

بررسی تولید نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت از میکرو ذرات به روش آسیاکاری گلوله ای

فرناز فردی پور^۱، مهیار نجفی انارکی^۲، مجید کریمیان^{۳*}

* نویسنده مسئول: mkarimian@iaukhsh.ac.ir

واژه‌های کلیدی

نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت، آسیاکاری گلوله ای، روش XRD، مقایسه با نمودار هاردستونایت.

چکیده

هیدروکسی آپاتیت (HA) از مهمترین سرامیک‌های بیو اکتیو است که به دلیل زیست سازگاری و شباهت ساختاری با بخش معدنی استخوانها و دندانها از کاربردهای کلینیکی گسترده ای در زمینه دندانپزشکی، ارتوپدی و پوشش دهی بیومتریالها برخوردار است. هدف از این پژوهش ساخت نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت با استفاده از میکرو ذرات کلسیت، سیلیکات و اکسید روی است که با استفاده از آسیاکاری گلوله ای، پودر این سه ماده ترکیب، خرد و سپس به شکل استوانه ای قالب گیری، فشرده و در کوره قرار داده میشود. سپس با بررسی پراش اشعه X (XRD) مناسبترین مدت آسیابکاری، دما و زمان پخت نمونه ها بدست می آید. در نهایت نمودار حاصل از آنالیز نمونه ها با HS مقایسه گردید. طبق نتایج بدست آمده، نمونه ی A با ۱۰ ساعت آسیابکاری، دمای ۱۱۰۰ °C و زمان حرارت دهی ۲ ساعت، بیشترین محصول هاردیستونایت را نسبت به سایر نمونه ها تولید کرد.

۱- دانشجوی کارشناسی، دانشکده برق، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی شهر، اصفهان، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی، دانشکده مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی شهر، اصفهان، ایران.

۳- استادیار، دانشکده مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی شهر، اصفهان، ایران.

۱- مقدمه

هر ماده ای که بطور متناوب یا پیوسته در تماس با بافت بدن قرار گیرد جز بیومتریالها محسوب میشود. بطور کلی بیومتریالها در سه دسته فلزات، سرامیک ها و پلیمرها تقسیم بندی می شوند که در این میان سرامیکها بخاطر خصوصیات بیولوژیکی منحصر بفرد و همخوانی با محیط فیزیولوژیکی بدن از اهمیت ویژه ای از جمله در پزشکی و بخصوص در زمینه اورتوپدی برخوردار شده اند و تنها نکته ای که کاربرد آنها را محدود میسازد تردی آنهاست.

برخی مزایای سرامیکها از دید زیست سازگاری نسبت به مواد دیگر عبارتند از:

دارا بودن عناصری مثل کلسیم و فسفر که بصورت طبیعی در بدن وجود دارند.

دارا بودن پیوندهای کووالان و یونی که بعلت عدم وجود الکترون آزاد مقاومت به خوردگی الکتروشیمیایی را بهبود میبخشد.

طول عمر زیاد در مقابل تخریبات بیولوژیکی بدن و خطر کمتر محصولات ناشی از تخریب نسبت به فلزات و پلیمرها.

از لحاظ شکل بیوسرامیک ها میتوانند بصورت تک کریستال (یا قوت کبود)، پلی کریستال (آلومین)، شیشه (شیشه زیستی)، شیشه-سرامیک (شیشه-سرامیک A/W) یا کامپوزیت سرامیکی (پلی اتیلن-هیدروکسی آپاتیت) باشند که بسته به خواص یا عملکرد آنها کاربرد گسترده ای دارند.

در این تحقیق به بررسی هیدروکسی آپاتیت بعنوان یک بیوماده سرامیکی پرداخته میشود. هدف از این پژوهش بدست آوردن نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت از میکروذرات به روش آسیابکاری گلوله ای میباشد که از قرار دادن در کوره و تست XRD در این زمینه استفاده گردیده است.

بیوماده یک ماده ی غیرماندنی است که در یک وسیله ی پزشکی استفاده شده و توانایی میانکش با سیستم بیولوژیک را داراست.

تاریخچه ی بیومواد بطور کلی به کاربرد فلزات در بدن باز می گردد که برای شکسته بندی و درمان ضایعات استخوانی به کار می رفتند [۱]. در ابتدا فقط فلزات خاص نظیر طلا، نقره و مس به کار می رفتند اما از سال ۱۹۲۵ میلادی که نقطه ی عطف دوران جدید بیومواد بود، بیشتر در زمینه ی شکسته بندی استخوان استفاده گردیدند [۱]، آلیاژ به کار رفته، فولاد زنگ نزن استیل ۳۱۶L کبالت، کروم تیتانیوم، ۶٪ آلومینیوم، ۴٪ وانادیم بود. پس از آن با پیشرفتهای حیرت آور و باور نکردنی بیومواد پلیمری ساخته شدند و در وسایلی نظیر رگهای مصنوعی خونی، دریچه های قلب، لنزهای چشمی و نخ های بخیه به کار رفتند. [۱]

بیومواد که امروزه مصرف می شوند بسته به جنس به ۴ فرم اصلی تقسیم می شوند که عبارتند از: فلزات و آلیاژها، پلیمرها، بیوسرامیک ها، کامپوزیتها .

بیوسرامیک ها، سرامیکهایی هستند که برای ترمیم و بازسازی بخشهای بدن انسان استفاده میشوند. مزیت آنها نسبت به سایر بیومواد، خاصیت زیست سازگار پذیری آنهاست و معایب عمده ی آنها عبارتند از: تافنس پایین و مدول یانگ بالا..

بیوسرامیکها از نظر نوع واکنش با محیط بدن به دو گروه تقسیم میشوند:

بیوسرامیکهای خنثی که در محیط بیولوژیک با لایه ای از کلاژن پوشانده میشوند و بیوسرامیکهای بیواکتیو که برای اتصال به بافت زنده به ایجاد لایه کلاژنی نیاز ندارند.

از سرامیکهای بیواکتیو بصورت پوشش بر روی بسته های با استحکام و تافنس بالا مثل ایمپلنتها، جهت ترمیم استخوان ها، مفاصل و دندانها در هنگام آسیب دیدگی و همچنین بعنوان پوشش های کربنی پیرولیتیک مورد استفاده در دریچه های قلب و شیشه های رادیو اکتیو ویژه که در درمان تومورهای خاص کاربرد دارند و نیز بعنوان پوشش بر روی زیر لایه های فلزی، استفاده میشوند. [۲] از مهمترین سرامیکهای بیواکتیو است که به دلیل زیست سازگاری و شباهت ساختاری با بخش معدنی استخوانها و دندانها از

ایمپلنت‌های فلزی و پرکننده گرانوله‌ای برای کاربرد مستقیم داخل بافت بدن انسان می‌شود.

با استفاده از تکنیکهای مختلف سینتر مثل افزودن فاز دوم با نقطه ذوب پایین یا استحکام مرز دانه ای میتوان استحکام مکانیکی و چقرمگی شکست سرامیکهای آپاتیتی را بهبود بخشید. همچنین با استفاده از نانوپودرهای سرامیکی مثل هیدروکسی آپاتیت به متراکم سازی بهتر طی سینترینگ کمک میشود زیرا با کاهش اندازه ذرات، سطح ویژه ذرات افزایش یافته که در نتیجه باعث افزایش خواص مکانیکی میشود.

برای افزایش زیست فعالی، سازگاری و سایر خواص هیدروکسی آپاتیت از برخی عناصر مانند روی، زیرکونیوم، سدیم و آلومینیوم استفاده میشود. استفاده از این عناصر به صورت مستقیم امکان پذیر نمی باشد پس بحث بیوسرامیک های سه تایی با ماده ی اصلی کلسیم مطرح میشود که به صورت جزیی دوم در زمینه ی هیدروکسی آپاتیت کامپوزیت می شوند. و تعدادی از آنها عبارتند از هاردستونایت، دیوپساید، ژلنیت، بغدادیت.

هاردستونایت یک کانی با فرمول شیمیایی $Ca_2ZnSi_2O_7$ و مینرال های سفید آبی بنفش و نیلی می باشد که همراه با ترکیبات دیگر استخراج این ماده بعلت داشتن کلسیم و روی بترتیب باعث تشکیل و رشد سریع استخوان میشود.

۲- تکنیک ها و روش ها:

مراحل انجام این پژوهش شامل تهیه مواد اولیه و ترکیب آنها، ساخت و پخت نمونه ها و سپس آنالیز هر نمونه برای دستیابی به بیو سرامیک مورد نظر میباشد.

مواد اولیه شامل کلسیت و اکسید روی بصورت پودری و در حد میکرومتر و نیز سیلیکات بصورت پودری و در حد نانو متر میباشد. کلسیت، سیلیکات و اکسید روی با توجه به ترکیب شیمیایی بیوسرامیک HS، $ZnCaSi_2O_7$ با نسبت ۵۰٪، ۳۰٪ و ۲۰٪ ترکیب شده و سپس تحت آسیاکاری گلوله ای قرار میگردد. نمونه های آسیاب شده با استفاده از

کاربردهای کلینیکی گسترده ای در زمینه دندانپزشکی، اورتوپدی و با دو رویکرد مهندسی بافت استخوان و سیمان استخوان) و پوشش دهی بیومتریالها برخوردار است. در واقع استخوان یک ماده ی کامپوزیت است که از کلاژن و کریستال های آپاتیت کلسیم و فسفات یا کلسیم هیدروکسی تشکیل شده است. این هیدروکسی آپاتیت است که باعث استحکام استخوان شده است.

به تازگی نانوذرات هیدروکسی آپاتیت بدلیل افزایش درصد خلوص ملکولی و بهبود در ویژگیهای مکانیکی همراه با کاهش در احتمال شکستگی و پس زدگی بصورت پودر و پوشش توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است. هیدروکسی آپاتیت یکی از سرامیک های بیواکتیو مهم است و بعنوان بالک یا به صورت پوشش در ایمپلنت ها استفاده میشود. کریستال های سوزنی آپاتیت طولی برابر ۴۰-۲۰ نانومتر و عرضی برابر ۳-۱٫۳ نانومتر دارند. این کریستال ها در داخل زمینه ای از فیبرهای کلاژنی قرار دارند. HA دارای شبکه بلوری هگزاگونال فشرده با گروه فضایی P63/m می باشد. از دیدگاه بیولوژیکی HA بعلت داشتن پروتئین استئوکلستین که نقش سیگنال دهنده را برای سلول های استئوبلاست و استئوکلست دارد دارای خواص مهمی مانند توانایی برقراری پیوند مستقیم شیمیایی با سلول های بدن، قابلیت هدایت رشد استخوانی و بازسازی بافت استخوانی از دست رفته میباشد. چگالی HA در حدود $16/3-14/3 \text{ gr/cm}^3$ می باشد که به دلیل چگالی کمتر نسبت به فلزات، تطابق بیشتری با استخوان طبیعی دارد.

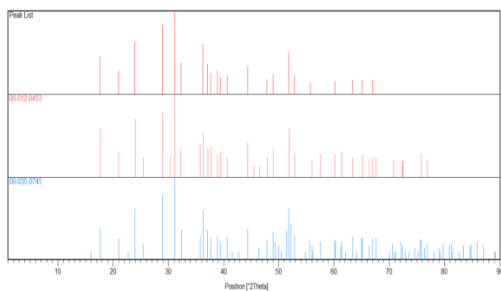
به دلیل آنکه مقصد نهایی بیومتریالها، حضور در محیط بدن و تماس با سیالات بدنی است حلالیت در آب، شاخص مهمی در بررسی خواص درون تنی مثلاً پیش بینی میزان تخریب پذیری به دست می دهد. آپاتیت به دلیل خواص مکانیکی نسبتاً کم، مخصوصاً در محیط های آبی، نمی تواند برای کاربردهایی که نیاز به تحمل بار بالا دارند، به کار رود. از این رو کاربرد آن شامل فاز دوم کامپوزیت ها به عنوان عامل زیست سازگارکننده، پوشش بر روی

مرحله ی اول: نمونه A و D در کوره با دمای $1100^{\circ}C$ به مدت ۲ ساعت قرار داده شد تا میزان تشکیل HS در هر دو نمونه که انرژی مختلفی به آنها داده شده است بررسی شود. مرحله ی دوم: نمونه B و E در داخل کوره با دمای $1200^{\circ}C$ به مدت ۲ ساعت قرار داده شد.

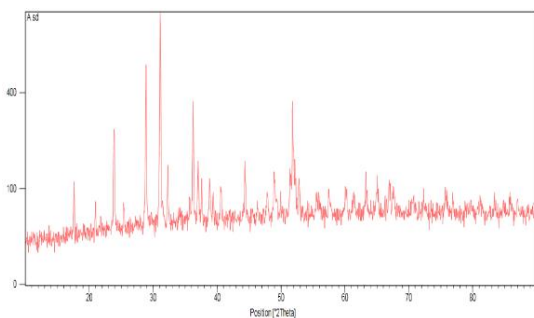
مرحله ی سوم: نمونه C در داخل کوره $1100^{\circ}C$ به مدت ۳ ساعت قرار داده شد تا میزان HS تشکیل شده با افزایش زمان نیز بررسی گردد.

بعد از پخت و بررسی نمونه ها، نمونه A و D از لحاظ شکل ظاهری سالم بوده اما رنگ نمونه A به شیری و نمونه D به آبی کمرنگ در آمد و وزن ثانویه آنها بترتیب $1/84$ gr و $1/73$ gr بدست آمد. نمونه B و E هر دو ذوب شدند و نمونه C تغییر فرم داده و دچار یک حالت پفکی ناشی از یک انفجار داخلی در نمونه شده بود و وزن ثانویه آن $1,5$ gr محاسبه گردیده است.

پس از خروج از کوره و پودر سازی، نمونه ها با استفاده از دستگاه XRD آنالیز میشوند. آنالیز انجام شده نمونه A به صورت زیر است (شکل ۱):



شکل (۱) الف: آنالیز XRD نمونه A



شکل (۱) ب: تفاوت پیک های نمونه ی A و هاردستونایت

یک قالب از جنس فولاد CK45 و تحت پرس یک تن فشرده شده و به صورت استوانه های ۲ سانتی متری به قطر ۱ سانتی متر و وزن 2 gr در می آیند. سپس جهت انجام واکنشهای تشکیل HS بوسیله کوره های المنتی دما میزبان $1000-1100^{\circ}C$ افزایش داده میشود. اندازه گیری وزن خشک (وزن نمونه پس از خروج از کوره) و همچنین اندازه گیری چگالی با استفاده از روشهای تعیین چگالی انجام میشود.

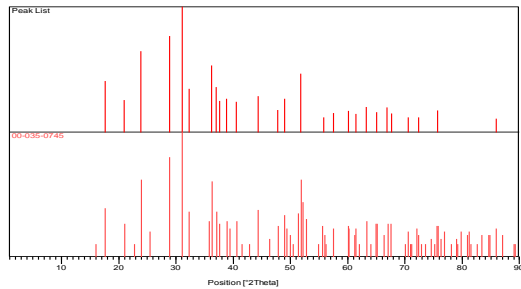
پس از سایش هر نمونه در هاون چینی، نمونه ها را بوسیله ی پراش اشعه ی X (XRD) مورد ارزیابی قرار می دهیم تا مناسبترین دما، زمان پخت و همچنین میزان انرژی مکانیکی داده شده به نمونه ها بدست آید. این آنالیز توسط دستگاه (Philips, Xpertmpo) (XRD) با اشعه $K\alpha_1$ ($1/5405^{\circ} A$) به فیلتر نیکلی با ولتاژ 30 KV ، جریان الکتریکی 25 MA و جاروب کردن $0,04$ بین زوایای $52-80^{\circ}$ انجام میشود.

۳- بحث و نتیجه گیری:

مطابق با جدول (۱)، در ابتدا پنج نمونه A , B , C , D , E ساخته شده، آسیا میشوند. مدت زمان آسیاب نمونه , B , A , C ، 10ساعت و همچنین D و E، 15 ساعت در نظر گرفته شد که نمونه D و E بعلت زمان بیشتر و اختلاط ذرات آهن جدا شده از دیواره کاپ با پودر، دارای رنگ تیره تری شدند. سپس نمونه ها تحت زمانهای ۱۰ و ۱۵ ساعت مطابق با جدول ۱ در دماهای مختلف در کوره قرار داده شدند.

جدول (۱) شرایط تولید نمونه ها

نمونه	میزان تطابق با پیکهای HS	دما	مدت زمان حرارت دهی (ساعت)	وزن ثانویه (گرم)	میزان تطابق با پیکهای HS
A	۱۰	۱۱۰۰	۲	$1/84$	%۵۴
B	۱۰	۱۲۰۰	۲	ذوب نمونه	---
C	۱۰	۱۱۰۰	۳	$1/5$	%۴۸
D	۱۵	۱۱۰۰	۲	$1/73$	%۳۸
E	۱۵	۱۲۰۰	۲	ذوب نمونه	---



شکل (۴): تفاوت پیک های نمونه ی D و هاردیستونایت

۴- نتیجه گیری:

نمونه ی A با میزان ۵۴٪، بیشترین محصول هاردیستونایت تولید شده از بین پنج نمونه ی مورد بررسی را دارد که با زمان ۱۰ ساعت نسبت به نمونه ی D و E با زمان ۱۵ ساعت، تحت انرژی آسیابکاری کمتری قرار داده شده است. این نمونه با زمان حرارت دهی ۲ ساعت نسبت به نمونه ی C با شرایط مشابه ولی زمان کمتر، نتایج بهتری ارائه میدهد. دمای کوره برای این نمونه نسبت به دو نمونه ی B و E به میزان ۱۰۰ درجه سانتیگراد کمتر در نظر گرفته شد که در نتیجه این نمونه با انرژی کمتر و مدت زمان و دمای پخت پایینتر بیشترین محصول هاردیستونایت را نسبت به سایر نمونه ها تولید کرد.

مراجع:

[۱] خواص و کاربرد پزشکی بیومواد فلزی، فتحی/ محمدحسین مرتضوی / وجهه السادات، انتشارات ارکان دانش، ۱۳۸۲.

[۲] دکتر محمد حسین فتحی، خواص و کاربرد پزشکی بیوسرامیک ها، انتشارات ارکان دانش، ۱۳۸۸.

[3] Lao L., Wang Y., Zhu Y., Zhang Y., Gao C., Poly (lactide-co-glycolide) / hydroxyapatite nanofibrous scaffolds fabricated by electrospinning for bone tissue engineering, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 22, No. 8, 2011, pp. 1873 – 1884.

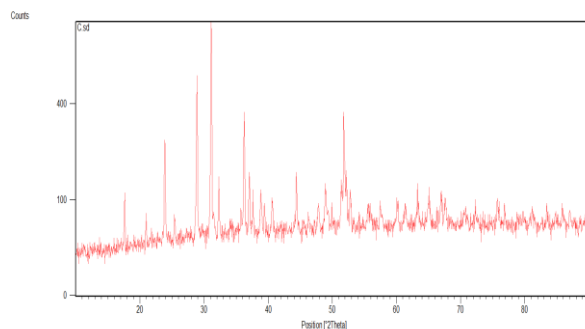
بعد از مقایسه ی پیک های HS و پیک نمونه A ، می توان نتیجه گرفت ۵۴٪ از نمونه به HS تبدیل شده و مابقی به صورت ترکیباتی دیگر با هم واکنش داده اند یا اصلا واکنش نداده اند.

با بررسی نمونه B مشاهده میشود که این نمونه به علت ذوب شدن و واکنش با لعاب بوته چینی قابل آنالیز نمیشد که این مذاب بعد از انجماد به صورت بلورهای کوچک سبز رنگ در زمینه ای آمورف مشاهده میشود. (شکل ۲):



شکل (۲): نمونه B ذوب شده

پیک های نمونه C بعد از خردایش و آنالیز توسط XRD با پیکهای HS حدود ۴۸٪ تطابق نشان میدهد.



شکل (۳): پیک نمونه C حاصل از آنالیز

پیک های نمونه ی D بعد از خردایش و آنالیز توسط XRD با پیک های HS حدود ۳۸ درصد تطابق داشتند. (شکل ۴):

- [4] Hayati A.N., Hosseinalipour S.M., Rezaie H.R., Shokrgozar M.A., Characterization of poly (3-hydroxybutyrate) / nano-hydroxyapatite composite scaffolds fabricated without the use of organic solvents for bone tissue engineering applications, *Materials Science and Engineering*, vol. 32, No. 3, 2012, pp. 416–422.
- [5] Zadegan S., Hosainalipour M., Rezaie H.R., Ghassai H., Shokrgozar M.A., Synthesis and biocompatibility evaluation of cellulose/hydroxyapatite nanocomposite scaffold in 1-n-allyl-3-methylimidazolium chloride, *Materials Science and Engineering*, vol. 31, No. 5, 2011, pp. 954–961.
- [6] Beskardes I.G., Gumusderelioglu M., Bioact J., Biocompat, Biomimetic Apatite-coated PCL Scaffolds: Effect of Surface Nanotopography on Cellular Functions, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, vol. 24, No. 6, 2009, pp. 507–524.
- [7] Zreiqat H., Ramaswamy Y., Wu C., Paschalidis A., Lu Z., James B., The incorporation of strontium and zinc into a calcium–silicon ceramic for bone tissue engineering, *Biomaterials*, vol. 31, No. 11, 2010, pp. 3175 – 3184.
- [8] Woodruff M.A., Hutmacher D.W., The return of a forgotten polymer—polycaprolactone in the 21st century, *Progress in Polymer Science*, vol. 35, No. 10, 2010, pp. 1217–1256.
- [9] Jose M.V., Thomas V., Johnson K.T., Dean D.R., Nyairo E., Aligned PLGA/HA nanofibrous nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering, *Acta biomaterialia*, vol. 5, No. 1, 2009, pp. 305–315.
- [10] Prabhakaran M.P., Venugopal J., Ramakrishna S., Nanostructured biocomposite substrates by electrospinning and electrospraying for the mineralization of osteoblasts, *Acta biomaterialia*, vol. 5, No. 11, 2009, pp. 2884–2893.