

## مقایسه خواص فیزیکی - شیمیایی سه نوع پوشش نانوساختار شیشه زیست فعال و زیست فعالی آنها

مجتبی نصرافهانی<sup>۱</sup>، محمد حسین فتحی<sup>۲</sup> و حامد ادريس<sup>۳</sup>

۱- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد

۲- دانشیار، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- کارشناسی ارشد مهندسی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد

m-nasresfahani@iaun.ac.ir

### چکیده

هدف از این پژوهش تهیه، توسعه و مشخصه یابی سه نوع پوشش نانو ساختار شیشه زیست فعال به روش سل-ژل برای اصلاح زیست سازگاری فولاد زنگ نزن ۳۱۶ L به منظور به کارگیری در مصارف پزشکی و دندانپزشکی بود. سه نوع فیلم زیست فعال ۴۵ S، ۴۹ S و ۵۸ S به روش سل-ژل و با استفاده از ترکیبات مختلف از شیشه زیست فعال بر روی صفحات فولاد زنگ نزن ۳۱۶ L تهیه شد. خواص فیزیکی- شیمیایی شامل ریخت شناسی سطح، بلورینگی، ابعاد بلور و چسبندگی به زیر لایه فولادی سه نوع فیلم توسط تکنیک های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)<sup>۱</sup>، پراش اشعه X (XRD)<sup>۲</sup>، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)<sup>۳</sup> و آزمون خراش متقاطع مورد بررسی قرار گرفت. فیلم های شیشه زیست فعال بدون ترک و هموژن بدون هیچگونه نقص قابل مشاهده، آمورف، با ابعاد ذره کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر و یک چسبندگی عالی بین فیلم ها و زیر لایه فولاد زنگ نزن (۵ B) به دست آمد. زیست فعالی پوشش های شیشه زیست فعال به وسیله فروردن پوشش ها در مایع شبیه سازی شده بدن (SBF)<sup>۴</sup> به مدت ۳۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. بعد از ۳۰ روز غوطه وری، یک لایه کامل کربناتی حاوی آپاتیت بر روی سطح فیلم ۴۵ S تشکیل شد، در حالی که بر روی فیلم های ۴۹ S و ۵۸ S این لایه به صورت ناقص تشکیل می شود.

### واژه های کلیدی:

شیشه زیست فعال، نانوساختار، فولاد زنگ نزن، فرآیند سل-ژل.

### ۱- مقدمه

آلیاژها با توجه به خواص مکانیکی مطلوب و قابلیت تحمل بارهای فیزیولوژیکی در مناطق تحت بار در پزشکی و دندانپزشکی رایج است، اما زیست فعالی پایین آنها و همبندی ضعیف با استخوان و آزاد شدن یونهای مضر و سمی که سبب

ساخت بیومادی که توانایی تشکیل یک پیوند مستحکم با بافت استخوان برای ترمیم مناسب سیستم اسکلتی داشته باشد مقصد علمی و تکنولوژیکی علم بیومواد است [۱]. استفاده از فلزات و

جدول (۱): مقادیر پیش‌ماده برای تهیه سه ترکیب شیشه زیست‌فعال.

ترکیب	۴۵ S	۴۹ S	۵۸ S
TEOS	۱۶٫۶ ml	۱۸٫۲ ml	۲۰٫۵ ml
TEP	۱۰٫۲ ml	۲٫۵ ml	۲٫۱ ml
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	۱۹٫۳ g	۱۶٫۵ g	۱۳ g

مقاومت در برابر خوردگی و زیست‌فعالی در یک ماده می‌باشد. در این راستا به‌خاطر خواص و قابلیت جفت و جور‌کنندگی فرآیند سل-ژل، اجرای پوشش روی فلزات با استفاده از فرآیند سل-ژل یک انتخاب ویژه است [۹ و ۱۰].

در این تحقیق به‌منظور بهره‌مندی از مزایای ساختارهای نانو، شیشه زیست‌فعال نانو ساختار با ترکیب ۴۵ S، ۴۹ S و ۵۸ S به‌روش سل-ژل تهیه و بر روی فولاد ۳۱۶L به‌روش لایه نشانی چرخشی لایه نشانی شد. بعد از مشخصه‌یابی فیزیکی و شیمیایی، لایه‌ها تحت آزمون آزمایشگاهی جهت مشخص شدن زیست‌فعالی آنها قرار گرفت.

## ۲- روش تحقیق

### ۲-۱- مواد لازم

تترااتیل اورتوسیلیکات (TEOS)، با خلوص ۹۹ درصد، تری‌اتیل فسفات (TEP)، کلسیم نیترات چهار آبه (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O)، اتانول خالص (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) و هیدروکلریک اسید (HCl) ۳۵ درصد از شرکت مرک<sup>۶</sup> برای تهیه سل و فیلم‌های لایه نازک شیشه زیست‌فعال استفاده شد. این مواد شیمیایی بدون هیچ‌گونه خالص‌سازی مورد استفاده قرار گرفت. در کلیه واکنش‌ها از آب دو بار تقطیر استفاده شد. جهت لایه نشانی شیشه‌های زیست‌فعال از صفحات فولاد زنگ‌نزن ۳۱۶L به‌ابعاد ۲ mm × ۲/۵ cm × ۷/۵ cm استفاده شد.

### ۲-۲- تهیه سل شیشه زیست‌فعال

شیشه‌های زیست‌فعال با سه ترکیب ۴۵ S، ۴۹ S و ۵۸ S در سیستم CaO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> تهیه گردید. در جدول (۱) مقادیر پیش‌سازهای استفاده شده برای تهیه سه ترکیب مذکور ارائه شده است. ابتدا آب دی‌یونیزه و اسید کلریدریک که به‌عنوان کاتالیزور جهت کاهش زمان ژله‌ای شدن و افزایش سرعت واکنش‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه هم زده می‌شود.

سپس تترااتیل اورتوسیلیکات (TEOS) و اتانول که در ظرف دیگر آماده گردیده است به‌محلول قبلی اضافه می‌شود. از اتانول به‌عنوان دی‌سپرس کننده استفاده گردید تا اینکه از رشد ذرات

ایجاد حساسیت، التهاب، اثرات سیستمی و شل شدن کاشتنی می‌گردد، نیاز به‌عمل جراحی ثانویه و کاربرد موقت در سیستم اسکلتی را به‌همراه دارد [۲ و ۳]. از این‌رو استفاده از بیوسرامیک‌های زیست‌فعال با توجه به‌قابلیت بالای آنها در همبندی با استخوان و همچنین فاکتورهای رشد [۴ و ۵]، بر سطح کاشتنی‌های استفاده شده نتایج مطلوبی را فراهم کرده است.

شیشه‌های زیست‌فعال پایه سیلیکاتی جزء معدود بیوسرامیک‌های زیست‌فعال می‌باشد که توانایی پیوند شیمیایی با بافت‌های نرم و سخت را دارد [۶]. واکنش‌پذیری شیمیایی بالا، سریع و قوی این شیشه‌ها زمانی که در ارتباط با بافت‌های موجود زنده قرار می‌گیرد از فواید مهم و با اهمیت شیشه‌های زیست‌فعال می‌باشد [۳ و ۷]. در سال ۱۹۶۹ میلادی شیشه‌های زیست‌فعال توسط پرفسور لری هنج<sup>۵</sup> در ابتدا به‌عنوان یک گزینه جایگزین در سیستم اسکلتی بدن مورد توجه قرار گرفت و سپس به‌تولید رسید. اولین ترکیب تولیدی، شیشه زیستی ۴۵ S به‌روش ذوبی بود که کاربردهای کلینیکی آن از ۱۹۸۵ میلادی شروع گردید [۷].

ضرورت کاهش هزینه‌ها در خدمات بهداشت عمومی استفاده از فولاد زنگ‌نزن را به‌عنوان اقتصادی‌ترین کاشتنی اورتوپدی مرجح می‌نماید. همچنین سرامیک‌های زیست‌فعال کاربردهای موفقیت‌آمیزی را در ترمیم استخوان داشته است. شیشه‌های زیستی توانسته‌اند پاسخ بیولوژیکی خاصی را در فصل مشترک و محل اتصال به‌بافت‌های نرم و استخوانی ایجاد کنند. بنابراین از شیشه‌های زیستی به‌طور گسترده به‌عنوان پوشش فولاد زنگ‌نزن استفاده شده است [۸]. پوشش اندام مصنوعی فلزی با شیشه‌های زیست‌فعال روشی برای ترکیب خواص مکانیکی خوب،

عمود بر هم که مربع هایی به ابعاد ۱ mm بر روی سطح پوشش ایجاد می کند، اجرا شده و سپس به وسیله چسب استاندارد میزان جدا شدگی این مربع ها به عنوان چسبندگی پوشش به سطح زیر لایه اندازه گیری می شود. در این روش بالاترین چسبندگی با عنوان ۵ B مشخص می شود.

### ۳- نتایج و مباحث

#### ۳-۱- ارزیابی ذرات در ابعاد نانو

تصاویر TEM مربوط به شیشه های زیست فعال نانوپودر S ۴۵، S ۴۹ و S ۵۸ به منظور بررسی شکل و ابعاد نمونه ها در شکل (۱) نشان داده شده است. ابعاد پودر شیشه های زیست فعال کمتر از ۱۰۰ نانومتر است که برای دستیابی به یک پوشش نانو ساختار و یکنواخت ضروری است.

مشابه با الگوی XRD نانوپودر شیشه زیست فعال S ۴۵ (شکل ۲)، الگوهای شیشه های زیست فعال S ۴۹ و S ۵۸ نیز قبل از غوطه وری در محلول SBF تشکیل نانوپودر شیشه زیست فعال با ساختار آمورف را تأیید می کند. شکل (۳) الگوهای XRD پوشش های شیشه های زیست فعال S ۴۵ و S ۴۹ را بعد از ۳۰ روز غوطه وری در محلول SBF نشان می دهد. در اثر تشکیل آپاتیت بلوری بر روی پوشش های شیشه زیست فعال در محدوده زاویه ای (۳۲-۳۱ =  $2\theta$ ) این الگوها تغییر قابل ملاحظه ای مشاهده می شود که گواهی بر زیست فعالی آنها داشته و با نتایج سایر محققان نیز تطابق دارد [۱۴].

شکل (۴) تصویر SEM پوشش شیشه زیست فعال S ۴۵ قبل از غوطه وری در محلول SBF را نشان می دهد. این تصویر یک پوشش هموزن و بدون ترک را بر روی فولاد زنگ نزن نشان می دهد.

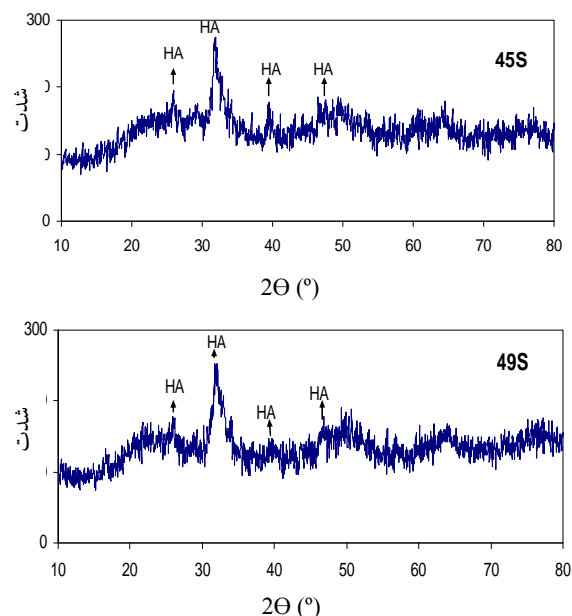
کلوئیدی در طول ژل شدن جلوگیری شود و نقطه ژله ای شدن به تعویق بیفتد و بتوان ذرات با اندازه کوچکتر به دست آورد [۱۱]، پس از ۲۰ دقیقه تتراتیل فسفات (TEP) اضافه گردید و ۳۰ دقیقه مخلوط هم زده شد. در نهایت کلسیم نترات اضافه گردید و به مدت یک ساعت جهت تکمیل عمل هیدرولیز مجدداً مخلوط هم زده شد.

#### ۳-۲- تهیه فیلم های لایه نازک شیشه زیست فعال بر روی فولاد ۳۱۶ L

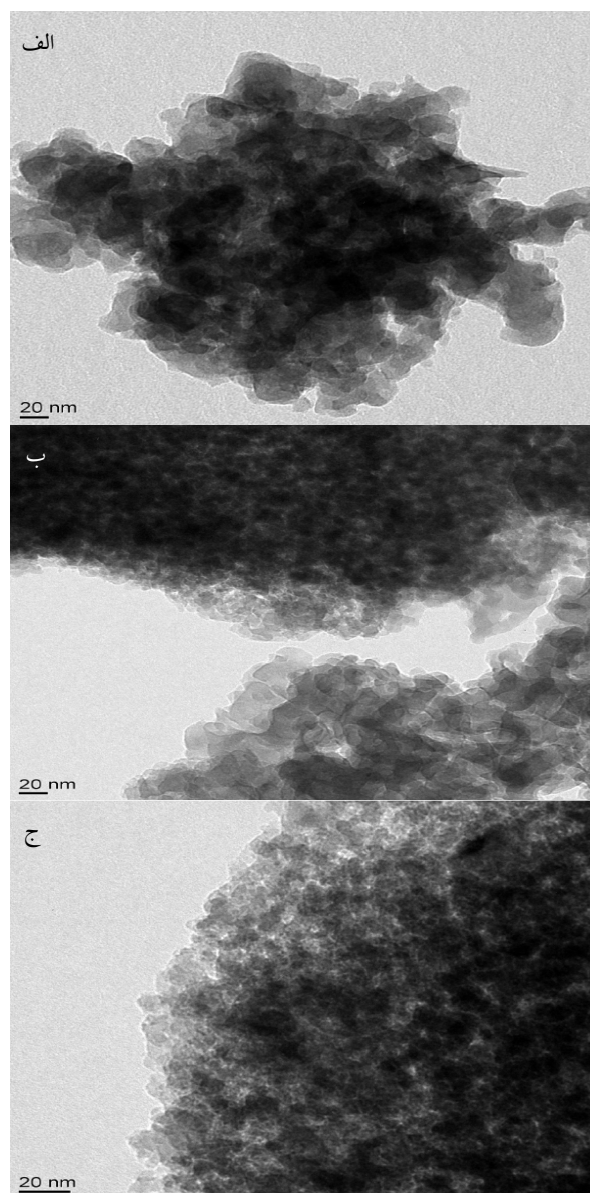
از صفحات فولاد زنگ نزن ۳۱۶ L به عنوان زیر لایه ( $2\text{mm} \times 2/5\text{cm} \times 7/5\text{cm}$ ) استفاده شد. نمونه ها در یک حمام فرا صوت تمیز شد و بعد از فرو بردن در اتانول ۹۶ درصد به روش لایه نشانی چرخشی با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه با سل های بند ۲-۲ پوشش داده شد. بعد از نگهداری به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، نمونه ها در دمای ۶۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه عملیات حرارتی شد.

#### ۲-۴- مشخصه یابی

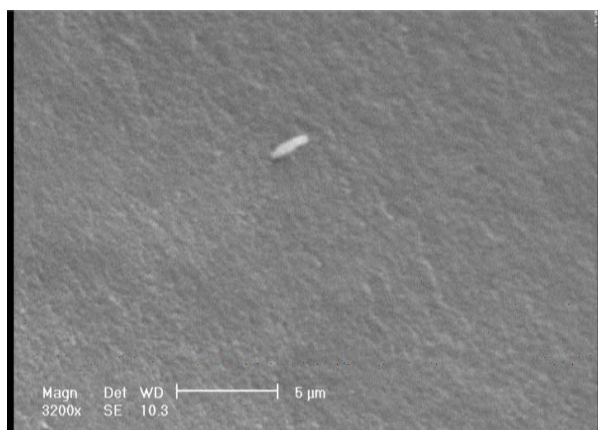
آزمون های *In vitro* توسط غوطه وری نمونه های پوشش داده شده در محلول شبیه سازی شدن بدن (SBF) انجام شد. در این تحقیق ماده اولیه لازم جهت ساخت محلول شبیه سازی شده بدن، طبق روش کوکوبو<sup>۷</sup> [۱۲]، با یکدیگر مخلوط گردید. این محلول حاوی یونهای سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلسیم، کلر، هیدروژن کربنات و هیدروژن فسفات با pH برابر با ۷/۲۵ می باشد. نمونه ها در این محلول به مدت ۳۰ روز و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با رعایت نسبت سطح نمونه به حجم محلول ۰/۳۵ cm/ml غوطه ور شد. برای بررسی های ساختاری از دستگاه های پراش پرتو ایکس (XRD) مدل D8 Advanced از Bruker با Philips Cu K $\alpha$  (Philips)، طیف سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR) مدل Impact 400B، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Philips XL30 و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (CM200-FEG-Philips) استفاده گردید. چسبندگی پوشش طبق استاندارد ASTM D3359B [۱۳]، به روش متقاطع اندازه گیری می گردد. طبق این روش دو مجموعه برش متقاطع



شکل (۳): الگوهای XRD پوشش‌های شیشه زیست‌فعال ۴۵ S و ۴۹ S بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در محلول SBF.

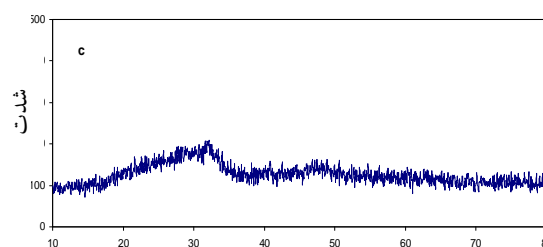


شکل (۱): تصاویر TEM شیشه‌های زیست‌فعال، الف) ۴۵S، ب) ۴۹ S و ج) ۵۸ S.

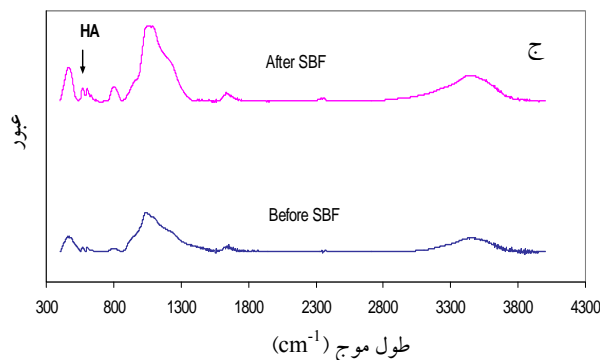
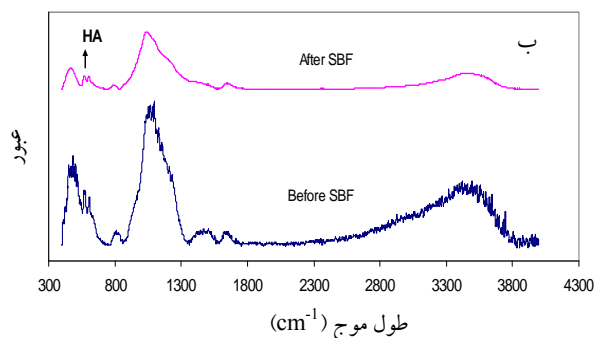
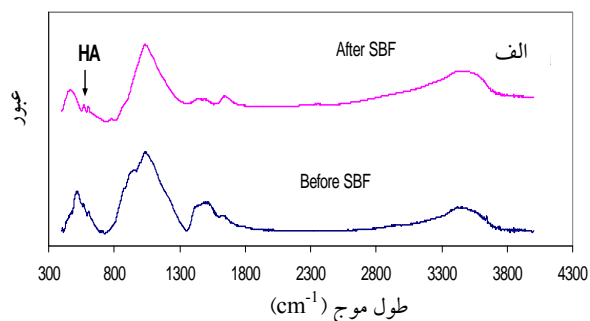


شکل (۴): تصویر بدون ترک و هموزن شیشه زیست‌فعال ۴۵ S قبل از غوطه‌وری در محلول SBF.

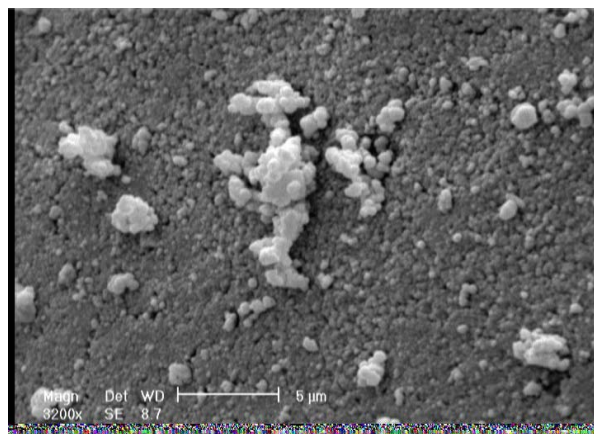
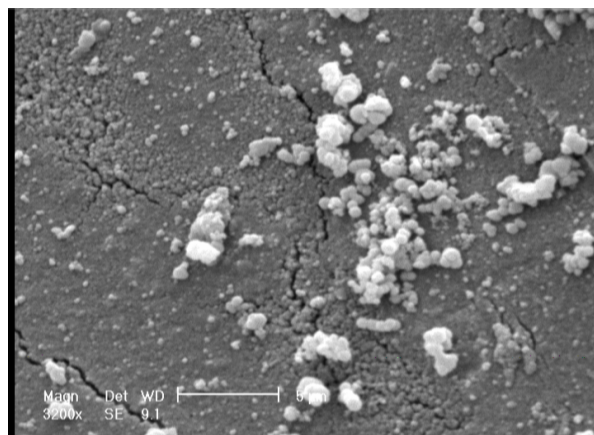
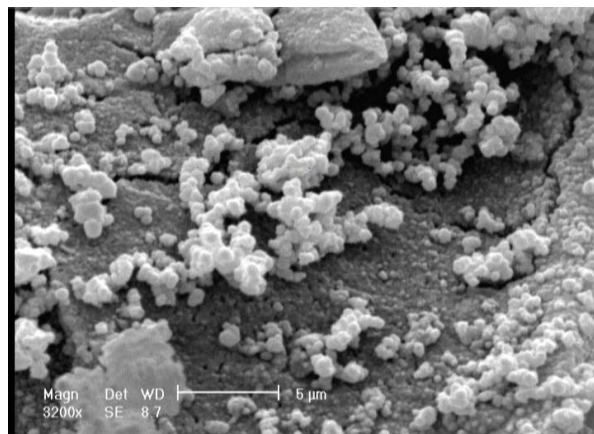
شکل (۵) میکروساختارهای آپاتیتی که بر سطح پوشش‌های شیشه‌های زیست‌فعال بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در محلول SBF تشکیل شده‌است را به وضوح نشان می‌دهد. بر عکس پوشش شیشه‌های زیست‌فعال ۴۵ S و ۴۹ S فقط تعداد کمی خوشه آپاتیت بر روی پوشش ۵۸ S بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در SBF مشاهده می‌شود. این نتیجه مؤید این نکته است که با افزایش



شکل (۲): الگوی XRD نانوپودر شیشه زیست‌فعال ۴۵ S قبل از غوطه‌وری در محلول SBF.



شکل (۶): طیف FTIR شیشه‌های زیست فعال، الف) ۴۵ S، ب) ۴۹ S و ج) ۵۸ S بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در محلول SBF.



شکل (۵): تصاویر SEM پوشش‌های شیشه زیست فعال به ترتیب از بالا به پایین ۴۵ S، ۴۹ S و ۵۸ S بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در محلول SBF.

درصد  $\text{SiO}_2$  در شیشه‌های زیستی سرعت و تشکیل لایه آپاتیت کند و کمتر می‌گردد [۱۵]. علاوه بر استفاده از تکنیک SEM در تأیید تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت، جهت بررسی دقیق‌تر تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت بر روی نانوپودرهای شیشه زیست فعال، نمونه‌ها قبل و بعد از غوطه‌وری در محلول SBF، تحت آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) قرار داده شد (شکل ۶). در اینجا مشاهده می‌شود در هر سه پوشش شیشه زیست فعال، گروه پیوندی P-O در طول موج بین  $605-570 \text{ cm}^{-1}$  پس از

## ۶- مراجع

- [1] L. Liu, "Synthesis and Characterization of Yttrium/HA Nano Particles", Key Engineering Materials, Vol. 19, pp. 295-298, 2007.
- [2] D. A. Puleo and A. Nanci, "Understanding and Controlling the Bone-Implant Interface", Biomaterials, Vol. 20, pp. 2311-2321, 1999.
- [3] P. Galliano, J. J. De Damborenea, M. J. Pascual and A. Duran, "Sol-Gel Coating on 316L Steel for Clinical Applications", Journal of Sol-Gel Science and Technology, 13, pp. 723-727, 1998.
- [4] B. Wildemann, A. Sander, P. Schwabe, M. Lucke, U. Shtockle, M. Raschke, N. P. Hass and G. Schmidmaier, "Short Term in Vivo Biocompatibility Testing of Biodegradable Poly (D, L Lactide)-Growth Factor Coating for Orthopedic Implants", Biomaterials, Vol. 26, pp. 4035-4040, 2005.
- [5] G. Schmidmaier, B. Wildemann, H. Bail, M. Lucke, T. Fuchs, A. Stemberger, A. Flyvbjerg, N. P. Hass and M. Raschke, "Local Application of Growth Factors (Insulin-Like Growth Factor-1 and Transforming Growth Factor  $\beta$ 1) from a Biodegradable Poly (D, L Lactide) Coating of Osteosynthetic Implants Accelerates Fracture Healing in Rats", Bone, Vol. 28, No. 4, pp. 341-350, 2001.
- [6] Zhao D. et al, "Mechanical Verification of Soft-Tissue Attachment on Bioactive Glasses and Titanium Implants", Acta Biomaterial, Vol. 4, pp. 1118-1122, 2008.
- [7] L. Hench, "The Story of Bioglass", J. Mater. Sci. 17, pp. 967-978, 2006.
- [8] L. Jianli and M. Xigeng, "Sol-Gel Derived Bioglass as a Coating Material for Porous Alumina Scaffolds", Ceram. Int., 30, pp. 1781-1785, 2004.
- [9] J. Gallardo, P. Galliano and A. Duran, "Bioactive and Protective Sol-Gel Coatings on Metal for Orthopedic Prostheses", J. Sol-Gel Sci. Technol. Vol. 21, pp. 65-74, 2001.
- [10] J. A. Helsen, J. Proost, J. Schrooten, G. Timmermans, E. Brauns and J. Vanderstraeten, "Glasses and Bioglasses: Synthesis and Coatings", Journal of the European Ceramic Society, Vol. 17 (2-3), pp. 147-152, 1997.
- [11] B. Wei Xiaa, and J. Changa, "Preparation and Characterization of Nano-Bioactive Glass (NBG)", J. Material Letters, Vol. 61, pp. 3251-3253, 2007.
- [12] J. Pérez-Pariente, F. Balas, J. Román, A. J. Salinas and M. Vallet-Regí, "Influence of Composition and Surface on the in Vitro Bioactivity of SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-MgO Sol-Gel Glasses", J. Biomed. Mater. Res. Part A, Vol. 47, pp. 170-175, 1999.
- [13] American Society for Testing and Materials (ASTM), West Conshohocken, PA, D-3359-02 Cross-Cut Tape Test for Adhesion, Copyright 2003.

غوطه‌وری در محلول SBF تشکیل شده‌است که نشان از تشکیل لایه آپاتیت (HA) می‌باشد. هر چند مطابق با داده‌های FTIR تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت بر روی هر سه نمونه شیشه زیست فعال اثبات می‌شود ولی با توجه به کمی نبودن تکنیک FTIR میزان زیست‌فعالی بر اساس فراوانی بلورک‌های هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح پوشش‌ها ارزیابی شده‌است. از آنجا که چسبندگی پوشش شیشه زیست فعال بر کارایی این پوشش‌ها در پوشش کاشتنی‌های پزشکی تأثیر مستقیم دارد، چسبندگی پوشش‌های ۴۵ S، ۴۹ S و ۵۸ S بر روی فولاد زنگ نزن ۳۱۶ L اندازه‌گیری شد. بدین منظور از آزمون چسبندگی متقاطع مطابق با استاندارد ASTM D3359B استفاده شد. کلیه فیلم‌های کلسینه شده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد چسبندگی بالاتر از مرتبه ۵ B که طبق استاندارد ASTM D3359B چسبندگی بالایی می‌باشد را نشان داد که نشان‌دهنده یک چسبندگی بالا بین فیلم شیشه زیست فعال و زیر لایه فولاد زنگ‌نزن می‌باشد.

## ۴- نتیجه‌گیری

شیشه‌های زیست فعال با سه ترکیب ۴۵ S، ۴۹ S و ۵۸ S به‌روش سل-ژل سنتز شد و به‌طور موفقیت آمیزی بر روی فولاد ۳۱۶ L با استفاده از تکنیک لایه‌نشانی چرخشی در ابعاد ذرات در محدوده نانو پوشش داده شد. چسبندگی پوشش‌ها همه بالایی ۵ B به‌دست آمد. با غوطه‌وری پوشش‌های شیشه زیست فعال در محلول SBF، فاز هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح آنها تشکیل گردید با این تفاوت که میزان تشکیل فاز آپاتیت بر روی پوشش ۴۵ S از ۴۹ S و ۵۸ S به‌شدت بیشتر بود. این نتایج به‌وسیله تکنیک‌های XRD، FTIR و SEM مورد تأیید قرار گرفت.

## ۵- تشکر و قدردانی

هزینه‌های این پژوهش با کمک مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف‌آباد تأمین شده‌است.

- [14] A. Balamurugana, G. Sockalingum, J. Michel, J. Fauré, V. Banchet, L. Wortham, S. Bouthors, D. Laurent-Maquin and G. Balossier, "Synthesis and Characterization of Sol-Gel Derived Bioactive Glass Coating for Biomedical Applications", *Materials Letters*, Vol. 60, pp. 3752-3757, 2006.
- [15] J. Gallardo, P. Galliano and A. Duran, "Bioactive and Protective Sol-Gel Coatings on Metal for Orthopaedic Prostheses", *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 21, pp. 65-74, 2001.

#### ۷- پی نوشت

- 1- Scanning Electron Microscopy (SEM)
- 2- X-Ray Diffraction (XRD)
- 3- Transfer Electron Microscopy (TEM)
- 4- Simulated Body Fluid (SBF)
- 5- Leery Hench
- 6- Merck
- 7- Kokubo