

تهیه نانوالیاف کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون/پلی اتیلن گلیکول حاوی نانوذرات شیشه زیست فعال و ارزیابی خواص مکانیکی و زیست فعالی

منیره کوهی^۱، محمد مرشد^۲، ژاله ورشوساز^۳، محمد حسین فتحی^۱

چکیده:

در این تحقیق وب نانوالیاف کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون (PCL) پلی اتیلن گلیکول (PEG) حاوی نانوذرات شیشه زیست فعال (BG) تولید شد. نانوالیاف PEG/PCL بطور موفقیت آمیز به روش الکترورسی از مخلوط پلیمری حاوی مقادیر مختلف BG در مخلوط کلروفرم/ متانول تهیه شد. ارزیابی خواص مکانیکی نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات BG تا ۱۵٪ استحکام کششی افزایش یافته اما با افزایش بیشتر BG تا ۲۰٪ کاهش در استحکام کششی مشاهده می گردد که به دلیل آگلومره شدن نانوذرات در بستر نانوالیاف می باشد. تصاویر SEM و آنالیز XRD تشکیل لایه استخوان مانند هیدروکسی آپاتیت را بر روی سطح وب نانوالیاف بعد از غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن نشان دادند. مطالعات ما نشان داد که این نانوالیاف کامپوزیتی جدید توانایی تشکیل لایه آپاتیت در محیط‌های بیولوژیکی را دارا بوده و در نتیجه پتانسیل خوبی در کاربردهای بازسازی استخوان دارد.

مقدمه

امروزه کاربرد بیومواد در بازسازی استخوان افزایش پیدا کرده است. فلزات، سرامیک‌ها و کامپوزیت‌ها به شکل‌های مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرند. شیشه زیست فعال یکی از انواع بیوسرامیک‌ها می‌باشد که قادر به اتصال با بافت زنده است و زمانیکه در تماس با مایع بیولوژیکی قرار می‌گیرد ساختار آپاتیت در سطح خود تشکیل می‌دهد. گزارش‌های زیادی در رابطه با قابلیت مخلوط کردن مواد زیست فعال با پلیمرها به منظور تشکیل بیومواد کامپوزیتی جهت بازسازی بافت استخوان در دست می‌باشد. مخلوط کردن پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر و شیشه‌های زیست فعال، مواد کامپوزیتی جدیدی را برای کاشتنی‌های موقت استخوانی، مواد پرکننده دندان یا داربست‌های زیست سازگار سه‌بعدی در زمینه مهندسی بافت بوجود می‌آورد. هدف این مواد کامپوزیتی، افزایش استحکام و زیست فعالی با استفاده از پرکننده‌های زیست فعال غیرآلی و در عین حال حفظ خواص مفید پلیمرها مانند انعطاف‌پذیری و قابلیت تغییر شکل تحت بار می‌باشد [۱ و ۲]. روش‌های بسیاری برای تولید داربست‌های کامپوزیتی جهت مهندسی بافت استخوان وجود دارد که اخیراً از میان همه، الکترورسی بدلیل آسانی روش، تولید لیاف پلیمری بسیار باریک، مساحت سطحی مخصوص بالا و امکان اصلاح زیاد، به مقدار زیادی مورد توجه قرار گرفته است. پلیمرهای مصنوعی زیست تخریب‌پذیر مانند پلی گلایکولیک اسید، پلی لاکتیک اسید، پلی کاپرولاکتون و کوپلیمرهای آنها به عنوان ماتریس در این کامپوزیت‌ها به طور وسیع مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. زیرا این پلیمرها زیست سازگاری و زیست تخریب‌پذیری مورد انتظار را دارند. اما بیشتر پلیمرهای حاوی پلی کاپرولاکتون (PCL) در کاربردهای بازسازی استخوان، بدلیل سختی کم، طبیعت

آبگریز و نداشتن خاصیت زیست فعالی محدودیت‌هایی دارند [۲]. برای فایق آمدن بر این عیوب، در این تحقیق پلی کاپرولاکتون (PCL) به صورت مخلوط با پلی اتیلن گلیکول (PEG) و همچنین شیشه زیست فعال (BG) الکترورسی شد و خواص آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش تحقیق

مواد مصرفی در این تحقیق عبارتند از: پلی کاپرولاکتون با وزن مولکولی ۸۰۰۰۰ g/mol، پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۴۰۰۰۰ g/mol از شرکت آلدریج، نانوذرات شیشه زیست فعال با اندازه‌های در محدوده‌ی ۲۰ تا ۶۰ نانومتر از گروه بیومواد دانشکده مهندسی مواد دانشگاه صنعتی اصفهان و کلروفرم و متانول از شرکت مرک آلمان. برای تهیه محلول‌های الکترورسی، پلیمر PCL و PEG با نسبت ۸۰ به ۲۰ در مخلوط کلروفرم/متانول (۱/۳) (۸/۵) وزنی پلیمر) حاوی ۰ تا ۲۰٪ وزنی نانوذرات شیشه زیست فعال حل شد و به مدت ۱۸ ساعت توسط همزن مغناطیسی هم‌زده شد. محلول پلیمری تهیه شده، با نرخ جریان ۰/۰۲۲ ml/min، ولتاژ ۱۵ kv و فاصله ریستندگی ۲۲ cm الکترورسی شد. استحکام کششی وب نانوالیاف حاوی درصدهای مختلف نانوذره، توسط دستگاه زوییک با سرعت ۱۰ mm/min اندازه‌گیری شد. خواص زیست فعالی وب نانوالیاف در محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) مورد ارزیابی قرار گرفت. محلول SBF براساس روشی که کوکوبو در سال ۲۰۰۶ میلادی ارائه کرد، آماده شد [۳]. در این روش غلظت هر یک از یونهای موجود در محلول شبیه‌سازی شده بدن با یون‌های موجود در محلول پلاسما خون انسان منطبق است. جدول ۱ نوع و میزان ۸ نمک موجود در محلول شبیه‌سازی بدن به ازای هر لیتر آب مقطر را نشان می‌دهد. به منظور بررسی تغییرات سطح نانوالیاف قبل و بعد از غوطه‌وری در محلول SBF از

تصاویر SEM و آنالیز EDS استفاده شد. آنالیز پراش پرتو ایکس به منظور تأیید تشکیل لایه آپاتیت بر روی نانوالیاف صورت گرفت.

نتایج و بحث

در این تحقیق نانوالیاف PEG/PCL (۸/۵) وزنی) حاوی مقادیر مختلف BG به طور موفقیت آمیز به روش الکترورسی تهیه شد. میانگین قطری نانوالیاف حاصله با ۱۵٪ BG حدود ۴۰۰ نانومتر به دست آمد. شکل ۱ تصویر SEM نانوالیاف مذکور را با بزرگنمایی ۸۰۰۰ نشان می‌دهد.

بررسی تأثیر درصد نانوذره بر استحکام کششی نانوالیاف

نتایج مربوط به اندازه‌گیری استحکام مکانیکی وب نانوالیاف حاوی درصدهای مختلف نانوذرات شیشه زیست فعال در شکل ۲ آورده شده است. استحکام وب نانوالیاف PCL بدون نانوذرات شیشه زیست فعال ۲/۳ مگاپاسکال می‌باشد که با افزودن ۵٪ نانوذره به ۲/۹۷ مگاپاسکال افزایش می‌یابد. با افزایش مقدار نانوذره تا ۱۵ درصد، استحکام مکانیکی وب نانوالیاف به مقدار ۵۰٪ درصد افزایش می‌یابد. چنانچه از نتایج مشخص است با افزایش درصد نانوذره از ۱۵ تا ۲۰ درصد، استحکام وب نانوالیاف به ۲/۶۶ مگاپاسکال کاهش می‌یابد اما این میزان باز هم از استحکام وب بدون نانوذره بیشتر می‌باشد. همانطور که قبلاً گفته شد ذرات شیشه زیست فعال دارای استحکام و سختی بالاتری نسبت به پلیمرها می‌باشند در نتیجه حضور این ذرات در بستر پلیمری باعث تقویت کامپوزیت حاصله شده و خواص مکانیکی آن را بهبود می‌بخشد. کاهش استحکام پلیمر با افزایش درصد نانوذره از ۱۵ تا ۲۰٪



مقدار مورد نیاز	نوع	تراکم
۰.۳۵ g	NaCl	۱
۰.۳۵ g	NaHCO ₃	۲
۰.۳۵ g	KCl	۳
۰.۳۳ g	K ₂ HPO ₄ · ۳H ₂ O	۴
۰.۳۱ g	MgCl ₂ · ۶H ₂ O	۵
۲۸ ml	۱۰٪ HCL (محلول)	۶
۰.۳۱ g	CaCl ₂	۷
۰.۳۲ g	Na ₂ SO ₄	۸

جدول ۱. نوع و مقدار نمک‌های موجود مورد نیاز برای تهیه یک لیتر محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن [۳].

محلول، فاکتورهای اساسی در برقراری پیوند بین شیشه و بافت می‌باشد. پروسه پیوند کامل شیشه زیست فعال با استخوان دارای ۱۱ مرحله می‌باشد که ۵ مرحله‌ی آن شیمیایی و ۶ مرحله پاسخ زیستی می‌باشد. چنانچه از شکل ۳ مشخص است این ساختار بر روی نانوالیاف شکل گرفته است، اما طبق نظر کوکوبو [۳] به منظور تأیید تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت باید آنالیز پراش پرتو ایکس نیز صورت بگیرد.

مطالعه‌ی ساختار سطح نانوالیاف توسط XRD

تصاویر SEM، تنها مواد تشکیل شده بر روی وب نانوالیاف را نشان می‌دهد و باید برای تأیید تشکیل کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت از آنالیز پراش پرتو ایکس استفاده کرد [۳]. لایه‌ی هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده بر روی وب نانوالیاف برخلاف نانوذرات شیشه زیست فعال دارای ساختار کریستالی می‌باشند و تشکیل آنها منجر به ایجاد پیک‌هایی در الگوی پراش پرتو ایکس می‌گردد.

پیک‌های مشخصه هیدروکسی آپاتیت در $2\theta = 33^\circ$ و $2\theta = 26^\circ$ قرار می‌گیرد [۸]. شکل ۴ الگوی XRD وب نانوالیاف PEG/PCL (۲۰:۸۰) حاوی ۱۵٪ نانوذرات شیشه زیست فعال را قبل و بعد از غوطه‌وری در محلول

همانگونه که مشخص است با غوطه‌وری وب نانوالیاف حاوی نانوذره در محلول شبیه‌سازی شده بدن بعد از ۲۸ روز سطح نانوالیاف بطور کامل تغییر کرده و با کریستال‌ها پوشیده شده است. نتایج مشابهی توسط محققان بسیاری از جمله تانو و همکارانش در سال ۲۰۱۰ بدست آمد، آنها نانوالیاف پلی لاکتیک اسید حاوی شیشه زیست فعال تولید کردند و بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت را بر روی سطح آن مشاهده نمودند [۶].

در تحقیق حاضر نانوذرات شیشه زیست فعال به عنوان مواد غیرآلی زیست فعال و زیست تخریب‌پذیر در بستر نانوالیاف به کار برده شده است. این نانوذرات متعلق به سیستم $P_2O_5-C_6O-S_2O_3$ بوده و درصدهای مولی ترکیب آن بصورت زیر می‌باشد:

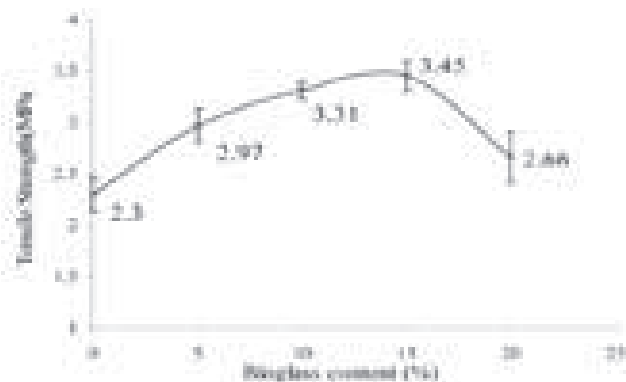
SiO_2 ۳۵/۴۲٪، C_6O ۵۷/۴۴٪ و P_2O_5 ۱/۱۵٪

[۷]. زمانی که شیشه زیست فعال در تماس با مایع شبیه‌سازی شده بدن قرار می‌گیرد هم تغییرات شیمیایی و هم تغییرات ساختاری با گذشت زمان در سطح آن اتفاق می‌افتد. تجمع مواد حاصل از حلالیت سطح مواد زیست فعال، باعث تغییر ترکیب شیمیایی و pH محلول می‌گردد. تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح شیشه و رهایش یون‌های سیلیکا و کلسیم

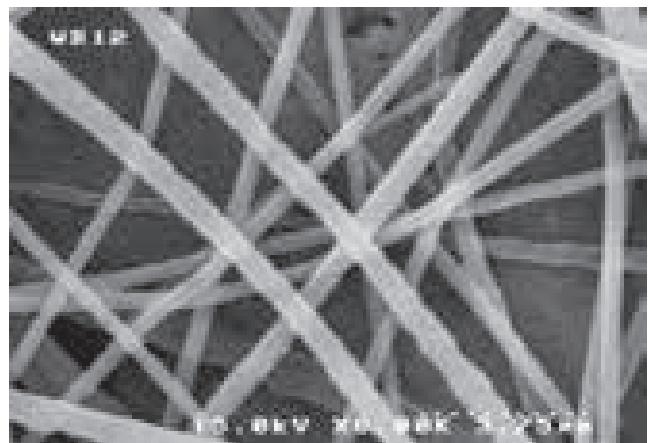
می‌تواند به دلایل زیر باشد: با افزایش درصد نانوذرات نیروهای جاذبه بین مولکولی بین ذرات نانو افزایش یافته و ذرات تمایل به آگلومره شدن دارند که تجمع نانوذرات نیز باعث کاهش استحکام نانوالیاف می‌گردد. همچنین شیشه‌های زیست فعال دارای خاصیت شکنندگی می‌باشند و در صورت افزایش درصد آنها به بیش از مقدار بحرانی، باعث کاهش استحکام مکانیکی الیاف می‌گردند. کاسا و همکارانش نتایج مشابهی بدست آوردند، آنها مشاهده کردند که با افزودن نانوذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) به ماتریس پلیمری PCL، استحکام مکانیکی داربست به میزان قابل توجهی (تا سه برابر) افزایش می‌یابد. از دید ساختاری مکانیسم استحکام‌دهی HA در نمونه‌های PCL به دلیل خاصیت مکانیکی نسبتاً سخت HA می‌باشد (زیرا HA مدول الاستیک و تنش نهایی بالایی دارد) و این افزایش استحکام تا افزایش ۲۰٪ حجمی HA ادامه داشت و بعد از آن خواص مکانیکی کامپوزیت به دلیل دیسپرسیون ناهمگن نانوذرات HA کاهش یافت [۴]. آنها نتیجه گرفتند که یک حد آستانه‌ای برای درصد نانوذره در پلیمر وجود دارد تا خواص مکانیکی آن بهینه گردد و مقدار بیشتر از حد آستانه نه تنها پلیمر را تقویت نمی‌کند بلکه به عنوان عیب عمل کرده است و خواص مکانیکی را کاهش می‌دهد. آنها دلیل آن را آگلومره شدن ذرات نانو در درصدهای بالا دانستند که مانع از برهمکنش مناسب پلیمر ذره می‌شود و در نتیجه انتقال نیرو در نانوالیاف به خوبی صورت نمی‌گیرد [۵].

ارزیابی خواص زیست فعالی و مطالعه‌ی سطح نانوالیاف توسط SEM

تصاویر SEM نانوالیاف کامپوزیتی PEG/PCL (۲۰:۸۰) با ۱۵٪ نانوذرات شیشه زیست فعال، قبل و بعد از غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در شکل ۳ آورده شده است.



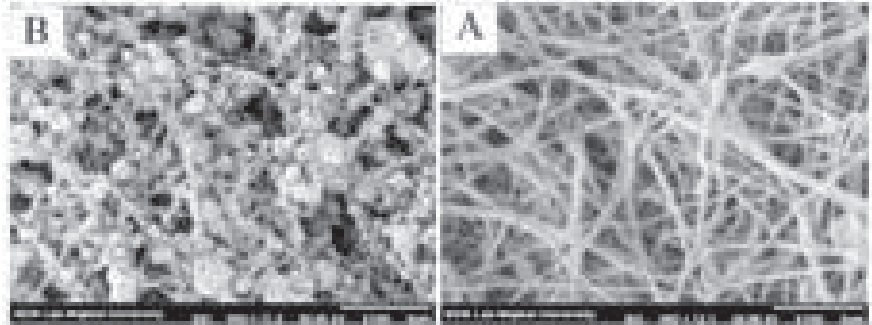
شکل ۲. روند تغییرات استحکام وب نانوالیاف با افزودن نانوذرات BG



شکل ۱. تصویر SEM نانوالیاف PCL/PEG حاوی ۱۵٪ BG



بر تشکیل رسوب $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ بر روی سطح وب نانوالیاف می‌باشد. از طرفی با هیدرولیز پیوند Si-O-Si شیشه زیست فعال و تشکیل سیلیکای محلول (SiOH_4) با گذشت زمان غوطه‌وری در محیط شبیه‌سازی شده‌ی بدن و رهائش سیلیکای محلول در محیط، غلظت Si بر روی نمونه کاهش می‌یابد. شکل ۵. روند تغییرات غلظت عناصر سطح وب نانوالیاف حاوی ۱۵٪ نانوذرات BG با گذشت زمان غوطه‌وری در محلول SBF.



شکل ۳. تصویر SEM نانوالیاف حاوی BG قبل از (A) و بعد از ۲۸ روز (B) غوطه‌وری در SBF

۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق نانوالیاف کامپوزیتی PCL/PEG حاوی درصد‌های مختلف نانوذرات شیشه زیست فعال تولید شد. نتایج اندازه‌گیری استحکام کششی نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات تا ۱۵ درصد استحکام مکانیکی افزایش می‌یابد و مقدار بهینه‌ی نانوذرات برای بهبود خواص مکانیکی ۱۵ درصد می‌باشد. نتایج حاصل از تصاویر SEM، آنالیز XRD و تجزیه عنصری EDS نشان داد که وب نانوالیاف PEG/PCL حاوی نانوذرات BG، بعد از قرارگیری در مجاورت محیط‌های فیزیولوژی تشکیل لایه استخوان مانند هیدروکسی آپاتیت را می‌دهد که نشان از زیست فعالی بالای این نانوالیاف کامپوزیتی دارد. به علاوه خواص مکانیکی بهبود یافته این نانوالیاف، این مواد کامپوزیتی را مناسب برای کاربردهای بازسازی استخوان ساخته است.

پی‌نوشت:

- ۱ دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
 - ۲ دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
 - ۳ دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان
- * ارائه شده در هشتمین کنفرانس ملی مهندسی نساجی دانشگاه یزد

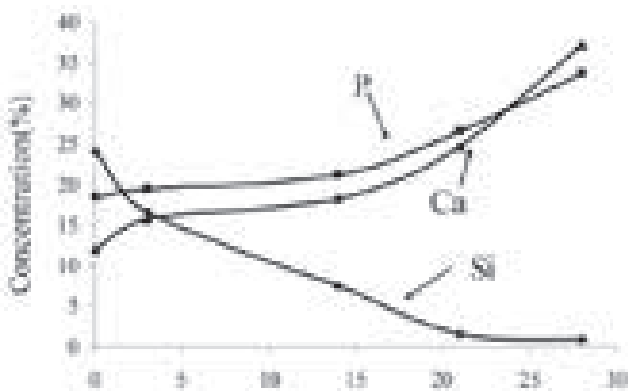
منابع در دفتر مجله موجود است.

و در دسترس قرار گرفتن نانوذرات شیشه زیست فعال با گذشت زمان، کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت بر روی الیاف شکل می‌گیرد، تصاویر SEM تشکیل موادی را بر روی نانوالیاف نشان می‌دهند و نتایج به دست آمده در این بخش نیز تأیید می‌کند که این مواد شکل گرفته کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت می‌باشد.

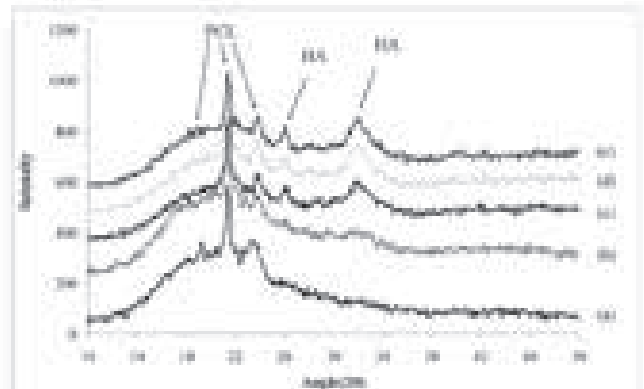
نتایج آنالیز عنصری وب نانوالیاف

یکی دیگر از روش‌های تأیید تشکیل لایه‌ی هیدروکسی آپاتیت بر روی وب نانوالیاف حاوی نانوذرات شیشه زیست فعال بعد از غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی بدن، آنالیز EDS نانوالیاف می‌باشد. روند تغییرات غلظت عناصر موجود برحسب درصد در شکل ۵ آورده شده است. همانطور که از نتایج مشخص است با افزایش زمان غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن شدت پیک‌های P و Ca افزایش و شدت پیک Si کاهش یافته است. وب نانوالیاف قرار گرفته در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن حاوی نانوذرات شیشه زیست فعال می‌باشد. زمانیکه ذرات زیست فعال در مجاورت محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن قرار گیرد، تشکیل رسوب $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ داده و با گذشت زمان قرارگیری در محلول شبیه‌سازی شده بر مقدار این رسوب افزوده می‌گردد [۱]. در نتیجه، افزایش عناصر Ca و P دلیلی

شبیه‌سازی شده‌ی بدن برای مدت زمان‌های ۳، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز نشان می‌دهد. چنانچه از شکل ۴ مشخص است، نمودار مربوط به وب نانوالیاف قبل از غوطه‌وری در شبیه‌سازی شده‌ی بدن (a)، در زوایای ۱۹، ۲۱ و ۲۳ درجه دارای پیک‌هایی می‌باشد و در زوایای ۲۶ و ۳۲ درجه دارای هیچگونه پیکی نمی‌باشد، اما با غوطه‌وری وب نانوالیاف در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن به مرور زمان پیک‌های قرار گرفته در زوایای ۲۶ و ۳۲ درجه که مربوط به کریستال‌های آپاتیت است، رشد کرده و شدت آن افزایش یافته است و از شدت پیک‌های قرار گرفته در زوایای ۱۹، ۲۱ و ۲۳ درجه که مربوط به کریستالینیتی پلی‌کاپرولاکتون است [۹] و ۱۰]، کاسته شده است (شکل ۴ (b,c,d,e)). این نتایج نشان می‌دهد که با گذشت زمان غوطه‌وری نمونه‌ها در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن شدت پیک‌های هیدروکسی آپاتیت افزایش داشته که نشان‌دهنده‌ی رشد این کریستال‌ها می‌باشد. از طرفی با افزایش زمان غوطه‌وری نانوالیاف در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن به دلیل تخریب پلی‌کاپرولاکتون و تخریب باندهای استر، کریستالینیتی پلیمر کاهش می‌یابد. در نتیجه از شدت پیک‌های مشخصه PCL با گذشت زمان کاسته می‌شود. با قرار گرفتن نانوالیاف حاوی نانوذره در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن و تخریب نانوالیاف در این محیط



شکل ۵. روند تغییرات غلظت عناصر سطح وب نانوالیاف PCL/PEG حاوی ۱۵٪ نانوذرات BG با گذشت زمان غوطه‌وری در محلول SBF.



شکل ۴. نمودار XRD وب نانوالیاف PCL/PEG حاوی ۱۵٪ نانوذرات BG، نمودار (a) وب نانوالیاف قبل از غوطه‌وری در محلول SBF، بعد از (b) روز ۳ (c) روز ۱۴ (d) روز ۲۱ (e) روز ۲۸ غوطه‌وری در محلول SBF