

Core/Shell Nanofibers of Silk Fibroin/Polyvinyl Alcohol: Structure and Controlled Release Behavior

Nadia Rahimi Tanha and Mahdi Nouri*

Department of Textile Engineering, Faculty of Engineering, University of Guilan, P.O. Box: 3756,
Rasht, Iran

Received: 21 December 2016, accepted: 14 January 2018

ABSTRACT

Hypothesis: Core-shell nano-fibrous structures obtained from biodegradable and biocompatible polymers such as silk fibroin (SF) have potential applications in drug delivery and tissue engineering. In this work, coaxial electrospinning of silk fibroin as shell and salicylic acid (SA)/polyvinyl alcohol (PVA) blends as core was studied to fabricate core-shell nano-fibrous structures.

Methods: Silk fibroin was extracted from cocoon and dissolved in formic acid. An assembled coaxial nozzle was used to fabricate core-shell nanofibers of SF as shell and PVA/salicylic acid as core components, respectively.

Findings: Effects of variation in viscosity and electrical conductivity of the electrospinning solutions on the final nanofibers morphology, diameters and SA release behaviors were studied using Fourier transforms infrared spectroscopy (FTIR), viscometry, electrical conductometry, ultraviolet spectrophotometry, scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) techniques. Finally, a suitable model for release behaviors of the fabricated core-shell nanofibers was suggested. It was found that the final diameter of fabricated core-shell nanofibers varied from 110 (± 22) to 250 (± 71) nm and diameter of the core section varied from 40 to 80 nm. The experimental results showed that the shell solution concentration had a significant effect on the final core-shell nanofiber diameter, but increase in the core solution concentration had an insignificant effect on the final nanofibers diameter. It was concluded that the core solution concentration was not the only effective parameter in determining the final diameters of electrospun nanofibers, and the viscosities of shell and core solutions and their electrical conductivities were just as important parameters. According to the results of release profiles, the ratio of the components in core and shell was the effective parameter affecting the profiles of SA released from these structures. The higher PVA concentration in the core increased both the amount of SA and its release rate from fabricated core-shell nanofibers.

Keywords:

coaxial electrospinning,
core-shell,
silk fibroin,
controlled release,
nanofibers

(*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: mnouri69@guilan.ac.ir

Please cite this article using:

Rahimi Tanha N. and Nouri M., Core/Shell Nanofibers of Silk Fibroin/Polyvinyl Alcohol: Structure and Controlled Release Behavior, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **30**, 473-488, 2018.

نانوالیاف هسته-پوسته فیبروئین ابریشم-پلی‌وینیل‌الکل: ساختار و رفتار رهایش کنترل شده

نادیا رحیمی تنها، مهدی نوری*

رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده فنی، گروه مهندسی نساجی، صندوق پستی ۳۷۵۶

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱، پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۴

چکیده

ساختارهای نانولیفی هسته-پوسته تهیه شده از پلیمرهای زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر نظیر فیبروئین ابریشم، کاربردهای بالقوه فراوانی در مهندسی بافت و دارورسانی دارند. در این بررسی، الکتروریسی هم‌محور فیبروئین ابریشم به‌عنوان جزء پوسته و ترکیب سالیسیلیک اسید و پلی‌وینیل‌الکل در هسته، برای تهیه ساختار نانولیفی هسته-پوسته انجام شد. اثر تغییرات غلظت، رسانندگی الکتریکی و گرانشی و محلول‌ها با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR)، گرانشی و رسانایی‌سنجی محلول‌ها، طیف‌نورسنجی فرابنفش، میکروسکوپی‌های الکترونی پویشی (SEM) و عبوری (TEM) بر قطر نهایی نانوالیاف هسته-پوسته تهیه شده و رفتار رهایش آن‌ها بررسی شد. در نهایت سعی شد تا مدل مناسبی برای رفتار رهایش سالیسیلیک اسید از این ساختار هسته-پوسته ارائه شود. نتایج نشان داد، قطر نهایی نانوالیاف هسته-پوسته به‌دست آمده در محدوده $110 (\pm 22)$ nm تا $250 (\pm 71)$ nm و قطر هسته آن‌ها 40 nm تا 80 nm متغیر بود. با توجه به نقش رسانانندگی جزء پوسته در الکتروریسی هم‌محور، ارتباط مستقیم بین افزایش غلظت محلول پوسته و قطر نهایی در نتایج مشاهده شد، درحالی‌که افزایش غلظت محلول هسته در همه شرایط اثر معناداری بر قطر الیاف الکتروریسی شده نداشت. نتایج نشان داد، غلظت محلول هسته تنها عامل تعیین‌کننده قطر نانوالیاف نیست و اثر اختلاف گرانشی و رسانندگی الکتریکی محلول پوسته و هسته نیز نقش مؤثری بر قطر نهایی نانوالیاف دارد. مطالعه رهایش سالیسیلیک اسید نشان داد، نسبت ترکیب درصد پوسته و هسته، عامل مؤثری بر مقدار و سرعت رهایش از این ساختارهاست، به‌طوری‌که افزایش مقدار سالیسیلیک اسید رها شده و سرعت رهایش آن با افزایش درصد پلی‌وینیل‌الکل در ترکیب هسته مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی

الکتروریسی هم‌محور،
هسته-پوسته،
فیبروئین ابریشم،
رهایش کنترل‌شده،
نانوالیاف

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
mnouri69@guilan.ac.ir

مقدمه

بسیاری از روش‌های متداول مصرف دارو باعث افزایش زمان مصرف آن می‌شود که می‌تواند موجب بروز مشکلاتی برای بیمار شود. مطلوب‌ترین شکل دارورسانی این است که مقدار لازم از دارو به عضو آسیب‌دیده تحویل داده شود و برای عضو قابل جذب باشد [۱،۲]. استفاده از بسترهای دارورسان در ابعاد نانو و میکرو دو هدف کلی افزایش اثر درمانی داروی مصرفی است که به واسطه افزایش سطح تماس برآورده می‌شود و کاهش اثرهای جانبی دارو بر سایر اندام‌ها [۲] را در پی دارد.

ذرات با ابعاد نانو و میکرو، هیدروژل‌ها، میسل‌ها، لیپوزوم‌ها و نانولوله‌ها دارورسان‌هایی هستند که تا به امروز استفاده شده‌اند. سرعت آزادسازی دارو از ساختار تولید شده مهم‌ترین عامل در استفاده از این سامانه‌هاست. برای اندازه‌گیری این پارامتر از طیف‌نورسنج فرابنفش (UV) در طول موج‌های بین ۲۰۰ nm تا ۴۰۰ nm به طور گسترده استفاده می‌شود [۱].

در سال‌های اخیر، استفاده از پلیمرها و زیست‌پلیمرهای زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر برای مصارف پزشکی و دارورسانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۳-۶]. از این مواد برای کاربردهایی نظیر زخم‌پوش‌ها [۳،۴]، دارورسانی [۵،۷] یا داربست‌های کشت سلول و بافت [۷،۸] استفاده می‌شود. این پلیمرها به‌طور عمده شامل کلاژن، فیبروئین ابریشم، کوپلیمر لاکتید-گلیکولید، پلی‌لاکتیک اسید، پلی‌گلیکولیک اسید و پلی‌کاپرولاکتون هستند. تعدادی از این پلیمرها پیوستگی و خواص مکانیکی مناسب ندارند، درحالی‌که برای فیبروئین ابریشم خواص مکانیکی مطلوب نسبت به سایر پلیمرها بیان شده است [۸].

ساختارهای برپایه فیبروئین ابریشم به سبب داشتن منشأ طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیری در کاربردهایی نظیر دارورسانی و مهندسی بافت، سازگاری خوبی با بدن انسان دارند. سرعت تخریب سازه‌های ابریشمی، می‌تواند از چند ماه تا چند سال، برحسب نوع مواد افزوده شده حین فرایند و نوع ساختار تولید شده، متغیر باشد. پایداری گرمایی زیست‌مواد ابریشمی به‌گونه‌ای است که امکان افزایش دمای عملیات تا ۲۵۰°C را فراهم می‌کند [۹].

الکتروریسی به‌عنوان روش آسان و ارزان برای تولید میکرو و نانوالیاف بوده که اساس آن رسانندگی محلول یا مذاب پلیمری با استفاده از میدان الکتریکی است [۱۰]. الیاف تولید شده به این روش خواصی نظیر نسبت سطح به حجم زیاد، خواص مکانیکی مطلوب و سطح تماس زیاد دارند که باعث ایجاد اتصالات بیشتر و افزایش کارایی و بازده می‌شوند [۱۱]. عوامل مؤثر در این فرایند متعدد و

شامل چند دسته هستند [۱۷-۱۲]. با توجه به تعدد عوامل مؤثر و اثر آن‌ها بر ساختار نهایی و نیز استفاده از انواع پلیمرهای طبیعی و سنتزی، سرامیک‌ها و کامپوزیت‌ها، برحسب کاربرد مدنظر، می‌توان با این روش ساختارهای مختلف تولید کرد [۱،۱۸].

ساختارهایی نظیر الیاف توخالی، هسته-پوسته یا الیاف متخلخل براساس روش الکتروریسی تولید می‌شوند. از میان تمام روش‌های معرفی شده، الکتروریسی هم‌محور از متداول‌ترین و جالب توجه‌ترین روش‌ها برای تولید این ساختارهاست که در واقع روش توسعه‌یافته‌ای برای الکتروریسی تک‌محور است [۲۲-۱۹]. هدف از این روش ایجاد نانوالیاف و نانوساختارهای پیشرفته‌تر با گسترش کارایی برای کاربردهایی نظیر تهیه سلول‌های سوختی و انواع فیلترها، تولید انواع غشاهای، کاربردهای مهندسی بافت، تهیه کاتالیزورها و کاربرد در زمینه دارورسانی و رهایش داروست [۲۳]. سرعت تغذیه برای هر دو جزء، یکنواختی و پایداری جریان سیال هسته و ضخامت لایه پوسته را تحت تأثیر قرار داده و کنترل می‌کند [۲۴]. افزون بر عوامل مؤثر بر فرایند الکتروریسی تک‌محور، سایر عوامل مؤثر نظیر اندازه نازل‌های پوسته و هسته، نسبت حجم تغذیه، امتزاج‌ناپذیری سیال پوسته و هسته، گرانروی و رسانندگی الکتریکی هر یک از سیال‌ها نقش مهمی در شکل‌گیری ساختار یکنواخت نانوالیاف به صورت هسته-پوسته و شکل‌شناسی نهایی دارد [۲۵]. در تهیه این ساختارها عواملی نظیر نسبت ترکیب در پوسته و هسته، خواص شیمیایی و سرعت و مقدار تغذیه شده هنگام فرایند، می‌تواند رهایش نهایی را تحت کنترل قرار دهد [۲۶].

برحسب نوع مواد استفاده شده در ساختار هسته-پوسته، انواع گوناگونی از ساختارها برای کاربردهای مختلف قابل تهیه و دست‌یابی است. استفاده از انواع داروهای آب‌دوست یا آب‌گریز، پروتئین‌ها و عوامل رشد در پژوهش‌ها گزارش شده است [۲۷]. Park و همکاران، شکل‌شناسی الیاف الکتروریسی شده را به شکل تک‌محور از مخلوط فیبروئین ابریشم و کیتوسان بررسی کردند. در این پژوهش، مخلوط کیتوسان و فیبروئین در نسبت‌های مختلف تهیه و الکتروریسی شدند. نتایج نشان داد، در مقایسه با فیبروئین خالص، مخلوط شدن کیتوسان با فیبروئین موجب کاهش قطر نانوالیاف تولید شده می‌شود [۲۸].

Zhang در گزارشی زیست‌سازگاری الیاف هسته-پوسته تهیه شده از کلاژن و پلی‌کاپرولاکتون را با هدف کاربرد در مهندسی بافت بررسی کرد [۲۹]. Sun و همکاران امکان تهیه ساختار زیست‌تخریب‌پذیر به صورت هسته-پوسته از پلی‌وینیل الکل و پلی‌وینیل پیرولیدون دارای نانوذرات را برای رهایش دارو بررسی کردند [۳۰]. Choi و همکاران موفق به تهیه ساختار هسته-پوسته از آلژینات و کوپلیمر پلی‌لاکتیک-

تجربی

مواد

در این پژوهش، از پیله ابریشم نژاد هیبریدی تهیه شده از شرکت صنایع ابریشم شرق گیلان، سالیسیلیک اسید با وزن مولکولی $138/12 \text{ g/mol}$ و پلی وینیل الکل با وزن مولکولی 145000 g/mol سدیم کربنات، اتانول، فرمیک اسید و کلسیم کلرید همگی تهیه شده از شرکت Merck آلمان استفاده شد. همچنین، از محلول بافر فسفات نمکی (PBS) با pH برابر 7/4، شوینده آنیونی (B2013) و غشاهای سلولوزی (D9527, MWCO = 14000) محصول Sigma-Aldrich استفاده شد.

دستگاه‌ها

در این پژوهش، گرانروی سنج Brokfield مدل LVDVII ساخت آمریکا، رسانایی سنج Sartorius, professional meter pp-20 ساخت آلمان، پمپ تزریق WPI inc, World Precision Instruments مدل AL 1000 ساخت آمریکا و دستگاه ولتاژ زیاد برای الکتروریسی، طیف‌نورسنج فرانفش GBC Scientific Equipment, Cintra 10 ساخت استرالیا، طیف‌سنج زیرقرمز تبدیل فوریه Nicolet, magna-ir560 ساخت آمریکا، میکروسکوپ الکترونی پویشی CamScan MV2300 ساخت جمهوری چک و انگلستان و میکروسکوپ الکترونی عبوری Zeiss EM 10C ساخت آلمان به کار گرفته شد.

روش‌ها

استخراج فیبروئین

برای دستیابی به فیبروئین ابریشم به‌عنوان ماده اولیه برای پوسته، از پیله‌های ابریشم نژاد شرقی استفاده شد. ابتدا صمغ‌گیری پیله‌های ابریشم در مجاورت سدیم کربنات و شوینده آنیونی درون حمام آب به مدت 40 min تا 50 min در دمای 90°C – 80°C انجام شد. سپس، برای انحلال پیله ابریشم از حلال سه‌جزئی آب: اتانول: کلسیم کلرید با نسبت‌های مولی 8:2:1 در دمای 70°C – 65°C استفاده شد. در نهایت، عملیات خالص‌سازی و دیالیز، با استفاده از غشاهای سلولوزی به مدت 48 h تا 72 h انجام شد و پس از انجماد و خشک‌کردن فیبروئین بازیابی شده برای استفاده در مراحل بعدی تهیه شد.

تهیه محلول‌های ریسندگی

برای تهیه محلول‌های ریسندگی از سه غلظت 6، 7 و 8٪ (وزنی/حجمی) فیبروئین در فرمیک اسید به‌عنوان محلول پوسته استفاده

گلیکولیک اسید دارای عامل رشد شدند [31]. Hang و همکاران الکتروریسی هم‌محور فیبروئین و سریسین ابریشم را مطالعه کردند. در این پژوهش، اثر عوامل مختلف فرایند الکتروریسی بر شکل‌شناسی و خواص گرمایی این الیاف بررسی شد [32].

ساختار هسته-پوسته از پلی‌آنیلین (پوسته) و فیبروئین (هسته) به منظور کاربرد در مهندسی بافت، تهیه و سازگاری مناسب ساختار برای کشت سلول‌های نمونه گزارش شد [33]. مالکی در پژوهشی، رفتار رهایش و معادلات مرتبط با آن از ساختار هسته-پوسته را با استفاده از کوپلیمر پلی‌لاکتیک-گلیکولیک اسید با هسته تتراسایکلین هیدرولکلرید تهیه و بررسی کرد [34].

در بررسی دیگری، الیاف پلی‌کاپرولاکتون دارای داروی دی‌پریدامول به‌صورت هسته-پوسته تهیه و اثر غلظت اجزا بر قطر الیاف و رفتار رهایش ساختار تهیه شده بررسی شد [6]، همچنین، در همان سال Chao و همکاران، ساختار هسته-پوسته حاصل از فیبروئین ابریشم در پوسته و کامپوزیتی از هیدروکسی آپاتیت در هسته تهیه کردند که در این پژوهش هدف تهیه داربست مناسب برای کشت سلول‌های استخوانی بود [35].

تهیه فیبروئین به‌عنوان پلیمری زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر، قابل کنترل، انعطاف‌پذیر و دارای خواص مکانیکی مناسب به‌صورت تک‌محور و مخلوط شده با کورکومین به‌عنوان داروی نمونه و نامحلول در آب، در شرایط مختلف و در مجاورت کربن دی‌اکسید الکتروریسی شد. در این بررسی، الیاف با قطر کمتر از 100 nm تهیه شده و برقراری پیوند هیدروژنی بین فیبروئین ابریشم و کورکومین گزارش شد. نتایج حاکی از آن است که استفاده از کربن دی‌اکسید در شرایط ابربحرانی قابلیت تولید نانوالیاف را برای رهایش دارو دارد [36].

با توجه به مطالعات انجام شده و تأکید بر این مطلب که تهیه ساختارهای هسته-پوسته برپایه فیبروئین ابریشم بسیار محدود انجام شده است و نیز اهمیت زیست‌سازگاری و سایر خواص مطلوب فیبروئین، هدف و نوآوری این پژوهش الکتروریسی هم‌محور فیبروئین ابریشم به‌عنوان پوسته و استفاده از سالیسیلیک اسید به‌عنوان داروی نمونه در محلول هسته است. محلول هسته شامل مخلوط پلی‌وینیل الکل و سالیسیلیک اسید بود که اثر تغییر غلظت پلی‌وینیل الکل بر هسته و نیز تغییر غلظت بر پوسته فیبروئینی، بر رفتار رهایش سالیسیلیک اسید در محیط بافر بررسی شد. بنابراین، تهیه ساختار زیست‌سازگار هسته-پوسته برپایه فیبروئین ابریشم با قابلیت رهایش و نیز بررسی رفتار رهایش ساختار مزبور مورد هدف از جمله نوآوری‌های این بررسی به‌شمار می‌آید.

با استفاده طیف نوسنج UV-Vis به دست آید. بدین منظور در محدوده غلظت ۱ ppm تا ۷۰ ppm جذب در طول موج مربوط به سالیسیلیک اسید، اندازه گیری شد. با توجه به نمودار کالیبره کردن، داده های جذب در این طول موج به غلظت تبدیل شده و غلظت تجمعی محاسبه شد.

طیف سنجی زیرقرمز تبدیل فوری

ساختار فیبروئین استخراج شده و وجود سالیسیلیک اسید در لایه های لیفی تولید شده، با طیف سنج زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) بررسی شد. طیف مربوط به نمونه ها پس از رهایش سالیسیلیک اسید نیز بررسی شد تا صحت عملیات رهایش از نمونه ها تأیید شود. همچنین، با مقایسه طیف پیش و پس از رهایش، تغییرات آن ها بررسی شد.

میکروسکوپی الکترونی پوشی و عبوری

لایه های الکترورسی شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی پوشی بررسی و تصاویر مربوط به آن ها تهیه شد. با استفاده از نرم افزار Image J، در هر تصویر، ۱۰۰ قطر مشخص شد و میانگین این ۱۰۰ نقطه به عنوان میانگین قطر برای هر یک از نمونه ها گزارش شد. همچنین، به منظور بررسی ساختار و تأیید ایجاد شکل شناسی هسته-پوسته در الیاف تولید شده، تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری تهیه و بررسی شد.

نتایج و بحث

بررسی گرانروی محلول های الکترورسی

محلول های لازم برای الکترورسی پس از آماده سازی استفاده شدند. سه گروه محلول در این پژوهش تهیه و بررسی شدند. گروه اول محلول فیبروئین در فرمیک اسید در سه غلظت ۶، ۷ و ۸٪، گروه دوم محلول پلی وینیل الکل در آب در سه غلظت ۳، ۶ و ۹٪ و گروه سوم مخلوط محلول های پلی وینیل الکل با محلول ۳٪ سالیسیلیک اسید در متانول بود.

گرانروی محلول های فیبروئین در فرمیک اسید به عنوان جزء پوسته و نیز محلول های دارای پلی وینیل الکل و سالیسیلیک اسید، به عنوان جزء هسته، پیش از الکترورسی اندازه گیری شد. نتایج گرانروی سنجی در **جدول ۱** آمده است. همان طور که از نتایج این جدول مشخص است، با افزایش درصد فیبروئین موجود در محلول پوسته، گرانروی افزایش می یابد و بیشترین گرانروی مربوط به محلول ۸٪ فیبروئین در فرمیک اسید با مقدار ۲۳۰۸ cP است. روند افزایش گرانروی با

شد. محلول هسته نیز شامل دو جزء سالیسیلیک اسید در اتانول و پلی وینیل الکل در آب بود که با نسبت ۵۰:۵۰ با یکدیگر مخلوط و پس از اختلاط کامل استفاده شدند. محلول های پلی وینیل الکل در آب در سه غلظت ۳، ۶ و ۹٪ (وزنی-حجمی) تهیه شدند. در تمام نمونه ها از محلول ۳٪ سالیسیلیک اسید در اتانول استفاده شد.

گرانروی سنجی و رسانایی سنجی الکترونی

گرانروی محلول های استفاده شده برای الکترورسی با استفاده از گرانروی سنج Brokfield در دمای محیط آزمایشگاه (۲۵-۲۰°C) اندازه گیری شد. رسانندگی الکترونی محلول های تهیه شده برای الکترورسی با رسانایی سنج اندازه گیری و گزارش شد.

الکترورسی

برای تولید الیاف با ساختار هسته-پوسته از نازل هم محور استفاده شد. این نازل از دو سر سوزن فلزی با دو گیج متفاوت (۱۷ و ۲۲) تشکیل شده است که سرسوزن نازک تر درون دیگری قرار گرفته و هم مرکزند. برای الکترورسی از یک پمپ تزریق و دستگاه ولتاژ زیاد استفاده شد. صفحه جمع کننده برای جمع آوری الیاف از نوع ثابت و آلومینیومی بوده که در فاصله ۱۰ cm از نازل قرار داده شد. ولتاژ استفاده شده نیز روی ۲۵ kV تنظیم شد. سرعت تغذیه در تمام نمونه ها ثابت و برای محلول پوسته ۱ μL/min و برای محلول هسته ۰/۳ μL/min انتخاب شد. تمام نمونه ها در دمای محیط و محدوده رطوبت نسبی ۴۰-۵۰٪ الکترورسی و تهیه شدند.

آزمون رهایش

برای بررسی رفتار رهایش سالیسیلیک اسید استفاده شده در ساختار نمونه های تهیه شده، از محلول بافر فسفات نمکی (PBS) با pH برابر ۷/۴ استفاده شد. ۱۵ mg از لایه لیفی تولید شده در ۱۵ mL محلول بافر قرار گرفت و در فواصل زمانی مشخص، از محلول نمونه گیری شد. برای هر نوبت نمونه گیری ۱ mL از محلول خارج شده و به جای آن ۱ mL محلول بافر تازه به محفظه محلول و نمونه اضافه شد.

طیف نوسنجی فرابنفش

برای ارزیابی مقدار سالیسیلیک اسید موجود در محلول های نمونه گیری شده در زمان های معین از طیف نوسنج فرابنفش (UV) استفاده شد. پیک مشخصه در طول موج (λ) ۲۲۸ nm نشانگر وجود سالیسیلیک اسید است. به منظور بررسی رفتار رهایش سالیسیلیک اسید از ساختار های تولید شده، ابتدا باید معادله کالیبره کردن مناسب

جدول ۱- نتایج گرانروی سنجی و رسانندگی الکتریکی محلول‌های استفاده شده در الکتروریسی.

رسانندگی الکتریکی (s/ μ cm)	گرانروی (cP)	محلول- غلظت (%)
۷۷۱	-	فرمیک اسید
۲۵۴۰	۸۰۳/۸	فیبروئین در فرمیک اسید - ۶٪
۱۸۷۰	۱۵۶۰	فیبروئین در فرمیک اسید - ۷٪
۱۳۸۱	۲۳۰۸	فیبروئین در فرمیک اسید - ۸٪
۹۲۱	۹۲/۷	پلی‌وینیل‌الکل در آب - ۳٪
۱۰۵۰	۱۲۸/۴	پلی‌وینیل‌الکل در آب - ۶٪
۱۱۳۰	۱۶۵/۱	پلی‌وینیل‌الکل در آب - ۹٪
۲۴۱	-	سالیسیلیک اسید در متانول
۱۱۳۳	۸۹/۵	پلی‌وینیل‌الکل در آب - ۳٪ + سالیسیلیک اسید در متانول ۳٪
۱۲۷۲	۱۱۸/۷	پلی‌وینیل‌الکل در آب - ۶٪ + سالیسیلیک اسید در متانول ۳٪
۱۳۵۰	۱۵۳/۲	پلی‌وینیل‌الکل در آب - ۹٪ + سالیسیلیک اسید در متانول ۳٪

اسید، با افزایش غلظت پلیمر اندکی کاهش می‌یابد. در واقع، روند کاهشی برای رسانندگی الکتریکی با افزایش غلظت پلیمر در محلول، در بین نتایج مشاهده می‌شود. دلیل این روند با توجه به ماهیت پلیمر توجیه‌پذیر است. ماهیت فیبروئین و نیز برهم‌کنش آن با حلال به گونه‌ای است که افزایش غلظت آن در محلول به کاهش رسانندگی الکتریکی محلول منجر می‌شود. برخی از پلیمرها به سبب آنکه رسانا نیستند، افزایش غلظت آن‌ها در محلول، موجب کاهش رسانندگی الکتریکی محلول می‌شود [۸]. گفتنی است، رسانندگی الکتریکی محلول فیبروئین در فرمیک اسید، از رسانندگی الکتریکی فرمیک اسید خالص بیشتر است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت، افزودن فیبروئین تا حد معینی باعث افزایش رسانندگی الکتریکی نسبت به فرمیک اسید خالص می‌شود. پس از حد مشخصی، افزایش غلظت پلیمر به سبب ماهیت نارسا بودن آن، باعث بروز روند کاهشی در رسانندگی الکتریکی محلول می‌شود. غلظت بررسی شده برای فیبروئین در این پژوهش، (۶٪ تا ۸٪)، در محدوده‌ای است که با افزایش آن در محلول، روند کاهشی برای رسانندگی الکتریکی مشاهده می‌شود.

در محلول‌های پلی‌وینیل‌الکل، با ازدیاد غلظت پلیمر، رسانندگی الکتریکی افزایش یافته است. با توجه به مطالب پیش‌گفته، توجیه آن به ماهیت پلیمر و برهم‌کنش حلال و پلیمر مرتبط است. افزودن محلول سالیسیلیک اسید ۳٪ به محلول‌های پلی‌وینیل‌الکل، رسانندگی الکتریکی را نسبت به محلول‌های بدون سالیسیلیک اسید افزایش می‌دهد. بنابراین نتایج نشان می‌دهد، افزودن محلول ۳٪ سالیسیلیک اسید در افزایش رسانندگی الکتریکی جزء هسته مؤثر بوده است.

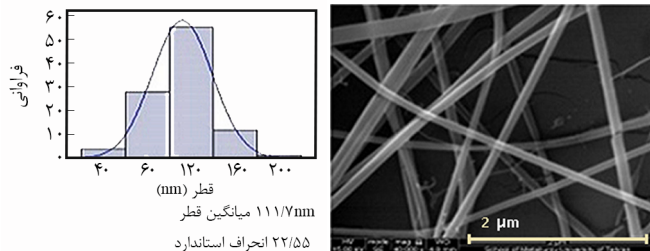
افزایش غلظت برای محلول‌های گروه دوم، محلول پلی‌وینیل‌الکل در آب، نیز صادق است. با افزایش مقدار پلیمر در محلول تا ۹٪، مقدار گرانروی cP ۱۶۵/۱ به دست آمده که بیشترین مقدار گرانروی در بین محلول‌های پلی‌وینیل‌الکل در این بررسی است.

در گروه سوم از محلول‌ها نیز مطابق انتظار با افزایش غلظت محلول‌های پلیمری، گرانروی روند افزایشی داشته است. به طوری که افزودن محلول ۳٪ سالیسیلیک اسید در متانول به محلول‌های پلی‌وینیل‌الکل در آب، موجب کاهش اندکی در گرانروی محلول‌های مزبور شده است. از مقایسه دو محلول پلی‌وینیل‌الکل در آب، پیش و پس از افزودن سالیسیلیک اسید، این تغییر گرانروی مشخص می‌شود. با وجود این، کاهش بر اثر افزودن محلول سالیسیلیک اسید به محلول پلی‌وینیل‌الکل، روند افزایش گرانروی با افزایش غلظت پلیمر در محلول، همچنان صادق است.

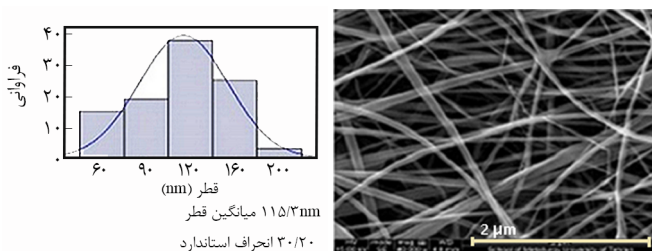
در فرایند الکتروریسی در شرایطی که تمام پارامترها ثابت باشند، افزایش غلظت موجب افزایش گرانروی و به دنبال آن افزایش قطر نهایی الیاف تولیدی می‌شود [۱، ۳۷]. در الکتروریسی هم‌محور فیبروئین ابریشم نیز انتظار می‌رود، همین قاعده حاکم باشد که در بخش بعدی بررسی می‌شود.

بررسی رسانندگی الکتریکی محلول‌های الکتروریسی

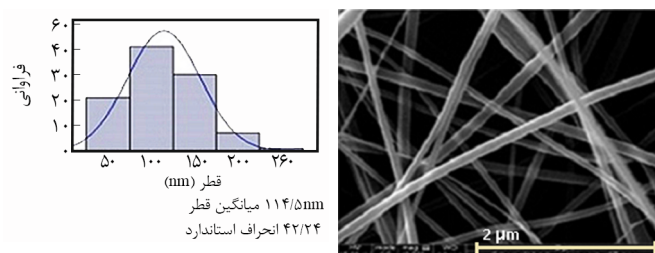
رسانندگی الکتریکی محلول‌های استفاده شده برای فرایند الکتروریسی اندازه‌گیری شده و نتایج در **جدول ۱** آمده است. همان‌طور که مشخص است، رسانندگی الکتریکی محلول‌های فیبروئین در فرمیک



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی و توزیع قطر نمونه‌های تهیه شده از محلول ۶٪ فیبروئین در پوسته و هسته پلی وینیل الکل-سالیسیلیک اسید با ترکیب درصدی متفاوت: (الف) ۳-۳، (ب) ۳-۶ و (ج) ۳-۹.

نمونه به 110 ± 22 nm تا 115 ± 42 nm متغیر بود که این مقدار تغییر در مقایسه با تغییر در غلظت پلی وینیل الکل در جزء هسته از ۳٪ تا ۹٪ تفاوت معناداری به‌شمار نمی‌آید. همین روند برای دو غلظت دیگر فیبروئین (۷٪ و ۸٪) نیز با تقریب خوبی صادق است. در غلظت ۷٪ برای پلیمر فیبروئین که در پوسته استفاده شده است، تغییر پلی وینیل الکل در هسته، از ۳٪ تا ۹٪، به تغییر قطر نمونه‌ها در محدوده 126 ± 56 nm تا 129 ± 34 nm منجر شده است که این مقدار تغییر در قطر نمونه‌ها نمی‌تواند به‌عنوان افزایش معنادار مورد توجه باشد. در نمونه‌های تولید شده با غلظت ۸٪ فیبروئین، تغییر در غلظت پلی وینیل الکل در ترکیب هسته، از ۳٪ تا ۶٪ به تغییر قطر از 215 ± 83 nm به 219 ± 32 nm منجر شده است. این در حالی است که با افزایش غلظت پلی وینیل الکل تا ۹٪ در جزء هسته، قطر

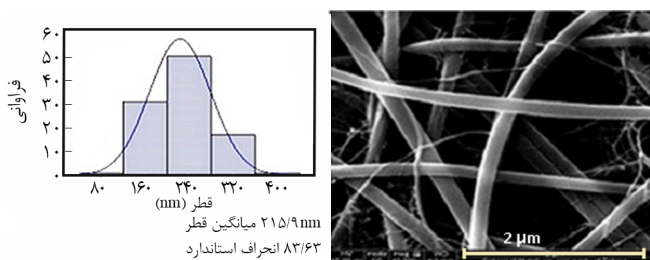
این در شرایطی است که رسانندگی الکتریکی محلول‌های استفاده شده برای جزء هسته همواره کمتر از رسانندگی الکتریکی برای محلول‌های جزء پوسته است، به عبارت دیگر، رسانندگی الکتریکی محلول‌های فیبروئین به‌عنوان پوسته در تمام نمونه‌ها، بیشتر از رسانندگی الکتریکی محلول‌های هسته است.

بررسی تصاویر میکروسکوپی الکترونی

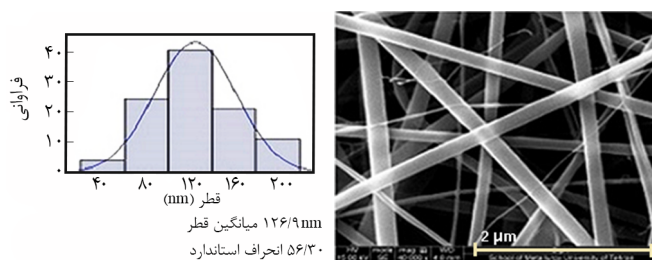
فرایند الکتروریسی در تمام مدت کنترل شد تا مخروط تیلور به شکل مرکب از پوسته و هسته تشکیل شده و هر دو محلول درون سامانه تزریق شوند. از نمونه‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی پوششی تصاویر تهیه و مشاهده شدند. در تمام نمونه‌های تهیه شده، یکنواختی قابل قبول است و قطر هر یک از نمونه‌ها با نرم‌افزار Image J، محاسبه شد. تصاویر میکروسکوپی الکترونی و نتایج حاصل از بررسی قطر نمونه‌ها در شکل‌های ۱ تا ۳ نشان داده شده است.

بررسی قطر نمونه‌ها و اثر تغییرات اعمال شده در فرایند آزمایش در دو سطح بررسی شد. سطح اول، بررسی مربوط به اثر افزایش غلظت پلیمر در جزء پوسته بود. نتایج حاکی از آن است که با افزایش غلظت پلیمر فیبروئین در محلول پوسته، از ۶٪ تا ۸٪ قطر نمونه‌ها (بدون در نظر گرفتن تغییرات ناشی از تغییر غلظت جزء هسته)، به‌طور کلی روند افزایشی داشته است. شکل ۴ این روند را نشان می‌دهد.

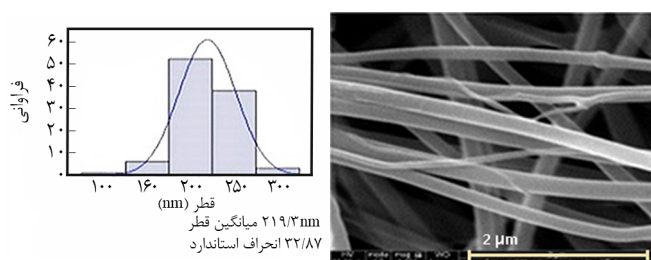
اما، سطح دیگری از بررسی مربوط به شرایطی است که غلظت پلیمر در محلول پوسته ثابت و غلظت پلی وینیل الکل در هسته، که با سالیسیلیک اسید آمیخته می‌شود، متغیر بود. با بررسی داده‌های مربوط به قطر نمونه‌ها، تغییر معناداری در ساختارهای تولید شده مشاهده نمی‌شود. برای نمونه‌هایی با غلظت ۶٪ فیبروئین در محلول پوسته، قطر نمونه‌ها بین 110 ± 22 nm تا 115 ± 42 nm متغیر بود که این مقدار تغییر در مقایسه با تغییر در غلظت پلی وینیل الکل در جزء هسته از ۳٪ تا ۹٪ تفاوت معناداری به‌شمار نمی‌آید. همین روند برای دو غلظت دیگر فیبروئین (۷٪ و ۸٪) نیز با تقریب خوبی صادق است. در غلظت ۷٪ برای پلیمر فیبروئین که در پوسته استفاده شده است، تغییر پلی وینیل الکل در هسته، از ۳٪ تا ۹٪، به تغییر قطر نمونه‌ها در محدوده 126 ± 56 nm تا 129 ± 34 nm منجر شده است که این مقدار تغییر در قطر نمونه‌ها نمی‌تواند به‌عنوان افزایش معنادار مورد توجه باشد. در نمونه‌های تولید شده با غلظت ۸٪ فیبروئین، تغییر در غلظت پلی وینیل الکل در ترکیب هسته، از ۳٪ تا ۶٪ به تغییر قطر از 215 ± 83 nm به 219 ± 32 nm منجر شده است. این در حالی است که با افزایش غلظت پلی وینیل الکل تا ۹٪ در جزء هسته، قطر



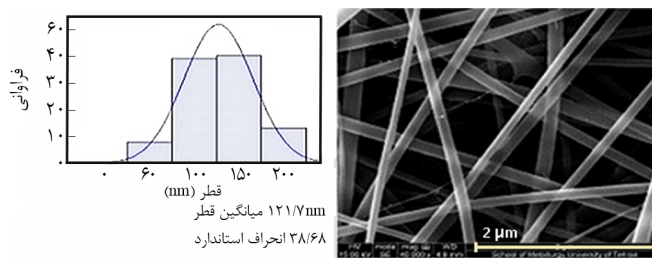
(الف)



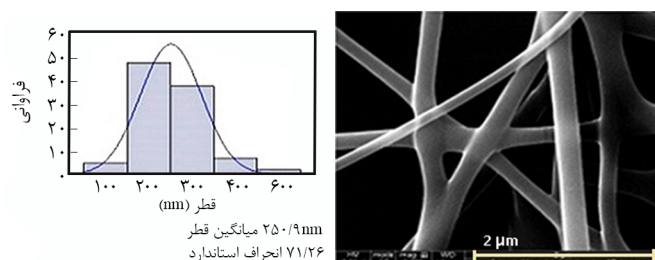
(الف)



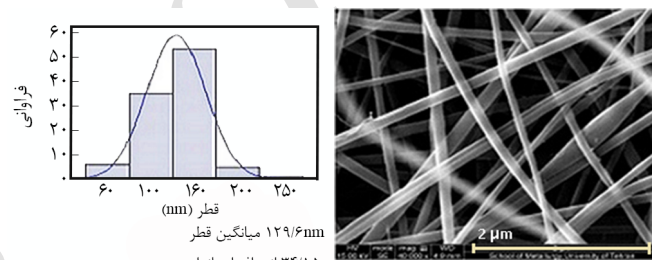
(ب)



(ب)



(ج)



(ج)

شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی و توزیع قطر نمونه‌های تهیه شده از محلول ۸٪ فیبروئین در پوسته و هسته پلی وینیل الکل-سالیسیلیک اسید با ترکیب درصدهای متفاوت: (الف) ۳-۳، (ب) ۳-۶ و (ج) ۳-۹.

شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی و توزیع قطر نمونه‌های تهیه شده از محلول ۷٪ فیبروئین در پوسته و هسته پلی وینیل الکل-سالیسیلیک اسید با ترکیب درصدهای متفاوت: (الف) ۳-۳، (ب) ۳-۶ و (ج) ۳-۹.

پلیمر، گرانیروی افزایش و رسانندگی الکتریکی کاهش یافته است. دو متغیر افزایش غلظت پلیمر و کاهش رسانندگی الکتریکی به افزایش قطر نهایی لیاف تولید شده منجر می‌شود. این موضوع با نتایج حاصل از بررسی ارتباط غلظت پلیمر و قطر لیاف در نمونه‌های تولید شده و نیز نتایج حاصل از بررسی He در سال ۲۰۰۶ نیز مطابقت دارد [۳۹]. در گزارش منتشر شده در سال ۲۰۰۴، افزایش قطر نهایی ساختار بر اثر افزایش غلظت محلول هسته گزارش شده است [۳۷]. اما آنچه در این بررسی مشاهده شد، عدم افزایش قطر نهایی بر اثر افزایش قطر محلول هسته است که با توجه به برابری دو پارامتر گرانیروی و رسانندگی الکتریکی توجیه‌پذیر است. درباره جزء هسته، همان‌طور در جدول ۱ مشخص است، با افزایش غلظت محلول هسته، گرانیروی و رسانندگی الکتریکی افزایش یافته است که این روند افزایش به کاهش قطر جزء هسته منجر می‌شود. به عبارت دیگر، مطابق انتظار

(پلی وینیل الکل) است. به نظر می‌رسد، این اختلاف گرانیروی به اندازه‌ای است که مانع از اثر گرانیروی محلول هسته بر قدرت کشش پتانسیل اعمالی به رشته ایجاد شده از پوسته شود. در نهایت، گرانیروی پوسته عامل تعیین‌کننده قطر نانوالیاف بوده که نتیجه آن ثابت ماندن قطر نانوالیاف با وجود تغییر در غلظت محلول هسته است.

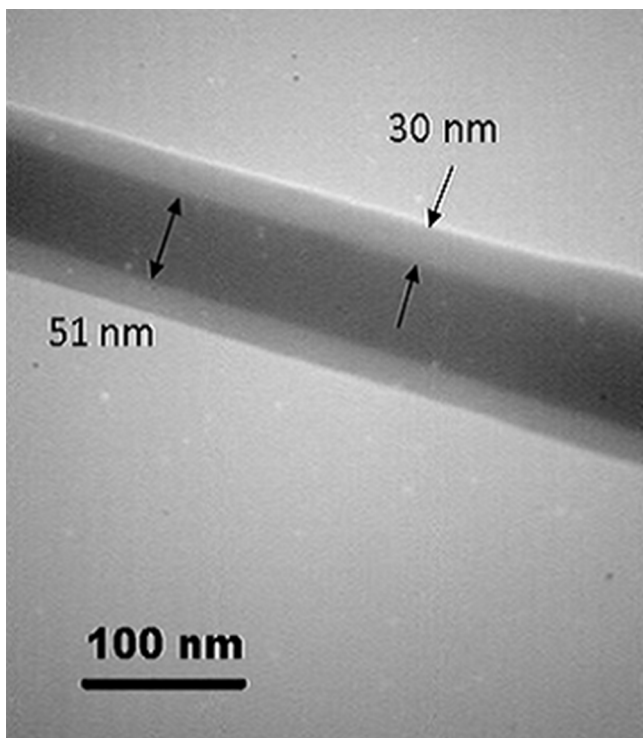
دو عامل اثرگذار بر قطر نهایی ساختارهای لیفی تولید شده عبارت از رسانندگی الکتریکی و گرانیروی محلول‌ها بوده که عامل گرانیروی با تغییر غلظت کنترل‌پذیر است. عامل مؤثر دیگر در تعیین قطر نانوالیاف، رسانندگی الکتریکی محلول‌های الکترورسی است. در فرایند الکترورسی افزایش رسانندگی الکتریکی در محلول پلیمری، به توزیع بیشتر بار الکتریکی در جت سیال منجر می‌شود. در نتیجه آن، اعمال کشش بیشتر می‌شود و قطر نهایی لیاف کاهش می‌یابد [۳۷]. در محلول‌های فیبروئین استفاده شده در جزء پوسته، با افزایش غلظت

الکترورسی شده و با فرض استوانه‌ای بودن پوسته و هسته محاسبه شده که نتایج برای تعدادی از نمونه‌ها در **جدول ۲** آمده است. محاسبه نظری ضخامت پوسته و شعاع هسته از معادله (۱)، براساس شعاع نهایی نانوالیاف به دست آمده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی و در نظر گرفتن مقدار الکترورسی شده پوسته و هسته (با توجه به سرعت تغذیه پوسته و هسته) انجام شد:

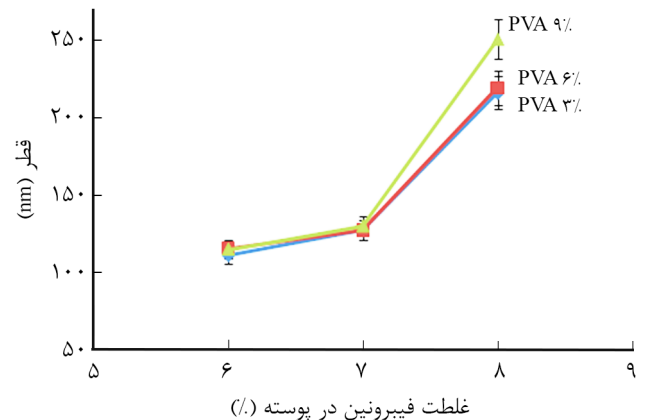
$$\frac{(R_t - R_c)^2}{R_c^2} = \frac{m_s \rho_c}{m_c \rho_s} \quad (1)$$

در این معادله، R_t شعاع نانوالیاف به دست آمده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی، R_c شعاع نظری محاسبه شده برای هسته نانوالیاف، m_s کسر جرمی پوسته (فیبروئین ابریشم)، m_c کسر جرمی هسته (PVA و SA)، ρ_c چگالی هسته (با توجه به چگالی ρ_{PVA} و ρ_{SA} به ترتیب $1/19 \text{ g/cm}^3$ و $1/44 \text{ g/cm}^3$) و ρ_s چگالی پوسته (برابر $1/25 \text{ g/cm}^3$) است. بدیهی است، شعاع نظری پوسته نانوالیاف با توجه به شعاع کلی نانوالیاف و شعاع هسته محاسبه می‌شود.

مقادیر شعاع هسته و ضخامت محاسبه شده با مقادیری که تصویر میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد، برای نمونه مشابه با تقریب



شکل ۵- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری مربوط به نمونه تهیه شده از ۶٪ فیبروئین در پوسته و ترکیب ۹٪ پلی وینیل الکل و ۳٪ سالیسیلیک اسید در هسته.



شکل ۴- روند تغییر قطر الیاف هسته-پوسته الکترورسی شده بر اثر افزایش غلظت فیبروئین به عنوان محلول پوسته و هسته شامل پلی وینیل الکل و سالیسیلیک اسید ۳٪.

درباره جزء هسته، افزایش غلظت (گرانروی) پلیمر از یک سو به افزایش قطر این جزء منجر می‌شود، در حالی که افزایش رسانندگی الکتریکی از سوی دیگر، سبب کاهش قطر این جزء می‌شود. بنابراین، تقابل و برآیند این دو متغیر موجب عدم تغییر قطر جزء هسته در نمونه‌های تولید شده می‌شود.

همان‌طور که بیان شد، تنها نمونه‌ای که افزایش قطر نانوالیاف را با افزایش غلظت محلول هسته نشان می‌دهد، نمونه با غلظت ۹٪ پوسته و غلظت ۹٪ هسته است. با توجه به نتایج جدول ۱، در این شرایط محلول‌های پوسته و هسته بیشترین گرانروی را دارند. از طرف دیگر، در این ترکیب غلظت‌ها، رسانندگی الکتریکی محلول پوسته کاهش چشمگیری داشته در صورتی که رسانندگی الکتریکی محلول هسته کمی افزایش داشته است. به نظر می‌رسد، در این شرایط توان پتانسیل اعمالی قابلیت اعمال کشش زیاد بر جت سیال تشکیل شده را ندارد که نتیجه آن افزایش قطر نانوالیاف تشکیل شده در این ترکیب غلظت از پوسته و هسته است.

شکل ۵ تصویر تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی عبوری را برای نمونه‌ای از الیاف الکترورسی شده نشان می‌دهد. مطابق این تصویر ایجاد ساختار هسته-پوسته در الیاف تولید شده با روش و شرایط به کار برده شده در این پژوهش قابل تأیید است. با استفاده از تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری در شکل ۵، امکان تعیین شعاع هسته داخلی و ضخامت پوسته برای مقطع کوچکی از الیاف الکترورسی شده میسر است. اما، با توجه به اینکه این تصاویر مقطع بسیار کوچکی از نمونه‌ها را نشان می‌دهند، در این پژوهش، میانگین شعاع هسته و ضخامت پوسته نانوالیاف تهیه شده به روش نظری با در نظر گرفتن درصد مواد تشکیل‌دهنده دو جزء تشکیل‌دهنده الیاف

بیک‌های مشخصه با آنچه در منابع گفته شده است، مطابقت خوبی را نشان می‌دهند [۴۱].

برای سالیسیلیک اسید خالص نیز سه بیک اصلی در طیف مشخص است. بیک مربوط به گروه C=O در 1661 cm^{-1} ، بیک مربوط به گروه C-O در 1296 cm^{-1} و بیک مشخص در 3238 cm^{-1} مربوط به گروه O-H است که با آنچه در منابع گفته شده است، مطابقت دارد [۴۲]. پس از بررسی طیف‌های هر یک از مواد استفاده شده در تهیه نمونه‌ها، از وب‌های تهیه شده به شکل هم‌محور نیز طیف FTIR تهیه شد. اگرچه در برخی طول موج‌ها، بیک‌ها روی هم منطبق‌اند، اما تشخیص بیک‌های مشخصه برای تک‌تک مواد استفاده شده، در وب تهیه شده نیز امکان‌پذیر است. طیف نمونه الکترورسی شده هم‌محور پیش و پس از رهایش و تهیه شده از محلول ۷٪ فیبروئین به‌عنوان پوسته و مخلوط پلی‌وینیل‌الکل و سالیسیلیک اسید در هسته، در شکل ۷ نشان داده شده است که با مقایسه دو طیف می‌توان رهایش جزء هسته را بررسی کرد.

از مقایسه طیف‌های پیش و پس از رهایش به‌مدت ۳۰ روز می‌توان دریافت که عمده سالیسیلیک اسید موجود در ساختار، رهاسازی شده است. زیرا، بیک‌های در محدوده 1296 ، 1661 و 3238 cm^{-1} که مشخصه سالیسیلیک اسید بوده نسبت به طیف پیش از رهایش دچار تغییر شده است. این مطلب تأییدکننده رهایش بخش عمده‌ای از سالیسیلیک اسید در ساختار است. همچنین، طیف‌ها در محدوده 1094 ، 2921 و 3314 cm^{-1} که مربوط به پلی‌وینیل‌الکل بوده نیز دچار تغییرات شده است. این اتفاق مربوط به انحلال‌پذیری پلی‌وینیل‌الکل در محیط در حال بررسی برای رهایش سالیسیلیک اسید (محیط بافر) است. به عبارت بهتر، همراه با آزادسازی سالیسیلیک اسید، بخشی از پلی‌وینیل‌الکل نیز از ساختار خارج و در محیط حل شده است.

مطابق طیف‌های آماده در شکل ۷، مشخص است، شکل کلی طیف ساختار تهیه شده پیش و پس از رهایش تغییر کرده است. این تغییر، برای هر سه غلظت ۶، ۷ و ۸٪ فیبروئین یکسان است. در تمام این

خوبی مطابقت دارد. مقادیر به‌دست آمده برای نمونه دارای ۶٪ فیبروئین در پوسته، ۹٪ پلی‌وینیل‌الکل و ۳٪ سالیسیلیک اسید در هسته با توجه به شکل ۵، معادل 30 nm ضخامت پوسته و 25 nm شعاع هسته است. این در حالی است که مقادیر به‌دست آمده از محاسبه نظری برای همین نمونه 33 nm برای ضخامت پوسته و 22 nm برای شعاع هسته است که با توجه به امکان وجود نایکنواختی در اندازه در نقاط مختلف الیاف از محاسبه اندازه‌ها به روش نظری از دقت مناسبی برخوردار است. بنابراین، امکان استفاده از اندازه‌های محاسبه شده به روش نظری وجود دارد که برای برخی از نمونه‌ها در جدول ۲ درج شده‌اند.

بررسی طیف‌های FTIR

طیف‌های FTIR نمونه فیبروئین استخراج شده و نیز لایه‌های الکترورسی شده پیش و پس از رهایش بررسی شد. طیف هر یک از مواد به شکل خالص در شکل ۶ نشان داده شده است. بررسی طیف FTIR نمونه فیبروئین خالص استخراج شده، چند بیک مشخص را مرتبط با ساختار این ماده نشان می‌دهد. این بیک‌ها با آنچه در منابع برای طیف ساختار فیبروئین ارائه شده است، تطبیق دارد [۷،۴۰]. بیک پهن مشاهده شده در 3409 cm^{-1} ، مرتبط با گروه N-H و نیز بیک مشخص شده حدود 2900 cm^{-1} مربوط به پیوند C-H است. بیک شاخص بعدی در 1636 cm^{-1} دیده می‌شود که مربوط به ارتعاش کششی گروه C=O برای آمید نوع اول بوده و بیک مشاهده شده در کنار بیک قبلی، در 1522 cm^{-1} نشان‌دهنده آمید نوع دوم است. در 1229 cm^{-1} نیز بیک مربوط به ارتعاش کششی گروه C-N و نیز ارتعاش خمشی گروه C=O دیده می‌شود.

در طیف FTIR پلی‌وینیل‌الکل خالص نیز سه بیک اصلی دیده می‌شود. بیک نشان داده شده در 3314 cm^{-1} مربوط به گروه O-H و پیوند هیدروژنی است. در 2921 cm^{-1} بیک مربوط به ارتعاش کششی C-H و در 1094 cm^{-1} بیک مربوط به اتصال C-O دیده می‌شود.

جدول ۲- نتایج محاسبه نظری ضخامت پوسته و هسته برای تعدادی از نمونه‌ها.

ترکیب نمونه (%)			میانگین قطر نانوالیاف (nm) از تصاویر SEM	میانگین محاسبه نظری ضخامت (nm)	
ابریشم	پلی‌وینیل‌الکل	سالیسیلیک اسید		هسته	پوسته
۶	۹	۳	$114(\pm 42)$	۲۲ *	۳۳*
۷	۹	۳	$129(\pm 34)$	۲۴	۴۰
۸	۹	۳	$250(\pm 71)$	۴۵	۸۰

* مقدار واقعی با توجه به تصویر TEM (شکل ۵)، معادل 30 nm برای ضخامت پوسته و 25 nm برای شعاع هسته است.

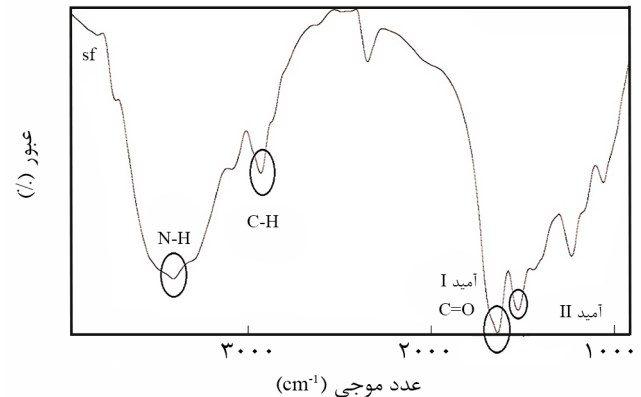
حدود 3200 cm^{-1} در ساختار هسته-پوسته به سمت 3400 cm^{-1} نشانگر خروج بخش زیادی از پلی وینیل الکل از ساختار و نزدیک شدن به طیف مشخصه فیبروئین در 3409 cm^{-1} است. همچنین، حذف پیک‌ها در محدوده 1000 cm^{-1} تا 2000 cm^{-1} و نیز تغییر طیف در ناحیه 2000 cm^{-1} تا 3000 cm^{-1} نشان‌دهنده خروج سالیسیلیک اسید از ساختار تهیه شده است.

بررسی رهایش سالیسیلیک اسید

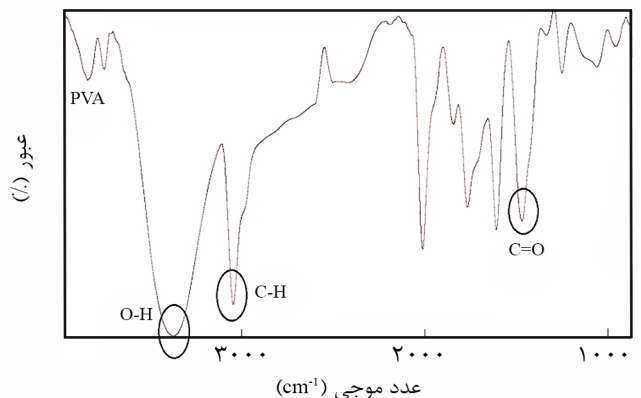
نتایج حاصل از انجام آزمون رهایش برای تمام نمونه‌ها با استفاده از معادله کالیبره کردن و انجام محاسبات به گزارش این نتایج به منحنی‌هایی منجر شده است که رفتار رهایش هر نمونه را نشان می‌دهد. در این نمودارها، درصد غلظت تجمعی برای سالیسیلیک اسید در ساختار برحسب زمان رسم شده که در شکل‌های ۸ تا ۱۰ به تفکیک نشان داده شده است.

نتایج حاکی از آن است که ابتدا و در زمان‌های کوتاه از شروع عملیات رهایش، سالیسیلیک اسید با سرعت بیشتری رها می‌شود و رفته‌رفته با گذشت زمان، رهایش کندتر می‌شود. با افزایش زمان سپری شده، مقدار سالیسیلیک اسید رهایش یافته به‌طور تدریجی زیاد می‌شود و با پیشرفت زمان روند رهایش رو به کندی می‌رود. آنچه در ابتدا در هر مجموعه از نمونه‌ها که دارای غلظت پلیمر ثابت در محلول پوسته است، دیده می‌شود، افزایش مقدار سالیسیلیک اسید رهاشده با افزایش درصد پلی وینیل الکل در ترکیب هسته است. به عبارت دیگر، با افزایش غلظت پلی وینیل الکل در ترکیب هسته از

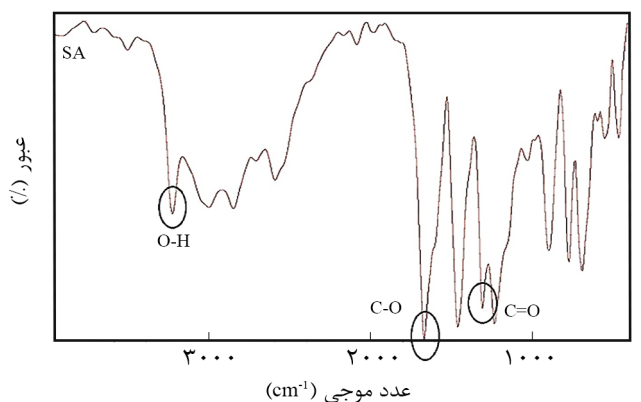
طیف‌ها پس از رهایش سالیسیلیک اسید و خروج پلی وینیل الکل، پیک‌های مربوط به این مواد حذف یا بسیار کوچک شده است که دلیلی بر حذف این مواد از ساختار است. طیف مربوط به پس از رهایش سالیسیلیک اسید (شکل ۷-ب) به طیف فیبروئین خالص در شکل ۶، نزدیک‌تر است. در طیف پس از رهایش، انتقال پیک بزرگ



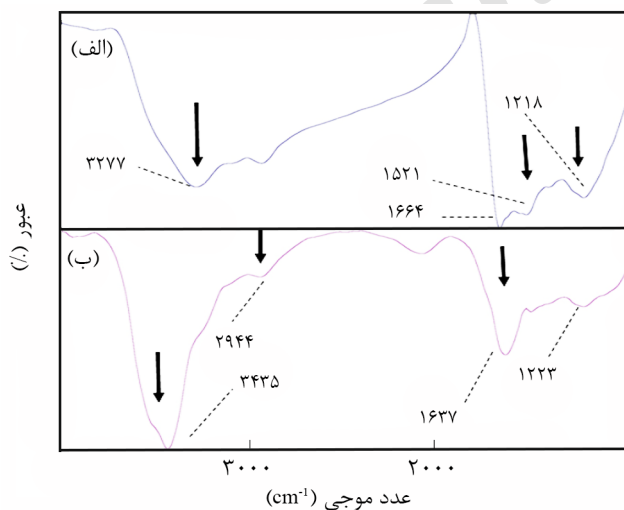
(الف)



(ب)



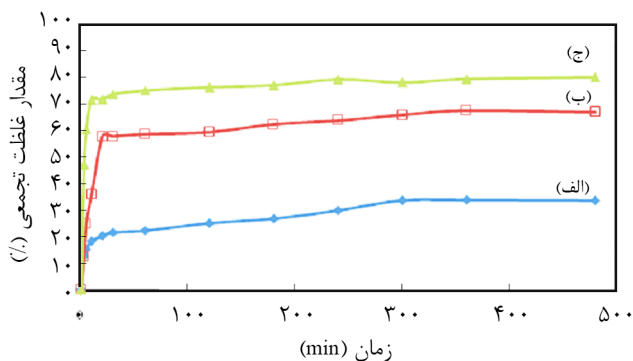
(ج)



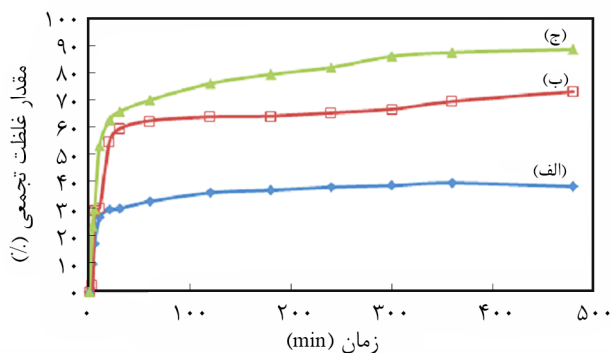
شکل ۷- طیف FTIR محلول پوسته ۷٪ فیبروئین و محلول هسته ۶٪ پلی وینیل الکل و ۳٪ سالیسیلیک اسید: (الف) پیش و (ب) پس از رهایش.

شکل ۶- طیف FTIR نمونه: (الف) فیبروئین خالص، (ب) پلی وینیل الکل و (ج) سالیسیلیک اسید.

۶٪ افزایش مقدار سالیسیلیک اسید رهایش یافته را سبب شده است. می توان نتیجه گرفت، هر چه نسبت غلظت پلیمر به سالیسیلیک اسید در هسته افزایش یافته است، مقدار رهایش نیز بیشتر شده است. این مطلب با توجه به آب دوستی پلیمر استفاده شده توجیه پذیر است. بنابراین می توان نتیجه گرفت، براساس مقدار مطلوب آزادسازی برای داروی استفاده شده و نیز آگاهی از رفتار پلیمرهای موجود در پوسته و ترکیب هسته، می توان رفتار رهایش از ساختار را تنظیم و کنترل کرد. بنابراین، در تمام نمونه ها با توجه به آب دوستی پلی وینیل الکل، با افزایش غلظت این پلیمر در ترکیب هسته، مقدار نهایی رهایش سالیسیلیک اسید افزایش یافته است. اما، در این میان نقش غلظت پلیمر در محلول پوسته نیز توجیه پذیر است. با افزایش غلظت پلیمر در محلول پوسته، رهایش به طور کنترل شده اتفاق افتاده است به گونه ای که با افزایش غلظت پوسته پلیمری، حداکثر مقدار سالیسیلیک اسید رهایش یافته در بازه زمانی بررسی، کاهش یافته است. این بدان معناست که افزایش غلظت در پوسته که به افزایش نقش کنترل کنندگی پوسته منجر می شود و این قابلیت را دارد که به عنوان سد و مانعی برای رهایش ناگهانی و رهایش تدریجی سالیسیلیک اسید عمل کند. این مطلب از مقایسه درصد رهایش در پایان بازه زمانی قابل دریافت است، برای نمونه هایی که با ترکیب ثابت در هسته و غلظت های متفاوت در پوسته تهیه شده اند. بنابراین، نقش پوسته به همراه ترکیب پلیمر در هسته، به عنوان کنترل کننده رهایش سالیسیلیک اسید بوده است که با تنظیم آن ها می توان رفتار رهایش را که شامل مقدار و روند رهایش است، تحت تأثیر قرار داد. Siepman و همکاران، معادله توصیف کننده رهایش دارو از سامانه های استوانه ای شکل را گزارش کردند [۴۳]:



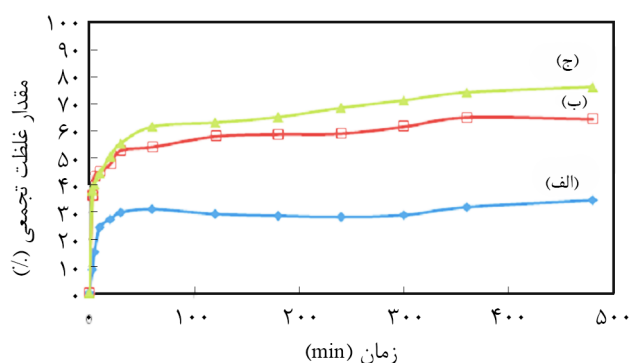
شکل ۱۰- مقدار غلظت تجمعی سالیسیلیک اسید رهایش یافته برای نمونه هایی با غلظت ۸٪ فیبروئین در پوسته و ترکیب های متفاوت پلی وینیل الکل-سالیسیلیک اسید در هسته: (الف) ۳-۳، (ب) ۳-۶ و (ج) ۳-۹.



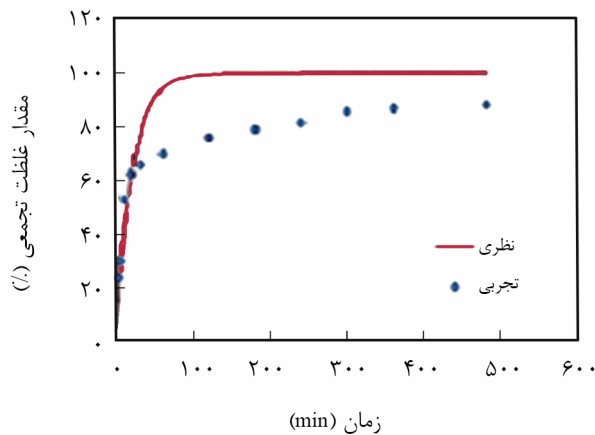
شکل ۸- مقدار غلظت تجمعی سالیسیلیک اسید رهایش یافته برای نمونه هایی با غلظت ۶٪ فیبروئین در پوسته و هسته پلی وینیل الکل-سالیسیلیک اسید با ترکیب درصد های متفاوت: (الف) ۳-۳، (ب) ۳-۶ و (ج) ۳-۹.

۳٪ تا ۹٪ مقدار سالیسیلیک اسید رها شده، افزایش داشته است. توجیه این مسئله مربوط به آب دوستی پلی وینیل الکل به عنوان پلیمر استفاده شده در هسته است. خروج این پلیمر در محیط بافر، موجب آزادسازی درصد بیشتری از سالیسیلیک اسید می شود. این روند برای هر سه غلظت بررسی شده یکسان است.

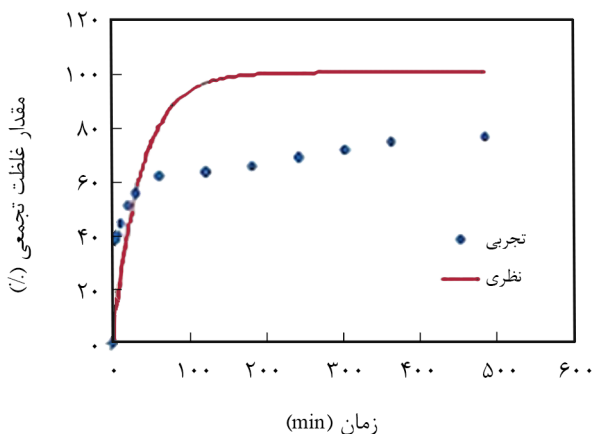
همچنین، غلظت پلی وینیل الکل به عنوان پلیمر استفاده شده در هسته، حداکثر مقدار سالیسیلیک اسید رهایش یافته را تعیین می کند، به طوری که نمونه های دارای ۳٪ پلی وینیل الکل تا ۵۰٪ سالیسیلیک اسید را رها می کنند. این در حالی است که استفاده از ۶ و ۹٪ پلی وینیل الکل در هسته مقدار رهایش را تا حدود ۹۰٪ به مدت ۳۰ روز افزایش داده است. این روند برای هر سه غلظت فیبروئین در پوسته صادق است. اما در هر سه غلظت، افزایش غلظت پلی وینیل الکل از ۳٪ به



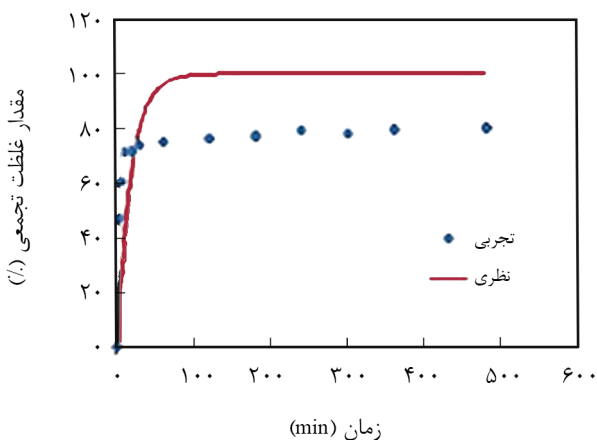
شکل ۹- مقدار غلظت تجمعی سالیسیلیک اسید رهایش یافته برای نمونه هایی با غلظت ۷٪ فیبروئین در پوسته و هسته پلی وینیل الکل-سالیسیلیک اسید با ترکیب درصد های متفاوت: (الف) ۳-۳، (ب) ۳-۶ و (ج) ۳-۹.



زمان (min)
(الف)



زمان (min)
(ب)



زمان (min)
(ج)

شکل ۱۱- منحنی رهایش برای مقادیر نظری و تجربی نمونه تهیه شده از ترکیب ۹٪ پلی وینیل الکل و ۳٪ سالیسیلیک اسید در هسته و ترکیب‌های متفاوت از فیبروئین در پوسته: (الف) ۶٪، (ب) ۷٪ و (ج) ۸٪.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \exp\left(-\frac{(R_i H + R_o H + 2R_i R_o)DKt}{R_i^2 H(R_o - R_i)}\right) \quad (2)$$

در این معادله، M_t و M_∞ به ترتیب مربوط به مقدار تجمعی داروی رهایش یافته در زمان t و زمان بی‌نهایت، R_i و R_o شعاع‌های بیرونی و درونی، H طول استوانه، D ضریب نفوذ، K ثابت تقسیم و t زمان است. معادله (۲) را می‌توان به شکل کلی معادله (۳) در نظر گرفت:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \exp(-Ct) \quad (3)$$

در این معادله، C مجموعه ثابت‌های موجود در معادله (۲)، شامل ضریب نفوذ، در نظر گرفته شده است. طبق این معادله مقدار داروی آزاد شده در زمان t به شکل غیرخطی کندشونده با زمان تغییر می‌کند. بررسی داده‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد، این مدل رهایش برای کل بازه زمانی مطالعه شده قابلیت پیش‌بینی روند رهایش را ندارد و تنها تطبیق قابل قبول برای روند رهایش در زمان‌های اولیه به کمک معادله ارائه شده (معادله ۲) قابل دسترسی است. براساس این معادله، روند رهایش برای زمان‌های ابتدایی، به صورت رابطه‌ای نمایی با زمان افزایش می‌یابد. اما با افزایش زمان، انحراف از این معادله برای نمونه‌های بررسی شده رخ می‌دهد. این مطلب در شکل ۱۱ برای رهایش به دست آمده از برخی از نمونه‌ها نشان داده شده است. مقادیر مربوط به محاسبه ثابت C براساس ۳۰ min ابتدای رهایش در جدول ۳ آمده است. مشاهده می‌شود، تطابق اطلاعات تجربی با مدل ارائه شده برای زمان‌های ابتدایی برای هر سه نمونه قابل قبول بوده و این مدل برای زمان‌های ابتدایی قابل استفاده است. اما، به کارگیری این مدل برای بازه زمانی گسترده‌تر نیازمند ایجاد اصلاحاتی در مدل است. بررسی این مقادیر ثابت C درج شده در جدول ۳ نشان می‌دهد، با افزایش مقدار پلیمر در ترکیب هسته، مقادیر C کاهش می‌یابد. از آنجا که روند تغییرات ضریب نفوذ با C یکسان است، می‌توان نتیجه گرفت، ضریب نفوذ مؤثر در فرایند رهایش با ترکیب درصد هسته ارتباط دارد و با افزایش درصد پلیمر هسته کاهش می‌یابد. گفتنی است، یافتن معادله‌های توصیف‌کننده بازه ۸ h برای نمونه‌های تولید شده، نیازمند بررسی و مطالعه بیشتر است.

تغییر شکل‌شناسی نانوالیاف تهیه شده پس از رهایش نیز جالب توجه است. بدین منظور، از نانوالیاف بررسی شده پس از عملیات رهایش طولانی مدت سالیسیلیک اسید (۱۵ روز)، تصویر میکروسکوپ الکترونی پویشی از باقی مانده نمونه تهیه شد. تصویر حاصل در شکل ۱۲، رهایش کامل جزء هسته و حفظ ساختار هسته-پوسته را پس از رهایش به خوبی نشان می‌دهد. اگرچه این شکل نمایانگر حفظ

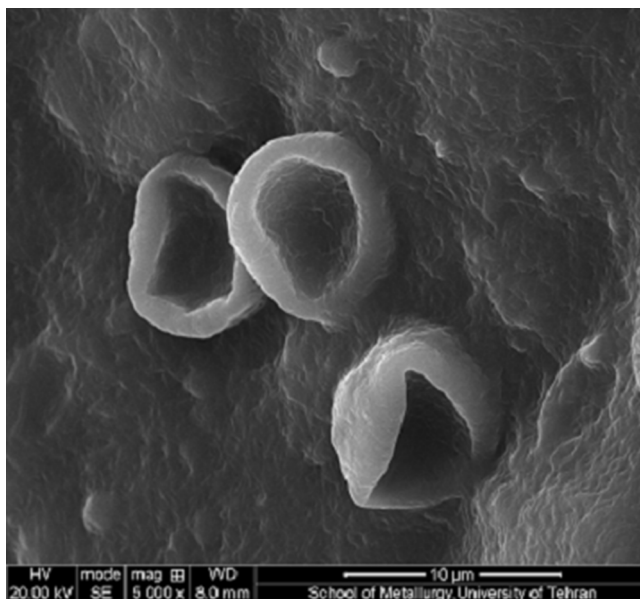
نتیجه گیری

جدول ۳- مقادیر ثابت C محاسبه شده با توجه به معادله (۲) براساس ۳۰ دقیقه اول رهایش برای تعدادی از نمونه‌ها.

مقدار C	مقدار (%)		
	سالیسیلیک اسید	پلی‌وینیل الکل	فیبروئین ابریشم
۰/۰۳۴۴	۳	۹	۶
۰/۰۲	۳	۹	۷
۰/۰۳۴۸	۳	۹	۸

در این بررسی، الکتروریسی هم‌محور فیبروئین ابریشم به‌عنوان پوسته و استفاده از سالیسیلیک اسید به‌عنوان داروی نمونه در هسته و بررسی رفتار رهایش آن مدنظر بود. محلول هسته ترکیبی از محلول پلی‌وینیل الکل و محلول سالیسیلیک اسید بود. گرانیوی و رسانندگی الکتریکی تمام محلول‌های استفاده شده اندازه‌گیری و سپس عملیات الکتروریسی هم‌محور انجام شد. بررسی طیف‌های FTIR پیش از انجام آزمون رهایش وجود پلیمر پوسته و دو جزء هسته را در ساختار تولید شده تأیید کرد. پس از انجام آزمون رهایش، نیز مقایسه طیف‌های FTIR خروج جزء هسته را تأیید کرد. از بررسی قطر نمونه‌ها مشخص شد، ارتباط مستقیم بین افزایش قطر نمونه‌ها با ازدیاد غلظت پلیمر در محلول پوسته وجود دارد. در حالی که با افزایش غلظت پلی‌وینیل‌الکل در ترکیب هسته، تغییر محسوسی در قطر نهایی الیاف مشاهده نمی‌شود. این عدم افزایش قطر به روند تغییر گرانیوی و رسانندگی الکتریکی محلول‌های استفاده شده در پوسته و هسته مرتبط است. این بدان معناست که در صورت امکان افزایش غلظت پلیمر و تغییر رسانندگی الکتریکی جزء پوسته، امکان اثر غلظت پلیمر در هسته، بر قطر ساختار نهایی فراهم می‌شود. بررسی رفتار رهایش سالیسیلیک اسید از ساختارهای بررسی شده با طیف‌نورسنجی UV-Vis و منحنی‌های رهایش نشان می‌دهد، به دلیل آب‌دوستی پلی‌وینیل‌الکل، با افزایش غلظت این پلیمر در ترکیب هسته، یا به عبارت دیگر با افزایش نسبت پلیمر به سالیسیلیک اسید در ترکیب هسته، درصد رهایش افزایش یافته است. این روند برای هر سه غلظت بررسی شده برای پوسته، یکسان بود. با افزایش غلظت پلیمر در پوسته، رهایش سالیسیلیک اسید به‌طور کنترل شده اتفاق افتاد. این بدان معناست که افزایش غلظت در محلول پوسته می‌تواند به‌عنوان مانع عمل کرده و رهایش تدریجی سالیسیلیک اسید را سبب شود. برای زمان‌های اولیه، مدل غیرخطی بین مقدار رهایش با زمان وجود دارد. این در حالی است که با پیشرفت زمان این روند از حالت خطی منحرف شده که نیازمند بررسی بیشتر است. نتایج بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نانوالیاف پس از رهایش، نشانگر تورم شدید در ساختار نانوالیاف است. با توجه به اثر تورم بر سرعت رهایش، مطالعه گسترده‌تر تغییر شکل‌شناسی الیاف طی فرایند رهایش می‌تواند جالب توجه باشد. بنابراین می‌توان گفت، نوع و رفتار پلیمر استفاده شده در پوسته و هسته و نیز ماهیت پلیمر موجود در ترکیب هسته از نظر آب‌دوستی و مقدار انحلال‌پذیری در آب و رسانندگی الکتریکی آن‌ها، در رفتار رهایش و قطر ساختارهای تولید شده مؤثر است که به بررسی و مطالعه بیشتری نیاز دارد.

ساختار هسته-پوسته ایجاد شده، پس از قرارگرفتن در شرایط رهایش طولانی‌مدت، اما به دلیل آب‌دوست بودن جزء هسته (پلی‌وینیل‌الکل) و نفوذ بسیار زیاد محلول آبی بافر به داخل کانال الیاف، تورم بسیار زیادی در نانوالیاف ایجاد شده است. به طوری که مطابق این شکل قطر هسته و ضخامت پوسته نانوالیاف به ترتیب به حدود $3/5$ و $1/3 \mu\text{m}$ افزایش یافته که بسیار بیشتر از مقادیر به دست آمده از تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری و میانگین قطرهای محاسبه شده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی پویشی است. با توجه به اینکه تصویر تهیه شده از نانوالیاف پس از فرایند رهایش مربوط به مقطع کوچکی است، نتیجه‌گیری درباره تغییر شکل‌شناسی نانوالیاف پوسته-هسته طی فرایند رهایش به مطالعه گسترده‌تری نیاز دارد.



شکل ۱۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی مقطع نمونه تهیه شده از ۶٪ فیروئین در پوسته و ترکیب ۹٪ پلی‌وینیل‌الکل و ۳٪ سالیسیلیک اسید در هسته پس از رهایش هسته.

مراجع

- Ramakrishna S., Fujihara K., Teo W.E., Lim T.C., and Ma Z., *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*, World Scientific, Singapore, 247-339, 2005.
- Odysseos A., Coaxial Nanofibers with Tunable Release Properties as Drug Delivery and Tissue Engineering Platforms, EuroNanoForum, Budapest, May 30-June 01, 2011.
- Mori M., Almeida P.V., Cola M., Anselmi G., Mäkilä E., Correia A., Salonen J., Hirvonen J., Caramella C., and Santos H.A., In Vitro Assessment of Biopolymer-Modified Porous Silicon Microparticles for Wound Healing Applications, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **88**, 635-642, 2014.
- Fouda M.M.G, Wittke R., Knittel D., and Schollmeyer E., Use of Chitosan/Polyamine Biopolymers Based Cotton as a Model System to Prepare Antimicrobial Wound Dressing, *Int. J. Diabetes Mellit.*, **1**, 61-64, 2009.
- Mokhtarzadeh A, Alibakhshi A., Hejazi M., Omidi Y., and Ezzati Nazhad Dolatabad J., Bacterial-Derived Biopolymers: Advanced Natural Nanomaterials for Drug Delivery and Tissue Engineering, *Trends. Anal. Chem.*, **82**, 367-384, 2016.
- Repanas A. and Glasmacher B., Dipyrnidamole Embedded in Polycaprolactone Fibers Prepared by Coaxial Electrospinning as a Novel Drug Delivery System, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **29**, 132-142, 2015.
- Nouri M., Mokhtari J., Salmani L., and Sadeghieh Kh., Electrospinning of Silk Fibroin/ β -Cyclodextrin Nanofibers for Controlled Drug Release, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **29**, 89-100, 2016.
- Kundu S.C, *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Number 74, UK, 41-77, 2014.
- Zhang X., Reagan M.R., and Kaplan D.L., Electrospun Silk Biomaterial Scaffolds for Regenerative Medicine, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **61**, 988-1006, 2009.
- He J.H., Wan Y.Q., and Xu L., Nano-Effects Quantum-Like Properties in Electrospun Nanofibers, *Chaos Solitons. Fract.*, **33**, 26-37, 2007.
- Vaseashta A., *Nanostructured Materials Based Next Generation Devices and Sensors*, Springer, Netherlands, 1-30, 2005.
- Stanger J., Tucker N., and Staiger M., Electrospinning, Report 190, Volume 16, Number 10, *Rapra Technology*, 2005.
- Yarin A.L., Koombhongse S., and Reneker D.H., Taylor Cone and Jetting from Liquid Droplets in Electrospinning of Nanofibers, *J. Appl. Phys.*, **90**, 4836-4846, 2001.
- He J.H., Liu Y., Mo L.F., Wan Y.Q., and Xu L., *Electrospun Nanofibres and Their Applications*, Smithers, UK, 2008.
- Shimizu T., *Self-Assembled Nanomaterials I- Nanofibers*, Springer, Verlag Berlin Heidelberg, Chapt. 4, 2008.
- Demir M.M., Yilgor I., and Yilgor E., Erman B., Electrospinning of Polyurethane Fibres, *Polymer*, **43**, 3303-3309, 2002.
- Chronakis I.S., Novel Nanocomposites and Nanoceramics Based on Polymer Nanofibers Using Electrospinning Process-A Review, *J. Mater. Process. Technol.*, **167**, 283-293, 2005.
- Casper C.L., Stephens J.S., Tassi N.G., Chase D.B., and Rabolt J.F., Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers: Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process, *Macromolecules*, **37**, 573-578, 2004.
- Hou H., Jun Z., Reuning A., Schaper A., Wendorff J.H., and Greiner A., Poly(*p*-xylylene) Nanotubes by Coating and Removal of Ultrathin Polymer Template Fibres, *Macromolecules*, **35**, 2429-2431, 2002.
- Crauso R.A, Schattka J.H., Greiner A., Titanium Dioxide Tubes from Sol-Gel Coating of Electrospun Polymer Fibres, *Adv. Mater.*, **13**, 1577-1579, 2001.
- Li D. and Xia Y., Direct Fabrication of Composite and Ceramic Hollow Nanofibres by Electrospinning, *Nano Letters*, **4**, 933-938, 2004.
- Dong H. and Jones W.E, Preparation of Submicron Polypyrrole/Poly(methyl methacrylate) Coaxial Fibres and Conversion to Polypyrrole Tubes and Carbon Tubes, *Langmuir*, **22**, 11384-11387, 2006.
- Khajavi R. and Abbasipour M., Electrospinning as a Versatile Method for Fabricating Core/Shell Hollow and Porous Nanofibers, *Sci. Iran.*, **19**, 2029-2034, 2012.
- Jiang G. and Qin X., An Improved Free Surface Electrospinning for High Throughput Manufacturing of Core-Shell Nanofibers, *Mater. Lett.*, **128**, 259-262, 2014.
- Agarwal S., Wendorff J.H., and Greiner A., Use of Electrospinning Technique for Biomedical Applications, *Polymer*, **49**, 5603-5621, 2008.

26. Duei Koh L., Cheng Y., Peng Teng C., Win Khin Y., Jun Loh X., Tee S., Low M., Ye E., Dong Yu H., Wei Zhang Y., and Yong Han M., Structures Mechanical Properties and Applications of Silk Fibroin Materials, *Prog. Polym. Sci.*, **46**, 86-110, 2015.
27. Perez R.A. and Won Kim H., Core-Shell Designed Scaffolds for Drug Delivery and Tissue Engineering, *Acta Biomater.*, **21**, 2-19, 2015.
28. Ho Park W., Jeong L., Yoo D., and Hudson S., Effect of Chitosan on Morphology and Conformation of Electrospun Silk Fibroin Nanofibers, *Polymer*, **45**, 7151-7157, 2004.
29. Zhang Y.Z., Venugopal J., Huang Z.M., and Lim C.T., Ramakrishna S., Characterization of the Surface Biocompatibility of the Electrospun PCL-Collagen Nanofibers Using Fibroblasts, *Biomacromolecules*, **6**, 2583-2589, 2005.
30. Sun B., Duan B., and Yuan X., Preparation of Core/Shell PVP/PLA Ultrafine Fibers by Coaxial Electrospinning, *J. Appl. Polym. Sci.*, **102**, 39-45, 2006.
31. Choi D.H., Park C.H., Kim I.H., Chun H.J., Park K., and Han D.K., Fabrication of Core-Shell Microcapsules Using PLGA and Alginate for Dual Growth Factor Delivery System, *J. Control. Rel.*, **147**, 193-201, 2010.
32. Hang Y., Zhang Y., Jin Y., Shao H., and Hu X., Preparation of Regenerated Silk Fibroin/Silk Sericin Fibers by Coaxial Electrospinning, *Int. J. Biol. Macromol.*, **51**, 980-986, 2012.
33. Xia Y., Lu X., and Zhu H., Natural Silk Fibroin/Polyaniline (Core/Shell) Coaxial Fiber: Fabrication and Application for Cell Proliferation, *Compos. Sci. Technol.*, **77**, 37-41, 2013.
34. Maleki M., Amani-Tehran M., Latifi M., and Mathur S., Drug Release Profile in Core-Shell Nanofibrous Structures: A Study on Peppas Equation and Artificial Neural Network Modeling, *Comput. Meth. Prog. Bio.*, **113**, 92-100, 2014.
35. Shao W., He J., Sang F., Ding B., Chen L., Cui S., Li K., and Han Q., Tan W., Coaxial Electrospun Aligned Tussah Silk Fibroin Nanostructured Fiber Scaffolds Embedded with Hydroxyapatite-Tussah Silk Fibroin Nanoparticles for Bone Tissue Engineering, *Mat. Sci. Eng. C*, **58**, 342-351, 2016.
36. Xie M., Li Y., Zhao Z., Chen A., Li J., Li Z., Li G., and Lin X., Development of Silk Fibroin-Derived Nano Fibrous Drug Delivery System in Supercritical CO₂, *Mater. Lett.*, **167**, 175-178, 2016.
37. Fazley Elahi M., Lu W., Guoping G., and Khan F., Core-Shell Fibers for Biomedical Applications, *J. Bioeng. Biomed. Sci.*, **3**, 121, 2013.
38. Zong X., Kim K., Fang D., Ran S., S Hsiao B., Chu B., Structure and Process Relationship of Electrospun Bioabsorbable Nanofiber Membranes, *Polymer*, **43**, 4403-4412, 2002.
39. He C.L., Huang Z.M., Han X.J., Liu L., Zhang H.S., and Chen L.S., Coaxial Electrospun Poly (L-lactic acid) Ultrafine Fibers for Sustained Drug Delivery, *J. Macromol. Sci.*, **45**, 515-524, 2006.
40. De Moraes M.A., Nogueira G.M., Weska R.F., and Beppu M.M., Preparation and Characterization of Insoluble Silk Fibroin/Chitosan Blend Films, *Polymers*, **2**, 719-727, 2010.
41. Dos Reis E.F., Campos F.S., Lage A.P., Leite R.C., Heneine L.G., Vasconcelos W.L., Lobato Z.I.P., and Mansur H.S., Synthesis and Characterization of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels and Hybrids for MPB70 Protein Adsorption, *Mater. Res.*, **9**, 185-191, 2006.
42. Jadrijevi M., Takac M., and Vikić Topic D., FT-IR and NMR Spectroscopic Studies of Salicylic Acid Derivatives. II. Comparison of 2-Hydroxy- and 2,4- and 2,5-Dihydroxy Derivatives, *Acta Pharm.*, **54**, 177-191, 2004.
43. Siepmann J. and Siepmann F., Modeling of Diffusion Controlled Drug Delivery, *J. Control. Rel.*, **161**, 351-362, 2012.