

- [1] Majewski S.: Podstawy protetyki w praktyce lekarskiej i technice dentystycznej. Wydawnictwo Stomatologiczne SZS-W w Krakowie. Kraków 2000.
- [2] Majewski S.: Propedeutyka klinicznej i laboratoryjnej protetyki stomatologicznej. Wydawnictwo Medyczne Sanmedica. Warszawa 1997.
- [3] Yamamoto M.: Podstawowa technika budowania warstw porcelany na metalu. Wydawnictwo Quintesencja, 1999.
- [4] Matraszek H. Badanie twardości powłok kompozytowych na podłożach tytanowych. Ogólnopolska XIX konferencja naukowo-szkoleniowa sekcji protetyki PTS. Jastrzębia Góra 12-14. X. 2001.
- [5] Stoch A.: Ceramiczne powłoki ochronne nanoszone metodą zol-żel i metodą elektroforezy. Materiały IV Krajowej Konferencji Korozyjnej "Korozja '93", Warszawa 1993.

POROWATE SPIEKI BIOAKTYWNE

R. SINDUT*, M. ŁĄCZKA*, K. CHOLEWA-KOWALSKA*,
J. NAJMAN**, J. SZYMONSKA***

*AGH- WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA TECHNOLOGII SZKŁA I POWŁOK AMORFICZNYCH, KRAKÓW.

**POLITECHNIKA KRAKOWSKA,

WYDZIAŁ INŻYNIERII I TECHNOLOGII CHEMICZNEJ, KRAKÓW.

***AKADEMIA ROLNICZA, WYDZIAŁ ROLNICO-EKONOMICZNY,
KATEDRA CHEMII, KRAKÓW

Streszczenie

Otrzymano porowate spieki bioaktywne z układu $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ o czterech różnych składach chemicznych, charakteryzujących się odmiennym stosunkiem molowym CaO do SiO_2 (S2, II, I, A2). Przy wytwarzaniu spieków wykorzystano metodę osadzania masy leejnej na podłożu organicznym. Proszki wyjściowe wytworzono na drodze syntezy zol-żel z następujących związków chemicznych: $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$; $\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Zmielony proszek mieszano z różnymi dodatkami celem otrzymania masy leejnej o odpowiedniej konsystencji. Ostatecznie wybrano jako dodatki - skrobię (50% wag.) i metylcelulozę (2% wag.). Jako podłoże organiczne zastosowano gąbki polimerowe. Gąbki polimerowe nasączano masą leejną i poddawano procesowi suszenia. Następnie przeprowadzono obróbkę termiczną mającą na celu wypalenie podłoża organicznego i spiekanie materiału. Maksymalna temperatura spiekania wynosiła 1250°C . Dobierając odpowiednio warunki spiekania uzyskano, w rezultacie tego procesu, trwałe materiały o wysokiej porowatości sięgającej nawet 77%. Struktura porowata charakteryzowała się przy tym przewagą drobnych makroporów o zbliżonych rozmiarach, równomiernie rozłożonych w materiale. Dla otrzymanych podanym sposobem spieków przeprowadzono badania składu fazowego metodą dyfrakcji rentgenowskiej oraz test bioaktywności *in vitro* w symulowanym osoczu (SBF). Stwierdzono że wytworzone spieki to tworzywa szkło-krystaliczne, w których obok fazy szklistej obecne są fazy krzemianowe, a w spieku A2 o

- [6] Stoch A., Matraszek H., Długoń E., Cz. Paluszkiwicz: "Silica sol-gel sublayers in the titanium-alloy-ceramic joints on dental devices." International Conference on Sol-Gel Materials' 03. 15-20 June 2003 Szklarska Poręba, Poland.
- [7] Matraszek H., Stoch A., Paluszkiwicz Cz., A. Brożek, E. Długoń: Zastosowanie metody zol-żel w praktyce dentystycznej. Inżynieria Biomateriałów 2002 nr 23, 24, 25. 72. (72-74). 2.
- [8] Majewski S.: Protetyka stałych uzupełnień zębowych. Wydawnictwo SZS-W. Kraków 1998.
- [9] Kupper H. Czysty tytan jako alternatywny materiał w protetyce stomatologicznej. Quintessence, 1994, 7.
- [10] Romanowicz M., Janicki M.: Tytan -zastosowanie w protetyce, nowe możliwości przy wykonywaniu stałych i ruchomych uzupełnień protetycznych, Stomatologia Współczesna, 1998.
- [11] Majewski S.: Wprowadzenie do klinicznej i laboratoryjnej protetyki stomatologicznej. Wydawnictwo AM, Kraków 1991.

POROUS BIOACTIVE SINTERS

R. SINDUT*, M. ŁĄCZKA*, K. CHOLEWA-KOWALSKA*,
J. NAJMAN**, J. SZYMONSKA***

*AGH-UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FAC. OF MAT. SCI. AND CERAMICS, DEPT. OF GLASS TECHNOLOGY AND AMORPHOUS COATING, KRAKOW, POLAND

**CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FAC. OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY, KRAKOW, POLAND

***AGRICULTURAL UNIVERSITY OF CRACOW, FAC. OF AGRICULTURE AND ECONOMY, DEPT. OF CHEMISTRY, KRAKOW, POLAND

Abstract

There have been obtained porous bioactive sinters from the system $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, of four various chemical compositions, characterized by different molar ratio of CaO to SiO_2 (S2, II, I, A2). The method of deposition of the casting slip on an organic substrate was used. The starting powders were obtained by sol-gel synthesis from the following chemical compounds: $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$; $\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Ground powder was mixed with various additions to obtain the casting slip of appropriate consistence. The selected additions to obtain the casting slip of appropriate consistence. The selected additions were: starch (50 wt %) and methyl cellulose (2 wt %). Polymeric sponge was used as the organic substrate. The sponge was saturated with the casting slip and subjected to the process of drying and afterwards to thermal treatment with the aim of burning-out the organic substrate and sintering of the material. The maximal sintering temperature was 1250°C . By selecting appropriate conditions of sintering, as a result of this process, a durable material of high porosity up to 77 % was obtained. Its porous structure was characterized by a prevailing number of small micropores of similar dimensions, uniformly distributed in the material. Sinters obtained by the above method were subjected to investigations of their phase composition by the X-ray diffraction method and to a test of bioactivity *in vitro* in simulated body fluid (SBF). It has been found that the produced sinters represent glass-ceramic materials in which, beside the glossy phase, the sili-

najwyższej koncentracji wapnia - również fosforan wapnia (apatyt). Test w SBF wykazał, że po siedmiu dniach kontaktu z symulowanym osoczem powierzchniowa krystalizacja hydroksyapatytu, wskazująca na bioaktywne właściwości materiału, występuje jedynie w przypadku spieku o najwyższej koncentracji wapnia (A2). W przypadku pozostałych spieków zaobserwowano zmiany morfologii powierzchni, jednakże bez wyraźnych zmian w składzie chemicznym warstwy powierzchniowej.

[Inżynieria Biomateriałów, 45, (2005), 16-23]

Wprowadzenie

Ceramiczne materiały bioaktywne bazują na układzie $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$. [1,2] Mogą to być zarówno szkła jak i tworzywa szklano-krystaliczne z hydroksyapatytem i wollastonitem jako głównymi fazami krystalicznymi. Powinny one z założenia spełniać następujące wymagania:

- być biozgodne
- posiadać postać dogodną dla zastosowania klinicznego
- przyspieszać regenerację tkanki kostnej

Materiały te w kontakcie z płynami ustrojowymi formują na swojej powierzchni warstwę hydroksyapatytu, poprzez którą materiał zastosowany jako implant, trwale łączy się z kością w żywym organizmie [3].

W ostatnich latach duże zainteresowanie wzbudza tzw. nowa generacja materiałów bioaktywnej o podwyższonej bioaktywności, rozumianej przede wszystkim jako zdolność stymulacji naturalnych tkanek do szybszej regeneracji [4, 5]. Do wytwarzania tego typu materiałów stosowana jest metoda chemiczna zol-żel, umożliwiająca wytworzenie biomateriałów o wysokim stopniu aktywności powierzchniowej zarówno pod względem chemicznym jak i biologicznym [6]. Metoda ta pozwala na wytworzenie biomateriałów w postaci proszków i granul, gęstych i porowatych spieków oraz cienkich powłok na bioobojętnych podłożach. Jak dotąd jednak brak pełnego rozeznania, w jaki sposób parametry materiałowe, takie jak stan powierzchni, struktura porowata, skład chemiczny i fazowy itp. wpływają na właściwości bioaktywne tego typu materiałów, co jednocześnie uniemożliwia przeprowadzenie w pełni kontrolowanego procesu ich wytwarzania.

Szczególnie mało informacji w literaturze światowej znaleźć można na temat bioaktywnych, porowatych spieków otrzymanych z proszków pochodzenia żelowego, a właśnie ten typ materiałów wydaje się szczególnie interesujący dla chirurgii naprawczej i innych zastosowań. W przypadku takich materiałów, poprzez odpowiedni dobór składu chemicznego proszków wyjściowych oraz warunków spiekania, istnieje możliwość wytworzenia implantów, zamocowujących się w tkance macierzystej zarówno na sposób biologiczny (przerastanie tkanki poprzez strukturę porowatą) jak i chemiczny (połączenie z tkanką macierzystą poprzez warstwę hydroksyapatytu, krystalizującą na powierzchni biomateriału).

Celem pracy było wytworzenie bioaktywnych spieków porowatych z proszków pochodzenia żelowego o różnym składzie chemicznym oraz określenie ich składu fazowego i mikrostruktury. Starano się również wstępnie ocenić właściwości bioaktywne spieków na podstawie testu *in vitro* w symulowanym osoczu [6].

Materiały i metody

Skład chemiczny materiałów wyjściowych

Do badań wytypowano biomateriały z układu $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ o składach chemicznych podanych w TABELI 1.

cate phases are present, and in the A2 sinter, with the highest calcium concentration - also the calcium phosphate (apatite) is present. Test in SBF has shown that after seven days of contact with simulated body fluid the surface crystallization of hydroxyapatite which is the indication of the bioactive properties of the material, appears only in the case of a sinter with the highest calcium concentration (A2). In the case of the other sinters there have been observed changes in the morphology of the surface, however without any distinct changes in the chemical composition of the surface layer.

[Engineering of Biomaterials, 45, (2005), 16-23]

Introduction

Ceramic bioactive materials are based on the system $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ [1,2].

These may be either glasses or glass ceramics with hydroxyapatite and wollastonite as the main crystal phases. It is assumed that they satisfy the following requirements:

- they are biocompatible,
- they have a form suitable for clinical application,
- they contribute to the regeneration of the osseous tissue.

These materials, unlike the bionutral ones, when in contact with the body fluids form on their surface a layer of hydroxyapatite, through which the material used as the implant, forms a permanent bond with the bone in a living organism [3].

In recent years a great interest has been aroused by the so-called new generation of bioactive materials with increased bioactivity, interpreted mainly as the ability to simulate live tissue to faster regeneration [4, 5]. To produce materials of this type, the chemical sol-gel method is used, which enables to obtain biomaterials of high degree of both chemical and biological surface activity [6]. This method allows to produce biomaterials in the form of powders, granules, dense and porous sinters as well as thin coatings on bionutral substrates. So far, however, it has not been fully recognized in what way the material parameters, such as the conditions of the surface, the porous structure, the chemical and the phase composition etc. influence the bioactive properties of this type of materials which as a consequence makes it impossible to carry out a fully controlled process of their production. There is little information in the world literature about bioactive, porous sinters obtained from gel-derived powders, and it is just this type of materials which appears to be especially interesting for plastic surgery and other applications. In case of such materials, through proper selection of the chemical composition of the starting powders and the sintering conditions, there exists the possibility to fabricate implants which become firmly fixed in the parent tissue both biologically (the tissue is intertwined by the porous structure) and chemically (joint with the parent tissue through a layer of hydroxyapatite, crystallizing on the surface of the biomaterial).

The aim of the authors was the production of bioactive porous sinters from gel-derived powders and of various chemical composition and accurate description of their microstructure. An attempt was also made at approximate estimation of the bioactive properties of the sinters on the basis of *in vitro* test in simulated body fluid.

Materials and methods

Chemical composition of the starting materials

For investigations there were selected biomaterials from the system $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ with the chemical compositions

	S2	II	I	A2
SiO ₂	80	72	64	40
CaO	16	24	30	54
P ₂ O ₅	4	4	6	6
CaO/SiO ₂	0,2	0,33	0,47	1,35

TABELA 1. Składy chemiczne materiałów wyjściowych [% mol].

TABLE 1. Chemical composition of the starting materials [mole %].

Taki wybór składów chemicznych pozwalał na uzyskanie materiałów o zróżnicowanym stosunku molowym składników, mających zasadniczy wpływ na właściwości bioaktywne, czyli CaO i SiO₂.

Preparatyka proszków

Proszki, stanowiące materiał wyjściowy do wytwarzania porowatych spieków, otrzymywano na drodze syntezy chemicznej zol-żel.

Do przygotowania roztworów wyjściowych użyto następujących odczynników:

- tetraetoksykrzemian (TEOS) Si(OC₂H₅)₄ (Fluka)
- trietanolan fosforu OP(OC₂H₅)₃ (Fluka)
- czterowodny azotan wapnia Ca(NO₃)₂ · 4H₂O (Merck)
- alkohol etylowy (rozpuszczalnik) C₂H₅OH
- HCl (katalizator)

Uzyskane roztwory zostały pozostawione w warunkach otoczenia aż do żelowania, które następowało w przedziale od dwóch do siedmiu dni, w zależności od rodzaju zastosowanych prekursorów odpowiednich tlenków. Żele były suszone w temperaturze otoczenia przez 2 tygodnie.

Wysuszone żele zostały poddane obróbce termicznej:

- Wieloetapowemu wygrzewaniu kolejno do temperatur: 200, 400, 600 i 800°C - żel A2
- Jednoetapowemu wygrzewaniu do temperatury 700°C i przetrzymaniu w tej temperaturze przez 20 godzin - żel S2, I, II.

Otrzymany materiał był mielony w młynie obrotowo wirowym do wielkości ziaren 2-4 μm. Wytworzone w ten sposób proszki posłużyły jako materiał wyjściowy do badań nad otrzymaniem porowatych spieków.

Otrzymywanie spieków

W celu otrzymania porowatych spieków zastosowano metodę dodatków wypalających się oraz osadzania masy lejnnej na podłożu organicznym. Zmielony proszek był mieszany z różnymi dodatkami (dekstryna, metylceluloza, skrobia) aż do uzyskania masy lejnnej o właściwej konsystencji. W zastosowanej metodzie wykorzystano jako podłoże organiczne, gąbkę polimerową (polymeric sponge method).

Schemat wytwarzania spieków z wykorzystaniem gąbki polimerowej przedstawiono na RYS. 1.

Gąbki polimerowe były nasączone masą lejnnej i poddawane procesowi suszenia w temp. 70°C przez 1 godzinę. Następnie prowadzony był proces wypalania podłoża organicznego w temperaturze 700°C. Wielokrotne próby otrzymywania materiałów porowatych zastosowaną metodą wykazały, że proces spiekania przebiegał najkorzystniej w przypadku wyjściowej mieszaniny o składzie: bioszkło (A2, S2, I, II) + skrobia + metylceluloza. Przeprowadzono również eksperymenty z innymi dodatkami organicznymi (np. dekstryna), jak również z dodatkiem roztworu kwasu H₃PO₄. Próby te jednak doprowadzały do zniszczenia materiału podczas obróbki termicznej. Spiekanie było przeprowadzone

shown in TABLE 1. Such selection of the chemical compositions allowed to obtain materials of differentiated molar ratio of the components, which have essential influence on the bioactive properties, i.e. CaO and SiO₂.

Preparation of powders

Powders, which were the starting material for the production of porous sinters, were obtained by way of sol-gel chemical synthesis. The following reagents were used to prepare the starting solutions:

- Si(OC₂H₅)₄ (TEOS) (Merck, Darmstadt, Germany),
- OP(OC₂H₅)₃ (Merck),
- Ca(NO₃)₂ · 4H₂O (POCH) (Gliwice, Poland),
- ethanol was used as a solvent,
- hydrochloric acid (HCl) as a catalytic agent, and distilled water.

The obtained solutions were kept in ambient conditions until gelation which took place at the intervals from two to seven days, depending on the type of the applied precursors of the respective oxides. The gels were allowed to dry at ambient temperature for 2 weeks.

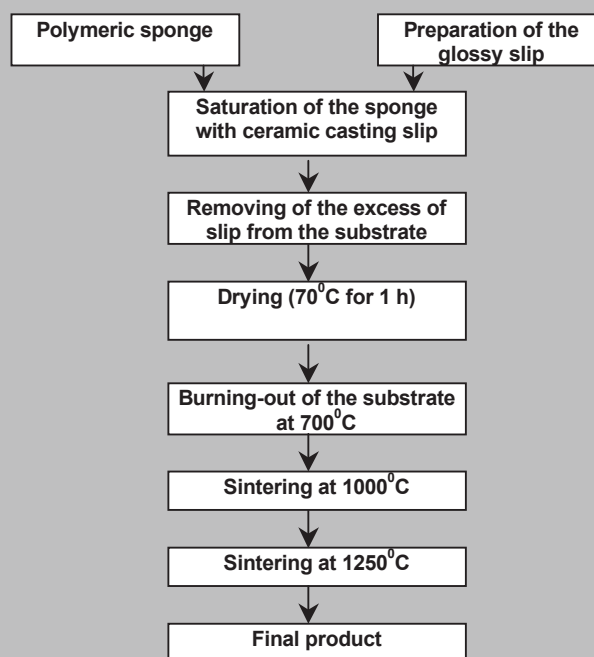
Dried gels were subjected to thermal treatment:

- multi-stage heating, successively up to the temperatures: 200, 400, 600 and 800°C - gel A2
- single-stage heating to the temperature 700°C and keeping at this temperature for 20 hours - gel S2, I, II.

The obtained material in the form of irregular, fine grains was ground in a rotating- vibrating mill until the grain fraction 2-4 mm was obtained. Powders obtained in this way were used as the starting material in the investigations of the method of producing porous sinters.

Obtaining of the sinters

To obtain the porous sinters a method of burning additions and deposition of the casting slip on a organic substrate was used. The ground powder was mixed with various additions (dextrin, methyl cellulose, starch) until the casting slip of appropriate consistence was obtained. In the applied method the polymeric sponge was used as a substrate (polymeric sponge method). The scheme of production of sinters using polymeric sponge is shown in FIG. 1.



RYS. 1. Schemat wytwarzania porowatych spieków.

FIG. 1. The scheme of production of sinters.



RYS. 2. Otrzymane materiały porowate.
FIG. 2. Photo of obtained sinters.

wieloletowo w temperaturach 1000 i 1250°C. Temperatury te zostały dobrane eksperymentalnie na podstawie wstępnych badań, które wykazały, że obróbka termiczna w tych temperaturach pozwala otrzymać spieki o największej trwałości mechanicznej. Stwierdzono ponadto, że dalszą poprawę parametrów mechanicznych spieków można uzyskać poprzez powtórne wypalanie materiału w temperaturach 1000 i 1200°C; wpływa to jednak na zmniejszenie porowatości spieków, co z punktu widzenia zastosowań medycznych może być niepożądane.

Porowate spieki, otrzymane opisaną metodą, obrazują fotografie na RYS. 2.

Charakterystyka porowatych spieków

Dla przygotowanych w ten sposób materiałów przeprowadzono następujące obserwacje i badania:

- obserwacje SEM wraz z analiza EDAX spieku (JEOL 5400, Tokyo, Japan, LINK ISIS 300) (RYS. 3-4)
- pomiary gęstości helowej, pozornej oraz porowatości (GeoPyc 1360) (TAB. 2).
- określenie składu fazowego materiału przy pomocy dyfrakcyjnej analizy rentgenowskiej (dyfraktometr DRON-3, promieniowanie monochromatyczne CuK α o długości fali 1,5481 Å, w zakresie kątowym 2θ od 150 do 700) (RYS.5)
- przeprowadzenie testu w symulowanym osoczu (SBF) obejmującego:
 - zbadanie zmian pH oraz zawartości jonów wapnia w roztworze SBF w okresie 7dni; (RYS. 6)
 - ocena zmian zachodzących na powierzchni warstwy po kontakcie 7 dni z SBF (obserwacje SEM, analiza EDAX) (RYS. 7-8).

Wyniki

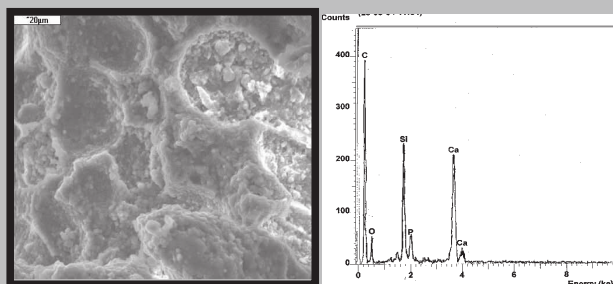
Charakterystyka otrzymanych spieków porowatych

Uzyskane materiały były mechanicznie trwałe, o dużej ilości porów otwartych.

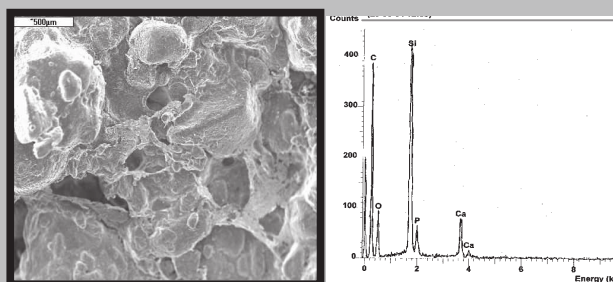
Z obserwacji w mikroskopie skaningowym wynikało, że najkorzystniejszą strukturę porowatą (drobne pory o zbliżonych rozmiarach, równomiernie rozłożone w materiale) posiadają spieki otrzymane z mieszaniny: bioszkło (A2, S2, I, II) + skrobia + metylceluloza, w wyniku wielostopniowej obróbki termicznej do maksymalnej temperatury 1250°C (RYS. 3-4). W innych przypadkach obserwowano gorszy rozkład i wielkość porów.

Gęstość helowa uzyskanych materiałów wahała się w zakresie od 2,6776-3,192 g/cm³ a porowatość całkowita wynosiła od 55,0 do 77,8 % (TAB. 2).

Badania dyfrakcyjne (RYS.5) spieków otrzymanych z proszku A2 wskazują na obecność faz krystalicznych: apa-



RYS. 3. Powierzchnia spieku otrzymanego z materiału A2 oraz analiza powierzchni EDAX.
FIG. 3. SEM and EDAX analysis of sinter produced from A2 powder.



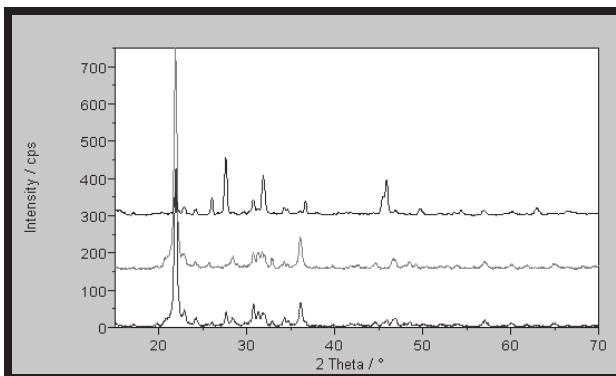
RYS. 4. Powierzchnia spieku otrzymanego z materiału S2 oraz analiza powierzchni EDAX.
FIG. 4. SEM and EDAX analysis of sinter produced from S2 powder.

Polymeric sponges were saturated with casting slip and subjected to the process of drying at the temperature 70°C for 1 hour. The next process was burning out the organic substrate at the temperature 700°C. Repeated tests of obtaining porous materials using this method have shown that the course of the interesting process was most successful in case when the composition of the starting solution was as follows: bioglass (A2, S2, I, II) + starch + of methyl cellulose. Sintering was realized in several stages, at the temperatures 1000°C and 1250°C. These temperatures have been selected experimentally on the basis of preliminary investigations which have shown that thermal treatment at these temperatures enables to obtain sinters of highest mechanical stability. Photos in FIG. 2 show the porous sinters obtained by the above described method.

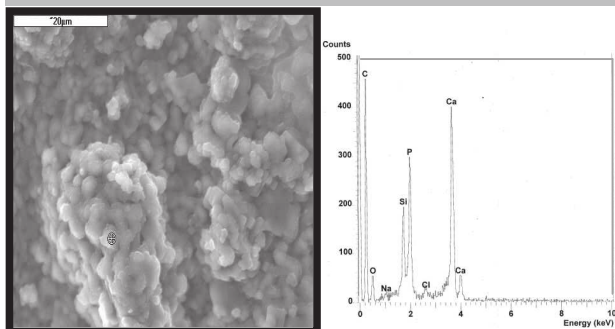
Characteristics of the porous sinters

The materials obtained by the above described method were subjected to the following observations and investigations:

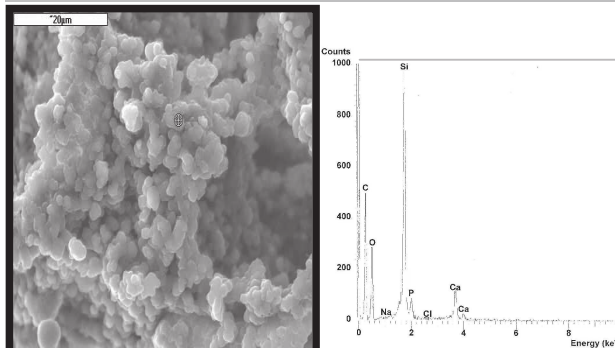
- SEM observations together with EDAX analysis of the sinter (JEOL 5400, Tokyo, Japan, LINK ISIS 300) (FIGs. 3-4),
- Measurements of helium density, of the apparent density and porosity (GeoPyc 1360) (TABLE 2)
- Determination of the phase composition by means of X-ray diffraction analysis (DRON-3 diffractometer, monochromatic irradiation CuK α with the wave length 1.5481 Å, in the angular range 2θ from 150 to 700) (FIG. 5)
- Test for bioactivity in vitro in simulated body fluid (SBF), comprising:
 - Examination of pH changes and of the content of calcium ions in SBF solution after 7 days of contact with the examined biomaterial (FIG. 6)
 - Evaluation of changes occurring on the biomaterial surface after 7 days of contact with SBF (SEM observa-



RYS. 5. Dyfraktogramy materiałów spiekanych A2, S2, I.
FIG. 5. XRD patterns of the A2, S2, I sinters.



RYS. 7. Powierzchnia materiału A2 oraz analiza powierzchni EDAX po 7 dniach kontaktu z SBF.
FIG. 7. SEM and EDAX analysis of sinter produced from A2 powder after 7 days in SBF.



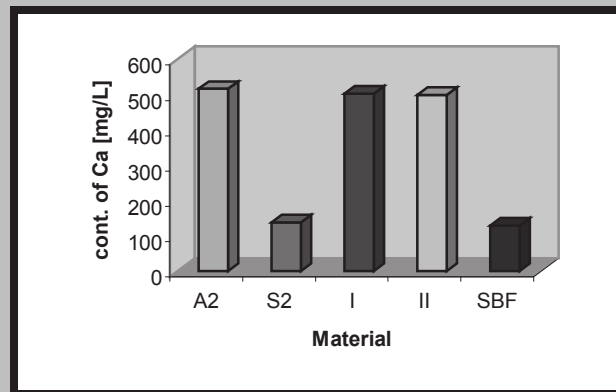
RYS. 8. Powierzchnia materiału S2 oraz analiza powierzchni EDAX po 7 dniach kontaktu z SBF.
FIG. 8. SEM and EDAX of sinter produced from S2 powder after 7 days in SBF.

tytu, CaSiO_3 oraz krystobalitu. Skład fazowy spieków uzyskanych na bazie pozostałych biożelów jest zbliżony i dominującymi fazami krystalicznymi są krystobalit i krzemian wapnia.

Test w SBF

Poddanie otrzymanych spieków pochodzenia żelowego działaniu symulowanego osocza SBF wywołało pewne zmiany w składzie chemicznym osocza, jak również na powierzchni samych materiałów.

Zmiany w składzie SBF spowodowane były rozpuszczalnością materiału. Rozpuszczalność tą oceniano jedynie w



RYS. 6. Zmiany zawartości Ca w SBF po 7 dniach przetrzymywania w nim materiałów porowatych.
FIG. 6. Changes in Ca concentration in SBF after 7 days contact with materials.

		S2	II	I	A2
Helium density [g/cm ³]		2,8975	2,8212	2,6776	3,5192
Apparent density [g/cm ³]		1,3037	0,9403	0,8499	0,7800
Total volume of pores [cm ³ /g]		0,4218	0,7089	0,8030	0,9978
Total porosity [%]		55,0	66,7	68,3	77,8

TABELA 2. Gęstość i porowatość otrzymanych spieków.
TABLE 2. Density and porosity of the obtained sinters.

tions, EDAX analysis) (FIG.7-8).

Results

Characteristics of the obtained porous sinters

The obtained materials were mechanically durable, with a great number of open pores. According to observations made in a scanning microscope the most advantageous porous structure (small pores of similar dimensions, distributed uniformly in the material) was demonstrated by sinters obtained from the following mixture: bioglass (A2, S2, I, II) + starch + of methyl cellulose, as a result of a multi-stage thermal treatment to the maximal temperature 1250°C (FIG. 3-4). In other cases a much less favourable distribution and size of the pores were observed.

Helium density of the obtained materials varied in the range from 2.6776 - 3.192 g/cm³, and the total porosity was from 55.0 to 77.8 % (TABLE 2).

X-ray diffraction analysis (FIG. 5) has revealed in the material produced from A2 powder the presence of such crystal phases as apatite, CaSiO_3 and cristoballite. In the case of a sinter obtained from S2 powder the crystallization of cristoballite and calcium silicate was observed. Diffraction patterns of the sinters II and I were similar to the diffraction of S2 material.

SBF test

Exposing of the obtained sinters to the action of simulated body fluid (SBF) for a period of seven days induced certain changes in the chemical composition of the solution as well as on the surface of these materials.

Changes in the SBF composition were due to the solubility of the material. This solubility was estimated only with

odniesieniu do zawartości wapnia w SBF oraz zmian pH (RYS. 6); w przypadku pozostałych składników nie zaobserwowano ich mierzalnej rozpuszczalności.

Spośród czterech badanych materiałów pochodzenia żelowego, jedynie w przypadku spieku S2, gdzie stosunek $\text{CaO}:\text{SiO}_2$ był najniższy nie wystąpił znaczący ubytek wapnia z materiału po upływie 7 dni kontaktu z SBF, czego konsekwencją był mały wzrost koncentracji Ca w SBF. Nie uległo również znaczącej zmianie pH SBF.

Zachowanie pozostałych spieków (S2, II, I) w roztworze symulowanego osocza było bardzo zbliżone. Rozpuszczalność wapnia z tych materiałów, mimo różnic w ich składzie chemicznym, była praktycznie bardzo podobna i prawie 4-krotnie wyższa niż w przypadku spieku S2. Znacząco również zmieniło się pH roztworu w kierunku środowiska bardziej zasadowego.

Obserwując powierzchnię badanych spieków w mikroskopie skaningowym po 7-dniowym kontakcie z SBF stwierdzono zmianę jej morfologii, polegającą na ujednoczeniu obrazu i występowaniu na powierzchni drobnych kulistych form (RYS. 7-8). Przeprowadzona analiza składu chemicznego EDAX wykazała jednak, że tylko w przypadku spieku A2 występują po kontakcie z SBF wyraźne zmiany chemizmu warstwy powierzchniowej polegające na wzroście koncentracji wapnia i fosforu (RYS. 7) i wskazujące tym samym na powierzchniową krystalizację fosforanów wapnia.

Dyskusja

Zastosowana metoda spiekania z wykorzystaniem osadzenia masy leejnej na podłożu organicznym okazała się dobrym sposobem otrzymywania spieków o korzystnej, z punktu widzenia zastosowań medycznych (implanty), mikrostrukturze. Stosując jako dodatki skrobię oraz metylcelulozę uzyskano spieki charakteryzujące się porowatością otwartą nawet do 77%, co stwarza korzystne warunki dla przeraśnięcia implantu tkanką kostną. Jednocześnie, badania mikrostruktury, przeprowadzone przy pomocy mikroskopu skaningowego wykazały, że wytworzone pory mają zbliżone rozmiary i są równomiernie rozłożone w całym materiale. Uzyskane spieki charakteryzowały się ponadto dobrą trwałością mechaniczną, nie wykazując tendencji do kruszenia się pod wpływem sił nacisku. Pod względem składu fazowego otrzymane materiały należy traktować jako tworzywa szkło-krystaliczne w których krystalizują fazy krzemianowe (krzemionka, krzemiany), a przy wyższych koncentracjach wapnia - również fosforany wapnia.

Oddzielnym problemem jest ocena otrzymanych spieków pod względem ich biogodności i bioaktywności. Materiały otrzymane zostały z proszków pochodzenia żelowego które wcześniej zostały dokładnie przetestowane zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* pod względem ich biogodności [6]. Można sądzić, że i spieki otrzymane z tych proszków charakteryzować się będą dobrą biogodnością, jednakże odpowiednie testy, w przypadku planowanych badań klinicznych, muszą być dla nich przeprowadzone.

Prowadząc badania nad otrzymaniem porowatych spieków z proszków pochodzenia żelowego oczekiwano, że spieki te, podobnie jak proszki, będą wykazywać właściwości bioaktywne, których skutkiem może być:

- łączenie się z tkanką macierzystą poprzez warstwę hydroksyapatytu krystalizującą na powierzchni biomateriału;
- pobudzenie naturalnych tkanek do szybszej regeneracji.

Potwierdzenie takich działań można uzyskać jedynie w wyniku odpowiednich testów *in vivo*, natomiast wstępna ocenę bioaktywnych właściwości spieków daje test *in vitro* w symulowanym osoczu SBF; test ten pozwala ocenić, czy w wyniku kontaktu z symulowanym osoczem na powierzch-

reference to calcium content in SBF and pH changes (FIG. 6). In the case of the other components any measurable solubility has not been noticed.

From among the four examined gel-derived materials only in the case of S2 sinter, in which the $\text{CaO}:\text{SiO}_2$ ratio was the lowest, any marked loss of calcium in the material after 7 days long contact with SBF did not occur, the consequence of which was a small increase in Ca concentration in SBF. Any significant change in pH of SBF was not recorded either.

The behaviors of the other sinters (S2, II, I) in SBF solution was much alike. Solubility of calcium from these materials, in spite of differences in their chemical composition, was in practice very similar and almost four times higher than in the case of S2 sinter. The value of pH of the solution was also significantly changed towards a more basic environment.

When observing the surface of the examined sinters in a scanning microscope after seven days long contact with SBF a change in its morphology could be noticed which consisted in the unification of the image and the occurrence of small spherical forms on the surface (FIGs.7-8). The performed EDAX analysis of the chemical composition, however, has shown that only in the case of A2 sinter, after contact with SBF, there appear distinct changes in the chemism of the surface layer consisting in increased concentration of calcium and phosphorus (FIG. 7) and thereby indicating surface crystallization of calcium phosphates.

Discussion

The applied method of sintering with the application of the deposition on the casting slip on organic substrate has proved to be a good method of obtaining sinters with a favorable microstructure from the point of view of medical application (implants). When using as additions starch and methyl cellulose the authors obtained sinters characterized by open porosity reaching up to 77 % which creates favorable conditions for the osseous tissue to grow inside the implant. At the same time, examination on the microstructure using a scanning microscope has shown that the newly formed pores have similar dimensions and are uniformly distributed in the whole material. The obtained sinters were characterized also by good mechanical durability, without showing a tendency to crush under the load of pressure. With respect to their phase composition the obtained materials should be regarded as glass-ceramic materials in which the silicate phases (silicon dioxide, silicates) and at higher calcium concentrations- also the calcium phosphates, prevail.

A separate problem is the evaluation of the obtained sinters as regards their biocompatibility and bioactivity. The materials were obtained from gel-derived powders which had been previously carefully tested both *in vitro* and *in vivo* conditions with respect to their biocompatibility. In can be assumed that also the sinters obtained from these powders will demonstrate good biocompatibility, nevertheless appropriate tests in case of the planned clinical investigations, must be carried out.

When conducting the investigations on the preparation of porous sinters from gel-derived powders it was expected that these sinters, similarly as the powders, would demonstrate bioactive properties, the result of which may be:

- formation of a joint which the parent tissue through a layer of hydroxyapatite crystallizing on the surface of the material;
- stimulation of live tissue to faster regeneration.

Confirmation of such action can be obtained only in re-

ni biomateriału zachodzi krystalizacja hydroksyapatytu. Przeprowadzone przez nas badania mają charakter wstępny, oceniano bowiem zachowanie się otrzymanych spieków w symulowanym osoczu jedynie po upływie 7-miu dni od zanurzenia w nim biomateriału. Zachowanie to oceniano w dwóch aspektach:

- pod względem zdolności uwalniania wapnia z biomateriału i zmian pH SBF, bowiem zarówno wzrost rozpuszczalności wapnia jak i wzrost pH SBF powinien sprzyjać powierzchniowej krystalizacji HAp;
- pod względem zmian na powierzchni biomateriału w kierunku ewentualnej krystalizacji hydroksyapatytu.

Badane spieki charakteryzowały się różną rozpuszczalnością w symulowanym osoczu, od nieznacznej w przypadku materiału S2 do około 4-krotnie wyższej w przypadku materiałów A2, II, I. Wyjaśnienie niskiej zdolności uwalniania wapnia ze spieku S2 wydaje się proste; spiek ten zawiera w swym składzie najmniej wapnia, który może być związany głównie w fazie krystalicznej (metakrzemian wapnia CaSiO_3), stąd jego tendencja do przechodzenia do roztworu jest niewielka. Jednakże już w przypadku materiału II gdzie zawartość wapnia jest wyższa tylko o 8% w stosunku do S2, rozpuszczalność Ca w SBF wzrasta bardzo znacząco i utrzymuje się na podobnym poziomie w pozostałych materiałach (II, I, A2). Dzieje się tak mimo wzrostu koncentracji Ca w materiałach I i A2 aż do 54% (spiek A2), czyli do poziomu ponad 3-krotnie wyższego niż w przypadku spieku S2. Zachowania spieków II, I i A2 należy dopatrywać się przypuszczalnie w ich bardzo złożonej budowie wewnętrznej, o której nie mówią wyniki zastosowanych badań strukturalnych. Prawdopodobnie w przypadku materiałów II i I część wapnia znajduje się w szklistej fazie likwacyjnej i ta faza stanowi głównie źródło tego pierwiastka przechodzącego do SBF. Natomiast brak wyraźnego wzrostu rozpuszczalności wapnia w przypadku spieku A2 w którym zawartość wapnia jest ekstremalnie wysoka (54%) może być spowodowany jego związaniem w krystalizujących, nierozpuszczalnych w SBF, fosforanach wapnia.

Badania powierzchni spieków po 7-dniowym kontakcie z SBF wykazały, że tendencja do krystalizacji fosforanów wapnia na powierzchni biomateriału w wyniku kontaktu z symulowanym osoczem występuje jedynie w przypadku spieku A2, zawierającego w swym składzie najwięcej wapnia i faktycznie uwalniającego porównywalnie najwięcej wapnia do roztworu. Jednocześnie w tym przypadku najbardziej zmieniło się środowisko SBF w kierunku bardziej zasadowego. Obydwa czynniki - wzrost koncentracji Ca w SBF i wzrost pH sprzyjają powierzchniowej krystalizacji HAp. Jednakże zachowanie spieków II i I w SBF, mimo niższej zawartości w nich wapnia, nie odbiegało zasadniczo od zachowania spieku A2, nie stwierdzono natomiast w tych przypadkach zmian powierzchniowych, które wskazywałyby na krystalizację HAp. Oczywiście brak oznak krystalizacji HAp na powierzchni spieków II i I a także spieku S2 po 7-miu dniach kontaktu z SBF nie wyklucza możliwości takiej krystalizacji po upływie dłuższego czasu zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* i nie dyskwalifikuje tych materiałów pod względem ich bioaktywności; odpowiednie badania będą w tym zakresie kontynuowane. Dotychczasowe rezultaty wskazują jednak, że proces powierzchniowej krystalizacji HAp na tak złożonych materiałach jakimi są spieki otrzymane z proszków pochodzenia żelowego, jest również bardzo skomplikowany i na tym etapie badań trudno określić wszystkie czynniki, jakie decydują o jego przebiegu.

sult of appropriate tests *in vivo*, whereas a preliminary evaluation of the bioactive properties of sinters is obtained by a test *in vitro* in simulated body fluid (SBF); this test allows to assess whether as a result of contact with simulated body fluid there takes place the crystallization of hydroxyapatite on the surface of the biomaterial. Investigations carried out by the authors were of preliminary character since behavior of the obtained sinters in simulated body fluid was estimated only after 7 days since the moment the biomaterial was immersed in the fluid. This behavior was evaluated in two ways:

- with respect to the ability to release calcium from the biomaterial and pH changes in SBF, since both the increase of calcium solubility and pH increase of SBF are expected to favour surface crystallization HAp;
- with respect to changes on the biomaterial surface towards possible crystallization of hydroxyapatite.

The examined sinters were characterized by different solubility in simulated body fluid, varying from a rather little solubility in the case of S2 material to about four times higher in the case of A2, II and I materials. Explanation of low ability to release calcium from S2 sinter appears simple; the amount of calcium present in the composition of this sinter is the lowest, it can be bound mainly in the crystal phase (calcium metasilicate CaSiO_3), hence its tendency to pass into the solution is rather small. However, already in the case of material II, where the content of calcium is higher only by 8 % in comparison with S2, solubility of Ca in SBF increases considerably and it remains on the same level in the other materials (II, I, A2). Such a situation is observed in spite of increased Ca concentration in the materials I and A2 up to 54 % (sinter A2), i.e. to a level more than three times higher than that observed in the case of S2 sinter. The behavior of II, I and A2 sinters can be possibly attributed to their very complex internal structure, about which the results of the applied structural investigations do not inform.

Probably, in the case of the materials II and I, part of calcium is present in the glossy liquation phase and this phase is the main source of this element passing into SBF. On the other hand, the lack of any distinct increase in calcium solubility observed in the case of A2 sinter, in which the calcium content is extremely high (54%), may be due to its bounding in the crystallizing calcium phosphates, insoluble in SBF.

Investigations of the surface of sinters after 7 days of contact with SBF have shown that the tendency of calcium phosphates to crystallize on the biomaterial surface as a result of contact with simulated body fluid occurs only in the case of A2 sinter, which contains most calcium in its composition and which actually releases most calcium into the solution in comparison with the other sinters. In this case also the SBF environment has become mostly changed towards a more basic environment. Both these factors - the Ca concentration in SBF and pH increase favor the HAp surface crystallization. However, the behavior of II and I sinters in SBF, in spite of lower content of calcium in these sinters, did not essentially differ from that of A2 sinter; on the other hand, in these cases any surface changes which might indicate HAp crystallization were not observed. It is obvious that the lack of any signs of HAp crystallization on the surface of the sinter II and I, as well as S2 sinter after 7 days of contact with SBF does not exclude the possibility of such crystallization after a longer time both *in vitro* and *in vivo* conditions and it does not disqualify these materials with respect to their bioactivity; appropriate investigations in this field will be continued. The results obtained so far, indicate, however, that the process of surface crystalliza-

Wnioski

1. Proszki pochodzenia żelowego z układu $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ stanowią dogodny materiał wyjściowy dla wytwarzania porowatych spieków, które mogłyby być wykorzystane jako implanty kostne.
2. Zastosowanie w procesie spiekania proszków pochodzenia żelowego dodatków wypalających się i metody osadzania masy leejnej na podłożu organicznym (gąbka poli-merowa) daje dobre rezultaty jeśli chodzi o mikrostruk-turę otrzymanych spieków i ich trwałość mechaniczną.
3. Stosując jako dodatki do proszków skrobię i metyloce-lulozę oraz prowadząc wieloetapową obróbkę termicz-na do temperatur 1000 i 1250°C można uzyskać spieki o porowatości otwartej do 77%; spieki takie charaktery-zują się obecnością drobnych, zbliżonych rozmiarami por, równomiernie rozłożonych w całym materiale.
4. Otrzymane porowate spieki wykazują zróżnicowaną roz-puszczalność w symulowanym osoczu SBF, przy czym nie ma prostej korelacji pomiędzy zawartością wapnia w materiale a zdolnością jego uwalniania do SBF.
5. 7-mio dniowy kontakt z symulowanym osoczem wywołu-je powierzchniową krystalizację fosforanów wapnia je-dynie w przypadku spieku o najwyższej koncentracji wap-nia; przeprowadzone badania nie pozwalają jednak jesz-cze określić wszystkich uwarunkowań krystalizacji hy-droksyapatytu na powierzchni porowatych spieków otrzy-manych z proszków pochodzenia żelowego.

Podziękowania

Badania finansowane przez Komitet Badań Naukowych, projekt PBZ-KBN-082-T08

Piśmiennictwo

- [1] Hench L.L. Am. Ceram. Soc. Bull., 77 (1998) 67.
- [2] Hench LL. J. Am. Ceram. Soc., 74 (1991) 1487.
- [3] Kokubo T., Kushitani H., Ohtsuki C., Sakka K., Yamamuro T., J. Mater. Sci. Mater. Med., 3 (1992) 78.
- [4] Li.R., Clark A.E. Hench LL. J. Applied Biomat. 2 (1991) 231.
- [5] Laczka M., Cholewa-Kowalska K., Laczka-Osyczka A.M., Two-rzydło M. Turyna B., J. Biomed. Mat. Res. 52 (2000) 601.

tion HAP on such complex material as the sinters obtained from gel-derived powder is also very complex and at the present stage of investigations it is difficult to identify all the factors which determine its progress.

Conclusions

1. Gel-derived powders from the system $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ represent a convenient starting material for the produc-tion of porous sinters which might be used as osseous implants.
2. Application of burning-out additions and of the method of the deposition of the casting slip on organic substrates (polymeric sponge), in the process of sintering gel-de-rived powders, yields good results as regards the micro-structure of the obtained sinters and their mechanical durability.
3. By applying starch and methyl cellulose as additions to the powders and by multi-stage thermal treatment at the temperatures 1000 and 1250°C it is possible to obtain sinters with the open porosity up to 77%; such sinters are characterized by the presence of fine pores of simi-lar dimensions, distributed uniformly in the entire mate-rial.
4. The obtained porous sinters show differentiated solubil-ity in simulated body fluid SBF and there exists no sim-ple correlation between the content of calcium in the material and its ability to become released into SBF.
5. Seven days long contact with simulated body fluid in-duces surface crystallization of calcium phosphates only in the case of a sinter with highest calcium concentra-tion; the performed investigations, however, do not al-low to determine all the conditions of hydroxyapatite crys-tallization on the surface of porous sinters obtained from gel-derived powders.

Acknowledgements

This iwork was financial supported by the Polish State Committee for Scientific Research project No: PBZ-KBN-082-T08

References

- [6] Dislich H., J. Noncryst. Sol. 73 (1985) 599.
- [7] Sakou T., Bone, 22 (1998) 591.
- [8] Laczka-Osyczka AM. Laczka M., Kasugai S., Ohya K., J. Bio-med. Mat. Res. 42 (1998) 433.
- [9] Santos E.M., Radin S., Shenker B.J., Shapiro I.M., Ducheyne P., J. Biomed. Mat. Res., 41 (1998) 87.
- [10] Kokubo T., J. Noncryst. Sol., 120 (1990), 138.