

## تأثیر الیاف شیشه زیست فعال الکترورسی شده بر خواص فیزیکی و مکانیکی سیمان استخوانی سولفات کلسیم

مه‌دی شمسی<sup>۱</sup>، نادر نظافتی<sup>۲</sup>، سیامک زواره<sup>۱</sup>، علی زمانیان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشگاه مراغه، <sup>۲</sup> پژوهشکده نانوتکنولوژی و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی

n.nezafati@merc.ac.ir

### چکیده:

در پژوهش حاضر، اثر افزودن الیاف شیشه زیست فعال بر خواص فیزیکی و مکانیکی سیمان استخوانی سولفات کلسیم مورد ارزیابی قرار گرفت. الیاف شیشه زیست فعال با ترکیب سه جزئی اکسید سیلیسیم، اکسید کلسیم و اکسید فسفر به کمک الکترورسی محلول سل تهیه شد. به منظور بررسی ترکیب فاز و مورفولوژی الیاف به ترتیب از تکنیک‌های پراش پرتو ایکس و میکروسکوب الکترونی روبشی استفاده شد. در ادامه، درصد‌های وزنی مختلفی (۳، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۵) از الیاف شیشه زیست فعال به ترکیب سولفات کلسیم همی هیدرات خالص افزوده و خواص مکانیکی آنها ارزیابی شد. نتایج آزمون نشان داد که با افزودن درصد وزنی مشخصی از الیاف (تا ۱۵ درصد)، خواص مکانیکی افزایش و سپس (از ۱۵ تا ۳۵ درصد) کاهش پیدا کرد؛ به گونه‌ای که بیشترین استحکام فشاری، مدول یانگ و چقرمگی مربوط به کامپوزیت حاوی ۱۵ درصد وزنی الیاف شیشه زیست فعال و به ترتیب در حدود ۳۱/۵۴ مگاپاسکال، ۹۶۵ مگاپاسکال و ۰/۵۶۶ کیلوژول بر سانتی‌متر مربع بود. علت افت خواص مکانیکی به دلیل ایجاد حفره بین الیاف و سیمان و کاهش یکنواختی کامپوزیت بود. زمان گیرش اولیه و ثانویه برای سیمان کامپوزیتی بهینه نیز به ترتیب در حدود ۶ و ۲۱ دقیقه بود. در ادامه بررسی مورفولوژی، خواص فیزیکی و زیست فعالی سولفات کلسیم بدون الیاف (نمونه کنترل) و نانو کامپوزیت (ترکیب بهینه) جهت مقایسه انجام گرفت. نتایج نشان داد افزودن الیاف شیشه زیست فعال در ساختار سیمان استخوانی سولفات کلسیمی نه تنها تأثیر نامطلوبی بر آن نگذاشت بلکه سبب افزایش خواص مکانیکی، تشکیل آپاتیت و چسبندگی مناسب سلول استئوبلاست انسانی از نوع MG64 شد.

### اطلاعات مقاله:

دریافت: ۲۶ بهمن ۱۳۹۳

پذیرش: ۷ تیر ۱۳۹۴

### کلید واژه:

سیمان استخوانی سولفات کلسیم، الیاف شیشه زیست فعال، الکترورسی، کشت سلول

### ۱- مقدمه

عالی در جایگاه بالایی برخوردارند، که به صورت بلورین، بس بلورین، کامپوزیت و پوشش مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱]. از جمله مواد سرامیکی مورد استفاده که در ترمیم عیوب استخوانی استفاده می‌شوند، می‌توان به شیشه‌های زیست

امروزه سرامیک‌های زیستی به دلیل پایداری حرارتی و شیمیایی، استحکام و مقاومت به سایش بالا، زیست سازگاری



امکان پذیر است. در واقع، این تکنیک براساس ایجاد یک میدان الکتریکی قوی بین دو الکترود برای کشیدن یک سیال پلیمری و تبدیل شدن به رشته الیاف است. پارامترهای مهمی بر فرایند الکتروریسی و مورفولوژی الیاف تأثیر دارند که شامل پارامترهای محلول (گرانروی، ضریب هدایت الکتریکی، وزن مولکولی محلول و هدایت الکتریکی) و پارامترهای فرایند (ولتاژ اعمال شده، نرخ تغذیه، نوع جمع کننده، فاصله نازل از جمع کننده و شرایط محیطی) هستند [۹]. نانو الیاف جزء نانومواد جامدی هستند که نسبت سطح به حجم بالایی دارند. این ویژگی‌ها سبب شده که بتوان از آنها در حوزه‌های وسیعی از جمله تولید غشاهایی با قابلیت بالای جداسازی، مهندسی یافت، محیط فیلتراسیون و جاذب (تعدیل کننده) صدا استفاده کرد. در این پژوهش، تأثیر افزودن درصد‌های وزنی مختلف از الیاف شیشه زیست فعال بر خواص سیمان استخوانی سولفات کلسیم مطالعه شده است. بدین منظور نانو الیاف شیشه زیست فعال را با استفاده از دستگاه الکتروریسی تولید و خواص فیزیکوشیمیایی و زیست فعالی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه درصد‌های وزنی مختلفی از الیاف فوق به ماتریس سیمان کلسیم سولفات افزوده شد. در نهایت تأثیر الیاف شیشه زیست فعال بر خواص فیزیکوشیمیایی، مکانیکی و زیست فعالی سولفات کلسیم بررسی شد.

## ۲- فعالیت تجربی

### ۲-۱- ساخت و مشخصه‌یابی الیاف شیشه زیست فعال

در ابتدا مقدار ۷/۱۸ میلی لیتر تترا اتیل اورتورسیلیکات به ۵۰ میلی لیتر اتانول اضافه و محلول توسط همزن

فعال و سیمان‌های استخوانی اشاره کرد. مهمترین کاربرد سیمان‌های استخوانی، به عنوان پرکننده استخوانی در جراحی‌های کلینیکی است [۲]. ژئپس یا سولفات کلسیم دوآبه، شامل ریز ساختاری با تعداد زیادی کریستال‌های ریز قرار گرفته در کنار هم، محیط بسیار مناسبی برای ترمیم استخوان فراهم می‌کند. این ماده می‌تواند براساس ساختار کریستالی خاص و غلظت کلسیم بالا، قابلیت تحریک استخوان سازی داشته باشد [۳]. از جمله خواص سیمان‌های استخوانی سولفات کلسیمی می‌توان به زیست سازگاری عالی، توانایی در بهبود عملکرد و بیان سلولی، هدایت و تحریک رشد استخوان اشاره کرد [۴]. معایب آن نیز سرعت جذب بالا، سمیت گذرا، استحکام نسبتاً کم است [۵]. بنابراین یک راهکار جهت بهتر کردن خواص کلسیم سولفات، استفاده از جزء تقویت کننده‌ای مانند الیاف شیشه زیست فعال است. شیشه‌های زیست فعال از جمله مواد زیستی هستند که توانایی پیوند شیمیایی با بافت سخت و نرم را دارند [۶]. یکی از انواع شیشه‌های زیست فعال که توانایی ایجاد پیوند با استخوان را دارند، شیشه‌های بر پایه سیستم سه جزئی (اکسید سیلیسیم، اکسید کلسیم و اکسید فسفر) هستند [۷]. شیشه زیست فعال را می‌توان به دو روش ذوبی و سل ژل تهیه نمود. شیشه زیست فعال تولیدی به روش سل ژل دارای زیست سازگاری بالاتری است. افزایش زیست سازگاری به دلیل وجود تخلخل‌هایی در ابعاد نانو و افزایش سطح است که موجب افزایش سرعت انحلال و در نتیجه تسریع مکانیسم‌های زیست سازگاری می‌شود [۸]. الکتروریسی روشی منحصربفرد برای تولید الیاف در ابعاد نانو به شمار می‌آید که این امر از طریق ایجاد یک جت باردار الکتریکی



منظور کلسینه کردن و حذف پلیمر، درون کوره الکتریکی (آذر کوره، مدل: F11L-1250) در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. نرخ افزایش دما ۵ درجه بر دقیقه بود. در نهایت، از آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل: CamScan MV2300، آلمان) به منظور مطالعه مورفولوژی الیاف بعد از عملیات حرارتی، استفاده شد. برای بررسی ساختار فازی، آزمون پراش پرتو ایکس (مدل: Unisantix-Xmd 300، آلمان) در محدوده زاویه بین ۱۰ الی ۹۰ درجه با ولتاژ ۴۵ کیلو ولت و جریان ۱ میلی آمپر با کاتد مس صورت گرفت.

## ۲-۲- ساخت نانو کامپوزیت سیمان استخوانی سولفات کلسیم/الیاف شیشه زیست فعال

در پژوهش حاضر از پودر کلسیم سولفات همی هیدرات خالص با خلوص ۹۵٪ برای تهیه نمونه سیمان استخوانی کلسیم سولفات (نمونه شاهد) و نانو کامپوزیت سیمان استخوانی کلسیم سولفات / الیاف شیشه زیست فعال استفاده شد. فاز جامد سیمان استخوانی کلسیم سولفات همی هیدرات خالص و الیاف شیشه زیست فعال می باشد که با نسبت های مختلف ترکیب شده اند. درصد وزنی فاز جامد در نمونه شاهد و هم در نمونه نانو کامپوزیت ۱ گرم تعیین شد. آب مقطر نیز به عنوان فاز مایع انتخاب شد. برای ساخت نانو کامپوزیت ابتدا درصدهای وزنی ۳، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ الیاف شیشه زیست فعال را با پودر کلسیم سولفات خالص اضافه و مخلوط شد. سپس پودر فوق با آب مقطر با نسبت ۳ به ۱، با استفاده قاشقک مخلوط شد تا حالت خمیری ایجاد شود. (لازم به ذکر است با افزایش جزء الیاف شیشه

مغناطیسی به مدت ۲۰ دقیقه به آرامی همزده شد. سپس ۰/۵۴ میلی لیتر هیدروکلریک اسید به محلول فوق اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه همزده شد تا محلول کاملاً یکنواخت و همگن بدست آید. مجدداً مقدار ۰/۵۰ میلی لیتر تری اتیل فسفات به محلول افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه دیگر همزده شد و در نهایت مقدار ۱/۴۸ گرم کلسیم نترات به محلول اضافه و به مدت ۲ ساعت دیگر همزده شد. در ادامه برای تهیه محلول پلیمری حاوی سل شیشه زیست فعال جهت الکتروریسی، در ابتدا، مقدار ۶ گرم پلی وینیل پیرولیدون به ۵۰ میلی لیتر اتانول اضافه گردید. محلول فوق توسط همزن مغناطیسی به مدت ۳۰ دقیقه جهت حل شدن کامل پلی وینیل پیرولیدون همزده شد. پس از سپری شدن زمان فوق، مقدار ۲۰ میلی لیتر سل شیشه زیست فعال به آرامی به محلول مذکور افزوده شد و در نهایت به مدت ۴ ساعت دیگر نیز همزده شد. لازم به ذکر است از دمای ۶۰ درجه سلسیوس به منظور تسریع فرایند توسط همزن استفاده شد. گرانیوی محلول فوق نیز با استفاده از دستگاه ویسکوزیتر (مدل: Brookfield, DV-I mit LV Spindel, آمریکا) اندازه گیری شد و مقدار آن به ۱/۸ پواز به ثبت رسید. برای تهیه الیاف از دستگاه الکتروریسی (مدل: ANSTCO-RN/I، ایران) استفاده شد. محلول بدست آمده، به درون سرنگ پلاستیکی ۱۰ میلی لیتری با سرسوزن فولادی ضدزنگ با قطر خارجی ۲۴ گیج (معادل ۰/۵۶۵۲ میلی متر) ریخته شد. این سرنگ به یک منبع ولتاژ بالا متصل بود. تنظیمات دستگاه به صورت زیر انجام شد: ولتاژ ۱۹ کیلو وات، نرخ تغذیه ۰/۸ میلی لیتر بر ساعت، فاصله نازل تا جمع کننده ثابت ۱۰۰ میلی متر. پس از آن به



براساس استاندارد ASTM-C 266-89، زمان گیرش اولیه سیمان از لحظه شروع مخلوط کردن پودر با مایع تا لحظه‌ای که یک سوزن با وزن ۱۱۳/۴ گرم و قطر ۱۳/۲ میلیمتر نتواند هیچ اثری روی سطح نمونه ایجاد نماید، در نظر گرفته می‌شود. زمان گیرش نهایی سیمان نیز همانند زمان گیرش اولیه محاسبه می‌شود اما با این تفاوت که وزن سوزن ۴۵۵/۶ گرم و قطر ۱/۲۵ میلیمتر است.

## ۲-۵- ارزیابی زیست فعالی نانو کامپوزیت

جهت ارزیابی زیست فعالی نمونه نانو کامپوزیت از مایع شبیه سازی شده بدن (SBF) استفاده شد. مایع شبیه سازی شده بدن طبق دستورالعمل کوکوبو (KoKubo) تهیه شد [۱۰]. بدین منظور نمونه نانو کامپوزیت (قطر ۶ و ارتفاع ۱۲ میلیمتر) در دوره زمانی ۱۴ روزه در ۳۰ میلی لیتر مایع شبیه ساز بدن غوطه‌ور و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس درون انکوباتور قرار داده شد. پس از پایان دوره، نمونه‌ها از مایع شبیه سازی شده بدن خارج و به منظور جدا سازی نمک‌ها، با آب مقطر شستشو داده شدند و درون خشک کن (مدل: Memmert, UNB 400, آلمان) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس خشک گردیدند.

## ۲-۶- آزمون کشت سلولی

برای ارزیابی اتصال و چسبندگی سلول‌ها روی سطح نمونه نانو کامپوزیت در محیط آزمایشگاهی، از محیط کشت استفاده شد. بدین منظور تعداد ۱۰۰۰۰ سلول استخوان استئوبلاست انسانی نوع MG64 روی نمونه استوانه‌ای (قطر ۶ و ارتفاع ۱۲ میلیمتر) قرار گرفتند و به مدت ۳ ساعت جهت چسبیدن سلول‌ها درون انکوباتور کشت سلولی با دمای ۳۷ درجه سلسیوس، حاوی ۵٪ دی اکسید کربن و

در ترکیب سیمان ۲۵ و ۳۵ درصد به منظور کارپذیری بهتر خمیرسیمان، نسبت فاز جامد به مایع ۲ به ۱ انتخاب شد) خمیر سیمانی بدست آمده را درون قالب تفلونی با ابعاد (قطر ۶ میلیمتر و ارتفاع ۱۲ میلیمتر) قرار داده و به آرامی با قاشقک فشرده شد تا فرآیند گیرش درون قالب انجام شود. پس از گیرش کامل و سفت شدن، نمونه‌ها را از قالب جدا و در انکوباتور (مدل: Memmert-Inc. 108، آلمان) ۱۰۰٪ رطوبت و دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. مراحل برای ساخت نمونه شاهد و نانو کامپوزیت در شرایط یکسان انجام شد. برای انجام آزمایشات از هر ترکیب، ۴ نمونه تهیه شد.

## ۲-۳- ارزیابی خواص مکانیکی

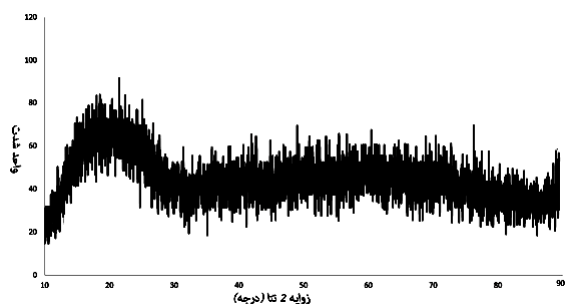
استحکام فشاری براساس استاندارد ANSI-ADA No. 30 و به کمک دستگاه Zwick/Roell-HCR 25/400 (کشور لهستان) صورت گرفت (از قابلیت‌های این دستگاه این است که علاوه بر نمایش نمودار بار-جابجایی، مقادیر مربوط به استحکام فشاری، مدول یانگ و چقرمگی را نیز نشان می‌دهد). سرعت حرکت فک ۰/۵ میلیمتر بر دقیقه تعیین شد. این آزمایش برای هر ترکیب روی ۴ نمونه تکرار شد. با بررسی و مقایسه نتایج آزمون مکانیکی نمونه کنترل با نمونه‌های نانو کامپوزیتی، ترکیب بهینه‌ای که بهترین وضعیت و عملکرد را دارد انتخاب و ادامه آزمون‌ها روی نمونه با ترکیب بهینه پیش برده شد.

## ۲-۴- ارزیابی زمان گیرش (اولیه و نهایی)

برای اندازه گیری زمان گیرش نمونه نانو کامپوزیت (ترکیب بهینه) و نمونه کنترل، از سوزن گیلور استفاده شد. گیرش هر سیمان در دو مرحله گیرش اولیه و نهایی صورت گرفت.



شکل ۲ الگوی پراش پرتو ایکس الیاف شیشه زیست فعال را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشخص است ساختار الیاف شیشه به صورت آمورف بوده است. این مطلب با نتایج سایر محققان مطابقت دارد که روش سل ژل قادر به تولید ساختار آمورف است [۹].



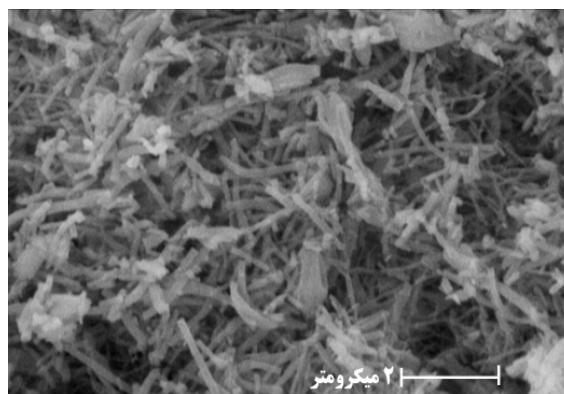
شکل ۲- الگوی پراش پرتو ایکس الیاف شیشه زیست فعال

جدول ۱ خلاصه‌ای از نتایج آزمون استحکام نمونه‌های مورد مطالعه به همراه مدول ینگ، استحکام فشاری و چقرمگی را نشان می‌دهد. با توجه نتایج، استحکام فشاری سولفات کلسیم بدون الیاف (CS100) برابر با ۱۶/۵۱ مگاپاسکال می‌باشد که این استحکام با نتایج افزودن ماده تقویت کننده تفاوت دارد. استحکام فشاری نمونه‌ها با افزودن درصد الیاف شیشه زیست فعال تا ۱۵ درصد وزنی (CS 85/BGf 15) در زمینه سولفات کلسیم، افزایش پیدا کرد، به طوری که برای نمونه مذکور، به ۳۱/۵۴ مگاپاسکال رسید؛ اما افزایش بیشتر از این درصد، باعث کاهش استحکام شد، به طوری که در ترکیب (CS 65/BGf 35) کمترین میزان خواص مکانیکی بدست آمد. یکی از دلایل این افت خواص مکانیکی می‌تواند به کاهش بیش از حد عامل گیرش یعنی فاز ژئیس در ترکیب نسبت داد. در واقع، مقدار الیاف بیش از حد همانند ناخالصی عمل می‌کند، پیوستگی کامپوزیت را از بین

۸۸٪ رطوبت قرار داده شدند. پس از سپری شدن زمان فوق، مقدار ۵۰۰ میکرو لیتر محیط کشت یاد شده به هر خانه اضافه گردیده و پلیت مد نظر به مدت ۴۸ ساعت دیگر درون انکوباتور با شرایط فوق قرار داده شد. پس از سپری شدن زمان یاد شده، کلیه محیط کشت موجود در هر خانه از پلیت، خارج و به هر خانه به میزان ۵۰۰ میکرو لیتر گلوترالدهید ۴٪ جهت تثبیت سلولها اضافه گردید. پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و سپس محلول مذکور خارج گردید. نهایتاً هر دیسک توسط آب فوق خالص، ۳ مرتبه شستشو داده شد.

### ۳- نتایج و بحث

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از الیاف شیشه زیست فعال بعد از عملیات حرارتی در شکل ۱ نشان داده شده است. قطر الیاف پس از عملیات حرارتی در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس کمتر از ۱۰۰ نانو متر رسیده است. این امر حاکی از آن است که روش سل ژل و فرایند الکتروسیسی قابلیت تولید الیاف در مقیاس نانو را دارند.



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الیاف شیشه زیست فعال پس از عملیات حرارتی



در کامپوزیتها استفاده می‌شوند [۱۲]. افزایش خواص مکانیکی سیمان با استفاده از الیاف را طی سه مکانیسم می‌توان توضیح داد: الف) ایجاد پل توسط الیاف، بین دو سطح ترک و جلوگیری از رشد آن؛ ب) مکانیسم انحراف ترک و ایجاد ترک‌های انشعابی در نوک ترک اصلی؛ ج) لغزش سطوح ترک در راستای الیاف و صرف انرژی جهت کنده شدن الیاف از زمینه [۱۳]. با توجه به جدول ۱ مشخص است که استفاده از الیاف شیشه تا میزان ۱۵ درصد (CS 85/BGf 15) در ترکیب سیمان علاوه بر افزایش استحکام، سبب افزایش چقرمگی و مدول یانگ نیز شده است. بنابراین با توجه به نتایج آزمون استحکام فشاری نمونه کنترل و نمونه‌های نانوکامپوزیتی و مقایسه آنها با استحکام فشاری بافت‌های اسکلتی بدن (استخوان کورتیکال) [۱۴]، ترکیب بهینه‌ای که بهترین وضعیت و عملکرد و خواص مکانیکی نزدیک بافت استخوانی بدن را دارا بود، انتخاب و ادامه آزمون‌ها روی نمونه با ترکیب بهینه پیش برده شد.

می‌برد و در نتیجه موجب می‌شود تا استحکام به میزان ۴/۱۸ مگاپاسکال کاهش یابد؛ به بیان دیگر، بر هم کنش الیاف شیشه تا یک درصد وزنی مشخص (تا ۱۵ درصد) با ماتریس سولفات کلسیم و در نتیجه برقراری پیوند مناسب شیمیایی بین آنها، بواسطه همخوان بودن ترکیب شیمیایی‌شان (به عنوان مثال هم فاز تقویت کننده و هم فاز زمینه دارای ترکیب کلسیمی هستند؛ از طرف دیگر امکان ایجاد پیوند سیلیسیم موجود در ساختار شیشه با کلسیم موجود در ترکیب سیمان وجود دارد)، می‌تواند به پیوستگی کامپوزیت کمک کند. اما وارد شدن بیشتر الیاف شیشه در ساختار به واسطه برهم کنش های نامناسب و ایجاد حفره بین الیاف و سیمان سبب کاهش یکنواختی کامپوزیت و در نتیجه افت استحکام می‌شود [۱۱]. همچنین یکی از دلایل ایجاد بهینه خواص مکانیکی برای نمونه ۱۵ درصد (CS 85/BGf 15)، به پل زدن ترک‌ها توسط الیاف و مقاومت در برابر بار اعمالی بازمی‌گردد. الیاف‌ها به صورت گسترده‌ای برای بهبود مقاومت شکست و افزایش استحکام

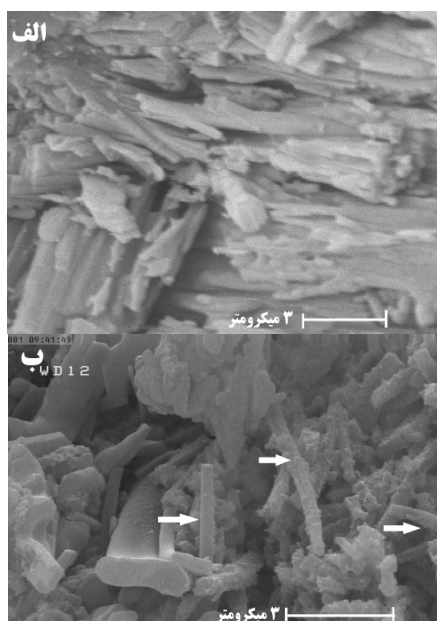
جدول ۱ - نتایج آزمون خواص مکانیکی نمونه‌های مورد مطالعه

کد نمونه	ترکیب		نسبت فاز جامد به مایع (گرم بر میلی لیتر)	استحکام فشاری (مگا پاسکال)	چقرمگی (ژول بر سانتیمتر مربع)
	مقدار فاز جامد (درصد وزنی)	مقدار فاز مایع (درصد وزنی)			
CS100	۰	۱۰۰	۳ به ۱	۳۳۸/۷±۰/۳	۲۹۴/۲±۰/۲
CS 97/BGf 3	۳	۹۷	۳ به ۱	۵۰۴/۹۵±۰/۱	۳۲۷/۵±۰/۱
CS 95/BGf 5	۵	۹۵	۳ به ۱	۸۷۷/۵±۰/۱	۴۲۹/۲±۰/۳
CS 90/BGf 10	۱۰	۹۰	۳ به ۱	۹۱۳/۹±۰/۵	۵۰۱/۱±۰/۳
CS 85/BGf 15	۱۵	۸۵	۳ به ۱	۹۶۵/۳±۰/۲	۵۶۶/۲±۰/۱
CS 75/BGf 25	۲۵	۷۵	۲ به ۱	۹۳/۸±۰/۳	۲۷۹/۳±۰/۱
CS 65/BGf 35	۳۵	۶۵	۲ به ۱	۴۶/۲۳±۰/۴	۹۹/۸±۰/۲





شکل ۳ مورفولوژی سطح مقطع شکست نمونه کنترل (CS100) و نانو کامپوزیت (CS 85/BGf 15) پس از انجام استحکام فشاری را نشان می‌دهد. در تصویر (الف) ساختار فاز سولفات کلسیم به صورت خوشه‌هایی از بلورهای میله‌ای و سوزنی شکل درهم تنیده را نشان می‌دهد که به صورت هم جهت قرار دارند، این درهم فرورفتگی عامل گیرش است. همانطور که مشاهده می‌شود، این بلورها به طور تقریبی دارای ابعاد قطر ۱ و طول ۳ میکرومتر هستند. در تصویر شماره (ب) فاز تقویت کننده یعنی الیاف شیشه زیست فعال، در ساختار و در بین بلورهای میله‌ای فاز ژپیس مشاهده می‌شود؛ الیاف در ساختار بلوری به عنوان یک داربست یا پل برای انتقال نیرو عمل کرده و از جدایش بلورها جلوگیری می‌کند [۱۳-۱۲] (الیاف شیشه زیست فعال در تصویر (ب) با علامت فلش مشخص شده است).



شکل ۳- مورفولوژی سطح مقطع شکست: الف) سیمان استخوانی سولفات کلسیم (CS100)، ب) نانو کامپوزیت (CS 85/BGf 15)

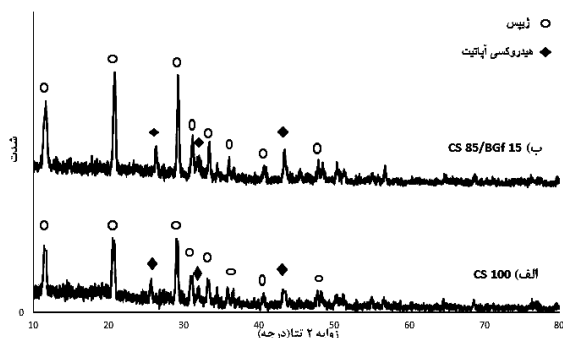
در جدول ۲ نتایج زمان گیرش اولیه و ثانویه نمونه کنترل و نانو کامپوزیت ارائه شده است. طبق نتایج، میانگین زمان گیرش اولیه نمونه کنترل، ۱۲ دقیقه بود؛ اما با افزودن الیاف شیشه زیست فعال تا مقادیر ۱۵ درصد وزنی الیاف شیشه در ترکیب سولفات کلسیم، مدت زمان گیرش کاهش پیدا کرد. به طوری که برای نمونه (CS 85/BGf 15)، این پارامتر به ۶ دقیقه رسید. این روند مشاهده شده تقریباً برای زمان گیرش نهایی نیز صادق است. با توجه به نتایج آزمون‌های فوق می‌توان گفت که وارد کردن جزء الیاف در ترکیب سیمان تا یک مقدار خاص باعث کاهش زمان گیرش می‌شود علت آن نیز قرار گرفتن الیاف در بین کریستال‌های کلسیم سولفات است که علاوه بر کاهش زمان گیرش، باعث افزایش استحکام نیز می‌شود و همچنین الیاف رفتار آبدوستی دارد و در نتیجه آب را تا حدی جذب می‌کند و در نتیجه سبب افزایش سرعت گیرش می‌شود [۱۵]. از لحاظ شیمیایی گیرش براساس فرایند پی در پی حل شدن و رسوب کردن است. از لحاظ مکانیکی گیرش در هم فرو رفتگی و رشد تو در توی بلورها است [۱۶]. اصولاً واکنش‌هایی که حین گیرش رخ می‌دهد در سه مرحله اتفاق می‌افتد: الف) انحلال نیمه هیدراته در آب و ایجاد محلول فوق اشباعی از ژپیس، ب) جدا شدن ژپیس به شکل کریستال‌های بسیار ریزی در ابعاد کلونیدی از این محلول فوق اشباع، ج) تشکیل ژپیس بلورین از تبلور مجدد ژپیس کلونیدی [۱۷].

جدول ۲- نتایج زمان گیرش اولیه و ثانویه نمونه کنترل (CS 100) و نانو کامپوزیت (CS 85/BGf 15)

کد نمونه	زمان گیرش اولیه (بر حسب دقیقه)	زمان گیرش ثانویه (بر حسب دقیقه)
CS 85/BGf 15	6 ± 1	21 ± 1
CS100	12 ± 2	27 ± 1



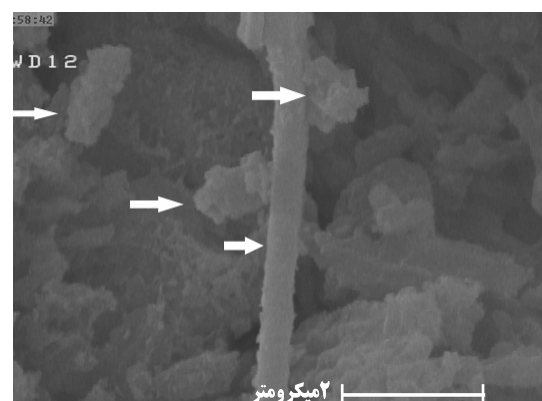
شکل ۵، الگوی پراش پرتو ایکس را برای نمونه کنترل و نانو کامپوزیت، پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در مایع شبیه ساز بدن، نشان می‌دهد. مطابق شکل، در زوایای ۳۲، ۲۶ و ۴۴ درجه حضور فاز آپاتیت قابل مشاهده است. شناسایی فاز آپاتیت با توجه به کارت مرجع شماره ۰۹-۴۳۲ انجام شد. پیک‌های ظاهر شده در زوایای ۱۲، ۲۰، ۲۹، ۳۱، ۳۴، ۳۶، ۴۱ و ۴۸ درجه مربوط به فاز ژئیس است. شناسایی این فاز نیز با توجه به کارت مرجع شماره ۰۳۱۱-۳۳ صورت گرفت. با بررسی پیک‌ها می‌توان گفت که در زوایای مربوط به فاز آپاتیت، نمونه نانو کامپوزیتی شدت بیشتری نسبت به نمونه کنترل دارد که می‌تواند نشان‌دهنده آن باشد که فاز آپاتیت بیشتری بر روی سطح نانو کامپوزیت تشکیل شده است.



شکل ۵- الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌های سیمان استخوانی پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در مایع شبیه سازی شده: الف) نمونه کنترل (CS100) و ب) نمونه نانو کامپوزیت (CS 85/BGf 15)

شکل ۶ تصاویر میکروسکوب الکترونی روبشی از اتصال و چسبندگی سلول‌ها بر روی نمونه کامپوزیتی بهینه پس از ۴۸ ساعت قرارگیری در محیط کشت را نشان داده است. تصاویر نشان می‌دهد که سلول‌ها به خوبی به سطح چسبیده و پخش شده‌اند و توانسته‌اند پاهای دروغین با مورفولوژی

شکل ۴ مورفولوژی نانو کامپوزیت (CS 85/BGf 15) را پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن نشان می‌دهد. تصویر میکروسکوب الکترونی روبشی از مقطع برش عرضی نانو کامپوزیت، حضور نانوالیاف و ذرات آپاتیت در آن را به خوبی نشان می‌دهد. وقتی سیمان کلسیم سولفات در معرض مایع شبیه سازی شده بدن قرار می‌گیرد، شروع به انحلال و تبدیل شدن به یون‌های کلسیم و سولفور می‌کند؛ که یون‌های کلسیم با یون‌های فسفر موجود در مایع شبیه ساز واکنش شده و رسوب کلسیم فسفات بر روی سطح صورت می‌گیرد از طرفی وجود الیاف شیشه زیست فعال در ساختار کامپوزیت به واسطه فرایند انحلال و رهایش یون کلسیم و سیلیسیم منجر به تشکیل لایه کلسیم فسفات (آپاتیت) می‌شود [۱۸]. طبق گزارش دیگر محققین، میکروساختار ایجاد شده در محیط شبیه سازی شده بدن به واسطه انحلال فازهای مختلف کنترل می‌شود که این امر سبب ایجاد تغییراتی شیمی و توپوگرافی سطح می‌شود [۱۹] (فاز آپاتیت و الیاف شیشه زیست فعال در تصاویر با علامت فلش مشخص شده است).



شکل ۴- تصاویر میکروسکوب الکترونی روبشی از مقطع برش عرضی نانو کامپوزیت پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در مایع شبیه سازی شده بدن



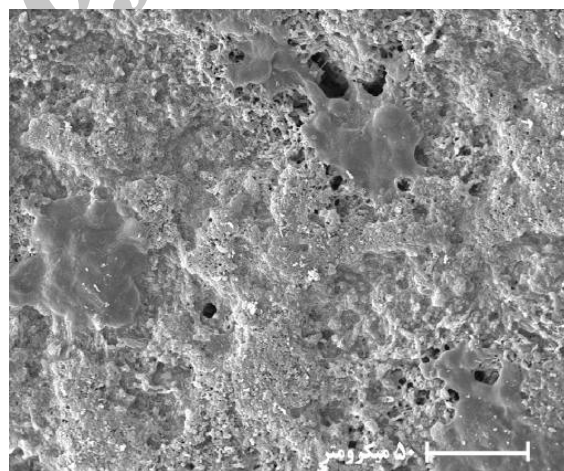


حضور پلیمر پلی وینیل پیرولیدون قابلیت الکتروریسی دارد. افزودن الیاف شیشه زیست فعال در ترکیب سیمان استخوانی سولفات کلسیم تا ۱۵ درصد وزنی، افزایش استحکام فشاری، مدول یانگ و چقرمگی را نسبت به نمونه بدون الیاف و درصدهای کمتر الیاف در پی داشت. اما افزودن بیشتر از مقدار فوق، اثر عکس داشت، به طوری باعث افت شدید خواص مکانیکی شد. بنابراین در این پژوهش ترکیب ۱۵ درصد وزنی الیاف شیشه زیست فعال به عنوان ترکیب بهینه جهت ساخت نانو کامپوزیت سیمان استخوانی سولفات کلسیم/الیاف شیشه زیست فعال انتخاب شد. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و پراش اشعه ایکس، حضور آپاتیت را برای نانو کامپوزیت بهینه به اثبات رساند. نتایج کشت سلولی نیز نشان داد که سلول‌های استخوان انسانی استئوبلاست نوع MG64 به خوبی بر روی سطح نانو کامپوزیت به صورت یکنواخت رشد کردند. این نشان دهنده زیست فعالی مناسب نانو کامپوزیت است. با توجه به نتایج این پژوهش، نانو کامپوزیت سیمان استخوانی کلسیم سولفات/الیاف شیشه زیست فعال (CS 85/BGf) 15 دارای خواص مکانیکی و زیست فعالی مناسب است که از آن می‌توان به عنوان عنوان کاشتنی جهت درمان و بهبود سریع و رشد استخوان استفاده نمود.

## مراجع

- [1] J. P. legeros, R. Z. legeros, "Dense hydroxyapatite in an introduction to bioceramics", *world scientific publishing co, Singapore* 1991.
- [2] D. F. Williams, "Deffinitions in biomaterials", *Elsevier, Amesterdam*, Vol. 26, pp.414-20, 1988.
- [3] A. Lazary, B. Balla, J.P. Kosa, K. Bacsi,

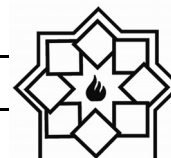
چندوجهی ایجاد نمایند. همچنین، همانطور که دیده می‌شود، سلول‌ها ردپاهایی از ماتریس خارج سلولی از خود به جا گذاشته‌اند. اصولاً جهت بررسی درجه زیست سازگاری، برای تکثیر سلولی و اتصال چهار مرحله در نظر گرفته می‌شود که عبارتند از: مرحله چسبیدن یا اتصال، مرحله ظاهر شدن پاهای دروغین، مرحله شبکه‌ای شدن و مرحله پهن شدن سلول. مطابق با مشاهدات، الیاف حاضر از نقطه نظر زیست سازگاری در وضعیت درجه چهارم است. لازم به توضیح است که پاسخهای سلولی به ماده زیست فعال نه تنها به مورفولوژی سطح بلکه به ترکیب شیمیایی ماده نیز بستگی دارد که این عوامل نقش بسزایی در تعیین برهم کنش سلول- ماده بواسطه رهائش میزان یون‌های موجود در ماده دارد [۲۰-۲۱].



شکل ۶- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی سلول‌های استخوان استئوبلاست انسانی نوع MG64 پس از ۲ روز قرار گیری در محیط کشت بر روی سطح نمونه نانو کامپوزیت

## ۴- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش، می‌توان گفت که محلول سل شیشه زیست فعال با ترکیب سه جزئی با



- Medicine*, Vol. 11, pp. 95-100, 2000.
- [13] H. H. K. Xu, J. B. Quin, S. Takagi, L. Chow, F. Eichmiller, "Strong and macroporous calcium phosphate cement : effects of porosity and fiber reinforcement on mechanical properties", *Journal of Biomedical Material Research*, Vol. 57, pp. 457-66, 2001.
- [14] L. L. Hench and J. R. Jones "Biomaterials, artificial organs and tissue engineering", *CRC Press*, 2005.
- [15] W. Zhao, W. Zhai , Z. Wang, J.Wang,J.Chang "tricalcium silicate: the self-setting properties and in vitro bioactivity", *Journal of biomaterials*, vol. 26, pp. 6113-21, 2005.
- [16] M. bohner, "resorbable biomaterial as bone graft substitutes", *Materials Today, Switzerland*, Vol. 13, pp. 24-30, 2010.
- [17] D. Robinson, J. Sandbank, R. Farber, N. Halperin, D. Alk "Inflammatory reactions associated with calcium sulfate bone substitute", *Journal of ann transplant*, Vol. 14, pp. 91-7, 1999.
- [18] L. Ricci , "calcium sulfate , bioceramics and their clinical applications", Vol. 14, pp. 302-322, 2007.
- [19] [M. A. Sainz, P. Pena, S. Serena, A. Caballero, "Influence of design on bioactivity of novel  $\text{CaSiO}_3\text{-Mg}(\text{SiO}_3)_2$  bioceramics: In vitro simulated body fluid test and thermodynamic simulation", *Acta Biomaterials*, Vol. 6, pp. 2797-807, 2010.
- [20] S-Y. Chou, C-M. Chang, P. R. Leduc, "Composite polymer systems with control of local substrate elasticity and their effect on cytoskeletal and morphological characteristics of adherent cells", *Biomaterials*, Vol. 30, pp. 3136-42, 2009.
- [21] C. Wu, Y. Zhu, R. Zheng, R. Appleyard, A. Howard, Y. Ramaswamy, H.Zreiqat "The effect of mesoporous bioactive glass on the physiochemical, biological and drug-release properties of poly (DL-lactide-co-glycolide) films", *Biomater*, Vol. 30, pp. 2199-208, 2009.
- Z. Nagy, I. Takacs, P.P. Varga, G. Speer, and P. Lakatos, "Effect of Gypsum on Proliferation and Differentiation of MC3T3-E1 Mouse Osteoblastic Cells", *Journal of Biomaterials*, Vol. 28, pp. 393-99, 2007.
- [4] A. S. Coetzee, "Regeneration of Bone in the Presence of Calcium Sulfate", *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, Vol.106, 405-09, 1980.
- [5] Z. Huan, J. Chang, "Self-setting Properties and in Vitro Bioactivity of Calcium Sulfate Hemihydrate-tricalcium Silicate Composite Bone Cements", *Acta Biomaterialia*, Vol. 3, pp. 952-60, 2007.
- [6] L. L. Hench, "The Story of Bioglass", *Journal Materials Science:Materials in Medicine*, Vol. 17, pp. 967-78, 2006.
- [7] N. Nabian, M. Jahanshahi, S.M. Rabiee, "Synthesis of nano-bioactive glass-ceramic powders and its in vitro bioactivity study in bovine serum albumin protein", *Journal of Molecular Structure* ,Vol. 998, pp. 37-41, 2011.
- [8] A. R. Boccaccini, "Tissue engineering using ceramics and polymers", *Boca Raton: CRC Press*, 2007.
- [9] S. Ramakrishna, "An introduction to electrospinning and nanofibers," *Singapore: World Scientific*, 2005.
- [10] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, and T. Yamamuro, "Solutions able to reproduce *In Vivo* surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W", *Journal of Biomedical Materials Research* Vol. 24, pp. 721-34, 1990.
- [11] N. Nezafati, F. Moztarzadeh, S. Hesaraki, M. Mozafari, "Synergistically reinforcement of a self-setting calcium phosphate cement with bioactive glass fibers", *Ceramics International*, Vol. 37, Issue 3, 927-934, 2011.
- [12] A. S. Von Gonten, J.R. Kelly, J.M. Antonucci, "Load-bearing behavior of a simulated craniofacial structure fabricated from a hydroxyapatite cement and bioresorbable fiber-mesh", *Journal Materials Science: Materials in*