

## Studies on Sulfate Groups Substitution on Sodium Sulfated Alginate Electrospinning

Mahdokht Akbari Taemeh<sup>1</sup>, Hamed Daemi<sup>1\*</sup>, Ayoub Shiravandi<sup>1</sup>,  
Maryam Mashayekhi<sup>2</sup>

1. Department of Cell Engineering, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, Postal Code 1665659911, Tehran, Iran

2. Zharfandishan Fanavar Zistbaspar (ZFZ) Chemical Company, Biomaterials Group, Postal Code 1417755362, Tehran, Iran

Received: 17 May 2022, accepted: 9 November 2022

### ABSTRACT

**Hypothesis:** Due to the presence of intra- and inter molecular hydrogen bonding in alginate chemical structure, its electrospinning capability is weak. However, this weakness can be improved through substitution of hydroxyl groups by sulfate groups. This article focuses on the role of degree of substitution of sulfate groups on the physicochemical properties of electrospinning solutions, such as viscosity, electrical conductivity and electrospinning conditions.

**Methods:** Sodium sulfated alginate (SSA) was synthesized through the reaction of sodium alginate and chlorosulfonic acid in formamide as the solvent. The amount of chlorosulfonic acid was varied in order to obtain the SSA samples with different degrees of substitution. The chemical structures of neat alginate and SSA were studied by FTIR and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. Degree of sulfation of samples was measured using CHNS elemental analysis, and the electrical conductivity and viscosity of SSA solutions were measured. The SSA nanofibers were fabricated using electrospinning and further crosslinked by a solution of calcium chloride to improve its hydrolytic stability. Finally, the fiber diameter and mechanical properties of the nanofibrous mat were studied by SEM and a tensile mechanical machine.

**Findings:** Both FTIR and <sup>1</sup>H NMR analyses have confirmed the formation of sulfate groups in SSA structure. Based on elemental analysis, the degree of substitution (DS) of SSA samples has been measured as 0.9 and 0.5 for SSA1 and SSA0.5, respectively. The electrical conductivity and viscosity of the SSA solutions also increased and decreased by increasing DS, respectively. The SSA1 sample showed better electrospinning capability and higher SSA content in dry electrospun mat compared to those in SSA0.5 sample. Finally, the crosslinked SSA1 mat revealed a lower mechanical strength compared to SSA0.5 mat due to lower crosslink density and higher chain scission of polymeric chains resulted from sulfation reaction.

#### Keywords:

sodium sulfated alginate,  
electrospinning,  
degree of substitution,  
electrical conductivity,  
hydrogen bonding

(\*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: [h.daemi@royaninstitute.org](mailto:h.daemi@royaninstitute.org)

#### Please cite this article using:

Akbari Taemeh M., Daemi H., Shiravandi A., Mashayekhi M., Studies on Sulfate Groups Substitution on Alginate Sulfate Electrospinning, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, 35, 215-231, 2022.

# بررسی جانمایی گروه‌های سولفات بر الکتروسی سدیم آلژینات سولفات دار شده

دسترس پذیر در نشانی: <http://jips.ippi.ac.ir>

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،

سال سی و پنجم، شماره ۳.

صفحه ۲۳۱-۲۱۵، ۱۴۰۱

ISSN: 1016-3255

Online ISSN: 2008-0883

DOI: 10.22063/JIPST.2022.3168.2155

ماهدخت اکبری طائمه<sup>۱</sup>، حامد دائمی<sup>۱\*</sup>، ایوب شیراوندی<sup>۱</sup>، مریم مشایخی<sup>۲</sup>

۱- تهران، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم

سلولی، گروه مهندسی سلول، کد پستی ۱۶۶۵۶۵۹۹۱۱

۲- تهران، شرکت مواد شیمیایی ژرفاندیشان فناور زیست‌بسپار، گروه زیست‌مواد، کد پستی ۱۴۱۷۷۵۵۳۶۲

دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۷، پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۱۸

## چکیده

**فرضیه:** پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی در ساختار آلژینات، علت اصلی قابلیت الکتروسی سدیم ضعیف آن است. جانمایی گروه‌های هیدروکسیل با گروه‌های سولفات، روش مطلوبی برای بهبود الکتروسی سدیم آلژینات است. در این پژوهش، اثر درجه جانمایی گروه‌های سولفات بر خواص فیزیکی و شیمیایی محلول‌های الکتروسی مانند گران‌روی و رسانندگی الکتریکی محلول و شرایط الکتروسی بررسی شده است

**روش‌ها:** سدیم آلژینات سولفات‌دار شده (SSA) از واکنش سدیم آلژینات و کلروسولفونیک اسید در حلال فرمامید تهیه شد. به‌منظور دستیابی به درجه‌های جانمایی متفاوت از گروه‌های سولفات، مقدار کلروسولفونیک اسید تغییر داده شد. ساختار شیمیایی آلژینات پیش و پس از فرایند اصلاح شیمیایی با روش‌های طیف‌نمایی FTIR و <sup>1</sup>H NMR بررسی شد. درجه سولفات نمونه‌ها با تجزیه عنصری CHNS اندازه‌گیری شد. سپس، مقدار رسانندگی الکتریکی و گران‌روی محلول‌های آبی سدیم آلژینات سولفات‌دار شده اندازه‌گیری شد. نانوالیاف سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با فرایند الکتروسی به‌دست آمد و با هدف بهبود پایداری آب‌کافتی با محلول کلسیم کلرید شبکه‌ای شد. در نهایت، قطر نانوالیاف و خواص مکانیکی نمد نانولیفی به‌ترتیب با آزمون‌های SEM و کشش بررسی شد.

**یافته‌ها:** آزمون‌های FTIR و <sup>1</sup>H NMR تشکیل گروه‌های سولفات را در ساختار سدیم آلژینات سولفات‌دار شده تأیید کرد. تجزیه عنصری نمونه‌ها، درجه جانمایی نمونه‌های SSA1 و SSA0.5 را به‌ترتیب ۰/۹ و ۰/۵ نشان داد. رسانندگی الکتریکی و گران‌روی محلول SSA با افزایش درجه جانمایی به‌ترتیب افزایش و کاهش یافت. نمونه SSA1 نسبت به نمونه SSA0.5 الکتروسی بهتری داشت و درصد سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در نمد ریسیده شده بیشتر بود. استحکام مکانیکی نمونه دارای SSA1 در حالت شبکه‌ای شده کمتر از نمونه دارای SSA0.5 است که دلیل آن را می‌توان به چگالی اتصال عرضی کمتر SSA1 با کاتیون کلسیم و شکست بیشتر زنجیرهای پلیمر در فرایند سولفات‌دار شدن نسبت داد.

\* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

[h.daemi@royaninstitute.org](mailto:h.daemi@royaninstitute.org)

## واژه‌های کلیدی

سدیم آلژینات سولفات‌دار شده،

الکتروسی،

درجه جانمایی،

رسانندگی الکتریکی،

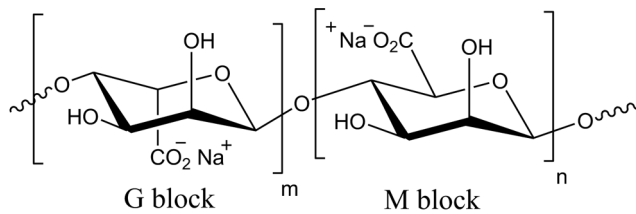
پیوند هیدروژنی

## مقدمه

پلیمرهای طبیعی امروزه به دلیل ویژگی‌های ساختاری و کاربردی منحصر به فرد در صنایع مختلف از جمله صنایع پزشکی و دارویی، کاتالیزی، غشا و تصفیه و زیست‌فناوری به کار گرفته می‌شوند [۱،۲]. این مواد زمانی که به صورت الیاف در مقیاس نانومتر فراوری یا ساخته می‌شوند، به دلیل نسبت زیاد سطح به حجم، ویژگی‌های جدیدی نشان می‌دهند. الکتروپرسی، یکی از روش‌های مرسوم در ساخت نانوالیاف پلیمری است که به دلایل قابلیت تولید الیاف همگن با اندازه و تخلخل قابل کنترل، سادگی روش و در دسترس بودن نسبت به سایر روش‌های موجود برای ساخت نانوالیاف مانند روش‌های خودگردایش و جدایی فاز بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [۳،۴]. نانوالیاف حاصل از پلیمرهای طبیعی خواص مطلوبی مانند زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و چسبندگی یاخته‌ای دارند. از این رو، می‌توان کاربردهای پزشکی بی‌شماری برای آن‌ها در نظر گرفت [۵،۶]. آلژینات، کیتوسان، سلولوز و ژلاتین از مهم‌ترین پلیمرهای طبیعی هستند که کاربردهای آن‌ها به صورت نانوالیاف مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است [۷،۸].

آلژینات به گروهی از پلی‌ساکاریدهای دارای بار الکتریکی منفی گفته می‌شود که توسط جلبک‌های قهوه‌ای و باکتری‌ها ساخته می‌شوند [۹]. ساختار شیمیایی آلژینات به صورت الگوی قطعه‌ای تصادفی از قطعه‌های پلی‌مانورونیک اسید و پلی‌گلوکرونیک اسید در نظر گرفته می‌شود (شکل ۱) [۱۰]. این ماده به دلیل داشتن گروه‌های عاملی هیدروکسیل و کربوکسیل و قابلیت ایجاد پیوندهای هیدروژنی، محلول‌های آبی با گرانروی زیاد ایجاد می‌کند [۱۱،۱۲]. از این رو، آلژینات معمولاً به عنوان عامل افزایش‌دهنده گرانروی در صنایع نساجی و غذایی استفاده می‌شود [۱۳-۱۵]. همچنین این ماده به دلیل تشکیل ساختارهای هیدروژلی در نتیجه برهم‌کنش سریع زنجیرهای آلژیناتی با کاتیون‌های فلزات قلیایی خاکی، کاتیون‌های چندظرفیتی و تبادل سریع پروتون در محیط اسیدی به ترتیب در مهندسی بافت‌های پوست، عصب، غضروف و قلب و به عنوان داروی ضد فلاکس معده استفاده شده است [۱۶-۱۸]. دسترسی آسان، هزینه کم تولید، زیست‌سازگاری مناسب و ایمنی‌زایی بسیار کم، آلژینات را به ماده مطلوبی برای کاربردهای مختلف پزشکی تبدیل کرده است [۱۹].

کمپلکس‌های آلژینات مانند کلسیم آلژینات و روی آلژینات به دلیل قابلیت جذب مقادیر زیادی ترشحات زخم، کمک به روند انعقاد خون، برداشت آسان از روی زخم، افزایش سرعت مهاجرت یاخته‌های فیروبلست و کراتینوسیت و داشتن ویژگی ضدباکتری به عنوان یکی از مهم‌ترین زخم‌پوش‌های پیشرفته پلیمری در دنیای



شکل ۱- ساختار شیمیایی نمک سدیم آلژینات.

Fig. 1. Chemical structure of sodium alginate salt.

امروز شناخته می‌شوند [۲۵-۲۰]. این زخم‌پوش‌ها معمولاً با روش ترپرسی ساخته می‌شوند که به ساخت الیافی با قطر حدود  $10 \mu\text{m}$  منجر می‌شود، [۲۶،۲۷]. اگرچه ترپرسی روشی صنعتی و پرکاربرد برای تولید الیاف با استفاده پزشکی به شمار می‌آید [۲۸]، اما این روش به تجهیزات متعدد و گران‌قیمت نیاز دارد و به دلیل به‌کارگیری خشک‌کن گرمایی در عمل امکان استفاده از پروتئین‌ها و عوامل زیست‌فعال حساس به گرما در فرمول‌بندی میکروالیاف وجود ندارد. همچنین، الیاف میکرومتری حاصل از این روش به دلیل نسبت بسیار کمتر سطح به حجم در مقایسه با نانوالیاف، قابلیت جذب مقادیر کمتری از ترشحات را از محل زخم دارند [۲۹]. افزون بر این، میکروالیاف آلژینات اندازه بزرگ‌تری نسبت به الیاف کلاژن و الاستین موجود در ماده برون‌یاخته‌ای (extra cellular material, ECM) بافت پوست دارند و تقلید مناسبی از شرایط واقعی درون‌تنی را فراهم نمی‌آورند، در صورتی که آلژینات به صورت نانوالیاف مشابهت بسیار بیشتری به ECM طبیعی بافت پوست دارد [۳۰]. از این رو، ساخت و استفاده از نانوالیاف آلژینات می‌تواند اثر بسزایی در افزایش کارآمدی آلژینات برای کاربردهای پزشکی داشته باشد [۳۱]. همچنین ترکیب مواد زیست‌فعال نظیر پروتئین‌ها و فاکتورهای رشد با نانوالیاف آلژینات، امکان کاربردهای جدیدتر و کارآمدتر از این مواد را فراهم می‌سازد. با توجه به مطالب یادشده و نیز پیشرفت‌های صورت‌گرفته در حوزه مهندسی بافت، الکتروپرسی آلژینات در یک دهه اخیر بسیار مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است [۳۲،۳۳].

در روش الکتروپرسی، میدان الکتریکی قوی بین جمع‌کننده و محلول یا مذاب پلیمری در نتیجه اعمال اختلاف پتانسیل بیشتر از سر سوزن سرنگ به سمت جمع‌کننده رسانا برقرار می‌شود. این میدان الکتریکی، نیرویی را به مولکول‌های پلیمر وارد می‌کند که در سر سرنگ قرار گرفته‌اند و با اعمال اختلاف پتانسیل دارای بار الکتریکی شده‌اند [۳۴]. در اختلاف پتانسیل بحرانی، نیروی حاصل از میدان الکتریکی به کشش سطحی پلیمر غلبه می‌کند و پلیمر موجود در سرنگ پس از تشکیل مخروط در انتهای سرنگ، به شکل جت به

سولفات، نه تنها الکتروسی آلزینات بدون استفاده از مواد سمی نظیر ترکیبات فعال سطحی به آسانی انجام می‌شود، بلکه نسبت آلزینات به پلیمر کمکی پلی(وینیل الکل) در نمد نانولیفی می‌تواند از ۱۰٪ وزنی تا ۵۰٪ وزنی افزایش یابد. این اصلاح شیمیایی بدین دلیل می‌تواند مهم باشد که وجود گروه‌های سولفات در ساختار شیمیایی پلی‌ساکاریدهای سولفات‌دار باعث بهبود فعالیت‌های زیستی آن مواد می‌شود [۴۱]. در این باره گزارش‌های محدودی وجود دارد که نشان می‌دهد، سولفات‌دار کردن برخی پلی‌ساکاریدها می‌تواند موجب بهبود الکتروسی آن‌ها شود. اگرچه در این مقالات ممکن است، به‌وضوح به کاهش پیوندهای هیدروژنی در اثر سولفات‌دار کردن پلیمر و بهبود قابلیت الکتروسی پلیمر به‌عنوان مهم‌ترین عامل دشواری الکتروسی اشاره نشده باشد، اما نتیجه نهایی واکنش سولفات‌دار کردن آن‌ها، افزایش انحلال‌پذیری آلزینات پس از فرایند سولفات‌دار شدن و بهبود الکتروسی آن‌هاست. به‌عنوان مثال، اخیراً همین گروه نشان داد، ماده سدیم آلزینات سولفات‌دار شده می‌تواند با استفاده از کمپلکس حاصل از دو ترکیب سدیم نیتريت و سدیم بی‌سولفیت به عامل سولفات‌کننده، تهیه شود و همراه با پلی(وینیل الکل) الکتروسی شده تا به‌عنوان بستر مناسبی برای تمایز یاخته‌های بنیادی مزانشیمی به یاخته‌های غضروفی استفاده شود. از نانوالیاف حاصل از دو پلیمر پلی(وینیل الکل) و سدیم آلزینات سولفات‌دار شده نیز می‌توان برای تمایز یاخته‌های بنیادی مغز استخوان به یاخته‌های عصبی استفاده کرد [۴۲، ۴۳]. از سوی دیگر، پژوهش‌های اخیر نشان داده است، سدیم آلزینات سولفات‌دار شده قابلیت بارگذاری برخی مولکول‌های زیستی با نام فاکتورهای رشد و آلاینده‌های رنگی را دارد [۴۴]. از این‌رو می‌توان انتظار داشت، سدیم آلزینات سولفات‌دار شده در بستر نانولیفی بتواند به‌عنوان حامل نانومتری در سامانه‌های دارورسانی و نیز به‌عنوان صافی برای جذب ترکیبات مضر استفاده شود.

نتایج پژوهش پیشین نشان داد، وجود گروه‌های سولفات در ساختار شیمیایی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده می‌تواند انحلال‌پذیری و الکتروسی این ماده را بهبود بخشد. با وجود این، اثر مقدار درجه جانشینی بر خواص رئولوژی محلول الکتروسی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده و نحوه الکتروسی آن و نیز اثر حلال واکنش به‌عنوان یکی از متغیرهای مهم بر روند سنتز این ماده تاکنون بررسی نشده است. از این‌رو، در پژوهش حاضر اثر حلال بر انجام‌پذیری واکنش سولفات‌دار کردن آلزینات و نیز اثر درجه جانشینی گروه‌های سولفات بر خواص فیزیکی و شیمیایی محلول‌های الکتروسی مانند گران‌روی و رسانندگی الکتریکی محلول و شرایط الکتروسی بررسی شده است.

سمت جمع‌کننده روانه می‌شود [۳۵]. ایجاد تخلخل ریز و کنترل‌پذیر در این روش می‌تواند به ساخت نمدهای نانولیفی منجر شود که شرایط مطلوب برای تبادل رطوبت و اکسیژن را فراهم می‌کند و از ورود میکروارگانیسم‌ها نیز جلوگیری می‌کنند. از این‌رو، نمدهای نانولیفی آلزینات که با روش الکتروسی ساخته می‌شوند، می‌توانند برای تولید زخم‌پوش‌های پیشرفته پلیمری و نیز در زمینه دارورسانی استفاده شوند [۴۰-۳۶].

بیشتر پژوهش‌هایی که درباره تولید نانوالیاف آلزینات گزارش شده مربوط به دهه اخیر است. این پژوهش‌ها نشان می‌دهد تا به امروز الکتروسی آلزینات به‌صورت تک‌جزئی و موفقیت‌آمیز انجام نشده است. اگرچه مطالعات اولیه ماهیت پلی‌الکترولیت آلزینات را عامل اصلی الکتروسی ضعیف آن می‌دانستند، امروزه علت اصلی عدم الکتروسی آلزینات، وجود پیوندهای هیدروژنی گسترده در ساختار آلزینات توصیف شده است که مانع تشکیل یاف یکدست و پیوسته می‌شود. از این‌رو، مسئله اصلی در الکتروسی این پلیمر، چگونگی کاهش این پیوندهای هیدروژنی و دستیابی به گره‌خوردگی مناسب در محلول است. برای ساخت نانوالیاف آلزینات باید از ترکیب آن با سایر موادی استفاده شود که فرایندپذیری مناسبی دارند [۳۲]. پلی(اتیلن اکسید) و پلی(وینیل الکل) از کمک‌فرایندهای پرمصرفی هستند که به‌واسطه هزینه مناسب، قابلیت الکتروسی مطلوب و ویژگی‌های زیست‌پزشکی مناسب در سال‌های اخیر به‌شدت مورد توجه قرار گرفته‌اند. این پلیمرها دارای گروه‌های هیدروکسیل هستند که به‌واسطه ایجاد پیوند هیدروژنی با گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل آلزینات می‌توانند آمیزه‌ای پایدار در محلول آبی ایجاد کنند. نکته مورد توجه درباره آمیزه‌های این دو ماده در حالت محلولی، تغییر شرایط فیزیکی محلول از جمله گران‌روی و کشش سطحی است که به‌واسطه این تغییرات، الکتروسی آلزینات در کنار ماده دیگر ممکن می‌شود. با وجود این، مقدار آلزینات در نمد نانولیفی خشک در بیشتر این روش‌ها به کمتر از ۱۰٪ وزنی می‌رسد. استفاده از مواد فعال سطحی و افزایش گران‌روی محلول آلزینات با استفاده از حلال‌های قطبی دارای پروتون مانند گلیسرول از سایر راهکارهای بهبود الکتروسی و افزایش مقدار آلزینات در نانوالیاف نهایی است. اگرچه باقی‌ماندن این مواد در نانوالیاف می‌تواند کاربرد زیست‌پزشکی آن‌ها را محدود کند، زیرا بیشتر این مواد موجب آسیب یا مرگ یاخته‌ها می‌شوند [۳۲].

اخیراً در پژوهشی برای نخستین بار نشان داده شد، با کاهش چگالی پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی و درون‌مولکولی در ساختار شیمیایی آلزینات به‌وسیله تبدیل گروه‌های هیدروکسیل به گروه‌های

## تجربی

## مواد

به منظور اصلاح شیمیایی آلزینات با گروه‌های سولفات و سپس الکتروریسی آن از نمک سدیم آلزینات با وزن مولکولی زیاد ( $200000-120000$  g/mol) محصول Sigma-Aldrich استفاده شد. از پلی(وینیل الکل) (PVA) (با وزن مولکولی  $98000-89000$  g/mol) و کلروسولفونیک اسید هر دو محصول Sigma به ترتیب به عنوان پلیمر کمکی و عامل ایجاد گروه‌های سولفات در ساختار شیمیایی آلزینات استفاده شد. فرمامید، N,N-دی‌متیل فرمامید، دی‌متیل سولفوکسید، استون، سدیم هیدروکسید و سایر مواد شیمیایی لازم از شرکت Merck تهیه شدند. به منظور خالص‌سازی پلیمرهای سنتز شده نیز از کیسه دیالیز با مشخصه Cut off برابر  $12000$  kDa استفاده شد. برای بررسی مقدار ویژگی یاخته‌سازگاری داربست‌های الکتروریسی شده از کیت سنجش سمیت یاخته‌ای MTT (شرکت ژرف‌اندیشان فناور زیست‌بسیار، ZFZ) استفاده شد.

## دستگاه‌ها و روش‌ها

## تهیه سدیم آلزینات سولفات‌دار شده با استفاده از کلروسولفونیک اسید

در این روش برای تهیه سدیم آلزینات سولفات‌دار شده ابتدا مقدار  $1/1$  g سدیم آلزینات در  $30$  mL فرمامید پخش شد. سپس، مقادیر معینی از ترکیب کلروسولفونیک اسید به  $10$  mL حلال فرمامید افزوده شد. محلول حاصل به مخلوط آلزینات اضافه شده و واکنش در دمای  $60^\circ\text{C}$  به مدت  $4$  h روی همزن انجام شد. پس از تکمیل واکنش، محصول آلزینات با  $30$  mL استون رسوب داده شد. سپس، محصول آلزینات سولفوریک اسید در آب پخش شده و با استفاده از محلول سدیم هیدروکسید خنثی شد. محلول حاصل به مدت  $2$  روز با استفاده از کیسه دیالیز و حلال آب خالص‌سازی شد. سپس، محلول حاصل درون خشک‌کن انجمادی قرار گرفت تا پودر سدیم آلزینات سولفات‌دار شده خشک و خالص حاصل شود. درصد وزنی کلروسولفونیک اسید به فرمامید به منظور سنتز سدیم آلزینات سولفات‌دار شده با دو درجه جانمایی (DS)  $0/5$  و  $1$  به ترتیب  $2$  و  $3\%$  وزنی انتخاب شد.

## بررسی اثر حلال بر واکنش سولفات‌دار کردن آلزینات

به منظور بررسی اثر حلال بر واکنش سولفات‌دار کردن آلزینات، از سه حلال قطبی مختلف شامل حلال پروتون‌دار فرمامید و حلال‌های بی پروتون N,N-دی‌متیل فرمامید و دی‌متیل سولفوکسید استفاده شد. بدین منظور، ابتدا مقدار  $1/1$  g سدیم آلزینات جداگانه در  $40$  mL از هر یک از محلول‌های یاد شده پخش شد. سپس، مقدار یکسان از

ترکیب کلروسولفونیک اسید به مخلوط‌های قبلی اضافه شد و واکنش در دمای  $60^\circ\text{C}$  به مدت  $4$  h روی همزن انجام شد. گفتنی است، پس از اتمام زمان واکنش با توجه به حل‌ناپذیری پودر موجود در حلال‌های N,N-دی‌متیل فرمامید و دی‌متیل سولفوکسید، از استون به عنوان ضدحلال استفاده نشد و پودر موجود پس از فرایند انحلال در آب، دیالیز و خشک‌کاشی، با آزمون تجزیه عنصری بررسی شد.

## الکتروریسی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده-پلی(وینیل الکل)

به منظور الکتروریسی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده، محلول الکتروریسی از ترکیب محلول آبی پلی(وینیل الکل) ( $10\%$  وزنی) و سدیم آلزینات سولفات‌دار شده ( $5\%$  وزنی) استفاده شد. پس از تهیه محلول‌های آبی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده و پلی(وینیل الکل) به طور جداگانه، این محلول‌ها به مدت حدود  $1$  h با هم ترکیب شدند. در این پژوهش، محلول‌های الکتروریسی PVA/SSA با نسبت وزنی  $30/70$  با هر دو درجه سدیم آلزینات سولفات‌دار شده تهیه شدند. برای الکتروریسی این مواد از سرنگ  $10$  mL با سوزن  $19$ -gauge و سرعت جریان  $1$  mL/h استفاده شد. اختلاف پتانسیل و فاصله سر سوزن تا جمع‌کننده نیز به ترتیب  $26$  kV و  $13$  cm انتخاب شد.

## طیف‌نمایی زیرقرمز تبدیل فوری

برای شناسایی گروه‌های عاملی موجود در ساختار شیمیایی نمونه‌های تهیه شده از طیف‌سنج FTIR مدل Equinox 55، ساخت شرکت Bruker استفاده شد. بدین منظور، مقدار کمی از نمونه آلزینات یا سدیم آلزینات سولفات‌دار شده با مقادیر مناسبی از پودر KBr مخلوط شد و قرص نمونه تهیه شده داخل دستگاه قرار گرفت تا طیف مربوط به آن ثبت شود.

## طیف‌نمایی رزونانس مغناطیسی هسته

شناسایی گروه‌های عاملی تشکیل شده حین واکنش اصلاح آلزینات و تأیید ساختار پیشنهادی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده تهیه شده به کمک روش طیف‌نمایی رزونانس مغناطیسی هسته پروتون ( $^1\text{H NMR}$ ) مدل Avance 500 MHz ساخت شرکت Bruker انجام شد. بدین منظور، مقدار مشخصی از پلیمر تهیه شده در حلال آب دوتریم‌دار حل و با آزمون NMR بررسی شد.

## تجزیه عنصری

طی فرایند تجزیه عنصری، نمونه شیمیایی به عنصرهای تشکیل‌دهنده آن تبدیل می‌شود که روشی برگشت‌ناپذیر و تخریبی است. در این

### بررسی مقدار یاخته‌سازی با روش MTT

برای اطمینان از مقدار سازگاری داربست‌های الکتروسی شده با یاخته‌های فیبروبلاست، از آزمون سمیت یاخته‌ای استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها سترون شدند. سپس، ۲۴ h در الکل ۷۰٪ و پس از آن ۲۴ h در محلول بافر نمکی فسفات قرار داده شدند. برای اطمینان اولیه از آلوده‌نبودن داربست‌ها، نمونه‌ها به مدت ۲۴ h در محیط کشت سرم‌دار قرار گرفتند. در این روش ابتدا باید از ترکیبات مدنظر عصاره گرفته شود. فرایند عصاره‌گیری بر اساس استاندارد ISO-10993-5 انجام شد که طی آن به هر نمونه با سطح مقطع  $3/5 \pm 0/5 \text{ cm}^2$  مقدار ۱ mm محیط کشت افزوده شد. مقدار مشخصی محیط کشت نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. شرایط محیط عصاره‌گیری تا حد امکان مشابه با شرایط محیط بدن، در دمای  $37^\circ\text{C}$ ، pH خنثی و در بازه زمانی ۱، ۳ و ۷ روز انتخاب شد.

در این آزمون از یاخته‌های فیبروبلاست پوست انسانی در پاساژ ۲ تا ۴ تهیه شده از بانک یاخته‌ای رویان استفاده شد. بدین منظور از محیط کشت DMEM/F12 به همراه ۱۰٪ FBS و مکمل‌های L-گلوتامین و آنتی‌بیوتیک استفاده شد. نمونه‌ها به همراه کنترل منفی که سه خانه از ظرف کشت یاخته با جنس پلی‌استیرین بود، به مدت ۲۴ h در تماس با محیط کشت دارای یاخته‌های مزبور قرار گرفتند. ظرف کشت یاخته ۲۴ چاهکی در طول این مدت درون گرم‌خانه  $37^\circ\text{C}$  و ۵٪  $\text{CO}_2$  نگهداری شد. برای بررسی مقدار یاخته‌سازی داربست‌های الکتروسی شده، از آزمون MTT مطابق با دستورکار شرکت سازنده کیت استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا  $1 \times 10^4$  یاخته درون ظرف کشت یاخته ۹۶ چاهکی ریخته شد و سپس به مدت ۲۴ h درون گرم‌خانه  $37^\circ\text{C}$  قرار گرفت تا یاخته‌ها به کف ظرف بچسبند. عصاره گرفته شده از هر نمونه به هر چاهک افزوده شد و یاخته‌ها به مدت ۲۴ h دیگر در مجاورت با این نمونه‌ها قرار گرفتند. سپس، نمونه‌ها از محیط کشت خارج شده و محلول MTT به هر چاهک اضافه شد و در تاریکی در دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت ۴ h نگهداری شدند. پس از آن، مقدار غلظت رنگ بنفش ایجاد شده در طول موج ۵۷۰ nm محاسبه شد. چاهک دارای یاخته زنده بیشتر، چگالی نوری بیشتری را نسبت به چاهک با یاخته زنده کمتر نشان می‌دهد. ظرف دارای یاخته و محیط کشت بدون عصاره مواد پلیمری به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. مقدار زنده‌مانی یاخته‌ها از معادله (۲) محاسبه شد:

$$\text{Viability (\%)} = (\text{mean OD}_{\text{sample}} / \text{mean OD}_{\text{ctrl}}) \times 100 \quad (2)$$

در این معادله،  $\text{OD}_{\text{sample}}$  و  $\text{OD}_{\text{ctrl}}$  به ترتیب چگالی نوری نمونه ارزیابی شده و گروه کنترل هستند.

بررسی نمونه سوزانده شده و نوع عنصرهای تشکیل‌دهنده ماده و نیز مقدار آن‌ها به صورت کمی تعیین می‌شود. سدیم آلزینات سولفات‌دار شده پس از تهیه، برای بررسی مقدار درصد سولفات با این آزمون بررسی شده و مقدار عناصر نیتروژن، کربن، هیدروژن و گوگرد آن تعیین شد. این آزمون با دستگاه تجزیه عنصری مدل ECS 4010 CHNSO ساخت شرکت Costech Analytical Technologies انجام شد. در ادامه، با استفاده از درصد گوگرد به دست آمده از تجزیه عنصری و انطباق آن با نمودار استاندارد و به کمک معادله (۱) درجه سولفات هر نمونه محاسبه شد [۴۵]:

$$DS = \frac{198[S]}{(3200 - 102[S])} \quad (1)$$

در این معادله، [S] درصد وزنی گوگرد در سدیم آلزینات سولفات‌دار شده است.

### گران‌روی

به منظور بررسی اثر درجه سولفات بر مقدار سیالیت نمونه‌های سدیم آلزینات سولفات‌دار شده، گران‌روی محلول‌های پلیمری بررسی شد. بدین منظور، گران‌روی سنج Brookfield مدل DV-II+Pro، ساخت شرکت Brookfield Engineering به کار گرفته شد. اثر درجه سولفات بر مقدار رسانندگی الکتریکی نمونه‌های سدیم آلزینات سولفات‌دار شده با سنجش رسانندگی الکتریکی محلول‌های پلیمری بررسی شد. بدین منظور از رسانش سنج الکتریکی مدل CCMD510 ساخت شرکت Che Scientific استفاده شد.

### میکروسکوپی الکترونی پویشی

شکل‌شناسی نمونه‌های الکتروسی شده پیش و پس از فرایند شبکه‌ای شدن با کاتیون کلسیم با میکروسکوپ الکترونی پویشی مدل Vega ساخت شرکت Tescan مطالعه شد. اندازه‌گیری قطر الیاف با نرم‌افزار Image J انجام شد.

### خواص مکانیکی

خواص مکانیکی نمدهای نانولیفی در هر دو حالت شبکه‌ای نشده و شبکه‌ای شده با آزمون کشش مکانیکی به کمک دستگاه STM-20 ساخت شرکت ایرانی ستنام بررسی شد. آزمون کشش روی نمونه‌های نواری با اندازه‌های  $1 \times 3 \text{ cm}$  و ضخامت حدود  $50 \mu\text{m}$  در دمای محیط و با سرعت ثابت  $1 \text{ mm/min}$  انجام شد.

## نتایج و بحث

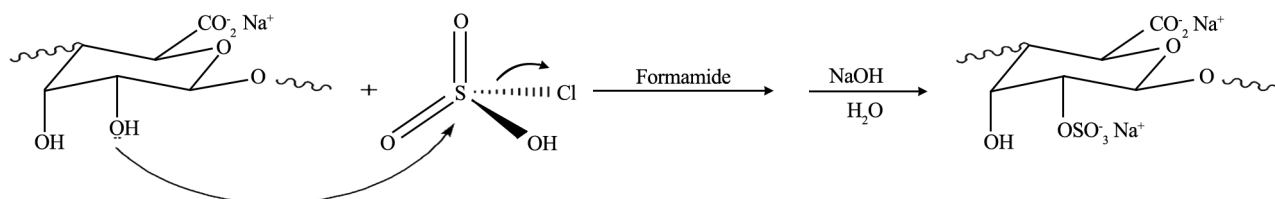
در نتیجه، اتم گوگرد به‌عنوان مرکزی با بار جزئی مثبت می‌تواند مورد حمله هسته‌دوستی یک هسته‌دوست قرار گیرد. از سوی دیگر، اتم کلر که به‌طور مستقیم به اتم گوگرد متصل شده است، می‌تواند ترک‌کننده خوب به‌شمار آید. از این‌رو، در صورتی که ترکیب کلروسولفونیک اسید در معرض یک هسته‌دوست مانند اتم اکسیژن گروه‌های هیدروکسیل آلژینات قرار گیرد، امکان حمله هسته‌دوستی گروه هیدروکسیل به اتم گوگرد و ترک اتم کلر وجود دارد. نتیجه این اتفاق، تبدیل گروه هیدروکسیل به گروه سولفات است (شکل ۲). دستیابی به درجه‌های سولفات بیش از ۱/۳ با این روش به‌واسطه حجم فضایی قابل توجه کلروسولفونیک اسید که حمله هسته‌دوستی دو گروه عاملی هیدروکسیل مجاور به آن مشکل می‌شود، معمولاً دشوار است. در این راستا، در این پژوهش برای بررسی اثر درجه سولفات بر شرایط و نحوه الکترورسی سدیم آلژینات سولفات‌دار شده، دو درجه سولفات ۰/۵ و ۱ انتخاب و تهیه شدند.

شایان ذکر است، حلال در این واکنش نقشی اساسی ایفا می‌کند، به‌طوری که اگر حلال پروتون‌دار، هیدروژن فعال داشته باشد، به‌شدت با کلروسولفونیک اسید واکنش می‌دهد و حلال‌هایی نظیر آب و اتانول محیط مناسبی برای انجام واکنش در مجاورت این اسید نیستند. از سوی دیگر، نمک سدیم آلژینات ترکیبی یونی است که فقط در آب حل می‌شود. از این‌رو، واکنش‌های این ترکیب به‌طور عمده در حلال آبی انجام می‌شود. با توجه به این موضوع، باید از حلال‌های قطبی بدون پروتون استفاده کرد تا از واکنش شدید کلروسولفونیک اسید با حلال جلوگیری شود. بررسی اثر حل‌پذیری حلال‌های دی‌متیل سولفوکسید و  $N,N$ -دی‌متیل‌فراماید که در دسته حلال‌های قطبی بدون پروتون طبقه‌بندی می‌شوند، نشان داد، این مواد نمی‌توانند حلال مناسبی برای واکنش سولفات‌دار کردن آلژینات باشند. زیرا، ثابت دی‌الکتریک آن‌ها به‌حدی زیاد نیست تا بتواند نمک آلژینات یا محصول سدیم آلژینات سولفات‌دار شده را در خود حل کنند. نتایج آزمون تجزیه عنصری از پودر حاصل از واکنش سولفات‌دار کردن آلژینات زمانی که دی‌متیل سولفوکسید و  $N,N$ -

الکترورسی آلژینات به‌دلیل وجود پیوندهای هیدروژنی قوی درون‌مولکولی به‌آسانی امکان‌پذیر نیست. در این راستا، زمانی که گروه‌های هیدروکسیل با گروه دیگری جایگزین شود که قابلیت پیوند هیدروژنی نداشته باشد یا قابلیت آن برای ایجاد پیوند هیدروژنی کمتر باشد، انتظار می‌رود، فرایندپذیری و قابلیت الکترورسی آلژینات بهبود یابد. واکنش گروه‌های هیدروکسیل روی زنجیر آلژینات و ایجاد گروه‌های عاملی سولفات روی این زنجیرها می‌تواند انتخاب معقولی برای کاهش گروه‌های هیدروکسیل و به‌دنبال آن، کاهش پیوندهای هیدروژنی باشد. از این‌رو، در این طرح بخشی از گروه‌های عاملی هیدروکسیل (عامل ایجاد پیوندهای قوی هیدروژنی درون‌مولکولی) با گروه‌های سولفات جایگزین شدند تا اثر این واکنش بر شرایط الکترورسی آلژینات بررسی شود.

مطالعات نشان می‌دهد، سه روش کلی برای ایجاد گروه‌های سولفات در ساختار شیمیایی آلژینات و تهیه سدیم آلژینات سولفات‌دار شده وجود دارد. از میان روش‌های گزارش شده برای ایجاد گروه‌های سولفات، در این طرح از روش کلروسولفونیک اسید برای ایجاد گروه‌های سولفات در ساختار آلژینات استفاده شد. کلروسولفونیک اسید ترکیبی بسیار فعال و البته سمی است که یکی از روش‌های مرسوم برای ایجاد گروه‌های سولفات در ساختار شیمیایی پلی‌ساکاریدهاست. تکرارپذیری نسبتاً مطلوب، بازده زیاد، مدت زمان کوتاه واکنش و خالص‌سازی آسان از مهم‌ترین برتری‌های این روش به‌شمار می‌آیند.

**تهیه نمک سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با ترکیب کلروسولفونیک اسید**  
واکنش بین گروه‌های هیدروکسیل و ترکیب کلروسولفونیک اسید که به‌آسانی انجام می‌شود، به‌دفعات در مقالات پیشین گزارش شده است. اتم گوگرد در ترکیب کلروسولفونیک اسید به سه اتم الکترون‌خواه اکسیژن و یک اتم الکترون‌خواه کلر متصل شده است.



شکل ۲- سازوکار احتمالی واکنش سدیم آلژینات و کلروسولفونیک اسید.

Fig. 2. The plausible mechanism for reaction between sodium alginate and chlorosulfonic acid.

عدد موجی  $1262 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شد که به ارتعاش کششی نامتقارن پیوند  $\text{S}=\text{O}$  گروه سولفات نسبت داده شد. افزون بر این، پیدایش یک نوار جذبی کوچک در  $870 \text{ cm}^{-1}$  نیز به ارتعاش متقارن  $\text{C}-\text{O}-\text{S}$  گروه سولفات نسبت داده شده است. نوار پهن مشاهده شده در اعداد موجی بیش از  $3000 \text{ cm}^{-1}$  در ماده سدیم آلژینات به نوارهای ارتعاشی کششی پیوندهای  $\text{H}-\text{O}$  گروه عاملی هیدروکسیل موجود در ساختار شیمیایی آلژینات و نیز آب جذب سطحی شده در این ماده نسبت داده می‌شود. از آنجا که طی واکنش سولفات‌دار شدن آلژینات، گروه‌های عاملی هیدروکسیل آلژینات به گروه‌های سولفات تبدیل می‌شوند. از این رو ممکن است، انتظار رود که پهنای نوار مربوط به ارتعاش کششی گروه هیدروکسیل در ماده سدیم آلژینات سولفات‌دار شده کاهش یابد، در حالی که عکس این اتفاق مشاهده می‌شود. اشاره به این نکته ضروری است که گروه‌های سولفات برخلاف گروه‌های هیدروکسیل، آنیون به‌شمار می‌آیند که قابلیت جذب رطوبت سطحی به‌وسیله آن‌ها نسبت به گروه‌های هیدروکسیل به‌مراتب بیشتر است. از این رو، پهن‌شدگی نوار مدنظر را می‌توان به آسانی به رطوبت سطحی بیشتری نسبت داد که به‌وسیله مولکول‌های سدیم آلژینات سولفات‌دار شده جذب شده‌اند.

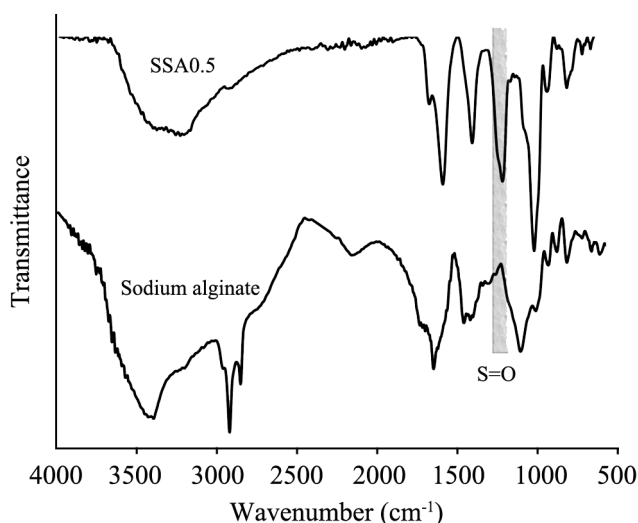
#### طیف‌نمایی رزونانس مغناطیسی هسته

تأیید ساختار شیمیایی سدیم آلژینات سولفات‌دار شده افزون بر روش طیف‌نمایی FTIR، با روش رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) نیز انجام شد. همان‌طور که در شکل ۴ مشخص است، پروتون‌های حلقه‌های آلژینات در محدوده ۳-۵ ppm دارای پیک‌های متعددی هستند. هر دو حلقه مانورونات و گلورونات بسته به شماره کربن حلقه و اتم‌هایی که به آن متصل شده‌اند، در این محدوده پیک‌های مشخصی دارند. با توجه به گزارش‌های پیشین، پیک‌های پروتون‌های آنومری مربوط به حلقه‌های یورونیک اسید (پروتون‌های G-1، GM-5، M-1 و GG-5) در محدوده ۴/۴۰-۴/۹۰ ppm ظاهر می‌شوند. پیک‌های مشاهده شده در اعداد ۳/۸۳-۴/۰۳ ppm و ۳/۶۱-۳/۷۶ ppm نیز به ترتیب به سایر پروتون‌های واحد گلورونیک اسید و مانورونیک اسید نسبت داده شدند [۴۶]. از سوی دیگر، زمانی که آلژینات با گروه‌های سولفات اصلاح می‌شود، گروه‌های سولفات می‌تواند روی اتم‌های کربن شماره ۲ یا ۳ جایگزین گروه‌های هیدروکسیل شوند (شکل ۴). نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد، پروتون‌های حلقه قندی در پلی‌ساکاریدهای سولفات‌دار با توجه به موقعیت گروه سولفات در محدوده ۳/۵۰-۵ ppm ظاهر می‌شوند. در طیف ماده سدیم آلژینات سولفات‌دار شده دو پیک جدید در اعداد موجی ۳/۹۱ و

دی‌متیل‌فرمامید به‌عنوان حلال استفاده شده بودند، نیز نشان داد، واکنش سولفات‌دار کردن اصلاً در این دو حلال انجام نشده است. در نهایت، ترکیب فرمامید می‌تواند حلال مناسبی برای این واکنش باشد، چون حلالی بسیار قطبی و بدون پروتون بوده که با کلروسولفونیک اسید سازگار است و نیز محصول سدیم آلژینات سولفات‌دار شده که از واکنش بین سطحی آلژینات و عامل سولفات کننده به‌دست می‌آید، در آن محلول است.

#### طیف‌نمایی زیرقرمز تبدیل فوریه سدیم آلژینات سولفات‌دار شده حاصل از کلروسولفونیک اسید

به‌منظور شناسایی و تأیید ایجاد گروه‌های سولفات در ساختار سدیم آلژینات سولفات‌دار شده، طیف FTIR این محصول بررسی شد (شکل ۳). زمانی که در ساختار یک کربوهیدرات، گروه‌های سولفات ایجاد شود، معمولاً دو نوار جذبی جدید به‌وجود می‌آید. یک نوار جذبی بسیار تیز در  $1255-1270 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر می‌شود و به ارتعاش کششی نامتقارن پیوند  $\text{S}=\text{O}$  گروه سولفات نسبت داده می‌شود. نوار دیگر که به‌صورت یک نوار جذبی کوچک در  $870-875 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر می‌شود، نیز به ارتعاش متقارن  $\text{C}-\text{O}-\text{S}$  گروه سولفات نسبت داده می‌شود. پیدایش این دو نوار جذبی نشان می‌دهد، ایجاد گروه‌های شیمیایی سولفات در ساختار پلی‌ساکارید موفقیت‌آمیز بوده است [۴۱]. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، یک نوار جذبی بسیار تیز در طیف FTIR سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در



شکل ۳- طیف‌های FTIR نمک سدیم آلژینات و سدیم آلژینات سولفات‌دار شده (SSA) با درجه جانشینی ۰/۵.

Fig. 3. FTIR spectra of sodium alginate and sodium sulfated alginate (SSA) samples with degree of substitution of 0.5.



کمتری را متحمل شود. نتایج تجزیه عنصری نشان داد، درجه جانشینی به‌ترتیب برابر ۰/۵۲ و ۱/۰۱ است که با مقادیر نظری تطابق نسبتاً خوبی دارد (جدول ۱).

#### خواص فیزیکی سدیم آلژینات سولفات‌دار شده

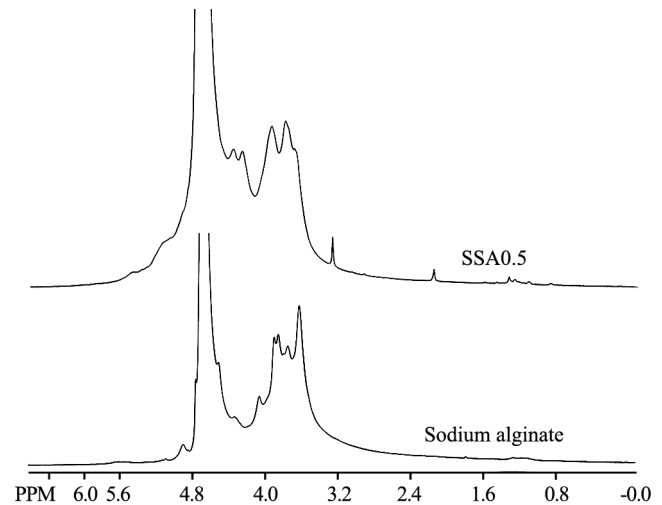
رسانندگی الکتریکی یک ماده پلیمری در حالت محلول یکی از ویژگی‌های مهم آن ماده است که می‌تواند قابلیت الکتروریسی آن ماده را تحت تأثیر قرار دهد. از این‌رو، رسانندگی الکتریکی یکی از مهم‌ترین عواملی است که باید برای هر ماده پلیمری اندازه‌گیری شود. در این راستا، مقادیر رسانندگی الکتریکی محلول‌های آبی دارای سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با دو درجه سولفات به‌تنهایی و در ترکیب با پلیمر پلی(وینیل الکل) اندازه‌گیری شد و نتایج آن‌ها در جدول ۲ خلاصه شده است. از آنجا که خوانش مقدار رسانندگی الکتریکی محلول‌های دارای نمک سدیم آلژینات (بیش از ۱٪ وزنی) امکان‌پذیر نبود، از این رو غلظت محلول‌های دارای سدیم آلژینات و سدیم آلژینات سولفات‌دار شده همان ۱٪ وزنی انتخاب شدند. از سوی دیگر، غلظت محلول‌های دارای پلی(وینیل الکل) برابر با ۱۰٪ وزنی در نظر گرفته شد تا رسانندگی الکتریکی محلول نهایی الکتروریسی نیز برآورد شده باشد. همان‌طور که از جدول مشخص است، رسانندگی الکتریکی نمک سدیم آلژینات سولفات‌دار شده زمانی که ۵۰٪ از مجموع گروه‌های هیدروکسیل موجود روی هر حلقه آلژینات به گروه‌های سولفات تبدیل شده باشد، از  $1100 \mu\text{S}/\text{cm}$  به  $2740 \mu\text{S}/\text{cm}$  افزایش می‌یابد. این نتیجه به‌خوبی نشان می‌دهد، گروه‌های سولفات قابلیت بیشتری برای افزایش رسانندگی الکتریکی محلول نسبت به گروه‌های کربوکسیلات دارند. از سوی دیگر، مقدار رسانندگی الکتریکی محلول سدیم آلژینات سولفات‌دار شده SAA0.5 برابر با  $2535 \mu\text{S}/\text{cm}$  اندازه‌گیری شد. در هر صورت، مقادیر رسانندگی الکتریکی با جایگزینی گروه‌های سولفات و افزایش درجه جانشینی به‌وضوح افزایش چشمگیری نشان می‌دهد.

گران‌روی محلول ماده پلیمری نیز نشان می‌دهد، آن ماده تا چه

جدول ۱- نتایج تجزیه عنصری نمونه‌های سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با دو درجه مختلف جانشینی.

Table 1. Results of CHNS analysis of sodium sulfated alginate (SSA) samples with two different degrees of substitution (DS).

Sample	DS
SSA0.5	$0.52 \pm 0.03$
SSA1	$1.01 \pm 0.05$



شکل ۴- طیف‌های  $^1\text{H}$  NMR پروتون نمک‌های سدیم آلژینات و سدیم آلژینات سولفات‌دار شده.

Fig. 4.  $^1\text{H}$  NMR spectra of sodium alginate and sodium sulfated alginate (SSA).

۴/۲۳ ppm به‌ترتیب به پروتون‌های اتم‌های C2 و C3 نسبت داده شدند. بر این اساس، پیدایش این دو پیک را می‌توان به جایگزینی انتخابی گروه‌های سولفات روی اکسیژن کربن شماره ۲ حلقه‌های مانورونیک اسید و گلورونیک اسید نسبت داد [۴۵]. علت این موضوع را نیز می‌توان به تغییر محیط شیمیایی پیرامون اتم‌های هیدروژن ساختار سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در مقایسه با آلژینات نسبت داد. با جایگزینی گروه‌های هیدروکسیل با گروه‌های سولفات، پروتون متصل به اتم اکسیژن که پیش از اصلاح در طیف NMR قابل مشاهده است، در طیف نمک سدیم آلژینات سولفات‌دار شده بسیار ضعیف‌تر ظاهر می‌شود. همچنین، برخی از پیک‌های مرتبط با پروتون‌های حلقه مانورونیک اسید و گلورونیک اسید در طیف سدیم آلژینات سولفات‌دار شده دیده نمی‌شوند.

#### تجزیه عنصری

پس از اطمینان از انجام واکنش سولفات‌دار شدن آلژینات، برای تعیین درجه جانشینی از آزمون تجزیه عنصری استفاده شد. با توجه به وجود دو گروه هیدروکسیل در ساختار آلژینات، در صورتی که هر دو گروه هیدروکسیل با گروه‌های سولفات جایگزین شده باشند، درجه جانشینی بیشینه برابر ۲ خواهد بود. در این پژوهش، درجه جانشینی نظری سدیم آلژینات سولفات‌دار شده دو مقدار ۰/۵ و ۱ در نظر گرفته شد تا نه تنها بخشی از پیوندهای هیدروژنی بدون تغییر باقی بماند، بلکه ساختار شیمیایی آلژینات نیز تغییرات شیمیایی

سدیم آلژینات سولفات‌دار شده بدین دلیل اهمیت دارد که سهم این مواد می‌تواند با افزایش غلظت آن‌ها در محلول‌های الکتروریسی در نمد خشک نانوالیاف افزایش شایان توجهی داشته باشد.

#### الکتروریسی سدیم آلژینات سولفات‌دار شده

زمانی که آلژینات با کلروسولفونیک اسید واکنش می‌دهد، گروه‌های هیدروکسیل به گروه‌های سولفات تبدیل می‌شوند. نتیجه این واکنش، کاهش پیوندهای هیدروژنی قوی درون مولکولی و افزایش بار الکتریکی منفی حلقه‌های یورونیک اسید است. این دو پدیده منجر می‌شود، حلالیت نمک سدیم آلژینات سولفات‌دار شده نسبت به نمک سدیم آلژینات بسیار بیشتر باشد. از آنجا که مقدار حلالیت سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در حلال آبی و گرانروی محلول آن تعیین‌کننده غلظت محلول‌های الکتروریسی است، ۵٪ وزنی غلظت مناسب برای محلول‌های الکتروریسی دارای سدیم آلژینات سولفات‌دار شده انتخاب شد، زیرا الکتروریسی SSA0.5 با غلظت بیش از ۵٪ وزنی بسیار سخت بود. تصاویر SEM نانوالیاف رسیده شده از محلول‌های الکتروریسی PVA:SSA1 و PVA:SSA0.5 با نسبت‌های حجمی مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است.

همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، الکتروریسی محلول‌های دارای سدیم آلژینات سولفات‌دار شده به تشکیل نانوالیاف صاف و بدون دانه منجر شد. با وجود این، با تغییر درجه سولفات، نسبت سدیم آلژینات سولفات‌دار شده به پلی(وینیل الکل) و سرعت جریان محلول، خواص الیاف از جمله قطر الیاف تغییر می‌کند. با توجه به نتایج الکتروریسی و میکروسکوپی، محلول PVA:SSA0.5 در نهایت با نسبت حجمی ۸۰:۲۰ رسیده شد، در حالی که محلول PVA:SSA1 با نسبت حجمی ۷۰:۳۰ به آسانی قابل رسیدن بود و الکتروریسی آن تا نسبت حجمی ۵۰:۵۰ نیز گزارش شده است [۴۱]. قابلیت الکتروریسی بهتر محلول آبی دارای SSA1 در مقایسه با SSA0.5 به چگالی کمتر پیوندهای هیدروژنی موجود در ساختار شیمیایی SSA1 و حل‌پذیری بیشتر آن نسبت داده شد. Higashi و همکاران [۴۷] در پژوهشی نشان دادند، کشش سطحی شایان توجه محلول‌های پلیمری

جدول ۲- رسانندگی الکتریکی محلول‌های سدیم آلژینات (SA)، سدیم آلژینات سولفات‌دار شده (SSA) و پلی(وینیل الکل) (PVA).  
Table 2. Electrical conductivity of sodium alginate (SA), sodium sulfated alginate (SSA), and poly(vinyl alcohol) (PVA) solutions.

Sample	SA (1 %wt)	SSA0.5 (1 %wt)	SSA1 (1 %wt)	PVA (10 %wt)
Conductivity ( $\mu\text{S/cm}$ )	1110 $\pm$ 47	2535 $\pm$ 69	2740 $\pm$ 52	600 $\pm$ 13

غلظتی می‌تواند بدون تشکیل دانه، به نانوالیافی همگون منجر شود. از این‌رو، بررسی گرانروی محلول‌های الکتروریسی نیز عاملی اثرگذار بر الکتروریسی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب به‌شمار می‌آید. مقادیر گرانروی محلول‌های آبی دارای آلژینات، سدیم آلژینات سولفات‌دار شده و پلی(وینیل الکل) نیز در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به گرانروی بسیار زیاد محلول آبی سدیم آلژینات با غلظت ۲٪ وزنی، سایر مشتقات آلژینات نیز با همین غلظت تهیه شدند و گرانروی آن‌ها به‌صورت مجزا و در ترکیب با PVA اندازه‌گیری شد. گرانروی محلول دارای سدیم آلژینات سولفات‌دار شده زمانی که فقط ۲۵٪ مجموع گروه‌های هیدروکسیل هر حلقه آلژیناتی به گروه‌های سولفات تبدیل می‌شوند، تا ۳۶۶/۵ cP کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، با افزایش درجه جانشینی تا ۵۰٪ گروه‌های هیدروکسیل، گرانروی محلول SSA1 تا ۳۳/۴ cP کاهش یافت. با توجه به چگالی زیاد پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی در ساختار آلژینات، این زیست‌پلیمر با حد حل‌پذیری کم، ساختار صلبی در محلول آبی دارد و گرانروی آن بسیار زیاد است [۳۲]. سولفات‌دار کردن آلژینات به کاهش چگالی پیوندهای هیدروژنی در ساختار شیمیایی آن منجر می‌شود که نه تنها حد حل‌پذیری آن را به مقدار چشمگیری افزایش می‌دهد [۴۱]، بلکه گرانروی را به مقدار چشمگیری کاهش می‌دهد. افزون بر این، گرانروی محلول‌های با غلظت ۲٪ وزنی از نمونه‌های PVA:SA، PVA:SSA0.5 و PVA:SSA1 به ترتیب ۴۴۸/۲، ۳۳۰/۳ و ۵۱/۱ cP اندازه‌گیری شد. کاهش گرانروی محلول‌های دارای مشتقات

جدول ۳- گرانروی محلول‌های آبی سدیم آلژینات (SA)، سدیم آلژینات سولفات‌دار شده (SSA) و پلی(وینیل الکل) (PVA).

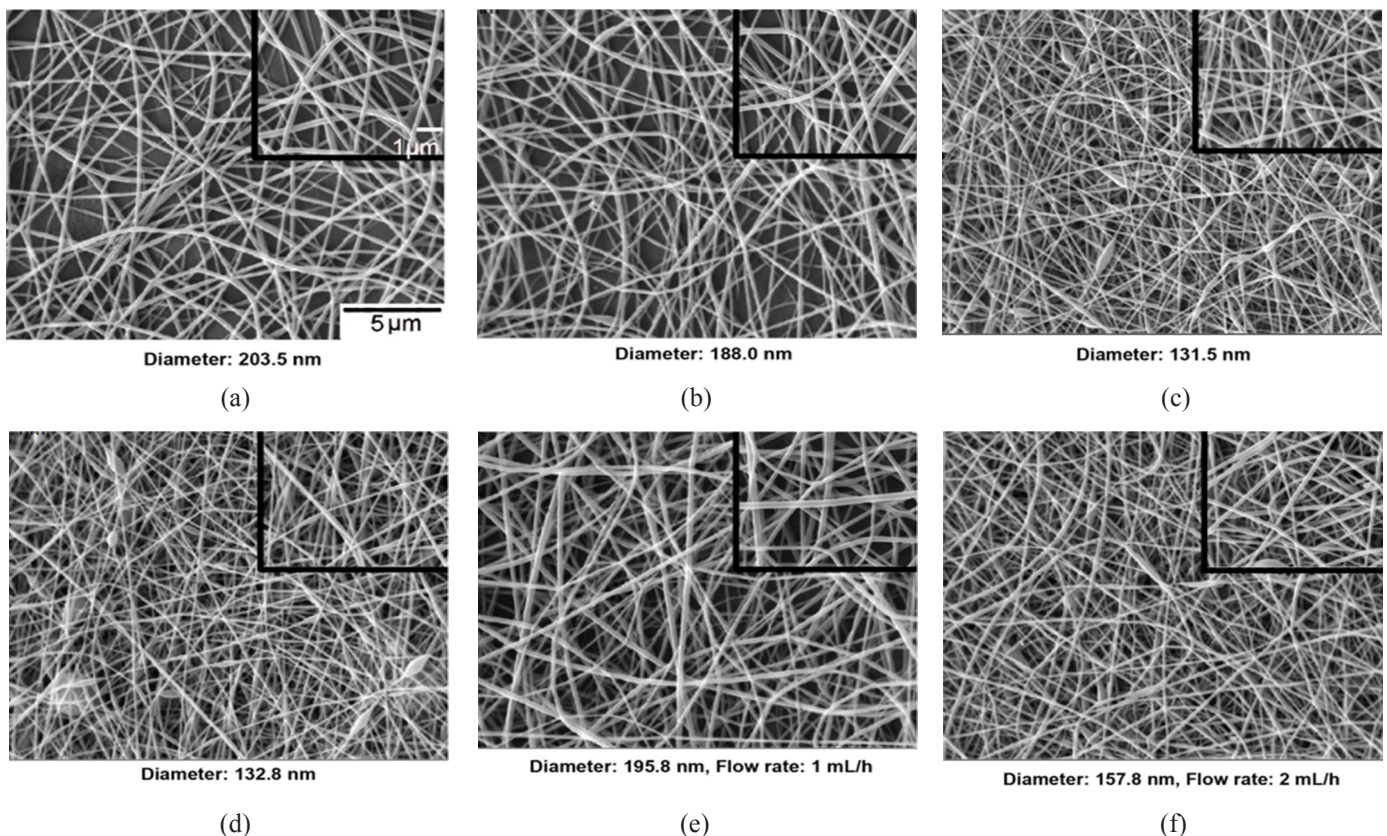
Table 3. Viscosity of sodium alginate (SA), sodium sulfated alginate (SSA), and poly(vinyl alcohol) (PVA) aqueous solutions.

Sample	SA (2 %wt)	SSA0.5 (2 %wt)	SSA1 (2 %wt)	PVA (10 %wt)	PVA:SA (80:20, 10 %wt)	PVA:SSA0.5 (80:20, 10 %wt)	PVA:SSA1 (80:20, 10 %wt)
Viscosity (cP)	438.0 $\pm$ 22.4	366.5 $\pm$ 12.3	33.4 $\pm$ 2.7	298.9 $\pm$ 16.6	448.2 $\pm$ 35.1	330.3 $\pm$ 14.8	51.1 $\pm$ 7.5

پیوندهای هیدروژنی با گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل آلزینات و کاهش گرانروی محلول و عامل فعال سطحی به دلیل کاهش کشش سطحی، الکترورسی آلزینات را بهبود می‌دهند. افزایش شایان توجه گرانروی محلول دارای دو پلیمر پلی(وینیل الکل) و سدیم آلزینات از  $8/3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$  به  $17 \text{ Pa}\cdot\text{s}$  در غلظت وزنی ثابت ۴٪ وزنی زمانی که نسبت وزنی آلزینات به کل پلیمرها از ۵۰٪ به ۷۰٪ افزایش می‌یابد، نشان می‌دهد، قابلیت الکترورسی محلول با افزایش سهم آلزینات به شدت افت می‌کند [۴۸،۴۹].

اگرچه ایجاد پیوندهای هیدروژنی جدید بین مولکول‌های پلی(وینیل الکل) و آلزینات موجب کاهش چگالی پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی زنجیرهای آلزینات می‌شود، با

یکی از چالش‌های الکترورسی این مواد است که می‌تواند با افزایش غلظت آن ماده پلیمری جبران شود. با وجود این، محلول‌های پلیمری با غلظت زیاد به دلیل گرانروی زیادی که دارند نمی‌توانند به آسانی الکترورسی شوند. گزارش‌های مختلف نشان داده است. گرانروی محلول‌های پلیمری معمولاً باید در محدوده  $100-2000 \text{ cP}$  باشد تا به خوبی الکترورسی شوند. اندازه‌گیری مقادیر گرانروی در پژوهش حاضر که همگی کمتر از این حد بحرانی بودند، نشان داد، گرانروی محلول‌های الکترورسی در گستره مطلوب گرانروی برای فرایند الکترورسی قرار دارند. با وجود این، استفاده از پلیمر کمکی مانند پلی(وینیل الکل) و عامل فعال سطحی برای بهبود قابلیت الکترورسی محلول آبی آلزینات ضروری است. پلی(وینیل الکل) به دلیل ایجاد



شکل ۵- تصاویر SEM از نمونه‌های الکترورسی شده پلی(وینیل الکل)-سدیم آلزینات سولفات‌دارشده (PVA:SSA): (a)، (b) نسبت‌های وزنی ۹۰:۱۰ (گرانروی  $342.6 \pm 18.1 \text{ cP}$ ) و ۸۰:۲۰ (گرانروی  $330.3 \pm 14.8 \text{ cP}$ ) از SSA با درجه جانشینی ۰/۵ و سرعت جریان ۱ mL/h، (c)-(e) نسبت‌های وزنی ۹۰:۱۰ (گرانروی  $62.3 \pm 8.1 \text{ cP}$ )، ۸۰:۲۰ (گرانروی  $51.1 \pm 7.5 \text{ cP}$ ) و ۷۰:۳۰ (گرانروی  $46.2 \pm 6.8 \text{ cP}$ ) از SSA با درجه جانشینی ۱ و سرعت جریان ۱ mL/h، (f) نسبت وزنی ۷۰:۳۰ از SSA با درجه جانشینی ۱ و سرعت جریان ۲ mL/h.

Fig. 5. SEM images from electrospun PVA/SSA samples: (a),(b) weight ratios of 90:10 ( $342.6 \pm 18.1 \text{ cP}$ ) and 80:20 ( $330.3 \pm 14.8 \text{ cP}$ ) from SSA with DS of 0.5 and flow rate of 1 mL/h, (c)-(e) weight ratios of 90:10 ( $62.3 \pm 8.1 \text{ cP}$ ), 80:20 ( $51.1 \pm 7.5 \text{ cP}$ ) and 70:30 ( $46.2 \pm 6.8 \text{ cP}$ ) from SSA with DS of 1 and flow rate of 1 mL/h, and (f) weight ratio of 70:30 from SSA with DS of 1 and flow rate of 2 mL/h.

وجود این عوامل دیگری نیز می‌توانند روی الکتروسیسی این پلیمر اثرگذار باشند [۵۰]. به‌عنوان مثال، وجود گروه‌های کربوکسیل به‌صورت خنثی (کربوکسیلیک اسید) یا با بار الکتریکی (کربوکسیلات) می‌تواند نقش مهمی در بهبود الکتروسیسی آلزینات ایفا کند. تفکیک گروه‌های کربوکسیلیک اسید به آنیون کربوکسیلات باعث ایجاد دافعه کولمبی بین یون‌های کربوکسیلات می‌شود. این اتفاق موجب تشکیل ساختارهای لیفی در سر افشانک (nozzle) و به‌دنبال آن ساختار سه‌بعدی نانولیفی می‌شود [۵۱]. از این رو انتظار می‌رود، با افزایش بار الکتریکی آلزینات در فرایند سولفات‌دارشدن و افزایش دافعه بین بارهای الکتریکی منفی گروه‌های کربوکسیلات و سولفات، قابلیت الکتروسیسی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده از آلزینات بهتر باشد. از سوی دیگر، با افزایش درجه سولفات، چگالی بار الکتریکی منفی نمونه سدیم آلزینات سولفات‌دار شده نیز افزایش می‌یابد و دافعه بیشتری بین آنیون‌های موجود در ساختار شیمیایی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده حاصل می‌شود. با سولفات‌دار کردن آلزینات و افزایش درجه جانشینی، مقدار کاتیون سدیم به‌عنوان کاتیون همراه گروه‌های کربوکسیلات و سولفات نیز در محلول پلیمری افزایش می‌یابد. در این راستا، هرچقدر اندازه یون همراه بیشتر باشد، قابلیت تحرک آن نیز در محلول پلیمری افزایش می‌یابد. از این رو، نیروی کششی بیشتری به جت پلیمر الکتروسیسی اعمال می‌شود که نتیجه آن همگنی بیشتر نانوالیاف حاصل است [۴۸]. در نتیجه با افزایش غلظت سدیم آلزینات سولفات‌دار شده به‌ویژه برای درجه جانشینی بیشتر، دانه‌های کمتر و همگونی بیشتری در توزیع یکنواخت الیاف دیده می‌شود.

قطر نانوالیاف در نمونه PVA:SSA1 کمتر از نمونه PVA:SSA0.5 بود. نتایج الکتروسیسی در ساختارهای رسیده‌شده از PVA:SSA0.5 نشان داد، افزایش ۱۰٪ نسبت حجمی SSA0.5 در ترکیب پلیمری اثر معناداری در قطر الیاف نداشته است؛ در حالی که در ساختارهای رسیده‌شده از PVA:SSA1، با افزایش مقدار SSA1 از ۱۰٪ به ۳۰٪، قطر الیاف به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. این نتیجه با نتیجه پژوهش‌های پیشین که نشان می‌دهد، با افزایش غلظت ماده پلیمری در محلول، قطر الیاف هم افزایش می‌یابد، سازگار است [۴۸]. از آنجا که با افزایش غلظت ماده پلیمری، استحکام همچسبی محلول پلیمری و مقدار ماده جامد پلیمری در محلول نیز افزایش می‌یابد، از این رو، افزایش قطر الیاف امری منطقی است. از سوی دیگر، با افزایش درجه جانشینی، گرانروی و رسانندگی الکتریکی محلول به‌ترتیب کاهش و افزایش می‌یابند که در نتیجه آن، قطر الیاف در نمونه PVA:SSA1 کمتر از نمونه PVA:SSA0.5 خواهد بود. مقادیر

گرانروی برای محلول‌های الکتروسیسی PVA:SSA0.5 با نسبت‌های وزنی ۹۰:۱۰ و ۸۰:۲۰ به‌ترتیب  $1181 \pm 342 \text{ cP}$  و  $14/8 \pm 330/3 \text{ cP}$  اندازه‌گیری شد، در حالی گرانروی محلول‌های الکتروسیسی PVA:SSA1 با نسبت‌های ۹۰:۱۰، ۸۰:۲۰ و ۷۰:۳۰ به‌ترتیب  $8/1 \pm 62/3$ ،  $7/5 \pm 51/1$  و  $6/8 \pm 46/2 \text{ cP}$  بود. در نهایت، با افزایش سرعت جریان از  $1 \text{ mL/h}$  به  $2 \text{ mL/h}$  الیاف باریک‌تری از PVA:SSA1 به‌دست آمد. پس از بررسی شرایط الکتروسیسی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده با هر دو درجه جانشینی، اثر واکنش شبکه‌ای شدن این پلیمر در مجاورت کاتیون کلسیم نیز بررسی شد. افزایش پایداری نمد نانولیفی دارای سدیم آلزینات سولفات‌دار شده از آن نظر مهم است که این نمد اگر به‌شکل شبکه‌ای نشده در تماس با محیط آبی قرار گیرد، پس از حدود  $3 \text{ h}$  به‌طور کامل در آن حل می‌شود. از این رو، پایداری الیاف با استفاده از شبکه‌ای‌کننده در دسترس و غیرسمی مانند کاتیون کلسیم دارای اهمیت است که بتواند به‌سرعت مولکول‌های پلیمر سدیم آلزینات سولفات‌دار شده را شبکه‌ای کند. همان‌طور که از شکل ۶ مشخص است، شکل‌شناسی لیفی نانوالیاف پس از فرایند شبکه‌ای شدن با کاتیون‌های کلسیم تغییری مشهود نسبت به نانوالیاف شبکه‌ای‌نشده نشان نمی‌دهد، اگرچه قطر نانوالیاف به‌طوری چشمگیر از  $9/1 \pm 126/3 \text{ nm}$  به  $26/5 \pm 212/9 \text{ nm}$  افزایش می‌یابد. واکنش شبکه‌ای شدن آلزینات در مجاورت کاتیون کلسیم به‌عنوان عامل شبکه‌ای‌کننده با نظریه شانه تخم‌مرغ (Egg-box) توضیح داده می‌شود (شکل ۶ (a)) [۵۲]. این نظریه بیان می‌کند، مولکول‌های آلزینات در زمان مواجهه با کاتیون‌های کلسیم به‌دلیل وجود توالی‌های گلورونیک اسید می‌توانند با کاتیون‌های کلسیم ساختار کی‌لیت تشکیل دهند که به موجب آن، ۶ تا ۸ حلقه گلورونات از پلیمر آلزینات با یک کاتیون کلسیم به‌دلیل وجود برهم‌کنش‌های یونی، ساختاری شبکه‌ای ایجاد می‌کنند. از آنجا که سرعت تشکیل این پیوند فیزیکی کمتر از ۱ s است، به‌طور نظری انتظار می‌رود، هر نانولیف به‌سرعت با کاتیون‌های کلسیم برهم‌کنش کند و تغییر زیادی در قطر نانوالیاف مشاهده نشود، در صورتی که قطر برخی از الیاف تا حدود  $250 \text{ nm}$  هم می‌رسد (شکل ۶ (b)). از این رو، شاید مهم‌ترین دلیل افزایش قطر برخی نانوالیاف را بتوان به ترشدن آن‌ها و چسبندگی بعضی از لیف‌ها به یکدیگر نسبت داد. از سوی دیگر، با ایجاد گروه‌های سولفات در ساختار شیمیایی سدیم آلزینات سولفات‌دار شده و افزایش بار الکتریکی منفی این پلیمر، نحوه برهم‌کنش زنجیرهای سدیم آلزینات سولفات‌دار شده با کاتیون کلسیم متفاوت می‌شود و معمولاً ماده سدیم آلزینات سولفات‌دار شده هیدروژل‌هایی نرم‌تر نسبت به آلزینات در مواجهه با کاتیون‌های

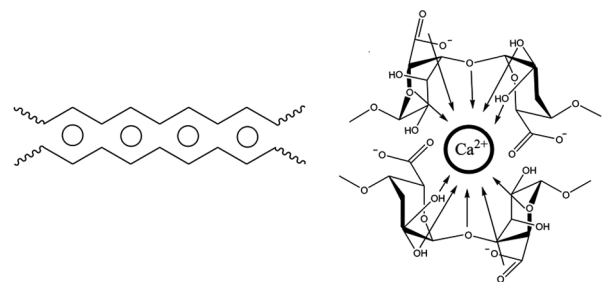
الکتروریسی ۱۰٪ وزنی و غلظت SSA1 و SSA0.5 ۵٪ وزنی است). نتایج این آزمون نشان داد، مقدار مدول یانگ در نمونه‌های شبکه‌ای نشده تفاوت معناداری با یکدیگر ندارد، در حالی که افزایش طول تا پارگی در نمونه دارای سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با درجه جانشینی کمتر (SSA0.5) حدود ۲۷٪ از نم‌دارای SSA1 بیشتر بود. بررسی نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد، فرایند ساخت نمک سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با استفاده از کلروسولفونیک اسید می‌تواند به تخریب ساختار زنجیره‌های آلژینات و کاهش وزن مولکولی آن منجر شود. به‌عنوان مثال، همین گروه در پژوهشی نشان داد، وزن مولکولی متوسط آلژینات در فرایند سولفات‌دار شدن زمانی که درجه جانشینی محصول نهایی حدود ۱ باشد، از ۱۴۰ kDa تا حدود ۱۱۵ kDa کاهش می‌یابد [۴۱]. از این رو انتظار می‌رود، در آزمون‌هایی مانند آزمون خواص مکانیکی که به ویژگی‌های توده ماده مرتبط می‌شود، مقدار مدول یانگ برای دو نمونه سدیم آلژینات سولفات‌دار شده که به‌طور طبیعی به دلیل درجه جانشینی متفاوت، وزن مولکولی متفاوتی نیز خواهند داشت، باید تغییر محسوسی داشته باشد. اما نتایج آزمون این تفاوت را نشان نمی‌دهد. علت این نتیجه را می‌توان به دو عامل نسبت داد. اول، اینکه مدول یانگ یک نمونه در مقادیر کم کرنش اندازه‌گیری می‌شود و در نتیجه اثر وزن مولکولی سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در مقادیر کم کرنش کم چندان چشمگیر نیست. دلیل دوم که مهم‌تر است، مقدار کم سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در نم‌د نانولیفی نهایی است. با توجه به غلظت دو پلیمر PVA و سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در محلول الکتروریسی که به ترتیب ۱۰٪ و ۵٪ وزنی است، همچنین، در نسبت وزنی ۸۰:۲۰ از دو پلیمر PVA:SSA، نسبت وزنی سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در نم‌د خشک نهایی حدود ۱۱/۱٪ است. در نتیجه، این مقدار کم از این ماده نمی‌تواند در نمونه‌های شبکه‌ای نشده بر مدول یانگ نمونه‌ها اثر زیادی داشته باشد. اما همان‌طور که در جدول ۴ نیز نشان داده شده است، سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با درجه جانشینی بیشتر موجب کاهش استحکام مکانیکی نهایی می‌شود که دلیل آن را احتمالاً می‌توان به شکست بیشتر زنجیره‌های پلیمری در فرایند سولفات‌دار شدن نسبت داد. کاهش ازدیاد طول تا پارگی نیز به شکست بیشتر زنجیره‌های پلیمر سدیم آلژینات سولفات‌دار شده در نمونه الکتروریسی شده دارای SSA1 نسبت داده شد.

رفتار مکانیکی نمونه‌ها زمانی که با کاتیون کلسیم شبکه‌ای می‌شوند، نسبت به نمونه‌های شبکه‌ای نشده به‌شکل محسوس متفاوت بود، به‌طوری که مقدار مدول یانگ در نمونه دارای سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با درجه جانشینی کمتر تا ۲۰۵ MPa نیز می‌رسد.

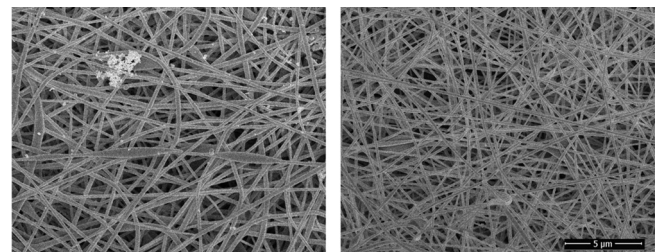
کلسیم تشکیل می‌دهد که این موضوع نیز شاید بتواند تا حدی در نفوذ و چسبیدن نانوالیاف کلسیم آلژینات سولفات‌دار شده نقش ایفا کند [۵۳]. نتایج آزمون SEM نشان داد، برخلاف بسیاری از موارد که شکل‌شناسی نانوالیاف با فرایند شبکه‌ای شدن تغییر کرده و چسبندگی الیاف دیده می‌شود، مقدار تغییر شکل و چسبندگی نانوالیاف کلسیم آلژینات سولفات‌دار شده تغییری محسوس ندارد که همین موضوع می‌تواند به بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی این نانوالیاف منجر شود.

### خواص مکانیکی

مقادیر مدول یانگ، استحکام مکانیکی نهایی و افزایش طول تا پارگی نمونه‌های الکتروریسی شده پلی(وینیل الکل)/سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با نسبت حجمی ۸۰:۲۰ در دو حالت شبکه‌ای شده و نشده در جدول ۴ نشان داده شده است (غلظت PVA در محلول‌های



(a)



(b)

شکل ۶- (a) طرح کلی برهم‌کنش‌های یونی مولکول‌های سدیم آلژینات و کاتیون‌های کلسیم با مدل شانه تخم‌مرغ و (b) تصاویر SEM از نمونه‌های الکتروریسی شده پلی(وینیل الکل)-سدیم آلژینات سولفات‌دار شده با نسبت وزنی ۷۰:۳۰، (راست) پیش از فرایند شبکه‌ای شدن و (چپ) پس از فرایند شبکه‌ای شدن با کاتیون کلسیم. Fig. 6. (a) Schematic representation of ionic interactions between molecules of sodium alginate and calcium cations using Egg-box model, and (b) SEM images from electrospun PVA/SSA samples with weight ratios of 70:30 (right) before crosslinking and (left) after crosslinking with calcium cations.

جدول ۴- خواص مکانیکی کششی نمونه‌های الکترورسی شده پلی (وینیل الکل)/سدیم آلزینات سولفات‌دارشده پیش و پس از فرایند شبکه‌ای شدن با کاتیون کلسیم.

Table 3. Tensile mechanical properties of electrospun PVA/SSA samples before and after crosslinking with calcium cation.

Sample	Young modulus (MPa)	Ultimate tensile strength (MPa)	Elongation (%)
PVA:SSA0.5 (Non-crosslinked)	33.5 ± 1.9	5.2 ± 1.0	37.0 ± 0.7
PVA:SSA0.5 (Crosslinked)	205.6 ± 2.3	12.1 ± 1.3	14.6 ± 1.9
PVA:SSA1 (Non-crosslinked)	36.4 ± 1.8	3.6 ± 0.9	10.4 ± 0.3
PVA:SSA1 (Crosslinked)	48.2 ± 0.4	6.2 ± 0.7	14.7 ± 0.5

به جای کاتیون کلسیم استفاده می‌شود [۵۴]. در نهایت می‌توان پیش‌بینی کرد، سدیم آلزینات سولفات‌دارشده با درجه جانشینی کمتر برهم‌کنش قوی‌تری با کاتیون‌های کلسیم برقرار کند و مدول یانگ بیشتر در این نمونه دیده شود. همین روند درباره تغییرات استحکام مکانیکی نهایی نمونه‌های شبکه‌ای شده نیز مشاهده شد.

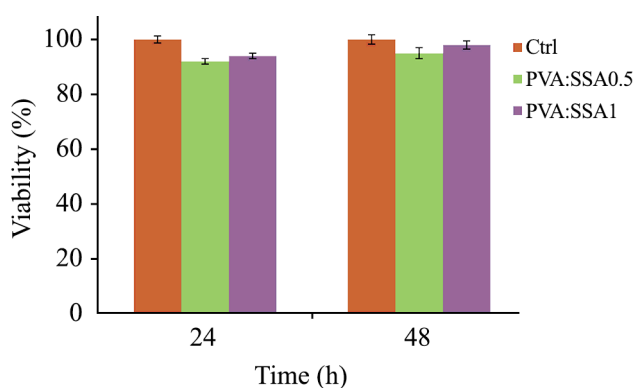
#### بررسی سمیت یاخته‌ای

به منظور ارزیابی مقدار یاخته‌سازگاری نمدهای نانولیفی سدیم آلزینات سولفات‌دارشده شبکه‌ای شده با یون کلسیم با دو درجه جانشینی متفاوت ۰/۵ (PVA:SSA0.5) و ۱ (PVA:SSA1) و اطمینان از سمی نبودن آن‌ها، آزمون سمیت یاخته‌ای به روش عصاره‌گیری از نمدهای نانولیفی در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ h انجام شد. همان‌طور که از نتایج شکل ۷ مشخص است، تمام نمدهای نانولیفی در مقایسه با گروه کنترل (یاخته‌های کشت‌یافته در محیط بدون عصاره)، زنده‌مانی بیش از ۹۰٪ داشته و تفاوت چشم‌گیری بین نمونه‌های مختلف وجود ندارد. با توجه به نتایج آزمون سمیت یاخته‌ای به روش عصاره‌گیری مشخص شد، نمدهای نانولیفی بر پایه سدیم آلزینات سولفات‌دارشده طی زمان ماده سمی رها نمی‌کنند. این نتایج به خوبی نشان می‌دهد، ماده کلروسولفونیک اسید در زمان شست‌وشو و خالص‌سازی از ماده سدیم آلزینات سولفات‌دارشده جداسازی شده است و اثر منفی بر سازگاری نمدهای نانولیفی با یاخته‌ها ندارد. از این‌رو، این مواد می‌توانند به عنوان ساختار نانولیفی برای کاربردهای مهندسی بافت استفاده شوند.

#### نتیجه‌گیری

الکترورسی آلزینات به دلایل شباهت آن به ساختارهای پلی‌ساکاریدی موجود در بدن موجودات زنده یکی از زمینه‌های جذاب در مهندسی بافت به‌شمار می‌آید. با وجود این، الکترورسی آلزینات به دلیل وجود

علت این افزایش در مقدار مدول یانگ را فقط می‌توان به وجود شبکه فیزیکی ناشی از کاتیون کلسیم نسبت داد. مطالعات مختلف نشان داده است، آلزینات و مشتقات آن به آسانی در مجاورت کاتیون‌های دوظرفیتی مانند کلسیم می‌توانند ساختارهای هیدروژلی تشکیل دهند و ساختارهای با استحکام مکانیکی زیاد فراهم آورند. از این‌رو انتظار می‌رود، زمانی که نمونه‌های نانولیفی دارای سدیم آلزینات سولفات‌دارشده با کاتیون کلسیم ساختار شبکه‌ای تشکیل می‌دهند، خواص مکانیکی نمونه شبکه‌ای شده مانند مدول یانگ نسبت به نمونه شبکه‌ای نشده افزایش یابد. از سوی دیگر، زمانی که درجه جانشینی گروه‌های سولفات در آلزینات افزایش می‌یابد، به دلیل شکست بیشتر زنجیرهای پلیمری و تغییر نحوه برهم‌کنش یون‌ها در مدل شانه تخم‌مرغ، استحکام اتصال فیزیکی سدیم آلزینات سولفات‌دارشده با کاتیون کلسیم به وضوح کاهش می‌یابد، به طوری که در برخی از پژوهش‌ها از کاتیون باریوم



شکل ۷- آزمون یاخته‌سازگاری عصاره نمونه‌های الکترورسی شده پلی (وینیل الکل)-سدیم آلزینات سولفات‌دارشده شبکه‌ای شده نسبت به یاخته‌های فیبروبلاست انسانی.

Fig. 7. Cytocompatibility analysis of extracts of the cross-linked electrospun PVA:SSA samples against the human fibroblasts.

منفی نسبت داد. همچنین گرانروی محلول با افزایش درجه جانشینی به شدت کاهش یافت که علت آن کاهش چگالی پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی است. نانوالیاف سدیم آلزینات سولفات‌دار شده از الکترورسی محلول‌های یاد شده با فرایند الکترورسی تهیه شدند و سپس با محلول آبی کلسیم کلرید شبکه‌ای شدند تا پایداری آب‌کافتی و خواص مکانیکی آن‌ها بهبود یابد. نتایج آزمون SEM نشان داد، نمونه SSA1 نسبت به نمونه SSA0.5 الکترورسی می‌شود و درصد سدیم آلزینات سولفات‌دار شده در نمد ریسیده شده از نمونه SSA1 بیشتر بود. همچنین، استحکام مکانیکی نمد شبکه‌ای شده دارای SSA1 کمتر از نمونه دارای SSA0.5 بود که دلیل آن به اتصال عرضی کمتر SSA1 با کاتیون کلسیم و شکست بیشتر زنجیرهای پلیمر در فرایند سولفات‌دار شدن نسبت داده شد. در نهایت، بررسی آزمون سمیت یاخته‌ای از نمونه‌های نانولیفی شبکه‌ای شده نشان داد، تمام نمونه‌های بررسی شده سازگاری مناسبی با یاخته‌های فیروبلست دارند.

### قردانی

این مقاله با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) با شماره پژوهانه (grant) ۹۵۸۳۷۸۷۲ انجام شده است.

### مراجع

- Ulery B.D., Nair L.S., and Laurencin C.T., Biomedical Applications of Biodegradable Polymers, *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.*, **49**, 832-864, 2011.
- Samadian H., Maleki H., Allahyari Z., and Jaymand M., Natural Polymers-Based Light-Induced Hydrogels: Promising Biomaterials for Biomedical Applications, *Coord. Chem. Rev.*, **285**, 213432, 2020.
- Alghoraibi I. and Alomari S., Different Methods for Nanofiber Design and Fabrication, *Handbook of Nanofibers*, 1-46, 2018.
- Islam M.S., Ang B.C., Andriyan A., and Afifi A.M., A Review on Fabrication of Nanofibers via Electrospinning and Their Applications, *SN Appl. Sci.*, **10**, 1-16, 2019.
- Daemi H. and Asadi M., Alginate Electrospinning: Challenges and Solutions, *Basparesh*, **1**, 33-43, 2019.
- Bombin A.D.J., Dunne N.J., and McCarthy H.O., Electrospinning of Natural Polymers for the Production of Nanofibres for Wound Healing Applications, *Mater. Sci. Eng. C*, **114**, 110994, 2020.
- Dabholkar N., Gorantla S., Waghule T., Rapalli V.K., Kothuru A., Goel S., and Singhvi G., Biodegradable Microneedles Fabricated with Carbohydrates and Proteins: Revolutionary Approach for Transdermal Drug Delivery, *Int. J. Biol. Macromol.*, **170**, 602-621, 2021.
- Seo W., Sung Y., Han S., Kim Y., Ryu O., Lee H., and Kim W.N., Synthesis and Properties of Polyurethane/Clay Nanocomposite by Clay Modified with Polymeric Methane Diisocyanate, *J. Appl. Polym. Sci.*, **5**, 2879-2883, 2006.
- Zhang L., Li X., Zhang X., Li Y., and Wang L., Bacterial Alginate Metabolism: An Important Pathway for Bioconversion of Brown Algae, *Biotechnol. Biofuels*, **1**, 1-18, 2021.
- Jose A.A., Hazeena S.H., Lakshmi N.M., Madhavan A., Sirohi R., Tarafdar A., Sindhu R., Awasthi M.K., Pandey A., and Binod P., Bacterial Biopolymers: From Production to Applications in Biomedicine, *Sustain. Chem. Pharm.*, **25**, 100582, 2022.

11. Jeong Y., Kim E., Han B.S., Hong D., and Kang S.M., Zr (IV) Coordination Chemistry for Cell-Repellent Alginate Coatings: The Effect of Surface Functional Groups, *Langmuir*, **19**, 5192-5197, 2020.
12. Fernando I.P.S., Lee W., Han E.J., and Ahn G., Alginate-Based Nanomaterials: Fabrication Techniques, Properties, and Applications, *Chem. Eng. J.*, **391**, 123823, 2020.
13. Khajouei R.A., Keramat J., Hamdami N., Ursu A.-V., Delattre C., Gardarin C., Lecerf D., Desbrières J., Djelveh G., and Michaud P., Effect of High Voltage Electrode Discharge on the Physicochemical Characteristics of Alginate Extracted from an Iranian Brown Seaweed (Nizimuddinina Zanardini), *Algal Res.*, **14**, 102326, 2021.
14. Janarthanan M. and Senthil Kumar M., Extraction of Alginate from Brown Seaweeds and Evolution of Bioactive Alginate Film Coated Textile Fabrics for Wound Healing Application, *J. Ind. Text.*, **3**, 328-351, 2019.
15. *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry: Properties, Production, and Patents*, Steinbüchel A. and Rhee S.K. (Eds.), Wiley-VCH, **2**, 2005.
16. Sun T., Li X., Shi Q., Wang H., Huang Q., and Fukuda T., Microfluidic Spun Alginate Hydrogel Microfibers and Their Application in Tissue Engineering, *Gels*, **2**, 38, 2018.
17. Sahoo D.R. and Biswal T., Alginate and Its Application to Tissue Engineering, *SN Appl. Sci.*, **1**, 1-19, 2021.
18. Donati I., Mørch Y.A., Strand B.L., Skjåk-Bræk G., and Paoletti S., Effect of Elongation of Alternating Sequences on Swelling Behavior and Large Deformation Properties of Natural Alginate Gels, *J. Phys. Chem. B*, **39**, 12916-12922, 2009.
19. Li D., Wei Z., and Xue C., Alginate-Based Delivery Systems for Food Bioactive Ingredients: An Overview of Recent Advances and Future Trends, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **6**, 5345-5369, 2021.
20. He Y., Zhao W., Dong Z., Ji Y., Li M., Hao Y., Zhang D., Yuan C., Deng J., and Zhao P., A Biodegradable Antibacterial Alginate/Carboxymethyl Chitosan/Kangfuxin Sponges for Promoting Blood Coagulation and Full-Thickness Wound Healing, *Int. J. Biol. Macromol.*, **167**, 182-192, 2021.
21. Meng X., Lu Y., Gao Y., Cheng S., Tian F., Xiao Y., and Li F., Chitosan/Alginate/Hyaluronic Acid Polyelectrolyte Composite Sponges Crosslinked with Genipin for Wound Dressing Application, *Int. J. Biol. Macromol.*, **182**, 512-523, 2021.
22. Aderibigbe B.A. and Buyana B., Alginate in Wound Dressings, *Pharmaceutics*, **10** 42, 2018.
23. Xie Y., Gao P., He F., and Zhang C., Application of Alginate-Based Hydrogels in Hemostasis, *Gels*, **8**, 109, 2022.
24. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*, Gutowski K.A. (Ed.), Blackwell, Oxford, UK, 2014.
25. Varaprasad K., Jayaramudu T., Kanikireddy V., Toro C., and Sadiku E.R., Alginate-Based Composite Materials for Wound Dressing Application: A Mini Review. *Carbohydr. Polym.*, **236**, 116025, 2020.
26. He Y., Zhang N., Gong Q., Qiu H., Wang W., Liu Y., and Gao J., Alginate/Graphene Oxide Fibers with Enhanced Mechanical Strength Prepared by Wet Spinning, *Carbohydr. Polym.*, **88**, 1100-1108, 2012.
27. Hosseini Salekdeh S.S., Daemi H., Zare-Gachi M., Rajabi S., Bazgir F., Aghdami N., Nourbakhsh M.S., and Baharvand H., Assessment of the Efficacy of Tributylammonium Alginate Surface-Modified Polyurethane as an Antibacterial Elastomeric Wound Dressing for Both Noninfected and Infected Full-Thickness Wounds, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **3**, 3393-3406, 2019.
28. Foroughi J., Spinks G.M., and Wallace G.G., A Reactive Wet Spinning Approach to Polypyrrole Fibres, *J. Mater. Chem.*, **17**, 6421-6426, 2011.
29. Yang Y., Sun J., Liu X., Guo Z., He Y., Wei D., Zhong M., Guo L., Fan H., and Zhang X., Wet-Spinning Fabrication of Shear-Patterned Alginate Hydrogel Microfibers and the Guidance of Cell Alignment, *Regen. Biomater.*, **4**, 299-307, 2017.
30. Ovington L. and Eastman S., Moits Wound Healing, *J. Mod. Pharm.*, **9**, 10, 2002.
31. Kurakula M., Rao G.K., Kiran V., Hasnain M.S., and Nayak A.K., Alginate-Based Hydrogel Systems for Drug Releasing in Wound Healing, *Alginates in Drug Delivery*, Elsevier, 323-358, 2020
32. Taemeh M.A., Shiravandi A., Korayem M.A., and Daemi H., Fabrication Challenges and Trends in Biomedical Applications of Alginate Electrospun Nanofibers, *Carbohydr. Polym.*, **228**, 115419, 2020.
33. Wróblewska-Krepsztul J., Rydzkowski T., Michalska-Požoga I., and Thakur V.K., Biopolymers for Biomedical and Pharmaceutical Applications: Recent Advances and Overview of Alginate Electrospinning, *Nanomaterials*, **9**, 404, 2019.
34. Angamma C.J. and Jayaram S.H., Analysis of the Effects of Solution Conductivity on Electrospinning Process and Fiber



- Morphology, *IEEE Trans. Ind. Appl.*, **3**, 1109-1117, 2011.
35. Islam M.S. and Karim M.R., Fabrication and Characterization of Poly(vinyl alcohol)/Alginate Blend Nanofibers by Electrospinning Method, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **366**, 135-140, 2010.
  36. Homaeigohar S. and Boccaccini A.R., Antibacterial Biohybrid Nanofibers for Wound Dressings, *Acta Biomater.*, **107**, 25-49, 2020.
  37. Gao C., Zhang L., Wang J., Jin M., Tang Q., Chen Z., Cheng Y., Yang R., and Zhao G., Electrospun Nanofibers Promote Wound Healing: Theories, Techniques, and Perspectives, *J. Mater. Chem. B*, **14**, 3106-3130, 2021.
  38. Sood A., Granick M.S., and Tomaselli N.L., Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data, *Adv. Wound Care*, **8**, 511-529, 2014.
  39. Dodero A., Scarfi S., Pozzolini M., Vicini S., Alloisio M., and Castellano M., Alginate-Based Electrospun Membranes Containing ZnO Nanoparticles as Potential Wound Healing Patches: Biological, Mechanical, and Physicochemical Characterization, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **12**, 3371-3381, 2019.
  40. Pakolpakçıl A., Osman B., Göktalay G., Özer E.T., Şahan Y., Becerir B., and Karaca E., Design and In Vivo Evaluation of Alginate-Based pH-Sensing Electrospun Wound Dressing Containing Anthocyanins, *J. Polym. Res.*, **28**, 1-13, 2021.
  41. Daemi H., Mashayekhi M., and Pezeshki Modares, M., Facile Fabrication of Sulfated Alginate Electrospun Nanofibers, *Carbohydr. Polym.*, **198**, 481-485, 2018.
  42. Irani S., Tavakkoli S., Pezeshki-Modares M., Taghavifar E., Mohammadali M., and Daemi H., Electrospun Nanofibrous Alginate Sulfate Scaffolds Promote Mesenchymal Stem Cells Differentiation to Chondrocytes, *J. Appl. Polym. Sci.*, **138**, 49868, 2021.
  43. Hazeri Y., Irani S., Zandi M., and Pezeshki-Modares M., Polyvinyl Alcohol/Sulfated Alginate Nanofibers Induced the Neuronal Differentiation of Human Bone Marrow Stem Cells, *Int. J. Biol. Macromol.*, **147**, 946-953, 2020.
  44. Arlov Ø. and Skjåk-Bræk G., Sulfated Alginates as Heparin Analogues: A Review of Chemical and Functional Properties, *Molecules*, **22**, 778, 2017.
  45. Samsonchi Z., Karimi H., Izadi Z., Baei P., Najarasl M., Ashtiani M.K., Mohammadi J., Moazenchi M., Tahamtani Y., Baharvand H., and Hajizadeh-Saffar E., Transplantation of Islet-Containing Microcapsules Modified with Constitutional Isomers of Sulfated Alginate in Diabetic Mice to Mitigate Fibrosis for Long-Term Glycemic Control, *Chem. Eng. J.*, **432**, 134298, 2022.
  46. Daemi H. and Barikani M., Molecular Engineering of Manipulated Alginate-Based Polyurethanes, *Carbohydr. Polym.*, **112**, 638, 2014.
  47. Higashi S., Hirai T., Matsubara M., Yoshida H., and Beniya A., Dynamic Viscosity Recovery of Electrospinning Solution for Stabilizing Elongated Ultrafine Polymer Nanofiber by TEMPO-CNF, *Sci. Rep.*, **10**, 1-8, 2020.
  48. Amariei N., Manea L.R., Berteau A.P., Berteau A., and Popa A., The Influence of Polymer Solution on the Properties of Electrospun 3D Nanostructures, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, **209**, 012092, 2017.
  49. Vicini S., Mauri M., Vita S., and Castellano M., Alginate and Alginate/Hyaluronic Acid Membranes Generated by Electrospinning in Wet Conditions: Relationship Between Solution Viscosity and Spinnability, *J. Appl. Polym. Sci.*, **135**, 46390, 2018.
  50. Safi S., Ghiaci M., Morshed M., and Hosseini A.K., The Study on Electrospinning of Nanofibers from Sodium Alginate and the Effects of Different Co-solvents on Electrospinning of Polymer Solution, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **5**, 437-447, 2007.
  51. Mokhena T.C., Mochane M.J., Mtibe A., John M.J., Sadiku E.R., and Sefadi J.S., Electrospun Alginate Nanofibers Toward Various Applications: A Review, *Materials*, **13**, 934, 2020.
  52. Cao L., Lu W., Mata A., Nishinari K., and Fang Y., Egg-Box Model-Based Gelation of Alginate and Pectin: A Review, *Carbohydr. Polym.*, **242**, 116389, 2020.
  53. Baei P., Daemi H., Mostafaei F., Sayahpour F.A., Baharvand H., and Eslaminejad M.B., A Tough Polysaccharide-Based Cell-Laden Double-Network Hydrogel Promotes Articular Cartilage Tissue Regeneration in Rabbits, *Chem. Eng. J.*, **418**, 129277, 2021.
  54. Öztürk E., Arlov Ø., Aksel S., Li L., Ornitz D.M., Skjåk-Bræk G., and Zenobi-Wong M., Sulfated Hydrogel Matrices Direct Mitogenicity and Maintenance of Chondrocyte Phenotype Through Activation of FGF Signaling, *Adv. Funct. Mater.*, **26**, 3649, 2016.