

Synthesis of Magnesium Calcium Phosphate Nanoparticles using Biomimetic Method in Amino Acids Environment

R. Kazemzadeh¹, A.A. Behnam ghader^{2*}, S. Hesaraki³, F. Hazrati⁴

¹ M.Sc Student, Biomaterial Group, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran, roozbeh_ka@yahoo.com

² Assistant Professor, Biomaterial Group, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran

³ Assistant Professor, Biomaterial Group, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran, S-hesaraki@merc.ac.ir

⁴ M.Sc Student, Biomedical Engineering School, Science and Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran, fa_hazrati@yahoo.com

Abstract

Magnesium-contained Hydroxyapatite nanopowder was synthesized by wet chemical method using calcium nitrate tetra hydrate, magnesium nitrate hexa hydrate and diammonium hydrogen phosphate in the presence of Glutamic acid. According to thermal analysis (STA) findings the samples were calcinated at specific temperatures and characterized by XRD, FTIR and TEM analysis. XRD results showed the that β -TCP ((Ca_{1-x}Mg_x)₃(PO₄)₂) was the dominant phase at 920°C. No characteristic peaks of hydroxyapatite were observed at that temperature. In contrast, the sample which was synthesized in the absence of Glutamic acid, contained both hydroxyapatite and β -TCP phase. The Findings showed a rapid decline in degree of crystallinity at 90°C with presence of Glutamic acid in reaction media. Transmission electron microscopy (TEM) observations on heat treated samples at 480°C revealed that using Glutamic acid has noticeable effect on crystallite size instead of its growth orientation. Dimensions of biomimetic nanoparticles as observed by TEM were 150x60nm and in the witness sample was 500x150nm. According to Scherrer formula for crystallite size, the size of the witness sample was calculated about 40nm. However, because of low degree of crystallinity it was impossible to calculate the size of Glutamic contained samples.

Keywords: Magnesium hydroxyapatite, Magnesium calcium phosphate, Nanoparticles, Glutamic acid, Biomimetic.

* Corresponding author

Address: Ali asghar Behnam ghader, Biomaterial Group, Materials and Energy Research Center, P. O. Box: 3178-316, Karaj, Iran
Tel: +98 261 6204131
Fax: +98 261 6201888
E-mail: a_behnamghader@merc.ac.ir

سنتز نانوذرات کلسیم فسفات دارای منیزیم در محیط حاوی اسیدهای آمینه

روزبه کاظم زاده^۱، علی اصغر بهنام قادر^{۲*}، سعید حصارکی^۳، فاطمه حضرتی^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیومواد، پژوهشگاه مواد و انرژی، مشکین دشت، کرج roozbeh_ka@yahoo.com

^۲ استادیار، گروه بیومواد، پژوهشگاه مواد و انرژی، مشکین دشت، کرج

^۳ استادیار، گروه بیومواد، پژوهشگاه مواد و انرژی، مشکین دشت، کرج s-hesaraki@merc.ac.ir

^۴ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی پزشکی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران fa_hazrati@yahoo.com

چکیده

بودر هیدروکسی آپاتیت دارای منیزیم به روش شیمی تر و با استفاده از پیش ماده‌های نیترات کلسیم، نیترات منیزیم و دی آمونیوم هیدروژن فسفات در حضور اسید گلوتامیک سنتز شد. بر اساس یافته‌های حاصل از تحلیل حرارتی، نمونه‌ها در دماهای مشخص کلسینه شده و به روش‌های پراش پرتو ایکس، اسپکتروسکوپی مادون قرمز با انتقال فوریه و میکروسکوپ الکترونی عبوری مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج پراش پرتو ایکس نمونه سنتز شده در حضور اسید آلی نشان‌دهنده غالب بودن فاز TCMP- $(Ca_{1-x}Mg_x)_3(PO_4)_2$ در دمای $920^{\circ}C$ است. هیچ قله مشخصی از فاز هیدروکسی آپاتیت در این دما شناسایی نشده است. این در حالیست که نمونه سنتز شده در غیاب اسید آمینه (نمونه شاهد) در این دما دارای هر دو فاز هیدروکسی آپاتیت و β -TCP است. از یافته‌های قابل توجه در این تحقیق کاهش شدید درجه بلورینگی نمونه‌های سنتز شده در دمای $90^{\circ}C$ در اثر اضافه نمودن اسید گلوتامیک است. افزایش درجه بلورینگی نمونه سنتز شده در حضور اسید آمینه با افزایش دمای عملیات حرارتی بسیار بیشتر از نمونه شاهد است. بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری روی نمونه‌های عملیات حرارتی شده در دمای $480^{\circ}C$ نشان داد که استفاده از اسید گلوتامیک بیش از آنکه بر کشیده شدن کریستالیت‌ها اثر بگذارد بر کوچک شدن آنها مؤثر بوده است. ابعاد نانوذرات تهیه شده در حضور اسید آمینه بر اساس مشاهدات میکروسکوپی حدود $150 \times 60 \text{ nm}$ و در نمونه شاهد حدود $500 \times 150 \text{ nm}$ است. اندازه کریستالیت‌های تخمین زده شده با استفاده از رابطه شرر در نمونه شاهد حدود 40 nm بوده ولی به دلیل درجه بلورینگی اندک، در مورد نمونه‌های سنتز شده در حضور اسید آلی قابل محاسبه نیست.

کلیدواژگان: هیدروکسی آپاتیت دارای منیزیم، کلسیم فسفات، نانو ذرات، اسید گلوتامیک، بیومیمتیک.

*عهده‌دار مکاتبات

نشانی: کرج، مشکین دشت، پژوهشگاه مواد و انرژی، صندوق پستی ۳۱۷۸۷/۳۱۶

تلفن: ۰۲۶۱-۶۲۰۴۱۳۱، دورنگار: ۰۲۶۱-۶۲۰۱۸۸۸، پیام نگار: a_behnamghader@merc.ac.ir

۱- مقدمه

کوچک‌تر در آزمایشگاه تقلید شود [۶]. پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌هایی که در محیط *in vivo* در رشد هیدروکسی آپاتیت اثر می‌گذارند، شامل انتهای آمینو اسیدی هستند که غنی از کربوکسیلات است و با سطوح معدنی کنش و واکنش دارند. می‌توان گفت حضور پروتئین‌ها در محیط سنتز هیدروکسی آپاتیت به تسریع سینتیک هسته‌زایی منجر شده و از فرایند تبلور آن جلوگیری می‌کند. به عبارت دیگر می‌توان گفت که از سرعت رشد دانه‌های هیدروکسی آپاتیت جلوگیری می‌کند [۷]. از جمله اسیدهای آمینه که در این روش‌ها مورد استفاده قرار گرفته است آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید هستند [۸، ۹]. در مقاله حاضر به منظور مطالعه اثر روش‌های بیومیمتیک در سنتز هیدروکسی آپاتیت دارای منیزیم، از اسید گلوتامیک به عنوان یک عامل مؤثر بر سنتز این زیست‌ماده استفاده شده و روش معمولی (شیمی تر) با روش بیومیمتیک مقایسه شده است. هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به این روش دارای ساختاری نزدیک‌تر به هیدروکسی آپاتیت زیستی بوده و بنابراین استفاده از آن در سیمان‌های استخوانی و کاشتنی‌های مصنوعی اهمیت دارد.

۲- فعالیت‌های تجربی

کلسیم نترات چهارآبه $\text{Ca}((\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ، نترات منیزیم شش آبه $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ، اسید گلوتامیک $(\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4)$ و دی‌آمونیم هیدروژن فسفات $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ به عنوان مواد اولیه در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا حدود ۴۰ ml محلول با غلظت مناسب $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ تهیه شد. سپس ۱۰ ml از محلول با غلظت مناسب $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ به شکلی که $\text{Ca}_{8.5}\text{Mg}_{1.5}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ به صورت نظری برقرار باشد $(\frac{\text{Mg} + \text{Ca}}{P} = 1/67)$ به محلول کلسیم و به صورت قطره قطره افزوده شد و با استفاده از محلول هیدروکسید آمونیوم، pH محلول به عدد ۱۰ رسید. سپس محلول اسید گلوتامیک با غلظت ۰/۲ M، تهیه شد. ۵۰ ml از محلول با غلظت مناسب $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ تهیه و محلول اسید گلوتامیک به آن افزوده شد. سپس pH این محلول نیز به عدد ۱۰ رسانده شده آنگاه محلول حاوی فسفر و گلوتامیک اسید

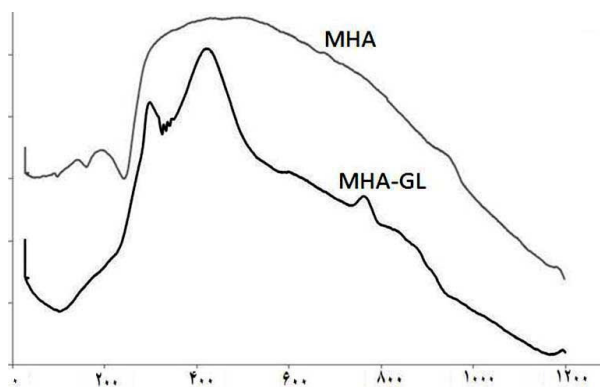
سرامیک‌های کلسیم‌فسفاتی از جمله هیدروکسی آپاتیت^۱ $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$ (HA) و بتا تری کلسیم فسفات $(\beta\text{-TCP})$ مواد مناسبی به عنوان جایگزین در کاشتنی‌های استخوان به‌شمار می‌روند [۱]. نقش هیدروکسی آپاتیت در کاربردهای مهندسی پزشکی، مانند پیوندهای مصنوعی استخوان و داربست‌ها برای مهندسی بافت‌های سخت شناخته شده است. روش‌های گوناگون سنتز برای تهیه نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به دلیل خواص زیست‌فعالی بهتر نسبت به نمونه‌های دانه درشت‌تر مورد کاوش قرار گرفته است [۲]. آپاتیت‌های زیستی به مقدار کمی بلوری هستند و دارای جانشین‌های آنیونی و کاتیونی در ساختار بلوری هیدروکسی آپاتیت‌اند. به همین دلیل ترکیب آنها با HA استوکیومتری^۲ $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$ بسیار متفاوت است. با در نظر گرفتن جانشین‌های اتمی، یون Mg فراوان‌ترین ماده به مقدار ۶٪ مولی در غضروف و بافت استخوان، در ابتدای مرحله تشکیل استخوان است [۳]. اخیراً افزودن Mg به فاز آپاتیت به دلیل اثر قابل توجه آن بر فرایند معدنی شدن و تشکیل و رشد بلورهای HA آن، نظر محققان را به خود جلب کرده است. همچنین کمبود Mg احتمال پوکی استخوان در انسان را افزایش می‌دهد [۴]. در مقایسه با HA، $\beta\text{-TCP}$ ناپایدار است و انحلال زیادی در آب دارد بنابراین به علت ناپایداری در آب، $\beta\text{-TCP}$ عملاً نمی‌تواند در محلول‌های آبی در شرایط فیزیولوژیکی (pH= ۷/۵، 37°C و $P=1 \text{ atm}$) سنتز شود [۱].

بیونیک^۳ به معنی به کاربرد روش‌های زیستی و سیستم‌های طبیعی برای مطالعه و طراحی سیستم‌های مهندسی و فناوری‌های جدید است. این واژه برای اولین بار به وسیله جک استیل^۴ در سال ۱۹۵۸ به کار برده شد [۵]. در اشاره به واکنش‌های شیمیایی که به تقلید از طبیعت انجام می‌شود، واژه بیومیمتیک^۵ متداول‌تر است. بیومیمتیک به واکنش‌های شیمیایی اشاره دارد که در طبیعت شامل ماکرومولکول‌های زیستی است (مانند اسیدهای نوکلئیک و آنزیم‌ها) و شیمی آنها می‌تواند به وسیله مولکول‌های بسیار

¹ Hydroxyapatite² Stoichiometry³ Bionic⁴ Jack Steele⁵ Biomimetic

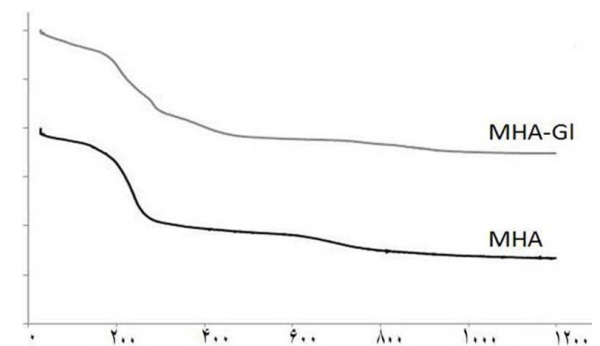
۳- بررسی فازی

با توجه به منحنی وزن-دما مشخص شد که با افزایش دما از دمای محیط تا حدود 200°C کاهش وزنی به اندازه ۵٪ وجود دارد که مربوط به خروج آب فیزیکی است و در هر دو نمونه تقریباً یکسان است. پس از آن افت وزن حدود ۲٪ با شیب تند تا دمای 320°C مشاهده می‌شود که با مراجعه به منحنی‌های FTIR مشاهده می‌شود که شدت قله مربوط به NO_3^- در 1385 cm^{-1} به مقدار قابل توجهی کم شده است که به معنی خروج نیترات‌ها است. در شکل‌های ۱ و ۲ منحنی‌های TG و STA برای نمونه‌های گلوتامیک‌دار و بدون گلوتامیک آورده شده است. با مراجعه به منحنی STA و با توجه به تغییرات مشاهده شده، دماهای ۳۰۰، ۳۲۰، ۴۳۰، ۴۶۰، ۶۵۰ و ۹۲۰ درجه سانتیگراد برای کلسینه شدن انتخاب شدند.



شکل ۱- منحنی‌های تحلیل حرارتی (STA) برای نمونه‌های

MHA-GI و MHA



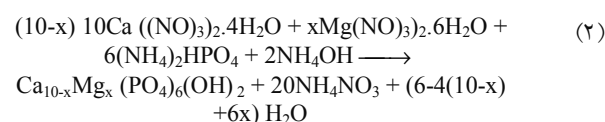
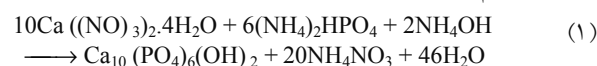
شکل ۲- منحنی‌های تغییرات وزن - دما برای نمونه‌های MHA و

MHA-GI

به محلول حاوی Ca و Mg به صورت قطره قطره اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۴ ساعت به وسیله همزن با دور 300 rpm در اتمسفر نیتروژن همزده شد. رسوب حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور 800 rpm سانتریفوژ شد. سپس با آب مقطر (دوبار تقطیر شده) آن را شستشو داده و محصول نهایی در دمای 80°C در داخل خشک‌کن به مدت ۲ شبانه روز خشک شد و با استفاده از هاون عقیق به شکل پودر نهایی در آمد. نمونه بدون گلوتامیک هم به همین ترتیب ولی بدون افزودن اسید آمینه به محلول فسفات‌ی و در اتمسفر هوا آماده شد.

براساس واکنش‌های زیر پودر نهایی هیدروکسی آپاتیت

دارای منیزیم از مواد اولیه به دست می‌آید [۱۰]:



تغییرات رفتار ماده با دما به وسیله تحلیل حرارتی^۶ (STA)

و با دستگاه PL STA 1640 (ساخت انگلستان) تعیین شد.

تغییرات ساختار شیمیایی پودرهای به دست آمده با استفاده از

تحلیل طیف‌سنجی مادون قرمز با انتقال فوری^۷ (FTIF)

(دستگاه بروکر- وکتور ۳۳، ساخت آلمان) و در محدوده

طیف $4000-500\text{ cm}^{-1}$ بررسی شدند. تغییرات فازی پودرها

نیز با استفاده از تحلیل پراش اشعه ایکس^۹ (XRD) (دستگاه

زیمنس^{۱۰} D500، ساخت آلمان) با طول موج اشعه ایکس

$\text{CuK}\alpha$ برابر با 1.54 \AA و سرعت زاویه‌ای $0.2^\circ/\text{s}$ بررسی

گردید. ریخت‌شناخت و اندازه ذرات پودر با استفاده از

میکروسکوپ الکترونی عبوری^{۱۱} (TEM) مورد مطالعه قرار

گرفت. نمونه‌های سنتز شده به صورت $^{12}\text{MHA-X}$ نامگذاری

شد که X دمای کلسینه شدن است و در نمونه‌های

گلوتامیک‌دار به صورت MHA-GI-X است. به عنوان مثال

نمونه MHA-۶۵۰ به معنی نمونه کلسینه شده در 650°C

بدون گلوتامیک و MHA-GI-۶۵۰ به معنی نمونه کلسینه شده

در 650°C و با حضور گلوتامیک است.

⁶ Simultaneous Thermal Analyzer

⁹ X-Ray Diffraction

¹² Magnesium Hydroxy Apatite

⁷ Fourier Transform Infrared Spectroscopy

¹⁰ SIEMENS

⁸ Bruker, Vector 33

¹¹ Transmission Electron Microscopy

۱-۳- بررسی ترکیب فازی

ترکیب فازی و میزان بلورینگی پودرهای سنتز شده در دماهای کلسینه شده با استفاده از آنالیز XRD مورد بررسی شد و اطلاعات حاصل از آن برای محاسبه درجه بلوری پودر و اندازه تقریبی بلورک‌ها طبق رابطه شرر مورد استفاده قرار گرفت [۹، ۱۱]. رابطه ۳ برای محاسبه درجه بلوری استفاده شده است:

$$Xc = 1 - (V_{112/300} / I_{300}) \quad (3)$$

در این رابطه، Xc درجه بلوری پودر، $V_{112/300}$ شدت عمق بین قله‌های (۱۱۲) و (۳۰۰) و I_{300} شدت قله مربوط به صفحه (۳۰۰) است.

رابطه شرر^{۱۳} برای محاسبه اندازه تقریبی بلورک‌ها چنین است:

$$t = \frac{K\lambda}{FWHM \cdot \cos \theta} \quad (4)$$

در این رابطه t اندازه بلورک‌ها به نانومتر، K فاکتور شکل مساوی 0.9 ، λ طول موج اشعه ایکس، θ زاویه براگ^{۱۴} مربوط به قله ناشی از پراش به درجه و $FWHM$ ^{۱۵} نیز عرض قله پراش در نصف ارتفاع مربوط به نمونه بر حسب رادیان است. همان‌گونه که در طیف XRD نشان داده شده است به نظر می‌رسد که جایگزین شدن Mg (قبل از شکل گرفتن فاز- β TCP) تغییری در الگوی پراش فاز آپاتیت ایجاد نمی‌کند. این امر در توافق با کارهای قبلی است که بیان می‌کنند تحلیل XRD این نمونه‌ها حتی با اینکه Ca/P بزرگ‌تر یا کوچک‌تر از مقدار استوکیومتری (۱/۶۷) است الگوی HA را ارائه می‌دهد [۴]. نقاط حداکثر در مورد شکل الف-۳ مشخص‌تر، تیزتر و دارای شدت بیشتری نسبت به نمونه سنتز شده در محیط بیومیمتیک هستند که نشان دهنده بالاتر بودن درجه بلورینگی این نمونه است. گزارش‌های قبلی نیز تأیید کننده این واقعیت

است که اسیدهای آمینه اثر بازدارنده روی بلوری شدن هیدروکسی آپاتیت دارند [۸، ۹]. در نمونه MHA-۹۰ همراه با HA مقادیر جزئی از NH_4NO_3 مشاهده شده است که هم با معادله واکنش و هم با نتایج قبلی سازگار است [۱۲]. در همه نمونه‌ها (به جز MHA-۹۲۰) قله‌های مربوط به هیدروکسی آپاتیت (JCPDS 01-073-0294) دیده شد. در مورد نمونه MHA تغییر فاز HA به β -TCP در بازه دمایی $920-650^\circ C$ اتفاق افتاده است. در این دما دو فاز HA و هیدروکسی آپاتیت منیزیم دار $(Ca,Mg)_3(PO_4)_2$ با هم حضور دارند. براساس پژوهش‌های گذشته، مشاهده شده است که تغییر فاز از HA (بدون حضور Mg) به β -TCP بالاتر از $960^\circ C$ صورت می‌گیرد ولی وجود منیزیم باعث می‌شود که این تغییر فاز در دمای پائین‌تری انجام شود [۱۳]. براساس تحقیقات انجام شده، در حضور منیزیم این استحاله در حدود $750-680^\circ C$ رخ می‌دهد [۱۱، ۱۳]. فازهای نمونه MHA در جدول ۱ مشخص شده‌اند. در نمونه‌های MHA-GI به علت همپوشانی قله‌ها تعیین درجه بلورینگی دشوار است. در این نمونه‌ها وجود اسید گلوتامیک از جوانه‌زنی جلوگیری نکرده است ولی از رشد جوانه‌ها به علت افزایش سطحی که در معرض اسید آمینه هستند ممانعت شده است. صفحاتی که آمینو اسید با آنها پیوند برقرار می‌کند دارای کلسیم با بار جزئی مثبت هستند [۱۴]. در واقع گروه کربوکسیل با بار منفی جذب یون‌های کلسیم می‌شود و رشد را محدود می‌کند. نشان داده شده است که اسیدهای آمینه اسیدی ترجیحاً روی وجوه (۱۰۰) بلور HA جذب می‌شوند. اسیدهای آمینه اسیدی مانند اسید آسپارتیک و اسید گلوتامیک میل شیمیایی بالایی با HA دارند [۸، ۹].

جدول ۱- ترکیب فازی تقریبی نمونه MHA

دما	$90^\circ C$	$300^\circ C$	$430^\circ C$	$460^\circ C$	$650^\circ C$	$920^\circ C$
ترکیب فازی	HA + NH_4NO_3	HA	HA	HA	HA	(/۴۹) HA و (/۵۱) β -TCMP
درجه بلورینگی	٪۵۸	٪۴۰	٪۴۸	٪۴۳	٪۴۸	٪۸۸
اندازه ذرات	-	~۳۰	~۲۹	~۲۶	~۳۵	-

¹³ Scherrer¹⁴ Bragg¹⁵ Full Width at Half Maximum

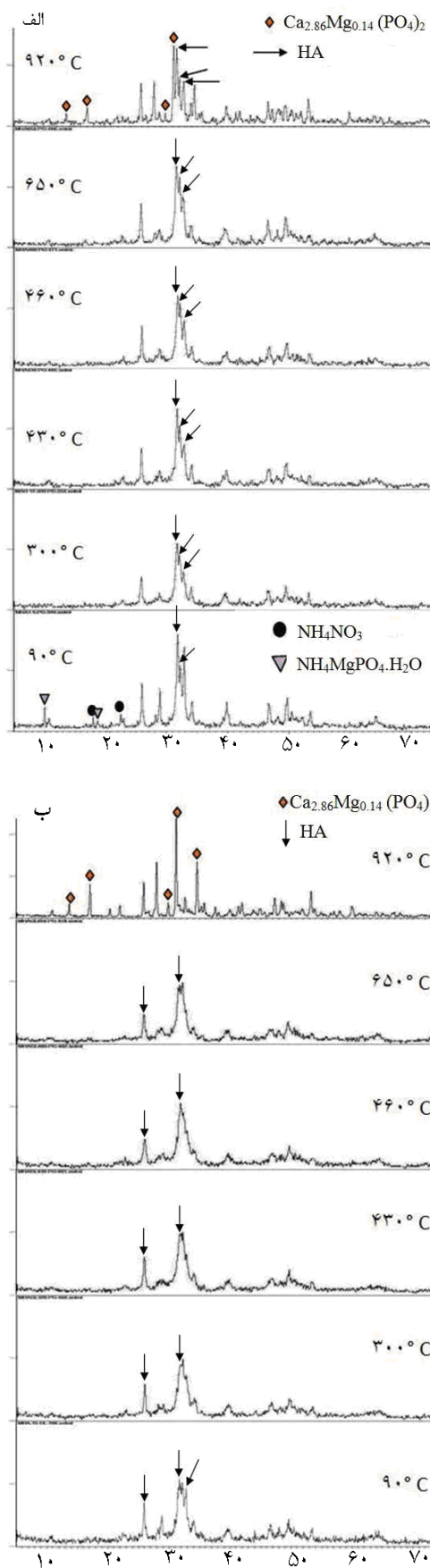
تحقیقات بسیاری بیان کرده‌اند که پروتئین‌ها و پپتیدهایی که بار منفی زیادی دارند از رشد بلورهای HA جلوگیری می‌کنند [۸]. در دمای ۹۲۰°C فاز HA کاملاً به β -TCMP ($\text{Ca}_{2.86}\text{Mg}_{0.14}(\text{PO}_4)_2$) تبدیل شده است. در جدول ۱ فازهای موجود در نمونه MHA آمده است. در نمونه ۹۲۰-MHA با مقایسه شدت قله‌ها در دو فاز HA و β -TCMP درصد این دو فاز به صورت نیمه کمی^{۱۶} محاسبه شده است و چون در این نمونه دو فاز مختلف وجود دارد محاسبه اندازه ذرات دقیق نیست. اندازه ذرات HA با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شده است. اندازه‌ها بر حسب نانومتر است.

۴- بررسی ساختار شیمیایی

ساختار شیمیایی پودرهای سنتز شده به وسیله تحلیل FTIR بررسی شد. در شکل ۴ مدهای ارتعاشی P-O بنیان ارتوفسفات در ساختار هیدروکسی آپاتیت در اعداد موج گوناگون مانند $560-610\text{ cm}^{-1}$ و $1000-1100\text{ cm}^{-1}$ مشاهده می‌شود. قله پهن در محدوده $3800-2600\text{ cm}^{-1}$ مربوط به مد کششی OH^- و قله‌های 615 cm^{-1} و 1635 cm^{-1} نیز مربوط به مد خمشی آن در آب است. رودریگو^{۱۷} و همکاران قله مختص هیدروکسی آپاتیت را در محدود $3400-3650\text{ cm}^{-1}$ می‌دانند [۱۵]. همچنین قله 3572 cm^{-1} (باندهای مربوط به گروه O-H آپاتیتی) در تمام دماها بارز است. قله‌های $820-850\text{ cm}^{-1}$ و 1380 cm^{-1} مربوط به بنیان NO_3^- هستند [۱۵] که با افزایش دما از شدت آنها کاسته شده و در ۹۲۰°C کاملاً محو شده‌اند [۴]. در نمونه‌های MHA تا دمای ۹۲۰°C، قله مربوط به OH^- در 3572 cm^{-1} دیده می‌شود. اما این قله‌ها در مورد نمونه MHA-GI در دماهای بالاتر از ۶۵۰°C دیده نمی‌شود.

۵- میکروسکوپ الکترونی عبوری

به منظور بررسی اندازه و ریخت‌شناخت ذرات، تصاویر EM از نمونه‌های گلوتامیک‌دار و نمونه شاهد (بدون گلوتامیک) که در دمای ۴۸۰°C عملیات حرارتی شده بودند تهیه گردید (شکل ۴). علت انتخاب این دما بر اساس منحنی‌های STA و TG بوده که نشان می‌دهد در این دما اسید آمینه تقریباً از محیط خارج شده است و افت وزنی شدید وجود ندارد.

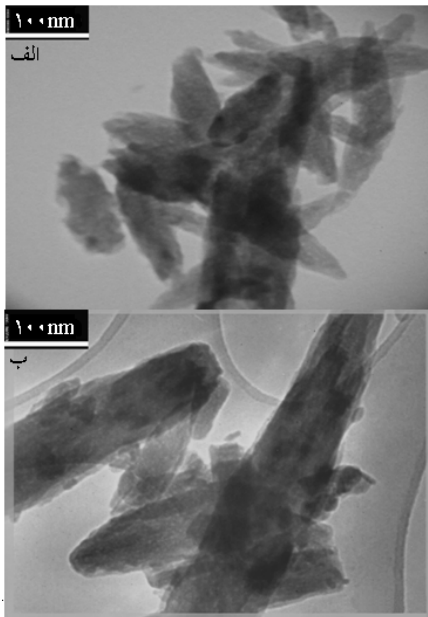


شکل ۳- نمودار پراش اشعه ایکس برای: الف) نمونه‌های MHA و

ب) MHA-GI

¹⁶ Semi quantitative

¹⁷ Rodrigo

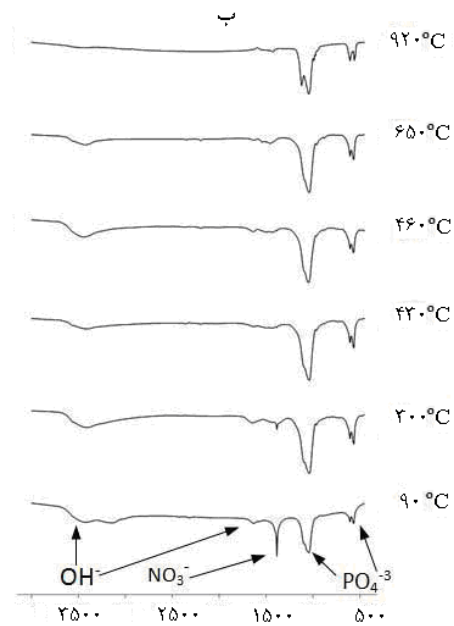
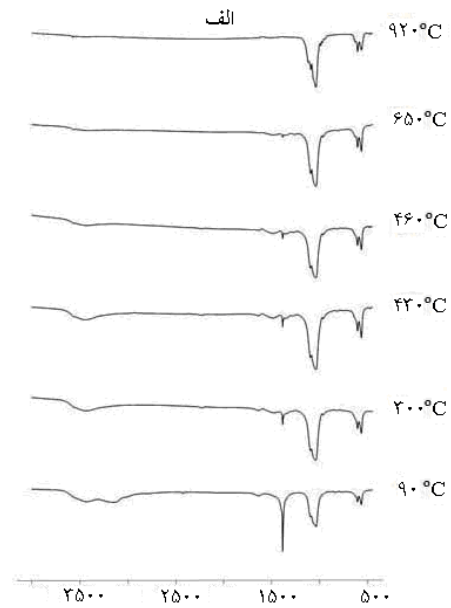


شکل ۴- تصاویر TEM نمونه MHA-GI-480 (الف) و نمونه MHA-480 (به عنوان نمونه شاهد) (ب)

نمونه شاهد دارای ذرات دانه درشت‌تری بوده و ابعاد این ذرات حدود $500 \times 150 \text{ nm}$ تخمین زده می‌شود ولی ریخت میله‌ای در مورد این نمونه‌ها نیز مشاهده می‌شود. تحقیقات دیگری ایجاد ذرات میله‌ای شکل [۱۷] و صفحه‌ای شکل [۱۸] در سنتز بیومیمتیکی هیدروکسی آپاتیت را گزارش کرده‌اند.

۶- نتیجه‌گیری

پودر هیدروکسی آپاتیت دارای منیزیم، به طور موفقیت آمیز در حضور اسید گلوتامیک تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده در دماهای مختلف کلسینه شده و مشخص شد که در دمای 920°C نمونه MHA از هیدروکسی آپاتیت و $\beta\text{-TCMP}$ تشکیل شده است. اما نمونه MHA-GI فقط از $\beta\text{-TCMP}$ تشکیل شده است. مشاهده مستقیم تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد که اندازه ذرات نمونه‌های تهیه شده در محیط دارای اسید گلوتامیک حدود $150 \times 60 \text{ nm}$ است. نمونه‌های تهیه شده در محیط اسید گلوتامیک از درجه بلوری کمتری برخوردار بوده و مقدار فاز بی‌شکل^{۱۸} آن زیاد بوده است. ریخت شناسی ذرات MHA و ذرات MHA-GI هر دو به شکل میله‌ای بوده ولی اندازه آنها کاملاً متفاوت است. به



شکل ۴- طیف FTIR نمونه‌های الف) MHA و ب) MHA-GI

شکل الف-۵ نشان می‌دهد که نمونه در حضور اسیدهای آمینه (اسید گلوتامیک) درجه بلوری کمی دارد و ذرات ریزتری را به دست می‌دهد. این پدیده را می‌توان به محدود شدن سرعت نفوذ و تخلیه عناصر به سوی جوانه‌ها در حضور اسید گلوتامیک نسبت داد. با توجه به بزرگنمایی مورد استفاده در این شکل می‌توان گفت که اندازه ذرات حدود 60 nm است و نشان دهنده ساختار میله‌ای آنهاست.

¹⁸ Amorphous

- [7] Zhang W., Huang Z.L., Nucleation Sites of Calcium Phosphate Crystals during Collagen Mineralization; Biomaterials Laboratory. J. Am. Ceram Soc, 2000; 86: 1052-54.
- [8] Matsumoto T., Okazaki M., Inoue M., Hamada Y., Crystallinity and solubility characteristics of hydroxyapatite adsorbed amino acid; Biomaterials, 2002; 23: 2241-2247.
- [9] McQuire R., Ching J., Vignaud E., Lebugle A., Synthesis and characterization of amino acid-functionalized hydroxyapatite nanorods; J. Materials Chemistry, 2004; 14: 277-2281.
- [10] Cacciotti I., Bianco A., Lombardi M., Mg-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sintering behavior; J of the European Ceramic Society, 2008; 29: 2969-2978.
- [11] Jenkins R., Snyder R.L., Introduction to X-Ray Powder Diffractometry; John Wiley & Sons, New York, 1996; 68-70
- [12] Suchaneka W.L.; Byrappaa K.; Shuk P.; Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical-hydrothermal method, Biomaterials, 2004; 25: 4647-4657.
- [13] Marchi J., Dantas A.C.S., Greil P., Influence of Mg-substitution on the physicochemical properties of calcium phosphate powders, Materials Research Bulletin, 2007; 42: 1040-1050.
- [14] Boanini E., Fini M., Gazzano M., Bigi A., Hydroxyapatite Nanocrystals Modified with Acidic Amino Acids; Eur. J. Inorg. Chem, 2006: 4821-4826.
- [15] Chirantha R., Synthesis and characterization of strontium Fluorapatite; Departement of Chemistry College of Sciences, Graduate College University of Nevada, Las Vegas, August 2005.
- [16] Matsumoto T., Okazaki M., Inoue M., Hamada Y., Crystallinity and solubility characteristics of hydroxyapatite adsorbed amino acid; Biomaterials, 2002; 23: 2241-2247.
- [17] Abmanna S., Viertelhaus M., Heiß A., Hoetzer K.A., The influence of amino acids on the biomineralization of hydroxyapatite in Gelatin; Journal of Inorganic Biochemistry, 2002; 91: 481-486.

نظر می‌رسد استفاده از اسید گلوتامیک بیش از آنکه بر کشیده شدن کریستالیت‌ها اثر بگذارد بر کوچک‌تر شدن آنها مؤثر بوده است. با ملاحظه ابعاد چند نانومتری تا چند ده نانومتری رشته‌های اسیدهای آمینه برای تشکیل پپتیدهای موجود در ماده زمینه‌ای استخوان مانند ساختارهای پیچیده کلاژنی، RGD و ... اندازه ذرات نانومتری به دست آمده در این تحقیق توجه پذیر بوده و نشانگر موفقیت تحقیق برای شبیه‌سازی هر چند مقدماتی شرایط بیولوژیکی است.

مراجع

- [1] Lee D., Sfeir C., Kumta P.N., Novel in-situ synthesis and characterization of nanostructured magnesium substituted β -tricalcium phosphate (β -TCMP); Materials Science and Engineering, 2009; 29: 69-77.
- [2] Bianco A., Cacciotti I., Lombardi M., Thermal stability and sintering behavior of hydroxyapatite nanopowders; Thermal Analysis and Calorimetry, 2007; 88: 237-243.
- [3] Landi E., Logroscino G., Proietti L., Tampieri A., Biomimetic Mg-substituted hydroxyapatite: from synthesis to in vivo behavior; Mater Sci: Mater Med, 2008; 19:239-247.
- [4] Kannan S., Lemos I.A.F., Rocha J.H.G., Ferreira J.M.F., Synthesis and characterization of magnesium substituted biphasic mixtures of controlled hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate ratios; Solid State Chemistry, 2005; 178: 3190-3196.
- [5] Gray C., The Cyborg Handbook; Routledge New York; 2003, 12-16.
- [6] Benyus J., Biomimicry: Innovation Inspired by Nature; Harper Perennial, New York, 2006, 212-223.