بررسی خواص فیزیک‌وشیمیایی نانوالیاف الکتروریسی‌شده هیبریدی پلی کاپرولاکتون/ ژلاتین جهت مهندسی بافت

نانو تکنولوژی
مهدیه دهقان[1] | محمد خواجه مهریزی[1] | حبیب نیکوکار[2]

چکیده

مهندسی بافت به‌طور عام به معنی توسعه و تغییر در زمینه رشد آزمایشگاهی مولکول‌ها و سلول‌ها در بافت یا عضو، برای جایگزینی یا ترمیم قسمت آسیب دیده بدن است. این مطالعه با هدف داربستی مناسب جهت مهندسی بافت انجام گرفته است. در مطالعه حاضر ، مهندسی بافت داربست نانو الیاف هیبریدی متشکل از پلی کاپرولاکتون و ژلاتین با پنج درصد متفاوت با استفاده از روش الکتروریسی ساخته شد. مورفولوژی و زیست تخریب پذیری داربست و مورفولوژی سلول روی داربست با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR) برخی از تعامل بین PCL و ژلاتین را نشان داد.

آب‌دوستی داربست نیز با اندازه گیری زاویه تماس و تخلخل داربست با استفاده از پردازش تصویر مورد بررسی قرار گرفت اثر سمیت سلولی داربست بر روی سلول‌های فیبروبلاست انسانی با استفاده از روش MTT و رشد و تکثیر سلول روی داربست با رنگ‌آمیزی هاتوکسیلین ائوزین بررسی شد نتایج مطلوب آزمایشات نشان داد که داربست ساخته شده از ترکیب پلیمر طبیعی (ژلاتین) و پلیمر مصنوعی (PCL) کاندیدای مناسبی برای مهندسی بافت می‌باشد.

۱- مقدمه

مهندسی بافت بطور عام به معنی توسعه و تغییر در زمینه رشد آزمایشگاهی مولکول‌ها و سلول‌ها در بافت یا عضو، برای جایگزینی یا ترمیم قسمت آسیب دیده بدن است و بر اساس سه عنصر مهم بنا شده است: سلول‌ها، رشد عوامل (مولکول‌های سیگنالینگ) و داربست (ماتریس پلیمری سه‌بعدی) داربست یکی از مهم‌ترین مؤلفه‌هایی است که با سلول‌ها و فاکتورهای رشد برای بازسازی یک بافت خاص ارتباط برقرار می‌کند، ماتریس خارج سلولی (ECM) شبیه به داربست است، از ساختار نانوالیافی سه‌بعدی کلاژن و سایر بیوپلیمرها ساخته شده است. بنابراین، داربست سه‌بعدی، اگر از نانوالیاف ساخته شده باشد ساختار شبیه به ECM دارد. داربست نانو فیبری دارای نسبت سطح به حجم بالایی است، که چسبندگی سلول و مهاجرت سلولی را افزایش داده و مواد مغذی را تسهیل می‌کند با کارآیی بیشتری به سلول‌ها عرضه شود. علاوه بر ویژگی‌های نانو فیبری، خواصی از قبیل آبگریزی، مقاومت مکانیکی و ماتریس سلول تعامل تا حد زیادی به ویژگی‌های پلیمر مورد استفاده برای ساخت داربست مهندسی بافت بستگی دارد. به طور کلی، تک پلیمر نمی‌تواند تمام ویژگی‌های لازم را به داربست منتقل کند ، اما با استفاده از آمیختن پلیمرها می‌توان داربست کامپوزیتی مشخصات مورد نظر ساخت که مقاومت مکانیکی بالایی را نشان می‌دهد.

۲- تجربیات

داربست‌های هیبریدی پلیمر PCL و ژلاتین با درصدهای ۱۰/۰، ۹۰/۱۰۰، ۷۰/۳۰، ۵۰/۵۰ و ۰/۱۰۰ با روش الکتروریسی تولید شد. جهت تولید نانوالیاف از پلیمر PCL/G خریداری شده از شرکت Sigma-Aldrich و حلال تری فلورو استیک اسید (TFA) خریداری شده از شرکت Merck استفاده گردید.

جهت الکتروریسی پلیمرها از حلال TFA استفاده شده و محلول پلیمری با درصدهای مختلف PCL/gelatin ۱۰۰/۰، ۹۰/۱۰۰، ۷۰/۳۰، ۵۰/۵۰ و ۰/۱۰۰ ساخته شد. بدین منظور پس از حل نمودن پلیمر مذکور در حلال به مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی با دور ۵۰۰ rpm قرار داده شد تا یک محلول همگن به دست آید. جهت تولید نانوالیاف از دستگاه الکتروریسی استفاده شد که متشکل از جمع کننده، پمپ سرنگ و منبع تغذیه ولتاژ بالا می‌باشد.

جهت بررسی مورفولوژی نانوالیاف تهیه شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شده و قطر میانگین توسط اندازه گیری ۱۰۰ نانولیف انتخاب شده از نقاط مختلف تصاویر به دست آمد. طیف ATR-FTIR از درصد اختلاط که گرفته شد طیف وسیعی از موج‌های FTIR Equinox 55، بروکر، آلمان از ۶۰۰ تا $4000\ cm^{-1}$ بود.

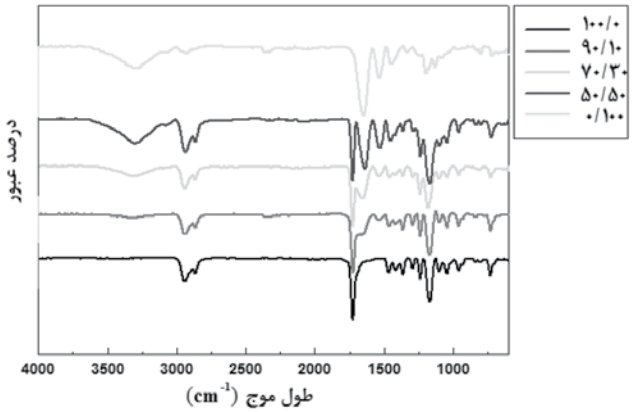
همچنین اندازه‌گیری زاویه تماس قطره آب انجام شد و آبدوستی داربست‌ها مورد بررسی قرار گرفت. سلول فیبروبلاست روی داربست‌ها کشت داده شد عدم سمیت سلول‌ها با MTT و میزان رشد و تکثیر سلول‌ها با رنگ آمیزی H&E و مورفولوژی سلول‌ها با SEM مورد بررسی قرار گرفت. رفتار تخریب داربست‌ها با غوطه‌وری نمونه‌های داربست (۵۰ میلی‌متر × ۱۵ میلی متر) به یک لوله Falcon حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول PBS بعد از ۲۸ روز بررسی شد. وزن هیدراته (w_h)

داربست‌ها بلافاصله برای تعیین میزان جذب آب مورد بررسی قرار گرفت. w_i وزن داربست قبل از تست و w_f وزن داربست بعد از تست هستند

$$\text{جذب آب} \quad (Wh - Wi)/Wi \times 100$$
$$\text{کاهش وزن} \quad (Wi - Wf)/Wi \times 100 \qquad (۱)$$

تخلخل سطحی، به صورت نسبت مساحت منافذ A_0 (مناطق خالی) به مساحت کل A_T تعریف می‌شود:

$$\varepsilon A = A0/AT \qquad (۲)$$



شکل ۱- طیف - ATR-FTIR نانوالیاف PCL/gelatin

۳- بحث و نتایج

FTIR نانوالیاف PCL/G در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که کشش CH_2 نامتقارن، کشش CH_2 متقارن، کشش کربونیل، کشش O-C و C-C، کشش C-O-C نامتقارن و کشش C-O-C متقارن چندین باند مشخص PCL در cm^{-1} ۲۹۴۳، cm^{-1} ۲۸۶۵، cm^{-1} ۱۷۲۸، cm^{-1} ۱۲۹۱، cm^{-1} ۱۲۳۹ و cm^{-1} ۱۱۷۱ ظاهر شده است.

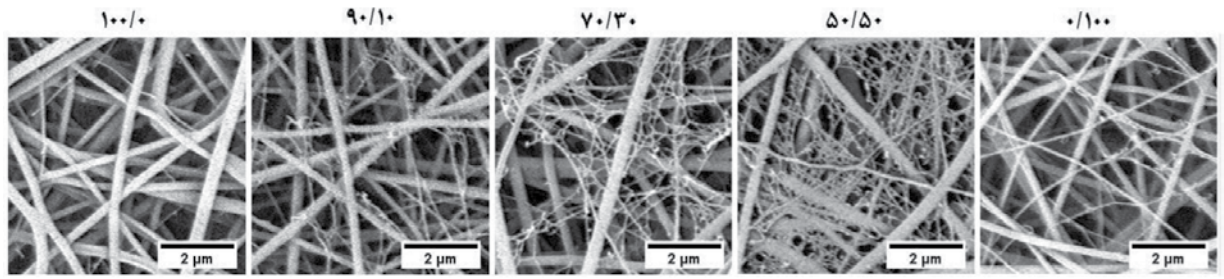
برای کشش H-N پیوند آمید، کشش C=O، خم شدن H - N و H - N به ترتیب در cm^{-1} ۳۳۰۸، cm^{-1} ۱۶۴۸، cm^{-1} ۱۵۳۶ و cm^{-1} ۶۷۴ به ترتیب نشان داده شد. قله های جذب داربست gelatinPCL/ نشان می‌دهد که PCL و ژلاتین ساختار مولکولی آنها را در مخلوط ها تغییر نمی‌دهد.

مورفولوژی داربست‌ها با SEM مورد بررسی قرار گرفت و در شکل ۲ نشان داده شده است که با افزایش ژلاتین در داربست‌ها نانو وب در داربست‌ها افزایش می یابد که باعث چسبندگی بهتر سلول‌ها می‌شود.

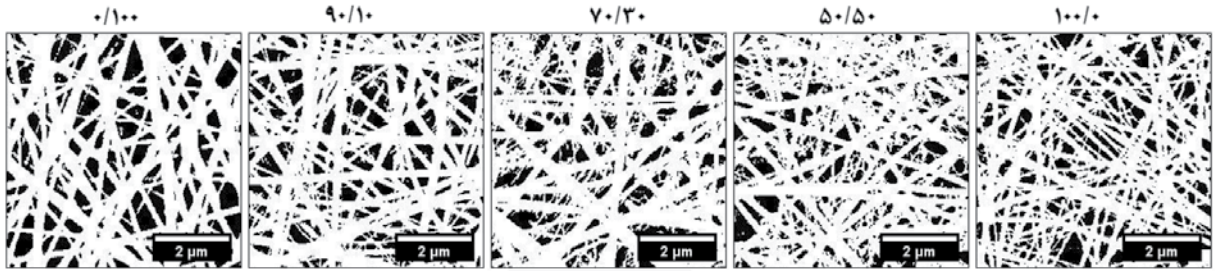
تخلخل داربست‌ها با پردازش تصویر مورد بررسی قرار گرفت همانطور که از شکل ۳ مشاهده می‌شود، الگوریتم خوشه‌بندی k-means بکار برده شد.

جدول ۱ درصد منافذ موجود در نانوالیاف را نشان میدهد. نتایج گویای این موضوع است که با توجه به تصویر نانوالیاف و تصویر حاصل از الگوریتم k-means درصد منافذ با افزایش ژلاتین بدلیل وجود نانووب کاهش می یابد.

شکل ۴ زیست تخریب پذیری داربست PCL/gelatin را نشان می دهد. با



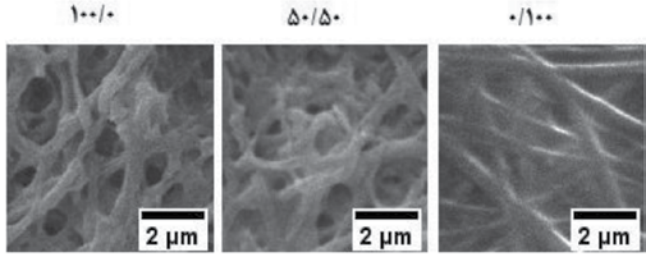
شکل ۲- عکس - SEM نانوالیاف هیبریدی PCL/gelatin



شکل ۳- درصد تخلخل نانوالیاف - PCL/gelatin) آستانه با الگوریتم kmeans)

جدول ۱- درصد منافذ از تصویر نانوالیاف آستانه گذاری شده

درصد PCL/gelatin	۰/۱۰۰	۹۰/۱۰	۷۰/ ۳۰	۵۰/۵۰	۰/۱۰۰
درصد منافذ	۵۵	۵۳	۴۳	۳۶	۳۵



شکل ۴ عکس – SEM زیست تخریب پذیری داربست PCL/gelatin

افزایش پلیمر ژلاتین به PCL زیست تخریب پذیری داربست افزایش می یابد.
برای اتصال، مهاجرت و تکثیر سلولی به داربست، مقاومت در برابر سطح داربست‌ها الزامی است، بنابراین برای ارزیابی آبگریزی سطح داربستهای نانوالیاف /PCL gelatin ، زاویه های تماس با آب روی داربست‌های نانوالیافیPCL/gelatin اندازه گیری شد.

بعد از ۲ ثانیه از قطره ای که روی داربستها می‌افتد عکسبرداری شده و زاویه تماس قطره با سطح اندازه گیری شده است که نتایج نشان داده است با افزایش درصد ژلاتین به داربست زاویه تماس قطره کمتر و آبدوستی داربست افزایش یافته است (شکل ۵)

عدم سمیت داربست با MTT ارزیابی شد مشخص شد که داربست‌ها سمیتی را نشان نمی‌دهند و با افزایش ژلاتین داربست‌ها رشد و تکثیر سلولها روی داربست افزایش می‌یابد. همچنین با رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین در روز سوم کشت سلول رشد و تکثیر سلول‌ها ارزیابی شده است و با رنگ‌آمیزی نیز مشخص شده است که ژلاتین رشد و تکثیر سلولها را افزایش می‌دهد (شکل۶)

مورفولوژی سلول روی داربستها در شکل ۷ نشان داده شده است . نتایج حاکی از آن است که پهن شدگی و سازگاری سلول با داربست با افزایش ژلاتین افزایش می یابد.

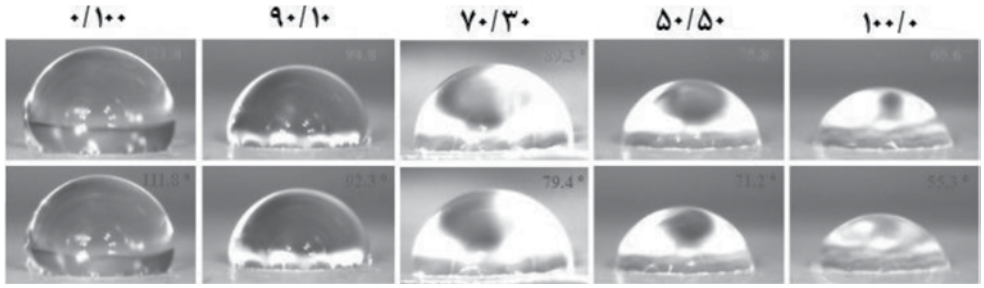
۷-نتیجه‌گیری

در این مطالعه خواص فیزیک وشیمیایی داربست تولیدی با دو پلیمر -PCL/gel atin بررسی شد و نتایج بیانگر این است که پلیمر ژلاتین می‌تواند جهت بهبود چسبندگی و رشد و تکثیر سلول به پلیمر PCL افزوده شود و پلیمر PCL برآورده کننده تخلخل بیشتر، زیست تخریب پذیری کمتر و خواص مکانیکی بهتر است؛ بنابراین داربست PCL/gelatin می‌تواند کاندید امیدوارکننده ای جهت مهندسی بافت باشد.

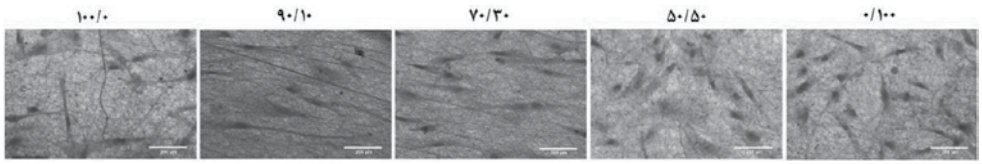
پی‌نوشت

۱– دانشکده نساجی دانشگاه یزد

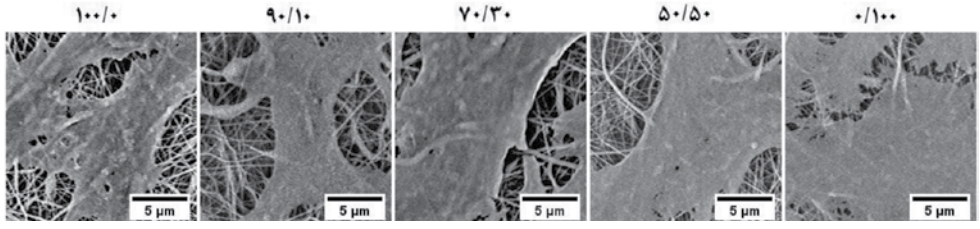
۲– انستیتو تحقیقات باروری یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد



شکل ۵– ارزیابی آبدوستی داربست – PCL/gelatin با استفاده از اندازه گیری زاویه تماس قطره با سطح



شکل ۶– رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین داربست PCL/gelatin



شکل ۷ مورفوژی سلول روی داربست PCL/gelatin

نوآوری در بکارگیری تکنولوژی پردازش تصویر در ماشین آلات مقدمات ریسندگی تروشلر

تهیه و تنظیم: قاسم حیدری[1]

با پیشرفت و قوی تر شدن پردازنده های کامپیوتری، پردازش های دیجیتال و علی الخصوص پردازش تصویر، نقش و کاربردهای موثرتر و بیشتری در ماشین آلات صنعتی ایفا می کنند. پیش‌تر با نقش پردازش تصویر در سنسورهای سنجش یکنواختی نخ آشنا بودیم. در این مقاله به معرفی ۳ نوآوری بکارگیری پردازش تصویر فوق العاده کاربردی و موثر تروشلر در مقدمات ریسندگی پرداخته خواهد شد.

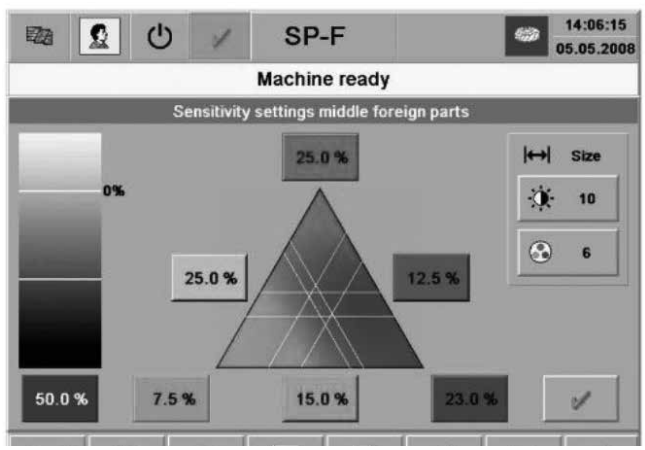
۱- جداکننده اجزای خارجی در ماشین الیاف غربیه یاب

شناسایی همزمان اجزای کوچک با کنتراست بالا و اجزای بزرگ با کنتراست پایین در جریان الیاف سخت شناسایی می شود که شامل اجزای رنگی با کنتراست بالا و شید تیره یا شمعی با قطر کمتر از ۰٫۵ م.م. و تیره و نوار و پلی پروپیلن و جوت با سطح مقطع کوچک با قطر ۱م.م و طول حدود ۲۰ م.م. می شود.

برای رفع این مشکل، تروشلر از دوربین های نسل جدید 3CCD با پردازش سریع توسط ۳چیپ مجزا برای هر رنگ بصورت همزمان بهره گرفته است. (شکل ۱)

شکل ۱

برای انتخاب رنگ بصورت شهودی توسط دیاگرام و سمبل از مانیتور رنگی استفاده شده است و انتخاب پارامترها بصورت مجزا صورت می گیرد. (شکل ۲)



شکل ۲

مدول های بکار گرفته شده جهت شناسایی اجزای خارجی شامل موارد زیر می‌باشد:

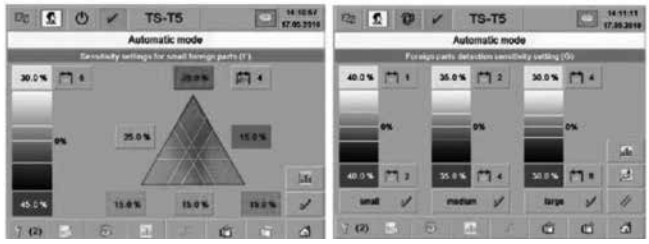
جدول ۱

اجزای جداشونده	مدول	شکل
رنگی و سیاه	F	①
شفاف	P	②
فلوروسنت	UV	③
براق	G	④
کوچک/نازک	LED	⑤

جهت کاهش از دست دادن الیاف همراه اجزای خارجی و مصرف کم هوای فشرده، توزیع ۴۸ شیربرقی و ۱۴۴نازل در کانال عریض و مسطح صورت گرفته است و با اندازه گیری سرعت فعلی جریان عبور الیاف، زمان بهینه پاسخ نازل محاسبه و اعمال می شود. (شکل ۳)

شکل ۳

ضایعات گیاهی ساقه و برگ اجزای خارجی هستند که می توان در کاردینگ بدون ضایعات شدن الیاف همراه با آنها جداشوند. جهت پیشگیری از تولید ضایعات بیش از حد، حساسیت جداسازی متناسب با کیفیت پنبه تنظیم می شود. خود بهینه شوندگی های لازم شامل بالانس مقدار سفیدی مرجع، اندازه گیری رنگ پنبه و تغییرات رنگی و انطباق سرعت مواد لحظه ای می بشاد که به آسانی کالیبره می شود. (شکل ۴)



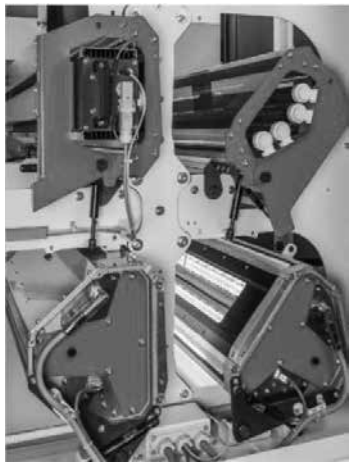
شکل ٤

مدول ال.ای.دی با ۵۳۶ ال.ای.دی کوچک عملکرد خود-بهینه شوندگی دارد تا شدت نور ثابت داشته باشد و از دو طرف به توده های الیاف عبوری تابیده می شود. از طرفی بعلت استانداردسازی لامپ های فلوروسنت و کاهش شدت بازه نور آبی، سرویس و نگهداری حداقلی با تعویض ۶ماهه میسر شده است. (شکل ۵)

نتایج بصورت آماری اجزای غریبه شناسایی شده در هر لحظه متناسب با توزیع رنگی و تعداد و اندازه آنها بصورت نموداری ارائه می گردد. (شکل ۶)

۲-نپ-کنترلر در ماشین کاردینگ

یکی از مهمترین وظایف کاردینگ، کاهش نپ توسط خارج کردن آن توسط فلت‌ها



شکل ۵

می‌باشد. از طرفی تنظیم فواصل بگونه ای باید انجام شود که خود کاردینگ نیز باعث افزایش نپ الیاف تغذیه شده به کاردینگ نگردد.بدین منظور سیستم مانیتورینگ شمارش تعداد نپ های وب تولید شده از کاردینگ ارائه گردید که شامل دوربین و فلش کنترل نپ می باشد. (شکل ۷)

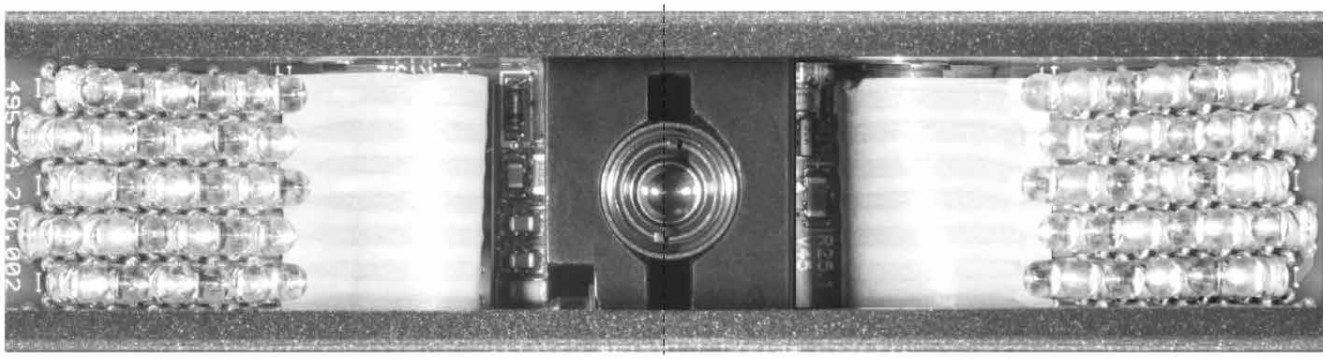
این دوربین هر متر از وب را اسکن می ند و سریعا افزایش بیش از حد مورد قبول نپ را شناسایی می کند. این دوربین بالای غلتک تیکاپ وب بر روی یک پروفایل نصب گردیده که در تمام عرض ماشین حرکت می کند و هر ثانیه ۲۰ از وب درحال عبور عکس تهیه می کند. نپ‌های شناسایی شده شامل گلوله الیاف و ضایعات گیاهی(trash) و ذرات پوشیده پنبه دانه را شامل می‌شود. (شکل ۸)

تشخیص صدمه دیدگی پوشش ها و یا تنظیمات غلط با بدست آوردن چگونگی توزیع نپ ها در طول عرض ماشین، از سایر مزیت های این سیستم است. (شکل ۹)

۳- کنترل ضایعات در تمیزکننده های حلاجی و کاردینگ

الیاف باید جزئی از نخ شوند نه جزئی از ضایعات. بعلت سهم بالای مواد اولیه در تولید نخ ، المان های نظافتی باید بهترین زاویه و فاصله را داشته باشند تا الیاف خوب خارج نشوند و متناسب با مواد اولیه تنظیم گردند. مهمترین ناحیه تمیزکنندگی الیاف ناحیه تیکرین است ولی جهت تمیزشوندگی بهتر، ممکن است الیاف بسیار خوبی را بعنوان ضایعات خارج شود. برای بررسی ضایعات خارج شده از کانال مکش ضایعات تیکرین، سنسور بررسی حجم الیاف و ضایعات محتوی آن درنظر گرفته شده است. (شکل ۱۰)

شکل ٦



شکل ۷

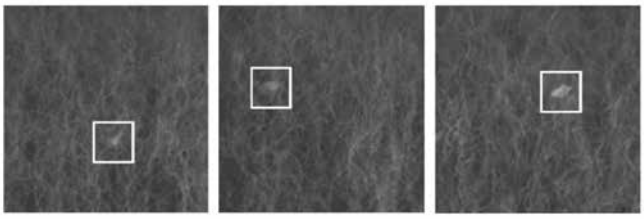
سنسور نوری تعبیه شده ترکیبات ضایعات خارج شده مقدار الیاف محتوی و مقدار ضایعات محتوی توده الیاف خارج شده را را اندازه گیری می کند. (شکل ۱۱)

اندازه گیری با بسته بودن کامل المان تمیزکننده آغاز می شود. تیغه های دفلکتور کم کم باز می شوند. و خروج ضایعات کم کم افزایش می یابد. از یک لحظه ای تعداد زیادی از الیاف خوب نیز خروج به استخراج می شود. بدین ترتیب کاهش ضایعات بهمراه درجه بالای باز شوندگی بدست می آید. تنظیمات بصورت اقتصادی، کیفی و استاندار قابل تنظیم است. (شکل ۱۲)

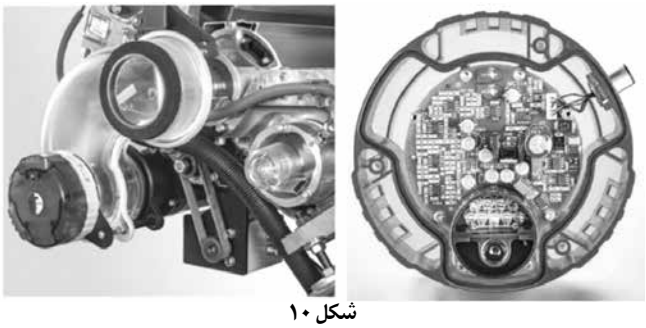
سیستم کنترل ضایعات بهترین استفاده از مواد اولیه با کمترین ضایعات در ناحیه تیکرین(مهمترین ناحیه تمیزکنندگی) را ممکن میسازد. بطوریکه اگر الیاف بسیارخوبی بعنوان ضایعات خارج شوند، توسط سروموتور مجددا فاصله چاقویی تنظیم میشود. در این سیستم خود–بهینه شونده، درصد الیاف خارج شده در حین کار اندازه گیری میشود و تغییرات بهینه سازی درحین تولید اعمال میشود.

پی‌نوشت

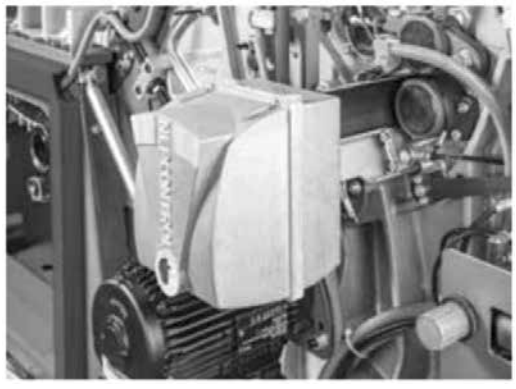
۱–فوق لیسانس تکنولوژی نساجی



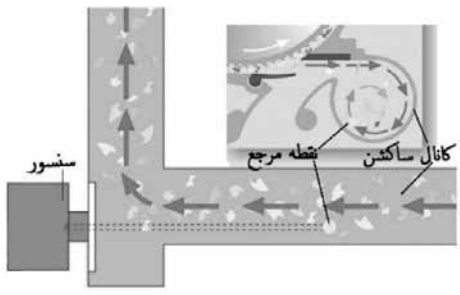
شکل ۸



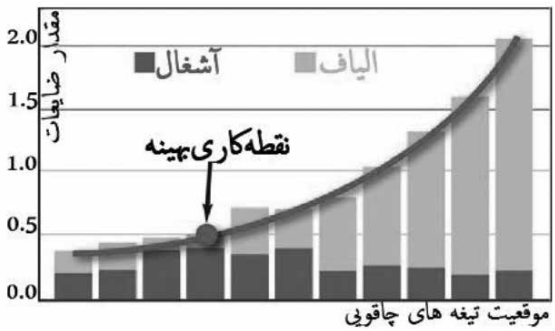
شکل ۱۰



شکل ۹



شکل ۱۱



شکل ۱۲