



دانشگاه گیلان

دانشکده فنی

گروه مهندسی نساجی

گرایش شیمی نساجی و علوم الیاف

بررسی زیست‌سازگاری نانوالیاف سلولزی تهیه شده از

ساقه برنج

از

مستوره لمعانی

اساتید راهنما:

دکتر اکبر خداپرست حقی

دکتر وحید متقی طلب

استاد مشاور:

دکتر محمدعلی شکرگزار

بهمن

تقدیم بہ پدر بزرگوار و مادر مہربانم

تقدیر و تشکر

از اساتید ارجمند، جناب آقای دکتر اکبر خداپرست حتی و جناب آقای دکتر وحید متهی طلب و از استاد مشاور جناب آقای

دکتر محمد علی سکرگزار به خاطر راهنمایی‌های باارزش و دلسوزی‌های بی‌وقفه‌شان در انجام این پروژه قدر دانی می‌کنم.

همچنین از مسئولین محترم پارک علم و فناوری استان کیلان برای همکاری‌های بی‌شائبه و خدمات آزمایشگاهی نهایت تشکر را دارم.

از مسئولین محترم پژوهشگاه شمال کشور - انستیتو پاستور ایران قدر دانی می‌کنم.

از مسئولین محترم آزمایشگاه‌های گروه مهندسی نساجی سرکار خانم امام قلی پور، سرکار خانم مهندس غمگسار ساکنزادارم.

و از حمایت و زحمات بی‌دریغ پدر و مادر مهربانم کمال تشکر را دارم.

چ	فهرست جدول‌ها
ح	فهرست شکل‌ها
ذ	چکیده فارسی
ر	چکیده انگلیسی

فصل اول : مقدمه و مروری بر منابع

۱	۱-۱- مقدمه
۳	۲-۱- سلولز
۴	۳-۱- سلولز حاصل از منابع تجدیدپذیر و گیاهان علفی
۶	۱-۳-۱- استخراج میکروالیاف و نانوالیاف سلولزی از منابع گیاهی تجدیدپذیر
۸	۲-۳-۱- کاه برنج، سومین پسماند کشاورزی جهان
۹	۳-۳-۱- استخراج سلولز از کاه برنج
۱۱	۴-۱- نانساختارهای سلولزی
۱۱	۵-۱- الکتروریسی، بهترین روش در تولید ممتد نانوالیاف
۱۲	۶-۱- شرح مختصری از تکنیک الکتروریسی
۱۳	۷-۱- تهیه محلول یکنواخت پلیمری، اولین گام در فرایند الکتروریسی
۱۳	۸-۱- حلال‌های متداول سلولز
۱۴	۱-۸-۱- حلال‌های قابل کاربرد در فرایند الکتروریسی مستقیم سلولز
۱۶	۲-۸-۱- مزایا و معایب حلال‌های مستقیم سلولز
۱۷	۹-۱- حلال زیست‌سازگار سلولز
۱۷	۱-۹-۱- انحلال سلولز در محلول‌های یونی
۱۷	۲-۹-۱- انحلال سلولز در محلول‌های آبی
۱۸	۱۰-۱- الکتروریسی مستقیم سلولز با بکارگیری حلال زیست‌سازگار
۱۹	۱۱-۱- انواع کاربردهای نانوالیاف سلولزی تهیه شده به روش الکتروریسی
۱۹	۱۲-۱- مهندسی بافت
۲۱	۱-۱۲-۱- داربست‌های مهندسی بافت
۲۲	۲-۱۲-۱- داربست‌های نانوالیافی مهندسی بافت
۲۴	۳-۱۲-۱- داربست‌های نانوالیاف سلولزی با کاربرد در مهندسی بافت
۲۶	۱۳-۱- تشریح کلی بخش‌های پایان‌نامه

فصل دوم : تشریح روشهای آزمایشگاهی

۲۸	۱-۲- مقدمه
۲۹	۲-۲- تعیین مشخصه‌های سلولز تهیه شده از ساقه برنج
۲۹	۱-۲-۲- طیف‌سنجی مادون قرمز

۲۹	۲-۲-۲- اندازه‌گیری خواص حرارتی
۳۰	۳-۲-۲- پراش اشعه ایکس
۳۰	۳-۲- تهیه محلول ریسندگی سلولز/ آب/ اسید فرمیک
۳۱	۴-۲- تعیین مشخصه‌های محلول ریسندگی
۳۱	۱-۴-۲- کشش سطحی محلول پلیمری
۳۲	۲-۴-۲- هدایت الکتریکی محلول پلیمری
۳۲	۳-۴-۲- ویسکوزیته برشی
۳۳	۵-۲- استفاده از پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل
۳۳	۱-۵-۲- تهیه محلول ریسندگی از نمونه سلولز سوم / آب و بررسی افزودن پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل
۳۳	۲-۵-۲- تهیه محلول ریسندگی از نمونه سلولز سوم/ اسید فرمیک و پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل
۳۳	۶-۲- فرایند الکترورسی
۳۴	۱-۶-۲- ساخت محفظه ایزوله برای سیستم الکترورسی
۳۴	۲-۶-۲- الکترورسی محلول‌های پلیمری
۳۶	۷-۲- تشخیص تشکیل و بهینه‌سازی نانوالیاف
۳۶	۱-۷-۲- تشخیص تشکیل نانوالیاف با استفاده از میکروسکوپ نوری
۳۶	۲-۷-۲- تشخیص مورفولوژی نانوالیاف با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی
۳۶	۸-۲- ساخت و بررسی داربست‌های نانوالیافی
۳۶	۱-۸-۲- تشخیص مورفولوژی داربست نانوالیافی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی
۳۶	۲-۸-۲- طیف‌سنجی مادون قرمز داربست نانوالیافی
۳۷	۹-۲- بررسی زیست‌سازگاری داربست‌های نانوالیافی
۳۷	۱-۹-۲- عصاره‌گیری از داربست
۳۷	۲-۹-۲- آماده‌سازی محلول EDTA/ Trypsin
۳۷	۳-۹-۲- آماده‌سازی محلول بافر نمک فسفات
۳۸	۴-۹-۲- پاساژ سلول
۳۸	۵-۹-۲- نحوه آماده کردن محلول MTT
۳۹	۶-۹-۲- بررسی غیر مستقیم زیست‌سازگاری داربست نانوالیافی ۷۵ درصد سلولز با پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل

فصل سوم : ساخت و بررسی مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی داربست نانوالیافی سلولزی از ساقه برنج

۴۱	۱-۳- مقدمه
۴۱	۲-۳- مواد و تجهیزات
۴۱	۱-۲-۳- مواد
۴۱	۲-۲-۳- تجهیزات
۴۲	۳-۳- بررسی مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی سه نمونه سلولز استخراج شده از ساقه برنج
۴۲	۱-۳-۳- طیف‌سنجی مادون قرمز سه نمونه سلولز استخراج شده از ساقه برنج
۴۴	۲-۳-۳- گرماسنجی پویشی تفاضلی سه نمونه سلولز استخراج شده از ساقه برنج
۴۶	۳-۳-۳- پراش اشعه ایکس سه نمونه سلولز استخراج شده از ساقه برنج
۴۸	۴-۳- بررسی مشخصه‌های محلول‌های الکترورسی سلولز/ آب/ اسید فرمیک

- ۴۹-۳-۴-۱- بررسی کشتش سطحی محلول‌های نمونه سلولز اول، دوم، سوم و نتایج RSM
- ۵۴-۳-۴-۲- بررسی هدایت الکتریکی محلول‌های نمونه سلولز اول، دوم، سوم و نتایج RSM
- ۵۹-۳-۴-۳- بررسی ویسکوزیته محلول‌های نمونه سلولز اول، دوم و سوم
- ۶۲-۳-۵- نمونه سلولز سوم، پلیمر انتخابی برای فرایند الکتروریسی
- ۶۳-۳-۶- الکتروریسی محلول پلیمری بهینه حاصل از نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک
- ۶۳-۳-۶-۱- بررسی اثر ولتاژ
- ۶۴-۳-۶-۲- بررسی اثر دما
- ۶۴-۳-۶-۳- بررسی اثر فاصله نازل و صفحه جمع‌کننده
- ۶۵-۳-۶-۴- بررسی اثر نرخ تغذیه
- ۶۶-۳-۶-۵- نتایج حاصل از الکتروریسی محلول بهینه نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک
- ۶۶-۳-۷- افزودن پلیمر کمکی به محلول الکتروریسی نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک
- ۶۷-۳-۷-۱- افزودن پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل به محلول ریسندگی نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک
- ۶۷-۳-۷-۲- افزودن پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل به محلول ریسندگی نمونه سلولز سوم/ اسید فرمیک
- ۶۸-۳-۸- الکتروریسی محلول پلیمری حاوی ۷۵ درصد نمونه سلولز سوم/ ۲۵ درصد پلی‌وینیل‌الکل/ اسید فرمیک
- ۶۸-۳-۸-۱- بررسی و بهینه‌سازی پارامترهای مرتبط با الکتروریسی (۷۵ درصد نمونه سلولز سوم/ ۲۵ درصد پلی‌وینیل‌الکل / فرمیک اسید)
- ۶۹-۳-۸-۱-۱- بهینه‌سازی اثر دما
- ۷۰-۳-۸-۱-۲- بهینه‌سازی اثر ولتاژ
- ۷۱-۳-۸-۱-۳- بهینه‌سازی اثر نرخ تغذیه
- ۷۲-۳-۸-۱-۴- بهینه‌سازی اثر فاصله نازل و صفحه جمع‌کننده
- ۷۳-۳-۸-۲- نقش پلیمر کمکی در الکتروریسی نانوالیاف سلولزی
- ۷۳-۳-۹- بررسی میکروسکوپی الکترونی روبشی برای تعیین پارامترهای بهینه
- ۷۵-۳-۹-۱- بهینه‌سازی دمای الکتروریسی
- ۷۶-۳-۹-۲- بهینه‌سازی ولتاژ الکتروریسی
- ۷۷-۳-۹-۳- بهینه‌سازی نرخ تغذیه الکتروریسی
- ۷۸-۳-۹-۴- بهینه‌سازی فاصله نازل تا صفحه جمع‌کننده
- ۷۹-۳-۱۰- ساخت داربست‌های نانوالیافی ۷۵ درصد سلولز با پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل
- ۷۹-۳-۱۰-۱- بررسی میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست نانوالیافی ۷۵ درصد سلولز با پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل
- ۸۰-۳-۱۰-۲- طیف‌سنجی مادون قرمز داربست نانوالیافی ۷۵ درصد سلولز با پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل
- ۸۱-۳-۱۰-۳- بررسی زیست‌سازگاری داربست نانوالیافی ۷۵ درصد سلولزی با پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل

فصل چهارم: نتیجه‌گیری و پیشنهادات

- ۸۴-۴-۱- نتیجه‌گیری
- ۸۶-۴-۲- پیشنهادات
- ۸۸- فهرست منابع

فصل اول: مقدمه و مروری بر منابع

۵	جدول ۱-۱- مقادیر سلولز، همی سلولز و لیگنین موجود در منابع لیگنوسلولزی
۷	جدول ۲-۱- مروری بر تهیه میکروالیاف، نانوالیاف و نانوکریستال های سلولزی از سوسپانسیون میکروالیاف سلولزی
۸	جدول ۳-۱- فهرستی از مطالعات انجام شده بر روی شناخت کاربردهای متفاوت کاه برنج
۱۰	جدول ۴-۱- مروری بر تهیه میکروالیاف و نانوالیاف سلولزی از کاه برنج
۱۵	جدول ۵-۱- مروری بر الکترورسی مستقیم سلولز
۱۶	جدول ۶-۱- معرفی مزایا و معایب حلال های قابل کاربرد در الکترورسی مستقیم سلولز
۲۳	جدول ۷-۱- مقایسه روش های متفاوت مورد استفاده در ساخت داربست های پلیمری نانوالیافی
۲۵	جدول ۸-۱- داربست های نانوالیاف سلولزی با کاربرد در مهندسی بافت

فصل دوم: تشریح روش های آزمایشگاهی

۳۰	جدول ۱-۲- آزمایش های طراحی شده بر اساس نرم افزار (DE8) برای تهیه محلول های ریسندگی سلولز/ آب/ اسید فرمیک
۳۵	جدول ۲-۲- جدول آزمایش های طراحی شده توسط (DE8) برای بررسی تاثیر پارامترهای مرتبط با فرایند الکترورسی

فصل سوم: ساخت و بررسی مشخصه های فیزیکی و شیمیایی داربست نانوالیافی سلولزی از ساقه برنج

۴۳	جدول ۱-۳- مهم ترین پیک های مشاهده شده در طیف مادون قرمز سلولز ساقه برنج
۴۸	جدول ۲-۳- نتایج حاصل از پراش اشعه ایکس نمونه سلولز اول، دوم و سوم تهیه شده از ساقه برنج
۴۹	جدول ۳-۳- مقایسه کشش سطحی محلول های نمونه سلولز اول، دوم و سوم تهیه شده از حلال آب/ اسید فرمیک
۵۰	جدول ۴-۳- مقایسه جدول آنوا نتایج آماری برای بررسی پارامترهای موثر بر کشش سطحی محلول های الکترورسی تهیه شده از نمونه سلولز اول ، دوم و سوم
۵۴	جدول ۵-۳- مقایسه هدایت الکتریکی محلول های نمونه سلولز اول، دوم و سوم تهیه شده از حلال آب/ اسید فرمیک
۵۶	جدول ۶-۳- مقایسه جدول آنوا نتایج آماری برای بررسی پارامترهای موثر بر هدایت الکتریکی محلول های الکترورسی تهیه شده از نمونه سلولز اول ، دوم و سوم

فصل اول: مقدمه و مروری بر منابع

- شکل ۱-۱- ساختار شیمیایی زنجیر سلولزی ۳
- شکل ۲-۱- تصویر شماتیکی از پیوندهای هیدروژنی ساختار سلولز ۴
- شکل ۳-۱- (الف) نمای شماتیکی از فرایند الکترورسی، (ب) مخروط تیلور و اعمال بار الکتریکی مخالف، (ج) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوالیاف تهیه شده به روش الکترورسی ۱۲
- شکل ۴-۱- ساختار شیمیایی سلولز -۴- پلی کواترنیوم ۱۹
- شکل ۵-۱- روند صعودی مقالات منتشر شده پیرامون موضوعات مرتبط با مهندسی بافت از سال ۱۹۹۴ تا ۲۰۱۰ ۲۰
- شکل ۶-۱- توزیع کاربردی مهندسی بافت در حوزه‌های متفاوت پزشکی در سال ۲۰۰۹ ۲۰
- شکل ۷-۱- استفاده از داربست متخلخل به عنوان بستر مناسب برای کشت سلول استفاده شده و احیای بافت در محیط آزمایشگاهی و یا بدن انسان ۲۱

فصل دوم: تشریح روش‌های آزمایشگاهی

- شکل ۱-۲- تصویری از تجهیزات بکار رفته برای اندازه‌گیری و مقایسه کشش سطحی محلول‌های ریسندگی ۳۱
- شکل ۲-۲- تصویر دستگاه الکترورسی و محفظه ایزوله ۳۴

فصل سوم: ساخت و بررسی مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی داربست نانوالیافی سلولزی از ساقه برنج

- شکل ۱-۳- تصویر طیف مادون قرمز مربوط به ساقه برنج و سه نمونه سلولز اول، نمونه سلولز دوم و نمونه سلولز سوم ۴۴
- شکل ۲-۳- نمودار حاصل از گرماسنجی پویشی تفاضلی ساقه برنج و سه نمونه سلولز اول، نمونه سلولز دوم و نمونه سلولز سوم تهیه شده از ساقه برنج ۴۵
- شکل ۳-۳- نمودار حاصل از پراش اشعه ایکس نمونه‌های، (الف) ساقه برنج، و نمونه قرار گرفته در معرض بخار آب در فشار بالا برای مدت زمان (ب) ۹ ساعت، (ج) ۲۷ ساعت و (د) ۵۴ ساعت ۴۶
- شکل ۴-۳- نمودار پراش اشعه ایکس سه نمونه سلولز اول، نمونه سلولز دوم و نمونه سلولز سوم تهیه شده از ساقه برنج ۴۷
- شکل ۵-۳- تصویر محلول الکترورسی نمونه سلولز اول، نمونه سلولز دوم و نمونه سلولز سوم با استفاده از سیستم آب / اسیدفرمیک ۴۸
- شکل ۶-۳- نمودار تغییرات کشش سطحی محلول‌های الکترورسی متناسب با تغییرات غلظت پلیمر نمونه سلولز اول و مقدار اسیدفرمیک ۵۱
- شکل ۷-۳- نمودار تغییرات کشش سطحی محلول‌های الکترورسی متناسب با تغییرات غلظت نمونه سلولز دوم و مقدار اسیدفرمیک ۵۲
- شکل ۸-۳- نمودار تغییرات کشش سطحی محلول‌های الکترورسی متناسب با تغییرات غلظت نمونه سلولز سوم و مقدار اسیدفرمیک ۵۳

- شکل ۳-۹- نمودار تغییرات هدایت الکتریکی محلول‌های الکتروریسی متناسب با تغییرات غلظت نمونه سلولز اول و مقدار اسیدفرمیک ۵۷
- شکل ۳-۱۰- نمودار تغییرات هدایت الکتریکی محلول‌های الکتروریسی متناسب با تغییرات غلظت نمونه سلولز دوم و مقدار اسیدفرمیک ۵۸
- شکل ۳-۱۱- نمودار تغییرات هدایت الکتریکی محلول‌های الکتروریسی متناسب با تغییرات غلظت نمونه سلولز دوم و مقدار اسیدفرمیک ۵۹
- شکل ۳-۱۲- نمودار ویسکوزیته محلول الکتروریسی با درصد متفاوت نمونه سلولز اول، آب و اسیدفرمیک ۶۰
- شکل ۳-۱۳- نمودار ویسکوزیته محلول الکتروریسی با درصد متفاوت نمونه سلولز دوم، آب و اسیدفرمیک ۶۱
- شکل ۳-۱۴- نمودار ویسکوزیته محلول الکتروریسی با درصد متفاوت نمونه سلولز سوم، آب و اسیدفرمیک ۶۱
- شکل ۳-۱۵- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک و بررسی اثر ولتاژ ۶۳
- شکل ۳-۱۶- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک و بررسی اثر دما ۶۴
- شکل ۳-۱۷- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک و بررسی اثر فاصله نازل و صفحه جمع‌کننده الیاف ۶۵
- شکل ۳-۱۸- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید فرمیک و بررسی اثر نرخ تغذیه ۶۵
- شکل ۳-۱۹- تشکیل محلول دوفازی حاصل از افزودن پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل به نمونه سلولز سوم/ آب/ اسید-فرمیک ۶۷
- شکل ۳-۲۰- محلول ریسندگی نمونه سلولز سوم/ اسید فرمیک با پلیمر کمکی پلی‌وینیل‌الکل ۶۷
- شکل ۳-۲۱- بررسی اثر دما بر اساس تصاویر میکروسکوپی نوری حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ پلی-وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۶۹
- شکل ۳-۲۲- بررسی اثر ولتاژ بر اساس تصاویر میکروسکوپی نوری حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ پلی‌وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۷۰
- شکل ۳-۲۳- بررسی اثر نرخ تغذیه بر اساس تصاویر میکروسکوپی نوری حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ پلی‌وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۷۱
- شکل ۳-۲۴- بررسی اثر فاصله نازل و صفحه جمع‌کننده الیاف بر اساس تصاویر میکروسکوپی نوری حاصل از الکتروریسی محلول نمونه سلولز سوم/ پلی‌وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۷۲
- شکل ۳-۲۵- بررسی اثر دما بر اساس تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول ۸ درصد وزنی نمونه سلولز سوم/ پلی‌وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۷۵
- شکل ۳-۲۶- بررسی اثر ولتاژ بر اساس تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول ۸ درصد وزنی نمونه سلولز سوم/ پلی‌وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۷۶
- شکل ۳-۲۷- بررسی اثر نرخ تغذیه بر اساس تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول ۸ درصد وزنی نمونه سلولز سوم/ پلی‌وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۷۷
- شکل ۳-۲۸- بررسی اثر فاصله نازل تا صفحه جمع‌کننده الیاف بر اساس تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی حاصل از الکتروریسی محلول ۸ درصد وزنی نمونه سلولز سوم/ پلی‌وینیل‌الکل با نسبت ۲۵:۷۵ در حلال اسید فرمیک ۷۸

- شکل ۳-۲۹- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست نانوالیافی سلولزی با پلیمر کمکی پلی وینیل الکل (نسبت ۲۵/۷۵) در سه بزرگنمایی متفاوت
- ۷۹
- شکل ۳-۳۰- تصویر طیف مادون قرمز مربوط به نمونه پلی وینیل الکل و سلولز و داربست نانوالیافی ۷۵ درصد نمونه سلولز سوم / ۲۵ درصد پلی وینیل الکل / اسید فرمیک
- ۸۰
- شکل ۳-۳۱- تصاویر میکروسکوپ نوری پلاریزه از رشد سلول ها (الف) نمونه کنترل، (ب) نمونه حاوی عصاره سلولز/ پلی وینیل الکل در مدت ۲۴ ساعت، (ج) نمونه حاوی عصاره سلولز/ پلی وینیل الکل در مدت ۴۸ ساعت
- ۸۱
- شکل ۳-۳۲- نتایج زیست پذیری سلول های رشد یافته بر روی داربست نانوالیافی حاصل از سنجش MTT
- ۸۲

بررسی زیست‌سازگاری نانوالیاف سلولزی تهیه شده از ساقه برنج

مستوره لمعانی

سلولز گزینه مناسبی برای ساخت داربست مهندسی بافت می‌باشد. در تحقیق پیش رو از سلولز تهیه شده از ساقه برنج به عنوان منبع تجدیدپذیر، فراوان و ارزان استفاده شده است و تکنیک الکتروریسی به عنوان یکی از موثرترین روش‌ها در ساخت داربست نانوالیافی بکاررفته است. با توجه به اعمال فرایندهای مکانیکی و شیمیایی متعدد حین فرایند استخراج سلولز از ساقه برنج و همچنین بکارگیری حلال شیمیایی در فرایند الکتروریسی، بررسی زیست‌سازگاری نانوالیاف حاصل موضوع پژوهش پیش رو است. این تحقیق شامل بررسی ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی سه نمونه سلولز تهیه شده از ساقه برنج و محلول‌های الکتروریسی تهیه شده از آن‌ها، بررسی و بهینه‌سازی عوامل موثر بر تولید نانوالیاف از محلول الکتروریسی منتخب و در نهایت ساخت و بررسی مشخصه‌های شیمیایی و زیست‌سازگاری داربست نانوالیافی سلولزی است. نتایج حاصل از طیف-سنجی مادون قرمز، گرماسنجی پویشی تفاضلی و پراش اشعه ایکس نشان داد که نمونه سلولز سوم از خلوص بیشتری در مقایسه با دو نمونه دیگر برخوردار است. همچنین با توجه به نتایج بررسی‌های کشش سطحی، هدایت الکتریکی و ویسکوزیته برشی محلول‌های الکتروریسی تهیه شده از هر سه نمونه سلولز در حلال آب/فرمیک اسید، محلول بهینه تهیه شده از نمونه سلولز سوم برای فرایند الکتروریسی انتخاب شد. مطابق با نتایج حاصل از میکروسکوپی الکترونی روبشی، ضمن تولید اجسام لیفی شکل، برای تسهیل شکل‌گیری نانوالیاف سلولزی استفاده از پلیمر کمکی پیشنهاد گردید. پلی‌وینیل‌الکل به عنوان یک پلیمر زیست‌سازگار با قابلیت انحلال در آب و اسیدفرمیک به عنوان پلیمر کمکی، مورد استفاده قرار گرفت. دما و ولتاژ دو عامل بسیار موثر در تشکیل نانوالیاف سلولزی بوده است. الکتروریسی محلول ۸ درصد وزنی حاوی ۷۵ درصد سلولز در حلال اسیدفرمیک منجر به تولید نانوالیاف گردید و پس از بهینه‌سازی دما، ولتاژ، نرخ تغذیه محلول پلیمری و فاصله نازل تا صفحه جمع‌کننده برابر با ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۲۵ کیلوولت، ۱ میکرولیتر بر ساعت و ۱۰ سانتی‌متر، داربست نانوالیافی با میانگین قطر ۸۰/۰۳ نانومتر ساخته شد و مورد بررسی مشخصه شیمیایی و زیست‌سازگاری قرار گرفت. نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز حاکی از وجود گروه‌های مشخصه سلولز و بررسی زیست‌سازگاری داربست نانوالیافی سلولزی از نظر کمی، نشانگر زیست‌پذیری مناسب سلول‌های نرمال فیبروبلاست پوست انسانی بر روی نانوالیاف و عدم سمیت داربست مذکور در مقایسه با گروه‌های کنترل می‌باشد.

کلمات کلیدی: ساقه برنج، الکتروریسی، نانوالیاف سلولز، زیست‌سازگاری

Abstract

The study of biocompatibility for cellulose nanofiber extracted from rice straw

Mastoureh Lamani

Cellulose nanofibers fine application as a tissue engineering scaffolds attributed to biocompatibility and biodegradation. In this study electrospinning is used as an effective method to produce nanofibers from rice straw as a renewable, abundant and cheap resources. Current study including chemical and physical description of three samples of extracted rice straw cellulose, preparing and optimizing of cellulose solutions to select the best one, finally producing, optimizing and characterization of morphological, chemical and biocompatibility of cellulose nanofiber. The results of Fourier transform infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry and X-ray diffraction revealed cellulose3 with more purity. By choosing water/ formic acid as a solvent and according to surface tension, conductivity and shear viscosity results of polymer solutions, third sample of cellulose optimized solution was selected for electrospinning process but the results was fibrous particles. To facilitate the formation of cellulose nanofiber we used polyvinyl alcohol as a secondary polymer. It is biocompatible and soluble in water and formic acid. The polymer solution with 8%wt concentration (75% cellulose) was successfully electrospun. The effective parameter of electrospinning were optimized. According to Optical microscopy and Scanning Electron Microscopy images, temperature and voltage have significant impact to produce continuous cellulose nanofibers without beads. 60 °C, 25 kv. 1 µl/hr and 10 cm optimized to produce cellulose nanofiber scaffold with 80/03 nanometer. The Fourier Transform Infrared Spectroscopy showed the characteristic peaks of cellulose. The quantitative analysis of the biocompatibility tests using human skin fibroblast cell culture demonstrate the nontoxicity of cellulose nanofiber scaffold compared to control sample.

Key words: Rice straw, Electrospinning, cellulose Nanofiber, biocompatibility

فصل اول

مقدمه و مروری بر منابع

در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای پیرامون شناخت و معرفی مواد و منابع نو، با کارایی بالا توأم با قیمت مناسب انجام شده است. با توجه به رشد روزافزون جمعیت جهان، کاهش ذخیره منابع فسیلی و از سوی دیگر بروز مشکلات زیست-محیطی ناشی از مصرف آن، تلاش‌های صورت گرفته در این راستا به طور عمده متمرکز بر مواد زیست‌سازگار^۱، تجدیدپذیر^۲، زیست تخریب‌پذیر^۳ با قابلیت بازیافت^۴ است [۱]. در حال حاضر سلولز^۵ با تولید سالانه نزدیک به $10^{12} \times 1.5$ تن در طبیعت، از فراوان‌ترین پلیمرهای موجود در سرتاسر جهان بشمار می‌رود. در سال‌های اخیر نانوالیاف سلولز^۶ و کامپوزیت‌های^۷ تهیه شده از آن سیر جدیدی از پژوهش‌ها را پیش روی محققان قرار داده‌اند. گیاه و چوب از مهمترین منابع الیاف سلولزی به شمار می‌روند. از این بین، نانوالیاف سلولزی تهیه شده از گیاه با توجه به فراوانی و تجدیدپذیری منبع ماده اولیه از اهمیت بسزایی برخوردار است. نانوالیاف سلولزی با دارا بودن ویژگی‌های برتر همچون نسبت بالای سطح به حجم و استحکام کششی، سختی، انعطاف‌پذیری بالا به همراه پایداری حرارتی و الکتریکی مناسب با سایر الیاف تجاری قابل مقایسه است [۲-۴]. ویژگی‌هایی همچون سمی نبودن، قابلیت تورم بالای آن در آب، سازگاری با بافت‌های سخت و نرم، پایداری در برابر تغییرات دما و اسیدیته، همچنین امکان تهیه آن به اشکال و حالت‌های متنوع با درصد‌های متفاوت تخلخل، سلولز را به عنوان یک بیوپلیمر مناسب در طراحی و ساخت داربست‌های مهندسی بافت^۸ معرفی کرده است [۵]. الکتروریسی تکنولوژی تولید الیاف به روش الکترواستاتیک است. توانایی در ریسندگی انواع الیاف پلیمری و امکان تولید مداوم الیاف با قطرهایی در مقیاس زیرمیکرون این روش را نسبت به سایر تکنولوژی‌های ریسندگی متمایز کرده است. در طول ۵۰ سال اخیر الکتروریسی مستقیم سلولز همواره مورد توجه بوده است. تاکنون چندین سیستم حلال مستقیم بدین منظور کشف و بهینه‌سازی شده‌اند و این در حالی است که قیمت و سمیت حلال، نیاز به دمای بالا برای انحلال و نیاز به حمام انعقاد از مشکلات پیش رو در الکتروریسی مستقیم سلولز است. از این رو در سال‌های اخیر با توجه به کاربردهای متنوع نانوالیاف سلولزی به ویژه مهندسی بافت، معرفی حلال مستقیم و زیست‌سازگار، ارزان، در دسترس با فرایند انحلال و ریسندگی آسان برای تولید نانوالیاف سلولزی به روش الکتروریسی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است.

1. Biocompatible

2. Renewable

3. Biodegradable

4. Recyclable

5. Cellulose

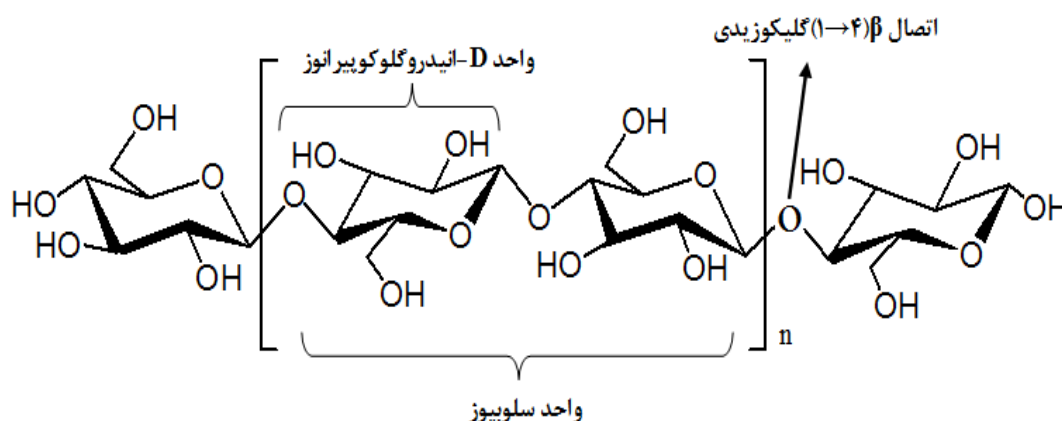
6. Cellulose nano fiber

7. Composites

8. Tissue engineering scaffolds

۲-۱- سلولز

سلولز به عنوان ترکیب اصلی دیواره سلولی گیاه، به طور عمده در مواد لیگنوسلولزی^۱ وجود دارد. سلولز یک هوموپلیمر سیندیوتاکتیک^۲ خطی و متشکل از پیوندهای β -(۱ \rightarrow ۴) - گلایکوزید متصل به واحدهای D- آنهیدروگلوکوپیرانوز^۳ است. آلفا سلولز با ساختار فیبریله توأم با درصد بلوری بالا، نقش موثری را در تامین استحکام مکانیکی دیواره سلولی گیاه ایفا می‌کند و از سوی دیگر وجود پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی و بین مولکولی بر پایداری شیمیایی و مکانیکی وی افزوده است. سلولز با فرمول شیمیایی $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$ (n درجه پلیمریزاسیون گلوکز) نشان داده می‌شود. درجه پلیمریزاسیون زنجیر سلولزی ۱۰۰۰۰ و برای سلولز پنبه ۱۵۰۰۰ تخمین زده شده است [۲]. ساختار شیمیایی و پیوندهای هیدروژنی موجود در ساختار آن به ترتیب در شکل ۱-۱ و شکل ۲-۱ نشان داده شده است.

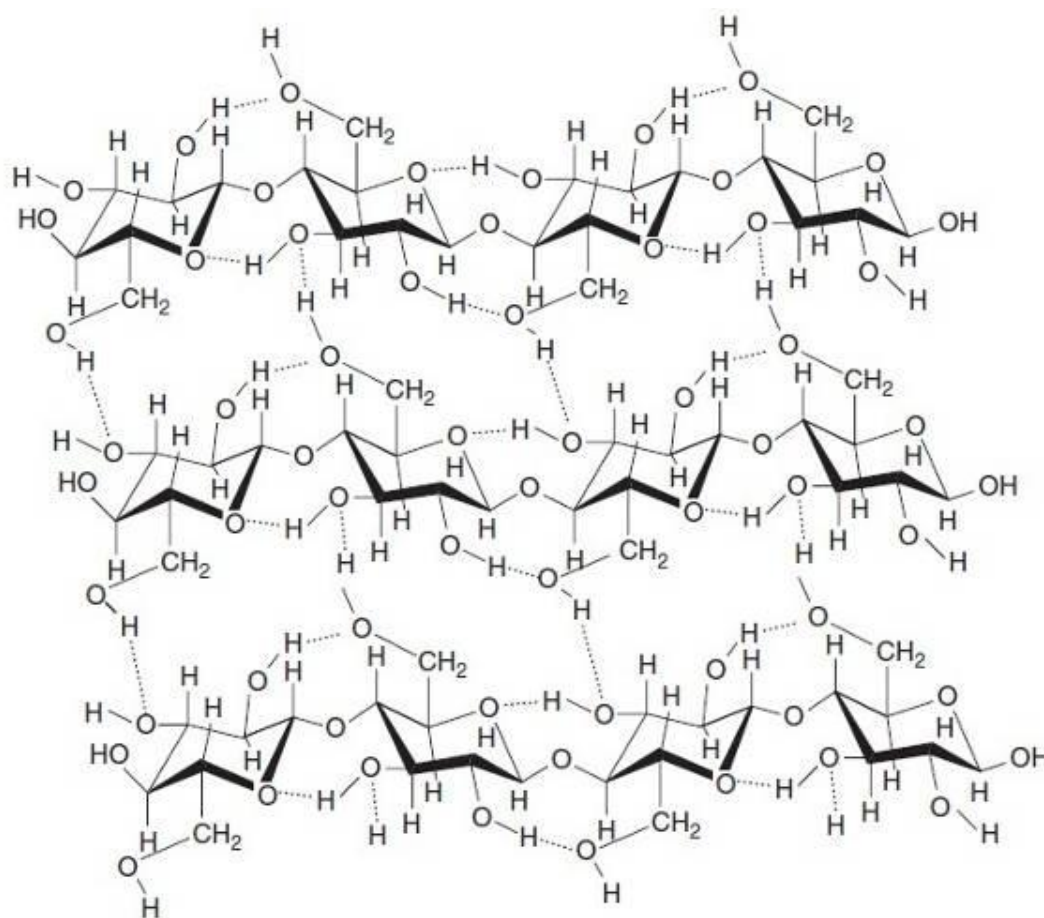


شکل ۱-۱- ساختار شیمیایی زنجیر سلولزی [۲].

¹. Ligno cellulosic

². Syndiotactic

³. D-anhydroglucopyranose



شکل ۱-۲- تصویر شماتیکی از پیوندهای هیدروژنی ساختار سلولز با نقطه چین نشان داده شده‌اند [۶].

۳-۱- سلولز حاصل از منابع تجدیدپذیر و گیاهان علفی

در ۵۰ سال اخیر پژوهش‌های بسیاری با هدف بهره‌وری از منابع تجدیدپذیر و پسماند مزارع کشاورزی صورت گرفته است. که با توجه به توزیع وسیع این مواد در سرتاسر جهان، تجدیدپذیری، زیست تخریب‌پذیری و تنوع آن، به عنوان یک منبع ایده‌آل لیگنوسلولزی با کاربردهای متنوع شناخته شده‌اند [۷،۸]. در جدول ۱-۱ به طور خلاصه مهمترین منابع لیگنوسلولزی معرفی شده‌اند.

جدول ۱-۱- مقادیر سلولز، همی سلولز و لیگنین موجود در منابع لیگنوسلولزی [۹،۱۰].

منابع لیگنوسلولزی	سلولز (درصد وزنی)	همی سلولز (درصد وزنی)	لیگنین (درصد وزنی)	واکس (درصد وزنی)
چوب	کاج	۵۵/۹	۱۳/۷	۲۶/۲
	چوب تاک	۴۱/۱	۲۶	۲۰/۳۷
	بامبو	۴۳-۲۶	۳۰	۳۱-۲۱
ساقه و برگ	کتان	۷۱	۲۰/۶-۱۸/۶	۲/۲
	کناف	۷۲	۲۰/۳	۹
	جوت	۶۱-۷۱	۱۴-۲۰	۱۲-۱۳
	کنف	۶۸	۱۵	۱۰
	رامی	۶۸/۶-۷۶/۲	۱۳-۱۶	۰/۶-۰/۷
	آپاکا	۵۶-۶۳	۲۰-۲۵	۷-۹
	سیسال	۶۵	۱۲	۹/۹
	تفاله‌ی نیشک	۵۵/۲	۱۶/۸	۲۵/۳
	گیاهان علفی	کاه گندم	۳۸-۴۵	۱۵-۳۱
سبوس برنج	۳۵-۴۵	۱۹-۲۵	۲۰	۱۴-۱۷
کاه برنج	۴۱-۵۷	۳۳	۱۸-۱۹	۸-۳۸

در بسیاری از کشورها، کاه حاصل از زمین‌های تحت کشت محصولات همچون گندم، برنج، ذرت و سویا با فرارگیری در گروه گیاهان علفی، از منابع مهم لیگنوسلولزی بشمار می‌رود. سلولز به عنوان بخش اصلی دیواره سلولی گیاه، در ساختار فشرده و مستحکم از همی سلولز و لیگنین قرار گرفته است و مقدار آن به گونه گیاه، نحوه رشد، رطوبت و شرایط جغرافیایی منطقه بستگی دارد. بر اساس نتایج بدست آمده، ۴۵-۳۵٪ از وزن خشک نمونه‌های حاصل از کاه‌های مختلف را سلولز به خود اختصاص داده است و مقدار آن در کاه گندم، برنج، گندم سیاه، جو، جو صحرایی، تفاله نیشکر، ساقه ذرت و چوب ذرت به ترتیب ۳۸/۶، ۳۶/۵، ۳۷/۹، ۳۴/۸، ۳۸/۵، ۳۹/۲ و ۴۳/۲٪ گزارش شده است. از این رو در دهه اخیر، این منبع تجدیدشدنی،

فراوان، ارزان به عنوان تامین کننده ماده اولیه مورد نیاز در حوزه‌های مختلف از جمله سوخت و انرژی [۱۱-۱۳]، مواد شیمیایی [۱۴،۱۵]، کاغذ، ساختمان و بیوکامپوزیت‌ها [۱۶-۱۸] توجه بسیاری را به خود جلب کرده است [۱۹،۲۰].

۱-۳-۱- استخراج میکروالیاف و نانوالیاف سلولزی از منابع گیاهی تجدیدپذیر

تاکنون تلاش‌های بسیاری پیرامون استخراج میکروالیاف و نانوالیاف سلولزی از منابع تجدیدپذیر لیگنوسلولزی صورت گرفته است و روش‌های متنوعی از جمله استخراج مکانیکی [۲۰،۲۱]، تکنیک‌های بیولوژیکی و آنزیمی [۲۲]، استخراج مکانیکی- شیمیایی [۲۳]، هموژن‌سازی در فشار بالا^۱ [۲۴]، هیدرولیز اسیدی^۲ [۲۵]، تکنیک انفجار بخار^۳ [۲۶] و همگن-سازی مافوق صوت^۴ [۲۷] بدین منظور ارائه شده است. بر اساس نتایج حاصل منبع لیگنوسلولزی و روش استخراج بر مورفولوژی نانوالیاف موثر است [۲۸]. در جدول ۱-۲ به برخی از پژوهش‌های مرتبط با تهیه میکروالیاف، نانوالیاف و نانوکریستال‌های سلولزی از سوسپانسیون میکروالیافی تهیه شده از منابع متفاوت لیگنوسلولزی اشاره شده است. با مشاهده مقایسه تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی هر نمونه می‌توان پی برد، که منبع اولیه سلولز و روش استخراج بر قطر، طول و مورفولوژی الیاف سلولزی حاصل تاثیر مستقیم داشته است.

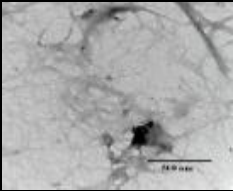
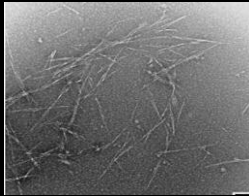
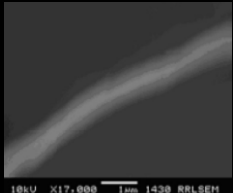
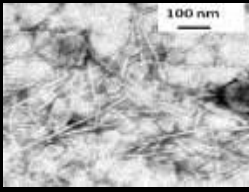
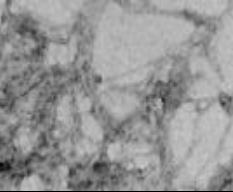
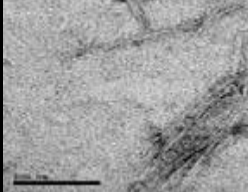
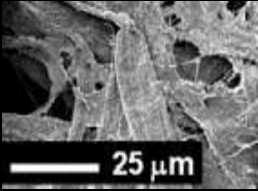

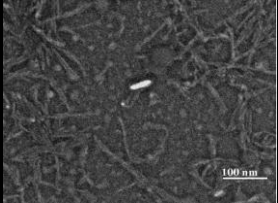
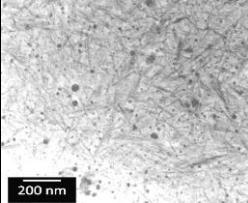
¹. High pressure homogenizing processes

². Acid hydrolysis

³. Steam explosion

⁴. High-intensity ultrasonication

جدول ۱-۲- مروری بر تهیه میکروالیاف، نانوالیاف و نانوکریستال‌های سلولزی از سوسپانسیون میکروالیاف سلولزی.

حذف لیگنین، همی سلولز، سیلیس و تهیه سوسپانسیون میکروالیاف سلولزی				نانوکریستال سلولز			
میکروالیاف و نانوالیاف سلولز				آماده‌سازی شیمیایی			
آماده‌سازی مکانیکی و شیمیایی				آماده‌سازی شیمیایی			
تصویر میکروسکوپی	منبع	منبع	قطرو طول (نانومتر)	تصویر میکروسکوپی	منبع	منبع	قطرو طول (نانومتر)
	[۳۰]	کاه گندم	۶۰-۱۰		[۲۹]	لیف نارگیل	۵ و ۳۵۰
	[۳]	لیف موز	۱۰۰۰		[۳۱]	تفاله‌ی نیشکر	۲۵۵±۵۵ و ۴±۲
	[۳۳]	کاه گندم	۵۰-۱۰		[۳۲]	سوس برنج	۱۰۰-۴۰۰ و ۶-۱۴
	[۳۵]	اوکالیتوس	۲۰-۵۰ و ۲۵۰-۲۰۰		[۳۴]	پوست لوبیا	۲.۷۷±۰.۶۷
	[۳۷]	گیاهان عافی	۵۰		[۳۶]	کف	۱۰-۳