Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Optimizing the hydroxyapatite nanocrystals derived from biological sources to increasing efficiency and quality

Mahsa Abbasi[1], Hossein Derakhshankhah[2], Soheila Kashanian[3,4], Zhila Izadi[2*], Mohammad Soleiman Beigi[1]

[1] Dept of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Ilam University, Ilam, Iran
[2] Pharmaceutical Sciences Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[3] Dept of Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Razi University, Kermanshah, Iran
[4] Nano Biotechnology Dept, Faculty of Innovative Science and Technology, Razi University, Kermanshah, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Apr. 30, 2024
Received in revised form: May. 19, 2024
Accepted: Jun. 16, 2024
Published Online: Dec. 05,2024

**** Correspondence to:***
Zhila Izadi
Pharmaceutical Sciences Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Email:
Izadi_zh@razi.tums.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Hydroxyapatite is one of the most essential bioactive and biocompatible ceramics. Due to its unique properties and its structural similarity to bone, it has many applications in medicine, dentistry, and bone tissue engineering. Therefore, many methods and strategies have been studied to prepare hydroxyapatite. The purpose of this study was to optimize hydroxyapatite nanocrystals prepared from biological sources with higher efficiency and quality.

Materials & Methods: This study synthesized and analyzed hydroxyapatite from White Sea shells using simple and affordable methods like ultrasonic, hydrothermal, and thermal-ultrasonic decomposition. White seashells contain carbonate-calcium (C_aCO_3). For the synthesis of hydroxyapatite, environmentally friendly solvents such as water (green synthesis) and di ammonium hydrogen phosphate (ADP) were used as a source of phosphate. The data were analyzed using Graph Pad Prism V.10 statistical software, and the level of significance was considered less than 0.05.

Results: Hydroxyapatite was synthesized by the ultrasonic method and was chosen as the most appropriate. Because in the EDX results, the percentage of elements oxygen and phosphorus (O, P) in the hydroxyapatite synthesized by the ultrasonic method corresponds to the data of the standard card, HA~1.67, and for this reason, the ultrasonic method is better than the other two methods (hydrothermal and thermal-ultrasonic decomposition) and is more suitable. In FTIR, phosphate, hydroxide, and carbonate (PO_4^{3-}), OH, and CO_3^{2-} groups were observed, which indicate the synthesis of hydroxyapatite. With SEM and FE-SEM, the morphology and size of hydroxyapatite particles were observed to be between 16.5 and 70.80 nm. XRD analysis, crystallinity, and needle-like structure of hydroxyapatite were observed. The blood compatibility results showed that hydroxyapatite had no significant hemolysis. Examining the cell compatibility of hydroxyapatite on bone-like cells (MG63) showed a survival rate of over 90%, and cell proliferation was statistically (Graph Pad Prism 10) significant ($P < 0.05$).

Conclusion: One of the most effective methods for preparing hydroxyapatite involves conducting the reactions at the bottom; the ultrasonic method's affordability and cost-effectiveness are among its positive features, as it can generate multiple processes throughout the production process. The results demonstrated that this method produced a material with a hexagonal structure, nanometer size, and suitable biocompatibility.

Keywords: Hydroxyapatite, Ultrasonic method, Biocompatibility

How to cite this paper: Abbasi M, Derakhshankhah H, Kashanian S, Izadi Zh, Soleiman Beigi M. Optimizing the hydroxyapatite nanocrystals derived from biological sources to increasing efficiency and quality. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2024;32(5):23-37.

Introduction

Hydroxyapatite (HA) is an excellent biomaterial for various biomedical and medical applications. These compounds are biocompatible and biodegradable, slowly decomposed into Ca^{2+}, PO_4^{3-} and toxic for local cells. Hydroxyapatite is prepared from biological sources such as fish, mollusk shells, fish scales, and sea shells, which are an unlimited source of C_aCO_3 (1). However,

© The Author(s)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

biomedical fields have been using new biomaterials like hydroxyapatite, leading to significant progress (2). Researchers investigated three methods (ultrasonic, hydrothermal, and thermal-ultrasonic) for the preparation of hydroxyapatite (3). The ultrasonic method provides rapid synthesis and good particle size control, whereas the thermal process is very stable, simple, and has excellent crystallinity. The purpose of this study was to optimize hydroxyapatite nanocrystals prepared from biological sources with higher efficiency and quality.

Methods

First, the shells of White Sea shells were collected from the coastal areas and then washed with a brush in running water. In the next step, the oysters were dried in an oven at 40°C and powdered by a ball mill. The hand powder contains calcium carbonate (C_aCO_3), which is used in three ways to synthesize hydroxyapatite. Then, in a flask, 0.5 gram of raw white oyster powder was dissolved in 50 ml of distilled water and placed on a magnetic stirrer at 60°C for 5 min. 0.25 gram of diammonium hydrogen phosphate (ADP) was added to another flask and dissolved with 30 ml of distilled water. In the next step, the solution inside the second flask was added to the first flask. The suspension was placed on a magnetic stirrer at 60°C for 10 min to completely dissolve, and then the pH of the solution was adjusted to 10 with NaOH for one minute. Then the suspension was ultra-sonicated for one hour to synthesize hydroxyapatite. The obtained hydroxyapatite nanoparticles were washed three times with the same ratio of water and ethanol (5 min with a 2000 rpm centrifuge). In addition, that material was placed in an autoclave at a temperature of 180°C and a pressure of 50 to 200 w for different times. According to the previous method, the synthesized nanoparticles were washed and dried. In the further approach, the white seashells obtained were calcined in a thermal furnace at a powder temperature of 800°C for two hours to remove all organic materials and growths. At last, the suspension was ultra-sonicated for one hour to synthesize hydroxyapatite. The obtained hydroxyapatite nanoparticles were washed three times with the same ratio of water and ethanol (5 min with a 2000 rpm centrifuge). The data were analyzed using Graph Pad Prism V.10 statistical software, and the level of significance was considered less than 0.05.

Results

T Hydroxyapatite was synthesized by the ultrasonic method and was chosen as the most appropriate. Because in the EDX results, the percentage of elements oxygen and phosphorus (O, P) in the hydroxyapatite synthesized by the ultrasonic method corresponds to the data of the standard card, HA~1.67, and for this reason, the ultrasonic method is better than the other two methods (hydrothermal and thermal-ultrasonic decomposition) and is more suitable. FTIR showed phosphate, hydroxide, and carbonate (PO_4^{3-}), OH, and CO_2^{3-} groups, which show that hydroxyapatite is being made. With SEM and FE-SEM, the morphology and size of hydroxyapatite particles were observed to be between 16.5 and 70.80 nm. XRD analysis, crystallinity, and needle-like structure of hydroxyapatite were observed. The blood compatibility results showed that hydroxyapatite had no significant hemolysis. Examining the cell compatibility of hydroxyapatite on bone-like cells (MG63) showed a survival rate of over 90%, and cell proliferation was statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusion

One of the most effective methods for preparing hydroxyapatite involves conducting the reactions at the bottom; the ultrasonic method's affordability and cost-effectiveness are among its positive features, as it can generate multiple processes throughout the production process. The results demonstrated that this method produced a material with a hexagonal structure, nanometer size, and suitable biocompatibility.

Authors' Contribution

Conceptualization, Investigation, Data Curation, Supervision, Project Administration: ZI, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Data Curation, writing– Original Draft Preparation, Writing– Review & Editing, Visualization: MA, HD, SK, MS, Funding Acquisition: Kermanshah University of Medical Sciences Research Vice-Chancellor

Ethical Statement

The study was approved by the Ethics Committee of the Kermanshah University of

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

Medical Sciences (IR.KUMS.REC.1403.024). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research resulted from a project number (50004081) approved by Kermanshah University of Medical Sciences, which was carried out with the financial support of the Kermanshah University of Medical Sciences Research Vice-Chancellor. The funder has no responsibility in the study design, data collection, analysis, and writing of the article.

Acknowledgment

The authors of the article are extremely grateful to the Kermanshah University of Medical Sciences Research Vice-Chancellor for the approval and financial support of this study. Also, authors sincerely thank and appreciate the research vice-chancellor of Kermanshah University of Medical Sciences for their financial support.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بهینه‌سازی نانوکریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت تهیه‌شده از منابع زیستی با هدف افزایش کارایی و کیفیت

مهسا عباسی [۱]، حسین درخشان‌خواه [۲]، سهیلا کاشانیان [۳و۴]، ژیلا ایزدی [۲*]، محمد سلیمان بیگی [۱]

[۱] گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

[۲] مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

[۳] دانشکده شیمی، گروه شیمی کاربردی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

[۴] گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری نوآورانه، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۲/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵

نویسنده مسئول:

ژیلا ایزدی

مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

Email:
Izadi_zh@razi.tums.ac.ir

چکیده

مقدمه: هیدروکسی‌آپاتیت یکی از ضروری‌ترین بیوسرامیک‌های زیست‌فعال و زیست‌سازگار است. به علت خواص منحصربه‌فرد و شباهت ساختاری آن به استخوان، کاربردهای بسیاری در پزشکی، دندان‌پزشکی و مهندسی بافت استخوان دارد؛ بنابراین، روش‌ها و راهکارهای فراوانی برای تهیهٔ هیدروکسی‌آپاتیت مطالعه‌شده است. هدف از انجام این مطالعه بهینه‌سازی نانوکریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت تهیه‌شده از منابع زیستی، با کارایی و کیفیت بالاتر بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، هیدروکسی‌آپاتیت از صدف‌های سفید دریایی با روش‌هایی آسان و مقرون‌به‌صرفه ازجمله اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک سنتز و تجزیه‌وتحلیل شد. صدف‌های سفید دریایی حاوی کربنات کلسیم ($CaCO_3$) هستند. برای سنتز هیدروکسی‌آپاتیت از حلال‌های دوست‌دار محیط‌زیست مانند آب (سنتز سبز) و از دی‌آمونیوم هیدروژن فسفات (ADP) به‌عنوان منبع فسفات استفاده گردید.

یافته‌های پژوهش: هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک به‌عنوان روش مناسب انتخاب شد؛ زیرا که در نتایج EDX، درصد عناصر موجود اکسیژن و فسفر (O, P) در هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک با داده‌های کارت استاندارد، HA~1.67 مطابقت دارد و به همین علت، روش اولتراسونیک نسبت به دو روش دیگر (هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک) مناسب‌تر بود. در FTIR گروه‌های فسفات، هیدروکسید و کربنات (PO_4^{3-})، OH و CO_3^{2-} مشاهده گردید که نشان‌دهندهٔ سنتز هیدروکسی‌آپاتیت هستند. با SEM و FE-SEM مورفولوژی و اندازهٔ ذرات هیدروکسی‌آپاتیت در nm 5/16 تا ۷۰/۸۰ دیده شد. در تجزیه‌وتحلیل XRD، بلورینگی و سوزنی‌شکل بودن ساختار هیدروکسی‌آپاتیت تأیید گردید. نتایج سازگاری خونی نشان داد که هیدروکسی‌آپاتیت همولیز چشمگیری نداشته است و بررسی سازگاری سلولی هیدروکسی‌آپاتیت بر سلول‌های شبه‌استخوانی (MG63)، نرخ بقای بیش از ۹۰ درصد را نشان داد و تکثیر سلولی از نظر آماری (Graph pad prism vol.10) معنی‌دار بود ($P<0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: روش اولتراسونیک یکی از بهترین روش‌های تهیهٔ هیدروکسی‌آپاتیت است که انجام واکنش‌ها در دمای پایین، ارزان و مقرون‌به‌صرفه بودن از ویژگی‌های مثبت آن است و می‌تواند موانع صنعتی ازجمله طولانی بودن فرایند تولید را برطرف کند. نتایج نشان داد که مادهٔ تولیدشده با این روش ساختار شش‌ضلعی با اندازهٔ نانومتر با زیست‌سازگاری مناسب داشت.

واژه‌های کلیدی: هیدروکسی‌آپاتیت، روش اولتراسونیک، زیست‌سازگاری

استناد: عباسی مهسا، درخشان‌خواه حسین، کاشانیان سهیلا، ایزدی ژیلا، سلیمان‌بیگی محمد. بهینه‌سازی نانوکریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت تهیه‌شده از منابع زیستی با هدف افزایش کارایی و کیفیت. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، آذر ۱۴۰۳؛ (۵)۳۲: ۳۷-۲۳.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

حق‌مؤلف © نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم پزشکی ایلام

مقدمه

کووید-۱۹ از سال ۲۰۱۹ از کشور چین آغاز و تبدیل به یک هیدروکسی‌آپاتیت‌ها ((HA نانوسرامیک‌هایی با فرمول شیمیایی Ca_{10} $(PO4)6(OH)_2$ هستند. یکی از جنبه‌های حیاتی مهندسی بافت و پزشکی هیدروکسی‌آپاتیت زیست‌سازگاری بودن آن است (۱)، زمان زیست‌تخریب‌پذیری طولانی دارد و بسیار آرام تجزیه می‌شود یا تقریباً تجزیه‌ناپذیر است (۲). این ماده بسیار شبیه به جزء معدنی ماتریکس استخوان است و خاصیت پیوندی خوبی با استخوان دارد و رشد سلول‌های استخوانی را سرعت می‌بخشد.HA به علت خواص غیرسمی و زیست‌فعالی که دارد، اثر التهابی ندارد (۳)؛ به همین سبب، هیدروکسی‌آپاتیت به‌عنوان یک عامل دارورسانی (تحویل دارو با دوز مشخص و مدت‌زمان از پیش تعیین‌شده) در دستگاه دارورسانی استفاده می‌شود (۴). تلاش‌های تحقیقاتی گسترده‌ای برای استفاده از هیدروکسی‌آپاتیت مصنوعی به‌عنوان جایگزین استخوان در کاربردهای دندان‌پزشکی و زیست‌پزشکی انجام‌شده است (۵).

فسفات کلسیم در مواد معدنی استخوان و مینای دندان وجود دارد. هیدروکسی‌آپاتیت به‌عنوان یک ترکیب فسفات‌کلسیم‌دار در شرایط فیزیولوژیکی مانند pH، دما و غیره پایدار است. ساختاری شش‌ضلعی هیدروکسی‌آپاتیت گروه فضایی P63/m و ثابت‌های شبکهٔ a و c به‌ترتیب با ۰/۹۴۲ و ۰/۶۸۸ نانومتر دارد (۶). هیدروکسی‌آپاتیت به روش‌های مختلفی ازجمله ۱. روش هم‌رسوبی (۳)، ۲. روش هیدروترمال (۷)، ۳. روش تابش اولتراسونیک (۸)، ۴. روش شیمیایی مکانیکی (۹)، ۵. روش تابش به کمک ماکروویو (۱۰)، ۶. روش سل- ژل (۱۱) و تجزیهٔ حرارتی (۱۲) سنتز می‌شود.

ساختار و خواص هیدروکسی‌آپاتیت تحت تأثیر منبع و روش سنتز تغییر می‌کند؛ به‌عنوان‌مثال، یون‌های منیزیم و کربنات در هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده، آن‌ها را زیست‌سازگارتر می‌کند (۱۳). هیدروکسی‌آپاتیت از یون‌های Ca^{2+}و PO_4^{3-} تشکیل‌شده است. در سیستم فیزیولوژیکی، در طول برهم‌کنش داربست- بافت، آزادسازی یون‌های Ca^{2+}و PO_4^{3-} به تشکیل سلول‌های استخوانی کمک می‌کند و هیچ‌گونه آثار سمی از خود نشان نمی‌دهد (۱۴). مطالعات کمی روی نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت با اندازه‌ها و مورفولوژی‌های مختلف (کروی، سوزنی و میله‌ای) انجام‌شده است. هرکدام از این‌ها خواص و کاربردهای مختلفی دارند. هیدروکسی‌آپاتیت‌های کروی از تکثیر ماکروفاژها جلوگیری می‌کنند (۱۵). نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت میله‌ای‌شکل و سوزنی‌مانند، شبیه به «بلوک‌های ساختمانی» دندان‌ها و استخوان‌ها هستند و در بافت‌های کلسیفیه‌شدهٔ (تجمع کلسیم) انسان جاسازی می‌گردند. استفاده از این نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت در کاربردهای زیست‌پزشکی ترجیح داده می‌شود (۱۶). نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت میله‌ای‌شکل به‌عنوان حامل داروی پروتئینی استفاده می‌گردد (۱۷)؛ ازاین‌رو، تهیهٔ هیدروکسی‌آپاتیت با خواص مناسب برای کاربردهای خاص استفاده می‌شود.(۱۷) بسیاری از منابع زیستی ازجمله (استخوان، پوستهٔ نرم‌تنان، فلس ماهی (۱۸) و صدف‌های سفید دریایی به‌طورکلی به‌عنوان منابع کربنات کلسیم (C_aCO_3) شناخته می‌شوند. هدف از این مطالعه سنتز هیدروکسی‌آپاتیت با روش مناسب از صدف‌های سفید دریایی به‌عنوان منبع کلسیم کربنات (C_aCO_3) و از دی‌آمونیوم هیدروژن فسفات (ADP) به‌عنوان ترکیب فسفات‌دار بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش تحقیق تجربی یا آزمایشگاهی انجام شد و صدف‌های سفید از مناطق ساحل جنوبی جمع‌آوری گردید.

تهیهٔ هیدروکسی‌آپاتیت از صدف‌های سفید دریایی:

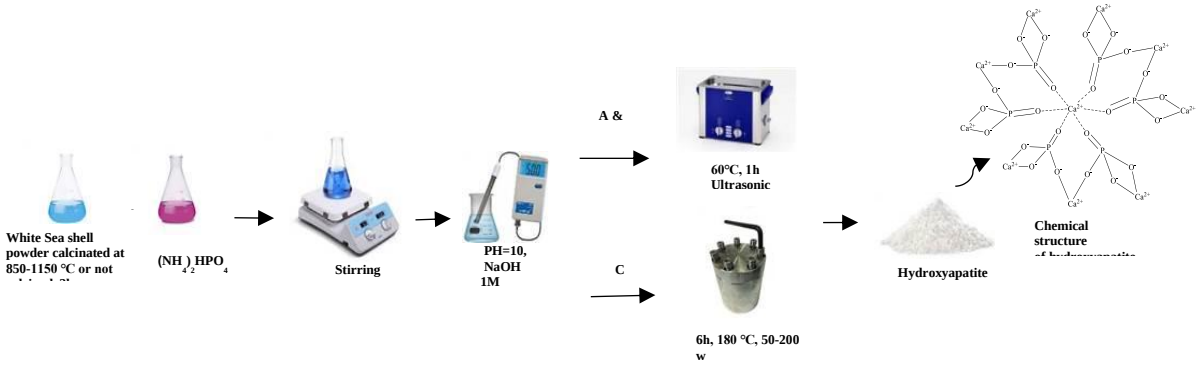
ابتدا پوسته‌های صدف‌های سفید دریای از نواحی ساحلی جمع‌آوری و سپس با برس در آب جاری شسته شدند. در مرحلهٔ بعد، صدف‌ها در آون در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک و توسط آسیاب گلوله‌ای پودر گردیدند. پودر به‌دست‌آمده حاوی کلسیم کربنات (CaCO3) است که به سه روش برای سنتز هیدروکسی‌آپاتیت استفاده شد: الف. روش

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

تابش اولتراسونیک؛ ب. روش هیدروترمال؛ ج. روش تجزیهٔ حرارتی- تابش اولتراسونیک.

روش تابش اولتراسونیک:

در یک بالون، ۰/۵ گرم پودر صدف‌های سفید دریایی خام در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. ۰/۲۵ گرم دی‌آمونیوم هیدروژن فسفات (ADP) به بالون دیگر اضافه و با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. در مرحلهٔ بعد، محلول داخل بالن دوم به بالن اول اضافه گردید. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً حل گردد؛ سپس pH محلول با NaOH یک مولار به ۱۰ رسید. پس از آن، سوسپانسیون به مدت ۱ ساعت اولتراسونیک شد تا هیدروکسی‌آپاتیت سنتز گردد. نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت به‌دست‌آمده سه بار با نسبت یکسان آب و اتانول (مدت‌زمان ۵ دقیقه با دور 2000 g سانتریفیوژ) شسته شدند (شکل شمارهٔ ۱).



شکل شماره ۱. تهیهٔ هیدروکسی‌آپاتیت. A. روش اولتراسونیک؛ B. روش تجزیهٔ حرارتی–اولتراسونیک؛ C. روش هیدروترمال

روش هیدروترمال:

در یک بالون، ۰/۵ گرم پودر صدف‌های سفید دریایی خام در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به مدت min5 روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. ۰/۲۵ گرم ADP به بالون دیگر اضافه و با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. در مرحلهٔ بعد، محلول داخل بالن دوم به بالن اول اضافه گردید. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً حل گردد؛ سپس pH محلول با NaOH یک مولار به ۱۰ رسید. پس از آن، در زمان‌های مختلف (۲، ۴ و ۶ ساعت) در اتوکلاو در دمای ۱۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد و فشار ۵۰ تا w200 قرار گرفت. بر اساس روش پیشین، نانوذرات سنتزشده شسته و خشک شدند (شکل شمارهٔ ۱).

روش تجزیهٔ حرارتی و تابش اولتراسونیک:

پودر صدف‌های سفید دریایی به‌دست‌آمده در یک کورهٔ حرارتی در دمای ۸۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت کلسینه گردید تا همهٔ مواد آلی و پروتئین‌ها حذف شوند. بر اساس نتایج، در این دما با آزادسازی دی‌اکسید کربن (CO2)، اکسید کلسیم باقی می‌ماند و عاری از هرگونه ناخالصی می‌شود؛ سپس ۰/۵ گرم پودر کلسینه‌شده در یک بالن با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و به مدت ۵ دقیقه با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد روی همزن قرار گرفت تا کاملاً پخش شود. در بالون دیگری، ۰/۲۵ گرم ADP در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. در مرحلهٔ بعد، محلول داخل بالن دوم به بالن اول اضافه گردید. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً حل گردد؛ سپس pH محلول با NaOH یک مولار به ۱۰ رسید. پس از آن، سوسپانسیون به مدت ۱ ساعت اولتراسونیک شد تا هیدروکسی‌آپاتیت سنتز گردد. نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت به‌دست‌آمده سه بار با نسبت یکسان آب و اتانول (مدت‌زمان ۵ دقیقه با دور g2000 سانتریفیوژ) شسته

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

شدند (شکل شمارهٔ ۱).

شناسایی خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و مکانیکی؛ طیف‌سنج مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR):

هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با دستگاه FTIR مدل (BRUKER GERMANYVBRTEX 70 FT-IR) گرفته شد. از این تکنیک FTIR برای شناسایی گروه‌های عاملی در ساختار نمونه‌ها و پیوندهای موجود در مواد آلی و معدنی استفاده می‌شود. محدودهٔ اعداد موج در طیف‌سنج فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR) از ۱۰۰ تا cm^{-1} ۴۰۰۰ است (۱۹).

طیف‌سنجی پراش انرژی اشعهٔ ایکس (EDX):

طیف‌سنجی پراش انرژی اشعهٔ ایکس (EDX) یک تکنیک اشعهٔ ایکس است که عناصر موجود در ترکیبات مختلف را شناسایی و درصد آن‌ها را گزارش می‌کند. این دستگاه‌ها به ابزارهای میکروسکوپ الکترونی متصل هستند و عناصر موجود در نمونه‌ها را با قابلیت تصویربرداری میکروسکوپی شناسایی می‌نمایند (۲۰).

تجزیه‌وتحلیل XRD:

تجزیه‌وتحلیل پراش اشعهٔ ایکس (XRD) اطلاعات دقیقی را دربارهٔ ترکیب شیمیایی، خواص فیزیکی و ساختار کریستالوگرافی یک ماده را نشان می‌دهد (۲۱). پرتوهای ایکس پرتوهای الکترومغناطیسی با طول‌موج کوتاه‌تر هستند که وقتی ذرات باردار الکتریکی با انرژی کافی کاهش می‌یابند، تولید می‌شوند. در XRD، پرتوهای ایکس تولیدشده همسو می‌گردند و به سوی یک نمونه از نانومواد هدایت می‌شوند؛ سپس شناسایی، پردازش و شمارش می‌گردد. پس از آن، شدت پرتوهای پراکنده در زوایای مختلف ماده، برای نشان دادن یک الگوی پراش ترسیم شد.

بررسی ویژگی‌های ظاهری؛ میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM):

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با بزرگ‌نمایی بیش از 300000 x و حتی ۱۰۰۰۰۰۰–، تصاویر دقیقی از مواد مختلف به‌دست‌آمده را نشان می‌دهد. این روش مواد آلی و معدنی را از نانومتر (nm) تا میکرومتر (µm) تجزیه‌وتحلیل می‌کند. مناطق به‌طور تصادفی از نمونه‌ها برای عکاسی با مدل میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (JSM-840A, JEOL, Japan) انتخاب شدند. زبری و تخلخل سطح توسط یک تداخل‌سنج نوری (Accura 2000, Intekplus, Seoul, Korea) اندازه‌گیری گردید (۱۵).

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM):

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) همان SEM است، با این تفاوت که در میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی FESEM، تصاویر واضح‌تری با وضوح ۱ تا 5/0 nm در مقایسه با SEM مشاهده می‌شود. در مقایسه با FE-SEM، SEM در ولتاژ بالا وضوح کمتری دارد (۹).

بررسی زیست‌سازگاری زیستی؛ بررسی سازگاری خون:

خون از داوطلب (انسان) گرفته شد و با محلول PBS با نسبت حجمی ۲:۲/۵ رقیق گردید. نمونه‌ها در سه میکرو تیوب ۲ میلی‌لیتر (سه بار تکرار هر نمونه برای گرفتن میانگین مناسب) ریخته شد و ۲۰۰ میکرولیتر خون رقیق‌شده به هر میکرو تیوب اضافه گردید و سپس در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، به مدت ۱ ساعت انکوبه شد. در مرحلهٔ بعد، نمونه‌ها با سرعت 4000 -5000 g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند؛ سپس مایع رویی شفاف از نمونه‌های سانتریفیوژشده با سمپلر گرفته شد و به داخل پلیت تزریق گردید و جذب آن‌ها در طول‌موج ۵۴۵ نانومتر گرفته و توسط دستگاه میکروپلیت ریدر خوانده و ثبت شد؛ سپس مقدار همولیز با فرمول زیر محاسبه گردید (۲۲).

$$Hemolysis = (Ct - Cnc)/(Cpc - Cnc) \times 100$$

Ct: میانگین نمونه‌ها، Cnc: کنترل منفی و Cpc: کنترل مثبت است.

بررسی زنده‌ماندنی سلول‌های شبه‌استخوانی: به‌منظور بررسی سازگاری سلولی و زنده‌مانی از روش (4)-3)، ۵-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium (bromide) MTT استفاده شد. در پلیت ۹۶ چاهکی، سلول‌های شبه‌استخوانی MG63 به تعداد ۵×۱۰^{۴} با محیط

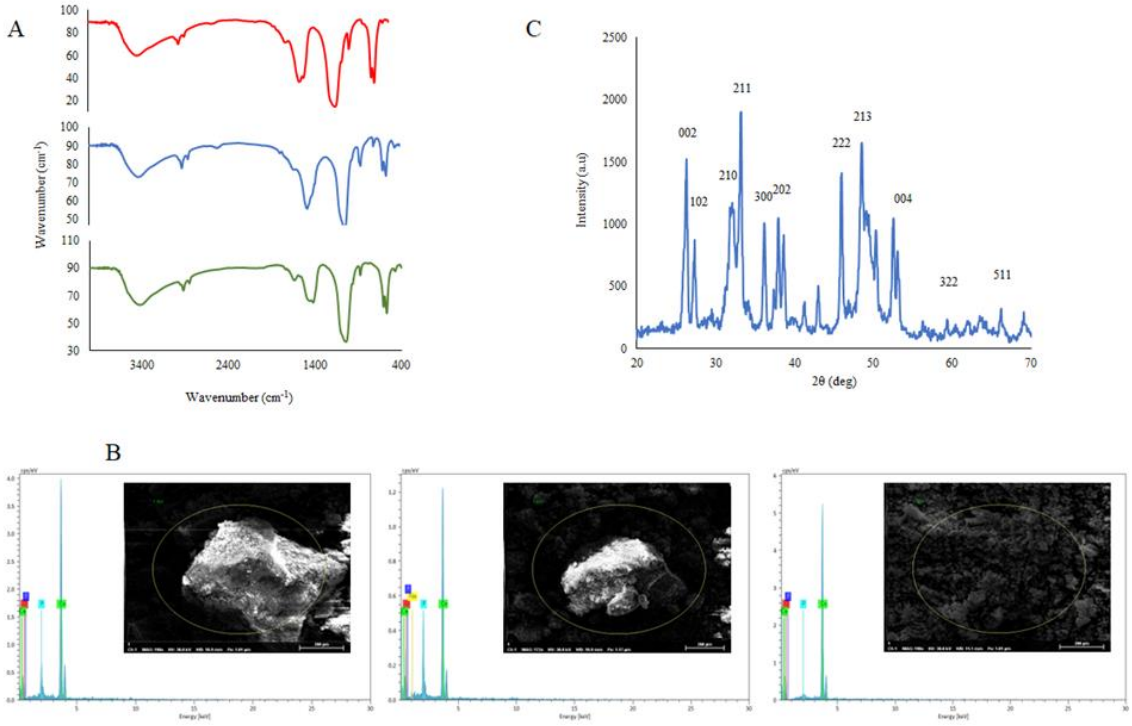
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

کشت کامل RPMI 1640 و ۱۰ درصد سرم جنین گاوی کشت گردید و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند و به تراکم ۷۰ درصد برسند؛ سپس به هر چاهک حاوی سلول، نانوکریستال‌های ساخته‌شده با روش‌های مختلف اضافه شد و در دو بازهٔ زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت، زنده‌مانی سلول‌ها با روش MTT ارزیابی گردید. در روز آزمایش، محیط کشت از چاهک‌ها حذف و محیط کشت تازه حاوی MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به چاهک‌های حاوی سلول اضافه شد و به مدت ۳ ساعت در دمای انکوباتور قرار گرفت؛ سپس محیط کشت چاهک‌ها حذف و حلال DMSO برای حل شدن کریستال‌های فرومازان اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. به‌منظور بررسی میزان زنده‌مانی سلول‌ها پس از تیمار با نانوذرات هیدروکسی آپاتیت، با استفاده از دستگاه پلیت ریدر، جذب چاهک‌ها در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر تعیین گردید (۲۳)

یافته‌های پژوهش

خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و مکانیکی؛ تجزیه‌وتحلیل طیف‌سنجی مادون‌قرمز (FTIR):

تجزیه‌وتحلیل طیفی مادون‌قرمز (FTIR) نشان داد که در این طیف، مجموعه‌ای از باند جذبی در هیدروکسی‌آپاتیت در ناحیهٔ $825-1080 cm^{-1}$ (یک نوار کششی قوی) به‌وضوح دیده می‌شود و یک باند جذبی در 1565 cm-1(یک نوار جذب خمشی تیز) که مربوط به PO_4^{3-} است؛ مشاهده می‌گردد. این وضوح پیک به علت زمینهٔ سرامیکی داربست است. یون‌های هیدروکسیل مربوط به نوار جذب خمشی در ناحیهٔ $565-716 cm^{-1}$ و باند جذب کششی گسترده در ناحیهٔ $3700-3432 cm^{-1}$ قابل‌مشاهده است. کربنات‌های موجود در هیدروکسی‌آپاتیت‌های طبیعی و مصنوعی، آن‌ها را به هیدروکسی‌آپاتیت‌های بیولوژیکی با زیست‌سازگاری بالا تبدیل می‌کند. باند جذب در ناحیهٔ cm^{-1} 2146-1409مربوط به کربنات (CO_3^{2-}) است که در هیدروکسی‌آپاتیت کربناته مشاهده شد. با توجه به نتایج نشان داده شد که پوستهٔ صدف‌های سفید دریایی در حالت کلسینه، با حالت غیرکلسینه تفاوتی ندارد. نوارهای مربوط به HPO_4^{2-} که در طیف مرتبط با خاکستر پوستهٔ صدف‌های سفید دریایی دیده می‌شود، در طیف مربوط به پوستهٔ صدف‌های سفید دریایی کلسینه‌نشده نیز وجود دارد و قابل‌مشاهده است. این شواهد حضور HA را در مادهٔ سنتزشده اثبات می‌کند (شکل شمارهٔ A.۲).



[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

شکل شماره ۲. A. FTIR هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده (پیک قرمز. روش اولتراسونیک، پیک آبی. روش هیدروترمال، پیک سبز. روش تجزیهٔ حرارتی-اولتراسونیک) ؛ B. EDX هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده به روش اولتراسونیک (a. روش تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک، b. روش هیدروترمال، c. روش اولتراسونیک) ؛. C XRD هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با روش تابش اولتراسونیک

طیف‌سنجی پراش انرژی اشعهٔ ایکس (EDX):

عناصر موجود در هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده (Ca, P, O) در این طیف مشاهده شدند. EDX استوکیومتری شیمیایی نانوذرات را در شکل شمارهٔ ۲. B نشان می‌دهد. در روش سوم، با کلسینه کردن صدف‌های سفید دریایی و سپس فراصوت، مقدار فسفر کمتر از دیگر روش‌ها مشاهده گردید. مقدار کلسیم و فسفر در روش اتوکلاو نزدیک به داده‌های روش اولتراسونیک بود. نتایج نشان داد (شکل شمارهٔ ۲. B) که نسبت اتمی کلسیم به فسفر در هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک نسبت به سایر روش‌ها (هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک) مناسب است که در جدول شمارهٔ ۱ آورده شده است و با داده‌های کارت استاندارد، HA~1.67 مطابقت دارد.

جدول شماره ۱. تایج EDX هیدروکسی‌آپاتیت تهیه‌شده به روش اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک

روش‌ها	Mass Norm [%]P	Mass Norm [%]Ca
روش اولتراسونیک	۶/۹۴	۶۴/۷۳
روش هیدروترمال	۵/۰۵	۷۶/۴۴
	۷/۴	۵۸/۳۱
روش تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک	۹/۲۲	۴۴/۴۰
	۴/۰۳	۵۰/۵۶

نتایج تجزیه‌وتحلیل XRD:

نتیجهٔ XRD نشان داد که بلورهای هیدروکسی‌آپاتیت سنتز و قابل‌مشاهده هستند. JCPDS با شمارهٔ ۰۴۳۲-۰۹ داده‌ها را شناسایی کرد. شدت پیک‌های XRD با افزایش اندازهٔ ذرات افزایش می‌یابد که بر اساس معادلهٔ شرر تأیید می‌شود. با افزایش زمان اولتراسونیک مشاهده شد که شدت پیک‌ها کاهش یافتند. از سوی دیگر، قله‌ها گسترش بیشتری پیدا کردند و این سبب گردید که اندازهٔ ذرات و بلورینگی کاهش یابد. با افزایش زمان از ۱ ساعت به ۲ ساعت، کریستال‌ها کوچک‌تر و در اندازهٔ نانومتری سنتز شدند. با توجه به نتیجهٔ XRD، هیدروکسی‌آپاتیت کربنات‌دار به روش اولتراسونیک سنتز گردیده است (شکل شمارهٔ ۲. C). بر اساس مطالعات مشاهده شد که وجود کربنات در هیدروکسی‌آپاتیت باعث کاهش اندازه در کریستال‌ها می‌شود (۲۵). با افزایشCO_2 ، حلالیت ظاهری HA بسیار افزایش می‌یابد (۲۴).

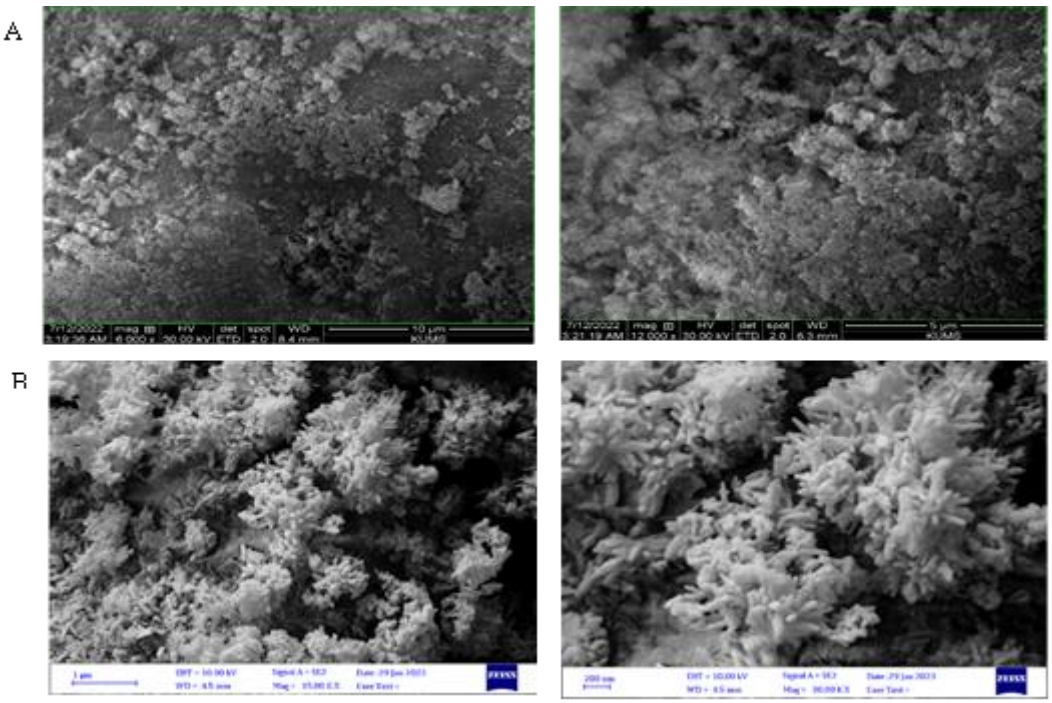
نتایج بررسی شکل ظاهری کریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت:

در شکل شمارهٔ ۳. A، SEM هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده به روش اولتراسونیک در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. SEM اندازهٔ ریز کریستال‌ها را به‌دقت مشاهده نکرد و تصویری سرامیکی از هیدروکسی‌آپاتیت را نشان داد؛ بنابراین، ذرات هیدروکسی‌آپاتیت توسط FESEM مشاهده و اندازه‌گیری شد.

در این تجزیه‌وتحلیل، مورفولوژی سطح و اندازهٔ بلورهای HA سنتزشده بررسی گردید. درواقع در این روش، تصویر توسط الکترون‌ها ثبت می‌شود که قدرت بزرگ‌نمایی بسیار بالاتری نسبت به میکروسکوپ‌های نوری دارند و می‌توان چندین هزار بار تصویربرداری کرد. FE-SEM در شکل شمارهٔ ۳. B هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. اندازهٔ بلورها ۱۶/۵ تا ۷۰/۸۰ نانومتر است و علت آن استفاده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

از امواج فراصوت و وجود کربنات در ساختار نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت است. در FE-SEM، ذرات هیدروکسی‌آپاتیت به‌صورت ذرات سوزنی‌شکل تشکیل شدند و قابل‌مشاهده هستند. اندازهٔ بلورهای هیدروکسی‌آپاتیت به‌دست‌آمده در میدان اولتراسوند (Lav < 100 نانومتر) در مقایسه با ذرات به‌دست‌آمدهٔ بدون اولتراسوند، 115 nm کوچک‌تر است (شکل شمارهٔ ۳. A و ۳. B).

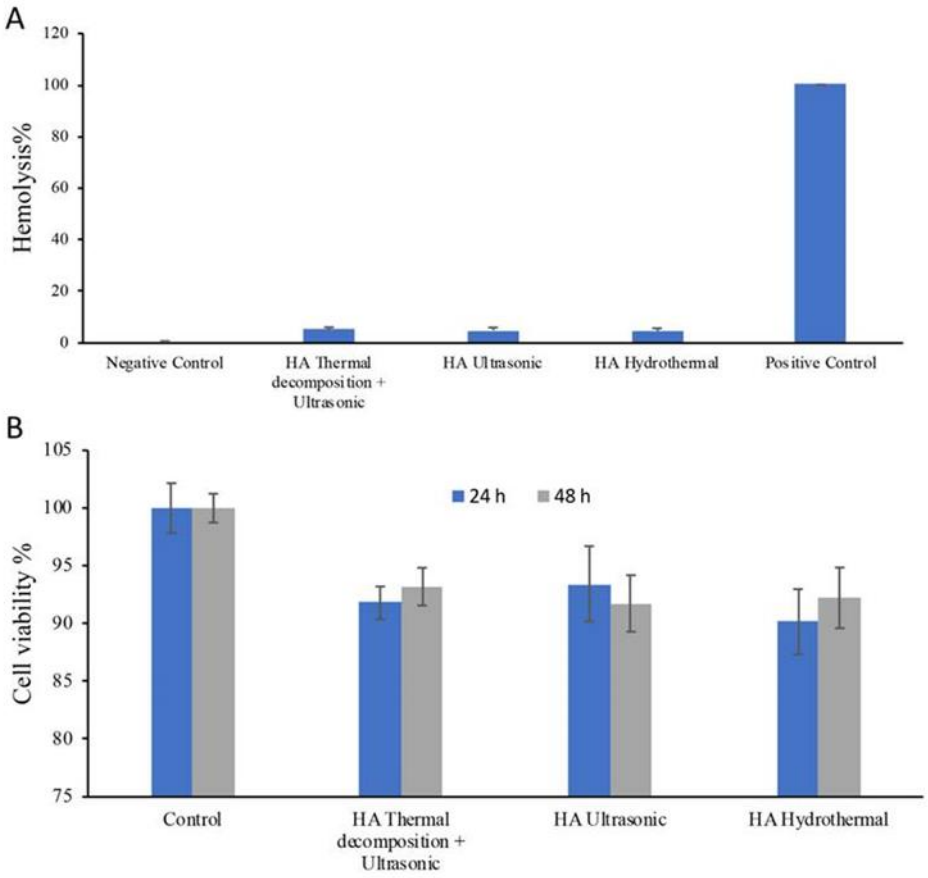


شکل شماره ۳. . SEM هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک؛ B. FE-SEM هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک

نتایج زیست‌سازگاری؛ سازگاری خونی مناسب نانوکریستال‌های هیدروکسی آپاتیت:

سازگاری خونی با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر در طول‌موج 570 nm خوانده شد و نشان داد که همولیز کمتر از (۵-۲ درصد) در HA سنتزشده مشاهده گردید. بر اساس استانداردهای ASTM F756-08، همولیز بالای ۵ درصد همولیتیک، بین ۲ تا ۵ درصد کمی همولیتیک و کمتر از ۲ درصد غیرهمولیتیک در نظر گرفته می‌شود. کنترل مثبت (خون لیزشده با آب) و کنترل منفی (خون رقیق‌شده با PBS) است (شکل شمارهٔ ۴. A).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]



شکل شماره ٤. A. بررسی سازگاری خونی هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با سه روش (اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک) ؛ B. سازگاری سلولی هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده با سه روش (اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک) روی سلول‌های شبه‌استخوانی

نتایج سازگاری سلولی:

نتایج ارزیابی سازگاری سلولی نانوکریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت روی ردهٔ سلول‌های شبه‌استخوانی (MG63) نشان داد که میزان بقای سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل (گروه بدون تیمار)، بالاتر از ۹۰ درصد است ($P<0.05$)؛ بنابراین، سازگاری سلولی مناسب برای کاربرد در اهداف مهندسی بافت به‌ویژه در سازه‌های استخوانی را دارند (شکل شمارهٔ ۴. B).

بحث و نتیجه‌گیری

هیدروکسی‌آپاتیت (HA) یک زیست‌مواد عالی برای کاربردهای مختلف زیست‌پزشکی و پزشکی است. این ترکیبات زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر هستند، به‌آرامی به Ca^{2+}، PO_4^{3-} تجزیه می‌شوند و برای سلول‌ها سمی نیستند. هیدروکسی‌آپاتیت از منابع زیستی مختلفی ازجمله استخوان ماهی، پوستهٔ نرم‌تنان، فلس ماهی و پوستهٔ صدف‌ها تهیه می‌شود که منبع نامحدودی از CaCO3 هستند (۲۵). بااین‌حال، زیست‌مواد جدید مانند هیدروکسی‌آپاتیت در زمینه‌های زیست پزشکی استفاده شده و پیشرفت چشمگیری داشته است.

به‌طور خلاصه، روش اولتراسونیک سنتز سریع و کنترل اندازهٔ ذرات خوب را ارائه می‌دهد، درحالی‌که روش حرارتی یک تکنیک کاملاً ثابت با سادگی و بلورینگی مناسب است. روش‌های رسوب شیمیایی مرطوب، سل- ژل و روش‌های بیومیمتیک، روش‌های جایگزینی را با مزایا و چالش‌های خاص خود ارائه می‌کنند. انتخاب روش سنتز به الزامات خاصی مانند اندازهٔ ذرات، مورفولوژی، خلوص و مقیاس‌پذیری بستگی دارد (۲۶).

در این پژوهش، نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت با

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

استفاده از سه روش (اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی– اولتراسونیک) سنتز شدند. در روش اول، HA به روش اولتراسونیک به مدت ۱ ساعت در pH=10 سنتز گردید. در روش دوم، HA با اتوکلاو در مدت‌زمان‌های ۲، ۴ و ۶ ساعت، فشار ۲۰۰w–۵۰و دمای ۱۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد سنتز و تجزیه‌وتحلیل شد. در روش سوم (تجزیهٔ حرارتی–اولتراسونیک) پیش از اولتراسونیک، صدف‌های سفید دریایی با استفاده از کوره (۸۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد) کلسینه گردیدند و سپس تحت اولتراسونیک قرار داده شدند. بر اساس نتایج FTIR مشاهده گردید که HA سنتزشده در روش اولتراسونیک، با HA سنتزشده به روش تجزیهٔ حرارتی–اولتراسونیک تفاوتی ندارد و نتیجه گرفته شد که مرحلهٔ تجزیه حرارتی در دمای ۸۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد باعث حذف CO_2 نمی‌شود؛ به همین علت، از صدف‌های سفید دریایی (خام) برای سنتز HA استفاده گردید. بر اساس نتایج مشاهده شد که هر چه مدت‌زمان فراصوت بیشتر باشد، نانوذرات در اندازه‌های کوچک‌تر تشکیل می‌شوند.

در FTIR، همهٔ نوارهای جذبی HA در FTIR شناسایی گردیدند. با بررسی FTIR مشاهده شد که این نواحی در هیدروکسی‌آپاتیت سنتزشده در سه روش (اولتراسونیک، روش هیدروترمال و روش تجزیهٔ حرارتی– اولتراسونیک) قابل‌مشاهده است. در طیف به‌دست‌آمده، همهٔ پیک‌های مشخصه پودر هیدروکسی‌آپاتیت وجود دارد. علاوه بر این، پیک‌های مربوط به گروه عاملی کربنات نیز حضور یافته‌اند؛ بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که با استفاده از فرایند اولتراسونیک، هیدروکسی‌آپاتیت کربنات‌دار (نانوساختار) سنتزشده است. در سال ۲۰۲۳، روفینی و همکاران هیدروکسی‌آپاتیت را از کربنات کلسیم و اسید اورتوفسفریک سنتز کردند (۲۷, ۲۸). طیف FTIR آن نشان داد که گروه‌های فسفات در نواحی $1087cm^{-1}$ و هیدروکسیل در نواحی $3000 cm^{-1}$تا ۳۵۰۰۰ مشاهده شدند (۲۸). استفاده از آزمون طیف‌سنجی (FTIR) نیز روشی عمومی برای نشان دادن حضور بنیان‌های کربناتی در ساختار هیدروکسی‌آپاتیت است. همان‌طور که مشخص است، سنتز هیدروکسی‌آپاتیت معمولاً در محیط آبی صورت می‌گیرد و به علت وجود فازهای آمورف در ساختار پودر هیدروکسی‌آپاتیت، امکان وارد شدن آب به ساختار هیدروکسی‌آپاتیت وجود دارد (۲۹). علاوه بر این، منشأ آب جذب‌شده می‌تواند از محیط اطراف و یا دستگاه طیف‌سنج FTIR نیز باشد؛ بنابراین، همواره در طیف‌های FTIR پیک‌های مربوط به آب جذب‌شده نیز مشاهده می‌شوند.

نتایج FE-SEM نشان داد که با افزایش مدت‌زمان فراصوت، اندازهٔ ذرات کوچک‌تر خواهد شد. مورفولوژی و اندازهٔ ذرات HA سنتزشده توسط SEM و FE-SEM، nm 5/16 -80/70 مشاهده شد. در مطالعهٔ ما جی و همکاران در سال ۲۰۱۹، نشان داده شد که مورفولوژی و اندازهٔ نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت با تغییر شرایط محیطی (دما، حلال و pH) تغییر می‌کند. پودر هیدروکسی‌آپاتیت با اندازهٔ نانومتریک در کمتر از ۵۰ نانومتر با روش فعال‌سازی مکانیکی تولیدشده است. ازآنجایی‌که هیدروکسی‌آپاتیت نانوکریستالی با مورفولوژی کروی، سوزنی‌شکل و لوله‌ای‌مانند است در مقایسه با مورفولوژی‌های نامنظم در فرایند استخوان‌سازی از اهمیت بیشتری برخوردار است ۵)۱).

سنتز هیدروکسی‌آپاتیت به روش اولتراسونیک مقرون‌به‌صرفه‌تر و راحت‌تر و در زمان کمتری نسبت به دو روش دیگر انجام شد. تک فازی بلورهای هیدروکسی آپاتیت سنتزشده در صفحات کریستالوگرافی (۰۰۲)، (۲۱۱)، (۱۱۲)، (۳۰۰)، (۲۰۲)، (۳۱۰)، (۲۲۲)، (۲۱۳)، (۳۲۱) و (۰۰۴) متعلق به HA سنتزشده را نشان می‌دهد که در نتایج قابل‌مشاهده است. طبق XRD، ذرات HA به‌صورت کریستال شش‌ضلعی مشاهده گردید. بر اساس نتایج XRD دیده شد که هرچه مدت‌زمان سنتز HA با روش اولتراسونیک بیشتر باشد، ذرات ریزتر و سوزنی‌مانند سنتز می‌شوند. همان‌طور که در شکل (۲. C) مشاهده می‌شود، بر اساس استاندارد، همهٔ قله‌ها مربوط به هیدروکسی‌آپاتیت خالص است (۲۹, ۳۰).

با تجزیه‌وتحلیل EDX درصد عناصر موجود در HA سنتزشده به روش اولتراسونیک بررسی شد. تجزیه‌وتحلیل

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

EDX شواهدی از وجود عناصر فسفر، اکسیژن و کلسیم در مادهٔ سنتزشده (هیدروکسی‌آپاتیت) را نشان داد (۳۰, ۳۱). سازگاری خونی و سلولی نانوکریستال‌های سنتزشده با هر سه روش، نتایج مطلوبی به همراه داشتند. در مطالعات انجام‌شده مشاهده گردید که هیچ سمیت سلولی، اختلال در چسبندگی سلول و کاهش زنده ماندن سلول وجود ندارد و در نتایج سازگاری خونی و سلولی قابل‌مشاهده است (۳۲). سازگاری سلولی با روش MTT سنجیده شد و بر اساس نتایج مشاهده گردید که هیدروکسی‌آپاتیت به‌دست‌آمده بقای سلولی و زیست‌سازگاری مناسبی با سلول‌های شبه‌استخوانی (MG63) نشان می‌دهد (۳۳-۳۵).

در مطالعهٔ حاضر، از نانوکریستال‌های هیدروکسی آپاتیت از صدف‌های دریایی به‌عنوان منابع زیستی غنی از هیدروکسی‌آپاتیت، در دسترس و ارزان‌قیمت برای سنتز این ساختارها بهره گرفته شد. هدف این مطالعه بهینه‌سازی روش سنتز این نانوساختارها بود که بر اساس نتایج، روش اولتراسونیک در مقایسه با دو روش دیگر، از نظر بازده محصول، مقرون‌به‌صرفه بودن و زمان کوتاه‌تر برتری نشان داد. با توجه به کاربرد وسیع هیدروکسی آپاتیت در پزشکی، توسعهٔ منابع و بهینه‌سازی روش‌های سنتز این محصول می‌تواند بسیار ارزشمند باشد.

سپاس‌گزاری

از معاونت محترم تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به سبب حمایت‌های مالی تقدیر و تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ تضاد منافع را اعلام نمی‌کنند.

کد اخلاق

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی مصوب با کد ۵۰۰۰۴۰۸۱ معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه با شناسهٔ اخلاق IR.KUMS.REC.1403.024 است.

حمایت مالی

از معاونت محترم تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به سبب حمایت‌های مالی تقدیر و تشکر می‌گردد.

مشارکت نویسندگان

[ژیلا ایزدی]: مفهوم سازی، ایده ها، بررسی، مدیریت داده ها، نظارت، مدیریت پروژه.

[مهسا عباسی، حسین درخشان‌خواه، سهیلا کاشانیان و محمد سلیمان بیگی]: مشارکت اخلاقی در روش‌شناسی، نرم‌افزار، اعتبارسنجی، تحلیل رسمی، تحقیق، منابع، گردآوری داده‌ها، نگارش - پیش‌نویس اصلی، نگارش - بررسی و ویرایش.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

References

1. Chitra S, Rajeshkumar S, Ramya R, Bargavi P, Balakumar S. Probing the biocompatibility and antioxidant properties of Cissus quadrangularis conjugated bioactive glass and hydroxyapatite towards regeneration application. Inorg Chem Commun 2023;157:111398. doi: 10.1016/j.inoche.2023.111398.
2. Abdian N, Etminanfar M, Sheykholeslami SOR, Hamishehkar H, Khalil-Allafi J. Preparation and characterization of chitosan/hydroxyapatite scaffolds containing mesoporous SiO2-HA for drug delivery applications. Mater Chem Phys 2023;301:127672. doi: 10.1016/j.matchemphys.2023.127672.
3. Arokiasamy P, Abdullah MMAB, Abd Rahim SZ, Luhar S, Sandu AV, Jamil NH, et al. Synthesis methods of hydroxyapatite from natural sources: A review. Ceram Int 2022;48:14959-79. doi: 10.1016/j.ceramint.2022.03.064.
4. Pavlychev A, Brykalova X, Korneev A, Cherny A, Kornilov N. Specific Features of the Crystal Structure of Calcium Hydroxyapatite in Native Bone Tissue. Crystallogr Rep 2024;69:38-44. doi:10.1134/S1063774523601326.
5. Xiao D, Zhang J, Zhang C, Barbieri D, Yuan H, Moroni L, et al. The role of calcium phosphate surface structure in osteogenesis and the mechanisms involved. Acta Biomater 2020;106:22-33. doi: 10.1016/j.actbio.2019.12.034.
6. Yang-Zhou CH, Cao JX, Dong SS, Chen SH, Michael RN. Phosphorus co-existing in water: a new mechanism to boost boron removal by calcined oyster shell powder. Molecules 2021;27:54. doi: 10.3390/molecules27010054.
7. Sricharoen P, Limchoowong N, Nuengmatcha P, Chanthai S. Ultrasonic-assisted recycling of Nile tilapia fish scale biowaste into low-cost nano-hydroxyapatite: Ultrasonic-assisted adsorption for Hg2+ removal from aqueous solution followed by "turn-off" fluorescent sensor based on Hg2+-graphene quantum dots. Ultrason Sonochem 2020;63:104966. doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.104966.
8. Anandan D, Jaiswal AK. Synthesis methods of hydroxyapatite and biomedical applications: an updated review. ACSJ 2024;60:663-79. doi: 10.1007/s41779-023-00943-2.
9. Indira J, Malathi K. Comparison of template mediated ultrasonic and microwave irradiation method on the synthesis of hydroxyapatite nanoparticles for biomedical applications. Mater Today 2022;51:1765-9. doi: 10.1016/j.matpr.2021.03.028.
10. Osuchukwu OA, Salihi A, Abdullahi I, Etinosa PO, Obada DO. A comparative study of the mechanical properties of sol-gel derived hydroxyapatite produced from a novel mixture of two natural biowastes for biomedical applications. Sci Rep 2022;12:17968. doi: 10.1038/s41598-022-22888-5.
11. Hajibeygi M, Mousavi M, Shabanian M, Habibnejad N, Vahabi H. Design and preparation of new polypropylene/magnesium oxide micro particles composites reinforced with hydroxyapatite nanoparticles: A study of thermal stability, flame retardancy and mechanical properties. Mater Chem Phys 2021;258:123917. doi: 10.1016/j.matchemphys.2020.123917.
12. Yinka KM, Olayiwola AJ, Sulaiman A, Ali A, Iqbal F. Preparation and characterization of hydroxyapatite powder for biomedical applications from giant African land snail shell using a hydrothermal technique. EASR 2020;47. doi: 10356/66023.
13. Lin DJ, Lin HL, Haung SM, Liu SM, Chen WC. Effect of ph on the in vitro biocompatibility of surfactant-assisted synthesis and hydrothermal precipitation of rod-shaped nano-hydroxyapatite. Polymers 2021;13:2994. doi: 10.3390/polym13172994.
14. Molino G, Palmieri MC, Montalbano G, Fiorilli S, Vitale-Brovarone C. Biomimetic and mesoporous nano-hydroxyapatite for bone tissue application: A short review. Biomed Mater 2020;15:022001. doi: 10.1088/1748-605X/ab5f1a.
15. Kadu K, Kowshik M, Ramanan SR. Does the nanoparticle morphology influence interaction with protein: A case study with hydroxyapatite nanoparticles. Mater Today Commun 2021;26:102172. doi: 10.1016/j.mtcomm.2021.102172.
16. Upadhyay P, Ullah A. Facile synthesis of hydroxyapatite nanoparticles from eggshell biowaste using Azadirachta indica extract as a green template. New J Chem 2024;48:1424-35. doi: 10.1039/D3NJ01715J.
17. Prakash VCA, Venda I, Thamizharasi V, Sathya E. A new attempt on synthesis of spherical nano hydroxyapatite powders prepared by dimethyl sulfoxide-poly vinyl alcohol assisted microemulsion method. Mater Chem Phys 2021;259:124097. doi: 10.1016/j.matchemphys.2020.124097.
18. Orasugh JT, Ghosh SK, Chattopadhyay D. Nanofiber-reinforced biocomposites. Fiber-reinforced nanocomposites: fundamentals and applications: Elsevier; 2020. p. 199-233. doi: 10.1016/B978-0-12-819904-6.00010-4.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

19. Raja PB, Munusamy KR, Perumal V, Ibrahim MNM. Characterization of nanomaterial used in nanobioremediation. Nano-bioremediation: fundamentals and applications: Elsevier; 2022. p. 57-83. doi: 10.1016/B978-0-12-823962-9.00037-4.
20. Jia B, Yang H, Han Y, Zhang Z, Qu X, Zhuang Y, et al. In vitro and in vivo studies of Zn-Mn biodegradable metals designed for orthopedic applications. Acta Biomater 2020;108:358-72. doi: 10.1016/j.actbio.2020.03.009.
21. Kumar K, Das A, Prasad SB. Biodegradable metal matrix composites for orthopedic implant applications: A review. Advances in Engineering Materials: Select Proceedings of FLAME 2020. 2021:557-65. doi: 10.1007/978-981-33-6029-7_52.
22. Díaz-Cuenca A, Rabadjieva D, Sezanova K, Gergulova R, Ilieva R, Tepavitcharova S. Biocompatible calcium phosphate-based ceramics and composites. Mater Today 2022;61:1217-25. doi: 10.1016/j.matpr.2022.01.329.
23. Josephin A, Intan N, Basari B, Rahman SF, editors. Extraction of collagen and hydroxyapatite from fish for bone scaffold: A review. AIP Conference Proceedings; 2024: AIP Publishing. doi: 10.1063/5.0198630.
24. Sans J, Sanz V, Puiggalí J, Turon P, Alemán C. Controlled anisotropic growth of hydroxyapatite by additive-free hydrothermal synthesis. Crystal Growth Design 2020;21:748-56. doi: 10.1021/acs.cgd.0c00850.
25. Verma R, Mishra SR, Gadore V, Ahmaruzzaman M. Hydroxyapatite-based composites: Excellent materials for environmental remediation and biomedical applications. Adv Colloid Interface Sci 2023:102890. doi: 10.1016/j.cis.2023.102890.
26. Zastulka A, Clichici S, Tomoaia-Cotisel M, Mocanu A, Roman C, Olteanu CD, et al. Recent trends in hydroxyapatite supplementation for osteoregenerative purposes. Materials 2023;16:1303. doi: 10.3390/ma16031303.
27. Rajkumar P, Sarma BK. Role of Zn and Mg substitutions on the mechanical behaviour of biomimetic hydroxyapatite and insight of the emergence of hydroxyapatite-ZnO nanocomposite. Mater Charact 2021;176:111107. doi: 10.1016/j.matchar.2021.111107.
28. Filip DG, Surdu VA, Paduraru AV, Andronescu E. Current development in biomaterials—hydroxyapatite and bioglass for applications in biomedical field: a review. J Funct Biomater 2022;13:248. doi: 10.3390/jfb13040248.
29. Pu'ad NM, Haq RA, Noh HM, Abdullah H, Idris M, Lee T. Synthesis method of hydroxyapatite: A review. Mater Today 2020;29:233-9. doi: 10.1016/j.matpr.2020.05.536.
30. Gani MA, Budiatin AS, Shinta DW, Ardianto C, Khotib J. Bovine hydroxyapatite-based scaffold accelerated the inflammatory phase and bone growth in rats with bone defect. J Appl Biomater Funct Mater 2023;21:22808000221149193. doi: 10.1177/22808000221149193.
31. Surya P, Nithin A, Sundaramanickam A, Sathish M. Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite from Sardinella longiceps fish bone and its effects on human osteoblast bone cells. J Mech Behav Biomed Mater 2021;119:104501. doi: 10.1016/j.jmbbm.2021.104501.
32. Khosalim IP, Zhang YY, Yiu CKY, Wong HM. Synthesis of a graphene oxide/agarose/hydroxyapatite biomaterial with the evaluation of antibacterial activity and initial cell attachment. Sci Rep 2022;12:1971. doi: 10.1038/s41598-022-06020-1.
33. Ijaz I, Gilani E, Nazir A, Bukhari A. Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. GCLR 2020;13:223-45. doi: 10.1080/17518253.2020.1802517.
34. Elbasuney S. Green synthesis of hydroxyapatite nanoparticles with controlled morphologies and surface properties toward biomedical applications. J Inorg Organomet Polym Mater 2020;30:899-906. doi: 10.1007/s10904-019-01247-4.
35. Vinayagam R, Pai S, Murugesan G, Varadavenkatesan T, Kaviyarasu K, Selvaraj R. Green synthesized hydroxyapatite nanoadsorbent for the adsorptive removal of AB113 dye for environmental applications. Environ Res 2022;212:113274. doi: 10.1016/j.envres.2022.113274.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]