

تولید لایه نازک کامپوزیت کراتین- کایتوسن- ژلاتین و بررسی خواص مکانیکی و چسبندگی سلولی آن جهت استفاده در لنز و کاشت در بدن

رضا بازرگان لاری^۱ و افشین نعمتی^۲

۱- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت

۲- دانشجوی کارشناسی مهندسی مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت

rbazargan@shirazu.ac.ir

چکیده

فیلم کراتین- کایتوسن به وسیله قالب گیری مخلوط این دو بیوپلیمر در اسید استیک ۷۵٪ وزنی تهیه می شود. اگر چه فیلم های کراتین بدون هیچ افزودنی بسیار شکننده است، اما با افزودن ۱۰ الی ۳۰ درصد وزنی کایتوسن می توان استحکام کششی را به میزان ۲۷ الی ۳۴ مگاپاسکال و انعطاف پذیری و درصد ازدیاد طول آن را به میزان ۴ الی ۹ درصد افزایش داد. افزودن ۲۰ درصد وزنی گلیسیرول نیز باعث افزایش انعطاف پذیری فیلم های کراتین می شود. افزایش بیشتر کایتوسن به کراتین حاوی گلیسیرول باعث افزایش استحکام کششی به میزان ۹ الی ۱۴ مگاپاسکال می گردد، اما اثر چندانی بر درصد ازدیاد طول و انعطاف پذیری نمی گذارد. بر اساس این اطلاعات می توان خصوصیات مکانیکی فیلم های کراتین را با مقادیر مناسب کایتوسن، گلیسیرول و ژلاتین تنظیم کرد. در این مقاله همچنین اثر کامپوزیت کراتین- کایتوسن- ژلاتین بر چسبندگی و رشد سلولی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت که نشان دهنده بهبود و افزایش چسبندگی و رشد سلولی بود. لازم به ذکر است که این کامپوزیت نیز به خوبی فیلم های کایتوسن، خاصیت ضد باکتری از خود نشان داد. تکثیر سلولی بر روی این ترکیبات نیز بررسی شد که نتیجه آن تکثیر بیشتر سلول ها بر روی کامپوزیت کراتین- کایتوسن- ژلاتین نسبت به فیلم های کراتین خالص بدون هیچ افزودنی بود.

واژه های کلیدی:

کراتین، کایتوسن، ژلاتین، کامپوزیت، چسبندگی سلولی، کاشت.

منابعی که می توان از آن کایتین را استخراج کرد، پوست سخت

خرچنگ ها و میگوهاست [۱].

کایتوسن از این لحاظ یک بیوپلیمر قابل توجه است که در دسترس است و می تواند به سادگی اشکال مفیدی نظیر غشاها، اسفنج ها، فیبرها و نیز به صورت پودر و محلول درآید [۲]. اگر درجه دی استیله شدن کمتر از ۵۰٪ باشد، این بیوپلیمر را کایتین و

۱- مقدمه

کایتین دومین بیوپلیمر فراوان طبیعی بعد از سلولز است. این ماده به صورت ماده سخت روی بدن سخت پوستان و برخی حشرات در طبیعت موجود است. ساختار کایتین به صورت واحدهای تکراری دو استامید دو دی اکسی دی گلوکز^۱ می باشد. بیشترین

هستند، اضافه کردن گلیسیرویل باعث پیشرفت خصوصیات فیلم‌های کراتین و تبدیل آن‌ها به فیلم‌هایی شفاف، با استحکام نسبتاً خوب، انعطاف‌پذیر و زیست تخریب‌پذیر می‌شود. سلول‌های فیروبلست موش به‌خوبی روی فیلم‌های کراتین تکثیر می‌شود، بنابراین انتظار می‌رود که کراتین همانند کلاژن و ژلاتین یک ماده کارا در علوم پزشکی باشد. اگر چه فیلم‌های کراتین حاوی گلیسیرویل همانطور که اشاره شد مقاومت و انعطاف‌پذیری مناسبی از خود نشان داده‌اند، اما گلیسیرویل در محیط‌های آبیکی حل نمی‌شود و باعث شکنندگی دوباره فیلم‌های کراتین می‌شود [۱۰].

کایتوسن که شامل گلوکز آمین و ان استیل گلوکز آمین^۳ است یک ماده غیر سمی، زیست تخریب‌پذیر، سازگار با محیط زنده و یک پلیمر آبدوست است [۱۱]. محدوده کاربرد آن از تکنولوژی‌های محیطی، دارویی، وسایل آرایشی، کشاورزی، غذایی و بیوتکنولوژی تا شیمی است [۱۲]. تحقیقات جدید بر روی کاربردهای آن در علوم دارویی به‌واسطه خواص ضد باکتری آن و سازگاری با محیط زیست متمرکز شده‌است. کایتوسن می‌تواند در تولید رگ‌های خونی، بخیه‌های جراحی و همچنین به‌عنوان عاملی برای التیام زخم‌ها مورد استفاده قرار گیرد. توانایی کایتوسن برای تشکیل فیلم به‌آن قابلیت استفاده به‌صورت پوست مصنوعی و لنزهای تماسی را می‌دهد [۱۳]. مائو^۴ و گروهش بر روی خواص غشاهای کایتوسن-ژلاتین که با اسید هیالورانیک^۵، اصلاح‌شده مطالعاتی انجام دادند که این غشاها زیست تخریب‌پذیری خوبی از خود نشان دادند [۱۴].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه محلول کراتین

به‌طور خلاصه، ۹ گرم پشم را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حاوی ۰/۸ M اوره، ۰/۶۲ M سدیم دو دسیل سولفات^۶ و دو مرکاپتواتانول^۷ ۱/۶۶ M^۷ خیسانده می‌شود. این مخلوط در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۶ ساعت تکان داده می‌شود و سپس از میان شبکه فولاد ضد آب فیلتر می‌گردد و پس از آن

اگر بیش از ۵۰٪ باشد، به‌آن کایتوسن می‌گویند. از بین این دو پلیمر، کایتوسن به‌دلیل کاربردهای بیشتر در داخل و خارج از بدن در تحقیقات بیشتر مورد مطالعه قرار می‌گیرد. دلایل به‌کارگیری کایتوسن قابلیت حل در اسیدهای آلی و توانایی واکنش با گروه‌های هیدروکسیل و آمینو می‌باشد. به‌محض تجزیه گروه‌های آمینو در کایتوسن، کایتوسن پروتون‌دار می‌شود و نتیجه یک پلی‌ساکارید با بار مثبت است که قابلیت جذب و چسبندگی سلولی را افزایش می‌دهد [۳]. این ماده به‌سطوح با بار منفی به‌خوبی می‌چسبد و دارای خواص نظیر زیست تخریب‌پذیری، سازگاری با محیط زنده و کشنده قارچ است. همچنین ممکن است بتوان کایتوسن را با اصلاحاتی به‌عنوان یک پلیمر ضد باکتری به‌کار برد. کایتوسن دارای ساختار شیمیایی منحصر به‌فرد است و به‌خوبی گروه‌های آمینو و هیدروکسیل واکنش‌پذیر، به‌صورت یک پلی‌الکترولیت خطی با چگالی بار زیاد عمل می‌کند [۲].

کراتین بزرگترین ساختار پروتئین رشته‌ای است که از پوشش بیرونی مو، پشم، ناخن و سم، شاخ و پر پستانداران، خزندگان و پرندگان تهیه می‌شود [۴]. در بررسی آمینواسید، مشخص شد که کراتین در باقیمانده‌های سیستمین^۲ که نوعی آمینواسید است به‌وفور یافت می‌شود (در حدود ۷ الی ۲۰ درصد کل باقیمانده‌های آمینواسید) [۵].

این باقیمانده‌های سیستمین به‌صورت باندهای بین ملکولی دی‌سولفید می‌شوند که در نتیجه آن شبکه‌های سه بعدی فیبرهای کراتین که از لحاظ مکانیکی قوی هستند به‌وجود می‌آیند. ساختار انعطاف‌پذیر اما سخت کراتین ممکن است به‌دلیل این خصوصیت فیبرهای کایتوسن باشد. اگر چه تلاش‌های زیادی برای تهیه کراتین از مو و پشم انجام شده اما بیشتر این تلاش‌ها فقط نوعی سیستمین دگرگون شده را حاصل کرده‌است [۶، ۷، ۸ و ۹].

اگر چه فیلم‌های کراتینی که با ریخته‌گری محلول کراتین بدون هیچ ماده اضافی بدست می‌آیند برای جابجایی بسیار شکننده

ماکزیم استحکام کششی، درصد ازدیاد طول و مدول یانگ از پانزده آزمایش مستقل محاسبه شد.

۲-۵- بررسی ساختار میکروسکوپی فیلم‌های تهیه شده

ساختار میکروسکوپی سطح کایتوسن و فیلم کامپوزیتی کراتین-ژلاتین-کایتوسن که به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM^۸) (SEM^۸) (SEM^۸) (SEM^۸) تهیه شده در شکل (۱) نشان داده شده است.

۲-۶- کشت سلولی

سلولهای فیروبلاست یک جنین هشت هفته‌ای در محیط MEM^۹ که از کمپانی GibcoBRL خریداری شد با ۱۱/۵ درصد خونابه گاو خریداری شده از Biosciences PTY Ltd در محل پرورش اطفال زودرس^{۱۰} با ۵٪ دی‌اکسید کربن در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد [۱۵]. زمانی که سلول‌ها به طور کامل ظرف کشت را پوشاندند با استفاده از ۰/۲۵ درصد آنزیم شیره لوزالمعدة^{۱۱} و با سانتریفیوژ جدا شد، کامپوزیت کراتین-ژلاتین-کایتوسن را با مقادیر مختلف کایتوسن اضافه می‌کنیم. ظروف کشت در محل پرورش اطفال زودرس با ۵٪ دی‌اکسید کربن در ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۴۸ ساعت نگهداری می‌شوند.

چسبندگی و رشد سلولی به وسیله میکروسکوپ مشاهده گردید. مقادیر کایتوسن در کامپوزیت کراتین-ژلاتین-کایتوسن صفر، ۱۰، ۲۵، ۳۳ و ۵۰ درصد است. کلیه آزمایشات در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت انجام شد.

۳- نتایج و مباحث

۳-۱- بررسی خواص مکانیکی فیلم کامپوزیتی کراتین-کایتوسن-ژلاتین

برای تقویت فیلم‌های تهیه شده با کراتین، کراتین را با کایتوسن و ژلاتین مخلوط می‌کنیم که در آب در pHهای اسیدی قابل حل است. درحالی که کراتین یک پروتئین اسیدی است که نقطه تمرکز ایزوالکتریک (PI) آن بین ۴/۹ تا ۶/۱ است و در

محلول کراتین بدست آمده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود.

۲-۲- تهیه کایتوسن

کایتوسن یکی از مشتقات کایتین می‌باشد که به وسیله چندین بار دی‌استیله کردن کایتین بدست می‌آید. به طور کلی برای تهیه کایتوسن ابتدا پوست میگو را با HCl کلسیم‌زدایی و سپس با NaOH رقیق پروتئین‌زدایی کرده و در نهایت با NaOH ۴۰ الی ۵۰ درصد وزنی دی‌استیله می‌کنیم.

۲-۳- تهیه فیلم کامپوزیتی کراتین-کایتوسن-ژلاتین

۲۵۰ میلی‌گرم کایتوسن را با ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید استیک ۷۵ درصد وزنی در دمای اتاق هم زده تا محلول همگن تولید گردد. سپس اسید استیک سرد را به میزان مناسب به محلول کراتین-ژلاتین اضافه و در انتها ۲/۵ mg/ml کایتوسن اضافه گردید. جهت تهیه کامپوزیت کراتین-کایتوسن-ژلاتین ابتدا ژلاتین را به محلول کراتین اضافه نموده و سپس مقادیر مختلف کایتوسن را با آن ترکیب کرده و به مدت دو ساعت در دمای اتاق به هم می‌زنیم. ترکیب بدست آمده را در محلول اسید استیک ۱٪ (w/v) حل کرده و در نهایت برای جدا کردن ذرات حل نشده از صافی عبور می‌دهیم.

بعد از خشک کردن، فیلم‌های شفاف در حمام انعقاد که حاوی ۵ درصد سدیم هیدروکسید است، خیسانده می‌شوند. سپس برای رسیدن به pH = ۷ ترکیب را با آب یون زدوده شده، شسته و در آن نگهداری می‌گردد. محلول کراتین-کایتوسن-ژلاتین در قالب‌های پروپیلن با مساحت کف ۷ × ۲ cm^۲ ریخته‌گری شده و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک می‌شود. ضخامت فیلم‌های بدست آمده بین ۰/۰۱ تا ۰/۰۲ میلی‌متر است.

۲-۴- خصوصیات مکانیکی

منحنی‌های تنش- کرنش با استفاده از دستگاه تست کشش دیجیتال و به وسیله اندازه‌گیری‌های تک محوری تعیین شدند. فیلم‌ها به صورت قطعات مستطیلی با ابعاد ۵۰ × ۵ mm^۲ بریده شده و خصوصیات مکانیکی در سرعت ۲۰ mm/s در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت رطوبت نسبی ۶۵٪ اندازه‌گیری گردید.

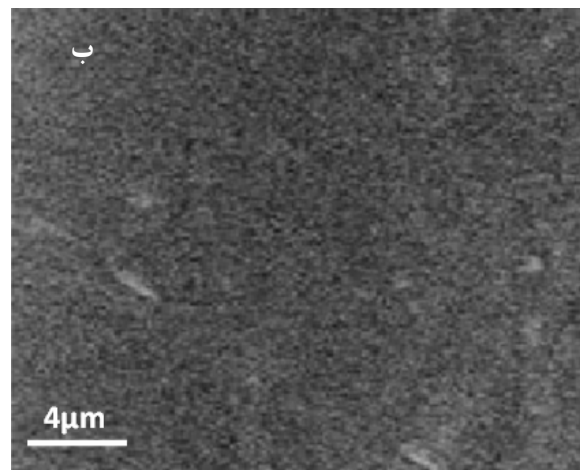
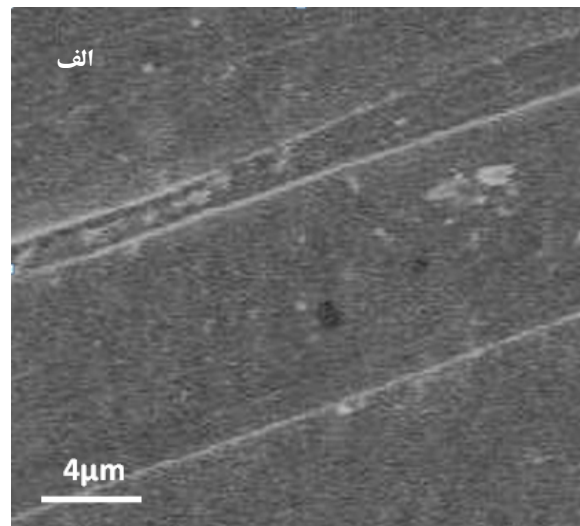
محیط‌های ضعیف اسیدی ته‌نشین می‌شود. بنابراین کراتین-کایتوسن-ژلاتین در اسید استیک ۷۵٪ قابل حل است و به یک محلول همگن تبدیل می‌گردد. مخلوط بعد از قالب‌گیری و خشک شدن به یک فیلم شفاف تبدیل می‌شود. خصوصیات مکانیکی فیلم کراتین-کایتوسن در جدول (۱) و شکل (۲) آورده شده‌است. زمانی که مقدار کایتوسن کمتر از ۵ درصد وزنی کراتین و ژلاتین است فیلم‌ها برای اندازه‌گیری خواص مکانیکی بسیار شکننده‌اند.

۲-۳- نتایج میکروسکوپ الکترونی SEM

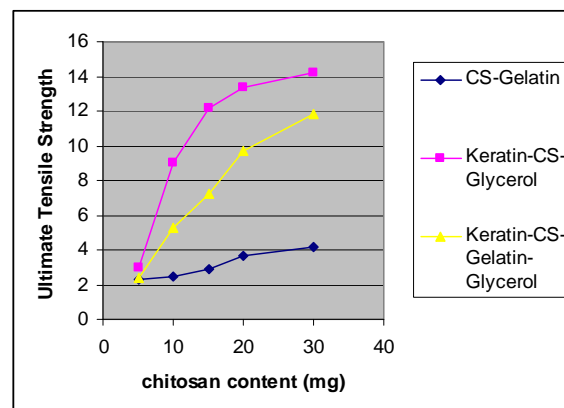
محلول کایتوسن-کراتین آبکی، شفاف، آبدوست و کشسان است. ژلاتین به‌سهولت قابل مخلوط شدن با کایتوسن است. بررسی ریزساختار تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی نشان داد که ساختار میکروسکوپی کایتوسن خالص حالت رشته‌ای دارد، در حالی که ساختار میکروسکوپی کامپوزیت کراتین-کایتوسن-ژلاتین همگن بوده و تقریباً هیچ جدایی فاز یا نقص مشهودی بر روی فیلم‌ها دیده نمی‌شود. فیلم‌های کامپوزیتی کراتین-ژلاتین-کایتوسن انعطاف‌پذیرتر از فیلم‌های کامپوزیتی کراتین-کایتوسن هستند.

۳-۳- نتایج کشت سلولی

معمولاً در تحقیقات بیومواد آزمایشات کشت سلولی برای یافتن میزان سمی بودن مواد انجام می‌شود. این یک روش دقیق و قابل اطمینان برای تست سازگاری بیولوژیکی مواد برای کاشت در محیط زنده است. در این تحقیق چسبندگی سلولی و رشد سلولی روی فیلم‌های کایتوسن نیز مورد بررسی قرار گرفت. چسبندگی در ریخت‌شناسی سلولی بعد از ۲ ساعت نشان داد که سلول‌های روی فیلم‌ها به شکل کروی هستند. بعد از کشت سلولی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت مشاهده شد که سلول‌ها بر روی فیلم‌ها رشد کرده و پخش شده‌اند. سلول‌ها به‌طور منظم مرتب شده و در طی رشد دارای یک ساختار فیبری بوده و به‌خوبی به فیلم‌ها چسبیدند. کشت کایتوسن برای کایتوسن و فیلم کامپوزیتی در شکل (۳) نشان داده شده‌است. تفاوت در چسبندگی سلولی برای مقادیر مختلف کایتوسن مربوط



شکل (۱): (الف) ساختار میکروسکوپی کایتوسن و (ب) ساختار میکروسکوپی کامپوزیت کراتین-کایتوسن-ژلاتین.



شکل (۲): مقایسه استحکام کششی سه نوع کامپوزیت تهیه شده از کراتین، کایتوسن و ژلاتین بر اساس میزان کایتوسن موجود.

جدول (۱): تأثیر اضافه کردن کایتوسن بر خواص مکانیکی کراتین-کایتوسن-ژلاتین
(a به دلیل شکنندگی اندازه گیری نشده).

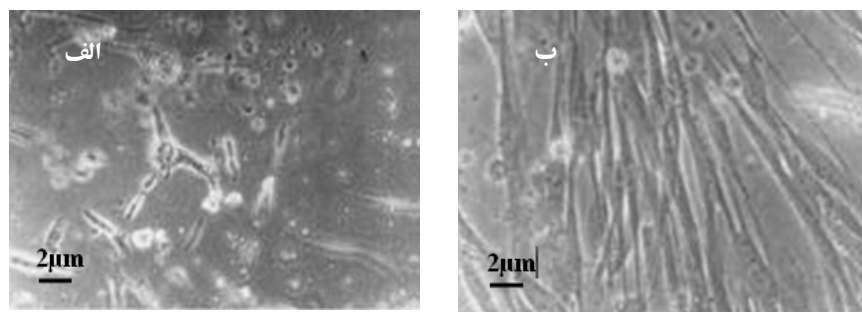
کایتوسن (mg)	مقاومت کششی نهایی کراتین-کایتوسن (MPa)	مقاومت کششی نهایی کراتین حاوی گلیسیروول (MPa)	ازدیاد طول نهایی کراتین-کایتوسن (%)	ازدیاد طول نهایی کراتین حاوی گلیسیروول (%)	مدول یانگ کراتین-کایتوسن (MPa)	مدول یانگ کراتین حاوی گلیسیروول (MPa)
۵	ND ^a	۳ ± ۱	ND ^a	۲۴ ± ۴	ND ^a	۱۴ ± ۷
۱۰	۲۷ ± ۸	۹ ± ۳	۴ ± ۲	۳۱ ± ۳	۱۵۲ ± ۷۶	۸۰ ± ۵
۱۵	۳۱ ± ۷	۱۲ ± ۲	۹ ± ۳	۲۷ ± ۳	۱۶۰ ± ۷۶	۸۶ ± ۴۱
۲۰	۳۴ ± ۱	۱۳ ± ۵	۷ ± ۴	۲۴ ± ۲	۱۷۶ ± ۸۲	۹۲ ± ۲۸
۳۰	۲۷ ± ۴	۱۴ ± ۳	۵ ± ۲	۱۸ ± ۴	۳۱۰ ± ۸۶	۱۱۱ ± ۲۵

همانطور که در جدول (۲) نشان داده شده ماکزیمم استحکام کششی ۲/۳ مگاپاسکال برای ترکیب حاوی ۵٪ وزنی کایتوسن و از ۲/۵ تا ۴/۱۸ مگاپاسکال برای مقادیر مختلف کایتوسن تغییر می کند. با ترکیب کراتین با کایتوسنی که حاوی گلیسیروول است علاوه بر این که خواص مکانیکی بهبود پیدا می کند باعث افزایش انعطاف پذیری نیز می شود. مقاومت کششی ترکیب، با افزایش ژلاتین از ۲/۴ به ۱۱/۸ مگاپاسکال تغییر پیدا می کند. پس به طور کلی می توان نتیجه گرفت که کایتوسن می تواند مقاومت نهایی فیلم های کراتین را افزایش دهد، در حالی که ژلاتین و گلیسیروول بیشتر بر انعطاف پذیری تأثیر می گذارند. بنابراین با ترکیب مناسب کراتین و کایتوسن و ژلاتین می توان خواص مکانیکی فیلم ها را کنترل کرد.

فیلم هایی که با کراتین خالص تهیه شده اند، بسیار شکننده اند. اگر چه فیلم های کراتین حاوی گلیسیروول همانطور که اشاره شد مقاومت و انعطاف پذیری مناسبی از خود نشان داده اند اما گلیسیروول در محیط های آبی حل نمی شود و باعث شکنندگی دوباره فیلم های کراتین می گردد. در این مطالعات ما با افزودن کایتوسن به فیلم های کراتین خصوصیات مکانیکی کراتین را بهبود می بخشیم. کایتوسن باعث مقاومت و انعطاف پذیری

به خصوصیات سطحی ماده نظیر بار سطحی است. تزریق ژلاتین به کایتوسن-کراتین بار سطحی را منفی تر می کند. به طور کلی سطح سلول ها بار مثبت دارند بنابراین جاذبه الکترواستاتیکی بین سلول ها و کراتین-کایتوسن - ژلاتین ضعیف تر از جاذبه الکترواستاتیکی بین سلول ها و فیلم های کایتوسن است.

اگر چه فیلم های ساخته شده با کراتین-ژلاتین مخلوط شده با ۱۰ درصد وزنی کایتوسن انعطاف پذیر بوده و دارای خصوصیات مکانیکی شامل استحکام کششی معادل 27 ± 8 مگاپاسکال، درصد ازدیاد طول 4 ± 2 ٪ و مدول یانگ برابر 152 ± 76 مگاپاسکال می باشند، اما افزودن بیشتر کایتوسن فقط کمی بر ازدیاد طول اثر می گذارد. ژلاتین و گلیسیروول انعطاف پذیری را افزایش داده و مقاومت فیلم ها را کمی کاهش می دهند. همانطور که در جدول های (۱) و (۲) نشان داده شده است، فیلم کراتین مخلوط شده با ۲۰٪ وزنی گلیسیروول خصوصیات مکانیکی نظیر استحکام کششی 3 ± 1 Mpa، ازدیاد طول 24 ± 4 ٪ و مدول یانگ 14 ± 7 Mpa را نشان می دهد. افزودن مقدار بیشتر کایتوسن باعث افزایش استحکام کششی ($9-14$ Mpa) و مدول یانگ ($80-111$ Mpa) مخلوط کراتین و گلیسیروول می شود، در حالی که بر تغییر طول نهایی تأثیر زیادی ندارد.



شکل (۳): کشت سلولی برای فیلم الف) کایتوسن و ب) فیلم کامپوزیتی بعد از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد.

جدول (۲): مقاومت کششی نهایی ترکیبات مختلف از کراتین، کایتوسن و ژلاتین.

کایتوسن (mg)	مقاومت کششی نهایی کایتوسن-ژلاتین (MPa)	مقاومت کششی نهایی کراتین-کایتوسن-ژلاتین حاوی گلیسرول (MPa)
۵	۲/۳	۲/۴
۱۰	۲/۵	۵/۳
۱۵	۲/۹	۷/۲
۲۰	۲/۷	۹/۷
۳۰	۴/۱۸	۱۱/۸

به‌وسیله افزایش میزان ژلاتین، آبدوستی و نفوذپذیری مغناطیسی کایتوسن-کراتین بیشتر می‌شود. در کامپوزیت کراتین-کایتوسن-ژلاتین، کایتوسن نقش مهمی را در مقاومت مکانیکی ایفا می‌کند و افزایش محتویات کایتوسن مقاومت مکانیکی فیلم‌ها را افزایش می‌دهد. زیست تخریب‌پذیری فیلم‌های کایتوسن، مضاعف شدن رشد و چسبندگی فیبروبلاست‌ها بهتر از کایتوسن خالص است. در مطالعات قبلی کایتوسن و ژلاتین هر کدام به‌تنهایی مورد استفاده قرار می‌گرفتند که دارای نواقصی بودند اما برای بهبود نواقص هر کدام از این مواد آن‌ها را با هم ترکیب می‌کنیم. از کامپوزیت تهیه شده با کراتین-کایتوسن-ژلاتین به‌دلیل مقاومت بالا و نیز رشد و چسبندگی خوب سلولی می‌توان در تهیه استخوان مصنوعی برای کاشت در بدن استفاده کرد و نیز با کنترل میزان

فیلم‌های کراتین می‌شود. در مقایسه با فیلم‌های کراتین، فیلم‌های کامپوزیتی کراتین-کایتوسن-ژلاتین نرمی بیشتری دارند و داری عیوب ساختاری کمتری هستند.

نتایج کشت سلولی نشان می‌دهد که بعد از ۴۸ ساعت چسبندگی سلولی تا حدودی در فیلم‌های کراتین-کایتوسن-ژلاتین افزایش می‌یابد و تعداد سلول‌های متصل شده به فیلم‌ها نیز نسبت به کراتین یا کایتوسن خالص بیشتر شده است. به‌طور کلی فیلم‌های کایتوسن یا کراتین خالص نامرغوب‌تر از کراتین-کایتوسن-ژلاتین هستند.

۴- نتیجه‌گیری

از کایتوسن فیلم‌هایی کشسان و شفاف بدست می‌آید که خاصیت آبدوستی عالی دارد. سیستم کراتین-کایتوسن-ژلاتین دارای خاصیت سازگاری با محیط زیست و ضد میکروبی است.

- [9] H. Thomas, A. Conrads, K-H Phan, M. Van De Locht and H. Zahn, In Vitro Reconstitution of Wool Intermediate Filaments. *Int J Biol Macromol*, 8: 258-64, 1986.
- [10] K. Yamauchi, A. Yamauchi, T. Kusunoki, A. Kohda and Y. Konishi, Preparation of Stable Aqueous Solution of Keratins and Physicochemical and Biodegradational Properties of Films. *J Biomed Mater Res*, 31: 439-44, 1996.
- [11] Muzzarelli RAA, *Research In: Chitin*. Oxford: Pergamon Press. 1977.
- [12] PR. Austin, CJ. Brine, JE. Catle and JP. Zikakis, *Chitin: New Facets of Research*. Science, 212: 749-53, 1981.
- [13] Lee, Ha WS and WH Park, Blood Compatibility and Biodegradability of Partially N-Acetylated Chitosan Derivatives. *Biomaterials*; 16:1211-6, 1995.
- [14] JF. Prudden, P. Migel, P. Hanson, L. Friedrich and L. Balassa, The Discovery of a Potent Pure Chemical Wound-Healing Accelerator. *Am J Surg*; 119: 560-4, 1970.
- [15] Shi Xin-Yuan and Tan Tian-Wei, New Contact Lens Based on Chitosan/Gelatin Composites. DOI: 10.1177/0883911504048410, 2005.

۷- پی نوشت

- 1- 2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucose
- 2- System
- 3- N-Acetylglucosamine
- 4- Mao et al.
- 5- Hyaluronic
- 6- Sodium Dodecyl Sulfate
- 7- 2-Mercaptoethanol
- 8- Scanning Electron Microscopy
- 9- Minimum Essential Medium
- 10- Incubator
- 11- Pancreatin

مواد این کامپوزیت می توان با افزایش انعطاف پذیری، آن را در لنزهای چشمی نیز استفاده کرد.

۵- تشکر و قدردانی

با تشکر فراوان از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت که با قرار دادن آزمایشگاه و مواد شیمیایی لازم برای آزمایشات و نیز با دسترسی به کتابخانه دیجیتال ما را در انجام این امر یاری و حمایت کردند.

۶- مراجع

- [1] Emir Baki Denkbas and Raphael M. Ottenbrite, Perspectives on: Chitosan Drug Delivery Systems Based on their Geometries. 21, 351. DOI: 10.1177/0883911506066930, 2006.
- [2] E. Kenawy, I. Abdel-Hay, A. El-Magd and A. Y. Mahmoud, 20: 95, 2005.
- [3] Holly Joy Martin. The Chemical and Mechanical Effects of Binding Chitosan to Implant Quality Titanium. UMI Number: 3241386, 2006.
- [4] M. Feughelman and JI. Kroschwitz, Keratin. In: *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, Vol. 8, p. 566-600, 1985.
- [5] LM. Dowling, WG. Crewther and DAD Parry, Secondary Structure of Component 8c-1 of A-Keratin: Analysis of the Amino Acid Sequence. *Biochem*, 236: 705-12, 1986.
- [6] T. Miyamoto, H. Sakabe and H. Inagaki, Ordered Structure of Highglycine Proteins From Reduced Merino Wool. *Bull Inst Chem Res*; 65: 109-19, 1987.
- [7] IJ. O'Donnell, EOP Thompson Reduced Wool IV: the Isolation of a Major Component. *Aust J Biol Sci*; 17: 973-9, 1964.
- [8] HJ. Rhodes, B. Potter and A. Widra, Characteristics of the Alpha-Keratose Fraction of Hair Inducing Ascosporeogenesis in *Nannizia Grubyia*. *Mycopathologica et Mycologia Applicata* 1967, 33: 345-8, 1967.