

УДК 544.032.733

ФОРМИРОВАНИЕ ПОКРЫТИЙ ГИДРОКСИАПАТИТА НА Ti6Al4V СУБСТРАТАХ ИЗ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ РАЗЛИЧНОГО ИОННОГО СОСТАВА

А. А. Яновская¹, В. Н. Кузнецов¹, А. С. Станиславов¹, С. Н. Данильченко¹,
Л. Ф. Суходуб²

Различия в морфологии и фазовом составе биоматериалов и покрытий для медицинских имплантатов определяют их биоактивность и способность к биорезорбции, что является важными аспектами для их биомедицинского применения. В работе изучено влияние основных параметров (ионного состава растворов, температуры, времени осаждения) на формирование кальций-фосфатных покрытий методом термодепозиции. При варьировании параметров эксперимента получены однофазные ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_6$) и двухфазные ($\text{CaHPO}_4 / \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_6$) покрытия.

Ключевые слова: монетит, гидроксиапатит, термодепозиция, осаждение, рентгеновские дифрактограммы, морфология поверхности, покрытие.

Введение

Разработка кальций-фосфатных покрытий для материалов медицинских имплантатов с функциональными свойствами, зависящими от морфологии их поверхности, а также от фазового состава переходных слоёв является перспективным направлением исследований в области физической химии и медицинского материаловедения. Основные биомедицинские свойства (необходимый уровень биоактивности, биорезорбируемости и стимулирования образования костной ткани) зависят от соотношения в биоматериалах более стабильных и более растворимых кальций-фосфатных фаз в двух-, трёх- и многофазных системах состоящих из различных фосфатов кальция [1].

Поиск методов нанесения покрытий, обладающих биологической активностью, совместимостью с костной тканью требует учитывать закономерности кристаллизации в зависимости от варьирования физико-химических параметров эксперимента (t, pH, ионного состава растворов, времени осаждения, концентраций компонентов). Кроме того, желательным является выбор методов формирования покрытий, в которых возможно введение в их состав биомолекул, а также лекарственных компонентов. В нашей работе [2] был разработан и усовершенствован метод термодепозиции, удовлетворяющий заявленным требованиям, а также исследована динамика кристаллизации покрытий и установлены временные интервалы для получения покрытий заданной толщины.

Впервые метод термодепозиции был предложен японскими учёными [3, 4] для получения покрытий гидроксиапатита (ГА) на нагретых титановых субстратах из водных растворов солей $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ (3 ммоль/л) CaCl_2 (7 ммоль/л). Было исследовано влияние концентрации компонентов, pH раствора, шероховатости поверхности и соотношения Ca/P в исходном растворе на процесс осаждения ГА. [3-7]. Фазовый состав осадка зависит от концентраций исходных компонентов в растворе и pH. При $\text{pH} > 6$ преимущественно ГА осаждается на субстрате, при $\text{pH} = 4$ фазовый состав представлен монетитом. В растворах с отношением $\text{Ca/P} = 0.0167$ фазовый состав покрытий также представлен монетитом [4].

В данной работе рассмотрено влияние ионного состава исходных растворов, времени осаждения, а также температуры субстрата на формирование кальций-фосфатных покрытий методом термодепозиции.

¹ Институт прикладной физики НАН Украины, 40000 Сумы, ул. Петропавловская 58, Украина

² Сумский государственный университет, медицинский институт Министерство образования и науки Украины, 40007 Сумы, ул. Римского-Корсакова 2, Украина

© А. А. Яновская, В. Н. Кузнецов, А. С. Станиславов, С. Н. Данильченко, Л. Ф. Суходуб, 2013

Теоретическая часть

Фосфаты кальция имеют различную стабильность при варьировании pH в зависимости от соотношения Ca/P в них.

При $\text{pH} \approx 7$ наиболее стабильным является гидроксиапатит. Кислые фосфаты кальция: монетит (CaHPO_4) и брушит ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) термодинамически нестабильны при $\text{pH} > 6-7$ и трансформируются в более стабильные фосфаты кальция [10].

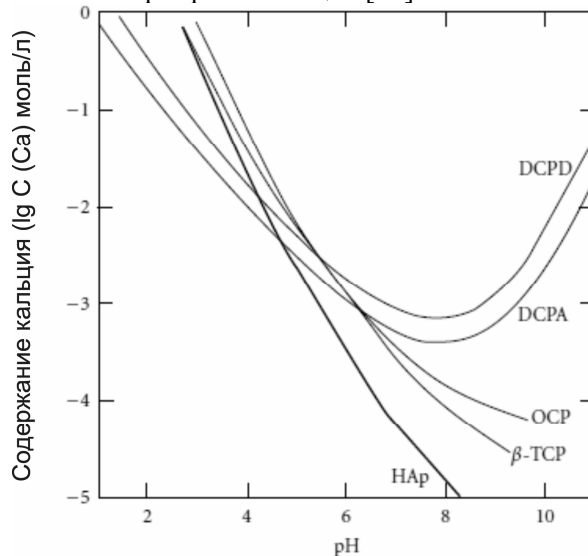


Рисунок 1. Изотермы растворимости кальций-фосфатов в системе $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ при 37°C в зависимости от pH водных растворов.

На рисунке приведены международные обозначения кальций-фосфатных фаз согласно литературе [8, 9]. Где HAр – гидроксиапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$); TCP – кальция ортофосфат ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$); OCP – октакальцийфосфат ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); DCPA – монетит (CaHPO_4); DCPD – брушит ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Метод термодепозиции основан на уменьшении растворимости гидроксиапатита с увеличением температуры. Зависимость константы растворимости гидроксиапатита от температуры выражается следующим уравнением [8, 9]:

$$\log K_s = \log [\text{Ca}^{2+}]^5 [\text{PO}_4^{3-}]^3 [\text{OH}^-] = - 8219,41/T - 1,6657 - 0,098215T \quad (1),$$

где K_s – константа растворимости (моль/л)⁹, T – температура в Кельвинах.

Экспериментальная часть

В деталях установка для получения покрытий методом термодепозиции описана в работе [2].

При нагревании водных растворов, содержащих ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} происходит осаждение кальций-фосфатов в растворе, в том числе и ГА. При нагревании субстрата и одновременном охлаждении исходного раствора происходит осаждение ГА непосредственно на нагретый субстрат. Увеличение концентрации ионов кальция или фосфат-ионов, как и увеличение pH раствора приводит к осаждению гидроксиапатита.

Как видно из Рис.1. наиболее стабильной фазой при $\text{pH} > 5$ является гидроксиапатит, при определенной концентрации ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} и контроле температуры. В связи с этим для осаждения покрытий данным методом pH в растворе поддерживали на уровне 6.5– 6.7.

В качестве субстратов были использованы подложки, изготовленные из широко используемого в ортопедии и стоматологии сплава Ti-6Al-4V (состав которого 90% Ti, 6% Al, 4% V). Субстраты были очищены последовательной ультразвуковой обработкой по 10 минут в ацетоне и 96% этаноле с последующей промывкой дистиллированной водой. Для синтеза кальций-фосфатных покрытий использованы исходные растворы различного ионного состава (Табл. 1).

Концентрации исходных веществ выбирали исходя из необходимости соотношения Ca/P в растворе 1,67, характерного для ГА. В случае 2 при смешивании исходных растворов

Ca(NO₃)₂·4H₂O (10 ммоль/л) и Na₂HPO₄·12H₂O (6 ммоль/л) pH раствора составляет 6.7 и дальнейшее его изменение при проведении эксперимента не требуется. В случаях 1 и 3 исходные растворы прозрачны, а значение pH=6,5 достигается добавлением по каплям 1 М раствора NaOH. Все реактивы имели квалификацию «ч.д.а».

Анализ морфологии полученных покрытий проведён с помощью сканирующего электронного микроскопа РЭММА-102 (ОАО «SELMГ», Сумы, Украина). Элементный состав определён с помощью рентгеновского спектрометра с дисперсией по энергиям.

Таблица 1. Ионный состав водных растворов для осаждения кальций-фосфатных покрытий

	Ионный состав раствора	Концентрации веществ	pH раствора	Температура субстрата	Длительность осаждения
1	CaCl ₂ NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	10 ммоль/л 6 ммоль/л	6.5	80-85°C	30 минут
2	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	10 ммоль/л 6 ммоль/л	6.7	80-85°C	30 минут
3	CaCl ₂ H ₃ PO ₄ (85%)	10 ммоль/л 6 ммоль/л	6.5	80-85°C	30 минут

Рентгендифракционные исследования структуры материала были выполнены на автоматизированном дифрактометре ДРОН-4-07 (НПП «Буревестник»). При съёмке использовалось излучение Cu Kα (λ=0,154 нм), фокусировка по Брэггу-Брентано θ-2θ. Значения тока и напряжения на рентгеновской трубке составляли 20 мА и 40 кВ. Съёмка образцов проводилась в режиме непрерывной регистрации (скорость 1°/мин) в диапазоне углов 2θ от 10° до 60°. Идентификация кристаллических фаз проводилась с помощью картотеки JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

Концентрации присутствующих фаз в покрытиях были рассчитаны по методу корундовых чисел [11]. Суть метода корундовых чисел состоит в вычислении концентрации фаз с использованием корундового числа, соответствующего определенной фазе. Корундовое число k – это величина, равная отношению интенсивностей основного пика фазы к основному пику синтетического корунда (α-Al₂O₃) в их 50/50 смеси. В картотеке JCPDS данный параметр указывается для большинства представленных фаз. Концентрация искомой фазы C рассчитывается по формуле:

$$C_i = \left(\frac{k_i I_i^{rel}}{I_i} \sum_{i=1}^n \frac{I_i}{k_i I_i^{rel}} \right)^{-1}, \quad (2)$$

где I_i – интенсивность выбранного пика i-той фазы, I_i^{rel} – относительная интенсивность выбранного пика i-той фазы.

Размер кристаллитов рассчитан по формуле Шеррера [12]:

$$L = \frac{K\lambda}{B \cos \theta}, \quad (3)$$

где L – размер кристаллита, K – коэффициент формы (принимается $K=1$), B – интегральная ширина профиля дифракционной линии.

Результаты и обсуждение

Морфология покрытий, полученных из водных растворов различного ионного состава, отличается не существенно (Рис.2).

Это вызвано тем, что при определённом отношении Са/Р в исходном растворе, а также заданной температуре 80-85°C, после одинакового промежутка времени происходит формирование осадка ГА, морфология которого обусловлена скорее температурным фактором (Рис.4). Следовательно, для синтеза ГА методом термодепозиции возможно использование растворов различного ионного состава, что свидетельствует о некоторой универсальности его применения для получения покрытий на материалах модельных медицинских имплантатов.

Морфология покрытий полученных из растворов $\text{CaCl}_2 / \text{H}_3\text{PO}_4$ (85%) при постоянном перемешивании и в отсутствии перемешивания отличается не существенно, однако, использование постоянного перемешивания предпочтительнее, поскольку обеспечивает равномерное распределение частиц в растворе и равномерное охлаждение исходного раствора с помощью используемой системы охлаждения.

Рентгеновский фазовый анализ показал наличие в образцах двух фаз – ГА (JCPDS 82-1943) и монетита (JCPDS 89-5969) (Рис. 3 а-в).

Для образцов б и в по методу корундовых чисел (2) были рассчитаны концентрации присутствующих фаз. В случае образца а, расчет концентраций не представлялся возможным из-за плохо разрешенных рефлексов монетита вследствие его малого содержания.

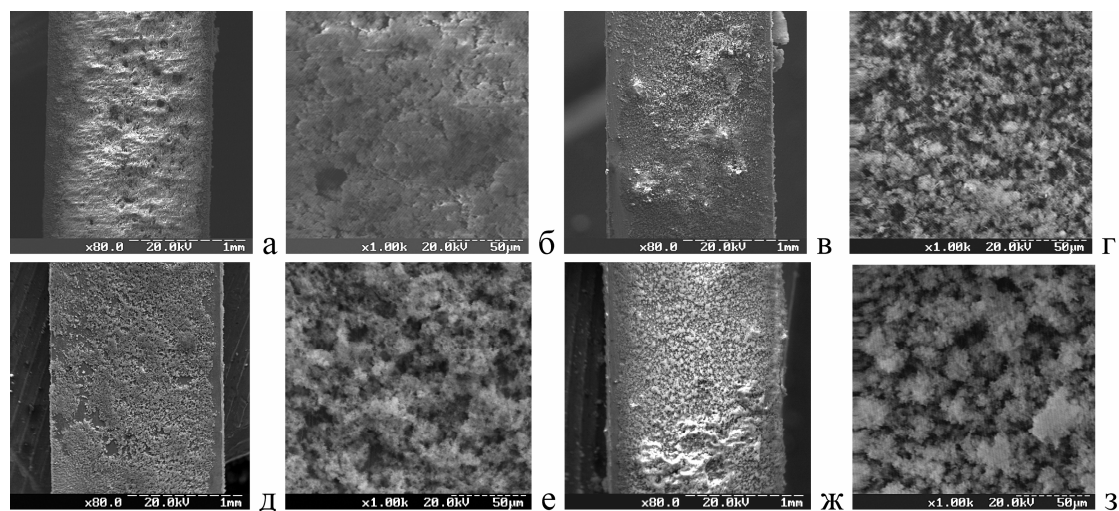


Рисунок 2. Покрытия ГА полученные из растворов различного ионного состава при $t_{\text{субстр.}} 80-85^\circ\text{C}$, $\text{pH}=6,5-6,7$ (Табл. 1): $\text{CaCl}_2 / \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (а, б); $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} / \text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (в, г); $\text{CaCl}_2 / \text{H}_3\text{PO}_4$ (85%) (д, е) – покрытие получено без перемешивания раствора; (ж, з) условия осаждения те же что и (д,е) с перемешиванием исходного раствора.

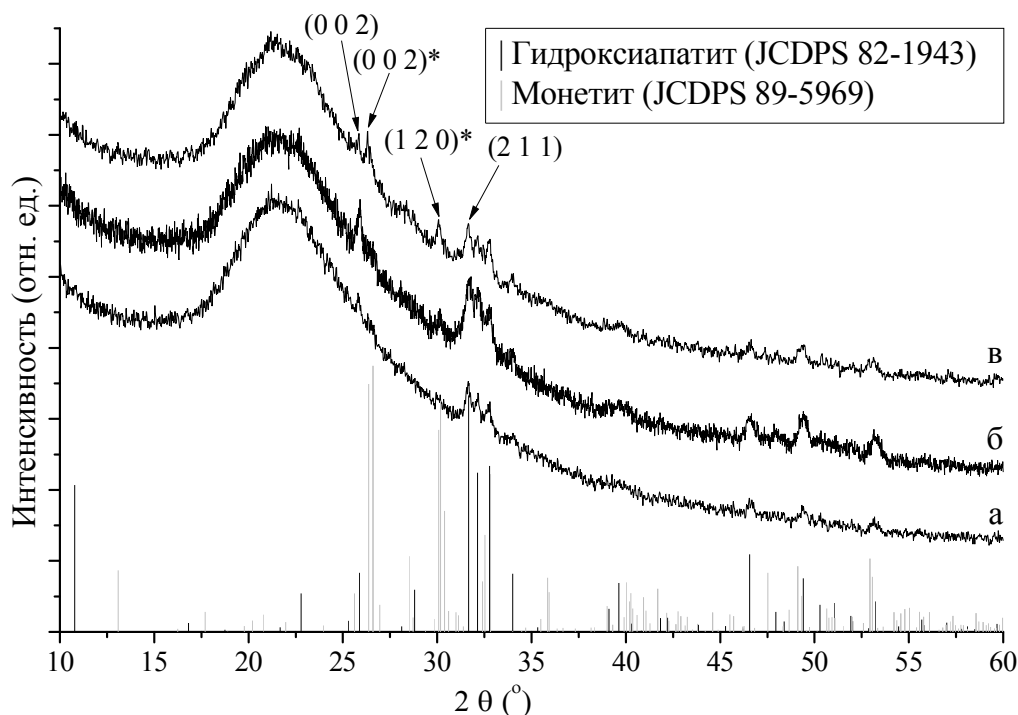


Рисунок 3. Дифрактограммы покрытий полученных при условиях – $t_{\text{субстр.}} 80-85^\circ\text{C}$, $\text{pH}=6,5-6,7$ (Табл. 1) из растворов различного ионного состава: а) $\text{CaCl}_2 / \text{H}_3\text{PO}_4$ (85%); б) $\text{CaCl}_2 / \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; в) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} / \text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. * – фаза монетита.

Таблица 2. Размеры кристаллитов и процентное содержание фаз в покрытиях

Образец	Размеры кристаллитов, нм				Конц-ция ГА в покрытии	Конц-ция монетита в покрытии
	(0 0 2)	(1 2 0)*	(2 1 1)	(1 1 2)		
а	48,5	–	32	36	–	–
б	44,7	53,2	19,6	18,5	65	35
в	96,1	41,6	27,5	30,7	47	53

* – фаза монетита

Уменьшение размеров кристаллитов в плоскостях (0 0 2), (2 1 1) и (1 1 2) для образца б, в сравнении с образцом а, вероятно обусловлено заметным увеличением концентрации фазы монетита. Для более подробного изучения механизмов влияния наличия фазы монетита на кристалличность гидроксиапатита необходимы дальнейшие исследования.

Кристаллы ГА обладают преимущественной ориентировкой в плоскости (0 0 2) к поверхности кюветы при угле 2θ 26° , что определяется большей интенсивностью пика данной плоскости по отношению к пику плоскости (2 1 1). Наблюдаемая текстура в случае порошкового образца обусловлена анизотропией формы кристаллитов ГА. Это подтверждается данными растровой электронной микроскопии.

В работе [10] показано, что кристаллический монетит, ориентированный в плоскости (112) относительно поверхности субстрата, электрохимически осаждённый на титановых субстратах при погружении в щелочной раствор превращается в ГА ориентированный в плоскости (002) относительно поверхности субстрата. Температура и время осаждения также оказывают влияние на образование определённых кальций-фосфатных фаз. Показано, что после 15 минут нахождения в 0,1 М растворе NaOH фазовый состав покрытия представлен ГА и монетитом, что соответствует полученным нами данным.

Покрытия полученные осаждением из раствора $\text{CaCl}_2 / \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (30 мин) содержат монетит и гидроксиапатит (Рис. 3), в то время как после осаждения в течении 60 и 120 минут, фазовый состав представлен только ГА (Рис. 4).

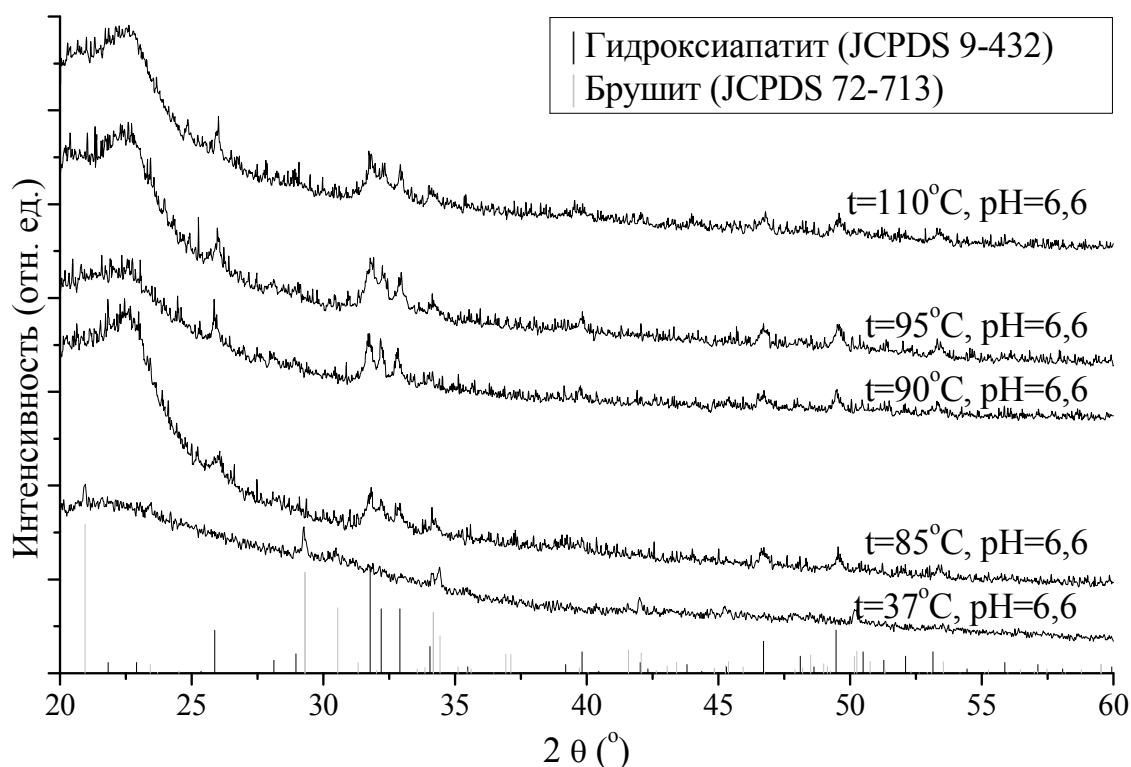


Рисунок 4. Фазовый состав кальций-фосфатных покрытий полученных из раствора 10 ммоль/л CaCl_2 / 6 ммоль/л $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ при pH=6,6 в течении 2 часов осаждения и различных температурах субстрата.

Постепенное превращение монетита в ГА происходит в основном за счёт растворения и повторного осаждения. При растворении монетита создаётся избыток ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} , достига-

ется термодинамическое равновесие, кристаллы ГА осаждаются на поверхности монетита, которая выступает в качестве субстрата для ориентированного осаждения ГА. Кристаллы гидроксиапатита ориентированы в плоскости (002), что определяется большей высотой ее пика при значении $2\theta=25,8^\circ$ по сравнению с эталоном (JCPDS 9-432). Полученные покрытия ГА имеют преимущественную ориентировку в с-плоскости по отношению к поверхности кюветы. Определённое ориентирование кристаллов имеет значение, поскольку различные виды кристаллографических плоскостей имеют разные заряды (положительно заряженная, за счёт Ca^{2+} -ионов с-поверхность и отрицательно заряженная за счёт OH^- и PO_4^{3-} ионов а-поверхность) [13], благодаря этому может быть обеспечена избирательная адсорбция различных ионов и органических соединений. Покрытия, содержащие в своём составе брушит и монетит, обладают большей растворимостью, чем ГА при $\text{pH}\approx 7$ и способны к биорезорбции в сравнении с материалами на основе ГА [14]. Кроме того, CaHPO_4 превращается в карбонатапатит низкой кристалличности при 37°C в течении 48 часов (в условиях организма) [14]. Следовательно, варьируя время и температуру осаждения возможно получение как двухфазных, так и однофазных покрытий в зависимости от поставленных задач. Фазовый состав покрытия полученного при 37°C соответствует брушиту (JCPDS 72-713), а при температурах от $80-110^\circ\text{C}$ (2 часа) – гидроксиапатиту (JCPDS 9-432) (Рис. 4).

Сравнение синтезированных образцов с разными стандартами фаз ГА (JCPDS 9-432 и JCPDS 82-1943) обусловлено определенными отличиями в их кристаллической структуре. Стандарт JCPDS 82-1943 является рассчитанным на основе данных кристаллической структуры фазы, приведенных в картотеке ICSD, ему соответствует ГА с параметрами элементарной ячейки $a=9.460$, $c=6.880$; стандарт JCPDS 9-432 – результат непосредственных рентгendifракционных исследований образца ГА с параметрами элементарной ячейки $a=9.418$, $c=6.884$.

Подобные различия в структуре полученных образцов могут быть связаны с влиянием присутствия монетита на особенности формирования гидроксиапатита, однако данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Морфология покрытий полученных при варьировании нагрева субстратов (Рис.5) существенно отличается. Соотношение Ca/P в полученных покрытиях 1.29 – 1.55 вес. %, что характерно для брушита и 2.15 – 2.21 вес. % – для гидроксиапатита.

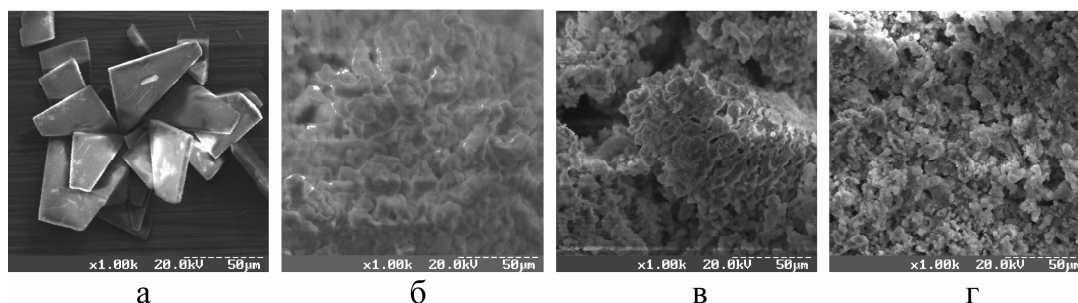


Рисунок 5. Морфология покрытий, полученных методом термодепозиции из раствора 10 ммоль/л CaCl_2 / 6 ммоль/л $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ при $\text{pH}=6,6$ в течении 2 часов осаждения и температуре субстрата: 37°C (а); 95°C (б); 100°C (в); 110°C (г).

Выводы

Используя метод термодепозиции получены кальций-фосфатные покрытия с различной морфологией поверхности и заданным фазовым составом на модельных медицинских имплантатах. Установлено влияние температуры субстрата и времени осаждения на морфологию и фазовый состав покрытий. Рассчитано соотношение фаз в двухфазном покрытии и определён размер кристаллитов. Таким образом, варьируя параметры осаждения и состав исходных растворов, получить покрытия различной морфологии и фазового состава, тем самым можно регулировать их резорбционную способность, получая материалы для биомедицинского применения с заданными свойствами.

Литература / References

1. Sergey V. Dorozhkin Review. Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates // Acta Biomaterialia — 2012. — V.8. — P. 963—977.
2. A.A. Yanovska V.N. Kuznetsov, S.N. Danilchenko, L.F. Sukhodub Obtaining of uniform hydroxyapatite-based coatings by thermal substrate method // Biophysical bulletin V.N. Karazin Kharkiv National University. — 2010. — V. 25, № 2. — P. 128—142 (in Russian).
3. M. Okido, K. Kuroda, R. Ichino, M. Ishikawa Hydroxyapatite coatings on titanium by means of thermal substrate method in aqueous solutions // Solid State Ionics. — 2002. — V.151. — P. 47—52.
4. K. Kuroda, R. Ichino, M. Okido, O. Tokai Effect of ion concentration and pH on hydroxyapatite deposition from aqueous solution onto titanium by the thermal substrate method // J. Biomed. Mat. Res. — 2002. — V.61. — P. 354—359.
5. Kuroda K., Nakamoto S., Ichino R. et al. Hydroxyapatite coatings on a 3D porous surface using thermal substrate method // Materials Transactions. — 2005. — V. 46 (7). — P. 1633—1635.
6. Okido M., Kuroda K., Ichino R. Formation of calcium phosphate film on Ti substrate in aqueous solutions in the control of temperature and ion activity // Materials Science Forum. — 2003. — V. 426—432. — P. 3457—3462.
7. Kuroda, K., Miyashita, Y., Ichino, R., Okido, M., Takai, O. Preparation of calcium phosphate coatings on titanium using the thermal substrate method and their in vitro evaluation // Materials Transactions. — 2002. — V. 43 (12). — P. 3015—3019.
8. K. Kuroda, M. Okido Hydroxyapatite Coating of Titanium Implants Using Hydroprocessing and Evaluation of Their Osteoconductivity // Hindawi Publishing Corporation. Bioinorganic chemistry and Applications. — 2012. — Article ID 730693. — doi:10.1155/2012/730693.
9. Elliott J.C. Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates. — Amsterdam—London—New York—Tokyo: Elsevier, 1994. — 489 p. — (Studies in inorganic chemistry).
10. M.H. Prado Da Silva, J.H.C. Lima, G.A. Soares, C.N. Elias, M.C. de Andrade, S.M. Best, I.R. Gibson Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings on titanium // Surface and Coatings Technology. — 2001. — V. 137. — P. 270—276.
11. F. H. Chung. Quantitative interpretation of X-ray diffraction patterns of mixtures. // J. Appl. Cryst. — 1974. — V. 7. — P. 519—525.
12. Klug H. P., Alexander L. E. X-Ray Diffraction Procedures: For Polycrystalline and Amorphous Materials. — New York: Wiley, 1974. — 966 p.
13. Bojan Jokic', Miodrag Mitric', Velimir Radmilovic', Sasa Drmanic', Rada Petrovic', Djordje Janac'kovic' Synthesis and characterization of monetite and hydroxyapatite whiskers obtained by a hydrothermal method // Ceramics International — 2011. — V. 37. — P. 167—173.
14. Tarang R. Desai, Sarit B. Bhaduri, and A. Cuneyt Tas A Self-setting Monetite (CaHPO₄) Cement for Skeletal Repair // Advances in Bioceramics and Biocomposites — 2007. — V. 2. — P. 61—69.

Поступила в редакцию 02 апреля 2013 г.

Г. О. Яновська, В. М. Кузнецов, О. С. Станіславов, С. М. Данильченко, Л. Ф. Суходуб. Формування покриттів гідроксиапатиту на Ti6Al4V субстратах з водних розчинів різного іонного складу.

Різниця у морфології та фазовому складі біоматеріалів і покриттів для медичних імплантатів визначають їх біоактивність і здатність до біорезорбції, що є важливими аспектами для їх біомедичного призначення. В роботі досліджено вплив основних параметрів (іонного складу розчинів, температури, часу осадження) на формування кальцій-фосфатних покриттів методом термодепозиції. При варіюванні параметрів експерименту отримані однофазні (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₆) та двофазні (CaHPO₄ / Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₆) покриття.

Ключові слова: монетит, гідроксиапатит, термодепозиція, осадження, рентгенівські дифрактограми, морфологія поверхні, покриття.

A. A. Yanovska, V. N. Kuznetsov, A. S. Stanislavov, S. N. Danilchenko, L. F. Sukhodub. Hydroxyapatite coatings formation on Ti6Al4V substrates from aqueous solutions with various ionic composition.

The distinctions in morphology and phase composition of biomaterials and coatings for medical implants determine their bioactivity and ability to bioresorption, which are important for biomedical applications. In this work the influence of main experimental conditions (ionic composition, temperature, time of deposition) on the coatings formation by thermal substrate method is studied. The single-phase ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_6$) and bi-phase ($\text{CaHPO}_4 / \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_6$) coatings were obtained by varying the experimental conditions.

Key words: monetite, hydroxyapatite, thermal substrate method, deposition, x-ray diffraction patterns, surface morphology, coating.

Kharkov University Bulletin. 2013. № 1085. Chemical Series. Issue 22 (45).