Journal of the Korean Ceramic Society
Vol. 48, No. 3, pp. 217~221, 2011.

DOI:10.4191/KCERS.2011.48.3.217

Preparation and Characteristics of Bioactive Silica-free Calcium Phosphate Glass-ceramics

Chang Weon Song, Joo Hyeok Lee, Tae Young Yang, Seog Young Yoon, and Hong Chae Park†

School of Materials Science and Engineering, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

(Received March 31, 2011; Revised April 6, 2011; Accepted April 7, 2011)

실리카를 함유하지 않는 생체활성 칼슘인산염 글라스-세라믹스의 합성 및 특성

송창원 · 이주혁 · 양태영 · 윤석영 · 박홍채†

부산대학교 재료공학부

(2011년 3월 31일 접수 ; 2011년 4월 6일 수정 ; 2011년 4월 7일 승인)

ABSTRACT

Glass-ceramic materials, which consist of glass matrix phase containing crystalline β-$Ca_3(PO_4)_2$ and β-$Ca_2P_2O_7$, have been prepared by heating at 750-900°C of calcium phosphate invert glasses in the silica-free CaO-P_2O_5-TiO_2-Na_2O system. With increasing heating temperature from 750 to 900°C, the crystallite size of precipitated β-$Ca_3(PO_4)_2$ in glass with 55CaO·35P_2O_5·3TiO_2·7Na_2O (mol%) composition increased from 48 to 91 nm. With the extension of the immersion time in dilute acetic acid solution (pH = 5) to ≥200 min, the degree of dissolution of Ca^{2+} and P^{5+} ions in the glass-ceramics was linearly increased and the solution was constantly maintained at pH = ~7. Biomimetic nanostructured (62-88 nm in average dia.), sphere-shaped hydroxyapatite was homogeneously formed on the surface of the glass-ceramics when socked for 7-14 days in a Hanks' solution, indicating bioactivity of the prepared glass-ceramics.

Key words* : *Calcium phosphate invert glasses, Hanks' solution, Nanostructured, Hydroxyapatite, Bioactivity

1. 서 론

Bioglass, Ceravital, Cerabone A-W와 같은 생체활성 유리와 글라스-세라믹스[1-4]를 기본으로 하는 물질은 유리 내에서 석출되는 결정의 상과 크기의 조절이 용이하고 유리모재 속으로 섬유 또는 입자상을 도입함으로써 생체재료로서의 폭넓은 응용성을 확보하기 위한 다양한 조성의 설계가 가능하다. 이러한 생체활성 유리의 대부분은 다량의 SiO_2를 함유한다.[1,2,4-6] 한편, 칼슘인산염 유리를 기본으로 하는 물질은 인체 경조직과 유사한 화학조성을 가지므로 의료용 소재로서 각광을 받고 있다. 이들은 높은 CaO 함량을 갖는 $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (hydroxyapatite, HA), β-$Ca_3(PO_4)_2$ (β-tricalcium phosphate, β-TCP) 및 β-$Ca_2P_2O_7$ (β-calcium pyrophosphate, β-CPP)로 구성되며 생체활성을 보유한다.[7,8] 따라서 피로인산염 (pyrophosphate) 영역에서 높은 CaO/P_2O_5 비의 조성을 갖는 인산염 유리를 제조하는 것이 중요하다. 인산염은 비교적 낮은 함량의 P_2O_5를 갖는 것으로 알려져 있다.[9] 어떤 조성에서는 오르토인산염 (orthophosphate)과/또는 피로인산염 구조를 포함하는 결정으로 전환하는 인산염 유리(invert phosphate glasses)가 얻어지는 것으로 알려져 있다.[10] 그러나 피로인산염 영역에서 CaO/P_2O_5 (>1.5) 2성분계 글라스를 제조하기는 어렵다.[11] Reaney 등[12]은 11.5 mol% SiO_2를 함유하는 CaO/P_2O_5 (= ~2, molar ratio) 글라스-세라믹스를 제조하였다. SiO_2를 함유하지 않는 invert phosphate glasses는 독성을 나타내지 않는 것으로 알려져 있으며, 아울러 기계적 가공성이 우수하다.[13,14] 또한, 60CaO·30P_2O_5·7Na_2O·3TiO_2 조성을 갖는 calcium phosphate invert glass의 증류수 (37°C, 15일) 중에서의 Na^+ 이온의 용출량은 <0.05 mequiv/g으로 대단히 적은 것으로 보고되어 있다.[15]

생체이식에 적합한 글라스-세라믹스를 제조하기 위하여 우선적으로 높은 Ca/P (≥1)의 조성을 갖는 인산염 글라스를 얻는 것이 필요하다. Kasuga 등[14,15]은 소량의 Na_2O와 TiO_2를 도입하여 Ca/P (atomic ratio) = ≥1의 피로인산염 조성을 갖는 실리카를 함유하지 않는 인산염 글라스를 제조하였다. 어떤 조성에서는 서로 다른 전하를 갖는 양이온의 상호 작용으로 인하여 PO_3^-가 존재하지 않는 $P_2O_7^{2-}$와/또는 PO_4^{3-}를 함유하는 invert phosphate glasses가 얻어지기도 한다.[16] 이 경우, 열처리에 의해서 TCP와 CPP 결정과 같은 생체친화력이 우수한 상들이 유리모재에서 석출된다.

†Corresponding author : Hong-Chae Park
E-mail : hcpark1@pusan.ac.kr
Tel : +82-51-510-2392 Fax : +82-51-512-0528

본 연구에서는 4성분계 $CaO-P_2O_5-TiO_2-Na_2O$에서 CaO/P_2O_5 (= 0.8-1.6, molar ratio)의 몰비를 달리한 유리조성을 선정하여 실리카를 함유하지 않는 칼슘인산염 글라스-세라믹스의 제조를 시도하고 이들의 결정화, 용해특성, 생체활성에 대하여 검토함으로써 추후 이들 물질을 골 조직공학용 다공질 지지체의 구성성분으로 활용하고자 하였다.

2. 실험방법

본 연구에서는 유리를 형성하기 위한 출발물질로 Junsei Chemical Inc.의 $CaCO_3$, $NH_4H_2PO_4$, TiO_2, Na_2CO_3를 사용하였으며 $CaO-P_2O_5-TiO_2-Na_2O$계 유리화 영역 내에서 Table 1과 같이 CaO/P_2O_5의 몰비를 달리한 4개의 조성을 선정하였다. 배치 조합물을 물을 매체로 자기교반한 후 100°C에서 건조하였다. 건조물을 백금도가니에 넣고 1550°C에서 1시간 용융하였다. 용융물을 stainless steel plate에 붓고, 곧 이어서 급냉시킨 stainless steel plate를 이용하여 가압함으로써 두께 1 mm 정도의 박편을 만들었다. 제조된 유리를 마노유발을 이용하여 미분쇄하고 325 mesh 이하로 분급하였다.

결정화 온도를 알아보기 위하여 TG/DTA (PTC-10A, Rigaku)을 이용하였다. 열처리에 의해서 유리에서 석출된 결정상을 동정하기 위하여 XRD (D-MAX II, Rigaku)를 이용하였다. XRD-LB (X-ray Diffraction Line Broadening)법으로 Scherrer equation[17]을 이용하여 결정자의 크기를 계산하였다.

제조된 글라스-세라믹스의 용해특성을 37°C, pH 5로 조절한 acetic acid solution 100 cc에 200 mg의 분말을 소정의 시간 동안 침적시킨 후, 용액의 pH의 변화 및 ICP-AES (MLAN 6200, PerkinElmer)를 이용하여 입자를 분리시킨 여과용액중의 Ca^{2+}와 P^{5+} 이온의 농도를 분석함으로써 조사하였다. 다음과 같이 제조한 체액과 유사한 Hanks' solution (Table 2) 20 cc와 글라스-세라믹스 분말 2 g을 폴리에틸렌 용기에 넣고 37.5°C에서 인큐베이터 내에서 3, 7, 14일간 각각 반응시킴으로써 *in vitro* 시험을 행하였다. 탈이온 증류수 900 cc를 20°C의 온도로 설정 (pH = 5.7)한 후, 자기교반하면서 Hanks' powder (H1387-1L, Sigma-Aldrich Co.) 9.7 g을 천천히 투입하였다. 이어서 $NaHCO_3$를 0.35 g 첨가한 후 100 cc의 증류수를 추가로 넣어 pH 7.16의 Hanks' solution 1000 cc를 제조하였다. 반응생성물질을 동정하기 위하여 가속전압 40 kV, 입사각 1.5°의 조건으로 2θ=20-40°의 범위에서 TF-XRD (D/MAX 2200, Rigaku)분석을 행하였으며, 아울러 석출물의 미세구조를 SEM (Hitachi, S-4800)을 이용하여 관찰하였다.

Table 1. Batch Composition of $CaO-P_2O_5-TiO_2-Na_2O$ Glasses (mol%)

Notation	CaO	P_2O_5	TiO_2	Na_2O
40C50P	40	50	3	7
45C45P	45	45	3	7
50C40P	50	40	3	7
55C35P	55	35	3	7

Table 2. Ion Concentration of Hanks' Solution

Ion Species	Concentration (mM)	
	Human Blood Plasma	Hanks' solution
Na^+	142	141.7
K^+	5.0	5.8
Mg^{2+}	1.5	0.8
Ca^{2+}	2.5	1.3
Cl^-	103	144.7
HPO_4^{2-}	1.0	0.78
SO_4^{2-}	0.5	0.81
HCO_3^{2-}	27	4.17

3. 결과 및 고찰

조합물 50C40P로부터 제조한 유리에 대한 DTA 곡선을 Fig. 1에 나타내었다. 결정화에 기인하는 발열피크가 750-780°C 온도구간 (760°C를 정점으로 하는 상대적으로 큰 발열피크와 770°C를 정점으로 하는 작은 발열피크)에서 확인되었다. 이러한 사실은 거의 비슷한 온도구간에서 각기 다른 두 개의 결정상이 석출될 수 있다는 것을 의미한다. 서로 다른 조성을 갖는 유리의 열처리온도에 따른 결정화를 알아보기 위하여 750-950°C 범위에서 가열한 후 XRD 분석을 행하고 회절패턴을 Fig. 2에 나타내었다. 출현한 XRD 회절패턴으로부터 다음을 알 수 있었다.

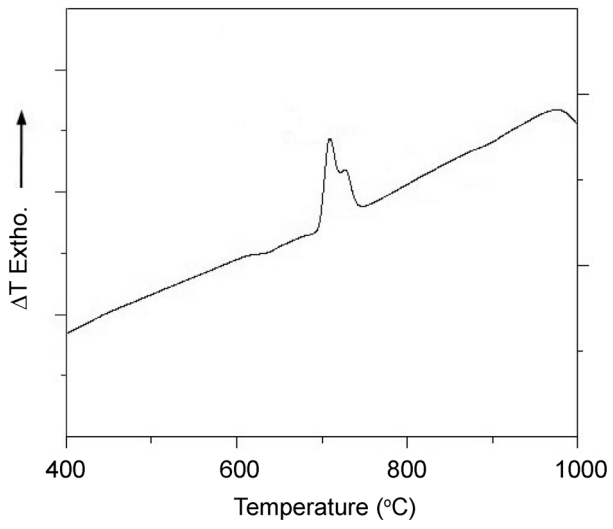

Fig. 1. DTA pattern of 50C40P glass powder.

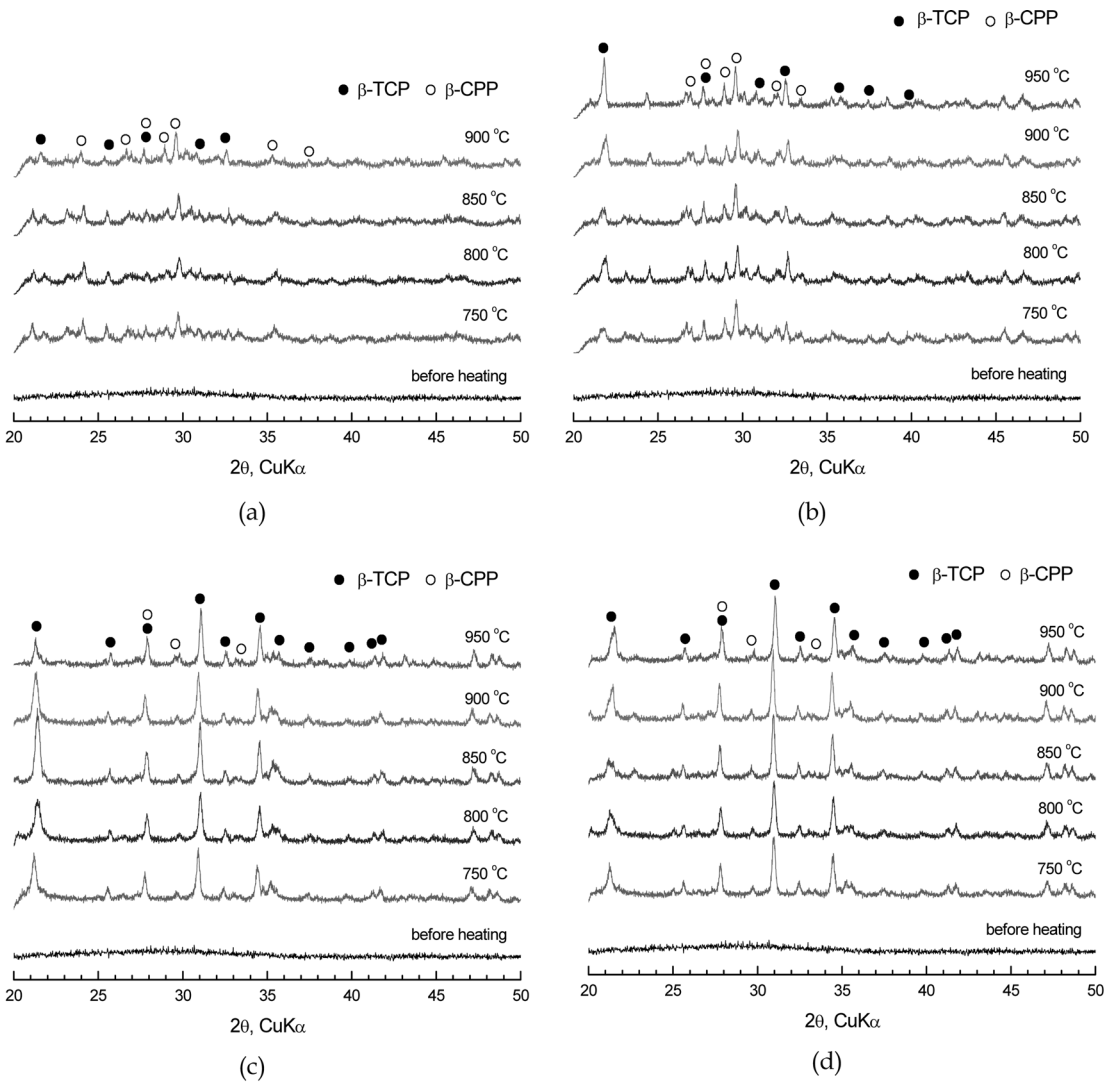

Fig. 2. XRD patterns of the (a) 40C50P, (b) 45C45P, (c) 50C40P, and (d) 55C35P glass-ceramics heated at 750-950°C for 1 h.

i) ≥750°C에서 비정질상의 유리로부터 β-TCP와 β-CPP 결정상이 석출하였다.

ii) 동일한 조성을 갖는 글라스에서 가열온도의 증가와 더불어 석출된 결정상의 회절피크는 증가하였다.

iii) 유리조성과 가열온도에 관계없이 β-TCP가 주된 결정상으로 존재하였으며 석출된 결정상의 상대적인 양, 즉 β-TCP/β-CPP의 회절강도의 비는 온도 및 글라스 조성중의 CaO/P_2O_5의 비가 증가할수록 증가하였다.

iv) 이러한 사실은 invert phosphate glasses 중의 다량의 PO_4^{3-} 이온이 $P_2O_7^{2-}$에 우선하여 Ca^{2+} 이온과 반응하여 β-TCP로 결정화한다는 것을 의미한다.

생체재료로서 보다 큰 응용성이 기대되는 2종류의 조성 50C40P 및 55C35P에 대하여 가열온도에 따른 β-TCP의 결정자 크기를 측정하고, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 예상한 바와 같이, 온도의 증가와 더불어 결정자의 크기는 거의 직선적으로 증가 (50C40P의 경우 66-90 nm,

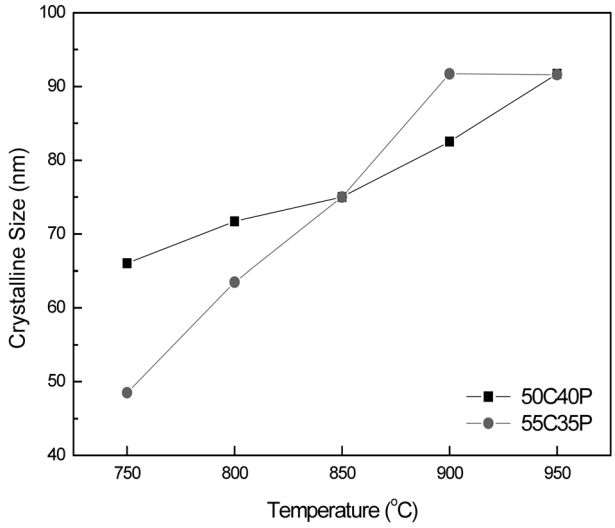

Fig. 3. Crystallite size in 50C40P and 55C35P glass-ceramics; heated at 750-950°C for 1 h.

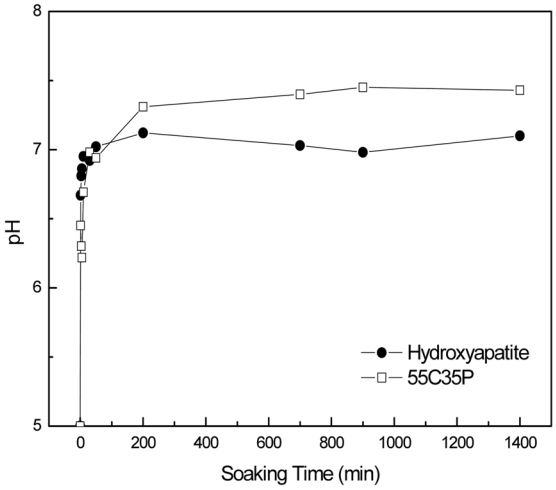

Fig. 4. Change in pH versus immersing time of 55C35P and HA powders in an acetic acid solution (pH = 5).

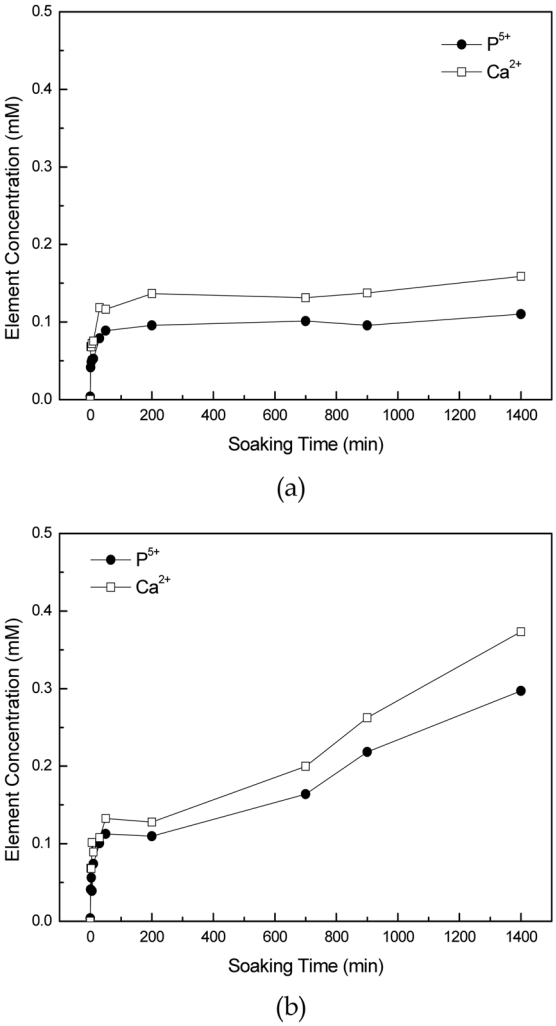

Fig. 5. Variation of P^{5+} and Ca^{2+} ion concentration in an acetic acid solution after soaking (a) 55C35P and (b) HA powders with different time.

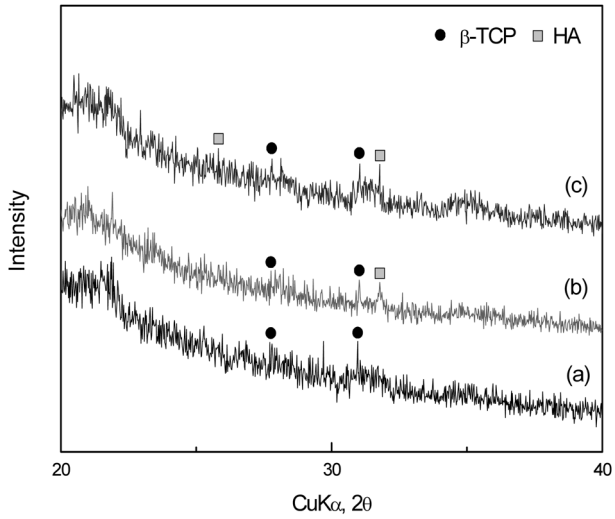

Fig. 6. TF-XRD patterns of 55C35P heated at 850°C for 1 h after soaking in Hanks' solution at 37°C for (a) 0, (b) 7 and (c) 14 days.

55C35P의 경우 48-91 nm)하였으나 그 증가의 정도는 조성에 따라서 다소간의 차이가 있었다. 850°C 이하에서 석출된 β-TCP의 결정자는 상대적으로 높은 농도의 PO_4^{3-} 이온조성에서 우세하였으나, 온도의 증가와 더불어 결정자 크기는 Ca^{2+} 이온의 농도가 높은 유리조성에서 큰 폭으로 증가하여 950°C에서 이들 2가지 조성에서 거의 동일한 값(~90 nm)을 나타내었다.

합성한 글라스-세라믹스 분말의 용해특성을 조사하기 위하여 해당 분말 200 mg을 묽은 acetic acid solution (pH = 5) 100 cc에 소정의 시간동안 (≤1400 min) 침적시킨 후 분말을 제거한 용액의 pH 및 Ca^{2+}, P^{+5} 이온의 농도변화를 HA 분말의 경우와 비교하여 측정하고, 그 결과를 Figs. 4, 5에 각각 나타내었다. 반응의 초기단계 (<30분간)에서 용해되어지는 개개의 이온의 농도는 <0.15 mM로 작았으나 침적시간의 증가와 더불어 용해도는 증가하였다. 이때 글라스 상으로부터 용해되어진 이온의 양은 $Ca^{2+}>P^{5+}$ 이었으며, 그 결과 용액의 pH는 점차 증가하여 pH = ~7.4를 유지하였다. Acetic acid solution에 대한 화학적 내구성은 HA에 비하여 55C35P 글라스-세라믹스가 낮은 것으로 나타났다.

글라스-세라믹스의 생체활성을 알아보기 위하여 체액과 유사한 이온농도를 갖는 Hanks' solution을 이용하여 침적시험을 행하였다. 침적 후의 시편표면에 대하여 TF-XRD 분석 및 SEM 관찰을 행하고 Figs. 6, 7에 각각 나타내었다. TF-XRD 분석결과 (Fig. 7), 7일 이상 침적한 시편의 표면에서 HA 결정상이 동정되었으며, 14일 침적 후 그 회절강도는 다소 증가하였다. 생체활성 글라스의 표면으로부터 용해된 Ca^{2+}와 P^{5+} 이온은 시편과 인접한 용액의

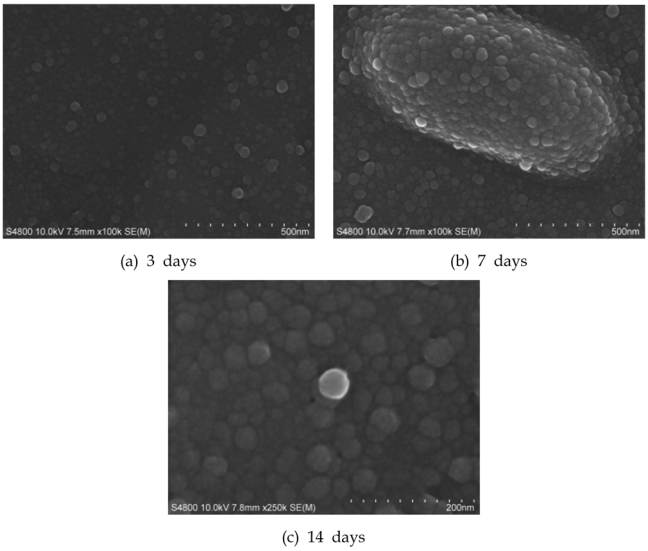

Fig. 7. SEM photographs of the surfaces of 55C35P glass-ceramics soaked in Hank's solution.

과포화도를 증가시키고, 그 결과 시편의 표면에서 HA의 석출을 가능하게 한 것으로 생각된다. Fig. 7에서 볼 수 있는 바와 같이, 침적시편의 전 구간에 걸쳐서 표면에서 표면자유에너지가 작은 구상형태의 HA 결정이 석출되었으며, 반응시간이 3일에서 7일로 연장되면서 입자의 평균 입경이 ~62 nm에서 ~88 nm으로 증가하였다.

4. 결 론

CaO-P_2O_5-TiO_2-Na_2O계에서 제조한 calcium phosphate invert glasses는 750-900°C에서 결정화하여 유리상을 기지 물질로 하고 β-$Ca_3(PO_4)_2$와 β-$Ca_2P_2O_7$을 함유하는 글라스-세라믹스가 되었다. $55CaO{\cdot}35P_2O_5{\cdot}3TiO_2{\cdot}7Na_2O$ (mol%)의 유리조성물에서 석출된 β-$Ca_3(PO_4)_2$와 결정자 크기는 가열온도 (750-900°C)의 증가와 더불어 48-91 nm 범위에서 증가하였다. 이 글라스-세라믹스는 묽은 acetic acid solution (pH = 5)에서 침적시간의 증가와 더불어 Ca^{2+}와 P^{5+} 이온의 용해도는 증가하였으며 200분 이상의 침적에서 용액의 pH는 거의 일정한 값인 ~7.4를 유지하였다. Hanks' solution 내에서 7-14일 침적한 글라스-세라믹스의 표면에서 평균입경 62-88 nm을 갖는 구상형태의 수산화아파타이트의 생성을 확인하였다. 이러한 사실로부터 제조된 글라스-세라믹스는 생체활성임을 알 수 있었다.

Acknowledgment

"이 논문은 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (2009-0070577)."

REFERENCES

1. L. L. Hench and J. Wilson, "Surface-active Biomaterials," *Science*, **226** 630-36 (1984).
2. L. L. Hench, "Bioceramics: from Concept to Clinic," *J. Am. Ceram. Soc*., **74** 1487-510 (1991).
3. B. A. Blencke, H. Bromer, and K. Deutscher, "Glass-ceramic- a New Bioactive Implant Material," *Med. Orthop. Tech*., **95** 144-48 (1975).
4. T. Nakamura, T. Yamamuro, S. Higashi, T. Kokubo, and S. Ito, "A New Glass-ceramic for Bone Replacement: Evaluation of Its Bonding to Bone Tissue," *J. Biomed. Mater. Res*., **19** 685-98 (1985).
5. T. Kasuga, M. Yoshida, A. J. Ikushima, M. Tsuchiya, and H. Kusahari, "Bioactivity of Zirconia-toughened Glass-ceramics," *J. Am. Ceram. Soc*., **75** 1884-88 (1992).
6. D. U. Tulyaganov, S. Agathopoulos, P. Valerio, A. Balamurugan, A. Saranti, M. A. Karakassides, and J. M. F. Ferreira, "Synthesis, Bioactivity and Preliminary Biocompatibility Studies of Glasses in the System CaO-MgO-SiO_2-Na_2O-P_2O_5-CaF_2," *J. Mater. Sci.: Mater. Med*., **22** 217-27 (2011).
7. T. Kitsugi, T. Yamamuro, T. Nakamura, S. Kotani, T. Kokubo, and H. Takeuchi, "Four Calcium Phosphate Ceramics as Bone Substitutes for Non-weight-bearing," *Biomaterical*, **14** 216-24 (1993).
8. T. Kitsugi, T. Yamamuro, T. Nakamura, and M. Oka, "Transmission Electron Microscopy Onservations at the Interface of Bone and Four Types of calcium/phosphorus Molar Ratio," *Biomaterials*, **16** 1101-07 (1995).
9. H. Rawson, Inorganic Glass-forming System; p. 155, Academic Press, London, 1960.
10. J. D. Mackenzie, Modern Aspects of the Vitreous State; p. 63, Butterworths, London, 1960.
11. H. Rawson, Phosphorus Penoxide and Phosphate Glasses; pp. 155-173, Academic Press, London, 1960.
12. I. M. Reaney, P. E. James, and W. E. Lee, "Effect of Nucleating Agents on the Crystallization of Calcium Phosphate Glasses," *J. Am. Ceram. Soc*., **79** 1934-44 (1996).
13. M. Nagase, Y. Abe, M. Chigira, and E. Udagawa, "Toxicity of Silica-containing Calcium Phisphate Glasses Demonstrated in Mice," *Biomaterials*, **13** 172-75 (1992).
14. T. Kasuga and Y. Abe, "Calcium Phosphate Invert Glasses with Soda and Titania," *J. Non-Cryst. Solids*, **243** 70-4 (1999).
15. T. Kasuga, M. Sawada, M. Nogami, and Y. Abe, "Bioactive Ceramics Prepared by Sintering and Crystallization of Calciu Phosphate Invert Glasses," *Biomaterials*, **20** 1415-20 (1999).
16. M. K. Murthy, M. J. Smith, and A. E. R. Westman, "Constitution of Mixed Akali Phosphate Glasses," *J. Am. Ceram. Soc.,* **44** 97-105 (1961).
17. B. D. Cullity and S. R. Stock, Elements of X-ray Diffraction; p. 167, Prentice Hall, New Jersey, 2001.