METALLURGICAL ENGINEERING
The Journal of Iranian Metallurgical and Materials Engineering Society

Winter 2024, Volume 26, Nummber 4

Study on Thermal Stability and Biocompatibility of Nanofibrous Hybrid Polymer/Ceramic Nanoparticle Scaffolds

***Hamid Esfahani [1], Mahsa Darvishghanbar [2]**

1- Associate Prof. Department of materials engineering, Engineering faculty, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2- BS.c, Department of mechanical engineering, Engineering faculty, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Citation: Esfahani H, Darvishghanbar M. Study on Thermal Stability and Biocompatibility of Nanofibrous Hybrid Polymer/Ceramic Nanoparticle Scaffolds, Metallurgical Engineering, 2024: 26(4): 40-48 https://doi.org/10.22076/me.2024.2005752.1381

doi: https://doi.org/10.22076/me.2024.2005752.1381

ABSTRACT

Oxide ceramics are mostly bio-inert and need surface modification to increase bioactivity with the bone tissue. This study evaluates the synthesis of hybrid nanofibrous scaffolds of nylon6-hydroxyapatite on toughened alumina-zirconia implants. The Nanostructured-scaffold was created on the surface using electrospinning method. The results showed that the average fiber diameter size was 70-180 nm, the scaffold thickness was less than 500 nm, and open pores with an average size of 500 nm were formed. The thermal stability evaluation showed that the nano-scaffold had thermal stability up to 200 ℃, and the nylon6 polymer matrix practically evaporated at 300 ℃. Bioactivity was evaluated by immersion test in the simulated body fluid (SBF) over 21 days. The results confirmed the formation of a nanostructured bone-like apatite phase with the morphology of blade with a wall thickness of 34 ± 5 nm. The antibacterial activity test showed that the hybrid nanofibrous coating of nylon6-hydroxyapatite on the toughened alumina-zirconia improved the antibacterial activity by 10%. The development of such bioactive coatings paves new ways for the use of bio-inert materials in bone tissue engineering.

Keywords: Bone like apatite, Bioactive, Ceramic implants, Electrospinning, Nano-fiber.

Received: June 27, 2023 | Accepted: February 28, 2024

**Corresponding Author:*
Hamid Esfahani, PhD
Address: Department of materials engineering, Engineering faculty, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
Tel: +98 (81) 38381601
E-mail: h.esfahani@basu.ac.ir

بررسی پایداری گرمایی و رفتار زیستی داربست نانوالیاف هیبریدی پلیمر- نانوذرات سرامیک

*حمید اصفهانی[۱]، مهسا درویش قنبر[۲]

۱- دانشیار و عضو هیات علمی گروه مهندسی مواد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- کارشناس مهندسی مواد، گروه مهندسی مواد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

سرامیک‌های اکسیدی عمدتا رفتار زیست خنثی دارند و نیاز به اصلاح سطح به منظور افزایش زیست فعالیت با بافت استخوان هستند. این پژوهش به بررسی ایجاد داربست نانوالیاف هیبریدی از نایلون۶-هیدروکسی آپاتیت روی کاشتنی آلومینا-زیرکونیای چقرم شده می‌پردازد. نانوداربست به کمک روش الکتروریسی روی سطح ایجاد شد. نتایج نشان داد که میانگین قطر الیاف nm ۷۰-۱۸۰، ضخامت داربست کمتر از nm ۵۰۰ و تخلخل‌های باز با میانگین قطر nm ۵۰۰ ایجاد شدند. ارزیابی پایداری گرمایی نشان داد که نانوداربست تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد پایداری گرمایی دارد و از دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد عملا زمینه پلیمر نایلون ۶ تخریب می‌شود. زیست فعالی به کمک آزمون غوطه‌وری در محلول شبیه‌ساز بدن (SBF) پس از ۲۱ روز بررسی شد. نتایج تشکیل فاز آپاتیت نانوساختار شبه استخوان با ریخت‌شناسی تیغه‌ای شکل با ضخامت دیواره ۵ ± ۳۴ نانومتر را تایید کرد. آزمون فعالیت ضد باکتریایی نشان داد پوشش داربست نانوالیاف هیبریدی از نایلون۶-هیدروکسی آپاتیت روی کاشتنی آلومینا-زیرکونیای باعث بهبود ۱۰ درصد فعالیت ضد باکتریایی می‌شود. توسعه چنین پوشش‌های زیست‌پزشکی زیست فعال راه‌های جدیدی را برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان باز می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آپاتیت شبه استخوان، الکتروریسی، زیست فعال، نانوالیاف، کاشتنی سرامیکی.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۶ | پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۹

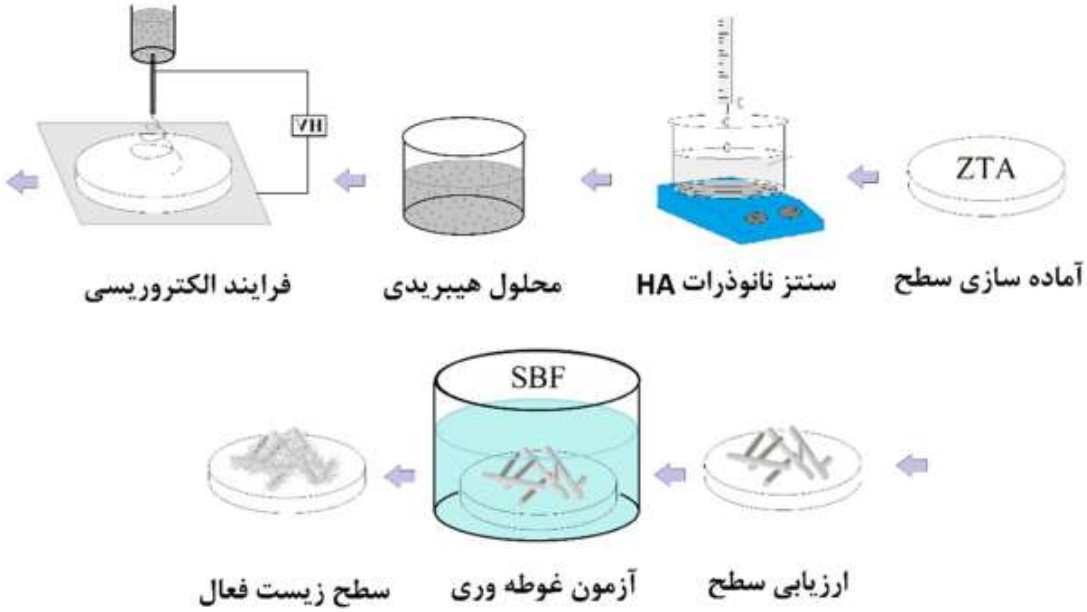
۱. مقدمه

امروزه شاهد رشد روزافزون مواد پیشرفته مهندسی در حوزه مواد زیستی برای پاسخگویی به نیاز بیماران در حوزه‌های تشخیص و درمان هستیم [۱]. یکی از چالش برانگیزترین حوزه های مهندسی زیست پزشکی، توسعه مواد و دستگاه های جدید برای کاربرد به عنوان مهندسی بافت استخوان و کاشتنی‌های ارتوپدی است. برای مثال، بیومواد مورد استفاده برای کاربردهای کاشتنی تحت نیرو، باید خواص مکانیکی بالا، مقاومت در برابر خوردگی عالی و زیست سازگاری طولانی مدت مطلوب داشته باشند [۲]. اکثر مواد سرامیکی یا پلیمری تک جزئی معمولی نمی‌توانند چنین الزامات حیاتی را به طور خاص برای کاربردهایی مانند جایگزین استخوان برآورده کنند. از این رو، دیگر گزینه‌های زیست‌مواد عامل‌دار پیشرفته باید برای رفع این نیاز توسعه داده شوند [۳].

حضور یک داربست[1] زیست فعال و همچنین ظرفیت پذیرش سلول‌های بافت احاطه‌کننده از الزامات کلیدی برای پیوند استخوان مصنوعی است [۴]. سرامیک‌های نانوکامپوزیت آلومینا (Al_2O_3) و زیرکونیا (ZrO_2) به دلیل مقاومت در برابر سایش بالا، الاستیسیته بالا و چقرمگی عالی، پتانسیل استفاده به عنوان کاشتنی تحت بار را دارند. در میان انواع مختلفی از کامپوزیت‌های آلومینا-زیرکونیا، آلومینا چقرم شده به کمک زیرکونیا (ZTA)، عملکرد مکانیکی بهتری به دلیل انسداد نوک ترک در اثر استحاله مارتنزیتی تتراگونال به مونوکلینیک زیرکونیا نسبت به سایر ترکیبات این خانواده دارد. [۶،۵]. اگرچه

1 - Scaffold

* نویسنده مسئول:
دکتر حمید اصفهانی
نشانی: دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
تلفن: ۳۸۳۸۱۶۰۱ (۸۱) ۹۸+
پست الکترونیکی: h.esfahani@basu.ac.ir



شکل۱: مراحل آماده سازی زیرلایه و ایجاد داربست نانوالیاف به کمک روش الکتروریسی.

ZTA می‌تواند یک داربست حمایتی برای استخوان فراهم کند، اما هر دو آلومینا و زیرکونیا از نظر زیست شیمیایی مواد زیست خنثی هستند، بنابراین هیچ اثر نامطلوب یا واکنش‌های عمومی با بافت احاطه کننده ندارند و در فرآیند تشکیل استخوان جدید کمکی نمی‌کنند [۸،۷].

اگرچه فعالیت‌های پژوهشی برای بکارگیری هیدروکسی آپاتیت (HA) از سال‌های دور آغاز شده است، اما مرور نتایج پژوهش‌های اخیر نشان داده است که پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت می‌تواند شرایط مطلوبی را برای بازسازی بافت استخوان ایجاد کند، چراکه هیدروکسی آپاتیت قابلیت تقلید از شیمی استخوان طبیعی نانوساختار را دارد [۱۰،۹]. روش‌های گوناگونی مانند سل-ژل [۱۱]، رسوب الکتروفورتیک [۱۲]، کندوپاش مگنترون [۱۳]، رسوب‌گذاری با پرتو الکترونی [۱۴] تشکیل زیست مقلد [۱۵] و پاشش پلاسما ازجمله روش‌های فناورینانو برای ایجاد هیدروکسی آپاتیت یکپارچه روی سطوح هستند. با ایجاد پوشش هیبرید پلیمر- هیدروکسی آپاتیت روی کاشتنی‌های استخوانی، امکان ایجاد ساختاری پایدار برای تشکیل بافت همبند فراهم خواهد شد، چراکه پلیمرها با آهنگ زیست‌تخریب‌پذیری مطلوب از یک سو و هیدروکسی آپاتیت با رفتار زیست‌فعالی بسیار خوب از سوی دیگر باعث می‌شوند تا فرایند ترمیم بافت استخوانی به کمک زوج زیستی تخریب‌پذیر-فعال تسریع شود [۱۶]. نیاز به پوشش با تخلخل بالا، فازهای کلسیمی پایدار از نظر گرمایی، توزیع همگن پلیمر- هیدروکسی آپاتیت و همچنین ملاحظات مالی در تولید پوشش، باعث شده‌اند تا پژوهش‌های متعددی در سال‌های اخیر به دنبال راه‌حلی برای غلبه بر برخی از محدودیت‌های این روش‌ها انجام شوند. [۱۷].

روش الکتروریسی[۲] یک روش ساده اما کارامد برای ترکیب نانوذرات سرامیکی با یک پلیمر با رفتار مکانیکی قوی برای ساخت داربست‌های نانوالیافی در کاربردهای مهندسی بافت استخوان است [۱۷]. داربستهای نانوالیاف الکتروریسی شده به دلیل نسبت سطح به حجم زیاد و همچنین قابلیت گنجاندن عوامل بیولوژیکی برای بازسازی عملکردهای بافت بسیار مورد توجه قرار گرفته اند [۱۹،۱۸].

این پژوهش به ارزیابی روش الکتروریسی به عنوان یک روش پوشش‌دهی زیست مقلد روی زیرلایه سرامیکی زیست خنثی آلومینا-زیرکونیا می‌پردازد. ابتدا نانوذرات هیدروکسی آپاتیت از طریق روش رسوب شیمیایی تر سنتز شدند و سپس در فرایند الکتروریسی برای تهیه نانوالیاف هیبریدی با پلیمر، از نایلون ۶ استفاده شد. نایلون ۶ قابلیت بسیار زیادی در فرایندهای جذب پروتئین و رشد بافت استخوانی نشان داده است. علاوه بر این به دلیل پایداری شیمیایی و خواص مکانیکی بالا مورد توجه پژوهشگران برای استفاده در مهندسی بافت به صورت داربست‌های فرایند الکتروریسی قرار گرفته است [۲۱،۲۰]. در این مطالعه به منظور دستیابی به یک پوشش با ریخت‌شناسی مناسب، پایداری گرمایی داربست هیبریدی نایلون ۶-نانوذرات هیدروکسی آپاتیت بررسی شده است. برای این منظور فرایند عملیات حرارتی در خارج از بدن انسان و در مرحله سنتز بیومواده طراحی شد. با بررسی نتایج این آزمون و انتخاب ریخت‌شناسی مناسب، پوشش بهینه انتخاب شده است. در نهایت قابلیت زیست فعالی داربست هیبردی به کمک آزمون غوطه‌وری در محلول شبیه ساز بدن (SBF) و رفتار ضد باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

2 - Electrospinning

جدول۱: کدگذاری نمونه‌ها و شرایط الکتروریسی و عملیات حرارتی

کد نمونه	شرایط الکتروریسی	شرایط عملیات حرارتی
ZTA	-	-
ZTA-HF-25	20 kV, 15 cm, 0.2 mL/h	-
ZTA-HF-100	20 kV, 15 cm, 0.2 mL/h	100 ºC-1h
ZTA-HF-200	20 kV, 15 cm, 0.2 mL/h	200 ºC-1h
ZTA-HF-300	20 kV, 15 cm, 0.2 mL/h	300 ºC-1h

۲. مواد و روش تحقیق

ایجاد داربست نانوالیاف

نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا چقرم شده (حاوی ۱۵ درصد مولی زیرکونیا) به روش اختلاط پودر و تف جوشی در دمای ۱۶۵۰ درجه سانتی‌گراد مطابق دستور العمل اشاره شده در پژوهش مرجع [۲۲] تهیه شد. قطر و ضخامت دیسک‌های تهیه شده نانوکامپوزیت آلومینا- زیرکونیا به ترتیب برابر ۱۰ mm و ۲ mm بود. مراحل مختلف و متوالی ایجاد داربست نانوالیاف روی کاشتنی سرامیک آلومینا-زیرکونیا در شکل-۱ نشان داده شده است. پیش از اجرای فرایند الکتروریسی، سطح کاشتنی آماده شد. این مرحله شامل شستشو با آب و صابون و استون بود. نانوذرات هیدروکسی آپاتیت که نقش ایجاد مواضع زیست فعال در داربست نانوالیاف را بر عهده دارند، به روش رسوب شیمیایی تر سنتز شدند. محلول هیبریدی با اختلاط و هم زدن نایلون ۶ و نانوذرات هیدروکسی آپاتیت (نسبت ۱/۱۶ درصد وزنی زدن نایلون ۶ به نانوذرات هیدروکسی آپاتیت) در ۱ میلی‌لیتر حلال اسیدفرمیک انجام شد. تهیه شده و در فرایند الکتروریسی مصرف شد. فرایند الکتروریسی در ولتاژ اعمالی ۲۰ kV، فاصله نوک سوزن تا صفحه برابر ۱۵ cm و نرخ تغذیه محلول ۰/۲ ml/h انجام شد.
به منظور بررسی پایداری حرارتی داربست نانوالیاف سنتز شده، نمونه‌های آماده شده به روش فوق، در دمای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد در کوره با اتمسفر هوا به مدت ۱ ساعت نگهداری شدند. در نهایت نمونه‌های تهیه شده طبق جدول-۱ کد گذاری شدند.

آزمون زیست سازگاری غوطه‌وری در محلول شبیه ساز بدن (SBF)

آزمون غوطه‌وری در محلول شبیه‌ساز بدن (SBF) طبق دستورالعمل ارائه شده توسط کوکوبو [۲۳] انجام شد. این آزمون شامل غوطه‌وری نمونه در محلول فوق اشباع از یون‌های مشابه پلاسمای خون است. به‌طور خلاصه برای ساخت SBF مقادیر مشخص از عامل‌هایی نظیر NaCl، $NaHCO_3$، KCl، K_2HPO_4، $MgCl_2$، $CaCl_2$، CNH_2، $(CH_2OH)_3$ در آب دی‌یونیزه حل شدند. برای تنظیم pH در ۷/۴ در دمای ۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد از $Tris(C_4H_{11}NO_3)$ و HCl استفاده شد. غوطه‌وری نمونه به مدت ۲۱ روز، در ظرف پلاستیکی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

آزمون ضد باکتریایی

آزمون فعالیت ضد باکتریایی مطابق استاندارد ASTM G21-1996 در محلول حاوی *E. coli* (ATCC 25922) و *S. aureus* (ATCC 25923) به ترتیب به عنوان باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت انجام شد. پیش از آزمون، نمونه‌ها استریل و سپس در لوله‌های استریل حاوی ۰/۱ لیتر از هر باکتری قرار داده شدند. غلظت باکتری برابر 1×10^6 $cfu.mL^{-1}$ تنظیم شد و سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند. سپس به هر لوله ۱ میلی‌لیتر پپتون آب (۰/۱ درصد) حاوی ۹ گرم در لیتر نمک طعام اضافه و ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول‌های مذکور به محیط کشت[۳] (LB) آگار منتقل شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند تا فعالیت ضد باکتریایی آنها بررسی شود.

مشخصه‌یابی

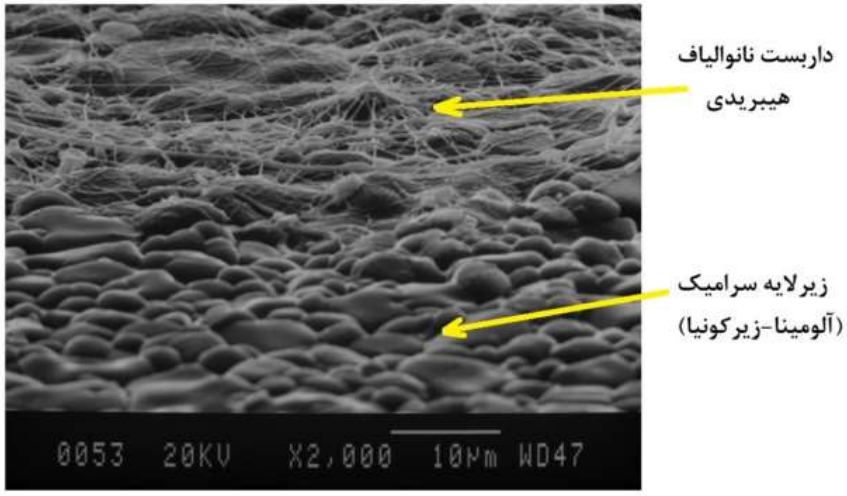
ریخت‌شناسی سطح نانوالیاف با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل JSM-840A JEOL (ژاپن) انجام شد. آنالیز حرارتی هم زمان (STA) به منظور بررسی محدوده پایداری داربست نانوالیاف هیبریدی انجام به کمک دستگاه مدل STA 1460 (چین) انجام شد. به کمک نرم‌افزار ImageJ مدل 1.38X, NIH (امریکا) قطر الیاف محاسبه شد. برای بررسی ریخت‌شناسی رسوبات آزمون غوطه‌وری در محلول شبیه‌ساز بدن (SBF) از میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیل (FESEM) مدل Tscan مجهز به آشکارساز EDS (چک) استفاده شد. همچنین برای تعیین فاز رسوبات آزمون غوطه‌وری در (SBF) از دستگاه پراش سنج پرتو ایکس در زاویه ۱ درجه (GIXRD) مدل Philips در(kα Cu, λ =0.154 nm) (هلند) استفاده شد.

3 - Luriae Bertani

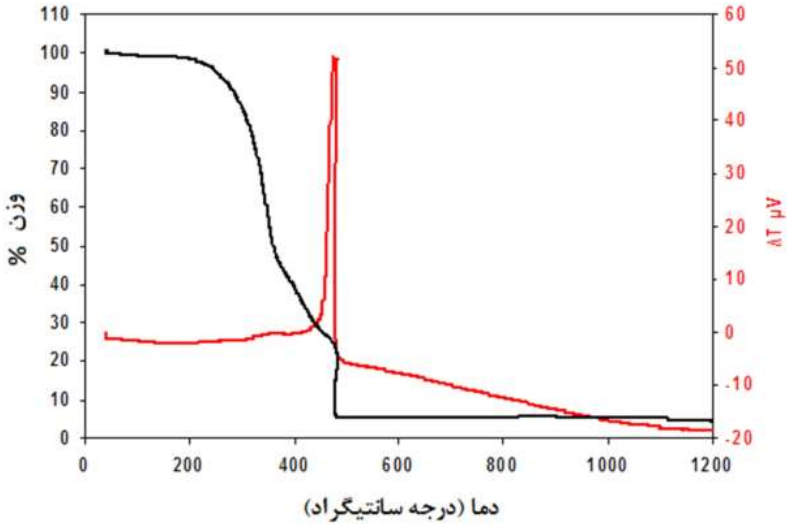
۳. نتایج و بحث

عمده واکنش‌های زیست-شیمی در سطح ماده کاشتنی رخ می‌دهد. از این رو اصلاح سطح به کمک روش کارآمد ضروری است. همانطور که پیشتر بیان شد، روش الکتروریسی روشی موثر برای ایجاد نانوالیاف کامپوزیتی است. برای این منظور از پلیمر نایلون ۶ و نانو ذرات سرامیکی هیدروکسی آپاتیت برای ایجاد نانوالیاف هیبریدی طبق دستورالعمل شرح داده شده، استفاده شد. سنتز نانوذرات به روش رسوب شیمیایی تر منجر به تولید نانو ذرات چند گونه‌ای، با میانگین اندازه ذرات ۲۰ تا ۴۰ نانومتر شد. تصویر ریزساختار SEM از داربست نانوالیافی ایجاد شده روی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا در شکل ۲ نشان داده شده است. در این شکل تصویربرداری به نحوی انجام شده است که بخشی از سطح (جلوی تصویر) بدون پوشش است تا تفاوت ساختاری مشاهده شود. با توجه به اینکه نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا عایق الکتریکی است، فرایند الکتروریسی منجر به ایجاد یک داربست با ضخامت کمتر ۵۰۰ nm می‌شود. نانوالیاف با میانگین قطر ۷۰-۱۸۰ nm از یکسو و تخلخل‌های باز با قطر در مقیاس نانو تا میکرومتر محله‌ای مناسبی برای رشد و تکثیر سلول‌های استخوان ساز فراهم می‌کند.

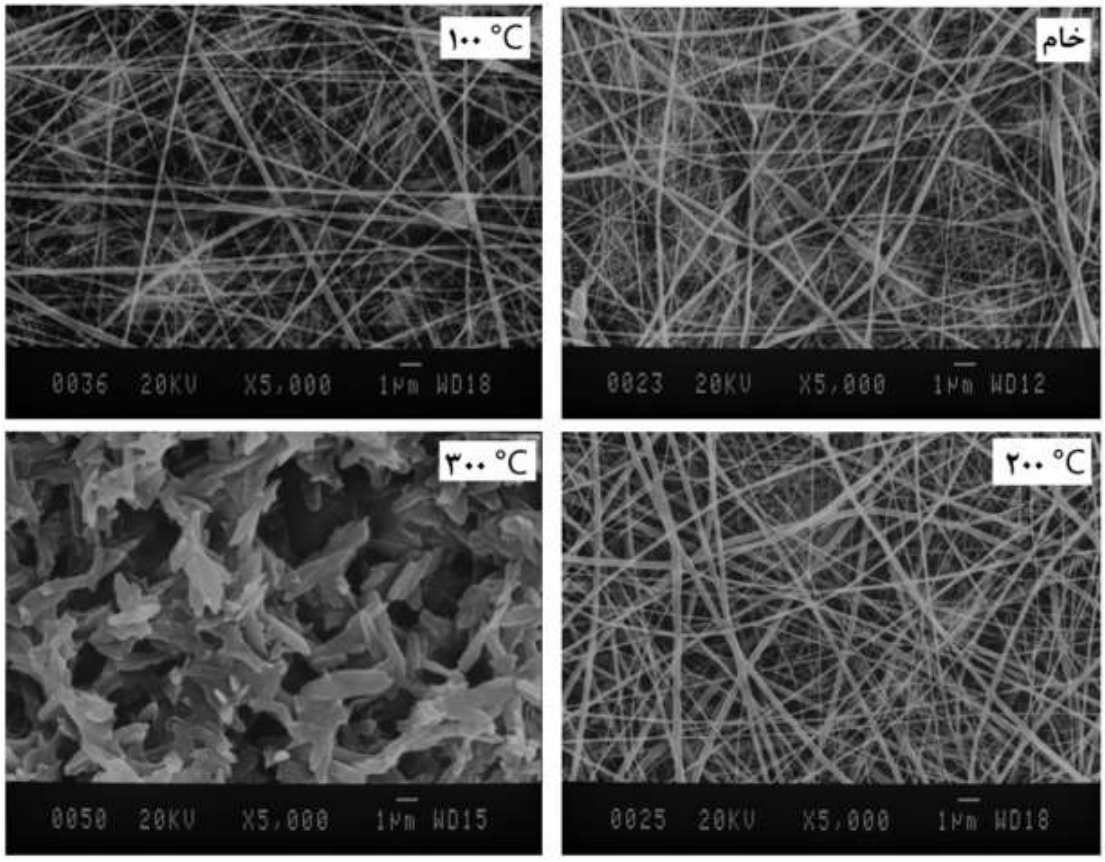
یکی از شرایط مهم برای اصلاح سطحی به کمک فرایندهای فیزیکی بررسی پایداری شیمیایی، مکانیکی و گرمایی پوشش است. برای بررسی پایداری گرمایی، داربست نانوالیافی پس از سنتز مورد آزمون حرارتی در بازه ۰ تا ۱۲۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. تغییرات وزن داربست و دمای محفظه آزمایش در نمودار شکل- ۳ رسم شده است. نتایج نشان می‌دهد که با عبور از دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، کاهش وزن داربست به طور محسوس آغاز و در دمای حدود ۴۳۰ درجه سانتی‌گراد به اتمام می‌رسد. این کاهش وزن به حذف ساختار نایلون ۶ از داربست نانوالیافی مربوط است. همانطور که ملاحظه می‌شود این تغییر با پیک گرمازا همراه است که بیانگر سوختن پلیمر نایلون ۶ است. شایان ذکر است که نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت در این محدوده دمایی تغییرات ساختاری و فازی ندارد.



شکل۲: تصویر ریزساختار SEM از داربست نانوالیافی ایجاد شده روی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا.



شکل۳: نتیجه تغییرات وزن داربست نانوالیافی نایلون۶-هیدروکسی آپاتیت و دمای محفظه آزمایش در آزمون STA.



شکل۴: تصاویر SEM از ریز ساختار داربست نانوالیافی نایلون۶-هیدروکسی آپاتیت در شرایط عملیات حرارتی مختلف.

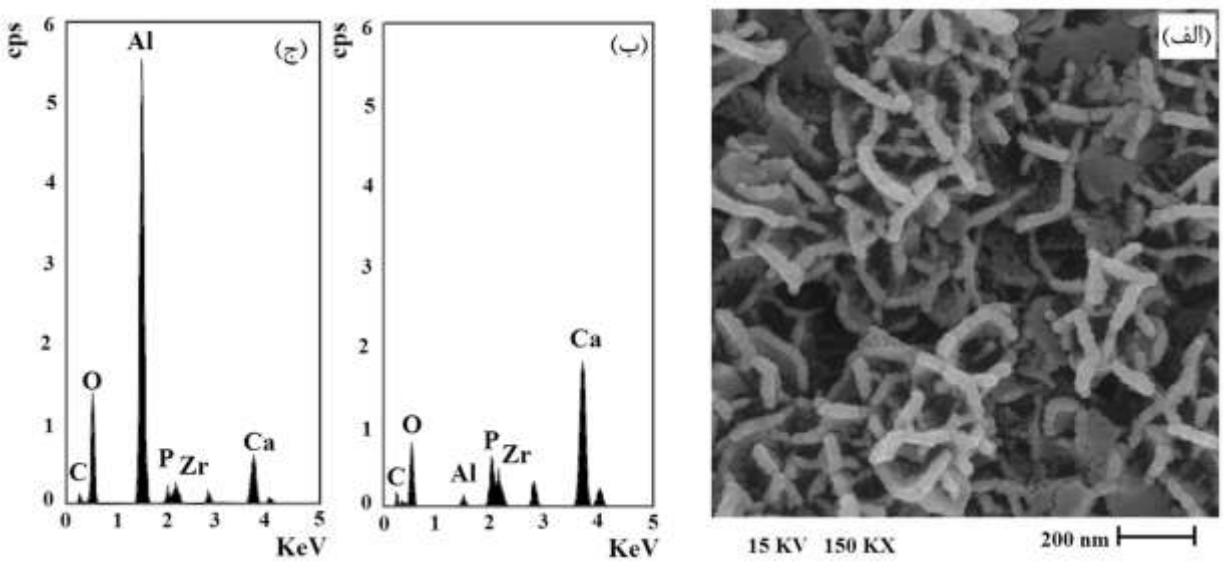
برای بررسی تغییرات ریزساختار داربست روی زیرلایه نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا، نمونه‌های اصلاح سطح شده در سه دمای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد عملیات حرارتی شدند. تصاویر SEM از ریز ساختار داربست در شرایط عملیات حرارتی مطابق جدول ۱ در شکل ۴ نشان داده شده‌اند. همانطور که ملاحظه می‌شود، داربست خام (بدون عملیات حرارتی) تا دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد دچار دست‌خوش تغییرات جدی ریز ساختار نمی‌شود. تصویر ریخت‌شناسی از داربست عملیات حرارتی شده در دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تغییرات جدی را نشان می‌دهد. همانطور که آزمون گرمایی نشان داد، در این دما حذف ساختار نایلون ۶ از داربست انجام می‌شود. بنابراین با تخریب الیاف و سوختن پلیمر، ریزساختاری متفاوت ایجاد شده است. پس می‌توان گفت که محدوده پایداری گرمایی داربست نانوالیاف نایلون ۶-هیدروکسی آپاتیت دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد است.

برای بررسی اثر داربست نانوالیاف نایلون۶-هیدروکسی آپاتیت بر تعییر سطح زیست خنثی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا به سطح زیست فعال آزمون غوطه‌وری در محلول SBF انجام شد. برخی از مطالعات اخیر نشان داده‌اند که سطوح ناهموار-مانند داربست ایجاد شده در این پژوهش- می‌توانند زیست فعالی کاشتنی‌های استخوانی را بهبود بخشند و تأثیر مثبتی بر بازسازی استخوان داشته باشند [۲۴]. برای درک ماهیت رسوبات از SBF پس از سه هفته غوطه‌وری روی نمونه‌ها، تصاویر به کمک FESEM و طیف‌سنجی EDS تهیه شدند. تصاویر ریز ساختاری به کمک FESEM از سطح داربست نانوالیاف پوشش‌دهی شده روی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا (ZTA-HF-25)، رسوب عمودی نانوصفحه‌ها را بر روی سطح را تایید می‌کند (شکل- ۵-الف). محاسبات نشان داد که میانگین ضخامت و عرض نانوصفحات به ترتیب ۵ ± ۳۴ و ۱۵ ± ۱۷۹ نانومتر است. کوکوبو و همکاران [۲۳] تشکیل پلاکت‌های آپاتیت در مقیاس میکرو را روی شیشه سرامیک پس از غوطه‌وری در SBF نشان داده بود، در حالی که یافته‌های ما تشکیل آپاتیت نانوساختاری را روی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا نشان می‌دهد. الگوی نانویی که روی سطح نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا با روش الکتروریسی تشکیل می‌شود، تمایل به تقلید آپاتیت استخوانی از محل‌های هسته‌زایی نانوساختار دارد. همچنین، بافت استخوانی دارای اجزای زمینه خارجی سلول به صورت نانوساختار است [۲۵]. طیف EDS از دو نقطه متمایز از نمونه پس از ۲۱ روز غوطه‌وری در SBF در شکل-۵-ب و ج نشان داده شده است. وجود قله‌های Al و Zr در سطح به زیرلایه آلومینا-زیرکونیا

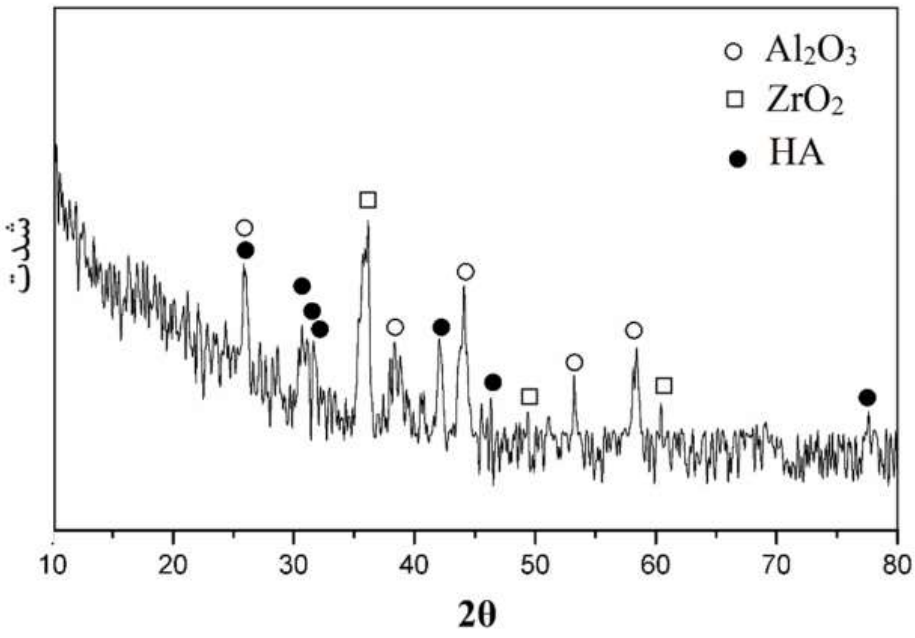
نسبت داده می‌شود. لازم به ذکر است که شدت‌های مختلف برای پیک‌های شناسایی شده ممکن است به دلیل مکان متفاوت نقاط تجزیه و تحلیل شده با توجه به دانه‌های آلومینا یا زیرکونیا باشد. با وجود زیرلایه آلومینا-زیرکونیا، کلسیم، فسفر و اکسیژن در هر دو طیف EDS شناسایی شدند که به معنای لایه غنی از کلسیم فسفات از رسوبات از محلول SBF است. علاوه بر این، یک پیک با شدت کم کربن متعلق به ماهیت پلی‌آمید نانوالیاف است که بین زیرلایه آلومینا-زیرکونیا و رسوبات آپاتیت استخوانی قرار گرفته است.

آزمون فازشناسی به کمک روش GIXRD برای شناسایی بیشتر رسوب انجام شد. الگوی GIXRD در شکل ۶ حضور هیدروکسی آپاتیت را در فیلم رسوب داده شده نشان می‌دهد. صفحات اصلی شناسایی شده از فاز هیدروکسی آپاتیت، تشکیل هیدروکسی آپاتیت پس از غوطه‌وری نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا پوشش‌دهی شده با داربست نانوالیاف (ZTA-HF-25) به مدت ۲۱ روز در SBF را تائید می‌کنند. علاوه بر این، پیک‌های مشخصه مربوط به فازهای آلومینا و زیرکونیا نیز در الگوی GIXRD مشاهده شد. با توجه به نتایج، می‌توان بیان کرد که روش الکتروریسی می‌تواند سطح خنثی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا را با ایجاد یک بافت مناسبی آپاتیت شبه استخوانی که باعث بازسازی استخوان می‌شود، اصلاح کند. از جنبه‌های امیدوارکننده داربست‌های نانوالیاف، می‌توان به توسعه مواد خودآرایی با ویژگی‌های استخوانی مانند سطح ویژه زیاد، افزایش واکنش‌پذیری شیمیایی و نفوذ آسان‌تر برای استخوان جدید اشاره نمود [۲۶].

نتایج ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا (ZTA) بدون و با پوشش داربست نانوالیافی هیبریدی (ZTA-HF-25) دربرابر باکتری *E. coli* و *S. aureus* در جدول ۲ ارائه شده است. لازم به ذکر است که ZTA نتوانست باعث مرگ کلنی‌های باکتریایی شود. در مقابل، نمونه ZTA پوشش داده شده با نانوالیافی هیبریدی باعث مرگ حدود ۱۰ درصد از کلنی‌های باکتریایی در طی ۲۴ ساعت شود. مطالعات زیادی وجود دارد که نشان داده است نایلون ۶ فعالیت ضد باکتریایی نشان نمی‌دهد [۲۷]. در این مطالعه، اختلاط نانوذرات هیدروکسی آپاتیت در داخل نانوالیاف نایلون ۶ باعث افزایش فعالیت ضد باکتریایی پوشش هیبریدی شد. به نظر میرسد که نانوذرات هیدروکسی آپاتیت با دیواره باکتری‌های گرم منفی و مثبت برهمکنش داشته است [۲۸]. از یک طرف، رادیکال هیدروکسیل (OH) روی نانوذرات هیدروکسی آپاتیت توانسته است ساختارهای درون سلولی و خارج سلولی باکتری‌ها را تخریب کند. از سوی دیگر، با توجه به ریخت‌شناسی متخلخل داربست الکتروریسی شده ممکن است باعث چسبندگی و کلونیزاسیون بیشتر باکتری‌ها شده باشد [۲۸]. بنابراین، نانوذرات هیدروکسی آپاتیت متصل به نانوالیاف نایلون ۶ نمی‌توانند غشای خارجی سلول‌ها را تحت تأثیر چندانی قرار دهند تا حفره‌هایی با شکل نامنظم ایجاد کنند و متعاقباً باعث مرگ سلولی شوند [۲۹].



شکل۵: (الف) تصویر FESEM از رسوب آپاتیت شبه استخوانی نانوساختار برروی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا دارای پوشش داربست نانوالیاف، (ب) و (ج) طیف EDS از دو نقطه متمایز از سطح غوطه ور شده در SBF پس از ۲۱ روز.



شکل۶: الگوی GIXRD از سطح داربست نانوالیافی نایلون۶-هیدروکسی آپاتیت غوطه ور شده در SBF پس از ۲۱ روز.

جدول۲: نتایج ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا و با پوشش داربست نانوالیافی هیبریدی

کد نمونه	نوع باکتری	
	E. coli	*S. aureus*
ZTA	بدون فعالیت	بدون فعالیت
ZTA-HF-25	فعالیت کم (۱۰٪)	فعالیت کم (۸٪)

۴. نتیجه‌گیری

در این پژوهش فرایند اصلاح سطح نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا به کمک روش الکتروریسی انجام شد. بررسی ریخت‌شناسی از سطح داربست نشان داد که میانگین قطر الیاف ۷۰-۱۸۰ nm، ضخامت داربست کمتر از ۵۰۰ nm و تخلخل‌های باز با میانگین قطر ۵۰۰ nm ایجاد شدند. پایداری گرمایی داربست در سه دمای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد ارزیابی شد. نتایج تایید کرد که داربست تا دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد پایدار بوده و دستخوش تغییرات ریخت‌شناسی قرار نمی‌گیرد. نتایج آزمون‌های FESEM، EDS و GIXRD تأیید کردند که یک لایه جدید از آپاتیت شبه استخوان به طور همگن روی نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا ایجاد شد. نتایج مطالعه آزمایشگاهی نشان داد که داربست نانوالیاف نایلون۶-هیدروکسی آپاتیت به عنوان یک پوشش نانوساختار روی زیرلایه نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا نقش مهمی در بازسازی زیست تقلیدی استخوان دارند. نتایج نشان داد که آپاتیت شبه استخوان هسته‌های فعال روی داربست ایجاد کرد و سپس به طور سیستماتیک در طی ۲۱ روز رشد کردند. آزمایش‌های فعالیت ضد باکتریایی در برابر *E. coli* و *S. aureus* نشان داد که اصلاح سطح نانوکامپوزیت آلومینا-زیرکونیا با داربست نانوالیاف پلیمر-سرامیک باعث بهبود ۱۰ درصدی فعالیت ضد باکتریایی می‌شود. یافته‌های مطالعه حاضر روش الکتروریسی را به عنوان یک روش عملی برای تشکیل فاز آپاتیت شبه استخوانی در مقیاس نانو روی بستر سرامیک زیست خنثی را پیشنهاد می‌دهد.

References

[1]. S. Nievethitha Sethu, S. Namashivayam, S. Devendran, S. Nagarajan, W.B. Tsai, S. Narashiman, M. Ramachandran, M. Ambigapathi, Nanoceramics on osteoblast proliferation and differentiation in bone tissue engineering, Int. J. Biol. Macromol. 2017, vol. 98, pp. 67–74.
[2]. M. Dziadek, E. Stodolak-Zych, K. Cholewa-Kowalska, Biodegradable ceramic-polymer composites for biomedical applications: A review, Mater. Sci. Eng. C., 2017, Vol. 71, pp.1175–1191.
[3]. C. Mas-Moruno, Surface functionalization of biomaterials for bone tissue regeneration and repair in: M. Barbosa M.C. Martins, Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair, Woodhead Publishing, 2018, pp.73-100.
[4]. Z. Mitic, A. Stolić, S. Stojanovic, S. Najman, N. Ignjatovic, G. N. Miroslav Trajanović, Instrumental methods and techniques for structural and physicochemical characterization of biomaterials and bone tissue: A review, Mater. Sci. Eng. C., 2017, Vol. 79 pp. 930–949.
[5]. K. Ikeuchi, Y. Morita, K. Nakata, Y.H. Kim, T. Sekino and K. Niihara, Wear of alumina/zirconia nano-composite for ceramic/ceramic joint prostheses in: D. Dowson et al., Tribological Research and Design for Engineering Systems, Elsevier B.V., 2003, pp 257-261.
[6]. S.M. Kurtz, S.K.C. Arnholt, R. Huet, M. Ueno, W.L. Walter, Advances in zirconia toughened alumina biomaterials for total joint replacement, J. Mech. Behav. Biomed., 2014, Vol. 31, pp. 107-116.
[7]. Ch. Gautam, J. Joyner, A. Gautam, J. Rao, R. Vajtai, Zirconia based dental ceramics: structure, mechanical properties, biocompatibility and applications, Dalton Trans., 2016, Vol. 45 pp. 19194.
[8]. S. Sequeira, M.H. Fernandes, N. Neves, M.M. Almeida, Development and characterization of zirconia–alumina composites for orthopedic implants, Ceram. Int., 2017, Vol. 43, pp. 693–703.
[9]. H. Yang, K. Xia, T. Wang, J. Niu, Y. Song, Z. Xiong, K. Zheng, Sh. Wei, W. Lu, Growth, in vitro biodegradation and cytocompatibility properties of nano-hydroxyapatite coatings on biodegradable magnesium alloys, J. Alloy. Compd., 2016, Vol. 672, pp. 366-373.
[10]. S.J. Jang, S.E. Kim, T.S.S.H.J.S. Son, S.S. Kang, S.H. Choi, Bone Regeneration of Hydroxyapatite with Granular Form or Porous Scaffold in Canine Alveolar Sockets, in vivo, 2017. Vol. 31, pp. 335-341.
[11]. S.M. Latifi, M.H. Fathi, M.A. Golozar, Preparation and characterisation of bioactive hydroxyapatite–silica composite nanopowders via sol–gel method for medical applications, Adv. Appl. Ceram., 2011, Vol. 110(1), pp. 8-14.
[12]. H. Farnoush, Z. Rezaei, Effect of suspension stability on bonding strength and electrochemical behavior of electrophoretically deposited HA–YSZ nanostructured composite coatings, Ceram. Int. 2017, Vol. 43, pp. 11885–11897.
[13]. T. G. Nieh, A. F. Jankowski, J. Koike, Processing and characterization of hydroxyapatite coatings on titanium produced by magnetron sputtering, J. Mater. Res., 2011, Vol. 16, No.11, pp. 3238-3245.
[14]. B.M. Hidalgo-Robatto, M. Lopez-Alvarez, A.S. Azevedo, J. Dorado, J. Serra, N.F. Azevedo, P. Gonzalez, Pulsed laser deposition of copper and zinc doped hydroxyapatite coatings for biomedical applications, Surf. Coat. Tech. 2018, Vol. 333, pp. 168–177.
[15]. J Xie, Ch. Peng, Q. Zhao, X. Wang, H. Yuan, L. Yang, K. Li, X. Lou, Y. Zhang, Osteogenic differentiation and bone regeneration of iPSC-MSCs supported by a biomimetic nanofibrous scaffold, Acta Biomater. 2016, Vol. 29, pp. 365–379.
[16]. S. Vahabzadeh, M. Roy, A. Bandyopadhyay, S. Bose, Phase stability and biological property evaluation of plasma sprayed hydroxyapatite coatings for orthopedic and dental applications, Acta Biomater., 2015, Vol. 17 pp. 47–55.
[17]. A. Nandakumar, L. Yang, P. Habibovic, and C. van Blitterswijk, Calcium Phosphate Coated Electrospun Fiber Matrices as Scaffolds for Bone Tissue Engineering, Langmuir, 2010, Vol. 26 No. 10, pp. 7380–7387.
[18]. R. Faridi-Majidi, N. Nezafati, M. Pazouki, S. Hesaraki, The effect of synthesis parameters on morphology and diameter of electrospun hydroxyapatite nanofibers, J. Aust. Ceram. Soc., 2017, Vol. 53, pp. 225–233.
[19]. X. Jing, H.Y. Mi, M. R. Salick, T. Cordie, J. McNulty, X.-Fang Peng, L.S. Turng, In vitro evaluations of electrospun nanofiber scaffolds composed of poly(ε-caprolactone) and polyethylenimine, J. Mater. Res., 2015, Vol. 30 No. 11, pp.1808-1819.
[20]. H. Esfahani, M. P. Prabhakaran, E. Salahi, A. Tayebifard, M. Keyanpour-Rad, M.R. Rahimipour, S. Ramakrishna, Protein adsorption on electrospun zinc doped hydroxyapatite containing nylon 6 membrane: Kinetics and isotherm, J. ColloidInterf. Sci., 2015, vol. 443, pp. 143–152.
[21]. H. Esfahani, M. Darvishghanbar, B. Farshid, Enhanced bone regeneration of zirconia-toughened alumina nanocomposites using PA6/HA nanofiber coating via electrospinning, J. Mater. Res., 2018, Vol. 33, No. 24, pp.4287-4295.
[22]. H. Esfahani, A. Nemati, E. Salahi, The Effects of Composition and Sintering Conditions on Zirconia Toughened Alumina (ZTA) Nanocomposites, Adv Mat Res., 2010, Vols. 93-94, pp 695-698.
[23]. T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, Biomaterials, 2006, Vol. 27, pp. 2907–2915.
[24]. J. Gomez-Morales, M. Iafisco, J.M. Delgado-López,Stéphanie Sarda, Ch. Drouet, Progress on the preparation of nanocrystalline apatites and surface characterization: Overview of fundamental and applied aspects, Prog. Cryst. Growth. Ch., 2013, Vol. 59, pp. 1–46.
[25]. S. Prasad S, I. Ratha, T. Adarsh, A. Anand, P. Kumar Sinha, P. Diwan, K. Annapurna, K. Biswas, In vitro bioactivity and antibacterial properties of bismuth oxide modified bioactive glasses, J. Mater. Res., 2018, Vol. 33, No. 2, pp. 178-190.
[26]. A. Sasahara, T. Murakami, M. Tomitori, XPS and STM study of TiO2(110)-(1×1) surfaces immersed in simulated body fluid, Surf. Sci., 2018, Vol. 668, pp. 61–67.
[27]. M. Zhang, Q. Gao, Ch. Yang, L. Pang, H. Wang, R. Li, Z. Xing, J. Hu, G. Wu, Preparation of antimicrobial MnO4−-doped nylon-66 fibers with excellent laundering durability, Appl. Surf. Sci., 2017, Vol. 422, pp. 1067–1074.
[28]. Y. Ma, T. Zhou and Ch. Zhao, Preparation of chitosan–nylon-6 blended membranes containing silver ions as antibacterial materials, Carbohyd. Res., 2008, Vol. 343, pp. 230–237.
[29]. M. Hadidi, A. Bigham, E. Saebnoori, S.A. Hassanzadeh-Tabrizi, S. Rahmati, Z. Mohammad Alizadeh, V. Nasirian, M. Rafienia, Electrophoretic-deposited hydroxyapatite-copper nanocomposite as an antibacterial coating for biomedical applications, Surf. Coat. Tech., 2017, Vol. 321, pp. 171–179.