

تاثیر فرآیند سل - ژل اسیدی و اسید-باز بر خواص فیزیکی و زیست فعالی شیشه‌های

پایه $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ مه‌ری سهرابی^{۱*}، سعید حصارکی^۲، اصغر کاظم‌زاده^۳، مسعود علیزاده^۲^۱کارشناسی ارشد، پژوهشگاه مواد و انرژی

آستادیار، پژوهشگاه مواد و انرژی

^۳دانشیار، پژوهشگاه مواد و انرژی

تاریخ ثبت اولیه: ۹۲/۴/۳۱، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۹۲/۹/۱۸، تاریخ پذیرش قطعی: ۹۲/۹/۱۸

چکیده خواص فیزیکی شیشه‌های زیست فعال مانند سطح ویژه و اندازه ذرات تاثیر بسزایی در برهمکنش با سلولها و نرخ ایجاد پیوند شیمیایی با بافت دارد. در این مطالعه شیشه زیست سازگار بر پایه سیستم $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ به روش سل-ژل به دو طریق متفاوت تهیه شد. سل-ژل تک مرحله ای، که مواد اولیه طی فرایند هیدرولیز در حضور اسید، اکسایش می یابند و فرآیند ژل شدن در طولانی مدت اتفاق می افتد. روش دوم، روش هیدرولیز مواد اولیه و ژل شدن سریع می باشد که با افزایش pH محیط اسیدی با استفاده از آمونیاک انجام می شود. سطح ویژه و مورفولوژی شیشه ها به وسیله آنالیزهای BET و TEM به دست آمد. برای تعیین واکنش پذیری سطح، پودرها داخل محلول شبیه بدن طی مدت زمان های متفاوت غوطه ور شدند و سپس، به وسیله آنالیزهای XRD و FTIR ارزیابی شدند. نتیجه اندازه گیری های BET و TEM نشان داد که در شیشه BG_1 ، ذرات با اندازه حدود ۳۰۰ نانومتر و در شیشه BG_2 ذرات با اندازه ۲۰-۳۰ نانومتر دیده می شود. شیشه تهیه شده به روش اسید-باز، ساختار مزومتخلخل به همراه ذرات کوچک تر اما سطح ویژه بالاتر داشت. حجم کل تخلخلها در $\text{BG}_2/\text{cm}^3\text{gr}$ ۰/۵۷ در حالی که در شیشه BG_1 ، $۰/۲/\text{cm}^3\text{gr}$ گزارش شده است. رسوب فاز آپاتیت روی سطوح شیشه ها نشان داد که نرخ رسوب در روش اسید-باز بیشتر از روش اسیدی تک مرحله ای می باشد. به نظر می رسد که واکنش پذیری سطوح (و در نتیجه توانایی برقراری پیوند با استخوان) شیشه های زیست فعال رامی توان با بکارگیری روش سنتز مناسب کنترل کرد.

کلمات کلیدی: شیشه زیست سازگار، پرکننده استخوان، زیست فعالی، سل-ژل.

The influence of sol-gel processing method on physical properties and acellular in vitro reactivity of bioactive glasses based on $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$: acidic catalysed single step process versus acid- base two step quick-gelling method

M. Sohrabi^{1*}, S. Hesaraki¹, A. Kazemzadeh¹ and M. Alizadeh¹¹Nanotechnology and Advanced Materials Department, Materials and Energy research center

Abstract The physical characteristics of the materials such as specific surface area and particles size have great effect on their cellular properties and rate of bone bonding. In this study, bioactive glass based on $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ system was produced through sol-gel technique at two different processing method: single step sol-gel route in which precursors are hydrolysis to oxides in an acidic medium and gelation occur at a long period of time and quick alkali-mediated method in which hydrolyzed precursors forms a gel network quickly, due to the use of ammonia solution. Specific surface area and morphology of the glasses were determined by BET and TEM techniques, respectively. For surface reactivity measurements, the powders immersed in simulated body fluid (SBF) for different intervals and then characterized by XRD, FTIR and SEM. The results of TEM and BET measurements showed that both methods provided nano-particles of bioactive glass. The glasses produced through both traditional and quick alkali-mediated methods had approximately the same particle size, but higher specific surface area was obtained for the former ($168\text{m}^2/\text{g}$) because of its highly porous structure. Precipitation of apatite phase was confirmed on surfaces of glasses though the rate of precipitation was higher for the glass specimen produced by single step process. It seems that the surface reactivity (and hence bone bonding ability) of bioactive glass materials can be controlled using appropriate processing techniques.

Keywords: bioglass, bone filler, bioactivity, sol-gel.

*عهده دار مکاتبات

نشانی: پژوهشگاه مواد و انرژی

تلفن: -، دورنگار: -، پیام نگار: m.sohrabi@merc.ac.ir

۱- مقدمه

شیشه های زیست فعال گروه مهمی از مواد هستند که کاربردهای وسیعی در پزشکی به عنوان جایگزین استخوان دارند. این مواد قابلیت برقراری پیوند با استخوان را در یک ارگانسیم زنده دارند. به صورتی که یک لایه هیدروکسی آپاتیت در سطح آنها تشکیل می شود. گزارش شده است که نانوذرات شیشه های زیست فعال، باعث تحریک فعل و انفعالات سلولی می شوند. مطالعات گذشته نشان داده که، افزایش حجم حفرات در شیشه های زیست فعال باعث افزایش سرعت رسوب هیدروکسی آپاتیت می شود [۱-۳].

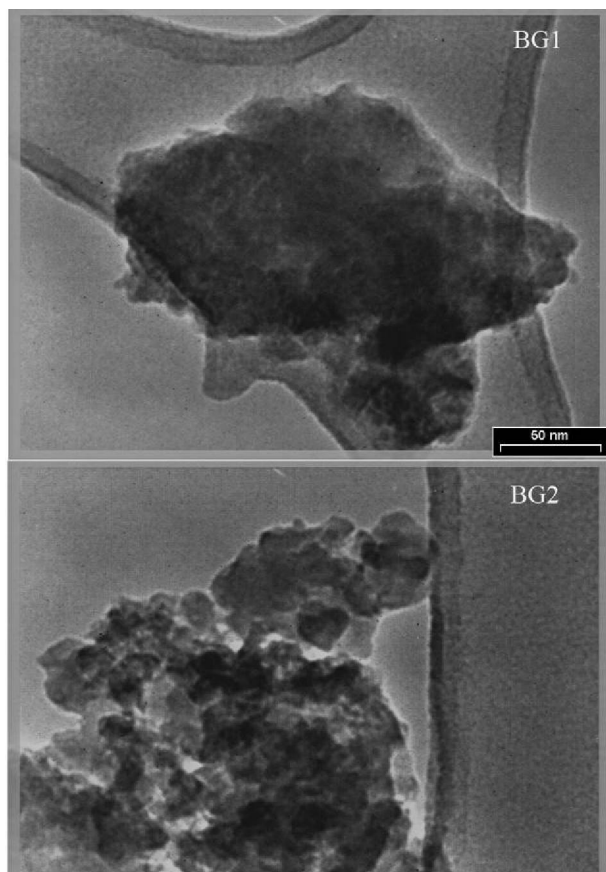
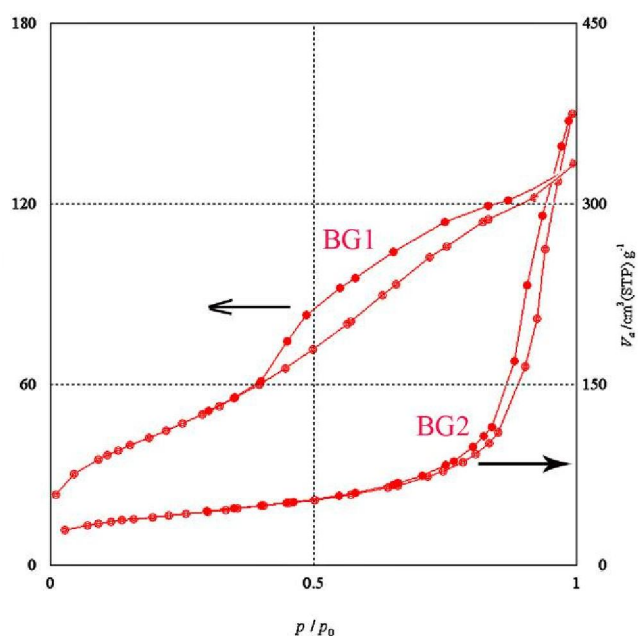
به طور کلی شیشه ها از دو روش ذوبی [۴] و سل-ژل تهیه می گردد. سنتز ذوبی شیشه های زیست فعال نیازمند دمای بالایی است. شیشه های زیست فعال را می توان در دمای کم با استفاده از روش سل-ژل تهیه کرد. این شیشه ها دارای زیست فعالی بسیار بالا هستند که این زیست فعالی ناشی از سطح ویژه بالا و ساختار متخلخل این مواد است. همچنین تعداد زیاد واحدهای سیلیکا در ساختمان شیشه که باعث ایجاد گروه های OH فراوان در شبکه شیشه می شود، به افزایش زیست فعالی کمک می کند [۵]. فرایند سل-ژل متداول شامل کاتالیز کردن محلول مورد نظر بوسیله اسیدهای معدنی است که در یک دوره زمانی طولانی صورت گرفته و باعث کاهش pH می شود. به علاوه در حین زمان پیر شدن و تشکیل ژل، بعضی مواقع شیشه های زیست فعال با اندازه ذرات بزرگتر از یک میکرومتر حاصل می شود. اما افزایش آنی pH محلول با استفاده از موادی مانند آمونیاک می تواند از رشد زنجیره های کلونیدی جلوگیری نماید و پودری با مشخصات فیزیکی و در نتیجه خواص بیولوژیکی متفاوت ایجاد نماید [۶].

این تحقیق، خواص فیزیکی و ویژگی های ساختاری پودرهای شیشه های زیست فعال تهیه شده به دو روش متفاوت را مقایسه می کند: (۱) روش متداول که از اسید در یک مرحله استفاده می شود. (۲) روش دیگری که سل-ژل سریع است و از محلول آمونیاک استفاده می شود. به علاوه توانایی تشکیل آپاتیت در این دو روش مقایسه شده است.

۲- مواد و روشها

شیشه زیست فعال تهیه شده (بر پایه CaO-SiO_2 - P_2O_5) به دو روش تهیه شد. روش تک مرحله ای اسیدی که شیشه حاصل BG_1 نامیده می شود و روش دوم مرحله ای اسید- باز که شیشه حاصل BG_2 نامیده می شود. برای سنتز شیشه BG_1 ، تترااتوکسی ارتوسیلیکات و تری اتیل فسفات به محلول اسید نیتریک ۱/۰ مولار افزوده و به مدت یک ساعت در دمای اتاق هم زده می شود. سپس نیترات کلسیم به تترااتوکسی- ارتوسیلیکات افزوده شده و به مدت ۳۰ دقیقه واکنش کامل می شود. بعد از اضافه نمودن ماده نهایی، محلول به مدت یک ساعت هم خورده تا هیدرولیز کامل گردد. سپس، محلول داخل ظرف تفلون ریخته و به مدت ده روز در دمای 25°C نگهداری شد تا ژل تشکیل شود. محصول در دمای 70°C به مدت یک روز و سپس در دمای 120°C به مدت دو روز نگهداری شد. در پایان ژل خشک شده در دمای 70°C به مدت سه ساعت قرار داده شد تا نیتراها و مواد آلی باقی مانده حذف شود [۷]. برای شیشه BG_2 مخلوط شدن مواد اولیه و تشکیل محلول، مشابه شیشه BG_1 است با این تفاوت که محلول ۰/۲ مولار آمونیاک قطره قطره به محلول افزوده شد تا زمانی که ژل تشکیل شود. بنابراین در شیشه BG_2 مرحله پیر شدن حذف گردید. به منظور اندازه گیری اثر حرارت دهی روی ترکیب فازی پودرهای شیشه های زیست فعال، آنالیز پراش اشعه ایکس انجام گردید. آزمون XRD بوسیله دستگاه (Philips PW3710) در شرایط ۲۰ کیلوولت، شدت جریان ۱۰ میلی آمپر و تابش $(\text{Cu-K}\alpha)$ انجام شد.

مورفولوژی ذرات BG_1 و BG_2 بوسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری مشاهده شد. پودر شیشه بوسیله تراسونیک در داخل اتانول پراکنده شده و از محلول رقیق ایجاد شده یک قطره روی صفحه مسی با پوشش کربن، قرار گرفت. مورفولوژی ذرات بوسیله دستگاه میکروسکوپ الکترونی- عبوریکه دارای ولتاژ ۲۰۰ کیلوولت است، مشاهده می شود. منحنی های جذب و واجذب همدمای نیتروژن در دمای 77°K درجه کلونین بوسیله دستگاه Quantachrome Autosorb 1 sorption analyzer اندازه گیری شد. برای ارزیابی رفتار پودرها در محلول شبیه بدن، یک گرم از هر پودر داخل محلول

شکل ۱. تصویر TEM از BG₁ و BG₂شکل ۲. جذب و واجذب همدمای پودرهای شیشه زیست فعال BG₁ و BG₂

شکل (۲) منحنی‌های جذب هم‌دمای و توزیع اندازه حفرات پودر شیشه‌های BG₁ و BG₂ را نشان می‌دهد.

۱۰۰ میلی‌لیتر SBF غوطه‌ور شده و در دمای ۳۷°C به مدت ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز نگهداری شد. محلول SBF بر طبق دستورالعمل KoKubo's تهیه شد [۸]. بعد از هر دوره، نمونه‌ها از محلول خارج شده و توسط آب مقطر به منظور حذف NaCl و دیگر نمک‌های SBF شستشو شده و در دمای اتاق خشک شد. سپس، برای تعیین ترکیب فازی پودرها از روش XRD به همان صورت قبلی استفاده شد. تغییر در گروه‌های شیمیایی نمونه‌ها (بر اثر غوطه‌ور شدن در محلول SBF) بوسیله FTIR مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور قرص شفاف با ترکیب ۲ میلی‌گرم پودر نمونه و ۸۰۰ میلی‌گرم KBr ساخته شد و توسط اشعه مادون قرمز در محدوده ۴۰۰-۴۰۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفت.

مورفولوژی سطح نمونه‌های پودری توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, StereoscanS 360 Cambridge) تحت ولتاژ کاری ۲۰ کیلو ولت تعیین گردید.

۳- نتایج و بحث

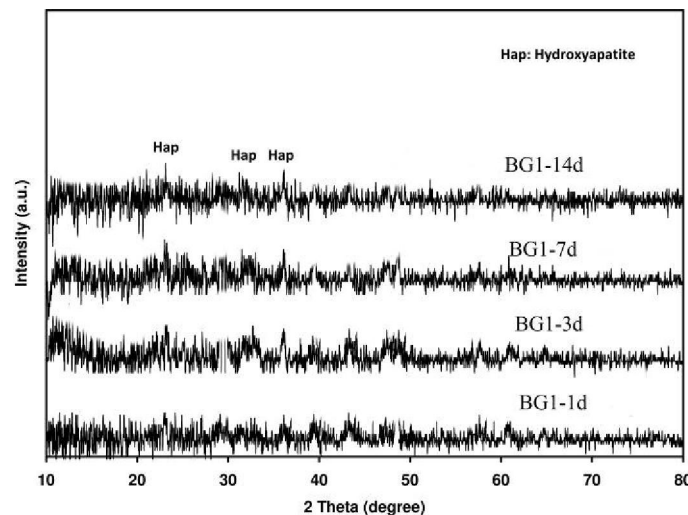
این مطالعه نشان داد که چطور می‌توان با تغییر روش سل-ژل شیشه‌هایی با خواص و مورفولوژی متفاوت به دست آورد. تصاویر TEM پودر شیشه‌های BG₁ و BG₂ در شکل (۱) نشان داده شده‌اند. ذرات شیشه BG₁ بزرگ بوده حدود ۳۰۰ نانومتر هستند. اما در شیشه BG₂ ذرات با اندازه ۲۰-۳۰ نانومتر دیده می‌شود. به نظر می‌رسد تجمعی از ذرات شیشه توده‌ای بزرگتر را ایجاد نموده‌است که در آن تخلخل‌های ۲۰-۲ نانومتری ایجاد شده است.

شود. این مساله بیانگر این است که BG_1 متخلخل نیست و یا دارای حفراتی با جذب انرژی بالا هستند. حجم کل تخلخلها در $0.57 \text{ cm}^3/\text{gr}$ است. در حالیکه در شیشه BG_1 ، $0.2 \text{ cm}^3/\text{gr}$ گزارش شده است. در جدول (۱) نتایج مربوط به اندازه ذرات و حجم تخلخلها برای هر دو شیشه گزارش شده است. در روش کاتالیزوری اسید- باز، ساختار مزومتخلخل ایجاد می شود که در دیگر مقالات اشاره شده است [۹]. بنابراین، به طور کلی پودر BG_2 ریزتر از BG_1 ، متخلخل تر و با سطح ویژه بالاتر می باشد.

حلقه های هیستریزیس در دمای ثابت در هر دو پودر شیشه- های BG_1 و BG_2 دیده می شود. بر طبق طبقه بندی IUPAK حلقه های هیستریزیس در چهار نوع طبقه بندی می- شوند: H_1-H_4 . حلقه های هیستریزیس پودرهای شیشه BG_1 و BG_2 از نوع H_1 و H_3 شناسایی شده اند. BG_2 در دمای ثابت، جذب موازی و عمود و واجذب شاخه ای را نشان می دهد که نشان دهنده مزومتخلخلبودن ساختار همراه با کانال های مرتبط با هم است. به علاوه خطوط شیب دار در منحنی های جذب و واجذب BG_1 در گستره وسیعی از P/P_0 دیده می-

جدول ۱. نتایج مربوط به به اندازه ذرات و حجم تخلخلها در هر دو شیشه

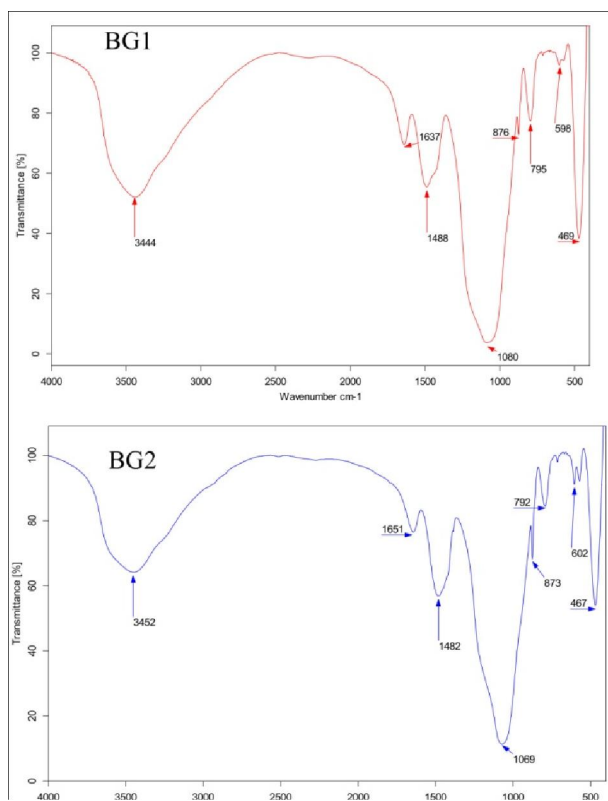
انواع شیشه ها	اندازه ذره	حجم تخلخل
BG_1	۳۰۰ نانومتر	$0.2 \text{ cm}^3/\text{gr}$
BG_2	۲۰-۳۰ نانومتر	$0.57 \text{ cm}^3/\text{gr}$



شکل ۳. الگوهای XRD پودر BG_1 بعد از غوطه وری در SBF طی مدت زمانهای مختلف

بدست آمده طی فرایند هیدرولیز به صورت شبکه سه بعدی است که مولکول آب با حلال در میان آن محبوس می باشد. حذف مولکولهای حلال از میان زنجیره ها باعث به وجود آمدن حفره ها و تخلخلها می گردد. حذف نیترات از ترکیب نیز می تواند باعث ایجاد تخلخل شود [۱۲]. اضافه نمودن آمونیاک به محلول اسیدی نرخ تراکم را افزایش می دهد که بوسیله غلظت OH^- بالای نقطه ایزوالکتریک کلئیدها کنترل می-

مکانیسم تشکیل شیشه به روش سل-ژل در مراجع ذکر گردیده است [۱۰]. اندازه ذرات حاصل شده بستگی به زمان پیرسازی دارد. نرخ واکنش هیدرولیز و تراکم بوسیله تغییر pH محلول تغییر می کند [۱۱]. روش سنتز سل-ژل تک مرحله ای نیاز به زمان طولانی دارد [۱۱]. طبیعت متخلخل مواد شیشه به دست آمده از روش سل-ژل از واکنش آلکوکسیدها و آب حاصل می شود. تراکم ذرات کلئیدی

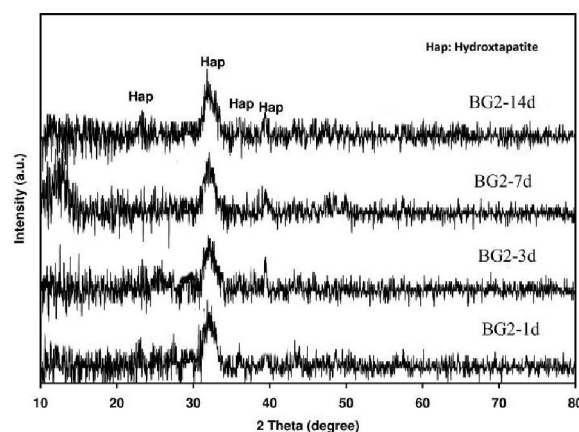


شکل ۵. الگوهای FTIR پودر BG₁ و BG₂ بعد از غوطه‌وری در SBF به

مدت ۱۴ روز

نتایج FTIR درستی نتایج XRD را مبنی بر توانایی بیشتر تشکیل آپاتیت در BG₂ نسبت به BG₁ تایید می‌نماید. شکل (۵)، FTIR شیشه‌های BG₁ و BG₂ را پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول SBF نشان می‌دهد پهنه‌های جذب ایجاد شده در 1215cm^{-1} و 460 نمایشگر پیوند Si-O-Si هستند که هم‌پوشانی با پیوند P-O در 1050cm^{-1} دارد. باندهای جذب OH در حدود 1630cm^{-1} و $3700-3000$ دیده می‌شوند. همچنین باندهای موجود در عدد موج‌های $560-600$ مربوط به نوسانات P-O گروه ν_4 PO_4^{3-} در شبکه آپاتیت می‌باشند [۱۵]. شدت بیشتر این نوسانات در شیشه BG₂ در مقایسه با شیشه BG₁ نشانگر تشکیل بهتر آپاتیت در آن است. همچنین باندهای ایجاد شده در عدد موج 870cm^{-1} نشان از پیوند C-O از گروه‌های کربنات (CO_3^{2-}) است که جایگزین گروه‌های فسفات موجود در

شود [۱۳]. بنابراین، کلئیدها زمان کافی برای رشد افراطی را ندارند و ذرات ریز به همراه ساختار متخلخل و حجم آزاد ایجاد می‌کنند. شیشه‌های تولید شده به روش سل-ژل بر پایه $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ زیست فعال هستند و نمونه‌های آن‌ها به صورت قرص در داخل SBF غوطه‌ور شده واکنش‌پذیری سطحی بسیار خوبی را از خود نشان می‌دهند چرا که یک لایه آپاتیت روی آن‌ها تشکیل می‌شود [۱۴].



شکل ۴. الگوهای XRD پودر BG₂ بعد از غوطه‌وری در SBF طی مدت

زمانهای مختلف

در این تحقیق، واکنش‌پذیری نمونه‌های BG₁ و BG₂ بعد از غوطه‌وری در SBF در دمای 37°C انجام شد و زیست‌فعالی آن‌ها مقایسه گردید. الگوهای XRD نمونه‌های BG₁ و BG₂ بعد از غوطه‌وری در SBF به ترتیب در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. برای هر دو نمونه، پیک‌های پهنی در زوایای 26° ، 28° ، 32° و $40^\circ=2\theta$ درجه دیده می‌شود ICDD (24-033). در نمونه BG₁ پیک‌های فاز آپاتیت بعد از ۳ روز غوطه‌وری در SBF مشاهده شده و بعد از ۱۴ روز شدت پیک کاهش می‌یابد که علت آن فروپاشی خمیر در اثر غوطه‌وری و انحلال فاز آپاتیت است. در BG₂، فاز آپاتیت بعد از ۱ روز مشاهده شده و شدت آن با افزایش زمان غوطه‌وری افزایش می‌یابد. در مقایسه با BG₁، در شیشه BG₂ رسوب فاز آپاتیت بیشتر و شدت پیک‌های آپاتیت در یک زمان مساوی غوطه‌وری بیشتر است.

فاز آپاتیت شده است [۱۶].

۴- نتیجه گیری

اصلاح فرآیند سل-ژل تک مرحله‌ای از طریق افزایش pH محیط تا ۸/۶ منجر به افزایش سرعت ژل شدن می‌شود و در نتیجه خصوصیات فیزیکی پودرهای سنتز شده از این طریق با روش سل-ژل تک مرحله‌ای متفاوت می‌باشد. این تفاوت در کاهش اندازه ذرات، مقدار و اندازه تخلخل‌ها به وضوح قابل مشاهده می‌باشد. همچنین با توجه به نتایج XRD و FTIR دو شیشه BG_1 و BG_2 غوطه‌ور شده در محلول شبیه بدن می‌توان گفت در شیشه‌ای که از دو روش سل-ژل کاتالیز شده دو مرحله‌ای (اسید-باز) به دست می‌آید توانایی تشکیل فاز آپاتیت و یا به عبارتی سرعت تشکیل فاز آپاتیت در محلول شبیه بدن بیشتر می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً امکان برقراری پیوند با استخوان توسط این شیشه سریع‌تر می‌باشد.

مراجع

- Xia W, Chang J. *Mater Lett.*, 61 (2007) 3251.
- Sepulveda P., Jones J.R., Hench L.L. *J. Biomed Mater Res B (Appl Biomater.)* 58 (2001) 734.
- Greenspan DC, Zhong JP, Wheeler DL, LeGeros RZ, LeGeros JP (Eds.), *Bioceramics.11* (1998) 345.
- Brinker CJ, Scherer GW. *Academic Press Inc., San Diego, CA, USA* (1990).
- Hesaraki S, Golami M, Vazehrad S, Shahrabi S. *Mater Sci Eng C.*, 30 (2009) 383.
- Hesaraki S, Moztarzadeh F, Solati-Hashjin M. *J Biomed Mater Res B (Appl Biomater.)* 79 (2006) 203.
- Hesaraki S, Moztarzadeh F, Nezafati N. *Med Eng Phys* 31 (2009) 1205.
- M.D. Grynypas, R.M. Pilliar, R.A. Kandel, R. Renlund, M. Filiaggi, M. Dumitriu. *Biomaterials.* 23 (2002) 2063-2070.
- T.J. Webster, R.W. Siegel, R. Bizios, *Biomaterials.* 20 (1999) 1221.
- M. Vallet-Regi, C.V. Ragel, A.J. Salinas, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2003) 1029.
- P. Ducheyne, Q. Qiu. *Biomaterials.* 20 (1999) 2287-2303.
- L.L. Hench, R.J. Splinter, W.C. Allen, T.K. Greenlee. *J. Biomedical Materials Research.* 5 (1971) 117-141.
- T.J. Brunner, R.N. Grass, W.J. Stark, *Chem. Commun.* (2006) 1384.
- S. Shahrabi, S. Hesaraki, S. Moemeni, M. Khorami. *Ceramics international.* 37 (2011) 2737.
- Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro TJ. *J Biomed Mater Res.* 24 (1990) 721-734.
- Khan R, Kim SW, Kim T, Lee H. *Bull Korean Chem Soc.*, 28 (2007) 1951-1957.