien viskositeetit on esitetty liitteessä 2.

Kuvaaja 4. Poloksameerin viskositeetti lämpötilan funktiona (4–40 °C)



8 Yhteenveto ja pohdinta

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli ottaa käyttöön ja testata Brinter Oy:n Visco Bio -tulostuspään toimintaa. Kyseisen tulostuspään tavoitteena on mahdollistaa korkeamman viskositeetin omaavia materiaalissa. Visco Bio tulostuspään muita etuja on erittäin pieni hukkatilavuus ja mahdollisuus minimoida mahdolliset kontaminaatiot, sillä kyseisessä tulostusmenetelmässä voidaan käyttää kertakäyttöisiä ruiskuputkiloita. (Fisch et al., 2020)

Tulostuskokeiden alussa suoritettiin kullekin poloksameerin pitoisuudelle filamenttikoe, ja sillä pyrittiin selvittämään kullekin pitoisuudelle optimaalisimmat tulostusparametrit. Filamenttikokeiden jälkeen siirryttiin kokeilemaan asetusten toimivuutta sylinterimallin avulla, jolloin pystyttiin arvioimaan, onko käytetyt tulostusasetukset riittävän hyvät kullekin materiaalille. Kun hyvät tulostusasetukset saatiin selvitettyä, voitiin tehdä valittujen 3D-mallien mukaisia kappaleita ja analysoida tulostustarkkuutta näiden kappaleiden avulla.

Tulostuskokeissa päädyttiin neljään erilaiseen muotoon, jotta pystyttiin saamaan mahdollisimman tarkkaa tietoa siitä, miten työssä käytetyt tulostuspäät eli Pneuma Tool ja Visco Bio käyttäytyvät esimerkiksi tehtäessä tarkkoja kulkimia. Tähdien muodosta pystyttiin helposti jo silmämääräisellä analysoinnilla näkemään, meneekö filamentti limittäin (*engl.* overlapping) kappaleen kulmissa. Kappaleiden tulostustarkkuuden analysoinnissa päädyttiin kuitenkin käyttämään ImageJ-ohjelmaa, jonka avulla pystyttiin selvittämään kunkin kappaleen tarkat mitat.

Reometrisistä mittauksista pystyttiin havaitsemaan, että Pneuma Tool - ja Visco Bio -tulostuspäillä pystytään kummallakin tulostamaan kaikkia poloksameerin pitoisuuksilla 20 m/v% - 25 m/v%. Tulostustuloksista parhaimmat saatiin molemmilla työkaluilla kuitenkin korkeimmilla pitoisuuksilla (40 m/v%, 35 m/v% ja 30 m/v%), joka todennäköisesti liittyy siihen, että alhaisemmillä pitoisuuksilla (25 m/v% ja 20 m/v%) viskositeetin arvot ovat niin pieniä, että tulosteet eivät pysy koossa. Tällaisilla pitoisuuksilla tulostettavien kappaleiden kannattaisi todennäköisesti olla esimerkiksi kiinteiden materiaalien sisään tulostettavia

täyteaineita tai sitten tulosteita, joiden muodolla ei ole suurta väliä loppukäyttökohteen kannalta.

Muuttuvalla leikkausnopeudella tehtyjen reometristen mittausten avulla pystyttiin tämän lisäksi päättelemään poloksameerin olevan käytökseltään hyvin leikkausohenevaa, mikä on optimaalinen ominaisuus hyvän tulostettavuuden kannalta. Juoksevuusindeksien (K) avulla voitiin tulkita, että korkeimmilla pitoisuuksilla 40 m/v% ja 35 m/v% materiaalin leikkausohenevuus on parempi, mikä osin selittää myös näillä pitoisuuksilla saatuja parempia tulostustuloksia. Leikkausohenenemiskertoimien (n) avulla pystyttiin tulkitsemaan, että poloksameeri käyttäytyy pseudoplastisesti eli leikkausohenevasti. Reometrin mittaustulosten vaikutusta tulostettavuuteen voitaisiin jatkossakin tutkia uusia tulostuspäitä käyttöönotettaessa, kun pyritään selvittämään kullekin tulostuspäälle ominaiset viskositeetti-arvot. Lämpötilan funktiona tehdyistä mittauksista voitiin päätellä poloksameerin geeliytymispiste, joka oli nähtävissä suorien tasannekohdista. Viskositeettia lämpötilan funktiona mitattiin, jotta voitiin selvittää vaikuttaako tulostusprosessin aikana syntyvä lämpö materiaalin viskositeettiin ja tätä kautta sen tulostettavuuteen. Viskositeetin arvoissa ei kuitenkaan havaittu merkittäviä muutoksia noin 4 asteen materiaalin lämpötilan nousun yhteydessä. Lämpötilariippuvainen poloksameerin viskositeettikäyttäytyminen noudatti kirjallisuudessa esitettyjä arvoja. (BASF, 2022)

Tässä työssä käytetyistä reometrisistä mittauksista voitaisiin jatkossa hyödyntää muuttuvan leikkausnopeuden mittauksia sekä vakioleikkausnopeuden mittauksia. Jos kuitenkin halutaan paneutua tarkemmin jonkin tietyn materiaalin käyttäytymiseen eri tulostuspäillä tulostettaessa, voitaisiin reometrisiin mittauksiin lisätä näiden mittausten lisäksi myös oskillaatio-rotaatio-oskillaatio mittauksia, joilla pystyttäisiin määrittämään materiaalin kykyä palautua tulostuksen jälkeisestä leikkausrasituksesta. Yhtenä tärkeimmistä materiaalin ominaisuuksista mittaavista reometrisista mittauksista voidaan kuitenkin pitää sitä, onko materiaali ominaisuuksiltaan tiksotrooppinen. Nykyisillä tulostusmenetelmillä ei ole pystytty tulostamaan samoilla parametreilla materiaaleita, jotka ovat käytökseltään tiksotrooppisia. Tiksotrooppisilla materiaaleilla tarkoitetaan sellaisia fluideja

ja geelejä, jotka ohenevat, kun niihin kohdistuu jatkuvasti voimaa. Tiksotrooppiset materiaalit palautuvat alkuperäiseen muotoonsa lyhyen ajan kuluessa (Anton Paar, 2022d).

Tässä tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu merkittävää eroa näiden kahden eri tulostuspään välisessä toiminnassa, joten uuden tulostuspään kokeilussa kannattaisi ehkä tulevaisuudessa hyödyntää myös sellaista materiaalia, jonka on havaittu olevan heikosti tulostuva vertailtavalla tulostuspäällä. Yksittäiset suurimmat erot näiden kahden eri tulostuspään tarkkuudessa on havaittavissa matalapitoisuuksisten poloksameeriliuosten (25 m/v% ja 20 m/v%) kohdalla, jolloin vain Visco Bio -tulostuspäällä saatiin onnistuneita ristikoita, joista oli selvästi nähtävillä niiden ruudukko rakenne. Suuremmilla pitoisuuksilla molempien tulostuspäiden tulostustarkkuus oli Pr-arvojen avulla tulkittuna lähes samanlainen. Se oli todettavissa myös silmämääräisesti tulostetuista kappaleista.

Yksi mahdollisista materiaaleista, jota epäkeskoruuvipumpupohjaisen Visco Bio -tulostuspään sekä ilmanpainepohjaisen Pneuma Tool -tulostuspään voitaisiin hyödyntää, on aiemmissakin tutkimuksissa hyödynnetty kalsiumkloridilla ($CaCl_2$) silloitettavaa alginaattia. Alginaatista on helpommin nähtävissä se kuinka tasaisesti eri kerrokset ovat rakentuneet toistensa päälle, jolloin tulostusparametrien vaikutus materiaalin tulostettavuuteen on helpommin nähtävillä. Kerroksien havaitsemisessa voidaan hyvin päätellä, saako käytetyllä tulostuspäällä aikaan kappaleita, jotka pysyvät joka kerroksella halkaisijaltaan samanlaisina, vai tapahtuuko jossakin kohdassa tulostusprosessia materiaalin leviämistä.

Alginaatilla voitaisiin esimerkiksi suorittaa vastaavat tulostuskokeet, joissa tulostettavina kappaleina olisivat samat kuin tässä opinnäytetyössä käytetyt yksikerroksinen, kaksiulotteinen ja kolmiulotteinen rakenne.

Tämän opinnäytetyöprosessin aikana opin paljon lisää 3D-tulostusparametrien vaikutuksesta tulostustuloksiin sekä siitä millaisia erilaisia tulostuspäitä on mahdollista käyttää ja mitä etuja kullakin erilaisella tulostuspäällä on 3D-tulostustyön kannalta. Tämän prosessin aikana opin myös yhdistämään tarkemmin

reometrillä saatavaa dataa 3D-tulostuksesta saatavan datan kanssa ja pystyin tarkemmin analysoimaan miten eri materiaalien viskoottinen käyttäytyminen vaikuttaa sen tulostettavuuteen kummallakin tulostuspäällä.

Lähteet

- Agarwal, T., Costantini, M., & Maiti, T. K. (2021). Extrusion 3D printing with Pectin-based ink formulations: Recent trends in tissue engineering and food manufacturing. *Biomedical Engineering Advances*, 2, 100018. <https://doi.org/10.1016/J.BEA.2021.100018>
- Amorim, P. A., d'Ávila, M. A., Anand, R., Moldenaers, P., van Puyvelde, P., & Bloemen, V. (2021). Insights on shear rheology of inks for extrusion-based 3D bioprinting. *Bioprinting*, 22, e00129. <https://doi.org/10.1016/J.BPRINT.2021.E00129>
- Anton Paar. (2022a, April 6). *Basics of rheology : Anton Paar Wiki*. <https://wiki.anton-paar.com/us-en/basics-of-rheology/>
- Anton Paar. (2022b, April 6). *Evaluation of the time-dependent flow behavior : Anton Paar Wiki*. <https://wiki.anton-paar.com/us-en/evaluation-of-the-time-dependent-flow-behavior/>
- Anton Paar. (2022c, April 6). *Temperature-dependent behavior (oscillation) : Anton Paar Wiki*. <https://wiki.anton-paar.com/us-en/temperature-dependent-behavior-oscillation/>
- Anton Paar. (2022d, May 29). *Basics of thixotropy : Anton Paar Wiki*. <https://wiki.anton-paar.com/en/basics-of-thixotropy/>
- BASF. (2022). *Kolliphor® P 407 Geismar Poloxamer Ph. Eur., Poloxamer USP/NF Poloxamer for Pharmaceutical Use Kolliphor® P 407 Geismar*.
- Batista, R. A., Otoni, C. G., & Espitia, P. J. P. (2019). Fundamentals of chitosan-based hydrogels: elaboration and characterization techniques. *Materials for Biomedical Engineering: Hydrogels and Polymer-Based Scaffolds*, 61–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816901-8.00003-1>

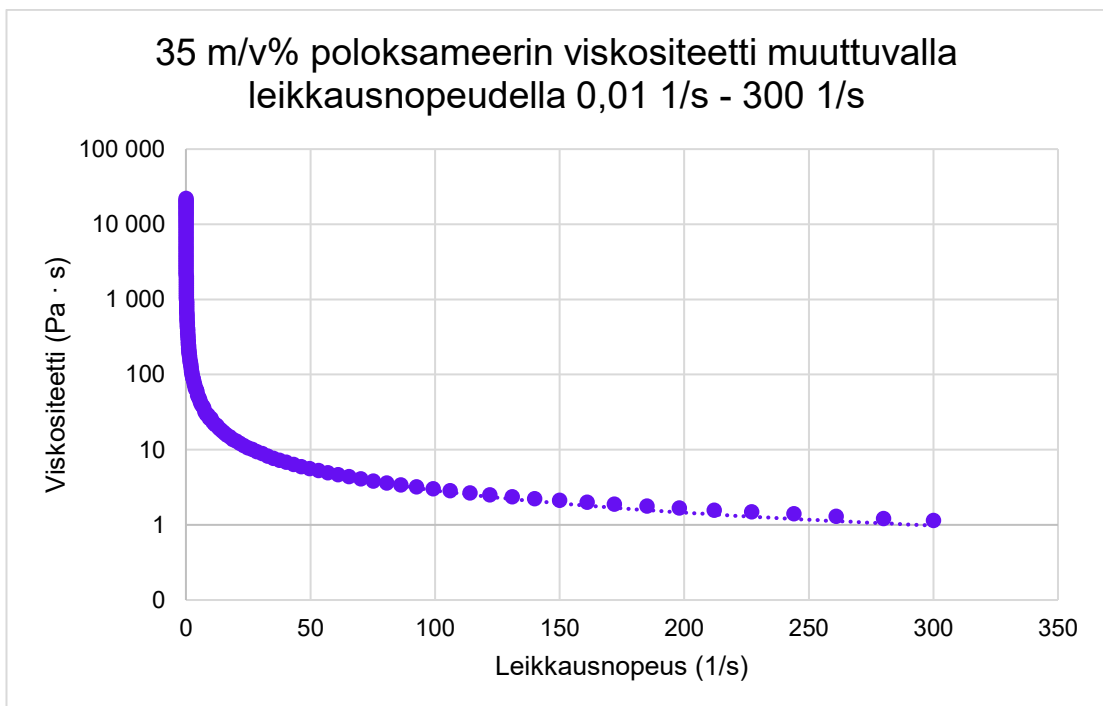
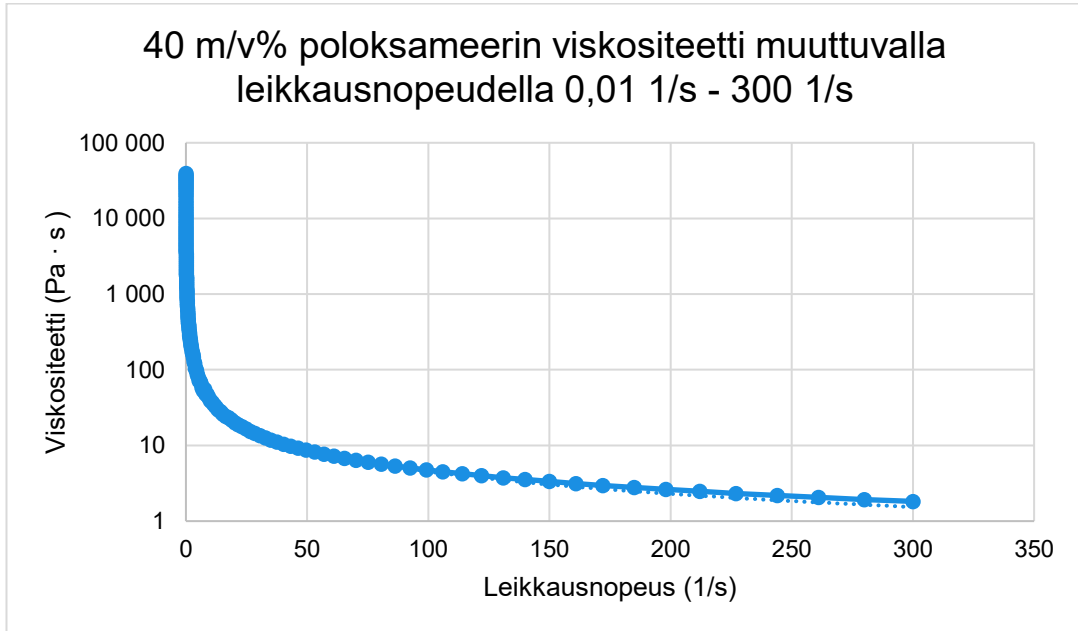
- Bejoy, A. M., Makkithaya, K. N., Hunakunti, B. B., Hegde, A., Krishnamurthy, K., Sarkar, A., Lobo, C. F., Keshav, D. V. S., G, D., S, D. D., Mascarenhas, S., Chakrabarti, S., Kalepu, S. R. R. D., Paul, B., & Mazumder, N. (2021). An insight on advances and applications of 3d bioprinting: A review. *Bioprinting*, *24*, e00176. <https://doi.org/10.1016/J.BPRINT.2021.E00176>
- Braun, S. (2011). Encapsulation of Cells (Cellular Delivery) Using Sol–Gel Systems. *Comprehensive Biomaterials*, *4*, 529–543. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-055294-1.00141-0>
- Brinter Oy. (2022). *Brinter 3D bioprinting platform, Optional Print Heads and Modules*.
- da Silva, J. B., Cook, M. T., & Bruschi, M. L. (2020). Thermoresponsive systems composed of poloxamer 407 and HPMC or NaCMC: mechanical, rheological and sol-gel transition analysis. *Carbohydrate Polymers*, *240*, 116268. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.116268>
- Darvell, B. W. (2018). Rheology. *Materials Science for Dentistry*, 92–120. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101035-8.50004-3>
- Dun, J., Osei-Yeboah, F., Boulas, P., Lin, Y., & Sun, C. C. (2020). A systematic evaluation of poloxamers as tablet lubricants. *International Journal of Pharmaceutics*, *576*, 118994. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2019.118994>
- Fang, Y., Guo, Y., Liu, T., Xu, R., Mao, S., Mo, X., Zhang, T., Ouyang, L., Xiong, Z., & Sun, W. (2022). Advances in 3D Bioprinting. *Chinese Journal of Mechanical Engineering: Additive Manufacturing Frontiers*, *1*(1), 100011. <https://doi.org/10.1016/J.CJMEAM.2022.100011>
- Fisch, P., Holub, M., & Zenobi-Wong, M. (2020). *Improved accuracy and precision of bioprinting through progressive cavity pump-controlled extrusion*. <https://doi.org/10.1101/2020.01.23.915868>

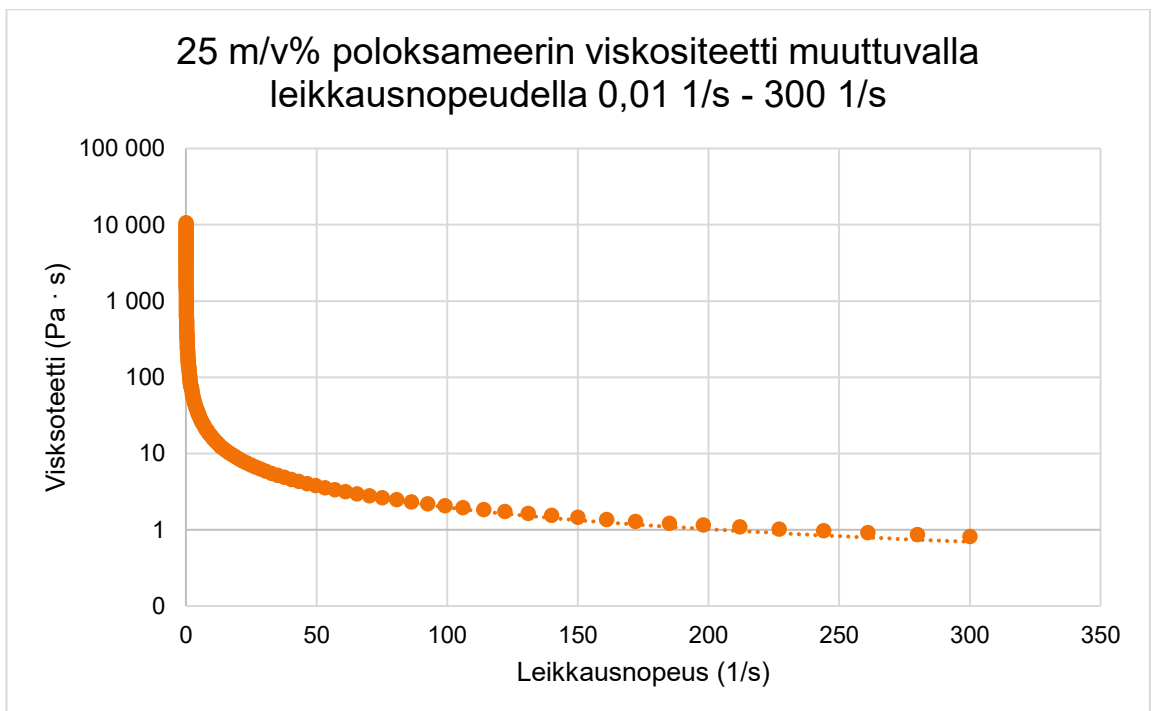
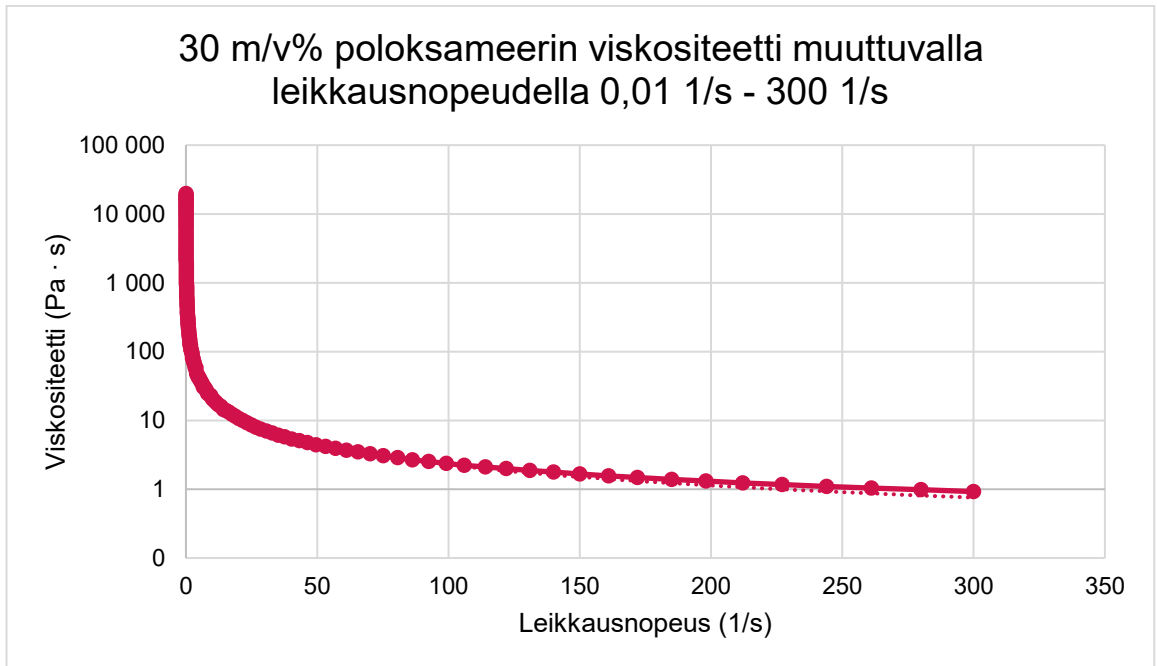
- Hall, S. (2012). Blending and Agitation. *Branan's Rules of Thumb for Chemical Engineers*, 257–279. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387785-7.00016-5>
- Harris, D. C. (2007). *Quantitative Chemical Analysis* (7th edition). Craig Bleyer.
- Jongprasitkul, H., Turunen, S., Parihar, V. S., & Kellomäki, M. (2022). Two-step crosslinking to enhance the printability of methacrylated gellan gum biomaterial ink for extrusion-based 3D bioprinting. *Bioprinting*, 25, e00185. <https://doi.org/10.1016/J.BPRINT.2021.E00185>
- Kakarla, A. B., Kong, I., Turek, I., Kong, C., & Irving, H. (2022). Printable gelatin, alginate and boron nitride nanotubes hydrogel-based ink for 3D bioprinting and tissue engineering applications. *Materials & Design*, 213, 110362. <https://doi.org/10.1016/J.MATDES.2021.110362>
- Merck. (2022). *3D Bioprinting: Bioink Selection Guide*. <https://www.sigmaaldrich.com/FI/en/technical-documents/technical-article/cell-culture-and-cell-culture-analysis/3d-cell-culture/3d-bioprinting-bioinks>
- Musameh, S. (2015). *Biodiesel Viscosity and Flash Point Determination*. <https://www.researchgate.net/publication/275526328>
- Nesbitt, B. (2006). *Handbook of Pumps and Pumping* (1. painos, Vol. 1). Elsevier Science.
- Papaioannou, T. G., Manolesou, D., Dimakakos, E., Tsoucalas, G., Vavuranakis, M., & Tousoulis, D. (2019). 3D Bioprinting Methods and Techniques: Applications on Artificial Blood Vessel Fabrication. *Acta Cardiologica Sinica*, 35(3), 284. [https://doi.org/10.6515/ACS.201905_35\(3\).20181115A](https://doi.org/10.6515/ACS.201905_35(3).20181115A)
- RheoSense. (2022). *Viscosity of Newtonian and Non-Newtonian Fluids*. <https://www.rheosense.com/applications/viscosity/newtonian-non-newtonian>

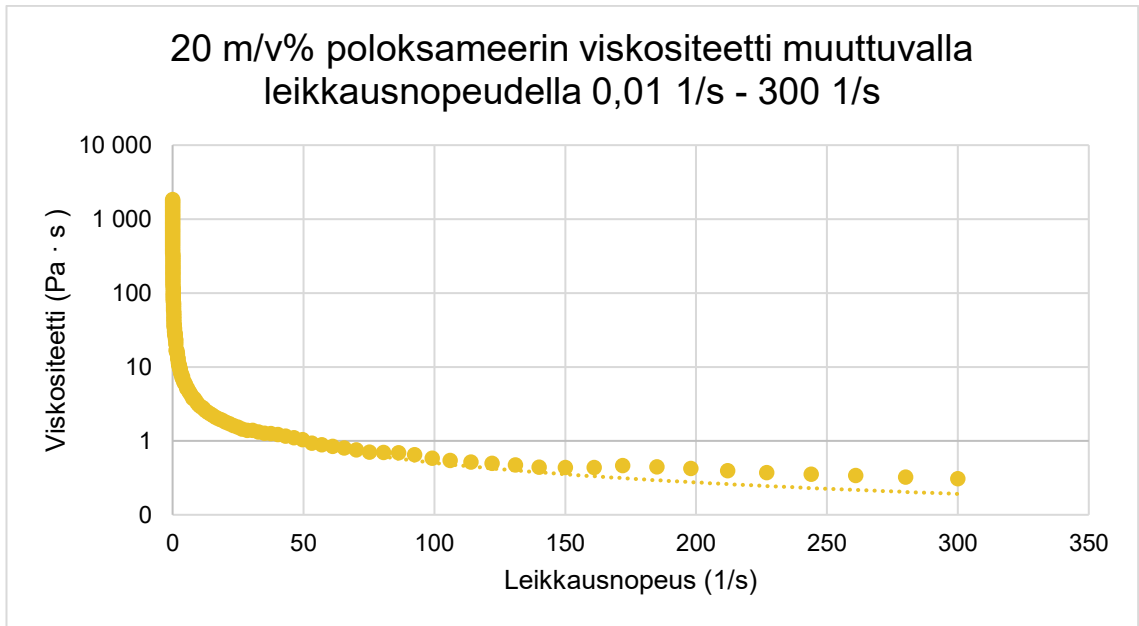
- Rig Worker. (2022, May 11). *Shear Rate vs Shear Stress - Drilling Engineering - Rig Worker*. <https://www.rigworker.com/engineering-4/shear-stress-consistency-factor-x-shear-rate-flow-behavior-index.html>
- Russo, E., & Villa, C. (2019). *pharmaceutics Poloxamer Hydrogels for Biomedical Applications*. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11120671>
- Seoane-Viaño, I., Januskaite, P., Alvarez-Lorenzo, C., Basit, A. W., & Goyanes, A. (2021). Semi-solid extrusion 3D printing in drug delivery and biomedicine: Personalised solutions for healthcare challenges. *Journal of Controlled Release*, 332, 367–389. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2021.02.027>
- Shirwaiker, R. A., Purser, M. F., & Wusk, R. A. (2014). Scaffolding hydrogels for rapid prototyping based tissue engineering. *Rapid Prototyping of Biomaterials: Principles and Applications*, 176–200. <https://doi.org/10.1533/9780857097217.176>
- Siacor, F. D. C., Chen, Q., Zhao, J. Y., Han, L., Valino, A. D., Taboada, E. B., Caldon, E. B., & Advincula, R. C. (2021). On the additive manufacturing (3D printing) of viscoelastic materials and flow behavior: From composites to food manufacturing. *Additive Manufacturing*, 45, 102043. <https://doi.org/10.1016/J.ADDMA.2021.102043>
- Sigma-Aldrich. (2022). *Poloksameeri 407 käyttöturvallisuustiedote*. <https://www.sigmaaldrich.com/FI/fi/sds/sigma/16758>
- ThermoFisher Scientific. (2022). *PBS - Phosphate-Buffered Saline (10X) pH 7.4, RNase-free*. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/AM9625>
- Wang, Y., Yuan, X., Yao, B., Zhu, S., Zhu, P., & Huang, S. (2022). Tailoring bioinks of extrusion-based bioprinting for cutaneous wound healing. *Bioactive Materials*, 17, 178–194. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACT-MAT.2022.01.024>

- White, J. M., & Calabrese, M. A. (2022). Impact of small molecule and reverse poloxamer addition on the micellization and gelation mechanisms of poloxamer hydrogels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 638, 128246. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2021.128246>
- Yu, K., Zhang, X., Sun, Y., Gao, Q., Fu, J., Cai, X., & He, Y. (2022a). Printability during projection-based 3D bioprinting. *Bioactive Materials*, 11, 254–267. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2021.09.021>
- Yu, K., Zhang, X., Sun, Y., Gao, Q., Fu, J., Cai, X., & He, Y. (2022b). Printability during projection-based 3D bioprinting. *Bioactive Materials*, 11, 254–267. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2021.09.021>
- Zhang, T., Zhao, W., Xiahou, Z., Wang, X., Zhang, K., & Yin, J. (2021). Bio-ink design for extrusion-based bioprinting. *Applied Materials Today*, 25, 101227. <https://doi.org/10.1016/J.APMT.2021.101227>

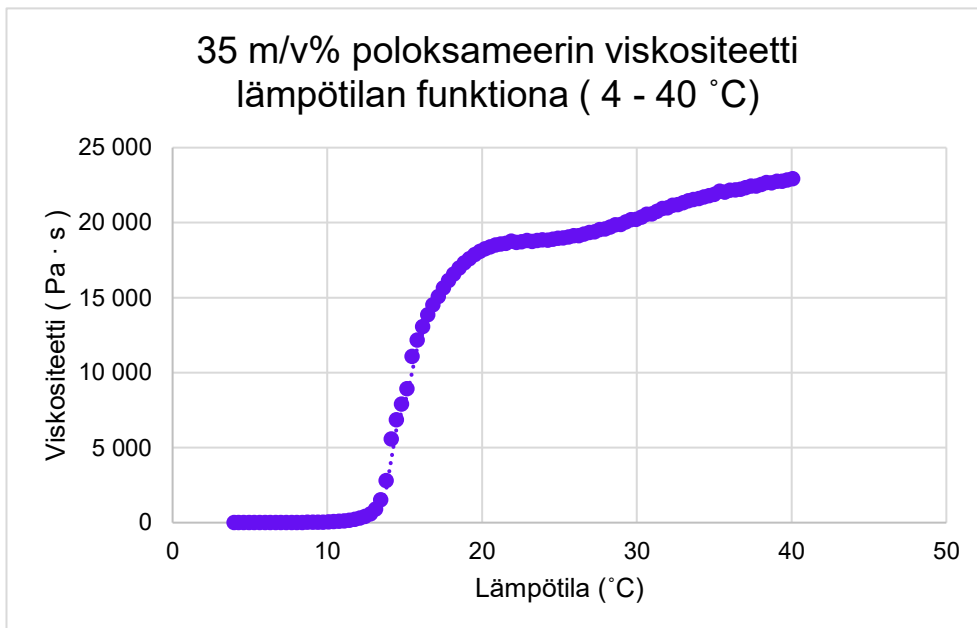
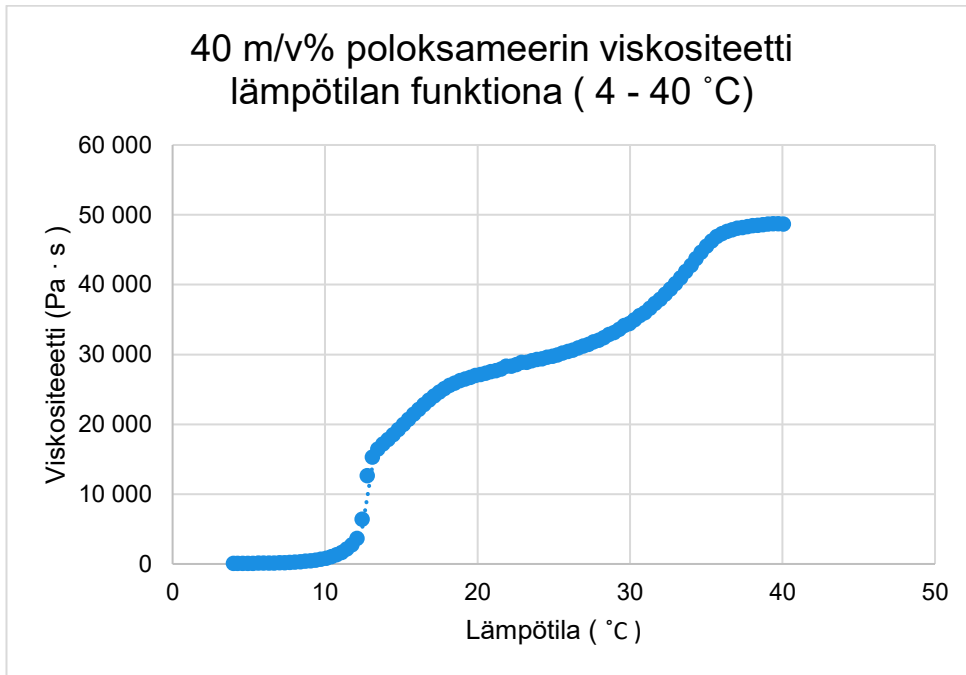
Poloksameerin viskositeetti muuttuvalla leikkausnopeudella



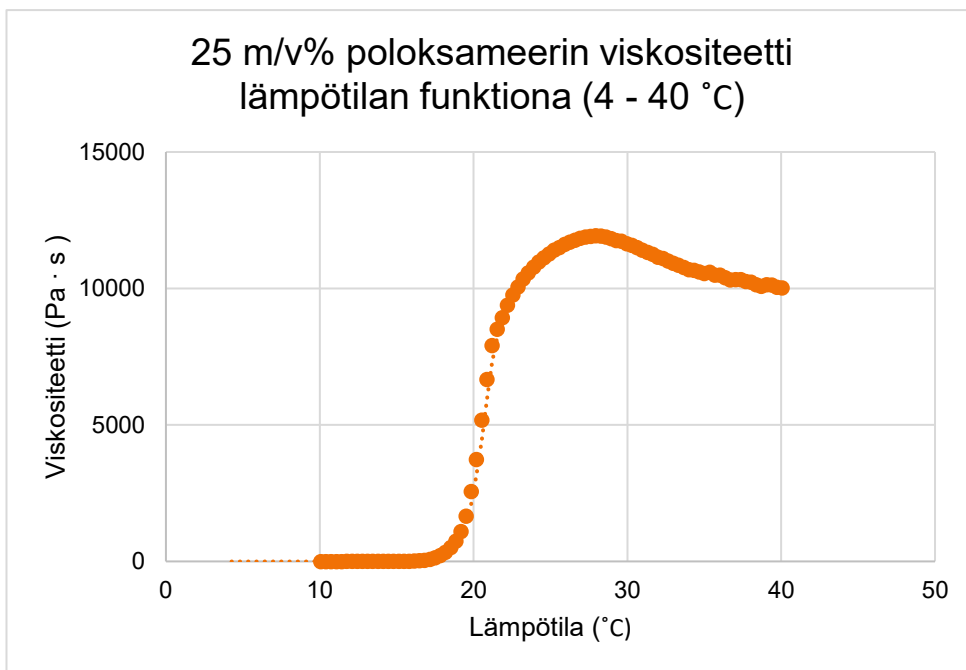
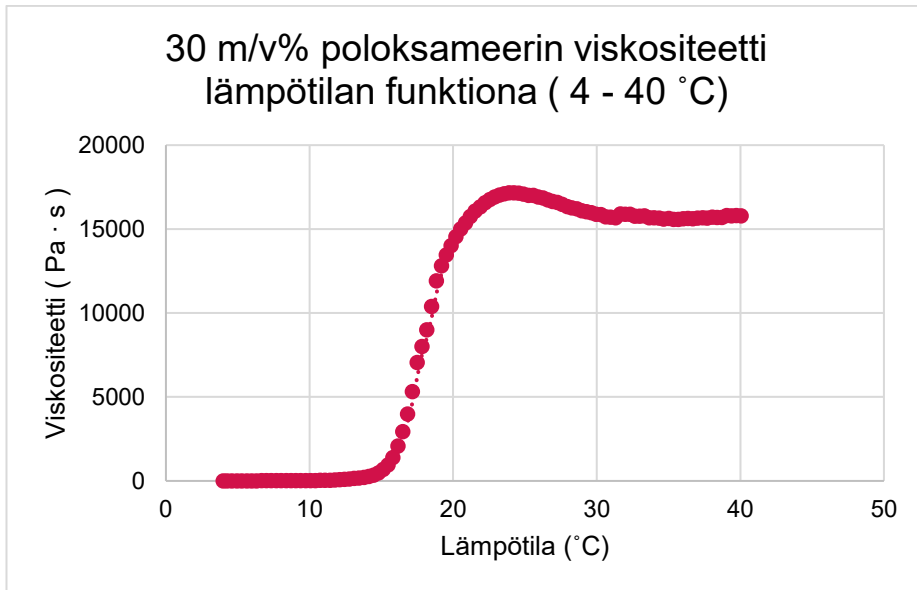


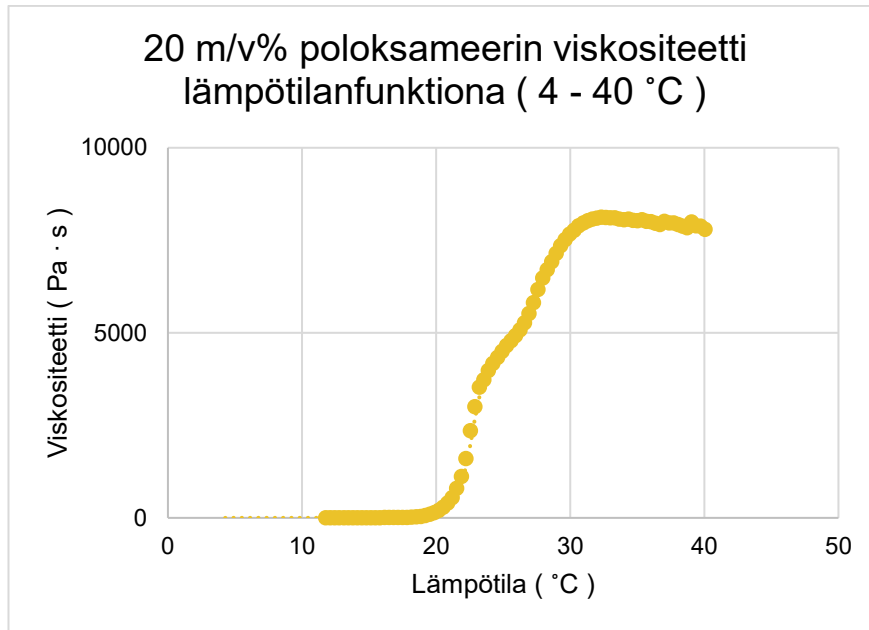


Poloksameerin viskositeetti lämpötilan funktiona



Liite 2





Poloksameerin tulostusasetukset, application note

Application note

Kolliphor® (Pluronic) F-127 bioINK

Concentration: 40 %

Storage temperature: <4 °C

Intended use: For research use only. Not intended for in vitro diagnostics or in vivo uses. Not intended for administration in humans or animals.

Excellent starter material for your first steps with bioprinting, ready-to-print sacrificial and support ink for the fabrication of vascularized tissues, channels in microfluidic devices, and supporting scaffolds for complicated tissue constructs. The ink can be removed after printing by washing with cold PBS or similar.

Preparation guidelines: Diluted in PBS, it can be diluted further. Suitable for cell culture when sterilized. Liquid at low temperatures (<4 °C). Becomes a solid gel at RT.

Suggested printing parameters with reference printer Brinter® One

(www.Brinter.com):

Print head:	Pneuma Tool	Visco Bio
Nozzle:	250 µm ID	250 µm ID
Printing pressure:	1030 mbar	134 mbar
Extrusion factor:	-	2.0
Printing temperature:	RT	RT
Print bed temperature:	-	-
Print speed	8 mm/s	8 mm/s
First layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Preflow/Postflow time delay:	-	-

Chemical name/INCI: Poloxamer/Poloxamer 407

CAS: 9003-11-6

Former name: Lutrol® F 127

Regulatory status: Kolliphor® P 407 meets the requirements of the current USP-NF monographs and European Pharmacopoeia family monograph Poloxamer: Ph. Eur., USP-NF: Poloxamer 407.

Kolliphor ® P 407 products are also JPE certified (Japanese Pharmaceutical Excipients): Polyoxyethylene (196), Polyoxylpropylene (67) glycol

MSDS: Attached

References: Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications

<https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.11.001>

3D Bioprinting Using a Templated Porous Bioink

<https://doi.org/10.1002/adhm.201600022>

Application note

Kolliphor® (Pluronic) F-127 bioINK

Concentration: 35 %

Storage temperature: <4 °C

Intended use: For research use only. Not intended for in vitro diagnostics or in vivo uses. Not intended for administration in humans or animals.

Excellent starter material for your first steps with bioprinting, ready-to-print sacrificial and support ink for the fabrication of vascularized tissues, channels in microfluidic devices, and supporting scaffolds for complicated tissue constructs. The ink can be removed after printing by washing with cold PBS or similar.

Preparation guidelines: Diluted in PBS, it can be diluted further. Suitable for cell culture when sterilized. Liquid at low temperatures (<4 °C). Becomes a solid gel at RT.

Suggested printing parameters with reference printer Brinter® One

(www.Brinter.com):

	Pneuma Tool	Visco Bio
Nozzle:	250 µm ID	250 µm ID
Printing pressure:	446 mbar	80 mbar
Extrusion factor:	-	2.0
Printing temperature:	RT	RT
Print bed temperature:	RT	RT
Print speed	8 mm/s	8 mm/s
First layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Preflow/Postflow time delay:	-	-

Chemical name/INCI: Poloxamer/Poloxamer 407

CAS: 9003-11-6

Former name: Lutrol® F 127

Regulatory status: Kolliphor® P 407 meets the requirements of the current USP-NF monographs and European Pharmacopoeia family monograph Poloxamer: Ph. Eur., USP-NF: Poloxamer 407.

Kolliphor® P 407 products are also JPE certified (Japanese Pharmaceutical Excipients): Polyoxyethylene (196), Polyoxylpropylene (67) glycol

MSDS: Attached

References: Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications

<https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.11.001>

3D Bioprinting Using a Templated Porous Bioink

<https://doi.org/10.1002/adhm.201600022>

Application note

Kolliphor® (Pluronic) F-127 Bioink

Concentration: 30 %

Storage temperature: <4 °C

Intended use: For research use only. Not intended for in vitro diagnostics or in vivo uses. Not intended for administration in humans or animals.

Excellent starter material for your first steps with bioprinting, ready-to-print sacrificial and support ink for the fabrication of vascularized tissues, channels in microfluidic devices, and supporting scaffolds for complicated tissue constructs. The ink can be removed after printing by washing with cold PBS or similar.

Preparation guidelines: Diluted in PBS, it can be diluted further. Suitable for cell culture when sterilized. Liquid at low temperatures (<4 °C). Becomes a solid gel at RT.

Suggested printing parameters with reference printer Brinter® One

(www.Brinter.com):

	Pneuma Tool	Visco Bio
Nozzle:	250 µm ID	250 µm ID
Printing pressure:	633 mbar	10 mbar
Extrusion factor:	-	1.0
Printing temperature:	RT	RT
Print bed temperature:	-	-
Print speed	8 mm/s	8 mm/s
First layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Preflow/Postflow time delay:	-	-

Chemical name/INCI: Poloxamer/Poloxamer 407

CAS: 9003-11-6

Former name: Lutrol® F 127

Regulatory status: Kolliphor® P 407 meets the requirements of the current USP-NF monographs and European Pharmacopoeia family monograph Poloxamer: Ph. Eur., USP-NF: Poloxamer 407.

Kolliphor ® P 407 products are also JPE certified (Japanese Pharmaceutical Excipients): Polyoxyethylene (196), Polyoxylpropylene (67) glycol

MSDS: Attached

References: Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications

<https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.11.001>

3D Bioprinting Using a Templated Porous Bioink

<https://doi.org/10.1002/adhm.201600022>

Application note

Kolliphor® (Pluronic) F-127 Bioink

Concentration: 25%

Storage temperature: <4 °C

Intended use: For research use only. Not intended for in vitro diagnostics or in vivo uses. Not intended for administration in humans or animals.

Excellent starter material for your first steps with bioprinting, ready-to-print sacrificial and support ink for the fabrication of vascularized tissues, channels in microfluidic devices, and supporting scaffolds for complicated tissue constructs. The ink can be removed after printing by washing with cold PBS or similar.

Preparation guidelines: Diluted in PBS, it can be diluted further. Suitable for cell culture when sterilized. Liquid at low temperatures (<4 °C). Becomes a solid gel at RT.

Suggested printing parameters with reference printer Brinter® One

(www.Brinter.com):

	Pneuma Tool	Visco Bio
Nozzle:	250 µm ID	250 µm ID
Printing pressure:	22 mbar	80 mbar
Extrusion factor:	-	1.5
Printing temperature:	RT	RT
Print bed temperature:	-	-
Print speed	8 mm/s	8 mm/s
First layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Preflow/Postflow time delay:	-	-

Chemical name/INCI: Poloxamer/Poloxamer 407

CAS: 9003-11-6

Former name: Lutrol® F 127

Regulatory status: Kolliphor® P 407 meets the requirements of the current USP-NF monographs and European Pharmacopoeia family monograph Poloxamer: Ph. Eur., USP-NF: Poloxamer 407.

Kolliphor ® P 407 products are also JPE certified (Japanese Pharmaceutical Excipients): Polyoxyethylene (196), Polyoxylpropylene (67) glycol

MSDS: Attached

References: Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications

<https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.11.001>

3D Bioprinting Using a Templated Porous Bioink

<https://doi.org/10.1002/adhm.201600022>

Application note

Kolliphor® (Pluronic) F-127 Bioink

Concentration: 20 %

Storage temperature: <4 °C

Intended use: For research use only. Not intended for in vitro diagnostics or in vivo uses. Not intended for administration in humans or animals.

Excellent starter material for your first steps with bioprinting, ready-to-print sacrificial and support ink for the fabrication of vascularized tissues, channels in microfluidic devices, and supporting scaffolds for complicated tissue constructs. The ink can be removed after printing by washing with cold PBS or similar.

Preparation guidelines: Diluted in PBS, it can be diluted further. Suitable for cell culture when sterilized. Liquid at low temperatures (<4 °C). Becomes a solid gel at RT.

Suggested printing parameters with reference printer Brinter® One

(www.Brinter.com):

	Pneuma Tool	Visco Bio
Nozzle:	250 µm ID	250 µm ID
Printing pressure:	200 mbar	30 mbar
Extrusion factor:	-	1.5
Printing temperature:	RT	RT
Print bed temperature:	-	-
Print speed	8 mm/s	8 mm/s
First layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Layer height:	0.25 mm	0.25 mm
Preflow/Postflow time delay:	-	-

Chemical name/INCI: Poloxamer/Poloxamer 407

CAS: 9003-11-6

Former name: Lutrol® F 127

Regulatory status: Kolliphor® P 407 meets the requirements of the current USP-NF monographs and European Pharmacopoeia family monograph Poloxamer: Ph. Eur., USP-NF: Poloxamer 407.

Kolliphor ® P 407 products are also JPE certified (Japanese Pharmaceutical Excipients): Polyoxyethylene (196), Polyoxylpropylene (67) glycol

MSDS: Attached

References: Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications

<https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.11.001>

3D Bioprinting Using a Templated Porous Bioink

<https://doi.org/10.1002/adhm.201600022>