الیاف

بررسی و تولید فیلم حاصل از فیبروئین ابریشم

تهیه و تنظیم: لیلا حسنی[1] | محمد حقیقت کیش[2] | رضا محمدعلی مالک[2]

چکیده

فیلم‌های فیبروئین ابریشم برای کاربردهای زیست پزشکی پیشنهاد شده است. در پژوهش حاضر، به بررسی ساختار و خواص مکانیکی فیلم فیبروئین تولید شده از محلول آبی فیبروئین و به مقایسه با الیاف ابریشم پرداخت شده است. نتایج حاصل از طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)نشان داد که فیلم فیبروئین دارای ساختار زنجیره‌ای تصادفی، در حالیکه الیاف ابریشم دارای ساختار صفحات بتا است. نتایج خواص مکانیکی نشان داد که مقاومت کششی و ازدیاد طول الیاف ابریشم بسیار بیشتر از فیلم‌های فیبروئین است؛ بنابراین تفاوت خواص مکانیکی بین ابریشم طبیعی و فیلم فیبروئین احتمالا بیان کننده تفاوت‌های مورفولوژی و ساختار مولکولی است.

۱- مقدمه

فیبروئین ابریشم یک ماکرومولکول طبیعی است که توسط کرم ابریشم بامبیکس موری ریسیده می شود، از دیرباز به عنوان الیاف در صنعت نساجی و همچنین به عنوان نخ بخیه مورد استفاده قرار می‌گیرد. در سال‌های اخیر فیبروئین به دلیل داشتن خصوصیات مانند زیست تخریب‌پذیری و زیست سازگاری به عنوان ماده بیولوژیکی مورد توجه قرار گرفته است. به منظور استفاده پروتئین فیبروئین در کاربردهای مختلف، فیبروئین ابریشم باید به شکل‌های فیلم، پودر، اسفنج، غشا و ژل تهیه گردد. برای تولید فرم‌های مختلف فیبروئینی، باید فیبروئین را در نمک‌های طبیعی، مانند کلسیم کلرید یا لیتیم برمید حل کرد تا محلول آبی فیبروئین به دست آید.

فیبروئین خام یک پروتئین رشته‌ای و نا محلول در آب است که به طور متوسط ۷۸ درصد وزن پیله کرم ابریشم را به خود اختصاص داده است. در سال ۱۹۵۰ مقاله درباره ساختار فیبروئین در مجله نیچر چاپ شد. در این مقاله مطالبی که تا آن زمان درباره این پروتئین کشف شده بود، گردآوری شد. این تحقیقات در سال ۱۹۵۴ توسط گروه دیگری ادامه یافت. آنها با استفاده از پراش پرتو ایکس نشان دادند که فیبروئین شامل بخش‌های بلورین و غیر بلورین است. ساختمان اولیه فیبروئین همانند پروتئین‌های دیگر از کنارهم قرار گرفتن چندین نوع اسیدآمینه در زنجیر فیبروئین شکل گرفته است. تعداد اسیدآمینه در فیبروئین ابریشم حداقل ۱۶ نوع گزارش شده است، گروهای آمین و کربوکسیل موجود در اسیدآمینه‌ها با پیوند پپتیدی به هم متصل می‌شوند و زنجیر پلی پپتیدی را می‌سازند.

فیبروئین شامل یک زنجیر پلی‌پپتیدی سبک با وزن مولکولی ۲۵ کیلودالتون است که ۰/۴۵ نانومتر طول دارد و یک زنجیر پلی‌پپتیدی سنگین با وزن مولکولی تقریبا ۳۷۰ کیلودالتون که طول آن ۱۵۰ نانومتر است که این دو زنجیر از طریق پیوند دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. اجزای اصلی زنجیر سبک اسیدآمینه‌های قطبی می‌باشد که ویژگی آب‌دوستی و الاستیکی به زنجیر می‌دهد.

از لحاظ ساختاری زنجیره‌ای سنگین فیبروئین ابریشم پلیمرهای زیستی بسیار منظمی هستند که متشکل از ۱۲ حوزه آب‌گریز بوده و به واسطه ۱۱ قسمت آب‌دوست جدا شده است. در حوزه آبگریز اسیدآمینه‌ها با توالی تکراری قرار گرفته‌اند در حالی که در قسمت آب‌دوست اسیدآمینه‌ها به صورت غیرتکراری می‌باشند.

امروزه سه ساختار ثانویه برای فیبروئین مشخص شده است، ساختارهای مار پیچ آلفا و صفحات بتا که قسمت کریستالی ساختار و زنجیره‌ای تصادفی که بخش آمورف ابریشم را تشکیل می‌دهد. صفحات بتا از تکرار آمینواسیدهای گلایسین

و آلانین و برقراری پیوند هیدروژنی که بین گروه‌های کربونیل و آمین زنجیرها تشکیل می‌شود و نیروی واندروالس تعاملات بین صفحه‌ای را تثبیت می‌کند. میزان شکل‌گیری صفحات بتا و همچنین میزان جهت‌گیری و اندازه صفحات بتا به طور مستقیم بر ویژگی مکانیکی ابریشم تاثیر می‌گذارد.

در پژوهش حاضر فیلم فیبروئینی از ضایعات ابریشم تولید شده است، از آنجا که ساختار مولکولی فیلم تاثیر مستقیمی بر خواص فیزیکی و مکانیکی و حرارتی فیلم دارد، ساختار مولکولی فیلم فیبروئینی با طیف سنجی مادون قرمز اندازه‌گیری و نتایج آن با ابریشم صمغ‌گیری شده مقایسه گردید. به منظور بررسی ارتباط بین استحکام و ساختار مولکولی فیلم فیبروئینی،خواص مکانیکی فیلم فیبروئین تولید شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- تجربیات

۲-۱ تولید فیلم فیبروئین

به منظور صمغ‌گیری ابریشم، ابریشم در محلول ۰/۰۲ مولار سدیم کربنات در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت۳۰ دقیقه جوشانده شد. به نظر می‌رسد، با چندین بار آبکشی ابریشم توسط آب مقطر سریسین به اندازه کافی حذف شده است.

پس از پایان عملیات، ابریشم صمغ گیری شده به مدت یک شبانه روز در محیط قرار گرفت تا کاملا خشک گردد. برای استخراج پروتئین فیبروئین لازم است الیاف ابریشم در حلال معینی حل گردد. برای انحلال الیاف ابریشم از لیتیم مولار ۹/۰استفاده گردید . الیاف ابریشم آغشته به محلول لیتیم برمید در درون آون با دمای ۶۰ درجه‌سانتیگراد قرار گرفت. مدت زمان فرآیند انحلال ۴ ساعت به طول انجامید. پس از آن، محلول زرد رنگ حاصل می‌شود که علاوه بر فیبروئین حاوی آب و لیتیم‌برمید است. به منظور خالص‌سازی و دستیابی به محلول آبی فیبروئین، جداسازی لیتیم برمید با استفاده از تکنیک غشاهای سلولزی امکان پذیر شد.

برای این منظور مقداری از سیال زرد رنگ را درون غشاهای سلولزی موسوم به کیسه دیالیز ر یخته، دو سر کیسه را محکم مسدود کرده و برای مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت درون ظرف بزرگی از آب مقطر شناور می‌شود. پس از سپری شدن زمان لازم جهت خالص‌سازی، محتویات درون کیسه‌های دیالیز خارج شده و به منظور حذف ناخالصی به مدت ۱۵ دقیقه با دو بار تکرار، سانتریفوژ انجام شد. محلول آبی فیبروئینی به منظور تولید فیلم با حجم معینی درون ظرف پتری‌دیش ریخته، و در دمای محیط قرار گرفت که بعد از گذشت ۲۴ ساعت فیلم فیبروئینی، از محلول آبی فیبروئینی تشکیل گردید.

۲-۲ بررسی خواص مکانیکی فیلم فیبروئینی

برای تعیین استحکام کششی، درصد ازدیاد طول و مدول از دستگاه اندازه‌گیری استحکام کششی اینسترون مدل ۵۵۶۶ ساخت شرکت Instron انگلستان استفاده شده است. نمونه‌ها به صورت مستطیل و با ابعاد ۴۰× ۱۰آماده، قبل از اندازه‌گیری خواص مکانیکی ضخامت هر فیلم توسط دستگاه ضخامت سنج آنالوگ ساخت شرکت TAInstrument آمریکا اندازه‌گیری و هر نمونه با ضخامت مشخص آماده اندازه‌گیری شد. طول فک دستگاه اینسترون mm ۲۰ با سرعت حرکت فک mm/min۲ تنظیم شد. نمونه‌ها در شرایط محیطی با رطوبت درجه ۳۵ و دما ۲۵ درجه‌سانتیگراد اندازه‌گیری شد.

۳-بحث و نتایج

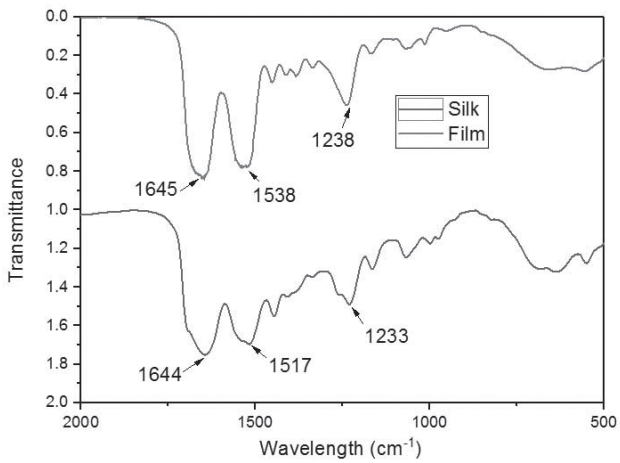
۳-۱طیف سنجی مادون قرمز

نمودار طیف سنجی مادون قرمز پروتئین‌ها، با توجه به موقعیت و شدت پیک‌ها ساختار ثانویه پروتئین را نشان می‌دهد. طیف مادون قرمز (FTIR) ابریشم و فیلم فیبروئین در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به اینکه فیبروئین از واحدهای سازنده آمینو اسیدها تشکیل شده است به تبع در ساختار فیبروئین پیک‌های آمیدی مختلف جزء پیک‌های شاخص طیف هستند. با توجه به محل قرارگیری پیک آمیدی در محدده طیفی مشخص می‌توان صورت‌بندی ساختار را تعیین کرد. محدوده طیفی cm- ۱ ۱۵۰۰–۱۶۰۰ مربوط به آمید نوع اول، نشان دهنده ارتعاش کششی پیوند C= O در گروه‌آمید است، فرکانس این ارتعاش بستگی به نیروی پیوند هیدروژنی بین گروه‌های N-Hو C=O دارد.

محدوده طیفی ۱۶۰۰–۱۷۰۰ cm–۱ مربوط به آمید نوع دوم است نشان‌دهنده ارتعاش کششی C-N و ارتعاش پیچشی

N-H موجود در زنجیر پپتدی است. محدوده طیفی آمید نوع سوم۱۲۰۰–۱۳۵۰ cm–۱ نشان دهنده ارتعاش کششی C-N و ارتعاش تغییر شکل N-Hاست.

پیک‌های ظاهر شده برای الیاف ابریشم۱۶۴۴ cm– ۱ (آمید نوع اول) و۱– ۱۲۳۱ cm (آمید نوع سوم) که ترکیب‌بندی زنجیره‌ای تصادفی را نشان می‌دهد و پیک۱۵۱۷ cm-۱ (آمید نوع دوم) مربوط به ساختار صفحات بتا است. فیلم فیبروئین پیک‌های شاخصی در ۱۶۴۷cm–۱ (آمیدنوع اول) و۱۵۳۸ cm–۱ (آمیدنوع دوم) و و پیک شاخصی در۱۲۳۸ cm– ۱ (آمید نوع سوم) ظاهر شده است که نشان دهنده ساختار زنجیره‌ای تصادفی است که نتایج با مرجع مطابقت دارد.



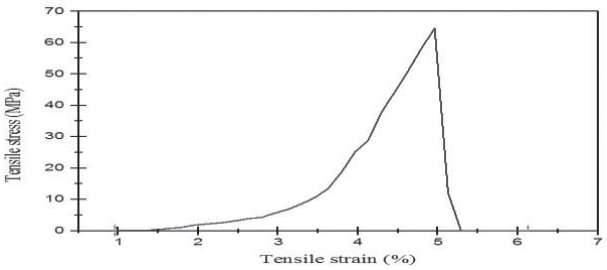
شکل ۱- طیف مادون قرمز الیاف ابریشم و فیلم تولید شده از فیبروئین ابریشم

۳-۲.خواص مکانیکی

شکل ۲ منحنی تنش- کرنش برای فیلم فیبروئینی تولید شده از محلول آبی فیبروئین را نشان می‌دهد، جدول ۱ مدول الاستیک، کرنش گسستن و تنش گسستن و کار تا حد پارگی محاسبه شده از منحنی تنش -کرنش را گزارش می‌کند. استحکام کششی فیلم‌های ابریشم حدود ۰/۰۶ گیگاپاسکال و کشش در نقطه شکست بین ۱۵ تا ۳۵ درصد است. این تفاوت می‌تواند ناشی از عدم تشکیل مناسب صفحات بتا در ساختمان ثانویه فیلم فیبروئین باشد.

نمونه	مدول الاستیک (GPa)	کرنش گسستن (٪)	تنش گسستن (GPa)	کار تاحد پارگی (N.mm) یا (mJ)
فیلم فیبروئین	۰/۳۱ ± ۰/۱۵	۴/۹۵ ± ۰/۹۸	۰/۰۶۴ ± ۱۱/۶۲	۳/۰۲ ± ۱/۰۷

جدول ۱- خواص مکانیکی فیلم فیبروئین



شکل۲-منحنی تنش بر حسب کرنش فیلم فیبروئین

۷-نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، مطالعه پایه بر روی فیلم آماده شده از پروتئین فیبروئین و تاثیر ساختار مولکولی فیلم بر خصوصیات مکانیکی فیلم انجام گرفت. ساختار مولکولی فیلم فیبروئین که با استفاده از FTIR تعیین شده است، صورت‌بندی از نوع زنجیره‌ای تصادفی بوده و هیچ گونه ساختار کریستالی در فیلم ایجاد نشده است طبق نتایج آزمون مکانیکی برای فیلم فیبروئینی و مقایسه آن با ابریشم طبیعی می‌توان نتیجه گرفت که فیلم فیبروئینی که از محلول آبی فیبروئین ابریشم به دست آمده شکننده و ضعیف است. این تفاوت می‌تواند ناشی از عدم تشکیل صفحات بتا در ساختار فیلم باشد که با نتایج طیف مادون قرمز همخوانی دارد.

پی‌نوشت

۱،۲ و۳ دانشکده نساجی دانشگاه صنعتی امیر کبیر

منابع در دفتر نشریه موجود است.