

316L paslanmaz çelik altlıkların üzerine sol-jel tekniği ile amonyak takviyeli çözelti kullanarak hidroksiapatit (HAP) kaplanması

Synthesizing hydroxyapatite (HAP) coatings on 316L stainless steel substrates by sol-gel technique using ammonia modified solution

Araş. Gör. - Res. Asst. Funda Ak Azem

Prof. Dr. Ahmet Çakır

Dokuz Eylül Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, İzmir

Dokuz Eylül University, Faculty of Engineering, Department of Metallurgy and Materials Engineering, İzmir

Özet

Ortopedik kalça protezleri klinik uygulamalarda kemiğe hareketsiz, kararlı, uzun süre kullanıma dayanıklı ve güvenli bir bağlama ile bağlanır. Kemik çimentosuz olarak uygulanan kalça protezleri, kemik ile implant ara yüzeyini daha kararlı konuma getirmek için gözenekli hidroksiapatit (HAP, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) kaplama ile kaplama yapılır. Bu çalışmada 316L tipi paslanmaz çelik yüzeyine sol-jel metodu ile HAP kaplanarak doku ve faz yapısı üzerine pH etkisi incelenmiştir. Çözeltinin pH'ı 24 saatlik bekletilme işleminden önce, önceden belirlenen miktarda (hacimce %3 ve %7) amonyak ilavesi ile belirlenmiştir. HAP ile kaplanan yüzeyin X-ışınları difraksiyonu (XRD) ile kalitatif analizi yapılmış, faz yapısı ve mikro yapısı taramalı elektron mikroskobu(SEM) kullanılarak belirlenmiştir. Kaplamaların kalsiyum/fosfor (Ca/P) oranı da enerji saçılım spektrometresi (EDS) ile belirlenmiştir. Stokiyometrik HAP miktarı hacimce %3'lük amonyaklı çözelti ile sağlanmış ve bu XRD analizi ile gösterilmiştir. Analizin yanında, SEM mikro yapıları elde edilen kaplamanın homojen dağıldığını, gözenekli ve çatlaksız bir yapı meydana getirildiğini gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: sol-jel, hidroksiapatit, 316L paslanmaz çelik

1. Giriş

Metalik malzemeler, üstün mekanik özellikleri nedeniyle ortopedi ve diş hekimliğinde çok uzun zamandan günümüze kadar kullanılmaktadır. Ostenitik paslanmaz çelikler, kobalt-krom alaşımları, titanyum ve alaşımları yaygın olarak kullanılan malzemeler arasındadır. 316L paslanmaz çelikler, yüksek mekanik mukavemetleri, vücut sıvılarından dolayı korozyon direnci ve biyo-uyumluluğundan dolayı popülerite kazanmış olup, tüm dünya çapında cerrahi operasyonlarda kullanılmaktadır [1].

Eklemlerin metalik protezlerle yenilenmesi, hastalanmış veya kırılmış kalça eklemlerinde, hem

Abstract

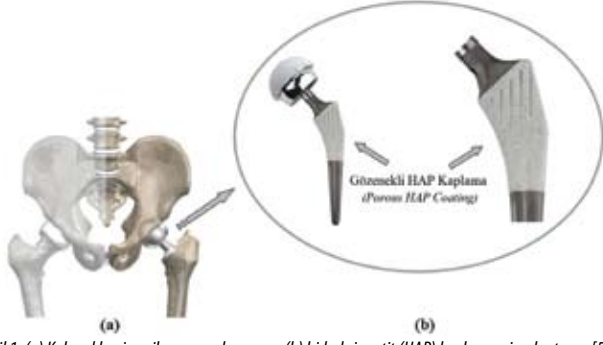
Clinically used orthopedic hip prostheses are fixed stable, long-lasting, and safe fixation with bone. Hip prostheses applied with cementless are coated with porous hydroxyapatite (HAP; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) coating in order to make more stable interface between the bone and the implant. In this work, effect of pH on the morphology and phase structure was investigated by coating HAP on surface of the type 316L stainless steel via sol-gel technique. pH of the sol solution was adjusted by adding pre-determined amount of ammonia (3% and 7% volume fraction) prior to an aging process for 24h. Phase structure of the HAP coatings were analyzed qualitatively by X-ray diffraction and the microstructure was determined by scanning electron microscopy (SEM). Calcium/phosphorous (Ca/P) ratio of the coatings was also determined by using energy dispersive spectroscopy (EDS). Formation of the stoichiometric HAP coatings was maintained by using solution with 3% volume fraction of ammonia and this was showed by XRD analysis. Besides the analysis, SEM micrographs revealed that obtained coating comprised homogeneously distributed porous and crack-free structure.

Keywords: sol-gel, hydroxyapatite, 316L stainless steel

1. Introduction

Metallic materials are being used in orthopedic and dentistry field for a long time because of their mechanical properties. Among commonly available materials are austenitic stainless steels, cobalt-chromium alloys and titanium and its alloys. 316L stainless steels have gained popularity and used all over the world for surgical operations owing to their high mechanical strength, corrosion resistance in body fluids and biocompatibility [1].

Joint replacements with metallic prosthesis are very successful, reproducible procedure and excellent



Şekil 1. (a) Kalça eklemi yenileme uygulaması ve (b) hidroksiapatit (HAP) kaplanmış implant sapı [5, 6].
Figure 1. (a) Application of the hip joint replacement and (b) hydroxyapatite (HAP) coated implant stem [5,6].

kısa hem de uzun dönemli ağrıyı yok etmek ve eklem fonksiyonunu yeniden kazandırmak amacıyla gerçekleştirilen, son derece başarılı, tekrarlanabilir işlem ve kusursuz uygulamalardır (Şekil 1.a). Kemik çimentosu ile gerçekleştirilen kalça protezi uygulaması, kısa ve orta süreli sonuçlarda oldukça başarılı olmuştur. Ancak, uzun süreli kullanımda, özellikle daha genç ve aktif hastalarda veya ağır şartlarda çalışan erkeklerde, protez gevşemesine bağlı hasarlı problemler söz konusudur. Bu yüzden çimento ufalanması ve kemik erimesine karşı biyolojik olarak sabitlenen kalça protezleri geliştirilmiştir. Başarılmasının anahtarı kalıcı klinik sonucun, implantın çevredeki kemiğe hızlı ve sürekli olarak sabitlenmesini sağlamaktır. Çimentosuz protez uygulamaları, implantı kemiğe çimento kullanmadan biyolojik olarak sabitlemek için yeni bir teknoloji olarak ortaya çıkmıştır. Yakın zamandaki klinik sonuçlar, çimentosuz protez uygulamalarının kalça protez yenilenmesinde, implant gevşeme oranını ve uyluk ağrısını azalttığını göstermektedir. Çimentosuz protezlerde kemik büyümesini artırma yönündeki çabalar, hidroksiapatit (HAP) kaplama uygulamalarını gündeme getirmiştir (Şekil 1.b). Optimum şartlar altında bu kaplamalar, öncelikli olarak implant kararlılığını ve protezin biyolojik sabitlenmesini sağlamak için kemik dokusu iyileşme hızını arttırmalıdır [2-4].

Sentetik hidroksiapatitin kemik mineraline benzerliği ile kusursuz biyo-aktif ve biyo-uyumluluk özellikleri geniş bir kullanım alanı yaratmıştır. HAP, doğal kemiğin yaklaşık olarak ağırlıkça %70'ini oluşturmaktadır. Ancak HAP'ın kırılabilir yapısı, klinik uygulamadaki kullanım amacını sınırlandırmakta olup, tek başına HAP malzemesi, yük taşıyan bölgelerde kemiğin yerine geçemez. Bu yüzden metal implantlar üzerindeki HAP kaplamalar, yeni kemik büyümesini başlatıp, implant ve kemik dokusu arasındaki bağlanmayı kuvvetlendirerek sabitlenme kararlılığını arttırdığından ve bu esnada metalik implant da yük taşıyıcı eleman olarak davrandığından büyük ilgi görmüştür. Yüksek gözenekli HAP seramikler; birbirine bağlanmış gözenekli yapılarıyla kemiğin implant matrisi içine büyümesi için bir çatı oluşturarak, protezin çevredeki kemiğe tutunmasını ve implant gevşemesini engellediği için, kemik yerine kullanılan ideal malzemelerdir. Bunun yanında, kaplamanın gözenekli yüzey morfolojisi, doğal kemik ile olan bağlanma alanını artırarak iyi bir yapışma mukavemeti oluşturur, bu da implantı kemik dokusu ile bağlayacak kuvvetli bir köprü sağlar (Şekil 2) [7-9].

treatments to eliminate pain and restore function in a diseased or fractured hip joint for both the short-term and long-term period (Fig. 1.a). Cemented hip arthroplasty has been very successful in the short-term and intermediate-term results. However, there are significant problems with failure after long-term use, especially in younger, active patients or heavy-duty men, due to aseptic loosening. For this reason biologic fixations of hip prostheses were developed in response to cement fragmentation and osteolysis. Central to achieving a lasting clinical result is the ability to achieve immediate and durable stability of the implant to host bone. Uncemented prostheses emerged as a new technology to biologically fix implant to bone without the use of cement. Recent clinical results show that uncemented prostheses reduce the aseptic loosening rate and thigh pain in hip replacement. Efforts to increase bone ingrowth of uncemented prostheses have led to the application of hydroxyapatite (HAP) coatings (Fig. 1.b). Under optimal conditions, these coatings should enhance bone tissue healing rates in order to ensure primary implant stability and biological fixation of the prostheses [2-4].

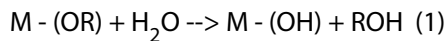
The similarity of synthetic hydroxyapatite to bone mineral and its excellent bioactivity and biocompatibility properties has led to the extensive use of HAP. HAP constitutes approximately 70% (by weight) of natural bone. However brittle nature of HAP limits the scope of its clinical applications, and consequently the single HAP material cannot replace bone in load bearing sites. Therefore, HAP coatings on metallic implants have been attracted to introduce new bone ingrowth and subsequently increase fixation stability by improving the bond between the implant and bone tissue, while metallic substrates act as a load-bearing member. Hydroxyapatite-based ceramics with high porosity are ideal for bone substitution where interconnected pores can provide a framework for bone growth into the matrix of the implant, and thus anchor the prosthesis with the surrounding bone, preventing loosening of implants. Furthermore, porous surface morphology of the coating increases joint area with natural bone and good adhesion strength maintains a strong bridge to connect the implant with bone tissue (Fig. 2) [7-9].

Coating processes capable of producing thin HAP layers are pulsed-laser deposition [10] and sputtering [11] which involves high temperature processing. Other technologies such as electrodeposition and sol-gel utilize lower processing temperatures and avoid the structural instability of HAP at elevated temperatures [12]. The term sol-gel process involves any process of producing ceramic materials (single and metal alkoxides, as well as non-oxides e.g. nitrides) from solutions. The sol-gel process was first identified by Ebelman over 150 years ago, yet, the rapid development of this technology and applications is emerged in the last decade. The broad range of possible applications of sol-gel derived materials and biomaterials marks this technology as one of the promising field of contemporary materials sciences [13, 14].

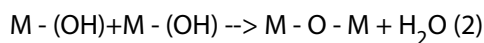
İnce HAP katmanları oluşturabilecek kaplama işlemleri arasında yüksek sıcaklık içeren puls-lazer çöktürme [10] ve saçılmayla kaplama sayılabilir [11]. Elektrolitik çöktürme ve sol-jel gibi diğer teknolojiler düşük işlem sıcaklıkları kullanarak, HAP'ın yüksek sıcaklıklardaki yapısal kararsızlığını engeller [12]. Sol-jel işlemi, çözeltiden seramik malzeme (nitrat gibi oksit olmayanlar yanında, tek ve metal alkoksitler) üretimini içerir. Sol-jel işlemi ilk defa 150 yıl kadar önce Ebelman tarafından tanımlanmıştır, ancak son 10 yıldan beri bu teknolojinin hızlı ilerlemesi ve uygulamaları ortaya çıkmıştır. Sol-jel türevli malzeme ve biyo-malzemelerin geniş uygulama alanları, bu teknolojiyi modern malzeme bilimlerinin gelecek vadeden alanlarından biri yapmaktadır [13, 14].

Sol-jel işlemi diğer kaplama tekniklerine göre, karışımın atomik boyutta olması nedeniyle artan homojenite, küçük partikül boyutundan dolayı düşük temperleme sıcaklıkları, kompleks şekilleri kolayca kaplayabilme gibi, üstünlükler göstermekte olup, kaplamaları üretebilmek için pek çok çöktürme tekniği kullanılabilir [15]. Sol-jel sentezi, alkoksitler, metal tuzları veya nitratlar gibi diğer uygun başlangıç kimyasallarından çözelti hazırlamayı içerir. İşlemde, basit moleküler başlangıç kimyasalları, koloidal süspansiyon (sol) oluşturmak üzere nanometre boyutlu partiküllere dönüşür. Daha sonra bu koloidal nano-partiküller, üç boyutlu olarak sıvıyla dolmuş bir ağ (jel) içinde birbiri ile bağlanır. Bu jelle dönüşüm pek çok yolla başlatılabilir. Ancak en uygun yaklaşım reaksiyon solüsyonunun pH'ını değiştirmektir. Hatta sıvıyı katıdan ayırmak için kullanılan metot, sol-jel özelliklerini etkiler. Örneğin, jelin orijinal üç boyutlu yapısını muhafaza etmek ve düşük yoğunluklu aerogel üretebilmek için kimyacılar, süperkritik kurutma olarak adlandırılan bir teknik kullanır. Bunun yerine eğer jel, sıvı buharlaştırma işleminde yavaşça kurutulursa, jelin yapısal ağı bozularak kuru jel olarak bilinen yüksek yoğunluklu malzeme üretilir (Şekil 3). Kaplama üretmek için daldırma, döndürme ya da püskürtme teknikleri uygulanabilir [16,17].

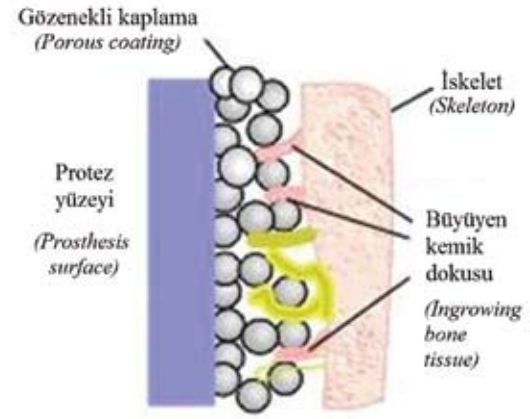
Klasik sol-jel yönteminde metal alkoksitleri sıklıkla başlangıç malzemeleri olarak kullanılır. Bu işlemde alkoksitler su ile hidrolize olurlar, hidroksil grupları nükleofilik olarak (elektron vererek) alkali grupların yerine geçerek metal atomuna (M) bağlanır ve alkol molekülleri (ROH) yan ürün olarak serbest kalır:



Bunun devamında M-(OH) molekülleri arasındaki polimerizasyon-kondenzasyon reaksiyonu, M-O-M bağının oluşumuna neden olur ve su yan ürün olarak açığa çıkar:



Reaksiyon (1) ve (2) asit veya baz katalizörleri kullanarak hızlandırılabilir [18]. Sol-jel yöntemiyle kaplama oluşumunda, katalizörler katalizörün tipine ve konsantrasyonuna bağlı olarak farklı etkiye sahiptir.



Şekil 2. Protez üzerindeki gözenekli kaplamada kemik büyümesi.

Figure 2. Bone ingrowth on the porous coating on the prostheses.

Sol-gel process offers a number of advantages over other coating techniques such as; increased homogeneity as mixing occurs on the atomic level; reduced sintering temperatures due to small particle size; ability to coat complex shapes easily; and numerous deposition techniques that can be employed to produce coatings [15]. Sol-gel synthesis involves preparation of a solution from alkoxides, metal salts or other suitable precursors, such as nitrates. In the process, simple molecular precursors are converted into nanometer-sized particles to form a colloidal suspension (sol). The colloidal nanoparticles are then linked with one another in a three dimension, liquid-filled solid network (gel). This transformation to a gel can be initiated in several ways, but the most convenient approach is to change the pH of the reaction solution. Even the method used to remove liquid from a solid will affect the sol-gel's properties. For example, to preserve gel's original three dimensional structure and produce low-density aerogels, chemists use a technique called supercritical drying. If, instead, the gel is dried slowly in a fluid-evaporation process, the gel's structural network collapses, which creates a high-density material known as a xerogel (Fig. 3). To produce a coating, the solution can then be deposited by dip, spin or spray coating [16, 17].

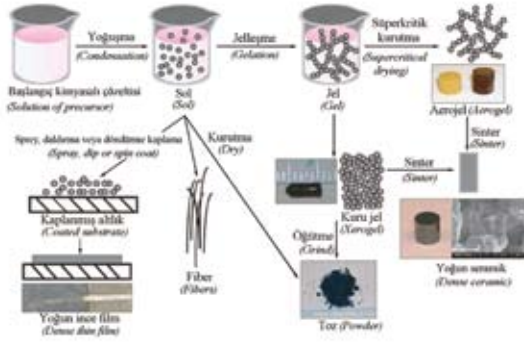
In conventional sol-gel synthesis, metal alkoxides are frequently used as the precursors. In this process the alkoxides are hydrolyzed in the presence of water, hydroxyl groups nucleophilically substitute alkyl groups bonded to the metal atom (M) and alcohol molecules (ROH) are released as byproduct:



A subsequent polymerization-condensation reaction between M-(OH) molecules leads to the formation of M-O-M bond and water is revealed as a byproduct:



Reaction (1) and (2) can be accelerated by acid or base catalyst [18]. Catalyst have different effect on the film formation by sol-gel technique depending on the type



Şekil 3. Sol-jel proses teknolojisi ve ürünleri.

Figure 3. Sol-gel process technology and its products.

Jelleşmeyi ve polimerizasyonu, asidik katalizör olarak sitrik asit [18] ve asetik asit [19] veya bazik katalizör olarak amonyak [20, 21] kullanımı ile geliştirerek CaP ürünlerinin üretilmesi ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

Sol-jel yöntemi ile HAP seramiklerin üretimi, kalsiyum ve fosfor başlangıç kimyasallarının moleküler seviyede bir karışımını gerektirir. Kalsiyum başlangıç kimyasalları olarak çoğunlukla kalsiyum alkoksitler veya tuzları kullanılır. Genelde fosfor başlangıç kimyasalı olarak suda veya organik solvent fazındaki fosfor bileşik-oksitleri, trietilfosfat ve trietilfosfit kullanılır. Jelleşmeyi sağlamak için sol fazındaki kalsiyum ve fosfor başlangıç kimyasalları arasında yavaş bir reaksiyon gereklidir. Bu yüzden sol-jel işleminde istenilen ürünü elde etmek için ısı işleminden önce literatürde yaygın olarak bilinen ve bekletilme (yaşlandırma) olarak isimlendirilen 24 saat veya daha uzun bir süre hazırlama zamanı vardır. Bekletilme esnasında başlangıç kimyasalları, [-Ca-O-P-] şeklinde çoklu zincirler oluşturmak üzere reaksiyona girer, yani polimerizasyon ve jelleşme meydana gelir ve jelleşme, artan bekletilme zamanıyla artmaktadır. Gerçekten de bazı durumlarda, ısı işlem esnasında kaplamanın kristalleşmesini sağlamada, solüsyonun jelleşmesini sağlayacak uzun bekletilme süreleri (3-7 gün) ve yüksek sıcaklıklarda (40°-70°C) bekletilme gibi hassas olarak kontrol edilebilen şartlar gereklidir. Jelleşmenin tamamlanmadığı durumlarda çözelti kararsızlığından dolayı normal ortam koşullarında, kaplamada sıklıkla, kalsiyum oksit (CaO), kalsiyum karbonat (CaCO₃) ve trikalsiyum fosfat (TCP) gibi yan ürünler gözlemlenir. Bu yüzden, faz homojenliği, yapı düzgünlüğü ve mekanik bütünlüğü sağlayacak nihai kaplama özelliklerini elde etmek için sol'deki jelleşme şartları önemli olup iyileştirilmelidir. [20, 22]. Bu çalışmada, sol-jel çözeltisine ilave edilen bazik amonyak katalizörünün (%28 NH₃) solüsyonun kaplama homojenliğine ve sol-jel türevli HAP kaplamanın nihai özelliklerine etkisi incelenmiştir.

2. Deneysel Çalışma

Kaplamadan önce, 316L paslanmaz çelik altlıklar 220, 400, 600, 1000 ve 1200 numaralı SiC aşındırıcı zımparadan geçirilip, 5 µm elmas pasta ile parlatıldı, daha sonra ultrasonik banyoda aseton ile temizlendi ve distile su ile yıkandı. Sol çözeltisini hazırlamak için Ca ve P kaynağı olarak trietilfosfit (C₆H₁₅O₃P) ve kalsiyum nitrat (Ca(NO₃)₂.4H₂O) başlangıç kimyasalları,

of catalyst and its concentration. There are studies about the synthesizing CaP products by improving gelation and polymerization with usage of citric acid [18] and acetic acid [19] as an acid catalyst or ammonia as a basic catalyst [20, 21].

Sol-gel synthesis of HAP ceramics offers a molecular-level mixing of calcium and phosphorous precursors. Calcium alkoxides or salts are mostly employed as calcium starting materials. In most case, phosphorous compounds-oxide, triethylphosphate and triethylphosphite are used as phosphorous precursors in water or organic solvent phase. A slow reaction between calcium and phosphorous precursors in the sol phase is necessary to lead gelation. For this reason, 24h or longer preparation time, named as aging period, prior to heat-treating in the sol-gel route is commonly reported in literature in order to obtain desirable product. During aging, the precursors react to form [-Ca-O-P-] multiple chains, i.e., polymerization and gelation occur, and the gelation increases with increasing time of aging. However, in some situations, precisely controlled conditions, such as prolonged aging periods (3-7 days) and aging at elevated temperatures (40°-70°C) are needed to lead a gelation of the solution in order to obtain crystallization of the coatings in the course of heat treatment. Because of the instability of the solution without a complete gelation, the coating is frequently observed to form by-products such as calcium oxides (CaO), calcium carbonate (CaCO₃), and tricalcium phosphate (TCP) in an ambient atmosphere. Therefore the gelation conditions of sol are important and yet to be improved in order to obtain final coating properties satisfying homogeneity, structure uniformity and mechanical integrity [20, 22]. In this study, effect of ammonia solution (28% NH₃) as basic catalyst in sol-gel solution on the uniformity and the final properties of the sol-gel derived HAP coating were investigated.

2. Experimental Study

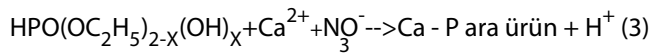
Prior the coating, 316L stainless steel substrates were abraded in series with number of 220, 400, 600, 1000 and 1200 SiC paper and finally polished with the 5 µm diamond paste, then washed with acetone in an ultrasonic cleaner and cleaned in distilled water. For preparation of sol solution, triethylphosphite (C₆H₁₅O₃P) and calcium nitrate (Ca(NO₃)₂.4H₂O) precursors were used as the source of P and Ca in specific amounts so that stoichiometric Ca/P ratio was obtained as 1.67. Distilled water and ethanol (C₂H₅OH) were used as solvents for phosphorus and calcium precursors, respectively. 2.4 M triethylphosphite was hydrolyzed for 24 hours under vigorous stirring. A stoichiometric amount of calcium nitrate was added into the hydrolyzed phosphite sol with titration. The mixed solution was then continuously agitated for an additional 20 minutes. In order to investigate pH effect of sol solution on coating structure basic catalyst ammonia (28% NH₃, Merck) was added to transparent solution with 3% and 7% volume fraction ratio. Then the mixture thus obtained was stirred for 30 min with magnetic stirrer at ambient environment followed by

stokiyometrik Ca/P oranı 1.67 olacak şekilde belirli miktarlarda kullanıldı. Ca ve P başlangıç kimyasalları için sırasıyla distile su ve etanol (C₂H₅OH) solvent olarak kullanıldı. 2.4 M trietilfosfit 24 saat süre ile karıştırılarak hidrolize edildi. Stokiyometrik miktardaki kalsiyum nitrat, titrasyonla hidrolize olmuş fosfit sol'una (çözeltilisine) eklendi. Daha sonra elde edilen çözelti, 20 dakikalık ek bir karıştırma işlemine tutuldu. Çözelti pH'nın kaplama yapısı üzerine olan etkisini incelemek için hacimsel oranda %3 ve %7 bazik katalizör amonyak (%28 NH₃, Merck), saydam çözeltiye eklendi. Elde edilen bu karışım manyetik karıştırıcı ile ortam şartlarında 30 dakika karıştırılıp arkasından 24 saatlik bekletilme işlemine alındı. 24 saatlik bekletilme süresinden sonra amonyaklı ve amonyaksız çözeltiler 316L paslanmaz çelik altlık üzerine kaplandı. Kaplanan filmler 80°C'de 1 saat kurutulduktan sonra, 500°C'de 1 saat boyunca ısı işlem uygulandı. Amonyaksız sol solüsyonu kullanılarak üretilen kaplama S0 olarak isimlendirildi. Benzer şekilde, %3 ve %7 oranında amonyaklı sol çözeltisi kullanılarak üretilen kaplamalar ise sırasıyla S1 ve S2 olarak adlandırıldı.

Kaplamalar, ince film ekipmanlı X-ışınları difraksiyonu (XRD) (Rigaku, D/Max-2200/PC) cihazı ile CuK_α X-Ray radyasyonu kullanılarak analiz edildi. Mikroyapı incelemesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) (JEOL JSM-6060) kullanıldı. Kaplamanın Ca/P molar oranını ölçmek amacıyla, enerji dağılım spektroskopisi (EDS) kullanılarak elementel analiz yapıldı.

3. Bulgular ve Tartışma

Liu ve diğerlerine göre kalsiyum çözeltisi fosfor çözeltilisine eklendiğinde, hidrolize olmuş fosfor, sulu çözeltideki polimerizasyon reaksiyonuyla Ca-P ara ürününü oluşturmak için Ca²⁺ iyonu ile etkileşime girerek, reaksiyon esnasında proton açığa çıkarır [18, 23].



Kim ve diğerleri, bekletilme işlemi devam ettikçe Ca-P ara ürününün çoklu zincirler oluşturduğunu ve daha fazla miktarda H⁺ üretildiğini, yani polimerizasyon ve jelleşmenin gerçekleştiğini rapor etmiştir. Reaksiyon boyunca protonların salınımı pH düşüşünü kanıtlamaktadır. Bu noktada, bazik amonyak ilavesi çözeltiye fazla miktarda OH⁻ iyonu sağlar. OH⁻ iyonu doğal olarak serbest kalan H⁺ iyonlarını tutar, böylece çözelti daha az asidik hale gelir ve daha önemlisi reaksiyonu ileri yönde hızlandırır. Bazik katalizör amonyağın ilavesini takiben, çözeltinin pH değerinde görülen ani düşüş jelleşme reaksiyonlarındaki artışın ispatıdır. pH kararlı hale gelene kadar OH⁻ iyonu, jelleşme reaksiyonuyla üretilir üretilmez H⁺ iyonunu nötralize etmeye devam eder [20, 24, 25].

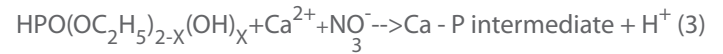
Amonyaklı ve amonyaksız sol çözeltilisindeki pH'ın zamana bağlı değişimi Şekil 4'te verilmiştir. Çözeltilerin pH değerlerinin değişimi 50 saat boyunca ölçülmüş ve 24 saatlik bekletilme zamanından sonra, çözeltilerin pH değerlerinde önemli bir değişim olmadığı, tüm sistemler için belirli değerlerde, hemen hemen kararlı hale geldiği görülmüştür. Bu nedenle kaplamaların

an aging process for 24h. After 24h period of aging the sol solutions with and without ammonia were coated on 316L stainless steel substrate. The films were dried at 80°C for 1 hour and then heat treated at 500°C for 1h. Coating produced by using sol solution without ammonia was named as S0. Similarly, coatings synthesized by using sol solution with 3% and 7% volume fraction of ammonia were named as S1 and S2, respectively.

Coatings were analyzed using X-Ray Diffraction (XRD, Rigaku, D/Max-2200/PC) with a thin film attachment by using X-Ray radiation of CuK_α. Scanning electron microscope (SEM) (JEOL JSM-6060) was used for microstructural examination. Elemental analysis of the coatings was performed to estimate the Ca/P molar ratio (mr) of the coatings by using Energy Dispersive Spectroscopy (EDS).

3. Results and Discussion

According to the Liu et al., when a calcium solution is added to the phosphorus solution, hydrolyzed phosphorous interacts with Ca²⁺ ions in aqueous solution through a polymerization reaction to form a Ca-P intermediate, releasing protons during the reaction [18, 23].



Kim et al. reported that the aging process continued, the (Ca-P intermediate) constituted multiple chains and large amount of H⁺ is produced, i.e., polymerization or gelation occurs. During the reaction the liberation of protons justifies the pH decreasing. At this point, the effect of basic ammonia additive provides a large number of OH⁻ ions to the solution. OH⁻ ions surely acted as capturing the released H⁺ ions; thereby the solution became less acidic and more importantly accelerating the reaction in forward direction. Following the addition of basic catalyst ammonia, the abrupt decrease in pH value of the sol was reported, which was reasoned to prove an increase in gelation reactions. Until the pH was stabilized, the OH⁻ ion continued to neutralize the H⁺ ion once it was produced by the gelation reaction [20, 24, 25].

Alteration of the pH value of the sol solution with and without ammonia addition versus aging time is given in Fig. 4. The pH value of the sol solutions was measured during 50 hours and any significant change in pH value of the sol solution was observed after the aging time of 24h and nearly stabilized at certain values for all systems. Because of this reason, coatings were synthesized after the aging time of 24h. As can be seen in figure, pH value of sol solution without ammonia was decreased approximately to value of 0.3. On the other hand, the pH value of the solution with 7% volume fraction of ammonia depicts sudden decreases relatively at short periods, and the pH decreased temperately with the increasing aging time. As can be seen in Fig.4 there was no significant change in pH value of the sol solution after the aging time of 24h and nearly stabilized at certain values for all systems. These pH values were 4.3 and 1.6 for volume fraction of ammonia solution of 7% and 3%, respectively. In order to obtain transparent sol solution, 7% ammonia addition was

üretimi çözeltinin 24 saatlik bekletilme süresinden sonra gerçekleştirilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi, amonyaksız sol çözeltisinin pH değeri 24 saatlik bekletilme zamanı sonunda yaklaşık olarak 0.3 değerine düşmüştür. Diğer taraftan, hacimsel %7'lik amonyak ilave edilmiş çözeltinin pH değeri, kısa süreli periyotta nispeten ani bir düşüş göstermiş olup, artan bekletilme zamanı ile bu düşüş daha mutedil bir şekilde devam etmiştir. Şekil 4'ten görüleceği üzere, 24 saatlik bekletilme zamanından sonra, sol çözeltilerinin pH değerlerinde önemli bir değişim olmayıp, tüm sistemler için belirli değerlerde, hemen hemen kararlı hale gelmiştir. Bu değerler, hacimsel olarak %7 ve %3'lük amonyaklı çözeltiler için sırasıyla, 4.3 ve 1.6'dır. Saydam çözelti elde edebilmek için %7 amonyak ilavesi üst sınır olarak tespit edilmiştir. Çünkü daha fazla miktarlardaki amonyak ilavesi çözeltide çökeltilere neden olmaktadır.

09-432 numaralı PDF dosya kartına göre, HAP fazının 2θ ve şiddet değerleri Şekil 5'te verilmiştir. Şekil 6, S0, S1, S2 kaplamalarının XRD paternlerini göstermektedir. Amonyaksız olarak elde edilen S0 kaplaması az miktarda $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ile birlikte HAP fazına sahiptir. 29.5° 'lik 2θ açısına denk gelen çizgiler, PDF 09-346 kartıyla karşılaştırıldığında $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ fazıyla eşleşmektedir.

Kaplamaların Ca/P molar oranını belirlemek için EDS analizi gerçekleştirilmiştir. Kaplamaların SEM görüntüleri, EDS analizi spektrumu ve sonuçları Şekil 7'de verilmiştir. SEM görüntülerinde görülen kırmızı dikdörtgen analiz yapılan alanı göstermektedir. Spektrumda Fe, Ni ve Cr elementleri 316L paslanmaz çeliğin ana bileşenlerini, ve Ca, P ve O ise oluşan HAP kaplama tabakasını temsil etmektedir. Şekil 7(c)'den görüldüğü gibi, S0 kaplamasının spektrumunda altlığa ait elementler daha yoğun çıkmaktadır. Bunun kaplamanın yapısındaki zayıf bölgeler olan çatlaklardan kaynaklandığı düşünülebilir. S0 kaplamasının Ca/P molar oranı 1.60 olarak ölçülmüş olup bu değer stokiyometrik HAP'inkinden daha düşük olarak bulunmuştur. Sonuç olarak Ca-P türevinin ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) varlığının muhtemel sebebi, kullanılan sol çözeltisinin yüksek asitliği ile açıklanabilir. Çözeltinin pH'ına bakmazsak S1 ve S2 kaplamaları aynı kırılma paternine sahiptir. Amonyak çözeltisi ile elde edilen her iki kaplama da HAP fazını içermektedir. Elementel analiz, S1 ve S2 kaplamalarının Ca/P molar oranları değerlerinin sırasıyla 1.70 ve 1.76 olduğunu göstermiştir.

Amonyaklı ve amonyaksız S0, S1 ve S2 kaplamalarının morfolojileri Şekil 8(a-e)'de verilmiştir. Amonyaksız çözelti ile elde edilen S0 kaplamasında bazı yüzey çatlakları görülmektedir (Şekil 8 (a, b)). Kaplamalardaki bu tür yüzey çatlakları, yüzey bütünlüğü uzun süre sağlanamayacağı için zararlı bir etkiye sahiptir. Gözeneklilik, yaşayan hücrelerin üzerinde uygun bir şekilde çoğalabileceği bir iskeleye ihtiyaç duyması sebebiyle biyouyumlu implantlarda her zaman gereklidir ve beslenme gözenekli boşluk içine hücre göçü ile sağlanabilir. Şekil 8 (c, d)'de gösterildiği gibi, S1 kaplaması implant ömrü açısından gerekli olan gözenekli ve çatlaksız bir yapıya sahiptir. Gözeneklerin kaplamadaki, kalıntılarının ısıl bozulması esnasında meydana gelen gaz çıkışından kaynaklandığına

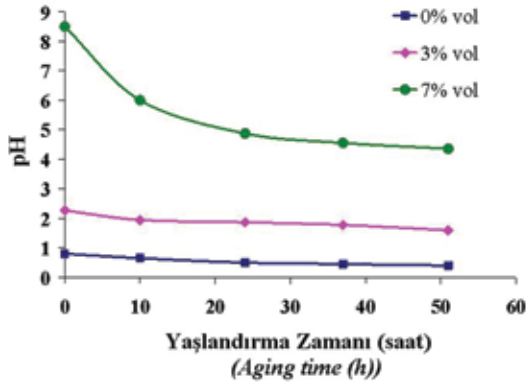
assigned as an upper limit of the addition because higher amount of ammonia addition causes precipitations in the solution.

According to the JSPDS file card of 09-432 identical 2θ and intensity values of HAP phase is given in Fig. 5. Fig.6 demonstrates XRD patterns of the coatings of S0, S1 and S2. Coating of S0 that obtained without ammonia solution have HAP phase with minor $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ phase. The lines at a 2θ of 29.5° match strongest $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ phase line that is compared with the JCPDS 9-346.

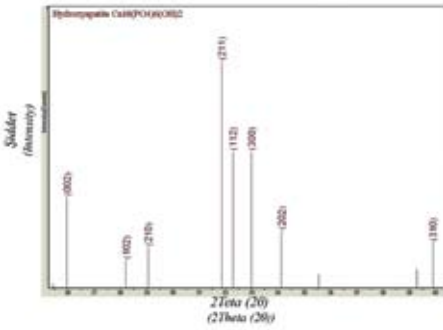
EDS analysis was performed in order to estimate Ca/P molar ratio of the coatings. SEM images, spectrum and results of EDS analysis are given in Fig.7. Red rectangle on the SEM image shows the area where analyze was performed. In the spectrum, elements of Fe, Ni and Cr were the major constituent of 316L stainless steel and elements of Ca, P and O represent formed coated layer of HAP. As can be seen in Fig. 7 (c), elements of the substrate are more intense in the spectrum of the S0 coating. It is thought that this arises from the cracks which are weak regions of the coating structure. Ca/P molar ratio of coating S0 was estimated as 1.60 which was found lower than the value of the stoichiometric HAP. Consequently, possible reason for the presence of the Ca-P derivative ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) can be explained by the high acidity of the used sol solutions. Coatings of S1 and S2 have similar diffraction patterns, irrespective of the pH of the solution. Both of the coatings obtained with ammonia solution composed of HAP phase. Elementel analysis signified that the coatings of S1 and S2 have Ca/P molar ratio values of 1.70 and 1.76, respectively.

Morphologies of coatings S0, S1 and S2 without and with ammonia solution are given in Fig. 8 (a-e). Some surface cracks are visible for the coating of S0 that obtained without ammonia solution (Fig. 8 (a, b)). Surface cracks for this kind of coatings have a detrimental effect since integrity of surface can not be sustained for long period. Porosity is always required for biocompatible implants because living cells need a proper scaffold to proliferate and nutrition can be supplied as cells migrate into to the porous space. As indicated in Fig. 8 (c, d) morphology of the coating S1 has a porous and crack free structure which is essential for implant longevity. It is believed that pores developed in the coating as a result of gas evolution during thermal pyrolysis of residues [26]. Fig. 9 depicts the morphology of the coating of S1 with high magnification. As can be seen in figure, pores constituted continuous network that separated by approximately 1-5 μm thick walls. On the other hand, when the higher concentration of ammonia solution (7%) was added to sol, morphology with less porous and inhomogeneous structure was obtained as given in Fig. 8 (e, f).

Morphology of the metal-HAP coating interface of S1 coating is given in Fig. 10. It can be seen that continuity of the coating extended throughout cross section. According to the EDS analysis performed through the line indicated with an arrow, elements of Ca, P and O show peaks at the coating region while Fe, Cr and Ni that represent 316L stainless steel substrate show peaks at metal region.



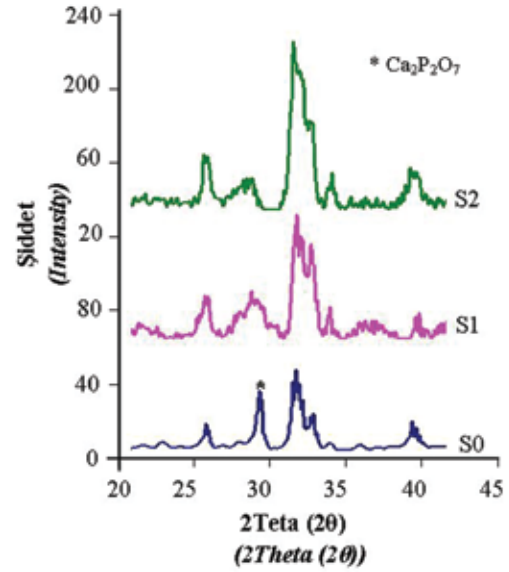
Şekil 4. Amonyaksız ve farklı konsantrasyonlardaki amonyaklı çözelti pH'larının bekletilme zamanına göre değişimi.
Figure 4. pH changes in the solution without and with various concentration of ammonia solution with respect to aging time.



Şekil 5. 09-432 numaralı PDF kartına göre Hidroksiapatit (HAP) fazının ana pikleri.
Figure 5. Major peaks of the hydroxyapatite (HAP) phase according to the JCPDS 09-432.

inanılmaktadır [26]. Şekil 9, S1 kaplama yapısını yüksek büyütmede göstermektedir. Şekilden görüleceği üzere, gözenekler, yaklaşık 1-5 µm duvar kalınlığı ile ayrılmış sürekli bir ağ oluşturmuştur. Diğer taraftan yüksek konsantrasyonda (%7) amonyak çözeltisi sol'a eklendiğinde, Şekil 8 (e, f)'de verildiği gibi, kaplama yapısı daha az gözenekli ve homojen olmayan bir yapı elde edilmektedir.

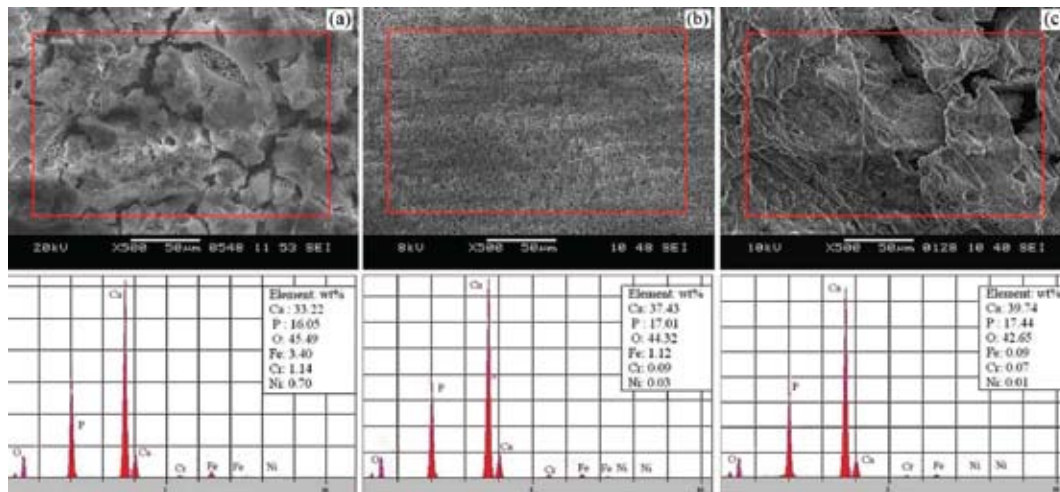
Şekil 10'da S1 kaplamasına ait metal-HAP kaplama ara yüzey morfolojisi verilmiştir. Kaplamanın kesit boyunca sürekli olduğu görülmektedir. Okla gösterilen çizgi boyunca yapılan EDS analizine göre 316L paslanmaz çeliğe karşılık gelen Fe, Cr ve Ni elementleri metal altlık kısmında pik gösterirken, Ca, P ve O elementleri kaplama bölgesinde pik göstermektedir.



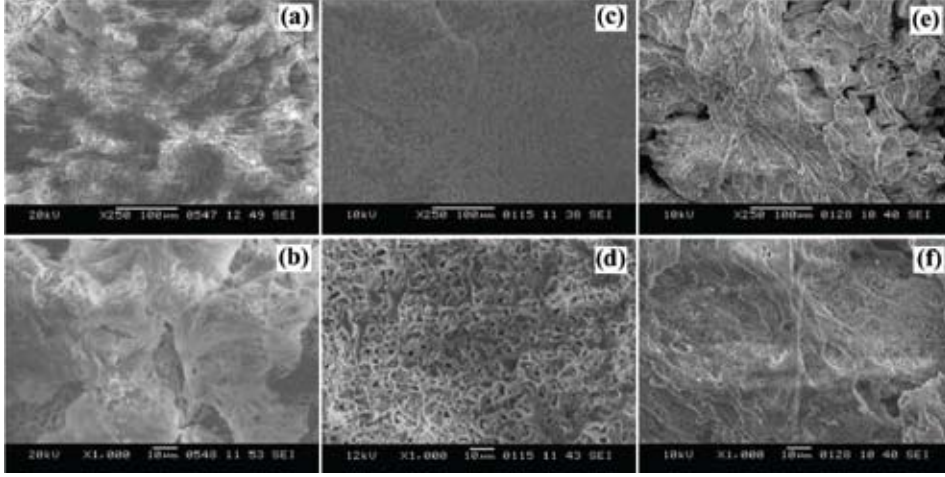
Şekil 6. S0, S1 ve S2 kaplamalarının XRD paternleri.
Figure 6. XRD patterns of the coatings of S0, S1 and S2.

4. Conclusions and Recommendations

In this study, HAP coating was synthesized using the sol-gel technique with aging time of 24h by using calcium nitrate and triethylphosphite as precursors. Polymerization and gelation property of the prepared solution was improved by adding of ammonia as a basic catalyst. During the aging process neutralization of H⁺ ions was accomplished by using the basic catalyst and stabilization of the pH of the sol with time confirmed nearly full gelation. Synthesized coatings without and with ammonia solutions were investigated in terms of structure uniformity and phase homogeneity. It is concluded that the formation of porously structured HAP coating on 316L stainless steel substrate was achieved successfully by using sol with the ammonia solution of 3% vol. Adhesion strength of the coatings should be studied to further improve their usability at the interface between the bone and metallic implants.



Şekil 7. S0 (a); S1 (b) ve S2 (c) kaplamalarının SEM mikroyapıları ve EDS analiz spektrum ve sonuçları.
Figure 7. SEM micrographs, EDS spectrum and analysis result of the coatings of S0 (a), S1 (b) and S2 (c).



Şekil 8. SO (a), (b); S1 (c), (d) ve S2 (e), (f) kaplamalarının SEM mikroyapıları.
Figure 8. SEM micrographs of coatings of SO (a), (b); S1 (c), (d) and S2 (e), (f).

4. Sonuçlar ve Öneriler

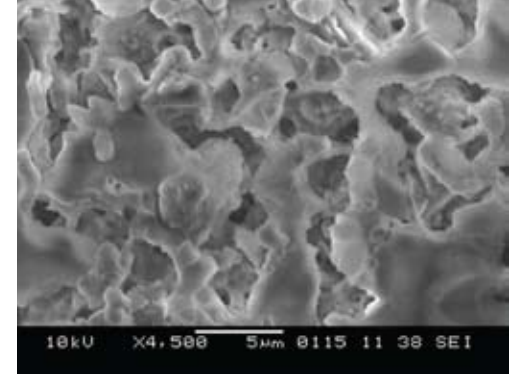
Bu çalışmada, hidroksiapatit (HAP) kaplama sol-jel yöntemi ile başlangıç kimyasalı olarak kalsiyum nitrat ve trietilfosfit kullanarak 24 h bekletilme süresinde üretilmiştir. Hazırlanan çözeltinin polimerizasyon ve jelleşme özellikleri bazik katalizör olarak amonyağın eklenmesi ile geliştirilmiştir. Bazik katalizör kullanılması ile H⁺ iyonlarının nötralize olması bekletilme işlemi süresince sağlamış ve zamanla çözeltinin pH'nın kararlılığı hemen hemen tam jelleşme ile doğrulanmıştır. Üretilen amonyaklı ve amonyaksız çözeltiler, yapı düzgünlüğü ve faz homojenliği bakımından incelenmiştir. Hacimsel olarak %3 amonyaklı sol kullanımı ile 316L paslanmaz çelik altlık üzerinde gözenekli yapıdaki HAP kaplamanın, başarılı bir şekilde elde edildiği sonucuna varılmıştır. Kemik/metalik implant ara yüzeyindeki kullanılabilirliğini geliştirmek için kaplamaların yapışma mukavemetinin incelenmesi gereklidir.

5. Teşekkür

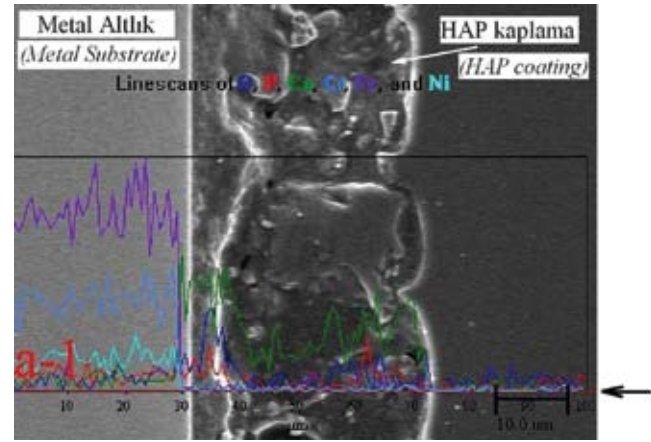
Yazarlar, Türkiye Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından MİSAG-259 projesi kapsamında sağlanan desteğe teşekkür etmektedir.

Referanslar / References

- [1] S. Kanan, A. Balamurgan and S. Rajeswari, "Development of calcium phosphate coatings on type 316L SS and their in vitro response", Trends Biomater. Artif Organs., 2002, 16(1), 8-11.
- [2] M. L. Froimson, J. Garino, A. Machenaud, and J.P. Vidalain, "Minimum 10-year results of a tapered, titanium, hydroxyapatite-coated hip stem" The Journal of Arthroplasty, 2007, 22 (1), 1-6.
- [3] J. Chang, C. Chen, K. Huang and G. Wang, "Eight-year results of hydroxyapatite-coated hip arthroplasty" The Journal of Arthroplasty, 2006, 21 (4), 541- 46.
- [4] E. Goyenvalle, E. Aguado, J. Nguyen, N. Passuti, L. Guehenne, P. Layrolle, "Osteointegration of femoral stem prostheses with a bilayered calcium phosphate coating" Biomaterials, 2006, 27, 1119-1128.
- [5] <http://www.eorthopod.com/>
- [6] <http://www.corin.co.uk/>
- [7] D. Wang, C. Chen, X. Liu, T. Lei, "Effects of sol-gel processing parameters on the phases and microstructures of HA films" Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007, 57, 237-42.
- [8] C. You, S. Oh and S. Kim, "Influences of heating condition and substrate-surface roughness on the characteristics of sol-gel-derived hydroxyapatite coatings, 2001, 21, 49-54.
- [9] D. Shi, G. Jiang and J. Bauer, "The Effect of Structural Characteristics on the in vitro bioactivity of hydroxyapatite" Applied Biomaterials, 2002, 63(1), 71-78.
- [10] C.M. Cotell, D.B. Chrisy, K.S. Grabowski, J.A. Sparague, C.R. Rossett, "Pulsed laser deposition of hydroxylapatite thin films on Ti-6Al-4V", J. Appl. Biomater., 1992; 3; 87-93.
- [11] J.L. Ong, L.C. Lucas, W.R. Lacefield, E.D. Rigney, "Structure, solubility and bond strength of thin calcium phosphate coatings produced by ion beam sputter deposition", Biomaterials, 1992, 13, 249-54.
- [12] W. Van Raemdonck, P. Ducheyne and P. Demeester, in "Metal and Ceramic Biomaterials", Vol. 2, edited by P. Ducheyne and G. W. Hastings, CRC Press, Boca Raton, FL, 1984, 143-66.
- [13] H. Podbielska, A. Ulatowska-Jarza, "Sol-gel technology for biomedical engineering", Bulletin of Polish Academy of Sciences, Technical Sciences, 2005, 53(3), 261-71.
- [14] J.J. Ebelmen, "Sur les éthers siliciques", CR Acad. Sci., 1844, 19, 398-400.
- [15] C. S. Chai, K. A. Gross, B. Ben-Nissan, "Critical ageing of hydroxyapatite sol-gel solutions", Biomaterials, 1998, 19, 2291-2296.
- [16] http://www.cmls.llnl.gov/?url=science_and_technology-chemistry-solgel_chemistry
- [17] W. Weng and J.L. Baptista, "Sol-gel derived porous hydroxyapatite coatings" J. Mater. Sci.: Mater. Med., 1998, 9, 159-163.
- [18] D. Liu, T. Troczynski, D. Hakimi, "Effect of hydrolysis on the phase evolution of water-based sol-gel Hydroxyapatite and its application to bioactive coatings", Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2002, 13, 657-665.
- [19] W. Weng, L. Huang, G. Han, "The alkoxide sol-gel process in the calcium phosphate system and its applications", Applied organometallic chemistry, 1999,13(8), 555-564.
- [20] H. Kim, H. Kim, J. C. Knowles, "Improvement of hydroxyapatite sol-gel coating on titanium with ammonium hydroxide addition, J. Am. Ceram. Soc., 2005, 88(1), 154-59.
- [21] H. Kim, H. Kim, V. Salih, J. C. Knowles, "Sol-gel-modified titanium with hydroxyapatite thin films and effect on osteoblast-like cell responses <http://www3.interscience.wiley.com/journal/30728/home>" J. Bio. Mater. Res. Part A, 2005, 74(3), 294-305.
- [22] A. Beganskiene, O. Dudko, R. Sirutkaitis, G. Giraitis, "Water based sol-gel synthesis of hydroxyapatite", Materials Science, 2003, 9 (4), 383-86.
- [23] D. Liu, T. Troczynski, W. J. Tseng, "Aging effect on the phase evolution of water-based sol-gel hydroxyapatite", Biomaterials, 2002, 23, 1227-1236.
- [24] J. Livage, P. Barboux, M. T. Vandenberg, C. Schmutz, and F. Taulelle, "Sol-gel synthesis of phosphates" J. Non-Crys. Sol. 1992, 147, 18-23.
- [25] M. Asomoza, M.P. Dominguez, S. Solis, V.H. Lara, P. Bosch, T. Lopez, "Hydrolysis catalyst effect on sol-gel silica structure", Materials Letters, 1998, 36, 249-53.
- [26] K. Cheng, G. Han, W. Weng, H. Qu, P. Du, G. Shen, "Sol-gel derived fluoridated hydroxyapatite films, Materials Research Bulletin, 2003, 38, 89-97.



Şekil 9. S1 kaplamanının yüksek büyütmedeki SEM mikroyapısı.
Figure 9. SEM micrograph of coating of S1 with a high magnification.



Şekil 10. S1 kaplamanının kesitinde EDS çizgi analizi.
Figure 10. EDS line analysis of cross section of the coating of S1.

5. Acknowledgement

The authors would like to acknowledge the support provided by The Scientific & Technical Research Council of Turkey (TUBITAK), under project number MISAG-259.