

ارزیابی خواص فیزیکی و مکانیکی داربست سرامیکی متخلخل کامپوزیتی نانو هیدرکسی آپاتیت / دی اکسید تیتانیوم برای کاربردهای مهندسی بافت

ستوده اکبرپور^۱ و سعید کرباسی^{۲*}

^۱ کارشناس ارشد، دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد، اصفهان، ایران

^۲ عضو هیئت علمی گروه فیزیک و مهندسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۹۳/۲/۱۹، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۹۳/۶/۱۶، تاریخ پذیرش قطعی: ۹۳/۶/۱۷

چکیده

در این پژوهش پودر هیدرکسی آپاتیت به روش طبیعی و با استفاده از استخوان گوساله در دمای 900°C تهیه گردید. سپس داربست سرامیکی به روش تکرارپذیری فوم پلی یورتان و با ۰، ۳، ۶ و ۹ درصد وزنی تیتانیا و ۵۰ درصد وزنی هیدروکسی آپاتیت به روش آسیاب تر(دوغایی) سنتز شد. به منظور شناسایی تحولات فازی انجام شده و شناسایی پیوندهای شیمیایی ایجاد شده از آنالیز پراش پرتو ایکس و طیف سنجی پرتو فرسرخ استفاده شد. ریزساختار و مورفولوژی پودر نانو کامپوزیتی توسط مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. درصد تخلخل حدود ۸۰-۸۵ درصد اندازه گیری شد. استحکام فشاری اندازه گیری شده ۰/۱۴ تا ۱/۳۲۱ مگاپاسکال گزارش شد. نتایج نشان می دهد بهترین نوع داربست از نظر خواص فیزیکی از قبیل درصد تخلخل و انقباض بعد از پخت مربوط به درصد های پایین دی اکسید تیتانیوم یعنی ۳ و خواص مکانیکی مناسب مربوط به درصد های ۶ و ۹ درصد TiO_2 میباشد. در پایان داربست بهینه از نظر درصد تخلخل، خواص مکانیکی و ریزساختار، داربست با ۶ درصد TiO_2 و ۵۰ درصد HA انتخاب گردید.

کلمات کلیدی: داربست، هیدروکسی آپاتیت، دی اکسید تیتانیوم، کامپوزیت، مهندسی بافت.

Evaluation of Physical and Mechanical Properties of Hydroxyapatite/Titanium dioxide Composite Scaffold for Tissue Engineering Applications

Sotudeh Akbarpoor¹ and Saeed Karbasi^{2*}

¹Islamic Azad University (Najafabad branch), Esfahan, Iran

²Isfahan University of Medical Sciences, Esfahan, Iran

Abstract

In this study, firstly hydroxyapatite powder using natural method and bovine bone was synthesized at temperature of 900°C . Then it was synthesized reproducibly from foam ceramic scaffolds with 0, 3, 6 and 9 wt% and 50 wt% titania hydroxyapatite wet grinding method (slurry). In order to detect the changes of phase and chemical bonds was used diffraction of X-rays and infrared light spectroscopy. Microstructure and morphology of the nano composites was examined by scanning electron microscopy. According to the results, the volume fraction of porosities were obtained about 80-85%. The compressive strength was measured 0.14 to 1.321 MPa. Results indicate that the best type of scaffold physical properties such as porosity and shrinkage after sintering about low percentages of titanium dioxide, the 3 and mechanical properties suitable, the high percentage of titanium dioxide is the 6 percent.

Keywords: scaffold, hydroxyapatite, titanium dioxide, Composite, tissue engineering.

۱- مقدمه

ذرات شیشه سرامیک یا استفاده از پلیمر به همراه داربست می باشد. یکی از موارد پیشنهادی برای این منظور افزودن دی اکسید تیتانیوم و ایجاد کامپوزیت HA/TiO₂ می باشد که روش سنتز آن و افزودن این ماده به منظور کامپوزیت کردن و همچنین بالا بردن دمای سینترینگ که باعث افزایش سختی و بالطبع بالا بردن موارد کاربرد و استفاده آن در موارد بیومتریال می باشد. دی اکسید تیتانیوم در کامپوزیت با هیدروکسی آپاتیت به صورت میله ای تبلور میابد که باعث چسبندگی بیشتر سلول های استخوانی به یکدیگر می شود. هدف از استفاده از این اکسید در ساخت داربست سرامیکی هیدروکسی آپاتیت بالا بردن استحکام مکانیکی این داربست به همراه تخلخل پایین بوده که با توجه به نتایج و مطالعات انجام شده قبلی در این زمینه استحکام بدست آمده از داربست هیدروکسی آپاتیت به تنهایی خیلی بالا نبوده و تنها استفاده از این داربست در موضعی همچون استخوان فک یا بازو که تحت بار نمی باشند معطوف گشته است [۵]. ساخت داربست کامپوزیتی فوق بالا رفتن استحکام را دربر داشته و در نتیجه امکان استفاده این داربست را در موضعی تحت بار همچون استخوان ران و ساق فراهم کرده است. همچنین ساخت این داربست به روش آسیاب ترکه یک روش ساده و کم هزینه می باشد برای اولین بار در دنیا انجام گرفته است و مطالعات مشابه تنها با استفاده از روش های دیگر همچون سل - ژل یا الکترولیسی یا پوشش TiO₂ روی هیدروکسی آپاتیت بوده و استفاده از روش آسیاب تر (دوغابی) جهت سنتز روشی نو در این زمینه فراهم آورد.

۲- مواد و روش تحقیق:

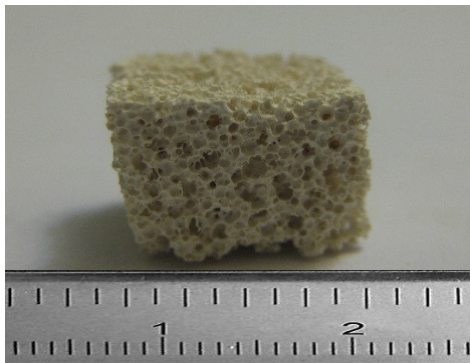
۲-۱- مواد اولیه:

در این پژوهش برای ساخت پودر نانو بلور هیدروکسی آپاتیت به روش تجزیه گرمایی از استخوان ران گوساله بالغ استفاده شد. داربست کامپوزیتی به روش تکرارپذیری فوم پلی یورتان با اندازه تخلخل بین ۳۰۰ تا ۷۰۰ میکرون با دانسیته ۸۰ cpi تهیه گردید. پودر TiO₂ محصول شرکت مرک آلمان و حلال آمونیوم پلی متاکریلات (APMA) به عنوان متفرق ساز و پودر کربوکسی متیل سلولز (CMC) به عنوان پیوند دهنده و افزایش گروانروی دوغاب استفاده شد.

با کاربرد مواد زیستی^۱ تخریب پذیر^۲ در مهندسی بافت به خصوص مهندسی بافت استخوان، امکان بازسازی بافت های آسیب دیده فراهم شده است. در بعضی موارد امکان جایگزینی بافت از دست رفته یا آسیب دیده نیز امکان پذیر است. در تمامی موارد نقش مواد زیستی موقتی، در عین حال بسیار حیاتی و مهم می باشد [۱]. مهندسی بافت علم طراحی و تولید بافت های جدید برای ترمیم اندام های آسیب دیده و جایگزینی قسمت های از دست رفته به علت عوامل مختلف می باشد. در بین بافت های بدن، استخوان پتانسیل بالایی برای تولید مجدد دارد و از این رو یک نمونه مناسب برای مهندسی بافت به شمار می رود. در شکستگی ها و عیوب بزرگ، روند درمان که توسط بدن انجام می شود، کارساز نیوده و پیوند استخوان لازم می شود [۲]. همانطور که می دانیم هیدروکسی آپاتیت دارای شبکه بلوری پیچیده و نسبتاً بزرگی است که احتمال از دست رفتن یکپارچگی در آن زیاد است. این ماده تمایل بسیار به پیوند با آب دارد. با بافت سخت و نرم زیست سازگاری دارد یعنی استخوان دوست است و استخوان سازی را تحریک می کند و به عبارت دیگر یک ماده استخوان ساز^۳ است. پیوند مستقیم با استخوان برقرار می کند و چسبندگی مطلوبی دارد. اما سختی آن حدود ۵ موس است. آنچه که دامنه استفاده از بیو متریال های آپاتیته را خصوصاً در موضعی تحت بار محدود نموده است تردی و خواص مکانیکی ضعیف آنهاست. یکی از راهکارهای رفع این مشکل استفاده از ذرات سرامیکی زیست فعال می باشد. مطالعات نشان داده است که استفاده از نانوذرات سرامیکی زیست فعال، پلیمرهای زیست فعال می تواند مشکلات فوق را برطرف نماید مانند شیشه زیست فعال، بتا تری کلسیم فسفات و پلیمرهای زیست فعال [۳]. اینکوک جون و همکاران (۲۰۰۷) [۴] تهیه داربست هیدروکسی آپاتیت به همراه شیشه آپاتیت - و لاستونیت به همراه شیشه سرامیک 45S5 تهیه گردید که افزایش استحکام فشاری و تخلخل حدود ۹۰٪ را دربر داشت. مطالعات انجام شده در زمینه ساخت داربست مشابه موارد بالا و معطوف به

¹Biomass²Biodegradable³Osteoconductive

یورتان پس از برش به ابعاد مناسب ($1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$) به آرامی درون دوغاب فرو برده شد. فوم اسفنجی به وسیله خاصیت موئینگی به دوغاب آغشته گردید و سپس در درون دوغاب فشرده شد تا هوای محبوس در آن خارج شده و اسفنج توسط دوغاب پر شود. فشرده شدن و باز شدن مجدد اسفنج در دوغاب موجب می شود که قطعه در اندازه و شکل واقعی خود حامل دوغاب شود. این مرحله یکی از مراحل مؤثر در خواص نمونه ها است. در این مرحله باید حدود $75 - 25\%$ دوغاب توسط اعمال نیروی مکانیکی (پرس)، از اسفنج حذف شود. خاصیت ارتجاعی بالای اسفنج در این مرحله باعث می شود اسفنج به شکل و ابعاد اولیه خود باز گردد.



شکل ۲. داربست متخلخل سرامیکی پس از عملیات حرارتی در 1200°C

سپس نمونه ها در کوره عملیات حرارتی قرار گرفتند که شامل ۴ مرحله:

۱. افزایش حرارت تا دمای 600°C با سرعت ۵ درجه بر دقیقه
۲. ماندگاری در این دما به مدت یک ساعت به منظور سوختن کامل فوم پلی یورتان
۳. افزایش حرارت تا دمای 1200°C با سرعت ۵ درجه بر دقیقه و ماندگاری در این دما به مدت ۲ ساعت جهت تفجوشی داربست ها
۴. سرد شدن تا دمای محیط با نرخ ۵ درجه بر دقیقه بود.

۲-۲- روش انجام کار:

۲-۲-۱- تهیه پودر سرامیکی هیدروکسی آپاتیت:

پس از تهیه استخوان ران گوساله بالغ، ابتدا آن را به مدت ۲ ساعت در آب جوشانده تا گوشت و چربی های اضافه متصل به آن جدا شوند. سپس استخوان ها را به مدت ۳ ساعت با مشعل تا دمای حدود 400°C سوزانده شدند تا ترکیبات آلی آن تجزیه شود. ماده حاصل ازین فرایند خاکستر سیاه رنگ استخوان می باشد که پس از این فرایند پودر سیاه رنگ در دمای 900°C به مدت ۲ ساعت تحت عملیات حرارتی قرار گرفت [۵]. سپس پودر حاصله به منظور رسیدن به اندازه ذرات ریز (fine) در آسیاب گلوله ای به مدت ۳۰ دقیقه چرخش و تخلیه گردید.



شکل ۱. مراحل تهیه پودر هیدروکسی آپاتیت: (الف) دمای 400°C (ب) دمای 900°C

۲-۲-۲- تهیه کامپوزیت HA/TiO_2 :

پودر HA حاصله را با ۵۰ درصد وزنی به همراه ۳-۶ درصد وزنی TiO_2 به همراه آب به روش دوغابی سنتز شده و داربست کامپوزیتی فوق به روش تکرارپذیری فوم پلی یورتان تهیه گردید. به دلیل نیاز به استحکام مکانیکی مناسب، باید میزان جامدی که بر روی اسفنج پلیمری می نشیند، زیاد باشد. بنابراین برای افزایش درصد وزنی جامد از مقدار ۱٪ وزنی متفرق ساز آمونیوم پلی متیل اکریلات (APMA) استفاده شد. سپس دوغاب با سرعت مناسب (300 rpm) به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد تا محلولی به صورت همگن به دست آید. مقدار ۰/۵ درصد وزنی از پودر کربوکسی متیل سلولز (CMC) در مقداری آب حل گردید و به آرامی به محلول اضافه شد. سپس محلول تا همگن شدن کامل در 60°C با سرعت 1000 rpm همزده شد. اسفنج تجاری پلی

۲-۴- محاسبه درصد تخلخل داربست:

برای محاسبه درصد تخلخل داربست‌ها از روش جابجایی مایع (قانون ارشمیدس) استفاده شد. اندازه‌گیری تخلخل اطلاعاتی در مورد اندازه و توزیع منافذ، نفوذپذیری و حضور عیوب ساختاری در ساختارهای سرامیکی تفجوشی شده ارائه می‌دهد. در این روش به جای آب، از اتانول ۹۶٪ استفاده شد که به راحتی درون تخلخل‌های ریز نفوذ نماید [۵]. مقداری اتانول درون استوانه مدرج ریخته و حجم (V_1) آن اندازه‌گیری می‌شود. سپس نمونه را درون اتانول به مدت ۵ دقیقه قرار داده تا کاملاً از اتانول اشباع شود که با V_2 نشان داده می‌شود. تفاوت حجم $(V_1 - V_2)$ ، حجم داربست می‌باشد. داربست آغشته به اتانول از درون استوانه مدرج خارج شده و مقدار حجم باقیمانده با V_3 نشان داده می‌شود. مقدار $V_1 - V_3$ ، حجم اتانول جذب شده توسط داربست می‌باشد. بنابراین، حجم نهایی داربست عبارت است از:

$$V = (V_2 - V_1) + (V_1 - V_3) = V_2 - V_3$$

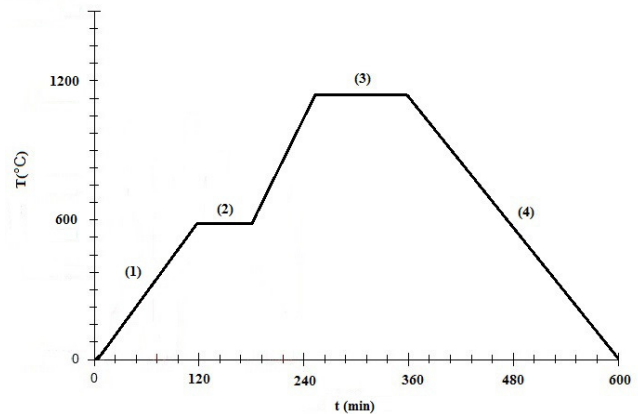
تخلخل باز داربست (\mathcal{E}) از معادله (۱) بدست می‌آید [۳]:

معادله (۱)

$$\mathcal{E} = \frac{V_1 - V_3}{V_2 - V_3}$$

۲-۵- آزمون مکانیکی داربست:

یکی از مشکلات عمده برای مشخصه‌یابی مکانیکی داربست‌های سرامیکی متخلخل نوع نمونه‌گیر دستگاه می‌باشد؛ از این رو آزمون‌هایی از قبیل کشش، ضربه دو مرحله‌ای معمولاً برای داربست‌های متخلخل مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. در عوض، آزمون فشار برای نمونه‌های متخلخل استخوان و هیدروکسی‌آپاتیت مورد قبول می‌باشد. آزمون استحکام فشاری برای هر یک از نمونه‌های سرامیکی با دستگاه آزمون فشار دارای لودسل ۱۰ KN و طبق دستورالعمل استاندارد ASTM-D5024-95a انجام شد. ابعاد هر یک از نمونه‌ها جهت آزمون فشار $10 \times 10 \times 15 \text{ mm}^3$ در نظر گرفته شد. به دلیل ترد بودن ساختار داربست سرامیکی سرعت فک دستگاه جهت اعمال فشار 0.5 mm/min در نظر گرفته شده که

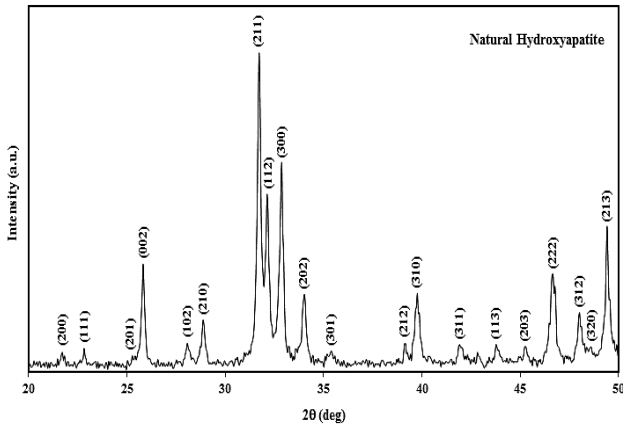


شکل ۳. نمودار شماتیک سیکل عملیات حرارتی داربست HA/TiO₂

بنابراین اجزاء آلی سوزانده شده و اسفنج‌های سرامیکی در 1200°C تفجوشی شد و یک داربست با حفرات به هم پیوسته دارای قطر حدود $300 \mu\text{m}$ تولید گردید.

۲-۳- مشخصه‌یابی نمونه‌ها:

جهت بررسی تغییرات ساختاری و مطالعه فازها از روش پراش پرتو ایکس (XRD, Philips X'Pert) استفاده شد. برای آنالیز از تابش پرتو $\text{CuK}\alpha$ استفاده شد. نرخ روبش معادل 1°C/Min ، ولتاژ اعمالی برابر ۴۰ کیلو ولت و جریان معادل ۳۰ میلی‌آمپر بود و زاویه پراش (2θ) از ۱۰ تا ۹۰ درجه انتخاب گردید. پس از حصول الگوی پراش پرتو ایکس، جهت مطالعه ترکیبات حاصل از پودر هیدروکسی‌آپاتیت و TiO_2 نمونه، از فلورسانس پرتو ایکس (XRF) استفاده شد. همچنین جهت یافتن سیکل پخت مناسب و مراحل سوختن فوم از آزمون TG استفاده گردید. سوختن کامل اسفنج پلیمری در دمای 600°C اتفاق می‌افتد و برای جلوگیری از شوک حرارتی و ایجاد ترک دما با نرخ گرم شدن 3°C/Min بالا رفت تا به دمای 600°C رسید و سپس جهت سوختن کامل فوم به مدت یک ساعت در دمای مذکور نگه داشته شد. سپس جهت مطالعه گروه‌های عاملی از طیف سنجی مادون قرمز برای شناسایی وجود ترکیبات آلی هیدروکسی‌آپاتیت و کامپوزیت TiO_2/HA در طی عملیات حرارتی استفاده شد. میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, Philips XL) نیز به منظور مطالعه و بررسی مشخصات ظاهری و ریخت‌شناسی داربست مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۵. طیف های پراش اشعه ایکس مربوط به HA طبیعی عملیات حرارتی شده در دمای ۹۰۰ °C

۲-۳- مشخصه یابی فلورسانس اشعه ایکس (XRF):

نتایج آنالیز عنصری پرتو ایکس (XRF) بر روی نمونه پودر تولیدی HA به روش طبیعی و TiO_2 مرک در جدول (۱) آورده شده است. این نتایج حضور فاز هیدروکسی آپاتیت مشابه فاز طبیعی و خلوص بالای TiO_2 را تأیید می کند.

جدول ۱- آنالیز نانو پودر HA و TiO_2

HA	
ترکیب	غلظت (%W/W)
CaO	51.16
P2O5	43.89
Na2O	1.07
SO3	0.972
MgO	0.952
SiO2	0.625
Cl	0.416
H2O	0.399
Al2O3	0.18
SrO	0.149
K2O	0.080
Fe2O3	0.069
CuO	0.037
ZnO	0.033
TiO2	0.027
LOI*	
جمع	100.06

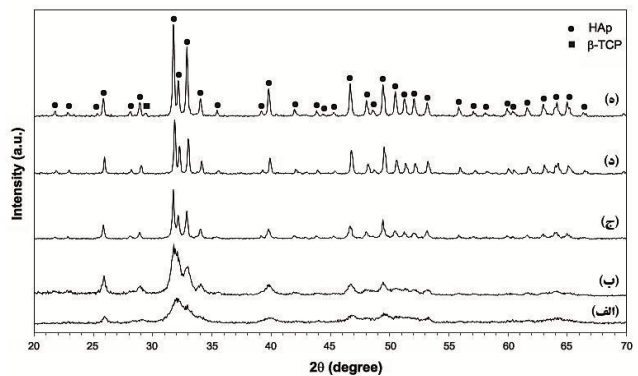
TiO2	
ترکیب	غلظت (%W/W)
TiO2	99.33
Al2O3	0.18
ZrO2	0.004
SiO2	0.110
P2O5	0.110
SO3	0.058
CaO	0.056
CuO	0.034
Nb2O5	0.024
Fe2O3	0.020
ZnO	0.017
K2O	0.013
LOI*	
جمع	99.96

مراکز تمرکز تنش آسیبی به ساختار سرامیکی وارد نکنند. بار اعمالی بر روی نمونه حدود ۳۰٪ طول اولیه داربست در نظر گرفته شد.

۳-نتایج و بحث:

۳-۱- مشخصه یابی پراش پرتو ایکس (XRD):

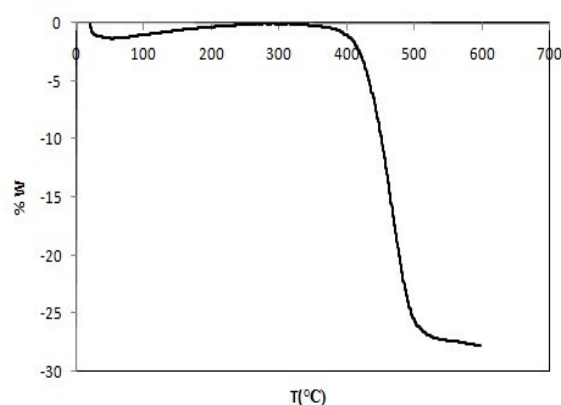
طیف های پراش پرتو ایکس خاکستر استخوان عملیات حرارتی شده در دماهای ۶۰۰، ۷۰۰، ۹۰۰ و ۱۱۰۰ °C را نشان می دهد. این طیف ها یک گرادیان افزایش وضوح و تیزی پیک ها را با افزایش دمای عملیات حرارتی نشان می دهد. همانطور که از شکل پیک ها مشاهده می شود با افزایش دما از پهنای پیک ها کاسته می شود و پیک های تیزو باریک با شدت بالا آشکار می شوند. این پدیده مربوط به بلورهای هیدروکسی آپاتیت و همچنین کاهش اندازه بلورهای هیدروکسی آپاتیت با افزایش دما می باشد. پیک های تیز، باریک و واضح موجود در شکل (د) ملاحظه می شود که محصول به دست آمده تک فاز هیدروکسی آپاتیت می باشد و نشان دهنده خلوص و بلوری شدن بالای ماده تولیدی در این دماست و هیچگونه فاز پایدار اضافی مشاهده نمی شود. همچنین همخوانی مناسبی بین پیک های پراش محصول با استاندارد JCPDS:9-432 (این استاندارد مربوط به نرم افزار XPert دستگاه XRD می باشد) وجود دارد. پیک های اصلی پراش اشعه ایکس پودر هیدروکسی آپاتیت طبیعی مربوط به صفحات (۲۱۱)، (۱۱۲)، (۳۰۰) و (۲۰۲) در دمای ۹۰۰ °C مشخص کننده تشکیل پودر هیدروکسی آپاتیت طبیعی حاصل از حرارت دادن استخوان می باشد که به دلیل تشابه آن با آپاتیت استخوان، برای مصارف پزشکی مورد استفاده قرار می گیرد [۵].



شکل ۴. طیف های پراش اشعه ایکس مربوط به HA طبیعی عملیات حرارتی شده در دماهای: الف) خاکستر استخوان ب) ۶۰۰ °C ج) ۷۰۰ °C د) ۹۰۰ °C ه) ۱۱۰۰ °C

۳-۳- آزمون TGA فوم پلی یورتان:

در این تحقیق تجزیه حرارتی انجام شده، دمای سوختن کامل اسفنج پلیمری را نشان می دهد. شکل (۴) بیان گر این واقعیت است و همانطور که مشاهده می شود تجزیه اسفنج پلیمری در دو مرحله صورت می گیرد. مرحله اول از حدود 200°C درجه شروع شده و تا دمای 400°C درجه ادامه می یابد. بخش عمده پلیمر در دمای بین 400°C تا 600°C از سیستم خارج می شود. به دلیل تولید میزان گاز در اثر اکسید شدن پلیمر، کاهش وزن زیادی در این مرحله مشاهده می شود. ازین رو در نظر گرفتن سرعت گرمایش آهسته در این مرحله برای جلوگیری از تخریب ساختار در اثر خروج گازهای ناشی از تجزیه حرارتی پلیمر امر ضروری است. در دماهای بالاتر از 600°C کاهش وزن کمی مشاهده می شود که آن را می توان به اکسید شدن مقداری از کربن حاصل از فرایند تجزیه پلیمر دانست.

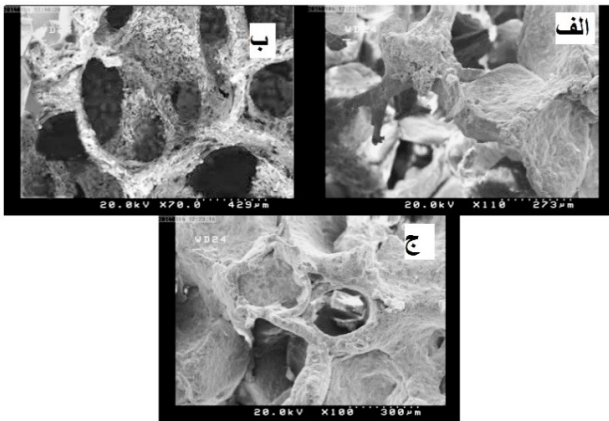


شکل ۶. نمودار TGA فوم پلی یورتان

۳-۴- بررسی نتایج آزمون FTIR:

همانطور که می دانیم آزمون FTIR جهت بررسی پیوندهای موجود در یک نمونه در حین پخت یا عملیات حرارتی مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین این تست برای نمونه های پلیمری مناسب تر می باشد اما جهت شناسایی رفتار مواد در حین پخت ناچار به استفاده از این تست گردیدیم. نتایج نشان می دهند که پیک های موجود در عدد موج 340 cm^{-1} تا 438 cm^{-1} از نظر بررسی مهم نیستند. در HA خالص یعنی نمونه بدون TiO_2 یک پیک در محدوده 1049 cm^{-1} به شدت دیده می شود که بیان گر گروه های

OH متصل به کربن یعنی C-O-H و همچنین نشان دهنده حرکات خمشی گروه فسفات است. همچنین یک تک پیک کوچک در 1091 cm^{-1} داریم که نشان دهنده OH های متصل به اتم های مجاور می باشد که این گروه های OH خود باعث پل زدن و ایجاد پیوند بین ذرات می شوند. در 3570 cm^{-1} یک پیک نسبتا شارپ داریم که مربوط به گروه OH درون مولوکولی یا همان مولکولهای آب ساختاری هستند که هرچه این پیک پهن تر شود پیوند هیدروژنی تر است. در TiO_2 خالص در حدود 1000 cm^{-1} هیچ پیک قابل توجهی دیده نمی شود و این به این معناست که گروه های OH و حرکات خمشی گروه فسفات وجود ندارد. با اضافه کردن درصد های TiO_2 به HA شاهد تغییر در روند پیک های نمودار می شویم. در حدود 3537 cm^{-1} تا 3432 cm^{-1} یک پیک داریم که با توجه به توضیح بالا مربوط به گروه OH ساختاری است که با افزایش درصد TiO_2 این پیک پهن تر می شود و به این معناست که پیوند هیدروژنی حاصل از سیتترینک TiO_2 و HA قوی تر و نیز تعداد پیوند ها بیشتر می شود که این خود بیانگر افزایش استحکام نمونه ها می باشد. در حدود 1124 cm^{-1} یک تک پیک کوچک داریم که با افزایش درصد TiO_2 این پیک شارپ تر شده که مربوط به گروه کربونیل یا C-O هستند. هرچه این پیک شارپ تر و پیک مربوط به ناحیه 1049 cm^{-1} پهن تر و کمتر باشد، بیانگر پیوند هیدروژنی قوی تر بین مولکول های OH از HA و O از TiO_2 می باشد [شکل ۷]. به طور کلی سیتتر کردن HA و TiO_2 باعث جبران ضعف پیوندی یکدیگر و افزایش استحکام کلی نمونه ها در نتیجه ی بالا رفتن تعداد پیوندهای هیدروژنی می شود. همچنین در TiO_2 خالص حرکات خمشی گروه فسفات قوی تر از حرکات کششی آن است و این مطلب در HA خالص برعکس است که در کامپوزیت این دو هردو پیک مربوط به حرکات خمشی و کششی مشاهده می گردد. همچنین نمودار مربوط به ۳ و ۶ درصد TiO_2 تفاوت چندانی ندارند. پس اختلاط این دو ماده مفید بوده و خواص مکانیکی مطلوبی حاصل گردید.



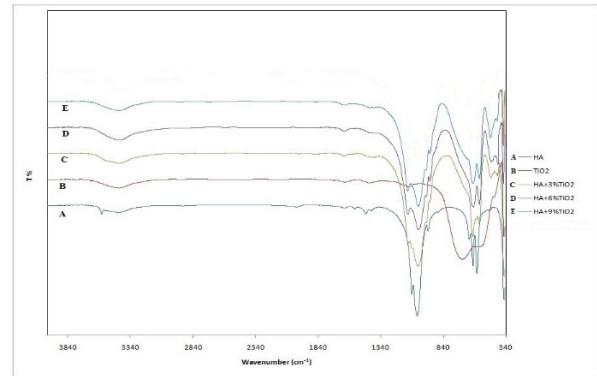
شکل ۹. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (الف) ۳٪ اکسید تیتانیوم (ب) ۶٪ اکسید تیتانیوم (ج) ۹٪ اکسید تیتانیوم

۷-۳- بررسی درصد تخلخل داربست هیدروکسی آپاتیت با و بدون TiO_2 :

در این تحقیق داربست کامپوزیت سرامیکی با روش تکرارپذیری اسفنج پلی یورتان با ۳، ۶ و ۹ درصد وزنی TiO_2 و ۵۰ درصد وزنی هیدروکسی آپاتیت ساخته شد. این اسفنج دارای قطر تخلخل های در محدوده ۳۰۰ تا ۷۰۰ میکرون می باشد [۲]. داربست ساخته شده دارای میانگین تخلخل حدود ۲۵۰ میکرون است. سایز تخلخل ها در تصویر SEM در شکل (۱۰) نشان داده شده است.



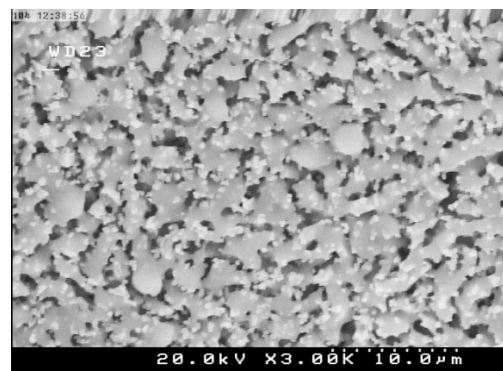
شکل ۱۰. تصویر SEM داربست متخلخل HA/TiO_2 با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر



شکل ۷. طیف FTIR داربست HA/TiO_2

۵-۳- ریخت شناسی پودر:

مورفولوژی و ریخت شناسی پودر HA/TiO_2 توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی در شکل (۸) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود ریزساختار داربست تهیه شده به صورت یکنواخت و مورفولوژی ذرات به صورت کروی و یکنواخت که اندازه ذرات در حدود ۳۵-۴۵ نانومتر می باشد.



شکل ۸. مورفولوژی ذرات داربست HA/TiO_2

۶-۳- ریخت شناسی ساختار متخلخل داربست:

همچنین جهت مقایسه ریز ساختار داربست سرامیکی با درصد های متفاوت اکسید تیتانیوم، تصویر میکروسکوپی گرفته شد و مشاهده گردید افزایش درصد TiO_2 تفاوت فاحشی در شکل ساختاری داربست و درصد تخلخل ایجاد نمی کند.

جدول ۳. مقایسه و بررسی تاثیر درصد TiO_2 بر دانسیته و ویسکوزیته

درصد TiO_2	ویسکوزیته (ثانیه)	دانسیته قبل از اضافه کردن آب	دانسیته بعد از اضافه کردن آب
٪۰	۱۸	۱/۴۸۲	۱/۴۰
٪۳	۱۹/۲۱	۱/۵۱۰	۱/۴۰
٪۶	۲۱/۰۲	۱/۵۱۶	۱/۴۰
٪۹	۲۲/۷۸	۱/۵۲۳	۱/۴۰

۳-۹- بررسی آزمون مکانیکی:

در این تحقیق داربست سرامیکی با روش تکرارپذیری اسفنج پلی یورتان با ۳، ۶ و ۹ درصد وزنی TiO_2 ساخته شد. جدول (۴) مروری بر ویژگی های ساختاری و خواص مکانیکی سرامیک زیست فعال با تخلخل بالا در مهندسی بافت استخوان می باشد. همانطور که مشخص است درصد تخلخل در نمونه مشابه که تنها از هیدروکسی آپاتیت ساخته شده است، ۸۶ درصد می باشد در صورتی که در تحقیق حاضر از میزان درصد تخلخل نمونه ها کاسته شد (حدود ۸۰ تا ۸۵ درصد). از طرف دیگر استحکام فشاری نمونه هیدروکسی آپاتیت ۰/۱۴ MPA می باشد در صورتی که در نمونه های کامپوزیتی این مقدار به ۱/۱۱ MPA تا ۱/۳۲۱ MPA افزایش یافته است. پس می توان نتیجه گرفت داربست کامپوزیتی حاضر از نظر استحکام بهتر از داربست HA به تنهایی می باشد ولی درصد تخلخل کمتری نسبت به داربست HA دارد.

در جدول (۲) میانگین درصد تخلخل داربست سرامیکی با درصد های یاد شده آورده شده است. طبق نتایج مشاهده می گردد که افزایش درصد TiO_2 تفاوتی در شکل ساختاری داربست ایجاد نمی کند و درصد تخلخل را به طور جزئی تغییر می دهد. طبق نتایج گزارش شده از مطالعات قبلی [۵] افزودن TiO_2 به هیدروکسی آپاتیت تغییر فاحشی در درصد تخلخل ایجاد نکرد و این خود یک مزیت محسوب می شود.

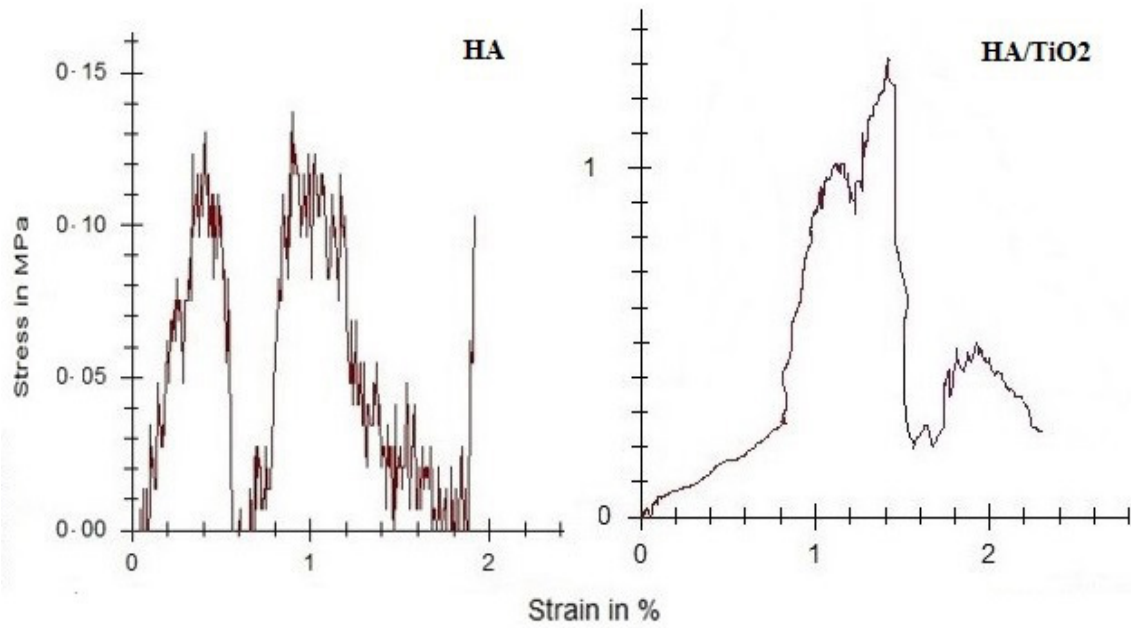
جدول ۲. مقایسه درصد تخلخل کامپوزیت مورد آزمایش با و بدون

روش	ماده	TiO_2	
		تخلخل (%)	مرجع
اسفنج پلیمری	TiO_2 HA تقویت شده با	۵۵-۶۵	تحقیق حاضر
	TiO_2 HA	۸۰-۸۵	تحقیق حاضر [۵]

۳-۸- بررسی و مقایسه تاثیر درصد TiO_2 بر

دانسیته و ویسکوزیته:

پس از آماده سازی دوغاب سرامیکی یاد شده در بخش پیشین، به منظور یکسان سازی شرایط فیزیکی، قبل از غوطه وری فوم، دانسیته دوغاب ها توسط استوانه مدرج و با اندازه گیری جرم واحد حجم (g/lit) و ویسکوزیته دوغاب ها توسط فورده کاپ با نازل ۴ اندازه گیری شد. طبق جدول (۳)، افزایش درصد TiO_2 باعث افزایش ویسکوزیته دوغاب می شود. دانسیته دوغاب نیز با توجه به درصد آب اضافه شده در فرمول آماده سازی دوغاب، جهت غوطه وری فوم بالا می باشد. لذا نیاز به پایین آوردن ویسکوزیته و یکسان سازی دانسیته دوغاب ها می باشد. جهت پایین آوردن ویسکوزیته نیاز به افزایش آب می باشد که کاهش دانسیته دوغاب را دربر خواهد داشت. در جدول (۳) ابتدا ویسکوزیته و دانسیته اندازه گیری، سپس به منظور رساندن دانسیته همه ی دوغاب ها به عدد $1/40 \text{ g/cm}^3$ ، آب اضافه گردید. علت بروز این رفتار از TiO_2 را می توان به خاصیت پرکنندگی آن نسبت داد.



شکل ۱۱. نمودار تنش- کرنش داربست کامپوزیتی HA/TiO₂

جدول ۴. مروری بر ویژگیهای ساختاری و خواص مکانیکی سرامیک زیست فعال مورد مطالعه

مرجع	استحکام فشاری (MP _a)	تخلخل (%)	ماده	نمونه داربست
تحقیق حاضر	۰/۱۴ ۱/۱۱-۱/۳۲۱	۸۶ ۸۳-۸۵	HA HA تقویت شده یا TiO ₂	داربست دوتایی
[۶]	۰/۱-۰/۳۵	۷۵-۸۵	شیشه زیست فعال 45S5	داربست دوتایی مشابه
[۷]	۰/۰۱-۰/۱۷۵	۸۵-۸۷	HA تقویت شده با شیشه	

۴- نتیجه گیری:

حاکی از این حقیقت است که افزایش استحکام مکانیکی داربستها به همراه عدم تغییر درصد تخلخل می تواند دامنه استفاده از این کامپوزیت را در علم پزشکی وسعت بخشد و افزودن TiO_2 به عنوان فاز تقویت کننده خواص مطلوبی به داربست مورد مطالعه می بخشد.

۸- با توجه به نتایج، خواص مکانیکی نمونه های تقویت شده با TiO_2 بهتر از نمونه های قبلی و بدون TiO_2 است و خواص مکانیکی مطلوبی با اضافه کردن آن بدست می آوریم.

مراجع:

1. Nhaput, C., Selmani, A., Rivard, C.H., "Artificial scaffolding materials for tissue extracellular matrix repair", *Current Opinion in Orthopaedics*, vol. 7(160), p. 62, 1996.
2. Gomes, M., "A Bone tissue engineering strategy based on starch scaffolds and bone marrow cells cultured in a flow perfusion bioreactor", Department of Polymer Engineering, University of Minho, 2004.
3. Lanza, R., Langer, R., Vacanti, J., Principle of Tissue Engineering, Academic Press, Third Edition, 2007.
4. Jun, I.K., "Porous Hydroxyapatite Scaffolds Coated With Bioactive Apatite-Wollastonite Glass-Ceramics", *J. Am. Ceram. Soc.*, pp. 1-6, 2007.
5. Oroughi. M.R, Karbasi.S, Ebrahimi-Kahrizangi.R, "Physical and mechanical properties of a poly-3-hydroxybutyrate-coated nanocrystalline hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering", *Journal of Porous Materials*. 667-67 19(5). 2012.
6. Montazeri M, Karbasi. S, Ebrahimi-Kahrizangi.R, "Physical and mechanical properties of a Poly hydroxybutyrate-Bio-Glass- scaffold for bone tissue engineering", *Journal of Porous Materials*. 565-77 20(5). 2012.
7. Monshi. A, Foroughi.M.R, Monshi. M.R, "Modified Scherrer Equation to Estimate More Accurately Nano-Crystallite Size Using XRD", *World Journal of Nano Science and Engineering*. 1542 (3). 2012.

نتایج حاصل از این پژوهش در ۴ مرحله ی ساخت و تفجوشی پودر هیدروکسی آپاتیت، ساخت و مشخصه یابی داربست هیدروکسی آپاتیت و دی اکسید تیتانیوم، بررسی مقاومت فشاری نمونه های تهیه شده و بررسی درصد تخلخل نمونه ها نشان می دهد که:

۱- نتایج حاصل از TGA نشان داد بهترین دما برای سوختن اسفنج پلی یورتان دمای $600^{\circ}C$ می باشد که برای ساخت داربست مناسب می باشد.

۲- نتایج FTIR و XRD نشان می دهد که پودر نانو کریستال هیدروکسی آپاتیت با اندازه ذرات بین ۳۵-۴۵ نانو متر پس از پخت در دمای $900^{\circ}C$ بدون هیچ گونه ناخالصی برای استفاده قرار گرفت.

۳- همچنین نتایج حاصل از ازمون FTIR مربوط به استخوان و پودر استخوان نشان میدهد که همه ترکیبات الی استخوان بعد از سوزاندن حذف می شوند. این شواهد نشان می دهد که سوزاندن استخوان باعث حذف کامل ترکیبات آلی استخوان می شود و با بالا رفتن درصد TiO_2 افزایش استحکام را به همراه داشتیم.

۴- با توجه به نتایج حاصل از درصد تخلخل در حدود ۸۰-۸۵ درصد به این نتیجه می رسیم که افزایش درصد دی اکسید تیتانیوم تاثیر چندانی بر درصد تخلخل نمونه ها نمی گذارد.

۵- با نتایج حاصل از دانسیته و ویسکوزیته دوغاب ها بیان گر این موضوع است که افزایش درصد TiO_2 باعث افزایش ویسکوزیته و گرانیروی دوغاب ها می شود.

۶- همچنین طبق اندازه گیری های انجام شده قبل و بعد از پخت قطعات، پایین بودن انقباض بعد از پخت به قدری بود که می توان گفت نتایج حاکی از عدم وجود شیرینکیج یا انقباض بعد از پخت نمونه ها می باشد.

۷- با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM شکل سه بعدی داربست ها و درصد تخلخل های باز نمونه ها