

ساخت و بررسی خواص نانوکامپوزیت طبیعی و زیست سازگار کایتوسن/مگنتیت

فاطمه حیدری*^۱، رضا بازرگان لاری^۲، محمدابراهیم بحر العلوم^۳

۱- استادیار، گروه مهندسی مواد، دانشکده مهندسی، دانشگاه یاسوج، کهگیلویه و بویر احمد، ایران

۲- استادیار، گروه مهندسی مواد، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۳- استاد، گروه مهندسی مواد، دانشکده مهندسی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران

*f.heidari@yu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۳/۱۹، تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۵/۱۹)

چکیده

کایتوسن و مگنتیت هردو ماده ای زیست سازگار و زیست تخریب پذیر هستند. در این مقاله نانوکامپوزیت کایتوسن طبیعی و مگنتیت با روش جدید رسوب دهی در جا ساخته شده است. کایتوسن به کار رفته شده در این نانوکامپوزیت از پوست میگوی صید شده از خلیج فارس، استخراج شده و درصد استیله زدایی آن برابر با ۷۳/۵ درصد می باشد. مورفولوژی سطح این نانوکامپوزیت، اندازه نانوذرات مگنتیت رسوب داده شده در زمینه کایتوسن و همچنین تعیین گروه های عامل مواد تشکیل دهنده آن به ترتیب با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و اسپکتروسکوپی مادون قرمز (FTIR) انجام شده است. تشخیص نانوذرات مگنتیت و بررسی اندازه بلور آن با آنالیز تفرق اشعه ایکس (XRD) انجام گردید که نتیجه حاصل ۲۳/۵ نانومتر بود. اندازه گیری های مغناطیسی به کمک دستگاه VSM نشان داد که شدت مغناطیس اشباع برابر با $3/04 \text{ emug}^{-1}$ می باشد، همچنین مقدار نیروی کورسیو برابر با ۱۲۸/۳۹ Oe است. نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت با مقدار کمتر مگنتیت مغناطیس اشباع کمتری دارد. این نتایج نشان دادند که نانوکامپوزیت حاصل پارامغناطیس می باشد. همچنین به منظور بررسی زیست سازگاری، نمونه های تولید شده در حضور سلول های بنیادی کشت داده شدند و نتایج بدست آمده زیست سازگاری نانوکامپوزیت حاصل را تایید کرد.

واژه های کلیدی:

کایتوسن، مگنتیت، نانوکامپوزیت، زیست سازگاری.

۱- مقدمه

در نتیجه اغلب عمل جراحی ثانویه برای بیرون آوردن کاشتنی فلزی بعد از بهبود استخوان لازم است که این عمل برای بیمار، سخت و هزینه بر است. کاشتنی های پلیمری تخریب پذیر نیاز به عمل ثانویه را منتفی کرده و می توانند از بروز بعضی مشکلات

کاشتنی های فلزی بطور گسترده به منظور معالجه استخوان به کار می روند [۱]. اما برخی مشکلات خاص از قبیل تنش های ناشی از بهبود استخوان، تورم مزمن بدلیل خوردگی، خستگی و سست شدن کاشتنی با استفاده از آنها به وجود خواهد آمد [۲].

مغناطیسی خارجی تحت تاثیر قرار می گیرند بنابراین در جهت دار کردن رشد سلول های استخوان ساز تاثیر بسزایی خواهند داشت [۱۰]. حاملین نانویی مغناطیسی عملکرد خوبی دارند چرا که سطح مخصوص بیشتر و مقاومت در برابر نفوذ داخلی کمتری را دارا می باشند [۱۱].

بر پایه گزارشات اخیر، حضور نانو اکسیدهای آهن در هیدروکسی آپتایت می تواند نفوذناپذیری در برابر اشعه و هم چنین فعالیت تکثیر یاخته استخوان ساز را افزایش دهند [۱۲]. هیدروکسی آپتایت دوپ شده با Fe_3O_4 حلالیت بهتر در محلول های فیزیولوژی را در مقایسه با هیدروکسی آپتایت تنها از خود نشان می دهد [۱۳]. همچنین هو و همکارانش روی ساخت نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت به منظور کاربردهای زیست پزشکی کار کردند و ویژگی های آن را بررسی کردند. آنها در ساخت این نانوکامپوزیت از روش رسوب دهی درجا استفاده کردند و کایتوسن مورد استفاده آنها مصنوعی بود [۱۴]. هدف از این پژوهش، ساخت و بررسی خواص نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت می باشد. دلیل استفاده از کایتوسن در کنار مگنتیت به دلیل زیست تخریب پذیر بودن کایتوسن در محیط بدن و محلول های فیزیولوژیکی می باشد. همچنین سلول های زنده می توانند در اطراف این نانوذرات فعالیت کرده و بافت پيله ای را تشکیل دهند [۱۲]. کایتوسن بعد از قرار گیری در این محیط ها شروع به تجزیه می کند به این ترتیب سلول های استخوانی تولید شده به راحتی در فضای حفره های بوجود آمده در نتیجه تخریب کایتوسن قرار گرفته و شروع به رشد می کنند. همچنین دلیل استفاده از مگنتیت به عنوان بخش دوم این نانوکامپوزیت این است که مگنتیت در حضور میدان مغناطیسی خارجی می تواند به رشد این سلول های استخوانی جهت دهد. به منظور تهیه این نانوکامپوزیت از کایتوسن طبیعی استفاده شده به این صورت که کایتوسن از پوست میگو استخراج شده است که مطمئناً نسبت به نوع مصنوعی خود از نظر اقتصادی مقرون به صرفه تر هستند. نانوذرات مگنتیت به روش رسوب دهی درجا در زمینه کایتوسن رسوب داده شد. به این ترتیب با توجه به خواص هر دو

از قبیل تنش های بعد از بهبود استخوان، جلوگیری به عمل آورند. علاوه بر این، می توانند همزمان برای دارو رسانی یا تسریع رشد استخوان استفاده شوند [۳].

در حقیقت، مواد مطلوب در استفاده های اورتوپدی مواد زیست-تقلیدی زیست تخریب پذیر هستند که بتوانند تشکیل استخوان جدید توسط سلول های استئوجنیک در بافت آسیب دیده را ترغیب کنند. به طور ایده آل، این مواد باید به صورت چوب بست های متخلخل باشند که مکانی برای پیشرفت و توسعه بافت را فراهم آورده و هم چنین بتوانند یک محافظ مکانیکی نیز باشند. مواد زیستی مناسب برای بافت های استخوانی سخت شامل سرامیک هایی از قبیل هیدروکسی آپتایت و یا تری کلسیم فسفاتو پلیمرهایی چون پلی هیدروکسیل اسید، پلی لاکتیک اسید، پلی گلایکولیک اسید یا کوپلیمر آنها پلی لاکتیک اسید-گلایکولیک اسید می باشد [۴].

کایتوسن به عنوان پلیمر جایگزین مورد استفاده در کاربرد های اورتوپدی پیشنهاد می شود چرا که زیست سازگاری خوبی دارد [۵]، غیر سمی و زیست تخریب پذیر است و در درمان جراحات ها و زخم های مادرزادی موثر است [۶-۷]. کایتوسن که عمدتاً از دی استیله کردن کایتین بدست می آید، یک پلی ساکاراید کاتیونی طبیعی می باشد.

به منظور افزایش زیست فعالیت و خواص مکانیکی مواد مورد استفاده در ترمیم استخوان آسیب دیده، یک روش مناسب تهیه چوب بست کامپوزیتی از دو فاز آلی و معدنی می باشد [۸].

مگنتیت ماده دیگری است که در کامپوزیت های زیست تخریب پذیر با کاربردهای پزشکی در زیست سنسورها، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی، سنجش ایمنی، گرمادرمانی و سیستم های دارو رسانی مورد استفاده قرار می گیرد. به این منظور سطح نانوذرات فریت با مواد زیست سازگاری از قبیل طلا، کایتوسن، سیلیکا، تیتانیا و هیدروکسی آپتایت پوشش داده می شود. در این بین، نانوذرات فریت پوشش داده شده با هیدروکسی آپتایت امیدبخش تر هستند [۹]. بزرگترین فایده این نانوذرات سوپرپارامغناطیس این است که به راحتی توسط یک میدان

محلول به مدت یک ساعت در دمای اتاق همزده می شود. بعد از قالبگیری محلول حاصل به مدت دوازده ساعت نگه داشته می شود تا حباب های آن خارج شود. بعد از قالب گیری مدل فوق در محلول ۵٪ هیدروکسید سدیم به مدت دوازده ساعت خیسانده می شود، این کار باعث می شود تا یک لایه کایتوسن روی دیواره درونی مدل تشکیل شود. و سپس با آب مقطر شستشو داده می شود تا مقدار pH سطح به ۷ برسد. در نهایت این کامپوزیت زلی شکل در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت نگه داشته می شود تا بطور کامل خشک شود. مقدار کاهش ابعاد آن در حین خشک شدن تقریباً به اندازه ۵۰٪ می باشد. به این ترتیب نانو کامپوزیت کایتوسن/مگنتیت تهیه می شود.

۲-۳- آنالیز تفرق اشعه ایکس (XRD)

ساختار کریستالی و فازهای موجود در چوب بست حاصل با تفرق اشعه ایکس (Bruker AXS D8 Discover) مورد آنالیز کیفی قرار می گیرد. پراش پرتو ایکس در محدوده ۱۵ تا ۸۰ درجه و با سرعت ۰/۰۵ درجه بر ثانیه ثبت می گردد.

۲-۴- آنالیز مادون قرمز (FTIR)

ساختار ترکیبی چوب بست تولید شده با طیف IR بدست می آید. این آنالیز در محدوده طول موج ۳۰۰ تا 4000 cm^{-1} انجام می پذیرد. به منظور انجام این آنالیز نمونه های مورد نظر به صورت پودر در آورده می شوند و پس از مخلوط سازی با KBr و تبدیل قرص مورد نظر مورد آنالیز قرار می گیرند.

۲-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

تصاویر میکروسکوب الکترونی روبشی (Oxford Leo 440) مورفولوژی و تخلخل این نانو کامپوزیت را نشان می دهند. به این منظور، نمونه ها بر روی استب های آلومینیمی با نقره پوشش داده می شوند (Polaron SC 7640).

جزء این نانو کامپوزیت، یک داربست زیست سازگار از کایتوسن/مگنتیت تولید خواهد شد که خواص آن مورد بررسی قرار می گیرد. به منظور بررسی ویژگی های ترکیبی، مورفولوژی و زیست سازگاری این نانو کامپوزیت از SEM, TEM FTIR, XRD, VSM و کشت سلولی در حضور سلول های بنیادی استفاده شده است.

۲- فعالیت های آزمایشگاهی

۲-۱- استخراج کایتوسن از پوست میگو

ابتدا پوست میگو ها باید شسته شوند. پس از شستشوی کامل نمونه ها را باید آسیاب کرد. برای از بین بردن پروتئین های موجود در پوست میگوها از محلول ۵ درصد وزنی هیدروکسید سدیم در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد استفاده می شود. مواد معدنی زدایی معمولاً به وسیله محلول آبکی اسید کلریدریک ۱۰ درصد وزنی انجام می شود. همچنین این فرایند به از بین بردن سموم موجود در پوست میگو نیز کمک می کند. برای بدست آوردن محصولی سفید رنگ از کلروفورم، اتر یا اتانول استفاده می شود. کایتوسن یکی از مشتقات کایتین است و برای تهیه آن باید گروه های استیل کایتین را از بین برد. این کار در یک محیط قلیایی انجام شده و استیله زدایی نامیده می شود. تبدیل کایتین به کایتوسن با استفاده از هیدروکسی سدیم یا هیدروکسی پتاسیم غلیظ صورت می پذیرد. به این منظور غلظت محلول قلیایی باید ۴۰-۵۰ درصد وزنی بوده و دما به ۱۰۰ درجه سانتی گراد رسانده شود [۱۵].

۲-۲- تهیه نانو کامپوزیت مگنتیت/کایتوسن

به منظور تهیه این نانو کامپوزیت از روش رسوب دهی درجا استفاده می شود. به این صورت که ابتدا محلول کایتوسن در اسید استیک ۲٪ حل می شود و هم زده می شود تا یک محلول ویسکوز یکدست تهیه شود. بعد از آن نمک های کلرید فریک و فرو (خلوص ۹۹٪، شرکت سازنده Merck) با نسبت ۲ به ۱ در آب مقطر حل شده و به محلول حاصل افزوده می شود. این

۲-۶- مغناطیسی سنج لرزاننده نمونه (VSM)

خواص مغناطیسی نانوذرات مگنتیت با استفاده از VSM انجام گرفت. نمونه های پودر شده تحت میدان مغناطیسی اعمالی بین $189\text{kOe} \pm 5$ و در دمای محیط مورد آزمایش قرار گرفتند.

گذشت هفت روز نمونه ها با فلورسنس به طول موج ۵۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر مورد بررسی قرار می گیرند. در نهایت تعداد کل سلول های زنده چسبیده شده به نمونه با استفاده از منحنی استاندارد قابل تعیین می باشد.

۲-۷- کشت سلولی

کشت سلولی در حضور Human Mesenchymal Stem Cells انجام گردید. این سلول ها از مغز استخوان انسان جدا شده اند (lifetechnology # A15652) و در محیط MesenPRORS در اتمسفر دی اکسید کربن ۵٪ و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شده اند. سلول های خریداری شده ابتدا در فلاسک های ۷۵ سانتی متر مربعی تحت کشت قرار گرفتند و به مدت سه روز رشد داده شدند. سپس به فلاسک های جدید با همان ابعاد و با غلظت ۴۰۰۰ سلول در واحد سطح منتقل شدند. محیط کشت هر دو روز یکبار تازه می شد. فلاسک ها با محلول PBS شستشو داده می شدند. تکثیر سلول روی هر نمونه با استفاده از PrestoBlue ساخت امریکا اندازه گیری شد که به منظور اندازه گیری از نور فلورسنت کمک می گرفت. نمونه ها هر دو ساعت یکبار با اشعه فرابنفش استریلزه می شدند و در صفحات کشت ۲۴ تایی قرار داده می شدند تا کمترین تماس را باهم داشته باشند. هر نمونه با 8×10^4 سلول کشت داده شدند.

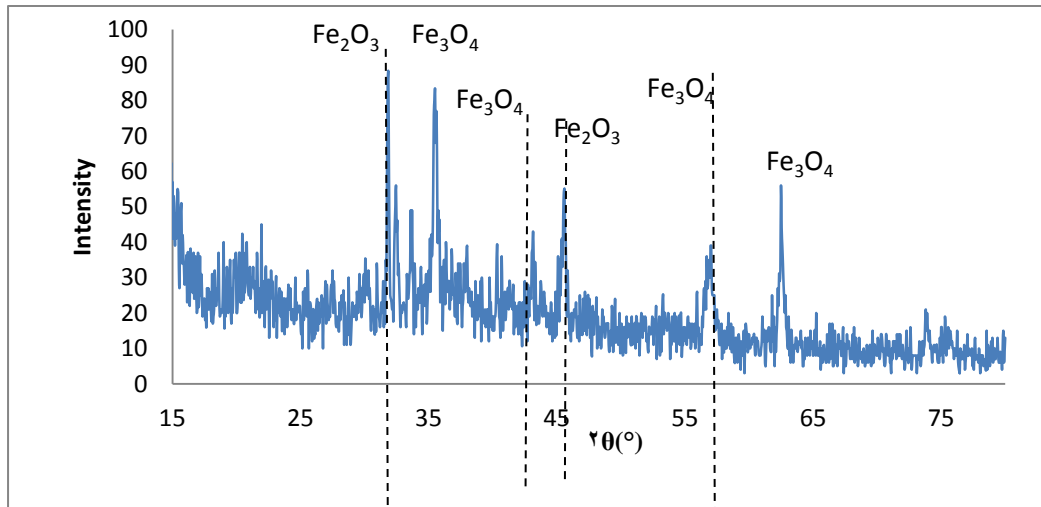
۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیز تفرق اشعه ایکس

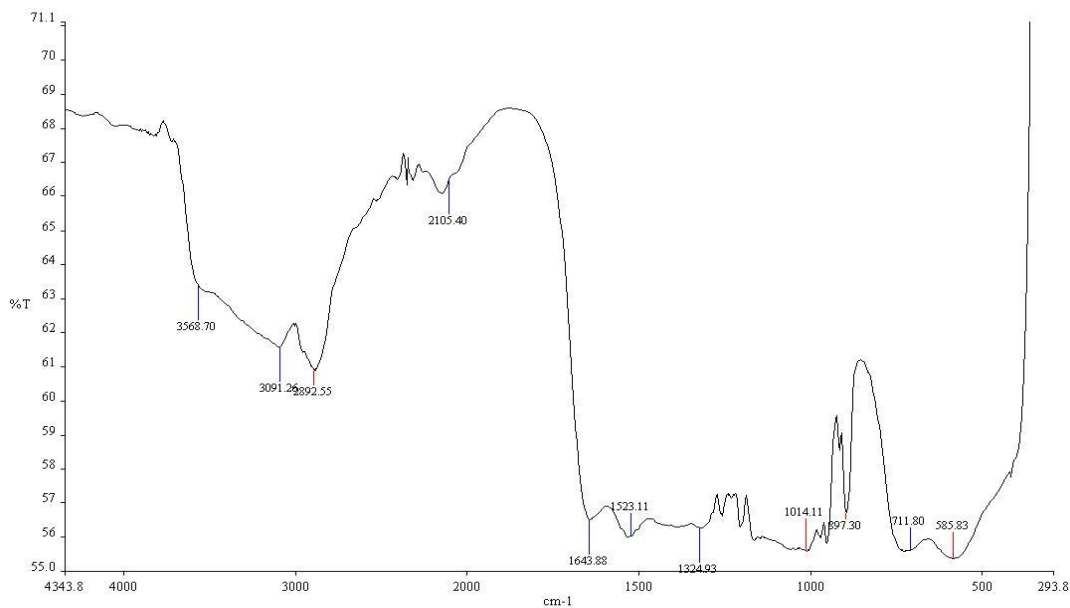
شکل ۱ آنالیز اشعه ایکس نانوکامپوزیت مگنتیت/کایتوسن را نشان می دهد. ترکیبات آلی (کایتوسن) که ساختار امورف دارند، پیک های را نشان نمی دهند اما در برخی از مراجع پیک های پهن و کوتاه بین ۱۵ تا ۲۰ درجه به کایتوسن نسبت داده می شود [۱۱]. پیک های موجود در $31/30$ ، $5/35$ ، 44 ، 48 ، 57 و $62/5$ پیک های اصلی مگنتیت هستند که برخی از آنها در الگوی پراش وجود دارند. دلیل عدم وجود برخی از پیک ها همپوشانی ترکیبات آلی کایتوسن با نانوذرت مگنتیت است. همچنین برخی از پیک های مربوط به Fe_2O_3 نیز در کنار مگنتیت رویت شد به این ترتیب که پیک های موجود در $5/45$ ، $8/31$ و 34 درجه مربوط به این اکسید می باشند. به این ترتیب حضور ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 و Fe_2O_3 در زمینه کایتوسن به اثبات رسید.

سایز متوسط بلور های مگنتیت از فرمول شرر بدست می آید: $d = \lambda / 2 \sin \theta$. در این فرمول d سایز کریستال بر حسب نانومتر، λ طول موج تکفام اشعه ایکس برابر با 0.1541 نانومتر، b پهنای پیک در نصف ارتفاع ماکزیمم پیک تفرق (رادیان) و θ زاویه براگ بر حسب درجه می باشد. با توجه به اینکه بلندترین پیک برای مگنتیت مربوط به زاویه $5/35$ درجه می باشد نصف پهنای پیک در همین ارتفاع اندازه گیری شده و در فرمول گذاشته شد. به این ترتیب اندازه بلور های کریستال مگنتیت $5/23$ نانومتر بدست می آید.

بعد از گذشت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه و با اتمسفر دی اکسید کربن، نمونه ها توسط PBS شستشو داده شدند تا سل های هایی که به نمونه ها نچسبیده اند، جدا شوند. در نهایت نمونه های شستشو داده شده به صفحات جدید منتقل می شدند. این صفحات به مدت هفت روز در محیط MesenPRORS قرار داده می شدند و هر دو روز یکبار محیط آنها تازه می شد. نمونه هایی که در محیط قرار گرفته اند اما سلولی روی آنها کشت نشده به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته می شوند. بعد از



شکل (۱): آنالیز اشعه ایکس نانو کامپوزیت کایتوسن/مگنتیت



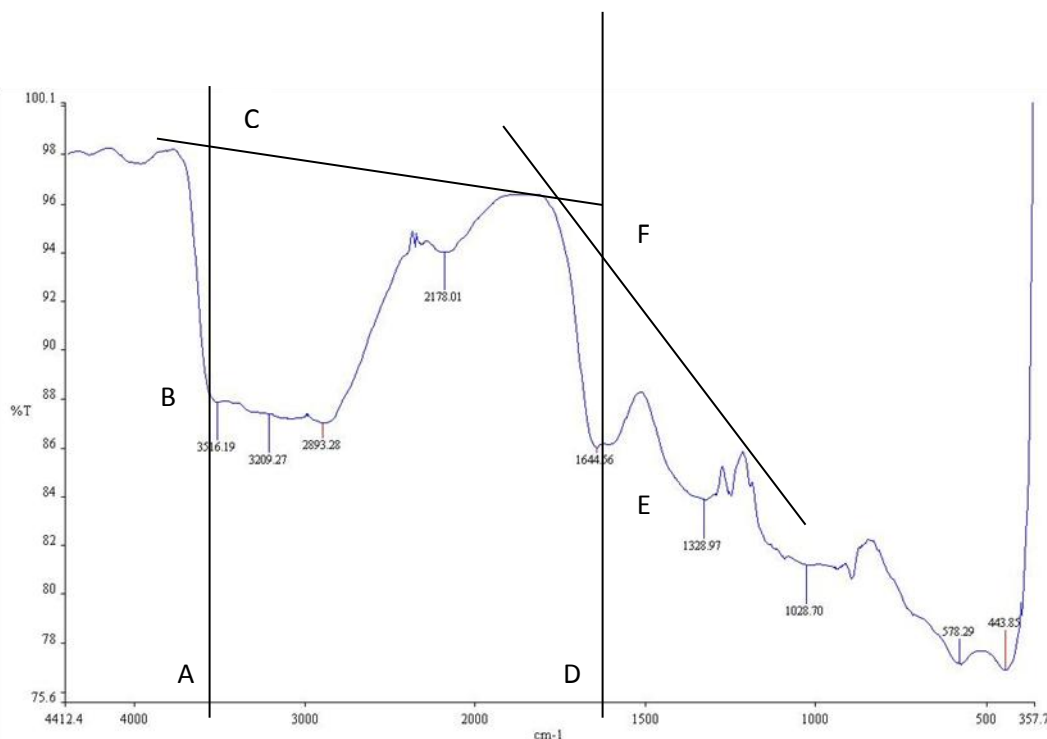
شکل (۲): نمودار FTIR مربوط به نانو کامپوزیت کایتوسن/مگنتیت

۲-۳- آنالیز FTIR

محدود طول موج بین ۲۸۷۹/۵۵ و ۲۸۸۷/۹۵ مربوط به گروه های متیل موجود در کایتوسن می باشد. در نهایت پیک کوچک موجود در ۵۸۵/۸۳ به پیوند های O-Fe بر می گردد. دلیل تیز نبودن این پیک بخاطر وجود کایتوسن و تاثیر آن بر لرزش پیوند های O-Fe می باشد. آنالیز FTIR موجود نشان داد که ماده استخراج شده از پوست میگو همان کایتوسن می باشد و همچنین

شکل ۲ آنالیز مادون قرمز نانو کامپوزیت کایتوسن/مگنتیت را نشان می دهد. پیوند هایی که در محدوده طول موج ۳۳۷۳/۱ تا $3348/76 \text{ cm}^{-1}$ تحت لرزش قرار می گیرند، مربوط به گروه هیدروکسیل کایتوسن می باشند. پیک های موجود در طول موج ۱۵۸۷/۰۷، ۱۵۹۰/۹۳، ۱۵۹۲/۴۸ و ۱۵۸۷/۴۶ به گروه های آمین و آمید موجود در کایتوسن نسبت داده می شوند. همچنین

پیک مربوط به لرزش پیوند O-Fe نیز حضور اکسید های آهن در زمینه کایتوسن را اثبات کرد.



شکل (۳): آنالیز FTIR مربوط به پودر کایتوسن استخراج شده از پوست میگو

$$\text{Degree of Deacetylation} = 97.67 - \left[26.486 \cdot \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) \right] \quad (3)$$

استخراج اعداد از نمودار شکل ۳ و جایگذاری آنها در فرمول مورد نظر مقدار درصد استیله زدایی برای پودر کایتوسن تولیدشده برابر با ۷۳/۵ درصد شد که با توجه به اینکه در محدوده بین ۶۵ تا ۸۰ درصد قرار می گیرد، بنابراین برای کاربردهای بایو مفید می باشد، همچنین پیش بینی می شود که این کایتوسن زیست سازگاری خوبی از خود نشان دهد.

۳-۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

شکل ۴ الف تصویر SEM مربوط به پودر کایتوسن استخراج شده از پوست میگو که حالت گل میخکی شکل دارد و شکل ۴ ب تصویر سطح مقطع نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت را نشان می دهد. نانوذرات مگنتیت با این بزرگنمایی قابل رویت نیستند. اما اثر خود را بر کایتوسن گذاشته اند چرا که در مقایسه با شکل

با توجه به اینکه درجه استیله زدایی کایتوسن نیز نقش بسزایی در زیست سازگاری آن دارد چرا که معمولا درصدهای استیله زدایی بین ۶۵-۸۰ بالاترین زیست سازگاری را از خود نشان داده اند [۱۵]. بنابراین با استفاده از آنالیز FTIR پودر کایتوسن تولیدی و فرمول های ارائه شده توسط آقای سابینس و همکارانش، درجه استیله زدائی محاسبه گردید. شکل ۳ آنالیز FTIR مربوط به پودر کایتوسن تولید شده از پوست میگو را نشان می دهد با استفاده از قانون اهرم ها و رسم خطوط پایه روی نمودار و به کار بردن فرمول زیر می توان نسبت جذب هیدروکسیل به جذب آمید را بدست آورد [۱۶].

$$\text{Log} \frac{DF}{DE} = (A)_{amide} \quad (1)$$

$$\text{Log} \frac{AC}{AB} = (A)_{hydroxyl} \quad (2)$$

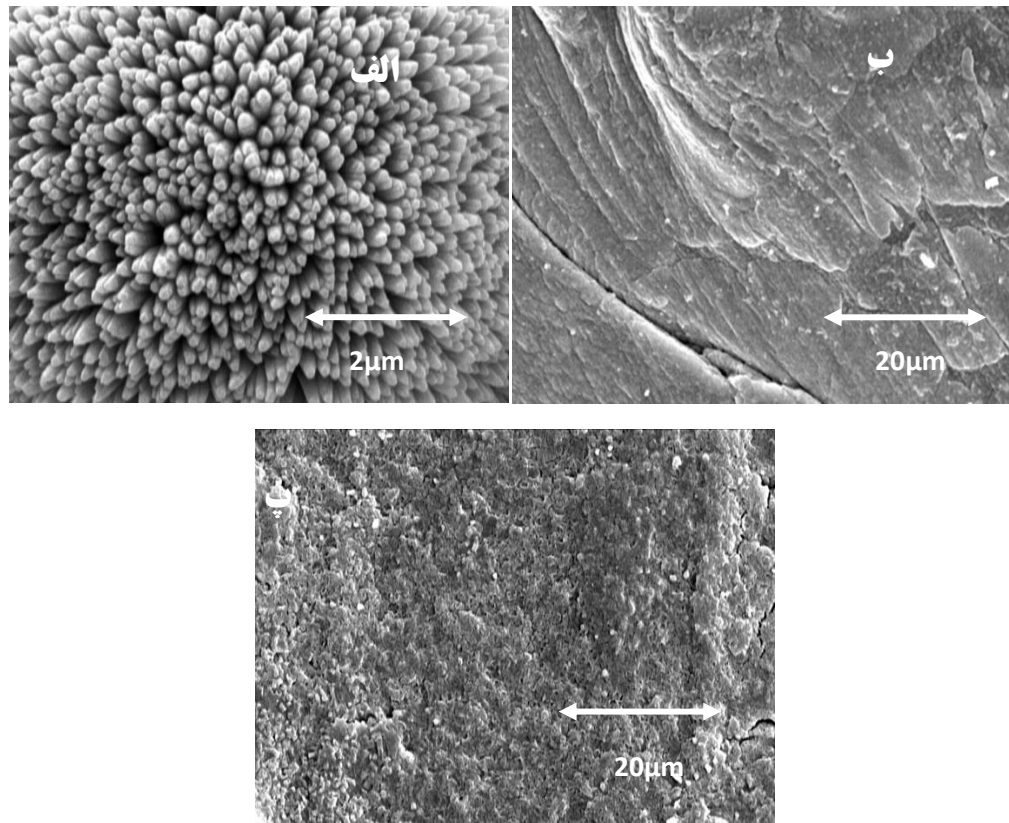
$$\text{Absorbance ratio} = \frac{(A)_{amide}}{(A)_{hydroxyl}}$$

اندازه و مورفولوژی ذرات مگنتیت رسوب داده شده در زمینه کایتوسن از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. عکسبرداری از پودر نانوکامپوزیت حاصل و با بزرگنمایی ۵۰۰۰۰۰ برابر انجام گرفت. به این ترتیب ابعاد نانوذرات رسوب داده شده معادل با ۲۵ نانومتر رویت شد. نتایج عکسبرداری به کمک میکروسکوپ الکترونی عبوری در شکل ۵ نمایش داده شده است.

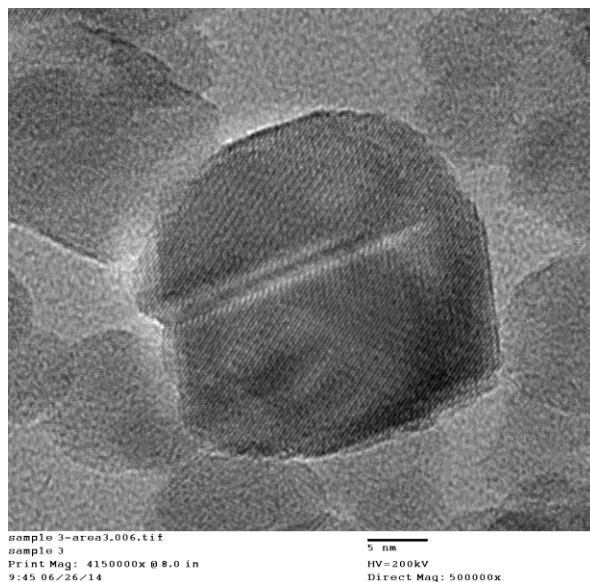
۴پ دارای سطحی صاف تر و با خلل و فرج کمتری است. این نشان می دهد که حضور رسوب نانوذرات مگنتیت که با در اثر واکنش های شیمیایی در زمینه کایتوسن به وجود آمده است می تواند تخلخل موجود در کایتوسن را کاهش دهد.

۳-۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری

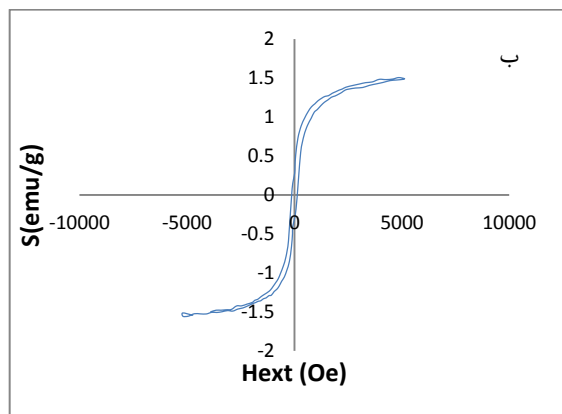
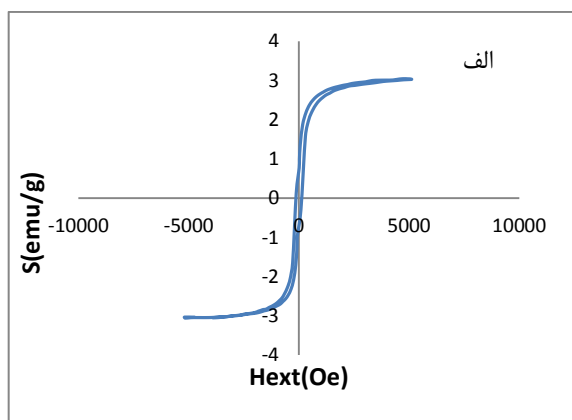
با توجه به اینکه ابعاد نانوذرات مگنتیت با میکروسکوپ الکترونی روبشی قابل اندازه گیری نبود. بنابراین به منظور بررسی



شکل (۴): (الف): تصویر SEM مربوط به پودر کایتوسن، (ب): تصویر SEM مربوط به نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت و (پ): تصویر SEM مربوط به نمونه کایتوسن خالص



شکل (۵): تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نمونه نانو کامپوزیت کایتوسن/مگنتیت



شکل (۶): (الف): نمودار هیستریزس نانو کامپوزیت کایتوسن/مگنتیت با نسبت

نمک های آهن $\frac{1}{0.5}$ گرم (ب): نمودار هیستریزس نانو کامپوزیت

کایتوسن/مگنتیت با نسبت نمک های آهن $\frac{0.5}{0.25}$ گرم

۳-۵- آنالیز مغناطیس سنج لرزاننده نمونه

خواص مغناطیسی نانو کامپوزیت با استفاده از دستگاه VSM انجام گرفت. شکل ۶ الف و ب نمودارهای هیستریزس نمونه های با نسبت مگنتیت یک به دو را نشان می دهد. میدان مغناطیس اعمالی در این آنالیز $189 \text{ kOe} \pm 5$ بود و آنالیز در دمای اتاق انجام شد. مغناطیس اشباع برای نمونه با مگنتیت دو برابر مساوی با $3/04 \text{ emug}^{-1}$ که به طور کلی نسبت به مگنتیت خالص کمتر است و نیروی کورسیو برابر با $128/39 \text{ Oe}$ می باشد. این کاهش به دلیل تاثیر کایتوسن روی رسوب مگنتیت می باشد. همچنین مغناطیس اشباع برای نمونه با مگنتیت کمتر، برابر با $1/557 \text{ emug}^{-1}$ شد. این مقدار مغناطیس اشباع از پودر خالص مگنتیت که برابر با $27/77 \text{ emug}^{-1}$ می باشد، کمتر است [۱۷]. دلیل این پدیده وجود فاز پلیمری کایتوسن در اطراف این نانوذرات است که از منحرف شدن کامل این نانوذرات در حضور میدان مغناطیسی ممانعت می کند.

نتایج نشان می دهد که دو برابر کردن نسبت مگنتیت در زمینه کایتوسن منجر به دو برابر شدن مغناطیس اشباع می گردد.

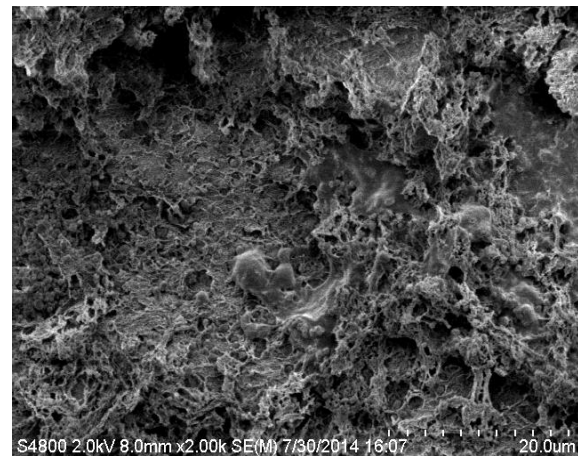
سطح مقطع کایتوسن/مگنتیت و همچنین کایتوسن خالص را نشان داد و مشخص شد که کایتوسن خالص بعد از رسوب نانو ذرات مگنتیت مقدار تخلخلش کمتر می شود. مقدار مغناطیس اشباع نانوکامپوزیت با دو برابر کردن نسبت نمک های آهن دو برابر شد اما به طور کلی مغناطیسه کایتوسن/مگنتیت از مگنتیت خالص کمتر است. نتایج کشت سلولی با سلول های بنیادی نشان داد که این نانوکامپوزیت زیست سازگار می باشد.

۵- مراجع

- [1] E. Salahinejad, M. J. Hadianfard, D. D. Macdonald, S. Sharifi, M. Mozafari, K. J. Walker, A. Tahmasbi Rad, S. V. Madihally & D. Vashae, L. Tayebi, "Surface Modification of Stainless Steel Orthopedic Implants by Sol-Gel ZrTiO₄ and ZrTiO₄-PMMA Coatings", J. Biomed. Nanotech, Vol. 9, pp. 1327-1335, 2013.
- [2] E. Salahinejad, M. J. Hadianfard, D. D. Macdonald, M. Mozafari, D. Vashae & L. Tayebi, "A new double-layer sol-gel coating to improve the corrosion resistance of a medical-grade stainless steel in a simulated body fluid", Mater. Lett, Vol. 97, pp. 162-165, 2013.
- [3] Q. Hu, B. Li, M. Wang & J. Shen, "Preparation and characterization of biodegradable chitosan /hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture", Biomater, Vol. 25, pp. 779-785, 2004.
- [4] F. Zhao, Y. Yin, W. Lu, Ch. Leong, W. Zhang, J. Zhang, M. Zhang & K. Yao, "Preparation and histological evaluation of biomimetic three-dimensional hydroxyapatite/ chitosan-gelatin network composite scaffolds", Biomater, 23, 3227-3234, 2002.
- [5] P. J. VandeVord, H. W. T. Matthew, S. P. Desilva, L. Mayton, B. Wu & PH. Wooley, "Evaluation of the biocompatibility of chitosan scaffold", J. Biomed. Mater. Res., Vol. 59, pp. 585-590, 2002.
- [6] J. Y. Lee, S. H. Nam, S. Y. Im, Y. J. Park, Y. M. Lee, Y. J. Seol, C. P. Chung & S. J. Lee, "Enhanced bone formation by controlled growth factor delivery from chitosan-based biomaterials", J. Cont. Rel, Vol. 78, pp. 187-197, 2002.

۳-۶- کشت سلولی

تکثیر سلول روی هر نمونه به صورت تعداد سلول در واحد سطح نمونه بعد از گذشت هفت روز از زمان کشت اندازه گیری شد. تعداد سلول های زنده روی سطح نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت برابر با ۹۲۵۰ سلول بود که این رقم نشان دهنده زیست سازگار بودن این نانوکامپوزیت می باشد به این معنی که سلول های بنیادی توانسته اند روی این کامپوزیت تکثیر شوند. شکل ۷ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نمونه نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت بعد از هفت روز قرار گیری در محیط کشت با سلول های بنیادی را نشان می دهد. همانگونه که از مقایسه این تصویر با تصویر شکل ۴ ب مشخص است، سلول ها به شدت سطح نمونه را تحت تاثیر قرار داده اند و واضح است که در محیط کشت کایتوسن شروع به تخریب کرده است.



شکل (۷): تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نانوکامپوزیت کایتوسن/مگنتیت بعد از هفت روز قرار گیری در محیط کشت

۴- نتیجه گیری

نانوکامپوزیت طبیعی کایتوسن/مگنتیت به روش رسوب دهی درجا ساخته شد. آنالیز FTIR و XRD وجود ترکیبات سرامیکی مگنتیت و پلیمری کایتوسن را اثبات کرد. اندازه نانوذرات معادل ۲۵ نانومتر به کمک میکروسکوپ الکترونی عبوری گزارش شد. تصاویر SEM نیز مورفولوژی کایتوسن (ساختار گل میخکی) و

- Mater. Sci. Mater. Med., Vol. 2, pp. 1427–1434, 2010.
- [13] O. Kuda, N. Pinchuk, L. Ivanchenko, O. Parkhomey, O. Sych, M. Leonowicz, R. Wroblewski & E. Sowka, “Effect of Fe₃O₄, Fe and Cu doping on magnetic properties and behaviour in physiological solution of biological hydroxyapatite/glass composites”, J. Mater. Process. Technol, Vol. 209, pp. 1960–1964, 2009.
- [14] Q. Hu, F. Chen, B. Li & J. Shen, “Preparation of three-dimensional nano-magnetite/chitosan rod”, Materials Letters, Vol. 60, pp. 368-370, 2006.
- [15] R. Bazargan-Lari, M. E. Bahrololoom & A. Nemati, “Sorptions behavior of Zn (II) ions by low cost and biological natural hydroxyapatite/chitosan composite from industrial waste water”, J. Food Agric. Environ, Vol. 9, pp. 892-897, 2011.
- [16] Sh. Sabnis & H. Block, “Improved infrared spectroscopic method for the analysis of degree of N-deacetylation of chitosan”, Polymer Bulletin, Vol. 39, pp. 67-71, 1997.
- [17] D. Gopi, A. M. Thameem Ansari, E. Shinyjoy & L. Kavith, “Synthesis and spectroscopic characterization of magnetic hydroxyapatite nanocomposite using ultrasonic irradiation”, Spectrochimica Acta Part A, Vol. 87, pp. 245–250, 2012.
- [7] K. Eugene & Y. L. Lee, “Implantable application of chitin and chitosan”, Biomater, Vol. 24, pp. 2339-49, 2003.
- [8] K. Grandfield & I. Zhitomirsky, “Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite–silica–chitosan coatings”, Mater. Character, Vol. 59, pp. 61-67, 2008.
- [9] A. Inukai, N. Sakamoto, H. Aono, O. Sakurai, K. Shinozaki, H. Suzuki & N. Wakiy, “Synthesis and hyperthermia property of hydroxyapatite–ferrite hybrid particles by ultrasonic spray pyrolysis”, J. Magnet. Mater, Vol. 323, pp. 965-969, 2011.
- [10] M. Ghaemy & M. Naseri, “Synthesis of chitosan networks :Swelling, drug release, and magnetically assisted BSA separation using Fe₃O₄ nanoparticles”, Carbohyd .Polym, Vol. 90, pp. 1265-1272, 2012.
- [11] A. MihaiGrumezescu, E. Andronescu, A. Ficai, C. Bleotu, D. Mihaiescu & M. C. Chifiriu, “Synthesis, characterization and in vitro assessment of the magnetic chitosan-carboxy methylcellulose bio composite interactions with the prokaryotic and eukaryotic cells”, Int .J .Pharm, Vol. 436, pp. 771-777, 2012.
- [12] B. F. Ajeesh, F. Francis, J. Annie & P. R. H. Varma, “Nano iron oxide–hydroxyapatite composite ceramics with enhanced radiopacity”, J.