

Preparation of electrostatic spray pyrolysis derived nano powder and hydroxyapatite forming ability

Young-Hwan Lee, Kyung-Ok Jeon^{***}, Young-Sun Jeon^{***}, Ji-Chang Lee^{**} and Kyu-Seog Hwang^{**†}

Department of Automobile, Chunnam Techno College, Chonnam 516-911, Korea

*Camera Module Team, Korea Photonics Technology Institute, Gwangju 500-460, Korea

**Department of Applied Optics, and Institute of Photoelectronic Technology, Nambu University, Gwangju 506-824, Korea

(Received October 17, 2006)

(Accepted November 13, 2006)

Abstract Electrostatic spray pyrolysis, a novel fabrication technique, has been used in this study to prepare calcium phosphate nano powders. Final annealing was done at 400°C for 30 min in air. The hydroxyapatite - forming ability of the annealed powder has been evaluated in Eagle's minimum essential medium solution (MEM). X-ray diffraction analysis, field emission - scanning electron microscope, energy dispersive X-ray spectroscopy, and Fourier transform infrared spectroscopy were used to characterize the annealed powders after immersion in MEM. The powder with an amorphous structure induced hydroxyapatite formation on their surfaces after immersion for 15 days.

Key words Electrostatic spray pyrolysis, Nano powder, Hydroxyapatite

정전분무 열분해법에 의한 나노분말의 제조 및 하이드록시 아파타이트 형성능력 평가

이영환, 전경욱^{***}, 전영선^{***}, 이지창^{**}, 황규석^{**†}

전남과학대학 자동차과, 전남, 516-911

*한국광기술원 카메라 모듈팀, 광주, 500-460

**남부대학교 광응용학과 & 광전자기술연구소, 광주, 506-824

(2006년 10월 17일 접수)

(2006년 11월 13일 심사완료)

요약 본 연구에서는 새로운 나노 분말 제조방법 중의 하나인 정전분무 열분해법을 이용하여 칼슘 포스페이트 나노 분말을 제조하였다. 정전 분무된 분말은 공기 중에서 400°C로 30분간 열처리하여 고상화하였다. 결정화된 분말의 하이드록시 아파타이트 형성능력을 평가하기 위하여 Eagle's minimum essential medium solution(MEM)을 사용하였으며, MEM 용액에 침전된 후의 분말의 특성평가를 위하여 X-선 회절 분석법, 전계 방사 주사형 전자 현미경, 에너지 분산 X-선 분광계 및 푸리에 변환 적외선 분광계를 사용하여 분석을 행하였다. 비정질 구조를 가진 나노 분말은 MEM 용액에 15일 침전 후, 분말의 표면에 유도된 하이드록시 아파타이트 결정을 확인할 수 있었다.

1. 서론

하이드록시 아파타이트[HAP, hydroxy apatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{OH})_2$]와 같이 칼슘 포스페이트(CaP, calcium phosphate)를 주성분으로 하는 생체재료는 정형외과 및 치과 등과 같은 보건의료 분야에서 뿐만 아니라, 환경위생 분야에

있어서도 가장 널리 사용되어 지고 있는 물질 중 하나이다[1-3]. 그러나 이 물질 가장 큰 단점인 기계적인 취약성 때문에 강도가 요구되는 분야로의 응용은 제한적이었으며, 이를 개선하기 위하여 기계적인 강도가 우수한 금속의 표면에 HAP를 코팅하여 금속의 기계적인 강도에 HAP의 우수한 생체친화성을 접목하여 응용분야를 확대하기 위한 연구가 널리 행해져 왔다[4-7].

한편, W. L. Suchanek 등에 의해 행해진 HAP 나노 분말에 대한 연구 결과에 따르면[8], HAP 나노 분말을 제조한 후 콜라겐과 복합체를 형성하여 토끼에 이식하여

[†]Corresponding author

Tel: +82-62-970-0110

Fax: +82-62-970-0288

E-mail: khwang@nambu.ac.kr

뼈의 생성을 촉진하는 결과를 보고한 바 있으며, 이에 따라 HAP 나노 분말이 뼈 수복 물질로 사용될 수 있는 가능성이 입증되었다.

여러 가지 HAP 나노 분말의 제조법 중에서 현재까지는 화학적 용액법[9]과 기계화학적 방법[8]이 가장 일반적인 방법으로 알려져 있으며, 근래에는 정전분무 열분해법(ESP, electrostatic spray pyrolysis)이 산화물 나노 분말의 제조 방법으로 연구되어 지고 있다[10, 11]. ESP법은 주사기 펌프에 연결된 주사기 금속노즐에 수십 kV의 고전압을 인가하면 높은 정전기에 의해 액체 방울이 금속 노즐을 통해 밀려 나오면서 원뿔형의 Taylor cone이 발생하며, 전기장의 세기가 액체의 표면 장력보다 크면 정전기력을 가진 액체는 모세관 끝의 Taylor cone에서 전하반발력에 의해 수많은 균질한 나노 액적으로 분사하게 된다. 특히 ESP법은 화학적 용액을 사용하므로 분말 조성의 정밀 제어 및 다성분계 분말의 제조가 용이하며, 노즐의 형태와 구조가 단순하기 때문에 시스템을 제작하기 용이하고 수백 나노 크기에서 수십 마이크로의 액적을 생성시키는 것이 매우 간단하다. 또한 액적들이 단분산 분포(monodispersive distribution)를 가질 뿐만 아니라 액적 표면이 대전되어 있기 때문에 액적끼리 서로 잘 결합하지 않으며 액적 제어가 용이하다는 장점을 가지고 있다. 이와 같이 ESP에 의해 발생된 미소 액적은 입자 크기 조절의 용이성, 단분산성, 그리고 전하를 띠는 액적 표면 때문에 의료용 분말제조 및 금속 미소입자의 형성, 박막의 코팅, 입자하전 등과 같은 여러 분야에 적용할 수가 있다.

따라서 본 연구에서는 ESP법을 이용하여 균질한 형상의 나노 분말을 제조한 후, 분말의 HAP 유도능력을 평가하여 보고자 한다.

2. 실험 방법

CaP 나노 분말의 제조를 위한 출발 물질로는 질산 칼슘[calcium nitrate, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck, Germany]과 인산(phosphoric acid, H_3PO_4 , Merck, Germany)을 사용하였다. 용매로는 메탄올을 사용하였으며, 용매를 이용하여 용액의 점도를 조정하여 나노 분말 제조에 이용하였다[(Ca + P) : MeOH = 5 mol% : 95 mol%]. 한편 금속의 물 비율을 표준 HAP와 동등하게 하기 위하여 Ca : P를 1.67 : 1로 고정하였다.

Fig. 1에 본 연구에서 사용한 ESP 장치를 나타냈다. 실험 장치로는 노즐부 구성, 액체 공급 장치, 고전압 공급 장치 및 액체 콘 가시화 장치가 있다. 주사기 펌프(Syringe pump, KD 100, KD Scientific Inc., PA, U.S.A.)를 실리콘 튜브로 스테인레스 강으로 제작한 금속

Syringe pump

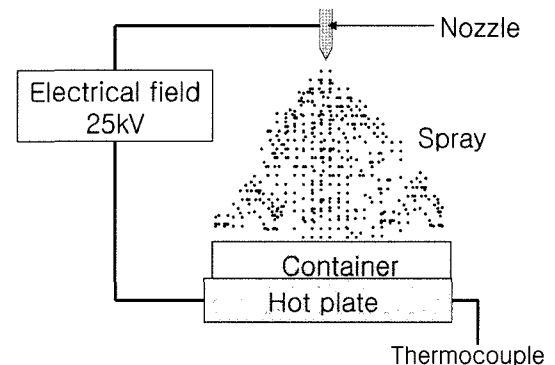


Fig. 1. Schematic view of the electrostatic spray system.

노즐(내경 0.1 mm, 외경 0.23 mm)에 연결하여 분말 제조용 액체를 공급하였으며, 액체의 유속은 10 ml/min으로 고정하였다. 안정한 Cone jet 모드를 유지하기 위하여 고전압 공급기(SHV120-30K-RD, Converttech Co. Ltd., Republic of Korea)를 이용하여 금속 노즐과 하부 전극 사이에 25 kV를 인가하였으며, 정전 스프레이가 안정된 Cone jet 모드에서 작동되는 지를 확인하기 위하여 할로겐 램프를 광원으로 이용하여 분무되는 액적을 산란시켜 가시화 하였고, 하부전극과 노즐과의 거리는 15 cm를 유지하였다. 나노 분말 수집용 도가니를 하부 전극 위에 놓아 분말을 수집하였으며, spraying 시의 분말 내에 함유된 유기 물질을 제거하기 위하여 80°C로 도가니를 가열하였다. 강산으로 세척한 Si wafer를 기판으로 사용하여 나노 분말의 최종 열처리를 행하였으며, 열처리 조건은 400°C에서 30분간으로 하였다. 열처리 시 전기기로의 내부를 산화분위기로 유지해 주기 위하여 건조공기를 150~200 ml/min로 주입하였다.

최종 열처리된 나노 분말의 HAP 형성능력에 관한 실험은 유사 생체 용액으로 20 ml Eagles' MEM(Gibco BRL, Life Technologies, U.S.A.)용액을 polystyrene 병에 넣은 후, Si 기판위에서 열처리된 나노 분말을 각각 1일, 5일 및 15일 간씩 침적하여 실시하였으며, 24시간 간격으로 polystyrene 병 내의 MEM 용액을 새로운 용액으로 교체 투입하여 실험을 행하였다. 실험의 정확성을 위하여 각각 5개의 시료를 침적하여 분석하였다.

In-vitro 실험은 36.5°C로 유지된 항온조에서 실시하였고(Model 90, Poly Science, U.S.A.), 침적이 완료된 시료는 이차중류수를 이용하여 세척한 후, 실온의 데시케이터에 보관하여 분석에 이용하였다.

침적된 나노 분말의 결정구조 및 결정성은 X-ray diffraction analysis(XRD, D-Max-1200, Rigaku Co., Japan)를 이용하여 분석하였으며, 나노 분말의 화학적 구

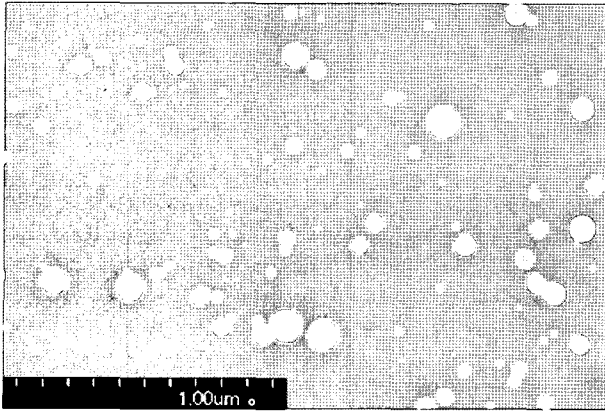


Fig. 2. FE-SEM image of the powders on Si substrate after annealing at 400°C showing dispersion of nanosized particles.

조 변화를 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR, FTS-60, BIO-RAD Digilab, U.S.A.)를 이용하여 투과법으로 분석하였다. 또한 침적된 나노 분말의 표면 미세구조와 표면 조성 변화를 Field Emission-Scanning Electron Microscope(FE-SEM, S-4700, Hitachi, Japan)와 Robinson type의 back-scattered 전자 검출기가 장착된 Energy Dispersive X-ray Spectrometer(EDS)를 이용하여 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

먼저 분무된 입자의 형상을 확인하기 위하여 FE-SEM

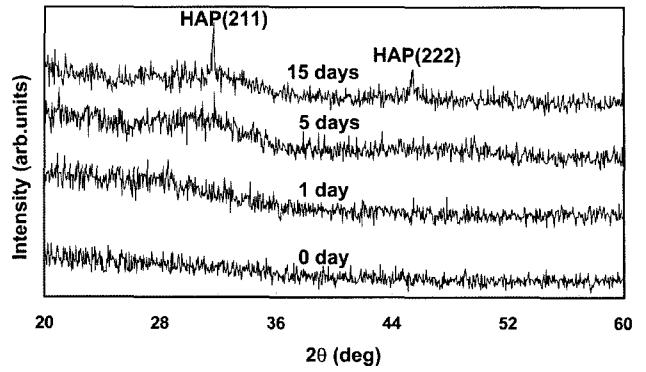


Fig. 3. XRD spectra for the surfaces of the powders on Si substrate after immersion in MEM for various times.

분석을 행하였으며, Fig. 2에 ESP를 이용하여 제조된 후, Si wafer 위에서 400°C로 30분간 최종 열처리된 나노 분말의 표면 형상을 나타냈다. 둥근 형상을 띤 나노 분말을 확인할 수 있으며, 평균 입자 크기는 약 10~100 nm 정도였다.

MEM 용액에 침적된 후의 시간 변화에 따른 입자의 결정성 변화를 살펴보기 위하여 X-선 회절 분석을 행하여 Fig. 3에 나타냈으며, MEM 용액에 15일 동안 침적한 시료의 경우, $2\theta = 31.5^\circ$ 및 $2\theta = 45.5^\circ$ 부근에서 (211)과 (222)반사면에 의한 HAP 결정 피크를 확인할 수 있었으나, 1일 및 5일 동안 MEM 용액에 침적한 시료에서는 새롭게 생성된 HAP 결정에 의한 회절 피크를 관찰하기 어려웠다. 따라서, 본 연구에서 정전분무법으로 제조하여 400°C로 열처리한 나노 분말은 우수한 생체 친화성을

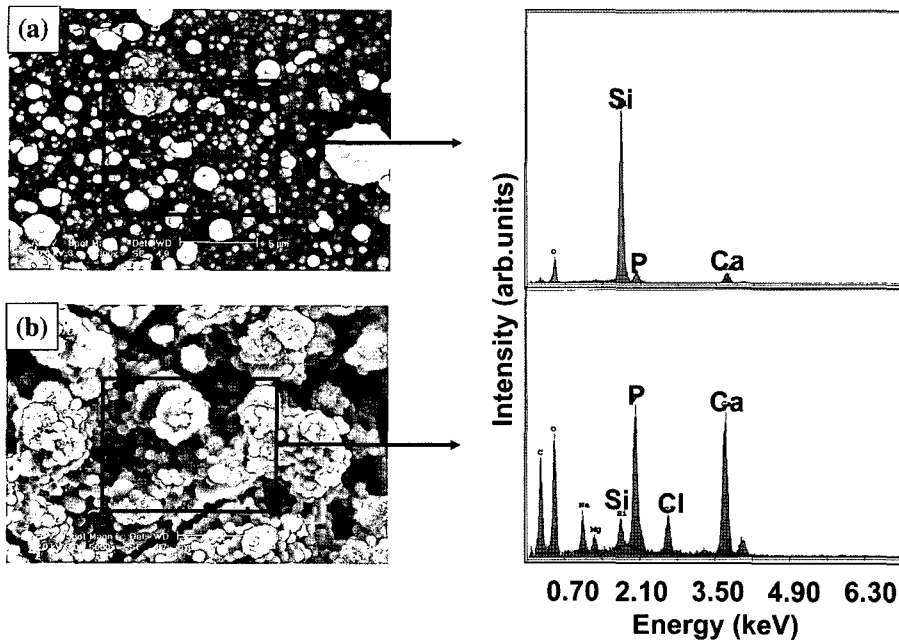


Fig. 4. FE-SEM photographs and EDS spectra for the surfaces of the powders on Si substrate after immersion in MEM for various times.

지니고 있는 것으로 생각된다[12].

한편, X선 회절 시험의 특성상 표면에 침적시간이 짧을 경우에 생성 가능한 작은 량의 HAP 결정을 검출하는 데에 어려움이 있으므로, HAP 결정의 정확한 초기 생성 시점을 조사하기 위하여, 1일 및 15일 동안 MEM 용액에 침적한 나노 분말의 표면 미세구조 변화와 화학 성분 변화를 FE-SEM 및 EDS를 이용하여 분석하였다 [Fig. 4(a)와 4(b) 참조]. Fig. 4의 (a)에 나타난 것처럼 MEM 용액에 1일 동안 침적한 나노 분말 시료에서도 초기에 생성된 나노 입자의 주위에서 HAP 결정의 성장을 확인할 수 있었으며, 침적 시간이 15일로 길어지면서 Fig. 4의 (b)에서처럼 초기의 나노 입자를 둘러싸며 크게 성장한 HAP 결정이 확인되었다. EDS 결과에 따르면, HAP 결정의 성장에 필수적인 Ca와 P 이온에 의한 피크 외에도 기관으로 사용한 Si wafer에 의한 것으로 판단되는 Si이온에 대한 피크와 MEM 용액의 주성분인 Mg, Na 및 Cl 이온에 의한 피크도 관찰되었지만, 침적 시간이 1일에서 15일로 길어짐에 따라 Ca와 P 이온에 의한 피크 강도가 기관의 피크인 Si 이온의 피크강도에 비해 현저히 증가하고 있음을 알 수 있다. HAP 결정의 생성에 필수적인 Ca와 P 이온의 피크 강도 증가는 본 연구에서 제조한 나노 분말 시료가 우수한 CaP 유도 능력을 지니고 있음을 나타낸다[13].

EDS로 분석한 이온들의 양을 보다 정확하게 비교해 보기 위하여, 1일과 15일 동안 침적한 시료의 EDS 결과를 토대로 Si에 대한 Ca와 P 이온의 몰 비를 각각 Fig. 5에 나타냈다. 1일 동안 침적한 나노 분말의 경우에는 사용된 기관에 따른 Si 이온에 의한 피크 강도가 표면에 흡착한 Ca 및 P 이온의 피크에 비해 매우 강하였으나, 15일 동안 침적한 시료의 경우에는 Ca와 P 이온의 상대적인 피크 강도 증가가 큰 폭으로 일어났으며, 이는 시료의 표면에 대량 흡착된 Ca와 P 이온

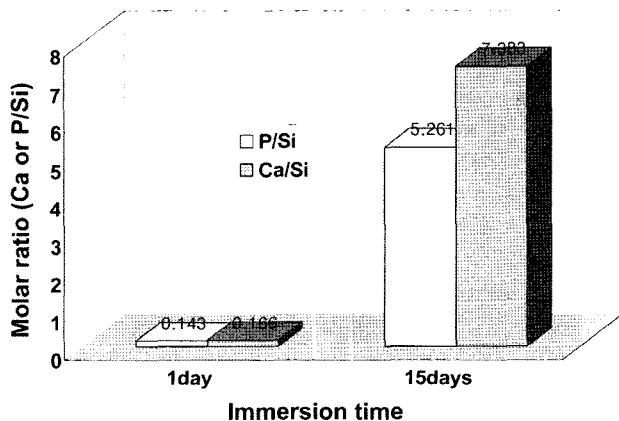


Fig. 5. Molar ratio of the Ca and P ions compared to Si of the surfaces of the powders on Si after immersion in MEM for various times.

때문에 상대적으로 하부 기관으로 사용된 Si wafer에 의한 Si 이온의 검출이 어려워져서 생긴 결과로 생각된다.

생체 활성을 갖는 산화물에 있어서 표면에 HAP의 핵 형성이 되기 위한 첫 번째 단계는 산화물의 표면에 이온화된 OH기가 Ca^{2+} 를 정전기적 인력으로 흡착하는 것이며, 두 번째 단계로 흡착된 Ca^{2+} 가 PO_4^{3-} 이온을 끌어들여서 HAP를 형성하는 것이다[14]. 또한 표면 미세구조적인 측면에서 생각해 볼 때, 미세한 나노 결정질을 가진 입자가 micro- 또는 macro-입자에 비해 MEM 용액 내에 존재하는 이온들과 접촉하는 면적이 더 넓을 것이다. 한편, 정전기적인 인력의 관점에서 생각해 보면, 표면에 OH기가 존재하는 입자가 수용액 내에서 훨씬 더 많은 Ca^{2+} 이온을 흡착한다[15]. 나노 분말 위에 HAP 결정의 성장을 위해서는 MEM 용액으로부터의 Ca^{2+} 와 PO_4^{3-} 이온의 공급은 필수적이며, 이상의 실험 결과에 따라 본 연구에서 정전 분무법으로 제조하고 400°C로 열처리한 나노 분말의 높은 CaP 유도 능력을 확인할 수 있었다[13].

보다 정확하게 *in vitro* 형성된 CaP의 화학적인 구조를 확인하기 위하여 1일, 5일 및 15일 동안 MEM 용액에 침적한 시료에 대한 FTIR 분석을 실시하여 Fig. 6에 나타냈으며, Table 1에 FTIR 흡수 밴드 위치와 각각의 모드를 나타냈다. Fig. 6에 나타낸 바와 같이 $\nu_3(1050\text{ cm}^{-1})$ 와 $\nu_4(614\text{ cm}^{-1})$ 포스페이트(PO_4^{3-}) 밴드에 의한 뚜렷한 흡수 피크가 관찰되었다. Maeyer 및 Hwang 등 [16, 17]의 보고에 의하면, 카보네이트(carbonate) 이온은 CaP와 결합하여 ν_2 진동 모드에 의한 874 cm^{-1} 의 흡수 피크와 ν_3 진동 모드에 의한 1419 cm^{-1} 와 1455 cm^{-1} 의 흡수 피크들을 갖는다. 본 연구에서는 카본이 결합된 HAP의 특정 피크가 $874\text{ cm}^{-1}(CO_3^{2-} \nu_2)$ 와 $1410\sim 1450\text{ cm}^{-1}(CO_3^{2-} \nu_3)$ 로 각각 나타났다. 카보네이트 아파타이트는 2가지의 형태가 존재하는 것으로 알려져 있는데, 1) A-type로서 카보네이트가 1가의 OH^- 자리에 위치하는

Table 1
Observed FTIR bands positions (cm^{-1}) and assignment for the samples after immersion in MEM

Assignment	Band position (cm^{-1})
Phosphate	
Asymmetric stretching (ν_3)	1050
Asymmetric bending (ν_4)	614
Carbonate	
Asymmetric stretching (ν_3)	1410~1450
Asymmetric bending (ν_2)	874
Hydroxyl	
Stretching	3300~3400
Water	
Stretching	1650

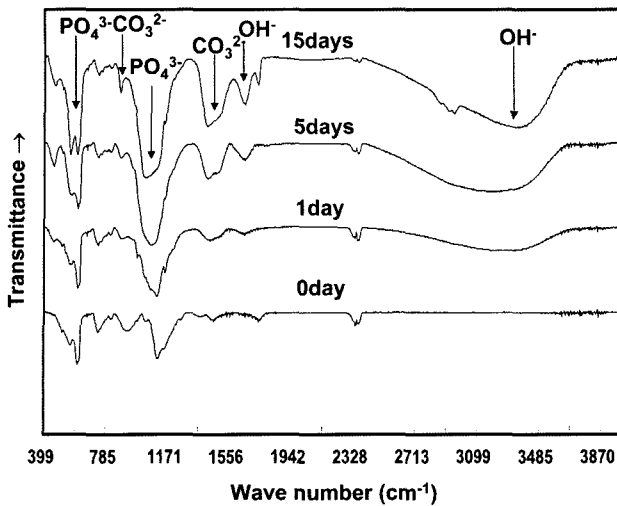


Fig. 6. FTIR peaks for the surfaces of the powders on Si after immersion in MEM for various times.

것이고, 2) B-type로서 3가의 포스페이트(PO_4^{3-}) 자리에 카보네이트가 위치하는 것이다[18]. 현재까지 보고 되고 있는 카보네이트 HAP의 FTIR 분석 결과에 대한 보고 들에 따르면, A-type(1545 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} 그리고 890 cm^{-1})와 B-type(1465 cm^{-1} , 1412 cm^{-1} 그리고 873 cm^{-1})의 두 종류의 카보네이트에 의한 흡수대가 존재한다. 본 연구의 FTIR 결과에 따르면, MEM 용액에 침전된 나노 분말의 표면에는 A-type와 B-type가 혼재된 AB-type 카보네이트 HAP가 형성된 것으로 판단된다. 또한 1650 cm^{-1} 에서 물리적으로 흡착된 OH기에 의한 흡수피크 및 $3300\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ 에서 hydroxyl기의 신축진동에 의한 피크도 관찰되었으며, 이와 같은 OH기의 존재는 본 연구에서 나노 분말의 표면에 흡착된 결정이 HAP임을 입증하는 결과로 판단된다.

4. 결 론

질산 칼슘과 인산을 출발물질로 사용하고 정전 분무 열분해법을 이용하여 나노 액적을 분무한 후, 400°C 로 30분간 열처리하여 입경이 $10\sim 100\text{ nm}$ 인 CaP 나노 분말을 제조하였다. 열처리된 분말의 생체활성을 MEM 용액의 침적실험을 통하여 분석한 결과에 따르면, 15일 이상 침적된 시료에서 HAP 결정에 의한 X-선 회절 피크가 관찰되었으며, FE-SEM과 EDS에 의한 표면 분석 결과 다량의 Ca^{2+} 와 PO_4^{3-} 이온의 표면 흡착이 나타났다. FTIR 결과에 따르면, MEM 용액에 침전된 나노 분말의 표면에는 A-type와 B-type가 혼재된 AB-type 카보네이트 HAP가 형성된 것으로 판단되며, 1650 cm^{-1} 및 $3300\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ 에서 관찰된 OH기의 존재로 나노 분말의 표면에 흡착된 HAP를 확인 할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2006년도 교육인적자원부 전문대학 특성화 재정지원사업의 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- [1] S. Nakamura, T. Kobayashi and K. Yamashita, "Extended bioactivity in the proximity of hydroxyapatite ceramic surfaces induced by polarization charges", *J. Biomed. Mater. Res.* 61 (2002) 593.
- [2] Y. Suetsugu and J. Tanaka, "Crystal growth of carbonate apatite using a CaCO_3 flux", *J. Mater. Sci.: Mater. in Med.* 10 (1999) 561.
- [3] V.P. Orlovskii, N.A. Zakharov and A.A. Ivanov, "Structural transition and dielectric characteristics of high-purity hydroxyapatite", *Inorganic Mater.* 32(6) (1996) 654.
- [4] B. Kim, J. An, Y. Jeon, B. Kang and K. Hwang, "Calcium-phosphate formation on a nanocrystalline zirconia layer", *J. Kor. Phys. Soc.* 44(4) (2004) 1012.
- [5] J. Oh, Y. Lee, B. Kang, S. Kim and K. Hwang, "Biomimetic formation of calcium phosphate on thermally oxidized cp-titanium surfaces", *Ceram. Int.* 29 (2003) 847.
- [6] K. Hwang, J. Song, B. Kang and Y. Park, "Sol-gel derived hydroxyapatite films on alumina substrates", *Surf. and Coat. Tech.* 123 (2000) 252.
- [7] Y. Lim, Y. Park, Y. Yun and K. Hwang, "Functionally graded Ti/HAP coatings on Ti-6Al-4V obtained by chemical solution deposition", *Ceram. Int.* 28 (2002) 37.
- [8] W.L. Suchanek, P. Shuk, K. Byrappa, R.E. Riman, K.S. TenHuisen and V.F. Janas, "Mechanochemical-hydrothermal synthesis of carbonated apatite powders at room temperature", *Biomater.* 23(3) (2002) 699.
- [9] N. Uekawa, M. Suzuki, T. Ohmiya, F. Mori, Y.J. Wu and K. Kakegawa, "Synthesis of rutile and anatase TiO_2 nanoparticles from Ti-peroxy compound aqueous solution with polyols", *J. Mater. Res.* 18(4) (2003) 797.
- [10] K.L. Choy, "Processing-structure-property of nanocrystalline materials produced using novel and cost-effective ESAVD-based methods", *Mater. Sci. and Eng. C* 16 (2001) 139.
- [11] M. Cloupeau and B. Prunet-Foch, "Electrostatic spraying of liquids: Main functioning modes", *J. Electrostatics* 25 (1990) 165.
- [12] Y. Lim, B. Kim, Y. Jeon, K. Jeon and K. Hwang, "Calcium phosphate films deposited by electrostatic spray deposition and an evaluation of their bioactivity", *J. Ceram. Proc. Res.* 6(3) (2005) 255.
- [13] B. Kim, J. An, B. Kang, K. Hwang and J. Oh, "Preparation of TiO_2 layers by spin coating-pyrolysis and in-vitro formation of calcium phosphate", *J. Ceram. Proc. Res.* 5(1) (2004) 53.
- [14] B.C. Yang, J. Weng, X.D. Li and X.D. Zhang, "The order of calcium and phosphate ion deposition on chemically treated titanium surfaces soaked in a aqueous solution", *J. Biomed. Mater. Res.* 47 (1999) 213.
- [15] J. Pan, H. Liao, C. Leygraf, D. Thierry and J. Li, "Vari-

ation of oxide films on titanium induced by osteoblast-like cell culture and the influence of an H₂O₂ pretreatment", J. Biomed. Mater. Res. 40 (1998) 244.

- [16] E.A.P. De Maeyer, R.M.H. Verbeeck and D.E. Nassens, "Stoichiometry of Na⁺ and CO₃²⁻ containing hydroxyapatite obtained by the hydrolysis of monetite", Inorg. Chem. 32 (1993) 5709.
- [17] J. Oh, J. Ahn, Y. Yun, B. Kang, S. Kim, K. Hwang and Y. Shim, "Preparation of nanocrystalline ZrO₂ film by using a zirconium naphthenate and evaluation of calcium phosphate forming ability", J. Kor. Ceram. Soc. 39(9) (2002) 884.
- [18] P. Peltola, M. Patsi, H. Rahiala, I. Kangasniemi and A. Yli-Urpo, "Calcium phosphate onduction by sol-gel-derived titania coatings on titanium substrates *in vitro*", J. Biomed. Mater. Res. 41 (1998) 504.