

## بهینه سازی شرایط آزمایش باروش آماری تاگوچی برای ساخت نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت به روش سل-ژل

خدیدجه یوسفی<sup>۱\*</sup>، سید مجتبی زبرجد آ و جلیل وحدتی خاکی<sup>۳</sup>

### چکیده

هیدروکسی آپاتیت (HA) به علت خاصیت زیست فعالی به عنوان یک بیو سرامیک به گونه گسترده در پزشکی و دندانپزشکی استفاده می شود. مقدار خلوص HA بر ویژگی زیست فعالی آن تاثیر دارد و روش سل-ژل یکی از روش های مهم تولید نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت است که پارامترهای متعددی در این روش بر خلوص HA تاثیر دارد. بنابراین، در این پژوهش، نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت در شرایط گوناگون با روش سل - ژل تولید و بمنظور کاهش تعداد آزمایش ها از روش آماری تاگوچی در طراحی آزمایش ها استفاده شد. سپس به وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری ریزساختار مشاهده شد. درصد خلوص پودر تولیدی با استفاده از آنالیز تفرق اشعه ایکس تعیین گردید. بر اساس نتایج شرایط بهینه برای تولید هیدروکسی آپاتیت با بیشترین خلوص، دمای کلسینه  $900^{\circ}\text{C}$ ، زمان کلسینه ۲ ساعت، زمان هیدرولیز ۷۲ ساعت و زمان پیرسازی ۴۸ ساعت است. دمای کلسینه با ۶۰ درصد مشارکت دارای بیشترین تاثیر بر خلوص هیدروکسی آپاتیت است.

واژه های کلیدی: سل-ژل، هیدروکسی آپاتیت، بهینه سازی

۱- کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه مهندسی مواد

۲- استاد، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه مهندسی مواد

۳- استاد، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه مهندسی مواد

\*-نویسنده مسئول: khadije.yousefi@gmail.com

## پیشگفتار

هیدروکسی آپاتیت یک ماده معدنی طبیعی است، که در اجزای غیر آلی استخوان و مینای دندان یافت می شود و فرمول شیمیایی آن به صورت  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  نمایش داده می شود. اجزای تشکیل دهنده آن کلسیم و فسفات با نسبت استوکیومتری کلسیم به فسفات  $1/67$  است. مهم ترین ویژگی هیدروکسی آپاتیت زیست فعالی آن است، زیست فعال بودن هیدروکسی آپاتیت این توانایی را به آن می دهد تا بتواند با سلول های بدن به گونه مستقیم پیوند شیمیایی برقرار کند [۱]. عملکرد، طول عمر و کیفیت پوشش ها و ایمپلنت های ساخته شده با هیدروکسی آپاتیت در محیط های زیستی به ریخت شناسی، ترکیب فازها، اندازه ذرات و بلورینگی پودر HA بستگی دارد [۲]. این بیوسرامیک باروش های گوناگونی از جمله روش هیدروترمال [۳]، رسوب گذاری [۴] و اکنش حالت جامد [۵]، سل - ژل [۶]، امولسیون و میکروامولسیون [۷]، مکانوشیمیایی [۸]، ترکیبی از مکانوشیمیایی و هیدروترمال [۹] و اولتراسونیک [۱۰] تولید می شود. ویژگی هیدروکسی آپاتیت تولید شده بستگی به روش تولیدی آن دارد [۱۱]. بنابراین، با توجه به اهمیت زیادی که این بیو سرامیک دارد پی بردن به روشی که بتواند نانو ذراتی با بیشترین خلوص و بیشترین شباهت با هیدروکسی آپاتیت بدن تولید کند و از نظر اقتصادی به صرفه باشد اهمیت زیادی دارد. روش سل-ژل به علت قابلیت سنتز پودر، الیاف و پوشش دهی اشکال پیچیده، قابلیت تولید پوشش های نانومتری و نانو ساختار و دمای نسبتا پایین دارای اهمیتی ویژه است [۱۲]، اما پارامترهای گوناگونی در این روش وجود دارد که بر خواص نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت تولید شده، از جمله بر اندازه ذرات، خلوص فاز تولید شده و ریخت شناسی آن تاثیر دارد [۱۳] که برای تعیین شرایط بهینه نیاز به انجام آزمایش های زیادی است، اما با استفاده از روش های

آماري از جمله روش تاگوچی می توان با انجام کم ترین تعداد آزمایش روش بهینه برای تولید نانو ذرات با بیشترین خلوص تعیین کرد [۱۴]. بنابراین، در این پژوهش با توجه به اهمیت خلوص فاز هیدروکسی آپاتیت و با توجه به این که تاکنون شرایط بهینه برای تولید HA با بیشترین خلوص تعیین نشده این پژوهش انجام گرفته است.

## مواد و روش ها

برای تولید هیدروکسی آپاتیت از نیترات کلسیم چهار آبه به عنوان پیش ماده کلسیمی و از تری اتیل فسفات به عنوان پیش ماده فسفوری استفاده شد. متغیرهای روش سل-ژل بر اساس جدول ۱ در دو سطح انتخاب شدند. روش کار بر اساس شکل ۱ است. ابتدا تری اتیل فسفات در الکل حل و مقدار مناسبی آب برای هیدرولیز به آن افزوده شد. سپس به محلول هیدرولیز شده فسفر محلول کلسیم نیترات ۴ آبه قطره قطره اضافه گردید و با توجه به شرایط آزمایش به مدت زمان مناسب هم زده و پیرسازی انجام گرفت. پس از خشک کردن نمونه ها در دمای  $600^{\circ}C$  یا  $900^{\circ}C$  در کوره کلسینه شدند. شرایط آزمایش با توجه به دو سطح انجام شد و با توجه به وجود ۷ متغیر، بر اساس روش تاگوچی ۸ آزمایش با شرایط گوناگون طبق جدول ۲ انجام گرفت. برای تعیین درصد خلوص محصول از آنالیز تفرق اشعه ایکس و نرم افزار X-Pert استفاده شد.

## نتایج

شکل ۲ طیف ایکس-آر-دی ۸ نمونه تولیدی را نشان می دهد. برای بدست آوردن خلوص نمونه ها از معادله ۱ استفاده شده است.

$$X_p = \frac{\sum AC - \sum I_{impurity}}{\sum AC} \quad (1)$$

$\sum A_c$  جمع مساحت زیر همه پیک های XRD و  $\sum I_{impurity}$  جمع مساحت مربوط به پیک های ناخالصی است.

جدول ۳ درصد خلوص ۸ آزمایش را نشان می دهد. برای مشخص شدن سطح بهینه از هر عامل و هم چنین، درصد

1 - Hydrothermal

2 - Chemical precipitation

3 - Solid state

4 - Sol-gel

5 - Emulsion and microemulsion

6 - Mechanochemical

7 - Ultrasonic

که در این روابط  $N$  برابر تعداد آزمایش در ماتریس متعامد تاگوچی،  $L$  برابر تعداد سطوح فاکتور  $i$  و  $m_{ij}$  برابر میانگین نسبت  $S/N$  برای سطح  $j$  از فاکتور  $i$  می‌باشند.

$$S_T = \text{Total sum of squares} = \sum_{i=1}^N (S/N_i)^2 - S_m \quad (5)$$

درجه آزادی کل برابر با تعداد آزمایش در ماتریس متعامد تاگوچی منهای یک بوده و درجه آزادی فاکتور  $i$  برابر با تعداد سطح آن فاکتور منهای یک می‌باشد. درجه آزادی خطا برابر با درجه آزادی کل منهای مجموع درجه آزادی های تمامی فاکتورها می‌باشد.

$$MS_i = \text{Mean sum of squares for factor } i = \frac{SS_i}{DF \text{ of } i} \quad (6)$$

$$S_e = \text{Error sum of squares} = S_T - \sum SS_i \quad (7)$$

$$\rho(\%) = \text{The percentage contribution for factor } i = \frac{SS_i - (DF \text{ of } i)(MS \text{ of error})}{S_T} \times 100 \quad (8)$$

تحلیل آنالیز واریانس برای بهینه سازی خلوص نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت در جدول ۶ نشان داده شده است. شکل ۳ نشانگر درصد مشارکت هر عامل و همچنین، درصد خطا در تحلیل آنالیز واریانس برای بهینه سازی خلوص نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت است.

برای اثبات نتایج تاگوچی، نمونه‌ای با شرایط بهینه بدست آمده از روش آماری تاگوچی، سنتز شد. نتیجه XRD آن نشان می‌دهد که تقریباً دارای خلوص ۹۵ درصد به بالاست که این نتیجه تایید کننده شرایط بهینه برای بدست آوردن بالاترین خلوص است. طیف XRD نمونه در شکل ۴ نشان داده شده است. همچنین، شکل ۵ نشان دهنده تصویر گرفته شده از یکی از نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی عبوری است که نشان می‌دهد ذرات تولید شده با روش سل-ژل دارای اندازه نانو و تقریباً کروی شکل یا میله ای شکل هستند.

مشارکت هر عامل بر خلوص هیدروکسی آپاتیت نسبت سیگنال به پارازیت ( $S/N$ ) نمونه‌های گوناگون برای سطوح گوناگون از عاملهای آزمایش محاسبه شد. برای محاسبه  $S/N$  مدل های گوناگونی وجود دارد، نوع  $B$ : زمانی که نیاز باشد پارامتر بهینه مورد نظر به حداکثر مقدار ممکن نزدیک تر شود. برای مثال، استحکام کششی، خلوص و غیره [۱۴]

$$S/N_B = -10 \text{Log}_{10} \left( \frac{1}{n} \sum \frac{1}{y_i^2} \right) \quad (9)$$

که در این روابط  $y_i$  مقدار عددی پارامتری است که برای بهینه سازی مورد نظر و  $n$  تعداد تکرار از هر آزمایش می‌باشند. جدول ۴ این مقادیر را برای عامل‌های گوناگون در دو سطح نشان می‌دهد.

هر سطحی از هر عامل که دارای بیشترین نسبت  $S/N$  باشد، سطح بهینه شناخته می‌شود. افزون بر این، هر عاملی که اختلاف بین نسبت  $S/N$  سطوح آن بیشترین مقدار شود، موثرترین عامل در بهینه سازی می‌باشد. سطح بهینه از هر عامل در جدول ۵ نشان داده شده است.

### آنالیز واریانس

هدف از آنالیز واریانس، یافتن عامل‌هایی از فرآیند است که بیشترین تاثیر را بر روی پارامتر مورد بهینه سازی می‌گذارند. افزون بر این، با استفاده از روش آنالیز واریانس می‌توانیم تاثیر کمی هر یک از فاکتورها را بر پارامتر مورد بهینه سازی به صورت درصد مشارکت تعیین کرد. روابط بکار رفته در روش آنالیز واریانس به طور خلاصه در زیر آورده شده اند [۱۶-۱۴]:

$$S_m = \text{Correction factor} = \frac{\left( \sum_{i=1}^N S/N_i \right)^2}{N} \quad (10)$$

$$SS_i = \text{Sum of Squares for factor } i = \frac{\sum_{j=1}^L \left( \frac{N}{L} m_{ij} \right)^2}{\frac{N}{L}} - S_m$$

$$i=1 - 8$$

**نتیجه گیری**

نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت با روش سل-ژل تولید شد و شرایط بهینه برای بدست آوردن نمونه ای با خلوص بالا برای ۷ پارامتر تاثیر گذار در روش سل-ژل با روش آماری تاگوچی تعیین شد که به صورت زیر است.

- ✓ زمان هیدرولیز مناسب ۷۲ ساعت و زمان پیرسازی مناسب ۴۸ ساعت است.
- ✓ دمای کلسینه مناسب ۹۰۰ درجه سانتی گراد است و زمان کلسینه مناسب ۲ ساعت است.
- ✓ pH مناسب ۱۰ است.
- ✓ دمای کلسینه با ۶۰ درصد مشارکت موثرترین عامل در کنترل خلوص پودر تولیدی است.

**References**

- 1- S.V Dorozhkin, " Nanosized and Nanocrystalline calcium orthophosphates", Acta Biomaterialia Vol. 6, pp. 715-734. 2010
- 2- S.J. Kalita, A Bhardwaj, and H.A. Bhatt, "Nanocrystalline Calcium Phosphate Ceramics in Biomedical Engineering", Materials Science and Engineering: C Vol. 27 , pp. 441-449 2007.
- 3- M. Salarian, and M. Solati-Hashemian, "Surfactant-Assisted Synthesis and Haracterization of Hydroxyapatite Nanorods Under Hydrothermal Conditions ",Materials Science-Poland, Vol. 27, 2009
- 4- P. Wang, L.H. Gong, X. Jiang, H. Wang, and K. Li, "Effects of Synthesis Conditions on the Morphology of Hydroxyapatite Nanoparticles Produced by Wet Chemical process", Powder Technology, Vol. 203, pp. 315-321, 2010.
- 5- L. Chun-Jen, L. Feng-Huei, K. Chen, and J. Sheng Sun, "Thermal Decomposition and Reconstitution of Hydroxyapatite in Air Atmosphere", Biomaterials Vol. 20, pp. 1807-1813, 1999.
- 6- U. V. Natarajan, and S. Rajeswari, "Influence of Calcium Precursors on the Morphology and Crystallinity of Sol-Gel-Derived Hydroxyapatite Nanoparticles" Crystal Growth, Vol. 310, pp. 4601-4611, 2008.
- 7- K. Lin, "Hydrothermal Microemulsion Synthesis of Stoichiometric Single Crystal Hydroxyapatite Nanorods with Mono-Dispersion and Narrow-Size Distribution", Materials Letters, Vol. 61, pp. 1683-1678, 2007.

- 8- S. H. Rhee, "Synthesis of Hydroxyapatite via Mechanochemical Treatment", Biomaterials, Vol. 23, pp.1147 – 1152, 2002
- 9- S.Ban, and S. Maruno, "Hydrothermal-Electrochemical Deposition of Hydroxyapatite " J.Biomed .Mater. Res., Vol. 429, pp. 387-395, 1998.
- 10- J. Zhang, X. Zhan, X. Wen, B. Song, L. Ma, and W. Peng, "Effects of Ultrasonic and Dispersants on Shape and Composition of Hydroxyapatite by Reflux Method", Inorganic Materials, Vol. 45 pp. 1362-1365, 2009
- 11- S. Koutsopoulos, "Synthesis and Characterisation of Hydroxyapatite Crystals: A Review Study on the Analytical Methods", Wiley Periodicals, Inc, 2002
- 12- T. Anee Kuriakosea, S. Narayana Kalkuraa, and M. Palanichamyc, " Synthesis of Stoichiometric Nano Crystalline Hydroxyapatite Byethanol-Basedsol-Gel Technique at Low Temperature"Journal of Crystal Growth, Vol. 263 , pp. 517-523, 2004.
- 13- C. Tredwin, "Sol-Gel Derived Hydroxyapatite, Fluor hydroxyapatite and Fluorapatite Coatings for Titanium Implants", A Thesis Submitted for the Degree of Doctor of Philosophy, University College London, 2009
- ۱۴- ر.معمارزاده، س.جواد پور و ف.پناهی، "بهینه سازی عوامل موثر بر اندازه نانو ذرات اکسید قلع به روش تاگوچی" مجله مواد نوین /جلد ۲/شماره ۳ /بهار ۱۳۹۱
- 15- R. Roy, A Primer on the Taguchi method, Van Nostrand Reinhold, New York, 1990.
- 16- G. Taguchi, Introduction to Quality Engineering, Asian Productivity Organization, Tokyo, 1990.

## پیوست‌ها

جدول ۱- عامل‌های تاثیر گذار در روش سل-ژل

سطح ۲	سطح ۱	عامل تاثیر گذار
۱۰	۵	pH
۷۲	۲۴	مدت زمان هیدرولیز (ساعت)
۵۰	۲۵	دمای پیرسازی (سانتی گراد)
۴۸	۷۲	مدت زمان پیرسازی (ساعت)
-۱۰	۱۰۰	دمای خشک شدن (سانتی گراد)
۹۰۰	۶۰۰	دمای کلسینه (سانتی گراد)
۳	۲	زمان کلسینه (ساعت)

جدول ۲- شرایط انجام ۸ آزمایش بهینه سازی

TEST	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
	pH	زمان هیدرولیز (ساعت)	دمای کلسینه (سانتی گراد)	زمان پیرسازی (ساعت)	دمای خشک (سانتی گراد)	زمان کلسینه (ساعت)	دمای پیرسازی (سانتی گراد)
T <sub>1</sub>	۵	۲۴	۶۰۰	۷۲	۱۰۰	۳	۲۵
T <sub>2</sub>	۵	۲۴	۶۰۰	۴۸	-۱۰	۲	۵۰
T <sub>3</sub>	۵	۷۲	۹۰۰	۷۲	۱۰۰	۲	۵۰
T <sub>4</sub>	۵	۷۲	۹۰۰	۴۸	-۱۰	۳	۲۵
T <sub>5</sub>	۱۰	۷۲	۹۰۰	۷۲	-۱۰	۳	۵۰
T <sub>6</sub>	۱۰	۲۴	۹۰۰	۴۸	۱۰۰	۲	۲۵
T <sub>7</sub>	۱۰	۷۲	۶۰۰	۷۲	-۱۰	۲	۲۵
T <sub>8</sub>	۱۰	۷۲	۶۰۰	۴۸	۱۰۰	۳	۵۰

جدول ۳- میزان خلوص نمونه‌ها

TEST	purity
T <sub>1</sub>	%۴۳
T <sub>2</sub>	%۶۴
T <sub>3</sub>	%۹۰
T <sub>4</sub>	۷۱%
T <sub>5</sub>	۸۷%
T <sub>6</sub>	۸۸%
T <sub>7</sub>	۷۸%
T <sub>8</sub>	۵۶%

جدول ۴- میانگین نسبت (S/N) نمونه‌های گوناگون برای سطوح گوناگون

عامل	میانگین نسبت S/N سطح ۱	میانگین نسبت S/N سطح ۲	نسبت S/N اختلاف	نسبت S/N سطح ۱ و ۲
1	pH	۶۷	۷۷/۲۵	۱۰/۲۵
۲	مدت زمان هیدرولیز(ساعت)	۷۰/۵	۷۳/۷۵	۳/۲۵
۳	دمای کلسینه(سانتی گراد)	۶۰/۲۵	۸۴	۲۳/۷۵
۴	مدت زمان پیرسازی(ساعت)	۷۴/۵	۶۹/۷۵	۴/۷۵
۵	دمای خشک شدن(سانتی گراد)	۶۹/۲۵	۷۵	۵/۷۵
۶	زمان کلسینه(ساعت)	۶۴/۲۵	۸۰	۱۵/۷۵
۷	دمای پیرسازی(سانتی گراد)	۷۰	۷۴/۲۵	۴/۲۵

جدول ۵- سطح بهینه هر عامل برای بدست آوردن بیشترین خلوص

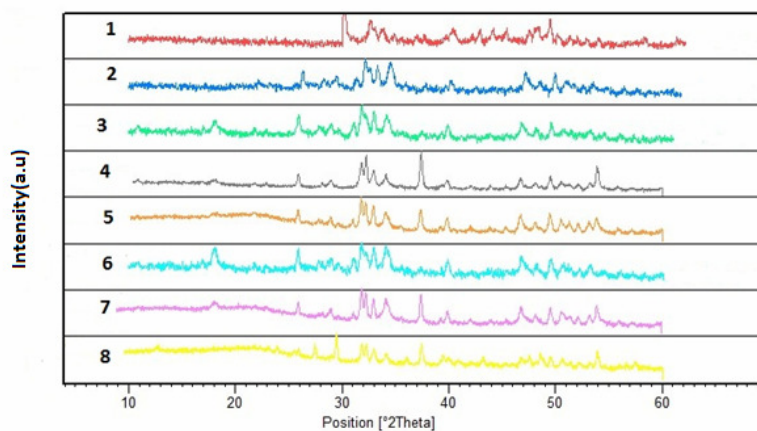
عامل	مقدار سطح بهینه	سطح بهینه
1	pH	۱۰
۲	مدت زمان هیدرولیز(ساعت)	۷۲
۳	دمای کلسینه(سانتی گراد)	۵۰
۴	مدت زمان پیرسازی(ساعت)	۷۲
۵	دمای خشک شدن(سانتی گراد)	-۱۰
۶	زمان کلسینه(ساعت)	۹۰۰
۷	دمای پیرسازی(سانتی گراد)	۲

جدول ۶- آنالیز واریانس داده های ۸ آزمایش

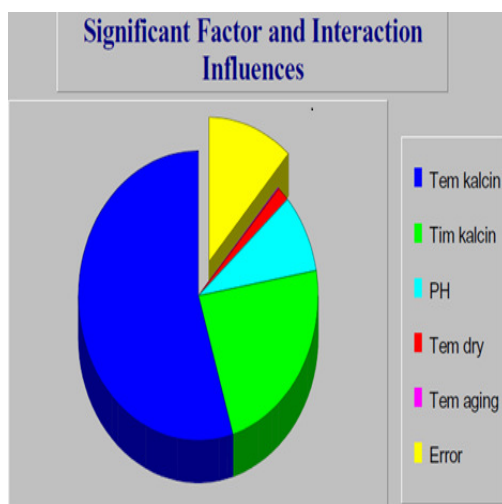
عامل	Degree of Freedom	Sum of squares	variance	F-Ratio	Pure sum	percent
1	pH	۲۱۰/۱۲۵	۲۱۰/۱۲۵	۶/۳۴۳	۱۷۷	۸/۸۳۷
۲	مدت زمان هیدرولیز(ساعت)	۲۱/۱۲۵	-	POOLED	-	...
۳	دمای کلسینه <sup>o</sup> C	۱۱۲۸/۱۲۵	۱۱۲۸/۱۲۵	۳۴/۰۵۶	۱۰۹۵	۵۴/۶۷۱
۴	مدت زمان پیرسازی(ساعت)	۴۵/۱۲۵	-	POOLED	-	...
۵	دمای خشک شدن <sup>o</sup> C	۶۶/۱۲۵	۶۶/۱۲۵	۱/۹۹۶	۳۳	۱/۶۴۷
۶	زمان کلسینه(ساعت)	۴۹۶/۱۲۵	۴۹۶/۱۲۵	۱۴/۹۷۷	۴۶۳	۲۳/۱۱۶
۷	دمای پیرسازی <sup>o</sup> C	۳۶/۱۲۵	۳۶/۱۲۵	۱/۰۹۰	۳	۰/۱۴۹
۸	خطا	۶۶/۲۵۰	۳۳/۱۲۵	-	-	۱۱/۵۸۰



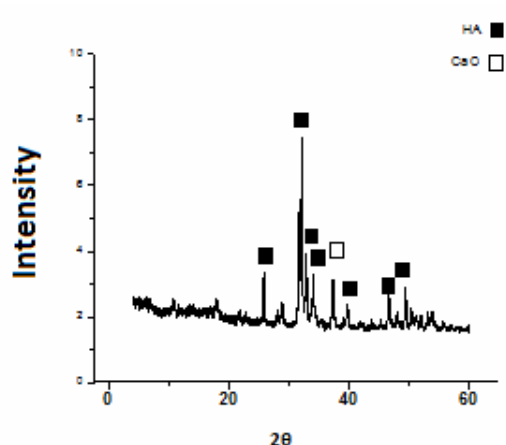
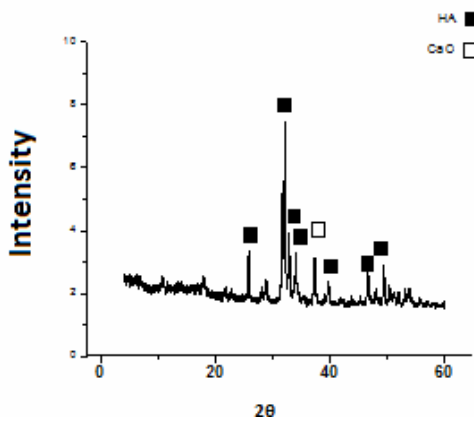
شکل ۱- شماتیک روش سل-ژل



شکل ۲- طیف XRD ۸ نمونه تولید شده بر اساس شرایط جدول تاگوچی

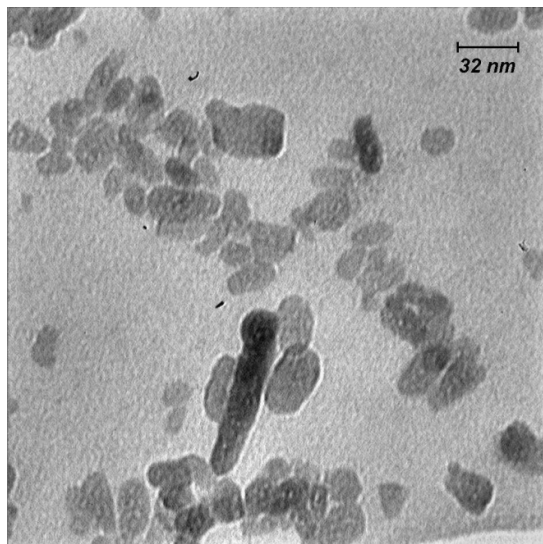


شکل ۳ - نمودار درصد مشارکت عامل‌های گوناگون بر خلوص



شکل ۴ - طیف XRD آزمایش تاییدیه





شکل ۵- تصویر ریز ساختار HA تولید شده با روش سل-ژل

Archive of SID