Journal of
مجله تحقیقات مواد نانوکامپوزیتی
Nanocomposite Materials Research

Available online: www.jnmr.ir/papers
مجله تحقیقات مواد نانوکامپوزیتی: ۲:۱ (۱۳۸۸) ۱۱۰-۱۰۳

سنتز نانوکامپوزیت‌های سوزنی شکل هیدروکسی‌آپاتیت- اسید گلوتامیک با استفاده از روش بیومیمتیک

فاطمه حضرتی[۱،*]، علی‌اصغر بهنام قادر[۲]، رعنا طلوعی[۳] و محمدرضا تحریری[۴]

۱- دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران
۲- پژوهشکده سرامیک، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج
۳- آزمایشگاه حرفه‌ای سرامیک‌ها، دانشگاه ملی تناگا، مالزی
۴- دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۸/۰۲/۱۸، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۸/۰۴/۱۱، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۸/۰۵/۰۱

چکیده

در این تحقیق، پودر هیدروکسی‌آپاتیت حاوی ذرات سوزنی شکل در مقیاس نانومتر با استفاده از پروتئین حاوی اسید گلوتامیک با غلظت ۰/۲ و ۰/۴ مولار بوسیله روش بیومیمتیک سنتز شد. مواد اولیه شامل محلول کلسیم نیترات چهارآبه و دی‌آمونیوم هیدروژن فسفات مورد استفاده قرار گرفتند. تغییرات ساختاری و فازی بوسیله XRD و FT-IR مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین، مورفولوژی نانوذرات بوسیله SEM و TEM مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان بلورینگی با افزایش مقدار اسیدهای آمینه در محلول کاهش یافت. پیک‌های ویژه آپاتیت در نمودارهای XRD و طیف‌های FT-IR تایید شده است. همچنین، آنالیز FT-IR حضور پیوندهای COOH اسید گلوتامیک را تایید می‌نماید. تصاویر TEM، تشکیل نانوذرات سوزنی شکل را بعد از عملیات حرارتی در ۶۰۰ °C نشان می‌دهد. به علاوه، این تصاویر نشان می‌دهد که اندازه ذرات در حدود ۱۰۰- ۲۰ نانومتر است. بر اساس نتایج این تحقیق، پروتئین‌هایی با گروه‌های کربوسیلات، کربونیل و آمید می‌توانند به عنوان محل‌های جوانه‌زنی نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت سوزنی شکل در نظر گرفته شوند.

واژه‌های کلیدی: **هیدروکسی‌آپاتیت، نانوکامپوزیت، اسید گلوتامیک، پروتئین، بیومیمتیک.**

۱- مقدمه

مکانیزم مینرالی شدن بیولوژیکی در نرم‌تنان در سال ۱۹۹۶ مشخص گردید. بافت اپیتلیال که سطح داخلی پوسته را پوشانده است، اجزای اولیه پوسته را به فضای میان پوشش و سطح پوسته داخلی ترشح می‌کند. ساختار پوسته مشتمل بر لایه‌های مواد آلی، کلسیت و آراگونیت است. مینرالی شدن بیولوژیکی با نشست یک ورقه آلی بر روی زیر لایه آغاز می‌شود و پس از آن رشد کلسیت و سپس ایجاد لایه آراگونیت رخ می‌دهد [۱]. پروتئین‌های قابل حل پوسته نرم‌تن، تشکیل فاز بلوری را کنترل می‌کند. اساسا مینرالی شدن بیولوژیکی در پوسته سخت

* **عهده‌دار مکاتبات:** فاطمه حضرتی
نشانی: تهران، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
تلفن: ۴-۴۴۴۷۴۳۲۱- ۰۲۱، **دورنگار:** ۴۴۴۷۴۳۱۹- ۰۲۱، **پست‌الکترونیکی:** fa_hazrati@yahoo.com

نرم‌تنان بر مبنای قرار گرفتن این لایه‌های آلی انجام می‌شود که هر یک از این لایه‌ها به عنوان زیر لایه‌ای جهت رشد پلی‌مرف‌های خاص کربنات کلسیم بر روی آنها عمل کرده و این کار از طریق تخلخل‌های نانومتری موجود بر روی ورقه‌های آلی صورت می‌گیرد [۲].

ایده میمتیک به معنای تقلید از طبیعت می‌باشد. در واقع همان روش‌هایی است که در ارگانیسم‌های زنده مورد استفاده قرار می‌گیرند. روش بیومیمتیک، بر اساس جوانه‌زنی و رشد کریستال‌های معدنی در محیط بیولوژیکی است که در حضور ماکرومولکولهای بیولوژیکی صورت می‌پذیرد و منجر به ماتریس‌هایی با ساختار آلی می‌گردد. این روش‌ها در بسیاری از علوم کاربرد دارند و در سنتز مواد جدید نیز نقش مهمی را دارا هستند [۳]. به همین دلیل اکثر بررسی‌ها در زمینه سنتز نانوکریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت در حضور این بیومولکول‌ها متمرکز می‌شود. امروزه مواد کامپوزیتی بر پایه هیدروکسی‌آپاتیت ($HA,\ Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) که از طریق روش‌های بیومیمتیک تهیه می‌شوند، یکی از مهمترین تحقیقات در حوزه بیومتریال محسوب می‌گردد.

در این روش، شرایطی فراهم می‌شود که تحت آن شرایطی مشابه بدن (مایع شبیه‌سازی شده بدن)، برای ایجاد پوشش آپاتیتی مهیا شود. این روش در دمای پایین انجام می‌شود و به دلیل آماده‌سازی شرایط مشابه بدن، آپاتیت ایجاد شده بسیار شبیه آپاتیت موجود در استخوان است. محدودیت این روش، طولانی و زمان‌بر بودن فرآیند ساخت و نیاز به تجدید مایع شبیه‌سازی شده بدن و ثابت نگه داشتن pH است [۴]. ذرات هیدروکسی‌آپاتیت در مقیاس نانومتر که از این روش تهیه می‌شود، بسیار شبیه آپاتیت استخوانی می‌باشد.

گزارش‌های بسیار محدودی در مورد سنتز ذرات کلسیم فسفاتی در حضور پروتئین‌ها برای بدست آوردن مخلوط ذرات نانوکریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت موجود است [۵]. واکنش این ماکرومولکول‌های بیولوژیکی با سطوح باردار در هنگام رشد کریستال‌های معدنی از اهمیت خاصی برخوردار است [۶]. پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌هایی که به صورت واسطه‌های بیولوژیکی در رشد مینرال استخوان تاثیر می‌گذارند، شامل انتهای آمینواسیدی هستند که غنی از کربوکسیلات بوده و با سطوح معدنی فعل و انفعال دارند [۷]. جوانه‌زنی و رشد کریستال‌های آپاتیتی در استخوان شامل پروتئینی با مقدار زیادی از اسید گلوتامیک روی می‌دهد [۵]. گزارش‌هایی از تاثیر اسید گلوتامیک بر تشکیل سلول‌های استخوانی در دسترس است [۸].

در سنتز هیدروکسی‌آپاتیت، حضور پروتئین اسید گلوتامیک باعث افزایش متابولیسم و تکثیر بیشتر استئوبلاستها می‌گردد [۹]. درک اینکه چگونه این آمینواسیدها با ساختار HA فعل و انفعال دارند و مشخص نمودن نقش آنها در کنترل خواص کریستال‌های HA از زمینه‌های مورد توجه در توسعه بیومتریال‌ها در ترمیم آسیب‌های سیستم استخوانی می‌باشد.

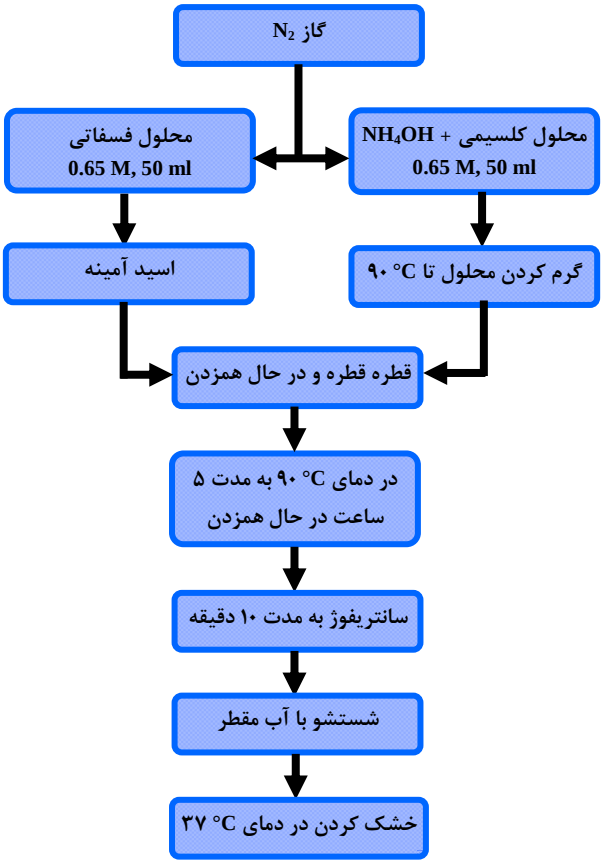
در این تحقیق، پودرهای هیدروکسی‌آپاتیت به روش میمتیک در حضور اسیدگلوماتیک با غلظت‌های مختلف سنتز شدند. پس از مشخصه‌یابی پودرها با تکنیک‌های متداول، اثر دما بر هیدروکسی‌آپاتیت بدست آمده نیز بررسی شد.

۲- فعالیت‌های تجربی

برای تهیه پودر هیدروکسی‌آپاتیت، از نمک‌های دی آمونیوم هیدروژن فسفات به عنوان منبع فسفر ($(NH_4)_2HPO_4$, 99%, Merck) و کلسیم نیترات چهار آبه به عنوان منبع کلسیم ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$, 98%, Merck) استفاده شد. سنتز هیدروکسی‌آپاتیت تحت گاز N_2 و به صورت زیر انجام شد.

به این صورت که ابتدا ۵۰ میلی لیتر محلول با غلظت مناسب از منبع کلسیم تهیه و با استفاده از محلول هیدروکسید آمونیوم، pH محلول به ۱۰ رسانده شد. محلول شامل پیش ماده کلسیم تا دمای مناسب گرم شد. سپس ۵۰ میلی لیتر محلول با غلظت مناسب از منبع فسفر تهیه نموده و محلول اسید گلوتامیک ۰/۲ و ۰/۴ مولار به طور جداگانه به آن اضافه شد. محلول شامل پیش‌ماده فسفر به صورت قطره قطره به محلول دارای پیش‌ماده کلسیم با pH کنترل شده اضافه گردید. رسوب بدست آمده، به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ قرار داده شد. سپس با آب مقطر (دوبار تقطیر

شده) آن را شستشو داده و محصول نهایی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در داخل خشک‌کن به مدت یک شبانه روز قرار گرفت. شکل ۱ ترتیب مراحل تهیه پودر را نشان می‌دهد.



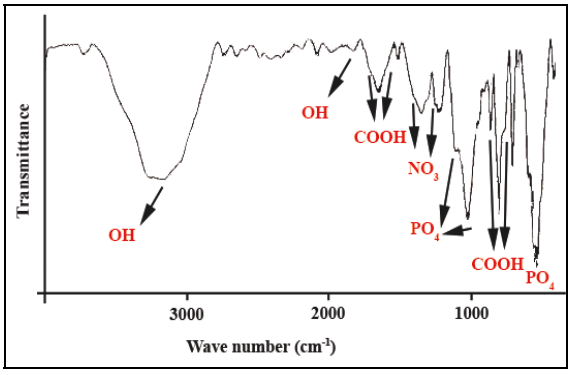
شکل ۱: فلوچارت تهیه پودر هیدروکسی‌آپاتیت با استفاده از اسید گلوتامیک.

۳- مشخصه‌یابی پودرها

شناسایی نمونه‌ها به وسیله پراش پرتو ایکس (XRD) و توسط دستگاه پراش سنج مدل Rigaku-Dmax 2500 با استفاده از پرتو Cu-Kα با طول موج ۰/۱۵۴۰۶ nm در ۴۰ kV و ۲۰۰ mA انجام شد. محدوده زوایای مورد مطالعه ۲Θ =۱۵-۷۵ درجه و سرعت اسکن ۲ °/min بود. برای شناسایی ترکیب‌های شیمیایی از آنالیز انتقال فوریه فروسرخ (FT-IR) در محدوده ۴۰۰ تا ۴۵۰۰cm^{-1} با سرعت اسکن ۲۳ scan/min و تفکیک‌پذیری ۴ cm^{-1} استفاده شد. آنالیز عنصری نمونه‌های حاصل به وسیله دستگاه ICP (ARL 3410 Minitorch) انجام شد. برای بررسی مورفولوژی ذرات و بلورک‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Tescan Vega 2XMU و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل CM200-FEG-philips استفاده شد.

۴- نتایج و بحث

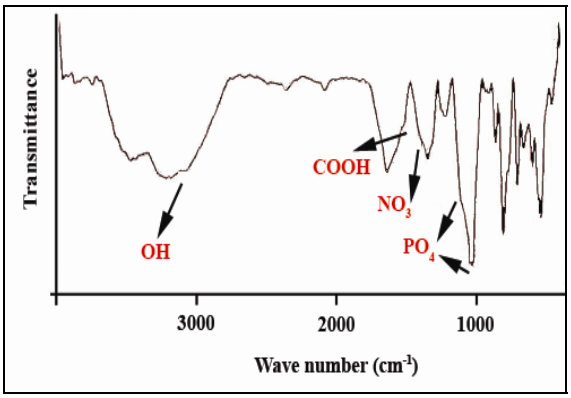
شکل ۲، طیف FT-IR مربوط به نمونه هیدروکسی‌آپاتیت-اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار را نشان می‌دهد. باندها در محدوده ۱۵۶۰ تا ۱۶۳۰ cm^{-1} مربوط به حضور گروه آمینواسیدها است. پیک پهن آن هم در ۸۵۰ و ۹۵۰cm^{-1} مشخص شده است. در این نمونه، پیک ۱۵۶۸ cm^{-1} مربوط به وجود اسید گلوتامیک است. باندهای گروه فسفات در ۵۶۰، ۵۳۷، ۱۰۲۵ و ۱۱۶۰ cm^{-1} قابل مشاهده هستند. باندهای نیتراتی هم در ۱۳۵۰ و ۱۴۵۰ cm^{-1} حضور دارند. گروه هیدروکسیل نیز با یک پیک پهن در محدوده ۳۲۰۰ cm^{-1} و یک پیک تیز در ۱۶۳۹ cm^{-1} مشخص شده است. بر اساس گزارش Matsumoto و همکارانش [۱۰] شدت باندهای جذبی در اثر حضور اسید گلوتامیک کاهش می‌یابد.



شکل ۲: طیف FT-IR هیدروکسی‌آپاتیت- اسید گلوماتیک ۰/۲ مولار.

شکل ۳، طیف FT-IR مربوط به نمونه هیدروکسی آپاتیت- اسید گلوتامیک ۰/۴ مولار را نشان می‌دهد. در مقایسه با نمونه اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار، باندها در محدوده ۱۵۶۰ تا ۱۶۳۰ cm^{-1} که مربوط به حضور بیشتر گروه آمینواسیدها است، مشخص شده‌اند. بنیان‌های مشخص شده برای نمونه اسیدگلوتامیک ۰/۲ مولار نیز در

این نمونه دیده می‌شوند. با این وجود، در نمونه تهیه شده با آمینواسید به غلظت ۰/۴ مولار، عمق پیک‌ها وسیع‌تر از نمونه آمینواسید با غلظت ۰/۲ مولار می‌باشد. گزارش‌های مشابهی در مورد طیف‌های FT-IR بدست آمده در این تحقیق توسط Wolfgan و همکاران گزارش شده است [۱۱].



شکل ۳: طیف FT-IR هیدروکسی‌آپاتیت- اسید گلوماتیک ۰/۴ مولار.

در شکل ۴، الگوی پراش اشعه ایکس پودر هیدروکسی‌آپاتیت در حضور اسید گلوتامیک ۰/۲ و ۰/۴ مولار نشان داده شده است. یکی از عوامل وجود فاز آمورف، ماهیت دوگانه محصول می‌باشد. یکی از فازهای اصلی موجود در این نمونه‌ها هیدروکسی‌آپاتیت با درجه کریستالی کم می‌باشد. باید توجه نمود که اسید گلوتامیک آمورف نیز همراه با ترکیب کلسیم فسفاتی در نمونه حضور دارد.

پیک‌های پهن در الگوی پراش پرتوی ایکس پودر هیدروکسی‌آپاتیت را می‌توان به ریز بودن ذرات تشکیل‌دهنده نمونه‌ها نسبت داد. بر اساس گزارش Boanini و دیگران [۵] اسید گلوتامیک نقش بازدارندگی در افزایش اندازه ذرات را ایفا می‌کند.

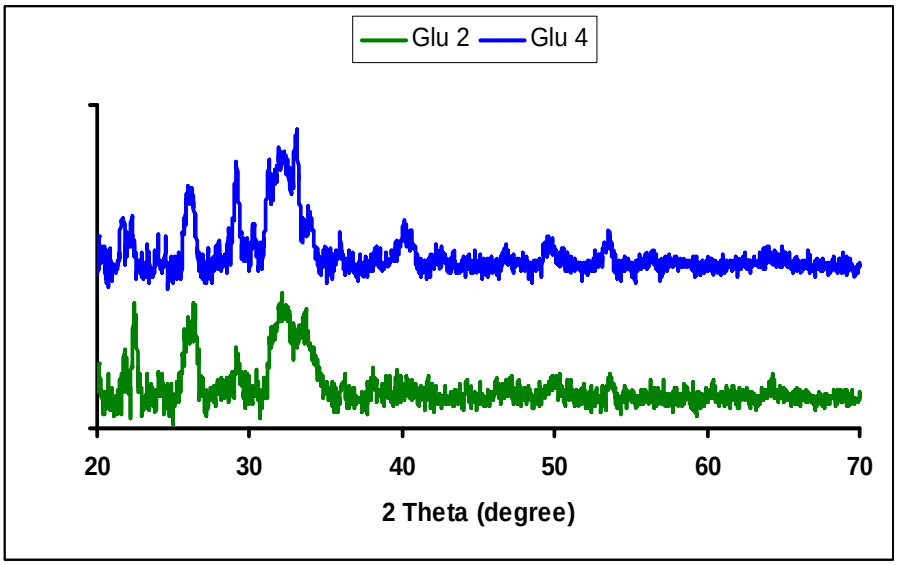
شکل ۵، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوپودرهای هیدروکسی‌آپاتیت با اسید گلوتامیک ۰/۲ و ۰/۴ مولار را نشان می‌دهد. همان طور که از شکل مشخص است، تصویر مربوط به نمونه تهیه شده در حضور اسید گلوتامیک با غلظت ۰/۴ مولار تفاوت قابل ملاحظه‌ای نسبت به نمونه تهیه شده در حضور اسید گلوتامیک با غلظت ۰/۲ مولار نشان می‌دهد.

شکل ۵a، سطوح پهن مربوط به اسید گلوتامیک که توسط پوشش طلا بدست آمده است را نشان می‌دهد و می‌توان آن را به مقادیر بیش از حد اسید باقی‌مانده در مخلوط نسبت داد. اسید گلوتامیک باقیمانده برای سنتز هیدروکسی‌آپاتیت مصرف نشده و به عبارتی در واکنش‌های شیمیایی دخالت نکرده است.

تصویر ۵b بیانگر راندمان بهتر تاثیر اسید گلوتامیک بر سنتز ذرات می‌باشد. به نظر می‌رسد که مورفولوژی مشاهده شده در این شکل توزیع ظریف‌تری داشته و اسید گلوتامیک باقی‌مانده در آن نیز بسیار کمتر از تصویر با غلظت ۰/۴ مولار (شکل ۵a) است. با توجه به بزرگنمایی مورد استفاده در این شکل می‌توان پیش‌بینی نمود که ذرات هیدروکسی‌آپاتیت مخفی شده درون شبکه اسید گلوتامیک باید از اندازه ذرات در مقیاس نانومتر و با توزیع یکنواخت‌تری نسبت به نمونه هیدروکسی‌آپاتیت سنتز شده در حضور پروتئین اسید گلوتامیک ۰/۴ مولار برخوردار باشند. البته به این معنا نیست که چنین وضعیتی در مورد اندازه ذرات هیدروکسی‌آپاتیت سنتز شده در حضور پروتئین اسید گلوتامیک ۰/۴ مولار صادق نمی‌باشد. به عبارتی بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه ۰/۴ مولار (شکل ۵a) توانایی تشخیص موقعیت و اندازه ذرات هیدروکسی آپاتیت را ندارد.

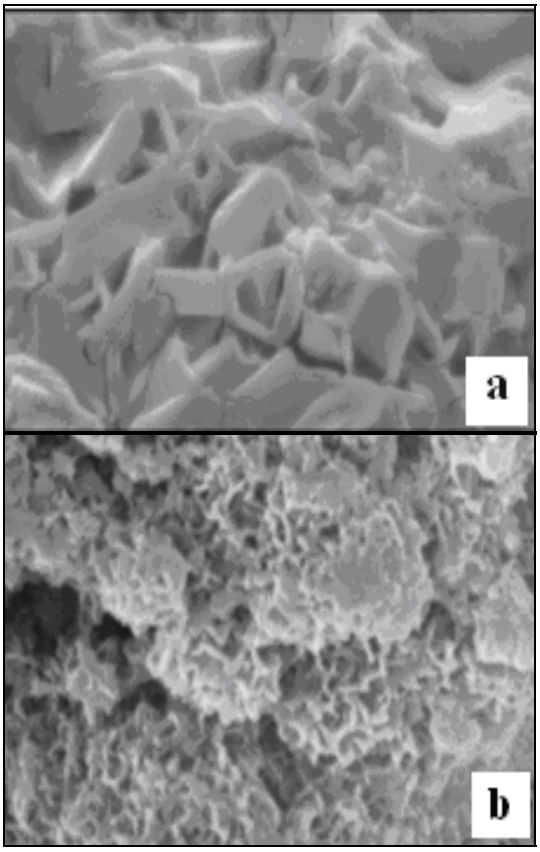
شکل ۶a-c توزیع ذرات سوزنی شکل هیدروکسی‌آپاتیت، در کنار تصاویر مناطق با وضوح کم از اسید گلوتامیک را نشان می‌دهد. وجود ذرات سوزنی شکل هیدروکسی‌آپاتیت که به صورت کاملا سیاه دیده می‌شود، مربوط به ضخامت بیشتر آنها یا روی هم افتادن چند ذره می‌باشد. ذرات سوزنی شکل بسیار زیادی با درجه سیاهی کمتر نیز قابل مشاهده است. در شکل ۶b، حضور نانوسوزن‌های هیدروکسی‌آپاتیت خصوصا در لبه‌ها، واضح‌تر دیده می‌شود. هاله‌ای از آمینواسید در شکل ۶c مشخص شده است. همچنین، پروتئین‌ها، رشته‌های آپاتیتی نانوکریستالی را در بر گرفته‌اند.

به دلیل وجود ترکیب پروتئینی قابل توجه در مخلوط، الگوی پراش اشعه ایکس (شکل ۶d) از وضوح کافی برخوردار نبوده و اطلاعات مطلوب را نتیجه نمی‌دهد. بر اساس نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری، سوزن‌های



شکل ۴: الگوی پراش پرتو ایکس مربوط به نمونه هیدروکسی‌آپاتیت – اسید گلوتامیک، a) ۰/۲ و b) ۰/۴ مولار.

هیدروکسی‌آپاتیت دارای اندازه‌ای حدود چند ده نانومتر می‌باشند.



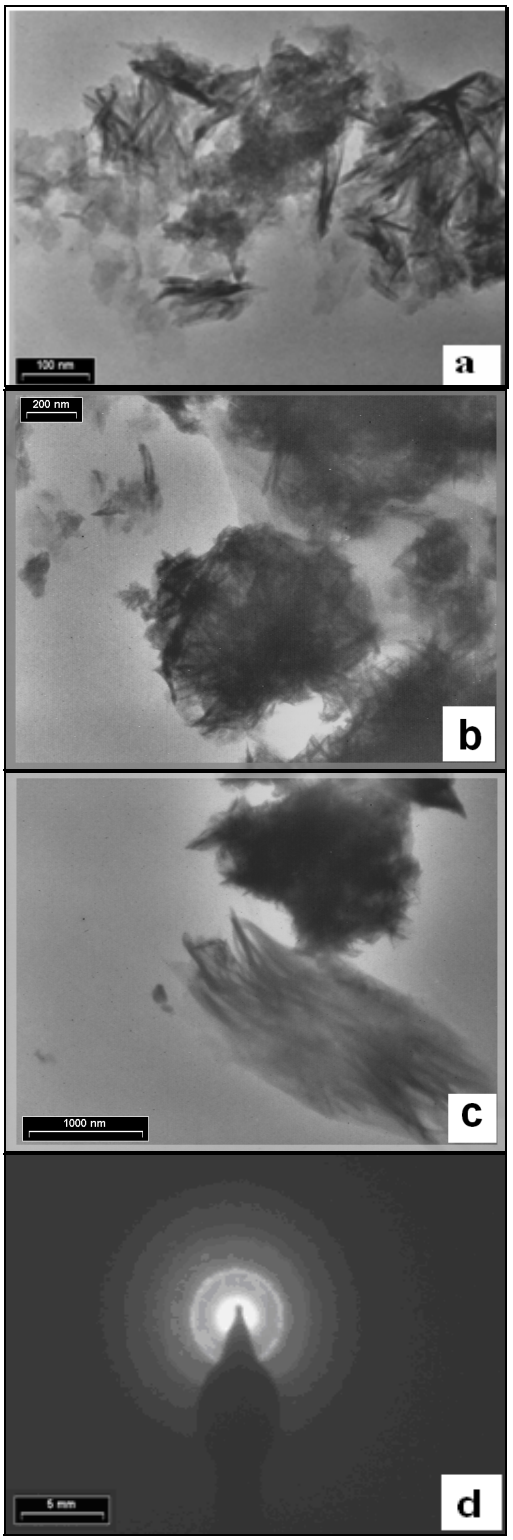
شکل ۵: تصاویر مربوط به SEM پودر هیدروکسی‌آپاتیت با غلظت a) ۰/۴ و b) ۰/۲ مولار اسید گلوتامیک.

جایگاه‌های تشکیل پیوند در محیط مشابه بدن و شروع جوانه‌زنی این ترکیبات، گروه‌های کربوکسیلات، کربونیل و آمیدی در پروتئین‌ها می‌باشند. این گروه‌ها به عنوان جایگاه‌های جوانه‌زنی ترکیبات کلسیم‌فسفاتی در محیط بدن و در ابعاد نانومتری مطرح گردیده‌اند [۳].

شکل ۷ طیف FT-IR مربوط به نمونه کلسیم فسفات- اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار را نشان می‌دهد که به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد.

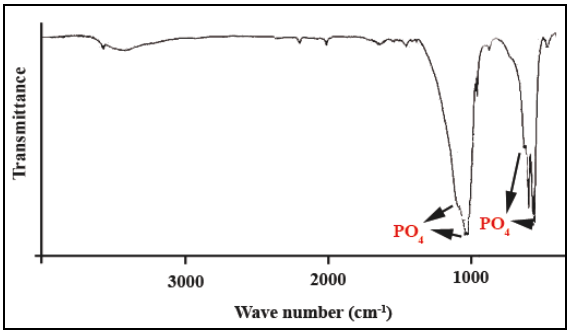
در این نمونه تغییرات محسوسی در طیف FT-IR آن دیده می‌شود. عملیات حرارتی باعث حذف فازهای نیتراتی، کربن و آب جذب شده از ساختار کلسیم فسفات شده است. در این حالت تغییر محسوسی نیز در مورفولوژی ذرات حاصل مشاهده خواهد شد که در مطالعات میکروسکوپ عبوری و روبشی به بررسی بیشتر در مورد این نمونه پرداخته می‌شود.

تغییرات اندازه ذرات و مورفولوژی نمونه‌ها ابتدا با میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی در مورد نمونه‌های کلسیم فسفات- اسید گلوتامیک ۶۰۰ درجه سانتیگراد در شکل ۸ نشان داده شده است. همان طور که از تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مشخص است، ساختار سنتز شده در مقیاس نانومتری می‌باشد.

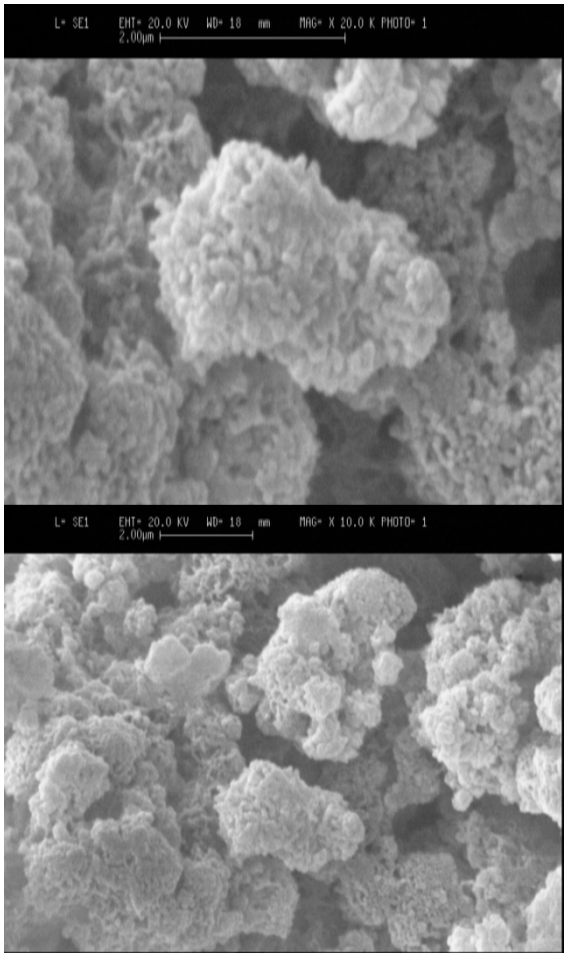


شکل ۶: a-c) تصویر TEM پودر با غلظت ۰/۲ مولار اسید گلوتامیک و d) الگوی پراش اشعه ایکس.

حرارت دادن پودر کلسیم فسفات- اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار در دمای ۶۰۰ درجه به مدت ۴ ساعت، سبب خروج نیترات و تا حدودی کربن شده است. پروتئین هم در دمای پایین‌تر تخریب شده است. بنابراین همان طور که در شکل ۸ دیده می‌شود، نانوکلاف ایجاد می‌گردد که دارای ساختاری با اندازه‌های میکرونی می‌باشد.

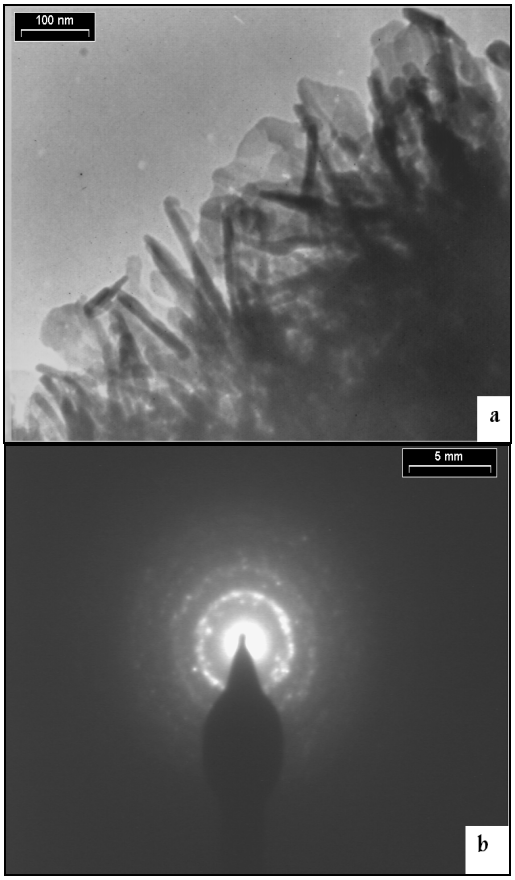


شکل۷: طیف FT-IR مربوط به نمونه کلسیم فسفات- اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار حرارت‌دیده در ۶۰۰ درجه سانتیگراد.



شکل ۸: تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه کلسیم فسفات- اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار حرارت‌دیده در ۶۰۰ درجه سانتیگراد.

این نانوکلاف دارای ذرات میکرونی با تخلخل‌های نانومتری است. به عبارتی دیگر، ذرات میکرونی آپاتیت با ساختار نانویی می‌باشد. این شبکه فضایی که دارای ساختار کریستالیت‌های نانومتری است، مانند نانوکراتی است که بسیار مشابه نانومیله‌ها در بدن می‌باشد. در تصاویر TEM تغییرات محسوسی در مورفولوژی نانوپودرها مشاهده می‌گردد. شکل ۹ سوزنی بودن ذرات کلسیم فسفات را تایید می‌کند. بزرگنمایی این تصویر، ۳۶۰۰۰ می‌باشد. در نمونه کلسیم فسفات- اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار که در دمای ۶۰۰ درجه و به مدت ۴ ساعت در کوره قرار گرفته است، با حذف فازهای نیتراتی و کربن، ساختار کلسیم فسفات به صورت نانوسوزن‌هایی دیده می‌شود.



شکل ۹: a) تصویر TEM پودر کلسیم فسفات- اسید گلوتامیک ۶۰۰ درجه و b) الگوی پراش اشعه ایکس از آن.

۵- نتیجه‌گیری

پودرهای هیدروکسی‌آپاتیت در حضور پروتئین اسید گلوتامیک با اندازه در حدود چند ده نانومتر در این تحقیق بدست آمدند. بررسی طیف‌های FT-IR به طور کامل انجام شد و پیک‌های مربوط به هیدروکسی‌آپاتیت و اسید گلوتامیک شناسایی شدند.

نتایج به دست آمده از آزمایش XRD تایید کننده وجود فاز هیدروکسی‌آپاتیت به عنوان فاز غالب می‌باشد. مشاهدات میکروسکوپی الکترونی روبشی بیانگر این واقعیت است که با افزایش مقدار اسید گلوتامیک بخشی از آن مصرف نشده و باقیمانده است. به عبارت دیگر مقدار موثر اسید گلوتامیک که در تحولات شیمیایی شرکت می‌نماید کمتر از ۰/۴ مولار می‌باشد. تصاویر میکروسکوپی الکترونی عبوری وجود مقادیر انبوهی از سوزن‌های هیدروکسی‌آپاتیت در زمینه‌ای با تباین کم را نشان می‌دهد.

با توجه به مورفولوژی مشاهده شده در تصاویر میکروسکوپی الکترونی عبوری به نظر می‌رسد که برای تشخیص بهتر ذرات هیدروکسی‌آپاتیت سوزنی شکل می‌بایست آنها را به شیوه مناسب از پروتئین تخلیص نمود. در نمونه هیدروکسی‌آپاتیت- اسید گلوتامیک ۰/۲ مولار حرارت داده شده فازهای باقیمانده حاوی نیترات، آب جذب شده از ساختار کلسیم فسفات و تا حدودی کربن می‌شود. این نمونه دارای بلورینگی بالاتری نسبت به نمونه‌های دیگر می‌باشد و اندازه ذرات آن در حدود ۱۰۰-۲۰ نانومتر مشخص شده است.

بنابراین، حرارت‌دهی موجب حذف نیترات، کربن، تخریب پروتئین باقی‌مانده و نیز تشکیل نانوکلاف گردیده است. با توجه به شرایط سنتز این نمونه‌ها در محیط دارای پروتئین‌های مشابه بدن، می‌توان احتمال داد که این نانوسوزن‌ها بسیار مشابه نانومیله‌های موجود در بدن باشند.

مراجع

[1] T.M. Cooper, "*Biomimetic Thin Films*", Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology, E.S. Nalwa, (editor). Elsevier Science & Technology Books. Japan. 2000.

[2] M. Sarikaya, C. Tamerler, D.T. Schwartz, F. Baneyx, *Annual Review of Materials Research*, **34**, 2004, 373.

[3] R. Gonzalez-McQuire, J. Chane-Ching, E. Vignaud, A. Lebuglec, *Journal of Materials Chemistry*, **14**, 2004, 2277.

[4] K. Hae-Won, K. Hyoun-Ee, S. Vehid, *Biomaterials*, **26**, 2005, 5221.

[5] E. Boanini, P. Torricelli, *Biomaterials*, **27**, 2006, 4428.

[6] E. Boanini, M. Fini, M. Gazzano, A. Bigi, *European Journal of Inorganic Chemistry*, **23**, 2006, 4821.

[7] W. Zhang, Z.L. Huang, *Biomaterials*, **86**, 2000, 1052.
[8] N. Roveria, G. Falinia, *Materials science and engineering C*, **23**, 2003, 441.
[9] S.H. Rhee, J.D. Lee, *Journal of American Ceramic Society*, **83**, 2000, 2890.
[10] T. Matsumoto, M. Okazaki, *Biomaterials*, **23**, 2002, 2241.
[11] J. Wolfgan, T. Stern-Kai, *Biophysics & Molecular Biology*, **74**, 2000, 141.