

تولید سرامیک زیست سازگار هیدروکسی آپاتیت از خاکستر استخوان و بررسی اثر دمای فرآیند تولید بر خلوص فازی و ترکیب شیمیایی آن

موسی یونسی^۱، مهدی جاویدی^۲، حمیدرضا فولادفر^۱، محمدابراهیم بحرالعلوم^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر مجلسی

۲- استادیار، دانشگاه شیراز

۳- استاد، دانشگاه شیراز

Mousa_younesi_3@yahoo.com

چکیده

خاکستر استخوان از سوزاندن استخوان گاو در محدوده دمایی ۴۵۰-۳۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه تولید شد. این ماده سیاه رنگ در دماهای ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰ و ۱۱۰۰ درجه سانتی گراد برای تولید هیدروکسی آپاتیت به مدت ۹۰ دقیقه در معرض هوا حرارت داده شد. آنالیز ترکیبی مادون قرمز (FTIR) بر روی پودرهای تولیدی در این دماها انجام گردید. همچنین آنالیز تفرق اشعه ایکس بر روی نمونه‌های تولیدی در دمای مختلف به منظور بررسی اثر دما بر خواص ساختاری ماده تولیدی انجام گرفت. مشخص گردید پودر حاصله هیدروکسی آپاتیت می‌باشد. آنالیز ترکیبی طیف‌سنجی مادون قرمز بر روی این پودرها نشان داد که پودر تولیدی در دمای ۸۰۰ درجه سانتی گراد عاری از هر گونه ترکیب آلی می‌باشد. نتایج آنالیز پراش پرتو ایکس همچنین نشان داد که پودر تولیدی در دمای ۸۰۰ درجه سانتی گراد، هیدروکسی آپاتیت می‌باشد. هیدروکسی آپاتیت تولید شده تا دمای ۱۱۰۰ درجه سانتی گراد از لحاظ ساختاری، پایدار می‌باشد و دانسیته پودر هیدروکسی آپاتیت تولید شده در دمای ۸۰۰ درجه سانتی گراد، ۳/۱۸۷ گرم بر سانتی متر مکعب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی:

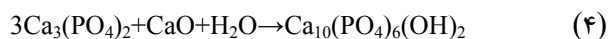
هیدروکسی آپاتیت، پراش اشعه ایکس، اسپکتروسکوپی مادون قرمز.

۱- مقدمه

هیدروکسی آپاتیت جزء معدنی و اصلی تشکیل دهنده استخوان می‌باشد که در درمان ضایعات استخوان و یا ساخت کاشتنی‌های مورد استفاده در دندانپزشکی یا ارتوپدی به‌علت زیست سازگاری آن کاربرد فراوان دارد [۱ و ۲]. فسفات کلسیم به‌خاطر

خاصیت زیست‌فعالی^۱ آن به‌طور وسیع در ارتوپدی استفاده می‌شود [۳].

روش‌های متفاوتی برای تولید هیدروکسی آپاتیت مورد استفاده قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان رسوب‌گذاری [۴ و ۵]، هیدرولیز [۶ و ۷] و سنتز هیدروگرمایی [۸ و ۹] را نام برد. در میان همه این روش‌ها، روش رسوب‌گذاری از همه مرسوم‌تر می‌باشد.



در همین راستا گروهی از محققین کره‌ای به تولید پودر فسفات کلسیم از استخوان ماهی پرداختند [۱۴]. این فرآیند مشابه روش تولید اکسید کلسیم به وسیله ریورا می‌باشد [۱۱].

سنتز هیدروگرمایی هیدروکسی آپاتیت از استخوان گاو به وسیله جیناویت^۳ و همکارانش گزارش شده است [۱۵]. در این تحقیق به تولید هیدروکسی آپاتیت از استخوان گاو به وسیله عملیات حرارتی پرداخته و پس از آن به بررسی اثر دمای فرآیند عملیات حرارتی بر ترکیب شیمیایی و خواص ساختاری آن به وسیله آنالیزهای ترکیبی و ساختاری پرداخته شده است.

۲- روش تحقیق

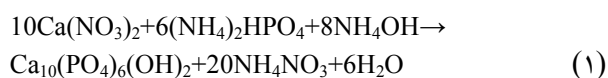
پس از تهیه استخوان ران گاو ابتدا آن را به مدت ۱ ساعت در آب جوشانده تا گوشت و چربی‌های متصل به آن جدا شود. سپس استخوان‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا رطوبت آن خشک شود.

استخوان‌ها به وسیله مشعل در هوا به مدت ۲ ساعت سوزانده می‌شود تا ترکیبات آلی آن تجزیه شود. ماده حاصل از این فرآیند خاکستر سیاه رنگ استخوان می‌باشد که برای تولید هیدروکسی آپاتیت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

پس از این فرآیند پودر هیدروکسی آپاتیت و همچنین بررسی اثر دمای فرآیند تولید آن، این خاکستر سیاه رنگ را در دماهای ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰ و ۱۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه حرارت می‌دهیم. ماده حاصل از این مرحله پودر سفید رنگ هیدروکسی آپاتیت می‌باشد.

اسپکتروسکوپی مادون قرمز (FTIR) یک ابزار توانمند برای آنالیز و شناسایی بیومتریال‌ها می‌باشد. از این ابزار برای شناسایی وجود ترکیبات آلی و همچنین درجه دی‌هیدروکسیلاسیون هیدروکسی آپاتیت در طی عملیات حرارتی استفاده شده است. برای همین منظور آنالیز ترکیبی مادون قرمز توسط یک اسپکترومتر مادون قرمز (Shimadzu 8300) بر روی پودرهای تولیدی در دماهای مورد نظر انجام شد.

یکی از واکنش‌های مورد استفاده برای تولید هیدروکسی آپاتیت به روش رسوب گذاری، واکنش نترات کلسیم با دی‌آمونیم هیپوفسفات به ترتیب زیر می‌باشد.



یکی از مشکلات اصلی این فرآیند تولید نترات آمونیوم می‌باشد که باعث آلودگی محیط زیست می‌گردد. یکی دیگر از واکنش‌های مورد استفاده در روش رسوب گذاری واکنش بین اسید فسفریک و هیدروکسید کلسیم می‌باشد:



محصولات واکنش بالا هیدروکسی آپاتیت و آب می‌باشد که هیچ مشکل آلاینده‌گی برای محیط زیست ندارد.

در کل استفاده از فرآیند رسوب گذاری برای تولید هیدروکسی آپاتیت نیازمند تنظیم دقیق ترکیب و خلوص مواد اولیه مورد استفاده، pH و دمای محلول مورد استفاده برای فرآیند رسوب گذاری و مهمترین پارامتر، در نظر گرفتن نسبت استوکیومتری Ca/P می‌باشد.

اما یک روش جایگزین و مناسب برای تولید هیدروکسی آپاتیت استخراج آن از منابع طبیعی می‌باشد. سخت پوستان دریایی [۱۰]، پوست تخم مرغ [۱۱ و ۱۲] و پوست تخم شتر مرغ [۱۳]، برای تولید هیدروکسی آپاتیت یا به عنوان یک جایگزین برای استخوان مورد بررسی و آنالیز قرار گرفته‌اند.

ماده اصلی تشکیل دهنده پوست استخوان کربنات کلسیم (۹۴٪) و فسفات کلسیم (۱٪) می‌باشد. ریورا^۲ و همکارانش [۱۱]، با سوزاندن پوست تخم مرغ در دمای ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت، کربنات کلسیم موجود در پوست تخم مرغ را طبق واکنش زیر به اکسید کلسیم تبدیل کردند:



اکسید کلسیم تولیدی را با محلول فسفات کلسیم مخلوط کردند و ماده حاصل را به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۰۵۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دادند که طبق واکنش زیر هیدروکسی آپاتیت تولید گردید:

به طیف مادون قرمز استخوان با پودر خاکستر استخوان نشان می‌دهد که همه ترکیبات آلی استخوان بعد از سوزاندن حذف می‌شود. به عنوان مثال باندهای مربوط به گروه‌های آمیدی (1250 cm^{-1} ، 1560 cm^{-1} و 1650 cm^{-1}) که در طیف مربوط به استخوان قابل رویت هستند در طیف مربوط به خاکستر استخوان وجود ندارد. همچنین باندهای جذبی مربوط به پیوندهای C-H در طیف مربوط به خاکستر استخوان مشاهده نمی‌شود. این شواهد نشان می‌دهد که سوزاندن استخوان باعث حذف کامل ترکیبات آلی استخوان می‌شود [۱۷]. بنابراین همه باندهای جذبی موجود در شکل (۱)، مربوط به ترکیبات معدنی موجود در استخوان می‌باشد.

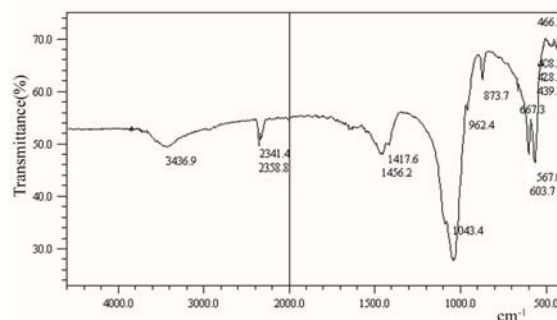
طیف‌های مادون قرمز موجود در شکل (۲)، مربوط به نمونه‌های خاکستر استخوان است که در دماهای 600 ، 700 ، 800 و 1100 درجه سانتی‌گراد عملیات حرارتی شده‌اند. مقایسه این طیف‌ها وجود یک سری تغییرات جزئی را با افزایش دما نشان می‌دهد. باند جذبی موجود در عدد موج 3341 cm^{-1} به ترتیب با افزایش دما حذف می‌شود که می‌تواند مربوط به حذف کربن موجود در خاکستر استخوان به صورت دی‌اکسید کربن باشد.

این پدیده کاملاً موافق با تغییر رنگ خاکستر استخوان از سیاه به سفید با افزایش دما می‌باشد. همچنین یک باند جذبی پهن در عدد موج 3436 cm^{-1} در طیف شکل (۱) دیده می‌شود.

در طیف‌های شکل (۲)، با افزایش دما به یک باند جذبی لاغر و کوچک تبدیل شده و یا حذف می‌شود که این باند مربوط به کش آمدن پیوندهای کربوکیلیل می‌باشد.

علاوه بر این‌ها دیده شد که با افزایش دما تا 1100 درجه سانتی‌گراد، باند جذبی موجود در عدد موج $634/5\text{ cm}^{-1}$ که مربوط به لرزش یون‌های هیدروکسیل می‌باشد، به این افزایش حساس بوده و ناپدید می‌شود، ولی باند جذبی موجود در عدد موج $3571/9\text{ cm}^{-1}$ که مربوط به کش آمدن یون‌های هیدروکسیل می‌باشد، دارای پایداری بیشتر بوده و پهن تر می‌شود.

این پدیده مربوط به پدیده دی‌هیدروکسیلاسیون هیدروکسی



شکل (۱): طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز مربوط به خاکستر سیاه رنگ استخوان.

همچنین برای بررسی اثر دمای فرآیند بر ساختار و ترکیب فازی و همچنین خلوص ماده تولیدی آنالیز ساختاری اشعه ایکس توسط دستگاه پراش اشعه ایکس (Bruker D8) بر روی پودرهای تولیدی در دماهای مورد نظر انجام شد. در این روش از اشعه K مس استفاده شد و آنالیز پودرهای تولیدی در زاویه‌های $5 < \theta < 20$ انجام گردید. مورفولوژی پودر تولیدی به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (JSM-JEOL SEM) (5410LV scanning electron microscope) مورد بررسی قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیز مادون قرمز

طیف اسپکتروسکوپی مادون قرمز خاکستر استخوان در شکل (۱) نشان داده شده است. در این طیف یک سری از باندهای جذبی در ناحیه میانی امواج مادون قرمز دیده می‌شود، یک باند قوی در عدد موج 1043 cm^{-1} ، باند دیگر در عدد موج 1456 cm^{-1} ، یک باند ضعیف در 1417 cm^{-1} و یک باند جذبی تیز در عدد موج 667 cm^{-1} . آنالیز مادون قرمز استخوان که اخیراً توسط بروسکی^۴ و کاماچو^۵ انجام شد، نشان داد که ترکیبات معدنی اصلی استخوان، فسفات و کربنات می‌باشد که مربوط به هیدروکسی آپاتیت است و یک سری از باندهای جذبی مربوط به گروه‌های آمیدی می‌باشد که مربوط به پروتئین‌های موجود در استخوان است (کلاژن) [۱۶]. مقایسه نتایج مربوط

برای تبدیل خاکستر استخوان به هیدروکسی آپاتیت دمای ۸۰۰ درجه سانتی گراد بوده و به همین خاطر هیدروکسی آپاتیت تولیدی در این دما را هیدروکسی آپاتیت طبیعی (NHA) می‌نامیم.

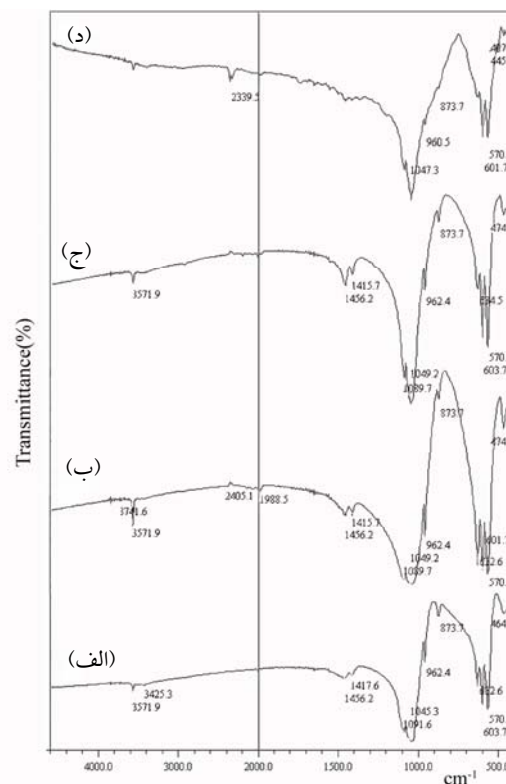
۳-۲- آنالیز پراش اشعه ایکس

شکل (۳)، طیف‌های پراش اشعه ایکس خاکستر استخوان و همچنین خاکستر استخوان عملیات حرارتی شده در دماهای ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰ و ۱۱۰۰ درجه سانتی گراد را نشان می‌دهد. این طیف‌ها یک گرادیان افزایش وضوح و تیزی پیک‌ها را با افزایش دمای عملیات حرارتی نشان می‌دهد. در طیف (۳-الف) که مربوط به خاکستر استخوان می‌باشد، مشاهده می‌شود که پهنای پیک‌ها زیاد و شدت و وضوح پایینی دارند که نشان‌دهنده وجود مقادیر بسیار کمی از کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت در این ماده است.

بقیه طیف‌های پراش اشعه ایکس که مربوط به نمونه‌های خاکستر استخوان عملیات حرارتی شده می‌باشد، دارای پیک‌های تیز، باریک و با شدت بالا است. این پدیده می‌تواند مربوط به افزایش کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت و همچنین کاهش اندازه کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت با افزایش دما باشد. شپمن^۷ و همکارانش [۲۰]، نیز این تغییر در اندازه ذرات هیدروکسی آپاتیت را با افزایش دما مشاهده کردند.

با توجه به طیف‌های پراش اشعه ایکس ارائه شده در شکل (۳)، دیده می‌شود که خاکستر استخوان در دمای ۶۰۰ درجه سانتی گراد شروع به تبلور می‌کند بدون اینکه به ساختارهای دیگر خانواده فسفات‌های کلسیم تجزیه یا تبدیل شود. پیک‌های مربوط به تجزیه هیدروکسی آپاتیت به ساختارهای تری کلسیم فسفات و تتراکلسیم فسفات در هیچ کدام از طیف‌های مربوط به دماهای زیر ۸۰۰ درجه سانتی گراد (الف) و (ب) مشاهده نمی‌شود.

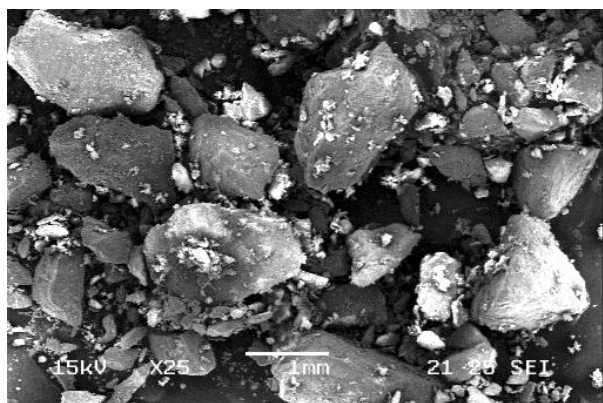
پیک‌های تیز، باریک و واضح موجود در طیف (ج)، کاملاً مربوط به هیدروکسی آپاتیت می‌باشد و نشان‌دهنده خلوص و کریستالینیتی بالای ماده تولیدی در این دما است. در طیف پراش



شکل (۲): طیف‌های آنالیز مادون قرمز مربوط به هیدروکسی آپاتیت که در دماهای متفاوت حرارتی شده است: (الف) ۶۰۰°C، (ب) ۷۰۰°C، (ج) ۸۰۰°C، (د) ۱۱۰۰°C.

آپاتیت در دماهای بالای ۸۵۰ درجه سانتی گراد می‌باشد. طیف مادون قرمز مربوط به نمونه‌ای که در دمای ۸۰۰ درجه سانتی گراد عملیات حرارتی شد، کاملاً مشابه با طیف مادون قرمز ماده هیدروکسی آپاتیت مرجع (HA-SRM) سنتز شده از روش شیمیایی می‌باشد که به وسیله مارکوویچ^۸ و همکارانش مورد آنالیز قرار گرفته است [۱۸].

باند جذبی لرزشی موجود در نقاط 634cm^{-1} و کششی موجود در 3571cm^{-1} مربوط به گروه‌های OH^- است و باندهای موجود در نقاط 1049 ، 570 ، 603 ، 962 ، 474 و 1089cm^{-1} مربوط به گروه PO_4^{3-} می‌باشد. علاوه بر این باندهای جذبی در $873/7$ ، $1415/7$ و $1456/2\text{cm}^{-1}$ مربوط به یون‌های کربنات هستند. یون‌های کربنات، ناخالصی‌های معمول موجود در هر دو نوع هیدروکسی آپاتیت طبیعی و سنتزی می‌باشند [۱۷ و ۱۹]. نتایج آنالیزهای مادون قرمز در این تحقیق نشان داد که بهترین دما



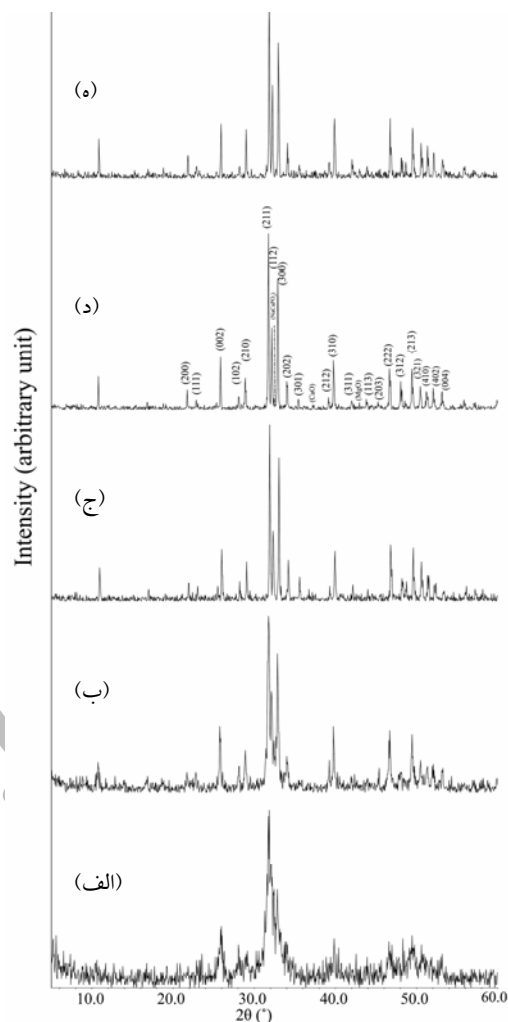
شکل (۴): مورفولوژی ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت که در دمای 800°C عملیات حرارتی شده است.

در دمای 1100°C درجه سانتی گراد، هیدروکسی آپاتیت شروع به تغییر ساختار کرده و به تری کلسیم فسفات- بتا تبدیل می شود. همان طور که گفته شد اندازه کریستال ها بر روی پهنای پیک ها تأثیر می گذارد. این نکته باید خاطر نشان شود که آنالیز XRD فقط یک تقریب از توزیع اندازه کریستال ها می دهد. بنابراین تغییر در پهنای پیک ها نشان دهنده تغییر در توزیع اندازه کریستال ها می باشد. در کل فاکتورهای شیمیایی فراوانی هستند که بر روی اندازه کریستال های هیدروکسی آپاتیت تأثیر می گذارد.

از آن جمله، تغییر ماهیت استخوان در فرآیند سوختن به خاطر خارج شدن رطوبت آن، تبلور مجدد کریستال اجزاء معدنی استخوان و همچنین حذف کامل فیبرهای کلاژن از استخوان می باشد که بر روی اندازه کریستال های استخوان تأثیر گذار هستند. شکل (۴)، ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت تولید شده به وسیله عملیات حرارتی استخوان را نشان می دهد.

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق پودر هیدروکسی آپاتیت که یک ماده بسیار پر مصرف در ارتوپدی و دندان پزشکی می باشد از سوزاندن استخوان تولید شد و پس از آن به بررسی اثر دمای فرآیند تولید بر روی خواص و ترکیب شیمیایی هیدروکسی آپاتیت تولیدی پرداخته شد. با توجه به نتایج حاصل از آنالیزهای مادون قرمز و پراش



شکل (۳): طیف های آنالیز پراش پرتو ایکس مربوط به هیدروکسی آپاتیت که در دماهای متفاوت عملیات حرارتی شده است: (الف) 600°C ، (ب) 700°C ، (ج) 800°C ، (د) 1100°C .

اشعه ایکس پودر تولیدی در دمای 1100°C درجه سانتی گراد (ه)، یک پیک با شدت پایین در زاویه 2 برابر با $31/1$ دیده می شود که مربوط به ساختار تری کلسیم فسفات- بتا می باشد. با حرارت دادن خاکستر استخوان به مدت 3 ساعت در دمای 1100°C درجه سانتی گراد این پیک با شدت کم ظاهر می شود، در صورتی که در طیف های مربوط به دماهای پایین تر، این پیک وجود ندارد. این نتایج نشان دهنده این مطلب است که در دماهای پایین تر از 1100°C درجه سانتی گراد هیچ گونه تغییر ساختار مربوط به تبدیل هیدروکسی آپاتیت به تری کلسیم فسفات- بتا وجود ندارد، ولی

- [11] E. M. Rivera, A. Araiza, W. Brostow, V. M. Castano, J. R. Diaz-Estrada, R. Hernandez and J. Rogelio Rodriguez et, Mater. Letter 41, pp. 128-134, 1999.
- [12] D. Siva Rama Krishna, A. Siddharthan, S. K. Seshadri and T. S. Sampath Kumar, J. Mater. Sci. Mater. Med. 18, pp. 1735-1743, 2007.
- [13] L. Dupoirieux, Br. J. Oral Maxillofaci. Surgery 37, pp. 467-471, 1999.
- [14] S. J. Lee, Y. C. Lee and Y. S. Yoon, J. Ceram. Process. Res. 8 [6], pp. 427-430, 2007.
- [15] S. Jinawath, D. Pongkao and M. Yoshimura, J. Mater. Sci. Mater. Med. 13, pp. 491-494, 2002.
- [16] A. Boskey and N. P. Camacho, Biomaterials 28, pp. 2465-2478, 2007.
- [17] K. Haberko, M. M. Bucko, J. Brzezinska-Miecznik, M. Haberko, W. Mozgawa, T. Panz, A. Pyda and J. Zarebski, J. Europ. Ceram. Soc. 26, pp. 537-542, 2006.
- [18] M. Markovic, B. O. Fowler and M. S. Tung, J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol. 109, pp. 553-568, 2004.
- [19] S. Joschek, B. Nies, R. Krotz and A. Gopferich, Biomaterials 21, pp. 1645-1658, 2000.
- [20] P. Shipman, G. Foster and M. Schoeninger, J. Archaeol. Sci. 11, pp. 307-325, 1984.

اشعه ایکس که بر روی پودرها انجام گردید، می توان نتیجه گرفت که بهترین دما برای تولید هیدروکسی آپاتیت از استخوان به روش عملیات حرارتی، دمای ۸۰۰ درجه سانتی گراد می باشد. در این دما هیدروکسی آپاتیت تولیدی هم از نظر خلوص و ترکیب شیمیایی و هم از نظر توزیع اندازه کریستال ها دارای بهترین شرایط می باشد.

۵- مراجع

- [1] Y. Tanaka, Y. Hirata and R. Yoshinaka, J. Ceram. Process Res. 4, pp. 197-201, 2003.
- [2] V. P. Orlovskii, V. S. M Komlev and S. M. Barinov, Inorganic Materials, No. 38, pp. 973-984, 2002.
- [3] L. D. Dorr, Z. Wan, M. Song and A. Ranawat, J. Arthroplasty, No. 13, pp. 729-736, 1998.
- [4] M. Asada, Y. Miura, A. Osaka, K. Oukami and S. Nakamura, J. Mater. Sci. 23, pp. 3202-3205, 1988.
- [5] M. Jarcho, C. H. Bolen, M. B. Thomas, J. Bobic, J. F. Kay and R. H. Doremus, J. Mater. Sci. 11, pp. 2027-2035, 1976.
- [6] H. Monma and T. Kaymiya, J. Mater. Sci. 22, pp. 4247-4250, 1987.
- [7] D. M. Liu, T. Troczynski and D. Hakimi, J. Mater. Sci. Mater. Med. 13, pp. 657-665, 2002.
- [8] E. Sada, H. Kumazama and Y. Murakami, Chem. Eng. Comm, No. 103, pp. 57-64, 1991.
- [9] H. Takeo, H. Yasuhiko and Y. Murakami, J. Mater. Sci. Letter 8, pp. 305-306, 1989.
- [10] M. Manjubala, S. Kumar, T. S. Sampath Kumar and K. Panduranga Rao, J. Mater. Sci. Mater. Med. 11, pp. 705-709, 2000.

۶- پی نوشت

- 1- Osteoconductive
- 2- Rivera
- 3- Jinawith
- 4- Broskey
- 5- Camacho
- 6- Markovic
- 7- Shipman