

تأثیر روش حذف سورفکتانت

در بهبود ویژگی‌های ساختاری مزوحفرات هیدروکسی آپاتیت نانوسایز

نگار عباسی اول^۱، جعفر جوادپور^۱، علیرضا بدیعی^۲

^۱ دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه علم و صنعت ایران، ^۲ دانشکده شیمی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

javadpourj@iust.ac.ir

چکیده: در تحقیق حاضر نانوذرات هیدروکسی آپاتیت مزومتخلخل با کاربرد رهایش دارو با استفاده از سورفکتانت بلاک کو پلیمر با موفقیت سنتز گردید. برای کنترل اندازه حفرات در این نانوذرات از تغییر در روش حذف سورفکتانت استفاده گردید. برای یک گروه از نمونه‌ها از روش تکلیس و دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید که منجر به اندازه حفرات ۵۶ نانومتر و سطح ویژه ۴۸ متر مربع بر گرم شد. در گروه دیگر از نمونه‌ها با استفاده از روش شست و شو با حلالی مثل اتانول، اندازه حفراتی در حدود ۲۳ نانومتر و سطح ویژه ۹۶ مترمربع بر گرم حاصل شد. مورفولوژی نانوذرات و حجم حفرات در این دو گروه تفاوتی با هم نداشتند در حالیکه نظم ساختاری حفرات با کاربرد روش شست و شو به جای تکلیس بسیار بهبود پیدا می‌کند.

کلید واژه: نانوذرات هیدروکسی آپاتیت، مزومتخلخل، سورفکتانت، کنترل اندازه حفرات.

۱- مقدمه

از زمان کشف مواد مزومتخلخل در دهه ۱۹۹۰، سنتز و کاربرد مواد مزومتخلخل به دلیل دارا بودن ساختارهای بسیار منظم، اندازه حفره بزرگ نسبت به مواد میکرومتخلخل و مساحت سطح بالا، توجه بسیاری از محققان را به سوی خود جلب کرده است. در دهه اخیر مواد مزومتخلخل کاربردهای زیادی در جداسازی، کاتالیست، سنسورها و تجهیزات پیدا کرده اند [۱]. مواد مزومتخلخل به دلیل ساختار پایدار و خواص سطحی خوب، برای انکپسوله کردن داروها، پروتئین‌ها و سایر مولکول‌های بیوژنیک، ایده آل به نظر می‌رسند. در تحقیقات ثابت شده است که مولکول‌های دارویی کوچک و بزرگ را می‌توان در مزوحفرات با فرآیند اشباع سازی گیر انداخته و سپس از طریق مکانیسم کنترل نفوذی، مولکول‌های دارویی را آزاد نمود [۲]. از زمانی که Maria Vallet-Regi در سال ۲۰۰۱ [۳]، MCM-41 را به عنوان سیستم رهایش داروی جدید معرفی کرد، تحقیقات زیادی در این حوزه برای ساخت انواع مختلف مواد مزومتخلخل با ساختارهای تخلخل متنوع و همینطور قابلیت عامل دار شدن برای رهایش مداوم دارو انجام گرفته است [۱۲-۴]. با توجه به اندازه مختلف داروها و انواع مولکول‌های فعال بیولوژیک، کنترل اندازه حفرات در مواد مزومتخلخل ضروری به نظر می‌رسد. رابطه بین اندازه دارو و قطر مزوحفره، فاکتور تعیین کننده نفوذ مولکول‌ها از ماتریس مزوساختار و رهایش بعدی آن است. یکی از روش‌های کنترل اندازه حفرات، کنترل با استفاده از قالب‌های سورفکتانتی است که در هنگام سنتز مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۳]. یکی از روش‌های دیگر در کنترل اندازه حفرات، تغییر پارامترهای حاکم بر فرآیند سنتز مثل دمای سنتز، غلظت سورفکتانت، pH و در نهایت تغییر روش حذف سورفکتانت می‌باشد [۱۴-۱۸].

در تحقیق حاضر نانوذرات هیدروکسی آپاتیت مزومتلخل با استفاده از سورفکتانت بلاک کوپلیمر سنتز گردید. برای کنترل اندازه حفرات و به تبع آن کنترل سطح ویژه از تغییر در روش حذف سورفکتانت استفاده گردید. به این ترتیب که در مورد یک نمونه از روش تکلیس و با استفاده از حرارت، سورفکتانت موجود حذف گردید و در مورد نمونه دیگر از روش شست و شو با حلال برای حذف سورفکتانت استفاده گردید. در نهایت ویژگی‌های مواد حاصل از جمله توزیع اندازه حفرات، مساحت سطح BET، حجم حفرات، مورفولوژی نانوذرات و نظم ساختاری حفرات با یکدیگر مقایسه گردید.

۲- فعالیت‌های تجربی

۲-۱- مواد اولیه

سورفکتانت F127 ($EO_{99}PO_{65}EO_{99}$) از Sigma-Aldrich، پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) به عنوان پیش ماده فسفر از Merck، کلسیم استات به عنوان پیش ماده کلسیمی از PanreacQuimca و آمونیاک از Merck تهیه گردید و به عنوان مواد اولیه در این سنتز مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی مواد بدون عملیات ثانویه استفاده شدند.

۲-۲- روش سنتز

در سنتز نانوذرات ابتدا ۳ گرم F127 در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و روی همزن با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت. در یک بشر جداگانه ۶/۳۲ گرم کلسیم استات معادل ۰/۰۴ مول به همراه ۰/۶۸ گرم ساکروز در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و به محلول اولیه اضافه گردید. pH محلول اولیه با pH متر در حدود ۷/۳۰ اندازه گیری شد. با افزودن مقداری آمونیاک pH به ۱۲ رسانده شد. در مرحله بعدی ۳/۲۷ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات معادل با ۰/۲۴ مول در ۶۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و توسط بورت ۲۵ میلی لیتری به صورت قطره قطره و در مدت زمان ۳۰ دقیقه به محلول اولیه اضافه گردید. در مرحله بعدی محلول حاصل سفیدرنگ به رفلاکس با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۶۰۰ دور بر دقیقه منتقل گردید. این محلول به مدت ۲۴ ساعت تحت رفلاکس بود. بعد از اتمام مدت زمان ۲۴ ساعت، محلول به دست آمده به تعداد ۵ بار و هر بار ۴ دقیقه با آب مقطر ساتریفوژ شد. برای خشک کردن رسوب به دست آمده، رسوب حاصل به آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۲۴ ساعت منتقل گردید. در مرحله آخر برای خروج سورفکتانت از دو روش استفاده گردید. در روش اول نمونه تهیه شده به مدت زمان ۶ ساعت و در درجه حرارت ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تحت کلسیناسیون قرار گرفت. کد این نمونه HA-A است. روش دوم به این صورت بود که نمونه تهیه شده به مدت زمان ۲۴ ساعت و در دستگاه سوکسله^۱ تحت شست و شو با اتانول قرار گرفت. کد این نمونه HA-B در نظر گرفته شد.

۲-۳- روش‌های شناسایی مواد

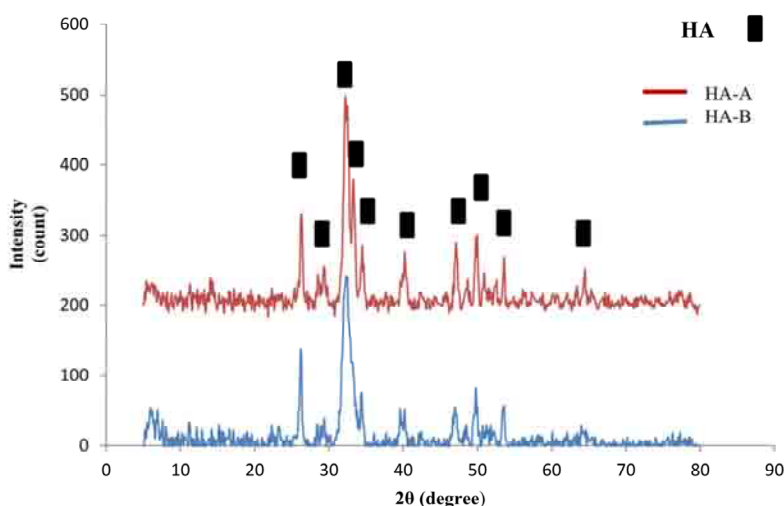
برای بررسی فازی نانوذرات حاصل از آنالیز XRD و دستگاه JEOL (Model: JDX-8030) با منبع Cu، ولتاژ شتاب‌دهنده ۳۰ کیلوولت و جریان ۲۰ میلی‌آمپر استفاده گردید. طیف سنجی مادون قرمز به منظور بررسی خروج سورفکتانت در دستگاه Equinox 55 Bruker انجام گرفت. جهت بررسی مورفولوژی نانوذرات و تخمین اندازه ذرات از میکروسکوپ الکترونی

¹ Soxhlet

FESEM (Hitachi S4160)، جهت بررسی توزیع اندازه حفرات، حجم حفرات و همینطور سطح ویژه از آنالیز جذب-واجذب نیتروژن در دستگاه BELSORP-mini II استفاده گردید، برای این منظور نمونه‌ها در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت گاززدایی شدند. جهت بررسی نظم ساختاری حفرات از آنالیز پراش اشعه ایکس زاویه پایین (SAXS) در دستگاه ساخت کمپانی PANalytical با منبع $Cu(k\alpha)$ در ۴۰ کیلوولت و ۴۰ میلی آمپر با دکتور PIXel(Solid State) استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

برای اطمینان از تشکیل فاز هیدروکسی آپاتیت در نمونه‌های سنتز شده و همینطور تک فاز بودن نمونه‌ها، آنالیز پراش اشعه ایکس در مورد هر دو نمونه HA-A و HA-B انجام گرفت. طیف پراش اشعه ایکس هر دو نمونه در شکل ۱ آورده شده است.

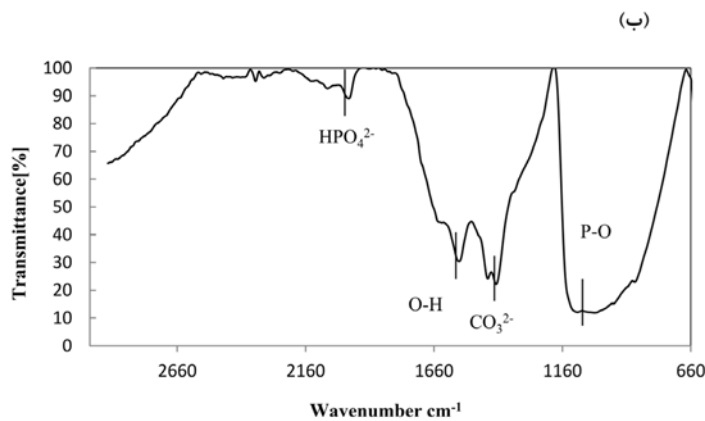
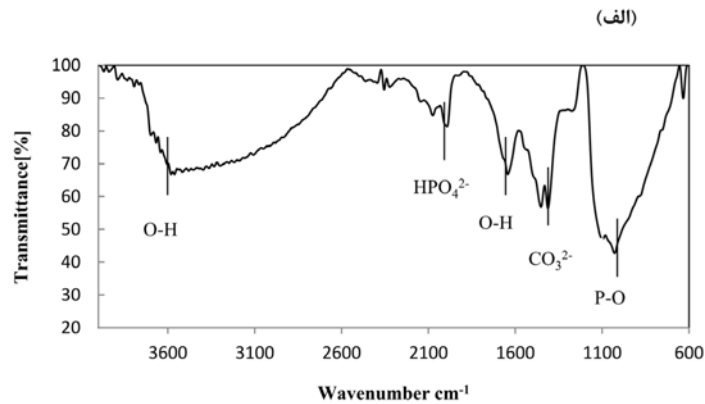


شکل ۱- طیف پراش اشعه ایکس نمونه‌های HA-A و HA-B.

با مقایسه طیف‌های موجود در شکل ۱ با طیف استاندارد (۰۰-۰۰۹-۰۴۳۲) مشخص می‌شود که پیک‌های موجود در این طیف‌ها مربوط به هیدروکسی آپاتیت هستند. فقط بعضی پیک‌ها در طیف مربوط به نمونه HA-B دارای شدت کمتری هستند که این موضوع به بلورینگی پایین این نمونه در مقایسه با نمونه HA-A مربوط می‌شود.

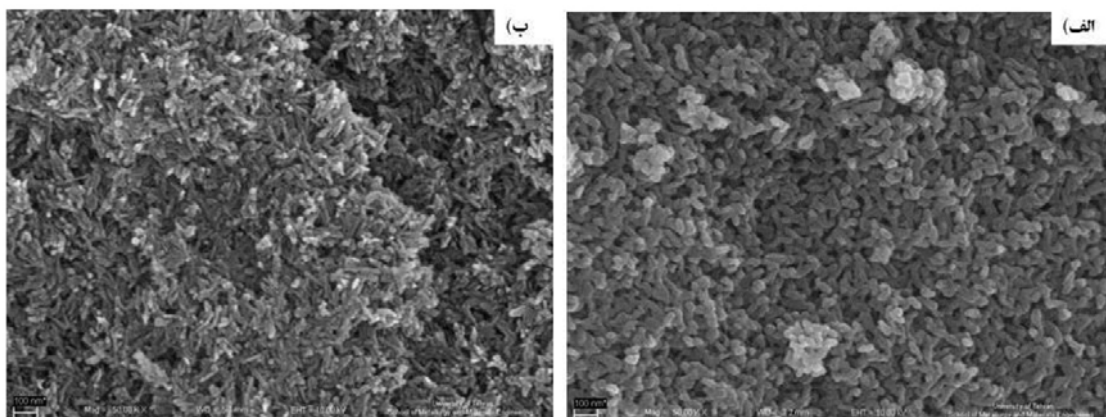
برای اطمینان از خروج سورفکتانت، نمونه‌ها تحت طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) قرار گرفتند. نتایج مربوط در شکل ۲ آمده است. با توجه به شکل ۲، پیوندهای مربوط به HA قابل مشاهده است. اولین شاهد برای تشکیل HA پیک اصلی گروه فسفات در ناحیه بین $960-1100\text{ cm}^{-1}$ است که به ارتعاش کششی نامتقارن P-O از PO_4^{3-} مربوط می‌شود. پیک مشاهده شده در ناحیه $1420-1470\text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی CO_3^{2-} می‌شود. پیک مشاهده شده در طول موج 1650 cm^{-1} مربوط به مد خمشی گروه O-H می‌شود. پیک مشاهده شده در ناحیه بین $2920-2002\text{ cm}^{-1}$ می‌تواند مربوط به گروه‌های HPO_4^{2-} باشد. پیک مشاهده شده در ناحیه بین $3400-3670\text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی یون OH^- در هیدروکسی آپاتیت است [۱۹-۲۶]. حذف باندهای کششی C-H از F127 در طول موج‌های 2888 و 2975 cm^{-1} و همینطور حذف ارتعاشات کششی C-O-C

طول موج 1117 cm^{-1} نشان از حذف کامل سورفکتانت از سیستم دارد. یک پیک مشخصه دیگر از F127 در طول موج 3455 cm^{-1} وجود دارد که این پیک نیز در طیف‌های FTIR نمونه‌ها دیده نمی‌شود [۲۷].



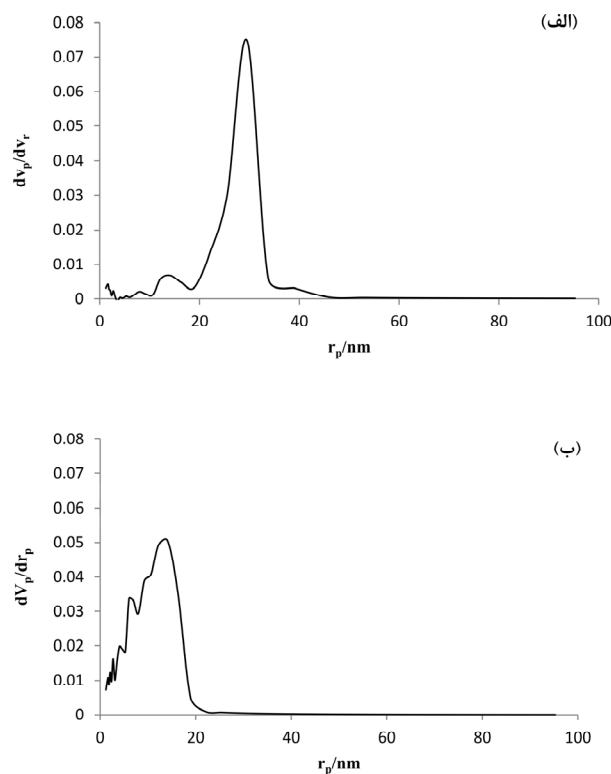
شکل ۲- آنالیز FTIR (الف) نمونه HA-A و (ب) نمونه HA-B.

برای بررسی مورفولوژی نانوذرات حاصل از میکروسکوپ الکترونی FESEM استفاده گردید. تصاویر حاصل در شکل ۳ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود تغییر روش حذف سورفکتانت تاثیری بر مورفولوژی نانوذرات ندارد. اندازه نانوذرات در نمونه HA-B به دلیل نبود حرارت کوچکتر از نمونه HA-A است.



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی FESEM (الف) نمونه HA-A و (ب) نمونه HA-B.

برای بررسی توزیع اندازه حفرات، حجم حفرات و همینطور سطح ویژه نانوذرات از آنالیز جذب-واجذب نیتروژن استفاده گردید. نتایج مربوط به توزیع اندازه حفرات در شکل ۴ آورده شده است.



شکل ۴- منحنی توزیع اندازه حفرات الف) نمونه HA-A و ب) نمونه HA-B.

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، توزیع اندازه حفرات در نمونه HA-A در محدوده ۲۰-۴۰ نانومتر و توزیع اندازه حفرات در نمونه HA-B در محدوده ۰-۲۰ نانومتر است. با توجه به این نتایج می‌توان اینطور نتیجه‌گیری کرد که به کارگیری حرارت در مرحله خروج سورفکتانت باعث ریزش دیواره‌های حفرات و در نتیجه بزرگ شدن اندازه حفرات شده است و به همین علت است که در مورد نمونه HA-B که حرارتی استفاده نشده است اندازه حفرات بزرگ نشده است. سایر مشخصات مربوط به این دو نمونه شامل حجم حفرات و سطح ویژه نانوذرات در جدول ۱ آورده شده است.

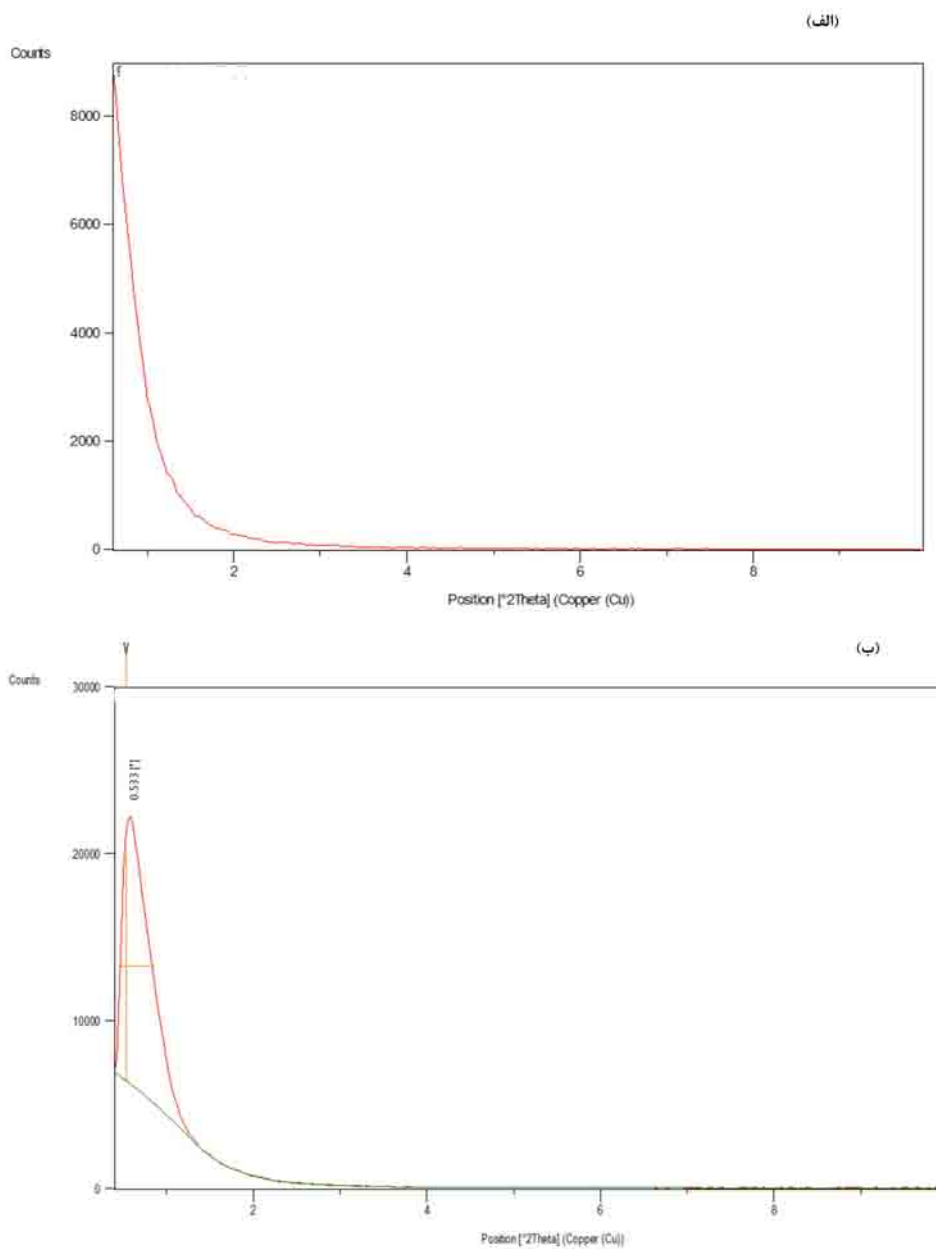
جدول ۱- مشخصات مربوط به آنالیز جذب-واجذب نیتروژن در مورد هر دو نمونه

میانگین اندازه حفرات (nm)	حجم حفرات (cm ³ /g)	سطح ویژه BET (m ² /g)
۵۶	۰/۵۸	۴۸
۲۳	۰/۵۶	۹۶

از نتایج جدول ۱ مشاهده می‌شود که با تغییر روش حذف سورفکتانت از تکلیس به شست و شو با اتانول، اندازه حفرات از ۵۶ نانومتر در نمونه HA-A به ۲۳ نانومتر در نمونه HA-B کاهش پیدا کرده است و همین امر باعث افزایش مساحت BET در این

نمونه شده است ولی حجم حفرات در نمونه HA-B علیرغم کوچک بودن اندازه حفرات، تغییر چندانی نسبت به نمونه HA-A نداشته است.

برای بررسی نظم ساختاری حفرات از طیف سنجی پراش اشعه ایکس زاویه پایین (SAXS) استفاده گردید. نتایج مربوط به هر دو نمونه در شکل ۵ آورده شده است. همانطور که در شکل ۵ (الف) مشخص است، نمونه HA-A فاقد نظم بلند برد در ساختار حفرات می باشد، بنابراین پیکی در طیف پراش این نمونه مشاهده نمی شود. در شکل ۵ (ب) پراش اشعه ایکس زاویه پایین مربوط به نمونه HA-B نشان داده شده است. در پراش این نمونه یک پیک در زاویه حدود 0.5° قابل مشاهده است که نشانگر نظم بلند برد حفرات می باشد.



شکل ۵- طیف پراش اشعه ایکس زاویه پایین (الف) نمونه HA-A و (ب) نمونه HA-B.

۴- نتیجه گیری

در تحقیق حاضر نانوذرات هیدروکسی آپاتیت با ساختار مزومتخلخل با موفقیت سنتز گردید. برای حذف سورفکتانت استفاده شده در سنتز این نانوذرات، دو روش تکلیس و شست و شو با اتانول مورد استفاده قرار گرفت. مشاهده گردید که روش شست و شو تأثیری بر نوع فاز تشکیل شده و مورفولوژی نانوذرات ندارد ولی باعث کاهش اندازه نانوذرات، کاهش اندازه حفرات و همبندگی افزایش سطح BET نانوذرات و بهبود نظم ساختاری حفرات می‌شود.

مراجع

- [1] K. Ariga, A. Vinu, J. P. Hill, and T. Mori, Coordination chemistry and supramolecular chemistry in mesoporous nanospace, *Coordination Chemistry Reviews*, 251(2007) 2562–2591.
- [2] S. Wang, Ordered mesoporous materials for drug delivery, *Microporous and Mesoporous Materials*, 117(2009) 1–9.
- [3] R. P. del real and M. Vallet-Regi, A. Ramila, A New Property of MCM-41 : Drug Delivery System, *Chemistry of Materials*, 11(2001) 308–311.
- [4] X. Shi, Y. Wang, L. Ren, and N. Zhao, Novel mesoporous silica-based antibiotic releasing scaffold for bone repair, *Acta Biomaterialia*, 5(2009) 1697–1707.
- [5] M. Vallet-regí and E. Ruiz-hernández, Bioceramics : From Bone Regeneration to Cancer Nanomedicine, *Advanced Materials*, (2011) 5177–5218.
- [6] Q. He, J. Zhang, F. Chen, L. Guo, Z. Zhu, and J. Shi, An anti-ROS / hepatic fibrosis drug delivery system based on salvianolic acid B loaded mesoporous silica nanoparticles, *Biomaterials*, 31(2010) 7785–7796.
- [7] C. Zhang, C. Li, S. Huang, Z. Hou, Z. Cheng, and P. Yang, Self-activated luminescent and mesoporous strontium hydroxyapatite nanorods for drug delivery, *Biomaterials*, 31(2010) 3374–3383.
- [8] M. Zhu, H. Wang, J. Liu, H. He, X. Hua, Q. He, L. Zhang, X. Ye, and J. Shi, A mesoporous silica nanoparticulate / b -TCP / BG composite drug delivery system for osteoarticular tuberculosis therapy, *Biomaterials*, 32(2011) 1986–1995.
- [9] M. Vallet-regí, Ordered Mesoporous Materials in the Context of Drug Delivery Systems and, *Chemistry, A European Journal*, (2006) 5934–5943.
- [10] Y. Zhu and S. Kaskel, Comparison of the in vitro bioactivity and drug release property of mesoporous bioactive glasses (MBGs) and bioactive glasses (BGs) scaffolds, *Microporous and Mesoporous Materials*, 118(2009) 176–182.
- [11] M. Signoreto, E. Ghedini, V. Nichele, F. Pinna, V. Crocellà, and G. Cerrato, Effect of textural properties on the drug delivery behaviour of nanoporous TiO₂ matrices, *Microporous and Mesoporous Materials*, 139(2011) 189–196.
- [12] F. Balas, M. Colilla, and M. Manzano, Bone-regenerative bioceramic implants with drug and protein controlled delivery capability, *Progress in Solid State Chemistry*, 9(2008) 163–191.
- [13] F. Balas and M. Manzano, Bioceramics and pharmaceuticals : A remarkable synergy, *Solid State Sciences*, 9(2007), 768–776.
- [14] Y. Wang, J. Chen, K. Wei, Sh. Zhang, X. Wang, Surfactant assisted synthesis of HA particles, *Materials Letters*, 60(2006) 3227–3231.
- [15] Y. Li, W. Tjandra, K. C. Tam, Synthesis and characterization of nanoporous hydroxyapatite using cationic surfactants as templates. *Materials Research Bulletin*, 43(2008) 2318–2326
- [16] N. EsmailianTari, M. M. KashaniMotlagh, B. Sohrabi, Synthesis of hydroxyapatite particles in catanionic mixed surfactants template, *Materials Chemistry and Physics*, 131(2011) 132–135.
- [17] Y. F. Zhao, J. Ma, Triblock co-Polymer templating synthesis of mesostructuredhydroxyapatite,

- Microporous and Mesoporous Materials, 87 (2005) 110-117.
- [18] S. Ng, J. Guo, J. Ma, S. Ch. Joachim Loo, Synthesis of high surface area mesostructured calcium phosphate particles, *Acta Biomaterialia*, 6(2010) 3772-3781.
- [19] S. Pramanik, A. K. Agarwal, K. N. Rai, Development of High Strength Hydroxyapatite for Hard Tissue Replacement. *trends in Biomaterials*, 19(2005)46-51.
- [20] A. Sobczak-kuupiec, D. Malina, R. Kijkowska, Comparative study of hydroxyapatite prepared by the authors with selected commercially available ceramics, *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures*, 7(2012)385.
- [21] A. Balamurugan, S. Kannan, S. Rajeswari, Bioactive Sol-gel hydroxyapatite surface for biomedical applications-in vitro study, *Trends in Biomaterials*, 16(2002)18-20.
- [22] S. Mondal, B. Mondal, A. Dey, Studies on Processing and Characterization of Hydroxyapatite Biomaterials from Different Bio Wastes, *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering*, 11(2012)55-67.
- [23] H. K. Varma, Synthesis of calcium phosphate bioceramics by citrate gel pyrolysis method, *Ceramics International*, 31(2005)109-114.
- [24] M. Sadat-Sojoe, Preparation of Hydroxyapatite Nanoparticles: Comparison between Hydrothermal and solvo-Treatment Processes and colloidal Stability of Produced Nanoparticles in a Dilute Experimental Dental Adhesive, *Journal of The Iranian Chemical Society*, 6(2009)386-392.
- [25] C. W. Hang Lin, J. Tang, Preparation of a water-soluble oligo- (p-phenylene vinylene) embedded silica composite glass through a novel sol-gel process, *Materials Letters*, 61(2007) 1637-1640.
- [26] H. Chen, B. H. Clarkson, K. Sun, Self-assembly of synthetic hydroxyapatite nanorods into an enamel prism-like structure, *Journal of Colloid and Interface Science*, 288(2005),97-103.
- [27] S. Z. Qi Zhou, Z. Zhang, T. Chen, X. Guo, Preparation and characterization of thermosensitive pluronic F127-b-poly caprolactone mixed micelles, *Colloid and Surfaces B, Biointerfaces*, 86(2011)45-57.