

ساخت شیشه بیو اکتیو 45S5 متخلخل به روش تولید گاز در دمای بالا

ابوالفضل محمدی اشناری*^۱، امیر مقصودی پور^۱، سعید حصارکی^۱، زهره همنبرد^۲

^۱پژوهشگاه مواد و انرژی، ^۲پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۸/۳/۲۸، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۹/۵/۲۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۹/۸/۱۵

چکیده در این تحقیق طی یک روش ساده و مؤثر تخلخل‌های درشت در ساختار شیشه از طریق ایجاد گاز در ترکیب شیشه در دمای بالا به دست آمد. پس از تهیه شیشه از روش ذوب، ماده حاصل به صورت پودر آسیاب شده و با مقادیر مختلف کربنات کلسیم مخلوط گردید و به صورت قرص پرس گردید. نمونه‌ها در دمای ۱۱۵۰°C قرار داده شدند که در آن دما در اثر تجزیه کربنات کلسیم و تولید گاز دی اکسید کربن و به دلیل نرم بودن شیشه ساختار متخلخل ایجاد می‌گردد. مورفولوژی تخلخل‌ها کروی شکل بوده و مقدار و سایز آنها بستگی به مقدار کربنات کلسیم مورد استفاده دارد. در این روش با استفاده از ۱/۸ درصد وزنی کربنات کلسیم حدود ۶۰ درصد تخلخل در شیشه ایجاد شد که تخلخل‌هایی با ابعاد حدود ۶۰ میکرومتر نیز در آنها وجود داشت. عملیات حرارتی برای ایجاد تخلخل باعث تبلور شیشه گردید ولی در زیست فعالی آن تأثیری نداشت.

کلمات کلیدی: شیشه 45S5، شیشه متخلخل، بافت استخوانی، تخلخل.

Preparation of porous 45S5 bioactive glass by gas foaming

Abolfazl Mohammadi Oshnari*¹, Amir Magsoudi Pour¹, Saeed Hesaraki¹, Zohreh Hamnabard²

¹Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran

²Atomic Energy Organization of Iran, Karaj, Iran

Abstract Bioactive 45S5 glass is a silicate-base material used for the regeneration of hard tissues such as bones and middle ear bone. Up to day, several efforts have been made to provide macro-porosity in the glass structure. The porosity plays an important role in healing process by increasing the rate of tissue reconstruction as well as biodegradation. In this work, macro porosity was introduced into the glass structure via gas foaming technique as a simple and effective method. The glass was produced by melting method, ground to fine powder and mixed with various amount of calcium carbonate as gas-foaming agent. The mixture was pressed in tabular shapes and heat treated at 1150°C. CO₂ gas produced from thermal decomposition of CaCO₃ passed through the soften glass specimen led to formation of spherical macro-pores. The size and content of the pores depended on the amount of calcium carbonate. In this work, a macro-porous glass specimen with 60% porosity and macro-pore size of 60 μm was achieved using 1.8% wt of calcium carbonate. The results showed that the Heat treating caused to glass crystallization without any undesirable effect on its bioactivity.

Keyword Bioactive glass, Gas-foaming, Bone substitute, Porosity.

*عهده‌دار مکاتبات

نشانی: کرج، مشکین دشت، پژوهشگاه مواد و انرژی.

تلفن: ۰۲۶۱-۶۲۰۱۸۸۶، دورنگار: ۰۲۶۱-۶۲۰۱۸۸۸، پیام نگار: Abolfazl7722@yahoo.com

۱- مقدمه

بازسازی آسیب‌های ایجاد شده در بافت سخت خصوصاً استخوان از جمله چالش‌های مهم در ارتوپدی است، چرا که این اندام از اهمیت ویژه‌ای در سلامت و کارایی افراد برخوردار است. یکی از روش‌های بازسازی بافت سخت آسیب دیده استفاده از داربست‌های مهندسی بافت به عنوان پرکننده استخوان است که در این روش داربست مورد استفاده به مرور زمان جذب شده و جای خویش را به بافت ترمیمی جدید می‌دهد. بیش از ۳۰ سال از ایده استفاده از بیوسرامیک‌ها به عنوان جایگزین پیوند استخوان مصنوعی (BGSS) می‌گذرد. در طول این مدت دو مبحث اصلی مورد پژوهش قرار گرفته است: مبحث اول بهینه‌سازی ساختار منافذ (تخلخل‌ها) به وجود آمده در بیوسرامیک‌ها و مبحث دوم تعیین فرمول شیمیایی مناسبی از بیوسرامیک‌ها که دارای زیست سازگاری مناسبی می‌باشند [۱-۳].

داربست‌های مورد استفاده برای بازسازی بافت استخوانی از طریق مهندسی بافت باید دارای خصوصیات منحصر به فردی باشند که از جمله آنها می‌توان به قابلیت رشد سلول‌های استخوانی در داخل آنها، زیست سازگاری، امکان تخریب زیستی با گذشت زمان، خواص مکانیکی مناسب و ساختار متخلخل که امکان حضور سلول‌ها را در تمام نقاط داربست فراهم نمایند. با توجه به این که میزان جذب بیوسرامیک به استخوان و حجم نهایی استخوان بازسازی شده، فاکتورهای مؤثری در قابلیت استفاده از بیوسرامیک‌ها می‌باشند، تخلخل-های درشت مهم‌ترین تأثیر را بر این دو فاکتور می‌گذارند. سرعت و کیفیت استخوان بازسازی شده وابسته به اندازه، کسر حجمی و اندازه منافذ ارتباط دهنده تخلخل‌ها (بزرگی تخلخل-های باز) می‌باشند. کسر حجمی و اندازه منافذ ارتباط‌دهنده تخلخل‌ها به عنوان تابعی از نفوذپذیری و قابلیت عبور یون‌ها

از تخلخل‌های درشت می‌باشد. اندازه، شکل و مورفولوژی تخلخل‌ها برای حصول چنین ویژگی‌هایی از اهمیت بالایی برخوردار است به طوری که اندازه تخلخل مناسب برای رشد سلول‌ها و تکثیر آنها در داخل بالک داربست در محدوده ۵۰-۱۰۰۰ میکرومتر می‌باشد. محبوب‌ترین شیشه بیواکتیو که برای استفاده در پروتز و یا ایمپلنت‌های استخوانی توسعه یافته‌اند شیشه‌های کلسیم-فسفر-سیلیکاتی همانند سیستم $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ می‌باشند [۱]. هیچ و همکارانش برای اولین بار با استفاده از شیشه‌ای به نام 45S5 بافت سخت استخوانی را مورد بازسازی قرار دادند. این شیشه ضمن این که از زیست فعالی مناسب جهت ایجاد پیوند شیمیایی با استخوان برخوردار است، قابلیت تشویق استخوان‌سازی داشته و زیست تخریب‌پذیر نیز می‌باشد، بنابراین به مرور زمان توسط استخوان جایگزین می‌شود [۴-۶].

جهت ایجاد تخلخل‌های درشت (بزرگتر از ۵۰ میکرومتر) در این نوع شیشه زیست فعال تحقیقات مختلفی صورت پذیرفته است. چن و همکارانش در سال ۲۰۰۶ شیشه بیواکتیو متخلخلی از ترکیب 45S5 را از طریق پوشش دوغابی از شیشه بر روی اسفنج پلیمری متخلخل و عملیات حرارتی آن در دمای 1000°C تهیه و خواص آن را مورد بررسی قرار دادند. تبلور انجام شده در شیشه و ایجاد کریستال‌های $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ و تبدیل این فاز به فاز کلسیم فسفاتی بعد از غوطه‌وری نمونه‌های شیشه متخلخل در محلول شبیه سازی شده به مایعات بدن (SBF) از جمله یافته‌های مهم تحقیق چن و همکارانش است [۷].

اگرچه در این روش می‌توان به یک توزیع تخلخل نسبتاً باریک به همراه کانال‌های باز کاملاً مرتبط به هم دست یافت اما پیچیدگی روش تولید از جمله ایجاد دوغاب پایدار از شیشه و کنترل عملیات حرارتی جهت جلوگیری از ترک و شکست قطعات در کوره، از محدودیت‌های روش ذکر شده می‌باشد.

تعویض کاتیون‌ها سریع‌تر صورت می‌گیرد و لایه هیدروکسی آپاتیتی متشکل نیز ضخیم‌تر می‌باشد. همچنین غلظت سیلیس نهایی در محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) نیز تحت تأثیر اندازه ذرات پودر شیشه و شکل نمونه‌ها قرار ندارد [۱۰].

Wu و همکارانش در سال ۲۰۰۹ با افزودن سیوس برنج به عنوان ماده حباب‌زا به پودر شیشه 45S5، پس از تهیه پودر شیشه و مخلوط‌نمودن آن با درصدهای مختلفی از سیوس برنج (تا ۷۵ درصد وزنی)، نمونه‌ها را به منظور حذف سیوس برنج به آهستگی تا دمای 450°C حرارت داده و در این دما به مدت یک ساعت نگه داشته‌اند. پس از این عمل مجدداً نمونه‌ها را به آهستگی از دمای 450°C تا دمای 1050°C به منظور انجام عملیات زینتر حرارت داده‌اند. شکل تخلخل‌های حاصل به صورت تیغه‌های باریک و دراز (همانند سیوس برنج) بوده و به تخلخلی در حدود ۴۹ درصد دست یافته‌اند. استحکام نمونه‌های حاصل در حد $5/4 \text{ MPa}$ گزارش شده است [۱۱].

هدف از انجام این تحقیق تهیه شیشه بیواکتیو 45S5 متخلخل با روشی متفاوت با روش‌های ذکر شده در فوق و مبتنی بر ایجاد و خروج گاز CO_2 در دمای بالای نقطه نرم شونده این شیشه است. برای ایجاد گاز CO_2 از افزودنی کربنات کلسیم به ترکیب شیشه استفاده شده است. ضمن این که اثر مقدار این افزودنی بر ساختار شیشه و همچنین زیست‌فعالی آن پس از ایجاد تخلخل مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- نحوه انجام آزمایش

۲-۱- تهیه شیشه و ارزیابی خواص آن

برای تهیه ترکیب شیشه 45S5، کربنات کلسیم (Art2069) و کربنات سدیم (Art6398) به مدت ۴ ساعت در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۷۰۰ کلسینه شدند. اکسیدهای حاصل پس از خنک شدن،

همچنین جهت ایجاد خواص مکانیکی اولیه مناسب جهت کاربرد و به عبارتی رسیدن به دانسیته حداکثر، لازم است تا فوم استفاده شده به عنوان الگو به طور کامل تبخیر شود. چون فوم به طور کامل در داخل پوشش قرار گرفته خروج فوم مستلزم تخریب داریست در قسمت‌های مختلف می‌باشد که این عمل باعث کاهش استحکام به دلیل ایجاد اتصالات ضعیف در داریست و حتی تخریب نمونه به هنگام کاربرد می‌گردد [۷].

در روش دیگر برای ایجاد تخلخل بوکاپینی و همکارانش در سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۴، پلیمر را در دی‌متیل‌کربنات حل نموده و پس از هم زدن به مدت یک شب محلولی یکنواخت از پلیمر را تهیه نمودند. مقداری از پودر شیشه را در داخل محلول حل نموده و پس از انتقال محلول به یک فلاسک آن را در داخل نیتروژن مایع به مدت ۲ ساعت در دمای 196°C - نگهداری نمودند. سپس با اتصال فلاسک به پمپ خلاء، آن را در حمامی با دمای 10°C - قرار دادند. با تکرار این عمل در دماهای 0°C و دمای محیط محلول حاوی پلیمر را خارج و ساختاری کاملاً متخلخل به دست آوردند. در نهایت داریست حاصل زینتر می‌گردد. داریست حاصل بیش از ۹۷ درصد تخلخل با ابعادی در حدود ۱۰۰ میکرومتر خواهد داشت. این روش از نظر تکنیک ایجاد تخلخل با روش فوم متفاوت می‌باشد اما دارای خواص مشابهی می‌باشند [۸].

لو و همکارانش در سال ۲۰۰۲ دانه‌های کروی شکل پودر شیشه بیواکتیو را به همراه پلیمری با روش تبخیر حلال/محلول سنتز نموده و پس از استحصال دانه‌های کروی شکل آنها را زینتر نمودند. آنها با این روش به تخلخلی با میانگین ۴۰ درصد و اندازه تخلخل‌هایی در حدود ۹۰ میکرومتر دست یافتند [۹].

Cerruti و همکارانش در سال ۲۰۰۵ با انجام آزمایش بر روی شیشه 45S5 با اندازه ذرات مختلف بیان داشتند به هنگام تشکیل لایه آپاتیتی بر روی شیشه، در شیشه با ذرات کوچک‌تر

خشک شدن، در داخل آون با دمای 50°C به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. سپس با افزودن چسب CMC به مخلوط خشک شده و با عبور آن از الک ۱۸ مش، عمل گرانول سازی صورت پذیرفت. گرانول‌های حاصل داخل قالب فولادی قرار گرفته و با استفاده از پرس هیدرولیک دستی تحت فشار ۲۰۰ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع به صورت قرص با قطر ۴۰ میلی‌متر شکل-دهی گردیدند. آنگاه نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط خشک گردیدند.

جدول ۲. مقادیر استفاده شده از عوامل حباب‌زا.

عامل حباب‌زا	۱	۲	۳	۴	۵
کربنات کلسیم	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۵	۱/۸

۳-۲- ایجاد تخلخل در نمونه‌ها

برای ایجاد تخلخل، نمونه‌ها در داخل کوره‌ای با دمای 1150°C به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شده و به دنبال آن به طور مستقیم به کوره‌ای با دمای 500°C ، دمای انتقال شیشه‌ای شدن در این شیشه بر طبق آزمایش دیلاتومتری حدود 520°C (شکل ۲) به دست آمد، انتقال یافته و به مدت یک ساعت نیز در این کوره حرارت دهی گردیدند.

۴-۲- ارزیابی خواص شیشه‌های متخلخل

۲-۴-۱- آنالیز فاز و ریز ساختار

جهت بررسی تغییرات طول نمونه بر حسب درجه حرارت، پس از تهیه شیشه بیواکتیو، نمونه‌ای از آن در ابعاد $50 \times 50 \times 5 \text{mm}$ برش داده شد. نمونه برش داده شده با دستگاه

توزین گردیده و با مقادیر معین از سیلیس (Art 657) و پتتا اکسید فسفر (Art 540) مخلوط گردید. مخلوط حاصل در بوتله پلاتینی ریخته و درون کوره Amalgams نوع CH45 با دمای 1400°C قرار داده شد. پس از ذوب کامل ترکیب، مذاب به طور مستقیم داخل آب سرد ریخته شده و پس از خشک نمودن فریت شیشه به دست آمد. ترکیب شیمیایی شیشه بیواکتیو 45S5 در جدول ۱ ارائه گردیده است.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی شیشه بیواکتیو 45S5 [۸].

ترکیب شیمیایی	SiO ₂	CaO	Na ₂ O	P ₂ O ₅
درصد وزنی	45	24/5	24/5	6

۲-۲- آماده سازی نمونه‌ها

فریت شیشه حاصل در ابتدا توسط هاون سرامیکی و در نهایت توسط آسیاب ماهواره‌ای به مدت ۲ ساعت خرد گردید. با توجه به تأثیر اندازه دانه‌های پودر شیشه بر دمای عملیات حرارتی و زیتر آن، پس از خردایش شیشه، با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات (Laser Particle Size Analyzer, PSA) ساخت شرکت Fritsch آلمان، توزیع اندازه ذرات پودر شیشه مورد ارزیابی قرار گرفت.

با توجه به وجود اکسید کلسیم در ترکیب شیمیایی شیشه و این که افزودن حداکثر ۲ درصد وزنی کربنات کلسیم، با توجه به خروج دی اکسید کربن به صورت گاز باعث افزایش حداکثر یک درصد وزنی اکسید کلسیم خواهد گردید. در نتیجه از کربنات کلسیم (Art 2069)، به مقدار ۰/۵ الی ۲ درصد (طبق جدول ۲)، به عنوان عامل حباب‌زای اصلی در دمای بالا استفاده شد. در ابتدا کربنات کلسیم با پودر شیشه مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در داخل آسیاب تر به همراه ذرات پودر و چند ساچمه سرامیکی کوچک قرار داده شد. مخلوط حاصل جهت

شیشه متخلخل با نسبت یک گرم در ۱۰۰۰ میلی لیتر SBF غوطه‌ور و در نگهدارنده با دمای ثابت 37°C قرار داده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ روز در محلول SBF نگهداری شده و پس از آن از محلول خارج شده به آرامی ابتدا توسط اتانول و سپس توسط آب دی‌یونیزه شده شستشو داده شده و در دمای محیط خشک شدند.

ریز ساختار نمونه‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مجهز به آنالیز EDXA تصویربرداری شد. در این تکنیک عناصر موجود در سطح نمونه‌ها که در تصویر SEM دیده می‌شوند، قابل شناسایی هستند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تبلور

جهت اطمینان از عدم تبلور پودر شیشه، الگوی پراش اشعه X پودر شیشه سنتز شده در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود پودر کاملاً آمورف می‌باشد. با توجه به این که پودر شیشه در طی انجام آزمایش در معرض حرارت قرار گرفته و متبلور خواهد شد، در دماهای مختلف توسط پراش اشعه X، رفتار پودر شیشه مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود شیشه تا دمای 580°C آمورف بوده و در دماهای بالاتر از آن شروع به تبلور می‌نماید.

Misuri مدل 3.32 ODLT و با نرخ حرارت دادن $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ مورد آزمایش قرار گرفت.

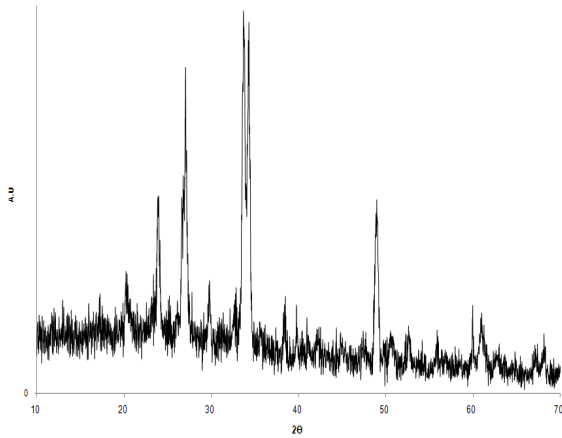
برای تعیین نوع فازهای احتمالی تشکیل شده قبل از ایجاد تخلخل و همچنین پس از ایجاد تخلخل در شیشه از روش پراش اشعه X (XRD)، دستگاه (Philips PW 3710)، استفاده شد. همچنین مورفولوژی قطعات متخلخل و ریز ساختار شیشه با استفاده از میکروسکوپی الکترونی روبشی (Stereoscan S360 cambridge) مورد ارزیابی قرار گرفته و با استفاده از EDXA آنالیز گردید. قبل از آنالیز و تصویربرداری، نمونه‌ها چندین بار توسط طلا پوشش داده شدند.

۲-۴-۲- دانسیته و تخلخل

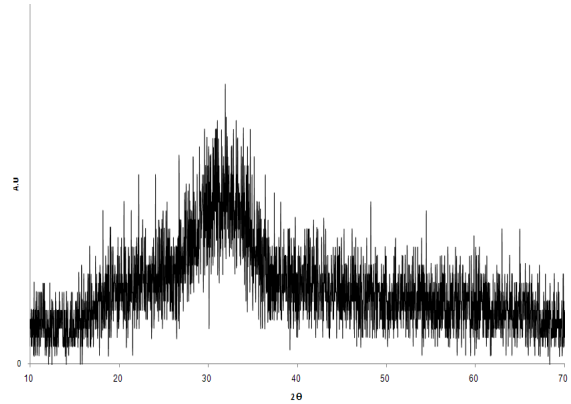
میزان تخلخل و دانسیته نمونه‌ها توسط روش ارشمیدس، طبق استاندارد BS 1902:Part A: 1966 مورد بررسی قرار گرفت. دانسیته نمونه‌ها به روش ارشمیدس مورد محاسبه قرار گرفت و با توجه به روابط میزان تخلخل باز و حجم کلی تخلخل‌ها محاسبه گردید.

۲-۴-۳- بررسی زیست‌فعالی (بیواکتیویته)

بررسی زیست‌فعالی (Bioactivity) نمونه‌های متخلخل از طریق غوطه‌ور نمودن آنها در محلول شبیه سازی شده به مایعات بدن (SBF) صورت گرفت. این محلول با استفاده از دستورالعمل ارائه شده توسط کوکوبو [۱۲] با استفاده از مواد اولیه با خلوص بالا تر از ۹۹ درصد تهیه شد. این مواد شامل NaCl ، NaHCO_3 ، KH_2PO_4 ، CaCl_2 ، MgSO_4 و تریس هیدروکسی متیل آمینومتان بود که همگی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. محلول SBF از طریق حل کردن مواد اشاره شده در آب مقطر تهیه و محلول مورد نظر توسط تریس بافر و pH آن توسط هیدروکلریک اسید در عدد ۷/۴ ثابت شد.

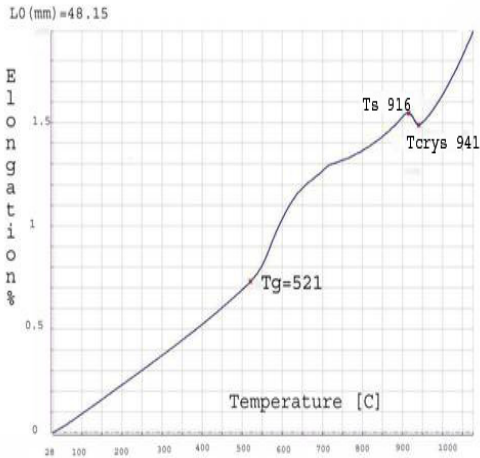


شکل ۳. نمودار اشعه X نمونه متخلخل پس از عملیات حرارتی در دمای 1150°C .

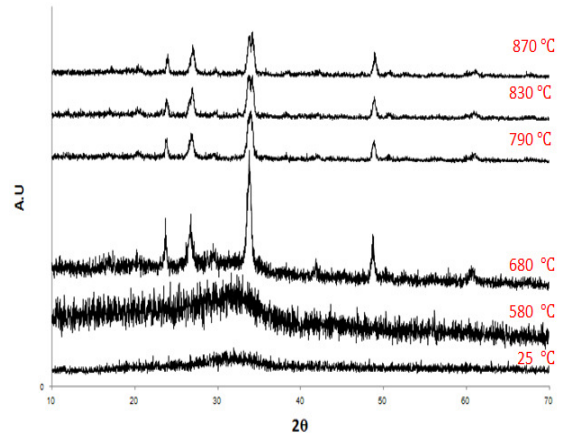


شکل ۱. نمودار پراش اشعه X پودر شیشه.

جهت تعیین دمای نرم شوندگی، از شیشه آزمایش دیلاتومتری انجام شد. در شکل ۴ نمودار دیلاتومتری شیشه ۴۵۵۵ نشان داده شده است. تغییر شیب در دمای 521°C مربوط به انتقال شیشه‌ای (Tg) و پیک ایجاد شده در دمای 916°C مربوط به نقطه نرم شوندگی شیشه (Ts) می‌باشد.



شکل ۴. نمودار دیلاتومتری شیشه بیواکتیو ۴۵۵۵.



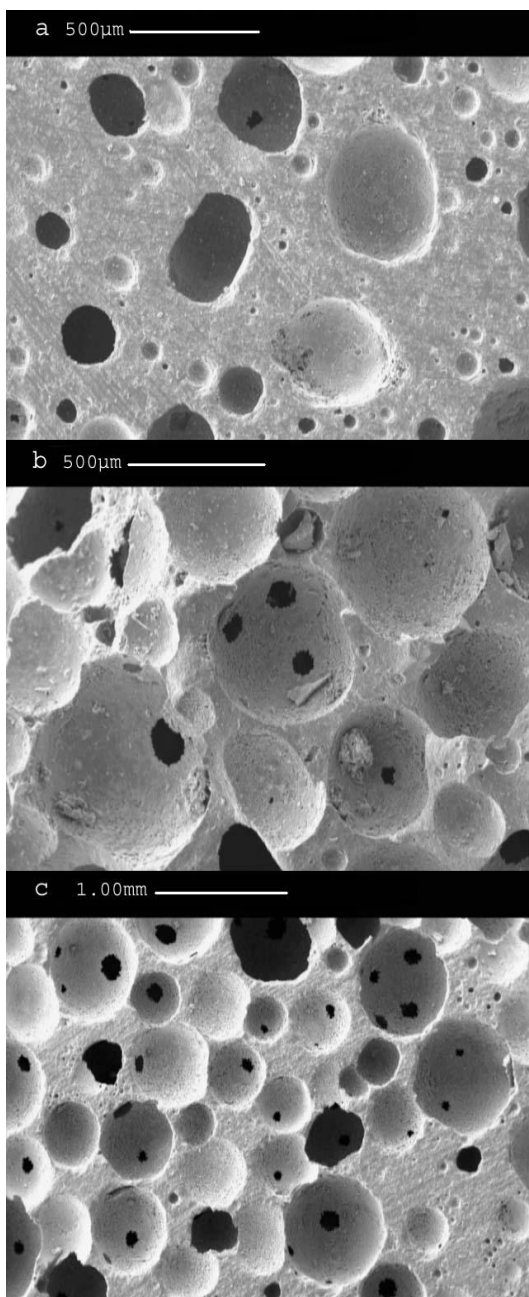
شکل ۲. تأثیر دما بر تبلور شیشه بیواکتیو 4555.

در شکل ۳ الگوی تفرق اشعه X نمونه شیشه متخلخل شده در دمای 1150°C نشان داده شده است. پیک‌های نمودار بیانگر تبلور شیشه می‌باشند.

۳-۲- ساختار متخلخل حاصل

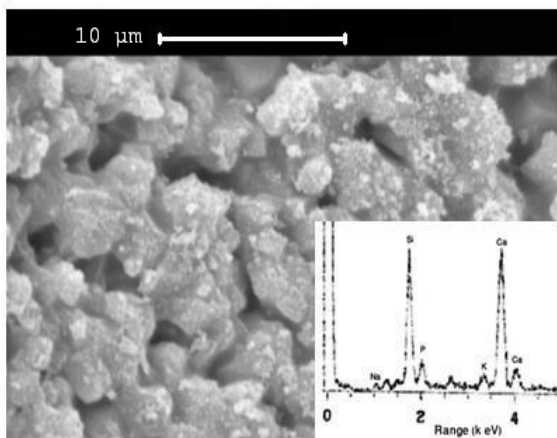
جهت ایجاد تخلخل با استفاده از توزیع ذرات مواد حباب‌زا در داخل یک جسم صلب و حرارت‌دادن آن تا نقطه نرم‌شوندگی شیشه، مواد حباب‌زا در اثر حرارت تجزیه شده و در داخل شیشه نرم‌شده ایجاد گاز می‌نمایند. بسته به دما و طول مدت انجام فرآیند، حباب‌ها رشد خواهند نمود. اگر پارامترهای دما و مدت انجام فرآیند به درستی کنترل نگردند، حباب‌ها به یکدیگر پیوسته و از جسم خارج می‌شوند و یا برعکس ممکن است بسیار کوچک و غیرمفید باشند. قابلیت تغییر شکل شیشه در زمانی که عامل حباب‌زا تجزیه شده و گاز حاصل باعث تغییر شکل در شیشه می‌گردد، مهم‌ترین نکته در انجام این فرآیند می‌باشد.

در شکل ۵ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه شیشه متخلخل شده با درصد مختلف کربنات کلسیم نشان داده شده است. همان‌طورکه ملاحظه می‌شود شکل تخلخل‌های به‌وجود آمده تقریباً کروی بوده و تخلخل‌ها توزیع نسبتاً یکنواختی دارند. اندازه تخلخل‌ها با توجه به شکل‌های نشان داده شده حداقل ۵۰ و حداکثر ۱۰۰۰ میکرومتر می‌باشند. با افزایش ماده حباب‌زا بر مقدار تخلخل‌ها افزوده شده و تعداد و اندازه کانال‌های ارتباطی در بین حفرات نیز افزایش می‌یابند. در شکل‌های نشان داده شده می‌توان حفرات کوچکی را نیز مشاهده نمود که یا به نحوه شکست سطح مقطع ارتباط دارند و یا این حفرات فرصت رشد نیافته‌اند.



شکل ۵. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی شیشه‌های متخلخل شده توسط کربنات کلسیم (a) ۱/۲wt، (b) ۱/۵wt، (c) ۱/۸wt.

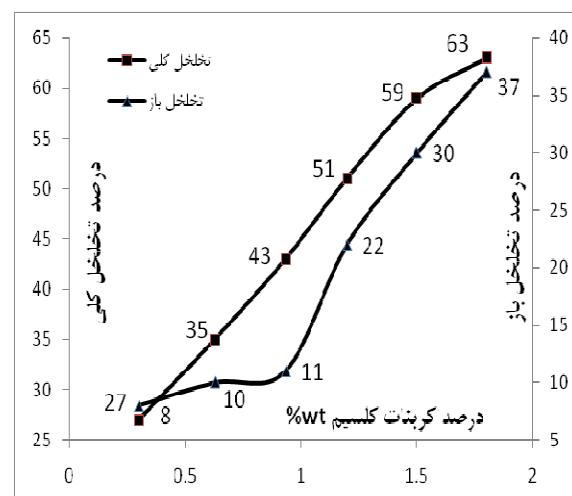
گوشه‌دار می‌باشند. این دانه‌ها در اثر زینتر در کنار یکدیگر قرار گرفته و با حبس گاز در درون خود، به هنگام فرآیند زینتر کشیده شده و باعث ایجاد حفره در نمونه گردیده‌اند. حضور میکروتخلخل‌ها نیز در ریزساختار مشهود است الگوی آنالیز EDXA این تصویر نیز وجود یون‌های Si و Ca با غلظت بالا همراه با یون‌های سدیم و فسفر را نشان می‌دهد.



شکل ۷. مورفولوژی سطح نمونه شیشه متخلخل قبل از غوطه‌ور شدن در مایع شبیه سازی شده محیطی بدن همراه با الگوی آنالیز EDXA مربوطه.

شکل ۸ ریز ساختار شیشه متخلخل پس از ۲۰ روز نگهداری در محلول SBF را نشان می‌دهد. این ریزساختار با آنچه در مورد نمونه قبل از غوطه‌وری مشاهده شد، کاملاً متفاوت است. مورفولوژی فاز هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده بر روی سطح نمونه‌ها به صورت تیغه‌های پولکی شکل می‌باشد که به شدت در هم فرورفته‌اند. این مورفولوژی بیانگر شباهت فاز تشکیل شده بر روی سطح با فاز مینرالی استخوان است. همان‌طور که در شکل ۷ (سمت راست) دیده می‌شود، عناصر تشکیل دهنده فاز تیغه‌ای شکل عمدتاً کلسیم و فسفر می‌باشند که نسبت Ca/P در آن حدود ۱/۵ است و غلظت Si در این الگو به شدت نسبت به شکل قبل کاهش یافته است.

در شکل ۶ تأثیر مقدار کربنات کلسیم بر تخلخل و تخلخل باز ارائه گردیده است. با توجه به نمودار ملاحظه می‌گردد که با افزایش مقدار کربنات کلسیم، میزان تخلخل نیز افزایش می‌یابد. روند افزایش تخلخل با افزایش مقدار کربنات کلسیم تقریباً یکنواخت و خطی می‌باشد، زیرا متناسب با مقدار فاز گازی ایجاد شده در نمونه‌ها تخلخل به وجود می‌آید. درصد تخلخل باز که بیانگر ارتباط حفرات و تخلخل‌ها به یکدیگر می‌باشد در ابتدا تقریباً ثابت می‌باشد، اما با افزودن مقدار کربنات کلسیم، در مقادیر بیش از ۱ درصد وزنی، بر مقدار تخلخل‌های باز افزوده شده و روند افزایش تخلخل‌های باز نیز به صورت یکنواخت و خطی می‌گردد.



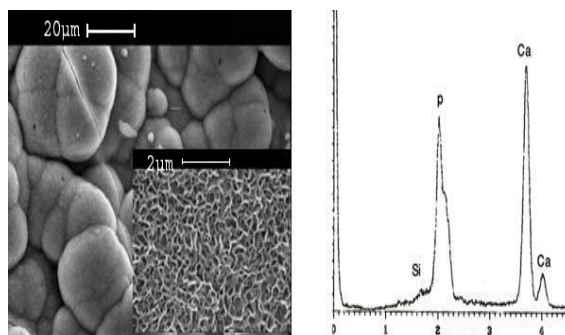
شکل ۶ تأثیر افزایش میزان کربنات کلسیم بر تخلخل. (C، ۱۲۰۰ °C، ۵ دقیقه)

۳-۳- ارزیابی خواص زیست سازگاری در محلول SBF

شکل ۷ ریز ساختار شیشه متخلخل قبل از غوطه‌وری در SBF را نشان می‌دهد. این ریزساختار شامل ذرات نسبتاً متحدالشکل از شیشه متبلور می‌باشد که به نظر می‌رسد دچار فرآیند تف جوشی (زینتر) گردیده‌اند. همان‌طور که در این تصویر ملاحظه می‌شود ذرات پودر شیشه به صورت دانه‌های

کاهش ویسکوزیته و سیال شدن نمونه‌ها می‌گردد اما انجام تبلور مهم‌ترین مانع در برابر کاهش ویسکوزیته می‌باشد. تعیین دمای انتقال شیشه (T_g) و نقطه کار پذیری شیشه، در عملیات حرارتی و شکل دادن نمونه‌ها دارای اهمیت می‌باشد. با حضور تخلخل در نمونه‌ها از استحکام آنها کاسته شده و این کاهش استحکام در حضور ترک و تنش حرارتی تشدید خواهد شد. به همین منظور پس از انجام عملیات حرارتی نمونه‌ها در محدوده دمایی T_g ، تنش زدایی می‌گردند. برای انجام عملیات حرارتی و انجام واکنش حباب‌زایی باید شیشه نرم شده و ماده حباب‌زا قابلیت انجام واکنش را داشته باشد. انتخاب نقطه‌ای که در آن شیشه نرم شده و تحت تأثیر وزن خویش تغییر شکل می‌دهد برای انجام عملیات حرارتی در اولین گام بهترین گزینه می‌باشد. اما با توجه به این که پودر شیشه آمورف به مدت زمان کوتاهی در دمای عملیات حرارتی قرار می‌گیرد، قبل از این که بتواند نرمی و کارپذیری خود را به نمایش بگذارد دچار تبلور گردیده و همین امر باعث افزایش سیالیت و عدم نرمی و کار پذیری شیشه خواهد شد. اگر بخواهیم زمان نگهداری نمونه‌ها را افزایش بدهیم، ماده حباب‌زا تجزیه شده و در ادامه هیچ واکنش حباب‌زایی رخ نخواهد داد. افزایش دمای عملیات حرارتی جهت افزایش سیالیت پودر شیشه می‌تواند چاره‌ساز باشد. با این کار هم سیالیت پودر شیشه کاهش می‌یابد و هم حباب‌زا به هنگام کاهش سیالیت نمونه‌ها واکنش داده و با تولید گاز حفره‌هایی را در نمونه‌ها به وجود می‌آورد. به همین دلیل دمای عملیات حرارتی از دمای کار پذیری به نزدیکی‌های دمای ذوب شیشه افزایش می‌یابد.

این نسبت نمایانگر تشکیل فاز آپاتیت غیر استوکیومتری (شیشه به آپاتیت استخوان‌ها) در سطح است. وجود چنین کریستال-هایی در سطح نمونه نشان‌دهنده زیست‌فعالی شیشه متخلخل و عدم تأثیرپذیری این ویژگی با ایجاد تخلخل و تبلور در شیشه است.



شکل ۸. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نمونه‌های غوطه‌ور شده در مایع شبیه سازی شده محیطی بدن پس از ۲۰ روز همراه با الگوی آنالیز EDXA مربوطه.

۳-۴- بررسی تبلور

با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود که شیشه 45S5 تا دمای 600°C آمورف بوده و با افزایش دما در ابتدا فاز $\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$ تا دمای 800°C تشکیل می‌گردد. با افزایش بیشتر دما فاز $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ تشکیل می‌گردد. تغییر نمودارها و پیدایش پیک‌ها و همچنین دو شاخه شدن پیک‌ها در دمای بالاتر از 800°C بیانگر نتایج فوق می‌باشند. شکل ۳ نمودار تفرق اشعه x نمونه نهایی عملیات حرارتی شده را نشان می‌دهد. پیک‌های نشان داده شده مربوط به فاز $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ با شماره استاندارد ۱۴۵۵-۲۲ می‌باشد. قابلیت تبلور مهم‌ترین مانع کاهش دمای عملیات حرارتی شیشه 45S5 می‌باشد. افزایش دما باعث

۳-۵- مقایسه فوم حاصل در این روش با فوم‌های حاصل از سایر روش‌ها

تحقیقات صورت گرفته توسط سایر محققین در خصوص تولید داربست‌های متخلخل بیواکتیو عمدتاً بر پایه پوشش دادن یک داربست متخلخل پلیمری توسط ذرات پودر شیشه و سپس خارج نمودن پلیمر از داخل پوشش شیشه‌ای و زینتر داربست حاصل می‌باشد. داربست متخلخل حاصل نیز از مشخصات داربست اولیه پلیمری پیروی نموده و تا حدی به عنوان کپی آن می‌باشد. مهم‌ترین مشکل در این داربست‌ها به هنگام خروج پلیمر از درون داربست می‌باشد که این عمل با تخریب قسمتی از داربست توأم خواهد شد. علاوه بر این، جهت تولید داربست از روش‌های ذکر شده باید به هنگام پوشش دادن، خشک‌نمودن پوشش و خروج پلیمر از داخل پوشش، زمان زیادی را صرف نموده و همچنین باید دقت شود تا پوشش اضافی از داخل داربست خارج گردد. اگر از موادی استفاده شود که در اثر سوختن از بین رفته و تخلخل برجای می‌گذارند، شکل تخلخل حاصل کاملاً وابسته به شکل ماده مورد استفاده به عنوان حباب‌زا می‌باشد و در نتیجه شکل تخلخل‌ها کاملاً به مواد به کار رفته وابسته می‌گردد. در کار Wu می‌توان تأثیر شکل اولیه ذرات بر تخلخل‌ها را مشاهده نمود. از طرفی با تغییر شکل تخلخل‌ها از کروی به دیسکی شکل، استحکام نمونه‌ها تحت تأثیر قرار خواهد گرفت.

در کار حاضر برای تولید داربست تنها نیاز به زمانی اندک جهت افزودن یکنواخت مقدار مناسبی ماده حباب‌زا به پودر شیشه، گرانوله و سپس متراکم نمودن نمونه و در نهایت زینتر آن می‌باشد. جهت ایجاد تخلخل با استفاده از توزیع ذرات مواد حباب‌زا در داخل یک جسم صلب و حرارت دادن آن تا نقطه نرم‌شوندگی شیشه، مواد حباب‌زا در اثر حرارت تجزیه شده و در داخل شیشه نرم شده ایجاد گاز می‌نمایند.

بسته به دما و طول مدت انجام فرآیند، حباب‌ها رشد خواهند نمود. اگر پارامترهای دما و مدت انجام فرآیند به درستی کنترل نگردند، حباب‌ها به یکدیگر پیوسته و از جسم خارج می‌شوند و یا برعکس ممکن است بسیار کوچک و غیرمفید باشند. قابلیت تغییر شکل شیشه در زمانی که عامل حباب‌زا تجزیه شده و گاز حاصل باعث تغییر شکل در شیشه می‌گردد، مهم‌ترین نکته در انجام این فرآیند می‌باشد.

در شکل ۵ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه شیشه متخلخل شده با درصد مختلف کربنات کلسیم نشان داده شده است. با توجه به این که تخلخل‌ها در اثر تجزیه عامل حباب‌زا در دمای نرم‌شوندگی شیشه به وجود آمده‌اند، شکل تخلخل‌های به وجود آمده کروی می‌باشد که پایدارترین شکل گاز در داخل یک سیستم تقریباً مذاب می‌باشد. توزیع تخلخل‌ها به توزیع ماده حباب‌زا در درون پودر شیشه بستگی داشته و با توجه به این که از آسیاب ماهواره‌ای تر جهت توزیع ماده حباب‌زا در درون پودر شیشه استفاده شده است ملاحظه می‌شود که توزیع آنها نسبتاً یکنواخت می‌باشد. با توجه به این که حداقل اندازه حفرات $50 \mu\text{m}$ و حداکثر نیز $1000 \mu\text{m}$ می‌باشد، اندازه حفرات و تخلخل‌های حاصل در محدوده مناسبی قرار دارند. درصد تخلخل‌ها به طور مستقیم به درصد ماده حباب‌زا بستگی دارد به طوری که با افزایش مقدار حباب‌زا بر میزان فاز گاز حاصل در اثر تجزیه کربنات کلسیم افزوده می‌گردد. علاوه بر این با افزایش مقدار عامل حباب‌زا تخلخل‌ها حجم بیشتری از فاز جامد را به خود اختصاص داده و با یکدیگر ارتباط پیدا می‌کنند. تعداد کانال‌های ارتباطی با افزایش کربنات کلسیم تا $1/8$ درصد به طور ملموس در شکل c مشاهده می‌شود. با توجه به این که عامل حباب‌زا در اثر حرارت فعال شده و با تولید گاز، در داخل جسم جامد ایجاد حفره می‌نماید، در قسمت‌های مختلف نمونه

شیشه سرامیک متخلخل شده توسط روش ایجاد گاز در دمای بالا، به عنوان جایگزینی برای بافت سخت را نشان داد. سرعت عمل در تهیه نمونه‌ها، ایجاد تخلخل‌های باز با قابلیت کنترل حجمی و حذف موارد تشدید کننده شکست در اثر حذف پلیمرها در هنگام فرآیند زیتتر از مهم‌ترین دستاوردهای کار حاضر می‌باشد. در تمامی روش‌های محققان دیگر طول مدت زمان فرآیند زیتتر بالای یک ساعت بوده و در نتیجه شیشه بیواکتیو 45S5 تقریباً به صورت کامل متبلور می‌گردد، در حالی که در فرآیند ایجاد تخلخل در دمای بالا در اثر تجزیه گاز حداکثر مدت زمان نگهداری نمونه‌ها در دمای زیتتر یک ربع می‌باشد. با کنترل هدفمند مواد حباب‌زا می‌توان ساختارهای کاملاً پیش بینی شده و مورد نیاز را با مشخصات فیزیکی و مکانیکی مورد نظر تولید و مورد استفاده قرار داد.

حفرات کوچک و ریز بسیاری مشاهده می‌شوند که فرصت رشد را نیافته‌اند.

در شکل ۶ تأثیر مقدار کربنات کلسیم بر تخلخل و تخلخل باز ارائه گردیده است. با توجه به نمودار ملاحظه می‌گردد که با افزایش مقدار کربنات کلسیم، میزان تخلخل نیز افزایش می‌یابد. روند افزایش تخلخل با افزایش مقدار کربنات کلسیم تقریباً یکنواخت و خطی می‌باشد، زیرا متناسب با مقدار فاز گازی ایجاد شده در نمونه‌ها تخلخل به وجود می‌آید. درصد تخلخل باز که بیانگر ارتباط حفرات و تخلخل‌ها به یکدیگر می‌باشد در ابتدا تقریباً ثابت می‌باشد. اما با افزودن مقدار کربنات کلسیم، در مقادیر بیش از ۱ درصد وزنی، بر مقدار تخلخل‌های باز افزوده شده و روند افزایش تخلخل‌های باز نیز به صورت یکنواخت و خطی می‌گردد.

۳-۵- مقایسه زیست سازگاری فوم حاصل با سایر روش‌ها

نتایج به دست آمده از مطالعه نمونه‌ها توسط میکروسکوپ روبشی الکترونی و همچنین آنالیز صورت گرفته توسط تکنیک EDXA نشان می‌دهند که نمونه‌های تهیه شده به روش ایجاد گاز در دمای بالا در محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) تبدیل به فاز هیدروکسی آپاتیت گردیده‌اند و از لحاظ عملکرد زیست‌سازگاری با سایر نمونه‌ها که از سایر روش‌ها استحصال شده‌اند، تفاوتی ندارند.

۴- نتیجه گیری

در این کار شیشه بیواکتیو 45S5 به صورت موفقیت آمیزی متخلخل (تخلخل کلی ۶۰ درصد و تخلخل باز ۳۷ درصدی) گردیده و پس از آزمایش در مایع شبیه سازی شده بدن (SBF)، رفتار زیست سازگاری مناسبی دارد و توانایی

مراجع

1. Temenoff, JS., Lu, L., Mikos, AG., "Bone tissue engineering using synthetic biodegradable polymer scaffolds", *Davies JE, editor. Bone engineering. 2nd ed. Toronto: EM Squared*, (2000) 455-62.
2. Bruder, SP., Caplan, AI. "Bone regeneration through cellular engineering", *Lanza RP, Langer R, Vacanti J, editors. Principles of tissue engineering. 2nd ed. California: Academic Press*; (2000) 683-96.
3. Jones, JR., Boccaccini, AR., "Cellular ceramics in biomedical applications: tissue engineering", *Scheffler M, Colombo P, editors. Cellular ceramics: structure, manufacturing, processing and applications. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA*; (2005) 550-73.
4. Freyman, TM., Yannas, IV., Gibson, LJ., "Cellular materials as porous scaffolds for tissue engineering", *Prog Mater Sci* Vol.46 (2001) 272-82.
5. Hutmacher, DW., "Scaffolds, in., tissue engineering bone and cartilage", *Biomaterials* Vol. 21 (2000) 43-2529.
6. Wilson, J., Pigot, GH., Schoen, FJ., Hench, LL., "Toxicology and biocompatibility of bioglass", *J Biomed Mater Res* Vol. 15 (1981) 11-805.
7. Qizhi Z Chen, Thompson, ID., Boccaccini, AR., "45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering", *Biomaterials* Vol. 27 (2006) 2414-2425.

23. Shih-Ching, Wu., Hsueh-Chuan, Hsu., Sheng-Hung Hsiao, Wen-Fu, Ho., "Preparation of porous 45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds by using rice husk as a porogen additive", *J Mater Sci: Mater Med* Vol. 20 (2009) 1229-1236 DOI 10.1007/s10856-009-3690-8.
24. Rezwan, K., Chen, QZ., Blaker, JJ., Boccaccini, AR., "Review Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering", *Biomaterials* Vol. 27 (2006) 3413-3431.
8. Boccaccini, AR., "Bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams filled with and coated by Bioglass particles for tissue engineering applications", *J Mater Sci: Mater Med* Vol. 14 (2003) 350-443.
9. Laurencin, CT., Lu HH, Khan Y., "Processing of polymer scaffolds: polymer-ceramic composite foams", *Atala A, Lanza RP, editors. Methods of tissue engineering. 3th ed. California: Academic Press* (2002) 14-705.
10. Marta Giulia Cerruti, Greenspan, Da., Powers, Kevin., "An analytical model for the dissolution of different particle size samples of Bioglass in TRIS-buffered solution", *Biomaterials* Vol. 26 (2005).4903-4911.
11. Shih-Ching, Wu., Hsueh-Chuan, Hsu., Sheng-Hung Hsiao, Wen-Fu Ho. "Preparation of porous 45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds by using rice husk as a porogen additive", *J Mater Sci: Mater Med* Vol. 20 (2009) 1229-1236 DOI 10.1007/s10856-009-3690-8.
12. Rezwan, K., Chen, QZ., Blaker, JJ., Boccaccini, AR., "Review Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering", *Biomaterials* Vol. 27 (2006) 3413-3431.
13. Temenoff, JS., Lu, L., Mikos, AG., "Bone tissue engineering using synthetic biodegradable polymer scaffolds", *Davies JE, editor. Bone engineering. 2nd ed. Toronto: EM Squared* (2000) 62-455.
14. Bruder, SP., Caplan, AI, "Bone regeneration through cellular engineering", *Lanza RP, Langer R, Vacanti J, editors. Principles of tissue engineering. 2nd ed. California: Academic Press* (2000) 96-683.
15. Jones, JR., Boccaccini, AR., "Cellular ceramics in biomedical applications: tissue engineering", *Scheffler M, Colombo P, editors. Cellular ceramics: structure, manufacturing, processing and applications. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA* (2005) 73-550.
16. Freyman, TM., Yannas, IV., Gibson, LJ., "Cellular materials as porous scaffolds for tissue engineering", *Prog Mater Sci*, Vol. 46 (2001) 82-272.
17. Hutmacher, DW., "Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage", *Biomaterials* Vol. 21 (2000) 43-2529.
18. Wilson J, Pigot, GH., Schoen, FJ., Hench, LL., "Toxicology and biocompatibility of bioglass", *J Biomed Mater Res* Vol. 15 (1981) 11-805.
19. Qizhi Z Chen, Thompson, ID., Boccaccini, AR., "45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering", *Biomaterials* Vol. 27 (2006) 2414-2425.
20. Boccaccini, AR., "Bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams filled with and coated by Bioglass particles for tissue engineering applications", *J Mater Sci: Mater Med* Vol. 14 (2003) 350-443.
21. Laurencin, CT., Lu, HH., Khan, Y., "Processing of polymer scaffolds: polymer-ceramic composite foams", *Atala A, Lanza RP, editors. Methods of tissue engineering. 3th ed. California: Academic Press* (2002) 14-705.
22. Marta Giulia Cerruti, David Greenspan, Kevin Powers., "An analytical model for the dissolution of different particle size samples of Bioglass in TRIS-buffered solution", *Biomaterials* Vol. 26 (2005).4903-4911.