

ارزیابی خواص فیزیکی و مکانیکی داربست نانوکامپوزیتی الکتروریسی شده

پلی-ε-کاپرولاکتون-ژلاتین / نانولوله کربنی چنددیواره

پریسا زاده‌نجا^۱، سعید کرباسی^۲، بابک اکبری^{۱*}، سیدمحمدحسین میرموسوی^۲

^۱ گروه مهندسی پزشکی- بیومتریال، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ گروه بیومتریال و مهندسی بافت، دانشکده فناوری های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۷/۰۶/۱۵، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۷/۰۸/۲۷، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۷/۰۸/۲۹

چکیده داربست نانوفیبری PCL/gelatin با نسبت وزنی ۷۰:۳۰ و داربست نانوکامپوزیتی PCL/gelatin ۷۰:۳۰ حاوی ۰/۵ درصد وزنی نانولوله کربنی چنددیواره عامل دار شده با گروه کربوکسیل (functionalized by carboxyl) به روش الکتروریسی تهیه شدند. مورفولوژی، خواص فیزیکی و مکانیکی داربست‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی، طیف‌سنجی مادون قرمز، زاویه تماس آب و استحکام کششی مورد ارزیابی قرار گرفت. داربست حاوی MWNTs به علت افزایش رسانایی محلول و نحوه قرار گرفتن MWNTs در نانوالیاف پلیمری، از توزیع قطر الیاف و میانگین قطر الیاف مناسب‌تری نسبت به داربست فاقد MWNTs برخوردار است. حضور MWNTs هیچ‌گونه اثر مخربی بر روی درصد تخلخل سطح داربست نداشته و درصد تخلخل در سطح داربست‌ها بیش از ۸۰٪ است. بر اساس طیف‌سنجی مادون قرمز، برهم‌کنش میان گروه آمین ژلاتین و گروه کربوکسیل MWNTs، می‌تواند به‌طور مستقیم بر روی خواص مکانیکی تاثیرگذار باشد. افزودن MWNTs به داربست نانوفیبری PCL/gelatin ۷۰:۳۰ موجب کاهش قابل توجه زاویه تماس آب و افزایش قابل ملاحظه میانگین استحکام کششی تا حدود هفت برابر نسبت به داربست فاقد MWNTs شده است. بهبود خواص مکانیکی داربست را می‌توان به علت استحکام ذاتی بالای MWNTs، قرارگیری آن در طول الیاف پلیمری و پراکندگی مناسب آن در زمینه پلیمری دانست. داربست PCL-gelatin/0.5%wt.MWNT می‌تواند یک داربست مناسب برای کاربردهای مهندسی بافت باشد.

کلمات کلیدی: داربست نانوکامپوزیتی، مهندسی بافت، نانولوله کربنی، الکتروریسی.

Evaluation of physical and mechanical properties of electrospinning nanocomposite scaffolds poly ε-caprolactone-gelatin/multi walled carbon nanotube

Parisa Zadehnajar¹, Saeed Karbasi², Babak Akbari^{1*}, Mohamad Hossein Mirmusavi²

¹Department of Biomaterials, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

²Department of Biomaterials and Tissue Engineering, School of Advance Technology in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Abstract The poly (ε-caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds with weight ratio of 70:30 and PCL/gelatin 70:30 nanocomposite scaffold containing 0.5%wt. MWNTs (PCL-gelatin/0.5%wt.MWNT) were fabricated through electrospinning. The morphology, physical and mechanical property of the scaffolds was evaluated through SEM, FTIR-ATR, water contact angle and tensile strength test. The scaffold containing 0.5%wt. MWNTs had the best average and distribution of fibers diameter in comparison with PCL/gelatin scaffold due to the increased conductivity of the solution and the alignment of the MWNTs in the nanofibers. The presence of MWNTs did not have any reverse effect on the porosity of the scaffolds and the porosity percentage of the scaffolds was more than 80%. According to FTIR spectra there was a connection between gelatin amine group and MWNTs carboxylic group that could affect the mechanical properties directly. Adding 0.5%wt. MWNTs to the PCL/gelatin scaffold decreased contact angle and lead to an increase in mean tensile strength about 7 times in comparison with scaffold without MWNTs. The enhancement of the mechanical properties of the scaffold can be seen due to the inherent strength of MWNTs, the position of the MWNTs in the polymer nanofibers and the optimal dispersion in the polymer matrix. PCL-gelatin/0.5%wt.MWNT scaffold can be an appropriate scaffold for tissue engineering applications.

Keywords: nanocomposite scaffold, tissue engineering, carbon nanotube, electrospinning

۱- مقدمه

مهندسی بافت روشی امیدبخش است که با گرفتن سلول اولیه از بافت مورد نظر، تکثیر آن بر روی یک داربست، ایجاد ویژگی‌های مطلوب و در نهایت کاشتن آن در محل مورد نظر، می‌تواند بافت آسیب دیده و یا از دست رفته را بازسازی و ترمیم کند. مهندسی بافت از سه رکن تشکیل شده است که شامل سلول، داربست و فاکتورهای زیست‌محیطی می‌باشد. در حوزه پروتکل‌های ترمیمی در مهندسی بافت ابتدا باید به تعریف داربست و خصایص آن به منظور بازسازی هرچه بهتر بافت اشاره کرد؛ چرا که داربست مهمترین رکن در مهندسی بافت است [۱]. در مهندسی بافت یک داربست به منظور شبیه‌سازی ماتریس خارج-سلولی (Extra Cellular Matrix (ECM)) بافت طبیعی تهیه می‌شود. داربست‌ها انواع مختلفی دارند و هرچه این ساختارها به ساختار طبیعی بدن شبیه‌تر باشند، کیفیت بافت تولید شده بیشتر خواهد بود. ابعاد تخلخل‌ها به منظور لانه‌گزینی سلول‌ها، نقش کلیدی در مهندسی بافت ترمیمی دارد. مورفولوژی داربست نیز در اندرکنش با سلول‌ها حائز اهمیت است. سطح داربست باید دارای درجه قابل قبولی از آب‌دوستی باشد تا به خوبی با غشای سلول اندرکنش کند. معماری داربست باید برای چسبندگی اولیه سلولی، مهاجرت سلولی درون ماتریس، انتقال مواد غذایی و متابولیسمی مناسب باشد [۲، ۳]. داربست‌ها باید دارای استحکام مکانیکی کافی و نیز سفتی مطلوب باشند تا بتوانند به عنوان جایگزین مناسب به منظور عملکرد مکانیکی بافت آسیب دیده ایفای نقش کنند [۴]. داربست‌ها باید زیست‌تخریب‌پذیر باشند؛ این خاصیت از آن جهت دارای اهمیت است که هدف مهندسی بافت، بازسازی بافت است، نه جایگزینی آن‌ها با مواد مصنوعی؛ بنابراین داربست باید در حین رشد بافت به تدریج از محیط بدن حذف شود و به عبارت دیگر نرخ رشد بافت و تخریب داربست با یکدیگر متناسب باشند. در انتخاب مواد اولیه و در نهایت تولید داربست باید موادی به کار گرفته شوند که در مدت زمان مورد نظر به طور کامل تخریب شده و از بدن خارج شوند [۵]. ماتریس خارج‌سلولی متشکل از نانو ساختاری منظم، سلول‌ها را درون بافت‌های بدن احاطه می‌کند [۶]. در سال‌های اخیر استفاده از نانوالیاف در مهندسی بافت بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۷]. نانوالیاف علاوه بر نسبت بالای سطح به حجم، مقلد زیستی

بهتری از ساختار ECM هستند [۸]. الکتروریسی فرآیندی برای تولید نانوالیاف از محلول‌های پلیمری و کامپوزیتی پایه پلیمر است [۹]. نانوالیاف الکتروریسی (electrospinning) شده، پتانسیل بالایی در حوزه مهندسی بافت از خود نشان داده‌اند. پلیمرهای قابل جذب یک انتخاب مطلوب و کارآمد به منظور ساخت داربست مهندسی بافت هستند. این پلیمرها آب‌دوستی بسیار کمی دارند و مکانی برای شناسایی سلول‌ها ندارند. توسعه خواص آب‌دوستی می‌تواند منجر به ارتقای واکنش سلول و داربست شود [۱۰]. پلی‌کاپرولاکتون (poly (PCL) caprolactone) پلیمری نیمه‌بلورین، زیست‌سازگار، تخریب‌پذیر، دارای دمای ذوب 60°C و دمای شیشه‌ای 60°C - است [۱۰، ۱۱]. خواص رئولوژیکی و ویسکوالاستیکی PCL موجب شده که از آن به عنوان داربست مهندسی بافت‌هایی هم‌چون استخوان، غضروف، تاندون و لیگامنت، رگ خونی، پوست و عصب استفاده کنند [۱۱]. ژلاتین (gelatin) پلیمری زیست-تخریب‌پذیر با نرخ تخریب بالا، آب‌دوست، زیست‌سازگار، دردسترس و ارزان قیمت است اما خواص مکانیکی این پلیمر به تنهایی برای ساخت داربست مناسب نیست. با ترکیب شدن PCL و ژلاتین می‌توان خواص آب‌دوستی و زیست‌تخریب‌پذیری را افزایش داد [۱۰، ۱۲]. مطالعات اخیر نشان می‌دهد، استفاده از نانومواد در ساخت داربست‌ها می‌تواند نانو ساختارهای موجود در ECM بافت را تقلید کنند [۱۳، ۱۴]. امروزه نانولوله‌های کربنی عامل‌دار به دو صورت تک‌دیواره (Single-walled carbon nanotube-(SWCNT)) و چنددیواره (Multi-walled carbon nanotube-(MWCNT)) به عنوان زیست‌ماده به منظور تقویت خواص و عملکرد داربست‌های مهندسی بافت به کار گرفته می‌شوند [۱۵، ۱۶]. CNT دارای نسبت سطح به حجم و طول به قطر بالا، چگالی و مدول پایین، استحکام مکانیکی بالا، انعطاف‌پذیری بالا و رسانایی گرمایی و الکتریکی است [۱۷، ۱۸]. CNT به طور طبیعی از نظر شیمیایی خنثی است و پراکندگی ضعیفی را در حلال‌های متعدد از خود نشان می‌دهد [۱۹، ۲۰]. هم‌چنین سطح صاف نانولوله‌های کربنی و برهم‌کنش وان‌دروالس با ماتریس می‌تواند منجر به عدم پراکندگی مناسب و یکنواخت CNT در آن شود؛ این پدیده موجب عدم انتقال بار و چسبندگی مناسب میان اجزای نانو-کامپوزیت نیز خواهد شد [۲۱، ۲۲]. عامل‌دار کردن نانولوله‌های

ساعت در شرایط دمایی یکسان هم زده شد. ۰/۵wt% نانولوله-کربنی به منظور پراکندگی مطلوب در زمینه پلیمری، به مدت دوازده ثانیه در مقداری از حلال تحت فرآیند سونیکاسیون (Sonication) قرار گرفت و در نهایت به محلول پلیمری اضافه گردید و به مدت پنج دقیقه هم زده شد. تجهیزات الکترونیسی مورد استفاده در این مطالعه شامل سرنگ با قطر داخلی ۰/۲۸ میلی متر، پمپ تزریق، یک صفحه جمع کننده آلومینیومی و یک منبع تغذیه ولتاژ بالا است. پارامترهای بهینه شده در این مطالعه شامل فاصله میان نوک سوزن و صفحه جمع کننده ۱۵ سانتی متر و نرخ جریان ۰/۲ میلی لیتر بر ساعت است. منبع تغذیه با ولتاژ ۱۵-۱۶ کیلوولت به منظور ایجاد یک جریان مداوم در نوک سوزن و الیاف الکترونیسی شده بر روی صفحه جمع کننده، به کار گرفته شد.

۲-۳- مورفولوژی داربست‌ها

بررسی مورفولوژی سطح داربست با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscope) (SEM- AIS 2300 C, SEI, Japan) انجام شد. در این آنالیز ابتدا داربست‌ها در ابعاد کوچک بریده شدند و سپس سطح آن‌ها با استفاده از طلا در دستگاه پوشش دهی (SC7620) پوشش داده شد. میانگین و توزیع قطر الیاف به وسیله اندازه‌گیری قطر ۱۰۰ قسمت الیاف در تصاویر ریزنگار SEM با استفاده از نرم‌افزار پردازش تصویر (Image J, National Institutes of Health, USA) تعیین شد. درصد تخلخل‌های سطحی بر روی داربست هم‌چنین با استفاده از تصاویر به دست آمده از ریزنگار SEM با استفاده از برنامه نرم‌افزاری متلب (MATLAB-8.1.0.604) اندازه‌گیری شد.

۲-۴- طیف‌سنجی مادون قرمز (Infrared spectroscopy)

طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR-JASCO, 6300; Japan) در گستره عدد موج $4000-400\text{ cm}^{-1}$ بر روی داربست‌های PCL/gelatin, PCL-gelatin/0.5wt%.MWNT, PCL-gelatin و MWCNTs، انجام گرفت؛ هم‌چنین FTIR عبوری بر روی MWCNT خالص انجام شد.

کربنی به وسیله پیوند کووالانسی و یا غیرکووالانسی گروه‌های عاملی (هیدروکسیل، کربوکسیل و ...) به منظور اصلاح بار سطح و یا افزودن مولکول‌های زیست‌فعال بر روی سطح، منجر به افزایش زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، پراکندگی یکنواخت و اتصال مطلوب نانولوله‌های کربنی با ماتریس خواهد شد [۱۹]. بر اساس مطالعات انجام شده این ماده در هنگام تماس با سلول‌ها، خون و بافت، زیست‌سازگاری مناسبی نشان می‌دهد [۲۳]. ارتقای خواص مکانیکی ترکیب آلیاژی PCL/gelatin با استفاده از نانولوله‌کربنی چنددیواره عامل‌دار شده با گروه کربوکسیل (COOH) به عنوان تقویت‌کننده زمینه پلیمری یک راهکار نوین در ساخت داربست نانوکامپوزیتی است که در این مطالعه انجام گرفته است.

۲- روش تحقیق

۲-۱- مواد اولیه

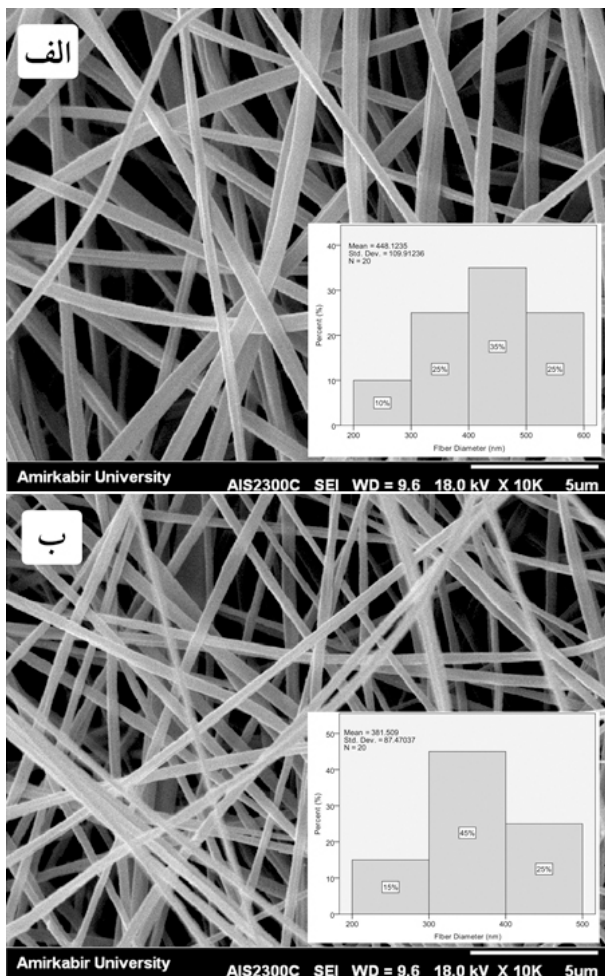
PCL (وزن مولکولی = ۸۰/۰۰۰) و ژلاتین نوع A تهیه شده از پوست خوک از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma-Aldrich) خریداری شدند. استیک اسید (Acetic acid) (۹۹٪ خلوص) و اتیل استات (Ethyl acetate) از شرکت مرک کشور آلمان (Merck-Germany) تهیه شدند. نانولوله کربنی چنددیواره عامل‌دار شده با گروه کربوکسیل (COOH) که به روش CVD تهیه شده به قطر ۲۵-۵ نانومتر و طول ۲-۰/۵ میکرومتر (بیش از ۹۵٪ وزنی خلوص) با رسانایی ۱۰^۵-۱۰^۷ S/m، از شرکت پیشگامان نانومواد آمریکا (Nanomaterials Pioneers Company, USA) خریداری شد.

۲-۲- روش آزمایش

محلول پلیمری با غلظت ۱۶wt.% به وسیله ترکیب حلال‌های استیک اسید (۹۹٪ خلوص)، اتیل استات و آب مقطر به ترتیب با نسبت حجمی ۳:۲:۱ تهیه شد [۲۴]. محلول پلیمری به وسیله حل کردن PCL و ژلاتین با نسبت وزنی ۷۰:۳۰ در سیستم حلال، تهیه شد. در ابتدا PCL به مدت سه ساعت در دمای ۴۰-۵۰ °C در سیستم حلال هم‌زده و حل شد. پس از انحلال کامل PCL، ژلاتین به محلول اضافه شد و به مدت یک

۵-۲- آب دوستی

در داربست فاقد MWCNTs، $448/124 \pm 109/912$ نانومتر و میانگین قطر الیاف در داربست نانوکامپوزیتی حاوی ۰/۵ درصد وزنی MWCNTs، $381/509 \pm 87/470$ نانومتر است. داربست PCL/gelatin حاوی ۰/۵ درصد وزنی نانولوله کربنی، از مورفولوژی و توزیع قطر الیاف مناسب تر و هم چنین از متوسط قطر الیاف کمتری نسبت به داربست فاقد نانولوله کربنی برخوردار است ($p \geq 0.05$).



شکل ۱. تصویر SEM سطح داربست ها (الف) $70:30$ PCL/gelatin،

(ب) PCL-gelatin/0.5%wt.MWCNT.

همان طور که در شکل (۱) مشاهده می شود، توزیع و میانگین قطر الیاف در داربست حاوی ۰/۵ درصد وزنی MWCNT نتایج بهتری را نسبت به داربست فاقد MWCNT ارائه می کند و این موضوع، تاثیر حضور نانولوله کربنی را در داربست $70:30$ PCL/gelatin نشان می دهد. حضور نانولوله کربنی به دلیل القای خاصیت الکتریکی در محلول پلیمری، موجب افزایش رسانایی محلول پلیمری و موجب کشیدگی بیشتر الیاف در میدان الکتریکی حاصل از فرآیند الکتروریسی خواهد شد که در نهایت

به منظور تعیین میزان آب دوستی، زاویه تماس آب بر روی داربست ها به وسیله سیستم دوربین ویدیویی زاویه تماس (شرکت فناوری ازدیاد برداشت فارسی؛ ایران، CA-ES10) در ثانیه دهم، پس از چکاندن قطره، اندازه گیری شد. به منظور خشک شدن نمونه ها و خروج حلال، نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای 37°C درون آون خلأ قرار گرفتند. این آزمون مطابق با استاندارد ASTM-D7334 انجام گرفت [۲۵]. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است (تعداد تکرار = ۳).

۶-۲- استحکام کششی

آزمون استحکام کششی به منظور ارزیابی خواص مکانیکی داربست ها توسط دستگاه (Zwick Roell Materials Testing Systems, model 1 M/H; Germany) انجام گرفت. نرخ کشش دستگاه یک میلی متر بر دقیقه و داربست ها با نیروی (Load cell) ۲۰ نیوتن (N) کشیده شدند. در این آنالیز ابتدا داربست ها به ابعاد 3×0.5 سانتی متر مربع (cm^2) بریده شدند؛ سپس بر روی قاب کاغذی تثبیت شده و در شرایط ذکر شده تحت نیروی کشش قرار گرفتند. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است (تعداد تکرار = ۵).

۷-۲- آنالیز آماری

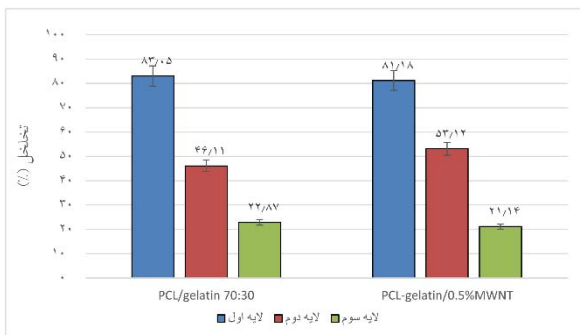
تمامی آزمون ها با کمک نرم افزار آماری SPSS (Statistical package for social science)، به منظور بررسی اختلافات آماری بین گروه های مختلف داربست، مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیز واریانس یک طرفه به همین منظور انتخاب شد. داده های حاصل از آنالیزها به صورت (انحراف معیار \pm میانگین) و معنادار بودن داده ها به صورت ($p < 0.05$) گزارش شده است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مورفولوژی داربست ها

شکل (۱) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از داربست های نانوفیبری الکتروریسی شده PCL-gelatin و PCL-gelatin/0.5%wt.MWCNT را نشان می دهد. میانگین قطر الیاف

آزمایش‌های کشت سلولی دارد [۱۰]. بر اساس مطالعات انجام گرفته، داربست‌های تهیه شده با تخلخل سطحی بیش از ۸۰٪ در لایه اول، به منظور کاربرد در مهندسی بافت مناسب هستند؛ لازم به ذکر است درصد تخلخل سطحی در لایه‌های دوم و سوم به منظور راه‌درهم بودن حفره‌ها به منظور لانه‌گزینی سلولی، حائز اهمیت است [۲۹، ۳۲ و ۳۳]. شکل (۲) نمودار درصد تخلخل سطحی دو داربست را در سه لایه نشان می‌دهد. داربست PCL/gelatin دارای درصد تخلخل سطحی ۸۳/۰۵ و داربست نانوکامپوزیتی PCL-gelatin/0.5%wt.MWCNT دارای درصد تخلخل سطحی ۸۱/۱۸ است. تفاوت قابل توجهی میان میانگین درصد تخلخل در لایه‌های اول در دو داربست وجود ندارد؛ هم‌چنین درصد تخلخل در لایه‌های دوم و سوم قابل توجه نیست ($p > 0.05$). وجود نانوذرات در داربست‌های پلیمری اغلب موجب کاهش درصد تخلخل سطحی خواهد شد [۳۴ و ۳۵]؛ در حالی که در این مطالعه وجود نانولوله کربنی اثر نامطلوبی بر روی درصد تخلخل سطحی ندارد و این موضوع به نفوذ سلولی بیشتر کمک می‌کند.



شکل ۲. نمودار درصد تخلخل داربست‌ها در سه لایه.

۳-۳- طیف‌سنجی مادون قرمز

شکل (۳) طیف مادون قرمز را نشان می‌دهد. طیف مادون قرمز حالت کششی PCL در داربست‌های حاوی پلی‌کاپرولاکتون در محدوده 2941 cm^{-1} (غیرمقارن کششی CH_2)، 2864 cm^{-1} (کششی مقارن CH_2)، 1294 cm^{-1} (کششی C-C, C-O) مربوط به فاز بلوری، 1240 cm^{-1} (کششی غیرمقارن C-O-C) و 1159 cm^{-1} (کششی مقارن C-O-C) مربوط به فاز آمورف، است. پیوندهای متداول پروتئینی حدود اعداد موج 1646 cm^{-1} امید I و در عدد موج 1536 cm^{-1} امید II در دو داربست مشاهده

کاهش قطر الیاف را به دنبال دارد [۱۹ و ۲۶-۲۸]. رسانایی الکتریکی MWCNTs و نحوه قرار گرفتن آن‌ها در راستای طول زنجیره‌های پلیمری است و این موضوع می‌تواند موجب کشیدگی بیشتر محلول در میدان الکتریکی شود و در نهایت قطر الیاف کاهش یابد [۱۹ و ۲۹]. در این مطالعه کاهش و توزیع متناسب قطر الیاف در داربست حاوی ۰/۵ درصد وزنی MWCNTs را می‌توان به نحوه پراکندگی و جهت‌مندی آن‌ها در راستای نانوالیاف نسبت داد که موجب کشیدگی بیشتر محلول پلیمری در میدان الکتریکی می‌شود.

سونیکیت کردن نانولوله کربنی پیش از ورود به محلول پلیمری موجب پراکندگی خوب آن‌ها در میان زنجیره‌های پلیمری و عدم تجمع آن‌ها خواهد شد و فرآیند الکترورسی راحت‌تر انجام می‌گیرد [۳۰-۳۲]. در این مطالعه نیز سونیکیت کردن MWCNTs و سپس ورود آن به محلول پلیمری PCL/gelatin، موجب پراکندگی خوب آن‌ها در میان زنجیره‌های پلیمری و عدم تجمع آن‌ها در زمینه پلیمری شده است. با افزودن ۰/۵ درصد وزنی نانولوله کربنی به محلول پلیمری PCL/gelatin، اندازه قطر الیاف کاهش می‌یابد؛ این موضوع نشان‌دهنده افزایش رسانایی محلول پلیمری است. کمتر بودن رسانایی موجب کشیدگی کمتر آن‌ها در میدان الکتریکی می‌شود و در نهایت موجب افزایش قطر الیاف خواهد شد.

انتخاب حلال مناسب به منظور کاهش کشش سطحی محلول پلیمری، نقش بسیار مهمی را بر روی شکل‌شناسی الیاف ایفا می‌کند؛ چرا که خواص محلول پلیمری تاثیر زیادی بر روی مورفولوژی و اندازه قطر نانوالیاف دارد. با کاهش نیروی کشش سطحی محلول پلیمری، می‌توان به داربست‌هایی با نانوالیاف یکنواخت دست یافت. استفاده از ترکیب حلال‌های استیک اسید، اتیل استات و آب مقطر، در ایجاد مورفولوژی و کاهش قطر الیاف، موثر است؛ هم‌چنین گروه‌های استر موجود در اتیل استات و حضور استیک اسید، موجب کاهش کشش سطحی محلول پلیمری و ایجاد الیافی با قطر کم و بدون بید (bead) خواهد شد [۲۴].

۳-۲- تخلخل

تخلخل از جمله پارامترهای بسیار مهم در انتخاب یک داربست است چرا که این پارامتر تاثیر زیادی بر روی رفتار سلول در

جدول ۱. میانگین زاویه تماس آب بر روی سطح داربست‌ها.

میانگین زاویه تماس آب (°)	داربست
۷۴٫۵۹ ± ۱۰٫۰۸	PCL/gelatin
۲۹٫۳۲ ± ۲٫۶۳	PCL-gelatin/0.5%wt.MWCNT

حضور ژلاتین در کنار پلی‌کاپرولاکتون به علت دارا بودن گروه‌های عاملی آمین (NH_2) و کربوکسیل (COOH)، موجب کاهش زاویه تماس در داربست PCL/gelatin خواهد شد. نتایج به‌دست آمده از زاویه تماس آب نشان می‌دهد که با حضور ۰/۵ درصد وزنی نانولوله کربنی، میزان آب‌دوستی داربست افزایش یافته است. حضور گروه کربوکسیل (COOH) در داربست‌های حاوی MWCNTs و هم‌چنین حضور گروه آمین و کربوکسیل در بیوپلیمر آب‌دوست ژلاتین، موجب کاهش زاویه تماس آب در این داربست شده است.

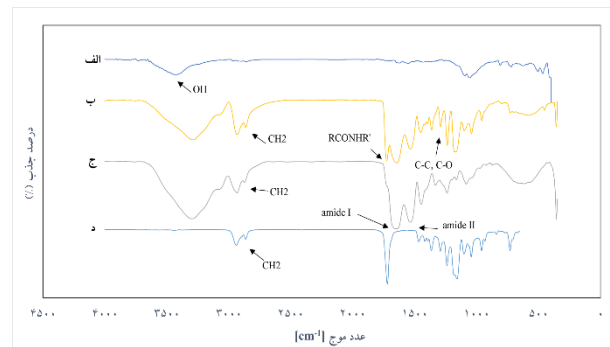
۳-۴- استحکام کششی

جدول (۲) نتایج به‌دست آمده از آزمون استحکام کششی بر روی داربست‌های الکترورسی شده را نشان می‌دهد. داربست PCL/gelatin بدون MWCNTs، دارای میانگین استحکام کششی ۰/۳۰ مگاپاسکال (MPa) است که نسبت به داربست‌های حاوی MWCNTs از استحکام مکانیکی کمتری برخوردار است. با افزودن ۰/۵ درصد وزنی نانولوله کربنی، میانگین استحکام کششی به ۲/۳۲ MPa رسیده و نسبت به نمونه فاقد نانولوله کربنی حدود ۷/۷۳ برابر شده است. متوسط استحکام کششی در داربست حاوی نانولوله کربنی تفاوت قابل توجهی با داربست فاقد نانولوله کربنی دارد ($p \leq 0.05$).

جدول ۲. میانگین استحکام کششی داربست‌ها.

میانگین استحکام کششی (MPa)	داربست
۰٫۳ ± ۰٫۰۶	PCL/gelatin
۲٫۳۲ ± ۰٫۴۳	PCL-gelatin/0.5%wt.MWCNT

می‌شود که به ترتیب متناظر با حالت کششی ارتعاشی پیوند $\text{C}=\text{O}$ ، کوپل شدن خمشی پیوند NH و کششی پیوند $\text{C}-\text{N}$ است. مشخصه حالت ارتعاشی کششی نانولوله‌های کربنی چنددیواره عامل دار شده با COOH در اعداد موج 3437 cm^{-1} ($\text{O}-\text{H}$)، 1716 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$) و 1151 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}$) مربوط به گروه‌های کربوکسیل دیده می‌شود؛ در سایر مطالعات نیز این پیک‌ها مشاهده شده‌اند [۲۹]؛ حضور پیک در 801 cm^{-1} می‌تواند مربوط به تغییر شکل خمشی $\text{O}-\text{H}$ در گروه کربوکسیل باشد [و ۳۶]. وجود پیک در طول موج 1180 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}$) در داربست حاوی MWCNTs، می‌تواند نشان‌دهنده حضور MWCNTs در داربست PCL-gelatin/0.5%wt.MWCNT باشد. وجود پیک در طول موج 1726 cm^{-1} در داربست حاوی MWCNT، نشان دهنده گروه کربوکسیل آزاد در حضور MWCNT است که می‌تواند بیانگر ایجاد اتصال میان فاز تقویت‌کننده و زمینه پلیمری باشد.



شکل ۳. طیف‌سنجی مادون قرمز (الف) pure MWCNTs، (ب) PCL-gelatin، (ج) PCL-gelatin/0.5%wt.MWCNT، (د) pure PCL

۳-۴- آزمون زاویه تماس آب

جدول (۱) زاویه تماس آب را بر روی دو داربست نشان می‌دهد. تفاوت قابل توجهی میان متوسط اندازه زاویه تماس در داربست حاوی نانولوله کربنی و داربست فاقد MWNTs وجود دارد ($p < 0.05$). زاویه تماس آب بر روی داربست تهیه شده از PCL در حدود 118° گزارش شده که نشان‌دهنده آب‌گریز بودن این پلیمر است [۱۰].

نانوالیاف در فرآیند الکتروریسی، موجب افزایش استحکام کششی داربست حاوی ۰/۵ درصد وزنی MWCNTs شده است.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله تشکر و قدردانی خود را بابت حمایت‌های بنیاد ملی نخبگان، دانشگاه تهران، آزمایشگاه بیومواد دانشکده علوم و فناوری‌های نوین علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، آزمایشگاه فیزیک الیاف دانشکده نساجی دانشگاه صنعتی اصفهان و شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، اعلام می‌دارند.

مراجع

1. Lavik, E. and Langer, R., "Tissue engineering: current state and perspectives." *Applied microbiology and biotechnology*, 2004. 65(1): 1-8.
2. Kasoju, N., Bhone, R.R., and Bora, U., "Fabrication of a novel micro-nano fibrous nonwoven scaffold with *Antheraea assama* silk fibroin for use in tissue engineering." *Materials letters*, 2009. 63(28): 2466-2469.
3. Suh, J.-K.F. and Matthew, H.W., "Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review." *Biomaterials*, 2000. 21(24): 2589-2598.
4. Jiankang, H., et al., "Preparation of chitosan-gelatin hybrid scaffolds with well-organized microstructures for hepatic tissue engineering." *Acta Biomaterialia*, 2009. 5(1): 453-461.
5. Kuo, C.-Y., et al., "Incorporation of chitosan in biomimetic gelatin/chondroitin-6-sulfate/hyaluronan cryogel for cartilage tissue engineering." *Carbohydrate polymers*, 2015. 117: 722-730.
6. Wise, D.L., "Biomaterials and bioengineering handbook. 2000: Marcel Dekker.
7. Athanasiou, K.A., et al., "Basic science of articular cartilage repair." *Clinics in sports medicine*, 2001. 20(2): 223-247.
8. Liu, X. and Ma, P.X., "Phase separation, pore structure, and properties of nanofibrous gelatin scaffolds." *Biomaterials*, 2009. 30(25): 4094-4103.
9. Li, W.J. and Tuan, R.S., "Fabrication and application of nanofibrous scaffolds in tissue engineering." *Current protocols in cell biology*, 2009: 25.2. 1-25.2. 12.
10. Ghasemi-Mobarakeh, L., et al., "Electrospun poly (ϵ -caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering." *Biomaterials*, 2008. 29(34): 4532-4539.
11. Baker, S.R., et al., "Determining the mechanical properties of electrospun poly- ϵ -caprolactone (PCL) nanofibers using AFM and a novel fiber anchoring technique." *Materials Science and Engineering: C*, 2016. 59: 203-212.

افزایش استحکام نانوکامپوزیت‌ها در اثر وجود MWCNTs به علت استحکام کششی بالای نانولوله کربنی و هم‌چنین قرارگیری آن‌ها در راستای نانوالیاف است که در نانوکامپوزیت القا شده است [۳۱، ۳۷]. وجود برهم‌کنش‌های قوی و محکم میان گروه COO- ناشی از کربوکسیل موجود در نانولوله کربنی و گروه NH_3^+ ناشی از گروه آمین در ژلاتین، می‌تواند موجب انتقال بار و تنش مکانیکی از زمینه پلیمری به CNT شود و در نهایت استحکام کششی نانوکامپوزیت را به‌طور قابل توجهی افزایش دهد. پراکندگی مطلوب MWCNTs در اثر فرآیند سونیکاسیون و به دنبال آن عدم آگلومره (Agglomerate) شدن این ماده در زمینه پلیمری، منجر به افزایش استحکام داربست نانوکامپوزیتی می‌شود [۳۱، ۳۲، ۳۷]؛ در مطالعات دیگر نیز رابطه‌ای معکوس میان آگلومره شدن MWCNTs و افزایش استحکام مکانیکی داربست وجود دارد [۲۱، ۳۲، ۳۸]. این نتایج نشان می‌دهند که با افزودن مقادیر اندک MWCNT به داربست نانوالیاف ۳۰:۷۰ PCL/gelatin به‌طور قابل ملاحظه‌ای استحکام کششی افزایش می‌یابد.

۴- نتیجه‌گیری

بررسی‌های مورفولوژی سطح داربست‌ها نشان دادند که در حضور MWCNTs، به دلیل ایجاد رسانایی الکتریکی بیشتر در محلول پلیمری و هم‌چنین قرارگیری آن در راستای نانوالیاف، قطر الیاف به‌طور مطلوب کاهش می‌یابد و توزیع قطر الیاف متناسب‌تر می‌شوند؛ بنابراین داربست حاوی ۰/۵ درصد وزنی MWCNTs با متوسط قطر 381.509 ± 87.470 نانومتر، مطلوب‌تر است. میزان تخلخل‌های سطحی در حضور ۰/۵ درصد وزنی MWCNTs کاهش نیافته و به عبارت دیگر حضور این ماده موجب پرشدن تخلخل‌های سطحی داربست نشده است؛ داربست‌ها تخلخل سطحی بیش از ۸۰٪ دارند که به منظور کاربرد در مهندسی بافت مناسب هستند. رابطه‌ای مستقیم میان میزان آب‌دوستی داربست‌ها و مقدار MWCNTs وجود دارد؛ به دلیل حضور بیشتر گروه‌های COOH ناشی از افزایش مقدار MWCNTs، آب‌دوستی این داربست بیشتر از سایر داربست‌ها است. استحکام بالای MWCNTs و قرارگیری آن‌ها در راستای

28. Wang, Y., et al., "Cartilage tissue engineering with silk scaffolds and human articular chondrocytes." *Biomaterials*, 2006. 27(25): 4434-4442.
29. Zarei, M. and Karbasi, S., "Evaluation of the effects of multiwalled carbon nanotubes on electrospun poly (3-hydroxybutyrate) scaffold for tissue engineering applications." *Journal of Porous Materials*, 2017: 1-14.
30. Biercuk, M., et al., "Carbon nanotube composites for thermal management." *Applied physics letters*, 2002. 80(15): 2767-2769.
31. Karbasi, S. and Alizadeh, Z.M., "Effects of multi-wall carbon nanotubes on structural and mechanical properties of poly (3-hydroxybutyrate)/chitosan electrospun scaffolds for cartilage tissue engineering." *Bulletin of Materials Science*, 2017. 40(6): 1247-1253.
32. Mirmusavi, M.H., et al., "Assessing the physical and mechanical properties of poly 3-hydroxybutyrate-chitosan-multi-walled carbon nanotube/silk nano-micro composite scaffold for long-term healing tissue engineering applications." *Micro & Nano Letters*, 2018. 13(6): 829-834.
33. Ghasemi Mobarakeh, L., Semnani, D., and Morshed, M., "A novel method for porosity measurement of various surface layers of nanofibers mat using image analysis for tissue engineering applications." *Journal of applied polymer science*, 2007. 106(4): 2536-2542.
34. Jalal, M., et al., "Mechanical, rheological, durability and microstructural properties of high performance self-compacting concrete containing SiO₂ micro and nanoparticles." *Materials & Design*, 2012. 34: 389-400.
35. Jalal, M., Fathi, M., and Farzad, M., "Effects of fly ash and TiO₂ nanoparticles on rheological, mechanical, microstructural and thermal properties of high strength self compacting concrete." *Mechanics of Materials*, 2013. 61: 11-27.
36. Yu, W., et al., "A novel electrospun nerve conduit enhanced by carbon nanotubes for peripheral nerve regeneration." *Nanotechnology*, 2014. 25(16): 165102.
37. Naebe, M., et al. *Conducting polymer and polymer/CNT composite nanofibers by electrospinning*. in *ACS Symposium Series*. 2009. American Chemical Society.
38. Lahiri, D., et al., "Carbon nanotube reinforced polylactide-caprolactone copolymer: mechanical strengthening and interaction with human osteoblasts in vitro." *ACS applied materials & interfaces*, 2009. 1(11): 2470-2476.
12. Mattioli-Belmonte, M., et al., "Tuning polycaprolactone-carbon nanotube composites for bone tissue engineering scaffolds." *Materials Science and Engineering: C*, 2012. 32(2): 152-159.
13. Kharaziha, M., et al., "Tough and flexible CNT-polymeric hybrid scaffolds for engineering cardiac constructs." *Biomaterials*, 2014. 35(26): 7346-7354.
14. Sahithi, K., et al., "Polymeric composites containing carbon nanotubes for bone tissue engineering." *International journal of biological macromolecules*, 2010. 46(3): 281-283.
15. Dai, H., "Carbon nanotubes: synthesis, integration, and properties." *Accounts of chemical research*, 2002. 35(12): 1035-1044.
16. Liu, Y.-L., Chen, W.-H., and Chang, Y.-H., "Preparation and properties of chitosan/carbon nanotube nanocomposites using poly (styrene sulfonic acid)-modified CNTs." *Carbohydrate Polymers*, 2009. 76(2): 232-238.
17. Laurencin, C.T. and Nair, L.S., "Nanotechnology and regenerative engineering: the scaffold. 2014: CRC Press.
18. Li, Q.-h., et al., "Enhanced thermal and electrical properties of poly (D, L-lactide)/multi-walled carbon nanotubes composites by in-situ polymerization." *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2013. 23(5): 1421-1427.
19. Abarategi, A., et al., "Multiwall carbon nanotube scaffolds for tissue engineering purposes." *Biomaterials*, 2008. 29(1): 94-102.
20. Ma, Y., et al., "Processing, structure, and properties of multiwalled carbon nanotube/poly (hydroxybutyrate-co-valerate) biopolymer nanocomposites." *Journal of Applied Polymer Science*, 2012. 125(S1): E620-E629.
21. Newman, P., et al., "Carbon nanotubes: their potential and pitfalls for bone tissue regeneration and engineering." *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2013. 9(8): 1139-1158.
22. O'connell, M.J., "Carbon nanotubes: properties and applications. 2006: CRC press.
23. Shi, X., et al., "Injectable nanocomposites of single-walled carbon nanotubes and biodegradable polymers for bone tissue engineering." *Biomacromolecules*, 2006. 7(7): 2237-2242.
24. Binulal, N., et al., "PCL-gelatin composite nanofibers electrospun using diluted acetic acid-ethyl acetate solvent system for stem cell-based bone tissue engineering." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2014. 25(4): 325-340.
25. ASTM International, W.C., PA, "Standard Practice for Surface Wettability of Coatings, Substrates and Pigments by Advancing Contact Angle Measurement. 2008.
26. Chen, G., Ushida, T., and Tateishi, T., "Scaffold design for tissue engineering." *Macromolecular Bioscience*, 2002. 2(2): 67-77.
27. Pan, L., et al., "Multiwall carbon nanotubes/polycaprolactone composites for bone tissue engineering application." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012. 93: 226-234.