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

(دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۷/۱۰ – دریافت نسخه نهایی: ۱۷/۱۰/۱۳۹)



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 ($64SiO_2-26CaO-5MgO-5ZnO$) (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.

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 نمی توان مادهای را یافت که به تنهایی خواص مکانیکی استخوان را دارا باشد. آلیاژهای مستحکم فلزی و یا بیوسرامیکها نسبت به استخوان بسیار سخت تر بوده و مدول الاستیک آنها ه ۱۰۰ – ۳۰۰ 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 زیستماده، فرایند بازسازی طبیعی بافت استخوانی^۳ به مرور برای مهار آثار سوء ناشی از اعمال این گونه تنهها استفاده از برای مهار آثار سوء ناشی از اعمال این گونه تنهها استفاده از استخوان نظیر پلی اتیلن (برای مثال در زیستماده می شود. یک راه و یک فاز پراکنده با مدول الاستیسیته بالاتر ا ۱– مقدمه

یک ماده کامپوزیتی ترکیبی از دو یا چند فاز است که دارای فصل مشترک قابل تمایز از یکدیگرند. کامپوزیت ها فقط برای خواص ساختاری مورد استفاده قرار نمی گیرند بلکه دارای کاربردهای الکتریکی، حرارتی و زیست محیطی نیز هستند. مواد کامپوزیتی پیشرفته معمولاً برای طیف وسیعی از کاربردهای ویژه بهینه سازی می شوند.

با توجه به تعریف کامپوزیت، می توان زیست مواد کامپوزیتی را نیز تعریف نمود. نکته قابل توجه در این مورد این است که هر یک از اجزای سازنده کامپوزیت بایستی زیست سازگار باشند و فصل مشترک بین اجزای سازنده نیز تا زمانی که بافت میزبان به استحکام مناسب نرسیده است، توسط محیط بدن قابل تجزیه و از هم پاشیدگی نباشد. به طور کلی کامپوزیتهایی که دارای حداقل یک جزء زیست فعال باشند، را می توان در گروه کامپوزیتهای زیست فعال قرارداد [۱–۳].

استخوان یکی از سخت ترین انواع بافت همبنـد اسـت کـه دانسیته بالایی داشته و از نظر متابولیک فعال اسـت. در سـاختار آن کـلاژن، هیدروکـسی آپاتیـت و زمینـه اسـتخوانی^۲ شـرکت

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 زیست فعال مواد پایه سیلیکاتی آمور فی هستند که با بافت استخوانی اتصال برقرار میکنند و علاوه بر آن در ضمن انحلال می توانند باعث تحریک رشد استخوان جدید شوند که این دو خاصیت، این مواد را نامزدهای مناسبی برای مقاصد مهندسی بافت می سازد [۴]. به دلیل خواص مکانیکی پایین و استحکام کم شیشههای زیست فعال، استفاده از آنها در مناطقی که تحت بار هستند معمولاً مطلوب نیست. برای رفع این مشکل، کامپوزیتهایی از این شیشه ا با موادی که دارای چقرمگی شکست بالاتری هستند مانند پلیمرها ساخته شده اند. همچنین این مشکل می تواند توسط کامپوزیتهایی که بخش معدنی آنها از هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده است، برطرف شود.

اولین گزارش از بررسیهای درون تنی شیشههای زیست فعال در سال ۱۹۷۱ به چاپ رسید [۸] که در آن قطعات یکپارچه از جنس شیشههای زیست فعال بیوگلاس 4585 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 885 و 778، نیز در آزمون کشت سلولی رفتاری مشابه بیوگلاس مشاهده شده است [۹]. مطالعات کشت سلولی و اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز⁴ و ۱۳ درصد مولی منیزیم [۱۱] زیستسازگاری شیشه زیست فعال به کار رفته در پژوهش حاضر را تأیید میکنند. همچنین نتایج پژوهشی جدید روی نمونههایی از شیشههای زیست فعال حاوی روی و میزیم امکانپذیر بودن کاربرد آنها را در

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

منیزیم موجب تحریک رشد استخوانی می شود و از طرفی می تواند باعث افزایش چسبندگی و ثبات سلولهای استخوانی روی زیستماده شود [۱۳ و ۱۴]. در مورد یون روی نیز در حالت برونتنی^۵ نشانههایی از رفتار ضد التهابی و تحریک رشد استخوانی با فعالسازی مسیرهای سنتز پروتئین در سلولهای استخوانساز^۶ مشاهده شده است [۱۳, ۱۵]. از طرف دیگر نشان داده شده است که حضور عناصر یاد شده در ساختار شیشههای زیستفعال می تواند موجب کاهش آهنگ ایجاد هیدروکسی کربنات آپاتیت در محیطهای فیزیولوژیک شود [۱۹–۱۹]. تأخیر 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 می تواند 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 (سیــستم چهـارجزئی SiO₂-CaO-MgO-ZnO) بــه زمینــه هیدروکسی آپاتیت افزوده شد و خواص کامپوزیت حاصـله بـا تکیه بر رفتـار مکانیکی و تخریـب آن در محلـول SBF مـورد بررسی قرار گرفت.

۲– مواد و روشها

برای تولید کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت – شیـشه زیـست فعال در ابتدا پودرهای هر یک به طور مجزا سنتز شـدند. بـرای اطمینان از یکنواختی اندازه دانه پودرهـا پـس از سـنتز، آنهـا از

سرند با مش شماره ۳۲۵ (اندازه چشمه ۴۵ میکرون طبق استاندارد ASTM E11-04) عبور داده شدند.

به منظور سنتز ۱۵ گرم هیدروکسی آپاتیت، مقدار ۳۶/۱۵ گرم از پودر کلسیم نیترات تتراهیدرات را در ۵۲۵ میلیلیتر آب مقطر حل کرده و سپس محلول حاوی ۱۲ گرم دی آمونیم هیدروژن فسفات حل شده در ۳۷۵ میلیلیتر آب مقطر به صورت قطرهقطره به آن افزوده شد. سپس Hf محلول به کمک سود سوزآور به ۱۱ رسانده شد [۲۰]. محلول به مدت یک شبانهروز در دمای اتاق قرار داده شد و سپس با سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه تحت سانتریفیوژ قرار گرفت و با آب مقطر شسته شد. فرایند سانتریفیوژ و شستشو با آب مقطر ۳ بار تکرار شد. پس از آن پودر حاصل در کوره با دمای ۲۰ ۵۰ در هر دقیقه بود. پودر ساعت کلسینه شد. نرخ افزایش دما ۲۰ ۵ در هر دقیقه بود. پودر کلسینهشده در آسیاب سیارهای به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت

برای سنتز ۵۰ گرم شیشه زیستفعال به روش سل-ژل، ابتدا Merck reagent grade) میلی لیتر تترا اتوکسی سیلان (Merck reagent grade) به ۱۹/۵۰ میلی/لیتر اسید نیتریک (%Prolab 68) ۲ نرمال کـه در ۱۱۶/۹۶ میلی لیتر آب مقطر حل شده بود، افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن برای انجام هیـدرولیز، قـرار داده شـد. در این مرحله از محلول اسید نیتریک در آب به عنوان محیط حاوی کاتالیزور هیدرولیز و از تترا اتوکسی سیلان به عنوان منبع تأمين SiO₂ استفاده شد. سپس۵۱/۹۵۳ گرم کلسيم نيترات تتراهیدرات به سیستم اضافه شد و سیستم به مدت ۴۵ دقیقه هم زده شد. کلسیم نیترات تتراهیدرات به عنوان منبع تأمین CaO استفاده شد. سپس ۱۰/۷۶۹ گرم منیزیم نیترات هگزاهیدرات (Merck 99.99%) به عنوان منبع تأمين MgO به سيستم اضافه شد و به مدت ۱ ساعت مواد مذکور برای انجام کامل هیـدرولیز بر روی همزن قرار گرفتند. پس از آن۱۲/۴۹۵ گرم روی نیترات تتراهيدرات (Scharlau 99.99%) به عنوان منبع تأمين ZnO به سیستم اضافه شد و به مدت ۱ ساعت مواد مذکور برای انجام کامل انحلال و هیدرولیز روی همزن قرار گرفتند.

در این پژوهش نسبت مولی آب به تترا اتوکسی سیلان ۱۲:۱ و نسبت حجمی آب به اسید نیتریک ۱:۶ در نظر گرفته شد [۲۲]. سل به دست آمده به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور در دمای ۵[°] ۳۷ قرار گرفت تا سل به ژل تبدیل شود (پیرسازی). برای خشک شدن ژلها، آنها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵[°] ۵۰ قرار داده شدند و پس از آن برای همگنی بیشتر، ژلهای خشکشده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور بر یایدارسازی شیشه، پودر حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای پایدارسازی شیشه، پودر حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای افزایش دما در کوره ۵[°] ۵ در هر دقیقه بود.

شایان ذکر است در تعیین دمای پایدارسازی شیشه زیستفعال، نمونهای از آن پیش از خشک کردن، با دستگاه TG/DTA مورد آزمون همزمان TG/DTA با آهنگ افزایش دمای ۲۰ ۵ در هر دقیقه بین دمای محیط تا ۲۰ ۱۲۰۰ قرار گرفت. با پایان مراحل سنتز پودرها، برای بررسی توزیع اندازه ذرات پودرهای فوق، از روش تحلی لیزری اندازه ذره (LPSA) و دستگاه 1064 CILAS در حالت مایع با قابلیت اندازه گیری ذرات در محدوده ۲۰/۰ الی ۵۰۰ میکرومتر استفاده شد.

پودر شیشه سنتزشده به نسبتهای وزنی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد با پودر هیدروکسی آپاتیت مخلوط شده و مخلوط حاصل با فشار ۸۳۵ ۵۰ به صورت استوانه با ارتفاع ۱۲ و قطر ۶ میلیمتر پرس و در دمای ۲۰ ۱۱۰۰ به مدت یک ساعت تف-جوشی شد. نمونه با بیشترین استحکام (نمونه حاوی ۲۰٪ شیشه زیستفعال) در محلول شبیهسازی شده بدن (SBF) به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز قرار گرفت.

به منظور بررسی استحکام فشاری نمونه های کامپوزیتی از دستگاه Zwick/Roell Universal Testing Machine با سرعت جابه جایی فک ۵ mm/sec ۱۰ استفاده شد. برای هر آزمون ۱۰ نمونه ساخته شد و مقدار میانگین آنها به عنوان استحکام فشاری گزارش شد.

يون	(mmol/dm ³) غلظت	
	محلول شبیهسازیشده بدن انسان (SBF)	پلاسماي خون انسان
Na ⁺	۱۴۲/۰	۱۴۲/۰
K^+	۵/ ۰	۵/ ۰
Mg ²⁺	١/۵	١/۵
Ca ²⁺	۲/۵	۲/۵
Cl	١۴٧/٨	۱ ۰ ۳/ ۰
HCO ₃ -	۴/۲	۲۷/ ۰
HPO4 ²⁻	١/٠	۱/ ۰
SO4 ²⁻	•/۵	•/۵

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

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 26 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.

SBF برای هر یک از زمانهای مورد نظر، ۳ نمونه در محلول گذاشته شد و پس از اتمام زمانهای مذکور، نمونه ها از محلول SBF خارج شده و محلولها به منظور بررسی و اندازه گیری فلظت یونها توسط Inductively Coupled Plasma Optical مورد فلظت یونها توسط Emission Spectroscopy (ICP-OES, Perkin Elmer) 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 SBF با استفاده از دستگاه (JXA-840) انجام گرفت.

آزمونهای آماری این مقاله توسط نرمافـزار اکــسل بـا روش One-Way ANOVA انجام شد.

۳- نتایج و بحث تحلیل حرارتی شیشه زیستفعال

شکل (۱) نتایج آزمون همزمان TG/DTA شیشه زیست فعال سنتزشده به روش سل-ژل را نشان می دهد. با توجه به استفاده از نمونههای خشک نشده، بین دماهای ۲۰ ۵۰۵ – ۵۰ شاهد واکنشی گرماگیر هستیم که خروج رطوبت و Pore-Liquor موجود در ژل محتمل ترین واکنش ممکن است. در دماهای بین ۲۰ ۵۰۰ – ۱۷۵ شاهد چندین واکنش عمدتاً گرماگیر و گاهی گرمازا (با گرمای واکنش به نسبت کم) هستیم که می تواند مربوط به تخریب حرارتی عوامل آلی سنگینتر از اتانول یا شروع واکنش مرحله ^۸ می باشد (تجزیه نیتراتها معمولاً واکنشی مرحله به مرحله ^۸ می باشد و از نظر ترمودینامیکی در دماهایی کمتر از ۲۰ ۵۰۵۵ نیز امکانپذیر است). بین دماهای داریم [۲۴] که بخش اعظم آن بین ۲۰ ۵۰۵ مرخ می دهد. با توجه به منحنی AGT با اتمام تجزیه حرارتی نیتراتها (دماهای



شكل ۱– نمودار آزمون TG/DTA شيشه زيستفعال.

به پایان میرسد و این به معنی پایان واکنشهای حذفی است. با نرخ افزایش دمای آزمایش (۵° ۵ در هـ دقیقـه) در دمای ۵۵۰۵۸ شروع تبلور شیشه مذکور را داریم که این واکنش تبلور در دمایی حدود ۵۰ ۹۲۵ به پایان میرسد.

یکی از مراحلی که در مکانیزم زیست فعالی شیشه های زیست فعال باید مورد توجه واقع شود، ایجاد گروههای Si-OH سطحی است که در واقع مکانهای جوانهزنی آپاتیت به شمار می روند [۲۵]. همچنین شیشه های ستزشده به روش سل- ژل به طور ذاتی حاوی گروههای هیدروکسیل در شبکه شان هستند [۴]. از طرفی با افزایش دمای پایدارسازی، میزان سطح ویژه (سطح واحد جرم) و میزان گروههای هیدروکسیل هر دو کاهش می یابند [۲۶, ۲۷]. لازم به ذکر است که اندازه گیری گروههای هیدروکسیل ساختاری در مراجع آورده شده با روش MAS NMR انجام شده است. با توجه به نمودار تحلیل حرارتی شیشه، در دمای ⁹ ۵۰۰ تمامی نیتراتها از شبکه شیشه خارج شده اند 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

اول مکانیزم زیستفعالی (نرخ انحلال) کاملاً اثرگذار است (با افزایش اندازه ذرات زیستفعالی کم می شود)، برای اطمینان از اینکه توزیع اندازه ذرات پودرها پس از الک کردن (μμ 4³>) در یک محدوده است، تحلیل اندازه ذرات برای هر دو پودر انجام شد که هیستوگرامهای مربوطه در شکلهای (۲) و (۳) دیده می شود که در آنها متوسط اندازه ذرات برای شیشه ۱۳/۳۴ میکرون و برای هیدروکسی آپاتیت ۲/۳۹ میکرون است.

بررسی استحکام فشاری نمونههای کامپوزیتی پس از تفجوشی

در شکل (۴) نمودار استحکام فشاری نمونههای کامپوزیتی پس از تفجوشی در دمای ۲° ۱۱۰۰ به مدت ۱ ساعت آورده شده است. مقادیر انرژی شکست نیز از محاسبه سطح زیر نمودار بار- جابه جایی محاسبه و در جدول (۲) آورده شده است. استحکام فشاری اندازه گیری شده برای نمونههای کنترل هیدروکسی آپاتیت و شیشه زیستفعال سنتزشده به ترتیب برابر شیشه زیستفعال به هیدروکسی آپاتیت، استحکام به علت قانون مخلوطها^۹ کاهش مییابد. در ضمن میزان پایین شیشه





شکل ۴– نتایج آزمون استحکام فشاری نمونههای کامپوزیتی پس از یک ساعت تفجوشی در دمای C° ۱۱۰۰.

مقدار فاز شیشهای (درصد وزنی)	انرژی شکست (کیلو ژول بر متر مربع)	
۵	۰/۰۱۵۱۲±۰/۷۵۶	
١٠	•/•\¥۶± •/٩٢	
10	•/•Y9•¥± •/9۶1	
۲.	•/• ¥۵± Y/•	
۵۲	۰/۱۲۶ ± ۱/۶۸	
٣٠	•/•\\± •/۴۴	

جدول ۲- مقادیر انرژی شکست نمونههای کامپوزیتی پس از تفجوشی.



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 با م مکل (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- جابهجایی محاسبه و در جدول (۳) آورده شده است.

همان طور که در شکل (۵) دیده می شود، با قراردادن نمون در محلول SBF از استحکام آن کاسته می شود. دلیل این کاهش استحکام به وجود بتا-تری کلسیم فسفات در نمونه بازمی گردد. این فاز که در اثر تجزیه هیدروکسی آپاتیت در دماهای بالاتر از ک⁰ ۵۰۰ تشکیل می شود، در محیطهای بیولوژیک نظیر پلاسمای خون و یا محلول SBF ناپایدار بوده و با گذشت زمان به مرور تخریب می شود. از این رو دلیل افت استحکام کامپوزیت پس از قرارگیری در محلول SBF را می توان حضور و تخریب این فاز دانست [۳۱]. همچنین لازم به ذکر است که شیشه زیست فعال سنتزشده نیز دچار تخریب در SBF می شود (نتایج ICP که میزان یون سیلیسیم در SBF را نشان می دهد، بیانگر این حقیقت (تا ۱۵ درصد) سبب می شود که تف جوشی توسط مکانیزم سیلان ناروان به خوبی صورت نگیرد و ذرات را به خوبی به هم اتصال ندهد؛ اما از این میزان فاز شیشه بالاتر (تا ۲۰ درصد وزنی) استحکام کامپوزیت نسبت به نمونه های کنترل افزایش چشمگیری دارد که دلیل آن را می توان غالب شدن مکانیزم سیلان ناروان دانست. در واقع شیشه ذوب شده و مانند چسبی تمامی اجزای کامپوزیت را به هم می چسباند و در منطقه شیشه پس از ۲۰ درصد، شیشه بیشتر قسمتهای کامپوزیت را در بر می گیرد و از آنجا که استحکام شیشه کمتر از هیدروکسی آپاتیت است، استحکام کامپوزیت کاهش می یابد. میزان ۲۰ درصد وزنی، میزان بهینه برای شیشه زیست فعال به عنوان فاز دوم است که بیشترین استحکام را سبب می شود [۲۸].

استحکام فشاری به دست آمده بـرای نمونـه بهینـه در ایـن پژوهش، در مقایسه با نتایجی کـه سـافینا و همکـاران [۲۹] بـه دست آوردهاند، بالاتر بوده است. همچنین انرژی شکست نمونه بهینه بسیار بالاتر از مقـادیر انـرژی شکـستی اسـت کـه توسـط نظافتی و همکاران [۳۰] در پژوهشی دیگر به دست آوردهاند.

انرژی شکست (کیلو ژول بر متر مربع)		
•/\\±Y/•		
۰/۰۰۰۰۸۸ ± ۰/۰۰۰		
۲∘۹°۸ ± °/۵۹°۲		
1/708 ± 0/09.47		

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



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

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

بررسی طیف فروسرخ نمونه کامپوزیتی بهینه قبـل 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 ^۱ استفاده شد. به منظور بررسی و مشاهده آسانتر

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 می شود. مشخصات باندهای 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 خمشی و کششی پیوند فسفر 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

نوع باند جذب كننده	فرکانس فروسرخ (^۱ -cm)	
P-O bend	۶۱۳ و ۵۵۹	
P-O stretch	۱۰۴۰ و ۱۰۹۳	
Si-O (2NBO)	१९०	
Si-O-Si bend	۴۸۴	
C-O stretch	904	

جدول ۴– فرکانس اشعه فروسرخ و نوع باندهای جذبکننده برای هیدروکسی آپاتیت و شیشه [۳۳ و ۳۳].



شکل ۷– الگوی پراش پرتو ایکس نمونه بهینه قبل و بعد از SBF.

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

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

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

ب کم ک کارته ای استاندارد JCPDS 09-0169 JCPDS و JCPDS 09-0432 و JCPDS 29-0369 مشخص می شود که قلههای مربوط به هیدروکسی آپاتیت در حوالی ۲۶ و ۳۲ و ۵۳ درجه دیده می شوند. همچنین پیک بتا-تری کلسیم فسفات نیز در اطراف ۳۴ درجه مشاهده می شوند. دو قله نزدیک به هم در

حوالی ۳۲ درجه نیـز دیـده مـیشـوند کـه مربـوط بـه کلـسیم سیلیکاتاند.

فازهای هیدروکسی آپاتیت و بتا-تریکلسیم فسفات هم قبل از قرارگیری نمونه بهینه در محلول SBF و هم پس از قرارگیری آن در SBF دیده میشوند. فاز بتا-تریکلسیم فسفات که در ساختار نمونه کامپوزیتی دیده میشود، در اثر حرارتدهی نمونهها در دمای ۲۵ ۱۱۰۰ تشکیل شده است زیرا در دماهای بالاتر از ۲۵ ۵۰۰ نمونهها شروع به تجزیه شدن میکنند و به بتا-تریکلسیم فسفات تبدیل میشوند که این فاز در محیطهای بیولوژیک نیمهپایدار و تخریب پذیر است.

برای تعیین نوع فازهای ایجاد شده در کامپوزیت ضمن حرارتدهی، ابتدا حضور فازهای تعادلی ممکن با استفاده از نرمافزار ترمودینامیکی ®FactSage در دمای ℃ ۱۱۰۰ پیشبینی شد و سپس با استفاده از تحلیل ترمودینامیکی انجام شده، از نرمافزار X'pert HighScore به منظور شناسایی فازهای ایجاد شده استفاده شد. نکته مهم این بود که الگوی پراش فاز تعادلی عمده پیشبینی شده در نرمافزار [®]FactSage (ولاستونیت) در نمونهها مشاهده نشد. لذا این احتمال داده شد که پودرهای سنتزشده هنوز از نقطه تعادل ترموديناميكي فاصله دارنـد و فـاز بلورین ایجاد شده احتمالاً فازی شبه پایدار بوده کـه در مـسیر استحاله شیشه به شیشه- سرامیک ایجاد شده است زیرا به شیشه فرصت کافی برای جوانهزنی داده نـ شده و فاز تعادلی مورد انتظار تشکیل نیافته است. استفاده مجدد از نرمافزار X'pert HighScore مبين اين موضوع بود كه الكوى پراش فاز 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 ۳ روز از شدت پیک مربوط

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 فیزیکو شیمیایی آن تغییر می کند. همچنین منیزیم از رشد صفحه (۰۰۰) جلو گیری 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 میکند و غلظت یونها تغییر میکند. نتایج این آزمون در شکلهای (۸) الی (۱۱) دیده میشود.

سیلیسیم از ابتدا در محلول SBF وجود ندارد و پس از قرارگیری نمونه در SBF رهایش مییابد و لذا این سیلیسیم آزادشده در محلول SBF تنها میتواند ناشی از حل شدن سیلیسیم موجود در شیشه زیست فعال باشد. به همین دلیل غلظت آن در SBF میتواند معیار مناسبی در مطالعه رفتار نخریب 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 استاده از درونیابی منحنی شکل (۸) در حدود mp ۵ است. در مطالعات کشت سلولی، میزان رهایش یون سیلیسیم از پودر ترکیب تجاری یبوگلاس (4555) که یک روز در محیط



کشت DMEM قرار گرفته بود، حاکی از میزان رهایش ppm ۵/۳±۵/۹ سیلیسیم بوده است [۳۵]. با توجه به اینکه ترکیب فوقالذکر، مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) برای کاربردهای کلینیکی است، میتوان نتیجه گرفت که نمونه مورد آزمایش در این پژوهش قطعاً موجب ایجاد سمیت برای سلولهای استئوبلاست نخواهد شد. البته در مورد هر مادهای که برای کاربردهای پزشکی طراحی و ساخته میشود، انجام آزمونهای مدل حیوانی و کشت سلولی سبب ایجاد اطمینان نسبت به زیستسازگاری آن ماده و جلوگیری از

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

چندان چشمگیر نیست. غلظت این یون پس از گذشت ۱۴ روز باز هم زیاد می شود ولی این غلظت تف اوت چندانی با ۷ روز ندارد. این نکته قابل ذکر است که غلظت یون ²⁺Ca از یک طرف با میزان رهایش آن از نمونه کامپوزیتی کنترل می شود و از پس از گذشت ۷ روز آهنگ افزایش غلظت یون ²⁺Ca کاهش می یابد که دلیل آن می تواند افزایش رشد سریع هستههای آپاتیت بر سطح نمونه کامپوزیتی بهینه باشد. در واقع از میزان این یون کاسته می شود ولی این کاهش یون، از طریق آزادشدن که در ساختار نمونه هیدروکسی آپاتیت وجود دارد که حاوی مقادیر قابل توجهی از کلسیم است. پس از گذشت ۱۴ روز این



شکل ۱۲– نمونه کامپوزیتی بهینه قبل از SBF.

روند شدت کمتری مییابد 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 مییابد که این روند تا روز هفتم ادامه مییابد. پس از روز هفتم میزان فسفر افزایش مییابد. این پدیده به این امر بازمی گردد که در روزهای ابتدایی قرارگیری نمونه در محلول SBF، فسفر برای تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر سطوح جانبی مصرف می شود که این روند به خوبی از نمودار پیداست. پس از روز هفتم، نمونه کامپوزیتی بهینه به دلیل وجود بتا-تری کلسیم فسفات در ساختار خود شروع به تخریب شدن کرده و از خود یون آزاد می کند. به بهینه، میزان این عناصر در محلول SBF شروع به افزایش میکند که این روند برای کلسیم نیز قابل مشاهده است.

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

با توجه به دادههای ICP ایـن پـژوهش کـه در آنهـا میـزان عنصر روی از حد شناسـایی دسـتگاه (۰/۲ ppm) پـایینتر بـوده



شکل ۱۳– نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۳ روز 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 می شوند.

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 می شود که در هر سه تصویر ۱۳ تا ۱۵ این ذرات هیدروکسی آپاتیت دیده می شوند. میزان این ذرات تا ۷ روز روی سطح زیاد می شود ولی پس از ۱۴ روز از میزان آنها کاسته می شود 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



شکل ۱۴– نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۷ روز SBF.

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

۴- نتیجه گیری

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



شکل ۱۵– نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۱۴ روز SBF.

شبیهسازی شده بدن (SBF) با گذشت زمان غوطهوری، به علت ایجاد بتا-تریکلسیم فسفات است که در محیط بیولوژیک فازی ناپایدار است. با توجه به نتایج حاصل از الگوهای پراش اشعه ایکس، مشاهده می شود که فاز بتا-تری کلسیم فسفات در ساختار موجود است، که در اثر حرارتدهی نمونهها در دمای ℃ ۱۱۰۰ تشکیل شده است. بررسی نتایج اَزمون رهایش یـون (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، می توان از زیستفعالی کامپوزیت در محیط برون تنبی اطمینان یافت. همچنین میزان رهایش یونهای منیزیم و روی بسیار اندک بوده که با مقایسه با دادههای پژوهشهای دیگر در مورد ایـن عناصـر نيز مي توان از عدم ايجاد سميت سلولي احتمالي يقين پيدا كرد. با توجه به نتایج این پژوهش، این کامپوزیت شرایط اولیه بـرای کاربرد به عنوان پرکننده استخوان اسفنجی را دارد.

واژەنامە

- 1. laser particle size analysis
- 2. bone matrix
- 3. bone remodeling
- 4. alkaline phosphatase activity
- 5. in vitro
- 6. osteoblasts
- 7. osteoconduction
- 8. stepwise
- 9. rule of mixture

- 10. transmittance mode
- 11. super imposed
- 12. false positive/ negative

- 1. Hull, D., *An Introduction to Composite Materials*. 2nd ed., pp. 120-125, McGraw-Hill, New York, 1981.
- 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..
- 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.
- 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.
- Heymann, D., and Passuti N., "Bone Substitutes: New Concepts," *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, Vol. 9, pp. 179-184, 1999.
- 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.
- 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.
- Balamurugan, A., "Development and in vitro characterization of sol-gel derived CaO-P2O5-SiO2-ZnO bioglass," *Acta Biomaterialia*, Vol. 2, pp. 255-262, 2007.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Saravanapavan, P. and Hench L. L., "Mesoporous Calcium Silicate Glasses. I. Synthesis," *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol. 318, pp. 1-13, 2003.
- 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..
- 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., Safronova 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., Buttery, 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.
- Bohner, M. and Lemaitre J., "Can Bioactivity be Tested in Vitro with SBF Solution?" *Biomaterials*, Vol. 30, pp. 2175-217, 2009.
- 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.