

# ساخت، مشخصه یابی و ارزیابی فعالیت زیستی فلئور هیدروکسی آپاتیت نانو کریستال

معصومه خاقانی<sup>۱\*</sup>، زهرا گلنیا<sup>۲</sup>، احمد منشی<sup>۳</sup>، مسعود کثیری<sup>۴</sup>، علی دوست محمدی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مواد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، نجف آباد، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، دانشکده مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، دانشکده مواد، دانشگاه آزاد اسلامی نجف آباد، نجف آباد، ایران

۵- استادیار، دانشکده مواد، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران

\*Pari.khaghani@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۰۳/۱۹، تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۴/۲۰)

## چکیده

هدف از پژوهش حاضر، ساخت و مشخصه یابی ذرات بیوسرامیک فلئور هیدروکسی آپاتیت در ابعاد نانومتر و ارزیابی فعالیت زیستی آن در محلول شبیه سازی شده بدن بود. پنتوکسید فسفر، کلسیم نترات و اسید هگزا فلئور فسفریک به ترتیب به عنوان منابع تأمین کننده فسفر، کلسیم و فلئور و به منظور حصول نسبت‌های استوکیومتری  $Ca/F=5$  و  $Ca/P=1.67$  استفاده شدند. جهت مشخصه یابی و ارزیابی ویژگی‌های محصول تولید شده، از آزمون‌های فلورسنس پرتو ایکس (XRF)، پراش پرتو ایکس (XRD)، طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) بهره گرفته شد. از روش شرر و روش نوین شرر اصلاح شده نیز جهت تعیین اندازه بلورهای فلئور هیدروکسی آپاتیت استفاده شد. به منظور ارزیابی فعالیت زیستی، ذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) به مدت سی روز غوطه ور گردید و از روش طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای تشخیص و تأیید تشکیل لایه آپاتیت بر روی سطح پودر استفاده شد. آنالیز عنصری نشان داد که عناصر و اکسیدهای لازم در مقادیر مورد نظر در ترکیب وجود دارند. نتایج آزمون پراش پرتو ایکس حضور تمام پیک‌های مربوط به ساختار فلئور هیدروکسی آپاتیت را در پودر تأیید کرد. نتایج طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ نیز جانشین شدن نسبی یون  $F^-$  با  $OH^-$  و تشکیل فلئور هیدروکسی آپاتیت را اثبات کرد. تصاویر گرفته شده توسط میکروسکوپ‌های الکترونی روبشی و عبوری نشان داد که پس از عملیات حرارتی در ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد، نانو ذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت با ابعاد کمتر از ۵۰ نانومتر و در اشکال شبه کروی حاصل شده‌اند. این نتیجه، تأییدی بر نتایج حاصل از روش‌های شرر و شرر اصلاح شده نیز بود. آزمون طیف سنج مادون قرمز و تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی تشکیل لایه آپاتیت را بر روی پودر فلئور هیدروکسی آپاتیت تأیید کردند که این خود نشانی از زیست‌فعالی نانو ذرات ساخته شده بود. نتایج حاصل نشان داد که به کمک روش سل-ژل می‌توان به نانو ذرات زیست‌فعال فلئور هیدروکسی آپاتیت با ترکیب و ساختار مطلوب دست یافت.

## واژه‌های کلیدی:

فلئور هیدروکسی آپاتیت، نانو کریستال، سل-ژل، زیست‌فعالی

## ۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، هیدروکسی آپاتیت (HA) و فلئور آپاتیت (FA) به عنوان دو بیوسرامیک مهم و پر کاربرد و هم‌چنین مشابه

خارجی استخوان یک یون فلئور به میزان یک درصد وزنی (معادل ۱۰۰۰۰ قسمت در میلیون) وجود دارد. حضور این مقدار فلئور در استخوان باعث جلوگیری از کم شدن چگالی استخوان، که عامل بیماری پوکی استخوان است، می‌گردد [۹]. علاوه بر این، یون  $F^-$  کانی شدن و بلوری شدن کلسیم فسفات را در فرایند تشکیل استخوان تشویق می‌کند [۱۰].

همان‌طور که بیان شد، با افزایش میزان جایگزینی فلئور در ساختار فلئور هیدروکسی آپاتیت نرخ انحلال آن کاهش یافته و با مقادیر مختلف جایگزینی فلئور این نرخ انحلالی قابل کنترل است. پایداری بهتر و نرخ انحلال کمتر فلئور آپاتیت در مقایسه با هیدروکسی آپاتیت می‌تواند نوید بخش استفاده از این ماده در کاربردهای آینده، به عنوان یک جایگزین مناسب برای هیدروکسی آپاتیت در انتقال دارو به بافت سخت باشد [۱۱].

به منظور تولید پودر نانومتری فلئور آپاتیت روش‌های مختلفی چون روش حالت جامد فعال سازی مکانیکی - شیمیایی [۱۲]، روش هیدروترمال - مکانیکی [۱۳] و روش سل - ژل [۱۲-۱۴] مورد استفاده قرار گرفته است. روش سل - ژل در کنار معایبی همچون استفاده از مواد اولیه گرانبه، دارای مزایایی چون حصول پودر با همگنی و درصد خلوص بالا و قابلیت کنترل دقیق میزان یون  $F^-$  وارد شده در ساختار است [۱۲-۱۴].

هرچند مطالعات گسترده‌ای پیرامون هیدروکسی آپاتیت انجام گرفته است، اما فلئور هیدروکسی آپاتیت کمتر مورد توجه پژوهشگران بوده است. در پژوهش حاضر به ساخت و مشخصه‌یابی کامل نانوذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت پرداخته شده است. به منظور تأیید ابعاد نانومتری ذرات و بلورهای آپاتیت علاوه بر میکروسکوپ الکترونی عبوری از روش شرر و روش نوین شرر اصلاح شده نیز بهره گرفته شد.

## ۲- مواد و روش تحقیق

نانوذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت به روش سل - ژل و با استفاده از مواد اولیه پیش‌ساز شامل پنتا اکسید فسفر  $(Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O)$ ، کلسیم نترات تتراهیدرات  $(P_2O_5, Merck)$

فاز معدنی بافت سخت بدن انسان، برای کاربردهای پزشکی مورد توجه قرار گرفته‌اند. تشابه ترکیب شیمیایی هیدروکسی آپاتیت با استخوان عامل مهمی است که زیست‌فعالی، قابلیت تحریک رشد استخوان و تاثیرات درمانی هیدروکسی آپاتیت را می‌توان به آن نسبت داد [۱].

اما مشکلی که کاربرد هیدروکسی آپاتیت را محدود می‌کند، حلالیت آن در محیط بدن است. این محدودیت باعث شده است که هیدروکسی آپاتیت در کاربردهای طولانی مدت، کمتر استفاده شود. یک راه حل برای این مسئله، جانشینی یون  $F^-$  با یون  $OH^-$  در ساختار هیدروکسی آپاتیت و ایجاد محلول جامد فلئور هیدروکسی آپاتیت  $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH,F)_2)$  است [۱-۳]. فرمول اصلی و کلی ارائه شده برای این ترکیب به صورت  $[FHA: (Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_{2-x}Fx)]$  می‌باشد که  $X$  درصد تئوریک جایگزینی یون‌های فلئور به جای گروه‌های هیدروکسیل در ساختار هیدروکسی آپاتیت را بیان می‌کند. جایگزینی گروه‌های  $OH^-$  در ساختار هیدروکسی آپاتیت با یون  $F^-$  منجر به شکل گیری و تشکیل ترکیب جدیدی با عنوان فلئور آپاتیت  $(Ca_{10}(PO_4)_6(F)_2)$  می‌شود که نسبت به پودر هیدروکسی آپاتیت خالص در محیط بیولوژیکی مزایایی چون تشکیل سریع تر آپاتیت، جذب بهتر پروتئین و سلول‌های استخوان ساز بر روی سطح و نرخ انحلال کمتر دارد [۳]. هم‌چنین فلئور آپاتیت پایداری شیمیایی و ساختاری بیشتری نسبت به هیدروکسی آپاتیت دارد [۴] و سازنده لایه خارجی دندان نیز به شمار می‌رود [۵]. مشخص شده است که فاز معدنی دندان در زیر مینا دارای حدود ۰/۰۴ تا ۰/۰۷ درصد وزنی یون فلئورید است [۶] و مینای دندان که لایه بیرونی سطح دندان را تشکیل می‌دهد از فلئور آپاتیت با ۵۰ درصد جایگزینی یون‌های فلئور به جای گروه‌های هیدروکسیل، با ترکیب شیمیایی  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  تشکیل گردیده است [۷].

فلوراید در جلوگیری از پوسیدگی دندان در محیط باکتریایی و اسیدی موثر است، از این رو بیشتر تحقیقاتی که در مورد این ماده صورت می‌گیرد در زمینه دندانپزشکی است [۸]. در قشر

گردید.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- آنالیز عنصری

آنالیز عنصری به روش فلورسانس پرتو ایکس بر روی پودر فلئوئور هیدروکسی آپاتیت و به منظور تأیید حضور اکسیدها در ترکیب مطابق درصد وزنی مورد نظر، انجام گرفت. نتایج به دست آمده از جدول (۱) با تقریب قابل قبولی مشابه درصدهای وزنی محاسبه شده در نمونه بود.

جدول (۱): نتیجه آنالیز عنصری پرتو ایکس و درصد مولی اکسیدهای تشکیل دهنده فلئوئور هیدروکسی آپاتیت.

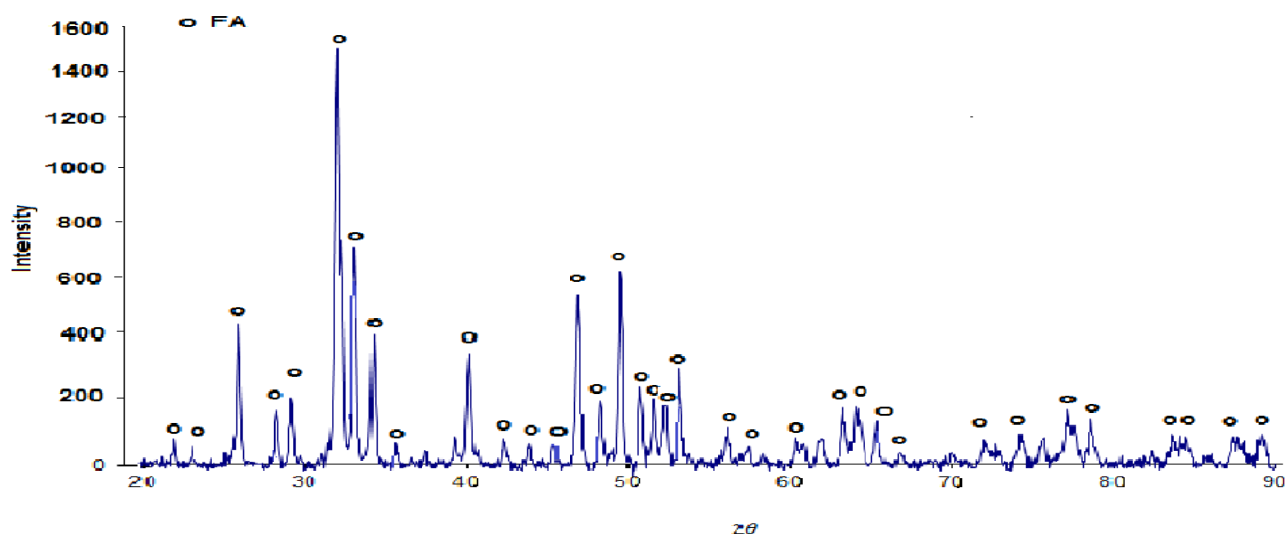
درصد مولی	اکسید
۶۲٫۰۸	CaO
۳۳٫۰۹	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
۴٫۲۰	F

#### ۳-۲- مطالعه ساختار فازی به کمک پراش پرتو ایکس

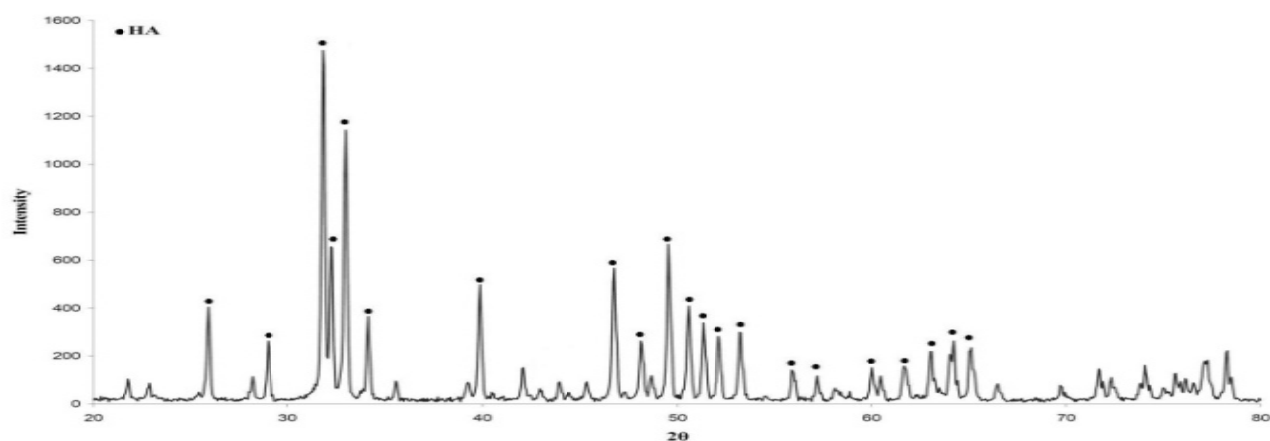
نتیجه آزمون پراش پرتو ایکس بر روی ذرات فلئوئور هیدروکسی آپاتیت در شکل (۱) نشان داده شده است. به منظور یک ارزیابی مقایسه‌ای، طیف حاصل از آزمون پراش پرتو ایکس هیدروکسی آپاتیت نیز در شکل (۲) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که به جز فاز آپاتیت سایر فازهای ناخواسته در ترکیب پودر تولیدی حضور ندارند. مشخص است که برخی پیک‌ها با ورود یون فلئوئور به ساختار آپاتیتی، به سمت زوایای بالاتر شیف‌ت پیدا می‌کنند. شیف‌ت پیک‌های مشخصه آپاتیت در اثر حضور یون فلئوئور در ساختار آپاتیت ناشی از کاهش پارامتر شبکه *a* در اثر جایگزینی نسبی یون فلئوئور به جای گروه‌های هیدروکسیل، که دارای شعاع یونی بزرگ‌تری نسبت به یون فلئوئور هستند، می‌باشد.

(Merck)، اسید هگزافلوئورفسفریک (HPF<sub>6</sub>, Merck) و اتانل مطلق (Absolute Ethanol, Merck) به عنوان حلال آلی، تهیه شد. در ابتدا و در دو ظرف جداگانه، نیترات کلسیم و پنتا اکسید فسفر در اتانول حل شدند. سپس مقدار مشخصی (۱۴۰ میکرولیتر) از اسید هگزافلوئورفسفریک در محلول حل شد. محلول حاصل در دمای محیط و به مدت ۲۴ ساعت با همزن مغناطیسی هم زده شد تا سل اولیه به ژل با گرانیوی مناسب تبدیل گردید. ژل بدست آمده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در آون الکتریکی به مدت ۲۴ ساعت خشک شد تا توده جامدی حاصل شود. ژل خشک شده به صورت دستی در هاون خرد و به صورت پودر درآمد. پودر حاصل به مدت یک ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد تف جوشی و پس از آن به کمک آسیاب دستی به ذرات بسیار ریز شکسته شد.

آنالیز فلورسانس پرتو ایکس (XRF: Bruker, S4PIONEER) بر روی نمونه پودری و به منظور تأیید حضور اکسیدها در ترکیب نهایی مطابق درصد مولی مورد نظر انجام گرفت. به منظور بررسی تغییرات ساختار و مطالعه فازی فلئوئور هیدروکسی آپاتیت، از روش پراش پرتو ایکس (XRD: Philips, XPert) بهره گرفته شد. پس از حصول الگوی پراش پرتو ایکس، جهت مطالعه گروه‌های عاملی از تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR: 6300, JASCO, Japan) در محدوده طیف ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ (Cm<sup>-1</sup>) استفاده شد. از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, Seron Technology, AIS2100) به منظور ارزیابی و بررسی مشخصات ظاهری نانوذرات تولید شده بهره گرفته شد. از روش شرر و روش نوین شرر اصلاح شده جهت تعیین اندازه بلورها استفاده شد. در نهایت به منظور تأیید این نتایج و بررسی اندازه و شکل ذرات و بلورهای پودر تولید شده، از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM, Philips) استفاده



شکل (۱): الگوی پراش پرتو ایکس ذرات فلوئور هیدروکسی آپاتیت.



شکل (۲): الگوی پراش پرتو ایکس هیدروکسی آپاتیت [۱۵].

(۳۰۰)، (۲۰۲)، (۳۱۲)، (۱۲۳)، (۳۱۱)، (۱۱۳) و (۲۳۲)، ۴۴ نانومتر بدست آمد. سپس در مرحله ی بعد، اندازه بلورک های فلوئور آپاتیت از روش نوین اندازه گیری کریستال های نانو ذره هم محاسبه شد [۱۶]. در این روش از رابطه شرر لگاریتم طبیعی (ln) گرفته می شود (رابطه ۲):

(۲)

$$\beta = \frac{k\lambda}{L \cos\theta} \Rightarrow \ln \beta = \ln \frac{k\lambda}{L} + \ln \frac{1}{\cos\theta}$$

اندازه بلورک های نانو پودر فلوئور هیدروکسی آپاتیت با توجه به اطلاعات مربوط به پراش پرتو ایکس (XRD) از رابطه شرر محاسبه گردید (رابطه ۱) [۱۵].

$$L = 0.89\lambda / \beta \cos\theta \quad (1)$$

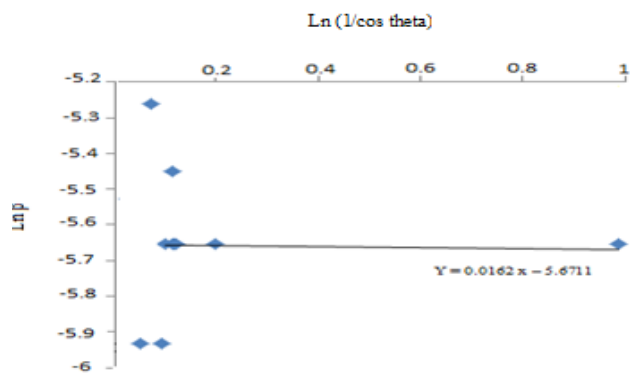
در این رابطه،  $L$  اندازه بلورک کریستال،  $\lambda$  طول موج اشعه ایکس،  $\beta$  پهنای پیک بیشینه در نصف ارتفاع (رادیان) و  $\theta$  زاویه بر حسب درجه می باشد. پس از محاسبه، اندازه بلورک فلوئور هیدروکسی آپاتیت مربوط به صفحات (۰۰۲)، (۱۰۲)، (۱۲۱)،

نتایج بدست آمده از مطالعات فازی پودر تولید شده به خوبی نشان می‌دهد که محصول فرآیند سل-ژل و عملیات حرارتی متعاقب آن، ترکیب فلئور هیدروکسی آپاتیت، یک ساختار نانو کریستالی است [۱۷]. این بیوسرامیک دارای درجه پایینی از ناخالصی و درجه بالایی از تبلور می‌باشد. این مشاهده ناشی از کاهش پارامتر شبکه  $a$  در اثر جایگزینی یون فلئور به جای گروه‌های هیدروکسیل است که دارای شعاع یونی بزرگتری نسبت به یون فلئور می‌باشند. در صورتی که این جایگزینی منجر به عدم تغییر پارامتر شبکه  $c$  شده است.

### ۳-۳- ارزیابی ترکیب به کمک طیف سنجی تبدیل فوریه (FTIR) فرو سرخ

نتیجه بررسی ساختاری (طیف سنجی تبدیل فوریه فرو سرخ) فلئور هیدروکسی آپاتیت تولید شده به روش سل-ژل در شکل (۴-الف) ارائه شده است. با توجه به طیف به دست آمده، مشخص شد که در طیف فلئور هیدروکسی آپاتیت، پیک اضافه‌ای که بیان کننده جایگزینی گروه‌های عاملی ناخواسته در ترکیب آپاتیت یا حضور ناخالصی‌ها باشد، وجود ندارد. در شکل (۴-ب) طیف FTIR هیدروکسی آپاتیت به منظور مقایسه با طیف فلئور هیدروکسی آپاتیت نشان داده شده است [۱۸]. همان‌طور که در شکل‌های (۴-الف) و (۴-ب) مشاهده می‌شود تمایز ساختار فلئور هیدروکسی آپاتیت و هیدروکسی آپاتیت به دلیل نزدیکی و شباهت ساختاری آن‌ها، بسیار مشکل است [۱۹]. به طور کلی در هر دو نمونه، ساختار آپاتیت با طول موج‌های  $610-560 \text{ cm}^{-1}$  و  $1100-950 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود هم‌چنین یک پیک کوچک در طول موج  $960 \text{ cm}^{-1}$  که مربوط به بانده فسفاتی ساختار آپاتیت است در ساختار هر دو نمونه دیده می‌شود. در واقع آنچه ساختار هیدروکسی آپاتیت را از ساختار فلئور آپاتیت متمایز می‌سازد، باندهای مرتبط با گروه‌های هیدروکسیل شبکه‌ای (آب شبکه‌ای) در طول موج‌های  $633 \text{ cm}^{-1}$  و نیز  $3570 \text{ cm}^{-1}$  می‌باشد [۱۹]. چهار پیک مرتبط با ارتعاشات  $\nu_1$ ،  $\nu_2$ ،  $\nu_3$  و  $\nu_4$  از گروه‌های فسفاتی در ترکیب آپاتیت به روشنی قابل تشخیص هستند. پیک‌های مرتبط با

اکنون با رسم نمودار تغییرات  $\ln \beta$  بر حسب  $\ln (1/\cos\theta)$  و با استفاده از کمترین مربعات خطا، عرض از مبدأ ترسیم شده  $\ln(k\lambda/l)$  به دست می‌آید.



شکل (۳): منحنی نسبت  $\ln \beta$  بر حسب  $\ln (1/\cos\theta)$  بر اساس داده‌های پیک‌های فاز فلئور آپاتیت در الگوی پراش پرتو ایکس (XRD).

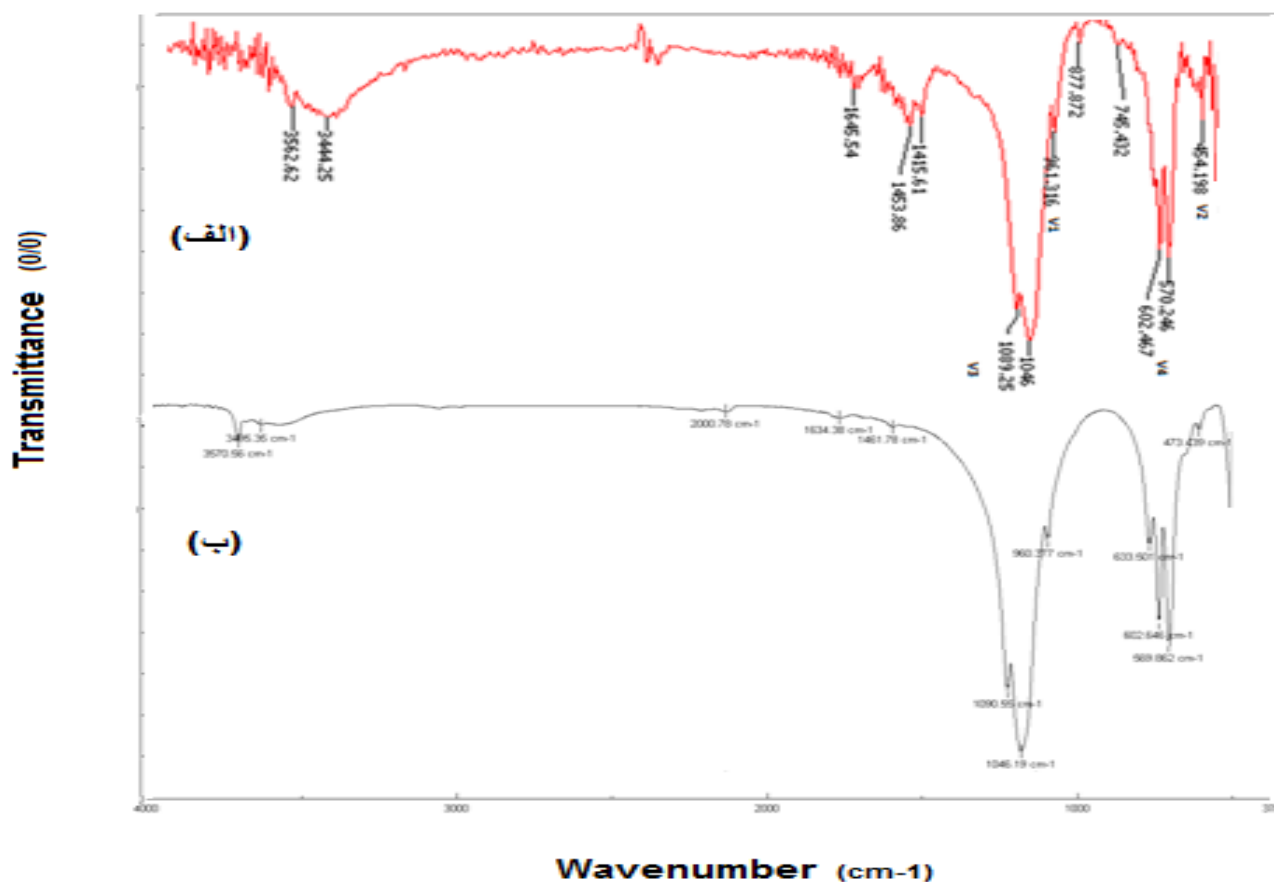
پس از محاسبات مربوطه بر روی نتایج آنالیز فازی (XRD) پودر فلئور هیدروکسی آپاتیت، عرض از مبدأ عدد  $5/67$  به دست آمد. لذا با توجه به اینکه عرض از مبدأ برابر  $5/67$ ،  $\lambda = 1/540.598 \text{ \AA}$  و  $K = 0/89$  می‌باشد، اندازه بلورک فلئور هیدروکسی آپاتیت به طور میانگین  $41$  نانومتر محاسبه گردید. نتایج حاصل در جدول (۲) مشاهده می‌شود. با توجه به نتایج بدست آمده انتظار می‌رود که محصول حاصل از این فرایند از متوسط اندازه دانه نانومتری برخوردار باشد. البته در این پژوهش اختلاف اعداد به دست آمده از دو روش مذکور  $1$  تا  $4$  نانومتر بود که مقدار قابل توجهی نیست. ولی مسلماً روش اصلاح شده شرر، به دلیل کاهش عوامل خطا، اندازه دقیق‌تری از بلورها بدست می‌دهد.

جدول (۲): اندازه دانه بدست آمده برای بلورهای فلئور هیدروکسی آپاتیت با استفاده از روش‌های شرر و شرر اصلاح شده.

اندازه دانه (nm)	روش اندازه گیری
$44 \pm 0.7$	شرر
$40 \pm 0.3$	شرر اصلاح شده

حضور این پیک گزارش شده است. ارتعاش ۷۳ از ارتعاشات مربوط به گروه‌های فسفاتی، که شدیدترین ارتعاش موجود در میان ارتعاشات معرف فسفات در ترکیب آپاتیت است، نیز در محدوده طول موج  $1100-1000 \text{ cm}^{-1}$  به صورت یک پیک گسترده با شدت بالا مشاهده شد.

ارتعاشات  $\nu_1$  و  $\nu_2$  به ترتیب در  $961 \text{ cm}^{-1}$  و  $454 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شدند. پیک مشاهده شده در موقعیت  $745 \text{ cm}^{-1}$  مشخصه زنجیره هیدروکسیلی است که در ساختار آپاتیت، غنی از فلئور شده و تأییدی بر جایگزین شدن کامل گروه‌های هیدروکسیل در ساختار آپاتیت با یون فلئور که در نتایج سایر پژوهش‌ها نیز

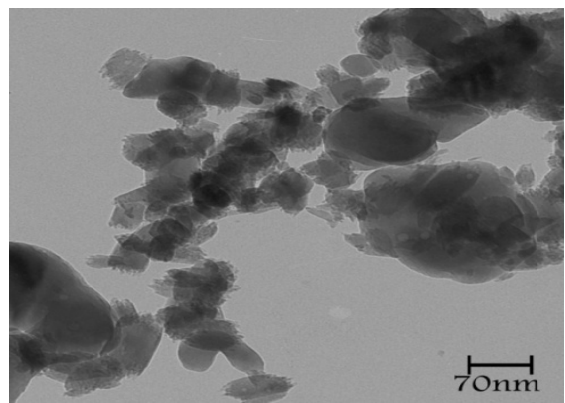
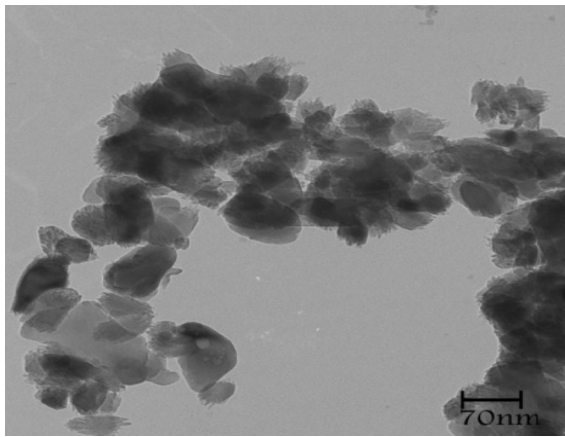


شکل (۴): طیف سنجی تبدیل فوریه فرورسرخ، الف) فلئور هیدروکسی آپاتیت و ب) هیدروکسی آپاتیت [۱۵].

۳-۴- بررسی شکل و اندازه ذرات به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)  
در شکل (۵) تصاویر تهیه شده به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از ذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت تهیه شده به روش سل-ژل مشاهده می‌شود. ظاهر متخلخل و سطح ویژه بالای ذرات به خوبی در تصاویر شکل (۵) قابل ملاحظه است.

نهایتاً دو پیک در طول موج‌های  $602 \text{ cm}^{-1}$  و  $570 \text{ cm}^{-1}$  معرف ارتعاش  $\nu_4$  از مجموعه ارتعاشات گروه فسفات بودند. پیک‌های  $877 \text{ cm}^{-1}$ ،  $1415 \text{ cm}^{-1}$  و  $1450 \text{ cm}^{-1}$  گروه‌های کربناتی را نشان می‌دهند، دو پیک پهن و کشیده در طول موج‌های  $1645 \text{ cm}^{-1}$  و  $3444 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به آب ساختاری در فلئور هیدروکسی آپاتیت می‌باشد.

مورفولوژی کروی با اندازه ذرات کمتر از ۵۰ نانومتر هستند. نتایج حاصل از این پژوهش به خوبی نشان می‌دهد که فرایند سل-ژل و عملیات حرارتی متعاقب آن می‌تواند منجر به حصول نانو ذرات فلئورآپاتیت شود. نتیجه بدست آمده از تصاویر TEM، نتایج بدست آمده از روش‌های شرر و شرر اصلاح شده را تأیید می‌کند.



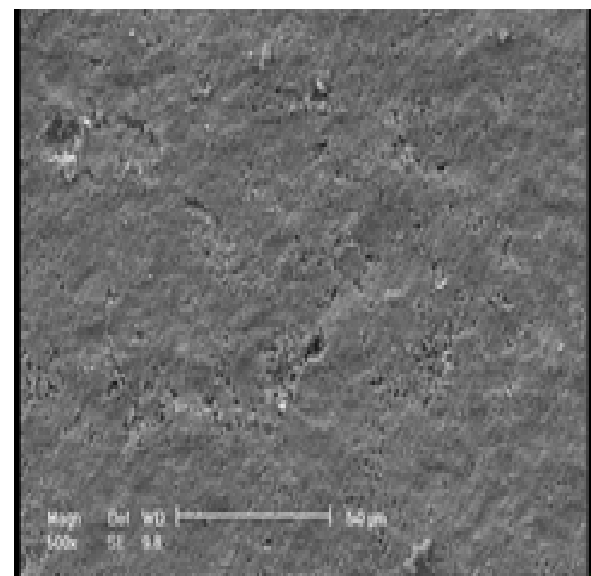
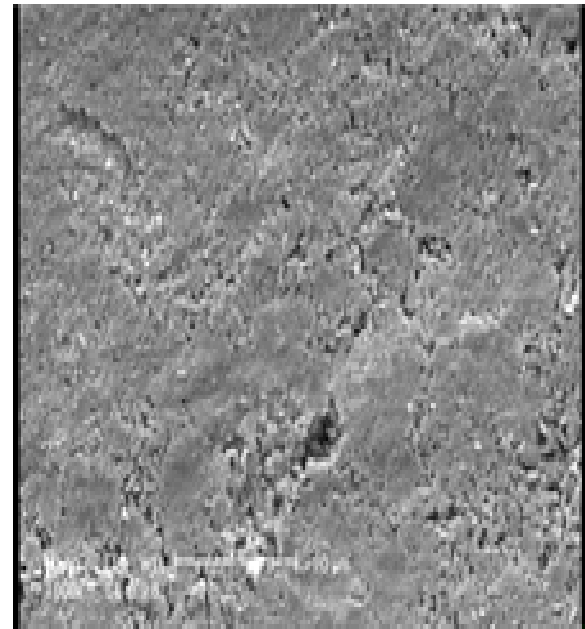
شکل (۶): تصاویر تهیه شده از ذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری.

### ۳-۶- مطالعه رفتار زیست فعالی پودر فلئورآپاتیت در

محلول شبیه سازی شده بدن (SBF)

### ۳-۶-۱ آزمون میکروسکوپ روبشی (SEM)

مورفولوژی و میزان آپاتیت راسب بر سطح ذرات پودری فلئورآپاتیت، قبل و بعد از غوطه‌وری در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF)، توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی ارزیابی شد. رسوب آپاتیت در نتیجه انجام فرایند انحلال و رسوب در

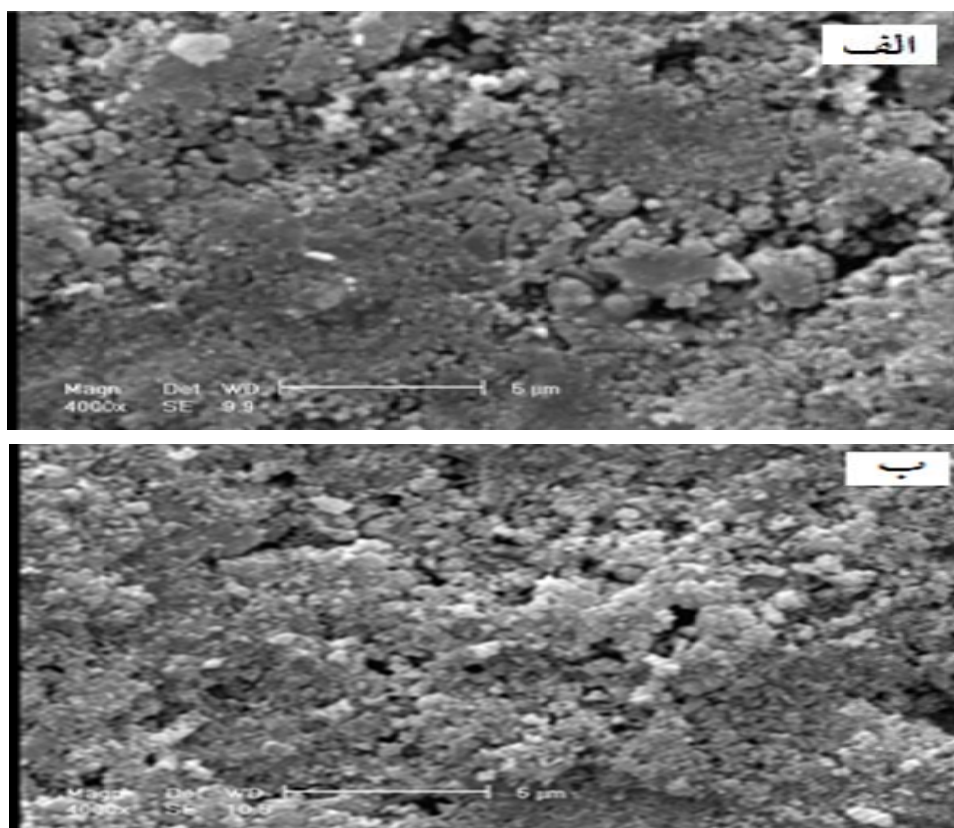


شکل (۵): تصاویر گرفته شده از ذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی.

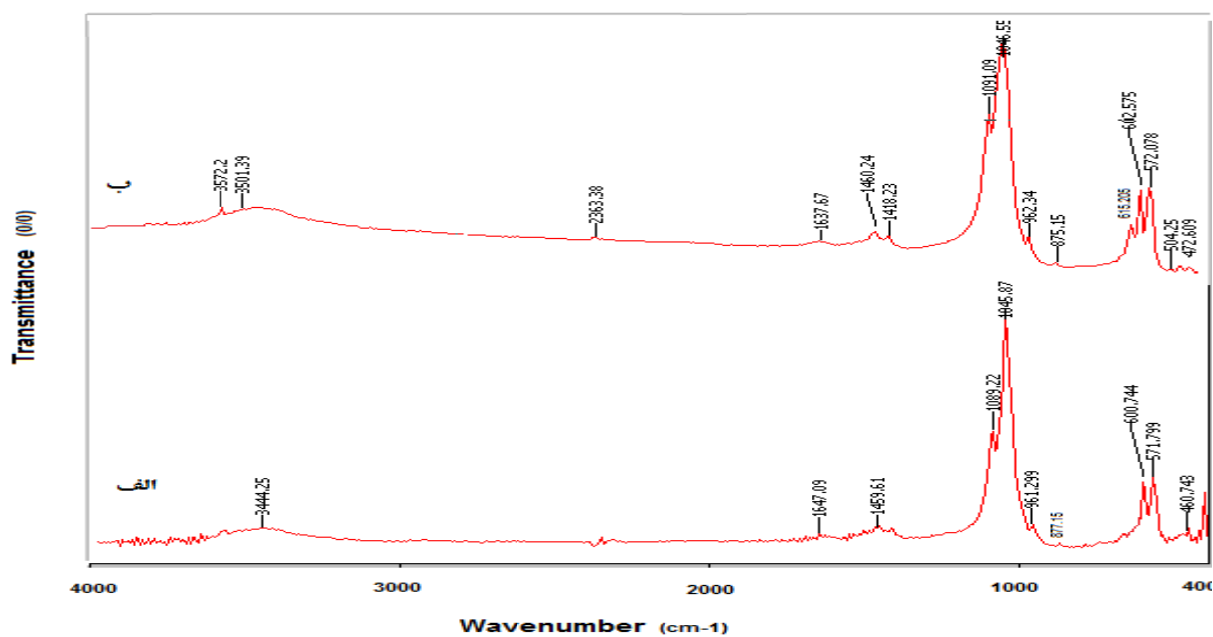
### ۳-۵- ارزیابی اندازه ذرات به کمک میکروسکوپ الکترونی

عبوری (TEM)

در شکل (۶) تصاویر تهیه شده به کمک میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) از ذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود ذرات فلئور هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل، دارای



شکل (۷): تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه فلئوئور هیدروکسی آپاتیت: الف) قبل از غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF)، ب) بعد از غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF).



شکل (۸): نمودار طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ فلئوئور هیدروکسی آپاتیت: الف) قبل و ب) بعد از غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF).



و شرر اصلاح شده نیز نشان داد که ذرات ساخته شده، ابعاد کمتر از ۵۰ نانومتر دارند. نتایج مربوط به ارزیابی زیست فعالی پودر فلئوئور هیدروکسی آپاتیت نشان دادند که واکنش شیمیایی پودر فلئوئور هیدروکسی آپاتیت با مایع شبیه سازی شده بدن سبب تشکیل لایه آپاتیت بر روی سطح پودر شد. از این رو ذرات فلئوئور هیدروکسی آپاتیت ساخته شده می تواند به عنوان یک ماده زیست فعال در بدن و بویژه در دندان به کار برده شود.

#### ۵- تشکر و قدردانی

به این وسیله از زحمات بی دریغ جناب آقایان مهندس اکبر منتظری و مهندس اکبر چمی به خاطر فراهم کردن امکانات آزمایشگاهی در جهت انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می گردد.

#### ۶- مراجع:

- [1] H.W. Denissen, W. Kalk, H.M. Nieuport, C. Mangano, J.C. Maltha, International Journal of Prosthodontics, Vol. 4, 432, 1991.
- [2] H.W. Denissen, "Fluorapatite and Hydroxyapatite Heat-Treated Coatings for Dental Implants", Proceeding of Bioceramics and Human Body, Faenza, Italy, pp. 130-140, 1991.
- [3] Kui Cheng, GeShen, WenjianWeng, Gaorong Han, Jose M.F. Ferreira, Juan Yang, "Synthesis of hydroxyapatite/fluoroapatite solid solution by a sol-gel method", Materials Letters, Vol. 51, pp. 37-41, 2001.
- [4] M.J. Larsen, S.J. Jensen, Archives of Oral Biology, 34, 1989, 969
- [5] M.J. Finkelstein, G.H. Nancollas, Journal of Biomedical Materials Research, 14, 533, 1980.
- [6] G. Bovini, P. J. Meunier, "The Metabollic and Molecular Basis of Acquired Disease", Edited by R. D. Cohen, B. Lewis, K. G. M. M. Alberti and A. M. Desman (Bailliere Tindall, London, 1990.
- [7] E.C. Moreno, M. Kresak, R.T. Zahradnik. "Fluoridated Hydroxyapatite Solubility and Caries Formation", Nature, 247, 64, 1974.
- [8] E.C. Moreno, M. Kresak, R.T. Zahradnik, Nature, 247, 64, 1974.
- [9] C.L. Deal. Osteoporosis: Prevention, Diagnosis, and Management. [Review] Am J Med, 102(1A) (Suppl), 1997.

محلول شبیه سازی شده بدن انسان (SBF)، بر سطح ذرات پودری تشکیل می شود. نتایج در شکل (۷) نشان داده شده است.

#### ۳-۶-۲- بررسی زیست فعالی توسط طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR)

نتیجه ارزیابی نانو ذرات فلئوئور هیدروکسی آپاتیت در شکل (۸) نشان داده شده است. نمودارهای شکل (۸) مربوط به نمونه، قبل و بعد از غوطه وری به مدت سی روز و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در محلول شبیه سازی شده بدن است. پیک های شاخص فسفات و سیلیکات که در آزمون طیف سنجی فلئوئور آپاتیت گزارش شده اند [۱۹]، کاملاً با نتایج طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ بر روی فلئوئور هیدروکسی آپاتیت در محلول شبیه سازی شده بدن تطابق دارد.

همان گونه که در منحنی ب مشاهده می شود، در محدوده  $1200-1000 \text{ cm}^{-1}$  پیک فسفات (پیک پهن P-O) قابل مشاهده است. این پیک نشان از تشکیل لایه آمورف  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$  در نزدیکی سطح دارد [۱۸]. به علاوه در شکل مذکور در محدوده  $620-550 \text{ cm}^{-1}$  پیک پیوند P-O نیز در طیف قابل مشاهده است. پیک های دو گانه پیوند P-O که در طول موج های  $572 \text{ cm}^{-1}$  و  $602 \text{ cm}^{-1}$  دیده می شوند، نشانه ی تشکیل لایه ی آپاتیت بر روی ذرات فلئوئور هیدروکسی آپاتیت است. نتیجه آزمون غوطه وری نشان می دهد که نانو ذرات فلئوئور آپاتیت ساخته شده به روش سل-ژل، از زیست فعالی مناسبی در محلول SBF برخوردار هستند. این فعالیت زیستی، به دلیل وجود ترکیب کلسیم فسفاتی آپاتیت در این ساختار است.

#### ۴- نتیجه گیری

در این پژوهش از روش سل-ژل به منظور ساخت نانو ذرات فلئوئور هیدروکسی آپاتیت بهره گرفته شد. مشخصه یابی کامل ذرات ساخته شده، حصول فلئوئور هیدروکسی آپاتیت با ترکیب و ساختار مطلوب را تأیید کرد. بررسی و مشاهده ذرات فلئوئور هیدروکسی آپاتیت توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و هم چنین محاسبه اندازه دانه ها به کمک روش های شرر

- [14] H.W. Kim, H.E.Kim, J.C.Knowles, " Fluoro-Hydroxyapatite Sol-Gel Coating on Titanium Substrate for Hard Tissue Implants", *Biomaterials*, Vol. 25, pp.3351-3358, 2004.
- [15] Cullity, B.D., " Elements of X-Ray Diffracton", Addison-Wesley, 1978.
- [۱۶] منشی، ا، "به کارگیری روشی نوین در اندازه گیری نانو ذرات با استفاده از رابطه شرر و پراش پرتو ایکس"، فصلنامه علمی تخصصی مهندسی مواد مجلسی، سال دوم، شماره ششم، ص ص ۹-۱۸، پاییز ۱۳۸۷.
- [۱۷] زهرانی، ا، تأثیر زمان پیرسازی ژل بر خلوص و ترکیب فازی نانو پودر فلونورآپاتیت تولید شده به روش سل-ژل، دانشکده مواد، دانشگاه صنعتی.
- [18] A. Doostmohammadi, A. Monshi, M.H. Fathi, O. Brassiant, "A Comparative Physico-Chemical Study of Bioactive Glass and Bone-Derived Hydroxyapatite", Vol. 37(5), pp. 1601-1607, 2011.
- [19] C.P. Rodrigo, "Synthesis and Characterization of Strontium Fluorapatite", Bachelor of Science, University of Colombo, 2001.
- [10] R.Z. Legeros, L.M Silverstone, G.Daculsi, L.M.Kerebel, *Journal of Dental Research*, 62, 135, 1985.
- [11] L. Gineste, M. Gineste, X. Ranz., A.Elleferion, A. Guihem, N. Rouquet, P. Frayssinet, "Degradation of Hydroxyapatite, Fluorapatite and Fluorhydroxyapatite Coatings of Dental Implants in Dogs", *J. Biomed. Mater. Res.*, 48, 224, 1999.
- [12] I. Nikcevic , V. Jokanovic , M. Mitric, Z. Nedic , D. Makovec, and D. Uskokovic, " Mechanochemical synthesis of Nanostructured Fluorapatite / Fluorhydroxyapatite and Carbonated Fluorapatite / Fluorhydroxyapatite", *J. of Solid State Chemistry*, 177, pp. 2565-2574, 2004.
- [13] H. Zhang, Q. Zhu, Z.Xiu, "Mechanochemical-Hydrothermal Synthesis and Characterization of Fluoridated Hydroxyapatite", *Materials Research Bulletin*, Vol. 40, pp.1326-1334, 2005.