

00/0

DISSOLUTION BEHAVIOUR OF HYDROXYAPATITES
PREPARED FROM CATTLE BONE ASH



Miss Dujrentai Pongkao

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

Department of Materials Science

Graduate School


Chulalongkorn University

1994

ISBN 974-631-178-6

T16722868

พฤติกรรมการละลายของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เตรียมจากเต้ากระดุกวัวควาย



นางสาว คุญทิพย์ พงษ์เก่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาวัสดุศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2537

ISBN 974-631-178-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 16792868



Thesis Title Dissolution Behaviour of Hydroxyapatites
Prepared from Cattle Bone Ash
By Miss Dujreutai Pongkao
Department Materials Science
Thesis Adviser Assoc. Prof. Charussri Lorprayoon, Ph.D.
Thesis Co-adviser Dr.Reinhard Conradt

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn
University in Partial Fulfillment of Requirements for the
Master's Degree.

Santi Thoongsuwan
..... Dean of Graduate School
(Assoc. Prof. Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

Thesis Committee

Weral Udt
..... Chairman
(Assoc. Prof. Werasak Udomkichdecha, Ph.D.)
Charussri Lorprayoon
..... Thesis Adviser
(Assoc. Prof. Charussri Lorprayoon, Ph.D.)
Reinhard Conradt
..... Thesis Co-adviser
(Reinhard Conradt, Ph.D.)
Supatra Jinawath
..... Member
(Assoc. Prof. Supatra Jinawath, Ph.D.)
Paipan Santsuk
..... Member
(Assist. Prof. Paipan Santsuk)

คุณฤทัย พงษ์เก่า : พฤติกรรมการละลายของไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่เตรียมจากเถ้ากระดูกวัวควาย (DISSOLUTION BEHAVIOUR OF HYDROXYAPATITES PREPARED FROM CATTLE BONE ASH) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.จรัสศรี ลอประยูร อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร. ไرنฮาร์ด คอนจาคท์, 114 หน้า ISBN 974-631-178-6

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาพฤติกรรมการละลายของไฮดรอกซีอะพาไทต์ 2 ชนิดที่เตรียมจากเถ้ากระดูกวัวควาย คือ MP ได้จากการแคลไซน์กระดูกวัวควาย และ TP ได้จากการนำ MP มาผ่านกระบวนการทางเคมีเพื่อทำให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้น โดยทำการทดลองในภาชนะปิดที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 7.40 อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อสารละลาย 0.1 ต่อเซนติเมตร ในสารละลายร่างกาย (simulated body fluid, SBF) อิมิตัวของคาร์บอนไดออกไซด์

ภายหลังการทดลอง 90 วัน พบว่า เฟสและหมู่ฟังก์ชันของ MP และ TP ไม่เปลี่ยนแปลง แต่อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสลดลง ความหนาแน่นลดลง และความพรุนตัวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ภายหลังการทดลอง 30 วัน พบว่า มีของแข็งชนิดใหม่ปรากฏบนพื้นผิวของ MP และ TP และกระจายปกคลุมไปทั่วภายใน 90 วัน จากผลการวิเคราะห์ทำให้ทราบว่าของแข็งดังกล่าวคือ สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่มีหมู่คาร์บอเนตแทนที่อยู่ในตำแหน่งของฟอสเฟต และเฟสของสารชนิดนี้มีลักษณะคล้ายคลึงกับเฟสของกระดูกวัวควายที่พบในธรรมชาติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา วัสดุศาสตร์
สาขาวิชา เทคโนโลยีเซรามิก
ปีการศึกษา 2537

ลายมือชื่อนิติ *Wong*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *จรัสศรี*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *Reinhard Conrath*

C526007 : MAJOR CERAMIC TECHNOLOGY
 KEY WORD: HYDROXYAPATITE / DISSOLUTION / CATTLE BONE PRODUCT
 DUTREUTAI PONGKAO : DISSOLUTION BEHAVIOUR OF HYDROXYAPATITES
 PREPARED FROM CATTLE BONE ASH. THESIS ADVISER : ASSOC. PROF.
 CHARUSSRI LORPRAYOON, Ph.D. THESIS CO-ADVISER : DR. REINHARD
 CONRADT 114 pp. ISBN 974-631-178-6

The dissolution behaviour of hydroxyapatite derived from calcined cattle bone with and without chemical treatments (MP and TP respectively) was studied under human physiological condition. Both specimens were incubated in simulated body fluid (SBF) at 37 C with a sample surface area to solution volume ratio of 0.1 cm⁻¹. 5% CO₂ was used to adjust pH of this solution to 7.40 ± 0.05

The characteristics of MP and TP specimens were examined before and after incubation in SBF. The phase present and functional group of both specimens did not change after incubation for 90 days but the Ca : P ratio and bulk density decreased, hence the porosity increased. Furthermore, the new formed solid appeared on the surface of both specimens after 30 days incubation and covered all over the surface in 90 days. From the chemical analyses, it was found that this new formed solid was calcium-phosphate compound containing carbonate group in phosphate site structure, the phase of this compound was similar to natural cattle bone.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา วัสดุศาสตร์
 สาขาวิชา เทคโนโลยีเซรามิก
 ปีการศึกษา 2537

ลายมือชื่อนิติ ดิเรก หนอง
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Charussri Lorprayoon
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Reinhard Conradt

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express deep appreciation to my adviser, Assoc.Prof. Charussri Lorprayoon, Ph.D. who has always been willing to give her time for discussions and to offer guidance during the entire study.

I would like to thank my co-adviser, Reinhard Conradt, Ph.D. for helpful suggestions and continued interest.

I also wish to thank the following people :
Mr.Prasert Kaewpimpa, Mr.Utai Tiyavisuthisee,
Miss Rachaneeporn Toncharoensuk, Miss Pranom Khaowmek,
Mr.Suntisuk Maneekaow, Mrs.Sumana Maneesri, Miss Sinata Piboonthai, and Miss Sujarinee Kochawattana for their kindly assistance and valuable advice.

Appreciation is also extended to all teachers, graduate students and staff of Materials Science Department who have contributed the continuing interest and comments.

I would like to express my love and gratitude to my father, mother and three brothers for their love, patience and encouragement and also my appreciation for the research financial support from Graduate School Committee.

CONTENTS

	Page
Abstract (Thai).....	IV
Abstract (English).....	V
Acknowledgement.....	VI
List of Tables.....	IX
List of Figures.....	XI
Chapter	
1 Introduction.....	1
Bioceramics.....	1
Bio-Resorbable and Bio-Active Ceramics.....	3
Hydroxyapatite Products.....	5
Objectives and Scopes of this Research.....	7
2 Hydroxyapatite Structure and Solubility.....	9
Chemical Formula.....	9
Crystal and surface Structure.....	10
Solubility of Hydroxyapatite.....	12
Literature Survey about the Dissolution and Surface Reaction of Hydroxyapatite and other Bioactive Ceramics.....	22
3 Experiment.....	28
Description of Experiment.....	28
Experimental Procedure and Equipment.....	31
3.1 Starting Material Preparation.....	31
3.2 Specimen Preparation.....	31
3.3 Specimen Characterization.....	34

Chapter	Page
3.4	Dissolution Testing..... 38
3.5	Characterization of Tested Specimens and the Solution..... 46
4	Result and Discussion..... 48
	Characteristics of the Specimens Before Incubation..... 48
	Changeable Characteristics of Bulk Specimens After Incubation..... 57
	Identification of the Newly Formed Solid.... 75
	Analysis of the Changes in SBF Solution..... 82
5	Conclusion..... 91
	References..... 93
	Appendices..... 97
	Vita..... XVI



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Tables

Table	Page
2.1 Changes in hydroxyapatite (HA) crystallite sizes in reaction with three specimens of maxillary saliva.....	21
3.1 Composition of simulated body fluid.....	39
4.1 Chemical composition of MP and TP before incubation in SBF.....	49
4.2 The concentration of trace elements in the hydroxyapatite (ASTM F 1185-88).....	50
4.3 The bulk density and porosity of sintered bulk specimens before incubation in SBF.....	53
4.4 The characteristics and properties of MP and TP specimens.....	55
4.5 Observation results of MP, TP specimens with naked eyes.....	56
4.6 The chemical composition of bulk specimens of MP and TP after incubation for 90 days.....	65
4.7 Bulk density and porosity of bulk specimens before and after incubation in SBF, pH = 7.4, 37 °c for 90 days.....	71

Table	Page
4.8 Changes in SBF solution expressed as concentration of Ca and P with incubation time of MP specimen.....	84
4.9 Changes in SBF solution expressed as concentration of Ca and P with incubation time of TP specimen.....	86



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Figures

Figure	Page
1.1 Flow chart of thesis work.....	8
2.1 Crystal structure of hydroxyapatite projected along c-axis (upper) and along a-axis (bottom)...	11
2.2 Changes in solubility of various HA in water.....	13
2.3 Electroconductivity of sintered HA in distilled water.....	14
2.4 Weight loss curve of sintered HA in distilled water.....	15
2.5 Solubility changes of HA in various sodium chloride solutions.....	16
2.6 Solubility curves of HA in $MgCl_2$ solution compared with NaCl solution at $37^\circ C$	17
2.7 Effect of pH of HCl on dissolution rate of HA \square pH = 0.92, \circ pH = 1.30, \blacktriangle pH = 1.58.....	18
2.8 Dissolution model proposed for HA. (arrows indicate direction of diffusion).....	19
2.9 Solubility rates of sintered HA blocks in various lactic acid solutions.....	20
3.1 Experimental description flow chart.....	29
3.2 Information in each step of experiment.....	30
3.3 Low - speed refined saw machine.....	32

Figure	Page
3.4 Metaserv universal polisher.....	32
3.5 Flow Chart of specimen preparation.....	33
3.6 Philips diffractometer (PW 1730/10).....	36
3.7 FT-IR 1760X (Perkin-Elmer).....	37
3.8 (a) SEM JEOL JAPAN JSM - T220A.....	37
(b) SEM - EDX.....	37
3.9 N ₂ - CO ₂ flow system.....	40
3.10. Changing of pH in SBF at 37°c when bubble with N ₂ : CO ₂	41
3.11 (a) Container (Nalgene, brown HDPE bottle.....	42
(b) Support (white HDPE plate).....	42
3.12 Heraeus Incubator (type B6030)	
(a) Outside.....	43
(b) Inside.....	43
3.13 HA sample was fixed in HDPE white support.....	45
3.14 pH meter (Suntex TS-1).....	45
3.15 ICP (Plasma 1000, Perkin Elmer).....	46
4.1 XRD pattern of MP and TP bulk specimens before incubation in SBF.....	51
4.2 IR absorption spectra of MP and TP specimens....	52
4.3 The microstructure of bulk specimens (a) MP, (b) TP before incubation in SBF 0.25 % H ₃ PO ₄ etching for 15 sec.....	54
4.4 Changes on the surface of MP exposed to SBF solution.....	58

Figure	Page	
4.5	Changes on the surface of TP exposed to SBF solution.....	59
4.6	The morphology of new formed solid on the surface of MP specimen (90 days after incubation).....	61
4.7	The morphology of the new formed solid on the surface of TP specimen (90 days after incubation).....	62
4.8	Changes on the surface of HA and TCP exposed to solution PECF(+). (a,b) HA, (c,d) TCP. The times required for solid phase formation are estimated to be 14 days for TCP and 28 days for HA.	63
4.9	XRD pattern of MP bulk specimen (a) Before incubation in SBF, pH 7.4, 37°C , (b) After incubation in SBF, pH 7.4, 37°C for 90 days.....	67
4.10	XRD pattern of TP bulk specimen (a) Before incubation in SBF, pH 7.4, 37°C , (b) After incubation in SBF, pH 7.4, 37°C for 90 days.....	68
4.11	IR absorption spectra of MP bulk specimens (a) Before incubation in SBF, (b) After incubation in SBF, pH = 7.4, 37°C for 90 days.....	69

Figure	Page
4.12 IR absorption spectra of TP bulk specimens (a) Before incubation in SBF, (b) After incubation in SBF, pH = 7.4, 37 ^o c for 90 days.....	70
4.13 Ca and P dot mapping of MP bulk specimens. (a) Before incubation in SBF., (b) After incubation in SBF for 90 days.....	72
4.14 Ca and P dot mapping of TP bulk specimens. (a) Before incubation in SBF., (b) After incubation in SBF for 90 days.....	73
4.15 The microstructure of fresh fracture surface of MP and TP specimen before and after incubation in SBF for 90 days (a) MP, (b) TP.....	74
4.16 XRD patterns of new formed solid on MP and TP bulk specimens after exposure to SBF for 90 days.....	75
4.17 (a) XRD patterns of surfaces of MP bulk specimen before incubation in SBF.....	76
(b) XRD patterns of new formed solid mixed with MP bulk specimen after exposure to SBF for 90 days.....	76

Figure	Page
4.18 (a) XRD patterns of surfaces of TP bulk specimen before incubation in SBF.....	77
(b) XRD patterns of new formed solid mixed with TP bulk specimen after exposure to SBF for 90 days.....	77
4.19 IR reflection spectra of MP. (a) Before incubation., (b) After incubation in SBF for 90 days.....	79
4.20 IR reflection spectra of TP. (a) Before incubation., (b) After incubation in SBF for 90 days.....	80
4.21 Elemental composition of new formed solid phase on MP and TP specimens.....	81
4.22 Changes in SBF solution expressed as concentration of Ca (\blacktriangle) and P (Δ) ions with incubation time of MP specimens.....	84
4.23 Changes in SBF solution expressed as concentration of Ca (\blacktriangle) and P (Δ) ions with incubation time of TP specimens.....	86
4.24 Turnbull-Vonnegut model for the arrangement of atoms in the interfacial region.....	88
4.25 (a). Model for the two-dimensional coherent nucleation of ions on ionic substrate.....	89
(b). Model for the two-dimensional incoherent nucleation of strongly interacting ions....	89