

Raport stiintific

privind implementarea proiectului in perioada octombrie 2011 – decembrie 2013

Proiectul intitulat “Noi biomateriale vitroase si vitroceramice dopate cu ioni de seleniu si molibden: sinteza, proprietati structurale si biologice ” a vizat pentru perioada octombrie-decembrie 2011 urmatoarele activitati:

- *Stabilirea compozitiilor optime* pentru matricile vitroase si vitroceramice pe baza de dioxid de siliciu si pentaoxid de fosfor ce se doresc ulterior a fi dopate cu ioni de molibden si seleniu,
- *Demararea procesului de preparare* a matricilor stabilite prin metoda subracirii topirii si tehnica sol-gel. Stabilirea pentru fiecare compozitie in parte a parametrilor optimi de preparare pentru ambele tehnici de preparare (materii prime, temperatura de topire, durata de topire, perioada de gelare, perioada uscare, etc.),

Avand in vedere aspectele mai sus mentionate, pe baza datelor din literatura si a experientei in domeniu a membrilor echipei de cercetare au fost stabilite si propuse spre sinteza urmatoarele sisteme compositionale: $\text{SiO}_2\text{-CaO-MO}$, $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-MO}$, $\text{SiO}_2\text{-CaO-K}_2\text{O-MO}$ cu $\text{MO: B}_2\text{O}_3$, P_2O_5 si $\text{B}_2\text{O}_3\text{-P}_2\text{O}_5$ in diferite raporate procentuale ale oxizilor componentii. Alegerea acestor compozitii pentru matricile vitroase s-a facut in dorinta de a reusi prepararea unor noi materiale vitroase si vitroceramice care ulterior sa permita si inglobarea ionilor de seleniu si molybden. Astfel, gradul de noutate in aceste compozitii dominant silicatic si fosfatic il constituie prezenta dioxidului de bor. Raportarile din literatura de specialitate privind comportarea biologica a materialelor vitroase si vitroceramice cu continut de bor sunt relativ reduse si nu ofera o imagine clara a capacitatii folosirii acestora ca biomateriale. Pana la ora actuala se stie doar ca prezenta B_2O_3 in biosticlele silicatic, de exemplu, reduce temperatura de topire, creste durabilitatea chimica si rezistenta la soc termic. In plus, poate imbunatatii comportamentul biologic acelular ca urmare a cresterii ratei de dezvoltare a stratului superficial de hidroxyapatita la imersia in solutie fosfatica. Este insa cunoscut si clar definit rolul esential al borului, ca element chimic minor (*trace element*) in organismul uman, in pastrarea structurii si tariei oaselor, in buna functionare a creierului astfel incat prezenta acestuia in materiale biologice destinate in special implanturilor osoase este de dorit.

Primele incercari de sinteza au vizat sistemele $x\text{B}_2\text{O}_3(100-x)[\text{SiO}_2\text{.CaO}]\text{-S}_1$, $x\text{B}_2\text{O}_3(100-x)[\text{P}_2\text{O}_5\text{.CaO}]\text{-S}_2$, $x\text{B}_2\text{O}_3(100-x)[\text{SiO}_2\text{.P}_2\text{O}_5\text{.CaO}]\text{-S}_3$, prin metoda subracirii topiturii. Pentru aceste sisteme s-au stabilit :

- *materiile prime adecvate* (de exemplu, s-a observat ca aceste compozitii se pot obtine in forma vitroasa daca pentru pentaoxidul de fosfor prezent in compozitie se foloseste ca materie prima $(\text{HN}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ si nu $(\text{NH})_2\text{HPO}_4$) si *domeniul compositional*;
- *conditiile optime de preparare*, temperatura si durata procesului de topire: 1375°C , 35 minute pentru S_1 cu $0 \leq x \leq 25\% \text{ mol}$; 1200°C , 25 minute pentru S_2 cu $0 \leq x \leq 25\% \text{ mol}$ si 1350°C , 30 minute pentru S_3 cu $0 \leq x \leq 25\% \text{ mol}$.

Pentru perioada ianuarie-decembrie 2012 au fost stabilite urmatoarele *obiective*:

1. *Sinteza matricilor vitroase si vitroceramice pe baza de dioxid de siliciu si pentaoxid de fosfor (compozitional optime).*
2. *Sinteza matricilor vitroase si vitroceramice pe baza de dioxid de siliciu si pentaoxid de fosfor dopate controlat cu ioni de seleniu si molibden (compozitional optime).*

acoperite prin *activitatile*:

1a. Sinteza matricilor vitroase prin metoda sol-gel si tehnica subracirii topitunii. Stabilirea parametrilor optimi de preparare pentru ambele metode: materii prime, perioada si temperatura de topire, temperatura de tratament termic, etc.

1b. Verificarea structurii matricilor obtinute prin difractie de raze. Analiza eficientei celor doua metode (raport proprietati /costuri sinteza)

2a. Sinteza eficienta a sistemelor vitroase si vitro-ceramice silicate si fosfate dopate controlat cu ioni de seleniu. (facand uz de activitatea 1.b.).

2ai. Verificarea structurii probelor obtinute prin difractie e raze X. Stabilirea domeniului compozitional optim pentru fiecare sistem in raport cu structura locala dorita.

2b. Sinteza eficienta a sistemelor vitroase si vitro-ceramice silicate si fosfate dopate controlat cu ioni de molibden (facand uz de activitatea 1.b.).

2bi. Verificarea structurii probelor obtinute prin difractie e raze X. Stabilirea domeniului compozitional optim pentru fiecare sistem in raport cu structura locala dorita.

2c. Analiza eficacitatii procesului de sinteza a probelor vitroase: costuri de productie, timp alocat in raport cu proprietatile compozitionale ale probelor. Stabilirea finala a compozitiilor vitroase si vitroceramice optime. (se va lua in considerare nu doar posibilitatile practice de obtinere a probelor ci si nivelul al selenium si molibdenului in organismul uman).

Activitatile derulate cu scopul acoperii **obiectivului 1** au permis concluzionarea urmatoarelor aspecte:

- Compozitiile matricilor vitroase obtinute prin metoda *subracirii topitunii* urmaresc relatiile $48P_2O_5 \cdot 50CaO \cdot 2B_2O_3$, $48P_2O_5 \cdot 45CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5K_2O$, $48P_2O_5 \cdot 45CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5Na_2O$, $48P_2O_5 \cdot 40CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5Na_2O \cdot K_2O$; $45SiO_2 \cdot 50CaO \cdot 2B_2O_3$, $45SiO_2 \cdot 45CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5K_2O$, $45SiO_2 \cdot 45CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5Na_2O$, $45SiO_2 \cdot 45CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5Na_2O \cdot 5K_2O$, fiecare sistem in parte fiind caracterizat de un set de parametrii de preparare (natura materiilor prime, temperatura si durata topire) optimi raportat la structura dorita (testata prin difractie de raze X).
- Compozitiile matricilor vitroase obtinute prin metoda *sol-gel* urmaresc formulele: $61SiO_2 \cdot 9P_2O_3 \cdot 30CaO$, $56SiO_2 \cdot 9P_2O_3 \cdot 30CaO \cdot 5Na_2O$, $56SiO_2 \cdot 9P_2O_3 \cdot 30CaO \cdot 5K_2O$, $51SiO_2 \cdot 9P_2O_3 \cdot 30CaO \cdot 5K_2O \cdot 5Na_2O$. Metoda sol-gel pentru obtinerea matricei: $61SiO_2 \cdot 30CaO \cdot 9P_2O_5$ a avut la baza reactiile de hidroliza in mediu acid si de condensare (alcoxilare si oxolare) a precursorilor tertaetilortosilicat (TEOS) si trietilfosfat (TEP) pentru Si si respectiv P. Catalizatorul folosit a fost acidul azotic (HNO_3) iar ca solvent/mediu de reactie s-a folosit alcoolul etilic absolut (EtOH, > 99%; Chimopar SA) si apa distilata. Precursorul de CaO,

nitratul de calciu tertrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) a fost de asemenea hidrolizat in mediu acid. Pentru optimizarea materialelor sintetizate prin metoda sol gel s-a optat pentru obtinerea gelurilor atat in mediu acid, cat si bazic (pH-ul solului a fost ajustat cu NH_3). Timpii de maturare si uscare a gelurilor, cat si temperaturile de uscare si tratament termic au fost determinate consultand literatura de specialitate si in baza analizelor termice si de difractie de raze X, iar parametrii optimi sunt prezentati in tabelul urmator.

Tabelul 1. Condițiile de preparare a matricei

Proba	Precursori	Raport	Mediu	Timp de gelare	Uscare
61SiO ₂ - 30CaO- 9P ₂ O ₅	TEOS TEP Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	TEOS:H ₂ O:EtOH=1:2:0.5 TEP:H ₂ O=1:8 Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O:H ₂ O	Acid (HNO ₃)	24h	150 °C 12h
			Bazic (NH ₃)	2h	

In vederea stabilirii temperaturii de tratament au fost inregistrate diagramele TGA/DTA. Pierderile de masa sunt in concordanta cu evenimentele termice majore endo- si exoterme care apar evidentiate in curbele DTA si sunt asociate cu eliminarea apei (~ 100 °C), eliminarea reziduurilor organice (~ 300 °C). Aparitia primelor nanocristale se observa in intervalul de temperatura 500-550°C. In urma analizelor termice au fost stabilite temperaturile de tratament la 370 si respectiv 600°C. Structura probelor preparate si tratate a fost verificata prin difractie de raze X (XRD). Este evidentiata in aceste difractograme structura amorfa caracterizata de linia larga de difractie caracteristica (2θ -20-30°). Aceasta linie de difractie este mai larga in cazul materialului sintetizat in mediu bazic, sugerand existenta unui alt tip de aranjament in interiorul matricii amorfe. Pentru obtinerea prin tehnica sol-gel a probele apartinand sistemului $x\text{B}_2\text{O}_3 \cdot (100-x)[61\text{SiO}_2 \cdot 9\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 30\text{CaO}]$ ($x = 0; 5; 10; 20; 30$) s-au folosit precursorii H_3BO_3 , $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (TEOS), $\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}_4$ (TEP), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ iar H_2O si $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ au fost folositi ca si solventi. Urmand pasii descrisi anterior pentru matricea de start s-au putut determina domeniile optime compositionale dorite pentru doparea controlata cu ioni de selenium si molibden.

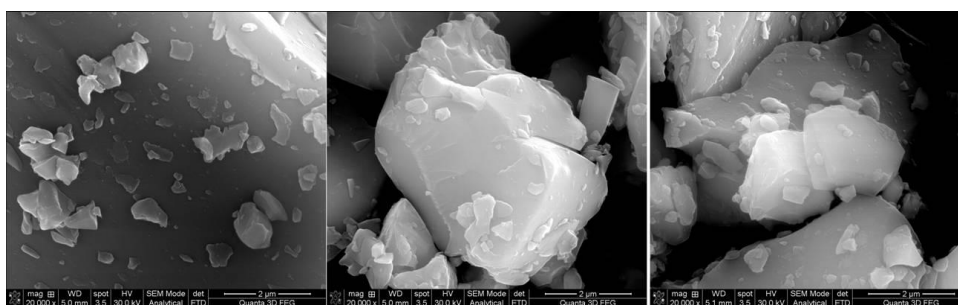
Din punct de vedere a eficientei, prima concluzie raportata la costuri/structura indica faptul ca pentru sticlele fosfate metoda subracirii topitunii este preferabila. Costurile materiilor prime, timpul dedicat prepararii sunt, in acest caz mai reduse. In cazul sticlelor silicatice sinteza prin subracirea topitunii necesita costuri mai ridicate in raport cu tehnica sol-gel intrucat necesita temperaturi ridicate de topire-consum energetic mare, creuzete de platina sau refractare foarte costisitoare. Procesul de sinteza sol-gel pentru compozitiile ce contin trioxid de bor este dificil si necesita atentie sporita.

Pentru obtinerea prin tehnica sol-gel a probele apartinand sistemului $x\text{B}_2\text{O}_3 \cdot (100-x)[61\text{SiO}_2 \cdot 9\text{P}_2\text{O}_3 \cdot 30\text{CaO}]$ ($x = 0; 5; 10; 20; 30$) s-au folosit precursorii H_3BO_3 , $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (TEOS), $\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}_4$ (TEP), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ iar H_2O si $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ au fost folositi ca si solventi. Urmand pasii descrisi anterior pentru matricea de start s-au putut determina domeniile optime compositionale dorite pentru doparea controlata cu ioni de seleniu si molibden.

Din punct de vedere a eficientei, prima concluzie raportata la costuri/structura indica faptul ca pentru sticlele fosfate metoda subracirii topitului este preferabila. Costurile materiilor prime, timpul dedicat prepararii sunt, in acest caz mai reduse. In cazul sticlelor silicatice sinteza prin subracirea topitului necesita costuri mai ridicate in raport cu tehnica sol-gel intrucat necesita temperaturi ridicate de topire-consum energetic mare, creuzete de platina sau refractare foarte costisitoare. Probleme apar insa in procesul de sinteza sol-gel la compozitiile ce contin trioxid de bor. Pe viitor s-a stabilit continuarea prepararii prin ambele metode pe compozitii selectate.

Activitatile derulate cu scopul acoperii **obiectivului 2** au permis concluzionarea urmatoarelor aspecte:

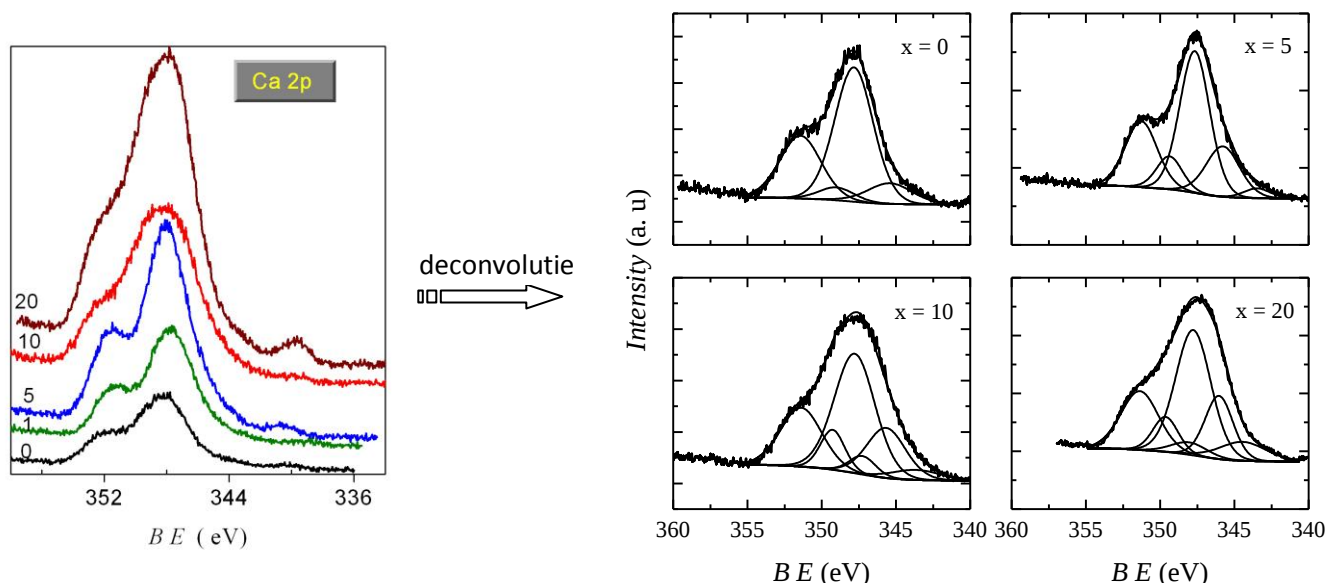
- Probele din sistemele $48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 50\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3$ au fost obtinute in stare vitroasa prin metoda *subracirii topitului* pana la concentratii de 10 % mol pentru SeO_2 si 20 % mol pentru MoO_3 . Analize de structura efectuate pe sistemul dopat cu seleniu au indicat caracterul vitros si suprafata neomogena al acestora-difractia de raze X si microscopia electronica de baleaj. Compozitia elementala a diferitelor regiuni de pe suprafata probelor (pana la adancimi de 2-5 μm) a fost urmarita folosind analiza EDX. S-a observat ca rapoartele Ca/P si (Ca+P+B)/Se urmaresc compozitiile prestabilite ale probelor iar domeniile diferite ca aspect ale aceleasi probe prezinta diferente minore d.p.d.v. compositionale. Spectrele de absorbtie in IR sunt dominate de benzi pozitionate la app. 917, 1117 and 1275 cm^{-1} indicand la nivel local o aranjare structurala bazata pe unitati Q^2 metafosfate (in terminologia Q^n , n – numarul de atomi de oxigen



Evolutia morfologiei probelor din sistemul $48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 50\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3$ la aditia de SeO_2 -imagini SEM

puntati per tetraedru PO_4). Tot pe baza datelor IR s-a observat tendinta dominanta a ionilor de bor de a forma legaturi tricoordinate in unitati BO_3 or $\text{B}\text{O}_2\text{O}$ doar o mica parte din acestia fiind implicata in unitati tetraborate BO_4 . Folosind tehnica XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) a fost evaluata distributia compositionala a probelor la o adancime de aproximativ 5nm. Spectrele survey au indicat modificari minore in compozitia elementala la suprafata a probelor la aditia de seleniu indicand o distributie mai diferentiala (in functie de compozitie) in interiorul probei (observata prin evolutia spectrelor IR la aditia de seleniu in compozitie) si/sau o pierdere prin volatilizarea a unor compusi in

timpul procesului de preparare. Spectrele XPS de inalta rezolutie pentru Ca 2p au prezentat modificari semnificative la aditia de seleniu, deconvolutia acestora sugerand prezenta ionilor de Ca in trei forme: $Ca_3(PO_4)_2$ (347.7eV) $Ca_2 OP_7$ (345.7eV) si CaO_4Se (344,4eV) a caror pondere variaza odata cu compozitia.



Spectrele de inalta rezolutie pe probele din sistemul $48P_2O_5:50CaO:2B_2O_3$ la aditia de SeO_2 pentru Ca2p

- Pentru probele din sistemele $48P_2O_5:50CaO$ dopate controlat cu ioni de molibden pana la 50% mol au fost facute si masuratori de rezonanta paramagnetica electronica (RPE). Datele furnizate de aceasta tehnica spectroscopica au indicat ca in domeniul concentratiilor joase ionii Mo^{5+} sunt izolati, spectrele EPR prezentand despicare hiperfina rezolvata slab atat in banda paralela cat si in cea perpendiculara. Crescand concentratia ionilor de molibden acestia sunt implicati in interactiuni de tip dipol-dipol si superschimb, spectrele RPE rezumandu-se la o linie larga. Pentru proba cu 50 % mol MoO_3 , apare din nou o separare a ionilor de molibden in pozitii izolate, cel mai probabil ca urmare a saturarii probelor, spectrul RPE prezentand structura hiperfina bine rezolvata.



Spectrele RPE caracteristice ionilor Mo^{5+} in sticlele $48P_2O_5:50CaO$ cu $x = 0.3$ mol% (a), $x = 20$ mol% (b) si $x = 50$ mol% (c).

- Obținerea prin *metoda sol-gel* a gelurilor de $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ cu adaos de oxid de *seleniu* și respectiv oxid de *molibden* a urmat pașii clasici tehnicii sol-gel folosind ca precursori pentru oxizii dopanți SeO_2 și respectiv $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, aceștia fiind hidrolizați în mediu acid. În cazul oxidului de seleniu a avut loc o etapă intermediară în timpul reacției de hidroliză: $\text{SeO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SeO}_3$. Au fost sintetizate ambele sisteme prin metoda sol gel atât în mediu bazic, cât și acid. Maturarea, spalarea, uscarea gelurilor a fost realizată după aceeași metodologie prezentată anterior. În urma analizelor termice efectuate au fost stabilite temperaturile de tratament termic la 370° și respectiv 600°C pentru toate probele. Difractogramele de raze X ale probelor cu $x\%\text{SeO}_2$ și $x\%\text{MoO}_3$ ($x=0, 1, 3, 5, 10$) tratate termic la 600°C releva dezvoltarea nanocristalelor de apatită și a fazelor CaMoO_4 și SeCaO_4 . Acest comportament este determinat de nivelul concentrației de oxid de seleniu, respectiv molibden în matrice. Au fost efectuate, de asemenea, analize de suprafață specifică (BET) ale probelor preparate atât în mediul acid cât și în mediul bazic, iar pe baza rezultatelor obținute (ex: $94.44 \text{ m}^2/\text{g}$ pentru esanșionul $10\%\text{MoO}_3$) s-a optat pentru viitoarele sinteze în mediul acid.
- Sistemul $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-MoO}_3$ obținut prin sol-gel, calcinat la temperatură scăzută a permis obținerea de materiale compozite alcătuite din apatită nanocristalină, sticlă bioactivă, nanocristale CaMoO_4 și molibden metalic. Modificările induse de tratamentul termic și adăugarea de MoO_3 în ceea ce privește structura și morfologia au fost realizate folosind analiza termică diferențială (DTA), analiza termogravimetrică (TGA), difracția de raze X (DRX), microscopia electronică de baleaj (SEM), spectroscopia de raze X prin dispersie de energie (EDX), spectroscopia cu fotoelectрони de raze X (XPS), spectroscopia în infraroșu cu transformata Fourier (FTIR), rezonanța paramagnetică electronică (RES) și analiza Brunauer-Emmet-Teller (BET). Conform rezultatelor DTA și TGA, a fost aplicat în cazul tuturor materialelor sintetizate un tratament termic la 600°C în scopul de a stabili probele și a dezvolta fazele cristaline dorite în materialul amorf rezultat după preparare. Dezvoltarea nanocristalitelor HAP și CaMoO_4 cu dimensiuni de până la 10 și respectiv 15 nm, au fost confirmate prin DRX. Performanța biologică a acestor materiale a fost evaluată in vitro prin efectuarea testelor de bioactivitate și biocompatibilitate. Proprietățile bioactive din punct de vedere al formării stratului de hidroxiapatită pe suprafața materialului după imersia în fluid biologic simulat (SBF) au fost studiate cu ajutorul metodelor DRX și SEM. Pentru a stabili biocompatibilitatea, suprafața acestor noi materiale a fost funcționalizată cu proteine și investigată prin SEM, FTIR și XPS. Rezultatele obținute sugerează faptul că nanocristalele de molibdat calciu influențează pozitiv performanța biologică a materialelor Si-Ca-P prin menținerea proprietăților bioactive și îmbunătățirea biocompatibilității în sensul unei mai bune atașări a proteinei pe suprafața probelor. O analiză detaliată a spectrelor XPS de înaltă rezoluție pentru Mo 3d a indicat, în cazul probelor tratate termic la 600°C , prezența de specii diferite de molibden. Informații EPR au subliniat, de asemenea, efectul tratamentului termic asupra

stării de oxidare a molibdenului, Mo^{6+} fiind redus la Mo^{5+} . Mai mult decât atât, caracterul bioactiv al probelor cu conținut de molibden poate fi legat atât de prezența a ionilor Mo^{5+} care depolimerizează structura sticlei, creând NBOs, cât și a celor Mo^{6+} care imprimă un potențial negativ suprafeței. Toate rezultatele obținute susțin faptul că sistemul investigat are o suprafață prietenoasă atașării proteinelor și o bună capacitate de generare a matricei osoase minerale. Proba cu conținut de 5% mol MoO_3 prezintă cele mai mari valori atât a suprafeței specifice cât și a volumului de pori, și pare a avea cea mai bună biocompatibilitate. Rezultatele obținute sugerează faptul că adăugarea de oxid de molibden în concentrație adecvată îmbunătățește biocompatibilitatea datorită dezvoltării fazei cristaline CaMoO_4 și nu inhibă bioactivitatea binecunoscută a materialelor silica-calco-fosfatice.

Analizând eficiența celor două tehnici de preparare asupra sistemelor dopate controlat cu ioni de seleniu și molibden s-a stabilit continuarea preparării unor compozitii clar selectate prin ambele tipuri de metode.

Pentru perioada ianuarie-decembrie 2013 au fost stabilite următoarele *obiective*:

1. *Analiza influenței tratamentului termic asupra structurii probelor preparate.*
2. *Analiza morfologică și structurală a probelor.*
3. *Analiza comportamentului probelor în fluid biologic simulat (SBF).*

acoperite prin *activitățile*:

1a-1d. Sinteza probelor de interes, analiza lor prin metode termice (DTA, DSC), tratamente termice adecvate, analiza structurii probelor prin difracție de raze X și corelarea datelor structură-tratament termic.

2a-2d. Tratarea termică a probelor de interes în condiții optime (pe baza activităților de la obiectivul 1); analize de suprafață (XPS, SEM-EDAX); analize structurale (FTIR, Raman); corelare și interpretarea datelor în scopul publicării.

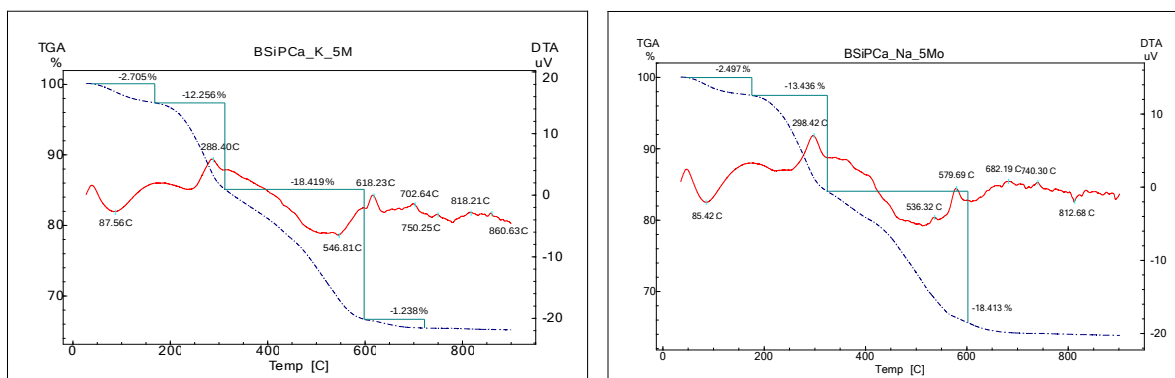
3a-3d. Imersarea compozițiilor prestabilite în SBF, analize de morfologie și structură pe probe după imersia în SBF, corelarea datelor cu cele anterioare imersiei, interpretarea datelor în scopul publicării.

Activitățile derulate cu scopul acoperirii **obiectivului 1** au permis concluzionarea următoarelor aspecte:

- Probele obținute prin metoda subracirii topiturii sunt stabile din punct de vedere al fenomenelor termice care însoțesc transformările din probe în timpul supunerii acestora la încălzire. Analizele DTA/TG și DSC ale sistemelor $x\text{SeO}_2 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$, $x\text{SeO}_2 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{Na}_2\text{O}]$ și $x\text{MoO}_3 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$ au relevat caracterul stabil termic al acestora și prin urmare acestea nu au fost supuse tratamentelor termice.
- Probele preparate urmând protocolul sol-gel se regăsesc în tabelul de mai jos:

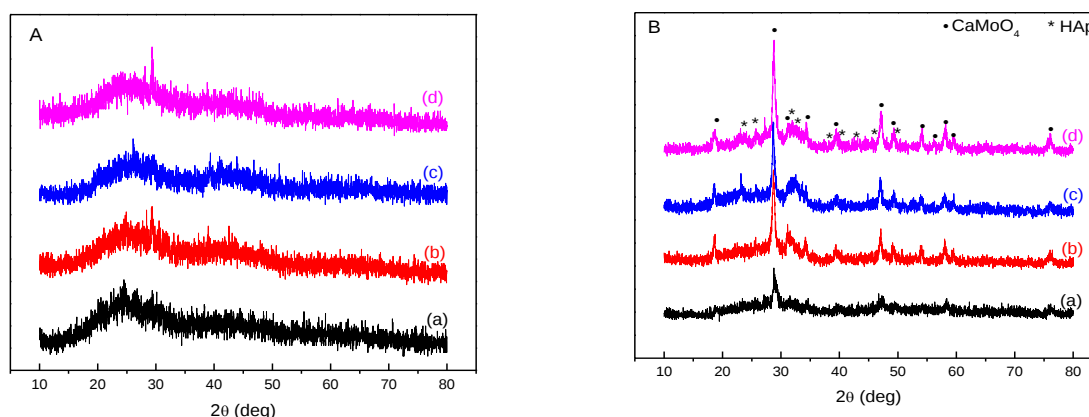
(a) BSiPCa_5Mo	$[100-x] [10 \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot 54.9 \cdot \text{SiO}_2 \cdot 8.1 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 27 \cdot \text{CaO}] \cdot x\text{MoO}_3$
(b) BSiPCa_K_5Mo	$[100-x] [10 \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot 50.4 \cdot \text{SiO}_2 \cdot 8.1 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 27 \cdot \text{CaO} \cdot 4.5 \cdot \text{K}_2\text{O}] \cdot x\text{MoO}_3$
(c) BSiPCa_Na_5Mo	$[100-x] \cdot [10 \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot 50.4 \cdot \text{SiO}_2 \cdot 8.1 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 27 \cdot \text{CaO} \cdot 4.5 \cdot \text{Na}_2\text{O}] \cdot x\text{MoO}_3$
(d) BSiPCa_NaK_5Mo	$[100-x] [10 \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot 45.9 \cdot \text{SiO}_2 \cdot 8.1 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 27 \cdot \text{CaO} \cdot 4.5 \cdot \text{Na}_2\text{O} \cdot 4.5 \cdot \text{K}_2\text{O}] \cdot x\text{MoO}_3$

Curbele analizelor termice pentru aceste probe au pus în evidență temperaturile la care se elimină apa, componentele organice precum și celelalte evenimente termice care au loc în probe. Evoluția componentelor menționate, la diferite temperaturi, obținută prin analiza termică este redată în figurile de mai jos pentru sistemele BSiPCa_K_5Mo și BSiPCa_Na_5Mo.



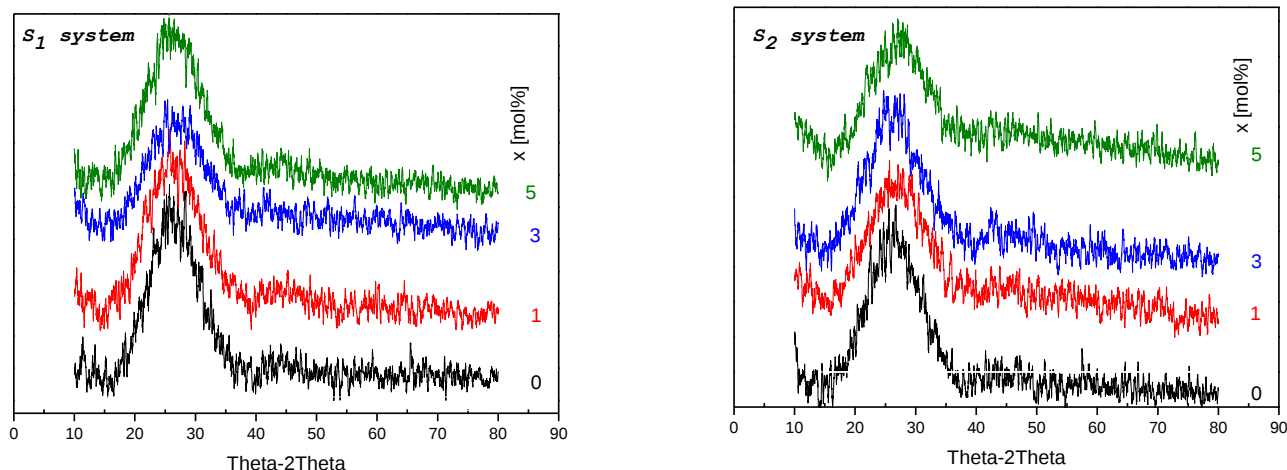
Din curbele TGA obținute se pot identifica ușor pierderile de masă care au loc în mai multe trepte, fiind însoțite pe curbele DTA și de efecte endo- sau exoterme. Cea mai pronunțată pierdere de masă are loc în intervalul 25 - 650°C. Efectele endoterme din intervalul 0° - 200°C observate pe curba DTA și însoțite de pierdere de masă pe curba TGA, sunt corelate cu pierderea apei adsorbite sau a alcoolului, produși rezultați în urma reacțiilor de policondensare și care nu au fost îndepărtați în timpul procesului de uscare. Evenimentele exoterme de pe curba DTA de la 293, 288, 298 și respectiv 283 °C, pot fi atribuite descompunerii și eliminării rezidurilor nitate din sărurile folosite la sinteză precum și unui proces de dehidroxilare. Peak-urile endotermice care apar la 511°C și respectiv 546°C, însoțite de pierdere de masă pe curba TGA, pot fi atribuite unui proces de desorbție, cel mai probabil a unor grupări hidroxil intra-poroase, adsorbite, iar cele exoterme de la 595, 536, respective 579 °C, pot fi atribuite descompunerii părții organice rămase în probe. Evenimentele exoterme de la 670, 682, respectiv 659 °C, fără pierdere de masă pe curba TGA, sunt atribuite unui fenomen de cristalizare, iar evenimentul endotermic de la 618 °C însoțit de pierdere de masă pe curba TGA este atribuit unui fenomen de dehidroxilare. După 700 °C, evenimentele exoterme care apar sunt atribuite cristalizării, nefiind însoțite de pierdere de masă pe curba TGA. În urma analizelor termice au fost stabilite temperaturile de tratament termic la 550 °C și 700 °C.

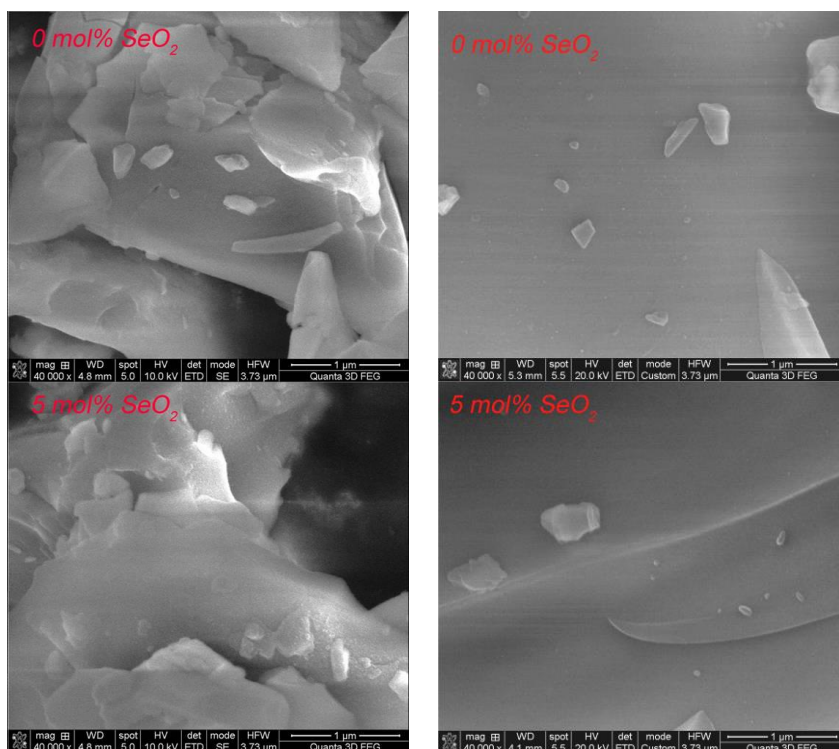
Analiza prin difracție de raze X a probelor sol gel înainte și după tratamentul termic este redată mai jos și redă modificări importante în structura probelor. Difractogramele probelor netratate termic (fig. A) prezintă un caracter vitros, evidențiat de peak-ul de difracție caracteristic, larg, cuprins între 20-30°. Liniile de difracție mici care se observă până la 30° dispar după tratamentul termic de la 550°C și pot fi atribuite fazelor hidrate cvasicristaline. În urma tratamentului termic de la 550 °C timp de 30 minute (fig. B) difractogramele evidențiază o structură parțial cristalină, fiind identificată faza cristalină a CaMoO_4 [PDF card 29-0351, JCPDS] și un început de dezvoltare a fazei cristaline de HA [PDF card 9-0432, JCPDS] cu peak-urile caracteristice de la $2\theta = 26$; 31,5 și respectiv 49,5°. Măsuratori privind structura probelor tratate termic sunt în derulare.



Activitățile derulate cu scopul acoperii **obiectivului 2** au permis concluzionarea următoarelor aspecte:

- Au fost preparate prin subracirea topiturii și analizate în paralel sistemele vitroase $x\text{SeO}_2 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$ (S_1), $x\text{SeO}_2 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{Na}_2\text{O}]$ (S_2) cu scopul de a vedea influența prezentei în matricea vitroasă a ionilor de K, Na asupra structurii și comportării biologice a probelor. (În 2011 analizându-se probe similare fără conținut de ioni de K, Na). Analizele de difracție prin raze X au demonstrat caracterul vitros al probelor ambelor sisteme pe domeniul compositional 0-5 %mol SeO_2 .





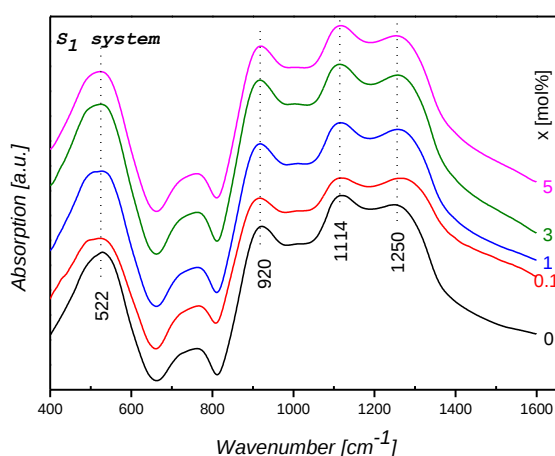
Imaginile SEM ale acestor doua seturi de probe indica suprafete neomogene influentate atat de aditia de seleniu cat si de cei doi ioni K, Na. Aditia de seleniu tinde sa reduca neomogenitatile de pe suprafetele probelor in timp ce prezenta natriului confera probelor un grad semnificativ mai redus de neomogenitate.

Evolutia morfologiei probelor din sistemul $48\text{P}_2\text{O}_4 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{M}_2\text{O}$ cu compozitia M-K (a) si M-Na (b) respectiv cu aditia de SeO_2 -imagini SEM

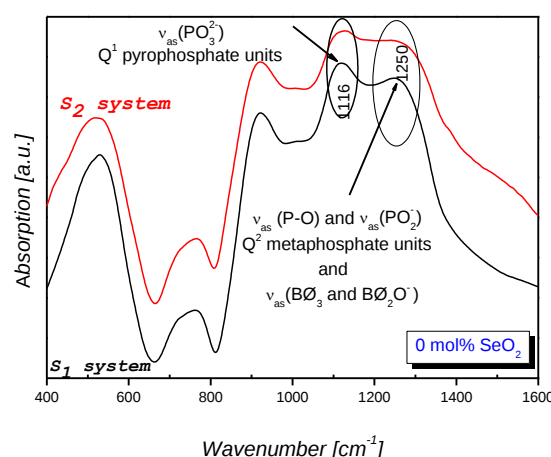
(a)

(b)

Pe baza masuratorilor EDX au fost estimate rapoartele elementelor P/Ca si PCaM/Se (M-K, Na) care se observa ca urmeaza compozitiile prestabilite si variaza minor in diferite piuncte ale probelor. Spectrele FT-IR si Raman ale acestor doua seturi de probe indica o structura locala dominanta de unitati fosfatice Q^1 piro si Q^2 meta-fosfatice (terminologia Q^n : n reprezinta numarul de atom de oxigen punctati pe unitate PO_4). Prezenta ionilor de bor in unitati tricordinate BO_3 , respectiv o contributie minora a ionilor de bor tetracoordinat BO_4 a fost de asemenea detectata. Din punct de vedere al rezultatelor IR si Raman, structura locala a acestor sticle este foarte stabila atat la aditia de ioni de seleniu cat si la modificarea compozitiei vitroase. Comparand aceste aspecte structurale cu cele similare ale matricii bazate doar pe $\text{P}_2\text{O}_4\text{-CaO-B}_2\text{O}_3$ se observa o crestere a stabilitatii ordinii locale la aditia de seleniu odata cu introducerea ionilor de potasiu si natriu.

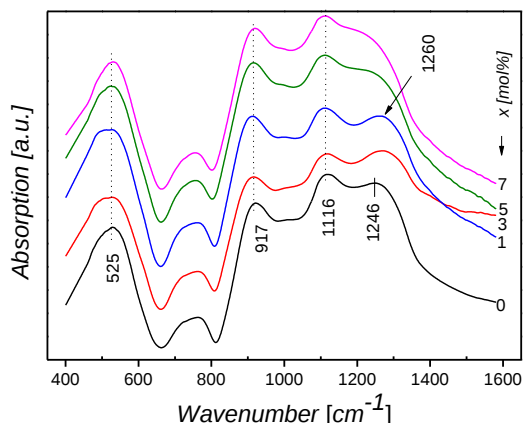


Spectrele FTIR caracteristice sistemului S_1



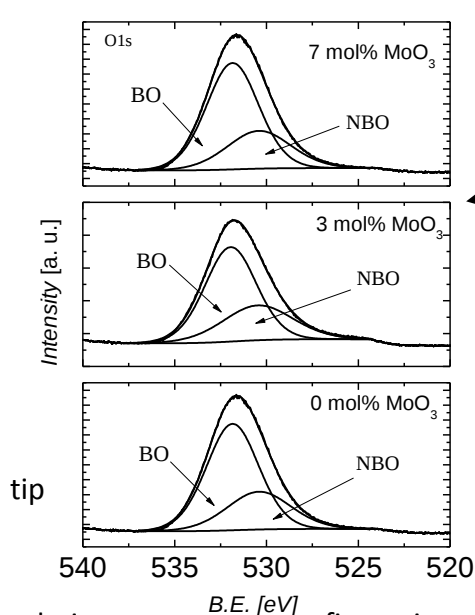
Spectrele FTIR caracteristice probelor cu 0 %mol SeO_2 din sistemele S_1 si S_2

- Sistemul $x\text{MoO}_3 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$ a fost obtinut in stare vitroasa in domeniu compozitional, 0-7 %mol MoO_3 . Imaginile SEM au reflectat caracterul neomogen al suprafetelor probelor cu o tendinta de omogenizare la aditia de molibden. Structura locala a acestora, dominata de unitati piro si metafosfate este treptat depolimerizata de aditia de ioni de molbden dupa cum se obsrva din spectrele



FTIR. Depolimerizarea treptata a retelei vitroase prin dezordonarea lanturilor fosfatice se face simultan cu cresterea numarului de atomi de oxigen nepuntati (NBO) in detrimentul celor puntati (BO), fapt indicat si de evolutia spectrelor XPS de inalta rezolutie ale atomului O1s. Analiza detaliata a spectrelor de inalta rezolutie pentru Mo3d a fost efectuata pentru a identifica prezenta la suprafata probelor a speciilor Mo^{5+} si Mo^{6+} .

Spectrele FTIR caracteristice sistemului $x\text{MoO}_3 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$



Ponderea numarului de atomide oxigen puntati si nepuntati determinate pe baza deconvolutiei spectrelor XPS O1s de inalta rezolutie.

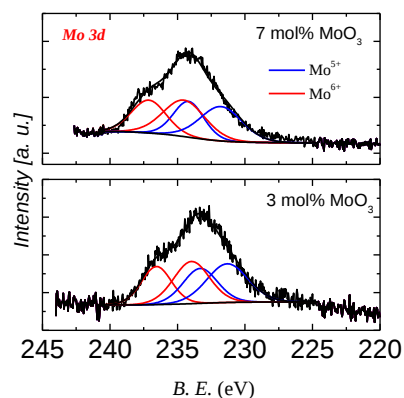
mol % MoO_3	NBO	BO
0	30.3	69.7
3	33.3	66.7
7	44.4	55.6

tip

relativa a fiecarei specii in probele investigate a fost determinata pe baza intensitatii liniilor corespunzatoare pentru fiecare specie Mo^{5+} si Mo^{6+} si luand in considerare aria delimitata de acestea.

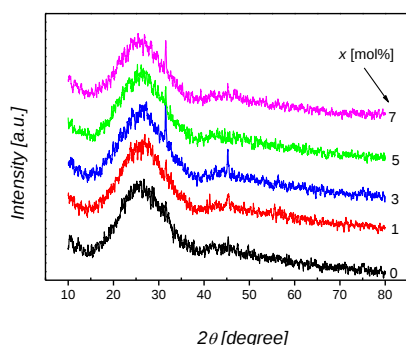
Ponderea speciilor Mo^{6+} and Mo^{5+} determinta pe baza deconvolutiei spectrelor XPS Mo3d de inalta rezolutie

x [% mol]	Mo 5+(1/2)	Mo5+(3/2)	Mo6+(1/2)	Mo6+(3/2)
3	3.62%/236.6eV	5.48%/233.5	36.1%/235.2	54.7%/232.1
5	4.64%/236.9	7%/233.8	35.1%/235.4	53.2%/232.3
7	8.55%/237.9	12.94%/234.8	31.23%/236.2	47.29%/233.1



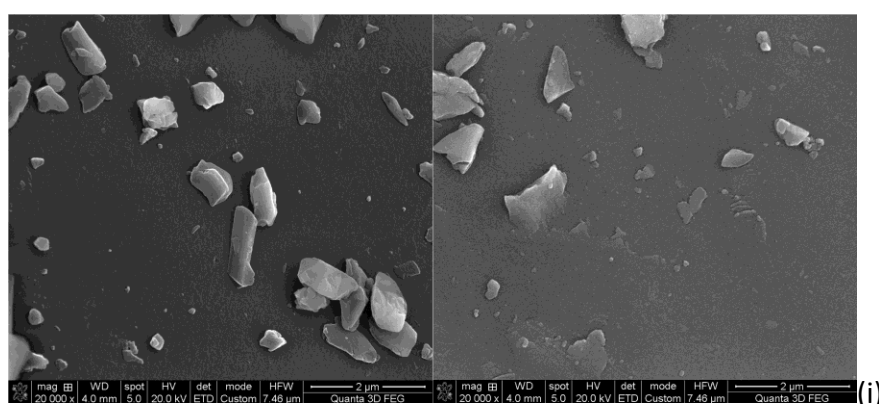
Activitatile derulate pana in acest moment cu scopul acoperii **obiectivului 3** au permis concluzionarea urmatoarelor aspecte:

- In urma imersiei in SBF (preparat urmand protocolul Kokubo) a probelor din sistemul $x\text{MoO}_3 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$ pentru o perioada de 15 zile pe suprafata probelor cu $x > 3$ % mol s-au dezvoltat cristallite de tip hidroxiapatit vizibile in difractia de raze X la 2θ : 31.48(211), 45.30 (203).



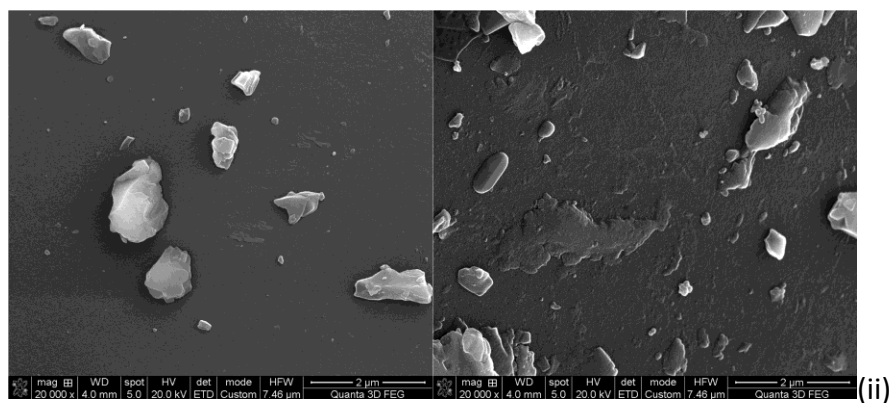
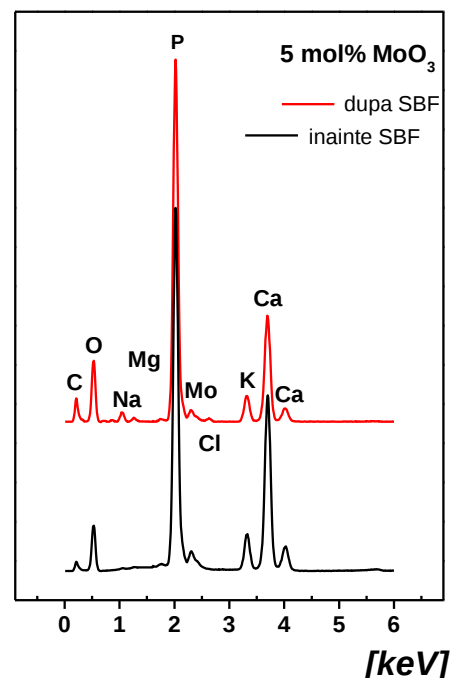
Imaginile SEM, privite comparativ inainte si dupa imersie evidentiaza modificari in morfologia suprafetelor iar estimarile EDAX ale elementelor constitutive indica faptul ca valorile raportului Ca/P cresc atat cu concentratia de molibden cat si dupa imersie.

Spectrele XPS au pus in evidenta atasarea pe suprafetele probelor a ionilor caracteristici solutiei SBF, neprezenti in proba initiala si cresterea de asemenea a valorilor raportului Ca/P dupa imersie.



(a)

(b)



(ii)

Imagini SEM a probelor cu 5(i) si 7(ii) %mol MoO_3 inainte (a) si dupa (b) imersia in SBF.

Compozitia elementala a probelor inainte si dupa imersia in SBF generata de datele XPS si EDX

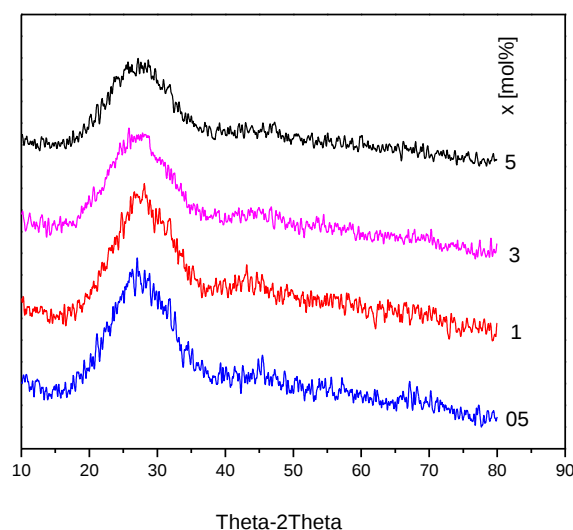
XPS										EDX
% mol MoO_3	C	O	Ca	K	Mo	P	N	Na	Ca/P	Ca/P
0	14.6	53.1	8.9	0.8	-----	22.5			0.39	0.5
0 SBF	22.1	47.8	8.3	-----	-----	17.8	2.3	1.6	0.46	0.62
3	10.7	53.5	9.8	1.6	0.6	23.8	-----	-----	0.41	0.47
3 SBF	30.2	42.3	7	-----	0.2	13.3	5.1	1.9	0.52	0.61
5	15.6	51.7	8.6	1.4	1.2	21.6	-----	-----	0.39	0,62

5 SBF	22.6	44.9	9.7	-----	0.3	17.5	2.6	2.6	0.55	0.69
7	18.5	50.7	9	0.9	1.2	19.7	-----	-----	0.45	0.65
7 SBF	18.9	47.4	10.2	-----	0.5	15.4	3.6	1.4	0.66	0.66

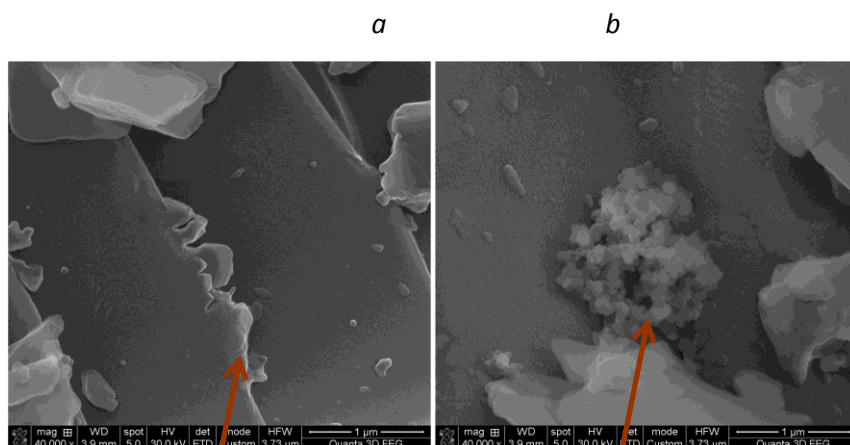
Concluzionand, in cazul acestui sistem prezenta ionilor de molibden este favorabila dezvoltarii de hidroxiapatita pe suprafata probelor, in special speciile Mo^{5+} tind sa favorizeze acest fenomen in prezenta fluidului uman simulat. Cercetarile in derulare pe acest sistem vizeaza abilitatii antibacteriene ale acestuia.

- Difractia prin raze X a probelor din sistemul $x\text{SeO}_2 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$ imersate pentru o perioada de 21 zile nu indica modificari la nivel structural. Imaginile SEM obtinute pe probe provenind de la acest sistem arata totusi o modificare la nivel de suprafata, in sensul dezvoltarii unor conglomerate poroase. In plus, compozitia elementala estimata prin EDAX reflecta preluarea de catre probe a ionilor tipici solutiei de SBF (Mg, Na, C).

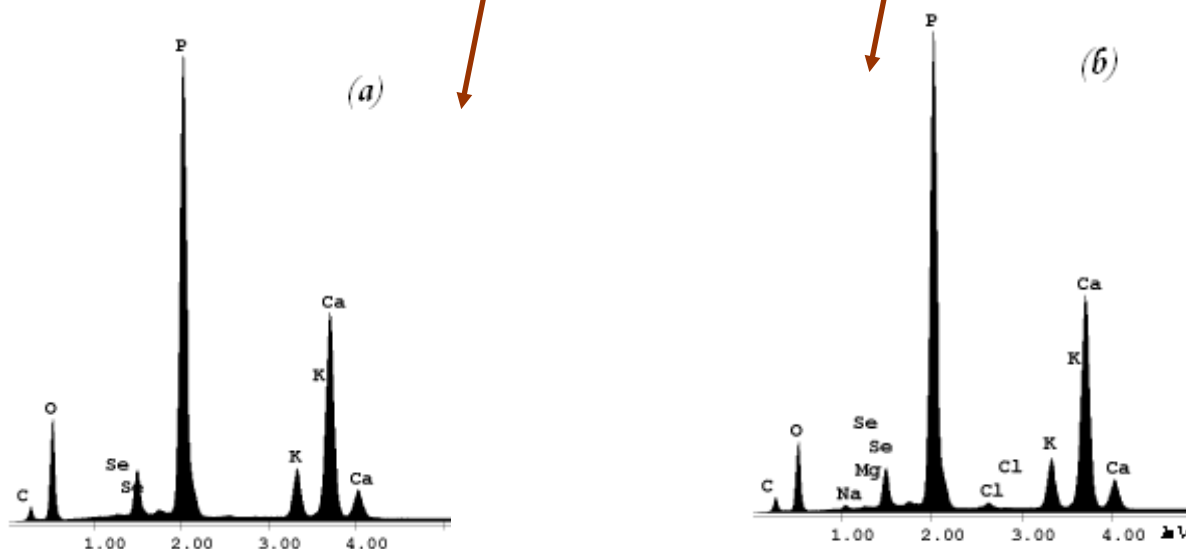
Difractogramele de raze X ale probelor $x\text{SeO}_2 \cdot (100-x)[48\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 45\text{CaO} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{K}_2\text{O}]$ dupa imersia in SBF



Imagini SEM a probei cu 5 % mol SeO_2 inainte(a) si dupa imersie(b)



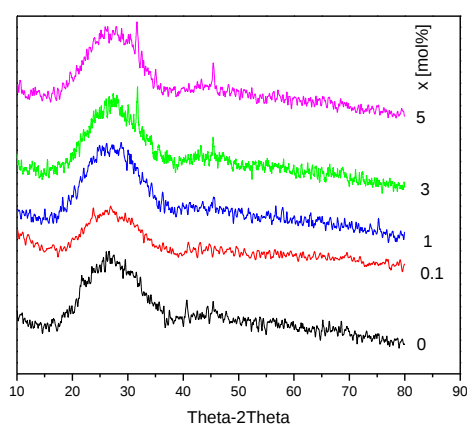
Spectre EDAX ale a probei cu 5 % mol SeO_2 inainte(a) si dupa imersie (b)



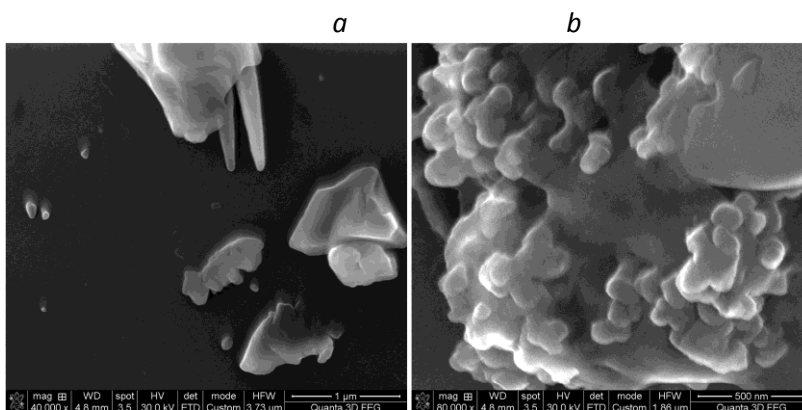
Investigarea structurii probelor după imersia în SBF prin spectroscopie în infraroșu nu a indicat modificări importante în rețeaua vitroasă. Atribuirea benzilor de absorbție indică o structură vitroasă similară cu cea a probelor inițiale bazată pe unități fosfate $Q^1 [P(OP)(OP^-)_3]$ și $Q^2 [P(OP)_2(O^-)_2]$. Corelând toate aceste date considerăm că prezența ionilor de seleniu nu îmbunătățește capacitatea de a dezvolta hidroxiapatită a probelor din acest sistem.

- Spre deosebire de sistemul anterior, probele sistemului $xSeO_2 \cdot (100-x)[48P_2O_5 \cdot 45CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5Na_2O]$ dezvoltă faze cristaline tipice hidroxiapatitei detectabile în difractogramele de raze X. Imaginile SEM obținute pe probe provenind de la acest sistem indică modificări mai accentuate în morfologia suprafeței după imersia în SBF. Compoziția elementală estimată prin EDAX reflectă preluarea masivă de către probe a ionilor tipici soluției de SBF (Mg, Na, C).

Difractogramele de raze X ale probelor $xSeO_2 \cdot (100-x)[48P_2O_5 \cdot 45CaO \cdot 2B_2O_3 \cdot 5Na_2O]$ după imersie



Imagini SEM a probei cu 5 % mol SeO_2 înainte(a) și după imersie(b)



Din datele prelucrate după imersia în SBF a acestui sistem, se observă efectul pozitiv al aditiei de seleniu asupra capacității de a dezvolta hidroxiapatită pe suprafața probelor.

Pe baza studiilor efectuate până în acest moment considerăm că ambele metode, subracirea topiturii și sol-gel, permit obținerea de materiale (ne raportăm la sistemele propuse de spre sinteza și studiu în acest proiect) apte să dezvolte pe suprafața hidroxiapatită (luată ca un prim semn pozitiv al biocompatibilității probelor). Din punct de vedere al potențialului ionilor de seleniu și molibden ca posibili promotori în dezvoltarea hidroxiapatitei s-a arătat că acesta depinde în mare parte de metoda de sinteză, compoziția în care sunt introdusi precum și de stările de valență în care se regăsesc în material. Studiile de biocompatibilitate sunt în derulare urmând să fie testat și caracterul antibacterian al acestor ioni în matrici vitroase și vitroceramice.

Rezultatele obținute pe parcursul acestor ani au fost prezentate la conferințe internaționale:

1. Physics meets Biology Conference, Oxford 2012

The influence of selenium and molybdenum oxides on the local order and biocompatibility of bioactive glasses

O. Ponta, R. Ciceo Lucacel, T. Radu and V. Simon

2. Vth International Conference on Molecular Materials. MOLMAT 2012 – Barcelona, Spain

New silica based bioglasses doped with boron oxide – synthesis and structural characterization

DL Trandafir, R Ciceo-Lucacel and V Simon

3. BIOMMEDD'2010 CONFERENCE Constanta 2012, Romania

The role of selenium ions on some phosphate-based bioactive glasses

R. Ciceo Lucacel , V. Simon, O.Ponta, T. Radu

4. 31-st European Congress on Molecular Spectroscopy, 2012, Cluj-Napoca, Romania

The influence of selenium oxide on the local order and biocompatibility of bioactive glasses

O. Ponta, R. Ciceo Lucacel, T. Radu and S. Simon

5. Nano Formulation 2012 Conference, Barcelona, Spain

Spectroscopic analysis of metallic nanoparticles doped glasses and glass ceramic

T. Radu, R. Ciceo-Lucacel, D. Benea, L. Barbu-Tudoran, V. Simon and S. Simon

6. 12th International Conference on the Structure of Non Crystalline Materials, July 7-12, Riva Del Garda, Italy

Spectroscopic study of the local network of some bioactive glasses doped with selenium ions

R. Ciceo Lucacel, T. Radu, V. Simon and O. Ponta

7. 25th European Conference on Biomaterial, September 8-2, Madrid, Spain

Molybdenum ions role on the synthesis and biological response of some phosphate-based bioactive glasses

R. Ciceo Lucacel, T. Radu, O. Ponta and V. Simon

8. 25th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 25), November 7-10, Bucharest, Romania

Molybdenum effect on the structure of SiO₂-CaO-P₂O₅ bioactive xerogels and on their interface processes with simulated biofluid-oral presentation

O.Ponta, R. Ciceo-Lucacel, A. Vulpoi, T. Radu and S. Simon

9. 25th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 25), November 7-10, Bucharest, Romania

Novel biomaterials with molybdenum: synthesis, structure and in vitro characterization

Diana-Louisa Trandafir, R.Lucacel-Ciceo, V.Simon

Au fost publicate doua articole ISI:

1. D. Toloman , R. Ciceo-Lucacel, D.A. Magdas, A. Regos, A.R. Biris, C. Leostean, I. Ardelean

[The modifier/former role of MoO₃ in some calcium-phosphate glasses](#)

Journal of Alloys and Compounds 556 (2013) 67–70

2. O. Ponta, R. Ciceo-Lucacel, A. Vulpoi, T. Radu, S. Simon

[Molybdenum effect on the structure of SiO₂-CaO-P₂O₅ bioactive xerogels and on their interface processes with simulated biofluids](#)

Accepted to Journal of Biomedical Materials Research: Part A, Ref. No.: JBMR-A-13-0625

Au fost submitte spre publicare doua articole ISI:

1. R. Ciceo-Lucacel, T. Radu, O. Ponta, V. Simon

Novel selenium containing phosphate-based glasses: preparation and structural study

Submitted to Materials Science & Engineering C, Ref. No.: MSEC-D-13-00641

2. Diana-Louisa Trandafir, T. Radu, R. Ciceo-Lucacel , V. Simon

Effect of boron addition on structural properties and in vitro tested behavior of some silica based biomaterials

Submitted to Journal of Non-Crystalline Solids, Ref. No.: NOC-D-13-00887

Director proiect

Conf. Dr. Raluca Ciceo Lucacel