



## بررسی مورفولوژی، ساختار و اندازه ذرات نانوپودر شیشه زیستی (Bioglass-58S) تهیه شده به روش سل - ژل جهت کاربردهای زیست پزشکی

صدیقه جوقة دوست\*، زهره سبحانی و آزاده آصفنژاد

دانشگاه آزاد اسلامی واحد - علوم و تحقیقات، دانشکده مهندسی پزشکی

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۸/۰۴/۱۹، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۸/۰۵/۰۹، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۸/۰۸/۲۹

### چکیده

هدف از این تحقیق، تهیه پودرهای شیشه زیستی (Bioglass-58S) در ابعاد نانومتری با استفاده از فرآیند سل - ژل و تاثیر زمان پیرسازی بر مورفولوژی، ساختار و اندازه ذرات آن جهت کاربردهای زیست پزشکی (Biomedical) است. پودر حاصل به وسیله آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD)، طیفسنجی مادون قرمز فوریه (FTIR)، دستگاه زتاسایز (Zetasizer)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج XRD نشان داد که پودر سنتز شده به صورت فاز آمورف (شیشه‌ای) است. بر اساس نتایج FTIR، باندهای سیلیکاتی در پودرها تشکیل شده‌اند. تصاویر Zetasizer نشان می‌دهد که با افزایش زمان پیرسازی اندازه ذرات پودر افزایش یافته و بیشتر آگلومره شده است؛ که نتایج SEM نیز آن را تایید نموده است. به علاوه، مشاهدات مستقیم TEM نشان داده که افزایش زمان پیرسازی موجب رشد دانه‌های پودرها بین ۲۰۰-۵۰ nm شده است. به دلیل آنکه این پودرها در ابعاد نانومتری سنتز شده‌اند، می‌توانند در تسریع واکنش بین بافت و ماده موثر واقع شده و در نتیجه فرآیند استخوان‌سازی را بهبود بخشند.

واژه‌های کلیدی: شیشه زیستی، نانوپودر، سل - ژل، پیرسازی.

### ۱- مقدمه

عنوان مثال، آزمایش‌های *in vivo* این نوع ترکیبات، هیچ نوع سمیت، التهاب و پاسخ سیستم دفاعی بدن را نشان نداده است [۲].

به این دلیل که این نوع شیشه‌ها، توانایی اتصال به بافت‌های نرم و سخت را با ایجاد یک پیوند شیمیایی دارند. ترکیب شیشه‌های زیست‌فعال شامل  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  با

شیشه زیستی از زمانی که اولین بار Hench آن را اختراع نمود یعنی بیشتر از سی سال پیش مورد توجه قرار گرفته است [۱]. این نوع شیشه‌ها در آزمایش‌های *in vivo* و *in vitro* نتایج بسیار خوبی را از خود نشان داده‌اند. به

\* عهده‌دار مکاتبات: صدیقه جوقة دوست

نشانی: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات، دانشکده مهندسی پزشکی

تلفن: ۰۲۱-۴۴۴۷۴۳۲۱-۴، دورنگار: ۰۲۱-۴۴۴۷۴۳۱۹، پست الکترونیکی: [n\\_joughehdoust@yahoo.com](mailto:n_joughehdoust@yahoo.com)

## ۲- فعالیت‌های تجربی

### ۱-۲- مواد

پیش‌ماده‌های مورد استفاده جهت تولید شیشه زیستی 58S عبارتند از: تترا اتیل ارتوسیلیکات (TEOS)، تری اتیل فسفیت (TEP)، اتانول، کلسیم نیترات چهار آبه، اسید نیتریک و آمونیاک که مشخصات آنها در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱: مواد مورد نیاز برای سنتز شیشه زیستی 58S.

نام	فرمول شیمیایی	علامت اختصاری	شرکت
Tetraethyl orthosilicate	$(C_2H_5O)_4Si$	TEOS	Merck, Germany
Triethyl phosphite	$(C_2H_5O)_3P$	TEP	Merck, Germany
Ethanol	$C_2H_5OH$	-	Merck, Germany
Calcium nitrate tetrahydrate	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	-	Merck, Germany
Nitric Acid	$HNO_3$	-	Merck, Germany
Ammonia	$NH_3$	-	Merck, Germany

### ۲-۲- روش تهیه

جهت تهیه شیشه زیستی 58S با استفاده از روش سل - ژل از محیط قلیایی استفاده شد. نسبت وزنی  $SiO_2:CaO:P_2O_5=58:23:9$  در نظر گرفته شد. ابتدا برای تهیه سل اسیدی، TEOS و آب مقطر در محلول ۲ M اسید نیتریک در اتانول حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق هم خورد. سپس، TEP به این سل اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه هم زده شد. پس از آن، نیترات کلسیم چهار آبه به آن اضافه شد. در ظرف جداگانه محلول ۲ M آمونیاک در اتانول ساخته و در حالی که سل به شدت در حال هم خوردن بود، به صورت قطره قطره به آن افزوده شد. جهت بررسی تاثیر زمان بر نحوه ژله‌ای شدن، سل شیشه زیستی به مدت ۱ ساعت، ۱، ۲، ۳ و ۴ روز پیرسازی شد. ژل حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای

بافت‌های نرم و سخت بدون تشکیل لایه فیبری واسطه پیوند برقرار می‌کنند.

شیشه زیستی 58S به‌عنوان یک نوع زیست‌ماده برای ترمیم استخوان و داربست‌های مهندسی بافت استخوان به دلیل زیست‌فعالی، قابلیت تحریک استخوان‌سازی و زیست‌تخریب‌پذیری بالای آن شناخته شده است [۳-۶]. همچنین این شیشه‌های زیستی بیشتر از ده سال است که در کاربردهای بالینی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۷،۸]. مطالعات اخیر نشان داده که محصول حاصل از تخریب شیشه‌های زیست‌فعال می‌تواند تولید فاکتورهای رشد، تکثیر سلولی استئوبلاست‌ها را تحریک و بیان ژنی آن‌ها را فعال نماید [۹،۱۰]. مطالعات اخیر نشان داده با افزایش سطح ویژه و حجم تخلخل‌های شیشه‌های زیستی فرآیند رسوب‌گذاری هیدروکسی‌آپاتیت (Hydroxyapatite) تسریع می‌گردد [۱۱]. همچنین، زیست‌ماده‌ها در ابعاد نانومتری می‌توانند واکنش بین زیست‌ماده و سلول را تحریک نمایند [۱۲،۱۳].

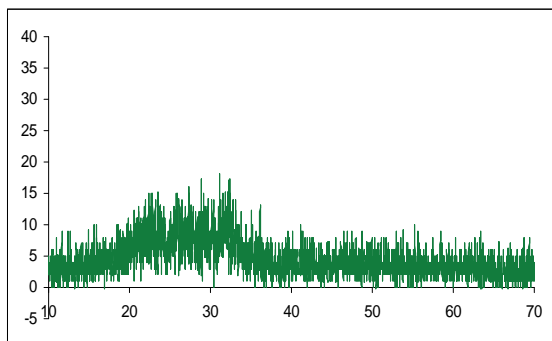
با استفاده از شیمی سل - ژل و بیوشیمی می‌توان زیست‌ماده‌های جدید زیادی را تولید نمود. شبکه‌های سل - ژل برای مطالعه و کنترل واکنش‌های بیوشیمیایی بسیار مناسب هستند. در روش سل - ژل دمای فرآیند پایین است و شیشه‌های تهیه شده از این روش متخلخل هستند و سطح ویژه زیادی دارند. نتایج نشان داده که با استفاده از مواد مشتق شده از ژل به دلیل حذف یون‌های هیدروکسیل باقی‌مانده، تخلخل‌های میکرومتری و سطح ویژه زیاد، زیست‌فعالی افزایش می‌یابد [۱۴،۱۵]. به‌علاوه، زمان سنتز شیشه‌های زیستی بوسیله روش سل - ژل تجاری به دلیل زمان پیرسازی و ژله‌ای شدن طولانی‌تر، بیشتر است.

لذا در این تحقیق پودر شیشه زیستی 58S با استفاده از فرآیند سل - ژل تهیه شد و تاثیر زمان پیرسازی (به‌عنوان یکی از عوامل مهم در روش تجاری سل - ژل) بر مورفولوژی، ساختار و اندازه ذرات آن توسط آنالیز پراش اشعه ایکس X (XRD)، طیف‌سنجی مادون قرمز فوریه FT-IR، دستگاه زتاسایزر (Zetasizer)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد ارزیابی قرار گرفت.

استفاده شد. ریزساختار و مورفولوژی پودرهای سنتز شده توسط دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, Streoscan360) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM, Philips EM208) بررسی شدند. آماده‌سازی نمونه‌ها برای TEM به وسیله اولتراسونیک انجام شد. برای جلوگیری از آگلومره شدن پودرها در اثر گرمای تولید شده از اولتراسوند، نمونه‌ها سه بار به مدت ده دقیقه در دستگاه اولتراسوند قرار گرفتند.

### ۳- نتایج و بحث

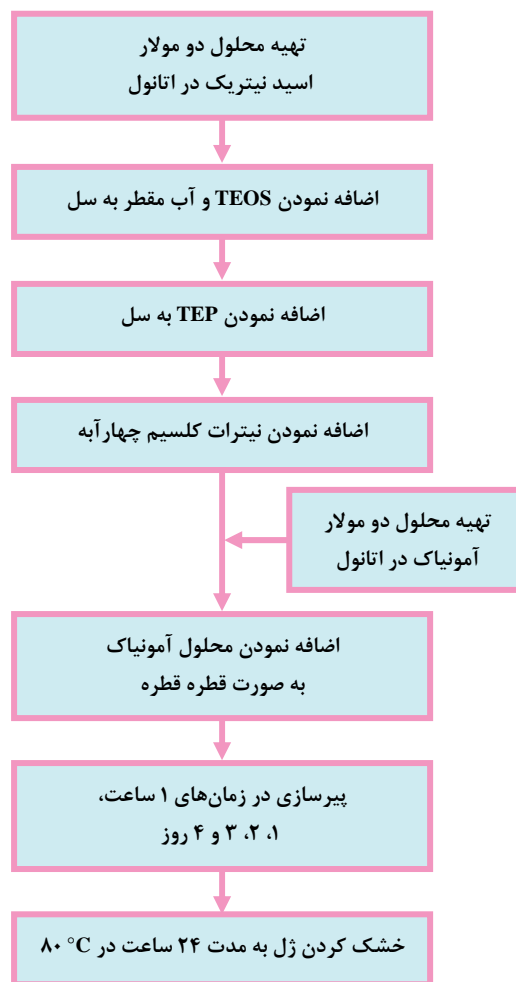
شکل ۲ الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) از پودر شیشه زیستی 58S را که به مدت ۱ روز پیرسازی شده را نشان می‌دهد. همانطور که در تصویر مشاهده می‌شود، ساختار کاملاً شیشه‌ای و آمورف است. Xia و همکارانش دریافتند که زمان ژله‌ای شدن وابسته به غلظت محلول آمونیاک است و آمونیاک موجب می‌شود زمان ژله‌ای شدن کاهش یابد [۱۶]. آنها دریافتند که محلول آمونیاک ۲ M موجب کاهش زمان ژله‌ای شدن و در نتیجه کاهش اندازه ذرات شیشه ژله‌ای می‌شود. در واقع آمونیاک نقش کاتالیزور برای تراکم  $\equiv\text{Si-OH}$  را دارد.



شکل ۲: تصویر XRD از پودر شیشه زیستی 58S  
عملیات حرارتی شده در  $600^\circ\text{C}$ .

شکل ۳، تصاویر FTIR از پودرهای شیشه زیستی 58S را که در زمان‌های مختلف پیرسازی شده‌اند را نمایش می‌دهد. پیک‌هایی که در حدود  $3470\text{ cm}^{-1}$  قابل مشاهده است؛ نشان‌دهنده حضور آب می‌باشد. پیک کوچکی که در حدود  $1250\text{ cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود، نمایانگر مد خمشی Si-O-Si در ساختار است. همچنین پیک کوچک دیگر در

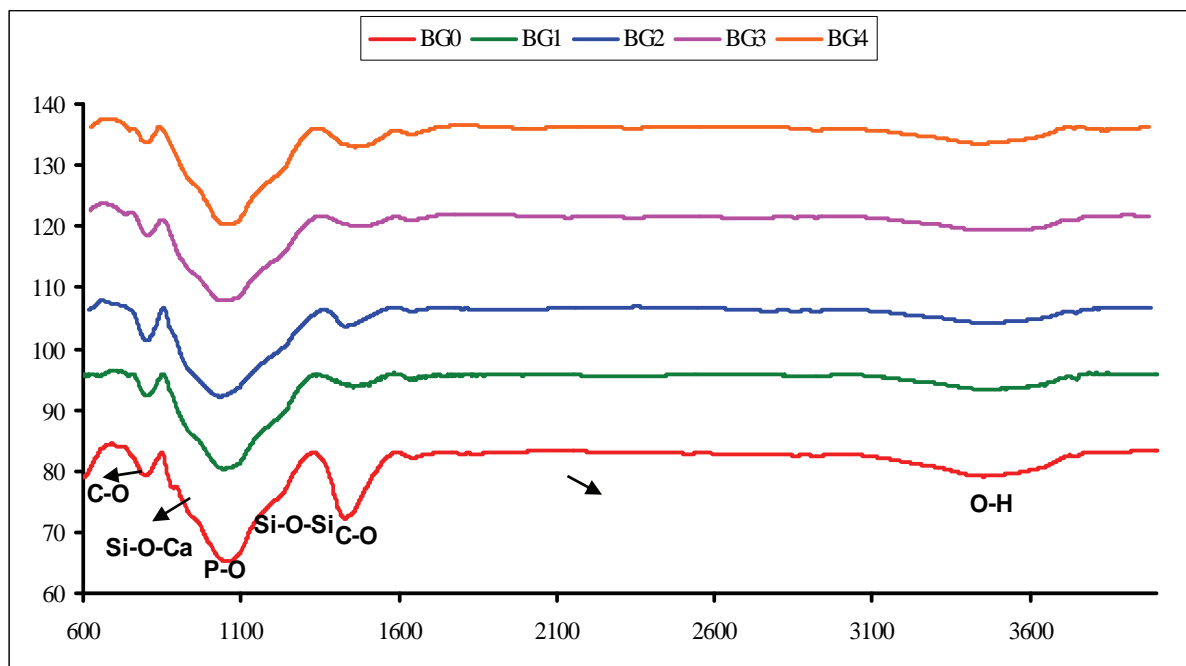
$80^\circ\text{C}$  خشک و سپس به مدت دو ساعت در دمای  $600^\circ\text{C}$  عملیات حرارتی شد. مراحل مختلف تهیه پودر به صورت شماتیک در شکل ۱ آورده شده است.



شکل ۱: دیاگرام تهیه نانوپودر شیشه زیستی با استفاده از روش سل-ژل.

### ۳-۲- دستگاه‌های شناسایی و ارزیابی

الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) به وسیله دستگاه Bruker, D8ADVANC با طول موج اشعه ایکس  $\text{CuK}\alpha$  برابر با  $1.54056\text{ \AA}$  با سرعت زاویه‌ای دو درجه سانتی‌گراد بر دقیقه استفاده گردید. به منظور تشخیص تغییرات ساختاری پودرهای شیشه زیستی از آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR, Bruker, Vector 33, German) و در محدوده طیف  $4000 - 500\text{ cm}^{-1}$  بررسی شدند. جهت سنجش اندازه ذرات پودر سنتز شده از دستگاه زتاسایزر (Zetasizer, Malvern Instrument Co, 3000 HAS)



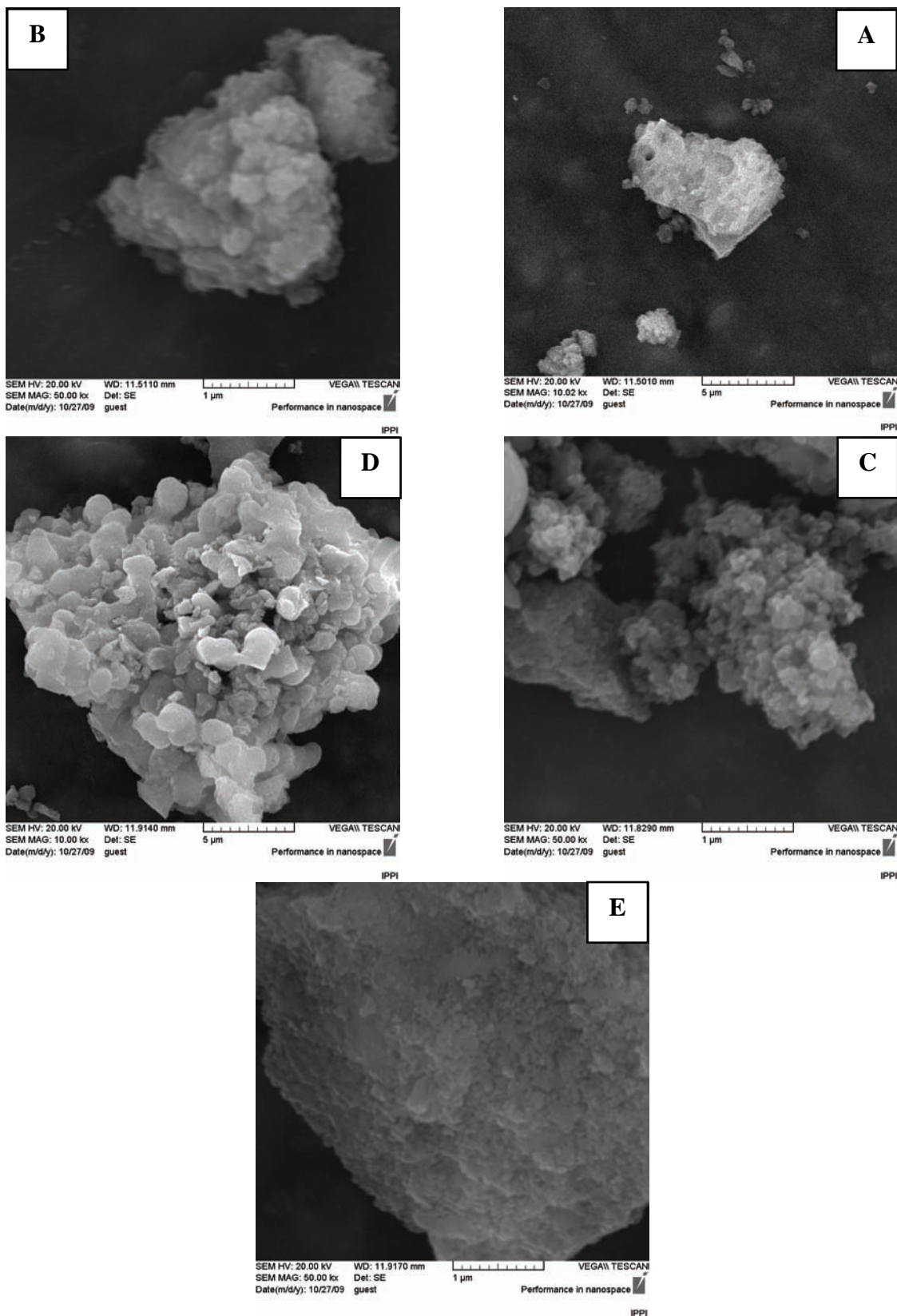
شکل ۳: تصویر FTIR از پودرهای شیشه زیستی پیرسازی شده در زمان‌های مختلف: BG0) پیرسازی شده به مدت یک ساعت، BG1) پیرسازی شده به مدت یک روز، BG2) پیرسازی شده به مدت ۲ روز، BG3) پیرسازی شده به مدت ۳ روز و BG4) پیرسازی شده به مدت ۴ روز.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از پودرهای پیرسازی شده در زمان‌های مختلف را نمایش می‌دهد. این پودرها ساختار آمورف دارند و فاقد کریستال هستند و به صورت بی‌شکل تجمع یافته‌اند. همان‌گونه که در تصاویر مشاهده می‌شود، تمامی پودرها حاوی ذرات نانومتری هستند که با افزایش زمان پیرسازی تمایل به آگلومره شدن این پودرها زیاد شده است.

در واقع با افزایش زمان پیرسازی، پودرها فرصت کافی برای تجمع در کنار یکدیگر را داشته‌اند. شکل ۵ تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) پودرهای پیرسازی شده در زمان‌های مختلف با بزرگنمایی‌های بین ۵۰۰۰ - ۲۰۰۰۰ را نشان می‌دهد. ذرات تشکیل شده به صورت کروی شکل هستند. بر اساس این تصاویر، اندازه ذرات با افزایش زمان پیرسازی زیاد شده و پودرها فرصت لازم برای تجمع را داشته‌اند. به دلیل آنکه ساختار شیشه‌ای است، ذرات به صورت بی‌شکل کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. احتمالاً، در اثر افزایش زمان و دمای عملیات حرارتی بتوان به ساختار کریستالی نیز دست یافت، زیرا پودرها فرصت کافی برای تشکیل ساختار کریستالی منظم را با مکانیزم نفوذ (جوانه‌زنی و رشد) می‌یابند.

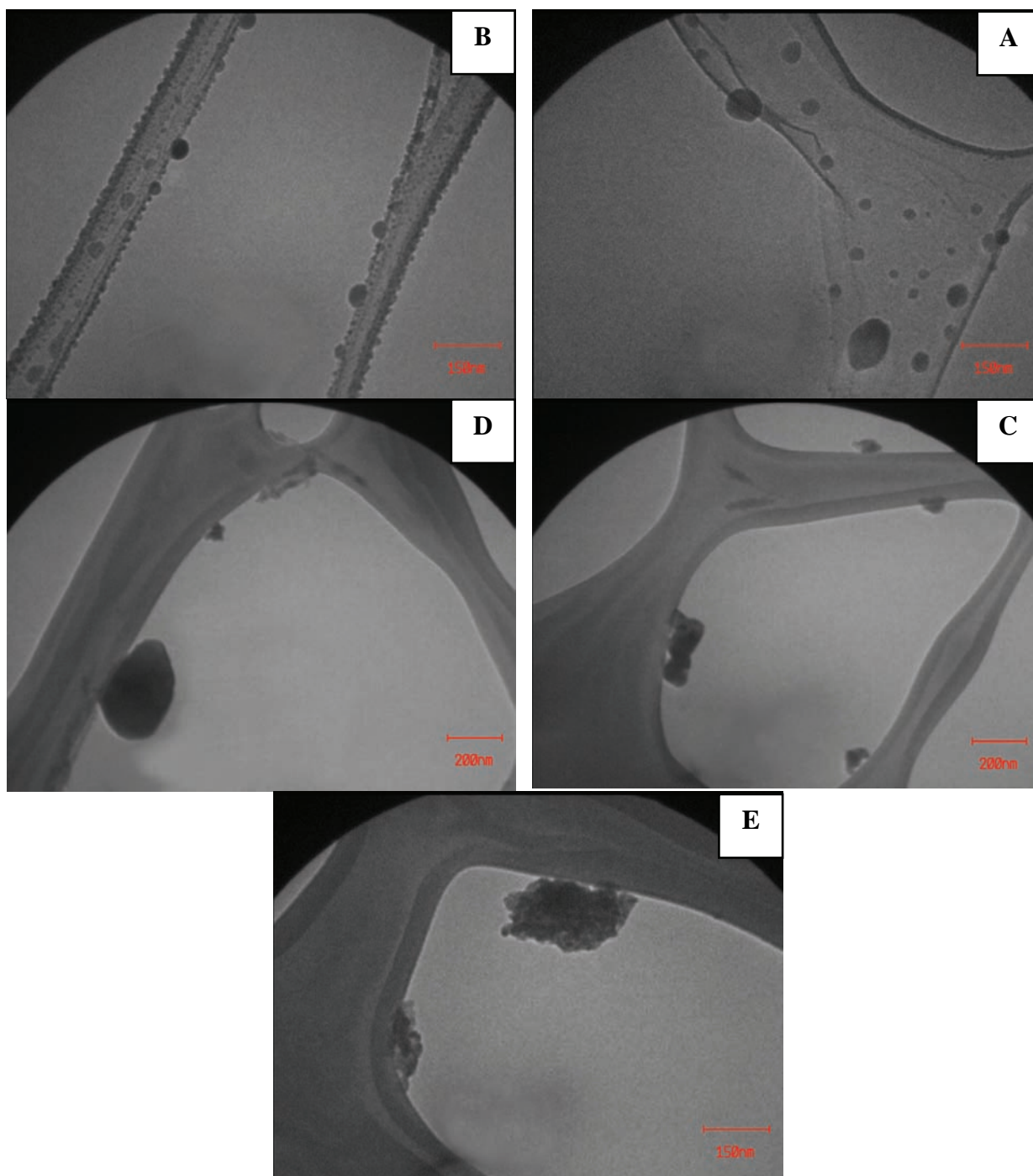
$958 \text{ cm}^{-1}$  بیانگر مد خمشی Si-O-Ca است [۱۶]. پیک گروه‌های  $1200 - 900 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به P-O یا Si-O است. گروه‌های Si-O می‌توانند به دو گروه پیوندی و غیر پیوندی تقسیم‌بندی شوند. در حقیقت، برخی از اتم‌های اکسیژن مستقیماً به اتم سیلیسیم دیگر در ساختار شبکه شیشه‌ای متصل نشده‌اند. به دلیل حضور کاتیون‌ها تشکیل گروه‌های Si-O افزایش می‌یابد [۱۷]. همچنین اکسیژن‌های غیر پیوندی مربوط به گروه‌های هیدروکسیل یعنی گروه‌های Si-OH که در شبکه سیلیسی شکسته شده‌اند، هستند. تشخیص بین فرکانس جذب هر یک از این گروه‌ها بسیار مشکل است و در مقالات مختلف فرضیه‌های مختلفی برای آن عنوان شده است [۱۷، ۱۸]. معمولاً، در حضور برخی از گروه‌های اکسیژن غیر پیوندی، فرکانس Si-O در حدود  $1040 - 904 \text{ cm}^{-1}$  افت می‌کند [۱۷].

همچنین، شدت پیک‌های Si-O-Si، Si-O-Ca و P-O در پودرهایی که در زمان‌های مختلف پیرسازی شده‌اند، تفاوت زیادی با یکدیگر ندارند؛ که نشان‌دهنده این است که ساختار شیشه 58S در همان یک ساعت اول پیرسازی تشکیل شده است. پیک مربوط به باندهای کربناتی در اثر افزایش زمان پیرسازی کوچک شده است. شکل ۴ تصاویر



شکل ۴: تصاویر SEM از پودرهای شیشه زیستی پیرسازی شده در زمان‌های مختلف: (A) پیرسازی شده به مدت یک ساعت، (B) پیرسازی شده به مدت یک روز، (C) پیرسازی شده به مدت ۲ روز، (D) پیرسازی شده به مدت ۳ روز، (E) پیرسازی شده به مدت ۴ روز.





شکل ۵: تصاویر TEM از پودرهای شیشه زیستی پیرسازی شده در زمان‌های مختلف: (A) پیرسازی شده به مدت یک ساعت، (B) پیرسازی شده به مدت یک روز، (C) پیرسازی شده به مدت ۲ روز، (D) پیرسازی شده به مدت ۳ روز و (E) پیرسازی شده به مدت ۴ روز.

زیاد شده است. مقدار متوسط اندازه ذرات پودرهایی که به مدت ۱، ۳ و ۴ روز پیرسازی شده‌اند، به ترتیب ۱۸۲، ۱۰۵۴ و ۱۶۶۱ نانومتر می‌باشد.

شکل ۶a-c تصاویر زتاسایر از پودرهای پیرسازی شده به مدت ۱، ۳ و ۴ روز را نشان می‌دهد. همانگونه که مشاهده می‌شوند، اندازه ذرات این پودرها، با افزایش زمان پیرسازی

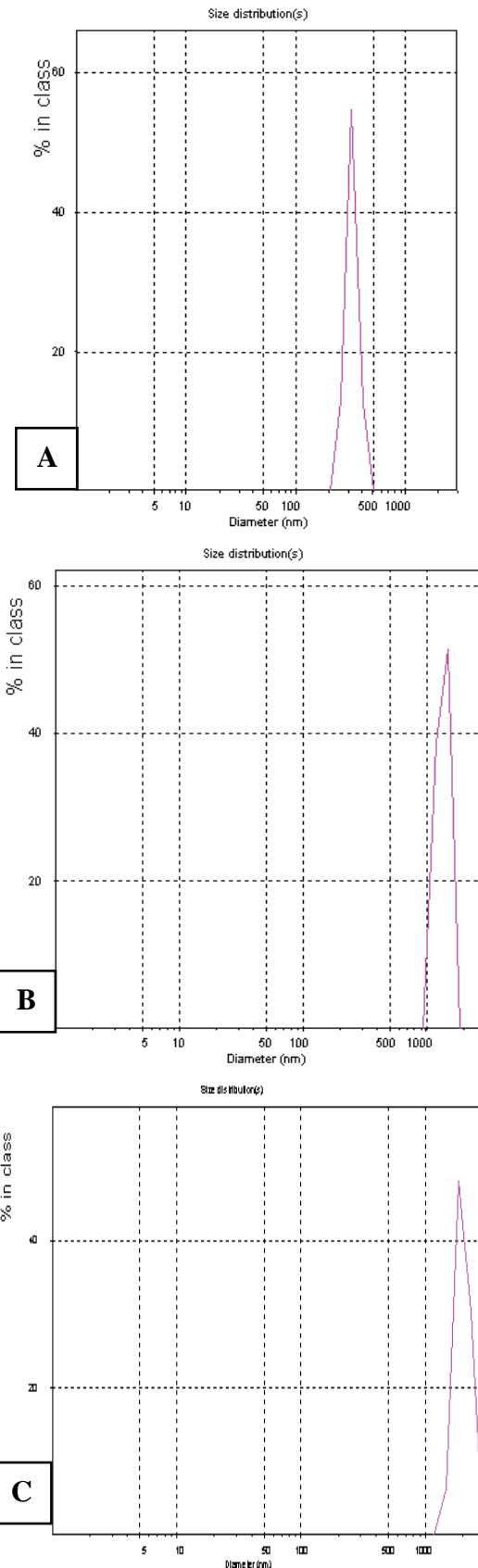
در تصاویر به وضوح دیده می‌شود که پودرهایی که به مدت طولانی‌تر پیرسازی شده‌اند، دارای اندازه ذرات بزرگتر حتی در حد میکرومتر می‌باشند، یعنی پودرها در این فاصله، فرصت کافی برای تجمع را داشته‌اند.

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق، پودرهای شیشه زیستی 58S در ابعاد نانومتری به طور موفقیت‌آمیز با استفاده از فرآیند سل-ژل تهیه و تاثیر زمان پیرسازی بر ساختار، اندازه ذرات و مورفولوژی آنها مورد ارزیابی قرار گرفتند. تشکیل ساختار شیشه‌ای بوسیله XRD تایید شد. نتایج FTIR، حضور باندهای سیلیکاتی را اثبات نموده‌اند. با افزایش زمان پیرسازی، حضور کربنات‌ها کاهش یافته است. نتایج Zetasizer و SEM نشان داده که تمایل به آگلومره شدن با افزایش زمان پیرسازی زیاد شده است. همچنین، بر اساس مشاهدات TEM، اندازه دانه‌ها نیز با افزایش زمان پیرسازی از ۵۰ nm تا ۲۰۰ nm تغییر یافته است. به دلیل آنکه، زمان سنتز شیشه‌های زیستی بوسیله روش سل-ژل تجاری به دلیل زمان پیرسازی و ژله‌ای شدن طولانی‌تر، بیشتر است، یافته‌های این تحقیق می‌تواند در سطح تجاری برای دستیابی به پودرهایی در ابعاد نانومتری مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، این نانو پودرها می‌توانند در تسریع واکنش بین بافت و ماده موثر واقع شده و در نتیجه فرآیند استخوان‌سازی را بهبود بخشند و کاربردهای فراوانی در زیست‌پزشکی داشته باشند.

#### مراجع

- [1] L.L. Hench, R.J. Splinter, W.C. Allen, T.K. Greenlee, *Journal of Biomedical Materials Research*, **2**, 1977, 117.
- [2] D.C. Greenspan, J.P. Zhong, G.P. Latorre, *Bioceramics*, **7**, 1994, 28.
- [3] M. Ogino, F. Ohuchi, L.L. Hench, *Journal of Biomedical Materials Research*, **14**, 1980, 55.
- [4] L.L. Hench, *Current Orthopaedics*, **14**, 2000, 7.
- [5] J. Wilson, S.B. Low, *Journal of Applied Biomaterials*, **3** 1992, 123.
- [6] M. Vallet-Regi, C.V. Ragel, A.J. Salinas, *European Journal of Inorganic Chemistry*, **21**, 2003, 1029.
- [7] L.L. Hench, I.D. Xynos, J.M. Polak, *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, **15**, 2004, 2547.
- [8] L.L. Hench, *Journal of American Ceramic Society*, **74**, 1991, 1487.
- [9] S. Lossdorfer, Z. Schwartz, C.H. Lohmann, D.C. Greenspan, D.M. Ranly, B.D. Boyan, *Biomaterials*, **25**, 2004, 2547.



شکل ۶: تصاویر Zetasizer از پودرهای شیشه زیستی 58S پیرسازی شده در زمان‌های مختلف، (A) ۱ روز، (B) سه روز و (C) چهار روز.

- Materials Research*, **44**, 1999, 12.
- [15] P. Sepulveda, J.R. Jones, L.L. Hench, *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*, **58**, 2001, 734.
- [16] W. Xia, J. Chang, *Materials Letters*, **61**, 2007, 3251.
- [17] A. Balamurugan, G. Sockalingum, J. Michel, J. Fauré, V. Banchet, L. Wortham, S. Bouthors, D. Laurent-Maquin, G. Balossier, *Materials Letters*, **60**, 2006, 3752.
- [18] F. Devreux, P. Baroboux, *Journal of Nuclear Materials*, **298**, 2001, 145.
- [10] P. Valerio, M.M. Pereira, A.M. Goes, M.F. Leite, *Biomaterials*, **25**, 2004, 2941.
- [11] C.S. Chai, K.A. Gross, B. Ben-Nissan, *Biomaterials*, **19** 1998, 2291.
- [12] T.J. Webster, C. Ergun, R.H. Doremus, R.W. Siegel, R. Bizios, *Journal of Biomedical Material Research*, **51**, 2000, 475.
- [13] T.J. Webster, R.W. Siegel, R. Bizios, *Biomaterials*, **20**, 1999, 1221.
- [14] T. Peltola, M. Jokinen, H. Rahiala, E. Levanen, J.B. Rosenholm, I. Kangasniemi, A. Yli-urpo, *Journal of Biomedical*