

# ارزیابی اثر دو پارامتر ولتاژ و فاصله کاری بر ریخت‌شناسی داربست پلی‌کاپرولاکتون - KIT-6 ساخته شده به روش الکترورسی

علیرضا جان فدا، آزاده آصف نژاد\*\*

گروه مهندسی پزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

محمد تقی خراسانی

پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران، ایران

مرتضی دلیری جوپاری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

**چکیده:** دستیابی به داربستی با ساختار صاف، یکنواخت و عاری از عیوب دانه تسیجی (بید) یکی از چالش‌های مهم در تولید داربست‌های مهندسی بافت به روش الکترورسی است. در این پژوهش داربست لیفی کامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون-سیلیکای مزومتخلخل (KIT-6) به روش الکترورسی ساخته شده و اثر دو متغیر عملیاتی مربوط به دستگاه الکترورسی شامل ولتاژ و فاصله کاری بر ریخت‌شناسی نهایی داربست مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان داد که با افزایش ولتاژ کاری از ۱۵ به ۱۸ کیلوولت ساختار داربست غیریکنواخت شده و الیاف نامتراکم و فاقد تخلخل‌های ساختاری مناسب تولید می‌شوند. افزون بر آن نتیجه‌ها بیانگر اثر مثبت افزایش فاصله کاری بر ریخت‌شناسی داربست پایانی است. در فاصله‌های کم ساختار غیریکنواخت و همراه با بید ایجاد شده و با افزایش فاصله کاری تا ۲۰ سانتی‌متر ساختار مناسب‌تری ایجاد می‌شود. از این رو می‌توان ولتاژ ۱۵ کیلوولت و فاصله ۲۰ سانتی‌متر را مقدارهای بهینه‌ای برای دو متغیر دستگاهی ولتاژ و فاصله کاری برای الکترورسی داربست‌های کامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون - KIT-6 با درصد‌های گوناگون وزنی از محتوی سرامیکی دانست.

**واژگان کلیدی:** داربست، الکترورسی، پلی‌کاپرولاکتون، KIT-6، ولتاژ، فاصله کاری.

**KEYWORDS:** Tissue engineering, Scaffold, Electrospinning, Polycaprolactone, KIT-6, Voltage, Distance.

+Email: asefnejad\_azadeh@yahoo.com

\* عهده‌دار مکاتبات

## مقدمه

از گذشته تاکنون، هدف اصلی در مهندسی بافت استخوان طراحی و ایجاد ساختاری مشابه ساختار طبیعی بافت استخوان در بدن به منظور ترمیم آسیب‌ها و ضایعات بافتی بوده است. افزایش میانگین عمر انسان‌ها، تغذیه غلط، افزایش میانگین وزن افراد، بی‌ تحرکی، بیماری‌هایی نظیر پوکی استخوان و سرطان مغز استخوان و از همه مهم‌تر آمار بالای تصادف‌ها هر کدام سهمی را در ایجاد ضایعات و آسیب‌های استخوانی ایفا می‌کنند. به‌طور کلی استخوان دارای قابلیت خود ترمیمی است و می‌تواند در صورت بروز آسیب محل آسیب دیده را ترمیم کند، اما در بعضی موارد به دلیل کهولت سن و یا وسعت ضایعه بدن به تنهایی قادر به ترمیم بافت نبوده و نقش مهندسی بافت مطرح می‌شود. در طول چند دهه گذشته پیشرفت چشم‌گیری در زمینه مهندسی بافت استخوان به ویژه در منابع سلولی، توسعه داربست‌های زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر و شناسایی فاکتورهای رشد صورت گرفته که می‌تواند سبب تحریک کردن استخوان‌های آسیب دیده به رشد در بدن شود [۱-۴].

در مهندسی بافت، وجود داربست زیست سازگار مناسب برای بقای سلول‌ها ضروری است. داربست باید محیط مناسبی اطراف سلول‌ها محیا کرده و از چسبندگی، تکثیر و مهاجرت سلولی حمایت کند [۵،۶]. امروزه در مهندسی بافت استخوان، پلیمرهای زیست تخریب‌پذیری از جمله پلی‌کاپرولاکتون (PCL) مورد توجه قرار گرفته‌اند. پلی‌کاپرولاکتون پلیمری خطی و زیست سازگار است که به تازگی به‌طور گسترده در مهندسی بافت به کار رفته است. همچنین برخی نتیجه‌ها بیانگر اثر مثبت پلی‌کاپرولاکتون برافزایش رگ‌زایی در بافت هدف است [۷]. این پلیمر به علت ویژگی‌های فیزیکی درخشان، در دسترس بودن و زیست سازگاری ذاتی، پلیمری مناسب برای استفاده در مهندسی بافت است. یکی از عیب‌های مهم پلی‌کاپرولاکتون نبود گروه‌های عاملی بر سطح زنجیره‌های پلیمری و آبگریز بودن آن است. آب‌دوستی تارهای نانوالیافی در چسبندگی سلول‌ها و تشکیل جوانه‌های اولیه آپاتیت استخوان مانند بر روی سطح آن بسیار مؤثر است. از این رو به دلیل آبگریزی پلی‌کاپرولاکتون، توزیع یکنواخت سلول و تشکیل فاز آپاتیتی بر روی تارهای نانوالیاف متخلخل آن دشوار می‌باشد [۸،۹].

ویژگی‌های پلی‌کاپرولاکتون را می‌توان از روش کامپوزیت‌سازی با نانوذره‌هایی مثل سیلیکا، هیدروکسی‌آپاتیت، نانوذره‌های مغناطیسی و نانوذره‌های سرامیکی زیست‌فعال چون فورستریت در داربست‌های پلیمری بهبود بخشید [۱۰،۱۱]. مواد مزو متخلخل سیلیکاتی در ساختارشان دارای روزه‌های در اندازه نانومتری بوده و دارای

نظم ساختاری و توزیع باریک اندازه روزه‌ها هستند. این ذره‌ها به دلیل ویژگی‌ها یگانه‌ای چون سطح ویژه بسیار بالا، حجم تخلخل زیاد و ساختار متخلخل یکنواخت بهترین گزینه برای گسترش سامانه‌های دارورسانی بوده و به تازگی در کاربردهای دارورسانی و مهندسی بافت توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند [۱۲-۱۴]. استفاده زیاد از ساختارهای مزومتخلخل سیلیکاتی در سال‌های اخیر به‌خاطر ویژگی‌های مناسب این ساختارها از جمله زیست‌سازگاری آن‌ها و قابلیت عامل‌دار کردن سطحی آن‌ها است. در این میان ذره‌های مزومتخلخل سیلیکاتی KIT-6 که دارای ساختار مکعبی سه بعدی هستند نیز برای کاربرد در دارورسانی بسیار مناسب شناخته شده‌اند [۱۵]. به نظر می‌رسد این ذره‌ها با دارا بودن سطح ویژه بسیار بالا و قابلیت تبادل یونی می‌توانند با به‌کارگیری در داربست‌های الکتروروسی شده پلی‌کاپرولاکتون نسبت سطح به حجم را به‌طور مؤثری افزایش داده و با تحریک پاسخ‌های سلولی، چسبندگی و تکثیر سلولی را نیز بهبود بخشند [۱۶].

در طی دو دهه گذشته، روش‌های گوناگونی برای ساخت داربست‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. از میان تمامی این روش‌ها، روش الکتروروسی روشی کاربردی و چندمنظوره است که می‌توان از روش آن الیافی پیوسته با قطرهای گوناگون و مناسب برای کاربرد در بدن ساخت. علاوه بر این، داربست‌های الکتروروسی شده می‌توانند به علت شباهت بسیار زیاد به ماتریس خارج سلولی (ECM) گزینه‌ای مناسب برای هدایت و کنترل تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی در مهندسی بافت سخت و نرم باشند [۱۷]. برای بارگذاری ذره‌های مزومتخلخل سیلیکا در داربست پلی‌کاپرولاکتون به‌منظور تولید داربستی کامپوزیتی که قابلیت کاربرد در بدن را داشته باشد نیز روش الکتروروسی روش بسیار مناسبی است. بدین منظور می‌توان ذره‌های KIT-6 را در محلول پلیمری پلی‌کاپرولاکتون بارگذاری کرده و سپس فرایند الکتروروسی را انجام داد [۱۸،۱۶].

در روش الکتروروسی، پلیمر به صورت محلول یا مذاب داخل سرنگ ریخته شده و با شدت جریان مناسب از نازل خارج می‌شود. اعمال میدان الکتریکی قوی بین نازل و صفحه جمع‌کننده منجر به ایجاد بار القایی در محلول پلیمری می‌شود که این بارالکتریکی باعث کشیده شدن محلول پلیمری و جهت‌گیری آن به سمت صفحه جمع‌کننده می‌شود. سطح هر پلیمر به‌طور طبیعی دارای بار است و قطب‌های میدان الکتریکی در هر لحظه به سطح پلیمر دافعه یا جاذبه دارند. کشش سطحی و نیروی ویسکوالاستیک محلول پلیمری،

عامل‌های تاثیر گذار بر ریخت شناسی داربست الکتروریسی شده عبارتند از: ویژگی‌های محلول برق ریزی، مشخصه‌های پلیمری، شرایط محیطی و متغیرهای دستگاهی که از میان این عامل‌های تاثیر گذار، متغیرهای دستگاهی نقش مهمی در تعیین ریخت شناسی داربست نهایی ایفا می‌کنند. اثر مستقیم ولتاژ و فاصله کاری بر قطر و ریخت شناسی الیاف الکتروریسی شده، اهمیت بررسی اثر این دو متغیر را تایید می‌کند [۳۲-۳۰، ۲۲].

نتیجه‌های پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد که فاصله بین نوک نازل و صفحه جمع‌کننده بر روی قطر الیاف و ریخت‌شناسی آن‌ها اثرگذار است. اگر فاصله خیلی کم باشد، زمان کافی برای تبخیر حلال تا رسیدن به جمع‌کننده وجود ندارد و الیافی مرطوب‌تر با دانه‌های بیش‌تر تولید می‌شود که منجر به ایجاد بید در ساختار می‌شود. همچنین سطح مقطع الیاف در چنین وضعیتی از حالت گرد به روبانی تبدیل می‌شود. بنابراین در فرایند الکتروریسی، فاصله، تاثیر چشمگیری بر تبخیر و خشک شدن الیاف داشته و کنترل فاصله کاری بسیار مهم است. همچنین ولتاژ به عنوان مهم‌ترین متغیر دستگاهی، نقش مهمی را کنترل ریخت شناسی داربست‌های الکتروریسی شده ایفا می‌کند. اگر ولتاژ کم‌تر از حد بحرانی باشد جریان پلیمری نمی‌تواند از مخروط تیلور فوران کند و در مقابل اگر ولتاژ اعمالی بیش از حد بالا باشد افزایش شدت میدان الکتریکی منجر به ناپایداری جریان پلیمری شده و احتمال تشکیل عیوب دانه تسبیحی را افزایش می‌دهد [۳۴، ۳۵].

داربست کامپوزیتی PCL/KIT-6 تاکنون به عنوان یک ساختار بالقوه برای مهندسی بافت استخوان مطرح شده است که در این میان می‌توان روش الکتروریسی را به عنوان یک روش شکل دهی مناسب برای این داربست‌ها در نظر گرفت. در این مقاله کامپوزیت PCL/KIT-6 با درصد‌های گوناگون وزنی از محتوی سرامیکی به روش الکتروریسی شکل دهی شده و اثر تغییرات ولتاژ و فاصله کاری به ازای درصد‌های گوناگون وزنی از KIT-6، بر ریخت شناسی داربست‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد.

### بخش تجربی

به‌منظور تهیه داربست‌های کامپوزیتی PCL-KIT-6 از پلی کاپرولاکتون (Sigma-Aldrich, Germany/CAS.NO:0024980414) با وزن مولکولی ۸۰۰۰۰ به عنوان فاز پلیمری و از نانوپودر مزومتخلخل KIT-6 (ACSMATERIAL, USA/CAS.NO:7631869)

در قطره منجر به پایداری شکل کروی می‌شوند. با افزایش ولتاژ اعمال شده، قطره خروجی از نازل به شکل یک مخروط موسوم به مخروط تیلور تغییر شکل داده و جریان پلیمری پایداری را بین نازل و جمع‌کننده ایجاد می‌کند. با طی کردن فاصله بین نوک نازل تا جمع‌کننده، حلال موجود در محلول از رشته پلیمری خارج شده و الیاف جامد بر روی جمع‌کننده قرار می‌گیرند. هنگامی که جریان پلیمری باردار از مخروط تیلور فوران می‌کند ابتدا در مسیری به شکل خط راست حرکت می‌کند و پس از طی فاصله‌ای کوتاه به علت بروز ناپایداری خمشی [۱۹]، خم شده و در مسیری پیچیده حرکت می‌کند. در این حین به علت وجود نیروهای الکتریکی، این جریان پلیمری کشیده شده و قطر آن کاهش می‌یابد. این تغییر در کشیدگی و نازک‌تر شدن الیاف متاثر از میدان الکتریکی خارجی و طول مسیر طی شده توسط جریان پلیمری است که خود بر خروج حلال و انجماد سیال پلیمری اثر گذار است، از این رو ولتاژ و فاصله نوک نازل تا جمع‌کننده از پارامترهای مهم مؤثر در ساختار نهایی داربست هستند [۲۲-۲۰].

داربست مناسب برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان باید علاوه بر زیست سازگاری و حمایت از رشد و تکثیر سلول‌ها، دارای ویژگی‌های مکانیکی مناسب و نزدیک به بافت استخوان باشد. *تان*<sup>۱</sup> و *همکاران* [۲۳] در پژوهشی نشان دادند که قطر الیاف الکتروریسی شده و ویژگی‌های مکانیکی با یکدیگر نسبت وارون دارند به عبارتی می‌توان با کاهش قطر الیاف الکتروریسی شده ویژگی‌های مکانیکی داربست را نیز بهبود بخشید. افزون بر آن با کاهش قطر الیاف، مساحت سطح داربست افزایش یافته و موجب فراهم آوردن سطح بیش‌تری برای چسبندگی و رشد سلولی است. همچنین نتیجه‌های برخی از مطالعه‌ها بیانگر آن است که ویژگی‌های مکانیکی و زیستی داربست‌های پلیمری الکتروریسی شده، پس از اضافه شدن برخی از بیوسرامیک‌ها به عنوان افزودنی، بهبود یافته است و با افزایش میزان محتوی سرامیکی، ویژگی‌های مکانیکی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است [۲۸-۲۵].

تراکم الیاف الکتروریسی شده و اندازه روزنه‌ها نیز از مهم‌ترین مشخصه‌های یک داربست مناسب برای مهندسی بافت استخوان است به‌طوری که اندازه روزنه‌ها بین ۱۰۰-۳۵۰  $\mu\text{m}$  برای رشد سلول‌های استخوانی در داربست، مناسب گزارش شده است [۲۹]. از طرفی چنان چه داربست الکتروریسی شده دارای تراکم کافی باشد می‌تواند به خوبی فضای خارج سلولی را شبیه‌سازی کرده و از رشد سلول‌ها درون داربست حمایت کند. در غیر این صورت برای کاربرد در بدن مناسب نمی‌باشد.

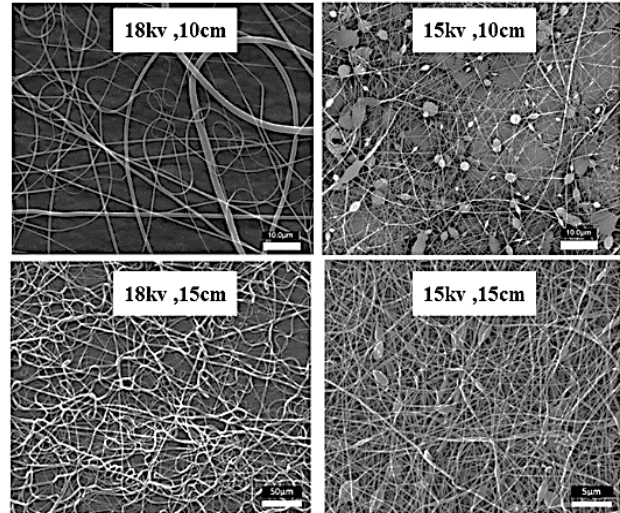
(۱) Tan

میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۱</sup> مدل FEI ESEM QUANTA 200 به کار گرفته شد. برای آماده سازی، نمونه‌ها در اندازه  $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$  تحت جریان ۱۰ میلی آمپر با طلا پوشش داده شد. همچنین به منظور تایید توزیع یکنواخت و همگن ذره‌های KIT-6 در الیاف پلیمری، عناصر تشکیل دهنده این سرامیک اعم از کربن، اکسیژن و سیلیسیوم با آنالیز Elemental mapping و به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت.

### نتیجه‌ها و بحث

تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت‌شناسی داربست PCL در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، ولتاژ کاری ۱۸ کیلوولت در دو فاصله کاری ۱۰ و ۱۵ سانتی‌متر، منجر به ایجاد یک داربست نامتراکم و غیر یکنواخت شده است. با کاهش ولتاژ کاری به ۱۵ کیلوولت و اعمال فاصله کاری ۱۰ سانتی‌متری، ساختار یکنواخت‌تری به دست آمده اما به دلیل مناسب نبودن فاصله کاری که منجر به تغییرهای نامطلوب در میدان الکتریکی برای کشش الیاف می‌شود، بید در ساختار مشاهده می‌شود. با کاهش فاصله کاری شدت میدان الکتریکی افزایش یافته و منجر به ناپایداری جریان پلیمر و تشکیل بید می‌شود، در نتیجه این ساختار برای کاربرد در مهندسی بافت مناسب نیست. در ولتاژ ۱۵ کیلوولت و فاصله کاری ۱۵ سانتی‌متر ساختاری یکنواخت با قطر الیاف مناسب ایجاد شده و داربست دارای تخلخل و یکپارچگی مناسبی برای استفاده در کاربردهای مهندسی بافت است. از این‌رو این شرایط کاری را می‌توان به عنوان شرایط بهینه برای الکتروریسی داربست پلی کاپرولاکتون (بدون استفاده از نانو افزودنی) انتخاب کرد.

با افزایش ولتاژ شدت جریان انتقال محلول، از مقداری که برای حفظ شکل مخروطی نوک مویینه مورد نیاز است، تجاوز می‌کند. در این شرایط با تغییر تعادل جرمی، جت‌های ناپایداری تولید می‌شود و تراکم دانه با افزایش ناپایداری جت در نوک نخ‌ریس افزایش می‌یابد [۳۸]. با کاهش ولتاژ شتاب جت پلیمری کم شده و با ضعیف تر شدن میدان الکتریکی، زمان پرواز جت الکتروریسی شده افزایش می‌یابد که خود باعث تبخیر بیشتر حلال و کاهش قطر الیاف می‌شود و برای تشکیل الیاف نازک تر و یکنواخت تر مطلوب است. برای کسب اطمینان از شرایط کاری بهینه انتخاب شده برای الکتروریسی داربست کامپوزیتی PCL-1wt% KIT-6، به بررسی

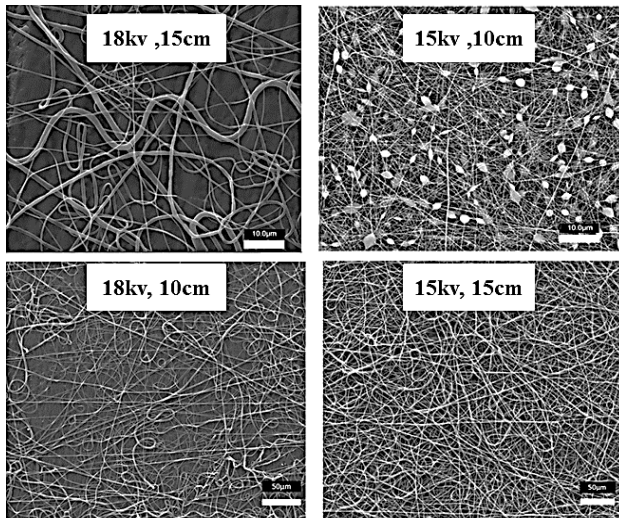


شکل ۱ - تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت‌شناسی PCL در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت درج شده در تصویر

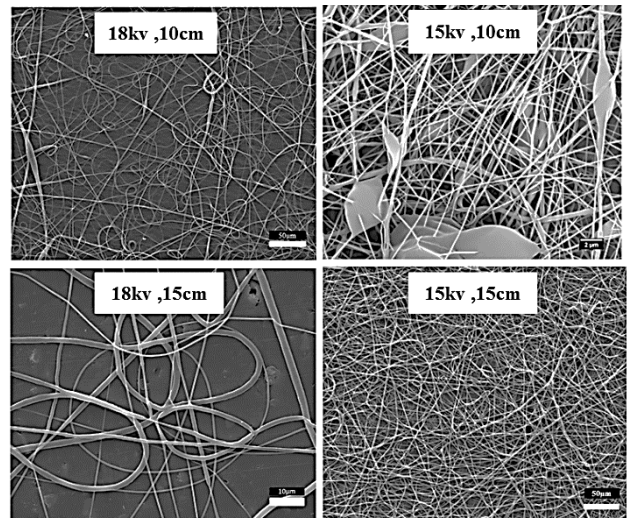
به عنوان فازسرامیکی استفاده شد. کلروفورم و دی متیل فرم امید (Sigma-Aldrich, Germany/CAS.NO:67663/CAS.NO:66122) نیز به عنوان حلال استفاده شدند.

داربست‌های نانو کامپوزیتی PCL-KIT-6 با درصدهای گوناگون ۰، ۱، ۳ و ۵٪ KIT-6 طبق مطالعه پیشینی که [۱۶] در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انجام شد، تهیه شد. به‌طور خلاصه ابتدا مقادیرهای متفاوت ۱، ۳ و ۵ درصد وزنی از KIT-6، به‌منظور تولید ساختارهایی با تخلخل بالا و همچنین کنترل شدت جریان تبخیر حلال، در مخلوط حلال‌های کلروفورم ( $\text{CHCl}_3$ ) و دی متیل فرم امید (DMF) با نسبت حجمی ۸ به ۲ حل شد. و به‌منظور همگن شدن مخلوط به‌دست آمده و باز شدن کلوخه‌های KIT-6 به مدت ۱۵ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفت. سپس پلی کاپرولاکتون به مقدار ۱۵٪ وزنی به این محلول اضافه شده و محلول به مدت ۲۴ ساعت برای تکمیل فرایند انحلال پلیمر و همگن شدن مخلوط مورد نظر، روی همزن مغناطیسی قرار گرفت [۳۶]. سپس به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی و انتخاب متغیرهای دستگاهی بهینه برای الکتروریسی، داربست‌ها در شرایط ولتاژ ۱۵ و ۱۸ کیلوولت و فاصله کاری ۱۰ و ۱۵ سانتی‌متر به ازای هر درصد وزنی از KIT-6 ساخته شدند [۳۷]. بدین منظور از سرنگ ۱ میلی‌لیتری با گیج ثابت ۲۰ و به عنوان جمع‌کننده از یک فویل آلومینیومی استفاده شد. سرعت تزریق ۱۸ میکرولیتر بر دقیقه و زمان الکتروریسی برای هر نمونه ۲ ساعت بود. به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی در داربست‌های لیفی گوناگون،

(۱) SEM



شکل ۳ - تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت‌شناسی PCL-3 wt% KIT-6 در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت درج شده در تصویر



شکل ۲ - تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت‌شناسی PCL-1 wt% KIT-6 در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت درج شده در تصویر

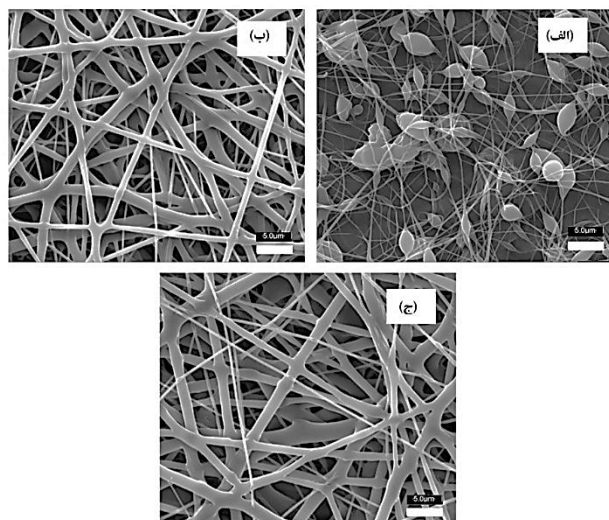
۱۵ و فاصله ۱۰ سانتی‌متری، الیاف نازک و یکنواختی دیده می‌شوند و ساختار دارای عیوب دانه تسبیحی است. همان‌گونه که در شکل ۳ دیده می‌شود در ولتاژ ۱۵ کیلوولت با افزایش فاصله کاری به ۱۵ سانتی‌متر، عیوب دانه تسبیحی از ساختار حذف شده و داربست مناسب‌تری برای کاربرد در مهندسی بافت استخوان مشاهده می‌شود. از این‌رو ولتاژ ۱۵ کیلوولت برای ساخت داربست‌های لیفی PCL-3wt% KIT-6 مناسب است ولی فاصله ۱۰ سانتی‌متر مناسب نبوده و با افزایش فاصله کاری به ۱۵ سانتی‌متر ساختار مناسب‌تری به دست می‌آید.

تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت‌شناسی داربست PCL-5 wt% KIT-6 در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت در شکل ۴ نشان داده شده است. در این تصویرها نیز مناسب نبودن ولتاژ ۱۸ کیلوولت در هر دو فاصله کاری ۱۰ و ۱۵ سانتی‌متر دیده می‌شود. در ولتاژ ۱۵ کیلوولت نیز به دلیل مناسب نبودن فاصله کاری ۱۰ سانتی‌متری، ساختار دارای بید بوده و مناسب نیست. با افزایش فاصله کاری به ۱۵ سانتی‌متر و اعمال ولتاژ ۱۵ کیلوولت، ساختاری یکنواخت‌تر و متراکم‌تر مشاهده شده و توزیع اندازه قطر الیاف کاهش می‌یابد.

برای آن که داربست برای کاربرد در مهندسی بافت مناسب باشد، روزه‌های موجود در داربست باید علاوه بر اندازه متناسب، با یکدیگر در ارتباط بوده و بهم پیوسته باشند. چنانچه اندازه روزه‌ها بیش از حد بزرگ باشد سلول‌ها به جای این که در محل تلاقی الیاف

تصویرهای داربست‌های دارای ۱٪ وزنی از ذره‌های KIT-6 در شرایط کاری گوناگون پرداخته می‌شود. تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت‌شناسی داربست PCL-1wt% KIT-6 در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌گونه که دیده می‌شود در ولتاژ ۱۸ کیلوولت و فاصله‌های کاری ۱۰ و ۱۵ سانتی‌متر، الیاف کاملاً ناهمگن و غیریکنواخت بوده و با افزایش فاصله کاری به علت افزایش زمان شناوری جریان پلیمری، قطر الیاف کاهش یافته است. در نمونه ۱۵ کیلوولت و فاصله ۱۰ سانتی‌متر، اگر چه حضور بید مشاهده می‌شود، اما الیاف یکنواخت‌تر شده و قطر مناسب‌تری برای کاربرد در مهندسی بافت دارند. در داربست‌های الکترونیسی شده با شرایط کاری ۱۵ کیلوولت و فاصله ۱۵ سانتی‌متر، الیاف متراکم‌تر با قطر مناسب و یکنواخت مشاهده می‌شود از این‌رو به نظر می‌رسد ولتاژ کاری ۱۵ کیلوولت و فاصله کاری ۱۵ سانتی‌متری برای ساخت داربست‌های کامپوزیتی PCL-KIT-6 مناسب‌تر است.

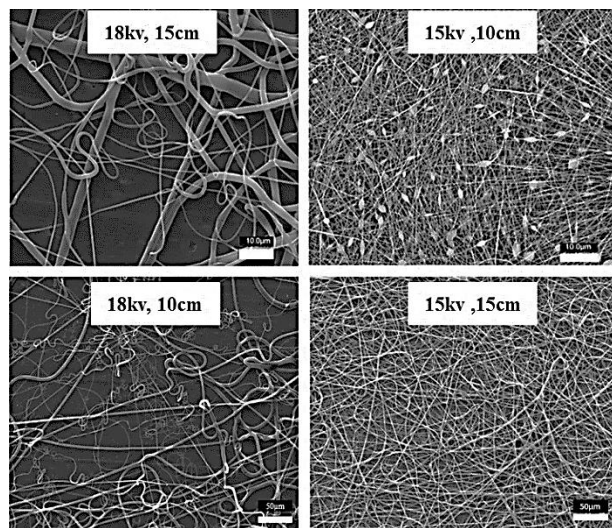
تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست PCL-3wt% KIT-6 در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت در شکل ۳ نشان داده شده است. در این تصویرها دیده می‌شود که در ولتاژ کاری ۱۸ کیلوولت در هر دو فاصله کاری ۱۰ و ۱۵ سانتی‌متر ساختار داربست کاملاً غیر یکنواخت بوده و قطر الیاف غیر یکسان است و مناسب کاربرد در زمینه مهندسی بافت نیست. ولی با کاهش ولتاژ الیاف یکنواخت‌تر شده و قطر کم‌تری دارند. در ولتاژ کاری



شکل ۵ - تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی از داربست‌های (الف)  $\text{KIT-6}$  ۱ wt % PCL، (ب)  $\text{KIT-6}$  ۳ wt % PCL و (ج)  $\text{KIT-6}$  ۵ wt % PCL در ولتاژ ۱۵ کیلوولت و فاصله کاری ۲۰ سانتی‌متر

داربست‌های کامپوزیتی اعمال شد. همان‌گونه که در شکل ۵ قابل دیدن است، افزایش فاصله کاری اثر مثبتی بر یکنواختی و تراکم الیاف داشته و الیاف تولید شده دارای تخلخل مناسب و روزه‌های باز هستند. داربست‌های کامپوزیتی دارای ۳ و ۵ درصد وزنی  $\text{KIT-6}$  در شرایط کاری ۱۵ کیلوولت و اعمال فاصله ۲۰ سانتی‌متری، ریخت‌شناسی مناسبی برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان دارند. در داربست‌های کامپوزیتی دارای ۱٪ وزنی  $\text{KIT-6}$  علی‌رغم تولید الیافی یکنواخت با قطر تقریباً یکسان، حضور عیوب دانه تسبیحی در این ساختار، ریخت‌شناسی داربست تولید شده را نامطلوب کرده و داربست کامپوزیتی  $\text{KIT-6}$  ۱ wt % PCL الکتروریسی شده در ولتاژ ۱۵ کیلوولت و فاصله ۲۰ سانتی‌متری برای کاربرد های مهندسی بافت استخوان مناسب نمی‌باشد.

در شکل ۶ نیز تصویرهای Elemental mapping تهیه شده از نمونه ۵٪ وزنی  $\text{KIT-6}$  در شرایط کاری ولتاژ ۱۵ کیلوولت و فاصله ۲۰ سانتی‌متر مشاهده می‌شود، همان‌گونه که دیده می‌شود عنصر سیلیسیوم توزیع کاملاً یکنواختی در ساختار داشته و توزیع نانوذره‌ها در بستر پلیمری مناسب بوده‌است. توزیع یکنواخت فاز سرامیکی در فاز پلیمری از اهمیت فراوانی برخوردار است، زیرا تجمع ذره‌های سرامیکی در یک منطقه منجر به اختلاف چگالی فاز سرامیکی در بستر پلیمری می‌شود که در صورت بررسی ویژگی‌های مکانیکی، این نبود توزیع یکنواخت ذره‌های سرامیکی، افت محسوسی در ویژگی‌های مکانیکی کامپوزیت‌های الکتروریسی شده باعث می‌شود.



شکل ۴ - تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی ریخت‌شناسی  $\text{KIT-6}$  ۵ wt % PCL در شرایط ولتاژ و فاصله کاری متفاوت درج شده در تصویر

به دام بیافتند، در راستای الیاف جهت‌گیری می‌کنند و تکثیر سلولی اولیه به میزان مطلوبی اتفاق نمی‌افتد. علاوه بر آن روزه‌ها بایستی به یکدیگر متصل باشند تا تبادل‌های گازی و امکان جابه‌جایی مواد غذایی و مواد دفعی برای سلول‌ها فراهم باشد. همان‌گونه که در تصویرها مشاهده می‌شود در تمامی داربست‌ها روزه‌ها متصل به هم بوده و امکان برقراری تبادل‌های مورد نیاز سلول را فراهم می‌کنند. از این رو تا حدودی می‌توان نتیجه گرفت که این داربست‌ها برای کاربرد در مقاصد سلولی مناسب بوده و مواد غذایی از روش این تخلخل‌ها امکان رسیدن به سلول را دارند. از طرفی مواد زائد نیز به راحتی خارج شده و از این نظر شرایط مناسب برای رشد سلولی وجود دارد.

همان‌گونه که در تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده می‌شود، با افزودن  $\text{KIT-6}$  به پلی‌کاپرولاکتون، ساختار داربست‌ها یکنواخت‌تر شده و عیوب دانه تسبیحی کم‌تری در آن‌ها مشاهده می‌شود. علاوه بر آن با کاهش ولتاژ قطر الیاف کم‌تر شده و ساختار یکنواخت‌تری به دست آمده است. کاهش قطر الیاف همچنین می‌تواند به علت اثر ذره‌های افزودنی بر روی ویژگی‌های محلول الکتروریسی باشد. افزایش درصد ذره‌های  $\text{KIT-6}$  تا ۳٪ می‌تواند چگالی بار الکتریکی القایی در محلول پلیمری را افزایش داده و در نتیجه منجر به ایجاد الیافی یکنواخت‌تر و با قطر کم‌تر شود. برای اطمینان یافتن از اثر مثبت افزایش فاصله کاری در ولتاژ ۱۵ کیلوولت، فاصله ۲۰ سانتی‌متری نیز برای الکتروریسی

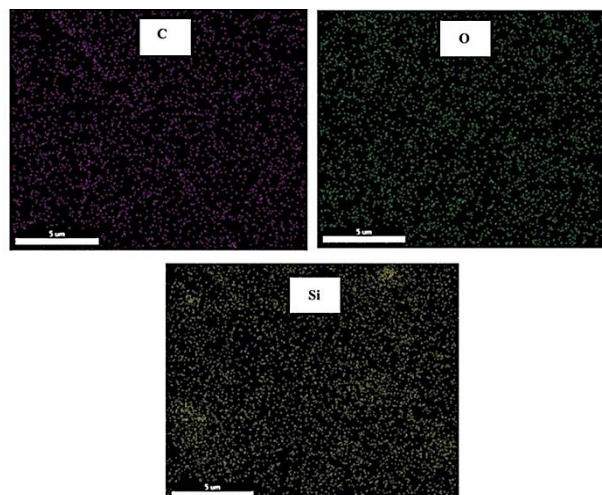
جدول ۱ - زاویه‌های تماس و میزان جذب آب داربست‌های لیفی PCL-KIT-6 با درصد‌های KIT-6 متفاوت در ولتاژ ۱۵kV

فاصله (cm)	زاویه تماس	درصد جذب آب	نمونه
۱۵	$65/35 \pm 8/52$	$65/89 \pm 5/44$	PCL
۲۰	$128/43 \pm 2/15$	$30/72 \pm 1/01$	PCL-1wt%KIT-6
۲۰	$126/07 \pm 0/52$	$35/58 \pm 1/3$	PCL-3wt%KIT-6
۲۰	$91/62 \pm 3/58$	$41/03 \pm 1/67$	PCL-5wt%KIT-6

بر سطح زنجیره‌های پلیمری می‌باشد که آن را به پلیمری هیدروفوب تبدیل کرده است. با توجه به آبگریزی پلی کاپرولاکتون، توزیع یکنواخت سلول بر روی تارهای نانوالیاف متخلخل دشوار می‌باشد، در حالی که آبدوستی تارهای نانوالیافی در چسبندگی سلول‌ها به سطح آن بسیار مؤثر است به طوری که در ترمیم بافت آسیب دیده بسیار دارای اهمیت است بنابراین قابلیت تر شدن و میزان آبدوستی تارهای نانولیفی در مهندسی بافت در ایجاد یک محیط کشت سلولی مناسب و یکنواخت در سه بعد مؤثر است و آبدوستی از جمله ویژگی‌های مهم در تهیه داربست‌های لیفی محسوب می‌شود که افزایش آن، منجر به افزایش چسبندگی سلولی غشای لیفی می‌شود. زاویه‌های تماس و میزان جذب آب داربست‌های لیفی PCL-KIT-6 با درصد‌های KIT-6 متفاوت در جدول ۱ ارائه شده است.

همان‌گونه که دیده می‌شود، در حضور ذره‌های مزوروزنه KIT-6 زاویه تماس افزایش یافته و آبدوستی نمونه کاهش می‌یابد. از آنجایی که این ذره‌ها مزوروزنه هستند و در روزه‌های هوا وجود دارند، این ذره‌ها آبدوست نبوده و آبگریزی داربست را افزایش می‌دهند. از طرفی  $SiO_2$  نیز به خودی خود آبدوست نبوده و در مجموع در حضور ذره‌ها آبدوستی و ترشوندگی کاهش می‌یابد.

نکته دارای اهمیت آن است که اگر چه در حضور ذره‌ها در مجموع ترشوندگی کاهش و زاویه تماس افزایش می‌یابد، ولی با افزایش درصد ذره‌ها ترشوندگی افزایش می‌یابد. دلیل این امر به آگلومراسیون بیشتر ذره‌ها در درصد‌های بالا برمی‌گردد، آگلومراسیون ذره‌ها منجر به بسته شدن روزه‌های نانومتری موجود در ذره‌ها شده و اثر آبگریزی ایجاد شده در اثر وجود هوا در روزه‌ها کاهش می‌یابد. در نتیجه‌ها میزان جذب آب نیز دیده می‌شود که در حضور ذره‌ها میزان جذب آب نمونه کمتر است که دلیل این امر کاهش میزان ترشوندگی است. اما با افزایش درصد ذره‌ها، به دلیل افزایش ترشوندگی، میزان جذب آب نمونه نیز افزایش می‌یابد.



شکل ۶ - تصویرهای Elemental mapping از عنصرهای کربن، اکسیژن و سیلیسیوم در نمونه دارای ۵٪ وزنی KIT-6 در شرایط کاری ۱۵ کیلوولت و فاصله ۲۰ سانتی‌متر

با افزایش درصد ذره‌ها تا ۵٪ وزنی قطر لیاف نسبت به نمونه دارای ۳٪ وزنی KIT-6 افزایش پیدا کرده است. از آنجایی که اندازه ذره‌های استفاده‌شده در داربست‌ها ۱۰ تا ۱۰۰ میکرومتر است، این ذره‌ها در درصد‌های بالا کلوخه‌ای شده و منجر به افزایش قطر میانگین لیاف می‌شوند. از طرفی افزایش محتوی سرامیکی به محلول پلیمری اثر خروج حلال بر کاهش قطر جریان پلیمری حین انجماد را تعدیل کرده و در درصد‌های بالاتر افزودنی، قطر بیشتری برای لیاف متصور است [۳۹]. راجزر<sup>۱</sup> و همکاران [۲۶] نیز در پژوهشی به نتیجه‌های مشابه نتیجه‌های این مطالعه دست یافتند. از طرفی هر چه فاصله کاری بیشتر باشد مدت زمان شناور بودن جریان پلیمری افزایش یافته و حلال، فرصت بیشتری برای خروج از لیاف دارد در نتیجه با افزایش فاصله کاری قطر لیاف کاهش می‌یابد. همچنین با کاهش فاصله کاری شدت میدان الکتریکی افزایش یافته و جریان پلیمری با شتاب بیشتری به سمت صفحه جمع‌کننده کشیده می‌شود. از سوی دیگر با افزایش ولتاژ، شدت میدان الکتریکی افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند منجر به ناپایداری جریان پلیمری شده و احتمال ایجاد بید را افزایش دهد. بنابراین فاکتورهای ذکر شده به طور همزمان بر قطر، تراکم و یکنواختی ساختار مؤثر هستند.

**ترشوندگی و میزان جذب آب داربست کامپوزیتی PCL-KIT-6**  
یکی از معایب مهم پلی کاپرولاکتون نبود گروه‌های عاملی

(۱) Rajzer



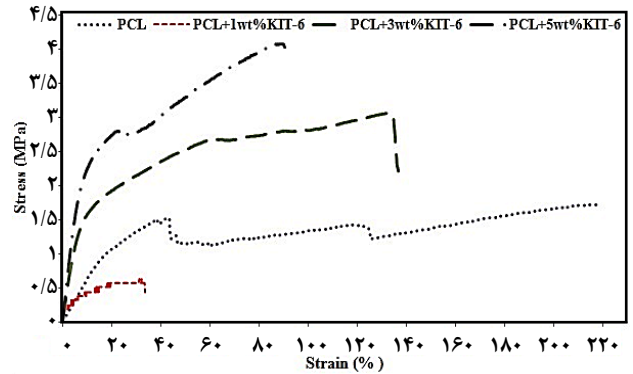
جدول ۲ - استحکام کششی و کرنش شکست داربست‌های گوناگون کامپوزیتی در ولتاژ ۱۵kv

فاصله (cm)	مدول الاستیک (MPa)	استحکام کششی (MPa)	درصد کرنش شکست	نمونه
۱۵	$5/14 \pm 0/73$	$1/82 \pm 0/23$	$206/83 \pm 25/93$	PCL
۲۰	$2/31 \pm 0/18$	$0/55 \pm 0/1$	$24/51 \pm 10/36$	PCL-1wt%KIT-6
۲۰	$20/23 \pm 4/13$	$2/78 \pm 0/3$	$118/93 \pm 22/26$	PCL-3wt%KIT-6
۲۰	$20/08 \pm 8/22$	$2/94 \pm 1/04$	$69/27 \pm 18/27$	PCL-5wt%KIT-6

استحکام کششی داربست افزایش یافته و ویژگی‌های مکانیکی بهبود می‌یابد ولی در حضور ذره‌های سرامیکی به دلیل تردی ذاتی این ذره‌ها کرنش شکست و انعطاف پذیری داربست‌ها کاهش می‌یابد. استحکام مواد متخلخل زیست فعال در بدن به مرور زمان با رشد استخوان افزایش می‌یابد از این رو علی‌رغم پایین بودن استحکام داربست‌های تولیدی از روش الکترورسی می‌توان اطمینان کرد که با بارگذاری مناسب آن‌ها در محیط بدن و رشد بافت استحکام نهایی افزایش یافته و بافت به خوبی جایگزین آن‌ها می‌شود.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون-KIT-6 با درصد‌های وزن ۰، ۱، ۳، ۵ از KIT-6 به روش الکترورسی ساخته شد و اثر تغییر ولتاژ و فاصله کاری بر ریخت‌شناسی داربست مورد بررسی قرار گرفت. با اعمال ولتاژ ۱۸ کیلوولت در فاصله کاری ۱۵ سانتی‌متر، به دلیل ایجاد جت‌های ناپایدار ساختار داربست غیریکنواخت شده و داربستی نامتراکم با توزیع بالای قطر الیاف ایجاد شد. با کاهش فاصله به ۱۰ سانتی‌متر نیز به دلیل ناپایداری جت پلیمری، شتاب بالای آن و عدم وجود زمان کافی برای تبخیر حلال ساختار غیریکنواخت، نامتراکم و الیافی با قطر بیشتر نسبت به سایر نمونه‌ها مشاهده شد. با کاهش ولتاژ به ۱۵ کیلوولت و اعمال فاصله کاری ۱۰ سانتی‌متری اثر منفی ولتاژ تا حدودی تعدیل شده ولی به دلیل نامناسب بودن فاصله کاری همچنان ساختاری ایده آل به دست نیامد و عیوب دانه تسبیحی در داربست دیده شد. با اعمال فاصله کاری ۱۵ سانتی‌متری، در تمام درصد‌های وزنی KIT-6 ساختاری یکنواخت‌تر، دارای تراکم کافی و قطر یکنواخت الیاف مشاهده شد. با افزایش فاصله کاری به ۲۰ سانتی‌متر، ساختار تمامی داربست‌ها (به جز داربست کامپوزیتی دارای ۱٪ وزنی KIT-6) یکنواخت‌تر شده تراکم الیاف افزایش یافت علاوه بر آن توزیع اندازه قطر الیاف به‌طور مطلوبی کاهش یافت. از این رو می‌تواند در صورت ثابت بودن سایر متغیرها، ولتاژ کاری ۱۵ کیلوولت و فاصله ۲۰ سانتی‌متر را به عنوان شرایط کاری بهینه برای الکترورسی



شکل ۷ - نمودار تنش-کرنش داربست‌های لیفی در درصد‌های وزنی متفاوت ذره‌های KIT-6

### ویژگی‌های مکانیکی داربست کامپوزیتی PCL-KIT-6

شکل ۷ نمودار تنش-کرنش داربست‌های لیفی در درصد‌های وزنی متفاوت ذره‌های KIT-6 را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، همه نمونه‌ها پس از عبور از منطقه الاستیک، وارد منطقه پلاستیک شده و سرانجام شکست در آن‌ها رخ داده است. استحکام کششی و کرنش شکست داربست‌های گوناگون کامپوزیتی، در جدول ۲ قابل مشاهده است.

همان‌گونه که دیده می‌شود، با افزایش درصد ذره‌های KIT-6 (جز در نمونه دارای ۱٪ وزنی ذره) استحکام کششی افزایش یافته و کرنش شکست به دلیل ایجاد تردی در ساختار کاهش می‌یابد. در نمونه PCL-1wt%KIT-6 به دلیل وجود بید در ساختار و کم بودن قطر الیاف استحکام کششی پایین بوده و کرنش نیز بسیار کم است. با افزایش درصد ذره‌ها تا ۵٪ استحکام کششی از  $1/82 \pm 0/23$  در داربست پلی‌کاپرولاکتون به  $2/94 \pm 1/04$  افزایش یافته است. علت بهبود ویژگی‌های مکانیکی در حضور ذره‌های سرامیکی، به علت اتصال فیزیکی موقت ایجاد شده بین ذره‌ها و زمینه پلیمری و ایجاد ساختار شبکه‌ای است. بنابراین هنگام اعمال نیروی کششی به الیاف، این نیرو توسط ذره‌های سرامیکی جذب شده و حرکت زنجیره پلیمری را محدود می‌کند و در نتیجه استحکام کششی افزایش می‌یابد. بنابراین، می‌توان گفت که با افزایش درصد ذره‌های KIT-6،



نمونه دارای ۵٪ وزنی KIT-6 دارای جذب آب بالاتر و ویژگی‌های مکانیکی مناسب تری نسبت به سایر نمونه‌های کامپوزیتی بود.

داربست‌های کامپوزیتی KIT-6-PCL در نظر گرفت. همچنین نتیجه‌های آزمون جذب آب و ویژگی‌های مکانیکی نشان داد که با افزایش درصد وزنی نانو افزودنی، ویژگی‌های مکانیکی و میزان جذب آب در داربست‌های کامپوزیتی الکترووریسی شده (در شرایط کاری ۱۵ کیلوولت فاصله ۲۰ سانتی‌متر) افزایش می‌یابد به طوری که

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۳۱

## مراجع

- [1] Salgado A.J., Coutinho O.P., Reis R.L., [Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends](#). *Macromolecular bioscience*, **4(8)**: 743-65 (2004).
- [2] Bell E., [Tissue Engineering, An Overview](#). Tissue engineering, Springer, 3-15 (1993).
- [3] Lim S.H., Mao H.-Q., [Electrospun Scaffolds for Stem Cell Engineering](#). *Advanced Drug Delivery Reviews*, **61(12)**: 1084-96 (2009).
- [4] O'Keefe R.J., Mao J., [Bone Tissue Engineering and Regeneration: from Discovery to the Clinic— an Overview](#). *Tissue Engineering Part B: Reviews*, **17(6)**: 389-92 (2011).
- [5] Dutta R.C., Dutta A.K., [Comprehension of ECM-Cell Dynamics: A Prerequisite for Tissue Regeneration](#). *Biotechnology advances*, **28(60)**: 764-769 (2010).
- [6] Ikada Y., [Challenges in Tissue Engineering](#). *Journal of the Royal Society Interface*, **3(10)**: 589-601 (2006).
- [7] Gniesmer S., Brehm R., Hoffmann A., de Cassan D., Menzel H., Hoheisel A.L., et al., [Vascularization and Biocompatibility of Poly \[E-Caprolactone \] Fiber Mats for Rotator Cuff Tear Repair](#). *PLOS ONE*, **15(1)**: e0227563 (2020).
- [8] Okada M., [Chemical syntheses of biodegradable polymers](#). *Progress in polymer science*, **27(1)**: 87-133 (2002).
- [9] Roy I., [Biodegradable Polymers](#). *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **85(6)**: 731- (2010).
- [10] Diba M., Kharaziha M., Fathi M., Gholipourmalekabadi M., Samadikuchaksaraei A., [Preparation and Characterization of Polycaprolactone/Forsterite Nanocomposite Porous Scaffolds Designed for Bone Tissue Regeneration](#). *Composites Science and Technology*, **72(6)**: 716-723 (2012).
- [11] Kim H.W., [Biomedical Nanocomposites of Hydroxyapatite/Polycaprolactone Obtained by Surfactant Mediation](#). *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **83(1)**: 169-177 (2007).
- [12] Chitra K., Reena K., Manikandan A., Antony S.A., [Antibacterial Studies and Effect of Poloxamer on Gold Nanoparticles by Zingiber Officinale Extracted Green Synthesis](#). *Journal of nanoscience and nanotechnology*, **15(7)**: 4984-4991 (2015).
- [13] Huang X., Li L., Liu T., Hao N., Liu H., Chen D., et al., [The Shape Effect of Mesoporous Silica Nanoparticles on Biodistribution, Clearance, and Biocompatibility in Vivo](#), *ACS nano*, **5(7)**: 5390-5399 (2011).

- [14] Ayad M.M., Salahuddin N.A., El-Nasr A.A., Torad N.L., [Amine-Functionalized Mesoporous Silica KIT-6 as a Controlled Release Drug Delivery Carrier](#). *Microporous and Mesoporous Materials*, **229**: 166-177 (2019).
- [15] Popova M., Trendafilova I., Tsacheva I., Mitova V., Kyulavska M., Koseva N., et al. [Amino-Modified KIT-6 Mesoporous Silica/Polymer Composites for Quercetin Delivery: Experimental and Theoretical Approaches](#). *Microporous and Mesoporous Materials*, **270**: 40-47 (2018).
- [16] Janfada A., Asefnejad A., Khorasani M.T., Joupari M.D., [Reinforcement of Electrospun Polycaprolacton Scaffold using KIT-6 to Improve Mechanical and Biological Performance](#). *Polymer Testing*, **84**: 106391 (2020).
- [17] Mo X., Li D., El-Hamshary H.A., Al-Deyab S.S., [Electrospun Nanofibers for Tissue Engineering](#). *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, **6(3)**: 225-235 (2013).
- [18] Wei G., Ma P.X., [Structure and Properties of Nano-Hydroxyapatite/Polymer Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering](#). *Biomaterials*, **25(19)**: 4749-4757 (2004).
- [19] Zhmayev E., Cho D., Joo Y.L., [Nanofibers from Gas-Assisted Polymer Melt Electrospinning](#). *Polymer*, **51(18)**: 4140-4144 (2015).
- [۲۰] مشهدی س.، مردانی تودشکی ح.، علی مرادی م.، استفاده از نانو الیاف پلیمری الکتروریسی آغشته به لیگاند جاذب برای تعیین مس در آب شهرستان اراک. *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، **۳۶(۳)**: ۱۰۳ تا ۱۱۳ (۱۳۹۶).
- [21] Hekmati A.H., Rashidi A., Ghazisaeidi R., Drean J-Y., [Effect of Needle Length, Electrospinning Distance, and Solution Concentration on Morphological Properties of Polyamide-6 Electrospun Nanowebs](#). *Textile Research Journal*, **83(14)**: 1452-1466 (2013).
- [22] Zheng Y., Xie S., Zeng Y., [Electric Field Distribution and Jet Motion in Electrospinning Process: from Needle to Hole](#). *Journal of Materials Science*, **48(19)**: 6647-55 (2013).
- [23] Tan E., Ng S., Lim C., [Tensile Testing of a Single Ultrafine Polymeric Fiber](#). *Biomaterials*, **26(13)**: 1453-6 (2005).
- [24] Kharaziha M., Fathi M., Edris H., [Development of Novel Aligned Nanofibrous Composite Membranes for Guided bone Regeneration](#). *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, **24**: 9-20 (2013).
- [25] Siqueira L.d., Passador F.R., Lobo A.O., Trichês E.D.S., [Morphological, Thermal and Bioactivity Evaluation of Electrospun PCL/ \$\beta\$ -TCP Fibers for Tissue Regeneration](#). *Polímeros*, **29(1)**: (2019).
- [26] Rajzer I., Dziadek M., Kurowska A., Cholewa-Kowalska K., Ziąbka M., Menaszek E., et al. [Electrospun Polycaprolactone Membranes with Zn-Doped Bioglass for Nasal Tissues Treatment](#). *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **30(7)**: 1-11 (2019).
- [27] Fujihara K., Kotaki M., Ramakrishna S., [Guided bone Regeneration Membrane Made of Polycaprolactone/Calcium Carbonate Composite Nano-Fibers](#). *Biomaterials*, **26(19)**: 4139-4147 (2005).

- [28] Hassan M.I., Sun T., Sultana N., [Fabrication of Nanohydroxyapatite/Poly \[Caprolactone\] Composite Microfibers using Electrospinning Technique for Tissue Engineering Applications.](#) *Journal of Nanomaterials*, (2014).
- [29] Yoshikawa H., Myoui A., [Bone Tissue Engineering with Porous Hydroxyapatite Ceramics.](#) *Journal of Artificial Organs*, **8(3)**: 131-136 (2005).
- [۳۰] فرخزاده م.، کورکی ه.، مروری بر برق‌ریسی و کنترل ریزساختار مش‌های بی‌یافت و کاربردهای آن. علوم و فناوری نساجی (۱) ۷: ۴۷ تا ۶۱ (۱۳۹۷).
- [۳۱] پیشین م.، گودرزنیا آ.، بررسی اثر دما، رطوبت و نانوذره سیلیس بر ریخت شناسی و تخلخل سطحی یاف پلی استایرن الکتروریسی شده. نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۱) ۳۸: ۷۹ تا ۸۷ (۱۳۹۸).
- [32] Yener, Fatma, Jirsak O, Gemci R. [Using A Range of PVB Spinning Solution to Acquire Diverse Morphology for Electrospun Nanofibres.](#) *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, **31(4)**: 49-58 (2012).
- [۳۳] فرخزاده م.، کورکی ه.، بررسی ریز ساختار داربست زیستی متشکل از نانوالیاف پلی‌وینیل الکل از داده‌های کلی. نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۳) ۴۰: ۴۹ تا ۵۹ (۱۴۰۰).
- [34] Amith V., Sridhar R., Angadi G., H.N. N.M., [A Comprehensive Review Summarizing the Effect of Electrospinning Parameters and Potential Applications of Nanofibers.](#) *Journal of Nanoscience Nanoengineering and Applications*, **9(3)**: 1-6 (2019).
- [35] Haider A., Haider S., Kang I.-K., [A Comprehensive Review Summarizing the Effect of Electrospinning Parameters and Potential Applications of Nanofibers in Biomedical and Biotechnology.](#) *Arabian Journal of Chemistry*, **11(8)**: 1165-1188 (2018).
- [36] Rabionet M., Yeste M., Puig T., Ciurana J., [Electrospinning PCL Scaffolds Manufacture for Three-Dimensional Breast Cancer Cell Culture.](#) *Polymers*, **9(8)**: 328 (2017).
- [37] Katsogiannis K.A.G., Vladisavljević G.T., Georgiadou S. [Porous Electrospun Polycaprolactone \[PCL\] Fibres by Phase Separation.](#) *European Polymer Journal*, **69**: 284-295 (2015).
- [38] Deitzel J.M., Kleinmeyer J., Harris D., Tan N.B., [The Effect of Processing Variables on the Morphology of Electrospun Nanofibers and Textiles.](#) *Polymer*, **42(1)**: 261-272 (2001).
- [39] Almasi D., Abbasi K., Sultana N., Lau W.J., [Study on TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Distribution in Electrospun Polysulfone/TiO<sub>2</sub> Composite Nanofiber.](#) *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, **36(2)**: 49-53 (2017).