



## Fabrication and Characterization of Gelatin/Chitosan/Zinc Oxide Nanocomposite Hydrogels Intended for Biomedical Applications

Shadi Moshayedi <sup>1</sup>, Hossein Sarpoolaky <sup>1,2\*</sup>, Alireza Khavandi <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Researcher, School of Materials and Metallurgical Engineering, Iran University of Science and Technology, Tehran, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Professor, School of Materials and Metallurgical Engineering, Iran University of Science and Technology, Tehran, Tehran, Iran

\*Corresponding Author's Email: [hsarpoolaky@iust.ac.ir](mailto:hsarpoolaky@iust.ac.ir) (H. Sarpoolaky)

### Paper History:

Received: 2022-02-01

Revised in revised form: 2022-02-09

Scientific Accepted: 2022-02-14

### Keywords:

Hydrogel,  
Gelatin,  
Chitosan,  
Zinc Oxide

**Abstract** In the present study, gelatin/chitosan/zinc oxide hydrogels were prepared through solvent casting method in combination with lyophilization. In addition, the effects of adding 1.5 wt % zinc oxide nanoparticles on the microstructural and physico-chemical characteristics of genipin-crosslinked scaffolds were evaluated. The porosity of the newly formed hydrogels increased from about 93 up to 94 % ( $P < 0.05$ ). Images taken by a Scanning Electron Microscope (SEM) illustrates the formation of a porous microstructure of distinct interconnected holes with an average size of 200 microns. Water absorption capacity of nanocomposite hydrogels at room temperature and 37 °C decreased from 1043 to 988 and 1206 to 1040 %, respectively; however, a significant increase in their initial swelling rate was observed. Upon adding nanoparticles, the in vitro degradation of scaffolds occurred faster than usual. According to the findings of this research, gelatin/chitosan/zinc oxide hydrogels which is characterized by favorable microstructural characteristics (i.e., uniform distribution of interconnected pores) and high initial swelling rate can be used as a potential substrate in the field of tissue engineering.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2022.327545.1213>

URL: [https://www.jamt.ir/article\\_144798.html](https://www.jamt.ir/article_144798.html)

## 1. INTRODUCTION

Hydrogels are among the important components used in tissue engineering applications and drug release systems due to their structural similarity with the extracellular matrix, biodegradability, good stability, hydrophilicity, high porosity, interconnected pores, high swelling capacity, and ability to retain abundant water [1, 2]. Among the natural polymers, gelatin obtained from acid/alkaline hydrolysis or thermal degradation of collagen has been widely used in recent years [3]. The mechanical properties and stability of gelatin scaffolds can be improved by creating crosslinked networks [4], combining gelatin with other polymers such as chitosan [5] and adding inorganic nanoparticles or carbon reinforcements [6, 7]. Herein, the unique therapeutic properties of zinc oxide nanoparticles such as antibacterial, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic, and anticancer properties [8] prompted us to study the role of zinc oxide nanoparticles in adjusting the physical and microstructural properties of gelatin/chitosan hydrogels.

## 2. MATERIALS AND METHODS

Gelatin powder (G, pig skin, bloom number: 90-130) was purchased from Merck (Germany). Medium-molecular weight chitosan (C) with a deacetylation degree of 75-85 % was purchased from Sigma-Aldrich (Germany). Genipin (GP) and zinc oxide nanoparticles

(ZnO NPs, 50-100 nm) were obtained from China and Armina Co. (Tehran, Iran), respectively.

### 2.1. Fabrication of gelatin/chitosan/zinc oxide hydrogels

Chitosan and gelatin were first dissolved separately in 1 % acetic acid solution, followed by mixing with the gelatin to chitosan weight ratio of 3:2. Then, 1.5 wt % zinc oxide nanoparticles were gradually added to the polymer solution and mixed for four hours. Followed by adding genipin (1.5 wt %) and mixing the components for two more hours at the room temperature, the hydrogels were cast into a suitable mold and kept in the air at  $24 \pm 0.5$  °C. Finally, the solvent (here, water) was removed using a freeze dryer (model FD-10, Pishtaz Equipment Co., Iran). Table 1 lists the samples under study in this research.

**Table 1.** Sample codes and the weight percentage of components

Sample code	G:C	GP (wt %)	ZnO (wt %)
X-GC	3:2	1.5	0
X-GCZ	3:2	1.5	1.5

### 2.2. Characterization of hydrogels

The prepared hydrogels were analyzed using FTIR, SEM, liquid displacement method, and gravimetric

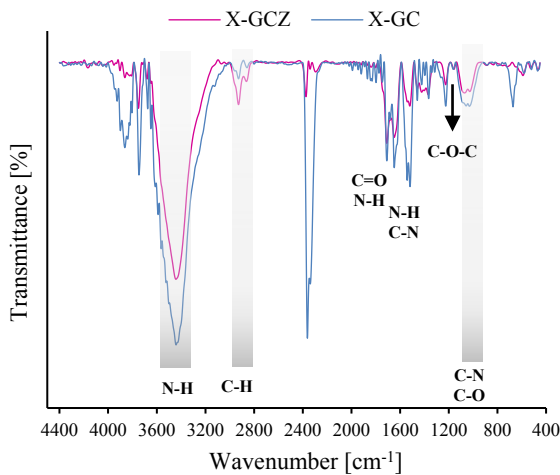
Please cite this article as: Moshayedi, Sh., Sarpoolaky, H., Khavandi, A. R., "Fabrication and characterization of gelatin/chitosan/zinc oxide nanocomposite hydrogels intended for biomedical applications", *Journal of Advanced Materials and Technologies (JAMT)*, Vol. 11, No. 2, (2022), 57-69. (<https://doi.org/10.30501/jamt.2022.327545.1213>).



analysis. All data were reported as the mean  $\pm$  Standard Deviation (SD) of at least three independent measurements.

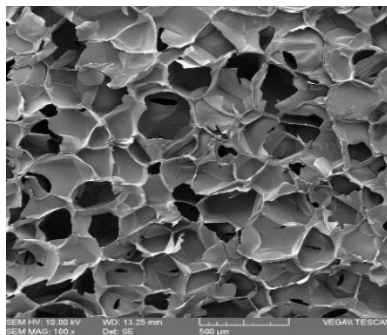
### 3. RESULTS AND DISCUSSION

FTIR analysis of X-GC and X-GCZ hydrogels (Figure 1) indicated that with the addition of ZnO NPs, the intensity of N-H bending vibrations decreased markedly, and a small shift in the position of 1518, 1160, and 1030  $\text{cm}^{-1}$  was also noticed. These changes confirm the formation of physical interactions between gelatin and/or chitosan and ZnO NPs.

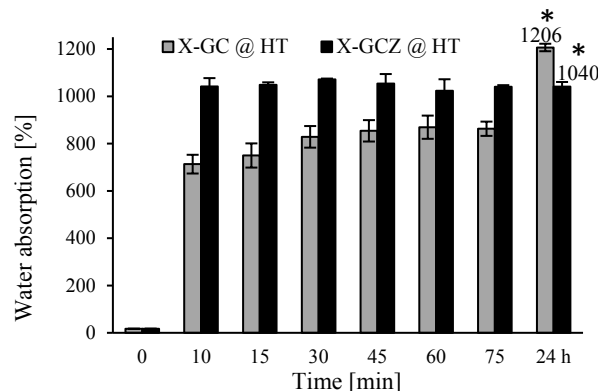
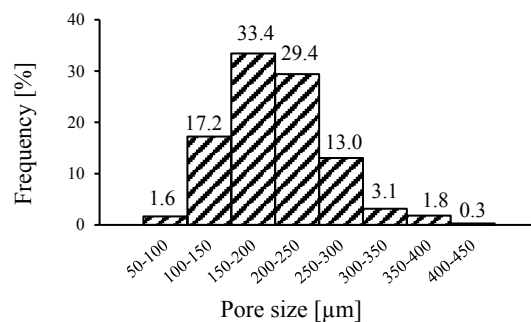


**Figure 1.** FTIR patterns of the crosslinked gelatin/chitosan and gelatin/chitosan/ZnO hydrogels

Upon adding ZnO NPs, the porosity of X-GC hydrogels substantially increased (Figure 2). In our hypothesis,  $\text{Zn}^{2+}$  ions and hydrated ZnO NPs surrounded

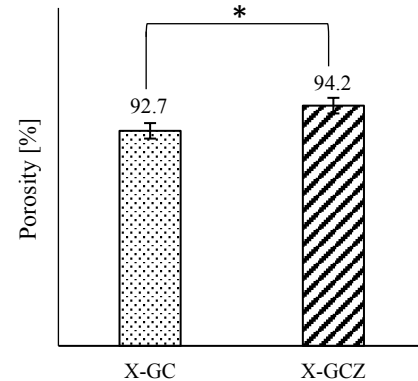


**Figure 3.** SEM micrograph and pore size distribution of X-GCZ hydrogels



**Figure 4.** A comparison of the water absorption capacity of X-GC and X-GCZ hydrogels at 37 °C in PBS (\*:  $P < 0.05$ )

the functional groups of gelatin and chitosan, which consequently prevented the formation of gelatin/chitosan polyelectrolyte or covalent bonds among the polymers and genipin.



**Figure 2.** A comparison of the porosity of X-GC and X-GCZ hydrogels (\*:  $P < 0.05$ )

The SEM micrograph of X-GCZ hydrogels confirms the formation of a porous microstructure of interconnected pores mainly in the range of 150-250  $\mu\text{m}$  (Figure 3). The highest water absorbency of these hydrogels at 37 °C appeared in a shorter period of time, compared to the GC scaffolds (10 versus 45 minutes (Figure 4)), which can be justified by the higher porosity and lower rigidity of ZnO-containing hydrogels. Further, the decrease in the swelling ability of X-GCZ can be attributed to the interaction between the hydroxyl, carboxyl, and amino functional groups of the polymers and hydrated metal oxide nanoparticles or zinc ions, which prevented the formation of the maximum number of covalent bonds with genipin molecules.

#### 4. CONCLUSION

In the present research, gelatin/chitosan/zinc oxide nanocomposite hydrogels were prepared through the solvent casting method combined with freeze-drying. The microstructure and porosity of the prepared hydrogels indicated the formation of uniform, interconnected macropores as well as rapid water absorption capacity. These scaffolds can be potentially used in the controlled delivery of therapeutic compounds.

#### 5. ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to acknowledge the Central Reference Laboratory of Iran University of Science and Technology for their kind collaboration throughout the entire experimental procedure.

#### REFERENCES

1. El-Sherbiny, I. M., Yacoub, M. H., "Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges", *Global Cardiology Science & Practice*, Vol. 2013, No. 3, (2013), 316-342. <https://doi.org/10.5339/gcsp.2013.38>
2. Narayanaswamy, R., Torchilin, V. P., "Hydrogels and their applications in targeted drug delivery", *Molecules*, Vol. 24, No. 3, (2019), 1-21. <https://doi.org/10.3390/molecules24030603>
3. Sultana, N., Hassan, M. I., Ridzuan, N., Ibrahim, Z., Soon, C. F., "Fabrication of gelatin scaffolds using thermally induced phase separation technique", *International Journal of Engineering*, Vol. 31, No. 8, (2018), 1302-1307. <http://doi.org/10.5829/ije.2018.31.08b.19>
4. Yang, G., Xiao, Z., Long, H., Ma, K., Zhang, J., Ren, X., Zhang, J., "Assessment of the characteristics and biocompatibility of gelatin sponge scaffolds prepared by various crosslinking methods", *Scientific Reports*, Vol. 8, No. 1, (2018), 1616. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20006-y>
5. Song, Y., Nagai, N., Saijo, S., Kaji, H., Nishizawa, M., Abe, T., "In situ formation of injectable chitosan-gelatin hydrogels through double crosslinking for sustained intraocular drug delivery", *Materials Science & Engineering: C, Materials for Biological Applications*, Vol. 88, (2018), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.02.022>
6. Vlăsceanu, G., Crica, L., Pandeale, A., Ionita, M., "Graphene oxide reinforcing genipin crosslinked chitosan-gelatin blend films", *Coatings*, Vol. 10, No. 189, (2020), 1-15. <https://doi.org/10.3390/coatings10020189>
7. Wang, L., Li, M., Li, X., Liu, J., Mao, Y., Tang, K., "A biomimetic hybrid hydrogel based on the interactions between amino hydroxyapatite and gelatin/gellan gum", *Macromolecular Materials and Engineering*, Vol. 305, (2020), 1-9. <https://doi.org/10.1002/mame.202000188>
8. Mishra, P., Mishra, H., Ekielski, A., Talegaonkar, S., Vaidya, B., "Zinc oxide nanoparticles: A promising nanomaterial for biomedical applications", *Drug Discovery Today*, Vol. 22, (2017), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.08.006>



## مقاله کامل پژوهشی

## ساخت و مشخصه‌یابی هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی ژلاتین/کیتوسان/اکسید روی به‌منظور استفاده در حوزه زیست‌پزشکی

شادی مشیدی<sup>۱</sup>، حسین سرپولکی<sup>۲\*</sup>، علیرضا خاوندی<sup>۳</sup><sup>۱</sup>پژوهشگر، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران<sup>۲</sup>استاد، دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

## تاریخچه مقاله:

ثبت اولیه: ۱۴۰۰/۱۱/۱۲

دریافت نسخه اصلاح‌شده: ۱۴۰۰/۱۱/۲۰

پذیرش علمی: ۱۴۰۰/۱۱/۲۵

## کلیدواژه‌ها:

هیدروژل،  
ژلاتین،  
کیتوسان،  
اکسید روی

**چکیده** در این پژوهش، هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان/اکسید روی به‌روش ریخته‌گری محلول پلیمری در ترکیب با روش خشک‌کردن انجمادی تهیه و تأثیر افزودن ۱/۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی بر ویژگی‌های ریزساختاری و فیزیکی - شیمیایی داربست‌های کراس‌لینک شده یا ۱/۵ درصد وزنی جنینین مطالعه شد. آنالیز تبدیل فوریه مادون قرمز نشان‌دهنده برهم‌کنش‌های فیزیکی پلیمر و اکسید روی بود. با افزودن اکسید روی، میزان تخلخل هیدروژل‌ها از حدود ۹۳ به ۹۴ درصد افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) داربست‌های نانوکامپوزیتی، نشان‌دهنده تشکیل ریزساختار متخلخلی از حفرات مشخص به‌هم‌پیوسته با متوسط اندازه حفرات ۲۰۰ میکرون بود. توانایی جذب آب هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان در دمای اتاق و دمای ۳۷ درجه سلسیوس با افزودن اکسید روی، به‌ترتیب، از ۱۰۴۳ به ۹۸۸ و از ۱۲۰۶ به ۱۰۴۰ درصد کاهش یافت، اما افزایش قابل‌توجهی در سرعت تورم اولیه آن‌ها دیده شد. با افزودن نانوذرات، تخریب برون‌تنی داربست‌ها سریع‌تر رخ داد. با توجه به یافته‌های این پژوهش، هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان/اکسید روی، که ویژگی‌های ریزساختاری مطلوب (یعنی، توزیع یکنواختی از حفرات به‌هم‌پیوسته) و سرعت تورم اولیه بالایی دارد، به‌منزله بستری بالقوه برای استفاده در سامانه‌های دارویی یا حوزه مهندسی بافت پیشنهاد می‌شوند.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2022.327545.1213> URL: [https://www.jamt.ir/article\\_144798.html](https://www.jamt.ir/article_144798.html)

## ۱- مقدمه

می‌شوند، زیرا امکان چسبندگی<sup>۴</sup>، رشد و تکثیر<sup>۵</sup> و مهاجرت سلولی، انتقال مواد غذایی به سلول‌ها و دفع پسماندهای متابولیکی و همچنین رهایش کنترل‌شده یا سریع ترکیبات دارویی بارگذاری‌شده را فراهم می‌آورند [۳-۱]. شایان ذکر است که وابستگی الزامات مورداشاره، مانند میزان تخلخل و اندازه حفرات هیدروژل‌ها، به کاربرد، نوع سلول کشت‌یافته یا داروی بارگذاری‌شده و ویژگی‌های موردانتظار از هیدروژل‌ها، طراحی

هیدروژل‌ها دسته‌ای از داربست‌ها هستند که به‌دلیل شباهت بالقوه ساختاری با زمینه خارج سلولی<sup>۱</sup>، زیست‌تخریب‌پذیری، پایداری مناسب، ماهیت آب‌دوست، میزان بالای تخلخل، به‌هم‌پیوستگی حفرات، قابلیت تورم بالا و حفظ مقادیر آب فراوان<sup>۲</sup> (۷۰ تا ۹۹ درصد)، از اجزای مهم در طراحی داربست‌های مهندسی بافت و سامانه‌های رهایش دارو<sup>۳</sup> شناخته

<sup>1</sup> Extracellular Matrix (ECM)

<sup>2</sup> Water Content

<sup>3</sup> Drug Delivery Systems (DDS)

<sup>4</sup> Cell Adhesion

<sup>5</sup> Cell Proliferation

\*عهده دار مکاتبات: حسین سرپولکی

نانومتري‌اند، با هدف افزايش پايداري، افزايش استحکام يا بهبود قابليت دارورسانی زمينه پليمري معرفي شده‌اند. از ميان نانوذرات متنوعي که برای ساخت داربست‌هایی با خواص بهينه برای کاربردهای زیست‌پزشکی استفاده شده‌اند می‌توان به نانوذرات اکسید روی اشاره کرد [۱۷-۱۵] که دارای ویژگی‌های منحصر به فرد درمانی نظیر خواص ضدباکتریایی، ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد دیابتی و ضد سرطانی است [۱۸]. این ویژگی‌ها ما را بر آن داشت تا برای ترمیم آسیب‌های پدید آمده در بافت‌های نرم نظیر پوست و غضروف، افزودن نانوذرات اکسید روی به مخلوط ژلاتین/کیتوسان را بررسی کنیم. در پژوهش حاضر، با هدف بررسی نقش اکسید روی در تنظیم خواص فیزیکی هیدروژل‌های پليمري، تأثیر افزودن ۱/۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی بر خواص فیزیکی-شیمیایی و ریزساختاری این داربست‌ها مطالعه شد. بدین منظور، هیدروژل‌های تهیه شده، به روش ریخته‌گری در ترکیب با روش خشک کردن انجمادی، به کمک آنالیزهای تبدیل فوریه مادون قرمز و میکروسکوپ الکترونی روبشی ارزیابی شدند. در ادامه، درجه تورم و نرخ تخریب داربست‌های مورد اشاره در شرایط برون‌تنی و در دو دمای مختلف دمای اتاق و دمای ۳۷ درجه سلسیوس بررسی شدند. پیش‌بینی می‌شود که برهم‌کنش‌های فیزیکی جدید ایجاد شده در سیستم مورد بحث، ویژگی‌های فیزیکی حائز اهمیت هیدروژل‌های مورد نیاز در حوزه مهندسی بافت و دارورسانی از جمله قابليت تورم و سرعت تخریب برون‌تنی را کنترل کند.

## ۲- روش تحقیق

### ۲-۱- مواد

در پژوهش حاضر، پودر ژلاتین تهیه شده از پوست خوک (عدد بلوم: ۹۰<sup>۸</sup> الی ۱۳۰) از شرکت مرک آلمان تأمین شد. برای تسهیل فرایند انحلال کیتوسان در حلال اسیدی، پودر با وزن مولکولی متوسط و درجه استیل‌زدایی ۷۵ تا ۸۵ درصد خریداری شد (سیگما-آلدریج آلمان). جنیپین (GP) و نانوذرات اکسید روی (۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر)، به ترتیب، از چین و شرکت مهندسی

این ساختارهای متخلخل را دشوار ساخته است. هیدروژل‌ها را می‌توان از پليمرهای آب‌دوست طبیعی یا مصنوعی مانند کلاژن، ژلاتین، آلژینات، کیتوسان، پلی‌وینیل الکل، پلی‌آکريل آمید و پلی‌اتیلن گلیکول تهیه کرد [۱]. از ميان پليمرهای طبیعی، ژلاتین که یک پليمر زیستی طبیعی است و از هیدرولیز اسیدی یا بازی و تخریب حرارتی<sup>۱</sup> کلاژن به دست می‌آید، به دلیل زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، قیمت مناسب و حضور توالی اسیدهای آمینه آرژینین-گلیسین-اسید آسپارتیک در ساختار آن، کاربردهای گسترده‌ای در مهندسی بافت و سامانه‌های دارورسانی دارد [۴]. اما خواص مکانیکی ضعیف و مقاومت کم این پليمر در محیط‌های آبی، کاربرد داربست‌های ژلاتین را محدود ساخته است [۵]. برای بهبود خواص مکانیکی و پايداري این داربست‌ها، ایجاد اتصالات عرضی<sup>۲</sup> [۶]، ترکیب ژلاتین با دیگر پليمرها نظیر کیتوسان [۷] و افزودن تقویت‌کننده‌های معدنی یا کربنی پیشنهاد شده است [۸ و ۹]. کیتوسان پلی‌ساکاریدی خطی است که از حذف کامل یا جزئی گروه‌های استیل کیتین به دست می‌آید. زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، ماهیت غیرسمی و خواص ضد میکروبی کیتوسان این ماده را گزینه‌ی مناسبی برای بازسازی بافت‌های همبند<sup>۳</sup> نرم یا سخت مانند غضروف، استخوان و پوست، تولید پانسمان زخم<sup>۴</sup> یا استفاده در سامانه‌های دارورسانی مطرح ساخته است [۱۰]. با این حال، به دلیل ناپایداری داربست‌های ژلاتین/کیتوسان در شرایط فیزیولوژیکی، کاربرد این هیدروژل‌ها در شرایط درون‌تنی برای زمان‌های طولانی محدود شده است. به منظور رفع محدودیت مذکور، می‌توان از عوامل شبکه‌ساز<sup>۵</sup> گوناگون نظیر گلو تار آلدهید [۱۱]، کربودی‌امید [۱۲] و جنیپین<sup>۶</sup> [۱۳] استفاده کرد که با ایجاد اتصالات عرضی در ساختار پليمر، پايداري آن‌ها را بهبود می‌بخشند. از ميان ترکیبات فوق، به جنیپین، که عامل شبکه‌ساز طبیعی است و از گیاه گاردنیا<sup>۷</sup> استخراج می‌شود، برای ایجاد پیوند کووالانسی در ساختار پليمرهای حاوی گروه عاملی آمینو مانند کلاژن، ژلاتین و کیتوسان توجه شده است [۱۴]. در سال‌های اخیر، هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی، که حداقل یکی از اجزای آن‌ها دارای ابعاد

<sup>5</sup> Crosslinking Agent

<sup>6</sup> Genipin (GP)

<sup>7</sup> Grdenia

<sup>8</sup> Bloom Number

<sup>1</sup> Thermal Denaturation

<sup>2</sup> Crosslinking

<sup>3</sup> Connective Tissue

<sup>4</sup> Wound Dressing

و X-GCZ به شکل پودر درآمد و سپس با برمید پتاسیم مخلوط و پرس شد. در نهایت، جذب مادون‌قرمز قرص‌ها در محدوده عدد موج  $4000-450 \text{ cm}^{-1}$  و به کمک دستگاه طیف‌سنج مادون‌قرمز Perkin Elmer (مدل Spectrum RX1، ماساچوست، امریکا) و با قدرت تفکیک  $2 \text{ cm}^{-1}$  آنالیز شد.

### ۲-۳-۲- تعیین میزان تخلخل

میزان تخلخل هیدروژل‌ها به روش جابه‌جایی مایع<sup>۴</sup> محاسبه شد. بدین منظور، ابتدا نمونه‌های خشک‌شده در اتانول بدون آب (۹۹/۶ درصد) غوطه‌ور شدند و پس از خارج کردن نمونه‌ها و حذف الکل سطحی، وزن تر هیدروژل‌ها ثبت شد. مراحل فوق تا زمانی که اختلاف وزن تر نمونه‌ها در دو اندازه‌گیری متوالی کوچک‌تر از یک درصد میزان کل افزایش وزن داربست‌ها شد (وزن اشباع) ادامه یافت. سپس درصد تخلخل هیدروژل‌ها از معادله ذیل محاسبه شد [۲۰]:

$$P [\%] = (W_s - W_0) / (\rho \cdot V) \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه،  $W_s$  و  $W_t$ ، به ترتیب، نشان‌دهنده وزن اشباع و وزن خشک هیدروژل‌ها هستند.  $\rho$  و  $V$ ، به ترتیب، دانسیته الکل بدون آب ( $0.785 \text{ g/cm}^3$ ) در دمای آزمون و حجم نمونه‌ها ( $\text{cm}^3$ ) را نشان می‌دهد.

### ۲-۳-۳- مطالعه ریزساختار

ریزساختار و اندازه حفرات هیدروژل‌ها با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۵</sup> TESCAN (مدل VEGA-II، برنو، جمهوری چک) تحت ولتاژ شتاب‌دهنده ۱۰ یا ۲۰ کیلوولت بررسی شد. بدین منظور، نمونه‌ها در راستای افقی بریده و، برای جلوگیری از تجمع الکترون‌ها در سطح، با لایه نازکی از نقره یا طلا پوشش داده شدند (دستگاه لایه‌نشانی رومیزی شرکت پوشش‌های نانو ساختار، مدل DSR1، ایران) و سپس، با میکروسکوپ الکترونی روبشی مطالعه و بررسی شدند. در ادامه، متوسط اندازه حفرات هیدروژل‌ها به کمک نرم‌افزار

پایدار ابتکار آرمینا (ایران) تهیه شدند. قرص نمک فسفات با خاصیت بافری<sup>۱</sup> از شرکت زیست مواد فارمد (ایران) خریداری شد. سایر مواد به‌کاررفته در گروه مواد عمومی آزمایشگاهی<sup>۲</sup> قرار داشتند و فرایند ساخت نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی و در دمای  $24/0 \pm 0/5$  درجه سلسیوس انجام شد.

### ۲-۲- ساخت هیدروژل‌های حاوی نانوذرات اکسید روی

به منظور ساخت هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان حاوی نانوذرات اکسید روی، ابتدا کیتوسان و ژلاتین جداگانه در محلول اسید استیک یک درصد حل و سپس، با نسبت وزنی ژلاتین به کیتوسان ۳ به ۲ که سبب اعطای ویژگی‌های ریزساختاری برتر، قابلیت تورم بالا و سرعت تخریب برون‌تنی مناسبی در سیستم موردبخت می‌شود [۱۹]، با یکدیگر مخلوط شدند. در مرحله بعد، نانوذرات اکسید روی با غلظت ۱/۵ درصد وزنی به تدریج به محلول پلیمری اضافه و اجزا به مدت چهار ساعت با یکدیگر مخلوط شدند. پس از افزودن جنیپین (۱/۵ درصد وزنی) و مخلوط کردن اجزا به مدت ۲ ساعت، هیدروژل‌ها در قالب مناسبی تخلیه و در دمای اتاق ( $1 \pm 24$  درجه سلسیوس) نگهداری و سپس منجمد شدند. در آخر، حلال (در اینجا آب) به کمک دستگاه خشک‌کن انجمادی (مدل FD-10، شرکت تجهیزات سازان پیش‌تاز، ایران) از سیستم خارج شد. در جدول ۱، نحوه نام‌گذاری هیدروژل‌ها ارائه شده است.

جدول ۱. نام‌گذاری هیدروژل‌ها و درصد وزنی اجزای آن‌ها

کد نمونه‌ها	G:C	GP	ZnO
X-GC	۳:۲	۱/۵	۰
X-GCZ	۳:۲	۱/۵	۱/۵

### ۲-۳-۳- مشخصه‌یابی

#### ۲-۳-۱- بررسی ساختار شیمیایی هیدروژل‌ها

پیوندهای مشخصه‌ی ژلاتین و کیتوسان و برهم‌کنش نانوذرات و پلیمر به‌کمک آنالیز طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز<sup>۳</sup> مطالعه شد. بدین منظور، ابتدا هیدروژل‌های X-GC

<sup>4</sup> Liquid Displacement Method (LDM)

<sup>5</sup> Scanning Electron Microscope (SEM)

<sup>1</sup> Phosphate Buffered Saline (PBS)

<sup>2</sup> Laboratory Chemistry Grade

<sup>3</sup> Fourier Transform Infrared analysis (FTIR)

گزارش شد. اختلاف میانگین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و در سطح معناداری ۹۵ درصد بررسی شد.

ImageJ (نسخه 1.53e) و با انجام حداقل ۱۰۰ اندازه‌گیری در هر گروه از نمونه‌ها محاسبه شد.

### ۲-۳-۴- مطالعه رفتار تورم

به‌منظور بررسی توانایی جذب آب هیدروژل‌ها، نمونه‌های خشک‌شده به مدت ۲۴ ساعت در محلول نمک فسفات با خاصیت بافری ( $\text{pH} = 7.4$ ) در دمای اتاق و دمای  $37 \pm 1$  درجه سلسیوس غوطه‌ور شدند. سپس، نمونه‌های متورم در فواصل زمانی مشخص از محلول خارج و آب سطحی آن‌ها به آرامی با دستمال کاغذی گرفته شد و وزن نمونه‌های متورم با دقت  $\pm 0.001$  گرم ثبت شد (ترازوی آزمایشگاهی BEL Engineering، مدل S123، مونزا، ایتالیا). قابلیت جذب آب هیدروژل‌ها در طول آزمون تورم از معادله ذیل محاسبه شد:

$$\text{water uptake [\%]} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100 \quad (2)$$

در رابطه فوق،  $W_t$  و  $W_0$ ، به ترتیب، نشان‌دهنده وزن تر هیدروژل‌ها در زمان  $t$  و وزن خشک اولیه آن‌ها هستند.

### ۲-۳-۵- ارزیابی رفتار تخریب برون‌تنی

نرخ تخریب هیدروژل‌ها از میزان کاهش وزن نمونه‌ها در PBS ( $\text{pH} = 7.4$ ) در دمای اتاق و دمای  $37$  درجه سلسیوس محاسبه شد. بدین‌منظور، وزن خشک هیدروژل‌های تخریب‌شده در فواصل زمانی معین  $t$  ثبت و درصد کاهش وزن هیدروژل‌ها از معادله (۳) محاسبه شد:

$$\text{weight loss [\%]} = (W_0 - W_D) / W_0 \times 100 \quad (3)$$

که در آن،  $W_0$  و  $W_D$  به ترتیب، نشان‌دهنده‌ی وزن خشک هیدروژل‌های تخریب‌شده در فواصل زمانی معین  $t$  و وزن خشک اولیه‌ی نمونه‌ها است.

### ۲-۳-۶- آنالیز آماری

داده‌های کمی این پژوهش، که حاصل حداقل سه اندازه‌گیری تصادفی است، به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- FTIR

شکل ۱ طیف IR هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان کراس‌لینک‌شده (X-GC) و داربست‌های پلیمری به‌دست‌آمده پس از افزودن نانوذرات اکسید روی را در محدوده  $4000 - 450 \text{ cm}^{-1}$  نشان می‌دهد. مطابق شکل، قله پهن ظاهر شده در عدد موج  $3442$  به ارتعاشات کششی<sup>۱</sup> پیوند N-H و نوسانات کششی پیوند O-H، که با یکدیگر هم‌پوشانی دارند، نسبت داده می‌شود. قله‌های جذبی که در اعداد موج  $2928$  و  $2858$  دیده می‌شوند مربوط به نوسانات کششی پیوند آلیفاتیک<sup>۲</sup> C-H هستند. قله‌های مشاهده‌شده در محدوده  $1750$  تا  $1630$  به نوسانات کششی پیوند C=O آمید ثانویه در اتصال پپتیدی<sup>۳</sup> اسیدهای آمینه نسبت داده می‌شود [۲۱]. قله ظاهر شده در عدد موج  $1648$  مربوط به ارتعاشات کششی گروه کربونیل آمید I و نشان‌دهنده استیل‌زدایی ناقص کیتوسان مصرفی است. بررسی منابع مطالعاتی نشان می‌دهد که نوسانات خمشی پیوند N-H نیز در ظهور قله‌های مذکور مشارکت دارد. قله مشاهده‌شده در  $1160$  مربوط به ارتعاشات کششی نامتقارن پیوند C-O-C کیتوسان است. در آخر، قله‌های جذبی، که در اعداد موج  $1058$  و  $1030$  ظاهر شده‌اند، به ارتعاشات کششی پیوندهای C-O و C-N نسبت داده می‌شود [۲۱-۲۳].

با افزودن نانوذرات اکسید روی، برهم‌کنش‌های میان اجزا از طریق تغییر وضعیت قله‌های مشخصه سیستم مورد مطالعه نشان داده شد. هنگامی که اکسید روی وارد هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان شد، شدت قله‌های جذبی ظاهر شده در اعداد موج  $3442$  تا  $1708$  و  $1518$ ، که مربوط به نوسانات خمشی پیوند N-H است، کاهش چشمگیری یافت که نشان‌دهنده تشکیل پیوندهای هیدروژنی جدیدی در زمینه پلیمری است. به‌علاوه، ملاحظه شد که، با افزودن نانوذرات اکسید روی، قله‌هایی که در اعداد موج  $1518$ ،  $1160$  و  $1030$  دیده می‌شوند،

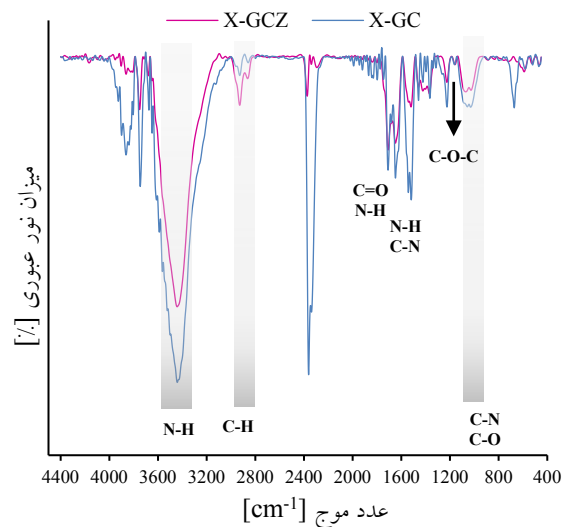
<sup>3</sup> Peptide Bond

<sup>1</sup> Stretching

<sup>2</sup> Aliphatic

امجدی و همکاران [۲۶] گزارش کردند که، با افزودن نانوذرات اکسید روی به فیلم‌های ژلاتین حاوی نانوالیاف کیتوسان، به دلیل ایجاد برهم‌کنش میان اجزای سیستم و اکسید روی، ساختار پلیمر متراکم‌تر شد. اما نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش این فرضیه را تقویت می‌کند که، پس از افزودن نانوذرات اکسید روی و انحلال سهمی از آن‌ها به شکل یون دو ظرفیتی، یون‌های روی (II) و ذرات اکسید روی هیدراته‌شده گروه‌های عاملی ماکرومولکول‌های ژلاتین و کیتوسان را احاطه و از تشکیل پلی‌الکترولیت ژلاتین/کیتوسان یا ایجاد بیشترین تعداد پیوندهای کووالانسی میان گروه‌های آمینوی پلیمرهای سازنده و جنیپین، مانند آنچه در نمونه‌های فاقد اکسید روی رخ می‌دهد، ممانعت می‌کند. این مسئله، که موجب کاهش صلبیت ساختار و افزایش قابلیت حرکت زنجیرهای پلیمری می‌شود، فضای آزاد بیشتری را برای ورود مولکول‌های آب فراهم می‌آورد که در نهایت، بعد از انجماد هیدروژل‌های کراس‌لینک‌شده، به افزایش میزان تخلخل داربست‌ها می‌انجامد. در شکل ۳، برهم‌کنش‌های احتمالی میان اجزای سیستم پس از افزودن نانوذرات اکسید روی ارائه شده است. شایان ذکر است که امیرا<sup>۲</sup> و همکاران [۲۷]، در پژوهشی که به مطالعه تأثیر افزودن نانوذرات اکسید روی بر خواص هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان می‌پردازند، با تحلیل مشابهی، حضور نانوذرات را عامل تضعیف پیوند هیدروژنی بین مولکول‌های پلیمر و لذا لغزش راحت‌تر زنجیرها از کنار یکدیگر دانستند. از سوی دیگر، انحلال نانوذرات اکسید روی و رهایش یون‌های روی دو ظرفیتی و برهم‌کنش آن‌ها با ماکرومولکول‌های ژلاتین و کیتوسان، که در زمان ساخت دارای بار الکتریکی مثبت است ( $\text{pH} < \text{pKa}$ )، موجب افزایش دافعه الکترواستاتیک میان اجزای مورد بحث و لذا افزایش فضای آزاد در هیدروژل‌های کراس‌لینک‌شده و یا افزایش میزان تخلخل هیدروژل‌ها شد. تانوار<sup>۳</sup> و همکاران [۲۵] نیز این مسئله را در توضیح علت افزایش میزان تخلخل هیدروژل‌های ژلاتین/پلی‌آکریل‌امید/نانوذرات اکسید روی به‌کار بردند. خلاصه، نتایج این آزمون نشان می‌دهد که هیدروژل‌های X-GCZ را می‌توان به‌منزله داربست در مهندسی بافت یا سامانه‌های دارورسانی به‌کار برد، زیرا میزان بالای تخلخل هیدروژل‌های مورد اشاره نشان‌دهنده

کمی تغییر موقعیت داده‌اند که مؤید برهم‌کنش قوی میان ژلاتین و/یا کیتوسان و اکسید روی است. گفتنی است که جابه‌جایی قله‌های مشخصه پلیمرهای آب‌دوست نظیر ژلاتین و کیتوسان، در نتیجه افزودن اکسید روی به سیستم این پلیمرها، در دیگر مقالات مشابه نیز گزارش شده است [۲۴ و ۲۵]. خلاصه، نتایج آزمون FTIR نشان‌دهنده برهم‌کنش گروه‌های عاملی ماکرومولکول‌های سازنده و یون‌های روی و ذرات اکسید روی است.



شکل ۱. طیف IR هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان و نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی

### ۳-۲- میزان تخلخل

شکل ۲ میزان تخلخل هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان و نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی را با هم مقایسه می‌کند. مطابق شکل، با افزودن نانوذرات اکسید روی، میزان تخلخل داربست‌های ژلاتین/کیتوسان از ۹۲/۷ به ۹۴/۲ درصد افزایش یافت ( $P < 0/05$ ) که از نتایج ارائه‌شده در دیگر مقالات مشابه تبعیت نمی‌کند. نوزری<sup>۱</sup> و همکاران [۱۵] در پژوهشی که به آماده‌سازی فیلم‌های کیتوسان/ژلاتین حاوی نانوذرات اکسید روی می‌پردازد، نشان دادند که، با افزایش سهم فاز تقویت‌کننده (بتونیت- از ۲۱ تا ۴۲ درصد وزنی) و به‌ازای مقدار ثابت اکسید روی، میزان تخلخل فیلم‌های ژلاتین/کیتوسان کاهش چشمگیری یافت (از ۷۷/۴ درصد به حدود ۳۴ درصد). در پژوهش دیگری،

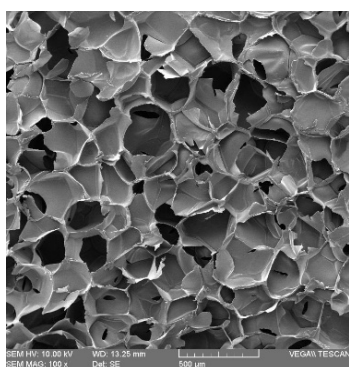
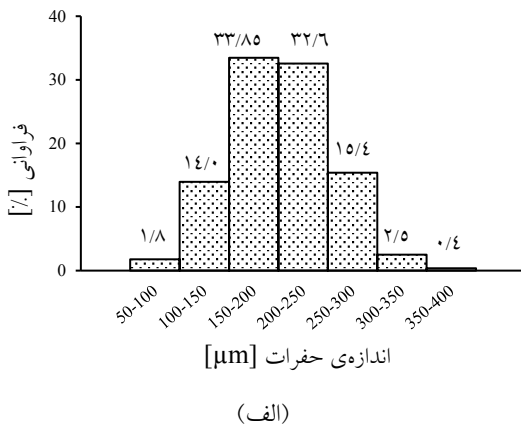
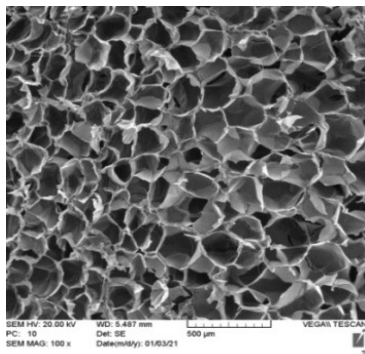
<sup>3</sup> Tanwar

<sup>1</sup> Nozari

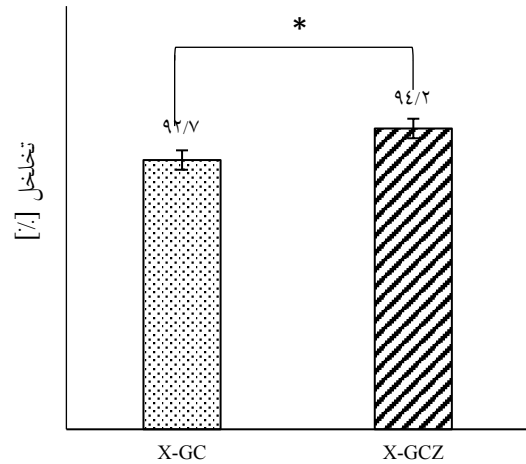
<sup>2</sup> Amira



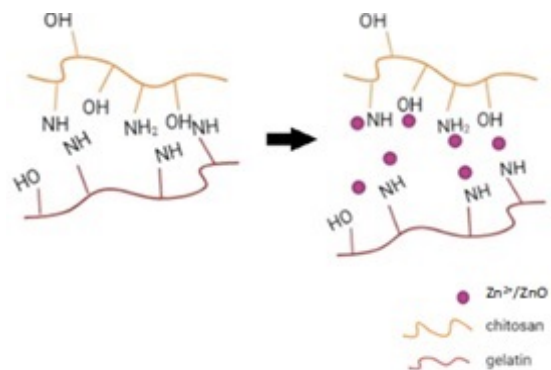
ماکرو حفرات مشخص و بهم پیوسته‌اند که عمده حفرات آن‌ها در محدوده ۱۵۰ تا ۲۵۰ میکرون است. متوسط اندازه حفرات هیدروژل‌های X-GCZ، که به کمک نرم‌افزار ImageJ محاسبه شد، در شکل ۵ ارائه شده است. مطابق شکل، با افزودن نانوذرات اکسید روی، میانگین اندازه حفرات داربست‌ها کمی کاهش یافت، اما تفاوت مشاهده شده از لحاظ آماری معنادار نبود ( $P > 0/05$ ). نتیجه بررسی‌های میکروسکوپی هیدروژل‌های X-GCZ، که دارای ریزساختار متخلخلی از ماکرو حفرات بهم پیوسته است، برای استفاده در حوزه مهندسی بافت و سامانه‌های دارورسانی پیشنهاد می‌شود، زیرا ویژگی‌های ریزساختاری داربست‌های مورد بحث شرایط مناسب برای نفوذ و رشد سلولی و جذب و رهایش دارو را فراهم می‌آورند.



بهم پیوستگی حفرات ساختار است که می‌تواند امکان نفوذ و مهاجرت سلولی، انتقال مواد غذایی به سلول‌ها، دفع پسماندهای متابولیکی و جذب سیال و رهایش سریع دارو از هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی را فراهم آورند.



شکل ۲. مقایسه میزان تخلخل هیدروژل‌های X-GCZ و X-GC ( $P < 0/05^*$ )

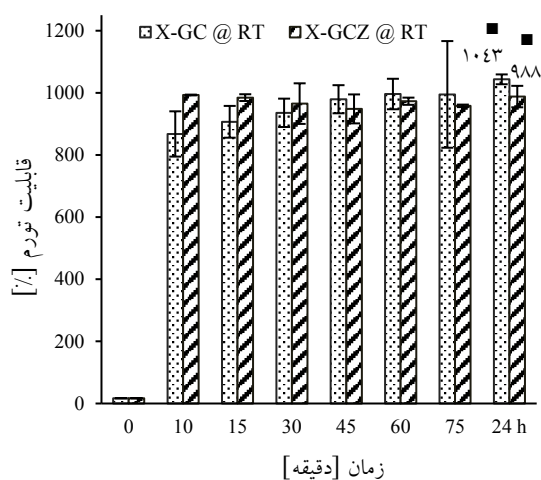


شکل ۳. برهم کنش‌های احتمالی میان اجزای سیستم پس از افزودن نانوذرات اکسید روی. به نظر می‌رسد یون‌های روی (II)، ناشی از انحلال اکسید روی و نانوذرات، گروه‌های عاملی ژلاتین و کیتوسان را احاطه و از تشکیل حداکثری پلی‌الکترولیت ژلاتین/کیتوسان یا پیوندهای کووالانسی میان گروه‌های آمینوی پلیمرهای سازنده و جنبین جلوگیری می‌کنند

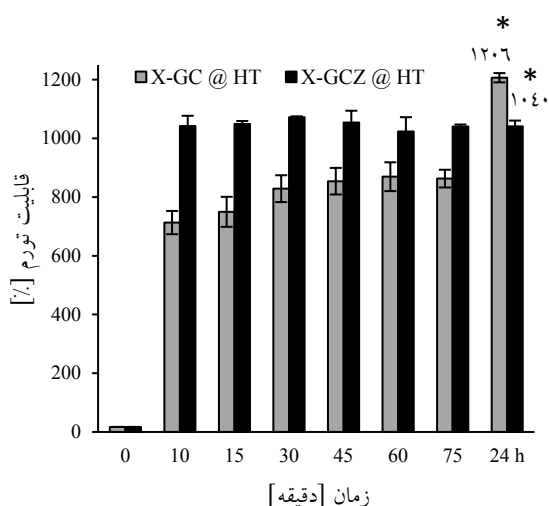
### ۳-۳- ریزساختار

شکل ۴ (الف و ب) تصاویر SEM سطح مقطع هیدروژل‌های X-GCZ و X-GC و توزیع اندازه حفرات آن‌ها را نشان می‌دهد. ملاحظه می‌شود که نمونه‌های X-GCZ مشابه هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان دارای ریزساختار متخلخلی از

مسئله را می‌توان ناشی از حضور تعداد بیشتری از حفرات بزرگ‌تر (بزرگ‌تر از ۳۰۰ میکرومتر) در نمونه‌های X-GCZ دانست (حدود ۵ درصد در برابر ۳ درصد) که موجب تسریع ورود مولکول‌های آب به داخل هیدروژل‌های موردبخت شد. میزان تخلخل بیشتر و صلیبیت کمتر این داربست‌ها را نیز می‌توان از دیگر دلایل بیشتر بودن سرعت تورم اولیه هیدروژل‌های X-GCZ برشمرد. به‌علاوه، مطابق شکل، با افزودن نانوذرات اکسید روی، قابلیت تورم هیدروژل‌های X-GC کاهش یافت که با نتایج گزارش شده در مقالات مشابه مطابقت ندارد [۲۵ و ۲۸].



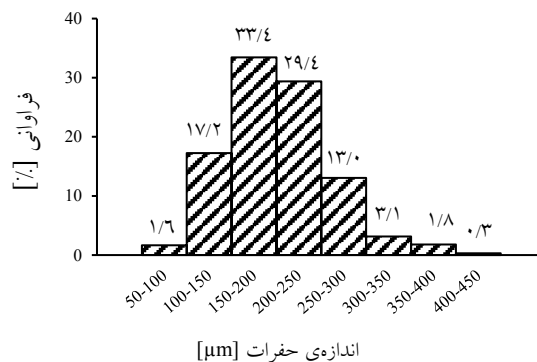
(الف)



(ب)

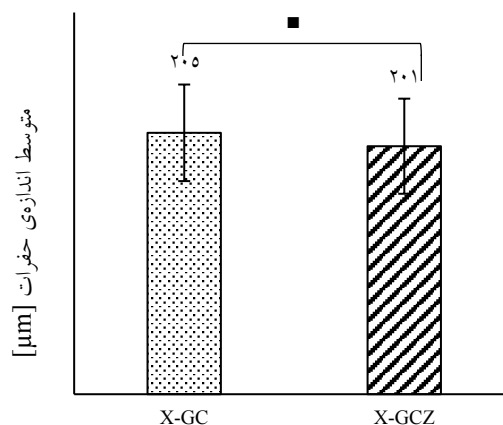
شکل ۶. مقایسه رفتار تورم هیدروژل‌های X-GCZ و X-GC در PBS و (الف) دمای اتاق و (ب) دمای ۳۷ درجه سلسیوس که نشان‌دهنده کاهش قابلیت تورم هیدروژل‌ها با افزودن نانوذرات است

( $P < 0.05$ : \* و  $P > 0.05$ : □)



(ب)

شکل ۴. تصاویر SEM سطح مقطع افقی و نمودارهای توزیع اندازه حفرات هیدروژل‌های (الف) X-GC و (ب) X-GCZ



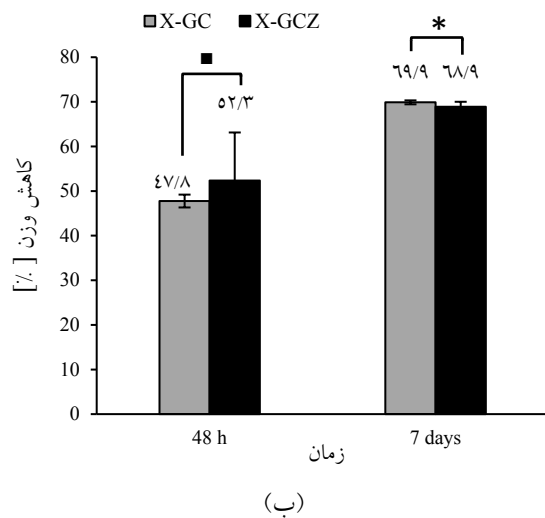
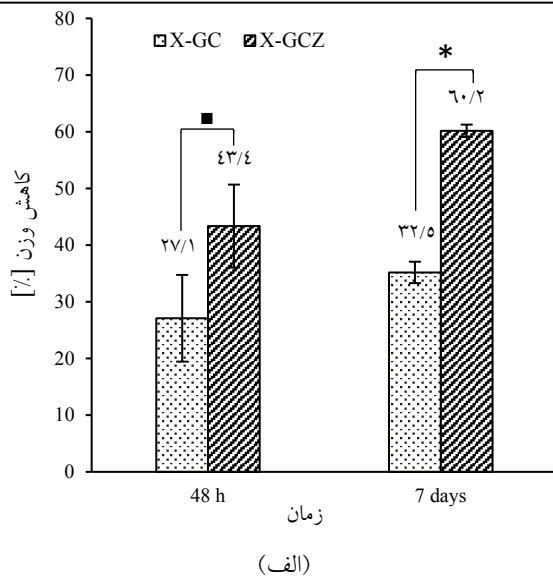
شکل ۵. مقایسه متوسط اندازه حفرات هیدروژل‌های X-GC و

X-GCZ که نشان می‌دهد میانگین اندازه حفرات

داربست‌های ژلاتین/کیتوسان مستقل از ۱/۵ درصد اکسید روی است

### ۳-۴- رفتار تورم

با هدف بررسی تأثیر افزودن نانوذرات اکسید روی بر رفتار تورم هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان کراس‌لینک‌شده، قابلیت جذب آب نمونه‌های X-GCZ و X-GC در PBS ( $pH = 7.4$ )، در دمای اتاق و دمای ۳۷ درجه سلسیوس، به مدت ۲۴ ساعت مطالعه شد که نتایج آن در شکل ۶ (الف و ب) ارائه شده است. مطابق شکل، قابلیت تورم بالای هیدروژل‌های X-GCZ (حدود ۹۹۰ درصد در دمای اتاق و ۱۰۴۰ درصد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس)، در وهله اول، مؤید ماهیت آب‌دوست هیدروژل‌های موردبخت و به هم پیوستگی حفرات آن‌هاست. همچنین مشاهده می‌شود که بیشترین میزان جذب آب هیدروژل‌های مذکور، در مقایسه با نمونه‌های فاقد نانوذرات، در زمان کوتاه‌تری ظاهر شد (۱۰ دقیقه در برابر ۴۵ دقیقه). این



شکل ۷. مقایسه میزان کاهش وزن هیدروژل‌های X-GC و X-GCZ در PBS و (الف) دمای اتاق و (ب) دمای ۳۷ درجه سلسیوس که نشان‌دهنده تسریع تخریب هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان با افزودن نانوذرات اکسید روی است ( $P > 0/05$  و  $P < 0/05^*$ )

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، هیدروژل‌های ژلاتین/کیتوسان/اکسید روی به روش ریخته‌گیری محلول پلیمری و سپس، خشک‌کردن انجمادی ساخته و تأثیر افزودن نانوذرات اکسید روی بر ویژگی‌های ریزساختاری و خواص فیزیکی-شیمیایی داربست‌های پلیمری مطالعه شد. ریزساختار و میزان تخلخل هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی نشان‌دهنده ویژگی‌های مطلوب این داربست‌ها از نظر به هم پیوستگی و توزیع یکنواخت حفرات برای استفاده به منزله بستر رهایش کنترل‌شده دارو بود. ملاحظه شد

گفتنی است که اختلاف مشاهده شده در دمای اتاق به لحاظ آماری بی‌معنا ( $P > 0/05$ ) و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس معنادار است ( $P < 0/05$ ). کاهش قابلیت تورم این هیدروژل‌ها را می‌توان ناشی از برهم‌کنش گروه‌های عاملی هیدروکسیل، کربوکسیل و آمینوی پلیمرهای سازنده و نانوذرات اکسید فلزی یا یون‌های روی دانست که از تشکیل حداکثری پیوندهای کووالانسی با مولکول‌های جنینین ممانعت می‌کرد.

#### ۳-۵- تخریب برون‌تنی

در این مطالعه، سرعت تخریب برون‌تنی هیدروژل‌های کراس‌لینک‌شده، پس از هفت روز غوطه‌وری در PBS ( $pH = 7/4$ )، در دمای اتاق و دمای ۳۷ درجه سلسیوس بررسی شد که نتایج بدست آمده در شکل ۷ ارائه شده است. ملاحظه می‌شود که، با افزودن نانوذرات اکسید روی و مستقل از دمای آزمون، تخریب برون‌تنی هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی سریع‌تر رخ داد. اگرچه، مطابق شکل، اختلاف مشاهده شده میان میزان افت وزن نمونه‌ها در روز دوم آزمون از نظر آماری معنادار نیست ( $P > 0/05$ )، می‌توان تسریع در تخریب هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی را از یک سو، به برهم‌کنش میان گروه‌های عاملی ماکرومولکول‌های پلیمر و یون‌ها/نانوذرات اکسید روی نسبت داد که با مصرف گروه‌های آمینو از تشکیل اتصالات عرضی در ساختار پلیمر جلوگیری کرد. از سوی دیگر، با کاهش تعداد پیوندهای کووالانسی تشکیل شده، قابلیت حرکت زنجیرهای پلیمری بهبود یافت که این مسئله موجب جذب سریع‌تر و بیشتر آب به درون هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی و تخریب سریع‌تر آن‌ها شد [۲۹]. تخریب سریع‌تر هیدروژل‌های X-GCZ در مقایسه با داربست‌های X-GC را می‌توان ناشی از میزان تخلخل بیشتر نمونه‌های گروه نخست نیز دانست (۹۴ در برابر ۹۲ درصد) [۳۰]. همچنین ملاحظه شد که، با افزایش دما و مدت زمان آزمون، میزان افت وزن نمونه‌ها افزایش یافت که نشان‌دهنده پیشرفت واکنش مربوط به شکست اتصالات پپتیدی ژلاتین و گلیکوزیدی کیتوسان با آب در نتیجه گذشت زمان و افزایش دماست که به تخریب سریع‌تر داربست‌های نانوکامپوزیتی منجر شد.

- Materials and Engineering**, Vol. 305, No. 9, (2020), 2000188, 1-9. <https://doi.org/10.1002/mame.202000188>
10. Rodríguez-Vázquez, M., Vega-Ruiz, B., Ramos-Zúñiga, R., Saldaña-Koppel, D. A., Quiñones-Olvera, L. F., "Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine", *BioMed Research International*, Vol. 2015, (2015), 821279, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2015/821279>
  11. Nieto-Suárez, M., López-Quintela, M. A., Lazzari, M., "Preparation and characterization of crosslinked chitosan/gelatin scaffolds by ice segregation induced self-assembly", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 141, (2016), 175-183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.064>
  12. Shahin, A., Ramazani S. A., A., Mehraji, S., Eslami, H., "Synthesis and characterization of a chitosan/gelatin transparent film crosslinked with a combination of EDC/NHS for corneal epithelial cell culture scaffold with potential application in cornea implantation", *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, Vol. 78, (2020), 1-11. <https://doi.org/10.1080/00914037.2020.1865349>
  13. Sarem, M., Moztaazadeh, F., Mozafari, M., "How can genipin assist gelatin/carbohydrate chitosan scaffolds to act as replacements of load-bearing soft tissues?", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 93, No. 2, (2013), 635-643. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.099>
  14. Manickam, B., Sreedharan, R., Elumalai, M., "Genipin-the natural water soluble cross-linking agent and its importance in the modified drug delivery systems: An overview", *Current Drug Delivery*, Vol. 11, No. 1, (2014), 139-145. <https://doi.org/10.2174/156720181131006660059>
  15. Nozari, M., Gholizadeh, M., Zahiri Oghani, F., Tahvildari, K., "Studies on novel chitosan/alginate and chitosan/bentonite flexible films incorporated with ZnO nano particles for accelerating dermal burn healing: In vivo and in vitro evaluation", *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 184, (2021), 235-249. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.066>
  16. Yadollahi, M., Gholamali, I., Namazi, H., Aghazadeh, M., "Synthesis and characterization of antibacterial carboxymethyl cellulose/ZnO nanocomposite hydrogels", *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 74, (2015), 136-141. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.032>
  17. Murali, S., Kumar, S., Koh, J., Seena, S., Singh, P., Ramalho, A., Sobral, A. J. F. N., "Bio-based chitosan/gelatin/Ag@ZnO bionanocomposites: Synthesis and mechanical and antibacterial properties", *Cellulose*, Vol. 26, No. 9, (2019), 5347-5361. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02457-2>
  18. Mishra, P., Mishra, H., Ekielski, A., Talegaonkar, S., Vaidya, B., "Zinc oxide nanoparticles: A promising nanomaterial for biomedical applications", *Drug Discovery Today*, Vol. 22, No. 12, (2017), 1825-1834. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.08.006>
  19. Moshayedi, S., Sarpoolaky, H., Khavandi, A., "Fabrication, swelling behavior, and water absorption kinetics of genipin-crosslinked gelatin-chitosan hydrogels" *Polymer Engineering & Science*, Vol. 61, No. 12, (2021), 3094-3103. <https://doi.org/10.1002/pen.25821>
  20. Li, Y., Sun, S., Gao, P., Zhang, M., Fan, C., Lu, Q., Li, C., Chen, C., Lin, B., Jiang, Y., "A tough chitosan-alginate porous hydrogel prepared by simple foaming method", *Journal of Solid State Chemistry*, Vol. 294, (2021), 121797, 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2020.121797>
  21. Zhang, Y., Wang, Q. S., Yan, K., Qi, Y., Wang, G. F., Cui, Y. L., "Preparation, characterization, and evaluation of genipin crosslinked chitosan/gelatin three-dimensional scaffolds for liver tissue engineering applications", *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 104, No. 8, (2016), 1863-1870. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.35717>
  22. Sarem, M., Moztaazadeh, F., Mozafari, M., Shastri, V. P., "Optimization strategies on the structural modeling of gelatin/chitosan scaffolds to mimic human meniscus tissue", *Materials Science & Engineering: C, Materials for Biological Applications*, Vol. 33, No. 8, (2013), 4777-4785. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.07.036>
  23. Rastegar Ramsheh, M., Behnamghader, A., Khanlarkhani, A., "Preparation and characterization of microspheres based on gelatin-sodium alginate-genipin by the formation of polyelectrolyte complex", *Journal of Advanced Materials and*

که، با افزودن نانوذرات، قابلیت جذب آب هیدروژل‌ها و سرعت تورم اولیه آن‌ها کاهش یافت. تحلیل نتایج آزمون تخریب برون‌تنی نشان داد که افزودن اکسید روی سبب تسریع هیدرولیز داربست‌ها می‌شود. با توجه به نتایج این پژوهش، پیش‌بینی می‌شود که هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی، به دلیل سرعت تورم اولیه بیشتر و هیدرولیز سریع‌تر ساختار پلیمری در محیط آبی، قابلیت ره‌ایش داروی سریع‌تری از نمونه‌های فاقد اکسید روی دارند که کاربرد آن‌ها در ره‌اسازی داروهایی با پایداری شیمیایی کمتر را فراهم می‌آورد.

## ۵- سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از همکاری آزمایشگاه‌های مرجع مرکزی و آنالیز مواد دانشگاه علم و صنعت ایران، که با فراهم کردن تجهیزات و حمایت‌های موردنیاز ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، سپاسگزاری کنند.

## مراجع

1. El-Sherbiny, I. M., Yacoub, M. H., "Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges", *Global Cardiology Science & Practice*, Vol. 2013, No. 3, (2013), 316-342. <https://doi.org/10.5339/gcsp.2013.38>
2. Li, J., Mooney, D. J., "Designing hydrogels for controlled drug delivery", *Nature Reviews Materials*, Vol. 1, No. 12, (2016), 16071, 1-17. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.71>
3. Narayanaswamy, R., Torchilin, V. P., "Hydrogels and their applications in targeted drug delivery", *Molecules*, Vol. 24, No. 3, (2019), 603, 1-21. <https://doi.org/10.3390/molecules24030603>
4. Sultana, N., Hassan, M. I., Ridzuan, N., Ibrahim, Z., Soon, C. F., "Fabrication of gelatin scaffolds using thermally induced phase separation technique", *International Journal of Engineering*, Vol. 31, No. 8, (2018), 1302-1307. <http://doi.org/10.5829/ije.2018.31.08b.19>
5. Bello, A. B., Kim, D., Kim, D., Park, H., Lee, S. H., "Engineering and functionalization of gelatin biomaterials: From cell culture to medical applications", *Tissue Engineering Part B: Reviews*, Vol. 26, No. 2, (2020), 164-180. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2019.0256>
6. Yang, G., Xiao, Z., Long, H., Ma, K., Zhang, J., Ren, X., Zhang, J., "Assessment of the characteristics and biocompatibility of gelatin sponge scaffolds prepared by various crosslinking methods", *Scientific Reports*, Vol. 8, No. 1, (2018), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20006-y>
7. Song, Y., Nagai, N., Saijo, S., Kaji, H., Nishizawa, M., Abe, T., "In situ formation of injectable chitosan-gelatin hydrogels through double crosslinking for sustained intraocular drug delivery", *Materials Science & Engineering: C, Materials for Biological Applications*, Vol. 88, (2018), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.02.022>
8. Vlăscceanu, G., Crica, L., Pandele, A., Ionita, M., "Graphene oxide reinforcing genipin crosslinked chitosan-gelatin blend films", *Coatings*, Vol. 10, No. 2, (2020), 189, 1-15. <https://doi.org/10.3390/coatings10020189>
9. Wang, L., Li, M., Li, X., Liu, J., Mao, Y., Tang, K., "A biomimetic hybrid hydrogel based on the interactions between amino hydroxyapatite and gelatin/gellan gum", *Macromolecular*

- Polymers*, Vol. 216, (2019), 376-384. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.062>
27. Amira, N., Zain, N., "The effect of ZnO nanoparticles on the physical, mechanical, and antibacterial properties of chitosan/gelatin hydrogel films", *Jurnal Teknologi*, Vol. 81, (2019), 21-26. <https://doi.org/10.11113/jt.v81.12605>
28. Zhang, M., Qiao, X., Han, W., Jiang, T., Liu, F., Zhao, X., "Alginate-chitosan oligosaccharide-ZnO composite hydrogel for accelerating wound healing", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 266, (2021), 118100, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118100>
29. Dinu, M., Dragan, E. S., "Macroporous hydrogels: preparation, properties, and applications", *Hydrogels*, (2018), 51-85. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-6077-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6077-9_3)
30. Singhal, R., Gupta, K., "A review: tailor-made hydrogel structures (classifications and synthesis parameters)", *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, Vol. 55, (2015), 1-19. <https://doi.org/10.1080/03602559.2015.1050520>
- Technologies (JAMT)*, Vol. 9, No. 3, (2020a), 63-78. <https://doi.org/10.30501/jamt.2021.214580.1070>
24. Perelshtein, I., Ruderman, E., Perkas, N., Tzanov, T., Beddow, J., Joyce, E., Mason, T. J., Blanes, M., Mollá, K., Patlolla, A., Frenkel, A. I., Gedanken, A., "Chitosan and chitosan-ZnO-based complex nanoparticles: Formation, characterization, and antibacterial activity", *Journal of Materials Chemistry: B*, Vol. 1, No. 14, (2013), 1968-1976. <https://doi.org/10.1039/C3TB00555K>
25. Tanwar, A., Date, P., Ootool, D., "ZnO Nps incorporated gelatin grafted polyacrylamide hydrogel nanocomposite for controlled release of ciprofloxacin", *Colloid and Interface Science Communications*, Vol. 42, (2021), 100413, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2021.100413>
26. Amjadi, S., Emaminia, S., Heyat Davudian, S., Pourmohammad, S., Hamishehkar, H., Roufegarinejad, L., "Preparation and characterization of gelatin-based nanocomposite containing chitosan nanofiber and ZnO nanoparticles", *Carbohydrate*