

The Shape, Size and Uniformity Control of Biodegradable Poly(lactic-co-glycolic acid) Micro-Particles Produced by Electro spraying Method

Elham Vatankhah*

Department of Biological Systems, Faculty of New Technologies Engineering,
Shahid Beheshti University, Postal Code 1983969411, Tehran, Iran

Received: 7 February 2020, accepted: 15 July 2020

ABSTRACT

Hypothesis: Nowadays, the growing concern over environmental pollution has attracted attentions towards development of biodegradable micro-particles to replace non-degradable micro-particles used in cosmetic products. In this regard, poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) micro-particles produced by a simple technique, electro spraying, is used as biodegradable micro-particles. To obtain the maximum efficiency, especially as a drug delivery system, these particles need to be fiber-free with spherical shape and have a uniform size distribution. This goal can be achieved by controlling variables such as polymer molecular weight, solvent type, polymer solution concentration, voltage, needle size, polymer solution feed rate and distance from needle tip to collector.

Methods: PLGA particles were electro sprayed considering four variables, including polymer solution concentration (at three levels), needle size (at two levels), voltage (at three levels), and polymer solution feed rate (at three levels). Then, electron scanning microscopic images were obtained from each sample to observe the morphology of particles and to study the effect of process variables on it. To understand the morphological behavior of the particles, the influence of each variable was investigated according to mechanisms involved in electro spraying process.

Findings: The four variables affecting droplet size, and consequently, Peclet number and droplet charge play important roles in mechanisms involved in electro spraying process and determining the morphology of the resultant particles. Thanks to the effects of these phenomena, spherical and fiber-free micro-particles with uniform size were obtained by electro spraying PLGA solutions at concentrations of 3% and 5%, using a 27 G needle at a feed rate of 0.3 mL/h and applying a voltage of 10 kV.

Keywords:

micro-particles,
poly(lactic-co-glycolic acid),
electro spraying,
morphology,
cosmetic products

*E-mail: e_vatankhah@sbu.ac.ir

Please cite this article using:

Vatankhah E., The Shape and Size-uniformity Control of Biodegradable Poly(lactic-co-glycolic acid) Micro-Particles Produced by Electro spraying Method, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **33**, 230-243, 2020.

کنترل شکل، اندازه و یکنواختی میکروذرات زیست تخریب پذیر پلی (لاکتیک-*CO*-گلیکولیک اسید) تولید شده با روش الکتروافشانش

الهام وطن خواه*

تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده مهندسی فناوری های نوین، گروه سامانه های زیستی،
کد پستی ۱۹۸۳۹۶۹۴۱۱

دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۸، پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۲۵

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

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،

سال سی و سوم، شماره ۳

صفحه ۲۴۳-۲۳۰، ۱۳۹۹

ISSN: 1016-3255

Online ISSN: 2008-0883

DOI: 10.22063/JIPST.2020.1743

چکیده

فرضیه: امروزه، به دلیل نگرانی روزافزون درباره مسئله آلودگی های زیست محیطی، توسعه میکروذرات زیست تخریب پذیر برای جایگزینی میکروذرات تخریب ناپذیر مصرفی در محصولات آرایشی-بهداشتی مورد توجه قرار گرفته است. از میکروذرات پلی (لاکتیک-*CO*-گلیکولیک اسید) (PLGA) قابل تولید با روش ساده الکتروافشانش به عنوان میکروذرات زیست تخریب پذیر استفاده می شود. این میکروذرات برای داشتن حداکثر کارایی، به ویژه به عنوان سامانه رهایش دارو باید بدون لیف و کروی شکل و با توزیعی یکنواخت از اندازه ذرات باشند. این مهم با کنترل متغیرهایی همچون وزن مولکولی پلیمر، نوع حلال، غلظت محلول پلیمری، ولتاژ اعمال شده، اندازه سوزن، سرعت تغذیه محلول پلیمری و فاصله نوک سوزن تا جمع کننده دست یافتنی است.

روش ها: ذرات PLGA با روش الکتروافشانش و در نظر گرفتن چهار متغیر غلظت محلول پلیمری (در سه سطح)، اندازه سوزن (در دو سطح)، ولتاژ (در سه سطح) و سرعت تغذیه محلول پلیمری (در سه سطح) تولید شدند. سپس، با عکس های میکروسکوپ الکترونی پویشی حاصل از هر نمونه به منظور درک رفتار شکل شناسی ذرات، اثر هر یک از متغیرها با توجه به سازوکارهای حاکم بر فرایند الکتروافشانش مطالعه شد.

یافته ها: چهار متغیر موثر بر اندازه قطره و در نتیجه عدد Peclet و بار قطره نقش خود را در سازوکارهای حاکم بر الکتروریسی ایفا می کنند و بر شکل شناسی ذرات حاصل اثر می گذارند. به دلیل اثرهای ناشی از این پدیده ها، میکروذرات کروی با اندازه یکنواخت و بدون لیف به کمک الکتروافشانش محلول های PLGA با غلظت ۳ و ۵٪ از سوزن ۲۷ G، با سرعت تغذیه ۰/۳ mL/h و اعمال ولتاژ ۱۰ kV به دست آمد.

واژه های کلیدی

میکروذرات،

پلی (لاکتیک-*CO*-گلیکولیک اسید)،

الکتروافشانش،

شکل شناسی،

محصولات آرایشی-بهداشتی.

مقدمه

ذرات با ابعاد میکرومتری (میکروذرات) به‌طور گسترده در محصولات آرایشی-بهداشتی همچون اسکراب‌های صورت، پاک‌کننده‌ها و خمیردندان‌ها به‌کار گرفته می‌شوند. میکروذرات تجاری استفاده‌شده معمولاً از پلیمرهای سنتزی همچون پلی‌اتیلن، پلی‌استیرن و پلی‌اتیلن ترفتالات یا مواد غیرآلی همچون سیلیکات و هیدروکسی‌آپاتیت ساخته می‌شوند. استفاده از مواد تخریب‌ناپذیر در ساخت این میکروذرات و نحوه طراحی آن‌ها که با شست‌وشو وارد سامانه فاضلاب می‌شوند، دشواری جداسازی میکروذرات از پساب به‌دلیل اندازه کوچک آن‌ها، قابلیت این میکروذرات در جذب سطحی آلودگی‌های آلی پایدار موجود در محیط به‌دلیل سطح ویژه زیاد آن‌ها، خورده‌شدن توسط آبزیان و انباشتگی آن‌ها در چرخه غذایی آبزیان و در نتیجه تهدید اکوسیستم دریایی موجب ایجاد نگرانی‌های زیست‌محیطی در سال‌های اخیر شده است. به همین دلیل استفاده از میکروذرات تخریب‌ناپذیر در محصولات آرایشی-بهداشتی در برخی از کشورها ممنوع اعلام شده و توسعه میکروذرات زیست‌تخریب‌پذیر بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است [۱].

پلی (لاکتیک-CO- گلیکولیک اسید)، PLGA، پلیمری زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر بوده که مورد تأیید سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA) و آژانس دارویی اروپا (EMA) است. این پلیمر به‌طور گسترده در سامانه‌های رهایش دارو، داربست‌های مهندسی بافت و وسایل جراحی استفاده می‌شود [۲،۳]. افزون بر این، محصولات تخریب PLGA شامل لاکتیک اسید و گلیکولیک اسید از خانواده‌های آلفا-هیدروکسی اسیدها هستند که به‌دلیل لایه‌برداری از لایه شاخی پوست و در نتیجه کاهش چین‌وچروک پوست از جمله مواد آرایشی-بهداشتی مفید به‌شمار می‌آیند [۴].

برای تولید میکروذرات PLGA معمولاً از روش‌هایی همچون خشک‌کردن افشانه‌ای، ژل‌شدن یونی و امولسیون‌سازی استفاده می‌شود. الکتروافشانش از جمله روش‌های الکتروهیدرودینامیکی است که برای تولید میکروذرات استفاده می‌شود و در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های الکتروهیدرودینامیکی شامل الکتروریسی و الکتروافشانش روش‌های ساده و مقرون به‌صرفه هستند که قابلیت تولید به‌ترتیب الیاف و ذرات با ابعاد نانومتری تا میکرومتری را دارند. از سایر برتری‌های این روش‌ها، می‌توان به قابلیت بارگذاری انواع دارو در انواع الیاف یا ذرات پلیمری فقط در یک مرحله اشاره کرد. تجهیزات لازم برای الکتروریسی-الکتروافشانش در ساده‌ترین حالت، شامل منبع تغذیه با ولتاژ زیاد (۳۰-۵۰ kV)، پمپ تغذیه، سرنگ و جمع‌کننده مسطح یا سیلندر

چرخان است. مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده در نوع رفتار سیال حین فرایند، مقدار درگیری زنجیرها و گرانیوی محلول پلیمری است که به وزن مولکولی پلیمر مصرفی و غلظت محلول پلیمری بستگی دارد [۵]. در فرایند الکتروافشانش، قطره نوک سرنگ به قطره‌های کوچک‌تر با ابعادی در مقیاس میکرو تا نانومتر شکسته می‌شود [۶]. نکته مهم در فرایندهای الکتروهیدرودینامیکی آن است که حین حرکت محلول پلیمری که ممکن است، دارای دارو نیز باشد، به سمت جمع‌کننده و ظرف‌ترشدن جت یا کوچک‌ترشدن ذرات و در نتیجه افزایش سطح ویژه آن‌ها، حلال به‌سرعت و به‌طور مؤثری خارج می‌شود، به‌نحوی که در صورت وجود دارو، زمان کافی برای جدایی فاز و تبلور دوباره دارو فراهم نیست و تشکیل محلول یا پراکنش جامد بی‌شکل امکان‌پذیر می‌شود. همچنین، ریزساختارهای حاصل به‌دلیل داشتن سطح ویژه زیاد، امکان رهایش و نفوذ دارو از ساختار را فراهم می‌کنند. استفاده از محلول‌های جامد یا پراکنش‌های جامد حاصل از نانوفناوری از جمله زمینه‌های پژوهشی در علم داروسازی است که با هدف بهبود زیست‌دسترس‌پذیری داروهای با قابلیت حل‌پذیری محدود در آب مورد توجه قرار گرفته است [۷-۹]. نانو/میکروذرات حامل دارو در انواع تجویزهای دارویی شامل خوراکی، تزریقی، استنشاقی و چشمی استفاده می‌شوند [۱۰].

استفاده از نانو/میکروذرات PLGA حاصل از الکتروافشانش به‌عنوان سامانه رهایش دارو در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه بوده است [۱۱-۱۵]. برای اینکه میکروذرات بتوانند حداکثر کارایی را داشته باشند، باید بدون لیف و کروی‌شکل با توزیع یکنواخت از اندازه ذرات باشند. بنابراین، از جمله چالش‌های پیش رو در تولید میکروذرات با روش الکتروافشانش، بهینه‌سازی فرایند برای تولید ذراتی کروی با توزیع اندازه باریک است. عامل‌هایی همچون وزن مولکولی پلیمر، نوع حلال، غلظت محلول پلیمری، ولتاژ اعمال‌شده، قطر سوزن (نازل)، سرعت تغذیه محلول پلیمری و فاصله نوک سوزن تا جمع‌کننده با اثر بر گرانیوی، کشش سطحی و رسانندگی الکتریکی محلول پلیمری و نیز بر نیروهای جاذبه و دافعه الکتروستاتیک شکل‌شناسی میکروذرات تولیدی را تعیین می‌کنند.

سازوکارهای حاکم بر فرایند الکتروریسی در مقاله‌های متعددی بررسی شدند [۱۶، ۱۷]. همچنین اثر عامل‌های فرایندی، ولتاژ اعمال‌شده، قطر سوزن (نازل)، سرعت تغذیه محلول پلیمری و فاصله نوک سوزن بر شکل‌شناسی ذرات حاصل از الکتروافشانش موضوع برخی از پژوهش‌ها بوده است [۱۸-۲۰]. باید توجه داشت، فرایند الکتروافشانش فرایند پیچیده‌ای است که اثرهای متقابل متغیرهای مختلف آن، دستیابی به نتیجه واحد را برای بافتن شرایطی که به تولید

اثر متغیرهای فرایند بر آن، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) مدل SU3500 ساخت Hitachi ژاپن از هر نمونه تصویربرداری شد. سپس، قطر ذرات نمونه‌هایی که عکس میکروسکوپی الکترونی آن‌ها حاکی از تشکیل ذرات کروی و بدون الیاف بود، با نرم‌افزار ImageJ محاسبه شد.

تحلیل آماری

تحلیل آماری مربوط به میانگین قطر میکروذرات کروی تولیدشده در شرایط مختلف با آزمون t مستقل در سطح اطمینان ۹۵٪ با نرم‌افزار S-PLUS انجام و میانگین نتایج همراه با انحراف استاندارد گزارش شد.

نتایج و بحث

شکل‌های ۱ تا ۳ عکس‌های SEM ذرات تهیه شده از محلول‌های ۱، ۳ و ۵٪ در سرعت‌های تغذیه ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ mL/h و اعمال ولتاژ به ترتیب ۸، ۱۰ و ۱۲ kV به سوزن ۲۰ G را نشان می‌دهند.

شکل‌های ۴ تا ۶ عکس‌های SEM ذرات تهیه شده از محلول‌های ۱، ۳ و ۵٪ با سرعت‌های تغذیه ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ mL/h و اعمال ولتاژ به ترتیب ۸، ۱۰ و ۱۲ kV را به سوزن ۲۷ G نشان می‌دهند.

مقایسه شکل‌های ۱ تا ۶ نشان می‌دهد، با استفاده از محلول‌های با غلظت ۱٪ در هیچ یک از حالت‌ها، ذرات کروی با اندازه یکنواخت تشکیل نشدند و ذرات دارای ظاهری نایکنواخت و فروپاشیده هستند. با افزایش سرعت تغذیه محلول پلیمری، اندازه ذرات افزایش یافته است که این افزایش به‌ویژه در سرعت تغذیه ۰/۵ mL/h در تمام حالت‌ها (ولتاژها و قطرهای سوزن مختلف) شایان توجه است. با افزایش ولتاژ، ذرات کشیده شده و ذرات دارای زوائد تولید شدند. همچنین دیده می‌شود، با ثابت ماندن ولتاژ و سرعت تغذیه، ازدیاد قطر سوزن، افزایش اندازه ذرات را به همراه داشته است.

عکس‌های مربوط به ذرات تولیدشده از محلول‌های با غلظت ۳٪ حاکی از آن است که اثر ولتاژ و سرعت تغذیه بر شکل‌شناسی ذرات همچون اثر آن‌ها بر شکل‌شناسی ذرات تهیه شده از محلول‌های ۱٪ است. همچنین دیده شد، با استفاده از سوزن ۲۰ G، از ذرات تولیدشده زوائد لیف‌مانندی خارج شدند و ذرات تولیدی همچنان نایکنواخت و فروپاشیده هستند (شکل‌های ۱ تا ۳). اما ذرات تولیدشده با سوزن ۲۷ G (شکل‌های ۴ تا ۶)، حالت متراکم‌تری داشتند و در برخی حالت‌ها ذرات کروی تولید شدند. شکل‌های ۴ تا ۶ نشان می‌دهند،

ذراتی کروی و یکنواخت منجر شود، دشوار می‌سازد. این شرایط بهینه ممکن است، از سامانه‌ای (محلول پلیمری) به سامانه دیگر متغیر باشد. اما بررسی اثر متغیرها بر فرایند الکتروافشانش با بررسی نقش آن‌ها در سازوکارهای درگیر در فرایند الکتروافشانش می‌تواند به چارچوب کلی منجر شود که بر این اساس، در هر سامانه الکتروریسی می‌توان سریع‌تر به شرایط بهینه دست یافت. با توجه به اینکه تاکنون بررسی نقش متغیرهای محلولی و فرایندی بر سازوکارهای مؤثر بر الکتروافشانش و در نتیجه شکل‌شناسی ذرات حاصل، کمتر مورد توجه بوده است، در پژوهش حاضر، اثر غلظت محلول پلیمری، ولتاژ، قطر سوزن و سرعت تغذیه محلول پلیمری بر شکل‌شناسی ذرات PLGA با توجه به سازوکارهای مؤثر بر فرایند الکتروافشانش و اثرگذار بر شکل و اندازه و یکنواختی ذرات بررسی شده است.

تجربی

مواد

کوپلیمر PLGA با نسبت لاکتید به گلیکولید ۷۵ به ۲۵ و وزن مولکولی ۱۰۷-۶۶ kDa از شرکت Sigma-Aldrich (کد P1941) و دی‌کلرومتان از شرکت Merck (کد ۱۰۶۰۵۰) خریداری شد.

دستگاه‌ها و روش‌ها

الکتروافشانش میکروذرات

محلول‌های پلیمری در سه غلظت (وزنی/حجمی) ۱، ۳ و ۵٪ از حل‌پذیری PLGA در دی‌کلرومتان تهیه شدند و به مدت ۸ h تحت همزدن در دمای محیط قرار گرفتند. پس از این مدت هر محلول در سرنگ ۱ mL بارگذاری شد. برای انجام فرایند الکتروافشانش با دستگاه الکتروریسی و الکتروافشانش ساخت شرکت ایرانی پارس نانواریس، از سوزن‌هایی با قطر داخلی ۰/۶ (۲۰ G) و ۰/۲۱ mm (۲۷ G)، ولتاژهای ۸، ۱۰ و ۱۲ kV و سرعت‌های تغذیه ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ mL/h استفاده شد. با توجه به تعداد متغیرها (چهار متغیر) و تعداد سطح‌های هر یک (قطر سوزن در دو سطح و سایر متغیرها در سه سطح)، در مجموع ۵۴ نمونه با روش الکتروافشانش تولید شد. هر یک از نمونه‌ها روی جمع‌کننده ساکن فلزی جمع‌آوری شد که سطح آن با فویل آلومینیمی پوشانده شده بود. فاصله میان نوک سوزن تا سطح جمع‌کننده هنگام تولید تمام نمونه‌ها ۱۰ cm در نظر گرفته شد.

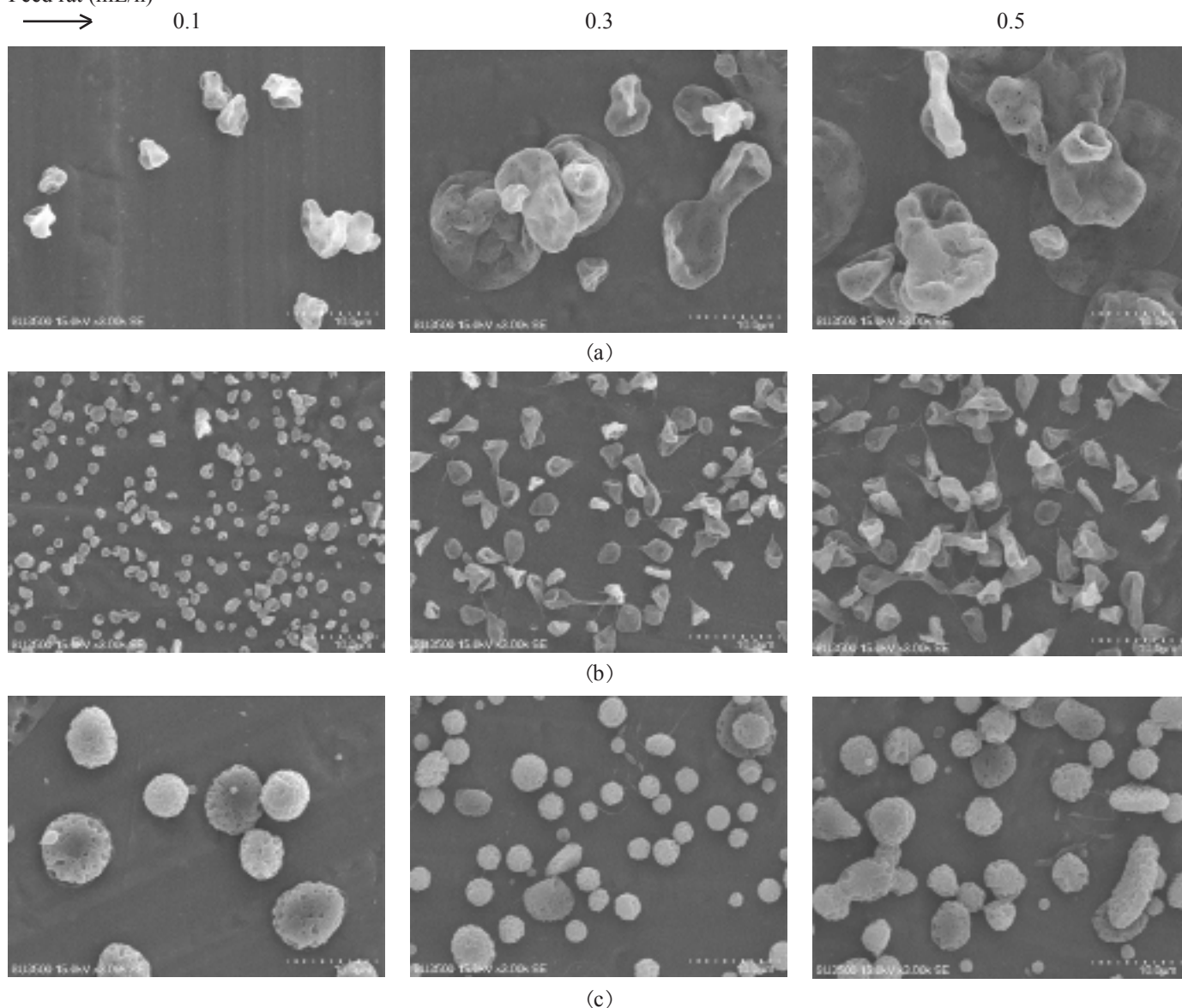
ارزیابی شکل‌شناسی میکروذرات الکتروافشانش شده

برای مشاهده شکل‌شناسی میکروذرات تولیدی و بررسی نحوه

بود. همچنین ذرات تولیدشده دارای سطحی متخلخل بودند. با افزایش غلظت محلول پلیمری به ۵٪ تولید ذراتی کروی و متراکم با سطح‌های متخلخل در تمام حالت‌ها دیده می‌شود (شکل‌های ۱ تا ۶). همان‌طور که شکل‌های ۱ و ۴ نشان می‌دهد، هنگام استفاده از ولتاژ کم (۸ kV) اندازه ذرات یکنواخت نیست. اما با افزایش ولتاژ اندازه ذرات یکنواخت‌تر شده است. البته در ولتاژهای ۱۰ و ۱۲ kV نیز هنگام تغذیه محلول پلیمری با سرعت ۰/۱ mL/h از سوزن ۲۰ G

هنگام استفاده از سوزن ۲۷ G، سرعت تغذیه محلول پلیمری نه فقط بر اندازه ذرات که بر شکل‌شناسی آن‌ها نیز اثرگذار است. با افزایش سرعت تغذیه محلول پلیمری از ۰/۱ mL/h به ۰/۳ mL/h، وجود الیاف در میان ذرات کاهش یافته به طوری که در سرعت تغذیه ۰/۳ mL/h، ذرات تقریباً کروی با اندازه یکنواخت تشکیل شدند. اما، با افزایش سرعت تغذیه محلول پلیمری، یکنواختی و کروی بودن ذرات کمتر شد و این موضوع هنگام استفاده از ولتاژ ۱۲ kV نمایان‌تر

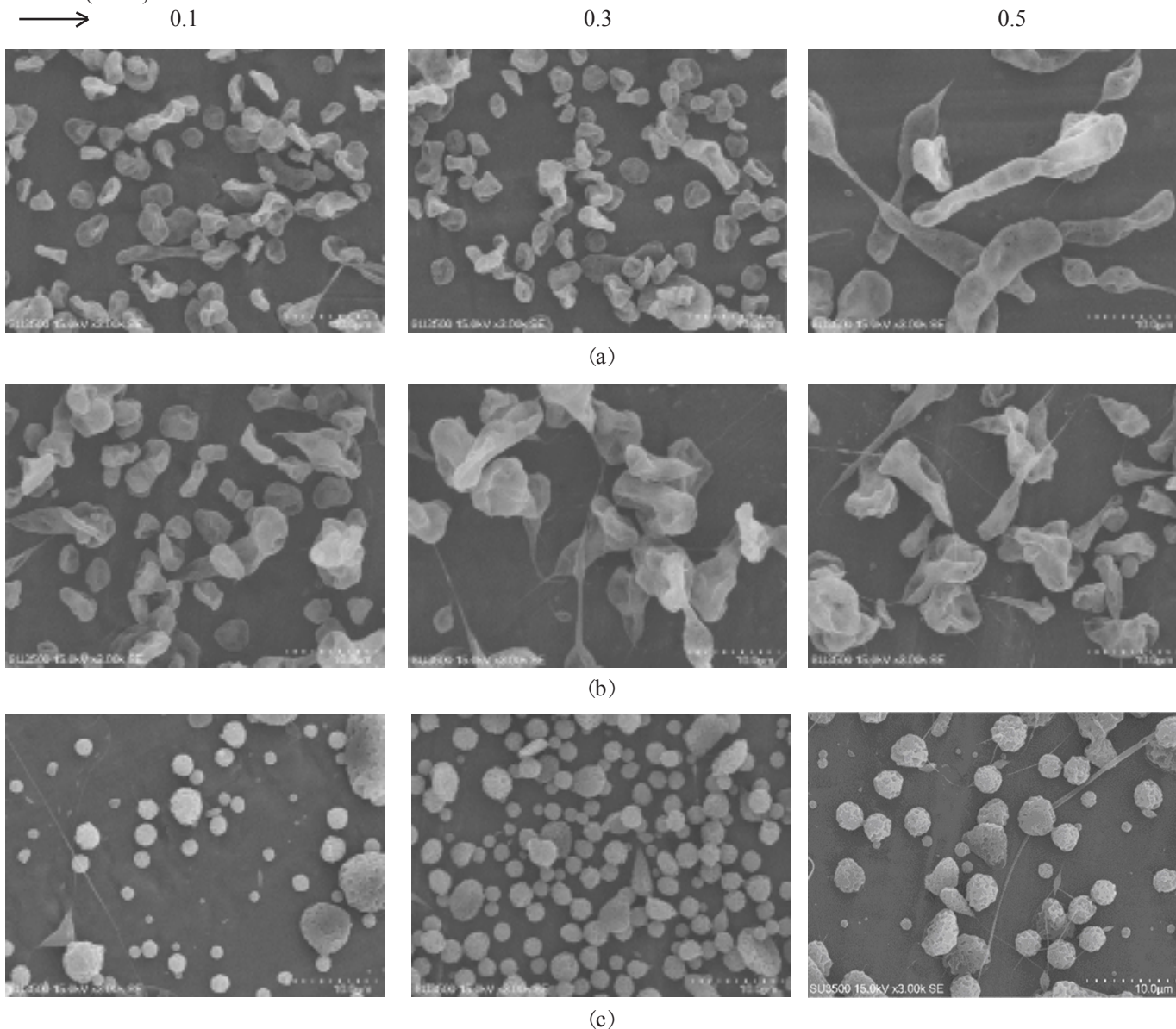
Feed rat (mL/h)



شکل ۱- عکس‌های SEM ذرات الکتروافشان شده با سوزن ۲۰ G در ولتاژ ۸ kV و سرعت‌های تغذیه ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ mL/h به ترتیب از چپ به راست از محلول PLGA با غلظت‌های مختلف: (a) ۱٪، (b) ۳٪ و (c) ۵٪.

Fig. 1. SEM images of electrospayed particles using a 20G needle at voltage of 8 kV, feed rates of 0.1, 0.3 and 0.5 mL/h from PLGA solutions with different concentration: (a) 1%, (b) 3% and (c) 5%.

Feed rat (mL/h)



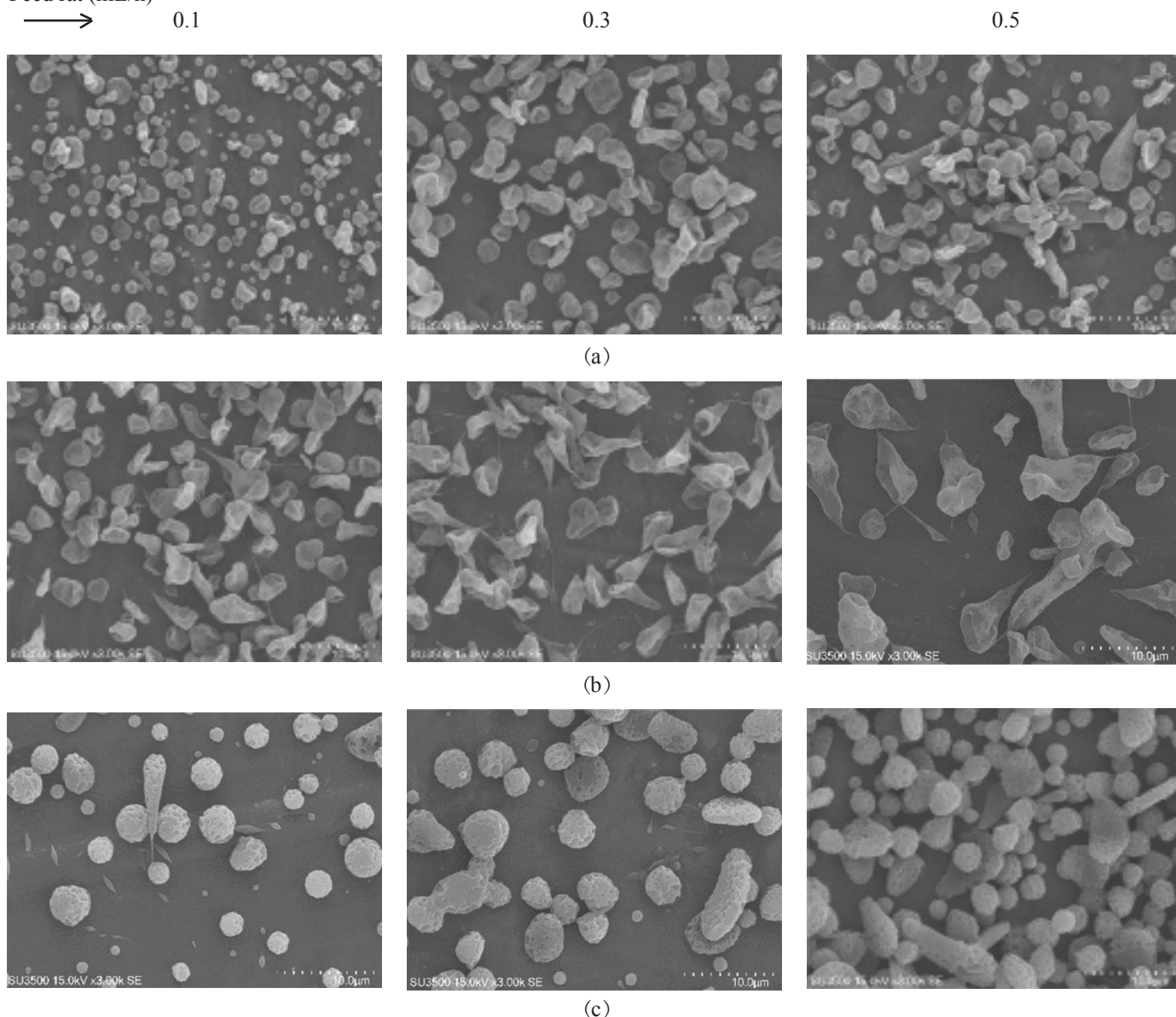
شکل ۲- عکس های SEM ذرات الکتروافشان شده با سوزن 20 G در ولتاژ 10 kV و سرعت های تغذیه 0.1، 0.3 و 0.5 mL/h به ترتیب از چپ به راست از محلول PLGA با غلظت های مختلف: (a) 1٪، (b) 3٪ و (c) 5٪.

Fig. 2. SEM images of electrospayed particles using a 20G needle at voltage of 10 kV, feed rates of 0.1, 0.3 and 0.5 mL/h from PLGA solutions with different concentration: (a) 1%, (b) 3% and (c) 5%.

چند سازوکار حین فرایند الکتروافشان بر اندازه و شکل شناسی ذرات الکتروافشان شده اثرگذار هستند. از یک سو، رقابت میان سرعت تبخیر حلال از سطح قطره و ضریب نفوذ پلیمر در محلول قطره سبب شکل گیری ذرات توخالی فروپاشیده یا ذرات متراکم و صلب با سطح صاف یا ناهموار می شود [۱۶]. طبق این سازوکار در مسیر رسیدن ذرات به جمع کننده، با خروج حلال از سطح قطره ها،

نایکنواختی در اندازه ذرات دیده می شود و هنگام تغذیه محلول با همین سرعت از سوزن 27 G، ذرات به همراه الیاف تولید شدند. درک چرایی مشاهداتی که به آن ها اشاره شد، مستلزم این است که اثر عامل هایی همچون غلظت محلول پلیمری، ولتاژ، قطر سوزن و سرعت تغذیه محلول پلیمری بر شکل شناسی ذرات با توجه به سازوکارهای حاکم بر فرایند الکتروافشان بررسی شود.

Feed rat (mL/h)



شکل ۳- عکس های SEM ذرات الکتروافشان شده با استفاده از سوزن 20 G در ولتاژ 12 kV و سرعت های تغذیه 0.1، 0.3 و 0.5 mL/h به ترتیب از چپ به راست از محلول PLGA با غلظت های مختلف: (a) 1٪، (b) 3٪ و (c) 5٪.

Fig. 3. SEM images of electrospayed particles using a 20G needle at voltage of 12 kV, feed rates of 0.1, 0.3 and 0.5 mL/h from PLGA solutions with different concentration: (a) 1%, (b) 3% and (c) 5%.

$$d_e = Q^{1/2} \quad (2)$$

در معادله های (1) و (2)، $\frac{\partial r_d}{\partial t}$ سرعت جمع شدگی قطره به دلیل تبخیر حلال است، r_d و d_d به ترتیب شعاع و قطر قطره، D_{AB} ضریب نفوذ پلیمر داخل قطره و Q سرعت تغذیه محلول پلیمری است. با افزایش عدد Peclet یعنی با بزرگ شدن قطره یا بیشتر بودن سرعت

سطح دچار جمع شدگی می شود و غلظت پلیمر در نزدیکی سطح افزایش می یابد. بسته به نسبت میان سرعت تبخیر حلال و سرعت نفوذ پلیمر در داخل قطره که با عدد Peclet نیز مشخص می شود، رویدادهای متفاوتی ممکن است، اتفاق بیفتد:

$$P_e = \frac{\partial r_d}{\partial t} \cdot r_d \cdot D_{AB} \quad (1)$$

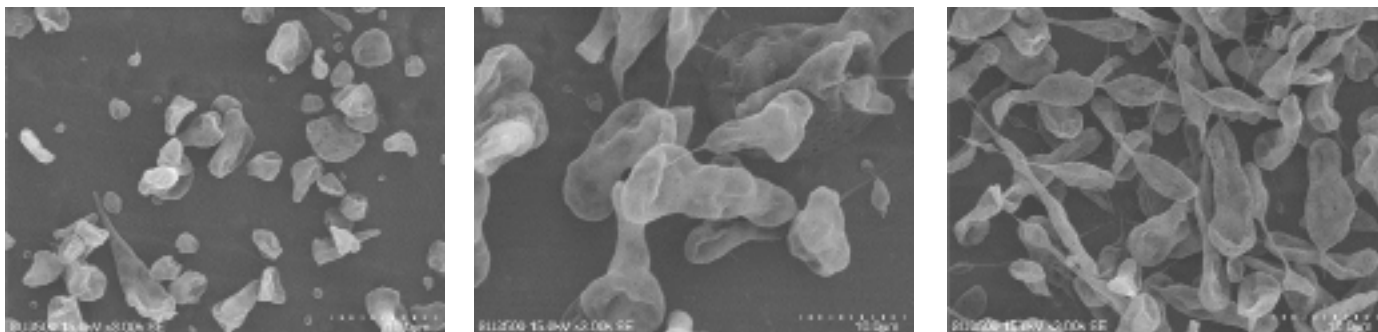
Feed rat (mL/h)



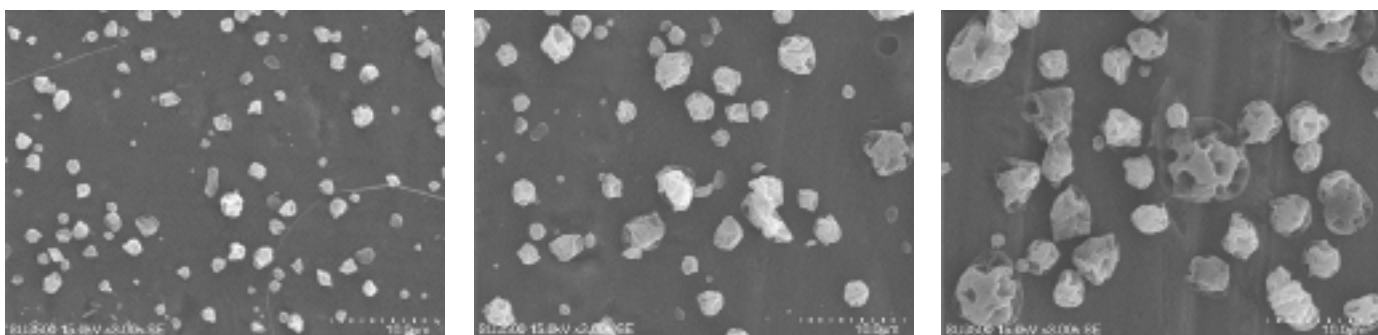
0.1

0.3

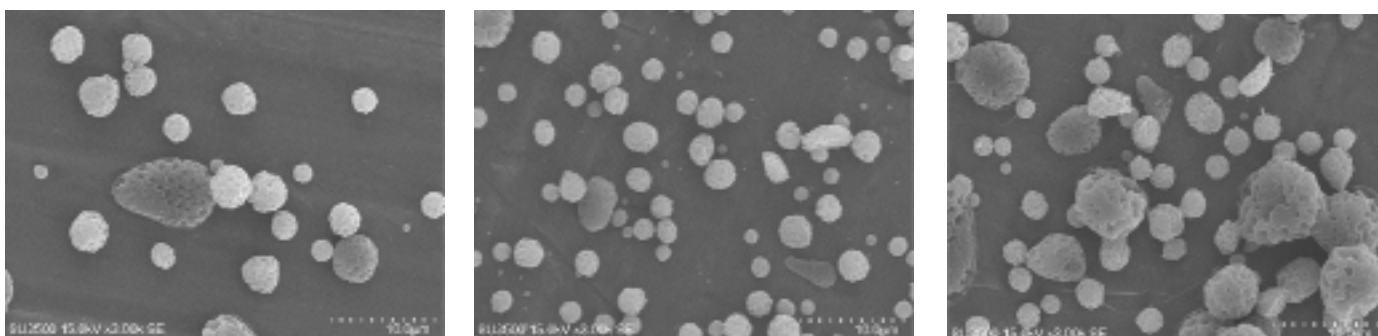
0.5



(a)



(b)



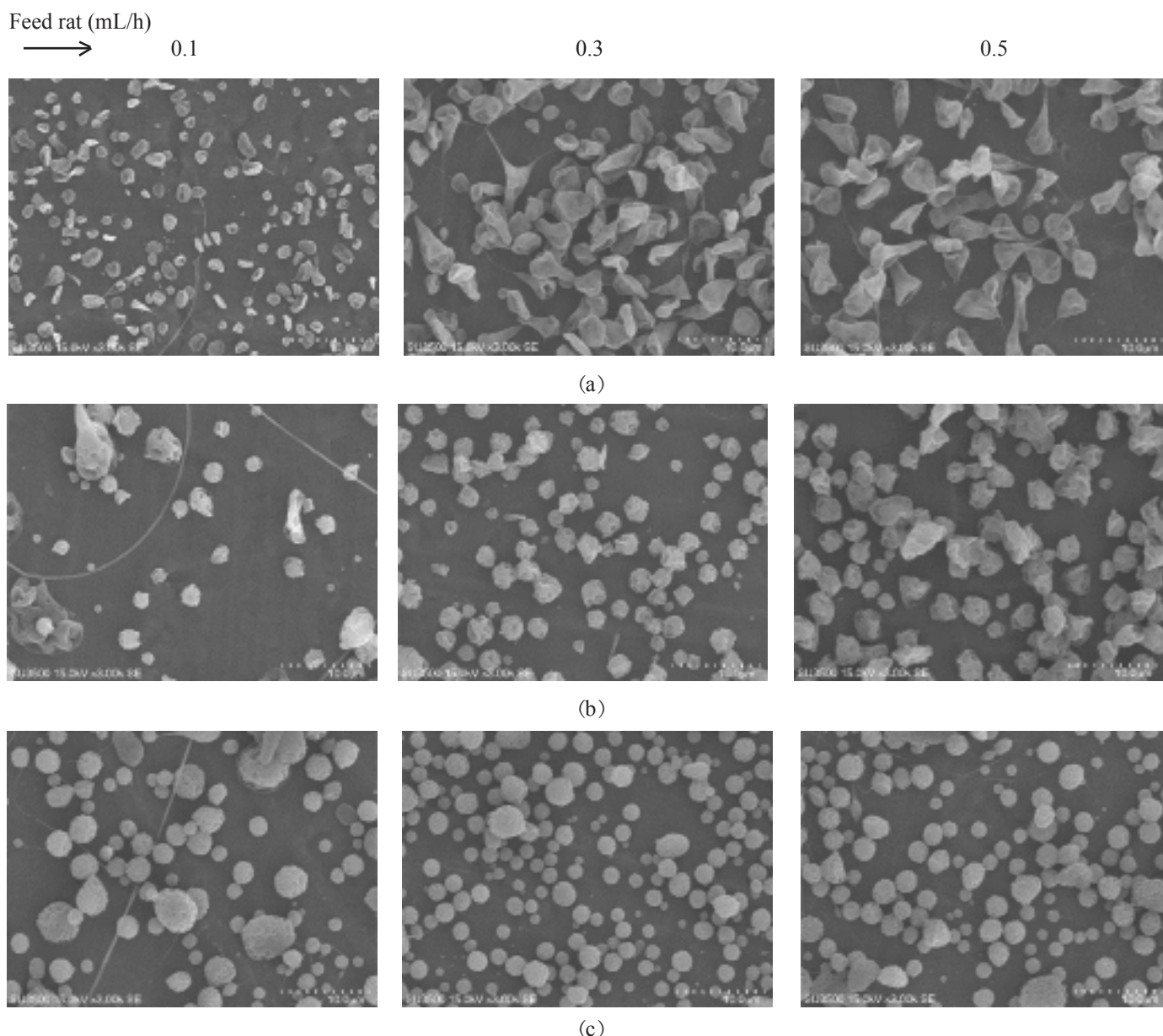
(c)

شکل ۴- عکس های SEM ذرات الکتروافشان شده با سوزن 27 G در ولتاژ 8 kV و سرعت های تغذیه 0.1، 0.3، و 0.5 mL/h به ترتیب از چپ به راست از محلول PLGA با غلظت های مختلف: (a) 1٪، (b) 3٪ و (c) 5٪.

Fig. 4. SEM images of electrosprayed particles using a 27G needle at voltage of 8 kV, feed rates of 0.1, 0.3 and 0.5 mL/h from PLGA solutions with different concentration: (a) 1%, (b) 3% and (c) 5%.

اندکی افزایش یابد، زنجیرهای پلیمری بیشتری به نواحی کم غلظت نزدیک مرکز قطره نفوذ می کنند و به جای تشکیل قطره توخالی، قطره متخلخلی تشکیل می شود. یکپارچگی مکانیکی بهتر در مرکز ذره مانع از فروپاشی پوسته سطحی می شود و به دلیل جمع شدگی سطح ذرات، سطحی کنگره ای پدید می آید. اگر سرعت نفوذ پلیمر سریع باشد، پلیمر می تواند هم زمان با ایجاد جمع شدگی، قطره را دوباره

خروج حلال از سطح در مقایسه با سرعت نفوذ پلیمر، در اثر خروج حلال غلظت پلیمر در نزدیکی سطح قطره به تدریج افزایش می یابد تا زمانی که پوسته نازکی از پلیمر جامد در سطح قطره شکل می گیرد. با خروج بیشتر حلال، به ضخامت این پوسته افزوده می شود تا در نهایت قطره ای توخالی شکل می گیرد که با فروپاشی، ذره ای با شکلی مقعر از دو طرف تشکیل می شود. اگر سرعت نفوذ پلیمر



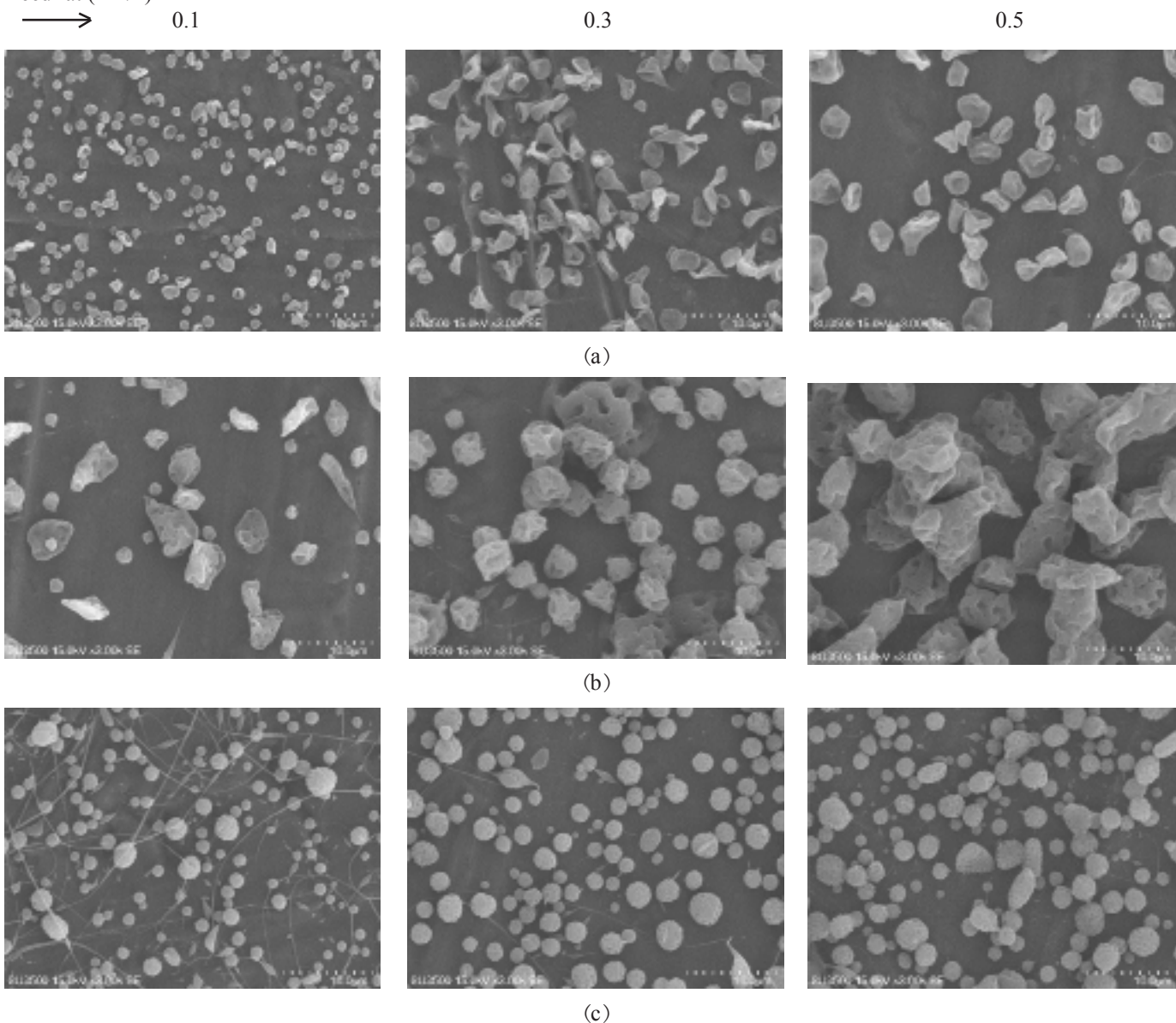
شکل ۵- عکس های SEM ذرات الکتروافشان شده با سوزن 27 G در ولتاژ 10 kV و سرعت های تغذیه 0.1، 0.3 و 0.5 mL/h به ترتیب از چپ به راست از محلول PLGA با غلظت های مختلف: (a) 1٪، (b) 3٪ و (c) 5٪.

Fig. 5. SEM images of electro sprayed particles using a 27G needle at voltage of 10 kV, feed rates of 0.1, 0.3 and 0.5 mL/h from PLGA solutions with different concentration: (a) 1%, (b) 3% and (c) 5%.

پلیمر کاهش یابد، با خروج حلال فقط پوسته نازک تشکیل شده و هسته ضعیف ذره فروپاشیده می شود. با افزایش غلظت و افزایش استحکام هسته، ذرات تقریباً کروی با سطحی زبر و کنگره ای و در نهایت ذراتی کروی با تخلخل کمتر به دست می آیند [21]. از سوی دیگر، مطابق با سازوکار دیگری، رقابت میان درهم رفتگی زنجیرهای پلیمری و شکافت کولن اندازه و شکل ذرات مترکم و صلب را کنترل می کند [17]. شکافت کولن فرایندی که طی آن، از

همگن سازد و ذره ای با تخلخل کمتر تشکیل می شود که استحکام مکانیکی زیادی را در داخل ذره به همراه دارد. بنابراین، ذره هیچ جمع شدگی یا فروپاشی را متحمل نمی شود و سطحی صاف و هموار تشکیل می شود [16، 18]. بنابراین هر عاملی که به کاهش عدد Peclet کمک کند، می تواند از تولید ذرات فروپاشیده یا مقعر از دو طرف جلوگیری کرده و به تولید ذراتی با تخلخل یا سطح کنگره ای کمتر منجر شود [18]. گفتنی است، با ثابت ماندن تمام عامل ها، اگر غلظت

Feed rat (mL/h)



شکل ۶- عکس های SEM ذرات الکتروافشان شده با سوزن ۲۷ G در ولتاژ ۱۲ kV و سرعت های تغذیه ۰/۱، ۰/۳، و ۰/۵ mL/h به ترتیب از چپ به راست از محلول PLGA با غلظت های مختلف: (a) ۱٪، (b) ۳٪، و (c) ۵٪.

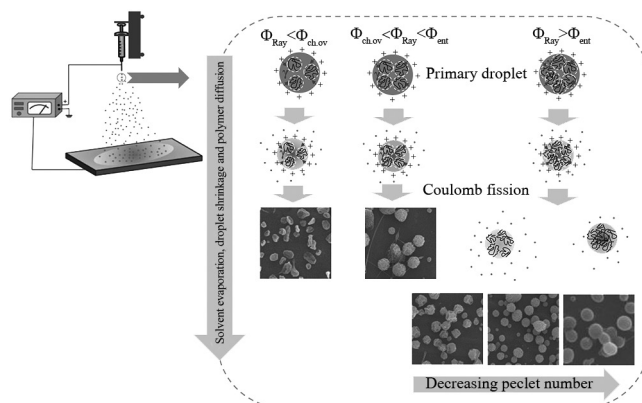
Fig. 6. SEM images of electrospayed particles using a 27G needle at voltage of 12 kV, feed rates of 0.1, 0.3 and 0.5 mL/h from PLGA solutions with different concentration: (a) 1%, (b) 3% and (c) 5%.

پلیمری اندازه و شکل ذرات را تعیین می کند که این پدیده با کسر حجمی پلیمر (ϕ) کنترل می شود. کسر حجمی پلیمر در قطره ها متأثر از وزن مولکولی پلیمر، غلظت محلول پلیمری و سرعت تغذیه محلول پلیمری است [۶،۱۷]. کسر حجمی پلیمر در قطره هنگام رسیدن به حد رالی (Φ_{Ray}) در مقایسه با کسر حجمی پلیمر هنگامی که زنجیرهای پلیمری فقط دارای هم پوشانی با یکدیگر هستند ($\Phi_{ch,ov}$) یعنی فاصله متوسط میان زنجیرها نزدیک به اندازه آن هاست و در

قطره ای باردار، ابری از قطره ها کوچک تر اما با بار بسیار زیاد خارج می شود، زمانی رخ می دهد که قطره باردار به حد رالی می رسد، یعنی حدی که قطره نمی تواند بار بیشتر از آن مقدار را حمل کند. حد رالی از موازنه میان نیروی الکتروستاتیک و کشش سطحی تعیین می شود [۱۷]. بنابراین، هر عاملی که بر کشش سطحی و چگالی بار سطحی قطره ها اثر بگذارد، در تعیین حد رالی مشارکت خواهد داشت. در حقیقت، ترتیب و اهمیت نسبی شکافت کولن و درهم رفتگی زنجیرهای

می دهد. در این شرایط، شبکه نسبتاً درهم رفته پلیمری به اندازه ای قوی است که یکپارچگی قطره حفظ می شود و هم زمان به اندازه ای ضعیف است که نمی تواند مانع از تغییر شکل ناشی از کشش حین فرایند شکافت کولن شود. در نتیجه، ذرات تغییر شکل می یابند و لیف نازک و بلند بارداری از ذرات خارج می شود که اگر تبخیر حلال رو به اتمام باشد، به همین حالت منجمد می شود [۱۷]. شکل ۷، سازوکارهای حاکم بر فرایند الکتروافشانش را نشان می دهد.

بنابراین، هر عاملی که شکافت کولن را به تأخیر اندازد و درهم رفتگی کافی زنجیرهای پلیمری را سرعت ببخشد، تشکیل ذرات کروی با توزیع اندازه یکنواخت را آسان می کند. ویژگی های محلول پلیمری شامل وزن مولکولی پلیمر و غلظت محلول پلیمری و در نتیجه گرانروی، کشش سطحی محلول، رسانندگی الکتریکی و ثابت دی الکتریک محلول، دمای جوش حلال، فشار بخار حلال، گرمای نهان تبخیر حلال و گرمای ویژه حلال نقش مهمی در سازوکارهای گفته شده ایفا می کنند. Prabhakaran و همکاران [۲۲] دی کلرومتان را به عنوان حلالی مناسب برای الکتروافشانش کردن میکروذرات PLGA پیشنهاد دادند. دلیل این پیشنهاد باید ناشی از رسانندگی الکتریکی

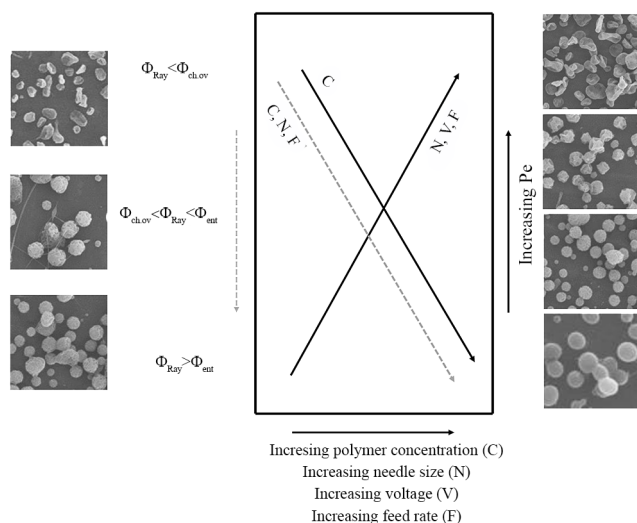


شکل ۷- طرحی از اثر سازوکارهای درگیر در فرایند الکتروافشانش بر شکل شناسی ذرات.

Fig. 7. Schematic illustration of the morphology of particles as a result of the mechanisms involved in electro spraying process.

مقایسه با کسر حجمی پلیمر هنگامی که زنجیرهای پلیمری درهم رفته می شوند و شبکه درهم رفته ای از زنجیرهای پلیمری تشکیل می دهند $(\Phi_{ent} < \Phi_{ch,ov})$ ، نیز می تواند موجب رویدادهای مختلفی شود. اگر هنگام رسیدن قطره به حد رالی، قطره دارای کسر حجمی کمتر از $\Phi_{ch,ov}$ باشد $(\Phi_{Ray} < \Phi_{ch,ov})$ ، یعنی همچنان رقت کافی برای رفتار مشابه مایع را دارد و متحمل شکافت کولن شده و قطره های کوچک اما دارای بار زیاد از قطره والد تولید می شوند این موضوع موجب پهن شدن توزیع اندازه ذرات شده و شکل ذرات شبه کروی می شود. البته به دلیل کم بودن غلظت محلول پلیمری و بیشتر بودن حجم حلال، ممکن است که پیش از رسیدن به جمع کننده، تمام حلال تبخیر نشود و ذرات کاملاً خشک نشده و در نتیجه به حالت تر به جمع کننده برخورد کنند. این نیز موجب تغییر شکل ذرات می شود و ذراتی با شکل های نایکنواخت و پهن شده به دست می آید [۱۸]. این پدیده با افزایش ولتاژ نیز دیده می شود که با افزایش جاذبه الکتروستاتیک و شتاب حرکت ذرات به سمت جمع کننده همراه است و موجب می شود. ذرات زمان کمتری برای خروج حلال داشته باشند. اگر پیش از رسیدن قطره به حد رالی، زنجیرهای پلیمری بتوانند به اندازه کافی درهم روی داشته باشند و شبکه درهم رفته ای را تشکیل دهند $(\Phi_{Ray} > \Phi_{ent})$ ، قطره در برابر از هم گسیختگی ناشی از شکافت کولن مقاوم است و ذرات کروی با اندازه یکنواخت به دست می آیند که شکل سطح ذرات بسته به نسبت سرعت تبخیر حلال به نفوذ پلیمر مطابق یکی از دو حالت دوم و سوم سازوکار اول یعنی سطح کنگره ای و ناهموار یا سطح صاف و هموار خواهد بود.

رویداد سوم مربوط به زمانی است که $\Phi_{ch,ov} < \Phi_{Ray} < \Phi_{ent}$



شکل ۸- طرحی از اثر غلظت پلیمر، اندازه سوزن، ولتاژ و سرعت تغذیه در سازوکارهای حاکم بر فرایند الکتروافشانش (اثر دوگانه ولتاژ بر کسر حجمی پلیمر در قطره هنگام رسیدن به حد رالی نشان داده نشده است).

Fig. 8. Schematic diagram illustrating the effect of polymer concentration, needle size, voltage and feed rate in mechanisms involved in electro spraying process (the competing effects of voltage on polymer volume fraction in a droplet at the Rayleigh limit is not shown).

درهم رفتگی کافی زنجیرها پیش از رسیدن ذرات به حد رالی است. اما، در برخی موارد، میکروذرات متراکم کاملاً کروی و بدون لیف نیستند. این پدیده همان طور که بیان شد، به دلیل ترتیب و اهمیت نسبی شکافت کولن و درهم رفتگی زنجیرهای پلیمری است که با کسر حجمی پلیمر (Φ) کنترل می شود. عکس های ۱ تا ۶ نشان می دهد، با کاهش سرعت تغذیه به 0.1 mL/h هنگام الکتروافشانش محلول ۳٪ از سوزن 27 G و نیز محلول ۵٪ از سوزن های 20 G و 27 G شرایط $\Phi_{\text{ov}} < \Phi_{\text{Ray}} < \Phi_{\text{ent}}$ رخ داده و میکروذرات کشیده شده یا دارای الیاف شکل گرفته اند. زیرا با کاهش سرعت تغذیه، قطره های شکل گرفته کوچک تر هستند و در نتیجه چگالی بار سطحی آن ها افزایش می یابد و قطره ها در زمان کوتاه تری به حد رالی می رسند. به همین ترتیب، با کاهش قطر سوزن نیز اندازه قطره ها کاهش یافته و رسیدن به حد رالی سرعت می یابد. با افزایش ولتاژ، دو اثر متضاد روی می دهد. از یک سو چگالی بار سطحی افزایش می یابد و رسیدن به حد رالی سرعت می یابد. از سوی دیگر، به دلیل نیروی جاذبه الکتروستاتیک قوی تر میان سوزن و جمع کننده، قطره بزرگ تری سر سوزن پدید می آید که افزایش سطح جانبی قطره افزایش عدد Peclet را به همراه دارد. همچنین، موجب کاهش چگالی بار سطحی می شود و حد رالی را به تأخیر می اندازد. به همین دلیل اگر الکتروریسی با ولتاژ زیاد و سرعت تغذیه کم انجام شده و از سوزن با قطر کمتر استفاده شود، با توجه به غالب بودن عامل های که حد رالی را سرعت می بخشند، احتمال برقراری شرایط $\Phi_{\text{ov}} < \Phi_{\text{Ray}} < \Phi_{\text{ent}}$ و تشکیل الیاف بیشتر می شود. به همین دلیل میان ذرات الکتروافشانش شده از محلول ۵٪ با ولتاژ 12 kV ، بیشترین الیاف در نمونه ای دیده شد که از سوزن 27 G با سرعت 0.1 mL/h تغذیه شد. افزون بر این دیده شد، افزایش سرعت تغذیه به مقدار 0.5 mL/h موجب تشکیل میکروذرات با شکل های نامنظم شده است که این ذرات برای کاربردهای رهایش دارو مناسب نیستند. زیرا فقط میکروذرات یکنواخت قابلیت تخریب یکنواخت و رهایش قابل اطمینان دارو را دارند [۲۳]. چنین بی نظمی هایی در میکروذرات الکتروافشانش شده با ولتاژ 8 kV حتی در سرعت های تغذیه 0.1 و 0.3 mL/h نیز دیده شد. بنابراین، ولتاژ 10 kV را می توان به عنوان ولتاژ بهینه در نظر گرفت. شکل ۸، اثر افزایش غلظت، قطر داخلی سوزن، ولتاژ و سرعت تغذیه بر عدد Peclet و کسر حجمی پلیمر در قطره را هنگام رسیدن به حد رالی نشان می دهد. با توجه به شکل ۸ می توان دریافت، درحالی که افزایش عامل هایی همچون قطر داخلی سوزن و سرعت تغذیه با افزایش احتمال برقراری شرایط $\Phi_{\text{Ray}} > \Phi_{\text{en}}$ می تواند تولید ذرات کروی با اندازه یکنواخت را آسان کند، اما به دلیل افزایش هم زمان عدد Peclet، تولید ذرات متراکم

جدول ۱- اندازه میکروذرات الکتروافشانش شده از محلول های ۳ و ۵٪ PLGA با سوزن 27 G ، در ولتاژ 10 kV و سرعت تغذیه 0.3 mL/h .
Table 1. The size of micro-particles electrosprayed from 3% and 5% PLGA solutions using a 27G needle at voltage of 10 kV and feed rate of 0.3 mL/h.

Microparticle size (μm)	5% PLGA solution	3% PLGA solution
	1.75±0.40	1.74±0.31

کم دی کلرومتان باشد که کاهش چگالی بار سطحی و در پی آن به تأخیر انداختن شکافت کولن را به همراه دارد [۲۱]. به همین دلیل در این مطالعه، از دی کلرومتان در تهیه تمام نمونه ها استفاده شد و وزن مولکولی PLGA استفاده شده نیز ثابت در نظر گرفته شد. در نتیجه اثرهای ناشی از محلول به غلظت محلول پلیمری محدود شد. عامل های فرایندی همچون ولتاژ، قطر سوزن و سرعت تغذیه محلول پلیمری با اثر مستقیم یا غیرمستقیم بر اندازه قطره ها و چگالی بار سطحی، در سازوکارهای نامبرده شرکت می کنند و بر شکل شناسی ذرات حاصل اثر گذارند.

در ذرات الکتروافشانش شده از محلول PLGA با غلظت ۱٪، کسر حجمی پلیمر کم است و طی فرایند تبخیر حلال به دلیل نبود زنجیرهای پلیمری کافی، درهم رفتگی زنجیرهای پلیمری و حتی هم پوشانی آن ها پیش از حد رالی نمی تواند رخ دهد. به همین دلیل مطابق انتظار، ذراتی فروپاشیده و نایکنواخت تشکیل شدند. افزون بر این در این حالت، ذرات به حالت تر به جمع کننده برخورد کرده و ذراتی با شکل های مختلف به دست آمده است. با افزایش غلظت محلول پلیمری از ۱٪ به ۵٪، به دلیل انتقال محلول از حالت بدون درهم رفتگی که مولکول های PLGA دور از یکدیگر قرار گرفته اند، به حالت درهم رفته، شکل شناسی میکروذرات به تدریج از ذرات فروپاشیده به ذرات کروی تغییر کرده است [۲۳]. ذرات الکتروافشانش شده از محلول ۳٪ با استفاده از سوزن 20 G همچنان فروپاشیده هستند که احتمالاً به دلیل نفوذ ناکافی زنجیرهای پلیمر به دلیل بزرگ بودن قطره ها و در نتیجه بزرگ بودن عدد Peclet است. همچنین، در برخی حالت ها دنباله های لیفی در ذرات دیده می شود. اما ذرات الکتروافشانش شده از محلول ۳٪ با استفاده از سوزن 27 G به دلیل نفوذ زیادتر زنجیرهای پلیمر به مرکز لیف، بیشتر کروی هستند. البته با کاهش سرعت تغذیه به 0.1 mL/h همچنان وجود الیاف قابل مشاهده است. با الکتروافشانش محلول ۵٪ با استفاده از سوزن 20 G و 27 G ، میکروذرات متراکم حاصل شده است که تأیید کننده خشک شدن کامل ذرات پیش از رسیدن به جمع کننده و

الکتروافشانش به عنوان جایگزینی برای میکروذرات تخریب ناپذیر مصرفی در محصولات آرایش-بهداشتی معرفی شد. در این راستا، روش الکتروافشانش برای تولید میکروذرات PLGA به کار گرفته شد. برای داشتن حداکثر کارایی لازم است، این میکروذرات کروی، دارای اندازه یکنواخت و بدون عیب باشند که دستیابی به این ویژگی‌ها مستلزم درک کامل متغیرهای فرایند و سازوکارهای حاکم بر فرایند الکتروافشانش است. از این رو، در مطالعه حاضر، چگونگی اثر متغیرهای غلظت محلول پلیمری، ولتاژ، قطر سوزن و سرعت تغذیه محلول پلیمری بر سازوکارهای مؤثر بر فرایند الکتروافشانش و در نتیجه بر شکل‌شناسی ذرات بررسی شد. نتایج نشان داد، با استفاده از محلول‌های ۳ و ۵٪ و اعمال ولتاژ ۱۰ kV به سوزن ۲۷ G و تنظیم سرعت تغذیه روی ۰/۳ mL/h می‌توان به میکروذرات با ویژگی‌های مطلوب دست یافت. همچنین دیده شد، میکروذرات حاصل از الکتروافشانش محلول با غلظت ۳٪ دارای تخلخل و زبری سطح بیشتری در مقایسه با میکروذرات حاصل از الکتروافشانش محلول با غلظت ۵٪ بودند.

قدردانی

از حمایت مالی بنیاد ملی نخبگان، مساعدت مجموعه آزمایشگاه‌های پردیس زیرآب دانشگاه شهید بهشتی و خانم دکتر شهناز رضوی برای اهدای PLGA استفاده‌شده در این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

مراجع

- Nam H. C. and Park, W.H., Eco-friendly Poly(lactic acid) Microbeads for Cosmetics via Melt Electrospinning, *Int. J. Biol. Macromol.*, **157**, 734-742, 2020.
- Kapoor D.N., Bhatia A., Kaur R., Sharma R., Kaur G., and Dhawan S., PLGA: A Unique Polymer for Drug Delivery, *Ther. Deliv.*, **6**, 41-5, 2015.
- Mir M., Ahmed N., and ur Rehman, A., Recent Applications of PLGA Based Nanostructures in Drug Delivery, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **159**, 217-231, 2017.
- Ito F., Takahashi T., Kanamura K., and Kawakami H. Possibility for the Development of Cosmetics with PLGA Nanospheres, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **39**, 752-761, 2013.
- Vatankhah E., Prabhakaran M.P., and Ramakrishna S., *Stem-Cell Nanoengineering*, Wiley-Blackwell, 123-141, 2015.
- Bock N., Woodruff M.A., Huttmacher D.W., and Dargaville

ممکن است، کاهش یابد. همچنین دیده می‌شود، افزایش غلظت پلیمری طبق هر دو سازوکار مطلوب است و به تشکیل ذرات کروی و یکنواخت کمک می‌کند. براساس نتایج که تأییدکننده نظریه‌های مطرح شده هستند، بهترین ذرات از نظر یکنواختی و کروی بودن از الکتروافشانش محلول‌های PLGA با غلظت ۳ و ۵٪ با اعمال ولتاژ ۱۰ kV و سرعت تغذیه ۰/۳ mL/h حاصل شدند. اندازه این میکروذرات کروی حاصل از محلول ۳ و ۵٪ در جدول ۱ آمده است. قطر متوسط میکروذرات الکتروافشانش شده از محلول‌های ۳ و ۵٪ به ترتیب $1.74 \pm 0.31 \mu\text{m}$ و $1.75 \pm 0.40 \mu\text{m}$ است که اختلاف معناداری را نشان نمی‌دهد ($P > 0.05$). اما، میکروذرات حاصل از محلول ۳٪ در مقایسه با میکروذرات حاصل از محلول ۵٪ سطح ناهموارتری دارند که به دلیل کسر حجمی کمتر زنجیرهای پلیمر نسبت به میکروذرات حاصل از محلول ۵٪ است. این نتایج مطابق با نتایج مقاله‌ای است که بیان می‌کند، اگر غلظت PLGA تنها متغیر باشد، اندازه ذرات تغییری نمی‌کند. در همین مقاله، افزایش یکنواختی و صافی سطح و کاهش تخلخل سطحی در اثر افزایش غلظت PLGA نیز نشان داده شده است [۲۱].

نتیجه گیری

در این پژوهش، میکروذرات PLGA تولیدشده با روش

- T.R., Electrospinning, a Reproducible Method for Production of Polymeric Microspheres for Biomedical Applications. *Polymers*, **3**, 131-149, 2011.
- Verreck G., Chun I., Peeters J., Rosenblatt J., and Brewster M.E., Preparation and Characterization of Nanofibers Containing Amorphous Drug Dispersions Generated by Electrostatic Spinning, *Pharm. Res.*, **20**, 810-817, 2003.
- Verreck G., Chun I., Rosenblatt J., Peeters J., Van Dijk A., Mensch J., Noppe M., and Brewster M. E., Incorporation of Drugs in an Amorphous State into Electrospun Nanofibers Composed of a Water-insoluble, Nonbiodegradable Polymer, *J. Control. Release*, **92**, 349-360, 2003.
- Shi Y., Wei Z., Zhao H., Liu T., Dong A., and Zhang J., Electrospinning of Ibuprofen-loaded Composite Nanofibers for Improving the Performances of Transdermal Patches, *J.*

- Nanosci. Nanotechno.*, **13**, 3855-3863, 2013.
10. Zamani M., Prabhakaran M.P., and Ramakrishna S., Advances in Drug Delivery via Electrospun and Electrospayed Nanomaterials, *Int. J. Nanomedicine*, **8**, 2997-3017, 2013.
 11. Wang J., Helder L., Shao J., Jansen J. A., Yang M., and Yang F., Encapsulation and Release of Doxycycline from Electrospay-Generated PLGA Microspheres: Effect of Polymer End Group, *Int. J. Pharm.*, **546**, 1-9, 2019.
 12. Kibler E., Lavrinenko A., Kolesnik I., Stankevich K., Bolbasov E., Kudryavtseva V., Leonov A., Schepetkin I., Khlebnikov A., Mark T.Q., and Sergei T., Electrospayed Poly(lactic-co-glycolic acid) Particles as a Promising Drug Delivery System for the Novel JNK Inhibitor IQ-1, *Eur. Polym. J.*, **127**, 109598, 2020.
 13. Vatankhah E., Hamed S., and Ramezani O., Surfactant-Assisted Incorporation of Rosmarinic Acid into Electrospayed Poly (lactic-co-glycolic acid) Microparticles with Potential for Cosmetic and Pharmaceutical Applications, *Polym. Test.*, **81**, 106180, 2020.
 14. Si S., Li H., and Han X., Sustained Release Olmesartan Medoxomil Loaded PLGA Nanoparticles with Improved Oral Bioavailability to Treat Hypertension, *J. Drug Deliv. Sci. Tec.*, **55**, 101422, 2020.
 15. Hsu M.Y., Huang Y.T., Weng C.J., Chen C.-M., Su Y.F., Chu S.Y., Tseng J.H., Wu R.C. and Liu S.J., Preparation and In Vitro/In Vivo Evaluation of Doxorubicin-Loaded Poly(lactic-co-glycolic acid) Microspheres Using Electrospay Method for Sustained Drug Delivery and Potential Intratumoral Injection, *Colloids Surface B*, **190**, 110937, 2020.
 16. Yao J., Lim L.K., Xie J., Hua J., and Wang C.H., Characterization of Electrospaying Process for Polymeric Particle Fabrication, *J. Aerosol. Sci.*, **39**, 987-1002, 2008.
 17. Almería B., Deng W., Fahmy T.M., and Gomez A., Controlling the Morphology of Electrospay-generated PLGA Microparticles for Drug Delivery, *J. Colloid. Interface Sci.*, **343**, 125-133, 2010.
 18. Nguyen D.N., Clasen C., and Van den Mooter G., Pharmaceutical Applications of Electrospaying, *J. Pharm. Sci.*, **105**, 2601-2620, 2016.
 19. Hsu M.Y., Feng C.H., Liu Y.W., and Liu S.J., An Orthogonal Model to Study the Effect of Electrospaying Parameters on the Morphology of Poly(d,l)-lactide-co-glycolide (PLGA) Particles, *Appl. Sci.*, **9**, 1077, 2019.
 20. Morais A.Í., Vieira E.G., Afewerki S., Sousa R.B., Honorio L., Cambrussi A.N.C.O., Santos J.A., Bezerra R.D.S., Furtini J.A.O., and Silva-Filho E.C., Fabrication of Polymeric Microparticles by Electrospay: The Impact of Experimental Parameters, *J. Funct. Biomater.*, **11**, 4, 2020.
 21. Xie J., Lim L.K., Phua Y., Hua J., and Wang C.H., Electrohydrodynamic Atomization for Biodegradable Polymeric Particle Production, *J. Colloid Interf. Sci.*, **302**, 103-112, 2006.
 22. Prabhakaran M.P., Zamani M., Felice B., and Ramakrishna S., Electrospaying Technique for the Fabrication of Metronidazole Contained PLGA Particles and Their Release Profile, *Mater. Sci. Eng., C: Mater. Biol. Appl.*, **56**, 66-73, 2015.
 23. Nath S.D., Son S., Sadiasa A., Min Y.K., and Lee B.T., Preparation and Characterization of PLGA Microspheres by the Electrospaying Method for Delivering Simvastatin for Bone Regeneration, *Int. J. Pharm.*, **443**, 87-94, 2013.