

بررسی تأثیر ویژگی‌های محلول پلیمری بر تشکیل و مورفولوژی نانوفیبرهای کیتوزان – پلی‌وینیل الکل به روش الکتروریسی

محمد رضا عباس پور¹، بهجت رضایی^{2*}، بهزاد شریف مخمل‌زاده¹

چکیده

زمینه: الکتروریسی فرایندی جهت تهیه‌ی الیاف پلیمری زیر میکرون می‌باشد. الیاف حاصل از این تکنیک به دلیل ظرافت و تخلخل بالا، ویژگی‌های منحصر به فردی را در حیطه‌ی پزشکی و دارویی نشان داده‌اند که می‌توان از شباهت به ماتریکس خارج سلولی، امکان کاربرد به‌عنوان پوشش حفاظتی و ترمیم‌کننده‌ی زخم نام برد. کیتوزان از جمله پلیمرهایی است که اثرات ضد میکربی و ترمیم‌کننده‌ی آن به اثبات رسیده است. هدف این مطالعه، بررسی ویژگی‌های محلول پلیمری کیتوزان (جرم مولکولی، غلظت و ویسکوزیته) بر قابلیت تشکیل و مورفولوژی نانوالیاف می‌باشد.

روش: محلول‌های پلیمری با غلظت 2 و 3 درصد از کیتوزان با جرم‌های مولکولی مختلف در اسید استیک 2 درصد تهیه گردید و محلول حاصل با محلول 10 درصد پلی‌وینیل الکل (PVA) به نسبت 1 به 1 مخلوط گردید. از محلول پلیمری حاصل با تکنیک الکتروریسی، نانوالیاف تهیه شد و از نظر مورفولوژیکی و قطر الیاف با کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و آنالیز تصاویر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تداخلات فیزیکوشیمیایی احتمالی بین دو پلیمر به کمک مطالعات FTIR و DSC بررسی شد.

نتایج: محلول PVA دارای بیشترین ویسکوزیته است که افزودن کیتوزان، ویسکوزیته‌ی آن را کاهش می‌دهد. الکتروریسی محلول پلیمری کیتوزان به‌تنهایی امکان‌پذیر نیست، ولی با افزودن محلول PVA این روند تسهیل می‌شود. طبق نتایج حاصل از تصاویر میکروسکوپ الکترونی، الیاف حاصل از PVA ضخیم‌تر و صاف‌تر هستند. با افزودن کیتوزان، قطر الیاف به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش و ساختارهای دانه‌دار افزایش می‌یابند.

نتیجه‌گیری: طبق این تحقیق در بین انواع مختلف کیتوزان، کیتوزان با ویسکوزیته‌ی >500cp الیاف یکنواخت‌تری ایجاد می‌کند.

واژگان کلیدی: الکتروریسی، نانوالیاف، کیتوزان، پلی‌وینیل الکل

تاریخ پذیرش: 91/3/24

تاریخ دریافت: 91/3/17

1- استادیار، گروه فارماسیوتیکس،

دانشکده‌ی داروسازی، مرکز تحقیقات

نانوفناوری، دانشگاه علوم پزشکی

جندی‌شاپور اهواز، ایران

تلفن و پست الکترونیک: 0611_3738381

abbaspourmr@ajmus.ac.ir

bsharifmakhmalzadeh@yahoo.com

2- دانشجوی دکترای حرفه‌ای داروسازی،

دانشکده‌ی داروسازی، کمیته‌ی تحقیقات

دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی

جندی‌شاپور اهواز، ایران

تلفن و پست الکترونیک: 0611_3738381

behjatrezaee@yahoo.com

*نویسنده‌ی مسؤل:

بهجت رضایی، ایران، اهواز، دانشگاه علوم

پزشکی جندی‌شاپور اهواز، دانشکده‌ی

داروسازی

تلفن و پست الکترونیک: 0611_3738381

behjatrezaee@yahoo.com

مقدمه

ابتدا تحت تأثیر کشش سطحی شکل کروی به خود می‌گیرد. سپس تحت تأثیر میدان الکتریکی، بار الکتریکی روی سطح قطره القا می‌شود (2). جاذبه الکتریکی بین بار مخالف محلول پلیمری و جمع‌کننده و همچنین دافعه‌ی بین بارهای مشابه در محلول پلیمری باعث می‌شود که قطره‌ی محلول از گرد هلالی به مخروط تبدیل شود که مخروط تیلور (taylor) نامیده می‌شود. اگر نیروی الکتروستاتیکی برای غلبه بر کشش سطحی محلول پلیمری کافی باشد از رأس مخروط یک فواره خارج می‌شود. این محلول با سرعت به سمت جمع‌کننده پرتاب می‌شود و در این حین حلال آن تبخیر می‌شود. در نهایت، فیبرهای پلیمری جامد روی جمع‌کننده می‌نشینند. وقتی جریان سریع فیبر از اتمسفر عبور می‌کند خمیده می‌شود. به این ترتیب، مدت زمان عبور و طول مسیر افزایش پیدا کرده و همین امر کمک می‌کند که الیاف نازک‌تر شوند. دلیل این ناپایداری خمشی، نیروهای دافعه بین بارهای مشابه موجود در سطح فیبر پلیمری عنوان شده است. همچنین این فرضیه نیز ارائه شده است که دانسیته‌ی بار با نازک شدن فیبر افزایش یافته، شعاع دفع بار را افزایش می‌دهد و وقتی که به یک دانسیته‌ی بحرانی برسد باعث شکافته شدن یک فیبر به تعدادی فیبر کوچک‌تر می‌شود (1). نانوفیبرهای حاصل از الکترورسی به دلیل نسبت بالای سطح به حجم در مقایسه با الیاف متداول، دانسیته‌ی پایین نسبت به جرم، تخلخل بالا و اندازه‌ی کوچک حفره‌های بین الیاف برای طیف وسیعی از کاربردها مناسب است. ساختار پرتخلخل و مساحت سطحی وسیع این الیاف، آن‌ها را برای فیلتراسیون ذرات زیر میکرونی آب یا هوا ایده‌آل ساخته است (6). از نانوالیاف همچنین می‌توان در تهیه‌ی لباس‌های محافظ (1)، ترانزیستورهای میکروایرودینامیک، دیودها، کریستال‌های نوری (7)، ماسک‌های آرایشی مراقبت از پوست و تمیزکننده‌های پوستی استفاده کرد (5). با تکنیک الکترورسی می‌توان داربست‌هایی با ساختار نانو و مشابه ماتریکس خارج

الکترورسی تکنیک ساده‌ای است که به‌عنوان یکی از بهترین روش‌های تولید نانوالیاف شناخته شده است. این تکنیک که اولین بار در سال 1934 توسط فورمهال (Formhal) گزارش شد، با استفاده از بار الکتریکی، تشکیل الیاف پلیمری روی جسم هدف را کنترل می‌کند (1). محلول‌های پلیمری مختلفی در این تکنیک استفاده می‌شوند که می‌توانند زیست تخریب‌پذیر، تخریب‌ناپذیر، مواد طبیعی یا مخلوطی از این پلیمرها باشند (2). برای الکترورسی، تجهیزات ساده‌ای مورد نیاز است که از چهار بخش اصلی منبع تغذیه با ولتاژ بالا، ریسنده، پمپ و یک واحد جمع‌کننده تشکیل شده است (3).

1- منبع تغذیه با ولتاژ بالا (high voltage supplier): مولد میدان الکتریکی سیستم است و عموماً از نوع مستقیم (DC) می‌باشد (3). معمولاً ولتاژ بین 1-30 kV برای الکترورسی کافی است (4).

2- ریسنده (spinneret or capillary tube) لوله‌ی موئینه یا نازل فلزی است با قطر 0/7-0/2 میلی‌متر که در انتهای مخزن محلول پلیمری تعبیه شده است و به قطب مثبت اتصال پیدا می‌کند.

3- پمپ (pump): کنترل‌کننده‌ی سرعت جریان خروجی از مخزن پلیمری است (3). فشار پیستون یک سرنگ یا فشار گاز می‌تواند تأمین‌کننده‌ی نیروی لازم برای خروج محلول پلیمری باشد.

4- جمع‌کننده (collector): یک قطعه‌ی فلزی هادی است که به زمین یا الکتروود دوم (قطب منفی) متصل می‌شود. جمع‌کننده می‌تواند به شکل‌های مختلفی چون یک ورقه‌ی آلومینیومی ساکن یا یک سیلندر، میله یا استوانه‌ی دوار باشد. ماهیت جمع‌کننده به‌طور معناداری روی مرفولوژی و شاخص‌های فیزیکی الیاف حاصل اثرگذار است (3 و 5).

فرآیند الکترورسی با اعمال ولتاژ قوی و میدان الکتریکی بین نازل حاوی محلول پلیمری و جمع‌کننده‌ی الیاف ایجاد می‌شود. محلول پلیمری خارج‌شده از نازل در

مکانیسم گیرانداختن از نفوذ و هجوم باکتری‌ها محافظت کند. همچنین سطح وسیع آن برای جذب مایعات حاصل از ترشحات زخم بسیار مؤثر است (7). از طرفی، تخلخل بالای غشاهای نانوفیبری امکان تبادل گاز و بخار را فراهم می‌کند و می‌تواند رطوبت زخم را در حد مناسب حفظ کند و به تنفس پوست کمک نماید. از این پوشش‌ها می‌توان برای کنترل آزادسازی داروهای ترمیم‌کننده‌ی زخم، آنتی بیوتیک‌ها و پروتئین‌ها استفاده نمود (2 و 26).

مطالعات مختلفی که بر روی فرآیند الکترورسی صورت گرفته است نشان می‌دهد که متغیرهای مختلفی در این فرآیند دخیل بوده و در نتیجه بر ویژگی‌های نانوالیاف حاصله تأثیرگذارند. این متغیرها عبارتند از (3 و 8):

1- ویژگی‌های محلول پلیمری: وزن مولکولی پلیمر، ویسکوزیته، الاستیسیته، هدایت‌پذیری، کشش سطحی، مقاومت الکتریکی حلال و غلظت محلول.

2- شرایط فرآیند الکترورسی: ولتاژ، سرعت تخلیه‌ی محلول، نوع جمع‌کننده، قطر منفذ نازل، فاصله‌ی بین نازل تا جمع‌کننده و زمان فرآیند.

3- شرایط محیطی: دما، رطوبت نسبی، فشار و سرعت جریان هوا.

به‌طور خلاصه، افزایش غلظت محلول، وزن مولکولی پلیمر، نرخ تخلیه‌ی محلول، قطر نازل و ویسکوزیته‌ی محلول باعث افزایش ضخامت لیاف حاصل می‌شود؛ در حالی که افزایش قدرت میدان الکتریکی، هدایت‌پذیری محلول و فاصله‌ی نازل تا جمع‌کننده باعث کاهش ضخامت لیاف می‌شود (27). افزایش ولتاژ در ابتدا باعث کاهش ضخامت و پس از آن باعث افزایش ضخامت لیاف می‌شود؛ گرچه این روابط در هر سیستم حلال پلیمری ممکن است متفاوت باشد و نمی‌توان برای همه‌ی سیستم‌ها رابطه‌ی بین پارامترها و مورفولوژی لیاف ارائه کرد (1).

کیتوزان (2-amino-2-deoxy-D linked (1,4)-glucopyranose)) یک مشتق پلی‌ساکاریدی از کیتین است. کیتوزان به‌خاطر ویژگی‌هایی از قبیل غیر

سلولی تهیه کرد که روی آن کشت سلول‌های مختلف انجام شود (8). به‌دلیل شباهت نزدیک ساختار مورفولوژیکی نانوفیبرها به ماتریکس خارج سلولی، که از شبکه‌های سه‌بعدی فیبرهای پروتئینی در حد نانو نظیر کلاژن تشکیل شده است، می‌توان از آن‌ها به‌عنوان شبکه‌ای جهت اتصال و تکثیر سلول‌ها برای سازمان‌دهی بافت‌ها استفاده کرد. از طرفی، نسبت بالای سطح لیاف سبب افزایش اتصال و تکثیر سلول‌ها بر روی آن‌ها می‌شود. این ویژگی منحصر به فرد نانوفیبرها اساس کاربرد گسترده‌ی آنها را در مهندسی بافت تشکیل داده است (9). در این زمینه، امکان به‌کارگیری تکنیک الکترورسی در تهیه‌ی داربستی برای کشت سلول‌های عضله‌ی صاف (10 و 11)، سلول‌های اندوتلیال (12 و 13)، سلول‌های عصبی (14)، سلول‌های مغز استخوان (15)، سلول‌های استئوبلاست (16) و کندروسیت‌ها (17) مورد مطالعه قرار گرفته است. مساحت سطحی بالای نانوفیبرها می‌تواند آنها را به کاندید مناسبی برای سیستم‌های دارورسانی تبدیل نماید (9). از داروهایی که تاکنون در این زمینه مورد مطالعه قرار گرفته‌اند می‌توان به ایوپروفن (18)، سفازولین (19)، ریفامپین (20)، ایتراکونازول (21)، مفوکسین (22) و تتراسایکلین (23) اشاره کرد. مشخص شده است که با انکپسوله کردن داروهایی با وزن مولکولی کم در نانوالیاف، اغلب آزادسازی انفجاری مشاهده می‌شود که برای کنترل آزادسازی داروها می‌توان از روش‌های دیگری مانند کنژوگه کردن دارو به پلیمر (18) یا استفاده از ماتریکس پلیمری که تجزیه‌ی آنزیماتیک داشته باشد (20) استفاده نمود. از طرف دیگر، گزارشاتی نیز مبنی بر امکان کاربرد نانوالیاف در *gen delivery* (24) و دارو رسانی پروتئین‌ها (13 و 25) در دسترس می‌باشد. این لیاف می‌تواند به‌عنوان پوشش زخم یا نخ بخیه‌ی قابل جذب برای بدن به‌کار روند. غشای حاصل از نانوالیاف که به‌عنوان پوشش زخم به‌کار می‌روند معمولاً تخلخلی در حدود 1 میکرومتر تا 500 نانومتر دارند، این تخلخل به اندازه‌ی کافی کوچک هست که زخم را با

ساختار سه بعدی آن، مانع از جابجایی زنجیره‌های پلیمری در میدان الکتریکی می‌شود (30). در مطالعاتی از مخلوط محلول کیتوزان با محلول پلیمری دیگر، استفاده از مشتقات کیتوزان و نیز هیدرولیز کیتوزان به منظور حل مشکل عدم تشکیل نانو الیاف از کیتوزان استفاده شده است (31-33).

هدف این مطالعه، بررسی تأثیر انواع مختلف کیتوزان بر خصوصیات محلول پلیمری کیتوزان - پلی‌وینیل الکل به منظور تهیه‌ی نانو الیاف پلیمری به روش الکتروریسی و تأثیر ویژگی‌های محلول پلیمری بر تشکیل، مرفولوژی و قطر الیاف حاصل می‌باشد. کیتوزان با ویسکوزیته‌های مختلف شامل کیتوزان A (>10cp)، کیتوزان B (>25cp)، کیتوزان C (>500cp) از شرکت F.S. Svavarsson (ایسلند) خریداری شد. پلی‌وینیل الکل با وزن مولکولی 72000 و اسید استیک گلاسیال از شرکت Merck (آلمان) خریداری شد.

روش

1- **تهیه‌ی محلول‌های پلیمری:** پلی‌وینیل الکل در آب مقطر با دمای 100°C به نسبت 10 درصد وزنی - وزنی حل شد و برای مدت 2 ساعت در آن 90°C تا حصول محلول یکنواخت قرار داده شد. در این مدت، محلول توسط شیکر مکرراً هم زده شد و سپس تا دمای اتاق سرد گردید. از سه نوع کیتوزان A، B و C با حل کردن در محلول استیک اسید 2 درصد، محلول‌های 2 درصد و 3 درصد تهیه شد. برای تهیه‌ی محلول الکتروریسی، دو گرم از محلول 10 درصد پلی‌وینیل الکل به دو گرم از محلول کیتوزان 2 درصد و 3 درصد اضافه شد و تا حاصل شدن محلول یکنواخت هم زده شد تا به‌طور جداگانه محلول‌هایی با نسبت 50:50 (PVA:CS) از انواع کیتوزان حاصل شود. در جدول 1 مشخصات این محلول‌ها نشان داده شده است.

2- **اندازه‌گیری ویسکوزیته‌ی محلول‌ها:** ویسکوزیته با 7 میلی‌لیتر از محلول‌های پلیمری در دمای 22°C و سرعت

سمی بودن، زیست تخریب‌پذیری و سازگاری زیستی به‌خوبی شناخته شده است. دارا بودن ویژگی‌های منحصربه‌فرد دیگری مانند مهار رشد طیف وسیعی از قارچ‌ها، مخمرها و باکتری‌ها دلیل استفاده‌ی وسیع آن در زمینه‌ی پزشکی است. به‌علاوه، کیتوزان می‌تواند با یون‌های سمی باند شود و در تصفیه‌ی آب استفاده گردد (27). همچنین قابلیت‌های کیتوزان به‌عنوان پوست مصنوعی، نخ بخیه، کنترل‌کننده‌ی کلسترول خون، کاهش‌دهنده‌ی وزن، ضد التهاب، مهار کننده‌ی رشد تومور، مهار پلاک دندان، هموستاتیک، تسریع‌کننده‌ی بهبود زخم، پوشش زخم، اسفنج و بانداژ، عروق خونی مصنوعی و کنترل‌کننده‌ی آزادسازی دارو مورد بررسی قرار گرفته است (28).

پلی‌وینیل الکل (PVA) یک پلیمر سنتتیک محلول در آب است که فرمول شیمیایی آن $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ می‌باشد و به‌صورت تجاری از هیدرولیز پلی‌وینیل استات حاصل می‌شود. این پلیمر محلول در آب، کمی محلول در اتانول 95 درصد و نامحلول در حلال‌های آلی می‌باشد.

پلی‌وینیل الکل خواص متعددی مثل سازگاری زیستی، هیدروفیلیسیته‌ی بالا، توانایی تشکیل فیلم و فیبر و مقاومت شیمیایی و مکانیکی دارد. این پلیمر به‌عنوان ماده‌ی پایدارکننده در امولسیون‌ها، افزایش‌دهنده‌ی ویسکوزیته در فرمولاسیون‌های ویسکوز مثل فرآورده‌های چشمی، در فرمولاسیون اشک مصنوعی و محلول‌های لنزهای تماسی به‌عنوان لوبریکانت و در فرمولاسیون‌های آهسته رهش برای کاربرد چشمی و پیچ‌های ترانس درمال به‌کار می‌رود. پایداری شیمیایی PVA در دمای طبیعی و همچنین ویژگی فیزیکی و مکانیکی عالی آن باعث کاربرد وسیع آن در صنعت پزشکی، آرایشی، غذایی، داروسازی و بسته‌بندی شده است (7 و 29). علی‌رغم ویژگی‌های منحصر به‌فرد کیتوزان، تحقیقات نشان داده است که محلول کیتوزان به‌تنهایی قابلیت ایجاد نانو الیاف را ندارد. یکی از مشکلات الکتروریسی کیتوزان، ویسکوزیته‌ی بالای آن است؛ به‌علاوه پیوندهای هیدروژنی قوی در

6- FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy):

برای انجام تست FTIR از دستگاه مدل Vertex70 (بروکر - آلمان) استفاده شده است. این تست روی پودر کیتوزان C پودر پلی وینیل الکل و الیاف حاصل از محلول مخلوط این دو انجام گرفت.

7- DSC (Differential Scanning Calorimetry):

برای انجام این تست از دستگاه DSC مدل STARE1 (متلر تولدو - سویس) استفاده شد. تست DSC بر روی پودر کیتوزان C، پودر پلی وینیل الکل و الیاف به دست آمده از محلول مخلوط این دو انجام گرفت. بدین صورت که 5-15 میلی گرم از نمونه‌ها درون یک پن آلومینیومی seal شد و سپس درون دستگاه DSC قرار گرفتند. نمونه‌های مورد نظر در دامنه‌ی 0-250 درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت 10°C/min حرارت داده شد و نمودار ترموگرام آنها ثبت گردید.

نتایج**1- اندازه‌گیری ویسکوزیته:**

نتایج حاصل از اندازه‌گیری ویسکوزیته‌ی محلول‌ها در جدول 2 آمده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، بیشترین ویسکوزیته به میزان 583 سانتی‌پواز و مربوط به محلول پلی وینیل الکل 10 درصد می‌باشد که با اضافه شدن محلول کیتوزان به آن ویسکوزیته کاهش یافته است. ویسکوزیته مخلوط محلول انواع کیتوزان و درصد‌های مختلف آن با پلی وینیل الکل بین 197 تا 550 متغیر است. واضح است که هر چه ویسکوزیته‌ی کیتوزان و غلظت آن کمتر باشد این کاهش بیشتر است؛ به گونه‌ای که کمترین ویسکوزیته‌ی محلول مربوط به مخلوط کیتوزان 2 A درصد و PVA 10 درصد و بیشترین ویسکوزیته مربوط به مخلوط کیتوزان C 3 درصد و PVA 10 درصد می‌باشد. ویسکوزیته از فاکتورهای مهم محلول پلیمری، الکتروریسی محسوب می‌شود. برای هر محلول پلیمری، یک ویسکوزیته‌ی بحرانی وجود دارد که در کمتر از این ویسکوزیته، درگیری زنجیره‌ها برای غلبه بر دافعه‌ی

چرخش 100 rpm توسط دستگاه ویسکومتر Brookfield (DV-II) (امریکا) اندازه‌گیری شد.

3- شرایط الکتروریسی: 3 سی‌سی از محلول پلیمری در سرنگ 10 سی‌سی، پس از حباب‌گیری در محل تزریق قرار داده شد. یک استوانه‌ی استیل چرخان با سرعت چرخش 600 rpm که با فویل آلومینیومی پوشیده شده بود و در فاصله‌ی 20 سانتی‌متری از نیدل قرار داشت، به‌عنوان جمع‌کننده‌ی الیاف استفاده شد. سرعت تخلیه‌ی محلول از سرنگ، 1 میلی‌لیتر در ساعت بود. برای انجام الکتروریسی از ولتاژ 19 kV در شرایط معمول آزمایشگاهی (دمای حدود 25 درجه) استفاده شد. الکتروریسی تا ایجاد یک لایه‌ی کاملاً سفید روی فویل ادامه پیدا کرد.

4- تهیه‌ی تصاویر میکروسکوپ الکترونی

رویشی (SEM): برای تهیه‌ی تصاویر SEM از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل LEO 1455vp (آلمان) استفاده شد. پس از الکتروریسی محلول‌های پلیمری، فویل آلومینیومی حاوی فیبرها از روی استوانه‌ی جمع‌کننده برداشته شد. قطعاتی از این فویل برای تهیه‌ی تصاویر SEM برش داده شد و با استفاده از چسب دوطرفه روی استاب میکروسکوپ الکترونی چسبانده شد و با استفاده از نقره به‌مدت 1 دقیقه روکش داده شد. سپس تصاویر میکروسکوپ الکترونی از آنها تهیه گردید.

5- اندازه‌گیری قطر الیاف: قطر حدود 20-30 عدد از الیاف در تصاویر SEM با استفاده از نرم‌افزار Measurement اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از این داده‌ها، میانگین و انحراف معیار قطر الیاف حاصل از هر نمونه محاسبه شد. جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه به‌همراه تست student-newman-keuls و به کمک نرم‌افزار آماری GraphPad-Instat V 3.06 استفاده گردید. در صورتی که در مقایسه‌ی دو فرمول $p < 0/05$ باشد، اختلاف آنها معنادار در نظر گرفته می‌شود.

می‌شود که کیتوزان به مدت 48 ساعت هیدرولیز شود (32). بنابراین بسته به نوع پلیمر و حلال باید ویسکوزیته‌ی بهینه‌ی محلول پلیمری به دست آید. ویسکوزیته خود تحت تأثیر وزن مولکولی و غلظت تغییر می‌کند و باید با توجه به این دو ویژگی، ویسکوزیته‌ی مطلوب برای الکتروریسی محلول را پیدا کنیم.

2- قابلیت تهیه‌ی الیاف و مرفولوژی الیاف تشکیل شده:

تصاویر میکروسکوپ الکترونی الیاف حاصل از محلول پلی‌وینیل الکل و مخلوط پلی‌وینیل الکل - کیتوزان در شکل‌های 1 و 2 نشان داده شده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که برخلاف پلی‌وینیل الکل، محلول کیتوزان به تنهایی صرف نظر از نوع و غلظت آن، قابلیت الکتروریسی و ایجاد نانوالیاف را ندارد. در صورتی که الکتروریسی محلول 10 درصد پلی‌وینیل الکل، الیاف یکنواخت و بدون دانه‌های دوکی شکل تولید می‌کند که از نظر مورفولوژی مطلوب‌ترین ظاهر را دارا است. این الیاف بیشترین قطر میانگین را دارند. با اضافه شدن محلول کیتوزان به محلول پلی‌وینیل الکل، از ضخامت الیاف کاسته و دانه‌های دوکی شکل ظاهر می‌شود. میانگین قطر الیاف حاصل در جدول 2 آمده است.

کولونی کافی نیست و باعث تشکیل قطرات جدا از هم به جای تشکیل یک رشته‌ی پیوسته می‌شود (31)، در این حالت به جای الکتروریسی، پدیده‌ی الکترو اسپری خواهیم داشت. محلول‌هایی که ویسکوزیته‌ی کمی دارند، در روند الکتروریسی به جای فیبر عمدتاً دانه‌های دوکی شکل ایجاد می‌کنند. الکتروریسی این محلول‌ها به صورت منقطع بوده است و تداوم ندارد. به تدریج که ویسکوزیته افزایش می‌یابد نانو الیاف تشکیل می‌شود و از تعداد دانه‌های دوکی شکل کاسته می‌شود. وقتی که ویسکوزیته باز هم افزایش یابد دانه‌های دوکی شکل مجدداً ظاهر و الیافی با ضخامت‌های مختلف تشکیل می‌شود که احتمالاً به دلیل شکافته شدن جریان پرتاب شده از نیدل به سمت جمع‌کننده می‌باشد. اگر ویسکوزیته باز هم بیشتر شود، فیبری تشکیل نمی‌شود، چون محلول با ویسکوزیته‌ی بالا قدرت خروج از سرنگ را ندارد. یکی از مشکلات الکتروریسی کیتوزان با وزن مولکولی بالا، ویسکوزیته‌ی بالای آن گزارش شده است. در یکی از مطالعات از هیدرولیز قلیایی کیتوزان در محلول اسید استیک 70-90 درصد به منظور کاهش ویسکوزیته‌ی محلول کیتوزان استفاده شده است. نتایج این مطالعه نشان داده است که کاهش غلظت اسید استیک در حلال، قطر میانگین نانوالیاف را افزایش می‌دهد و بهترین نتیجه وقتی حاصل

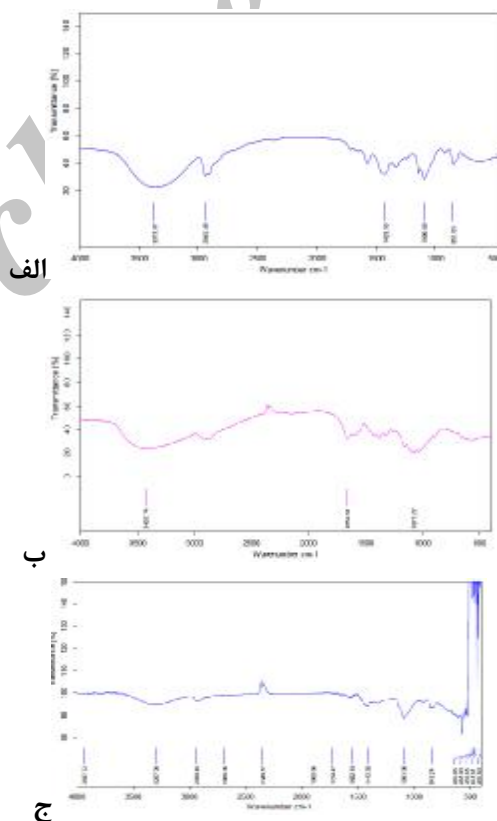
جدول شماره‌ی 1: اجزای محلول‌های پلیمری تهیه شده از انواع مختلف کیتوزان برای الکتروریسی

نوع کیتوزان	ویسکوزیته	غلظت (وزنی - وزنی)	محلول تهیه شده برای الکتروریسی Chitosan:PVA (50:50)
A	۱۰ >	۲%	۲g CS A %۲ + ۲g PVA (%۱۰)
		۳%	۲g CS A %۳ + ۲g PVA (%۱۰)
B	۲۵ >	۲%	۲g CS B %۲ + ۲g PVA (%۱۰)
		۳%	۲g CS B %۳ + ۲g PVA (%۱۰)
C	۵۰۰ >	۲%	۲g CS C %۲ + ۲g PVA (%۱۰)
		۳%	۲g CS C %۳ + ۲g PVA (%۱۰)

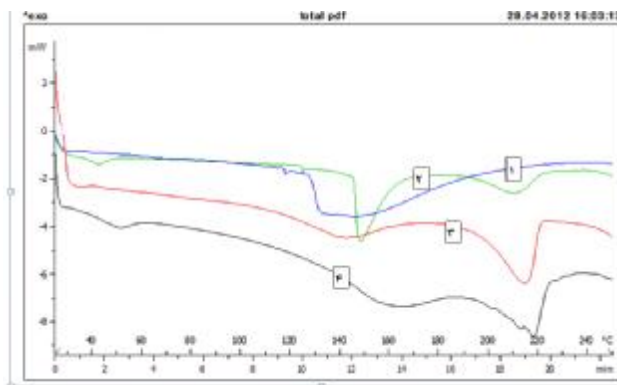
در بقیه‌ی موارد اختلاف بین گروه‌ها معنادار به‌دست آمد ($p < 0/05$). کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونی با گروه‌های آمینی است که دانسیته‌ی بار بالایی دارد. وقتی بار حمل‌شده توسط فیبر افزایش یابد، فیبرها در میدان الکتریکی در اثر خود دفعی شدیداً کشیده و باریک می‌شود. این فرضیه توضیح می‌دهد که چرا با افزودن کیتوزان به محلول پلی‌وینیل الکل، میانگین قطر الیاف کاهش می‌یابد (34). افزایش مشاهده‌شده در میانگین قطر الیاف در اثر افزایش غلظت و ویسکوزیته‌ی کیتوزان را می‌توان به مقاومت محلول پلیمری در برابر کشیده شدن و کاهش قطر به‌علت افزایش ویسکوزیته‌ی محلول نهایی نسبت داد. نتایج نشان داد که در بین انواع مختلف کیتوزان، کیتوزان با ویسکوزیته‌ی $> 500\text{cp}$ الیاف یکنواخت‌تری را ایجاد می‌کند.

3- بررسی طیف FTIR الیاف: ویژگی‌های پودر کیتوزان c و پلی‌وینیل الکل و نانوالیاف حاصل در طیف FTIR در شکل 3 نشان داده شده است.

با توجه به تصاویر، به‌طور کلی محلول‌های 2 درصد از کیتوزان، الیاف بهتری تولید می‌کنند. این الیاف یکنواخت‌تر هستند و دانه‌های دوکی کمتری دارند. همچنین در این مطالعه مشخص شد که با افزودن کیتوزان، ضخامت الیاف کمتر و دانه‌های دوکی‌شکل نیز بیشتر می‌شود. میانگین قطر نانوالیاف حاصل از مخلوط‌های مختلف کیتوزان و پلی‌وینیل الکل در جدول 2 نشان داده شده است. بیشترین قطر میانگین مربوط به الیاف حاصل از محلول 10 درصد پلی‌وینیل الکل به تنهایی است که 1064/56 نانومتر به‌دست آمده است. افزودن کیتوزان با غلظت‌ها و ویسکوزیته‌های مختلف به محلول فوق‌الذکر باعث کاهش قطر الیاف حاصل می‌شود ($p < 0/001$). آنالیز آماری نتایج نشان داد که قطر الیاف دارای محلول کیتوزان A 2 درصد با الیاف حاصل از کیتوزان A 3 درصد و کیتوزان B 2 درصد و همچنین قطر الیاف حاصل از افزودن کیتوزان A 3 درصد با کیتوزان B 3 درصد اختلاف معناداری ندارند ($p > 0/05$).



شکل شماره 3: طیف FTIR؛ الف) نمونه‌ی پودر پلی‌وینیل الکل، ب) نمونه‌ی پودر کیتوزان C (ج) نمونه‌ی فیبر حاصل از مخلوط پلیمری کیتوزان C 2 درصد - پلی‌وینیل الکل



شکل شماره 4: ترموگرام نمونه‌ی پودر کیتوزان C (1)، نمونه‌ی الیاف مخلوط کیتوزان C 2 درصد و پلی‌وینیل الکل (2)، نمونه‌ی پودر پلی‌وینیل الکل (3) و نمونه‌ی الیاف پلی‌وینیل الکل (4)

در نمونه‌ی PVA چهار ناحیه‌ی مشخص قابل مشاهده است که عبارتند از: پیک در ناحیه‌ی 3373 مربوط به گروه‌های OH، پیک در ناحیه‌ی 2942 مربوط به C-H های آلیفاتیک، پیک در ناحیه‌ی 1423 مربوط به گروه‌های CH₂ (حرکات خمشی) و پیک ناحیه‌ی 1096 مربوط به گروه‌های C-O. در نمونه‌ی کیتوزان، جذب ناحیه‌ی 3426 مربوط به گروه‌های OH و NH₂ است که چون در یک ناحیه جذب دارند، پیک‌های مربوط به آنها یکدیگر را می‌پوشانند. جذب ناحیه‌ی 2877 مربوط به C-H های آلیفاتیک و جذب ناحیه‌ی 1077 مربوط به C-O دیده می‌شود. احتمالاً جذب ناحیه‌ی 1659 مربوط به C=O گروه آمیدی تجزیه نشده باشد.

نسبت به جذب‌های این گروه در PVA (3373) و کیتوزان (3426)، در فرکانس کمتری اتفاق افتاده است و این امر می‌تواند دلیلی بر تشکیل پیوندهای هیدروژنی جدید بین گروه‌های OH در PVA و کیتوزان باشد که باعث کاهش قدرت پیوند OH و در نتیجه کاهش فرکانس می‌گردد. بنابراین می‌توان پیش‌بینی کرد که در PVA و کیتوزان از طریق تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه‌های OH بر یکدیگر اثرات متقابل داشته است و بدین ترتیب در نمونه‌ی تهیه‌شده کنار یکدیگر قرار می‌گیرند.

تست DSC: ترموگرام حاصل از تست DSC پودرهای کیتوزان و پلی‌وینیل الکل و همچنین نانوالیاف حاصل از محلول پلی‌وینیل الکل به‌تنهایی و مخلوط با کیتوزان در شکل 4 نمایش داده شده است.

با دقت در نمودار ترموگرام پودر کیتوزان یک پیک اندوترم کوچک در محدوده‌ی 45 درجه، یک پیک باریک در 120 درجه و یک پیک بسیار پهن بعد از 130 درجه سانتی‌گراد دیده می‌شود. با توجه به اینکه کیتوزان قبل از ذوب در 270 درجه دچار تجزیه می‌شود (35)، پیک پهن و کوچک اولیه می‌تواند مربوط به از دست رفتن آب آزاد جذب‌شده به پودر کیتوزان و پیک باریک احتمالاً مربوط به Tg پلیمر و پیک پهن ثانویه می‌تواند مربوط به از دست رفتن آب باند شده به کیتوزان با پیوندهای

در نمونه‌ی الیاف تهیه‌شده از مخلوط کیتوزان و پلی‌وینیل الکل چهار ناحیه مشخص مشاهده می‌شود. جذب ناحیه‌ی 3297 مربوط به گروه‌های OH, NH₂. جذب ناحیه‌ی 1413 مربوط به گروه CH₂. جذب ناحیه‌ی 1091 مربوط به گروه‌های C-O و جذب ناحیه‌ی 2933 مربوط به C-H های آلیفاتیک. در نمونه‌ی الیاف تهیه‌شده از دو پلیمر جذب نواحی مشخص از هر ترکیب دیده می‌شود. به‌عنوان مثال، جذب‌های خمشی گروه‌های CH₂ در PVA که در نمونه‌ی تهیه‌شده نیز حدود 1413 مشاهده می‌گردد. به‌نظر می‌رسد که در نمونه‌ی تهیه‌شده جذب‌های گروه OH که در محدوده‌ی 3297 قابل مشاهده است

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بر خلاف پلی‌وینیل الکل امکان تهیه نانوالیاف از هیچ‌کدام از انواع کیتوزان به‌تنهایی وجود ندارد. در بین انواع کیتوزان مورد مطالعه، کیتوزان با ویسکوزیته‌ی 500 cp با غلظت 2 درصد الیاف یکنواخت‌تری ایجاد می‌کند. PVA و کیتوزان از طریق تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه‌های OH بر یکدیگر اثرات متقابل داشته‌اند و بدین ترتیب در نمونه‌ی تهیه‌شده کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. نتایج حاصل از DSC نشان می‌دهد که تهیه‌ی نانوالیاف از پلی‌وینیل الکل باعث افزایش قدرت جذب آب و میزان آب باندشده در مقایسه با فرم پودری می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه‌ی دانشجویی خانم بهجت رضایی است که به‌عنوان یک طرح تحقیقاتی مصوب از طرف معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز حمایت مالی شده است. نویسندگان مقاله از راهنمایی‌های ارزنده‌ی سرکار خانم دکتر آذر مستوفی در تفسیر طیف‌های FTIR کمال تشکر را دارند.

هیدروژنی باشد. در مورد نمونه‌ی پودر پلی‌وینیل الکل نیز پیک پهن محدوده‌ی 140 درجه را می‌توان به آب باندشده به پلیمر نسبت داد. پیک تیز ناحیه‌ی 220 درجه نیز مربوط به نقطه‌ی ذوب پلی‌وینیل الکل می‌باشد. همان‌طور که در شکل 4 دیده می‌شود پیک ذوب پلی‌وینیل الکل در ترموگرام فیبر حاصل از آن بدون تغییر باقی مانده، ولی پیک پهن ناحیه‌ی 140 درجه ضمن شیفت به سمت 150 درجه عمیق‌تر نیز شده است. این پدیده، نشان‌دهنده‌ی افزایش قدرت جذب آب و میزان آب باندشده به نانوالیاف پلی‌وینیل الکل در مقایسه با فرم پودری آن است. به‌علاوه، پیک جدیدی نیز در ناحیه‌ی 50 درجه ظاهر شده است که مربوط به از دست رفتن آب آزاد جذب‌شده به نانوالیاف می‌باشد. به‌طور کلی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که با تبدیل پودر به نانوالیاف تمایل پلیمر به جذب آب (هم به‌صورت آزاد و هم باندشده) افزایش یافته است. با دقت در ترموگرام نانوالیاف حاصل از مخلوط کیتوزان و پلی‌وینیل الکل مشاهده می‌شود که پیک مربوط به ذوب پلی‌وینیل الکل در محدوده‌ی 220 درجه تقریباً بدون تغییر مانده، ولی پهن‌تر شده است. از طرفی، پیک اندوترم قوی و نسبتاً عمیقی در 150 درجه دیده می‌شود که احتمالاً در اثر افزایش پیک‌های مربوط به آب باندشده به هر کدام از پلیمرها می‌باشد. پیک کوچک مرتبط با T_g کیتوزان نیز همچنان قابل مشاهده بوده، ولی به سمت 130 درجه شیفت یافته است.

References

- 1- Sill TJ, von Recum HA. Electrospinning: application in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials* 2008;29(13):1989-2006.
- 2- Chew SY, Wen Y, Dzenis Y, Leong KW. The role of electrospinning in the emerging field of nanomedicine. *Cur Pharm Des* 2006;12(36):4751-70.
- 3- Mosavi Shushtari A, Mohiti Asli M. [The effect of polymer solution properties on the characteristics of electrospun nanofibers]. *Nanotech Monthly* 2007;6(124):663-9. [In Persian]
- 4- Li D, Xia Y. Electrospinning of nanofibers: Reinventing the Wheel? *Adv Mater* 2004;16(14):1151-70.
- 5- Huang ZM, Zhang YZ, Kotaki M, Ramakrishna S. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Compos Sci Technol* 2003;63(15):2223-53.
- 6- Panaboon S. Electrospinning of PVA /Chitosan fibers for wound dressing application [dissertation]. Bangkok: King Mongkuts Institute of Thechnology; 2005. P. 3-11.
- 7- Reneker DH, Yarin AL, Zussman E, Xu H. Electrospinning of nanofibers from polymer solution and melts. *Adv Appl Mech* 2007;41:43-195.
- 8- Zhang X, Reagan MR, Kaplan DL. Electrospun silk biomaterial scaffolds for regenerative medicine. *Adv Drug Del Rev* 2009;61(12):988-1006.
- 9- Tahmasebpour I, Biparva P, Esfahaninan M. [Application of Nnanotechnology in Biology and Medical Sciences]. Tehran: Adiban Press; 2009. (Persian)
- 10- Xu C, Inai R, Kotaki M, Ramakrishna S. Electrospun nanofiber fabrication as synthetic extracellular matrix and its potential for vascular tissue engineering. *Tissue Eng* 2004;10(7-8):1160-8.
- 11- Venugopal J, Ma LL, Yong T, Ramakrishna S. In vitro study of smooth muscle cells on polycaprolactone and collagen nanofibrous matrices. *Cell Biol Int* 2005;29(10):861-7.
- 12- Xu C, Yang F, Wang S, Ramakrishna S. In vitro study of human vascular endothelial cell function on materials with various surface roughness. *J Biomed Mater Res A* 2004;71(1):154-61.
- 13- Zeng J, Aigner A, Czubayko F, Kissel T, Wendorff JH, Greiner A. Poly(vinyl alcohol) nanofibers by electrospinning as a protein delivery system and the retardation of enzyme release by additional polymer coatings. *Biomacromolecules* 2005;6(3):1484-8.
- 14- Yang F, Murugan R, Wang S, Ramakrishna S. Electrospinning of nano/micro scale poly (L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials* 2005;26(15):2603-10.
- 15- Zhang Y, Ouyang H, Lim CT, Ramakrishna S, Huang ZM. Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 2005;72(1):156-65.
- 16- Fujihara K, Kotaki M, Ramakrishna S. Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers. *Biomaterials* 2005; 26(19): 4139-47.
- 17- Shields KJ, Beckman MJ, Bowlin GL, Wayne JS. Mechanical properties and cellular proliferation of electrospun collagen type II. *Tissue Eng* 2004;10(9-10):1510-6.
- 18- Jiang H, Fang D, Hsiao D, Chu B, Chen W. Preparation and characterization of ibuprofen-loaded poly (lactide-co-glycolide)/ poly(ethylene glycol)-g-chitosan electrospun membranes. *J Biomater Sci Polym Ed* 2004;15(3):279-96.
- 19- Katti DS, Robinson KW, Ko FK, Laurencin CT. Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: optimization of fabrication parameters. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004;70(2):286-96.
- 20- Zeng J, Xu X, Chen X, Liang Q, Bian X, Yang L, Jing X. Biodegradable electrospun fibers for drug delivery. *J Control Release* 2003;92(3):227-31.
- 21- Verreck G, Chun I, Peeters J, Rosenblatt J, Brewster ME. Preparation and characterization of nanofibers containing amorphous drug dispersions generated by electrostatic spinning. *Pharm Res* 2003;20(5):810-7.
- 22- Kim K, Luu YK, Chang C, Fang D, Hsiao BS, Chu B, et al. Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. *J Control Release* 2004;98(1):47-56.

- 23- Kenawy el-R, Bowlin GL, Mansfield K, Layman J, Simpson DG, Sanders EH, et al. Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate, poly(lactic acid), and a blend. *J Control Release* 2002;81(1-2):57-64.
- 24- Luu YK, Kim K, Hsiao BS, Chu B, Hadjiargyrou M. Development of nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA- PEG block copolymers. *J Control Release* 2003;89(2):341-53.
- 25- Kwon ILK, Matsuda T. Co-electrospun nanofibers fabrics of poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) with Type I collagen or Heparin. *Biomacromolecules* 2005;6(4):2096-105.
- 26- Jayakumar R, Prabakaran M, Nair SV, Tamura H. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. *Biotechnol Adv* 2010;28(1):142-50.
- 27- Sun K, Li ZH. Preparations, properties and application of chitosan based nanofibers fabricated by electrospinning. *Polym Lett* 2011;5(4):342-61.
- 28- Shu XZ, Zhu KJ. A novel approach to prepare tripolyphosphate /chitosan complex beads for controlled release drug delivery. *Int J Pharm* 2000;201(1):51-8.
- 29- Row RC, Sheskey PJ, Owen SC, eds. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 5th ed. London: Pharmaceutical Press; 2006.
- 30- Ohkawa, K, Cha D, Kim H, Nishida A, Yamamoto H. Electrospinning of chitosan. *Macromol Rapid Com* 2004;25(18):1600-5.
- 31- Alipour SM, Nouri M, Mokhtari J, Bahrami SH. Electrospinning of poly (vinyl alcohol)-water-soluble quaternized chitosan derivative blend. *Carbohyd Res* 2009;344(18):2496-501.
- 32- Homayooni H, Razandi SH, Valizadeh M. Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization. *Carbohyd Polymer* 2009;77:656-61.
- 33- Xu J, Zhang J, Gao W, Liang H, Wang H, Li J. Preparation of chitosan/PLA blend micro/nanofibers by electrospinning. *Mater Lett* 2009;63(8):658-60.
- 34- Huang CC, Lin CK, Lu CT, Lou CW, Chao CY, Lin JH. Evaluation of the electrospinning manufacturing process based on the preparation of PVA composite fibers. *Fibers and Textile in Eastern Europe* 2009;17(3):34-7.
- 35- Sarasam AR, Krishnaswamy RK, Madihally SV. Blending chitosan with polycaprolactone: effects on physicochemical and antibacterial properties. *Biomacromolecules* 2006;7(4):1131-8.

Effect of polymer solution properties on the formation and morphology of chitosan / polyvinyl alcohol nanofibers by electrospinning

Mohammad Reza Abbaspour PhD¹, Behjat Rezaee^{2*}, Behzad Shrif Makhmalzadeh¹

1- Assistant professor, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Nanotechnology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2- Pharm. D Student, School of Pharmacy, Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding Author:

Behjat Rezaee, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: 06113738381
E-mail: behjatrezaee@yahoo.com

Abstract

Background: Electrospinning is an old technique established for the preparation of submicron polymeric fibers. Recently, electrospun nanofibers have shown several medical and pharmaceutical advantages due to their extremely small diameter and high porosity. They can imitate the extra cellular matrix (ECM), utilized as wound healing and protective dressing. Chitosan is one of the important biomaterials which has shown wound healing and antimicrobial properties. The main purpose of this study is to investigate the effect of solution properties of chitosan such as concentration, viscosity on nanofiber formation and morphology.

Methods: Chitosan solutions (2 and 3% w/v), with three different molecular weights prepared in 2% acetic acid. The solutions mixed with a 10% w/v polyvinyl alcohol solution (1:1 ratio) and analyzed for their viscosity. Nanofibers prepared with electrospinning technique and the morphology and diameter of resulting nanofibers were tested by scanning electron microscopy (SEM) and image analysis. Possible physicochemical interactions between PVA and chitosan also evaluated by FTIR and DSC analysis.

Results: The results showed that the PVA solution has the highest viscosity and addition of chitosan decreases its viscosity. Electrospinning of chitosan solution by itself was impossible but addition of PVA could facilitate the process. SEM analysis revealed that PVA solution results in smooth fibers which were comparatively large in diameter. Increasing chitosan decreased the nanofibers diameter and caused the formation of beaded structures.

Conclusion: The results indicated that Chitosan with <500cp viscosity seems to produce more uniform nanofibers.

Keywords: electrospinning, nanofiber, chitosan, polyvinyl alcohol

Received: 06.06.2012

Accepted: 13.06.2012