Research article

Available in: http://jips.ippi.ac.ir

Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian),
Vol. 35, No. 3, 201-214
August-September 2022
ISSN: 1016-3255
Online ISSN: 2008-0883
DOI: 10.22063/JIPST.2022.3164.2154

Gelatin/Polycaprolactone and Poly(vinyl alcohol)/Chitosan Hybrid Nanofibers: Determining Factors on Their Morphology

Marziyeh Ranjbar-Mohammadi*, Farideh Tajdar

Textile Engineering Group, Faculty of Engineering, University of Bonab, Postal Code 5551761167, Bonab, Iran

Received: 6 May 2022, accepted: 19 September 2022

ABSTRACT

Hypothesis: Nowadays, nanotechnology has an important role in the medical industry. Electrospun nanofibers with interconnected structure, high surface-to-volume ratio and good porosity are used in various medical fields. Nanofibers morphology is very effective in their mechanical, thermal, physical and biological properties. The aim of this study is to produce structures with smooth surface and minimized diameter.
Methods: Production assessments are made on hybrid nanofibrous structures using combinations of poly(vinyl alcohol)/chitosan (PVA/CS), and gelatin/polycaprolactone (Gel/PCL). The process is done through the electrospinning process of two nozzles facing each other. For this purpose, Gel/PCL has been injected from a nozzle and CS/PVA from another nozzle and the produced nanofibers are collected on a rotating collector. By a Taguchi test design the effect of variable parameters (PVA/CS ratios of 90:10, 80:20, 70:30; gel/PCL ratios of 80:20, 50:50, 20:80; and CS/PVA feed rates of 1, 1.5, 2 mL/h) on morphological properties of the produced scaffold is evaluated.
Findings: According to the results, nanofibers with the blend ratios of 75:25 and 80:20 for CS/PVA and gel/PCL, respectively, and feed rate of 1 mL/h for PVA/CS showed an average diameter of about 130 nm and a suitable morphology. A hybrid scaffold made of gel/PCL-PVA/CS can be considered as a very suitable and practical biomaterial in the field of diabetic wound healing, because the presence of gel and CS as natural polymers with excellent biological properties and PCL with high elastic property provide good conditions for imitating natural skin behavior.

Keywords:
hybrid nanofibers,
Taguchi,
chitosan,
gelatin,
polycaprolactone

(*)To whom correspondence should be addressed.
E-mail: m.ranjbar@ubonab.ac.ir

Please cite this article using:
Ranjbar-Mohammadi M., Tajdar F., Gelatin/Polycaprolactone and Poly(vinyl alcohol)/Chitosan Hybrid Nanofibers: Determining Factors on Their Morphology, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **35**, 201-214, 2022.

مقاله پژوهشی

عوامل اثرگذار بر شکل‌شناسی نانوالیاف هیبریدی ژلاتین-پلی‌کاپرولاکتون و پلی(وینیل الکل)-کیتوسان

دسترس‌پذیر در نشانی: http://jips.ippi.ac.ir

مرضیه رنجبر محمدی*، فریده تاجدار

بناب، دانشگاه بناب، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی نساجی، کد پستی ۵۵۵۱۷۶۱۱۶۷

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،
سال سی‌وپنجم، شماره ۳،
صفحه ۲۱۴-۲۰۱، ۱۴۰۱
ISSN: 1016-3255
Online ISSN: 2008-0883
DOI: 10.22063/JIPST.2022.3164-2154

دریافت: ۱۴۰۱/۲/۱۶، پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲۸

چکیده

فرضیه: نانوفناوری یکی از فناوری‌هایی بوده که امروزه در تمام دنیا جایگاه مهمی را در صنعت پزشکی یافته است. از نانوالیاف الکتروریسی‌شده با ساختار به‌هم‌پیوسته، نسبت سطح به حجم زیاد و تخلخل مناسب در زمینه‌های مختلف پزشکی استفاده می‌شود. شکل‌شناسی نانوالیاف می‌تواند نقش مهمی را در خواص مکانیکی، گرمایی، فیزیکی و زیستی داربست تهیه‌شده ایفا کند. هدف اصلی این مقاله تولید نانوالیاف با شکل‌شناسی صاف، بدون شکستگی و دانه‌تسبیحی و قطر کم است.

روش‌ها: در این مطالعه سعی شده است تا به‌کمک نانوفناوری، تولید داربست‌های هیبریدی نانولیفی با استفاده از آمیخته پلیمرهای طبیعی پلی(وینیل الکل)-کیتوسان (PVA/CS) و ژلاتین-پلی‌کاپرولاکتون (Gel/PCL) با خواص مناسب برای کاربرد در ترمیم زخم بررسی شود. تولید این داربست با فرایند الکتروریسی دونازلی روبه‌روی هم انجام شد. بدین منظور، Gel/PCL از یک نازل و CS/PVA از نازل دیگر تزریق شده و نانوالیاف تولیدی روی جمع‌کننده چرخان جمع‌آوری شدند. در ادامه با طراحی آزمایش به روش تاگوچی، اثر پارامترهای متغیر نسبت PVA/CS در آمیخته ۹۰:۱۰، ۸۰:۲۰ و ۷۰:۳۰، نسبت Gel/PCL در آمیخته ۸۰:۲۰، ۵۰:۵۰ و ۲۰:۸۰ و سرعت تغذیه PVA/CS با مقادیر ۱، ۱/۵ و ۲ mL/h بر خواص شکل‌شناسی داربست تولیدشده مطالعه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، افزایش پلیمرهای طبیعی کیتوسان و ژلاتین در آمیخته به تولید نانوالیاف با قطر بیشتر منجر شده و افزایش سرعت تغذیه جزء PVA/CS که باعث تغییر در سرعت تغذیه جزء Gel/PCL می‌شود، قطر نهایی را افزایش داد. بنابراین، داربستی با درصدهای آمیخته‌ای ۷۵:۲۵ PVA/CS، ۸۰:۲۰ Gel/PCL، سرعت تغذیه ۱ mL/h و قطر میانگین ۱۳۰ nm دارای شکل‌شناسی مناسب است. داربست هیبریدی تهیه‌شده از آمیخته Gel/PCL-PVA/CS می‌تواند به‌عنوان زیست‌ماده بسیار مناسب و کاربردی در حوزه ترمیم زخم‌های دیابتی به‌شمار آید.

واژه‌های کلیدی

نانوالیاف هیبریدی،
تاگوچی،
ژلاتین،
کیتوسان،
پلی‌کاپرولاکتون

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
m.ranjbar@ubonab.ac.ir

مقدمه

الکتروریسی، یکی از روش‌های متداول و رایج در زمینه تولید نانوالیاف در کاربردهای پزشکی است. به‌دلیل شباهت ساختار ماتریس برون‌یاخته‌ای (extra cellular matrix, ECM) پوست به ساختار نانوالیاف، مقاله‌های زیادی برای تهیه نانوالیاف کاربردپذیر در زمینه پزشکی گزارش شده است. در اکثر ساختارهای نانولیفی مخلوطی از پلیمرهای طبیعی و سنتزی وجود دارد تا بتوان از خواص زیستی عالی پلیمرهای طبیعی و خواص پایداری پلیمرهای سنتزی در محیط‌های آبی استفاده کرده و داربستی مناسب را طراحی کرد. روش‌های مختلفی برای تولید نانوالیاف وجود دارد. در الکتروریسی تک‌نازلی نانوالیاف می‌توانند به‌وسیله محلول مخلوط پلیمرهای سازگار به‌دست آیند. Sarasam و همکاران [۱] ترکیب همگن کیتوسان با وزن مولکولی ۳۱۰ kDa و پلی‌کاپرولاکتون را در حلال ٪۷۷ استیک اسید آبی تهیه کردند. آن‌ها دریافتند، آمیخته ۵۰:۵۰ این دو پلیمر هنگامی که در دمای ۵۵°C طی فرایندی تهیه می‌شوند، بهبود شایان توجهی در خواص مکانیکی و نیز چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای نسبت به کیتوسان نشان می‌دهد. عادلی و همکاران [۲] محلول کیتوسان ٪۲ حل‌شده در استیک اسید و پلی(وینیل الکل) ٪۹ حل‌شده در آب مقطر را تهیه کرده و نشاسته با نسبت‌های مختلف ۵، ۱۰ و ٪۱۵ وزنی را به‌مدت ۲ h به محلول کیتوسان و پلی(وینیل الکل) اضافه کردند. سپس، محلول‌های تهیه‌شده را الکتروریسی کردند. ساختارهای تهیه‌شده خواص مناسبی نظیر شکل‌شناسی مناسب، استحکام زیاد، چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای خوب، جذب زیاد ترشحات زخم، تبادل گاز و نیز خواص ضدباکتری خوبی را در برابر عوامل بیماری‌زا نشان دادند که این ساختار نانولیف چندجزئی را برای کاربرد در مهندسی بافت پوست و استفاده به‌عنوان زخم‌پوش مؤثر اعلام کردند. قلی‌پور و همکاران [۳] داربست‌هایی از مخلوط کیتوسان و پلی(وینیل الکل) (PVA) را با روش الکتروریسی برای کاربرد در مهندسی بافت پوست تهیه کردند. نسبت ۵۰/۵۰ کیتوسان با PVA الیاف خوبی را تولید می‌کند، اما به‌دلیل شکنندگی الیاف تهیه‌شده و وجود ترک‌هایی در سطح الیاف، بهترین نسبت وزنی کیتوسان-پلی(وینیل الکل) حدود ۷۵:۲۵ درصد وزنی گزارش شد. نتایج FTIR، اتصال پیوندهای هیدروژنی در بین مولکول‌های کیتوسان و PVA را تأیید کرد. همچنین نانوالیاف تهیه‌شده خواص ضدمیکروبی و زیست‌سازگاری عالی نشان دادند. حیدری و همکاران [۴] ساختارنانولیفی از محلول PCL-ژلاتین-گرافن را با روش الکتروریسی تهیه کردند. نتایج نشان داد، با تغییر نسبت Gel/PCL، در ترکیب از ۲۵:۷۵ به ۷۵:۲۵ قطر نانوالیاف افزایش یافت، در حالی که افزایش غلظت گرافن قطر نانوالیاف را تا مقدار مطلوب کاهش داد. با افزایش غلظت گرافن به حدود ٪۱/۵ در ساختار PCL-ژلاتین، استحکام کششی و مدول نانولیاف به‌ترتیب حدود ۱۱۷ و ٪۱۲۸ گزارش شده است [۵]. همچنین نتایج رسانندگی الکتریکی نشان داد، رسانایی نانولیف ذکرشده، حدود ۱۱ برابر بیشتر از نانوالیاف PCL-ژلاتین بود. اندازه‌گیری زوایه تماس نشان داد، نانوالیاف دارای گرافن نسبت به نمونه‌های بدون گرافن، آب‌دوست‌تر هستند. همچنین، از نتایج سمیت یاخته‌ای نانوالیاف الکتروریسی‌شده مشخص شد، تقریباً به یاخته‌های عصبی PC12، هیچ سمیتی نشان ندادند. با استفاده از میکروسکوپی الکترونی، شکل‌شناسی نانوالیاف صاف و بدون دانه‌تسبیحی (beaded) گزارش شد. بررسی‌های DSC و FTIR نشان داد، ممکن است برهم‌کنش بین گرافن و ماتریس PCL-ژلاتین وجود داشته باشد. فلاح و همکاران [۶] از پلیمرهای PCL-ژلاتین با افزودن مقدارهای مختلف ۱، ۲ و ٪۶ وزنی کورکومین با استفاده از فرایند الکتروریسی نانوالیاف تولید کردند. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد، افزایش ولتاژ بر قطر الیاف تولیدی اثرگذار است، به‌طوری که افزایش ولتاژ، باعث افزایش قطر الیاف شد. افزایش سرعت تغذیه، اثر معناداری بر افزایش قطر نداشت، همچنین در این آزمایش با افزایش فاصله، مقدار قطر کاهش یافت. اندازه‌گیری زاویه تماس نشان داد، اضافه‌کردن کورکومین باعث کاهش چشمگیر مقدار زاویه تماس شد که آب‌دوست‌شدن سطح عامل مهمی در مطالعات کشت یاخته‌ای قلمداد می‌شود. نتایج زیست‌تخریب‌پذیری پس از گذشت ۱۵ و ۳۰ روز برای ساختارهای ژلاتین-پلی‌کاپرولاکتون و ژلاتین-کاپرولاکتون بارگذاری‌شده با مقادیر مختلف کورکومین بررسی شد. براساس نتایج با افزایش کورکومین در روز ۱۵ نیز تا حدی تغییر شکل‌شناسی و شکستگی‌هایی قابل مشاهده است که در روز ۳۰، این تغییرات بیشتر شده است. نتایج آزمایش کشت میکروبی نانوالیاف با استفاده از دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان داد، نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتون-ژلاتین-کورکومین مقاومت زیادی در برابر این باکتری‌ها داشتند [۶].

در برخی موارد، تهیه نانوالیاف هیبریدی از ترکیب محلول‌های امتزاج‌ناپذیر مطرح می‌شود. در این مورد دو محلول امتزاج‌ناپذیر از نازل‌های جداگانه الکتروریسی می‌شوند [۷]. در سال‌های اخیر کاربردهای زیادی از این نوع الیاف، به‌واسطه قابلیت در ایجاد داربست‌هایی با ویژگی‌های مناسب، گزارش شده است [۸،۹]. الکتروریسی هیبریدی در مقایسه با سایر روش‌ها مانند تک‌نازلی و هسته-پوسته، از برتری کنترل ترکیب شیمیایی داربست برخوردار است. زیرا پلیمرها با خواص فیزیکی و شیمیایی مختلف، با مقدار مشخص درون داربست قرار داده می‌شوند. اجزای پلیمری مختلف خواص متعلق به خود را دارند و با روش کنترل‌شده و مناسب در تعیین

خواص نهایی داربست شرکت می‌کنند. افزون بر این، الکتروریسی هم‌زمان می‌تواند برای ساخت داربست‌ها با درجه یکسانی از خواص تخریب‌پذیری، مکانیکی و فیزیکی-شیمیایی در طول داربست، به‌کار گرفته شود و از انفعالات زیستی بافت تقلید کند [۱۰]. باقرصاد و همکاران [۱۱] الیاف چندجزئی متشکل از پلی‌کاپرولاکتون، ژلاتین و آلوئه‌ورا را با الکتروریسی دونازلی تولید کردند. پارامترهای الکتروریسی با روش سطح پاسخ (response surface methodology, RSM) بهینه‌سازی شدند. در نمونه‌های تهیه‌شده پس از کشت یاخته‌های فیبروبلاست، چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای مناسبی مشاهده شد و انجام آزمون‌های سمیت یاخته‌ای نشان داد، نمونه‌های تهیه‌شده، زیست‌سازگاری مناسبی دارند. طبق نتایج آن‌ها داربست‌های تهیه‌شده به‌دلیل خواص مکانیکی خوب، ماهیت آب‌دوستی، زیست‌سازگاری و رفتار یاخته‌ای مناسب می‌توانند به‌عنوان گزینه خوب و مناسب در ترمیم زخم استفاده شوند. زارع‌خلیلی و همکاران [۱۲] خواص شکل‌شناسی، مکانیکی و زیستی نانوالیاف هیبریدی متشکل از پلی‌کاپرولاکتون از یک سرنگ و پلی(وینیل الکل)-کتیرا را بررسی کردند که از سرنگ دیگر ریسیده شده و در نهایت این نانوالیاف روی صفحه جمع‌کننده جمع‌آوری شده بود. همچنین، آن‌ها مقدار ۵٪ وزنی تتراسایکلین هیدروکلرید را در اجزای محلول پلیمری بارگذاری کردند. نانوالیاف تهیه‌شده شکل‌شناسی مناسبی با قطری حدود ۱۳۱/۶±۱۷/۵ nm و فعالیت ضدباکتری حدود ۹۵/۱۹٪ را در مجاورت باکتری *Escherichia coli* نشان دادند. همچنین، آزمون سمیت یاخته‌ای هیچ اثری از سمیت داربست‌های تهیه‌شده در مجاورت یاخته‌های فیبروبلاست نشان نداد. تولید داربست‌های هیبریدی نانولیفی شامل پلی(لاکتیک اسید) (PLA) و کراتین-پلی(وینیل الکل) (K/PVA) به‌عنوان اجزای اصلی و نانولیفچه کیتوسان (CHNF)-نانوذرات روی اکسید (ZnO NPs) (CSZ) به‌عنوان جزء نانوپرکننده با روش الکتروریسی دونازلی بررسی شده است. برای تهیه نمونه‌های آمیخته‌ای، محلول PLA از یک نازل و محلول K/PVA از نازل دیگر (با نسبت ۵۰:۵۰) به‌همراه یکی از آمیخته‌های CHNF، CSZ ۱:۱، ۱:۲ و ۲:۱ الکتروریسی شد و نانوالیاف PLA/CSZ-K/PVA/CSZ روی جمع‌کننده چرخان تولید شدند.

نمونه (۲:۱) PLA/CSZ-(۲:۱) K/PVA/CSZ به‌دلیل داشتن قطر، شکل‌شناسی و خاصیت ترشوندگی مناسب و افزایش طول تا پارگی حدود ۳/۸٪ ± ۵۱/۴۶ به‌عنوان نمونه بهینه، برای انجام ادامه آزمایش‌ها انتخاب شد. نتایج DSC نیز نشان داد، برای ساختار (۱:۲) PLA/CSZ-(۱:۲)K/PVA/CSZ پیک‌های مربوط به ذوب PLA و PVA به دمای بیشتر انتقال یافتند. به‌طورکلی، نانوالیاف (۲:۱) PLA/CSZ-(۲:۱)K/PVA/CSZ با قطر ۳۵۲/۵۰±۳۱ nm و زاویه تماس ۴۸±۳° به‌عنوان داربست مناسب انتخاب شد که قابلیت زیادی در مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت *Escherichia coli* و گرم منفی *Staphylococcus aureus* نشان داده و با افزایش چسبندگی یاخته‌های فیبروبلاست و کاهش سمیت آن‌ها گزینه مناسبی برای ترمیم زخم است [۱۰].

یکی از مهم‌ترین موضوع‌هایی که امروزه به پیشرفت بسیار زیادی نیاز دارد، تولید داربست‌های زیستی مناسب برای ترمیم یا جایگزینی بافت آسیب‌دیده است. بدین منظور دانشمندان خواص پلیمرهای زیست‌سازگار را بررسی کردند. در این باره ساختارهای تهیه‌شده از ژلاتین، ژلاتین-نانوذرات یا ژلاتین در ترکیب با سایر پلیمرهای طبیعی مانند کیتوسان بسیار مورد توجه قرار گرفتند [۱۳،۱۴]. استفاده از مخلوط پلیمرهای طبیعی و سنتزی با خواص متفاوت می‌تواند افزون بر تأمین خواص زیستی و مکانیکی مناسب، شبیه‌سازی مناسبی از ساختار ماتریس برون‌یاخته‌ای طبیعی بدن ارائه کند [۱۴]. در این باره به‌تازگی استفاده از مخلوط پلیمرهایی چون کیتوسان و پلی(وینیل الکل) بسیار مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است [۱۵]. همچنین سعی شده است، از مخلوط ژلاتین به‌همراه پلی‌کاپرولاکتون نیز استفاده شده و ترکیب نانولیفی هیبریدی با خواص بالقوه طراحی شود. در این مقاله، با توجه به خواص منحصربه‌فرد کیتوسان و شباهت ساختاری زیاد ژلاتین به کلاژن و به‌منظور حذف مشکلات حاصل از استفاده کلاژن، از پلیمر طبیعی کیتوسان و ژلاتین به‌عنوان اجزای تولید وب نانولیفی استفاده شد. همچنین، از پلیمر آب‌گریز سنتزی، زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار پلی‌کاپرولاکتون به‌عنوان جزء دیگر وب نانولیفی استفاده شد. بدین منظور مخلوط کیتوسان-پلی(وینیل الکل) از یک نازل و محلول پلیمری پلی‌کاپرولاکتون-ژلاتین از نازل دیگر تزریق شده و نانوالیاف آمیخته‌ای روی صفحه جمع‌کننده جمع‌آوری شدند. بر اساس مطالعات ما تاکنون نانوالیاف با این ترکیب تولید نشده است. از آنجا که یکی از مهم‌ترین دغدغه‌ها در تولید نانوالیاف دستیابی به خواص شکل‌شناسی مناسب از لحاظ خواص سطحی مانند سطح صاف، بدون شکستگی و قطر کم است، سعی شد، نانولیف بهینه با طراحی آزمون تاگوچی گزارش شود.

تجربی

مواد

پلی‌کاپرولاکتون (PCL) با وزن مولکولی ۸۰ kDa از شرکت Sigma-

Aldrich تهیه شد. پودر ژلاتین نوع B و پلی(وینیل‌الکل) (PVA) با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ Da از شرکت Merck خریداری شد. از پودر کیتوسان با درجه استیل‌زدایی ٪۸۵ و وزن مولکولی ۱۰۰۰ kDa خریداری‌شده از شرکت کیتوتک استفاده شد.

دستگاه‌ها

شکل‌شناسی و قطر نانوالیاف الکتروریسی‌شده با میکروسکوپ الکترونی مدل Vegal ساخت شرکت Tescan جمهوری چک ارزیابی شد. نرم‌افزار Web Plot Digitalizer برای اندازه‌گیری قطر نانوالیاف الکتروریسی‌شده به‌کار گرفته شد.

روش‌ها

طراحی آزمایش

روش تاگوچی رویکردی نظام‌مند و کارآمد برای انجام آزمایش در تعیین بهینه تقریبی پارامترهای طراحی و عملکرد هزینه فراهم می‌کند. با استفاده از آرایه‌های متعامد (orthogonal arrays) برای مطالعه تعداد زیادی از متغیرها و به‌کمک تعداد کمی آزمایش از روش تاگوچی استفاده می‌شود. با استفاده از این روش، به‌طور شایان توجهی تعدادی از پیکربندی‌های آزمایش کاهش می‌یابد. نتایج آزمایش‌های مقیاس‌کوچک روی کل منطقه آزمایشی محاسبه می‌شوند که با عوامل کنترل و تنظیمات آن‌ها در نظر گرفته شده است. این روش می‌تواند هزینه‌های پژوهش و توسعه را به‌طور هم‌زمان با مطالعه تعداد زیادی عوامل کاهش دهد. به‌منظور تجزیه و تحلیل نتایج تاگوچی می‌توان از تحلیل واریانس ANOVA استفاده کرد [۱۶،۱۷].

از ارزیابی واریانس خطا برای تعیین اهمیت نسبی عوامل مختلف استفاده می‌شود. با استفاده از روش تاگوچی در طراحی آزمایش و تنظیم مطلوب پیش‌بینی عوامل، به انجام تمام ردیف‌های آزمایش ماتریس نیازی نیست. برای کنترل کارایی این روش و صحت تجربی آن می‌توان با استفاده از سطح مطلوب پیش‌بینی‌شده برای پارامترهای کنترلی مطالعه‌شده نمونه بهینه را تهیه و آن را ارزیابی کرد [۱۸،۱۹]. مزایای استفاده از روش ANOVA در تعیین اثر متفاوتی که هر عامل اصلی دارد، پارامترهای اثرگذار بر یکدیگر، درصد خطا، برآورد شرایط بهینه و نتایج مربوط در شرایط مختلف است که روش تاگوچی آرایه متعامد استاندارد را فراهم می‌کند تا بتواند این الزامات را در خود جای دهد. آرایه متعامد مناسب به تعدادی از عوامل، برهم‌کنش‌ها و سطح‌های مورد نیاز بستگی دارد. در روش ANOVA انحراف از معیار هر اثر با توجه به مقدار محاسبه می‌شود [۱۷]. برای بررسی اثر مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر خواص شکل‌شناسی الیاف تشکیل‌شده، درصدهای آمیخته‌ای PVA/CS، Gel/PCL و سرعت تغذیه به‌ترتیب در سطوح ۱، ۲، ۳ تغییر یافتند. نرم‌افزار Minitab 18 برای طراحی آزمایش به‌کار گرفته شد. جدول ۱ به‌طور خلاصه عوامل بررسی‌شده و سطوح تغییر آن‌ها را نشان می‌دهد. پس از طراحی آزمایش، تعداد ۹ آزمایش با نرم‌افزار پیشنهاد داده شد. با تصویربرداری و سپس اندازه‌گیری زاویه تماس قطره آب و سطح، ماهیت آب‌دوستی یا آب‌گریزی داربست بررسی شد.

تهیه محلول‌های پلیمری

برای تهیه محلول به‌منظور تولید الیاف هیبریدی، محلول ٪۱۵ پلی‌کاپرولاکتون در حلال استیک اسید ٪۹۰، ٪۱۵ ژلاتین در حلال استیک اسید ٪۹۰، ٪۱۰ پلی(وینیل الکل) در استیک اسید ٪۴۰ و ٪۵ کیتوسان در حلال ٪۹۰ استیک اسید در شرایط محیطی روی همزن مغناطیسی به‌مدت ۱۲ h قرار گرفتند تا انحلال به‌طور کامل انجام شود. سپس، محلول‌های تهیه‌شده به‌مدت ۸ h استراحت داده شدند. آمیخته PVA/CS با نسبت‌های ۷۰:۳۰، ۸۰:۲۰ و ۹۰:۱۰ روی همزن به‌مدت ۱۲ h آماده شد. همچنین، آمیخته Gel/PCL با نسبت‌های ۸۰:۲۰، ۵۰:۵۰ و ۲۰:۸۰ به‌مدت ۱۲ h روی همزن تهیه شد.

الکتروریسی محلول

دستگاه الکتروریسی، شامل دو پمپ سرنگ دیجیتالی، ساخت شرکت نانوساختار آسیا بود که سرنگ‌های ۱۰ mL همراه با سوزن‌های 19-gauge روی آن نصب شدند. سایر اجزای اصلی دستگاه شامل جمع‌کننده آلومینیمی چرخان با قطر و طول به‌ترتیب ۵۰ و ۵۰ mm و منبع ولتاژ قوی ۰-۲۵ kV بود. با استفاده از سیم رابط بار الکتریکی مثبت به‌مقدار یکسان به هردو سرنگ دارای محلول پلیمری اعمال می‌شود. با خروج محلول پلیمری به‌کمک پمپ و برقراری میدان الکتریکی بین محلول پلیمری و جمع‌کننده متصل به زمین، بر نیروهای کشش سطحی و گران‌روی محلول غلبه شده و حرکت‌های شلاقی جت پلیمری به‌وجود می‌آید و این جت به سمت صفحه آلومینیمی

جدول ۱- عوامل بررسی‌شده و سطوح تغییر آن‌ها.

Table 1. The examined factors and their levels.

	Parameters	First level	Second level	Third level
A	Blend ratio PVA/CS	90:10	80:20	70:30
B	Blend ratio Gel/PCL	20:80	50:50	80:20
C	Flow rate of PVA/CS	1	1.5	2

کشیده می‌شود که در فاصله چند سانتی‌متری از نوک موئینه‌ها قرار دارد و با سرعت ۲۵۰ rpm می‌چرخد. در نهایت، الیاف پلیمری جامد بی‌نظم، حاصل از دو محلول با محدوده قطر نانومتری بر جمع‌کننده چرخان گردآوری می‌شود. محلول‌هایی با غلظت مختلف از PCL، PVA، کیتوسان و ژلاتین با توجه به طراحی آزمایش تهیه شد. سپس، برای تهیه نانوالیاف نسبت‌های مختلفی از پلی(وینیل الکل)/کیتوسان (PVA/CS) و ژلاتین-پلی‌کاپرولاکتون (Gel/PCL) (بر اساس جدول ۱) تهیه و در نهایت نانوالیاف هیبریدی از نازل‌های روبه‌روی هم (PVA/CS از یک نازل و Gel/PCL از نازل دیگر) پس از محاسبه سرعت تغذیه هر جزء تهیه و روی صفحه جمع‌کننده جمع‌آوری شدند. برای محاسبه سرعت تغذیه هر یک از محلول‌ها، سرعت تغذیه جزء کیتوسان-پلی(وینیل الکل) (PVA/CS) بر اساس طراحی آزمایش تغییر کرد و سرعت تغذیه جزء ژلاتین-پلی‌کاپرولاکتون (Gel/PCL) بر اساس آن محاسبه شد. جدول ۲، تعداد ۹ نمونه الکتروریسی‌شده به‌همراه مقادیر سرعت تغذیه هر جزء را نشان می‌دهد. با فرض مقدار سرعت تغذیه PVA/CS در حدود ۱، ۱/۵ و ۲ mL/h، مقدار سرعت تغذیه جزء Gel/PCL بر اساس مقدار سرعت تغذیه PVA/CS، نسبت ترکیب هر یک از اجزا در ترکیب نهایی و غلظت هر جزء (کیتوسان ۵٪ وزنی، پلی(وینیل الکل) ۱۰٪ وزنی، ژلاتین و پلی‌کاپرولاکتون ۱۵٪ وزنی) محاسبه شد. همچنین در حالت کلی سعی شد، مقدار جزء PVA/CS و Gel/PCL در ساختار نهایی با محاسبات انجام‌شده درباره سرعت تغذیه، یکسان (۵۰:۵۰) باشد. برای تولید تمام نمونه‌ها، فاصله ریسندگی حدود ۱۴۰ mm و مقدار ولتاژ اعمال‌شده حدود ۱۵ kV بود. محلول PVA/CS از یک سرنگ و محلول Gel/PCL از سرنگ دیگر تزریق شده و در نهایت نانوالیاف تولیدی از دو نازل روبه‌روی هم روی صفحه جمع‌کننده به‌طور تصادفی جمع‌آوری شدند.

جدول ۲- آزمایش‌های طراحی‌شده و مقادیر سرعت تغذیه برای محلول‌های PVA/CS و Gel/PCL.

Table 2. Designed experiments and the amounts of feed rate for PVA/CS and Gel/PCL solutions.

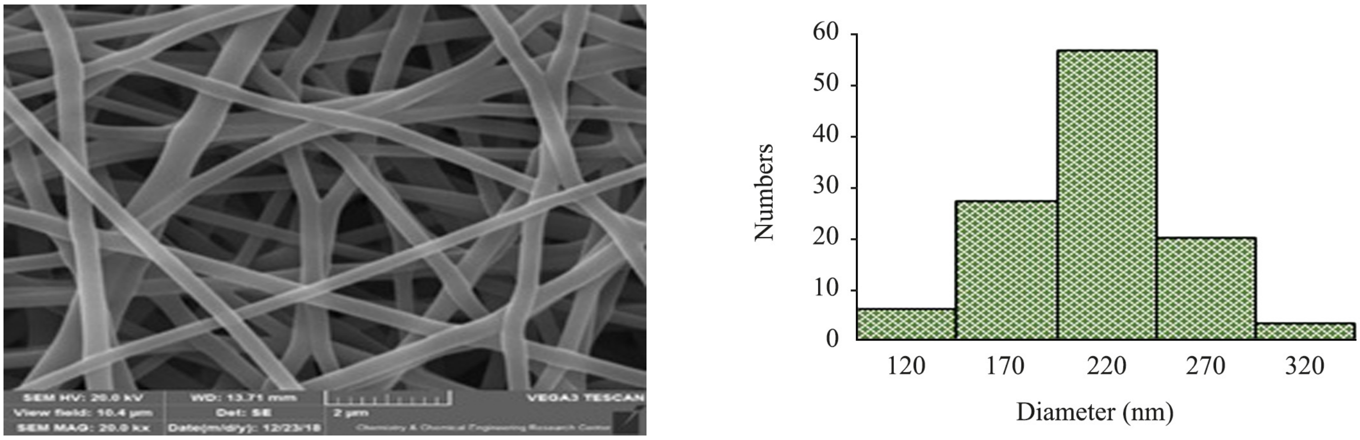
Blend ratio		Feed rate (mL/h)	
PVA/CS	Gel/PCL	PVA/CS	Gel/PCL
90:10	20:80	1	0.63
90:10	50:50	1.5	0.95
90:10	80:20	2	1.3
80:20	20:80	1.5	0.9
80:20	50:50	2	1.2
80:20	80:20	1	0.6
70:30	20:80	2	1.13
70:30	50:50	1	0.55
70:30	80:20	1.5	0.85

نتایج و بحث

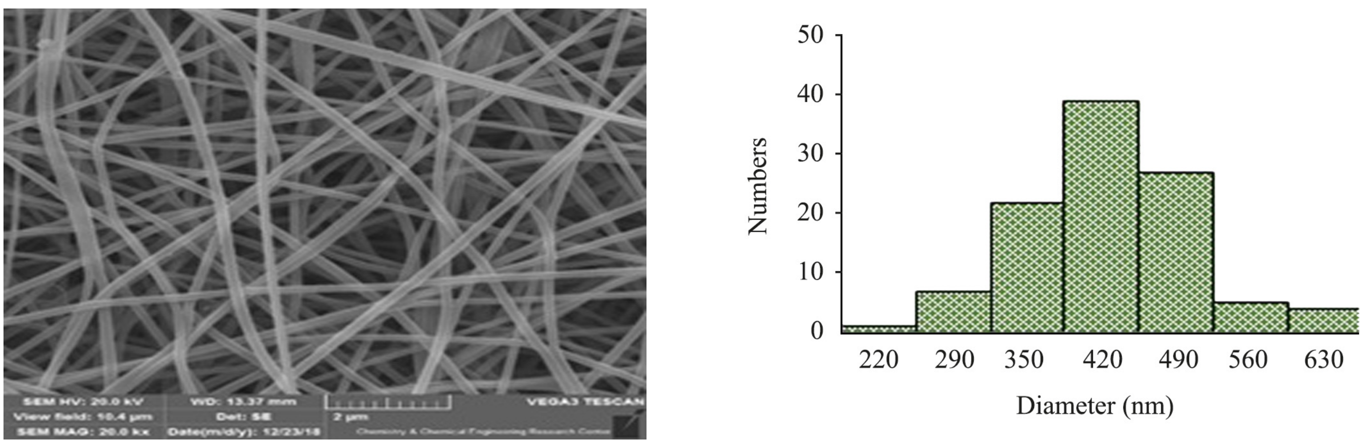
اثر حلال پلی(وینیل‌الکل) بر خواص شکل‌شناسی الیاف

پلی(وینیل‌الکل) پلیمر سنتزی محلول در آب و استیک اسید است که به‌عنوان جزء دوم خوش‌ریس برای بهبود قابلیت ریسندگی کیتوسان در الکتروریسی استفاده شده است. به‌منظور پیداکردن حلال مناسب پلی(وینیل الکل) برای استفاده در ترکیب مربوط به PVA/CS و در نهایت به‌کارگیری آن در تولید الیاف هیبریدی با شکل‌شناسی مناسب، از دو حلال آب و استیک اسید برای تولید نانوالیاف PVA/CS و نانوالیاف هیبریدی Gel/PCL-PVA/CS (۲۰:۸۰ و ۸۰:۲۰) استفاده شد. سپس، شکل‌شناسی الیاف تهیه‌شده بررسی شد. همان‌طور در شکل ۱ مشخص است، الیاف حاصل از ترکیب PVA/CS با حل پلی(وینیل الکل) در آب، قطری حدود ۴۰۰±۹۰ nm دارند. در حالی که الیاف تولیدشده از PVA/CS با حل پلی(وینیل الکل) در استیک اسید، دارای الیافی با شکل‌شناسی صاف، یکنواخت و قطر میانگین ۷۵ nm ± ۲۲۴ هستند. با توجه به نتایج حاصل از بررسی حلال PVA مشخص شد، استیک اسید در مقایسه با آب حلال بهتری از لحاظ خواص ساختاری برای PVA در ترکیب PVA/CS به‌منظور تولید الیاف با شکل‌شناسی خوب و قطر کمتر است. بنابراین، برای ادامه آزمایش‌ها از محلول استیک اسید ۴۰٪ استفاده شد، تا الیاف مناسب تهیه شوند. همچنین، به‌دلیل استفاده از محلول استیک اسید برای حل‌کردن PVA/CS، فرایند شکل‌گیری الیاف کیتوسان نیز راحت‌تر است. در مرحله بعدی سعی شد، استفاده از دو حلال آب و استیک اسید در ترکیب الیاف آمیخته‌ای نیز بررسی شود تا از به‌کارگیری حلال استیک اسید به‌عنوان ماده حل‌کننده آمیخته کیتوسان-پلی(وینیل الکل) اطمینان حاصل شود.

شکل ۲ نشان می‌دهد، هنگامی که از حلال استیک اسید برای PVA/CS استفاده شده است، الیاف با شکل‌شناسی صاف‌تر، تراکم بیشتر و بدون شکستگی تولید شده‌اند. اما، هنگامی که در نمونه هیبریدی از آب به‌عنوان حلال PVA در ساختار آمیخته PVA/CS استفاده شد، الیاف شکستگی‌های زیادی دارند. بنابراین در ادامه آزمایش‌ها از حلال استیک اسید ۴۰٪ برای حل‌کردن جزء PVA و از اسید استیک ۹۰٪ برای حل‌کردن جزء کیتوسان استفاده شد.



(a)



(b)

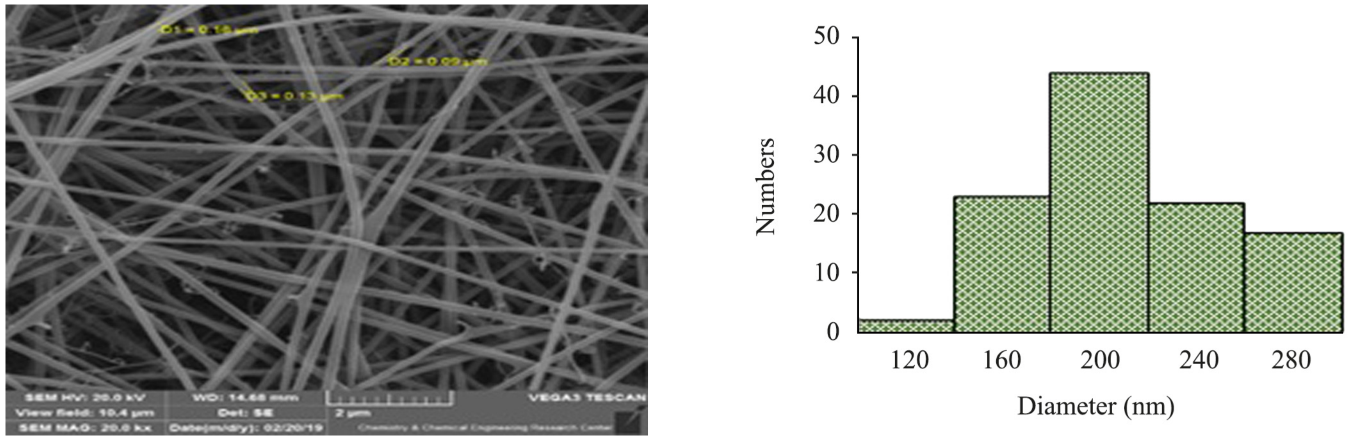
شکل ۱- اثر حلال بر خواص شکل‌شناسی نانوالیاف PVA/CS (ولتاژ اعمال‌شده ۱۵ kV، فاصله الکتروریسی ۱۴ cm و سرعت تغذیه ۱ mL/h): (a) آب و (b) استیک اسید.

Fig. 1. The effect of solvent on the morphological properties of PVA/CS nanofibers (applied voltage 15 kV, electrospinning distance 14 cm, and flow rate 1 mL/h): (a) water and (b) acetic acid.

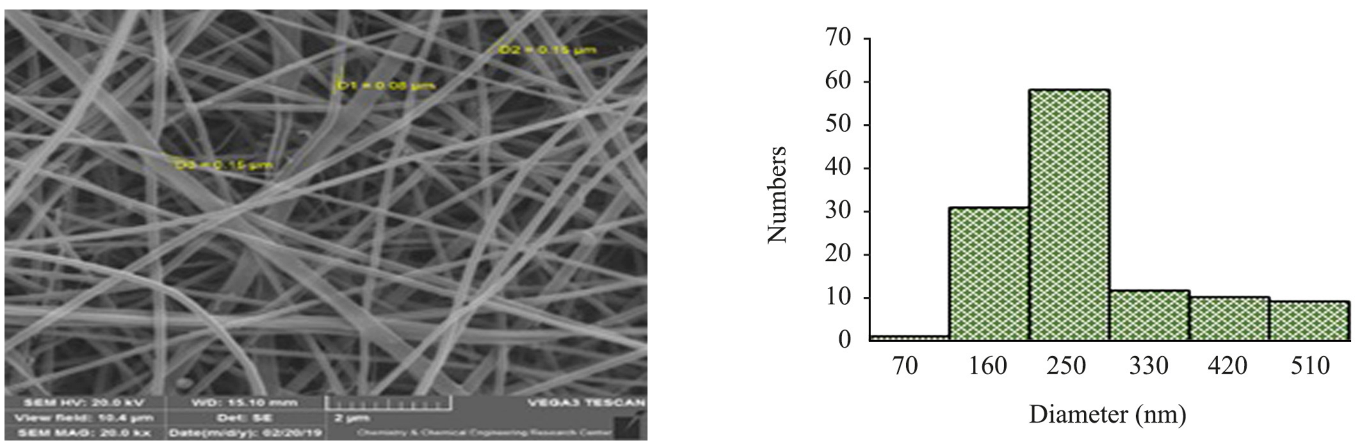
اثر عوامل متغیر بر خواص شکل‌شناسی الیاف PVA/CS-Gel/PCL

از روش تاگوچی برای بهینه‌سازی قطر نانوالیاف در مقالات مختلف استفاده شده است. الیاف پلی‌آکریلونیتریل با قطر ۱۶۳/۶ nm به‌کمک طراحی آزمایش تاگوچی با استفاده از چهار عامل و تغییر در چهار سطح تولید شدند [۲۰]. نانوالیاف پلی‌یورتانی با استفاده از طراحی آزمایش تاگوچی به‌منظور دستیابی به قطر کمتر تولید شدند که قطر مشاهده‌شده برای الیاف در محدوده ۲۴۲/۱۰ nm تا ۲۵۷/۹۲ nm بود [۲۱]. در اکثر مقالات مربوط به نانوالیاف، طراحی آزمایش برای دستیابی به الیاف با قطر کم انجام شده است. در این مقاله با استفاده از طراحی آزمایش به روش تاگوچی و تغییرعوامل مؤثر و معین، ۹ آزمایش مختلف انجام شد و نانوالیاف مدنظر تهیه شدند. در جدول ۳ آزمایش‌های انجام‌شده و قطر حاصل از ۹ نمونه به‌دست‌آمده از طراحی آزمایش آمده است.

شکل‌شناسی نانوالیاف می‌تواند نقش مهمی را در خواص مکانیکی، گرمایی، فیزیکی و زیستی داربست تهیه‌شده ایفا کند. پارامترهای بسیاری بر خواص شکل‌شناسی الیاف نظیر شکل ظاهری، قطر و یکنواختی قطری آن اثر می‌گذارند. در این مقاله سعی شد تا با بهره‌گیری از طراحی آزمایش اجراشده، داربست نانولیفی با خواص شکل‌شناسی بهینه تهیه شود. ریزنگارهای SEM مربوط به نانوالیاف تولیدی به‌همراه نمودار ستونی آن‌ها در شکل ۳ نشان داده شده است. همان طور که در این شکل دیده می‌شود، الیاف صاف و بدون دانه‌تسبیحی تولید شده است. در بعضی از نمونه‌های تولیدشده الیاف در محدوده میکرو و نانو قابل مشاهده است که نشان می‌دهد، هر دو جزء در ساختار آمیخته وجود دارند. الیاف ظریف‌تر به جزء PVA/CS



(a)



(b)

شکل ۲- اثر حلال بر شکل‌شناسی الیاف PVA/CS-Gel/PCL (ولتاژ اعمال‌شده ۱۵ kV، فاصله الکتروریسی ۱۴ cm و سرعت تغذیه ۱ mL/h): (a) آب و (b) استیک اسید.

Fig. 2. The effect of solvent on the morphology of PVA/CS-Gel/PCL (applied voltage 15 kV, electrospinning distance 14 cm, and feed rate 1 mL/h): (a) water and (b) acetic acid.

جدول ۳ -آزمایش‌های طراحی‌شده از تاگوچی به‌همراه قطر نانوالیاف.

Table 3. Designed experiments form Taguchi with the diameter of nanofibers.

Sample	Blend ratio		Feed rate of	Diameter
	PVA/CS	Gel/PCL	PVA/CS	(nm)
S_1	90:10	20:80	1	321±29
S_2	90:10	50:50	1.5	356±133
S_3	90:10	80:20	2	305±50
S_4	80:20	20:80	1.5	400±43
S_5	80:20	50:50	2	469±45
S_6	80:20	80:20	1	183±29
S_7	70:30	20:80	2	315±43
S_8	70:30	50:50	1	116±43
S_9	70:30	80:20	1.5	126±26

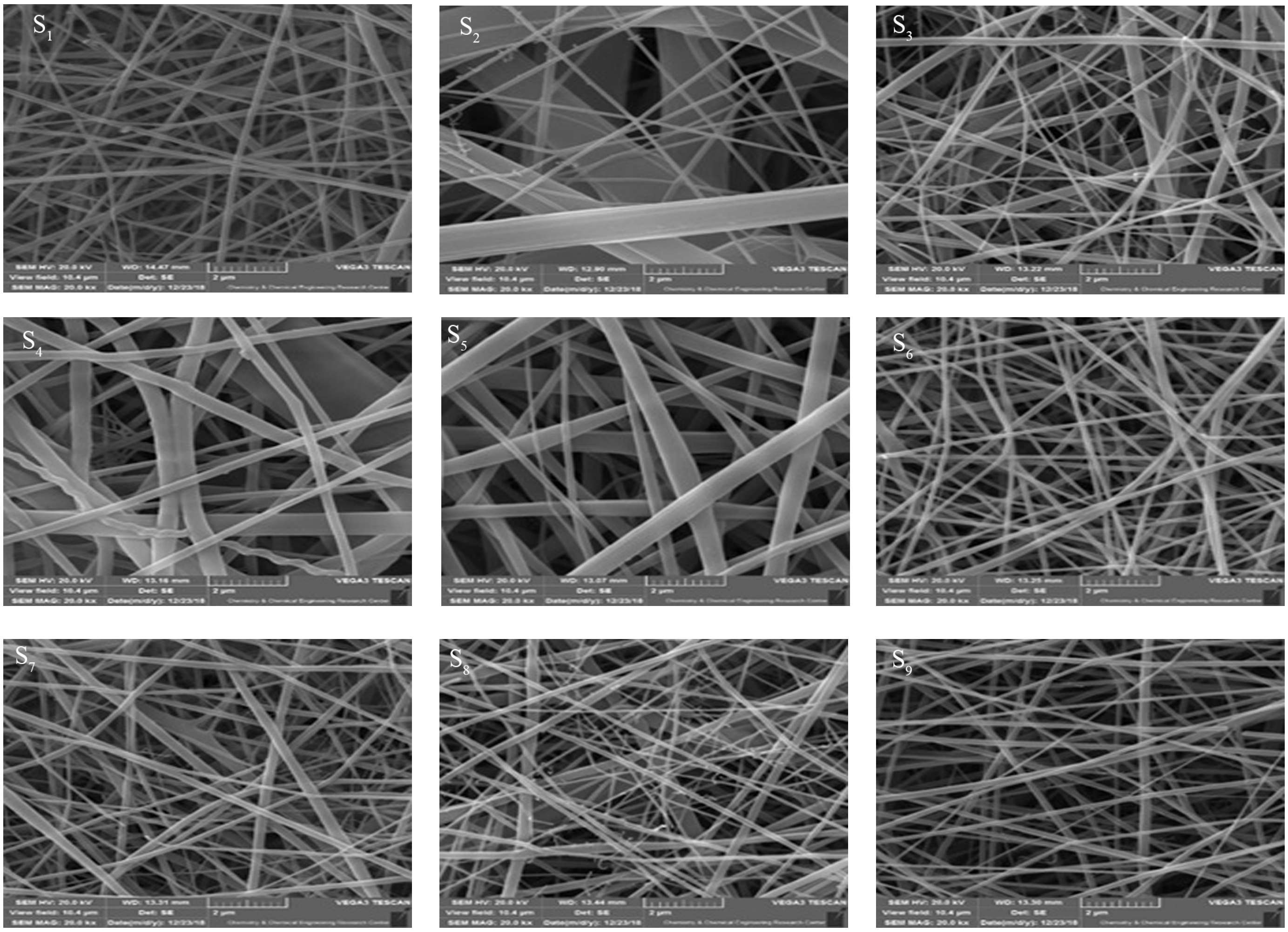
(در شکل ۱ قابل مشاهده است) و الیاف با قطر بیشتر به Gel/PCL مربوط هستند. در همه نمونه‌ها، الیاف سطحی صاف و تا حدی بدون دانه نشان دادند، اما در بعضی از آن‌ها شکستگی‌هایی نیز قابل مشاهده است.

اثر عوامل بر قطر الیاف تولیدی

در طراحی آزمایش هر یک از عامل‌های نسبت آمیخته‌ای PVA/CS و Gel/PCL و سرعت تغذیه هر یک از محلول‌های پلیمری تزریق‌شده از دو سرنگ جداگانه بررسی شدند که نقش مؤثری بر قطر الیاف دارند. اثر عامل‌های مهم بر قطر الیاف تولیدی در شکل ۴ نشان داده شده است. شکل ۴ (a) نشان می‌دهد، با افزایش مقدار کیتوسان در ترکیب، مقدار قطر الیاف تا حد جزئی افزایش یافته، سپس کاهش چشم‌گیری در مقدار قطر قابل مشاهده است. از آنجا که وزن مولکولی

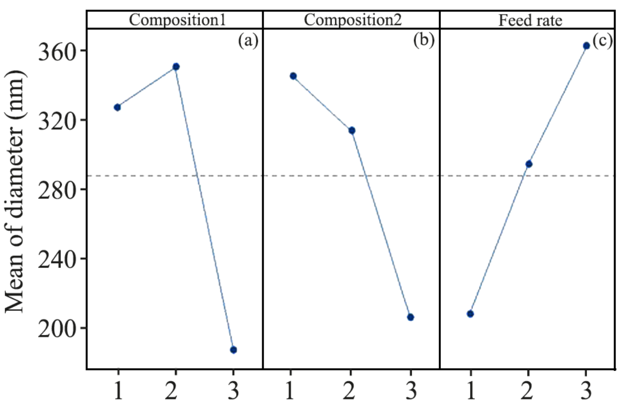
کیتوسان استفاده‌شده در این مقاله زیاد است، الکتروریسی کیتوسان خالص به‌دلیل گران‌روی زیاد محلول و خاصیت پلی‌کاتیونی کیتوسان در محیط‌های اسیدی امکان‌پذیر نیست و فقط به‌صورت قطره‌هایی بر صفحه جمع‌کننده قرار گرفت. به‌عبارت دیگر، الکتروریسی تبدیل به فرایند الکتروافشانش شد. به‌همین دلیل از پلی(وینیل‌الکل) (PVA) به‌عنوان جزء دوم در مخلوط با کیتوسان برای کاهش گران‌روی و تغییر در واکنش‌های داخلی کیتوسان استفاده شده و امکان الکتروریسی پلیمر مخلوط بدین صورت فراهم شد. در واقع، PVA لابه‌لای زنجیرهای بلند کیتوسان قرار گرفت و موجب کاهش درگیری بین زنجیرها و کاهش گران‌روی شد. از سوی دیگر، قرارگیری PVA بین زنجیرهای باردار (پلی‌کاتیون) کیتوسان موجب کاهش خاصیت دفع بارهای هم‌نام شده و زمینه لازم را برای ایجاد جتی پایدار فراهم کرده است. گفتنی است، PVA پلیمری زیست‌سازگار و آب‌دوست است، بنابراین موجب محدودیت کاربردهای پزشکی کیتوسان در مخلوط نشد [۳].

به‌منظور یافتن نسبت بهینه در آمیخته PVA/CS، محلول‌هایی با نسبت جرمی مختلف تهیه و الکتروریسی شدند. الکتروریسی محلول با مقدار بیشتر کیتوسان به ایجاد نانوالیاف ظریف‌تری منجر شده است که علت کاهش قطر الیاف، زیادبودن قطبیت کیتوسان نسبت به پلی(وینیل الکل) در حلال استفاده‌شده است. این موضوع خود باعث افزایش چگالی بار محلول شده و در نتیجه نیروی دافعه بیشتری به جت خارج‌شده اعمال می‌شود. این پدیده کاهش قطر الیاف را در پی دارد. از این‌رو، ایجاد ترک و شکستگی در سطح نانوالیاف به‌دلیل شکننده‌بودن پلیمر کیتوسان و نیز نبود قابلیت الکتروریسی این پلیمر است. در واقع، پلی(وینیل الکل) افزون بر فراهم‌کردن امکان الکتروریسی برای کیتوسان، در مخلوط همانند نرم‌کننده عمل می‌کند و



شکل ۳- عکس‌های SEM از نمونه‌های هیبریدی تهیه‌شده (جدول ۳) با روش طراحی تاگوچی.

Fig. 3. SEM images of hybrid samples produced (Table 3) by using Taguchi desing method.



شکل ۴- اثر نسبت‌های آمیخته‌ای PVA/CS و Gel/PCL و نیز سرعت تغذیه بر قطر نانوالیاف تولیدی.

Fig. 4. The effect of blend ratios of PVA/CS and Gel/PCL and feed rate on the diameter of nanofibers.

باعث ایجاد نانوالیاف با سطحی یکنواخت و صاف می‌شود. شایان ذکر است، در این پژوهش نسبت ترکیب PVA/CS به ۶۰:۴۰ تغییر داده شد. اما نایکنواختی شدیدی در قطر الیاف، همچنین شکستگی و ترک در سطح نانوالیاف مشاهده شد. همچنین همان‌طور که در نمونه‌های S_8 و S_9 مشخص است، افزایش مقدار کیتوسان در آمیخته به تولید الیاف شکسته منجر شده است که این به‌عنوان عیب در ساختار الیاف شناخته می‌شود.

شکل ۴ (b) نشان می‌دهد، افزایش مقدار ژلاتین در آمیخته باعث کاهش معنادار قطر الیاف تولیدی شده است. در تفسیر این مطلب می‌توان عنوان کرد، PCL پلیمر سنتزی غیریونی است و هنگامی که این پلیمر در حلال‌های آلی از جمله استیک اسید حل می‌شود، هیچ نوع یونی در محلول ایجاد نمی‌کند. این در حالی است که ژلاتین پلیمر پلی‌الکترولیت است که گروه‌های زیادی با قابلیت یونش از جمله گروه‌های آمین و کربوکسیلیک اسید دارد. این گروه‌ها در شرایط اسیدی به‌مقدار زیادی یونیده یا آب‌کافت می‌شوند و می‌توانند بارهای مثبت و منفی زیادی را حمل کنند. در نتیجه محلول دارای درصد بیشتری از ژلاتین، چگالی بار سطحی بیشتری روی سطح جت پلیمری خارج‌شده از نوک سوزن حین فرایند الکتروریسی ایجاد می‌کند. این موضوع از یک طرف افزایش دافعه بار-بار را در پی دارد و با تشکیل نانوالیاف دارای دانه‌تسبیحی همراه است، در حالی است که با کاهش مقدار ژلاتین در مخلوط، نیروی دافعه درون محلول کاهش یافته و نانوالیاف هموار و بدون دانه تشکیل می‌شود. از سوی دیگر اضافه‌کردن پلی‌الکترولیت‌های کاتیونی و آنیونی موجب افزایش رسانندگی الکتریکی محلول و تولید نانوالیاف با قطر کمتر می‌شود [۴].

شکل ۴ (c) نشان می‌دهد، با افزایش سرعت تغذیه محلول پلیمری، قطر نانوالیاف تولیدی افزایش می‌یابد. منظور از سرعت تغذیه سرعتی است که محلول به نوک سوزن تزریق می‌شود و مقدار محلول در دسترس برای شکل‌گیری مخروط تیلور در آن لحظه را تعیین می‌کند. از آنجا که مخروط تیلور در اندازه معینی باید باقی بماند تا ثبات خود را حفظ کند، بنابراین به سرعت تغذیه معینی نیاز است. در حقیقت، سرعت تغذیه محلول پلیمری تعیین‌کننده مقدار محلول در دسترس برای شکل‌گیری مخلوط تیلور است. از آنجا که به‌منظور پایدارماندن مخروط تیلور، این مخروط باید در اندازه مشخصی نگه داشته شود، به سرعت تغذیه مناسبی نیاز است. افزایش سرعت تغذیه موجب افزایش قطر می‌شود، بدین دلیل که محلول بیشتری تغذیه می‌شود نسبت به آنچه که از نوک سوزن خارج می‌شود [۴].

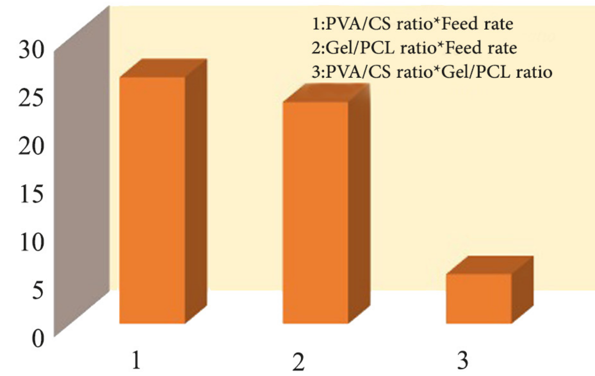
درصد اهمیت هریک از عوامل

نتایج تحلیل متغیرها بر میانگین قطر نانوالیاف الکتروریسی‌شده هیبریدی در جدول ۴ گزارش شده است. گفتنی است، معتبربودن عامل‌ها با مقدار P (P-value) تخمین زده می‌شود و زمانی که به هر اندازه P < ۰/۰۵ باشد، عامل مدنظر اثر مهم‌تری را بر پاسخ در حال بررسی (قطر) خواهد داشت.

جدول ۴- جدول پاسخ در تحلیل ANOVA برای قطر نمونه‌ها.

Table 4. Response table of ANOVA analysis for the diameter of samples.

Factor		DOF (f)	F-Ratio (F)	Importance percentage (%)	P-Value	Is it significant? (P-Value < 0.05)
A	Blend ratio PVA/CS	2	30.846	38.933	0.031	Yes
B	Blend ratio Gel/PCL	2	21.066	26.175	0.045	Yes
C	Flow rate of PVA/CS	2	23.746	29.672	0.04	Yes



شکل ۵- اهمیت اثر متقابل عوامل بر قطر.

Fig. 5. Interaction severity index (SI) of parameters on the diameter.

اهمیت اثر متقابل عوامل بر قطر

در شکل ۵ اثر متقابل عامل‌های مختلف بر قطر الیاف به‌صورت نمودار ستونی نشان داده شده است همچنان که از شکل مشخص است، اثر متقابل دو عامل نسبت آمیخته‌ای PVA/CS، با سرعت تغذیه دارای بیشترین اهمیت در تعیین قطر الیاف است.

اثر متقابل نسبت‌های آمیخته‌ای PVA/CS و Gel/PCL بر قطر الیاف

شکل ۶ (a) اثر متقابل نسبت‌های آمیخته‌ای PVA/CS و Gel/PCL بر قطر الیاف را در دو بعد نشان می‌دهد. با افزایش درصد وزنی پلی(وینیل الکل) به بیشترین مقدار ۹۰:۱۰ در آمیخته PVA/CS و افزایش مقدار وزنی ژلاتین، به بیشترین مقدار ۸۰:۲۰ در آمیخته Gel/PCL، در ساختار قطر الیاف ۳۰۰ nm تا ۳۵۰ nm نشان داده شده است. شکل ۶ (b) اثر متقابل سرعت تغذیه PVA/CS و نسبت آمیخته‌ای PVA/CS بر قطر الیاف را در دو و سه‌بعد نشان می‌دهد. با افزایش درصد وزنی پلی(وینیل الکل) به بیشترین مقدار ۹۰:۱۰ در آمیخته PVA/CS و کاهش سرعت تغذیه PVA/CS در ساختار قطر الیاف ۳۰۰ nm تا ۳۵۰ nm نشان داده شده است.

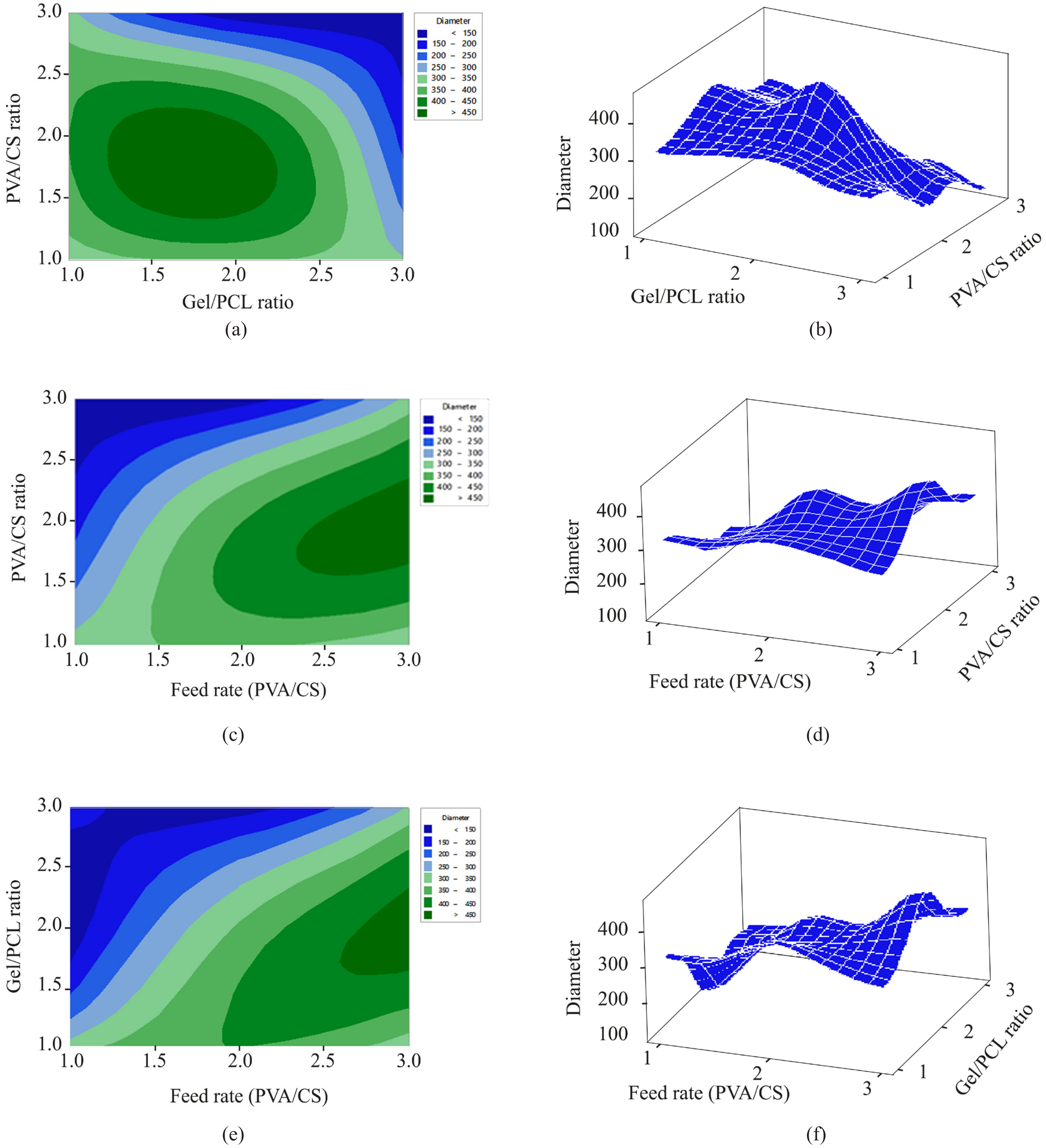
شکل ۶ (c) اثر نسبت آمیخته‌ای Gel/PCL و سرعت تغذیه PVA/CS را بر قطر الیاف در حالت دو و سه‌بعدی نشان می‌دهد. همان‌طور از شکل مشخص است، با افزایش درصد وزنی PCL، به بیشترین مقدار ۸۰:۲۰ در آمیخته Gel/PCL، افزایش سرعت تغذیه PVA/CS به بیشترین مقدار ۱/۵ mL/h در ساختار، قطر الیاف ۴۰۰ nm تا ۳۵۰ nm نشان داده شده است.

بهینه‌سازی

با توجه به خواص منحصربه‌فرد و برجسته کیتوسان و ژلاتین در روند ترمیم زخم و تسریع آن و نیز تأمین خواص مکانیکی لازم به‌کمک پلی‌کاپرولاکتون، تولید نانوالیاف یکنواخت با مقدار بهینه کیتوسان و ژلاتین، قطر با اندازه نانو، سطح مخصوص زیاد، درصد ازدیاد طول، استحکام کششی، مدول و آب‌دوستی مناسب و دارای پایداری در محیط‌های آبی، محصولی با قابلیت‌های بسیار ویژه در زمینه مهندسی بافت پوست و ترمیم زخم‌های دیابتی به‌شمار می‌آید. ژلاتین یک پلیمر پروتئینی با خواص زیستی عالی، زیست‌تخریب‌پذیری مناسب، زیست‌سازگاری زیاد و خواص مشابه کلاژن است و استفاده از آن در کاربردهای ترمیم زخم به‌ویژه در ترمیم زخم‌های دیابتی به اثبات رسیده است [۲۲].

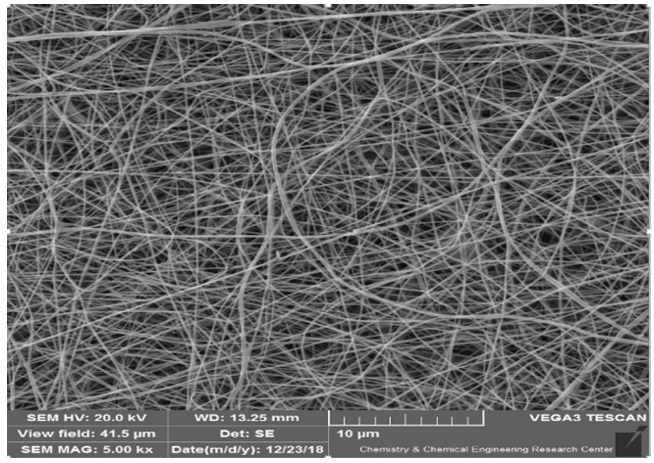
ژلاتین به‌دلیل خواص ذاتی و ویژگی‌های منحصر به‌فرد نانوالیاف الکتروریسی‌شده از آن یکی از مواد ایده‌آل برای مصارف داربست یاخته‌ای مهندسی بافت و زخم‌پوش است [۲۳]. همچنین کیتوسان به‌عنوان پلیمر پلی‌ساکاریدی با خواص چشمگیر در ترمیم زخم بوده و خاصیت ضدباکتریایی آن از عفونت زخم می‌کاهد [۲۴]. از سوی دیگر با کاهش قطر الیاف پلیمری از میکرومتر به نانومتر، خواص منحصر به‌فردی همچون نسبت سطح به حجم بسیار زیاد، انعطاف‌پذیری در سطح عملکردی، تخلخل زیاد و خواص مکانیکی عالی به الیاف بخشیده می‌شود، به‌طوری که گستره کاربردی آن‌ها توسعه می‌یابد. با بررسی‌های انجام‌شده روی نمونه‌های تولیدی مشخص شد، با افزایش کیتوسان و ژلاتین در ترکیب با پلی(وینیل الکل) و پلی‌کاپرولاکتون، مقدار قطر نانوالیاف تولیدی به کمترین مقدار می‌رسد. اما همچنان که در تصاویر SEM نمونه‌ها مشخص است، افزایش مقدار کیتوسان به ۳۰٪ در نسبت ترکیب PVA/CS به تولید الیاف شکسته‌ای منجر می‌شود که در ساختار نانوالیاف تولیدی عیب به‌شمار می‌آید، هر چند که نمونه‌های دارای کیتوسان بیشتر، قطر تولیدی کمتری دارند. بنابراین سعی شد، نمونه بهینه افزون بر داشتن قطر کم شکل‌شناسی مناسبی نیز داشته باشد.

بهترین مقادیر گزارش‌شده برای نسبت ترکیب PVA/CS و Gel/PCL و سرعت تغذیه به‌ترتیب ۷۵:۲۵ و ۸۰:۲۰ و ۱ mL/h گزارش شد. این نمونه افزون بر بهره‌گیری از مقدار زیاد دو پلیمر طبیعی کیتوسان و ژلاتین که خواص زیستی عالی به بستر تولیدشده نهایی می‌بخشد، دارای شکل‌شناسی صاف و بدون دانه است و کمترین قطر را در بین نانوالیاف تولیدی دارد. برای اطمینان از خاصیت تکرارپذیری در نمونه، دوباره نمونه الکتروریسی شده و خواص شکل‌شناسی آن ارزیابی شد. در شکل ۷ تصویر مربوط به شکل‌شناسی این نمونه قابل مشاهده است. مقدار قطر گزارش‌شده برای این نمونه حدود ۱۳۰ nm بود.



شکل۶- نمودارهای دوبعدی و سه‌بعدی اثر متقابل بین: (a) نسبت‌های آمیخته‌ای PVA/CS و Gel/PCL، (b) نسبت‌های آمیخته‌ای PVA/CS و سرعت تغذیه PVA/CS و (c) نسبت‌های آمیخته‌ای Gel/PCL و سرعت تغذیه PVA/CS بر قطر نانوالیاف.

Fig. 6. Two and three dimensional diagrams of assessment about the effect of interaction between: (a) blend ratios of PVA/CS and Gel/PCL, (b) blend ratios of PVA/CS and feed rate of PVA/CS, and (c) blend ratios of Gel/PCL and feed rate of PVA/CS on the diameter of nanofibers.



شکل ۷- عکس‌های SEM نمونه بهینه با مقدار (۸۰:۲۰) Gel/PCL، (۷۵:۲۵) PVA/CS و سرعت تغذیه PVA/CS ۱ mL/h.

Fig. 7. SEM image of optimized sample with Gel/PCL (80:20), PVA/CS (75:25) and feed rate of PVA/CS 1 mL/h.

نتیجه‌گیری

در این مقاله با هدف بهره‌گیری از خواص ذاتی پلی‌ساکاریدی مثل کیتوسان و پروتئینی مثل ژلاتین و نیز پلی‌کاپرولاکتون به‌منظور ایجاد خواص مکانیکی و کششی مناسب، داربست‌های هیبریدی نانولیفی تولید شدند. بدین منظور، PVA/CS از یک نازل و Gel/PCL از نازل دیگر الکتروریسی شده و در نهایت روی جمع‌کننده چرخان جمع‌آوری شدند. اثر سرعت تغذیه PVA/CS (۱، ۱/۵ و ۲ mL/h)، تغییر نسبت آمیخته‌ای PVA/CS (۹۰:۱۰، ۸۰:۲۰ و۷۰:۳۰) و تغییر نسبت PCL/Gel (۲۰:۸۰، ۵۰:۵۰ و ۸۰:۲۰) بر خواص شکل‌شناسی نمونه‌های تهیه‌شده بررسی شد. نتایج مطالعه نشان داد، افزایش مقدار کیتوسان و ژلاتین موجب کاهش قطر نانوالیاف شد و افزایش سرعت تغذیه مقدار قطر نانوالیاف تولیدی را افزایش داد. در نهایت، نانوالیاف با شکل‌شناسی بهینه و کمترین قطر تهیه شدند که قطر نهایی الیاف تهیه‌شده حدود ۱۳۰ nm بود. شایان ذکر است، از الیاف تولیدی با قطر بهینه در ادامه مطالعات می‌توان برای تهیه نانوالیاف برای کاربردهای پزشکی استفاده کرد.

مراجع

1. Sarasam A. and Madihally S.V.J.B., Characterization of Chitosan-Polycaprolactone Blends for Tissue Engineering Applications, *Biomaterials*, **26**, 5500-5508, 2005.
2. Adeli H., Khorasani M.T., and Parvazinia M., Wound Dressing Based on Electrospun PVA/Chitosan/Starch Nanofibrous Mats: Fabrication, Antibacterial and Cytocompatibility Evaluation and In Vitro Healing Assay, *Int. J. Biol. Macromol*., **122**, 238-254, 2019.
3. Gholipour A., Bahrami H., and Nouri M., Chitosan-Poly(vinyl alcohol) Blend Nanofibers: Morphology, Biological and Antimicrobial Properties, *E-Polymer*, **133**, 2009.
4. Heidari M., Bahrami H., and Ranjbar-Mohammadi M., Fabrication, Optimization and Characterization of Electrospun Poly(caprolactone)/Gelatin/Graphene Nanofibrous Mats, *Mater. Sci. Eng. C,* **78**, 218-229, 2017.
5. Heidari M., Bahrami H., Ranjbar-Mohammadi M., and Milan P.B., Smart Electrospun Nanofibers Containing PCL/Gelatin/Graphene Oxide for Application in Nerve Tissue Engineering, *Mater. Sci. Eng. C*, **103**, 109768, 2019.
6. Fallah M., Bahrami S.H., and Ranjbar-Mohammadi M., Fabrication and Characterization of PCL/Gelatin/Curcumin Nanofibers and Their Antibacterial Properties, *J. Ind. Text*., **46**, 562-577, 2016.
7. Ramakrishna S., *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers,* World Scientific, 2005.
8. Mohammadi Y., Soleimani M., Fallahi-Sichani M., Gazmeh A., Haddadi-Asl V., Arefian E., Kiani J., Moradi R., Atashi A., and Ahmadibeigi N., Nanofibrous Poly(ε-caprolactone)/Poly(vinyl alcohol)/Chitosan Hybrid Scaffolds for Bone Tissue Engineering Using Mesenchymal Stem Cells, *Int. J. Artif. Organs*., **30**, 204-211, 2007.
9. Torricelli P., Gioffrè M., Panzavolta A.S., Gualandi C., Fini M., Letizi M., and Bigic A., Co-electrospun Gelatin-Poly(L-lactic acid) Scaffolds: Modulation of Mechanical Properties and Chondrocyte Response as a Function of Composition, *Mater. Sci. Eng. C*, **36**, 130-138, 2014.
10. Ranjbar-Mohammadi M., Shakoori P., and Arab-Bafrani Z., Design and Characterization of Keratin/PVA-PLA Nanofibers

Containing Hybrids of Nanofibrillated Chitosan/ZnO Nanoparticles, *Int. J. Biol. Macromol.*, **187**, 554-565, 2021.

11. Baghersad S., Bahrami H., Ranjbar Mohammadi M., and Mojtahedi M.R., Development of Biodegradable Electrospun Gelatin/Aloe-Vera/Poly(ε-caprolactone) Hybrid Nanofibrous Scaffold for Application as Skin Substitutes, *Mater. Sci. Eng. C*, **93**, 367-379, 2018.
12. Zarekhalili Z., Bahrami H., Ranjbar-Mohammadi M., and Milan P.B., Fabrication and Characterization of PVA/Gum Tragacanth/PCL Hybrid Nanofibrous Scaffolds for Skin Substitutes, *Int. J. Biol. Macromol.*, **94**, 679-690, 2017.
13. Paipitak K., Pornpra T., Mongkontalang P., Techitdheer W., and Pecharapa W., Characterization of PVA-Chitosan Nanofibers Prepared by Electrospinning, *Procedia Eng.*, **8**, 101-105, 2011.
14. Arun A., Malrautu P., Laha A., and Ramakrishna S., Gelatin Nanofibers in Drug Delivery Systems and Tissue Engineering, *Eng. Sci.*, **16**, 71-81, 2021.
15. Koosha M. and H. Mirzadeh, Electrospinning, Mechanical Properties, and Cell Behavior Study of Chitosan/PVA Nanofibers, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **103**, 3081-3093, 2015.
16. Esmizadeh E., Ghasemi N., Ghoreishi M.H.R., and Bakhshandeh G.R., Optimal Parameter Design by Taguchi Method for Mechanical Properties of NBR/PVC Nanocomposites, *Iran. Polym. J.*, 20, 2011.
17. Khoei A., Masters I., and Gethin D., Design Optimisation of Aluminium Recycling Processes Using Taguchi Technique, *J. Mater. Process. Technol.*, **127**, 96-106, 2002.
18. Al-Refaie A., Al-Durgham L., and Bata N., Optimal Parameter Design by Regression Technique and Grey Relational Analysis, *Proceedings of the World Congress on Engineering*, London, UK, June 30-July 2, 2010.
19. Singh H., Taguchi Optimization of Process Parameters: A Review and Case Study, *Int. J. Adv. Eng. Res. Sci.*, **1**, 39-41, 2012.
20. Celep G.K. and Dincer K., Optimization of Parameters for Electrospinning of Polyacrylonitrile Nanofibers by the Taguchi Method, *Int. Polym. Process*, **32**, 508-514, 2017.
21. Nezadi M., Keshvari H., and Yousefzadeh M., Using Taguchi Design of Experiments for the Optimization of Electrospun Thermoplastic Polyurethane Scaffolds, *Adv. Nano Res.,* **10**, 59-69, 2021.
22. Inal M. and G. Mülazımoğlu, Production and Characterization of Bactericidal Wound Dressing Material Based on Gelatin Nanofiber, *Int. J. Biol. Macromol.,* **137**, 392-404, 2019.
23. Li T., Sun M., and Wu S., State-of-the-Art Review of Electrospun Gelatin-Based Nanofiber Dressings for Wound Healing Applications, *Nanomaterials*, **12**, 784, 2022.
24. Cui C., Sun S., Wu S., Chen S., Ma J., and Zh F., Electrospun Chitosan Nanofibers for Wound Healing Application, *Eng. Reg.*, **2**, 82-90, 2021.