

fraktograficzną wykonano na dyfraktometrze X'Pert produkcji Philipsa z użyciem promieniowania Cu Ka. Morfologię warstw HAP-GELATIN i ich skład chemiczny badano przy użyciu mikroskopu skaningowego Philips XL 30 z mikro-analizatorem rentgenowskim Link ISIS-EDX.

## Wnioski

Stwierdzono, że skład chemiczny i struktura warstw HAP zależy w istotny sposób od pH zolu i od obróbki cieplnej. Najkorzystniejsze wartości pH to zakres 6.5-7.8. Faza apatytowa może się tworzyć nawet w temperaturach tak niskich jak 4600C jednak aby osiągnąć lepsze przekształcenie HAP i wyższy stopień zagęszczenia warstwy konieczne jest wygrzewanie w wyższych temperaturach.

Żelatyna odgrywa pozytywną rolę przy sporządzaniu zolu HAP-GELATIN dla otrzymywania powłok. Żelatyna powoduje wzrost trwałości zolu podczas formowania się amorficznych nanocząstek hydroksyapatytu w wodnym roztworze soli wapnia i magnezu.

## Podziękowanie

Autorzy wyrażają wdzięczność Ministrowi Nauki i Informatyzacji za finansowanie tej pracy. Projekt PBZ-KBN-082-T08/2002

## Piśmiennictwo

- [1] R. Z. Legeros and J.P. Legeros, "An Introduction to Bioceramics", edited by L.L.Chen and J. Wilson, World Scientific, Singapore 1995, p. 139.  
 [2] G.H. Nancollas, "Biological Mineralization and Demineralization", Ed. Springer Verlag, Heidelberg, 1982.  
 [3] D.J. Hulkins, Ed. Verlag Chemie, Weinhein, 1984.  
 [4] M. Kikuchi, Y. Suetsugu, J. Tanaka, S. Ito, S. Ichinose, K. Shiniyama, Y. Hiraoka, Y. Mandai, S. Nakatani, Bioceramics, 12 (1999) 393-396.

Philips XL 30 with X-Ray microanalyser Link ISIS - EDX.

## Conclusions

It was found that chemical composition and structure of HAP layers strongly depend on pH of sol solutions and final thermal treatments. Most favorable pH is in the 6.5-7.8 region. Apatite phase can be formed at temperatures as low as 460°C but much higher temperatures are necessary to achieve better crystallization of HAP and higher density of the layer.

Gelatin plays a positive role during preparation of HAP-GELATIN sol for coating. It enhances the sol stability during the formation of amorphous, nanosized particles of hydroxyapatite from  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$  solutions.

## Acknowledgement

The financial support the Minister of Science and Information Society Technologies, as a research project No 3 T08D 019 28 project PBZ-KBN-082-T08/2002 is gratefully acknowledged.

## References

- [5] M.C.Chang, T. Ikoma, M. Kukuchi, J. Tanaka, J. Mater. Sci. Mat. Med. 13 (2002) 993-997.  
 [6] A.G. Word, A. Courts, "The science and technology of gelatin", London, Academic Press 1977.  
 [7] C.M.Lopatin, V.B. Pizziconi, Alford, J. Mater. Sci. Mater. Med. 12 (2001) 767-773.  
 [8] A. Stoch, W. Jastrzębski, E. Długoń, W. Lejda, B. Trybalska, G. J. Stoch, A. Adamczyk, J. Mol. Struct. 744-747 (2005) 633-640.

## BADANIA POWŁOK FOSFORANO- WO-KRZEMIANOWYCH NA POD- DŁOŻU METALICZNYM METODĄ SPEKTROSKOPII W POD- CZERWIENI ORAZ METODAMI RENTGENOWSKIMI

M.ROKITA, M.HANDKE, A.BROŻEK, A.ADAMCZYK,  
W. JASTRZĘBSKI

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI  
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA W KRAKOWIE  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

[Inżynieria Biomateriałów, 47-53,(2005),54-57]

## Wstęp

Modyfikacja powierzchni, stosowanych jako implanty kości, materiałów metalicznych wydaje się być efektywnym sposobem poprawy jakości połączenia implant-kość. Korzystnymi sposobami nakładania powłok na implanty są

## IR SPECTROSCOPY AND XRD STUDIES OF PHOSPHO-SILICATE LAYERS ON THE METAL BASE

M.ROKITA, M.HANDKE, A.BROŻEK, A.ADAMCZYK,  
W. JASTRZĘBSKI

FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS  
AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

[Engineering of Biomaterials, 47-53,(2005),54-57]

## Introduction

Metal materials such as stainless steel or titanium and its alloys are commonly used as the bone implants. The modification of metal materials surface seems to be the effective method of improvement of implant - bone joint quality. The methods which do not require the high temperature treatment of the covered implant (for example sol-gel, electrophoresis or biomimetic method) are one of the most advantageous way of layers setting [1]. The layer improve

metody nie wymagające wysokotemperaturowej obróbki termicznej pokrytego implantu, takie jak metoda zol-żel, elektroforeza czy metoda biomimetyczna [1]. Powłoka poprawia właściwości biologiczne implantu, nie wpływając na jego właściwości mechaniczne. Naniesienie powłoki minimalizuje negatywne oddziaływania na granicy tkanka - implant, zmniejsza ryzyko powstawaniu stanów zapalnych na granicy, oraz uaktywnia powierzchnię biologicznie i umożliwia wytworzenie wiązań chemicznych pomiędzy implantem a żywą tkanką, co w konsekwencji powoduje lepsze zakotwiczenie implantu w kości. Jednocześnie powłoka stanowi swoistą barierę zapobiegającą przenikaniu substancji szkodliwych z metalicznego implantu do żywej tkanki [2]. Powłoki mogące spełniać powyższe funkcje powinny się cechować trwałością, odpornością chemiczną w środowisku agresywnym, jakim są płyny fizjologiczne żywego organizmu, odpornością na ścieranie i szczelnością, a równocześnie wykazywać właściwości bioaktywne (najczęściej wstępnie określane na podstawie zdolności narastania na jej powierzchni hydroksyapatytu). O właściwościach powłoki decyduje przede wszystkim jej skład chemiczny, sposób nanoszenia, struktura i grubość.

## Preparatyka

Powłoki nanoszono na kształtki ze stopu tytanu (Ti90/Al6/V4) metodą zol-żel i metodą biomimetyczną [3]. Metoda zol-żel, polegająca na nakładaniu metodą wynurzeniową ze stałą prędkością jedno lub wieloskładnikowego zolu, sporządzonego najczęściej na bazie organicznych pochodnych, umożliwia sporządzenie powłok na różnorodnych materiałach, niezależnie od ich kształtu. W wyniku postępującej hydrolizy i polikondensacji zolu oraz odparowania rozpuszczalnika powłoka formuje się i zagęszcza już w trakcie wynurzania, w temperaturze pokojowej. Docelową zawartość i przyczepność powłoki uzyskiwano w wyniku usunięcia rozpuszczalnika i resztek organicznych w procesie obróbki termicznej w temperaturach nie wyższych niż 600°C. Zaletą metody zol-żel jest możliwość zastosowania zoli o różnorodnych składach oraz uzyskania bardzo czystych, jednorodnych powłok na rozmaitych podłożach. Grubość, przyczepność i zwartość warstw regulowano poprzez skład, stężenie i lepkość zolu, dobór warunków zagęszczania oraz wielokrotne nanoszenie zolu/zoli na podłoże. Stosowano również modyfikację nanoszonego zolu, poprzez wprowadzenie do niego cząstek stałych hydroksyapatytu.

Metoda biomimetyczna polega na termostataowaniu implantu pokrytego powłoką w syntetycznym osoczu (SBF) w temperaturze 37°C, symulującym warunki naturalnego wzrostu kości. SBF jest środowiskiem agresywnym, w związku z czym na skutek kontaktu implantu pokrytego powłoką ze sztucznym osoczem, obok lub zamiast pożądanego zjawiska narastania hydroksyapatytu, może występować rozpuszczanie powłoki, złuszczenie się powłoki lub wytrącanie związków innych niż hydroksyapatyt (np.: chlorków). Tym samym biomimetyczny wzrost hydroksyapatytu traktowany był jako główne wstępne kryterium sprawdzające jakość powłoki i jej właściwości bioaktywne [4].

Do badań wytypowano powłoki fosforanowo-krzemianowe sporządzone z zoli o następujących składach:

- seria a - zol  $20\text{NaCaPO}_4\cdot 80\text{SiO}_2$ ,
- seria b - zol  $\text{SiO}_2$  z dodatkiem naturalnego hydroksyapatytu,
- seria c - zol  $20\text{NaCaPO}_4\cdot 80\text{SiO}_2$  z dodatkiem naturalnego hydroksyapatytu.

Otrzymane powłoki poddano badaniom, mającym na celu określenie składu chemicznego i fazowego, krystaliczności bądź amorficzności powłok oraz ich morfologii. Ocenę kry-

the biological properties of implant and didn't worsen its mechanical features. The covered layer decreases the negative influence on the implant-bone border, reduces the risk of inflammatory state on the border and activates the surface biologically as well as enables formation of chemical bonds between the implant and alive tissue (as a consequence the implant is better joined with bone). At the same time the layer is a kind of specific barrier which prevents the harmful substances penetration from metallic implant to alive bone [2]. The layers which can be satisfied should be stable, chemically resistant in the aggressive medium such as physiological salt solution and hermetic as well as be biologically active. Biological activity is usually temporarily estimated on the base of hydroxyapatite growth possibility. The chemical composition, the way of deposition, structure and thickness of the layer are the main parameters which decide about layers properties.

## Experimental

Three layers were deposited on the titanium alloy (Ti90/Al6/V4) base using sol-gel and biomimetic method [3]. The sol-gel method is based on depositing by rising from one or multicomponent sol with the constant speed. The sols are usually prepared on the base of organic precursors of desirable oxides. The method enables to obtain the layers on different bases irrespective of their shape. The layer forms and condenses as the result of hydrolysis, polycondensation of the sol and evaporation of dissolvent during rising process, in the room temperature. The final density and adhesion the layer obtains during heat treatment in the temperatures not higher than 600°C. The possibility of different composition sols application and obtaining the very pure and homogeneous layers on different types of base materials are the main advantage of sol-gel method. The thickness, adhesion and density of the layers were regulated by composition, concentration and viscosity of sol, condense conditions choice as well as repeated deposition of sol (sols) on the base material. The modification of deposited sol, by the addition of fine crystalline hydroxyapatite, was applied too.

The biomimetic method is based on keeping the implant in synthetic body fluid (SBF) in temperature of 37°C. The process simulates the natural bone growth conditions in the aggressive medium. Beside or in place of expecting process of hydroxyapatite growth the dissolution or peeling of the layer, and some other compositions (for example chlorates) growth is possible as a result of implant contact with SBF. This is the reason why biomimetic growth of hydroxyapatite was treated as preliminary test of biological activity of the layer [4].

The following phosphor-silicate layers were selected to later work:

- series a - layers obtained from  $20\text{NaCaPO}_4\cdot 80\text{SiO}_2$  sol,
- series b - layers obtained from  $\text{SiO}_2$  sol with the addition of fine crystalline natural hydroxyapatite,
- series c - layers obtained from  $20\text{NaCaPO}_4\cdot 80\text{SiO}_2$  sol with the addition of fine crystalline natural hydroxyapatite.

The obtained layers were examined in order to define their chemical and phase composition, crystallinity or amorphism and the morphology. The estimation of crystallinity or amorphism of layers and, in some cases, fixing their phase composition was made on the base of X-ray diffraction method. The X-ray diffraction measurements enable to define the phase composition of crystalline materials in the form of powder or layers on different bases. The measurements were made using X'Pert Philips and FPM Seifert XRD7 diffractometer (monochromatic radiance with wave

staliczności bądź amorficzności powłok oraz w przypadku niektórych powłok określenie ich składu fazowego prowadzono metodą dyfrakcji rentgenowskiej. Pomiary rentgenograficzne (XRD) umożliwiają identyfikację fazową materiałów krystalicznych w formie proszkowej, litej oraz cienkich warstw na różnorodnych podłożach. Pomiary przeprowadzono przy pomocy dyfraktometrów X'Pert firmy Philips oraz FPM Seifert XRD7 (w obu przypadkach stosowane jest promieniowanie monochromatyczne o długości fali 1.5418Å, odpowiadające linii  $\text{CuK}_{\alpha}$ , detekcja - licznik scyntylacyjny). Badania powłok przeprowadzono w dwóch wariantach: badając powłokę nałożoną na podłoże (metoda proszkowa lub GID) lub badając sam materiał zdrapany z powłoki (metoda proszkowa). Ze względu na niską krystaliczność lub amorficzność powłok oraz wysoką krystaliczność podłoża badania prowadzone na próbkach typu warstwa na podłożu metalicznym są najczęściej mało czytelne. Z tego powodu do badania powłok na metalach wykorzystany został zespół optyki wiązki równoległej (GID), w skład którego wchodzi szczelina Sollera oraz monochromator na wiązkę ugiętej. Wydłużenie drogi wiązki w warstwie poprzez zastosowanie stałego, niskiego ( $\omega=1-3^\circ$ ) kąta padania, pozwala na polepszenie stosunku intensywności refleksów związanych z samą warstwą do intensywności refleksów związanych z podłożem, a tym samym na identyfikację fazową materiału warstwy w przypadku jej niskiej krystaliczności. Spektroskopia w podczerwieni (IR) jest nieniszcząca metodą umożliwiającą badanie powłok, zarówno krystalicznych jak i amorficznych, na różnorodnych podłożach. Zakres badań obejmował głównie: analizę fazową powłok na różnych podłożach, rozróżnianie faz krystalicznych i amorficznych, identyfikację ugrupowań  $\text{OH}^-$  i  $\text{H}_2\text{O}$  czy grup węglanowych wbudowanych w strukturę powłoki itd., przy pomocy w spektrometrów fourierowskich BioRad: FIR-FTS60v, MIR-FTS60v, Excalibur z mikroskopem UMA500, NIR-MIR FTS6000 z przystawką ramanowską i laserem Nd-YAG. Morfologia otrzymanych powłok, ocena ich homogeniczności oraz szacunkowa mikroanaliza chemiczna powłok wykonana została z zastosowaniem mikroskopu scanningowego z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej (FEI/Philips ESEM XL30 TMP z EDX-EDAX (BSE - detektor Centaurus)).

## Dyskusja wyników

Analiza rentgenogramów otrzymanych powłok wykazała, że powłoki te mają charakter drobnokrystaliczny, ze znaczną domieszką fazy amorficznej (zwłaszcza w przypadku serii b). Na podstawie wyników badań przeprowadzonych techniką GID można przypuszczać, że dominującymi fazami krystalicznymi w próbkach serii a oraz c są krzemiany i fosforany wapnia, natomiast w próbkach serii b fosforany wapnia. Pomiary rentgenowskie przeprowadzono ponownie dla każdej próbki po cyklu termostataowania w sztucznym osoczu (SBF) oraz po wygrzaniu termostataowanych powłok w temperaturze 600°C. Rentgenogramy wszystkich próbek po termostataowaniu w SBF wskazują na obecność w próbkach fosforanów wapnia (ze względu na niską krystaliczność nie można stwierdzić, czy jest to jedna faza, czy mieszanina kilku fosforanów). W wyniku wygrzewania próbek na rentgenogramach pojawiają się piki charakterystyczne dla hydroksyapatytu. Analiza zdjęć z mikroskopu scanningowego i mikroanalizy punktowej pozwala na potwierdzenie powyższych wniosków. Aby w pełni potwierdzić, że na wszystkich badanych powłokach następuje wzrost hydroksyapatytu (bądź apatyty) w warunkach termostataowania w SBF porównywano widma w podczerwieni powłok przed i po termostataowaniu (RYS.1). Obecność

length of 1.5418Å -  $\text{CuK}_{\alpha}$  line; scintillating counter). The two variants of measurements were realised: for the layer on the base material (GID and powder method) and for the powdered layer scraped from the base (powder method). The measurements of ceramic layer on the metallic base are usually illegible because of very low crystallinity of layers and high crystallinity of the base. Therefore the parallel incident beam optics (grazing incidence diffraction - GID method) with Soller slits and the monochromator on the diffracted beam was used to examine the layers on metal base. The extension of the beam way in layer, obtained through using constant low glancing angle ( $\omega=1-3^\circ$ ), enable to improve the ratio of peaks connected with the same layer intensity to the peaks due to base material intensity. The used method makes it possible to identify the phases in the layer of low crystallinity.

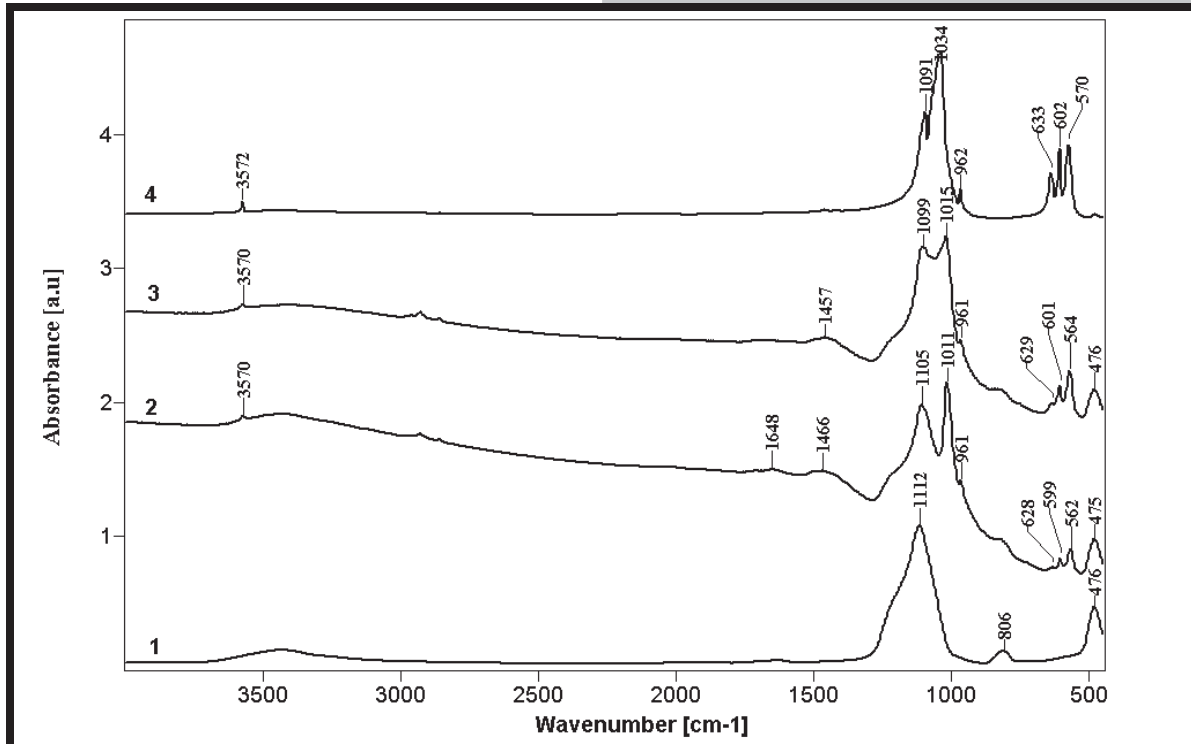
The infrared spectroscopy enables the investigation of layers on the different bases, independently of their crystallinity. The range of works included the phase analysis of layers deposited on different base materials, the identification of crystalline and amorphous phases, discernment of  $\text{OH}^-$  and  $\text{H}_2\text{O}$  or carbonate groups built in layer structure, using BioRad fourier diffractometers: FIR-FTS60v, MIR-FTS60v, Excalibur with microscope UMA500 and NIR-MIR FTS6000 with Raman equipment and Nd-YAG laser.

The morphology, homogeneity and estimated chemical microanalysis were made using FEI/Philips ESEM XL30 TMP with EDX-EDAX scanning microscope with X-ray microanalysis detector (BSE - detektor Centaurus).

## Results and discussion

The analysis of X-ray diffraction patterns showed that the layers are fine crystalline with the addition of amorphous phase (especially in case of series b). On the base of GID method results one can suppose that silicates and calcium phosphates in case of series a and c while only calcium phosphates in case of series b are the main phases in the samples. The X-ray measurements were made again after keeping in SBF as well as after heat treatment in temperature of 600°C. All the X-ray patterns for the samples after keeping in SBF shows the peaks characteristic for calcium phosphates. Because of low crystallinity it is impossible to check if there is only one type of calcium phosphate or the mixture of similar structure phosphates in the samples. After the samples heating process the peaks characteristic for hydroxyapatite can be observed on almost all X-ray diffraction patterns. The analysis of scanning microscope pictures and X-ray point microanalysis results enable to confirm the above conclusions. The next stage of the work led to confirm the hydroxyapatite (or any kind of apatite) growth during SBF keeping process. The IR spectroscopy spectra for the samples before and after keeping in SBF were compared. The presence of bands at about 565, 600, 1035  $\text{cm}^{-1}$  testify to presence of apatite in the layers. If hydroxyapatite is formed we can observe additionally the bands at about 630 and 3570  $\text{cm}^{-1}$ . The bands in the range of 1400-1650  $\text{cm}^{-1}$  confirm the carbonate groups presence. On the example of selected sample of a series (FIG.1) we can observe the growth of intensity of the bands connected with hydroxyapatite after keeping in SBF (spectrum 3). This result confirm the bioactive properties of deposited layer. The spectra of amorphous silica gel (spectrum 1) and crystalline synthetic hydroxyapatite (spectrum 4) are presented to. The analogous results, confirming the hydroxyapatite growth, were obtained in case of samples of all series.





apatytu potwierdza obecność na widmach w zakresie środkowej podczerwieni pasm przy ok. 565, 600, 1035  $\text{cm}^{-1}$ . Jeżeli wykształca się hydroksyapatyt dodatkowo na widmie pojawiają się pasma przy ok. 630 i 3570  $\text{cm}^{-1}$ . Pasma w zakresie 1400 -1650  $\text{cm}^{-1}$  świadczą o obecności grup węglanowych w wykształconym apatycie. Na przykładzie widm wybranej próbki serii a (RYS.1) można zaobserwować wzrost intensywności pasm charakterystycznych dla hydroksyapatytu po termostataowaniu w SBF, co potwierdza biologicznie aktywne właściwości naniesionej powłoki. Dla porównania na rysunku umieszczono widmo czystego amorficznego żelu krzemionkowego (1) oraz syntetycznego, krystalicznego hydroksyapatytu (4). Analogiczne wyniki, potwierdzające narastanie apatytu (nie zawsze wykształconego hydroksyapatytu), otrzymano dla próbek pozostałych serii.

## Wnioski

1. Opracowano procedurę otrzymywania klarownych i stabilnych w czasie zoli krzemianowych (o różnym stężeniu  $\text{SiO}_2$ ) i krzemianowo - fosforanowych oraz zoli z dodatkiem naturalnego hydroksyapatytu.
2. Obserwacje i badania powłok otrzymanych z tych zoli wskazują na możliwość korzystnej pod względem biologicznym modyfikacji podłoża. Otrzymane powłoki są amorficzne lub drobnokrystaliczne (badania XRD), na podstawie badań w podczerwieni oraz badań pod mikroskopem skaningowym można stwierdzić, że w czasie termostataowania następuje bardzo powolne narastanie amorficznych fosforanów wapnia. Powłoki wykazują lepsze własności (przyczepność, mniej spękań) w przypadku wielokrotnego nakładania powłoki na podłoże i wydłużenia czasu suszenia powłoki pomiędzy jednym a drugim nakładaniem warstwy.

## Podziękowania

Praca jest finansowana przez Ministra Nauki i Informatyzacji w ramach grantu KBN nr PBZ/KBN-082/T08/2002.

**RYS. 1. Widma spektroskopowe w podczerwieni: 1) żelu krzemionkowego, 2) próbki serii a, 3) próbki serii a po termostataowaniu w SBF, 4) krystalicznego hydroksyapatytu.**

**FIG. 1. IR spectra of: 1) silica gel, 2) a series sample, 3) a series sample after keeping in SBF, 4) crystalline hydroxyapatite.**

## Conclusions

1. The procedure of clear and time stable silicate and phospho-silicate sols with the addition of natural hydroxyapatite was prepared.
2. All the measurements and observations show that the layers obtained from the prepared sols can advantageously modify the biological surface properties of the implants. The obtained layers are amorphous or fine crystalline (XRD measurements). The growth of apatite on the implant surface, after keeping in SBF is observed on the base of IR spectroscopy and scanning microscopy measurements. Better properties of the layer (better adhesion, the less amount of cracks) can be obtained through several times sol depositing and elongation of drying time during deposition process.

## Acknowledgement

This work is supported by the Minister of Science and Information Society Technologies under grant no. PBZ/KBN - 082/T08/2002.

## Piśmiennictwo

- [1] E. Jallot, *J. Adv. Mater.* 35 (2003) 9.
- [2] A. J. Salinas, M. Vallet-Regi, I. Izquiero-Barba, *J. Sol-Gel. Sci. Technol.* 21 (2001) 13.
- [3] Stoch A, W. Jastrzębski, E. Długoń, W. Lejda, B. Trybalska, A. Adamczyk *J. Mol. Structure*, 744-747 (2005) 633.
- [4] M. Rokita, A. Brożek M. Handke *J. Mol. Struct.* 744-747 (2005) 589.

## References