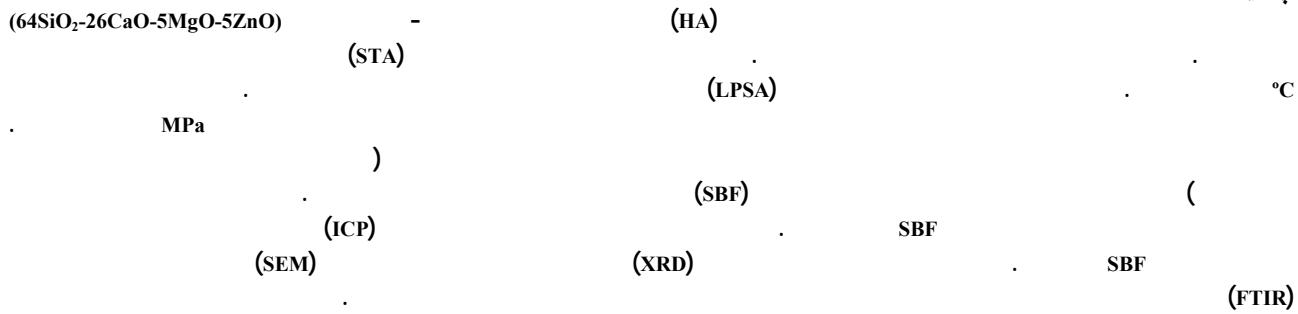


ساخت و بررسی خواص مکانیکی کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت / ذرات شیشه زیست فعال تهیه شده به روش سل - ژل

مازیار عاشوری^{*}، فتح ا... مضطربزاده^{**}، نادر نظافتی^{***}، علی انصاری همدانی^{****} و محمد رضا تحریری^{*}
گروه بیومواد، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (پلی تکنیک تهران)
گروه متالورژی و مهندسی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر

(دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۱۰ - دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۰/۱۰/۲۷)

چکیده -



واژگان کلیدی :

* - دانشجوی دکتری ** - استاد *** - مرتبی **** - کارشناسی ارشد

Synthesis and Evaluation of Mechanical Properties of Hydroxyapatite/ Sol-gel Derived Bioactive Glass Particles Composites

M. Ashuri, F. Moztarzadeh, N. Nezafati, A. Ansari Hamedani, and M. R. Tahriri

Biomaterials Group, Faculty of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic)
Department of Materials Science & Engineering, Ahar Branch, Islamic Azad University

Abstract: In the present study, a bioceramic-based composite with remarkable mechanical properties and in vitro apatite forming ability was synthesized by sintering compacts made up of mixtures of hydroxyapatite (HA) and sol-gel derived bioactive glass (64SiO₂-26CaO-5MgO-5ZnO) (based on mole %). HA was synthesized through co-precipitation method. The stabilization temperature of the bioactive glass was set to be 700 °C according to simultaneous thermal analysis (STA). Laser Particle Size Analysis (LPSA) was used to compare the particle size distributions of the synthetic powders. HA matrix was mixed with different weight percentages of bioactive glass (5, 10, 15, 20, 25 and 30 wt. %) and compressed by 80 MPa pressure. After sintering the uniaxial compression test of the samples was done and the specimen with the highest compressive strength (20 wt. % bioactive glass) was selected to be immersed in the Simulated Body Fluid (SBF) for 3, 7 and 14 days. The results showed that the compressive strength of the sample decreased after keeping it in the SBF. Also, inductively coupled plasma analysis (ICP) was used to study the ion release behavior of the sample in the SBF. Finally, phase composition, microstructure and functional groups in the composite were characterized by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and Fourier transform infra-red spectroscopy (FTIR) techniques, respectively.

Keywords: hydroxyapatite, bioactive glass, sol-gel, magnesium, zinc, sintering.

۱- مقدمه

کرده‌اند و وظایف بسیار مهمی را در بدن به عهده دارد. در واقع استخوان یک کامپوزیت طبیعی است که بخش معدنی آن را هیدروکسی آپاتیت کربناته با بلورینگی کم تشکیل داده و الیاف کلاژن آن را تقویت کرده‌اند [۴]. در بسیاری از شکستگیها و صدمات استخوانی نیاز به مواد جایگزین یا پرکننده برای ترمیم بافت استخوانی وجود دارد. امروزه نمی‌توان ماده‌ای را یافت که به تنها یک خواص مکانیکی استخوان را دارا باشد. آلیاژهای مستحکم فلزی و یا بیوسرامیکها نسبت به استخوان بسیار سخت‌تر بوده و مدلول الاستیک آنها ۳۰۰-۱۰۰ برابر استخوان است. بنابراین هنگامی که این مواد در کنار استخوان قرار گیرند، در اثر اعمال بخش اعظم تنش وارده به زیست‌ماده، فرایند بازسازی طبیعی بافت استخوانی^۳ به مرور دچار اختلال می‌شود و استخوان به مرور تخریب می‌شود. یک راه امر موجب عدم موفقیت در کاشتن زیست‌ماده می‌شود. یک راه برای مهار آثار سوء ناشی از اعمال این گونه تنشها استفاده از مواد کامپوزیتی با زمینه دارای مدلول الاستیستیه پایینتر از استخوان نظری پلی اتیلن (برای مثال در زیست‌مادهTM (HAPEXTM) و یک فاز پراکنده با مدلول الاستیستیه بالاتر از استخوان نظری

یک ماده کامپوزیتی ترکیبی از دو یا چند فاز است که دارای فصل مشترک قابل تمایز از یکدیگرند. کامپوزیت‌ها فقط برای خواص ساختاری مورد استفاده قرار نمی‌گیرند بلکه دارای کاربردهای الکترونیکی، حرارتی و زیست‌محیطی نیز هستند. مواد کامپوزیتی پیشرفته معمولاً برای طیف وسیعی از کاربردهای ویژه بهینه‌سازی می‌شوند.

با توجه به تعریف کامپوزیت، می‌توان زیست‌مواد کامپوزیتی را نیز تعریف نمود. نکته قابل توجه در این مورد این است که هر یک از اجزای سازنده کامپوزیت باستثنی زیست‌سازگار باشند و فصل مشترک بین اجزای سازنده نیز تا زمانی که بافت میزان به استحکام مناسب نرسیده است، توسط محیط بدن قابل تجزیه و از هم پاشیدگی نباشد. به طور کلی کامپوزیت‌هایی که دارای حداقل یک جزء زیست‌فعال باشند، را می‌توان در گروه کامپوزیت‌های زیست‌فعال قرارداد [۳-۱].

استخوان یکی از سخت‌ترین انواع بافت همبند است که دانسته بالایی داشته و از نظر متابولیک فعال است. در ساختار آن کلاژن، هیدروکسی آپاتیت و زمینه استخوانی^۲ شرکت

منیزیم موجب تحریک رشد استخوانی می‌شود و از طرفی می‌تواند باعث افزایش چسبندگی و ثبات سلولهای استخوانی روی زیست‌ماده شود [۱۳ و ۱۴]. در مورد یون روی نیز در حالت بروون‌تنی^۵ نشانه‌هایی از رفتار ضد التهابی و تحریک رشد استخوانی با فعالسازی مسیرهای سنتز پروتئین در سلولهای استخوان ساز^۶ مشاهده شده است [۱۵]. از طرف دیگر نشان داده شده است که حضور عناصر یاد شده در ساختار شیشه‌های زیست‌فعال می‌تواند موجب کاهش آهنگ ایجاد هیدروکسی کربنات آپاتیت در محیط‌های فیزیولوژیک شود [۱۶-۱۹]. تأثیر یا عدم ایجاد آپاتیت در مورد شیشه‌های زیست‌فعال مورد کاربرد در مهندسی بافت سخت یک نکته منفی است ولی از منظر مهندسی بافت‌های نرم (غضروف) این نکته می‌تواند حتی یک مزیت باشد و به تازگی با این هدف درباره شیشه‌های حاوی روی و منیزیم مطالعاتی انجام گرفته است.

فرض پژوهش حاضر این بود که وقتی شیشه‌های حاوی روی و منیزیم به صورت کامپوزیت با جزء زمینه‌ای کاملاً زیست‌فعالی نظیر هیدروکسی آپاتیت به کار بروند، می‌توان: (۱) به علت حضور زمینه هیدروکسی آپاتیتی، خاصیت هدایت رشد استخوانی^۷ قابل قبولی داشت و (۲) می‌توان از این کامپوزیت‌ها رفتار رهایش یونی با دوامتری انتظار داشت زیرا لایه هیدروکسی آپاتیتی که روی کامپوزیت رسوب می‌کند، می‌تواند به مرور مانند سدی موجب کندی رهایش یونها شود.

در این پژوهش یک شیشه زیست‌فعال حاوی روی و منیزیم (سیستم چهار جزئی $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-ZnO}$) به زمینه هیدروکسی آپاتیت افروده شد و خواص کامپوزیت حاصله با تکیه بر رفتار مکانیکی و تخریب آن در محلول SBF مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روشها

برای تولید کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت - شیشه زیست‌فعال در ابتدا پودرهای هر یک به طور مجزا سنتز شدند. برای اطمینان از یکنواختی اندازه دانه پودرهای پس از سنتز، آنها از

هیدروکسی آپاتیت یا شیشه‌های زیست‌فعال است، به گونه‌ای که مدول الاستیسیته نهایی حتی الامکان به مدول الاستیسیته استخوان نزدیک باشد. محدوده مدول الاستیک این کامپوزیتها به جزء حجمی فاز پراکنده بستگی دارد [۵-۷].

شیشه‌های زیست‌فعال مواد پایه سیلیکاتی آمورفی هستند که با بافت استخوانی اتصال برقرار می‌کنند و علاوه بر آن در ضمن انحال می‌توانند باعث تحریک رشد استخوان جدید شوند که این دو خاصیت، این مواد را نامزدهای مناسبی برای مقاصد مهندسی بافت می‌سازد [۴]. به دلیل خواص مکانیکی پایین و استحکام کم شیشه‌های زیست‌فعال، استفاده از آنها در مناطقی که تحت بار هستند معمولاً مطلوب نیست. برای رفع این مشکل، کامپوزیتها از این شیشه‌ها با موادی که دارای چقرمگی شکست بالاتری هستند مانند پلیمرها ساخته شده‌اند. همچنین این مشکل می‌تواند توسط کامپوزیتها ای که بخش معدنی آنها از هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده است، برطرف شود.

اولین گزارش از بررسیهای درون‌تنی شیشه‌های زیست‌فعال در سال ۱۹۷۱ به چاپ رسید [۸] که در آن قطعات یکپارچه از جنس شیشه‌های زیست‌فعال بیوگلاس 45S5 در استخوان ران موش صحرایی قرار داده شدند و نه تنها هیچ گونه اثر التهابی ایجاد نکردند، بلکه اتصال قابل توجهی نیز با بافت استخوانی اطراف خود ایجاد کردند. از طرف دیگر از ترکیب‌های به دست آمده از روش سل-ژل، مانند 58S و 77S، نیز در آزمون کشت سلولی رفتاری مشابه بیوگلاس مشاهده شده است [۹]. مطالعات کشت سلولی و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آلkalین فسفاتاز^۸ در مورد شیشه‌های زیست‌فعال حاوی ۵ درصد مولی روی [۱۰] و ۱۳ درصد مولی منیزیم [۱۱] زیست‌سازگاری شیشه زیست‌فعال به کار رفته در پژوهش حاضر را تأیید می‌کند. همچنین نتایج پژوهشی جدید روی نمونه‌هایی از شیشه‌های زیست‌فعال حاوی روی و منیزیم امکان‌پذیر بودن کاربرد آنها را در مهندسی بافت غضروف تأیید می‌کند [۱۲].

پژوهشگران مطالعات بسیاری درباره اثر حضور مقادیر کم یونهای فلزی روی و منیزیم بر متabolیسم استخوان انجام داده‌اند.

در این پژوهش نسبت مولی آب به تترا اتوکسی سیلان ۱۲:۱ و نسبت حجمی آب به اسید نیتریک ۶:۱ در نظر گرفته شد [۲۲]. سل به دست آمده به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور در دمای 37°C قرار گرفت تا سل به ژل تبدیل شود (پیرسازی). برای خشک شدن ژلهای آنها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 150°C قرار داده شدند و پس از آن برای همگنی بیشتر، ژلهای خشک شده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت 200° دور بر دقیقه در آسیاب ماهواره‌ای آسیاب شدند [۱۹]. برای پایدارسازی شیشه، پودر حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای 700°C نگه داشته شد و سپس در کوره سرد شد. سرعت افزایش دما در کوره 5°C در هر دقیقه بود.

شایان ذکر است در تعیین دمای پایدارسازی شیشه زیستفعال، نمونه‌ای از آن پیش از خشک کردن، با دستگاه TG/DTA 1600, England PL-STA مورد آزمون همزمان با 1200°C در هر دقیقه بین دمای محیط تا آهنگ افزایش دمای 5°C در هر دقیقه گرفت. با پایان مراحل سنتز پودرهای بررسی توزیع اندازه ذرات پودرهای فوق، از روش تحلی لیزری اندازه ذره (LPSA) و دستگاه 1064 CILAS در حالت مایع با قابلیت اندازه‌گیری ذرات در محدوده $0.04\text{ }\mu\text{m}$ الی $500\text{ }\mu\text{m}$ استفاده شد.

پودر شیشه سنتز شده به نسبتهای وزنی $5, 10, 15, 20, 25$ و 30 درصد با پودر هیدروکسی آپاتیت مخلوط شده و مخلوط حاصل با فشار 50 MPa به صورت استوانه با ارتفاع 12 و قطر 6 میلیمتر پرس و در دمای 1100°C به مدت یک ساعت تفت-جوشی شد. نمونه با بیشترین استحکام (نمونه حاوی٪ 20 شیشه زیستفعال) در محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) به مدت زمانهای $3, 7$ و 14 روز قرار گرفت.

به منظور بررسی استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی از دستگاه Zwick/Roell Universal Testing Machine با سرعت 0.05 mm/sec جابه‌جایی فک 5 mm استفاده شد. برای هر آزمون 10 نمونه ساخته شد و مقدار میانگین آنها به عنوان استحکام فشاری گزارش شد.

سرند با مش شماره ۳۲۵ (اندازه چشمی 45 میکرون طبق استاندارد ASTM E11-04) عبور داده شدند.

به منظور سنتز 15 گرم هیدروکسی آپاتیت، مقدار $36/15$ گرم از پودر کلسیم نیترات تتراهیدرات را در 525 میلی لیتر آب مقطر حل کرده و سپس محلول حاوی 12 گرم دی‌آمونیم هیدروژن فسفات حل شده در 375 میلی لیتر آب مقطر به صورت قطره‌قطره به آن افزوده شد. سپس pH محلول به کمک سود سوزآور به 11 رسانده شد [۲۰]. محلول به مدت یک 4000 دور بر دقیقه تحت سانتریفیوژ قرار گرفت و با آب مقطر شسته شد. فرایند سانتریفیوژ و شستشو با آب مقطر 3 بار تکرار شد. پس از آن پودر حاصل در کوره با دمای 1000°C به مدت 2 ساعت کلسینه شد. نرخ افزایش دما 5°C در هر دقیقه بود. پودر کلسینه شده در آسیاب سیاره‌ای به مدت 10 دقیقه با سرعت 200 دور بر دقیقه آسیاب شد [۲۱].

برای سنتز 50 گرم شیشه زیستفعال به روش سل-ژل، ابتدا $120/94$ میلی لیتر تترا اتوکسی سیلان (Merck reagent grade) به $19/50$ میلی لیتر اسید نیتریک (Prolab 68%) 2 نرمال که در $116/96$ میلی لیتر آب مقطر حل شده بود، افزوده شد و به مدت 30 دقیقه روی همزن برای انجام هیدرولیز، قرار داده شد. در این مرحله از محلول اسید نیتریک در آب به عنوان محیط حاوی کاتالیزور هیدرولیز و از تترا اتوکسی سیلان به عنوان منبع SiO_2 استفاده شد. سپس $51/953$ گرم کلسیم نیترات تتراهیدرات به سیستم اضافه شد و سیستم به مدت 45 دقیقه هم زده شد. کلسیم نیترات تتراهیدرات به عنوان منبع تأمین CaO استفاده شد. سپس $10/769$ گرم مینیزیم نیترات هگزاہیدرات به عنوان منبع تأمین MgO (Merck 99.99%) به عنوان منبع تأمین MgO به سیستم اضافه شد و به مدت 1 ساعت مواد مذکور برای انجام کامل هیدرولیز بر روی همزن قرار گرفتند. پس از آن $12/495$ گرم روی نیترات تتراهیدرات (Scharlau 99.99%) به عنوان منبع تأمین ZnO به سیستم اضافه شد و به مدت 1 ساعت مواد مذکور برای انجام کامل انحلال و هیدرولیز روی همزن قرار گرفتند.

جدول ۱- غلظت‌های یونی اسمی در SBF و مقایسه آنها با مقدار این یونها در پلاسمای خون انسان.

یون	غلظت (mmol/dm ³)	
	محلول شیوه‌سازی شده بدن انسان (SBF)	پلاسمای خون انسان
Na ⁺	۱۴۲/۰	۱۴۲/۰
K ⁺	۵/۰	۵/۰
Mg ²⁺	۱/۵	۱/۵
Ca ²⁺	۲/۵	۲/۵
Cl ⁻	۱۴۷/۸	۱۰۳/۰
HCO ₃ ⁻	۴/۲	۲۷/۰
HPO ₄ ²⁻	۱/۰	۱/۰
SO ₄ ²⁻	۰/۵	۰/۵

آزمونهای آماری این مقاله توسط نرم‌افزار اکسل با روش One-Way ANOVA انجام شد.

۳- نتایج و بحث

تحلیل حرارتی شیشه زیست‌فعال

شکل (۱) نتایج آزمون همزمان TG/DTA شیشه زیست‌فعال سنتزشده به روش سل-ژل را نشان می‌دهد. با توجه به استفاده از نمونه‌های خشک نشده، بین دماهای ۵۰-۱۷۵ °C شاهد واکنشی گرم‌گیر هستیم که خروج رطوبت و Pore-Liquor موجود در ژل محتمل‌ترین واکنش ممکن است. در دماهای بین ۱۷۵-۴۰۰ °C شاهد چندین واکنش عمدتاً گرم‌گیر و گاهی گرم‌زا (با گرمای واکنش به نسبت کم) هستیم که می‌تواند شروع واکنش تجزیه نیتراتها باشد (تجزیه نیتراتها معمولاً واکنشی مرحله به مرحله^۸ می‌باشد و از نظر ترمودینامیکی در دماهایی کمتر از ۵۵ °C نیز امکان‌پذیر است). بین دماهای ۴۰۰-۵۵۰ °C تجزیه حرارتی نیتراتها و گروههای سیلانول را داریم [۲۴] که بخش اعظم آن بین ۵۲۵-۵۵۰ °C رخ می‌دهد. با توجه به منحنی TGA با اتمام تجزیه حرارتی نیتراتها (دماهایی حدود ۵۷ °C) تغییرات جرم در نمونه در حال حرارت دیدن

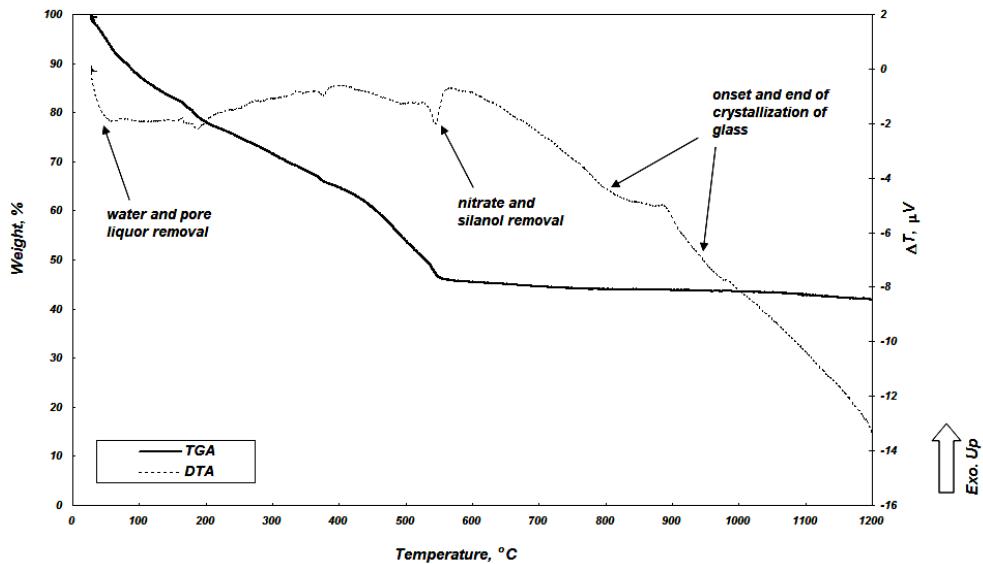
محلول SBF از روی دستورالعمل پیشنهادی کوکوبو تهیه شد [۲۳]. غلظت یونهای مختلف موجود در محلول SBF در مقایسه با پلاسمای خون انسان در جدول (۱) آمده است.

برای بررسی فازهای موجود در نمونه بهینه قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF به مدت زمانهای معین، از دستگاه پراش پرتو ایکس فیلیپس PW1800 استفاده شد. محدوده Θ بین ۱۰ تا ۷۰ درجه انتخاب شد.

نمونه بهینه قبل و بعد از گذشت زمانهای مشخص در SBF تحت طیف‌سنجی فروسرخ (FTIR) با استفاده از دستگاه FTIR, Bruker Equinox 55 قرار گرفت.

برای هر یک از زمانهای مورد نظر، ۳ نمونه در محلول گذاشته شد و پس از اتمام زمانهای مذکور، نمونه‌ها از محلول SBF خارج شده و محلولها به منظور بررسی و اندازه‌گیری Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES, Perkin Elmer) مورد تحلیل کمی قرار گرفتند. این کار در مورد SBF خالص به عنوان نمونه شاهد نیز انجام شد.

مطالعه ریخت‌شناسی نمونه بهینه قبل و بعد از قرارگیری در SBF با استفاده از دستگاه Scanning Micro Analyzer JEOL (JXA-840) انجام گرفت.



شکل ۱- نمودار آزمون TG/DTA شیشه زیستفعال.

اول مکانیزم زیستفعالی (نرخ انحلال) کاملاً اثرگذار است (با افزایش اندازه ذرات زیستفعالی کم می‌شود)، برای اطمینان از اینکه توزیع اندازه ذرات پودرها پس از الک کردن ($45\text{ }\mu\text{m}$) در یک محدوده است، تحلیل اندازه ذرات برای هر دو پودر انجام شد که هیستوگرامهای مربوطه در شکلهای (۲) و (۳) دیده می‌شود که در آنها متوسط اندازه ذرات برای شیشه میکرون و برای هیدروکسی آپاتیت $2/39$ میکرون است.

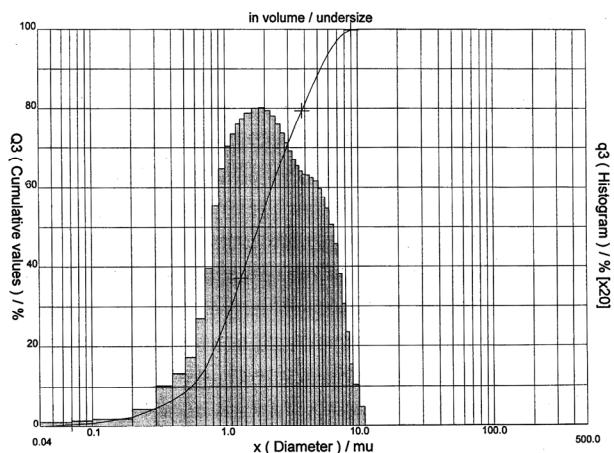
بررسی استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی پس از تفجیش

در شکل (۴) نمودار استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی پس از تفجیش در دمای 110°C به مدت ۱ ساعت آورده شده است. مقادیر انرژی شکست نیز از محاسبه سطح زیر نمودار بار- جابه‌جایی محاسبه و در جدول (۲) آورده شده است. استحکام فشاری اندازه‌گیری شده برای نمونه‌های کترول هیدروکسی آپاتیت و شیشه زیستفعال سنتزشده به ترتیب برابر $16/5$ MPa و $2/5$ MPa است. مطابق نمودار، در ابتدا با افزودن شیشه زیستفعال به هیدروکسی آپاتیت، استحکام به علت قانون مخلوطها^۹ کاهش می‌یابد. در ضمن میزان پایین شیشه

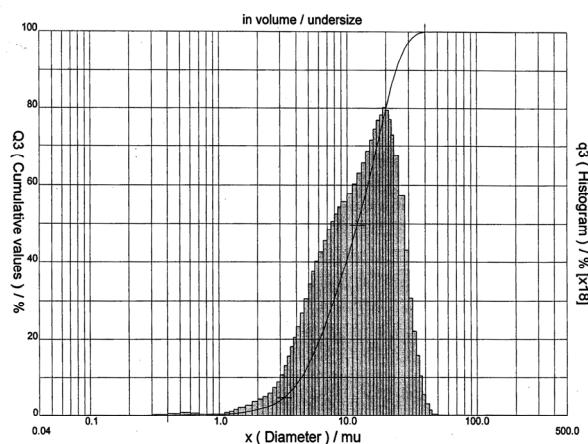
به پایان می‌رسد و این به معنی پایان واکنشهای حذفی است. با نرخ افزایش دمای آزمایش $5^\circ\text{C}/\text{min}$ در هر دقیقه در دمای 850°C شروع تبلور شیشه مذکور را داریم که این واکنش تبلور در دمای حدود 925°C به پایان می‌رسد.

یکی از مراحلی که در مکانیزم زیستفعالی شیشه‌های زیستفعال باید مورد توجه واقع شود، ایجاد گروههای Si-OH سطحی است که در واقع مکانهای جوانه‌زنی آپاتیت به شمار می‌روند [۲۵]. همچنین شیشه‌های سنتزشده به روش سل- ژل به طور ذاتی حاوی گروههای هیدروکسیل در شبکه‌شان هستند [۴]. از طرفی با افزایش دمای پایدارسازی، میزان سطح ویژه (سطح واحد جرم) و میزان گروههای هیدروکسیل هر دو کاهش می‌یابند [۲۶، ۲۷]. لازم به ذکر است که اندازه‌گیری گروههای هیدروکسیل ساختاری در مراجع آورده شده با روش MAS NMR انجام شده است. با توجه به نمودار تحلیل حرارتی شیشه، در دمای 700°C تمامی نیترات‌ها از شبکه شیشه خارج شده‌اند و با توجه به مطالب ذکرشده، این دما به عنوان دمای پایدارسازی مناسب برای شیشه انتخاب شد.

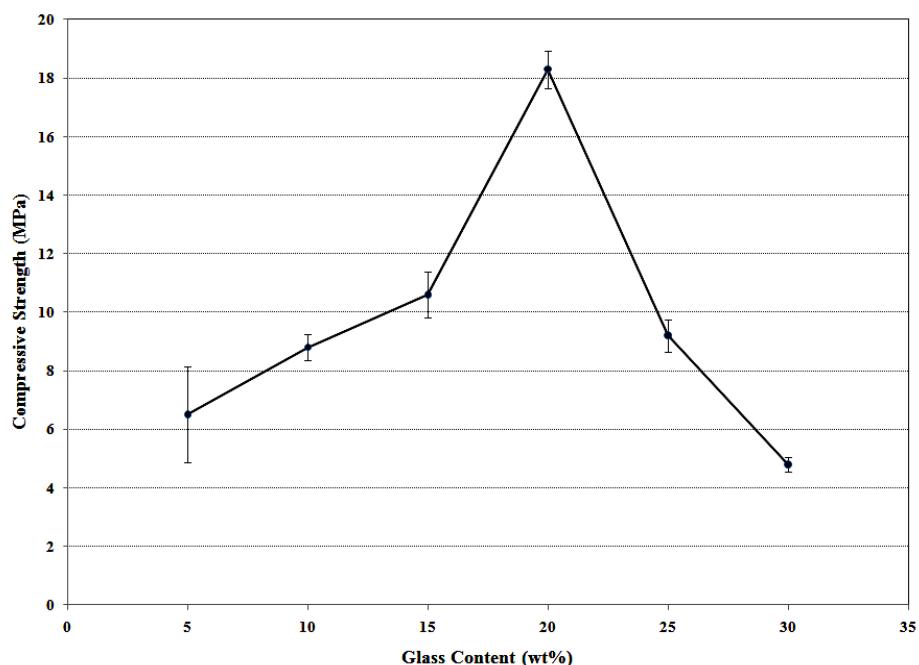
بررسی اندازه دانه پودرهای سنتزشده
از آنجا که اندازه ذرات پودر شیشه زیستفعال بر مراحل



شکل ۳- هیستوگرام توزیع اندازه ذرات هیدروکسی آپاتیت.



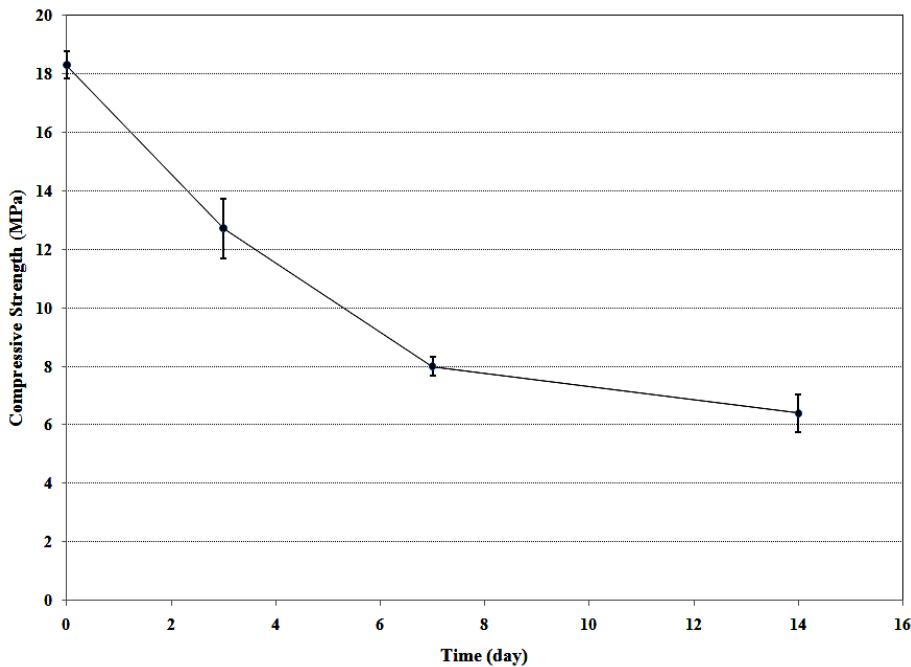
شکل ۲- هیستوگرام توزیع اندازه ذرات شیشه زیست فعال.



شکل ۴- نتایج آزمون استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی پس از یک ساعت تف جوشی در دمای 110°C .

جدول ۲- مقادیر انرژی شکست نمونه‌های کامپوزیتی پس از تف جوشی.

مقدار فاز شیشه‌ای (درصد وزنی)	انرژی شکست (کیلو ژول بر متر مربع)
۵	$0/0\ 1512 \pm 0/756$
۱۰	$0/0\ 736 \pm 0/92$
۱۵	$0/0\ 2904 \pm 0/968$
۲۰	$0/0\ 45 \pm 2/0$
۲۵	$0/126 \pm 1/68$
۳۰	$0/0\ 11 \pm 0/44$



شکل ۵- نتایج استحکام فشاری نمونه بهینه پس از قرارگیری در محلول SBF.

بررسی استحکام فشاری نمونه بهینه قبل و بعد از SBF

در شکل (۵) نمودار استحکام فشاری نمونه کامپوزیت حاوی ۲۰ درصد شیشه زیستفعال پیش و پس از قرار گرفتن در محلول SBF به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز آورده شده است. مقادیر انرژی شکست نیز از محاسبه سطح زیر نمودار بار- جایه‌جایی محاسبه و در جدول (۳) آورده شده است.

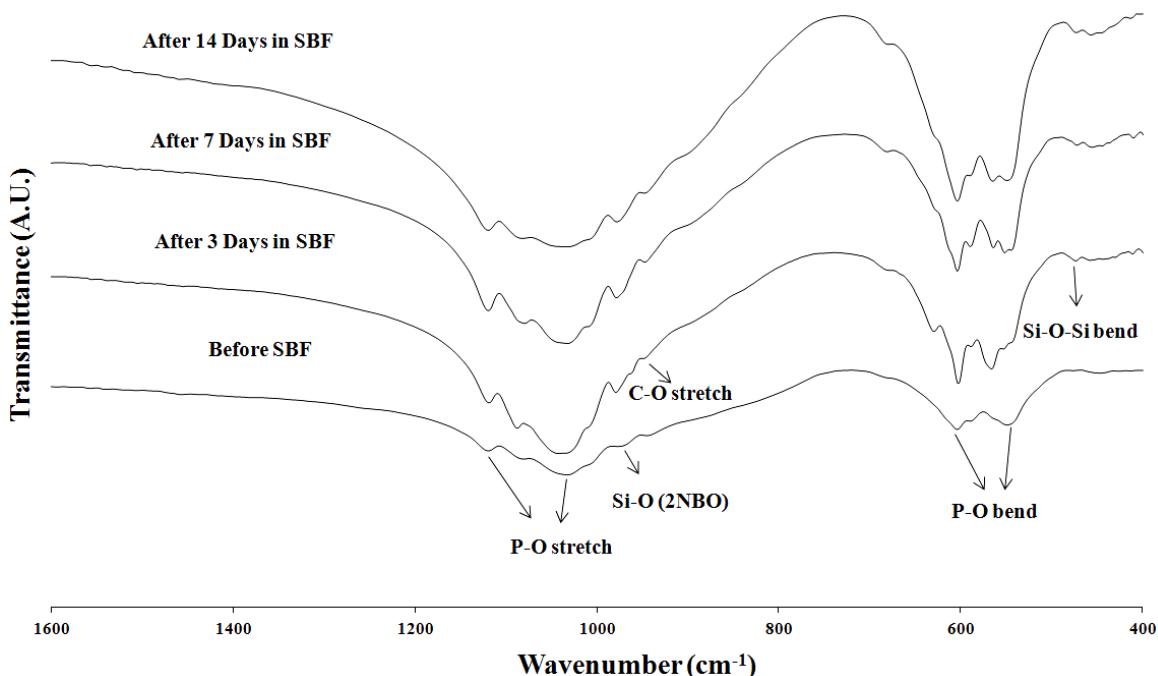
همان‌طور که در شکل (۵) دیده می‌شود، با قراردادن نمونه در محلول SBF از استحکام آن کاسته می‌شود. دلیل این کاهش استحکام به وجود بتا-تریکلسیم فسفات در نمونه بازمی‌گردد. این فاز که در اثر تجزیه هیدروکسی آپاتیت در دماهای بالاتر از ۸۰°C تشکیل می‌شود، در محیط‌های بیولوژیک نظیر پلاسمای خون و یا محلول SBF ناپایدار بوده و با گذشت زمان به مرور تخریب می‌شود. از این رو دلیل افت استحکام کامپوزیت پس از قرارگیری در محلول SBF را می‌توان حضور و تخریب این فاز دانست [۳۱]. همچنین لازم به ذکر است که شیشه زیستفعال سنتزشده نیز دچار تخریب در SBF می‌شود (نتایج ICP که میزان یون سیلیسیم در SBF را نشان می‌دهد، بیانگر این حقیقت

(تا ۱۵ درصد) سبب می‌شود که تفجوشی توسط مکانیزم سیلان ناروان به خوبی صورت نگیرد و ذرات را به خوبی به هم اتصال نماید؛ اما از این میزان فاز شیشه بالاتر (تا ۲۰ درصد وزنی) استحکام کامپوزیت نسبت به نمونه‌های کترول افزایش چشمگیری دارد که دلیل آن را می‌توان غالب شدن مکانیزم سیلان ناروان دانست. در واقع شیشه ذوب شده و مانند چسبی تمامی اجزاء کامپوزیت را به هم می‌چسباند و در منطقه واکنشی اتصال شیمیایی مناسبی برقرار شده است. با افزایش شیشه پس از ۲۰ درصد، شیشه بیشتر قسمتهای کامپوزیت را در بر می‌گیرد و از آنجا که استحکام شیشه کمتر از هیدروکسی آپاتیت است، استحکام کامپوزیت کاهش می‌یابد. میزان ۲۰ درصد وزنی، میزان بهینه برای شیشه زیستفعال به عنوان فاز دوم است که بیشترین استحکام را سبب می‌شود [۲۸].

استحکام فشاری به دست آمده برای نمونه بهینه در این پژوهش، در مقایسه با نتایجی که سافینا و همکاران [۲۹] به دست آورده‌اند، بالاتر بوده است. همچنین انرژی شکست نمونه بهینه بسیار بالاتر از مقادیر انرژی شکستی است که توسط نظافتی و همکاران [۳۰] در پژوهشی دیگر به دست آورده‌اند.

جدول ۲- مقادیر انرژی شکست نمونه بهینه قبل و بعد از SBF.

انرژی شکست (کیلو ژول بر متر مربع)	زمان غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن (روز)
۰/۱۱ ± ۲/۰	۰
۰/۰۰۲۳۵ ± ۰/۰۰۰۱۸۸	۳
۰/۹۰۸ ± ۰/۰۵۹۰۲	۷
۱/۲۵۶ ± ۰/۰۹۴۲	۱۴



شکل ۶- طیف فروسرخ نمونه بهینه قبل و بعد از SBF

تغییرات نمونه بهینه در اثر قرارگیری در محلول SBF، طیفهای فروسرخ در یک نمودار به صورت برهم‌نهاده^{۱۱} در کنار یکدیگر آورده شده‌اند که در شکل (۶) دیده می‌شود. مشخصات پاندهای جذب‌کننده و فرکانس جذب آنها نیز در جدول (۴) آمده است.

نکته قابل استنباط از این نمودار این است که با گذشت زمان عمق بخش مربوط به ارتعاشات خمی و کششی پیوند سفر و اکسیژن عمیقتر می‌شود که این امر در اثر قرارگیری نمونه در محلول SBF و تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر سطوح آن است. البته پس از ۱۴ روز از این عمق کاسته می‌شود که مربوط به تخریب شدن نمونه در اثر قرارگرفتن آن در SBF

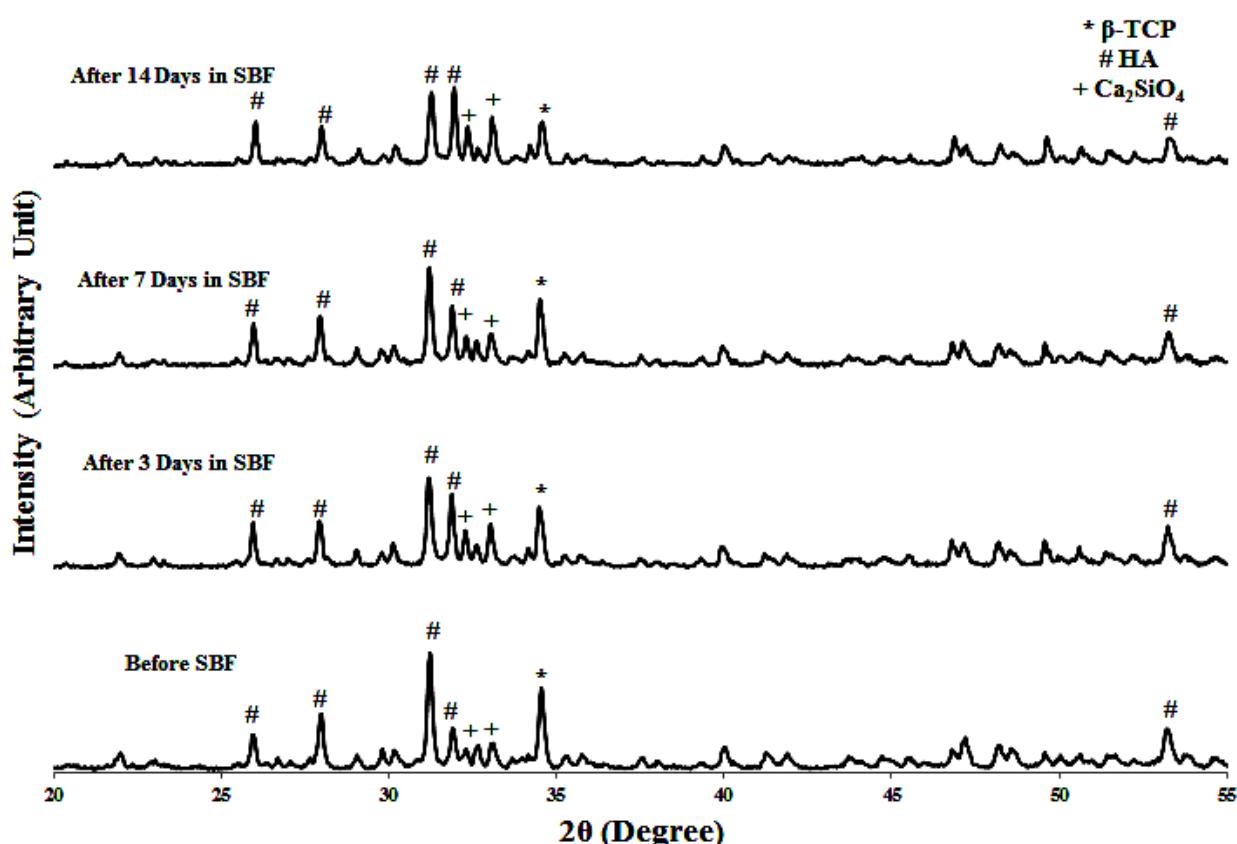
است که شبشه در SBF دچار تخریب شده است) که این پدیده باعث کاهش استحکام کامپوزیت می‌شود. نرخ تخریب در روزهای اول بیشتر بوده و پس از گذشت ۷ روز از قرار گرفتن نمونه در SBF از سرعت تخریب کاسته می‌شود.

بررسی طیف فروسرخ نمونه کامپوزیتی بهینه قبل و بعد از SBF

به منظور مطالعه پیوندهای موجود در نمونه بهینه قبل از قرارگرفتن در محلول SBF و همچنین پس از آن به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز از روش طیف‌سنجی فروسرخ در حالت عبوری^{۱۰} استفاده شد. به منظور بررسی و مشاهده آسانتر

جدول ۴- فرکانس اشعه فروسرخ و نوع باندهای جذب کننده برای هیدروکسی آپاتیت و شیشه [۳۲ و ۳۳].

نوع باند جذب کننده	فرکانس فروسرخ (cm^{-1})
P-O bend	۵۵۹ و ۶۱۳
P-O stretch	۱۰۹۳ و ۱۰۴۰
Si-O (2NBO)	۹۹۰
Si-O-Si bend	۴۸۴
C-O stretch	۹۰۴



شکل ۷- الگوی پرتو ایکس نمونه بهینه قبل و بعد از SBF

محلول SBF با XRD تعیین شد که نتایج آن در شکل (۷) آورده شده است.

به کمک کارتھای استاندارد JCPDS 09-0169 و JCPDS 29-0369 و JCPDS 09-0432 قلهای مربوط به هیدروکسی آپاتیت در حوالی ۲۶ و ۳۲ و ۵۳ درجه دیده می‌شوند. همچنانین پیک بتا-تری کلسیم فسفات نیز در اطراف ۳۴ درجه مشاهده می‌شوند. دو قله نزدیک به هم در

است چون نمونه حاوی بتا-تری کلسیم فسفات است که در محیطهای بیولوژیک ناپایدار است و با شروع تخریب آن از عمق این مناطق کاسته می‌شود.

بررسی الگوی پرتو ایکس نمونه کامپوزیتی بهینه قبل و بعد از SBF فازهای موجود در نمونه بهینه قبل و بعد از قرارگرفتن در

به هیدروکسی آپاتیت کاسته می شود ولی پس از ۷ روز این پیک تیزتر می شود که مربوط به تشکیل هیدروکسی آپاتیت در سطح نمونه بهینه است. پس از ۱۴ روز اندکی از شدت آن کاسته می شود که این می تواند به دلیل ورود منیزیم به ساختار هیدروکسی آپاتیت باشد. با ورود منیزیم به هیدروکسی آپاتیت، خواص فیزیکوشیمیایی آن تغییر می کند. همچنین منیزیم از رشد صفحه (۰۰۱) جلوگیری می کند و سبب می شود که آپاتیت تشکیل شده در سطح نمونه زودتر حل شود [۳۴].

بررسی رفتار رهایش یون نمونه کامپوزیتی بهینه قبل و بعد از SBF

برای درک بهتر رفتار تخریب کامپوزیت در محیط بیولوژیک، از آزمون ICP استفاده شد به این صورت که نمونه بهینه به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز در محلول SBF قرار گرفت و پس از آن از محلول SBF که در تماس با نمونه بهینه بود، آزمون ICP گرفته شد. برای اینکه مقایسه به درستی انجام شود، از محلول SBF تنها نیز به عنوان نمونه شاهد آزمون ICP به عمل آمد. نمونه پس از قرارگیری در محلول SBF شروع به تبادل یون با محلول اطراف خود می کند و غلظت یونها تغییر می کند. نتایج این آزمون در شکلهای (۸) الی (۱۱) دیده می شود.

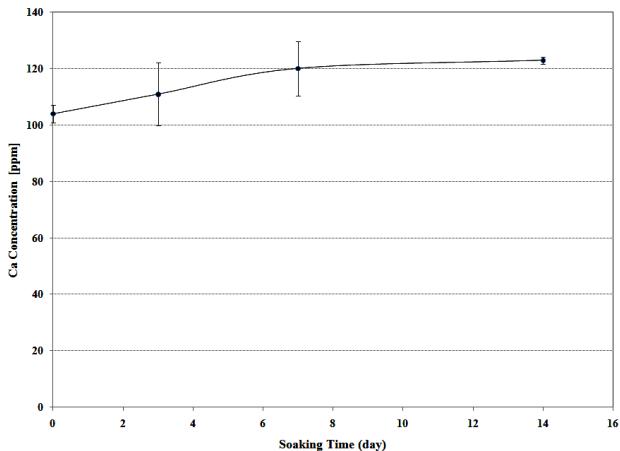
سیلیسیم از ابتدا در محلول SBF وجود ندارد و پس از قرارگیری نمونه در SBF رهایش می یابد و لذا این سیلیسیم آزادشده در محلول SBF تنها می تواند ناشی از حل شدن سیلیسیم موجود در شیشه زیست فعال باشد. به همین دلیل غلظت آن در SBF می تواند معیار مناسبی در مطالعه رفتار تخریب کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت با شیشه زیست فعال باشد. علاوه بر این روند افزایشی غلظت یون سیلیسیم که خاصیت القای رشد استخوانی آن ثابت شده است، نیز مشهود است. میزان رهایش یون سیلیسیم در مدت زمان یک روز با استفاده از درونیابی منحنی شکل (۸) در حدود ۵ ppm است. در مطالعات کشت سلولی، میزان رهایش یون سیلیسیم از پودر ترکیب تجاری بیوگلاس (45S5) که یک روز در محیط

حوالی ۳۲ درجه نیز دیده می شوند که مربوط به کلسیم سیلیکات اند.

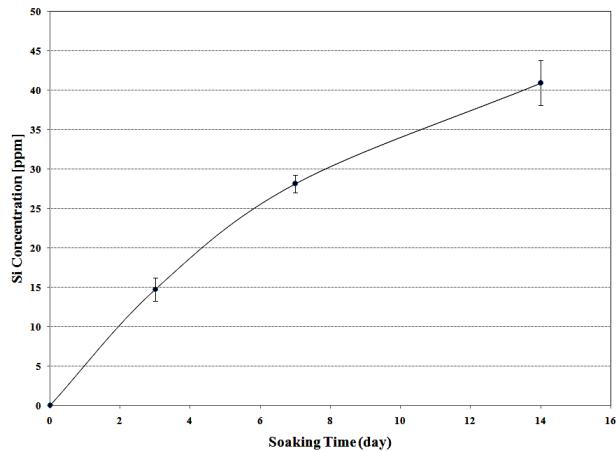
فازهای هیدروکسی آپاتیت و بتا-تری کلسیم فسفات هم قبل از قرارگیری نمونه بهینه در محلول SBF و هم پس از قرارگیری آن در SBF دیده می شوند. فاز بتا-تری کلسیم فسفات که در ساختار نمونه کامپوزیتی دیده می شود، در اثر حرارت دهنده نمونه ها در دمای ۱۱۰۰ °C تشکیل شده است زیرا در دماهای بالاتر از ۸۰۰ °C نمونه ها شروع به تجزیه شدن می کنند و به بتا-تری کلسیم فسفات تبدیل می شوند که این فاز در محیطهای بیولوژیک نیمه پایدار و تخریب پذیر است.

برای تعیین نوع فازهای ایجاد شده در کامپوزیت ضمن حرارت دهنده، ابتدا حضور فازهای تعادلی ممکن با استفاده از نرم افزار ترمودینامیکی FactSage® در دمای ۱۱۰۰ °C پیش بینی شد و سپس با استفاده از تحلیل ترمودینامیکی انجام شده، از نرم افزار X'pert HighScore به منظور شناسایی فازهای ایجاد شده استفاده شد. نکته مهم این بود که الگوی پراش فاز تعادلی شده پیش بینی شده در نرم افزار FactSage® (ولاتونیت) در نمونه ها مشاهده نشد. لذا این احتمال داده شد که پودرهای سنتز شده هنوز از نقطه تعادل ترمودینامیکی فاصله دارند و فاز بلورین ایجاد شده احتمالاً فازی شبیه پایدار بوده که در مسیر استحاله شیشه به شیشه- سرامیک ایجاد شده است زیرا به شیشه فرصت کافی برای جوانهزنی داده نشده و فاز تعادلی مورد انتظار تشکیل نیافته است. استفاده مجدد از نرم افزار X'pert HighScore می بین این موضوع بود که الگوی پراش فاز (Ca₂SiO₄, JCPDS #29-0369) ایجاد شده با کلسیم سیلیکات (Ca₂SiO₄, JCPDS #29-0369) شباهت دارد.

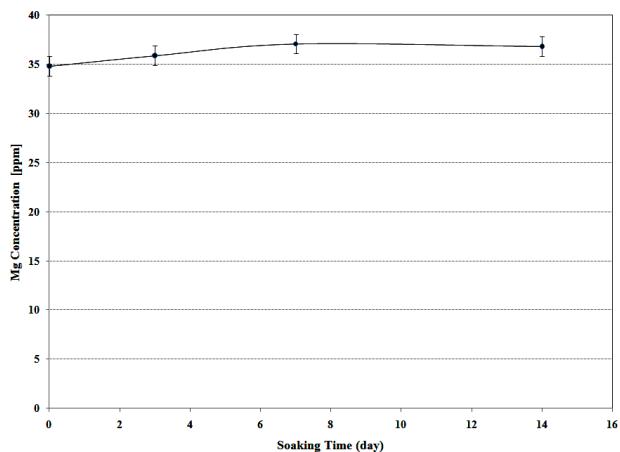
همان طور که در شکل (۷) دیده می شود، در ابتدا پیک بتا-تری کلسیم فسفات به صورت بارزی دیده می شود که پس از قرارگیری نمونه در محلول SBF و تبادل یونی نمونه با آن، بتا-تری کلسیم فسفات شروع به حل شدن می کند و از شدت این پیک کاسته می شود که این موضوع پس از ۳ روز به وضوح دیده می شود. همچنین با گذشت ۲ روز از شدت پیک مربوط



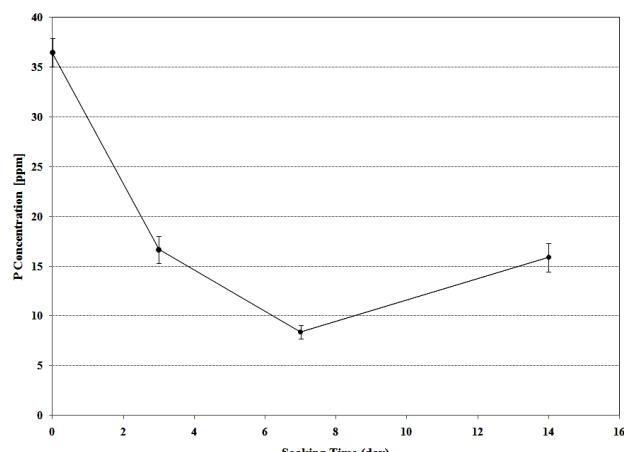
شکل ۹- نمودار تغییر غلظت کلسیم با گذشت زمان.



شکل ۸- نمودار تغییر غلظت سیلیسیم با گذشت زمان.



شکل ۱۱- نمودار تغییر غلظت منیزیم با گذشت زمان.

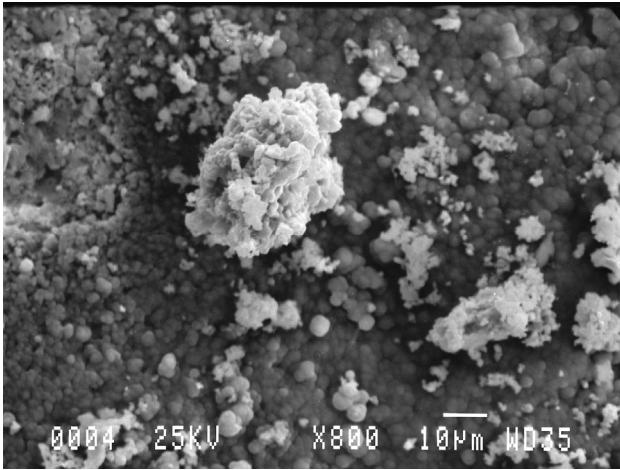


شکل ۱۰- نمودار تغییر غلظت فسفر با گذشت زمان.

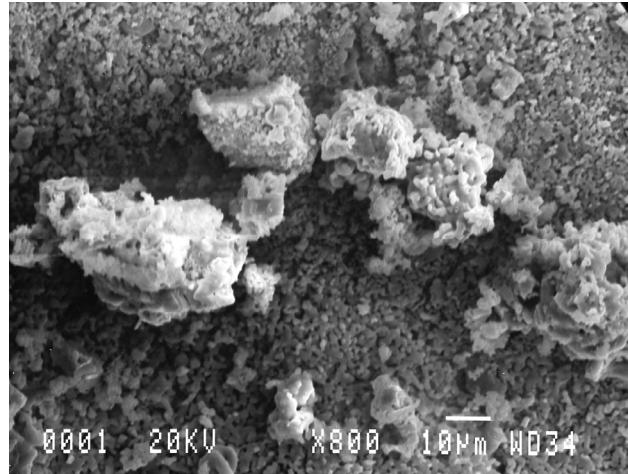
چندان چشمگیر نیست. غلظت این یون پس از گذشت ۱۴ روز باز هم زیاد می شود ولی این غلظت تفاوت چندانی با ۷ روز ندارد. این نکته قابل ذکر است که غلظت یون Ca^{+2} از یک طرف با میزان رهایش آن از نمونه کامپوزیتی کنترل می شود و از طرف دیگر توسط تشکیل لایه آپاتیت در SBF کنترل می شود. پس از گذشت ۷ روز آهنگ افزایش غلظت یون Ca^{+2} کاهش می یابد که دلیل آن می تواند افزایش رشد سریع هسته های آپاتیت بر سطح نمونه کامپوزیتی بهینه باشد. در واقع از میزان این یون کاسته می شود ولی این کاهش یون، از طریق آزادشدن یونهای کلسیم موجود در نمونه کامپوزیتی جبران می شود چرا که در ساختار نمونه هیدروکسی آپاتیت وجود دارد که حاوی مقادیر قابل توجهی از کلسیم است. پس از گذشت ۱۴ روز این

کشت DMEM قرار گرفته بود، حاکی از میزان رهایش 16.5 ± 5 ppm سیلیسیم بوده است [۳۵]. با توجه به اینکه ترکیب فوق الذکر، مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) برای کاربردهای کلینیکی است، می توان نتیجه گرفت که نمونه مورد آزمایش در این پژوهش قطعاً موجب ایجاد سمیت برای سلولهای استئوبلاست نخواهد شد. البته در مورد هر ماده ای که برای کاربردهای پزشکی طراحی و ساخته می شود، انجام آزمونهای مدل حیوانی و کشت سلولی سبب ایجاد اطمینان نسبت به زیستسازگاری آن ماده و جلوگیری از حصول نتایج غلط مثبت یا منفی^{۱۲} خواهد شد [۳۶].

غلظت یون کلسیم پس از قرارگیری نمونه در SBF به مدت زمانهای ۳ و ۷ روز افزایش پیدا می کند. البته این میزان افزایش



شکل ۱۳- نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۳ روز SBF.



شکل ۱۲- نمونه کامپوزیتی بهینه قبل از SBF.

است و این نکته که در پژوهش بالاموراگان و همکارانش [۱۱] که شیشه مورد استفاده ۱۳ درصد مولی منیزیم داشته است، شاهد عدم سمیت سلولی بوده‌ایم، می‌توان نتیجه گرفت که میزان عناصر روی و منیزیم از حد سمیت سلولی پایینتر است و در محدوده زیست‌سازگاری قرار دارد.

مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای مشاهده مورفولوژی فاز کلسیم فسفاتی تشکیل شده بر روی نمونه کامپوزیت بهینه حاوی ۲۰ درصد شیشه زیست فعال، از این نمونه قبل و بعد از قرارگیری در محلول SBF به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز عکس گرفته شد که این تصاویر در شکل‌های (۱۲) تا (۱۵) دیده می‌شوند.

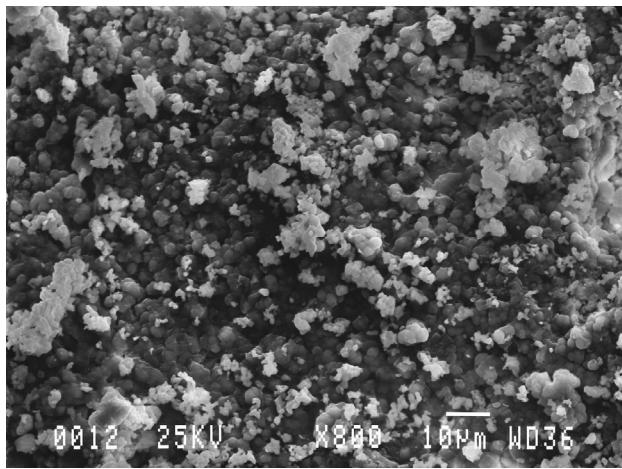
نمونه بهینه قبل از قرار گرفتن در محلول SBF دارای یک سطح کاملاً تف‌جوشی شده است (شکل ۱۲). در اثر قرار گرفتن نمونه در محلول SBF و تبادل یون با این محلول، هیدروکسی آپاتیت روی سطح نمونه ایجاد می‌شود که در هر سه تصویر ۱۳ تا ۱۵ این ذرات هیدروکسی آپاتیت دیده می‌شوند. میزان این ذرات تا ۷ روز روی سطح زیاد می‌شود ولی پس از ۱۴ روز از میزان آنها کاسته می‌شود که دلیل آن شروع تخریب نمونه در SBF است. این تخریب به دلیل حضور بتا-تریکلسیم فسفات در ساختار است که در محیط‌های بیولوژیک ناپایدار است. همچنین حضور عنصر منیزیم در

رونده شدت کمتری می‌باید و میزان یون کلسیم تغییر چندانی نسبت به ۷ روز نمی‌کند [۳۷].

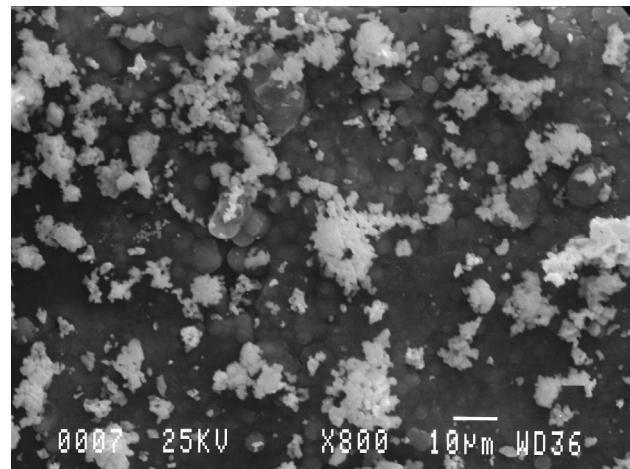
با قرارگیری نمونه در محلول SBF و شروع تبادل یونی نمونه با آن، میزان فسفر کاهش شدیدی می‌باید که این روند تا روز هفتم ادامه می‌باید. پس از روز هفتم میزان فسفر افزایش می‌باید. این پدیده به این امر بازمی‌گردد که در روزهای ابتدایی قرارگیری نمونه در محلول SBF، فسفر برای تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر سطوح جانبی مصرف می‌شود که این روند به خوبی از نمودار پیداست. پس از روز هفتم، نمونه کامپوزیتی بهینه به دلیل وجود بتا-تریکلسیم فسفات در ساختار خود شروع به تخریب شدن کرده و از خود یون آزاد می‌کند. به دلیل محتوای زیاد کلسیم و فسفر در ساختار نمونه کامپوزیتی بهینه، میزان این عناصر در محلول SBF شروع به افزایش می‌کند که این روند برای کلسیم نیز قابل مشاهده است.

غلاظت یون منیزیم پس از قرارگیری نمونه بهینه در محلول SBF اندکی افزایش می‌باید و پس از گذشت ۷ روز به میزان ماکریزم خود رسیده و سپس کاهش می‌باید. در کل، تغییرات غلاظت یون منیزیم چنان قابل توجه نیست و میزان منیزیم رهایش یافته از نمونه کامپوزیتی بهینه به محلول SBF بسیار اندک است.

با توجه به داده‌های ICP این پژوهش که در آنها میزان عنصر روی از حد شناسایی دستگاه (۰/۲ ppm) پایینتر بوده



شکل ۱۵- نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۱۴ روز SBF



شکل ۱۴- نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۷ روز SBF

شیوه‌سازی شده بدن (SBF) با گذشت زمان غوطه‌وری، به علت ایجاد بتا-تری‌کلسیم فسفات است که در محیط بیولوژیک فازی نایابیدار است. با توجه به نتایج حاصل از الگوهای پراش اشعه ایکس، مشاهده می‌شود که فاز بتا-تری‌کلسیم فسفات در ساختار موجود است، که در اثر حرارت‌دهی نمونه‌ها در دمای ۱۱۰۰ °C تشکیل شده است. بررسی نتایج آزمون رهاش یون (ICP) نمونه بهینه قبل و بعد از قرار گرفتن در محلول شبیه‌سازی شده بدن، نشان دهنده افزایش غلظت یون سیلیسیم است. با توجه به اینکه غلظت این یون در محدوده زیست‌فعالی (نه در محدوده سمیت سلولی) قرار دارد، می‌توان از زیست‌فعالی کامپوزیت در محیط برون‌تنی اطمینان یافت. همچنین میزان رهاش یونهای منیزیم و روی بسیار اندک بوده که با مقایسه با داده‌های پژوهش‌های دیگر در مورد این عناصر نیز می‌توان از عدم ایجاد سمیت سلولی احتمالی یقین پیدا کرد. با توجه به نتایج این پژوهش، این کامپوزیت شرایط اولیه برای کاربرد به عنوان پرکننده استخوان اسفنجی را دارد.

ساختار نمونه کامپوزیتی مانع از رشد صفحه (001) هیدروکسی آپاتیت می‌شود و سبب می‌شود که خواص فیزیکوشیمیایی آن تغییر کند و زودتر از زمان معمول حل شود که این سبب می‌شود تا میزان هیدروکسی آپاتیت ایجاد شده بر سطح نمونه کاهش یابد که این موضوع در تصاویر SEM نیز مشهود است.

۴- نتیجه‌گیری

استفاده از ذرات شیشه زیست‌فعال به عنوان فاز دوم تا میزان ۲۰ درصد وزنی باعث افزایش نسبی استحکام فشاری و چقرمگی شکست نسبت به سایر نمونه‌ها از جمله نمونه فاقد ذرات شیشه شده است. افزایش استحکام پس از افزودن ذرات تا میزان ۲۰ درصد وزنی را می‌توان ناشی از پدیده تفجوشی با مکانیزم سیلان ناروان و کاهش استحکام با افزودن درصد وزنی بیشتر ذرات را به دلیل از بین رفتن یکنواختی توزیع پودرهای دانست. از طرفی کاهش استحکام نمونه بهینه (نمونه حاوی ۲۰ درصد وزنی شیشه زیست‌فعال) پس از قرارگیری در محلول

واژه‌نامه

- | | | |
|----------------------------------|--------------------|------------------------------|
| 1. laser particle size analysis | 5. <i>in vitro</i> | 10. transmittance mode |
| 2. bone matrix | 6. osteoblasts | 11. super imposed |
| 3. bone remodeling | 7. osteoconduction | 12. false positive/ negative |
| 4. alkaline phosphatase activity | 8. stepwise | |
| | 9. rule of mixture | |

مراجع

1. Hull, D., *An Introduction to Composite Materials*. 2nd ed, pp. 120-125, McGraw-Hill, New York, 1981.
2. Malysheva, A. Y., Beletskii B. I., and Vlasova E. B., "Structure and Properties of Composite Materials for Medical Application," *Glass and Ceramics*, Vol. 58, pp. 66-69, 2001..
3. Rieu, J. and Goeuriot P., "Ceramic Composites for Biomedical Applications," *Clinical Materials*, Vol. 12, pp. 211-217, 1993.
4. Kokubo, T., *Bioceramics and Their Clinical Applications*, p.367, Woodhead Publishing Limited, England, 2008.
5. Goller ,G., Demirkiran, H., Oktar, F. N., and Demirkesen, E., "Processing and Characterization of Bioglass Reinforced Hydroxyapatite Composites," *Ceramics International*, Vol. 29, pp. 721-724, 2003.
6. Heymann, D., and Passuti N., "Bone Substitutes: New Concepts," *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, Vol. 9, pp. 179-184, 1999.
7. Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., and Leong, K. W., "Biomedical Applications of polymer-Composite Materials: a Review," *Composites Science and Technology*, Vol. 61, pp. 1189-1224, 2001.
8. Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W. C., and Greenlee, T. K., "Bonding Mechanisms at the Interface of Ceramic Prosthetic Materials," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 5, pp. 117-141, 1971.
9. Silver, I. A., Deas J., and Erecinska M., "Interactions of Bioactive Glasses with Osteoblasts in Vitro: Effects of 45S5 Bioglass®, and 58S and 77S Bioactive Glasses on Metabolism, Intracellular Ion Concentrations and Cell Viability," *Biomaterials*, Vol. 22, pp. 175-185, 2001.
10. Balamurugan, A., "Development and in vitro characterization of sol-gel derived CaO-P2O5-SiO2-ZnO bioglass," *Acta Biomaterialia*, Vol. 2, pp. 255-262, 2007.
11. Balamurugan, A., Balossier, G., Michel, J., Kannan, S., Benhayoune, H., Rebelo, A. H. S., and Ferreira, J. M. F., "Sol Gel Derived SiO₂-CaO-MgO-P2O₅ Bioglass System-Preparation and in Vitro Characterization," *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, Vol. 83, pp. 546-553, 2007.
12. Azevedo, M. M., Jell, G., O'Donnell, M. D., Law, R. V., Hill, R. G., and Stevens, M. M., "Synthesis and Characterization of Hypoxia-Mimicking Bioactive Glasses for Skeletal Regeneration," *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 20, pp. 8854-8864, 2010.
13. Hoppe, A., Güldal N. S., and Boccaccini A. R., "A Review of the Biological Response to Ionic Dissolution Products from Bioactive Glasses and Glass-Ceramics," *Biomaterials*, Vol. 32, pp. 2757-2774, 2011.
14. Zreiqat, H., Howlett, C. R., Zannettino, A., Evans, P., Schulze-Tanzil, G., Knabe, C., and Shakibaei, M., "Mechanisms of Magnesium-Stimulated Adhesion of Osteoblastic Cells to Commonly Used Orthopaedic Implants," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 62, pp. 175-184, 2002.
15. Yamaguchi, M., "Role of Zinc in Bone Formation and Bone Resorption," *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, Vol. 11, pp. 119-135, 1998..
16. Oki, A., Parveen, B., Hossain, S., Adeniji, S., and Donahue, H., "Preparation and in Vitro Bioactivity of Zinc Containing Sol-Gel-Derived Bioglass Materials," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 69, pp. 216-221, 2004.
17. Watts, S. J., Hill, R. G., O'Donnell, M. D., and Law, R. V., "Influence of Magnesia on the Structure and Properties of Bioactive Glasses," *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol. 356, pp. 517-524, 2010.
18. Lu, X. and Leng Y., "Theoretical Analysis of Calcium Phosphate Precipitation in Simulated Body Fluid," *Biomaterials*, Vol. 26, pp. 1097-1108, 2005.
19. Ansari Hamedani, A., Moztarzadeh, F., Bizari, D., Ashuri, M., and Tahriri, M., "Ion Release Behavior and Apatite-Forming Ability of Sol-Gel Derived 70S30C Bioactive Glass with Magnesium/Zinc Substitution," *Key Engineering Materials*, Vol. 493 - 494, pp. 55-60, 2011.
20. Qu, H., et al., "Incorporation of Fluorine Ions Into Hydroxyapatite by a pH Cycling Method," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 16, pp. 447-453, 2005.
21. Eslami, H., Solati-Hashjin M., and Tahriri M., "The Comparison of Powder Characteristics and Physicochemical, Mechanical and Biological Properties Between Nanostructure Ceramics of Hydroxyapatite and Fluoridated Hydroxyapatite," *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 29, pp. 1387-1398, 2009.
22. Saravanapavan, P. and Hench L. L., "Mesoporous Calcium Silicate Glasses. I. Synthesis," *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol. 318, pp. 1-13, 2003.
23. Kokubo, T., and Takadama H., "How Useful is SBF in Predicting in Vivo Bone Bioactivity?," *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 2907-2915, 2006.
24. Jones, J.R., Ehrenfried L. M., and Hench L. L., "Optimising Bioactive Glass Scaffolds for Bone Tissue Engineering," *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 964-973, 2006..
25. Hench, L. L., Wheeler D. L., and Greenspan D. C., "Molecular Control of Bioactivity in Sol-Gel Glasses," *Journal of Sol-gel Science and Technology*, Vol. 13, pp. 245-250, 1998.
26. Jones, J. R., Kemp T. F., and Smith M. E., "Effect of OH Content on the Bioactivity of Sol-Gel Derived Glass Foam Scaffolds," *Key Engineering Materials*, Vols. 309-311, pp. 1031-1034, 2006.
27. Lin, S., Ionescu, C., Pike, K. J., Smith, M. E., and Jones, J. R., "Nanostructure Evolution and Calcium

- Distribution in Sol-Gel Derived Bioactive Glass," *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 19, pp. 1276-1282, 2009.
28. Verne, E., Defilippi, R., Carl, G., Vitale Brovarone, C., and Appendino, P., "Viscous Flow Sintering of Bioactive Glass-Ceramic Composites Toughened by Zirconia Particles," *Journal of the European Ceramic Society*, Vol. 23, pp. 675-683, 2003.
29. Safina, M., Safranova T., and Lukin E., "Calcium Phosphate Based Ceramic with a Resorbable Phase and Low Sintering Temperature," *Glass and Ceramics*, Vol. 64, pp. 238-243, 2007.
30. Nezafati, N., Moztarzadeh F., and Hesaraki S., "Evaluation of a Prepared Sol-Gel Bioactive Glass Fiber-Reinforced Calcium Phosphate Cement," *Journal of Ceramic Processing Research*, Vol. 11, pp. 367-371, 2010.
31. Zhang, X., "Preparation, Characterization and Mechanical Performance of Dense Beta-TCP Ceramics With/Without Magnesium Substitution," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 19, pp. 3063-3070, 2008.
32. Brauer, D.S., et al., "Fluoride-Containing Bioactive Glasses: Effect of Glass Design and Structure on Degradation, pH and Apatite Formation in Simulated Body Fluid," *Acta Biomaterialia*, Vol. 6, pp. 3275-3282, 2010.
33. Jones, J. R., Sepulveda P., and Hench L. L., "Dose-Dependent Behavior of Bioactive Glass Dissolution," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 58, pp. 720-726, 2001.
34. Saboori, A., Rabiee, M., Moztarzadeh, F., Sheikhi, M., Tahriri, M., and Karimi, M., "Synthesis, Characterization and in Vitro Bioactivity of Sol-Gel-Derived SiO₂-CaO-P₂O₅-MgO bioglass," *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 29, pp. 335-34, 2009.
35. Xynos, I. D., Edgar, A. J., Butterly, L. D. K., Hench, L. L., and Polak, J. M., "Gene-Expression Profiling of Human Osteoblasts Following Treatment with the Ionic Products of Bioglass® 45S5 Dissolution," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 55, pp. 151-157, 2001.
36. Bohner, M. and Lemaitre J., "Can Bioactivity be Tested in Vitro with SBF Solution?" *Biomaterials*, Vol. 30, pp. 2175-217,, 2009.
37. Martinez, A., Izquierdo-Barba I., and Vallet-Regi M., "Bioactivity of a CaO-SiO₂ Binary Glasses System," *Chemistry of Materials*, Vol. 12, pp. 3080-3088, 2000.