

## مقاله پژوهشی

## سنتز و مشخصه‌یابی فیزیکی-مکانیکی کامپوزیت بتاتری کلسیم فسفات-هیدروکسی آپاتیت-شیشه زیست فعال برای کاربرد در ترمیم بافت‌های استخوانی

سید کمال سیدمجیدی<sup>۱</sup>، فتح‌اله مضطرزاده<sup>۲</sup>، مریم سیدمجیدی<sup>۳</sup> و سیدعلی سیدمجیدی<sup>۳\*</sup>

۱- دانشکده مهندسی مواد و صنایع، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران

۲- دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات مواد دندانپزشکی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۱/۰۹/۱۰، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۲/۰۲/۱۲

### چکیده

در این پژوهش، شیشه زیست فعال به روش سل-ژل سنتز شد و با آنالیزهای XRD، FTIR، SEM و DLS مورد سنجش قرار گرفت. ساخت کامپوزیت با ترکیب بهینه ۴۰٪ شیشه زیست فعال، ۳۰٪ بتاتری کلسیم فسفات و ۳۰٪ هیدروکسی آپاتیت (HAp) به روش پرس سرد انجام و سپس نمونه‌ها زینتر شدند. به منظور بررسی زیست فعالی، نمونه‌ها در محلول SBF غوطه‌ور شده و در نهایت پس از خشک‌سازی مورد آنالیزهای XRD و SEM قرار گرفتند. استحکام فشاری نمونه‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF توسط ماشین تست یونیورسال ارزیابی شد. آنالیز XRD و FTIR حاکی از صحت ترکیب شیمیایی و استوکیومتری بودن پودر شیشه زیست فعال سنتز شده و آمورف بودن آن بود. طبق آنالیز DLS اندازه ذرات پودر شیشه زیست فعال در محدوده ۲۵۰-۳۰۰ nm بود. دمای بهینه جهت زینتر کردن نمونه‌ها طبق نتایج DTA، ۸۰۰ °C تعیین شد. آنالیز XRD و SEM نمونه‌های کامپوزیتی قرار داده شده در محلول شبیه‌سازی شده بدن مؤید تشکیل لایه HAp روی سطح و زیست فعالی خوب آن‌ها بود. بیشترین میزان استحکام فشاری در نمونه قبل از زینتر شدن ۰/۸۳ MPa اندازه‌گیری شد که این میزان پس از زینتر شدن و با افزایش زمان غوطه‌وری در SBF کاهش نشان داد. با توجه به نتایج، نمونه‌های کامپوزیتی ساخته شده دارای خصوصیات فیزیکی-مکانیکی و زیست فعالی قابل قبول بوده و می‌تواند گزینه مناسبی جهت استفاده به عنوان جایگزین بافت استخوان به شمار رود.

**واژه‌های کلیدی:** شیشه زیست فعال، سل-ژل، هیدروکسی آپاتیت، بتاتری کلسیم فسفات، بازسازی بافت استخوان.

### ۱- مقدمه

دارای محدودیت‌های مهمی همچون دسترسی کم، نداشتن استحکام مکانیکی و شکل‌پذیری، ایجاد بیماری در موضع ثانویه و انتقال بیماری‌هایی مثل ایدز و هپاتیت می‌باشند، در درمان بافت‌های آسیب‌دیده استخوانی یا دندانپزشکی

امروزه مواد مصنوعی زیست‌سازگار به عنوان جایگزین روش‌های مرسوم مثل اتوگرافت، آلوگرافت و زئوگرافت که

\* عهده‌دار مکاتبات: سیدعلی سیدمجیدی

نشانی: مازندران، بابل، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات مواد دندانپزشکی

تلفن: ۰۱۱-۳۲۲۹۱۴۰۸، دورنگار: ۰۱۱-۳۲۲۹۱۰۹۳، پست الکترونیکی: s.majidi.dvm@gmail.com

جهت نوسازی بافت بیمار یا آسیب دیده به وضعیت و عملکرد اصلی اش است [۲]. بازسازی موفقی استخوان توسط بیومتریال های استفاده شده، به تکثیر و تمایز سلولی و معدنی شدن ماتریکس خارج سلولی وابسته است [۱۱].

از زمان کشف بایوگلاس توسط Hench و همکاران در ۱۹۷۰، انواع مختلفی از شیشه ها، شیشه سرامیک ها و سرامیک های زینتر شده، ساخته شده که استحکام مکانیکی آن ها خیلی زیاد نیست و کاربردهای آن ها محدود به نواحی متحمل فشارهای کم، شده است [۱۲]. از آن پس مطالعات زیادی برای استفاده از این مواد در کاربردهای مختلف پزشکی در شکل های مختلف پودر، پوشش و فاز زیست فعال در کامپوزیت ها صورت گرفته است.

مواد کلسیم فسفاتی، بدلیل فعالیت زیستی و زیست سازگاری عالی شان در مهندسی بافت، امیدهای تازه ای ایجاد کرده اند. در این میان گسترده ترین استفاده در تحقیقات زیست پزشکی را هیدروکسی آپاتیت و بتاتری کلسیم فسفات دارد [۱۳، ۱۰، ۶]. اما این مواد نیز در خواص مکانیکی و بیولوژیکی کاستی هایی دارند. سرعت زیست تخریب پذیری هیدروکسی آپاتیت در مایعات بدن جهت حصول شرایط مناسب برای دستیابی به بافت استخوانی، خیلی آهسته است. در مقابل، به دلیل انحلال خیلی سریع بتاتری کلسیم فسفات، سطح کافی و در دسترس برای گسترش سلول بوجود نمی آید. ماهیت شکننده و چقرمگی کم نیز مانع از کاربرد کلینیکی آن ها می شود [۳]. جهت دستیابی به سرعت تخریب زیستی قابل کنترل و ثبات بیولوژیکی، از طریق تنظیم نسبت بتاتری کلسیم فسفات به هیدروکسی آپاتیت، سرامیک دو فازی شامل هیدروکسی آپاتیت پایدار و بتاتری کلسیم فسفات قابل حل ساخته شده است [۱۴، ۱۵]. خواص مکانیکی این ترکیب به دلیل پیوستگی فاز دوم، تقویت شده و می تواند در نقایص بزرگ استخوانی، نواحی تحت نیروی سایشی و ایمپلنت های سفارشی، ایفای نقش کند. مطالعات درون تنی نشان داده اند شیشه های زیست فعال بسیار سریع تر از سایر بیوسرامیک ها با استخوان متصل می شوند [۱۶]. محصولات حاصل از تجزیه

بیماری هایی مثل استئوپروز، سرطان و عفونت ها استفاده می شوند [۱]. با چنین استدلال های چالش برانگیزی درباره استفاده از گرافت های استخوان طبیعی، توسعه مواد مصنوعی جایگزین استخوان ساخته شده از فلزات، سرامیک ها، پلیمرها و کامپوزیت ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است [۲]. برای تحقق بهبودی کامل، ضروری است مواد جدیدی که توانایی تعامل با بافت احاطه کننده و افزایش و هدایت بازسازی کامل بافت را داشته باشند، تولید شوند [۱].

واژه بایوسرامیک، یک واژه عمومی است که در مورد شیشه ها، شیشه سرامیک ها و سرامیک هایی که به عنوان ایمپلنت بکار می روند، استفاده می شود. اما مواد زیست فعال، به موادی اطلاق می شود که دارای پاسخ مناسب از سوی بدن به ویژه ایجاد اتصال با بافت میزبان (معمولا استخوان) باشند [۳]. ایمپلنت های زیست سازگار باید غیر سمی، غیر سرطان زا، از لحاظ شیمیایی پایدار، دارای کمترین و یا حتی بدون واکنش خارجی با بافت بدن و مقاومت کافی در برابر زیست تخریب پذیری داشته باشند. همچنین مواد یا سیستم انتخابی باید دارای خواص مکانیکی مناسب از جمله خواص الاستیک، تنش تسلیم، قابلیت چکش خواری، چقرمگی و مقاومت به سایش باشند [۴]. بیشتر روش های مهندسی در این زمینه در جهت تقلید از بافت طبیعی استخوان و در نتیجه ایجاد یک محیط مناسب برای تولید استخوان است [۵]. بعلاوه به منظور دستیابی به موفقیت در مهندسی بافت، داربست کلسیم فسفاتی باید ساختاری با تخلخل های بهم پیوسته داشته باشد تا اتصال سلولی، پرولیفراسیون، تمایز سلولی و ساختار حمایت کننده برای بافت های تازه شکل گرفته، به خوبی ایجاد شود [۶]. روش های مختلفی برای ساخت چنین داربست هایی وجود دارد که از جمله می توان به پرس سرد، چاپ سه بعدی، ریخته گری ژل اشاره نمود [۷-۱۰]. با توجه به پیشرفت های علمی گسترده در حوزه هایی نظیر نانو، بیولوژی، مهندسی و علم مواد چشم اندازهای تازه ای در برابر پژوهشگران این حوزه ترسیم شده است [۴]. هدف اصلی در مهندسی بافت، تحریک مکانیسم های بدن

شیشه‌های زیست‌فعال می‌تواند پاسخ سلولی را در سطح ژنی تحریک کند که منجر به تمایز سلول‌های استخوانی می‌شود [۱۷].

چالش اصلی پیش روی علم مهندسی بافت سنتز داربست‌هایی است که ضمن داشتن خواص مکانیکی مناسب قابلیت تحریک بازسازی بافت را فراهم آورد. لذا در صورتی که بتوان بطور بهینه از ترکیب خواص بتاتری کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و شیشه زیست‌فعال بهره برد، شاید بتوان به این هدف نایل آمد. مطالعه حاضر با هدف سنتز و بررسی خواص فیزیکی-مکانیکی گرافت استخوانی با ترکیب جدید بتاتری کلسیم فسفات-هیدروکسی آپاتیت-شیشه زیست‌فعال برای کاربرد در ترمیم آسیب‌های بافت استخوانی انجام پذیرفت.

پیش‌سازهای  $P_2O_5$  و  $CaO$  پس از انحلال به محلول اضافه و هر کدام به مدت ۴۵ دقیقه مخلوط شدند. سل تهیه شده به مدت ۵ روز در انکوباتور (Gallenkamp Economy Incubator, Size 1, England)  $37^\circ C$  قرار داده شد تا به صورت کامل ژل شود. ژل بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در خشک‌کن (Ehret-TK2, Germany) با دمای  $70^\circ C$  نگهداری شد تا هیدرولیز شده، به دانسیته مطلوب برسد. سپس به منظور همگن شدن بیشتر، توسط اسپاتول آزمایشگاهی خرد شد. در نهایت، ژل خرد شده جهت کلسینه شدن مجدداً در خشک‌کن با دمای  $140^\circ C$  به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا به صورت کامل خشک شود.

پودر بدست آمده با توجه به نتایج حاصل از آنالیز حرارتی (STA 503, Germany)، به منظور حذف نیترات‌ها و نیز همگن شدن و توزیع عناصر اصلاح‌کننده شبکه (کلسیم) تحت پایدارسازی در دمای  $600^\circ C$  به مدت ۲ ساعت قرار گرفت و سپس بلافاصله جهت جلوگیری از کریستالیزاسیون از کوره خارج گردید.

جهت تعیین توزیع اندازه ذرات، پودرهای خارج شده از کوره از الک شماره ۱۷۰ (دماوند، ایران) با اندازه چشمه  $90 \mu m$  (ASTM E11) عبور داده شدند.

جهت بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محصول و مشخصه‌یابی و ارزیابی ساختار شیشه‌ای و آمورف از تکنیک XRD (PANalytical X'Pert Pro MPD, Netherland) و طیف‌نگاری مادون قرمز (FTIR, Bomem, Canada) بهره گرفته شد. از آنجایی که اندازه و توزیع اندازه ذرات، تاثیر

چالش اصلی پیش روی علم مهندسی بافت سنتز داربست‌هایی است که ضمن داشتن خواص مکانیکی مناسب قابلیت تحریک بازسازی بافت را فراهم آورد. لذا در صورتی که بتوان بطور بهینه از ترکیب خواص بتاتری کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و شیشه زیست‌فعال بهره برد، شاید بتوان به این هدف نایل آمد. مطالعه حاضر با هدف سنتز و بررسی خواص فیزیکی-مکانیکی گرافت استخوانی با ترکیب جدید بتاتری کلسیم فسفات-هیدروکسی آپاتیت-شیشه زیست‌فعال برای کاربرد در ترمیم آسیب‌های بافت استخوانی انجام پذیرفت.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

مواد اولیه استفاده شده به همراه نام اختصاری آن‌ها در جدول ۱ آمده است. مواد شیمیایی بکار برده شده دارای خلوص بالا بوده و بدون خالص‌سازی مصرف شده‌اند. همچنین آب مقطر دیونیزه برای شستشو و ساخت بعضی از محلول‌ها استفاده شده است.

جدول ۱: مواد مورد استفاده و نام اختصاری آن‌ها.

نام ماده	علامت اختصاری ماده	شرکت تولید کننده ماده
$\beta$ -tri-Calcium phosphate	$\beta$ -TCP	Sigma-Aldrich
Tetraethyl orthosilicate	TEOS	Sigma-Aldrich
Triethyl phosphate	TEP	Sigma-Aldrich
Hydroxylapatite	HA	Sigma-Aldrich
Calcium nitrate tetrahydrate	$Ca(NO_3)_2$	Sigma-Aldrich

جهت سنتز شیشه زیست‌فعال با ترکیب استوکیومتری 58S، ابتدا با اختلاط اسید نیتریک ۲ مولار به آب مقطر در حال هم خوردن روی همزن (Heidolph MR 3000k, Germany)،

(جهت جلوگیری از کریستالیزاسیون) زینتر و سپس در دمای اتاق سرد گردید.

برای انجام آزمایش زیست‌فعالی (بررسی تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت روی سطح نمونه‌ها)، محلول شبیه‌سازی شده بدن ساخته شد. محلول SBF مورد استفاده در این پژوهش، از روی دستورالعمل پیشنهادی Kokubo تهیه شد، که ترکیب آن جدول ۲ آورده شده است [۱۸].

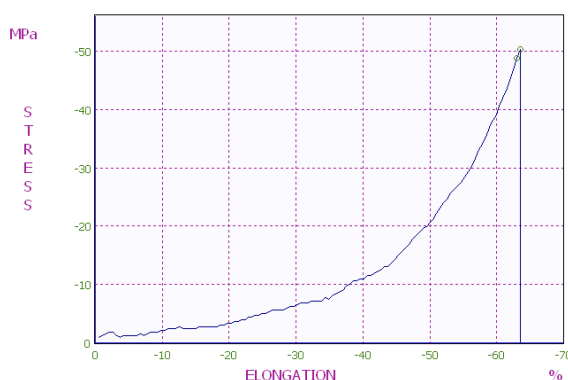
جدول ۲: ترکیب محلول SBF.

غلظت (g/l)	فرمول ماده شیمیایی
7.996	NaCl
0.35	NaHCO <sub>3</sub>
0.224	KCl
0.228	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O
0.305	MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
40 ml	HCl
0.278	CaCl <sub>2</sub>
0.071	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
6.075	(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>

برای ساخت محلول SBF، مواد ذکر شده در جدول ۲ توسط ترازوی دیجیتال (Sartorius-GE412, Germany) با دقت ۰/۰۰۱ g توزین و درون ارلن حاوی ۷۰۰ ml آب مقطر ریخته شد. ارلن بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد تا محتویات آن حل شود. محلول بدست آمده توسط تریس (هیدروکسی متیل آمینو متان) بافر گردید. pH محلول حاصل توسط اسید هیدروکلریک به ۷/۴ و سپس حجم محلول به یک لیتر رسانده شد. محلول تهیه شده در مدت انجام تحقیق، درون یک بطری در بسته از جنس پلی اتیلن و در دمای ۴ °C نگهداری شد. به منظور ارزیابی زیست‌فعالی، نمونه‌های کامپوزیتی استوانه‌ای شکل به مدت زمان‌های ۳، ۷ و ۱۴ روز در ظروف در بسته پلی اتیلنی حاوی ۲۰ ml محلول SBF و در انکوباتور با دمای ۳۷ °C قرار داده شد. جهت حفظ محیط پویا و افزایش میزان ترسیب هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح نمونه‌ها، محلول SBF به فواصل زمانی ۷۲ ساعت تعویض گردید. نمونه‌ها پس از خروج از SBF در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

زیادی بر روی استحکام مکانیکی، دانسیته و خواص نوری و حرارتی محصول نهایی دارد، اندازه ذرات به کمک تکنیک پراکندگی دینامیکی نور (DLS, Zetasizer ZEN 3600, England) ارزیابی شد.

برای اطمینان از یکنواختی اندازه دانه‌ها، پودرهای هیدروکسی آپاتیت و بتاتری کلسیم فسفات نیز از الک شماره ۱۷۰ با اندازه چشمه ۹۰ μm (ASTM E11) عبور داده شدند. سپس برای ساخت نمونه‌های کامپوزیتی به شکل استوانه و با ارتفاع ۱۰ mm و قطر ۵ mm، ۰/۲۸ g پودر شامل ۴۰٪ شیشه زیست‌فعال، ۳۰٪ هیدروکسی آپاتیت و ۳۰٪ بتاتری کلسیم فسفات استفاده شد. تمامی نمونه‌ها تحت فشار تک محوری ۵۰ MPa توسط دستگاه تست یونیورسال (STM-250، سنتام، ایران) پرس گردیدند که نمودار نیرو-جابجایی روند پرس کردن کامپوزیت پودری در شکل ۱ آورده شده است.



شکل ۱: نمودار نیرو-جابجایی روند پرس کردن کامپوزیت پودری.

برای انتخاب دما و زمان حرارت‌دهی در مرحله زینترنگ، آنالیز حرارتی از نمونه کامپوزیتی تهیه گردید. آنالیز حرارتی (BAHR-Thermoanalyse GmbH, Germany) از دمای اتاق تا ۱۱۰۰ °C با آهنگ افزایش دمای ثابت ۱۰ °C/min انجام شد و از آلومینا به عنوان ماده مرجع استفاده گردید. با توجه به نتایج بدست آمده از آنالیز حرارتی، نمونه‌های کامپوزیتی تهیه شده به مدت ۱۸۰ دقیقه در دمای ۸۰۰ °C

محدوده پیک‌های مشاهده شده در شکل ۳ تأیید کرد که پودر سنتر شده دارای ترکیب شیمیایی استوکیومتری شیشه زیست‌فعال است.

محدوده عدد موجی  $1043$  و  $471 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوند Si-O-Si، محدوده عدد موجی  $1625$  و  $800 \text{ cm}^{-1}$  نشانگر پیوند Si-O موجود در پودر سنتر شده است. پیک حاصله در محدوده  $571$  و  $3474 \text{ cm}^{-1}$  به ترتیب مربوط به گروه‌های  $\text{PO}_4^{3-}$  و OH ساختاری در پودر سنتر شده است [۱۹]. تمایز قائل شدن بین فرکانس جذب هر یک از این گروه‌ها بسیار مشکل است و در مقالات مختلف فرضیه‌های متفاوتی برای آن عنوان شده است.

معمولاً، در حضور برخی از گروه‌های اکسیژن‌غیرپیوندی، فرکانس Si-O در حدود  $940-1040 \text{ cm}^{-1}$  افت می‌کند [۲۰] که در شکل ۳ نیز این پیک دیده می‌شود. شکل ۴ توزیع اندازه ذرات شیشه زیست‌فعال سنتر شده را نسبت به شدت، تعداد و حجم نشان می‌دهد. میانگین اندازه ذرات شیشه زیست‌فعال سنتر شده در محدوده  $250-300 \text{ nm}$  بود.

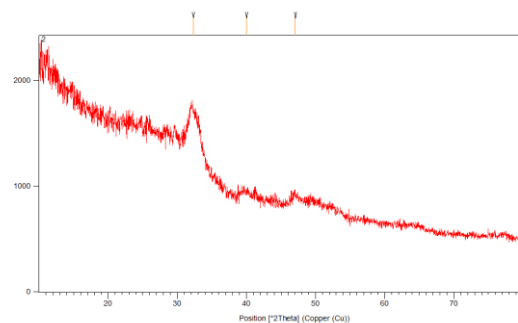
مرتضوی و همکارانش [۲۱] اندازه ذرات پودر شیشه زیست‌فعال سنتر شده در پژوهش خود را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) سنجیده و آن را در محدوده  $290-220 \text{ nm}$  گزارش کردند که در توافق با نتیجه بدست آمده در پژوهش حاضر می‌باشد. از آنجایی که مواد با اندازه ذرات در مقیاس نانو از نسبت سطح به حجم بیشتری برخوردارند، لذا انتظار می‌رود هنگام استفاده به عنوان جایگزین بافت‌های از دست رفته در بدن، بعلاوه سطح ویژه بالاتر، تعامل بیشتری با مایعات بدن داشته و در نتیجه زیست‌فعالی بیشتری نسبت به ترکیبات با اندازه ذرات بزرگتر بروز دهند [۲۲]. بعلاوه با توجه به نتایج مطالعات انجام شده نانوذرات بدلیل رهایش سریع تر یون‌ها در محیط بیولوژیک، اثرات ضدباکتریایی مناسبی از خود نشان می‌دهند [۲۳].

به منظور بررسی ساختار نمونه‌های کامپوزیتی، پراش پرتو ایکس آن‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF تهیه گردید. همچنین جهت بررسی ریزساختار و مورفولوژی نمونه‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Seron Technology, AIS2100, South Korea) استفاده شد. نمونه‌ها قبل از این که داخل محفظه میکروسکوپ قرار بگیرند، توسط طلا پوشش داده شدند و جهت رسانایی بهتر، سطح زیرین نمونه‌ها توسط چسب نقره به پایه نگهدارنده آنها متصل گردید.

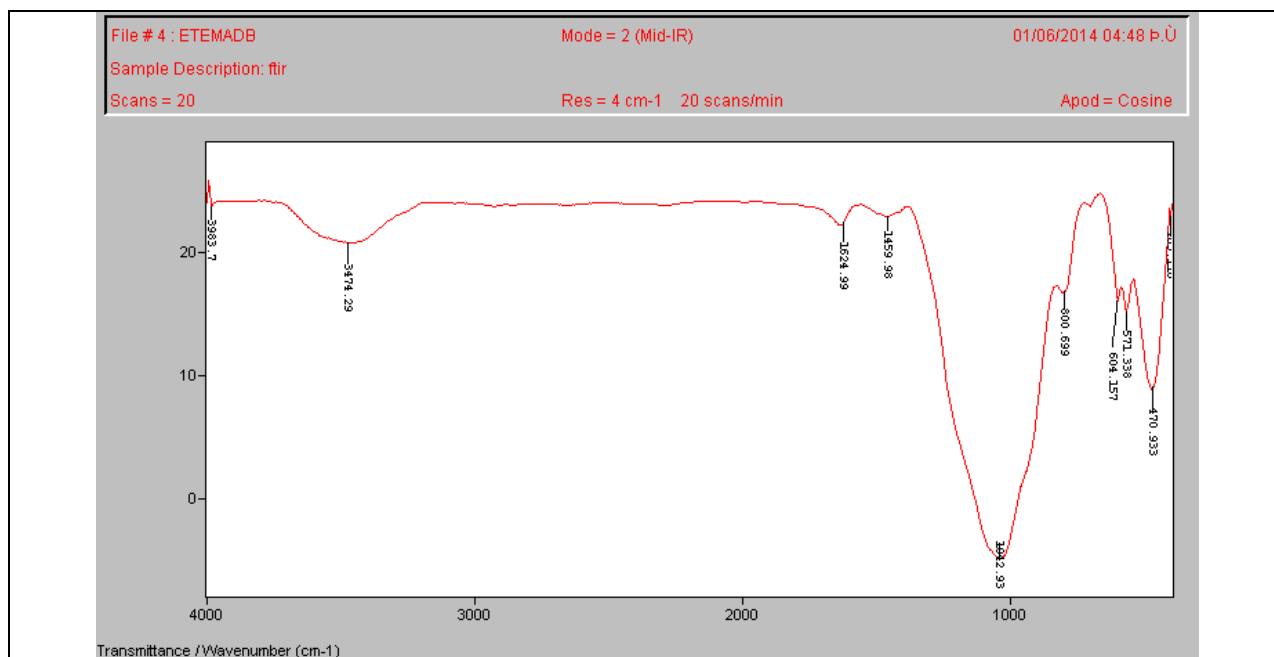
جهت بررسی رفتار مکانیکی نمونه‌های کامپوزیتی، از دستگاه تست یونیورسال (سانتام، ایران) با لودسل  $50 \text{ KgF}$  (که دارای حساسیت بالایی نسبت به نیروهای کم می‌باشد) استفاده شد. ابتدا نمونه‌های کامپوزیتی استوانه‌ای زینتر شده، سپس به ترتیب نمونه‌های قرار گرفته در محلول SBF به مدت ۳، ۷ و ۱۴ روز، تحت فشار قرار گرفتند.

### ۳- نتایج و بحث

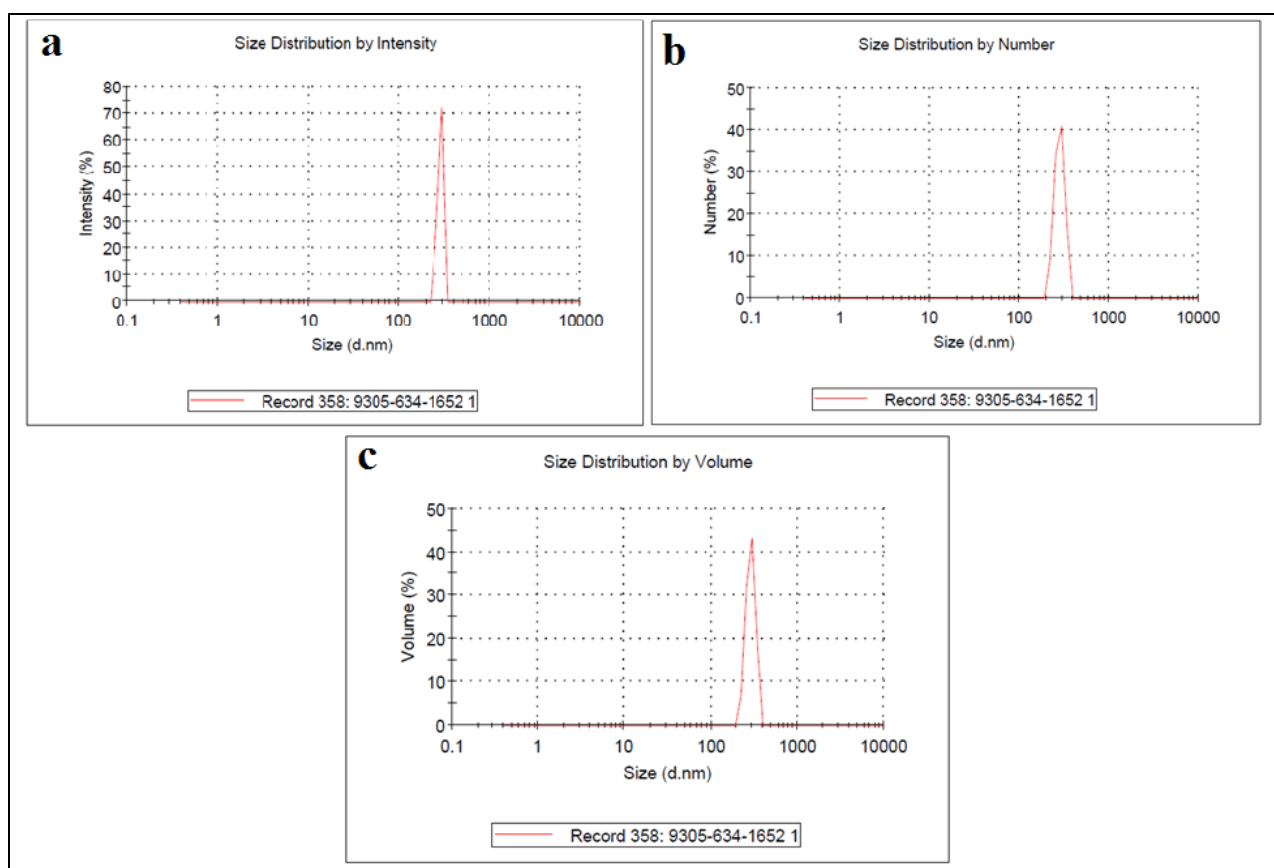
پراش پرتو ایکس شیشه زیست‌فعال سنتر شده در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به عدم وجود پیک‌های شدید نسبت به کل پراکنش می‌توان نتیجه گرفت ماده سنتر شده در دمای  $600^\circ \text{C}$  کریستالی نشده و آمورف است، در نتیجه پودر بدست آمده یک شیشه به شمار می‌رود.



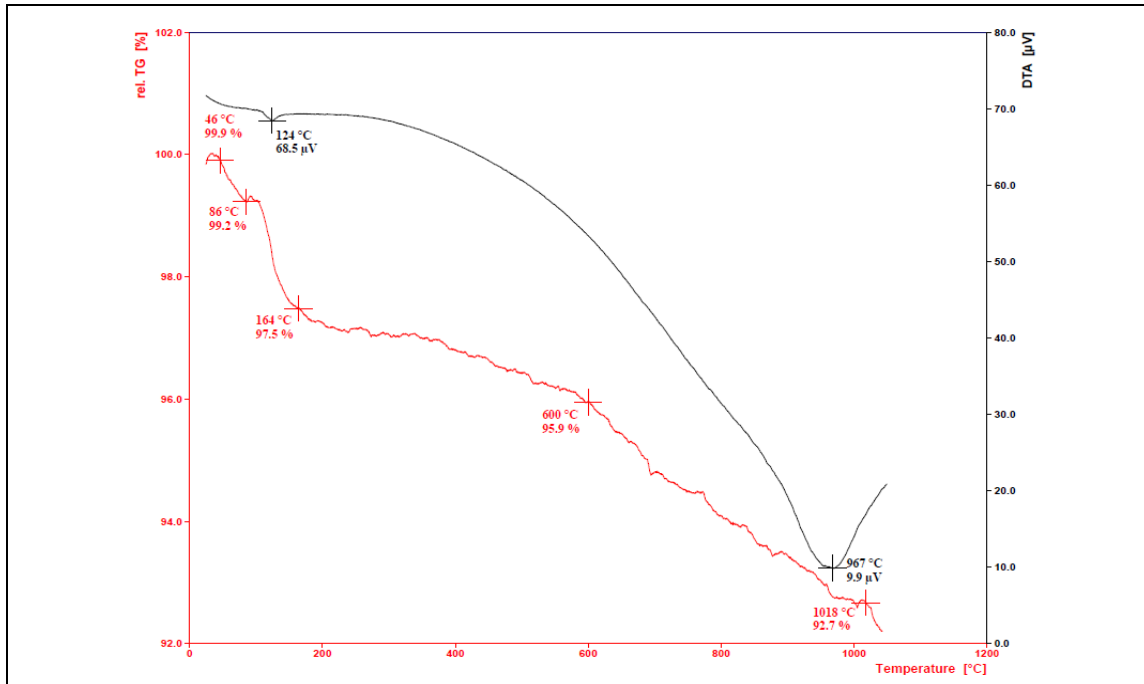
شکل ۲: XRD شیشه زیست‌فعال سنتر شده به روش سل-ژل.



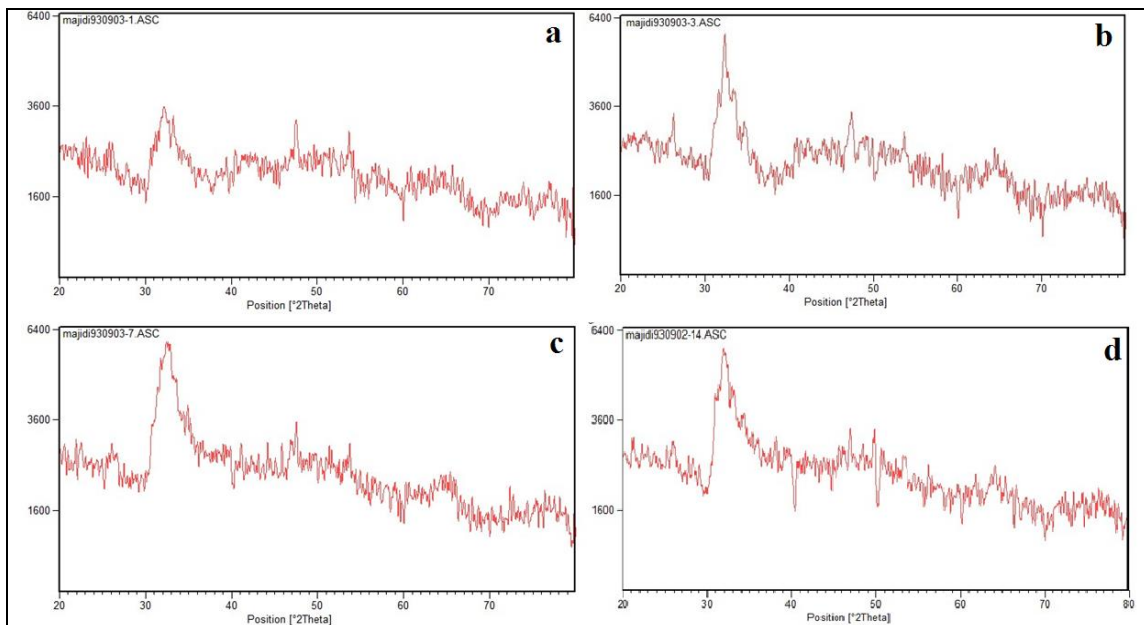
شکل ۳: نمودار آزمون FTIR شیشه زیست فعال سنتز شده به روش سل-ژل.



شکل ۴: نمودار توزیع اندازه ذرات شیشه زیست فعال سنتز شده به روش سل-ژل نسبت به (a) شدت، (b) تعداد و (c) حجم.



شکل ۵: نمودار آزمون TG/DTA کامپوزیت شیشه زیست‌فعال-هیدروکسی آپاتیت-باتری کلسیم فسفات.



شکل ۶: نمودار آزمون XRD کامپوزیت شیشه زیست‌فعال-هیدروکسی آپاتیت-باتری کلسیم فسفات (a) قبل و بعد از قرارگیری در SBF به مدت (b) ۳، (c) ۷ و (d) ۱۴ روز.

آنالیز حرارتی از دمای اتاق تا ۱۱۰۰ °C با آهنگ افزایش دمای ثابت ۱۰ °C/min انجام شد و از آلومینا به عنوان ماده مرجع برای DTA در دستگاه STA503 استفاده گردید.

شکل ۵ نتایج آزمون همزمان TG/DTA نمونه کامپوزیتی حاوی شیشه زیست‌فعال-هیدروکسی آپاتیت-باتری کلسیم فسفات را نشان می‌دهد.

ابتدا پیک بتاتری کلسیم فسفات به صورت بارزی دیده می شود که پس از قرارگیری نمونه در محلول SBF و تبادل یونی نمونه با آن، بتاتری کلسیم فسفات شروع به حل شدن می کند و از شدت این پیک کاسته می شود که این موضوع پس از ۳ روز غوطه وری به وضوح دیده می شود. همچنین با گذشت ۳ روز پیک مربوط به هیدروکسی آپاتیت پیک تیزتر می شود که مربوط به تشکیل هیدروکسی آپاتیت در سطح نمونه است. این شدت پس از ۷ روز همچنان قابل مشاهده می باشد اما پس از ۱۴ روز اندکی از شدت پیک مذکور کاسته می شود که این می تواند مربوط به تبادل یونی نمونه با محلول SBF باشد.

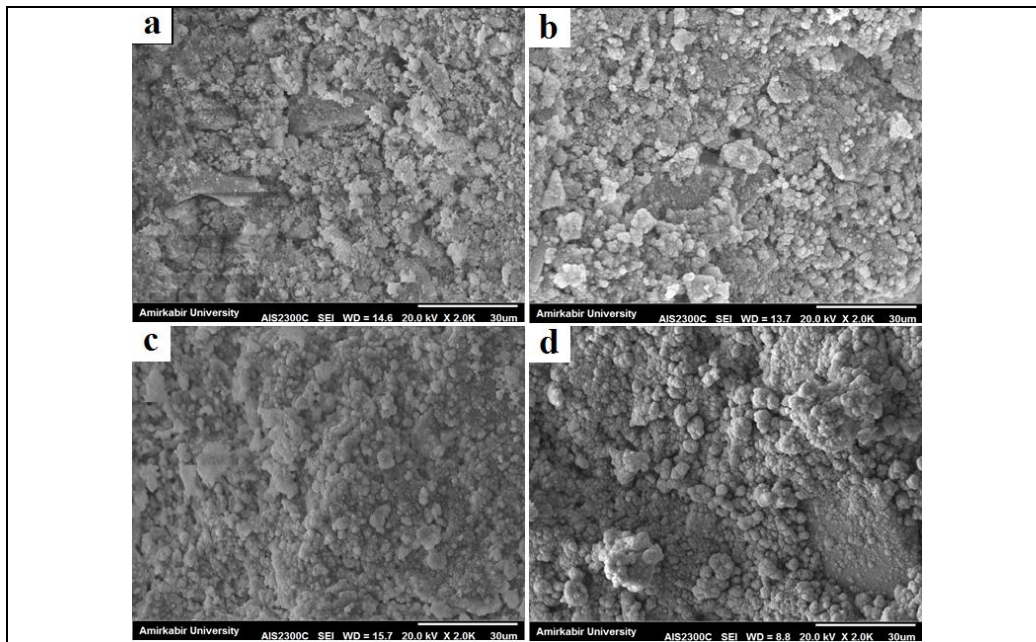
برای بررسی تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح نمونه های کامپوزیتی، پس از قرار گرفتن نمونه ها به مدت ۳، ۷ و ۱۴ روز در محلول SBF، آزمایش پراش پرتو ایکس به عمل آمد. شکل ۶ نتایج مربوط به آزمون مذکور را نشان می دهند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نمونه ها قبل و بعد از قرارگیری در محلول SBF به مدت زمان های ۳، ۷ و ۱۴ روز در شکل ۷ دیده می شود. نمونه کامپوزیتی قبل از قرار گرفتن در محلول SBF دارای یک سطح کاملاً زینتر شده است. در اثر قرار گرفتن نمونه در محلول SBF و تبادل یون با این محلول، ذرات هیدروکسی آپاتیت روی سطح نمونه ایجاد می شود. میزان این ذرات تا ۷ روز روی سطح زیاد می شود ولی پس از ۱۴ روز از میزان آن ها اندکی کاسته می شود که دلیل آن شروع تخریب نمونه در SBF است. این تخریب به دلیل حضور بتاتری کلسیم فسفات در ساختار است که در محیط های بیولوژیک ناپایدار می باشد.

جهت بررسی رفتار مکانیکی نمونه های کامپوزیتی، ابتدا نمونه های کامپوزیتی استوانه ای قبل از عملیات زینتر، بعد از عملیات زینتر و پس از قرارگیری در محلول SBF به مدت ۳، ۷ و ۱۴ روز، تحت فشار قرار گرفتند که نمودار رسم شده توسط نرم افزار دستگاه تست یونیورسال فشار در شکل ۸ و نمودار مقایسه نتایج حاصل از بررسی رفتار آن ها در شکل ۹ آورده شده است.

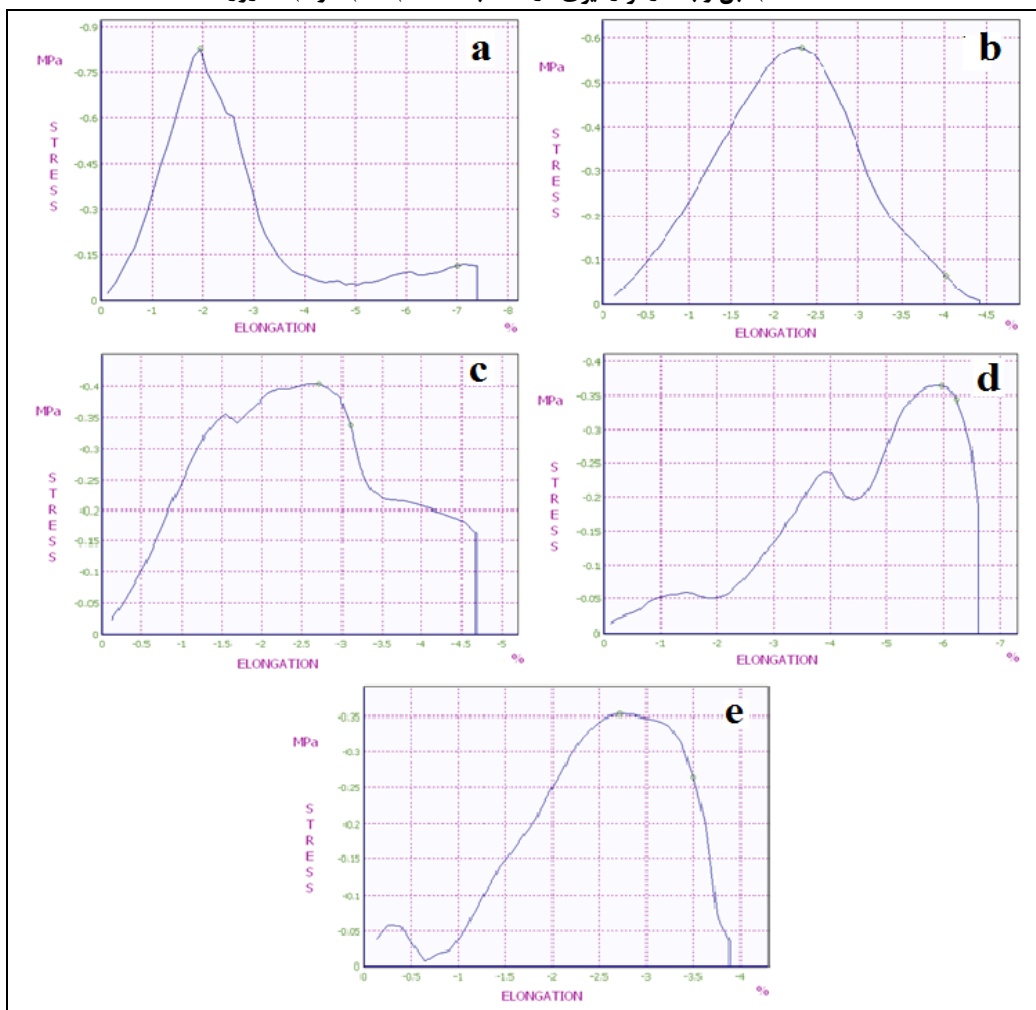
با توجه به استفاده از نمونه های خشک نشده، بین دماهای  $50^{\circ}\text{C}$  -  $175^{\circ}\text{C}$  شاهد واکنشی گرماگیر بودیم که خروج رطوبت و Pore-Liquor موجود در ژل، محتمل ترین واکنش ممکن است. در دماهای بین  $175^{\circ}\text{C}$  -  $400^{\circ}\text{C}$  شاهد چندین واکنش عمدتاً گرماگیر و گاهی گرمازا هستیم که می تواند مربوط به تخریب حرارتی عوامل آلی سنگین تر از اتانول یا شروع واکنش تجزیه نترات ها باشد. بین دماهای  $400^{\circ}\text{C}$  -  $500^{\circ}\text{C}$  تجزیه حرارتی نترات ها و گروه های سیلانول را داریم [۲۴] که بخش اعظم آن در محدوده دمایی  $525^{\circ}\text{C}$  -  $550^{\circ}\text{C}$  رخ می دهد. با توجه به منحنی TGA با اتمام تجزیه حرارتی نترات ها، تغییرات جرم در نمونه در حال حرارت دیدن به پایان می رسد و این به معنای پایان واکنش های حذفی است. با افزایش دمای آزمایش، در دمای  $850^{\circ}\text{C}$  شروع تبلور شیشه مذکور را داریم که این واکنش تبلور در دمای حدود  $925^{\circ}\text{C}$  به پایان می رسد. یکی از مراحل که در مکانیزم زیست فعالی شیشه های زیست فعال باید مورد توجه واقع شود، ایجاد گروه های Si-OH سطحی است که در واقع مکان های جوانه زنی آپاتیت به شمار می روند [۲۵]. همچنین شیشه های سنتز شده به روش سل-ژل بطور ذاتی حاوی گروه های هیدروکسیل در شبکه خود هستند [۲۶]. از طرفی با افزایش دمای پایدارسازی، میزان سطح ویژه (سطح واحد جرم) و میزان گروه های هیدروکسیل کاهش می یابند [۲۷، ۲۸]. با توجه به نمودار تحلیل حرارتی شیشه، در دمای  $600^{\circ}\text{C}$  تمامی نترات ها از شبکه شیشه خارج شده اند و با توجه به مطالب ذکر شده، این دما به عنوان دمای پایدارسازی مناسب برای شیشه انتخاب گردید. با توجه به نمودار فوق، نمونه های کامپوزیتی تهیه شده در این پژوهش، جهت جلوگیری از کریستالیزاسیون، در دمای  $800^{\circ}\text{C}$  زینتر شد.

پیک های مربوط به هیدروکسی آپاتیت در حوالی ۲۶، ۳۲ و  $53^{\circ}$  درجه دیده می شوند. همچنین پیک بتا تری کلسیم فسفات در اطراف  $34^{\circ}$  درجه مشاهده می شود. دو پیک نزدیک به هم در حوالی  $32^{\circ}$  درجه نیز دیده می شوند که مربوط به کلسیم سیلیکات می باشند. همان طور که در تصویر دیده می شود، در





شکل ۷: تصاویر SEM کامپوزیت شیشه زیست فعال-هیدروکسی آپاتیت-بتاتری کلسیم فسفات (a) قبل و بعد از قرارگیری در SBF به مدت (b) ۳، (c) ۷ و (d) ۱۴ روز.



شکل ۸: نمودار رفتار مکانیکی کامپوزیت سه جزئی شیشه زیست فعال-هیدروکسی آپاتیت-بتاتری کلسیم فسفات (a) قبل و (b) بعد از زینتر شدن، و پس از قرارگیری در SBF به مدت (c) ۳، (d) ۷ و (d) ۱۴ روز.

۲۵۰ بود. همچنین باریک بودن پیک‌های این آزمون، دلالت بر یکنواختی اندازه ذرات پودر شیشه زیست‌فعال سنتز شده داشت.

- با افزایش دمای عملیات حرارتی در طی تولید شیشه‌های زیست‌فعال می‌توان به ساختار شیشه-سرامیک نیز دست پیدا کرد.

- با قرارگیری نمونه‌های کامپوزیتی ساخته شده به مدت ۳، ۷ و ۱۴ روز در محلول شبیه‌سازی شده بدن، لایه هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح آنها تشکیل شد که آنالیزهای XRD و SEM مؤید این موضوع بود.

- با توجه به تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت بعد از ۳، ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن، می‌توان نتیجه گرفت که زیست‌فعالی نمونه‌های کامپوزیتی قابل قبول بود.

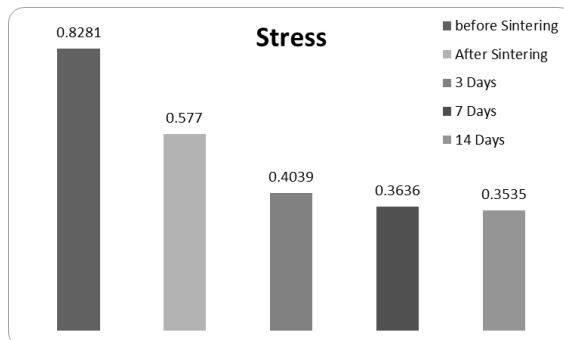
- کامپوزیت حاوی شیشه زیست‌فعال-هیدروکسی آپاتیت-بتاتری کلسیم فسفات می‌تواند به عنوان کاشتنی‌های استخوانی بکار رود و رشد سریع استخوان و بهبود آن را برآورده سازد.

### سپاسگزاری

نویسندگان از راهنمایی سیدمحمود ربیعی و زحمات کلیه کارشناسانی که در انجام مراحل این تحقیق ما را یاری نمودند کمال تشکر را دارند.

### مراجع

- [1] A. Polini, H. Bai, A.P. Tomsia, *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, **5**, 2013, 399.
- [2] H. Ghomi, M. Fathi, H. Edris, *Ceramics International*, **37**, 2011, 1819.
- [3] J.R. Jones, *Acta Biomaterialia*, **9**, 2013, 4457.
- [4] S.R. Paital, N.B. Dahotre, *Materials Science and Engineering: R: Reports*, **66**, 2009, 1.
- [5] A.R. Boccaccini, P.X. Ma. "Tissue engineering using ceramics and polymers", Elsevier, 2014.
- [6] M. Bohner, B.L.G. Santoni, N. Döbelin, *Acta Biomaterialia*, **113**, 2020, 23.
- [7] S. Seyedmajidi, S. Seyedmajidi, H. Alaghehmand, K. Hajian-Tilaki, S. Haghaniifar, E. Zabihi, *Eurasian J Anal Chem*, **13**, 2018, em17.
- [8] L.C. Pires, R.C. da Silva, P.P. Poli, F. Ruas Esgalha, H. Hadad, L.P. Palin, *Materials*, **13**, 2020, 4902.



شکل ۹: نمودار میله‌ای مقایسه استحکام فشاری کامپوزیت سه جزئی شیشه زیست‌فعال-هیدروکسی آپاتیت-بتاتری کلسیم فسفات قبل و بعد از زینتر شدن، و پس از قرارگیری در SBF به مدت ۳، ۷ و ۱۴ روز.

با توجه به شکل ۹ می‌توان تحلیل نمود که استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی پس از قرارگیری در محلول SBF کاهش می‌یابد که این روند با گذشت زمان کندتر و متوقف می‌شود. این کاهش نیز ناشی از انجام واکنش مابین کامپوزیت و محلول و تشکیل کرنات هیدروکسی آپاتیت ناشی از زیست‌فعالی کامپوزیت‌ها بوده و در صورتی که روند غوطه‌وری نمونه‌ها در SBF ادامه پیدا می‌کند با نتایج مطالعات مشابه احتمالاً استحکام فشاری روند افزایش پیدا می‌کند [۷]. بطور کلی انتظار می‌رود که در شرایط عادی استحکام فشاری نمونه‌های خام پس از زینتر شدن افزایش یابد، اما همانطور که مشاهده می‌شود استحکام فشاری نمونه‌ها پس از زینتر شدن کاهش یافت که می‌توان این مورد را مرتبط با متخلخل شدن کامپوزیت‌های استوانه‌ای در اثر زینتر شدن نمونه‌ها در دمای ۸۰۰ °C دانست.

### ۴- نتیجه‌گیری

- نتایج بدست آمده از آنالیز XRD و FTIR، تأیید کننده صحت ترکیب شیمیایی و استوکیومتری بودن پودر شیشه زیست‌فعال 58S سنتز شده به روش سل-ژل بود.

- آنالیز XRD، آمورف بودن شیشه زیست‌فعال را تأیید کرد.

- نتایج بدست آمده از آنالیز DLS پودر شیشه زیست‌فعال، نشان‌دهنده دست‌یابی به اندازه ذرات در محدوده ۳۰۰-۳۰۰ nm

- [19] M. Foroutan Koudehi, F. Ghanezadeh, A. Amiri, A. Imani Fooladi, M. Nourani, *Avicenna Journal of Clinical Medicine*, **21**, 2014, 152.
- [20] A. Balamurugan, G. Sockalingum, J. Michel, J. Fauré, V. Banchet, L. Wortham, *Materials Letters*, **60**, 2006, 3752.
- [21] V. Mortazavi, M.M. Nahrkhalaji, M. Fathi, S. Mousavi, B. N. Esfahani, *Journal of Biomedical Materials Research Part A: Biomaterials*, **94**, 2010, 160.
- [22] M. Seyedmajidi, S. Haghanifar, K. Hajian-Tilaki, S. Seyedmajidi, *Biomedical Materials*, **13**, 2018, 025015.
- [23] S. Seyedmajidi, R. Rajabnia, M. Seyedmajidi, *Journal of Laboratory Physicians*, **10**, 2018, 265.
- [24] J.R. Jones, L.M. Ehrenfried, L.L. Hench, *Biomaterials*, **27**, 2006, 964.
- [25] L.L. Hench, D.L. Wheeler, D.C. Greenspan, *Journal of Sol-gel Science and Technology*, **13**, 1998, 245.
- [26] T. Kokubo, "Bioceramics and their clinical applications", Elsevier, 2008.
- [27] J.R. Jones, T.F. Kemp, M.E. Smith, *Key Engineering Materials*, **309**, 2006, 1031.
- [28] S. Lin, C. Ionescu, K.J. Pike, M.E. Smith, J.R. Jones, *Journal of Materials Chemistry*, **19**, 2009, 1276.
- [9] X. Li, Y. Yuan, L. Liu, Y.S. Leung, Y. Chen, Y. Guo, *Bio-Design and Manufacturing*, **3**, 2020, 15.
- [10] X. Hu, W. Zhang, D. Hou, *Ceramics International*, **46**, 2020, 9810.
- [11] M. Taherian, R. Rojaee, M. Fathi, M. Tamizifar, *Journal of Advanced Ceramics*, **3**, 2014, 207.
- [12] T. Kokubo, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **120**, 1990, 138.
- [13] G. Molino, M.C. Palmieri, G. Montalbano, S. Fiorilli, C. Vitale-Brovarone, *Biomedical Materials*, **15**, 2020, 022001.
- [14] J.M. Bouler, P. Pilet, O. Gauthier, E. Verron, *Acta Biomaterialia*, **53**, 2017, 1.
- [15] G. Rh. Owen, M. Dard, H. Larjava, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **106**, 2018, 2493.
- [16] C. Shuai, P. Li, J. Liu, S. Peng, *Materials Characterization*, **77**, 2013, 23.
- [17] U. Thamma, T.J. Kowal, M.M. Falk, H. Jain, *Scientific Reports*, **11**, 2021, 1.
- [18] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, *Journal of Biomedical Materials Research*, **24**, 1990, 721.