# طراحی و ساخت غشاهای کامپوزیتی زیست تخریب پذیر بر پایه ی کایتوسان–فیبروئین– پلی وینیل الکل به روش ریخته گری حلال برای مهندسی بافت استخوان

فرزانه جباری[۱]، دکتر بهزاد هوشمند[#۲]، دکترسعید حصارکی[۳]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی مهندسی پزشکی (بیومتریال)، پژوهشکده فنآوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، البرز، ایران

۲- استاد گروه آموزشی پریودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دانشیار پژوهشکده فنآوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، البرز، ایران

وصول مقاله: ۱۳۹۷/۶/۱۱ اصلاح نهایی:۱۳۹۷/۷/۲۸ پذیرش مقاله:۱۳۹۷/۹/۱

## Designing and fabrication of biodegradable composite membranes based on chitosan fibrobin-polyvinyl alcohol by solvent casting method for bone tissue engineering

**Farzane jabari[1],Behzad houshmand[2]*,Saeed hesaraki[3]**

*[1]Ph.D Candidate in Biomedical Engineering(biomaterial), Research Department of Nano-Technology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center (MERC), Alborz, Iran*

*[2] Professor, Department of Periodontology School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

*[3]Associate Professor of Research, Research Department of Nano-Technology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center (MERC), Alborz, Iran.*

***Received: 2 September 2018; Accepted: 22 November2018***

**Abstract**

**Background & Aim**: Designing and fabrication of biodegradable and bioactive membranes are the important issues in guided bone regeneration while these membranes should maintain their structural integrity during repair, have the required mechanical, physical and biological properties and selective permeability. One of the approaches to achieve this purpose is the fabrication of composite membranes based on biopolymers.

**Materials and Methods:** In this experimental research, the fabrication and characterization of composite membranes composed of chitosan-silk fibrobin and polyvinyl alcohol have been performed.chitosan solution and fibroin- polyvinyl alcohol solution were mixed in different ratio and membranes were fabricated by solvent casting method. Mechanical properties such as tensile strength and ultimate strain percentage and physical properties including water absorption and degradation rate of membranes were investigated.

**Results:** The FTIR spectrum of the extracted fibrobin showed peaks at 1650 $cm^{-1}$, 1530 $cm^{-1}$, and 1244 $cm^{-1}$. The XRD and SEM images showed that the synthesized fibrin has the structure of beta plates. The results of physical and mechanical properties of membranes showed that the presence of fibroin in the composition increases the mechanical strength. Increasing the amount of chitosan in the composition increased the water absorption and degradation rate of membranes.

**Conclusion:** Fibroin is a suitable polymer for increasing mechanical strength, controlling the degradation rate, improving the water absorption ability and is so biocompatible. Solvent casting method with controlling the viscosity of solution and solvent evaporation rate is appropriate method for fabrication the membranes.

**Keywords:** biodegradable membrane, Fibroin, bone regeneration

***Corresponding Author:** houshmandperio@rocketmail.com

**J Res Dent Sci. 2019; 15 (4) :201-210.**

# نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر بهزاد هوشمند تلفن: ۰۹۱۲۸۰۶۳۹۹۰ پست الکترونیک: houshmadnperio@rocketmail

[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

**خلاصه**:

**سابقه و هدف**: یکی از مسائل مهم در بازسازی هدایت شده ی استخوان، طراحی و ساخت غشاهای زیست تخریب پذیر و زیست فعالی است که ضمن حفظ یکپارچگی ساختاری خود در طول زمان ترمیم، دارای خواص مکانیکی،فیزیکی و بیولوژیکی مورد نیاز و البته نفوذ پذیری انتخابی باشند. یکی از رویکردهای دستیابی به این هدف ساخت غشاهای کامپوزیتی بر پایه ی زیست پلیمرهاست.

**مواد و روش ها**: در این پژوهش تجربی، ساخت و مشخصه یابی غشاهای کامپوزیتی متشکل از کایتوسان-فیبروئین و پلی وینیل الکل انجام گرفت. محلول کایتوسان و محلول فیبروئین-پلی وینیل الکل با نسبت های مختلفی با هم مخلوط شده و غشاها، به روش ریخته گری حلال تهیه شدند. خواص مکانیکی مانند استحکام کششی و درصد کشش نهایی و خواص فیزیکی شامل جذب آب و سرعت تخریب شدن غشاها مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها**: نمودار طیف FTIR فیبروئین استخراج شده و پیک هایی را در $1650cm^{-1}$، $1530\ cm^{-1}$و $1244\ cm^{-1}$ نشان داد. نمودار XRD و تصاویر SEM نشان دادند که فیبروئین سنتز شده دارای ساختار صفحات بتا می باشد. نتایج بررسی خواص فیزیکی و مکانیکی غشاها نشان داد که حضور فیبروئین در ترکیب، موجب افزایش استحکام مکانیکی می شود.افزایش میزان کایتوسان در ترکیب موجب افزایش جذب آب و سرعت تخریب غشاها گردید.

**نتیجه گیری:** به نظر می رسد که فیبروئین یک پلیمر مناسب جهت افزایش استحکام مکانیکی، کنترل نرخ تخریب و بهبود قابلیت جذب آب غشاهای مورد استفاده در بازسازی هدایت شده ی استخوان بوده و با زیست سازگار می باشد.روش ریخته گری حلال به شرط کنترل ویسکوزیته ی محلول و سرعت خروج حلال از ترکیب، یک روش مناسب برای ساخت غشاها می باشد.

**کلید واژه‌ها:** غشاء های زیست تخریب پذیر، فیبروئین،بازسازی استخوان

**مقدمه:**

همواره بافت استخوان به دلیل قرارگیری در معرض انواع تنش ها و نیروهای مکانیکی، با آسیب دیدگی های زیادی مواجه بوده است.[۱] پس از آسیب بافت استخوان، فرایند ترمیم و بازسازی طبیعی آن یک امر مهم تلقی می گردد. از این رو بسیاری از مطالعات و پژوهش های معاصر بر روی فرایند ترمیم سریع استخوان متمرکز شده است. بازسازی هدایت شده بافت استخوان ( Guided Bone Regeneration ) از مهمترین روش های بازسازی مرسوم به شمار می‌آید. به طور کلی بازسازی هدایت شده ی استخوان نوعی تکنیک جراحی بوده که با استفاده از یک غشا پلیمری متخلخل از مهاجرت سلول های بافت نرم و اپیتلیال به محل ضایعه جلوگیری کرده و با ایجاد یک فضای مناسب، سرعت ترمیم بافت آسیب دیده را بهبود می بخشد.[۲] غشاهای مورد استفاده درتکنیک GBR به دو دسته‌ی غشاهای قابل جذب زیستی و غشاهای غیرقابل جذب تقسیم می شوند که هر یک موارد استفاده مشخصی دارند.غشاهای تخریب پذیر، قابلیت جذب بدون ایجاد واکنش جسم خارجی را دارا بوده اما هنوز در مورد زمان بازجذب و مدت زمان تشکیل بافت چالش هایی وجود دارد. غشاهای قابل جذب به دو دسته پلیمرهای طبیعی و سنتزی تقسیم می‌شوند. پلیمرهای طبیعی به دلیل زیست فعالی ذاتی و توانایی ارایه محل های فعال جهت اتصال به سلول، نسبت به پلیمرهای سنتزی برتری داشته اما وجود برخی مشکلات مانند پاسخ ایمنی قوی، فرایند خالص سازی پیچیده و امکان انتقال بیماری کاربرد آن ها را محدود می کند.کایتوسان یکی از مرسوم ترین پلیمرهای طبیعی برای ساخت غشاهای زیست تخریب پذیر بوده و در محیط درون تنی سازگاری مناسبی با سلول ها دارد که همین امر منجر به تسهیل در فرایند بازسازی هدایت شده ی استخوان می گردد.[۳] غشاهای بر پایه کایتوسان دارای خواص مکانیکی نامطلوب از جمله استحکام کششی بسیار پایین، سرعت تخریب شدن بالا



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

و قابلیت جذب آب بالامی باشند و این در حالی است که در تکنیک بازسازی هدایت شده ی استخوان،غشاها باید دارای خواص مکانیکی و فیزیکی بهینه ای برای رسیدن به نتیجه ای مطلوب باشند. کامپوزیت کردن کایتوسان با زیست پلیمرهایی مانند فیبروئین ، موجب بهبود خواص مکانیکی و فیزیکی غشاها می گردد. فیبروئین یک پروتئین رشته ای و نامحلول در آب بوده که از دو رشته‌ی سبک و سنگین پروتئینی با نسبت های مساوی تشکیل شده است. رشته ی سنگین از ماکرومولکول های آب گریز و رشته‌ی سبک از آمینواسیدهای قطبی تشکیل شده است. خواص ابریشم ترکیبی از استحکام مکانیکی بالا و سبکی زیاد می باشد. امروزه ساختارهای مختلفی برای فیبروئین تعیین گردیده که در محل های بلورین به شکل پیچ آلفا و صفحات بتا بوده و در محل های آمورف به شکل گلبول های تصادفی نامنظم دیده می شود.[۴، ۵] در بسیاری از مطالعات غشاهای کامپوزیتی بر پایه ی کایتوسان / فیبروئین برای بازسازی بافت استخوان مورد استفاده قرار گرفته است و همگی نتایج قابل قبولی ارائه نموده اند.[۶،۷] روش ها و تکنیک های بسیاری برای ساخت غشاهای تخریب پذیر ذکر شده است که هر یک مزایا و چالش های خاص خود را دارا هستند.با در نظر گرفتن پارامترهایی چون تکرار پذیر بودن فرایند ساخت،توجیه پذیری اقتصادی و نیز دارا بودن اپتیمم خواص مکانیکی،فیزیکی و بیولوژیکی روش ریخته گری حلال یکی از مناسب ترین روش های ساخت غشاهای مورد استفاده در بازسازی هدایت شده ی استخوان می باشد. در مطالعه ی حاضر غشاهای کامپوزیتی بر پایه ی کایتوسان/فیبروئین پلی وینیل الکل به روش ریخته گری ساخته شده و خواص مکانیکی و فیزیکی غشاها اندازه گیری شد. در روش ریخته‌گری، دستیابی به ضخامت مطلوب ، اپتیمم خواص مکانیکی و فیزیکی وابسته به ترکیب شیمیایی محلول، ویسکوزیته‌ی محلول ریخته شده و نیز سرعت خروج حلال از ترکیب می باشد که ما با ایجاد شرایط بهینه ی ریخته گری به خواص مورد نظر دست یافتیم. لازم به ذکر است که بعد از ریخته گری محلول درون قالب، با محبوس شدن هوا در محلول عیوبی به نام عیب ته سنجاقی در غشای خشک شده ظاهر می گردد که باعث افت استحکام مکانیکی شده و عملکرد بیولوژیکی غشا مبنی بر نفوذ پذیری انتخابی را نیز مختل می کنند.[۸، ۹] در این مطالعه با تنظیم ویسکوزیته ی محلول ریخته شده،کنترل شرایط ریخته‌گری و کنترل سرعت خروج حلال از ترکیب این عیوب در ساختار ظاهر نشدند.

**مواد و روش ها:**

تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. پیله های کرم ابریشم از پرورش دهندگان محلی استان گیلان شهرستان رشت تهیه شد تمامی این پیله ها بدون کپک زدگی و بدون لک روی سطح خارجی پیله بودند. کایتوسان با وزن مولکولی متوسط و درجه دی استیله شدن ۸۵-۷۵ ٪ و لیتیم برماید از شرکت آلدریچ تهیه شدند.برای صمغ زدایی و استخراج فیبروئین نمک کربنات سدیم($Na_2CO_3$) با خلوص بالای ۹۹/۹ درصد از شرکت Merck (آلمان) تهیه شد.تیوپ دیالیز با قابلیت عبور وزن مولکولی KDa ۱۴-۱۲ از شرکت بتاژن( ایران) تهیه شد.آب دو بار تقطیر فوق خالص توسط دستگاه ( LAN SHAN مدلLSRO-701A ) تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.این تحقیق در چندین مرحله و به روش تجربی - آزمایشگاهی و با هدف ساخت غشاهای کامپوزیتی دارای خواص فیزیکی و مکانیکی مطلوبتر، مورد استفاده در بازسازی هدایت شده ی استخوان انجام شد. ابتدا پودر فیبروئین از پیله های کرم بومبیکس موری استخراج شده و سپس برای تایید ساختار فیبروئین استخراج شده، مشخصه یابی فیزیکی- شیمیائی انجام گرفت. در نهایت غشاهای کامپوزیتی به روش ریخته گری ساخته شدند.

ابتدا پیله های کرم بومبیکس موری از تولیدکنندگان محلی در استان گیلان خریداری شد و در روز هفتم برداشت و شفیره داخل پیله با بخار آب داغ از بین رفتند.برای صمغ زدایی الیاف، در حدود ۵ عدد پیله را باز کرده و محتویات آن را دور ریختیم سپس پیله ها با قیچی به ابعاد کوچکتر تبدیل و در ۷۵۰ میلی لیتر سدیم کربنات۲ ۰/ ۰ مولار برای مدت ۲



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

ساعت جوشانده شدند. الیاف بدست امده را سه مرتبه و هر بار برای مدت ۱۵ دقیقه با آب مقطر سرد و گرم آب کشی نموده و برای مدت ۲ شبانه روز در زیر هود خشک کردیم.برای تهیه پودر فیبروئین ، الیاف صمغ زدایی شده به نسبت ۱۰ درصد وزنی درون محلول ۹/۳ مولار لیتیم برماید به مدت ۴ ساعت در۶۰ درجه سانتیی گراد به طور کامل حل شد.محلول حاصل از این مرحله زرد رنگ و کاملا ویسکوز می باشد. محلول غلیظ نمک و فیبروئین برای مدت سه شبانه روز درون غشای دیالیز با ضریب خروجKDa ۱۴-۱۲ ریخته شده و تمامی این مجموعه داخل یک لیتر آب فوق خالص غوطه ور گردید.آب ظرفی که کیسه دیالیز در آن غوطه ور شد در روز اول هر ۴ ساعت یکبار، در روز دوم دوبار و در روز سوم یک بار تعویض شد بعد از این مدت، محتوی کیسه دیالیز درون یک فالون ۵۰ میلی لیتر تخلیه شده و در دمای ۰ ° C برای مدت ۲۰ دقیقه با سرعتrpm ۹۰۰۰ سانتریفیوژ شده و نهایتا برای رسیدن به ساختار پودری شکل، محلول سانتریفیوژ شده برای مدت ۷۲ ساعت در دمای C ° ۶۰- فریز درای شد. فیبروئین استخراج شده با این روش پودر سفید رنگ بوده و برای نگهداری طولانی مدت باید درون فریزر با دمای C ° ۱۸- قرار گیرد. در ادامه به منظور تایید حضور پیوندهای آمینی برای پودر فیبروئین ، آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز طبق استاندارد ASTM E1252-07 در بازه ی $Cm^{-1}$ ۴۰۰۰-۵۰۰ توسط دستگاه FTIR مدل Bruker Vector 33 انجام شد.برای انجام این آنالیز قرص های نازکی از پودرهای فیبروئین و K Br تهیه شده و در دستگاه قرار گرفت همچنین برای بررسی میزان بلورینگی پودر فیبروئین آزمون پراش پرتو ایکس در بازه ۲Θ: ۸°-۷۰° توسط دستگاه XRD مدل Philips pw 3710 ساخت کشور هلند، انجام شد. ساختار پودر سنتز شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی، (SEM) مدل Cambridge S360 1990 مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله ی نهایی و بعد از مشخصه یابی فیزیکی و شیمیائی غشاهای کامپوزیتی به روش ریخته گری ساخته شدند. برای ریخته گری لازم بود تا محلول هایی با غلظت و ویسکوزیته مشخص تهیه شود لذا برای تهیه محلول ۲٪ وزنی کایتوسان، ۲ گرم کایتوسان در ۱۰۰ میلی لیتر محلول آبی فرمیک اسید حل شده و محلول برای مدت ۴ ساعت روی استیرر با سرعت ملایم هم زده شد تا یک ترکیب همگن و یکنواخت ایجاد شود سپس محلول ۱/۵ درصد وزنی فیبروئین با انحلال پودر فیبروئین در فرمیک اسید خالص تهیه شد.پلی وینیل الکل در آب مقطر با دمای c ۱۰۰° به نسبت ۱۰ درصد وزنی-وزنی حل شد و برای مدت ۲ ساعت در آون c ۹۰° تا رسیدن به محلول یکنواخت قرار داده شد.در این مدت محلول توسط شیکرهم زده شد و بعد تا دمای اتاق سرد گردید.برای تهیه محلول ریخته گری، ۲ گرم از محلول ۱۰ درصد پلی وینیل الکل به محلول فیبروئین اضافه شده و محلول حاصل به مدت ۳ ساعت روی استیرر با سرعت rpm ۳۰۰ هم زده شد. محلول های کایتوسان و فیبروئین-پلی وینیل الکل در نسبتهای 20 80، 80 20 مخلوط شده و درون قالب با ابعاد cm ۳ × ۱/۵ و ضخامت cm ۰/۵ ریخته گری شدند سپس در آون با دمای c ۴۵° برای مدت ۳ ساعت قرار گرفته و در نهایت زیر هود با جریان هوای سریع خشک شدند.

اندازه گیری نرخ تخریب غشاها

برای ارزیابی نرخ تخریب غشاها، تمامی نمونه ها در ۳۵ میلی لیتر PBS (Phosphate buffered saline) غوطه ور شده سپس در انکوباتور با دمای C ° ۳۷ قرار گرفتند. میزان تغییرات وزن همه ی نمونه ها هر ۱۰ روز یکبار و به مدت ۶۰ روز اندازه گیری شد. نرخ تخریب غشاها از رابطه ی زیر محاسبه شد[۱۰].

[ $W_0$ وزن خشک نمونه ها قبل از غوطه وری و $W_1$ وزن خشک نمونه ها بعد از غوطه وری ]

$$\text{درصد تخریب} = \left(\frac{W_0 - W_1}{W_0}\right) \times 100$$



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

اندازه گیری درصد جذب آب غشاها

جهت بررسی میزان تورم و جذب عاغشاها از آزمون جذب آب استفاده شد.بدین منظور ابتدا همه ی نمونه ها وزن شدند(وزن خشک) پس از ۲۴ ساعت غوطه وری در محلول نمک بافر فسفاتی، دوباره وزن آن ها(وزن تر) اندازه گیری شد و میزان جذب با استفاده از رابطه زیر تعیین شد[۱۰]. این آزمون برای هر نمونه ۳ بار تکرار شد تا مقدار میانگین و انحراف معیار به دست آید

$$\text{درصد جذب آب} = \left(\frac{\text{Wet}_{\text{mass}} - \text{Dry}_{\text{mass}}}{\text{Dry}_{\text{mass}}}\right) \times 100$$

اندازه گیری خواص مکانیکی غشاها

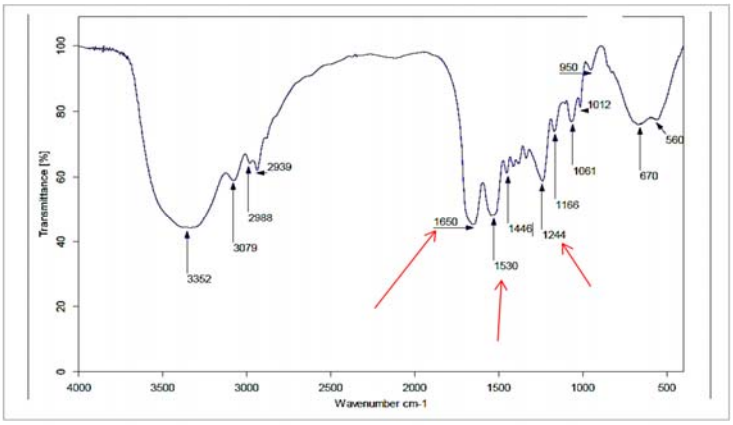
برای اندازه گیری خواص مکانیکی نمونه ها،غشاهای تهیه شده به شکل مستطیل در ابعاد $۳۰\times۱۵mm^2$ مورد بررسی قرار گرفتند.ضخامت نمونه ها در سه بخش مختلف غشاها با ضخامت سنج اندازه گیری شد سپس آزمون کشش در شرایطی که فاصله ی فک ها از هم ۱۵ میلی لیتر بود با سرعت mm/min ۵ در دمای محیط انجام شد.برای انجام آزمون از سلول بارگذاری ۵۰N استفاده شد. مقدار تنش وارد شده به نمونه از تقسیم نیروی وارده حین کشش به سطح مقطع اولیه نمونه به دست آمد.[۱۱]

**آنالیز آماری داده ها**

یافته ها با آزمون های آماری یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند و سطح معنی داری کمتر از ۰/۵درصد معنی دار محسوب می گردد. (P<۰/۰۵)

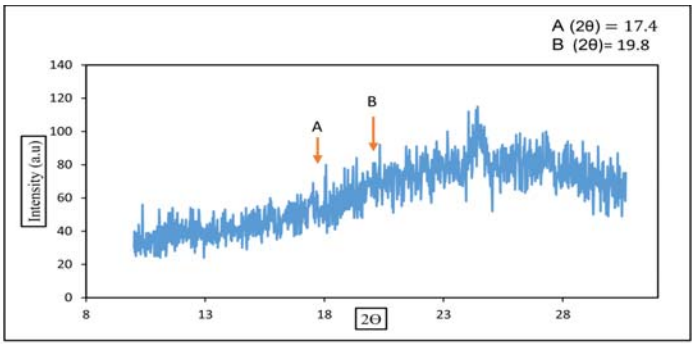
**یافته ها**

پروتئین ها پیک های شاخصی را در فاصله $۱۶۳۰cm^{-1}$ تا $۱۶۵۰cm^{-1}$ برای آمید I و در فاصله ۱۵۲۰ تا $۱۵۴۰cm^{-1}$ برای آمید II و در فاصله ۱۲۳۰ تا $۱۲۷۰ cm^{-1}$ برای آمید III در طیف IR خود نشان می دهند.در نمودار FTIR پودر فیبروئین استخراج شده حضور بارز باندهای آمید I در $۱۶۵۰cm^{-1}$ و آمید II در $۱۵۳۰ cm^{-1}$ و آمید III در $cm^{-1}$ ۱۲۴۴ وجود پروتئین را در ساختار مارپیچی و پیچ های درهم، کاملا تایید می کند. با مقایسه این نمودار با نتایج گزارش شده توسط محققان دیگر این اطمینان حاصل شد که پودر استخراج شده، فیبروئین است.[۱۲] (شکل ۱)




**شکل۱- طیف Fourier transform infrared (spectroscopy) FTIR پودر فیبروئین استخراج شده در این مطالعه**

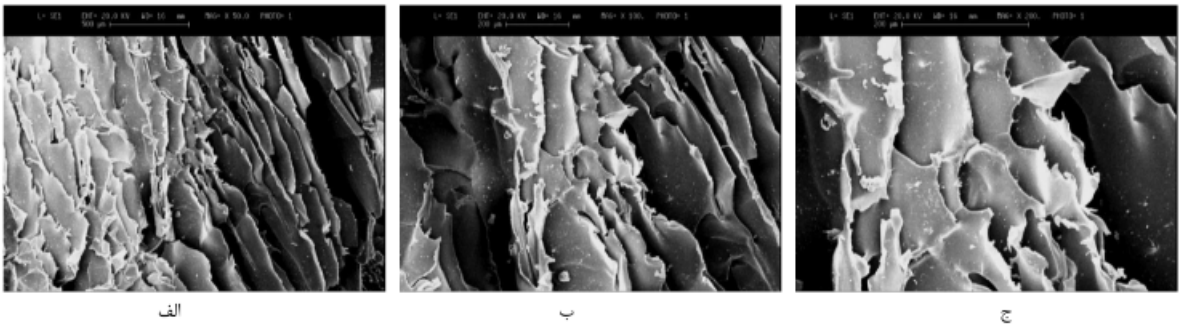
در الگوی پراش پرتو ایکس پودر فیبروئین استخراج شده در این مطالعه، دو پیک شاخص در ۲Θ = ۱۷/۴° و ۲Θ =۱۹/۸° دیده می شود که نشانگر ساختار صفحات بتا می باشد.[۱۳] ساختار صفحات بتا دارای خواص مکانیکی مطلوب تری نسبت به رشته های آلفا بوده و در شرایط معمولی در آب حل نخواهد شد




**شکل۲:الگوی پراش پرتو ایکس پودر فیبروئین استخراج شده.دو زاویه مشخص شده درشکل، نشانگر ساختار صفحات بتا می باشند**



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]




**شکل ۳: تصاویر SEM پودر فیبروئین استخراج شده با نمک لیتیم برماید.شکل (الف) در بزرگنمایی (۵۰)،(ب) در بزرگنمایی (۱۰۰) و (ج) دربزرگنمایی (۲۰۰) می باشد.**

بنابراین در کاربردهای داخل بدن برای بهبود سرعت تخریب، بهتر است با سایر پلیمرهای تخریب پذیر نظیر کایتوسان و کلاژن ترکیب شود تا ضمن دست یابی به خواص مکانیکی مورد نظر، خواص بیولوژیکی مطلوب نیز تامین گردد. (شکل ۲ و ۳)

تصاویر SEM مربوط به پودر فیبروئین استخراج شده نشان دهنده ساختار صفحات بتا بودند. فیبروئین استخراج شده در این مطالعه با نمک لیتیم برماید، کاملا نامحلول در آب بوده و فقط در فرمیک اسید ۹۸ درصد حل شد.در بسیاری از منابع علمی و مطالعات تجربی، بیان شده که فیبروئین نامحلول در آب دارای ساختار صفحات بتا می باشد.با توجه به عدم انحلال پودر سنتز شده در آب و اسیدهایی چون استیک اسید، هیدروکلریک اسید، فسفریک اسید و نیتریک اسید و نیز مقایسه تصاویر SEM و الگوی پراش پرتو ایکس این مطالعه با سایر مطالعات انجام یافته، وجود ساختار صفحات بتا تایید گردید.[۱۴، ۱۵]

در رابطه با فرایند تخریب شدن غشاهای مورد استفاده در بازسازی هدایت شده ی بافت استخوان، باید این نکته را در خاطر داشت که این غشاها باید ۴ الی ۶ هفته پایستاری ساختاری خود را در ناحیه ی مورد استفاده حفظ کرده و بعد از این مدت، فرایند تخریب شدن آغاز گردد به طوری که در مدت زمان ۳ ماه، تخریب انجام شده و محصولات تخریب طی فرایندهای متابولیک در بدن دفع شوند. نتایج آزمون تخریب شدن درطی مدت زمان ۶۰ روز، در جدول زیر ارائه شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش درصد وزنی کایتوسان، سرعت تخریب به شدت افزایش یافته و این در حالی است که افزایش میزان کایتوسان نه تنها روی سرعت تخریب تاثیر مستقیم داشته بلکه خواص مکانیکی و فیزیکی را نیز تحت تاثیر قرار می دهد و باعث افت استحکام مکانیکی غشاها می گردد.با افزایش درصد وزنی فیبروئین در ترکیب، سرعت تخریب کاهش چشمگیری داشته و خواص مکانیکی ارتقا می یابد. مهمترین دلیل استفاده ازپودر فیبروئین در کنار کایتوسان، بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی غشاها می باشد. (شکل ۴)

بررسی میزان جذب رطوبت برای تمامی نمونه ها در شرایط یکسان انجام شد. نتایج نشان داد که وجود فیبروئین و پلی

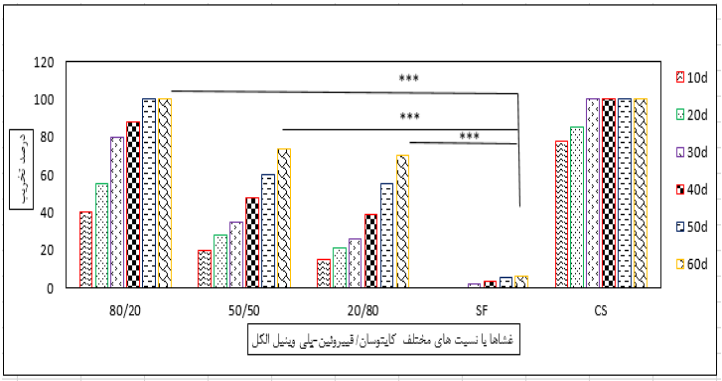


[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

وینیل الکل در ساختار ، قابلیت جذب رطوبت را به شدت کاهش داده و نیز موجب افزایش استحکام غشاها گردید.نتایج این بررسی در جدول زیر گردآوری شده است. (جدول ۱)

**جدول۱- میزان جذب آب غشاهای کامپوزیتی**

| نمونه ها | درصد جذب آب |
|---|---|
| ۸۰/۲۰ | ۱۷۰ ± ۱/۸ |
| ۵۰/۵۰ | ۱۳۸ ±۱/۴ |
| ۲۰/۸۰ | ۹۰ ±۰/۵ |
| کایتوسان خالص | ۲۴۰ ±۱/۱ |
| فیبروئین خالص | ۵۱ ±۱/۵ |




**شکل۴: نمودار سرعت تخریب غشاهای کامپوزیتی طی مدت زمان ۶۰ روز.*** نشان دهنده ی میزان تفاوت بین گروه ها در $p < ۰/۰۰۱$ است.**

نتایج اندازه گیری خواص مکانیکی نشان داد که، با افزایش میزان فیبروئین و پلی وینیل الکل در ترکیب غشاها ، استحکام مکانیکی افزایش می یابد.کایتوسان خالص انعطاف پذیری بیشتری نسبت به فیبروئین خالص داشته و مخلوط نمودن نسبت های معینی از هر یک، اپتیمم خواص مکانیکی و فیزیکی را ایجاد می نماید. غشای حاوی فقط کایتوسان در مقایسه باغشای حاوی فقط فیبروئین انعطاف پذیرتر و الاستیک بوده ولی سرعت تخریب شدن بسیار بالایی داشت که این سرعت تخریب شدن، برای بازسازی هدایت شده ی بافت استخوان مطلوب نیست. افزودن فیبروئین به کایتوسان موجب ایجاد تعادل منطقی بین خواص مکانیکی و فیزیکی می گردد. در این مطالعه فیبروئین در فرمیک اسید خالص حل شد و فرمیک اسید به شدت فرار می باشد لذا کنترل غلظت محلول فیبروئین برای آماده سازی نمونه ها و کنترل سرعت خروج حلال محلول نهایی بسیار دشوار بود ولی مخلوط نمودن پلی وینیل الکل با فیبروئین موجب کاهش سرعت خروج فرمیک اسید از محلول شده و با افزایش ویسکوزیته محلول، موجب افزایش استحکام مکانیکی و تسهیل فرایند ریخته گری شد.یکی از مهمترین عیوب قطعات ساخته شده در روش ریخته گری، محبوس شدن حباب های هوا در محلول و ایجاد عیوب ته سنجاقی می باشد که بعد از خشک شدن نمونه این عیوب در کل قطعه به وضوح دیده می شود.عیوب ته سنجاقی علاوه بر کاهش استحکام مکانیکی غشاها، موجب اختلال در عملکرد نفوذ پذیری آن ها نیز می گردد که در این جا ما با افزایش ویسکوزیته ( با مخلوط کردن پلی وینیل الکل در ترکیب) مانع ایجاد این عیوب شدیم.یکی از مهمترین نکات در این روش نحوه ی آماده سازی محلول نهایی جهت ریخته گری می باشد. بهتر است بعد از مخلوط نمودن محلول های کایتوسان و فیبروئین-پلی وینیل الکل، محلول نهایی را برای مدت ۳ ساعت در یخچال با دمای $3^{o}$ c قرار دهید در این صورت تمام حباب های موجود در محلول کاملا از بین رفته و یک ترکیب همگن و شفاف خواهید داشت. (جدول ۲)

**جدول ۲- نتایج بررسی خواص مکانیکی و اندازه گیری ضخامت غشاها**

| نمونه ها | ضخامت نمونه ها (میلی متر) | Ultimate strain(%) | Tensile stress(MPa) |
|---|---|---|---|
| ۸۰/۲۰ | ۰/۳ | ۴/۵ ± ۰/۲ | ۱/۵ ± ۰/۱۲ |
| ۵۰/۵۰ | ۰/۳ | ۳ ± ۰/۲۵ | ۱/۳ ±۰/۳ |
| ۲۰/۸۰ | ۰/۳ | ۱/۱ ± ۰/۲ | ۱/۱ ± ۰/۲۱ |
| فیبروئین خالص | ۰/۲۸ | ۳/۸ ± ۰/۲ | ۴/۷ ± ۰/۱۲ |



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

**بحث**

به طور معمول در تکنیک بازسازی هدایت شده ی بافت استخوان، انواع مختلفی از غشاهای زیست تخریب پذیر به عنوان سدی در جداسازی بافت پوششی ازبافت آسیب دیده، استفاده می‌شوند. در این مطالعه غشاهای کامپوزیتی از کایتوسان/فیبروئین/پلی وینیل الکل به روش ریخته گری حلال ساخته شده و سپس برخی خواص فیزیکی و مکانیکی غشاها اندازه گیری شدند.طی سال های اخیر، پلیمر کایتوسان به واسطه ویژگی هایی مانند زیست سازگاری زیاد، خاصیت ضدباکتری و نیز انعطاف پذیری در شرایط مرطوب به عنوان گزینه ای مناسب برای مهندسی بافت استخوان، مورد توجه قرار است.پلیمرکایتوسان به تنهایی، به دلیل سرعت تخریب بالا،استحکام مکانیکی پایین در شرایط مرطوب و میزان زیاد جذب رطوبت برای ساخت غشاهای بازسازی کننده ی بافت استخوان مناسب نمی باشد.کامپوزیت کردن کایتوسان باسایر زیست پلیمرها نظیر فیبروئین ابریشم موجب بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی غشاها می گردد. Zhipeng Gu و همکاران در مطالعه ی خود از کامپوزیت کایتوسان/فیبروئین تثبیت شده با alginate dialdehyde برای ترمیم بافت نرم استفاده کردند.نتایج مطالعه ی آن ها نشان داد که با افزایش درصد وزنی فیبروئین در ترکیب،استحکام کششی غشا افزایش یافته و سرعت تخریب شدن کاهش می یابد[۱۰]. طبق مطالعه Sareen Sheik و همکاران بر روی ویژگی های مورفولوژیکی و زیست سازگاری غشای کایتوسان/فیبروئین/پلی وینیل الکل، مشخص گردید که این غشا کاملا زیست سازگار بوده و برای دست یافتن به اپتیمم استحکام کششی، سرعت تخریب شدن بهینه و نیز اپتیمم مقدار تخلخل در غشا لازم است تا نسبت های معینی از کایتوسان و فیبروئین در ترکیب به کار روند[۳].روش های متعددی برای ساخت غشاهای مورد استفاده در بازسازی هدایت شده ی استخوان وجود دارد که هر یک مزایا و محدودیت های مشخصی دارند. انتخاب هر یک از این روش ها به عواملی چون ترکیب شیمیائی غشا،خواص مکانیکی و فیزیکی مورد انتظار، مقرون به صرفه بودن اقتصادی و البته تکرار پذیری روش ساخت بستگی داد. ریخته گری حلال ساده ترین و مرسوم ترین روش برای ساخت این سازه ها می باشد ولی در نظر گرفتن چندین نکته از جمله ویسکوزیته ی محلول، نحوه ی ریختگری محلول درون قالب، کنترل سرعت خروج حلال و نیز فرایند خشک کردن نهایی، ضروری است.[۱۶، ۱۷] الکتروریسی یکی دیگر از روش های بسیار پرطرفدار برای ساخت غشا و ساختارهای فیلم مانند با ضخامت های گوناگون می باشد.الکتروریسی فرایندی جهت تولید انواع نانوالیاف و میکروالیاف از محلول‌های مواد پلیمری می باشد.Shijun Lu و همکاران در مطالعه خود، غشای نانو فیبری فیبروئین را به روش الکتروریسی تهیه کردند. نتایج بررسی آن ها نشان داد غشای الکتروریسی شده استحکام کششی بیشتر و سرعت تخریب شدن کمتری در مقایسه با غشای Bio-Gide® دارد. همچنین حجم استخوان بازسازی شده توسط غشای الکتروریسی شده بسیار بیشتر از نمونه ی Bio-Gide® بود[۱۱]. افزایش درصد وزنی کایتوسان در ترکیب، موجب کلوخه شدن الیاف و افت شدید استحکام مکانیکی می گردد. افزودن پلی وینیل الکل علاوه بر تسهیل فرایند ریسندگی، موجب بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی غشا و جلوگیری از کلوخه شدن الیاف می گردد [۱۸، ۱۹]. K.Paipitak و همکاران[۲۰]، H. Celebi و همکاران[۲۱]، Y Zhang و همکاران [۲۲] و RP Gonçalves و همکاران[۲۳] در مطالعات خود هنگام الکتروریسی ساختارهای حاوی کایتوسان، از پلی وینیل الکل برای بهبود ویسکوزیته ی محلول، تسهیل فرایند ریسندگی، ممانعت از کلوخه شدن الیاف و نیز دست یافتن به خواص مکانیکی و فیزیکی مطلوب استفاده نمودند. این محققان بیان کرده اندکه بر خلاف فیبروئین، کایتوسان به تنهایی قابلیت الکتروریسی را ندارد لذا افزودن ترکیباتی مانند پلی وینیل الکل و کربوکسی متیل



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

سلولز به کایتوسان، موجب تسهیل فرایند الکتروریسی خواهد شد.غشاهای مورد استفاده در بازسازی بافت استخوان باید ویژگیهای فیزیکی و مکانیکی مشخص و معینی را دارا باشند لذا لازم است تا در انتخاب ترکیب شیمیائی غشا و روش ساخت نهایی، مطالعات بسیاری صورت گیرد.

**نتیجه گیری**

کایتوسان یک زیست پلیمر بسیار مطلوب برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان می باشد ولی به دلیل خواص مکانیکی و فیزیکی ضعیف مانند استحکام کششی پایین ،سرعت تخریب شدن بالا و درصد بالای جذب رطوبت، به تنهایی برای ساخت غشاهای بازسازی کننده بافت استخوان مورد استفاده قرار نمی گیرد.کامپوزیت کردن کایتوسان با سایر زیست پلیمرها مانند فیبروئین می تواند موجب بهبود خواص مکانیکی و فیزیکی غشاها گردد.روش های مختلفی برای ساخت غشاها وجود دارد که هر یک مزایا و معایب مشخصی دارند. ریخته گری حلال یکی از ساده ترین و راحت ترین روشها برای ساخت قطعاتی به شکل فیلم نازک می باشد و مهمتر اینکه به لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه بوده و تکرار پذیر نیز است اما در مورد ساخت غشاهای مورد استفاده در بازسازی بافت استخوان با این روش باید به چند نکته توجه داشت: ویسکوزیته محلول در حدی باشد که علاوه بر تسهیل فرایند ریخته گری بتواند خواص مکانیکی،فیزیکی و ضخامت مورد نظر غشاها را تامین کند.دوم این که سرعت خروج حلال از محلول ریخته گری شده کنترل شود تا میزان تشکیل عیوب ته سنجاقی(حفراتی که هوا داخل آنها محبوس شده است) در قطعه ی نهایی به حداقل رسیده و فیلمی با سطح یکنواخت و بدون عیوب ظاهری حاصل گردد.

**تقدیر و تشکر:** این مقاله مستخرج از پایان نامه ی دکترای تخصصی ثبت شده به شماره ۷۸۱۳۹۶۰۵۲ می باشد.



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]

**References:**
1.Meinel L, Fajardo R, Hofmann S, Langer R, Chen J, Snyder B, et al. Silk implants for the healing of critical size bone defects. Bone 2005;37(5):688-98.
2.Gentile P, Chiono V, Tonda-Turo C, Ferreira AM, Ciardelli G. Polymeric membranes for guided bone regeneration. Biotechnology Journal. 2011;6(10):1187-97.
3.Sheik S, Sheik S, Nairy R, Nagaraja G, Prabhu A, Rekha P, et al. Study on the morphological and biocompatible properties of chitosan grafted silk fibre reinforced PVA films for tissue engineering applications. International journal of biological macromolecules 2018;116:45-53.
4.Sionkowska A, Płanecka A. Preparation and characterization of silk fibroin/chitosan composite sponges for tissue engineering. Journal of Molecular Liquids 2013;178:5-14.
5.Bhardwaj N, Kundu SC. Chondrogenic differentiation of rat MSCs on porous scaffolds of silk fibroin/chitosan blends. Biomaterials 2012;33(10):2848-57.
6.Song JM, Shin SH, Kim YD, Lee JY, Baek YJ, Yoon SY, et al. Comparative study of chitosan/fibroin–hydroxyapatite and collagen membranes for guided bone regeneration in rat calvarial defects: micro-computed tomography analysis. International journal of oral science 2014;6(2):87-93.
7.Kim S-G, Kim M-K, Kweon H, Jo Y-Y, Lee K-G, Lee JK. Comparison of unprocessed silk cocoon and silk cocoon middle layer membranes for guided bone regeneration. Maxillofacial plastic and reconstructive surgery 2016;38(1):11.
8.Rajkolhe R, Khan J. Defects, causes and their remedies in casting process: A review. International Journal of Research in Advent Technology. 2014;2(3):375-83.
9.Juriani A. Casting defects analysis in foundry and their remedial measures with industrial case studies. IOSR journal of mechanical and civil engineering 2015;12(6):43-54.
10.Gu Z, Xie H, Huang C, Li L, Yu X. Preparation of chitosan/silk fibroin blending membrane fixed with alginate dialdehyde for wound dressing. International journal of biological macromolecules 2013;58:121-6.
11.Lu S, Wang P, Zhang F, Zhou X, Zuo B, You X, et al. A novel silk fibroin nanofibrous membrane for guided bone regeneration: a study in rat calvarial defects. American journal of translational research 2015;7(11):2244.
12.Mobini S, Solati-Hashjin M, Peirovi H, Samadikochaksaraei A. Extraction and characterization of Bombyx Mori silk for medical application. Iranian Journal of Biomedical Engineering 2011;5:151-60.
13.Drummy LF, Phillips DM, Stone MO, Farmer B, Naik RR. Thermally induced α-helix to β-sheet transition in regenerated silk fibers and films. Biomacromolecules 2005;6(6):3328-33.
14.Qi Y, Wang H, Wei K, Yang Y, Zheng R-Y, Kim I, et al. A review of structure construction of silk fibroin biomaterials from single structures to multi-level structures. International journal of molecular sciences. 2017;18(3):237.
15.Drnovšek N, Kocen R, Gantar A, Drobnič-Košorok M, Leonardi A, Križaj I, et al. Size of silk fibroin β-sheet domains affected by Ca 2+. Journal of Materials Chemistry B 2016;4(40):6597-608.
16.Prieto E, Guelcher S. Tailoring properties of polymeric biomedical foams. Biomedical Foams for Tissue Engineering Applications: Elsevier; 2014. p. 129-62.
17.Parikh T, Gupta SS, Meena AK, Vitez I, Mahajan N, Serajuddin AT. Application of film-casting technique to Investigate drug–polymer miscibility in solid dispersion and hot-melt extrudate. Journal of pharmaceutical sciences. 2015;104(7):2142-52.
18.Choo K, Ching YC, Chuah CH, Julai S, Liou N-S. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-chitosan composite films reinforced with cellulose nanofiber. Materials 2016;9(8):644.
19.Linh NTB, Lee B-T. Electrospinning of polyvinyl alcohol/gelatin nanofiber composites and cross-linking for bone tissue engineering application. Journal of biomaterials applications 2012;27(3):255-66.
20.Paipitak K, Pornpra T, Mongkontalang P, Techitdheer W, Pecharapa W. Characterization of PVA-chitosan nanofibers prepared by electrospinning. Procedia Engineering 2011;8:101-5.
21.Celebi H, Gurbuz M, Koparal S, Dogan A. Development of antibacterial electrospun chitosan/poly (vinyl alcohol) nanofibers containing silver ion-incorporated HAP nanoparticles. Composite Interfaces 2013;20(9):799-812.
22.Zhang Y, Huang X, Duan B, Wu L, Li S, Yuan X. Preparation of electrospun chitosan/poly (vinyl alcohol) membranes. Colloid and Polymer Science 2007;285(8):855-63.
23.Gonçalves RP, Ferreira WH, Gouvêa RF, Andrade CT. Effect of chitosan on the properties of electrospun fibers from mixed poly (vinyl alcohol)/chitosan solutions. Materials Research 2017;20(4):984-93.



[ Downloaded from jrds.ir on 2026-10-10 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.6.0 ]
[ DOI: 10.29252/jrds.15.4.201 ]