

## بررسی عوامل مؤثر در فرایند تهیه گرانول‌های کروی متخلخل کلسیم فسفات به روش روغن دوار

مهدی امیرآبادی فراهانی<sup>۱</sup>، زهرا محمدی<sup>۲\*</sup> و عبدالرضا شیخ مهدی مسگر<sup>۳\*</sup>

- ۱- کارشناس ارشد مهندسی پزشکی (بیومتریال)، آزمایشگاه بیوسرامیک و ایمپلنت، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، ایران
- ۲- استادیار، آزمایشگاه بیوسرامیک و ایمپلنت، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، ایران
- ۳- استادیار، آزمایشگاه بیوسرامیک و ایمپلنت، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، ایران

دریافت: مرداد ۱۳۹۶، بازنگری: دی ۱۳۹۶، پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

**چکیده:** در این پژوهش، به ساخت و کنترل متغیرهای تولید گرانول‌های به‌طور کامل کروی با اندازه‌های دلخواه به‌روش روغن دوار با توانایی حمل دارو و رشد بافت پرداخته شده است. اساس این روش، مبتنی بر آب‌دوستی دوغاب سرامیکی و گریز از محیط روغنی است. در این پژوهش، سرعت چرخش روغن، دمای روغن، شماره سوزن و درصد وزنی ژلاتین نسبت به آب، هر کدام در سه سطح به‌عنوان متغیرهای آزمایش در نظر گرفته شد. بررسی همه متغیرها در سطوح در نظر گرفته شده، نیازمند صرف زمان و هزینه بسیار است. از این رو، به‌منظور بهینه‌سازی شرایط تولید و صرفه‌جویی در هزینه، زمان و نیز به حداقل رسانیدن تعداد آزمایش‌ها، مدل تاگوچی با آرایش ارتوگونال  $L_9$  به‌کار برده شد. برای تولید گرانول کلسیم فسفات دوفازی از هیدروکسی آپاتیت با کمبود کلسیم به‌عنوان ماده شروع‌کننده استفاده شد. ماده شروع‌کننده به کمک روش آبکافت در محیط بازی تهیه شد. به‌منظور شناسایی نمونه‌ها از روش پراش پرتو ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی و تخلخل‌سنجی استفاده شد. با استفاده از شرایط بهینه به‌دست آمده، گرانول‌هایی با بیشترین اندازه تولید شد. بر پایه نتایج به‌دست آمده اثر عامل درصد وزنی ژلاتین در اندازه گرانول نهایی بیشتر از سایر عامل‌ها بود. اندازه و تخلخل گرانول‌های تهیه شده به ترتیب در گستره ۱۲۰ تا ۱۵۰۰ میکرومتر و درصد تخلخل ۳۵ تا ۴۵٪ قرار داشت که تمام زمینه‌ها از قبیل دارورسانی، دندانپزشکی و ارتوپدی را پوشش می‌دهد.

**واژه‌های کلیدی:** کلسیم فسفات دوفازی، گرانول، ذره‌های کروی، تخلخل، روش تاگوچی

### مقدمه

شدن فرایند بهبود بدن می‌شود. همچنین، می‌توان به محدود بودن برداشتن مقدار بافت از یک منطقه بدن بیمار (در مورد اتوگرافت)، کمیاب بودن دهنده بافت، پس‌زدن سامانه ایمنی بدن، انتقال عوامل بیماری‌زا و مشکل سترون‌سازی<sup>۲</sup> بافت اهدایی (در

پیوندهای خودپیوندینه<sup>۱</sup> و هم‌پیوندینه<sup>۲</sup> از جمله روش‌های ترمیم استخوان در عمل‌های ارتوپدی است ولی محدودیت‌هایی مانند نیاز به عمل دوباره روی بیمار به همراه درد و رنج، باعث کند

1. Autograft 2. Allograft 3. sterilization

رسوب‌نشانی، شناورسازی، ذره‌سازی، سنتز شعله‌ای، بستر دوار و انجماد سریع مورد پژوهش بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است [۹ تا ۱۴]. زیرا هر کدام از ویژگی‌های گرانول‌ها شامل اندازه گرانول، نوع، اندازه و درصد تخلخل آن‌ها در هر یک از روش‌های اشاره شده قابل کنترل بوده، به طوری که تعیین‌کننده کاربرد استفاده از گرانول‌ها است. در ساخت این گرانول‌ها در روشی کم‌هزینه و ساده به نام روش روغن دوار، عوامل متفاوتی می‌توانند بر اندازه و درصد تخلخل نهایی گرانول‌ها تأثیر گذارند که با کنترل و تغییر این عامل‌ها می‌توان فرآورده را برحسب شرایط مورد نیاز طراحی کرد [۱۵]. تأثیر هم‌زمان این عوامل، پیچیده و قابل بحث است. بنابراین، برای طراحی شرایط واقعی ساخت گرانول کروی مد نظر، باید اثر هم‌زمان همه متغیرها بررسی شود. در این روش، با جدا شدن قطره دوغاب ژلاتینی کلسیم فسفات به داخل روغن دوار گرانول‌های کروی تشکیل می‌شوند. چهار عامل نسبت درصد وزنی ژلاتین به  $Ca^{2+}$  (هیدروکسی آپاتیت با کمبود کلسیم)، دمای روغن، سرعت چرخش روغن و قطر نازل همگی در سه سطح، متغیرهایی هستند که می‌توان با کنترل آن‌ها اندازه گرانول و درصد تخلخل را کنترل کرد. در روش عاملی کامل<sup>۴</sup> این امر لازمه انجام ۶۴ آزمایش است که وقت و هزینه زیادی در بر دارد. در این پژوهش، به منظور بهینه‌سازی فرایند تولید از روش تاگوچی<sup>۵</sup> استفاده شد. همچنین، به کمک این روش می‌توان ویژگی فرآورده مورد نظر را با شرایط بهینه شده پیشگویی و تأثیر متغیرهای مورد نظر را نیز برآورد کرد.

### بخش تجربی

مواد و روش‌ها

مواد

مواد مورد استفاده در این پژوهش به قرار زیر است: دی کلسیم فسفات آبدار (Merck)، سدیم هیدروکسید (Merck)، ژلاتین (Merck)، آب مقطر، پلی‌وینیل الکل (PVA)، کربوکسی‌متیل سلولز (CMC) و روغن گیاهی.

مورد آلوگرافت) اشاره کرد. همچنین، پس از جراحی به‌منظور جلوگیری از عفونت باکتریایی باید از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کرد. در این خصوص، تزریق و یا خوردن این داروها می‌تواند منجر به اختلال‌های سامانه شوند [۱]. بنابراین، دانشمندان زیست مواد با ساخت جایگزین مناسب بافت استخوان که با محیط بدن گیرنده سازگار باشد، مطالعه کردند. مواد زیستی که بدون تحریک سامانه ایمنی بدن و هرگونه اثر سرطان‌زایی، عفونت و سمیت؛ در کوتاه‌مدت یا بلندمدت بتوانند به دارورسانی موضعی بافت آسیب‌دیده کمک کرده، به طوری که دیگر نیازی به تجویز پیوسته دارو نباشد. در بین انواع پرکننده‌های نواقص استخوانی، گرانول‌های متخلخل کروی کلسیم‌فسفات از مزایایی همچون، قابلیت تزریق و تراکم‌پذیری بالاتر نسبت به گرانول‌های بی‌شکل [۲] مورد توجه ویژه پژوهشگران قرار گرفته است [۳]. در بین انواع پرکننده‌های استخوانی اندازه مناسب گرانول‌ها در زمینه‌های متنوع پزشکی عبارت‌اند از [۴]:

حوزه داروسازی: ۰/۲ تا ۴/۰ میلی‌متر

حوزه ارتوپدی: ۱/۰ تا ۲/۰ میلی‌متر

حوزه دندان‌سازی: ۰/۲۵ تا ۱/۰ میلی‌متر

حوزه دارو رسانی: کمتر از ۰/۲ میلی‌متر

در به‌کارگیری کلسیم‌فسفات‌ها، خانواده ویژه‌ای از آن‌ها به نام کلسیم‌فسفات‌های دوفازی (BCP) شامل دو فاز هیدروکسی آپاتیت (HA) و بتا-تری کلسیم فسفات ( $\beta$ -TCP) با درصد‌های فازی متفاوت کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده‌اند [۵ و ۶]. استفاده از ترکیب‌های BCP به شکل‌های متفاوت شامل گرانول یا قطعه‌هایی با شکل هندسی متفاوت توانایی خود را در کاربردهای بالینی جایگزینی استخوان به اثبات رسانده است. دلیل این مسئله این است که ویژگی القای استخوان<sup>۲</sup> BCP به مراتب بهتر از HA به‌تنهایی است و همچنین، زیست تخریب‌پذیری BCP بیشتر از هیدروکسی آپاتیت است [۷ و ۸]. امروزه، دستیابی به گرانول‌های کلسیم‌فسفات با روش‌های گوناگونی از قبیل پرس، اسپری،

1. Biphasic calcium phosphate (BCP) 2. Osteoinductivity 3. Calcium –Deficient Hydroxyapatite 4. Full Factorial 5. Taguchi

هر آزمایش در شرایط عملیاتی به‌طور کامل یکسان است که برابر ۳ و زیرنویس i بیانگر تعداد متغیرهای مورد بررسی در آرایش ارتوگونال است.

جدول ۱ متغیرها و سطوح مورد استفاده

ردیف	متغیر	سطوح		
		۱	۲	۳
۱	دمای روغن (°C)	۰	۱۵	۳۰
۲	نسبت درصد وزنی ژلاتین به CDHA	۱۵	۳۰	۴۵
۳	سرعت چرخش روغن (rpm)	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰
۴	شماره سوزن (G)	۲۰	۲۲	۲۷

جدول ۲ آزمایش‌های طراحی شده به روش تاگوچی (L<sub>9</sub>)

شماره آزمایش	دمای روغن (°C)	شماره سوزن (G)	درصد وزنی ژلاتین به CDHA	سرعت چرخش (RPM)
۱	۰	۲۰	۱۵	۲۰۰
۲	۰	۲۷	۳۰	۴۰۰
۳	۰	۲۲	۴۵	۶۰۰
۴	۱۵	۲۲	۳۰	۲۰۰
۵	۱۵	۲۰	۴۵	۴۰۰
۶	۱۵	۲۷	۱۵	۶۰۰
۷	۳۰	۲۷	۴۵	۲۰۰
۸	۳۰	۲۲	۱۵	۴۰۰
۹	۳۰	۲۰	۳۰	۶۰۰

### روش تهیه گرانول‌های کروی متخلخل

#### تهیه دوغاب

برای تهیه محلول ژلاتینی، ابتدا ۱٫۵ گرم از ژلاتین در ۱۲٫۵ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۳۹ °C به‌طور کامل حل شد. ۵ گرم از پودر کلسیم‌فسفات تهیه‌شده به‌همراه مقادیر مناسب CMC و PVA مخلوط شد. به محلول ژلاتینی مخلوط، CDHA

### تهیه پودر کلسیم‌فسفات دوفازی

به‌منظور تهیه گرانول‌های کلسیم‌فسفات از پودر هیدروکسی‌آپاتیت با کمبود کلسیم (CDHA) استفاده شد. تهیه CDHA به روش آبکافت دی‌کلسیم‌فسفات در محیط بازی برپایه اختراع شماره (۸۰۵۹۲) انجام شد [۱۶]. لازم به ذکر است که نسبت مولی Ca/P در CDHA کمتر از ۱٫۶۷ (نسبت مولی Ca/P در HA استوکیومتری) است. براساس اختراع اشاره شده، مقادیر لازم دی‌کلسیم‌فسفات در یک راکتور بازروانی به همراه سدیم‌هیدروکسید به مدت ۸ ساعت در دمای ۹۵ °C قرار گرفت. پس از صاف کردن، رسوب باقی‌مانده با مقادیر فراوانی آب مقطر شسته شده تا pH محلول شستشو در گستره خنثی قرار گیرد. پس از خشک کردن کامل رسوب در دمای ۹۰ °C به مدت ۲۴ ساعت، پودر به‌دست آمده در دمای ۱۱۰۰ °C به مدت ۲ ساعت تحت عملیات گرمایی قرار گرفت. از این پودر برای تهیه گرانول‌ها استفاده شد [۱۷ و ۱۸].

### روش تاگوچی

به‌منظور تعیین شرایط بهینه و بررسی اثر عامل‌های مؤثر بر اندازه و درصد تخلخل گرانول از روش تاگوچی استفاده شد. مهم‌ترین ویژگی این روش، اقتصادی بودن آن برای بررسی فرایندهای پیچیده است. در این روش، از حداقل تعداد آزمایش‌ها به‌منظور بررسی تمامی سطوح عامل‌های ساخت استفاده می‌شود و امکان بهینه‌سازی فرایند تولید نیز وجود دارد [۱۹]. در روش تاگوچی می‌توان برای بیان توانایی اثرگذاری هر متغیر از نسبت S/N استفاده کرد که در آن N عامل نوفه<sup>۱</sup> بوده و نشان دهنده دشوار بودن کنترل کمیت مورد بررسی است؛ S عامل نشانک<sup>۲</sup> و کنترل ساده متغیر مورد بررسی را نشان می‌دهد. برای محاسبه نسبت S/N از معادله ۱ استفاده می‌شود [۲۰]:

$$SN_L = -10 \log \left[ \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2} \right] \quad (1)$$

در معادله ۱، مقدار y<sub>i</sub> مشخصه مورد آزمون و n تعداد تکرار

1. Noise factor 2. Signal factor

CMC و PVA افزوده شد. سپس، به مدت ۵ ساعت روی همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه و دمای ۵۰ °C قرار داده شده تا دوغابی یکنواخت به دست آید.

### تهیه گرانول

بر اساس جدول ۲، نه آزمایش با توجه به متغیرها انجام گرفت. به عنوان نمونه، روند انجام آزمایش ۲ توضیح داده می‌شود. دوغاب ژلاتینی با پمپ تزریق الکتریکی با سرعت تزریق ۴ ml/h درون روغن دوار در دمای صفر درجه سانتی‌گراد ریخته شد تا به مدت ۱ دقیقه هم‌زده شود. با سقوط قطره‌های جدا شده از نوک سوزن به داخل روغن، به علت گیرش ژلاتین در دمای پایین روغن، نیروی گریز از مرکز و همچنین، روغن‌گریزی دوغاب به علت آب‌دوستی حلال آبی آن، ذره‌های گرانولی به‌طور کامل کروی درون ظرف روغن ظاهر شد. پس از جداسازی و خشک‌شدن نهایی، گرانول‌ها داخل کوره تا دمای ۱۱۰۰ °C با سرعت ۱ °C/min گرما داده شد تا افزون بر تبخیر روغن باقی‌مانده و حذف ژلاتین به‌عنوان پروژن، تفجوشی ذره‌های سرامیکی انجام شود. به‌منظور افزایش استحکام، نمونه‌ها در دمای ۱۱۰۰ °C به مدت ۴ ساعت نگهداشته شدند.

### شناسایی نمونه‌ها

#### پراش پرتو ایکس

به‌منظور بررسی ساختار بلوری پودر تهیه‌شده و همچنین، گرانول تفجوشی شده از پراش پرتو ایکس (XRD) مدل Philips Xpert Pro در شرایط ۳۵mA و ۴۰kV با سرعت ۴۰°/s و ۰.۰۲ و تشعشع CoK $\alpha$  استفاده شد. شناسایی فازها به کمک نرم افزار سامانه انجام شد. آزمون کمی فازی در مورد نمونه تفجوشی شده به روش پیشنهادی رینود<sup>۱</sup> [۲۱] بر پایه مرجع [۲۲] تعیین شد. تعیین درصد تخلخل (روش ارشمیدس)

به‌منظور اندازه‌گیری تخلخل گرانول‌ها، از روش غوطه‌وری ارشمیدس استفاده شد [۲۳]. در این روش درصد تخلخل‌های باز

با معادله ۲ بیان شد:

$$\% \text{Porosity} = \frac{w_{\text{خشک}} - w_{\text{اشباع}}}{w_{\text{غوطه‌وری}} - w_{\text{اشباع}}} \times \rho \times 100 \quad (2)$$

که در این معادله  $w_{\text{خشک}}$  وزن خشک نمونه؛  $w_{\text{اشباع}}$  وزن نمونه در حالت اشباع؛  $w_{\text{غوطه‌وری}}$  وزن نمونه در شرایط غوطه‌وری؛  $\rho$  چگالی مایع یعنی آب که برابر ۱ در نظر گرفته می‌شود. در مورد هر یک از آزمایش‌ها، اندازه‌گیری ۳ مرتبه تکرار شد.

### ریخت‌شناسی

ریخت‌شناسی سطح گرانول‌های تولیدی با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (CamScan-MV2300) انجام شد.

### اندازه‌گیری گرانروی روغن

برای اندازه‌گیری گرانروی روغن در شرایط متفاوت، از ساچمه‌های در حال سقوط استفاده شد [۲۴]. نیروهای وارد به ساچمه؛ نیروی شناوری، وزن و نیروی پسا<sup>۲</sup> هستند. به شرط رسیدن ساچمه به سرعت حدی و با در نظر گرفتن قانون استوکس می‌توان نوشت:

$$\sum F_x = ma_x = 0 \Rightarrow F_w - F_b - F_d = 0 \quad (3)$$

که در آن  $F_b$  نیروی شناوری،  $F_d$  نیروی پسا و  $F_w$  نیروی وزن است.

$$\mu = \frac{[(\rho_s - \rho_f)]gD^2}{18u} \quad (4)$$

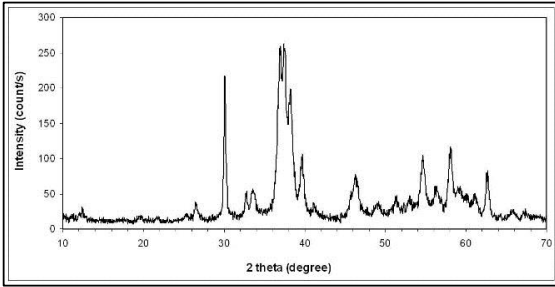
در معادله ۴،  $u$  سرعت حدی،  $\rho_f$  چگالی سیال،  $\rho_s$  چگالی ساچمه،  $D$  قطر ساچمه و  $g$  شتاب جاذبه زمین است. همچنین،  $\rho_s$ ،  $\rho_f$  و  $D$  معلوم است و سرعت حدی از معادله  $u=l/t$  (طول ساچمه  $l$  و زمان سقوط  $t$ ) به دست می‌آید.

### نتیجه‌ها و بحث

#### شناسایی فاز بلوری

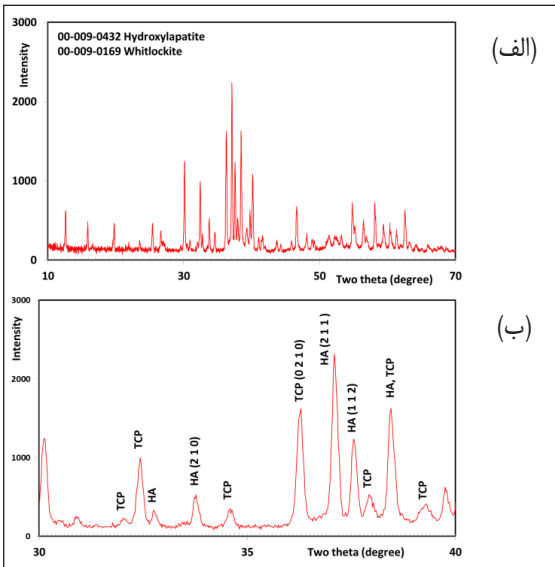
در شکل ۱ الگوی پراش پرتو ایکس پودر تهیه‌شده به روش

1. Raynaud 2. Drag force



شکل ۱ الگوی XRD پودر CDHA تهیه شده

با توجه به الگوی به دست آمده در شکل ۲-ب نسبت وزنی HA به  $\beta$ -TCP به طور تقریبی ۶۰ به ۴۰ به دست آمد.



شکل ۲ الگوی XRD گرانول پس از تفجوشی، (الف) گرانول از دو فاز HA و  $\beta$ -TCP تشکیل شده است. (ب) برخی صفحه‌های بلوری دو فاز HA و  $\beta$ -TCP که برای محاسبه نسبت وزنی فازها استفاده شده است

#### ریخت شناسی

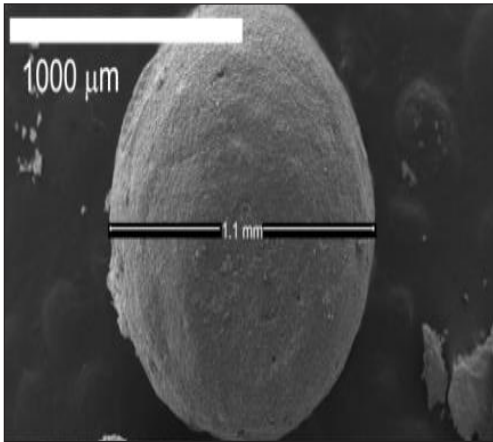
ریخت و اندازه تخلخل‌های داربست از عوامل مؤثر در رشد بافت بشمار می‌آیند. تصاویر SEM با بزرگ‌نمایی‌های متفاوت در شکل‌های ۳ تا ۱۱ و ویژگی‌های هر یک از نمونه‌ها در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، گرانول‌ها متخلخل هستند. تخلخل‌های کوچک مناسب برای به دام انداختن دارو و تخلخل‌های بزرگ مناسب برای رشد بافت هستند [۲۶ و ۲۷]. تخلخل‌های ریز به‌طور معمول به علت خروج آب و پروژن به‌وجود می‌آیند.

آبکافت نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پودر تهیه‌شده هیدروکسی آپاتیت شناسایی شده است. الگوی به‌دست آمده به دلیل پهنای زیاد پیک‌های مشخصه هیدروکسی آپاتیت نشان دهنده هیدروکسی آپاتیت با بلورینگی پایین است. تفجوشی این پودر در دمای بالا منجر به تولید کلسیم فسفات دوفازی شامل هیدروکسی آپاتیت و بتا-تری کلسیم فسفات ( $\text{HA}/\beta\text{-TCP}$ ) شد که نشانگر کمبود کلسیم هیدروکسی آپاتیت اولیه (پس از سنتز) است زیرا مخلوط دو فاز اشاره شده دارای نسبت مولی  $\text{Ca}/\text{P}$  کمتر از ۱٫۶۷ (نسبت مولی  $\text{Ca}/\text{P}$  هیدروکسی آپاتیت استوکیومتری) است. در نتیجه می‌توان پودر تهیه‌شده پیش از تفجوشی را هیدروکسی آپاتیت با کمبود یا نقص کلسیم (CDHA) با فرمول  $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}\text{OH}_{2-x}$  در نظر گرفت [۲۵]. بر اساس اختراع، شرایط تهیه به گونه‌ای انتخاب شد تا پس از تفجوشی مخلوط دوفازی  $\text{HA}/\beta\text{-TCP}$  با نسبت فازی ۶۰ به ۴۰ به‌دست آید. شکل ۲ الگوی پراش پرتو ایکس گرانول تفجوشی شده دوفازی با نسبت ۶۰ به ۴۰ را نشان می‌دهد. به‌طور کلی، پودر هیدروکسی آپاتیت با کمبود کلسیم (CDHA) که دارای نسبت مولی  $1.67 < \text{Ca}/\text{P} < 1.50$  باشد در اثر عملیات گرمایی در گستره دمایی ۷۰۰ تا ۱۱۰۰ °C به دو فاز HA استوکیومتری  $(\text{Ca}/\text{P})=1.67$  و  $\beta\text{-TCP}$  ( $\text{Ca}/\text{P} = 1.50$ ) تبدیل می‌شود [۲۵]. رینود برای تعیین نسبت فازی در کلسیم فسفات‌های دوفازی از برخی شدت‌های پراش صفحه‌های بلوری استفاده کرده است که هم‌پوشانی نداشته یا حداقل هم‌پوشانی را دارند. در کلسیم فسفات‌های دوفازی با نسبت وزنی بیشتر HA نسبت به  $\beta\text{-TCP}$  عامل  $R_2$  به‌صورت معادله ۵ تعریف شده است.

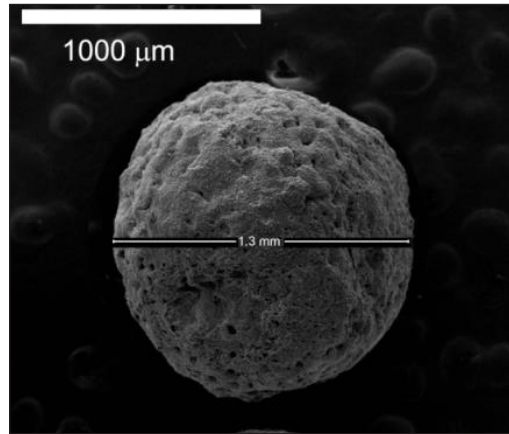
$$R_2 = I_{\text{TCP}(0\ 2\ 1\ 0)} / I_{\text{HA}(2\ 1\ 1)} \quad (5)$$

که در آن  $I$ ، شدت پراش صفحه بلوری است. رینود از طریق آزمون کمی ارتباط بین  $R_2$  و درصد وزنی  $\beta\text{-TCP}$  در کلسیم فسفات دوفازی را به‌صورت معادله ۶ با دقت تا ۰٫۵ درصد وزنی ارائه داده است.

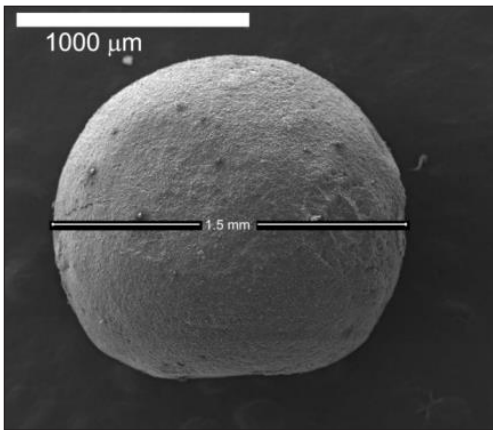
$$R_2 \approx (5.45 \times \text{wt\% TCP}) / (92.7 - \text{wt\% TCP}) \quad (6)$$



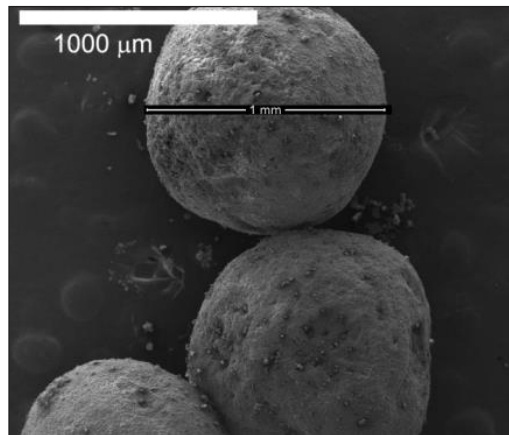
شکل ۶ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۴



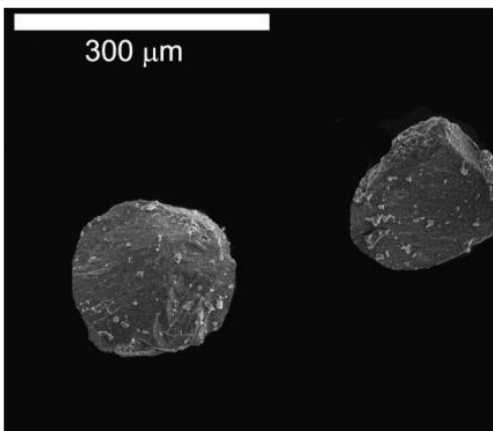
شکل ۳ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۱



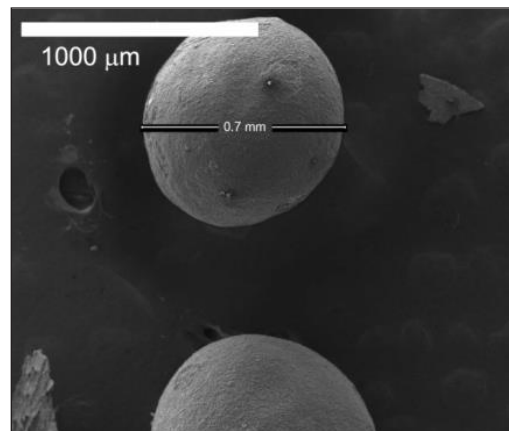
شکل ۷ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۵



شکل ۴ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۲



شکل ۸ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۶



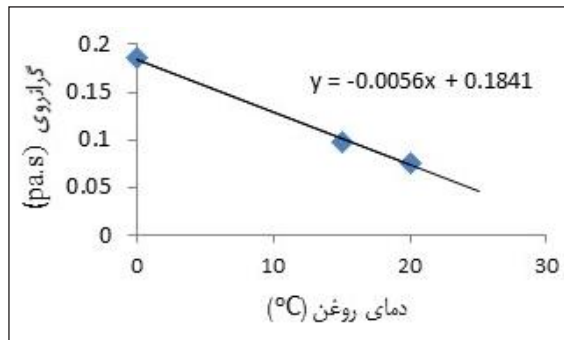
شکل ۵ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۳



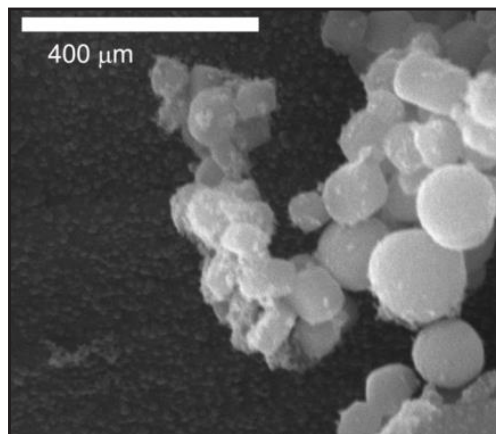
تحلیل تأثیر متغیرهای تولید

در شکل‌گیری گرانول‌های کروی در روغن، عامل اصلی کشش سطحی روغن است که دما تنها یک شاخص برای نشان دادن کشش سطحی است. اصل شاخص کشش سطحی، گرانروی است. برای به‌دست آوردن گرانروی روغن در دماهای متفاوت در روش روغن دوار، روغن در سه دمای ۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد در مخازن استوانه‌ای ریخته شده و در مورد هر کدام زمان سقوط ساچمه‌هایی (فولادی  $7.8 \times 10^{-3} \text{ kg/m}^3$ ) از ارتفاع مشخص شده اندازه‌گیری شد. چگالی روغن در دماهای ۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۹۲۱٫۴، ۹۱۷٫۷ و ۹۱۶٫۹ کیلوگرم بر مترمکعب بود. ارتفاع سقوط (L) ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

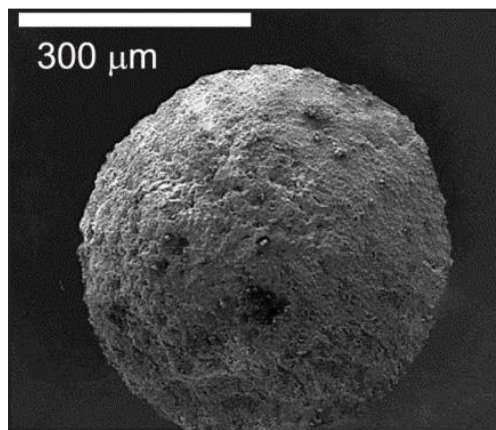
با توجه به نتایج به‌دست آمده، معادله بین گرانروی روغن و دما به‌صورت ارائه‌شده در شکل ۱۲ تعیین شد. به کمک معادله گرانروی- دما به‌راحتی می‌توان گرانروی روغن در دماهای متفاوت را به‌دست آورد. نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های متفاوت مبتنی بر طراحی آزمایش  $L_9$  در جدول ۳ ارائه‌شده است. نمونه‌های تولیدشده در آزمایش‌های ۶، ۷ و ۹ به ترتیب از الک‌های مش ۷۰ ( $212 \mu\text{m}$ )، ۱۰۰ ( $150 \mu\text{m}$ ) و ۵۰ ( $300 \mu\text{m}$ ) عبور کرده و روی الک با مش‌های ۸۰ ( $180 \mu\text{m}$ )، ۱۲۰ ( $125 \mu\text{m}$ ) و ۶۰ ( $250 \mu\text{m}$ ) باقی ماندند. متناسب با مش الک‌های عبور کرده و باقی‌مانده، اندازه آن‌ها تخمین زده شد.



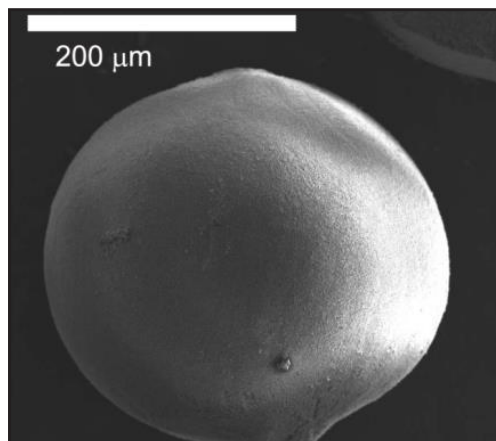
شکل ۱۲ نمودار گرانروی برحسب دمای روغن



شکل ۹ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۷



شکل ۱۰ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۸



شکل ۱۱ تصویر SEM نمونه تولیدشده در آزمایش ۹

جدول ۳ نتایج آزمایش‌های متفاوت با تغییر متغیرها در روش روغن دوار بر اساس طراحی آزمایش  $L_9$

شماره آزمایش	میانگین قطر گرانول ( $\mu m$ )
۱	۱۳۰۰
۲	۱۰۰۰
۳	۷۰۰
۴	۱۱۰۰
۵	۱۵۰۰
۶	۱۹۶
۷	۱۳۷
۸	۵۰۰
۹	۲۷۵

نیز در شکل‌های ۱۳ تا ۱۶ آورده شده است. با توجه به تحلیل واریانس داده‌ها، درصد مشارکت هر یک از متغیرها در آزمایش در جدول ۵ ارائه شده است.

جدول ۵ بررسی واریانس داده‌های آزمایش روغن دوار در رسیدن به بیشینه اندازه قطر گرانول

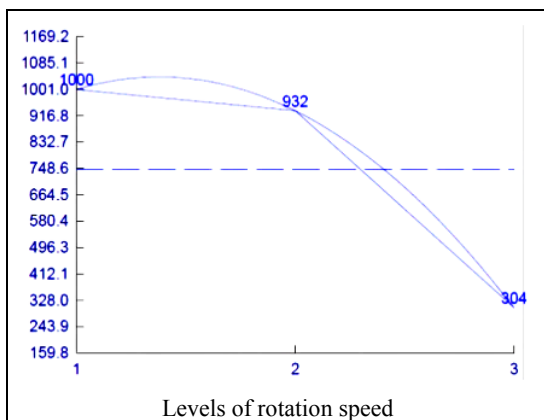
عامل	DOF	جمع مربعات	واریانس	درصد مشارکت
سرعت چرخش روغن	۲	۸۸۳۴۲۴	۴۴۷۱۲	۴۳٫۶۶
درصد وزنی ژلاتین	۲	۶۰۲۸۴۰	۳۰۱۴۲۰	۲۹٫۷۹
شماره سوزن	۲	۲۹۰۴۰	۱۴۵۲۰	۱٫۴۳
گرانروی روغن	۲	۵۰۷۸۰۸	۲۵۳۹۰۴	۲۵٫۱۰
خطا	۰	۰	۰	۰
کل	۸	۲۰۲۳۱۱۴	۱۰۰	۱۰۰

محاسبه‌های مربوط به هر سطح و عامل در جدول ۴ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بیشترین تفاوت میان بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین سطح مربوط به سرعت چرخش روغن است. هرچه تفاوت بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین سطح در مورد هر عامل بیشتر باشد یعنی اثر این عامل در نتیجه مورد نظر بیشتر است.

جدول ۴ میانگین اثرهای عامل‌های مؤثر بر اندازه گرانول

عامل	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳	Max-min
سرعت چرخش روغن	۱۰۰۰	۹۳۲	۳۰۷	۶۹۳
درصد وزنی ژلاتین	۸۴۵٫۶	۱۰۰۰	۳۹۰٫۳	۶۰۹٫۷
شماره سوزن	۶۶۵٫۳	۷۶۱٫۶	۷۷۹	۱۱۳٫۷
گرانروی روغن	۱۰۲۴	۴۴۴٫۳	۷۶۶٫۶	۵۷۹٫۷

اعداد مورتن  $(Mo = \frac{a\mu_0^4\Delta\rho}{\rho_0^2\sigma^3})$  و اتوس  $(Eo = \frac{a(\rho_0-\rho_s)D^2}{\sigma})$  اعداد بدون ابعاد هستند که شاخصی برای تشکیل و متلاشی شدن قطره ارائه می‌دهند. در این معادله‌ها  $a$  شتاب،  $\mu_0$  گرانروی روغن،  $\rho_0$  چگالی روغن،  $\rho_s$  چگالی دوغاب،  $\Delta\rho$  اختلاف چگالی دو فاز روغن و دوغاب،  $\sigma$  کشش سطحی و  $D$  قطر قطره اولیه است. هرچه عدد مورتن و یا عدد اتوس افزایش یابد احتمال متلاشی شدن قطره بالاتر است [۲۸].



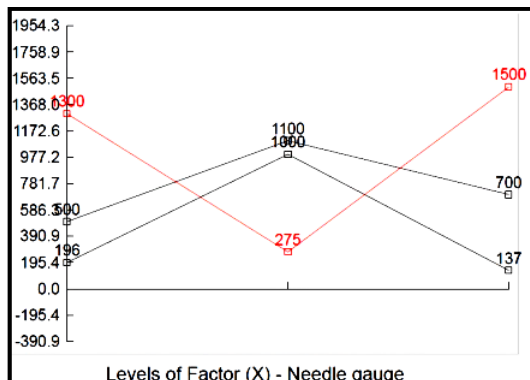
شکل ۱۳ اثر اصلی عامل سرعت چرخش روغن

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، بیشترین تأثیر متغیرها در بیشینه‌کردن قطر نهایی گرانول‌ها به ترتیب متعلق به سرعت چرخش روغن، درصد وزنی ژلاتین، گرانروی روغن و شماره سوزن نازل بوده است. در نمودار تأثیر اصلی عاملها، هرچه شیب نمودار رسم شده برای یک عامل بیشتر باشد، شدت اثر این عامل در نتیجه دلخواه - که در این آزمایش اندازه قطر بیشتر مدنظر بوده است، بیشتر است. اثر هر یک از عامل‌های دخیل در آزمایش

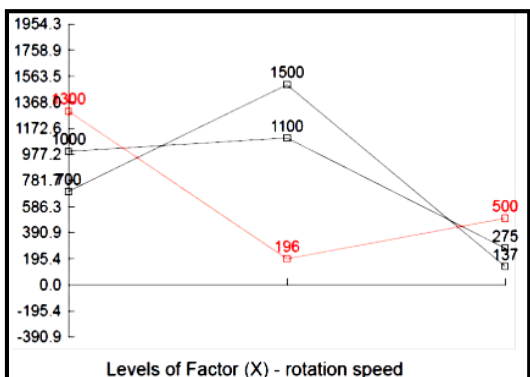
1. Morton number 2. Eötvös number



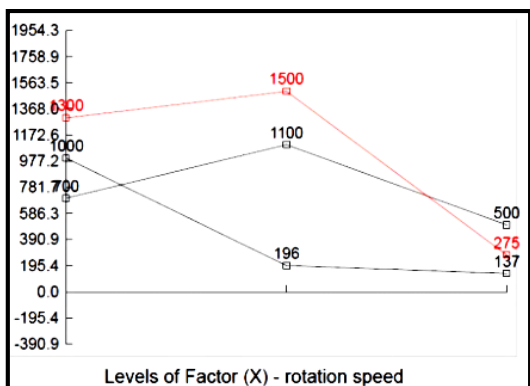
نمودار دقت اثر متقابل عامل‌های مؤثر در روش روغن دوار، در شکل‌های ۱۷ تا ۲۱ آمده است. با توجه به جدول ۶ مشاهده شد که اثر متقابل دو عامل "شماره سوزن نازل" و "گرانروی روغن" بیشترین و اثر متقابل دو عامل "درصد ژلاتین" و "گرانروی روغن" کمترین مقدار بوده است.



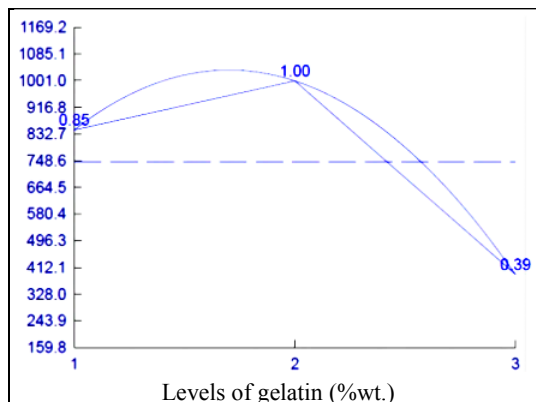
شکل ۱۷ اثرات متقابل عامل‌های قطر نازل و گرانروی روغن



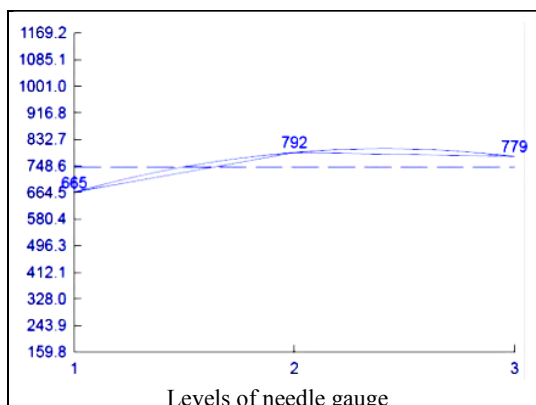
شکل ۱۸ اثرات متقابل عامل‌های سرعت چرخش و قطر نازل



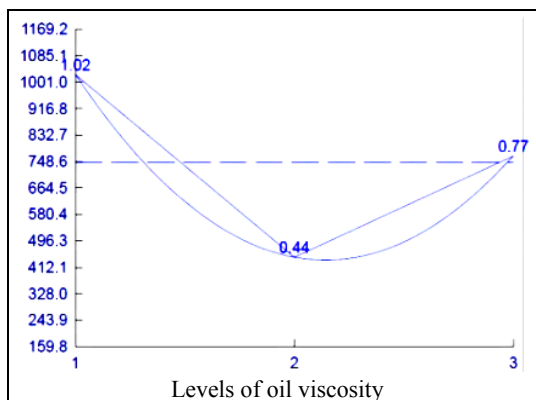
شکل ۱۹ اثرات متقابل عامل‌های سرعت چرخش و گرانروی روغن



شکل ۱۴ اثر اصلی عامل درصد ژلاتین



شکل ۱۵ اثر اصلی عامل قطر نازل



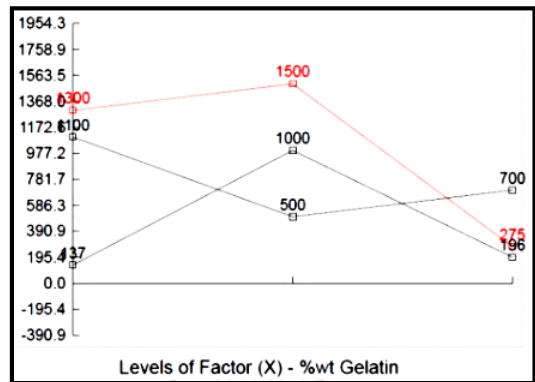
شکل ۱۶ اثر اصلی عامل گرانروی روغن

بر پایه بررسی واریانس داده‌ها، اثر عامل‌های متفاوت در بیشینه‌شدن اندازه گرانول تولیدی در جدول ۵ آورده شده است.

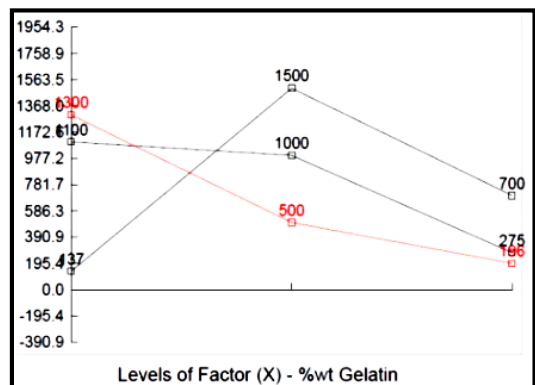
جدا می‌شود که نیروی به‌دست آمده از وزن قطره دوغاب (mg)، برابر یا بزرگ‌تر از کشش سطحی یا نیروی بین مولکول‌های دوغاب و دیواره نوک سوزن (2.π.r.σ) باشد. نیروی موئینگی منجر به ایجاد نیروی مقابل وزن با نوک سوزن شده است.

$$m \cdot g = 2 \cdot \pi \cdot r \cdot \sigma \quad (5)$$

m جرم قطره دوغاب، r شعاع نوک سوزن و σ نیروی کشش سطحی است. با توجه به معادله بالا، در یک کشش سطحی ثابت هرچه شماره سوزن کاهش یابد، جرم قطره جداشده از نوک سوزن نیز کاهش یافته و در نتیجه اندازه قطره جداشده نیز کمتر خواهد بود و هرچه قطر قطره کمتر باشد عدد اتوس نیز کمتر شده و احتمال تلاشی قطره دوغاب کاهش می‌یابد. با افزایش درصد ژلاتین، کشش سطحی دوغاب نیز افزوده خواهد شد. بر پایه معادله ۵ در یک شعاع ثابت نوک سوزن، هرچه نیروی کشش سطحی بیشتر شود، جرم قطره تشکیل شده در نوک سوزن بیشتر شده و به دنبال آن قطر قطره نیز افزایش می‌یابد. بزرگ‌تر شدن قطر قطره هنگام رها شدن درون روغن تنها عامل مؤثر در اندازه گرانول نبوده و عامل‌های دمای روغن و سرعت چرخش روغن نیز در اندازه گرانول‌ها تاثیرگذار خواهد بود. افزایش قطر قطره منجر به افزایش عدد اتوس می‌شود. بالا رفتن گرانروی روغن به‌شرط کاهش دما است. کاهش دما منجر به افزایش فرایند ژل شدن قطره دوغاب و در نتیجه افزایش کشش سطحی قطره دوغاب می‌شود. با افزایش کشش سطحی عدد اتوس کاهش می‌یابد که در نتیجه احتمال متلاشی شدن قطره کاهش می‌یابد. علت حفظ قطره در گرانروی بیشتر، افزایش فشار به‌دست آمده از سمت فاز روغنی به قطره است. هرچه فشار خارج قطره از فشار درون قطره بیشتر باشد، ساختار قطره بیشتر حفظ می‌شود. از نتایج به‌دست آمده در آزمایش نتیجه‌گیری می‌شود که کاهش عدد اتوس در اثر افزایش درصد ژلاتین، با افزایش گرانروی دوغاب تعدیل شده و کمتر خواهد شد. معادله بین تنش برشی و گرانروی سیال به‌صورت  $\tau = \mu \times (dV/dy)$  است که در آن  $dV/dy$  نرخ برش، τ تنش برشی و μ گرانروی سیال است. همان‌طور که از معادله بالا



شکل ۲۰ اثرات متقابل عامل‌های درصد ژلاتین و گرانروی روغن

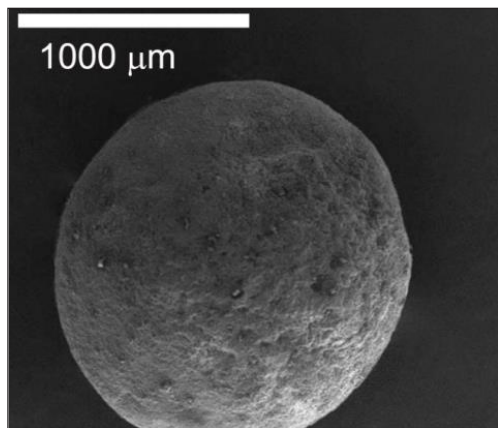


شکل ۲۱ اثرات متقابل عامل‌های درصد ژلاتین و قطر نازل

وقتی که مایع از طریق یک نازل به درون فاز غیرقابل حل دیگری تزریق شود، در صورتی که سرعت از حدی پایین‌تر باشد، بر پایه معادله ۵ هرچه گرانروی دوغاب بالاتر باشد، کشش سطحی بیشتر و در نتیجه اندازه قطره ایجادشده در نوک سوزن بزرگ‌تر خواهد بود. قطره دوغاب تشکیل شده در نوک سوزن هنگامی از آن

جدول ۶ شاخص دقت اثرهای متقابل عامل‌ها در روش روغن دوار

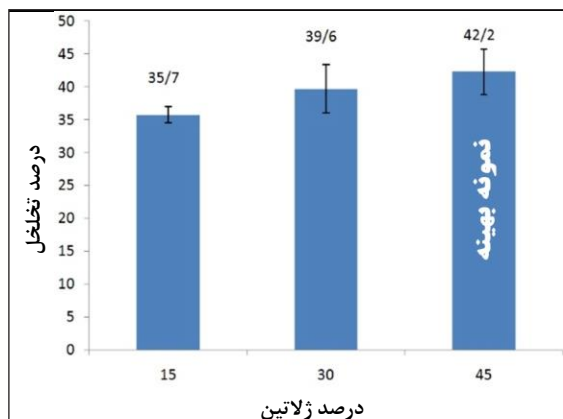
ردیف	برهم‌کنش دو عامل	%SI	Col	Opt
۱	شماره سوزن نازل × گرانروی روغن	۶,۰۹	۷	[۳و۱]
۲	سرعت چرخش × شماره سوزن نازل	۴,۱۶	۲	[۲و۳]
۳	سرعت چرخش × گرانروی روغن	۳,۸۳	۵	[۲و۱]
۴	سرعت چرخش × درصد ژلاتین	۲,۶۷	۳	[۲و۲]
۵	درصد ژلاتین × شماره سوزن نازل	۲,۶۷	۱	[۲و۳]
۶	درصد ژلاتین × گرانروی روغن	۲,۳۲	۶	[۲و۱]



شکل ۲۲ تصویر SEM از نمونه تولیدشده در شرایط بهینه بر پایه جدول ۷

### درصد تخلخل گرانول‌ها

از آنجایی که پروژن ژلاتین تنها متغیر تخلخل‌ساز است. پس، تنها درصد تخلخل برای ۳ نمونه با درصد پروژن متفاوت اندازه‌گیری شد. اثر افزایش درصد ژلاتین بر اندازه تخلخل در شکل ۲۳ به تصویر کشیده شده است. شرایط بهینه در دستیابی به حداکثر تخلخل، بیشتر کردن درصد ژلاتین است. گرانول‌های کلسیم‌فسفات تهیه‌شده به روش روغن دوار با گستره اندازه قطر ۱۲۰ تا ۱۵۰۰ میکرومتر برای استفاده در زمینه‌های دارورسانی، دندانی و ارتوپدی مناسب هستند.



شکل ۲۳ اثر درصد وزنی ژلاتین بر درصد تخلخل نمونه‌های تهیه‌شده از آزمایش‌های ۱، ۲ و ۵ بر پایه جدول ۲

مشخص است، با افزایش سرعت سیال، تنش برشی نیز افزایش می‌یابد. بنابراین، هر چقدر سرعت چرخش سیال روغن بیشتر شود، تنش برشی اعمالی آن بر دوغاب افزوده خواهد شد. همچنین، افزایش گرانروی روغن نیز منجر به افزایش تنش اعمالی می‌شود زیرا با افزایش گرانروی سیال، انتقال سرعت از مرکز چرخش با تفاوت گرادیان کمتری انجام می‌شود و افزایش شتاب حرکتی قطره (a) منجر به افزایش عدد مورتن شده و در نهایت، احتمال متلاشی شدن افزایش می‌یابد. اعمال تنش برشی بیشتر به قطره دوغاب معلق در فاز روغنی، به متلاشی شدن قطره کمک می‌کند. کاهش سرعت چرخش روغن به همراه کاهش دمای روغن (افزایش گرانروی روغن) منجر به کاهش اعمال تنش برشی به قطره دوغاب می‌شود. البته افزایش گرانروی روغن با کاهش دما از سویی منجر به حفظ شکل قطره به وسیله افزایش فشار جانبی به قطره و همچنین، بالا بردن گرانروی قطره دوغاب به علت فرایند ژل شدن می‌شود. پس دما و گرانروی روغن در حفظ قطره دارای یک حد بهینه‌ای هستند که با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش‌ها مقدار بهینه آن ۱۵ درجه سانتی‌گراد است. با توجه به روابط حاکم بر متغیرهای آزمایش و تأثیرات متقابل آن‌ها بر یکدیگر، شرایط بهینه در دستیابی به حداکثر قطر گرانول در جدول ۷ آمده است. همان‌طور که در پیش‌بینی شرایط بهینه بر پایه آزمون تاگوچی هم ارائه شده است، قطر گرانول تولیدی با این سطوح از عامل‌ها، بیشینه و برابر ۱۵۸۰ میکرومتر تخمین زده شده است. تصویر میکروسکوپ الکترونی روشی نمونه تهیه‌شده تحت شرایط بهینه، این تخمین را تأیید می‌کند (شکل ۲۲).

جدول ۷ شرایط بهینه در تولید گرانول با بیشینه اندازه قطر

عامل‌ها	سطح	توضیح سطح	توزیع
سرعت چرخش روغن	۲	۴۰۰	۲۵۴,۶۶
درصد وزنی ژلاتین	۳	۴۵	۲۵۴,۶۶
شماره سوزن نازل	۱	۲۰	۴۶,۳۳
گرانروی روغن	۲	۰,۱۸۵	۲۷۹,۶۶

## نتیجه‌گیری

بهینه‌سازی فرایند تهیه گرانول کلسیم‌فسفات کروی با روش روغن دوار و با به کارگیری روش تاگوچی نشان داد که می‌توان گرانول‌های کلسیم‌فسفات دو فاز مناسب برای کاربردهای دندان‌

وارتوپدی با گستره درصد تخلخل و اندازه قطر به ترتیب ۳۵ تا ۴۵٪ و ۱۲۰ تا ۱۵۸۰ میکرومتر و به کمک تغییر عامل‌های مؤثر در فرایند به دست آورد که به ترتیب درصد وزنی ژلاتین و گرانروی روغن، بیشترین و کمترین اثر را در بیشینه اندازه گرانول تولیدی داشته‌اند.

## مراجع

- [1] Betz, R.; Orthopedics 25(5), 561-570, 2002.
- [2] Marc, B.; Tadier, S.; Garderen, N.; Gasparo, A.; Döbelin, N.; Baroud, G.; Biomatter 3(2), 25103-25115, 2013.
- [3] Sunder, M.; Babu, N.R.; Victor, S.P.; RamKumar, K.; Kumar, S.; Trends in Biomaterials and Artificial Organs 18(2). 213-218, 2005.
- [4] Tas, A.C.; Journal of Materials Science: Materials in Medicine 19(5), 2231-2239; 2008.
- [5] Ramay, H.R.; Zhang, M; Biomaterials 25(21), 5171-5180, 2004.
- [6] Dorozhkin, S.V.; Epple, M.; Angewandte Chemie International Edition 41(17), 3130-3146, 2002.
- [7] Linhart, W.; Peters, F.; Lehmann, W.; Schwarz, K.; Schilling, A. F.; Amling, M.; Rueger, J.M.; Epple, M.; Journal of biomedical materials research 54(2), 162-171, 2001.
- [8] Kamitakahara, M.; Ohtsuki, C.; Oishi, M.; Ogata, S.; Miyazaki, T.; Tanihara, M.; In Key Engineering Materials 284, 281-284, 2005.
- [9] Luo, P.; Nieh, T.G.; Materials Science and Engineering C 3(2), 75-78, 1995.
- [10] Tao, J.; Pan, H.; Zhai, H.; Wang, J.; Li, L.; Wu, J.; Jiang, W.; Xu, X.; Tang, R.; Crystal Growth and Design 9(7), 3154-3160, 2009.
- [11] Cho, J.; Sang, Y.N.K.; Koo, H.Y.; Kang, Y.C.; Journal of Materials Science: Materials in Medicine 21(4), 1143-1149, 2010.
- [12] Barrias, C.C.; Ribeiro, C.C.; Barbosa, M.A.; In Key Engineering Materials 254, 877-880, 2004.
- [13] Paul, W.; Sharma, C. P.; Journal of Materials Science: Materials in Medicine 10(7), 383-388, 1999.
- [14] Hong, M.H.; Son, J.S.; Kim, K.M.; Han, M.; Oh, D.S.; Lee, Y.K.; Journal of Materials Science: Materials in Medicine 22(2), 349-355, 2011.
- [15] Orlovskii, V. P.; Komlev, V. S.; Barinov, S. M.; Inorganic Materials 38(10), 973-984, 2012.
- [16]\* محمدی، زهرا و شیخ مهدی مسگر، عبدالرضا؛ اختراع شماره ۸۰۵۹۲ شهریور ۱۳۹۲.
- [17]\* محمدی، زهرا؛ و شیخ مهدی مسگر، عبدالرضا؛ مجله علمی پژوهشی شیمی کاربردی، ۹ (۳۳)، ۱۲۶-۱۱۷، ۱۳۹۳.
- [18] Mohammadi, Z.; Mesgar, A.S.; Allahbakhshi, A.; "Optimization of Experimental Conditions for Production of Biphasic Calcium Phosphates by Hydrolysis Method", 15th Iranian Conference of Inorganic Chemistry, September 2013.
- [17] Mohammadi, Z.; Ziaei-Moayyed, A.A.; Mesgar, A.S.M.; Journal of Materials Processing Technology 194(1), 15-23, 2007.
- [18] Belavendram, N.; "Experimental Quality: A

- Strategic Approach to Achieve and Improve Quality”, Prentice Hall, Great Britain, 1995.
- [19]Raynaud, S., Champion, E.; Bernache Assolant, D; Laval, J.P.; Journal of the American Ceramic Society 84(2), 359-66, 2001.
- [20]\*  
\*الله بخشی، ا.؛ پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، ۱۳۹۲.
- [21]Hughes, S. W.; Physics Education 41(5), 445-451, 2006.
- [22]Yuan, P.; Lin, B.Y.; American Laboratory 40, 18, 2008.
- [23]Mohammadi, Z.; Mesgar, A.S.; Rasouli, F.; Ceramics international 42(6), 6955-6961, 2016.
- [24]Ishikawa, K.; Matsuya, S.; Nakagawa, M.; Udoh, K.; Suzuki, K.; Journal of Materials Science: Materials in Medicine 15 (1), 13-17, 2004.
- [25]Kunio, I.; Key Engineering Materials 240-242, 369-372, 2003.
- [26]\*  
\*شفیعی زاده، ش.؛ پایان نامه کارشناسی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، ۱۳۸۹.

## **Influence of process parameters on the preparation of porous calcium phosphate granules by rotary oil method**

Mahdi Amirabadi-Farahani<sup>1</sup>, Zahra Mohammadi<sup>2,\*</sup>, Abdolreza Sheikh-Mehdi Mesgar<sup>3,\*</sup>

1. M.Sc. Graduate, Bioceramics and Implants Laboratory, Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Bioceramics and Implants Laboratory, Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Bioceramics and Implants Laboratory, Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: August 2018, Revised: January 2018, Accepted: May 2018

**Abstract:** In order to prepare spherical calcium phosphate granules for biomedical applications, several methods have been investigated by the researchers. In this study, the spherical granules with a potential for tissue growth and drug carrying were prepared by a process, known as the rotary oil method, which was based on the hydrophilic and oleophobic features of calcium phosphate slurry. This process is a simple and fast method to produce the granules with a controllable size and porosity suitable for different applications in the biomedical field. The process was optimized by Taguchi method using a L9 orthogonal array. Four parameters including stirring rate of oil, oil temperature, needle diameter, and weight ratio of gelatin to water, each of them in three levels, were used. The starting calcium phosphate powder was a calcium-deficient hydroxyapatite which was synthesized by an alkaline hydrolysis method. The sintered granules and starting powder were characterized by XRD and SEM. The rotary oil method produced granules with a size in the range of 120-1580  $\mu\text{m}$  and porosity 35-45% suitable for a range of biomedical applications.

**Keywords:** Biphasic calcium phosphate, Granule, Spherical particles, Porosity, Taguchi method