



ساخت و بررسی خواص داربست باریم تیتانات با پوشش نانوهیدروکسی آپاتیت برای مهندسی بافت استخوان

آرین احترامی¹، پیام سرائیان^{2*}، شهرام عتمادی حقیقی³، محمود اعظمی⁴

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

2- استادیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران

3- استادیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

4- استادیار، مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

* تهران، صندوق پستی 1651153311، p_saraeian@iau-tnb.ac.ir

اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل

دریافت: 21 خرداد 1396

پذیرش: 19 آبان 1396

ارائه در سایت: 24 آذر 1396

کلید واژگان:

داربست استخوانی

باریم تیتانات

ریختگری فومی

ژلاتین، هیدروکسی آپاتیت

چکیده

امروزه هدف اصلی استفاده از داربست ها بازسازی مجدد بافت های بدن است. انتخاب نوع و جنس داربست مهم ترین بخش کار است به طوری که در نهایت جایگزین بافت آسیب دیده می شود. با توجه به این که یکی از مکانیزم های پیشنهادی برای تغییر شکل در استخوان بر پایه ی خواص پیزوالکتریک آن است، به نظر می رسد که استفاده از مواد پیزوالکتریک به عنوان گزینه ای برای استفاده در بدن، دارای امتیازات منحصر به فردی باشد. بنابراین، سرامیک باریم تیتانات ($BaTiO_3$) با داشتن خواص پیزوالکتریک مطلوب، دمای کوری حدود 125 درجه سانتیگراد و مشاهدات آزمایشگاهی مبنی بر غیرسمی بودن آن در بدن، به عنوان کاندیدی برای جایگزینی و شبیه سازی عملکرد بافت استخوانی، مطرح شده است. در این تحقیق با استفاده از سرامیک باریم تیتانات به عنوان یک سرامیک پیزوالکتریک و تبدیل به داربست استخوانی به روش ریختگری فومی و پوشش دهی ژلاتین هیدروکسی آپاتیت نانو ساختار بر روی آن، کامپوزیتی برای جایگزینی و شبیه سازی عملکرد بافت استخوانی ساخته شد. سپس خواص آن توسط تست های طیف سنجی مادون قرمز، آنالیز پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی و خواص مکانیکی مورد بررسی قرار گرفت. در انتها نتیجه گرفته شد که داربست باریم تیتانات با پوشش نانو هیدروکسی ساختار کامپوزیتی مناسبی برای استفاده در مهندسی بافت استخوان است.

Preparation and characterization of barium titanate scaffold for bone tissue engineering

Arian Ehterami¹, Payam Saraeian^{2*}, Shahram Etemadi Haghighi¹, Mahmoud Azami³

1-Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

2- Department of Mechanical Engineering, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

3- Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

P.O.B. 1651153311, Tehran, Iran, p_saraeian@iau-tnb.ac.ir

ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper

Received 11 June 2017

Accepted 10 November 2017

Available Online 15 December 2017

Keywords:

Bone scaffold

Barium titanate

Foam casting, Gelatin

Hydroxyapatite

ABSTRACT

The main purpose of using scaffolds replacement tissues of the body. The most important part is to choose the type and sort of scaffolding so that eventually will replace the damaged tissue. One of the mechanisms proposed to reshape the bone is based on its piezoelectric properties. It seems that the use of piezoelectric materials is an option for use in the body, is a unique privilege. Therefore, the ceramic barium titanate ($BaTiO_3$) having good piezoelectric properties, Curie temperature of about 125°C and laboratory observations that non-toxic in the body, as a candidate to replace and simulate the performance of bone tissue, has been proposed. In this study, the design and produce of barium titanate piezoelectric ceramic as a bone scaffold with foam casting method and become coated with gelatinous and nanostructured HA composite for bone tissue engineering. Then test its properties by infrared spectroscopy, X-ray diffraction, scanning electron microscopy and mechanical properties were studied. In the end, it was concluded that the barium titanate scaffold produce with foam casting method coated with gelatin nano hydroxyapatite composite structure suitable for use in bone tissue engineering.

1- مقدمه

بافت سلول، فاکتور رشد یا تمایز و یک داربست به عنوان بستر سلولی می باشد. علاوه بر این یک داربست ایده آل باید دارای ویژگی هایی چون عدم سمیت سلولی و خواص متناسب با بافت مورد نظر باشد. در مورد داربست های مهندسی بافت استخوان علاوه بر زیست سازگاری باید درصد تخلخل بالا و

مهندسی بافت در حال حاضر به عنوان روشی به منظور ترمیم بافت های آسیب دیده بدن مورد توجه قرار گرفته است. اساس مهندسی بافت بر تقلید از فرآیند ساخت و ترمیم بافت مورد نظر می باشد. سه عنصر اصلی در مهندسی

Please cite this article using:

A. Ehterami, P. Saraeian, Sh. Etemadi Haghighi, M. Azami, Preparation and characterization of barium titanate scaffold for bone tissue engineering, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 17, No. 12, pp. 417-422, 2018 (in Persian)

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

از آنجایی که تحقیقات حکایت از پتانسیل آنتی ژنی اندک کلژن دارند، در چند سال اخیر محققین در تحقیقاتشان به استفاده از ژلاتین روی آورده اند. ژلاتین، کلژن هیدرولیز شده است که علی‌رغم حفظ مزایای قبلی در شرایط فیزیولوژیکی و بیولوژیکی هیچ‌گونه تحریک سیستم ایمنی از خود نشان نمی‌دهد. این ماده به راحتی در شرایط درون بدن انسان جذب می‌شود و خواص فیزیکی و شیمیایی آن به طور مناسبی قابل تنظیم و تعدیل است. بعلاوه نسبت به کلژن ارزان‌تر بوده و تهیه محلول آن به مراتب راحت‌تر از محلول‌های کلژنی است [13-16].

در ایران ساخت داربست متخلخل به روش ریختگری فومی به دلیل نیاز به امکانات خاص مانند کوره با قابلیت برنامه‌دهی و داشتن دمای بالا کمتر مورد استفاده پژوهشگران قرار گرفته است. همچنین ساخت داربست با پایه باریم تیتانات در عین کاربردی بودن در مهندسی بافت استخوان به دلیل پیچیدگی در ساخت آن کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین در مطالعه فعلی از روش ریختگری فومی برای ساخت داربست استخوانی باریم تیتانات استفاده شد. سپس سطح آن با نانو هیدروکسی آپاتیت و ژلاتین به روش غوطه‌وری پوشش داده شد و مشخصات و خواص آن توسط تست‌های طیف سنجی مادون قرمز^۲ آنالیز پراش اشعه ایکس^۳، میکروسکوپ الکترونی روبشی^۴ و تست خواص مکانیکی مورد بررسی قرار گرفت.

2- روش و آزمایش

1-1 ساخت داربست

در این مطالعه داربست‌ها به روش ریخته‌گری فومی ساخته شد. در این روش محلول آبی 6% پلی وینیل الکل $[(CH_2CH(OH))_n]$ (سیگما-آلدریج^۵) در دمای $80^\circ C$ تهیه شد. سپس به مقدار 50% وزنی حجمی پودر باریم تیتانات (مرک^۶) به محلول اضافه شد (شکل 1). بعد از یک دست شدن محلول فوم های پلی اورتان با ابعاد مشخص به محلول اضافه شد. فوم‌ها به طور کامل به محلول آغشته شده (شکل 2) سپس از محلول خارج شده و در خشک کن حرارتی به مدت 24 ساعت در دمای $70^\circ C$ خشک شد. بعد از خشک شدن کامل، نمونه‌ها در 4 گروه دمایی متفاوت تقسیم شد و طبق نمودار گردادیان

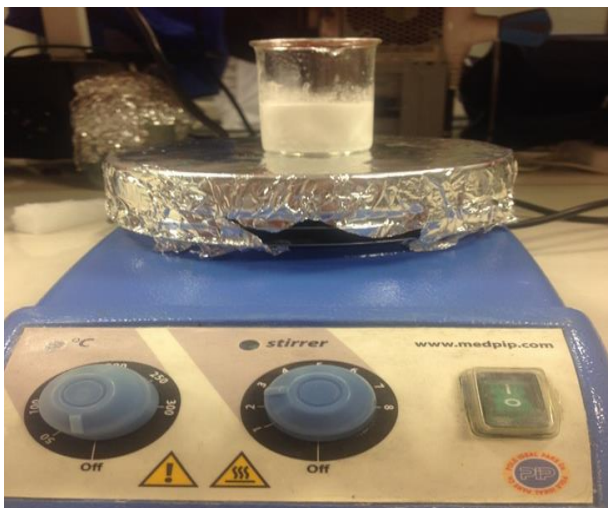


Fig.1 Production of ceramic solutions

شکل 1 ساخت محلول سرامیکی

حفرات به هم مرتبط داشته و در عین حال استحکام مطلوب و تحریک کننده و هادی رشد بافت استخوان نیز باشد [1].

مواد پیزوالکتریک به موادی مانند ترکیبات سرب، زیرکونات، تیتانات و کوارتز گفته می‌شود که در ساختار کریستال آن‌ها تقارن مرکزی وجود ندارد و قادرند کوپلی قوی میان میدان مکانیکی و الکتریکی ایجاد نمایند [2]. این بلور در اثر تغییر شکل، انرژی الکتریکی را به انرژی مکانیکی (صوت) تبدیل می‌کند و برعکس با فشار مکانیکی به سطح بلور، انرژی الکتریکی تولید می‌شود. خاصیت پیزوالکتریک توسط آرایش منظم دوقطبی‌های الکتریکی ظهور می‌کند. دوقطبی الکتریکی ساختاری مولکولی با بارهای الکتریکی مثبت و منفی و صفر می‌باشد. وقتی بلور پیزوالکتریک از بیرون فشرده شود، آرایش دوقطبی‌ها به هم می‌ریزد و عدم تعادلی در توزیع بار ایجاد می‌شود در نتیجه یک اختلاف پتانسیل (ولتاژ) در دو طرف بلور به دلیل بار مثبت خالص در یک طرف و بار منفی خالص در طرف دیگر ایجاد می‌شود. این ولتاژ که متناسب با دامنه فشار مکانیکی است توسط الکترودهای سطحی قابل اندازه‌گیری است. برعکس با اعمال ولتاژ خارجی توسط الکترود سطحی، کشیدگی و فشرده‌گی مکانیکی در پیزوالکتریک ایجاد می‌شود [3].

در اواسط قرن بیستم فوکودا^۱ اثر پیزوالکتریسته را در استخوان کشف کرد. فوکودا موفق به کشف اثر پیزوالکتریسته مستقیم و معکوس در استخوان شد. علت پیدایش اثر الکتریسته‌ای فشاری در استخوان، تنش القایی ایجاد شده در اثر لغزش الیاف کلژنی بر روی یکدیگر است و مقدار آن در استخوان برابر 0.7 پیکو کولن بر نیوتن است [4,5].

مواد پیزوالکتریک بدون سرب مانند باریم تیتانات، نیوبات پتاسیم سدیم و نیوبات لیتیوم پتاسیم سدیم کاربردهای زیستی متعددی در بدن به عنوان پوشش و کاشتنی دارند و در آزمونهای زیستی درون تنی، به عنوان کاشتنی در استخوان فمور جایگزین شده‌اند و پاسخ زیستی مناسبی از خود برجای گذاشته‌اند. باریم تیتانات نیز به عنوان یک ماده‌ی زیست سازگار پیزوالکتریک در قرن حاضر برای کاربردهای پزشکی بسیار مورد توجه قرار گرفته است [6]. تکنیک‌های مختلفی برای ساخت داربست های سه‌بعدی برای استفاده در مهندسی بافت استخوان وجود دارد. یکی از روش‌های متداول ریخته‌گری فومی است. در این روش دوغاب سرامیکی به فوم پلیمری اضافه شده و سپس فوم پلیمری سوخته و از بین می‌رود و سرامیک نیز زینتر می‌شود. این روش ظرفیت ساخت داربست با درصد تخلخل بالا را داراست [7].

یکی از روش‌هایی که به منظور افزایش کیفیت سطح، خواص مکانیکی و زیست فعالی داربست سرامیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد پوشش‌دهی سطحی آن با مواد زیست سازگار مانند پلیمرها، سرامیک و مواد کامپوزیتی است. کامپوزیت‌ها ثابت کرده‌اند که در افزایش مقاومت مکانیکی و زیست فعالی، در مقایسه با سرامیک‌ها و پلیمرها بیشتر موثر است [8]. به دلیل این که استخوان یک نانوکامپوزیت طبیعی متشکل از حدود 69% فاز معدنی هیدروکسی آپاتیت و 20% کلژن و بقیه آب و عناصر دیگر است، بسیاری از محققان از ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت و کلژن برای پوشش‌دهی سطح داربست استفاده کرده‌اند [9,10].

هیدروکسی آپاتیت بسیار شبیه به ساختار مینرال استخوان است و سرامیک‌های هیدروکسی آپاتیت می‌توانند پیوند مستقیم با استخوان برقرار کنند. از ویژگی‌های هیدروکسی آپاتیت می‌توان به زیست سازگاری، زیست فعالی، قابلیت هدایت استخوانی، غیرسمی و غیرالتهابی و ایمونولوژی بودن آن اشاره کرد [11,12].

¹ Fukuda

² Fourier Transmission Infrared Spectroscopy (FTIR)

³ X-Ray Diffraction (XRD)

⁴ Scanning Electron Microscope (SEM)

⁵ Sigma-Aldrich

⁶ Merck

قرار داده شد. نمونه‌ها با استون شست و شو داده شده و به مدت 24 ساعت در دمای محیط خشک شد.

2-3- طیف سنجی مادون قرمز

آزمون FTIR برای شناسایی گروه‌های عاملی و مواد سازنده از داربست‌های با پوشش و بدون پوشش انجام شد. طیف بینی با قدرت تفکیک 4 cm^{-1} و 32 cm^{-1} روبش در محدوده عدد موجی دستگاه (ناحیه میانی طیف IR) یعنی $400 - 4000\text{ cm}^{-1}$ با دستگاه بومم² مدل MB100 انجام شد.

2-4- آنالیز پراش اشعه ایکس

جهت بررسی ساختار کریستالی، نمونه داربست‌های حاصل شده قبل و بعد از کوره و همچنین با پوشش و بدون پوشش، مورد آنالیز تفرق اشعه ایکس با طول موج $\text{CuK}\alpha = 1.54\text{ \AA}$ قرار گرفت. زمان اقامت در هر گام یک ثانیه، اندازه گام 0.02 درجه و محدوده روبش بین 20 تا 70 درجه است. این تست با دستگاه XRD زیمنس-براکر³ مدل D500 انجام شد.

2-5- میزان تخلخل و دانسیته

جهت اندازه‌گیری مقادیر تخلخل و چگالی از فرمول‌های (1) و (2) استفاده شد. بدین منظور ابتدا نمونه‌ها به‌صورت استوانه‌ای تراشیده شدند. حجم نمونه‌ها با اندازه‌گیری قطر و ارتفاع آن‌ها و وزن آن‌ها با توزین قابل اندازه‌گیری خواهد بود؛ و با توجه به رابطه:

$$\rho = \frac{M}{V} \text{ (gr/cm}^3\text{)} \quad (1)$$

مقدار چگالی محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری میزان تخلخل نمونه‌ها نیز، با داشتن چگالی باریم تیتانات، حجم و درصد تخلخل برای مجموعه داربست از رابطه زیر به‌دست می‌آید:

$$V_{\text{Prosimy}} = V_{\text{total}} - \frac{M_{\text{BT}}}{\rho_{\text{BT powder}}} \quad (2)$$

$$\% \text{ porosity} = \frac{V_{\text{porosity}}}{V_{\text{total}}} \quad (3)$$

2-6- اندازه و شکل حفره‌ها

به منظور بررسی مورفولوژی حفره‌ها و تخلخل‌های ایجاد شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. برای پوشش‌دهی طلای داربست‌ها از دستگاه امیتک⁴ مدل K450X و برای تصویربرداری از دستگاه فیلیپس⁵ مدل XL30 استفاده شد.

در این تحقیق برای گرفتن نقشه کلسیم از دستگاه ایدکس رونتک⁶ که به‌صورت مستقیم به دستگاه الکترون روبشی متصل بود استفاده شد. این روش به منظور استفاده از طیف‌سنجی پراکندگی انرژی، برای آنالیز کمی مواد همراه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی در نظر گرفته شده است. در این روش، الکترون‌هایی با انرژی زیاد، که به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی تولید شده‌اند، با اتم‌هایی که در عمق چند میکرون از سطح نمونه قرار دارند، برخورد کرده و پرتوهای ایکس را تولید می‌کنند. این پرتوها دارای انرژی مشخصه عنصر مورد مطالعه هستند. شدت این پرتوهای X، متناسب با مقدار عنصر مورد مطالعه در نمونه است. در طیف‌سنجی پراکندگی انرژی، پرتوهای ایکس که از نمونه خارج می‌شوند، توسط یک آشکارساز به حالت

دمایی "شکل 3" درون کوره الکتریکی آسانسوری قرار داده شد. نمونه‌ها در خود کوره به آرامی سرد شده و تبدیل به داربست نهایی شد (شکل 4).

2-2- پوشش‌دهی

برای پوشش‌دهی ژلاتین و نانوهیدروکسی آپاتیت داربست‌ها، محلول 0.1 مولار نیترات کلسیم 4 آبه (اسکارلاو¹) و 0.5% وزنی ژلاتین (مرک) درست شد. نمونه‌ها به مدت 3 دقیقه در محلول قرار داده شد. سپس به مدت 24 ساعت در دمای محیط خشک شد. بعد از خشک شدن کامل نمونه‌ها به مدت 48 ساعت در مجاورت بخار گلوآل‌دهید (مرک) 25% وزنی قرار گرفت. گلوآل‌دهید با ایجاد اتصالات بین زنجیره‌ای در ساختار پلیمری ژلاتین باعث افزایش استحکام و کاهش انحلال‌پذیری آن در آب می‌شود. سپس نمونه‌ها در محلول 0.5 مولار دی‌آمونیم هیدروژن فسفات (مرک) به مدت 3 دقیقه



Fig.2 Stain foam to ceramic solution

شکل 2 آغشته کردن فوم‌ها به محلول سرامیکی

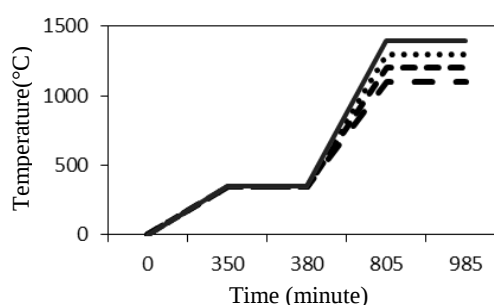


Fig. 3 furnace temperature gradient

شکل 3 گرادین دمای کوره



Fig.4 Final scaffold

شکل 4 داربست نهایی

² Bomem
³ Siemens-Bruker
⁴ Emiteck
⁵ Philips
⁶ Rontec

¹ Scharlau

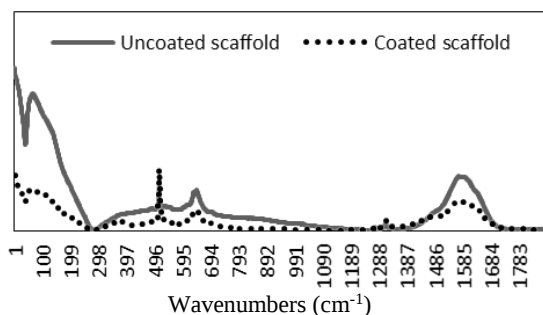


Fig. 5 FTIR test results

شکل 5 نتایج آزمون FTIR

جدول 1 تحلیل آزمون FTIR

Table 1 Analysis FTIR tests

ترکیب	نوع پیوند	عدد موجی (CM ⁻¹)
تیتانات	Ti-O, O-Ti-O	521
باریم	COO	1384, 1637
هیدروکسی آپاتیت	PO ₄	612, 1111
هیدروکسی آپاتیت	CO ₃	780
آمید 3 (ژلاتین)	N-H	1245
ژلاتین-هیدروکسی آپاتیت	Ca-COO	1430
آمید 3 (ژلاتین)	C=O بسط	1742
آمید B	C-H	2854
آمید B	بسط C-H	2924
رطوبت همراه نمونه	بسط OH	3100, 1600

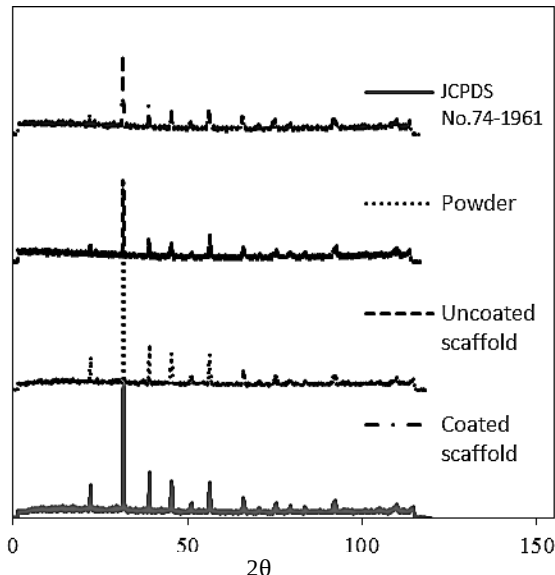


Fig. 6 XRD charts

شکل 6 نمودار XRD

تخلخل کاهش پیدا می‌کند. دلیل این امر زینتر شدن بیشتر در دماهای بالاتر است. با بالا رفتن دما میل تبدیل شدن به توده‌ای جامد افزایش پیدا کرده و در نتیجه تخلخل کاهش پیدا می‌کند. در نمونه 1400°C استفاده شده در تحقیق درصد تخلخل حدود 80% است که برای داربست‌های سه‌بعدی سرامیکی مناسب است.

در نمونه‌های پوشش‌دار نیز ملاحظه شد که درصد تخلخل تفاوت

جامد، آشکارسازی می‌شوند. آشکارساز، پرتوها را به پالس‌های الکتریکی متناسب با مشخصه انرژی عنصر مورد مطالعه تبدیل می‌کند.

7-2- بررسی استحکام فشاری

میزان استحکام فشاری داربست‌های تهیه شده با پوشش و بدون پوشش مطابق با استاندارد (ASTM F 451-86) با نرخ 1mm/min اندازه‌گیری شد. در این تست از نمونه‌های استوانه‌ای با قطر 5mm و ارتفاع 10mm استفاده شد. برای هر گروه دمایی 3 تکرار قرار داده شد. مدول الاستیک آن‌ها از شیب خط ناحیه الاستیک منحنی‌های به‌دست آمده تعیین شدند. برای این تست از دستگاه سنتام¹ با اهرم نیرو 25^2 نیوتن و دقت 1 نیوتن استفاده شد.

3- نتایج و بحث

1-3- نتایج آزمون FTIR

در "شکل 5" نتیجه به دست آمده از آزمون FTIR برای نمونه‌های پوشش‌دار و بدون پوشش و در جدول 1 اعداد موجی به دست آمده و نوع باند شیمیایی مربوط به آن‌ها نمایش داده شده است. اعداد موج 1637 و 1384، 521 مربوط به باریم تیتانات است که در هر دو نمونه موجود است [17]. اعداد موج 612، 780 و 1111 نشان‌دهنده وجود هیدروکسی آپاتیت در نمونه است [19, 18]. این اعداد موج بیان می‌کنند که کلسیم و فسفات در مرحله پوشش‌دهی به خوبی با هم ترکیب شده و تشکیل هیدروکسی آپاتیت را داده‌اند.

2-3- نتایج آزمون XRD

نتایج پراش اشعه ایکس برای پودر خریداری شده، داربست بدون پوشش، داربست پوشش‌دار و نتایج ارایه شده توسط کمیته استانداردسازی پودر به صورت "شکل 6" است.

همان‌طور که در "شکل 3" مشخص است نتایج به‌دست آمده از آنالیز پودر خریداری شده با نتایج ارایه شده توسط کمیته استانداردسازی پودر² کد (JCPDS No.74-1961) مطابقت دارد و پیک‌های به‌دست آمده با هم منطبق هستند. از این تست می‌توان نتیجه گرفت که پودر اولیه خریداری شده دارای خلوص مناسب است و می‌توان با اطمینان از آن استفاده کرد.

در مورد نمونه‌های بدون پوشش مشاهده شد که تغییری در پیک‌های تست نسبت به پودر اولیه پیدا نشد و نتیجه گرفته شد که روش ریخته‌گری فومی و دمای 1400 درجه سانتی‌گراد تغییری در ماهیت باریم تیتانات ایجاد نکرده است. در مورد نمونه‌های پوشش‌دار علاوه بر پیک‌های باریم تیتانات (مانند پودر و داربست بدون پوشش) پیک‌های کلسیم فسفات و ژلاتین هم به نتایج اضافه شد که نشان دهنده تشکیل پوشش ژلاتین کلسیم فسفات است. نتایج حاصل با نتایج به‌دست آمده توسط لیو و همکارانش مطابقت دارد [20].

3-3- بررسی میزان تخلخل

برای بررسی میزان تخلخل آزمایش برای هر 4 گروه دمایی و با 4 تکرار انجام شد. با استفاده از فرمول‌های گفته شده در قسمت قبل میانگین تخلخل و انقباض برای داربست‌های بدون پوشش و با پوشش نشان داده شده است (جداول 2 و 3).

با بالا رفتن دما زینتر درصد انقباض افزایش پیدا کرده و در نتیجه درصد

¹ Santam

² load cell

³ Joint Committee on Powder Diffraction and Standards (JCPDS)

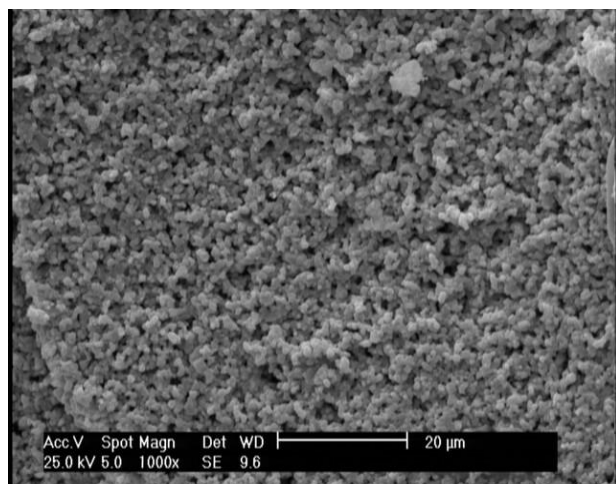


Fig.8 SEM image of scaffold without cover

شکل 8 عکس SEM سطح داربست بدون پوشش

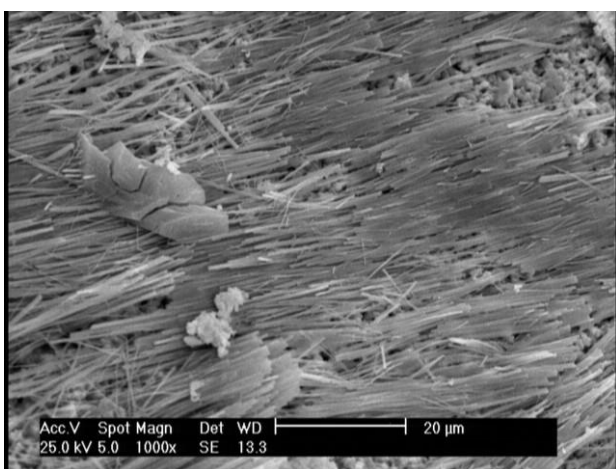


Fig.9 SEM image of coated scaffold & calcium map

شکل 9 عکس SEM سطح داربست پوشش دار و ایدکس کلسیم

ابعاد بلورهای هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده بر روی داربست بین 50 تا 200 نانومتر اندازه‌گیری شد. این اعداد بیان می‌کند که پوشش‌دهی در حد نانومتر است که باعث پر شدن ترک‌های سطحی و افزایش استحکام داربست شده است.

5-3- بررسی استحکام داربست ها

برای هر گروه دمایی با 4 تکرار نمونه های استوانه ای آماده شد که ارتفاع آن

آشکاری با نمونه‌های بدون پوشش ندارند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که پوشش‌دهی تغییری در تخلخل‌ها نداده است و آن‌ها را پر نکرده است و ژلاتین کلسیم فسفات مانند لایه نازکی بر روی سطح کشیده شده است.

4-3- میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای بررسی اندازه تخلخل از نمونه ها عکس تهیه شد (شکل 7). قطر حفره‌های تخلخل‌ها به طور متوسط 200 تا 500 میکرومتر مشاهده شد. علاوه بر این مشاهده شد که تخلخل به اندازه کافی وجود دارد. این شرایط محل مناسبی برای جای‌گیری و رشد سلول را فراهم می‌کند.

برای بررسی پوشش هیدروکسی آپاتیت و ژلاتین از داربست‌های پوشش دار عکس و ایدکس کلسیم تهیه شد. "شکل 8" سطح داربست ساده بدون پوشش است. در این شکل سطح زینتر شده داربست قابل مشاهده است. در "شکل 9" سطح داربست که دارای پوشش ژلاتین هیدروکسی آپاتیت است همراه با ایدکس دیده می‌شود. در این جا بلورهای کلسیم فسفات که به صورت کشیده قرار دارند قابل مشاهده است. همچنین ایدکس کلسیم گرفته شده نشان می‌دهد که سطح کاملاً با کلسیم پوشانده شده است. علاوه بر این در پرس زمینه عکس پوشش پلیمری ژلاتین تثبیت شده قابل مشاهده است.

جدول 2 درصد تخلخل و انقباض برای نمونه های بدون پوشش

Table 2 porosity and shrinkage for samples without coating

درصد انقباض حجمی	درصد تخلخل	دما (°C)
17.28±0.94	80.84±1.83	1100
23.69±1.87	87.53±1.58	1200
31.54±1.26	86.39±1.34	1300
40.09±2.28	83.27±1.94	1400

جدول 3 درصد تخلخل و انقباض برای نمونه‌های پوشش دار

Table 3 porosity and shrinkage for covered samples

درصد انقباض حجمی	درصد تخلخل	دما (°C)
18.75±1.54	90.42±1.34	1100
24.67±1.81	88.84±1.47	1200
35.51±1.46	87.04±2.26	1300
47.24±2.14	83.64±1.83	1400

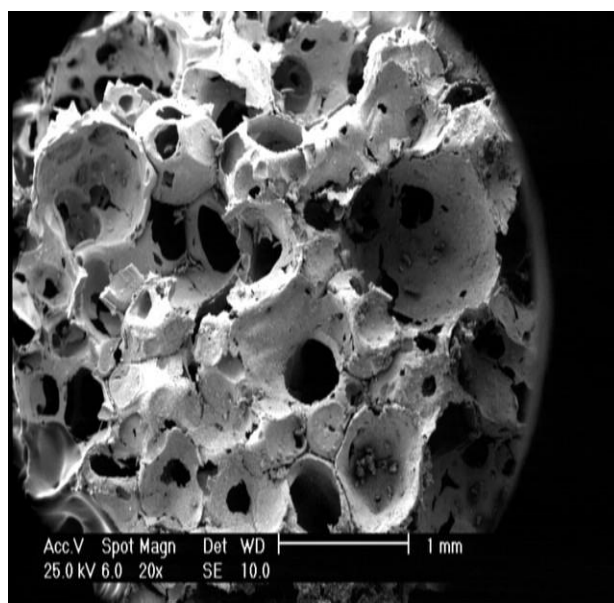


Fig.7 SEM image of scaffold surface

شکل 7 عکس SEM از سطح داربست

[21]. این افزایش استحکام در حالی اتفاق می افتد که در درصد تخلخل تغییری ایجاد نمی کند.

5- اندازه کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده در حد نانومتر است که باعث افزایش مناسب کیفیت سطح شده است. همچنین می‌تواند فضای مناسب برای چسبندگی سلول فراهم کند.

5- فهرست علائم

ρ	چگالی
M	جرم
V	حجم

6- مراجع

- [1] S. J. Hollister, Porous scaffold design for tissue engineering, *Nature Materials*, Vol. 4, No. 7, pp. 518-524, 2005.
- [2] S. H. Teoh, *Engineering Materials for Biomedical Applications*: World Scientific, Vol. 128, No. 1, pp. 250-300, 2004.
- [3] B. Jaffe, *Piezoelectric Ceramics*, Elsevier, Vol. 210, No. 28, pp. 50-100, 2012.
- [4] E. Fukada, I. Yasuda, On the piezoelectric effect of bone, *Journal of the Physical Society of Japan*, Vol. 12, No. 10, pp. 1158-1162, 1957.
- [5] I. Yasuda, The Classic fundamental aspects of fracture treatment, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, Vol. 124, No. 3, pp. 5-8, 1977.
- [6] J. Park, G. Kenner, S. Brown, J. Scott, Mechanical property changes of barium titanate (ceramic) after in vivo and in vitro aging, *Biomaterials, Medical Devices, and Artificial Organs*, Vol. 5, No. 3, pp. 267-276, 1977.
- [7] C. Wang, H. Chen, X. Zhu, Z. Xiao, K. Zhang, X. Zhang, An improved polymeric sponge replication method for biomedical porous titanium scaffolds, *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 70, pp. 1192-1199, 2017.
- [8] P. S. Poh, D. W. Hutmacher, B. M. Holzapfel, A. K. Solanki, M. M. Stevens, M. A. Woodruff, In vitro and in vivo bone formation potential of surface calcium phosphate-coated polycaprolactone and polycaprolactone/bioactive glass composite scaffolds, *Acta Biomaterialia*, Vol. 30, pp. 319-333, 2016.
- [9] S. Zhang, F. Cui, S. Liao, Y. Zhu, L. Han, Synthesis and biocompatibility of porous nano-hydroxyapatite/collagen/alginate composite, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 14, No. 7, pp. 641-645, 2003.
- [10] M. Kikuchi, H. N. Matsumoto, T. Yamada, Y. Koyama, K. Takakuda, J. Tanaka, Glutaraldehyde cross-linked hydroxyapatite/collagen self-organized nanocomposites, *Biomaterials*, Vol. 25, No. 1, pp. 63-69, 2004.
- [11] J. R. Woodard, A. J. Hillmore, S. K. Lan, C. Park, A. W. Morgan, J. A. C. Eurell, S. G. Clark, M. B. Wheeler, R. D. Jamison, A. J. W. Johnson, The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity, *Biomaterials*, Vol. 28, No. 1, pp. 45-54, 2007.
- [12] M. Azami, M. Rabiee, F. Moztaezadeh, Glutaraldehyde crosslinked gelatin/hydroxyapatite nanocomposite scaffold, engineered via compound techniques, *Polymer Composites*, Vol. 31, No. 12, pp. 2112-2120, 2010.
- [13] H. W. Kim, J. C. Knowles, H. E. Kim, Hydroxyapatite and gelatin composite foams processed via novel freeze-drying and crosslinking for use as temporary hard tissue scaffolds, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 72, No. 2, pp. 136-145, 2005.
- [14] H. W. Kim, H. E. Kim, V. Salih, Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin-hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds, *Biomaterials*, Vol. 26, No. 25, pp. 5221-5230, 2005.
- [15] M. Azami, F. Moztaezadeh, M. Tahriri, Preparation, characterization and mechanical properties of controlled porous gelatin/hydroxyapatite nanocomposite through layer solvent casting combined with freeze-drying and lamination techniques, *Journal of Porous Materials*, Vol. 17, No. 3, pp. 313-320, 2010.
- [16] M. Azami, F. Moztaezadeh, M. Rabiee, Preparation of nanocomposite gelatin/apatite scaffold through a biomimetic method, *Iranian journal of biomedical engineering*, Vol. 3, No. 4, pp. 275-284, 2010. (in persian)
- [17] M. Mohanapriya, K. Deshmukh, M. B. Ahamed, K. Chidambaram, S. Pasha, Structural, morphological and dielectric properties of multiphase nanocomposites consisting of polycarbonate, barium titanate and carbon black nanoparticles, *Proceeding of Interfinish, SERIA*, June 5-7, 2013.
- [18] M. C. Chang, J. Tanaka, FT-IR study for hydroxyapatite/collagen nanocomposite cross-linked by glutaraldehyde, *Biomaterials*, Vol. 23, No. 24, pp. 4811-4818, 2002.
- [19] M. C. Chang, C. C. Ko, W. H. Douglas, Preparation of hydroxyapatite-gelatin nanocomposite, *Biomaterials*, Vol. 24, No. 17, pp. 2853-2862, 2003.
- [20] B. Liu, L. Chen, C. Shao, F. Zhang, K. Zhou, J. Cao, D. Zhang, Improved osteoblasts growth on osteomimetic hydroxyapatite/BaTiO₃ composites with aligned lamellar porous structure, *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 61, No. 4, pp. 8-14, 2016.
- [21] M. B. Schaffler, D. B. Burr, Stiffness of compact bone: effects of porosity and density, *Journal of Biomechanics*, Vol. 21, No. 1, pp. 13-16, 1988.

به طور تقریبی دو برابر قطر آن باشد. میانگین نتایج به دست آمده از تست فشاری بر روی نمونه های بدون پوشش و با پوشش نشان داده شده است (جدول 4 و 5):

با افزایش دما به دلیل افزایش انقباض و کاهش تخلخل استحکام داربست‌ها افزایش پیدا می کند. علاوه بر این زینتر شدن بهتر داربست‌ها در دمای بالاتر نیز استحکام را بالا می برد. استحکام نمونه های 1400°C برای استفاده به عنوان داربست استخوانی در بدن نیز مناسب است.

داربست‌های با پوشش دارای استحکام بهتری نسبت به داربست‌های بدون پوشش هستند. یکی از دلایل این امر را می‌توان وجود یک لایه نازک چسبنده بر روی کل سطح داربست را بیان کرد. علاوه بر این پوشش ژلاتین هیدروکسی آپاتیت می‌تواند ترک های موجود روی سطح را پر کرده و باعث افزایش استحکام شود.

4- نتیجه گیری

در این پژوهش هدف استفاده از داربست پیزوالکتریک برای مهندسی بافت استخوان بود. بنابراین از باریم تیتانات به عنوان پایه داربست استفاده شد و سطح آن با ژلاتین هیدروکسی آپاتیت پوشش داده شد و از داربست ساخته شده تست های متعددی گرفته شد. نتایج زیر حاصل شد:

- 1- روش ریختگری فومی برای ساخت داربست باریم تیتانات روش مناسبی است. تخلخل ایجاد شده در داربست‌ها بین 80 تا 90 درصد است که با استخوان طبیعی که دارای تخلخل بین 75 تا 95 درصد است شباهت دارد [21]. در نتیجه داربست ساخته شده برای استفاده در مهندسی بافت استخوان مناسب است.
- 2- تخلخل های ایجاد شده دارای پیوستگی و اندازه مناسب هستند. این پیوستگی، فضای مناسب را برای پخش شدن سلول در کل داربست فراهم می‌کند. اندازه تخلخل بین 200 تا 500 میکرومتر نیز فضا و سطح مناسب برای چسبندگی سلول استخوانی را فراهم می‌کند.
- 3- روش غوطه‌وری روش مناسبی برای پوشش دهی ژلاتین کلسیم فسفات بر روی سطح داربست استخوانی باریم تیتانات است و کلسیم و فسفات بر روی سطح داربست به خوبی با یکدیگر ترکیب شده و تشکیل هیدروکسی آپاتیت را می‌دهد.
- 4- پوشش دهی ژلاتین هیدروکسی آپاتیت باعث افزایش استحکام داربست به مقدار 4 برابر می‌شود. این افزایش استحکام سبب می‌شود که به استحکام فشاری استخوان که حدود 10 مگاپاسکال است نزدیک شود و بتوان از آن به عنوان داربست استخوانی استفاده کرد

جدول 4 خواص مکانیکی نمونه های بدون پوشش

مدول الاستیک (MPa)	استحکام (MPa)	دما (°C)
0.28±0.07	0.02±0.01	1100
0.12±0.42	0.06±0.02	1200
1.137±0.13	0.19±0.01	1300
2.346±0.57	0.64±0.09	1400

جدول 5 خواص مکانیکی نمونه های پوشش دار

مدول الاستیک (MPa)	استحکام (MPa)	دما (°C)
1.282±0.21	0.11±0.01	1100
1.397±0.34	0.40±0.02	1200
1.892±0.19	0.87±0.09	1300
3.256±0.26	1.39±0.03	1400