

Определение разновалентных форм церия в наноразмерном кальциевом гидроксиапатите

А.О. Стоянов, Е.В. Хоменко, Н.П. Ефрюшина, И.В. Стоянова, Н.А. Чивирева, В.П. Антонович

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины
65080 Одесса, Люстдорфская дорога, 86, Украина; e-mail: antonovichvp@ukr.net

Поступила: 10 апреля 2014 г / Принята к публикации: 12 мая 2014 г.

Представлены результаты определения разновалентных форм церия в образцах гидроксиапатита кальция $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2:\text{Ce}$, активированных ионами $\text{Ce}(\text{III})$. Образцы получены путем осаждения из водных растворов и подвергнуты термообработке при различных температурах на воздухе и в восстановительной среде оксида углерода(II). В работе использовали люминесцентную спектроскопию, интегральную и производную спектрофотометрию. Растворение образцов проводили в фосфорной кислоте, которая при разложении церийсодержащих материалов позволяет сохранить исходные формы церия. Для подтверждения правильности получаемых результатов при отсутствии соответствующих стандартных образцов состава количественное определение разновалентных форм церия в образцах гидроксиапатита, активированных ионами церия, проводили спектрофотометрически по двум методикам: по интегральным и дифференциальным спектрам поглощения фосфатных комплексов $\text{Ce}(\text{III})$ и $\text{Ce}(\text{IV})$, а также по редоксреакциям соответствующих валентных форм (спектрофотометрическое определение $\text{Ce}(\text{III})$ по ослаблению окраски раствора KMnO_4 ; $\text{Ce}(\text{IV})$ – по уменьшению окраски раствора метанилового желтого). Установлено, что условия термической обработки существенно влияют на соотношение валентных форм церия.

A.O. STOYANOV, E.V. KHOMENKO, N.P. EFRYUSHINA, I.V. STOYANOVA, N.A. CHIVIREVA, V.P. ANTONOVICH. DETERMINATION OF CERIUM SPECIES IN NANOSCALE CALCIUM HYDROXYAPATITE. Results of the determination of cerium species in calcium hydroxyapatite samples $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2:\text{Ce}$ activated by $\text{Ce}(\text{III})$ ions were presented. Samples were prepared by precipitation from water liquors and heated at different temperatures at air in reducing medium of carbon monoxide (II). In this work luminescent spectroscopy, integral and derivative spectrophotometry were used. Dissolution of the samples was carried out in phosphoric acid, which in the decomposition of cerium-containing materials allows to keep the original species of cerium. To confirm obtained results considering the absence of appropriate reference materials quantitative determination cerium species in calcium hydroxyapatite samples activated by $\text{Ce}(\text{III})$ ions was carried by two spectrophotometric procedures: using integral and derivative absorption spectra of phosphate complexes $\text{Ce}(\text{III})$ and $\text{Ce}(\text{IV})$; and RedOx-reactions of inherent cerium species (spectrophotometric determination of $\text{Ce}(\text{III})$ by reduction of optical absorbance of the KMnO_4 ; $\text{Ce}(\text{IV})$ – reduction of optical absorbance of the methanil yellow). Significant influence of heat treatment conditions on the cerium species ratio was found.

Ключевые слова: церий (III, IV), спектрофотометрия, производная спектрофотометрия, гидроксиапатит

Keywords: cerium (III, IV), spectrophotometry, derivative spectrophotometry, hydroxyapatite.

Перспективы создания новых высококачественных материалов для костного протезирования прежде всего связаны с использованием различных фосфатов кальция ввиду химического подобия последних минеральному составу кости. Наиболее эффективным материалом для замены поврежденной костной ткани считается нанораз-

мерный гидроксиапатит кальция $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (СаГАП). Современная медицина предъявляет достаточно высокие требования к материалу-имплантату, который должен обладать определенными прочностными характеристиками, а также стимулировать остеогенез. Химическая модификация лантанидами является одним из путей улучшения

свойств функциональных материалов на основе фосфатов кальция. Из литературы известно [1, 2], что $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, активированный ионами Ce^{3+} , способствует восстановлению деминерализованной зубной эмали, проявляя при этом антикариозную активность.

В условиях синтеза образцов СаГАП, активированных ионами церия, возможно образование разновалентных форм церия, идентификация и определение содержаний которых является целью данной работы.

Экспериментальная часть

В работе использовали реактивы квалификации х.ч. и ч.д.а. Применяли H_3PO_4 (ос.ч. 12-3) с нормированной долей веществ, восстанавливающих KMnO_4 (ТУ 2612-014-00203677-97). Исходные растворы фосфатов церия (III) и церия (IV) готовили растворением навесок $\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3$ и $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ в конц. H_3PO_4 при нагревании с последующим разбавлением 3М H_3PO_4 . Содержание церия в исходных сульфатах устанавливали титриметрически [3]. Спектры поглощения и их первые производные регистрировали на спектрофотометре Lambda-9 (Perkin-Elmer). Скорость сканирования в режиме записи производной – 15 нм/мин, $\Delta\lambda = 1$ нм. При построении градуировочных графиков и количественном определении церия использовали среднее арифметическое из трех измерений величины первой производной (D1).

Регистрацию спектров возбуждения и люминесценции осуществляли с помощью спектрофлуориметра Fluorolog-3 (Horiba Jobin Yvon), снабженного ксеноновой лампой в качестве источника возбуждения люминесценции при 293 К.

Образцы ГАП $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 \cdot \text{Ce}$, активированные ионами церия, получены осаждением из водного раствора и подвергнуты термической обработке в течение 3 ч в различных условиях: образец №1 прокален при 400°C; образец №2 дополнительно прокален при 800°C на воздухе; образец №3 – дополнительно прокален при 800°C в среде оксида углерода (II).

Методика получения образцов. К 200 мл нагретого до 60°C 6.6% (0.14 М) водного раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (квалификации х.ч.), находящемуся в стеклянной колбе объемом 1 л, при постоянном перемешивании магнитной мешалкой в течение 1 ч добавляли 200 мл 2.2% (0.08М) раствора $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (квалификации х.ч.) и рассчитанное количество 1М раствора $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$. pH раствора поддерживали на уровне 10 добавлением аммиака, отношение $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-} = 1.67$. Теоретически рассчитанное содержание активатора составляло ~1 ат.% (~1.4% масс.). Полученную суспензию разбавляли водой до 800 мл и выдерживали при постоянном перемешивании в течение 2 ч при температуре ~ 60-70°C. Образовавшийся осадок отфильтровывали и сушили при температуре

150°C. Фазовый состав образцов определяли по дифрактограммам, полученным на рентгеновском аппарате ДРОН-0.5 с использованием излучения $\text{Cu K}\alpha$ с Ni-фильтром. Согласно данным РФА полученные образцы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ являются однофазными, но характеризуются низкой степенью кристалличности. На рис.1 представлена дифрактограмма образца $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 \cdot \text{Ce}$, полученного осаждением из водного раствора.

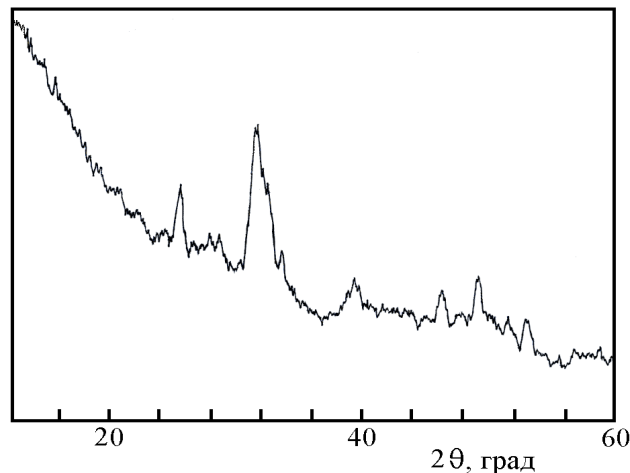


Рис.1 Дифрактограмма $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 \cdot \text{Ce}$, полученного осаждением из водного раствора

Средний размер кристаллитов свежеосажденного поликристаллического гидроксипатита кальция сравнительно грубо оценён на основании данных рентгенофазового анализа по формуле Шеррера [4]. Для дифракционной линии при $2\theta = 25.8^\circ$ (рис. 1), которая соответствует плоскости (002), такая оценка даёт $d = \sim 34$ нм. Этот результат согласуется с имеющимися в литературе данными для гидроксипатита кальция, синтезированного путем химического осаждения в сопоставимых условиях [5,6]. Следует отметить, что это не исключает возможности формирования наночастицами ГАК агломератов с субмикронными размерами.

Результаты и их обсуждение

В условиях синтеза СаГАП, активированного ионами церия, т.е. при длительном нагревании на воздухе в сильнощелочной среде (pH 10) $\text{Ce}(\text{III})$ легко окисляется до $\text{Ce}(\text{IV})$. Вследствие этого, в продуктах, синтезированных по описанной выше методике, церий должен находиться преимущественно в виде $\text{Ce}(\text{IV})$. При последующей термической обработке на воздухе и, особенно, в восстановительной среде неизбежно изменение степени окисления церия.

Наличие $\text{Ce}(\text{III})$ подтверждено методом люминесцентной спектроскопии. На рис. 2 представлены спектры люминесценции ионов Ce^{3+} в анализируемых образцах, полученные при $\lambda_{\text{возб.}} = 288$ нм. Интенсивность кривой 1 увеличена в 50 раз.

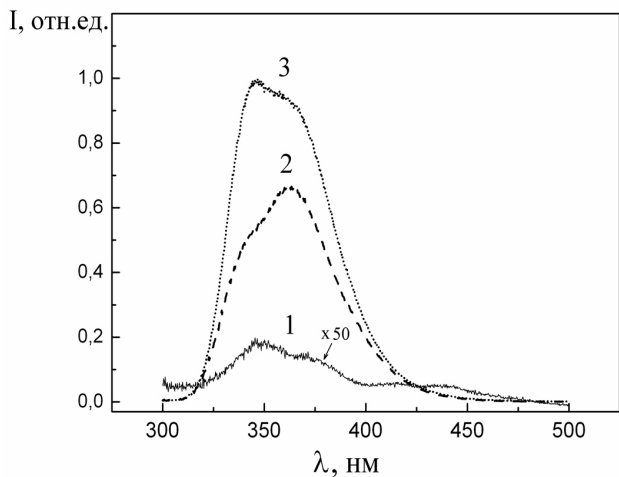


Рис.2 Спектры люминесценции ионов Ce^{3+} в образцах $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2:\text{Ce}$: 1 – образец №1; 2 – образец №2; 3 – образец №3.

Как видно из рис. 2, спектр люминесценции образца №1 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2:\text{Ce}$, подвергнутого обжигу при 400°C , состоит из широкой дублетной полосы в области 300–400 нм с локальным максимумом при 350 нм, обусловленной $4f^05d^1 \rightarrow 4f^15d^0$ переходами в ионах Ce^{3+} .

Такая интерпретация подтверждается анализом кинетики затухания люминесценции и спектров возбуждения люминесценции этого образца. При возбуждении с $\lambda_{\text{возб}} = 266$ нм кинетика затухания люминесценции является близкой к экспоненциальной и может быть охарактеризована временной постоянной $\tau = 27 \pm 1$ нс, типичной для переходов $4f^05d^1 \rightarrow 4f^15d^0$ в ионах Ce^{3+} . Спектр возбуждения люминесценции образца №1 является характерным для ионов Ce^{3+} и состоит из пяти полос, обусловленных внутрицентровым возбуждением ионов Ce^{3+} посредством переходов на различные компоненты $4f^05d^1$ конфигурации [7]. Из рис. 2 видно, что для образца СаГАП, прокаленного при 400°C на воздухе (кривая 1), наблюдается наименьшая интенсивность люминесценции. Это, вероятно, связано с преобладанием в образце Ce(IV) , который сам не люминесцирует, но вызывает тушение люминесценции Ce(III) . Увеличение температуры обжига до 800°C приводит к увеличению интенсивности люминесценции Ce(III) , что, возможно, связано с изменением соотношения валентных форм в образце. Кроме того, факт повышения интегральной интенсивности люминесценции ионов Ce^{3+} связан с увеличением растворимости оксида церия в ГАП и повышением кристалличности последнего в результате высокотемпературного обжига. Можно полагать, что при получении ГАП: Ce^{3+} методом осаждения из водного раствора только некоторая часть ионов Ce^{3+} , находящихся в реакционной смеси, вошла в кристаллическую решетку ГАП. Высокотемпера-

турный обжиг сопровождается увеличением растворимости CeO_2 и вхождением дополнительного количества ионов Ce^{3+} в кристаллическую решетку ГАП, т.е. увеличением концентрации ионов Ce^{3+} в образце. Наибольшая интенсивность люминесценции Ce(III) наблюдается после дополнительного обжига СаГАП в восстановительной среде.

Для идентификации и количественного определения валентных форм церия использовали спектрофотометрический метод. Растворение образцов проводили в фосфорной кислоте, которая при разложении церийсодержащих образцов позволяет сохранить исходные формы церия [8]. Для обнаружения Ce(IV) в присутствии Ce(III) использовали различия в спектрах поглощения их фосфатных комплексов в интервале 320–400 нм, где у Ce(III) полностью отсутствует поглощение [8], а для решения обратной задачи – обнаружения Ce(III) в присутствии Ce(IV) – производную спектрофотометрию первого порядка [9]. Дифференцирование усиливает разрешение перекрывающихся сигналов спектров поглощения фосфатных комплексов Ce(III) и Ce(IV) . В дифференциальном спектре фосфорнокислого раствора Ce(IV) наблюдается один широкий максимум в интервале 240–250 нм, в то время как спектр раствора Ce(III) имеет несколько характеристических максимумов, наиболее интенсивный из которых наблюдается в интервале длин волн 236–238 нм. Установлено, что использование первой производной позволяет обнаруживать ≥ 2 мкг/мл Ce(III) в присутствии до 8-кратных избытков Ce(IV) .

На рис. 3 приведены интегральные (а, б) и дифференциальные (в, г) спектры поглощения фосфорнокислых растворов образцов СаГАП №1 (а, в) и №3 (б, г). Как видно из приведенных данных, в образце №1 преобладающей формой церия является Ce(IV) , в то время как в образце №3 преобладает Ce(III) . На спектрах первой производной образца №1 четко фиксируются полосы Ce(III) .

Для подтверждения правильности получаемых результатов при отсутствии соответствующих стандартных образцов состава количественное определение разновалентных форм церия в образцах гидроксиапатита, активированных ионами церия, проводили спектрофотометрически по двум методикам: по спектрам поглощения и первым производным их фосфатных комплексов Ce(III) и Ce(IV) [9], а также по редоксреакциям соответствующих валентных форм [8].

Определение Ce(IV) проводили по светопоглощению его фосфатного комплекса при $\lambda = 320$ нм. Зависимость оптической плотности от концентрации Ce(IV) описывается уравнением: $A = 0.0157 C + 0.0044$ ($R^2=0.9993$), где C – концентрация церия, мкг/мл. Для количественного определения церия (III) в смеси с церием (IV) использовали данные производной спектрофотометрии первого порядка

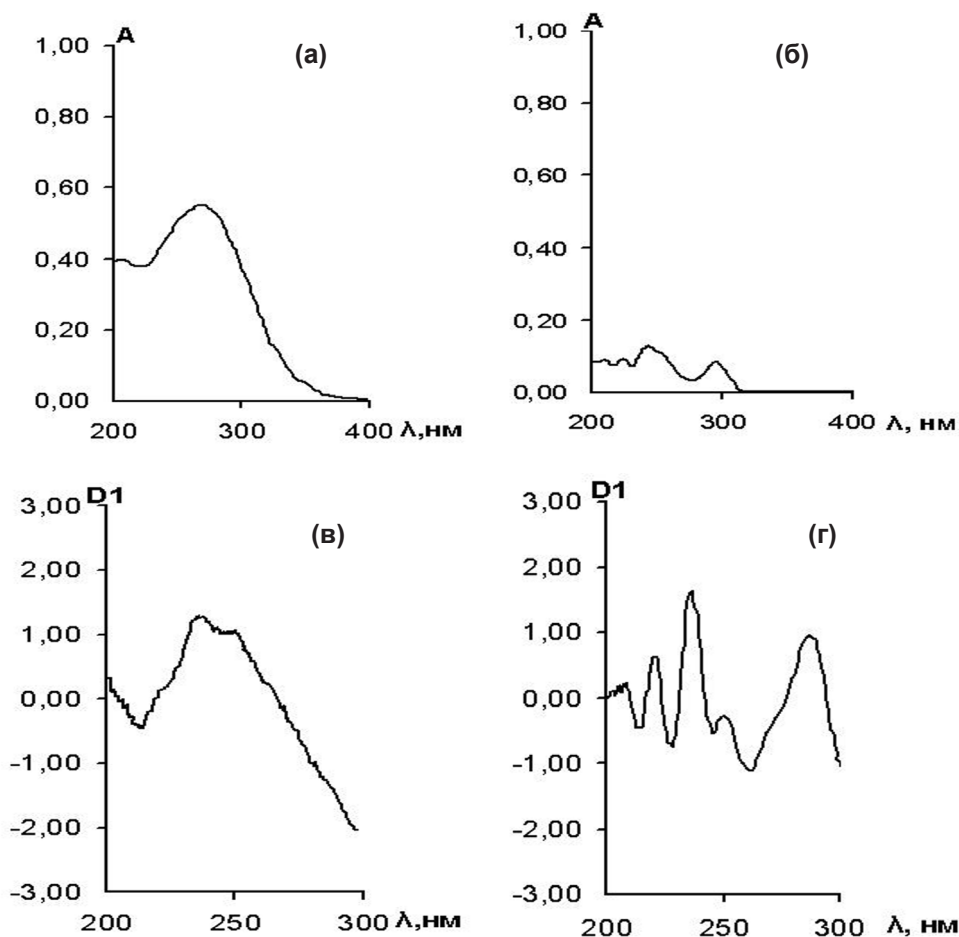


Рис.3 Интегральные (а, б) и дифференциальные спектры (в, г) поглощения фосфорнокислых растворов СаГАП, активированных церием: образец №1 (а, в); образец №3 (б, г)

в сочетании с данными спектрофотометрического определения Ce(IV). Определение проводили по следующей схеме анализа:

- Измерение величины $D1 \Sigma Ce(III) + Ce(IV)$ при $\lambda = 236-238 \text{ nm}$
- Измерение оптической плотности ($\lambda = 320 \text{ nm}$) и расчет содержания Ce(IV) по соответствующему градуировочному графику
- Расчет величины $D1$, соответствующей содержанию Ce(IV), по градуировочному графику
- Расчет величины $D1Ce(III) = D1 \Sigma Ce(III) + Ce(IV) - D1 Ce(IV)$
- Расчет содержания Ce(III) по соответствующему градуировочному графику

Зависимость величины $D1$ от содержания Ce(III) при $\lambda = 236-238 \text{ nm}$ описывается уравнением прямой $D1 = 0.0695C + 0.0226$ ($R^2 = 0.9986$; C – концентрация Ce(III) в мкг/мл). В этом интервале длин волн зависимость величины $D1$ от содержания Ce(IV) описывается уравнением прямой $D1 = 0.0844C + 0.1246$ ($R^2 = 0.9996$; C – концентрация Ce(IV) в мкг/мл).

Кроме того для фотометрического определения Ce(III) использовано его окисление перманганат-ионом в фосфорнокислой среде. Содержание Ce(III) устанавливали по ослаблению окраски

$KMnO_4$. Присутствие Ce(IV) не мешает определению Ce(III). Зависимость уменьшения оптической плотности раствора перманганата калия ΔA от содержания церия (III) описывается уравнением прямой $\Delta A = 4.0312C - 0.0047$ ($R^2 = 0.9988$), где C – концентрация церия (III), мг/мл.

Для определения Ce(IV) использовали реакцию окисления метанилового желтого (МЖ) этим ионом в фосфорнокислой среде. Содержание Ce(IV) устанавливали по уменьшению оптической плотности раствора МЖ. Оптимальный интервал кислотности – 3-6 М H_3PO_4 . Зависимость уменьшения оптической плотности раствора метанилового желтого от содержания церия (IV) описывается уравнением прямой $\Delta A = 0.1752C - 0.0335$ ($R^2 = 0.9986$), где C – содержание церия (IV), мкг/мл.

Навеску образца растворяли в 3 мл H_3PO_4 (конц.) при нагревании и после охлаждения разбавляли 3М H_3PO_4 до 25 мл. Определения Ce(III) и Ce(IV) проводили из одного раствора. Результаты определения представлены в Таблице.

Как видно из приведенных данных, результаты определения разновалентных форм церия, полученные различными методами, удовлетворительно согласуются.

Таблица. Результаты определения разновалентных форм церия в образцах гидроксиапатата, активированных ионами церия ($m=0.100-0.200$ г; $n=5$; $P=0,95$)

Образец	Найдено по спектрам поглощения и первой производной фосфатных комплексов, % (S_r)		Найдено по редоксреакциям, % (S_r)	
	Ce(IV)	Ce(III)	Ce(IV)	Ce(III)
№1	1.17±0.13 (0.09)	0.40±0.05 (0.04)	1.14±0.15 (0.14)	0.39±0.06 (0.12)
№2	0.30±0.06 (0,16)	1.41±0.04 (0.03)	0.38±0.008 (0,16)	1.19±0.009 (0.06)
№3	Не обнаружено.	1.60±0.04 (0.02)	Не обнаружено.	1.57±0.05 (0.03)

Установлено, что при термической обработке ГАП, активированного ионами церия, происходит частичное восстановление Ce(IV) до Ce(III) при обжиге на воздухе при 800°C, а при прокаливании в восстановительной среде CO весь церий практически находится в виде Ce(III). Полученные

результаты химического анализа хорошо согласуются с люминесцентными данными: наибольшая интенсивность люминесценции Ce(III) наблюдается после дополнительного обжига образцов ГАП в восстановительной среде.

Литература

1. Bagambisa F.B., Kappert H.F., Schilli W. Interfacial reactions of osteoblasts to dental and implant materials. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1994, 52(1), 52-56.
2. Lin Y., Yang Z., Cheng J. Preparation, characterization and antibacterial property of cerium substituted hydroxyapatite nanoparticles. *J. Rare Earths.* 2007, 25 (4), 452-456.
3. Сусленикова В.М., Киселева Е.К. Руководство по приготовлению титрованных растворов. Л: Химия, 1968. С.144.
4. Klug H.P., Alexander L.E. X-ray diffraction procedures for polycrystalline and amorphous materials: New York, Wiley-Interscience: 1974.
5. Mondejar S.P., Kovtun A., Epple M. Lanthanide-doped calcium phosphate nanoparticles with high internal crystallinity and with a shell of DNA as fluorescent probes in cell experiments. *J. Mater. Chem.* 2007, 17, 4153-4159.
6. Rodriguez-Lorenzo L.M., Vallet-Regi M. Controlled Crystallization of Calcium Phosphate Apatites. *Chem. Mater.* 2000, 12, 2460-2465.
7. Berezovskaya I.V., Efyushina N.P., Stryganyuk G.B., Voloshinovskii A.S., Zubar E.V., Dotsenko V.P.. Distribution and luminescence characteristics of Ce³⁺ ions in calcium hydroxyapatite. *Functional Materials.* 2008, 15(2),164-168.
8. Стоянова И.В., Чивирева Н.А., Стоянов А.О., Зинченко В.Ф., Тимухин Е.В., Антонович В.П. Некоторые возможности вещественного анализа функциональных материалов на основе фторидов редкоземельных элементов. Методы и объекты хим. анализа. 2011, 6(3), 149-158.
9. Стоянов А.О., Стоянова И.В., Чивирева Н.А., Антонович В.П. Использование производной спектрофотометрии для обнаружения и определения церия (III) в присутствии церия (IV). Укр. химич.журнал. 2013, 79(1), 35-38.