

بررسی ریزساختار نانوالیاف الکترورسی شده ژلاتین

Study on Morphology of Gelatin Electrospun Nanofiber

کوشا کوشینا^۱، سیما حبیبی^{۲*} و اعظم طالبیان^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره)، شهری

۲- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره)، شهری

۳- دانشگاه آزاد واحد یادگار امام خمینی (ره)، شهری

چکیده

الکترورسی یک روش نسبتاً آسان، فراگیر و ارزان است که بطور گسترده برای تولید الیاف نانو بکار گرفته می شود. بیشتر تحقیقات بر روی الکترورسی پلیمرهای مصنوعی می باشد اما با توجه به جایگاه پلیمرهای طبیعی در محصولات پزشکی که نانو الیاف نقش پررنگی را در این زمینه ایفا کرده تمایل به الکترورسی پلیمرهای طبیعی همچون ژلاتین به علت خواص زیست تخریب پذیری، زیست سازگاری، آبدوستی و مقرون به صرفه بودن افزایش یافته است. از خواص برجسته ژلاتین میزان خاصیت آبدوستی بالای آن است که این امر، کاربرد این ماده را در زمینه های پزشکی بطور چشمگیری افزایش داده است. در این تحقیق با تغییر پارامترهای الکترورسی و محلول، لایه های نانوالیافی با قطر کم و یکنواختی بیشتر با ترکیب درصدهای وزنی مختلف از ژلاتین الکترورسی گردید. ریزساختار نمونه ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی شد. امتزاج پذیری با استفاده از آزمون طیف سنجی اشعه مادون قرمز (FTIR/ATR) و گرماسنجی افتراقی پویا (DSC) مورد آزمون قرار گرفتند. نانوالیاف تهیه شده عاری از بید، امتزاج پذیر، بدون جدایی فازی و در محدوده قطری ۳۸۰-۸۰ نانومتر بودند.

مقدمه

کلمات کلیدی

الکترورسی،

ژلاتین،

زیست تخریب پذیر،

نانوالیاف

پوشش می دهند [۱-۳]. در میان روش های متفاوتی که تاکنون جهت تولید الیاف فوق ظریف مورد استفاده قرار گرفته است، روش الکترورسی به دلیل سهولت فرآیند و همچنین امکان کاربرد برای اکثر پلیمرها بیشتر مورد استفاده بوده است. طی فرآیند الکترورسی، ولتاژ بالایی در محدوده کیلوولت به یک سیال پلیمری اعمال شده و بارهای الکتریکی، درون سیال القا می شوند. هنگامی که میزان بارهای الکتریکی درون سیال به یک حد بحرانی برسد، حتی از سیال به شکل مخروط تیلور از قطره کوچکی که در نوک سوزن قرار گرفته، خارج می شود.

مسئله حائز اهمیتی که فناوری نانو را تا به این حد متمایز و قابل توجه کرده است، تغییر خواص در بعد نانو نسبت به سایر ابعاد می باشد. به همین منظور، نانوالیاف به موجب برخورداری از ویژگی های منحصر به فردی همچون نسبت سطح به حجم بالا، وجود منافذ بسیار ریز و همچنین خواص مکانیکی عالی، شدیداً مورد توجه هستند. بنابراین، نانوالیاف گستره وسیعی از کاربردهای زیست پزشکی همچون تهیه نسج ها، پروتزهای پزشکی، اعضای مصنوعی، پوشش های زخم بندی، حمل دارو و ترکیبات دارویی را

* مسئول مکاتبات، پیام نگار: sima.habibi@gmail.com

بافت‌ها است، عبارتند از: زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، آرایش یافتگی، تخلخل، ناهموازی و سفتی سطح نانوالیاف. کنترل رهایش دارو، انتقال ژن و مهندسی بافت، حوزه‌های بسیار نزدیکی به یکدیگر هستند مواد فعال بیولوژیکی (مانند داروهای ضدسرطان، داروهای ضدالتهاب، آنتی‌بیوتیک‌ها و پروتئین‌ها) و ژن‌ها (مانند دزوکسی ریبونوکلئیک اسید (DNA)) می‌توانند در نانو الیاف به عنوان یک حامل بارگذاری شده و به بافت موردنظر انتقال داده شوند. رهایش دارو در نانو الیاف الکتروریسی شده در مقایسه با فیلم‌ها، به دلیل نسبت سطح به حجم بالاتر، با کنترل بهتری صورت می‌گیرد [۱۳، ۱۴]. بسترهای تهیه شده بر پایه ژلاتین الکتروریسی شده به دلیل ساختار سه‌بعدی برای تهیه ماتریس خارج سلولی در کاربردهای مهندسی بافت بطور ویژه‌ای مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۱]. در پوشش‌های زخم نیز از این الیاف الکتروریسی شده به عنوان بستری برای بهبود زخم استفاده می‌گردد. به علاوه، به دلیل نسبت سطح به حجم بالای الیاف الکتروریسی شده، تثبیت آنزیم‌ها و سایر کاتالیست‌های بیولوژیکی به راحتی توسط آنها صورت می‌پذیرد [۱۴].

با در نظر گرفتن مطالب عنوان شده و در نظر گرفتن تعاریف جدید فناوری نانو و آغاز نسل جدید، هدف این تحقیق تهیه نانوالیاف با استفاده از ترکیب حلال‌ها، بررسی ساختار نانوالیاف ژلاتین با قطری مطابق با تعاریف نامومتری بوده است. بدین منظور، پس از حل نمودن نسبت‌های مختلف ماده در اسیدفرمیک و اسیداستیک و الکتروریسی آنها در شرایط یکسان، ریزساختار آنها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی شد. امتزاج‌پذیری با استفاده از آزمون طیف‌سنجی اشعه مادون قرمز (FTIR/ATR) و گرماسنجی افتراقی پویشی (DSC) مورد آزمون قرار گرفتند.

آزمایش

مواد و دستگاه‌ها

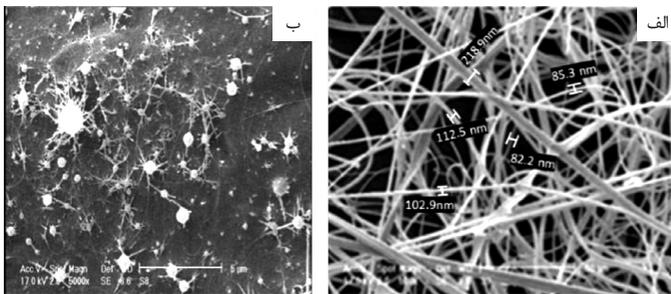
به منظور تهیه محلول پلیمری جهت الکتروریسی، پلیمر طبیعی ژلاتین (نوع B استخراج شده از پوست گاو با بلوم ولیو ۳۰۰ (از شرکت آلدریچ و اسید استیک و اسید فرمیک از شرکت مرک آلمان خریداری شدند برای تهیه نانوالیاف از دستگاه الکتروریسی استفاده گردید. به منظور بررسی ریزساختار و بررسی درجه توزیع الیاف از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM با بزرگنمایی‌های مختلف استفاده شد. بررسی ساختار شیمیایی نمونه‌های نانوالیافی با آزمون طیف‌سنجی اشعه مادون قرمز

جدول ۱- مشخصات محلول و شرایط الکتروریسی

کد نمونه	غلظت (w/w/%)	فاصله سوزن تا صفحه جمع‌کننده (mm)	ولتاژ اعمال شده (kV)	نرخ تغذیه (mm/min)
G1	ژلاتین ۲۰٪	۱۰۰	۱۵	۰.۳
G2	ژلاتین ۲۰٪	۱۰۰	۳۰	۰.۳
G3	ژلاتین ۲۵٪	۱۰۰	۱۵	۰.۳
G4	ژلاتین ۲۵٪	۱۰۰	۳۰	۰.۳

جت مذکور به سمت ناحیه دارای پتانسیل الکتریکی کمتر (جمع‌کننده ثابت یا دوار متصل به زمین) حرکت خواهد کرد. ریزساختار الیاف الکتروریسی شده تحت تاثیر پارامترهای متعددی قرار دارد، چنان که توسط این فرآیند امکان تولید طیف گسترده‌ای از الیاف (از الیاف دارای ساختار مهره‌ای گرفته تا الیاف دارای سطح متخلخل) وجود دارد. بطور کلی اجزای سیستم الکتروریسی عبارتند از یک لوله موئین یا سرنگ جهت نگه داشتن ماده پلیمری، دو الکترود و یک منبع جریان مستقیم که ولتاژی در محدوده کیلوولت را فراهم می‌کند [۱، ۳-۱۲]. بیشتر تحقیقات بر روی الکتروریسی پلیمرهای مصنوعی جهت کاربرد در زمینه‌های حمل و نقل و الکترونیک، انرژی و دارو صورت گرفته است. پلیمرهای مصنوعی همچون پلی‌استر از خواص مکانیکی ضعیفی برخوردار هستند. این عوامل سبب شد تا امروزه پلیمرهای طبیعی همچون ژلاتین به علت خواص زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری، آبدوستی و مقرون‌به‌صرفه بودن مورد بررسی قرار گیرند [۷-۹].

بطور کلی، ژلاتین یک ماده پروتئینی کلونیدی و قدیمی‌ترین ماکرومولکولی است که از هیدرولیز کلاژن موجود در پوست، استخوان و بافت پیوندی حیوانات از جمله دام، طیور و آبزیان بدست می‌آید. کلاژن بخش اصلی بافت پیوندی است که قسمت اعظم پروتئین‌های پوست، رگ‌ها، بافت‌های پیوندی و پروتئین‌های استخوان و غضروف را تشکیل می‌دهد. اولین و مهم‌ترین قدم برای الکتروریسی پلیمر طبیعی، آماده‌سازی حلال مناسب می‌باشد. ژلاتین یک پلیمر بسیار قطبی است و از آنجایی که زنجیره‌های مولکولی آن از طریق پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر متصل شده‌اند و شبکه‌های ماکرومولکولی سه بعدی را ایجاد کرده‌اند لذا حلال‌هایی با قطبیت بالا جهت شکستن پیوندها مورد نیاز است [۱۰-۷]. در بین این حلال‌ها اسید فرمیک حلالی مناسب برای الکتروریسی نمونه‌های پلیمری می‌باشد اما از معایب آن می‌توان به تخریب ساختار ژلاتین و کاهش ویسکوزیته اشاره کرد. این عوامل فرایند الکتروریسی را دچار مشکل کرده و نانو الیاف تهیه شده ساختاری بید مانند خواهند داشت. لذا به منظور بر طرف کردن ساختار بیدمانند باید به شیوه‌ای فرایند تجزیه را کند کرده و ویسکوزیته محلول را افزایش دهیم. دامنه گسترده کاربردهای این پلیمر طبیعی در صنایع پزشکی، دارویی و غذایی است [۱۱، ۱۲]. نانوالیاف در پزشکی کاربردهای متعددی دارد. از جمله این کاربردها در مهندسی بافت می‌باشد که از ماتریس‌های نانولیفی به عنوان داربست برای رشد سلول استفاده می‌شود. سلول‌ها بر روی داربست قرار داده شده و مجموعه سلول‌ها و داربست در محلول‌های پیچیده‌ای از ترکیبات شناخته شده که محیط کشت نام دارد، رشد داده می‌شوند. بنابراین، یکی از رویکردهای مهم در مهندسی بافت، طراحی داربست‌های پلیمری با خواص مکانیکی و خصوصیات بیولوژیکی مشابه با ماتریس خارج سلولی (ECM) می‌باشد. برهمکنش میان سلول‌ها و ECM می‌تواند فعالیت‌های سلولی نظیر چسبندگی، مهاجرت، تکثیر، تمایز و بیان ژن را تحت تاثیر قرار دهد. ساختار بی‌بافت الکتروریسی شده نانوالیاف به عنوان یک داربست برای سلول‌ها عمل کرده و تا بازیابی مجدد ماتریس خارج سلولی در بدن باقی می‌ماند. خصوصیات مورد نظر برای یک داربست نانولیفی متناسب با نوع بافت تغییر می‌کند، اما یک سری خصوصیات مشترک که مطلوب تمامی



شکل ۳- تصویر SEM نانوالیاف ژلاتین در فاصله ۱۰۰ mm و غلظت ۲۰٪، (الف) نمونه G1 و نمونه G2 (ب)

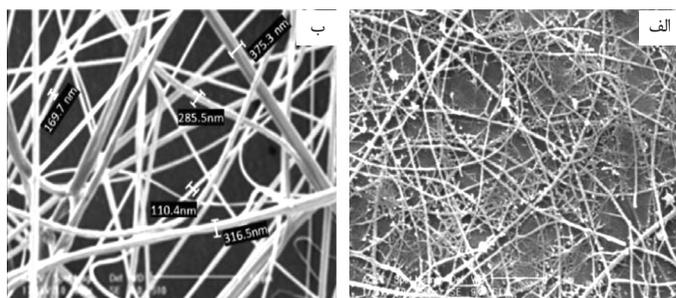
کانادا (محل آزمایشگاه: دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پلیمر و رنگ) انجام شد. جهت طیف‌سنجی، نمونه‌ها به میزان ۲ تا ۵ گرم بر روی صفحه‌هایی از جنس KBr قرار داده شد.

۳. نتایج و بحث

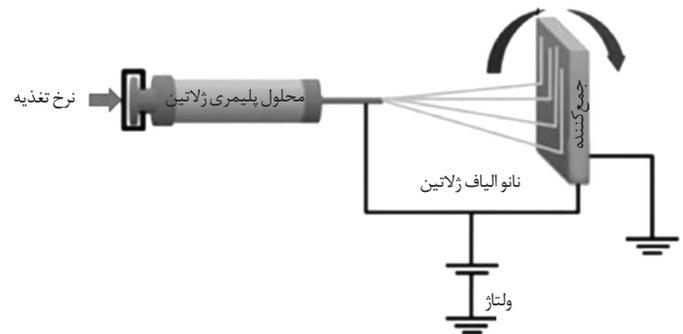
تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی اثر غلظت محلول پلیمری بر ریز ساختار نانوالیاف ژلاتین شکل ۲ تصاویر SEM نمونه‌های الکترونیسی شده ژلاتین با غلظت ۲۰٪ و ۲۵٪ را در شرایط یکسان (فاصله ۱۰۰ mm و ولتاژ ۱۵ kV) نشان می‌دهد. همانطور، که در شکل مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت از ۲۰٪ به ۲۵٪، قطر نانوالیاف افزایش یافته است. قطر نانوالیاف با غلظت ۲۰٪ در محدوده ۸۰-۲۰۰ بوده است و قطر نانوالیاف با غلظت ۲۵٪ در محدوده ۱۱۰-۳۸۰ بوده است.

به منظور بررسی اثر تغییرات حاصل از ولتاژ، نانوالیاف با ولتاژهای ۱۵ kV و ۳۰ kV مورد الکترونیسی قرار گرفتند. با توجه به SEM شکل ۳ که متعلق به نمونه‌ها با غلظت ۲۰٪ است، در ولتاژ ۱۵ kV قطر نانوالیاف در محدوده ۸۰-۲۰۰ بوده است در حالی که در ولتاژ ۳۰ kV نانوالیاف الکترونیسی نشده‌اند و تنها الکترواسپری رخ داده است. با توجه به شکل ۳ و ۴، ولتاژ اعمالی تاثیر بسزایی بر روی قطر الیاف می‌گذارد. اما میزان آن به ویسکوزیته محلول و فاصله جمع‌کن تا سوزن بستگی دارد. بطور کلی با افزایش ولتاژ می‌توانیم شاهد تولید نانوالیافی با قطر کم باشیم چرا که با افزایش ولتاژ پلیمر با شدت بیشتری از نازل خارج شده و بدلیل بالا رفتن دامنه پرواز، نانوالیاف مسیر بیشتری را طی می‌کنند و در نتیجه کاهش قطر بیشتری ایجاد می‌گردد. اما این پارامتر نیز به ویسکوزیته محلول وابسته می‌باشد. در مواردی همچون ژلاتین که ویسکوزیته پایین است



شکل ۴- تصویر SEM نانوالیاف ژلاتین در فاصله ۱۰۰ mm و غلظت ۲۵٪، (الف) نمونه G3 و (ب) نمونه G4



شکل ۱- چکیده گرافیکی فرآیند آزمایش

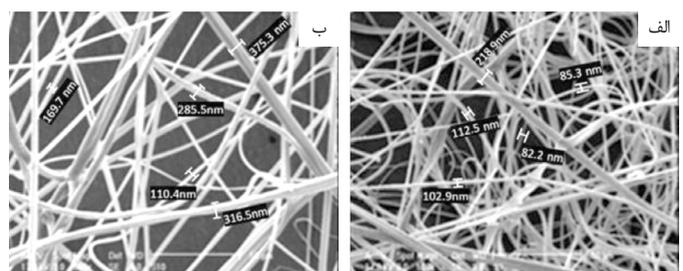
(FTIR/ATR) انجام شد. جهت طیف‌سنجی، نمونه‌ها به میزان ۲ تا ۵ گرم بر روی صفحه‌هایی از جنس KBr قرار داده شد.

روش‌ها

عملیات تهیه نانوالیاف مطابق شکل گرافیکی ۱ با استفاده از دستگاه الکترونیسی KATO TECH LTD مدل تک نازل ساخت ژاپنی (محل آزمایشگاه: دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام (ره)) در شرایط مختلف انجام گرفت. این دستگاه قابلیت تولید ولتاژ ۴۵-۰ kV را دارا می‌باشد. سوزن استفاده شده ۱۸ گیج و صفحه جمع‌کننده به صورت غلتک دوار است که جهت جمع‌آوری نمونه‌ها، سطح آن با فویل آلومینیوم پوشش داده شده است [۱۲-۱۳]. محلول پلیمری با غلظت‌های مختلفی از ژلاتین پس از آنکه بر روی همزن مغناطیسی همزده شدند به درون یک سرنگ کشیده شده‌اند.

فاصله سوزن تا صفحه جمع‌کننده ۱۰۰ mm، ولتاژ بطور ثابت ۱۵ kV و ۲۰ kV، میزان نرخ تغذیه بطور ثابت ۰/۰۸ mm/min در نظر گرفته شد. غلظت و درصد اختلاط به همراه شرایط الکترونیسی در جدول ۱ نشان داده شده است. غلظت نمونه‌های ژلاتین ۲۰٪ و ۲۵٪ در نظر گرفته شد که به نسبت‌های اشاره شده در جدول ۱ در اسید استیک و اسید فرمیک ۹۰٪ حل شدند. سپس به منظور بررسی ریزساختار و بررسی درجه توزیع الیاف از دستگاه مدل AIS2100، Serontechnologies ساخت کشور کره (محل آزمایشگاه: دانشگاه صنعتی امیرکبیر، آزمایشگاه مرکزی) با بزرگنمایی‌های مختلف استفاده شد.

بررسی ساختار شیمیایی نمونه‌های نانوالیافی با آزمون طیف‌سنجی اشعه مادون قرمز (FTIR/ATR) مدل SRG ۱۱۰ G، Bomen ساخت کشور



شکل ۲- تصویر SEM نانوالیاف ژلاتین در فاصله ۱۰۰ mm و ولتاژ ۱۵ kV، (الف) نمونه G1 و (ب) نمونه G3

الکتروریسی محلول، مورد عملیات الکتروریسی گزارش گردید. نتایج آزمایشات بدست آمده حاکی از آن است که امکان الکتروریسی نانوالیاف از محلول پلیمری ژلاتین به علت ویسکوزیته پایین بسیار مشکل می باشد و توجه به پارامترهایی از قبیل ولتاژ و غلظت نقش مهمی را در تهیه نانوالیاف ایفا می کند. بهینه شرایط محلول ژلاتین غلظت ۲۰٪ و ۲۵٪ پارامترهای مورد بررسی شامل ولتاژهای ۱۵ kV و فاصله کاری ۱۰۰ mm می باشد.

مراجع

۱. حبیبی.س، فناوری نانو در نساجی، انتشارات جهاد دانشگاهی و واحد صنعتی امیر کبیر، ۱۳۹۲.
۲. حبیبی.س، مروری بر خواص و کاربردهای پزشکی نانوالیاف الکتروریسی شده حاصل از کیتوسان، مجله علوم و فناوری نساجی، ۱۰، ۴۳-۵۵، ۱۳۹۳.
3. Fang.J,Wang.X, and Lin.T , Functional Application of Electrospun Nanofibers, Nanofibers - Production, Properties and Functional Applications, InTech, 2011.
4. Jian Fang, Xungai Wang, and Tong Lin , Functional Application of Electrospun Nanofibers, Nanofibers - Production, Properties and Functional Applications, InTech, 2011.
5. Li.D, Xia.Y, Electrospinning of Nanofibers, Advanced Material, 14, 1152-1170, 2004.
6. Tan.S, Huang.X , and Wu. B , Some fascinating phenomena in electrospinning processes and applications of electrospun nanofibers, Polym Int, 56, 1330-1339, 2007.
7. Huanga. Z., Zhang.S , Ramakrishna. C, Lim.T, Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers, Polymer,15, 5361-5368, 2004.
8. Ki. C, Baek.D , Gang. K, Lee.Ki , Um.I , Park.Y , Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic, Polymer,14, 5094-5102, 2005.
9. Mindru.T, Mindru.I , Malutana. T, Turab.V, Electrospinning of high concentration gelatin solutions, Journal of Optoelectronics and Advances Materials,11, 3633 – 3638, 2007.
10. Zhang.Z, Venugopal.J, Huang.Z, Ramakrishna.S, Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers, Polymer, 8, 2911-2917, 2006.
11. Oraby.A, Waley.A, Dewany.A, Saad.E, Abd El-Hady.B , Electrospun Gelatin Nanofibers: Effect of Gelatin Concentration on Morphology and Fiber Diameters, Journal of Applied Sciences Research,9, 534-540, 2013.
12. Nagihan. O, Pinar. Terzi, Filiz Altay, Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers, 39, 19-26, 2014.
13. Weyers.A, Linhardt. R, Neoproteoglycans in tissue engineering, PMC,10, 2511-2522 2013.
۱۴. نانوالیاف در پزشکی، <http://edu.nano.ir/paper>، ۳۸۷/۰۸/۲۹، ۱۳۹۶.
15. Nagihan.O, Pinar.T, Filiz.A, Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers, Food Hydrocolloids,39, 19-26, 2014
16. Pavia.L, Lampman. G, Kriz. G, Vyvyan. J, Introduction to spectroscopy, Cengage Learning, 2008.
17. Study on Morphology of Gelatin Electrospun Nanofiber

