

О.А. Калиниченко <sup>1</sup>, О. Банах <sup>2</sup>, А. Жорно <sup>2</sup>, П.А. Гай <sup>2</sup>, Л.А. Снежко <sup>1</sup>

## СИНТЕЗ И БИОРЕЗОРБЦИЯ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ТИТАНЕ

<sup>1</sup> ДВНЗ „Украинский государственный химико-технологический университет“, г. Днепропетровск, Украина

<sup>2</sup> Institut des Microtechnologies Appliquées Arc., La Chaux-de-Fonds, Switzerland

Изучены механизм образования и некоторые свойства покрытий, полученных на титане из растворов трикальцийфосфата методом анодно-искрового осаждения. Процесс проводили в гальваностатическом режиме на униполярных импульсах частотой 50 Гц при плотности тока 400 А/м<sup>2</sup> и напряжении 700 В. Склонность покрытий к биорезорбции в биологически активных средах (SBF-test) оценивали по результатам измерений их толщины, данным рентгенофазового и элементного анализа, полученным до и после испытаний. Установлено, что основными компонентами покрытий являются титан, оксид титана в форме анатаза, а также кальций-фосфатные соединения – Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, CaTi<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>, Ca(PO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Атомное соотношение кальция и фосфора в покрытии практически не зависело от концентрации электролита и при времени электролиза в диапазоне 3–15 мин колебалось в пределах 0,35–0,45. После двухнедельной выдержки покрытий в SBF растворе соотношения Ca/P в пленке снижалось в среднем на 20%, что свидетельствует о биорезорбируемости полученных покрытий. При этом как толщина пленки, так и содержание в ней титана возрастали, что может свидетельствовать о накоплении продуктов растворения титановой основы на границе металл – покрытие.

**Ключевые слова:** титан, кальций-фосфатные покрытия, анодно-искровое осаждение, биорезорбция.

### Введение

Титан и его сплавы с оксидными покрытиями относятся к биоинертным материалам, которые не вызывают образования вокруг себя костной ткани. Между тем, одним из путей придания поверхности титана биорезорбтивных свойств является метод нанесения кальций-фосфатных покрытий. Химический состав таких покрытий может определять степень биодеградации покрытия, т.е. способности растворяться в среде организма, воде, модельных жидкостях. К ним, в частности, относится трикальцийдифосфат Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (ТСП). Одним из путей повышения биорезорбируемости фосфатных материалов является также создание высокопористых структур, обеспечивающих циркуляцию биологических жидкостей. Поверхность имплантата проявляет биоактивность, если диаметр микропор поверхностного слоя имеет размер около ~20,6 мкм, что соответствует структуре кости. При идеальном стехиометрическом составе покрытие должно быть близким по составу к гидроксиапатиту кальция Ca<sub>10–x</sub>(HPO<sub>4</sub>)<sub>x</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6–x</sub>(OH)<sub>2–x</sub> и может содержать соотношения Ca/P в пределах 1,5–1,67. При соотношении Ca/P < 1,67 фосфа-

ты кальция обладают биорезорбируемостью, т.е. наибольшей эффективностью при фиксации имплантатов с костью.

Наличие на поверхности активных центров, определенный рельеф и шероховатость обеспечивают адгезию полярных молекул и активность клеток крови, ответственных за осаждение гидроксиапатита, формирование новой кости и связь имплантата с костью [1]. Покрытия такого типа могут быть получены методом анодно-искрового оксидирования из электролитов, содержащих тринатрийфосфат и гидроокись кальция [2], растворы дигидрофосфата Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O [3] и ацетата Ca(OOCCN<sub>3</sub>)<sub>2</sub> кальция в сочетании с лигандом [4]. При pH ~ 7 наиболее стабильным является гидроксиапатит. Кислые фосфаты кальция – монетит (CaHPO<sub>4</sub>) и брушит (CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) – термодинамически нестабильны при pH > 6–7 и трансформируются в более стабильные фосфаты кальция [5].

Цель настоящей работы заключалась в применении метода анодно-искрового оксидирования для получения кальций-фосфатных покрытий на титане и исследовании их деградации в биологически-активном растворе (simulated body

liquid, SBF).

**Методика эксперимента**

Образцы из сплава Ti Grade 4 (состав, мас. %: С – 0,1, Fe – 0,5, Н – 0,015, N – 0,05, О – 0,4, Ti – остальное) поверхностью  $4,71 \cdot 10^{-3}$  м<sup>2</sup> обезжиривали в ацетоне и этаноле, промывали дистиллированной водой и полировали в смеси 48% HF и 70% HNO<sub>3</sub> (1:3, об./об.) 60 с при комнатной температуре [6]. Установка для получения покрытий представляла собой источник питания (однополупериодное выпрямление, частота 50 Гц), ячейку с водяным охлаждением и перемешиванием электролита. В процессе электролиза поддерживали гальваностатический режим (эффективная плотность тока – 400 А/м<sup>2</sup>). Продолжительность оксидирования составляла 3, 6, 9, 12 и 15 мин. После окончания процесса образцы промывали и сушили на воздухе. Синтез покрытий вели в растворе Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (атомное соотношение Ca/P=1,936), концентрацию которого варьировали в пределах 6–32 ммоль/л. Для полного растворения соли в раствор вводили 0,5 М раствор трилона Б (Na<sub>2</sub>EDTA). Для образования растворимого комплекса кальция [CaY]<sup>2-</sup> (Y=[(OOC)NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(COO)<sub>2</sub>]<sup>4-</sup>) щелочную среду (pH=13) создавали добавлением в электролит 2 М раствора KOH.

Определение открытой пористости выполняли с помощью оптического микроскопа Supereyes В 008 с USB разъемом при увеличении 500х. Полученное изображение преобразовывали в черно-белое с помощью программы PhotoScape, после чего его обрабатывали программой Adobe Photoshop CS5. Измеряли площадь открытых пор и вычисляли отношение площади поверхности рисунка к площади поверхности пор с применением программы ImageJ.

Рентгенофазовый анализ покрытий выполняли на монокристалльном рентгеновском дифрактометре ДРОН-2 (Cu–K<sub>α</sub> излучение).

Испытания в биологически-активной среде (К-SBF) проводили в течение 14 суток при 37<sup>0</sup>С по методике [7]. Среда была приготовлена в две стадии:

(I) – растворением 6,057 г ТРИС (трис-гидроксил-метиламинометан) [(СН<sub>2</sub>ОН)<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>)] в 600 мл дистиллированной воды, доведенной до рН 7,4 при 37<sup>0</sup>С капельным добавлением 5 М HCl и доведением общего объема раствора дистиллированной водой до 1 литра. (II) – растворение в приготовленном растворе 7,995 г NaCl, 0,353 г NaHCO<sub>3</sub>, 0,224 г KCl, 0,174 г K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,71 г Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,305 г MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O и 0,368 г CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O. До и после испытаний в SBF проводили измерение толщины покрытий на шлифах. Концентрацию химических элементов в покрытии определяли методом энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного анализа (XRF), выполненного с помощью FISCHERSCOPE® X-RAY XDV®-SDD (требования DIN EN ISO 3497 и ASTM В 568).

**Результаты и обсуждение**

Образцы внешнего вида покрытий и примеры исследования толщины на шлифах показаны на рис. 1.

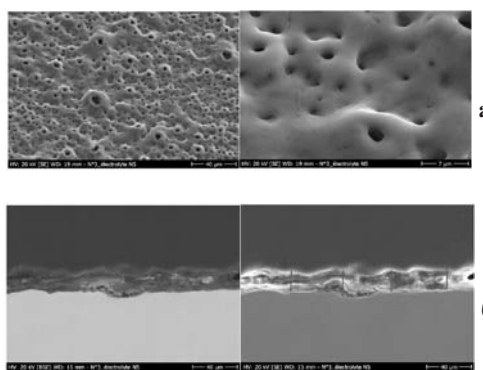


Рис. 1. Поверхность (а) и толщина (б) покрытий, полученных в растворе 2 г/л Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> в течение 3-х мин

Влияние времени электролиза на толщину покрытий приведено на рис. 2.

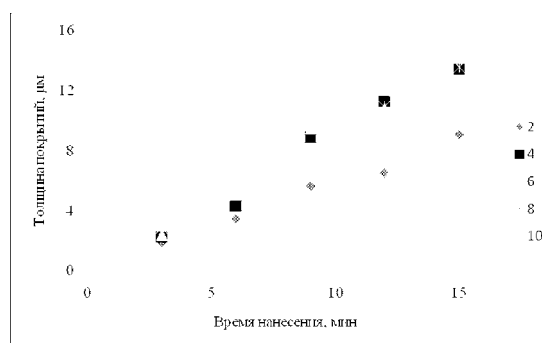


Рис. 2. Толщины покрытий, полученных при различном времени электролиза в растворах с концентрациями Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, г/л: 2, 4, 6, 8, 10

Практически линейная зависимость, показанная на рис. 2, свидетельствует об определяющем влиянии времени электролиза на толщину покрытий и очевидном отсутствии влияния на нее концентрации трикальцийфосфата. Так, увеличение времени электролиза от 3-х до 15-ти мин позволяет увеличить толщину пленки при одной и той же концентрации трикальцийфосфата в 2–5 раз. Максимальное значение толщины пленки составляет ~16 мкм.

На рис. 3 показано распределение пор по размерам в покрытиях различной толщины.

С увеличением толщины пленки вплоть до ее максимальной величины (15,5 мкм) поверхностная пористость уменьшается до 3,1%, однако размер пор возрастает до максимума – 25 мкм.

Максимальное количество малых пор с размерами менее  $5 \mu\text{m}^2$  наблюдалось на тончайших слоях толщиной  $2,5 \mu\text{m}$ .

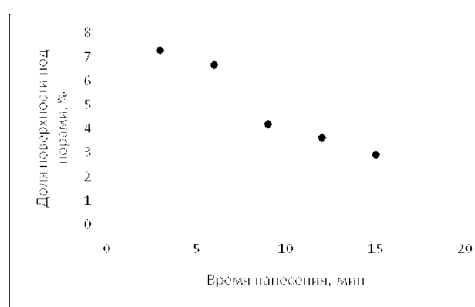


Рис. 3. Зависимость доли поверхности пор от времени получения покрытия

Количественный элементный состав покрытий, полученный при помощи XRF, приведен на рис. 4 в зависимости от толщины покрытий.

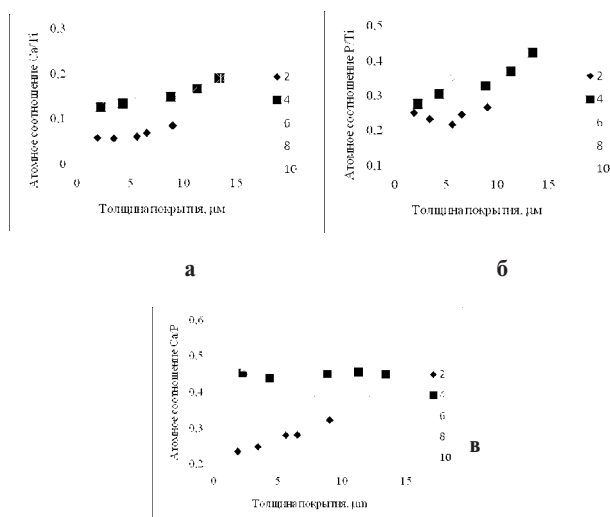


Рис. 4. Зависимость соотношений Ca/Ti (а), P/Ti (б) и Ca/P (в) от толщины покрытий, полученных в растворах  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  концентрацией, г/л: 2, 4, 6, 8, 10

Очевидно, что при всех концентрациях электролита как соотношение Ca/Ti (рис. 4,а), так и соотношение P/Ti (рис. 4,б) возрастают с толщиной покрытия, при этом фосфор внедряется в пленку более интенсивно, чем кальций. Атомное соотношение Ca/P (рис. 4,в) мало зависит от толщины покрытий и колеблется в пределах  $0,35-0,45$ .

Результаты рентгенофазового анализа покрытий представлены на рис. 5.

Гало на рентгенограммах свидетельствует о наличии в покрытии рентгеноаморфной фазы. Видно, что основными соединениями являются металлический титан, оксид титана (анатаз), фосфит кальция  $\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ , трикальцийфосфат  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (ТСР) и титанофосфат кальция

$\text{CaTi}_4(\text{PO}_4)_6$ . При этом интенсивность пика подложки (титан) с ростом толщины пленки снижается.

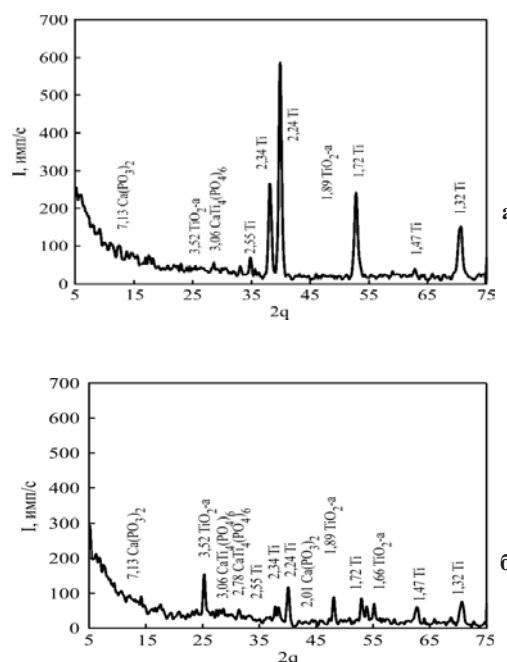
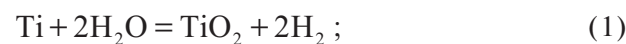


Рис. 5. Фазовый состав кальций-фосфатных покрытий: а – соотношение Ca/P –  $0,25$ , время нанесения –  $3 \text{ мин}$ , концентрация  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  –  $2 \text{ г/л}$ ; толщина покрытия –  $2,5 \mu\text{m}$ ; б – соотношение Ca/P –  $0,45$ , время нанесения –  $15 \text{ мин}$ , концентрация  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  –  $10 \text{ г/л}$ ; толщина покрытия –  $15,5 \mu\text{m}$

Рассмотрим механизм процессов, имеющих место при анодно-искровом осаждении покрытий.

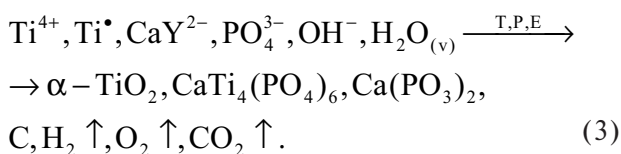
Катионы титана попадают в покрытие в результате ионного переноса под действием поля и подвергаются окислению. Формирование первичного оксида продолжается в течение доли секунды, после чего возникает анодное искрение. Высокие локальные температуры ( $10^3-10^4 \text{ К}$ ) и давления ( $10^2-10^3 \text{ МПа}$ ) в каналах искрения приводят к плавлению и охлаждению веществ в режиме закалки, длящемся миллисекунды. Подобный режим тормозит кристаллизацию и формирование термодинамически стабильных соединений. Под действием разрядов частицы титана вырываются из подложки, диспергируются в объеме покрытия, не успев окислиться при недостатке кислорода. При этом возможны термохимические реакции неокисленного титана с водяным паром и кислородом, приводящие к выделению водорода:



Таким образом, оксид титана, возникающий на поверхности в процессе искрения, является продуктом двух реакций окисления — кислородом и водяным паром, при этом первая протекает мгновенно, а вторая требует некоторого инкубационного периода [8,9].

Выше указывалось, что единственной кристаллической фазой оксида титана, найденной в покрытиях, является  $TiO_2$  (анатаз). При достаточно длительном процессе искрения кристаллизация заканчивается на стадии частичного образования рутила. Высокотемпературная устойчивая форма оксида титана (рутил) может формироваться из других оксидных форм (анатаза и брукита) в интервале температур 400–1000°C. Рутил является более желательной формой оксида, чем анатаз, так как растворение титана из рутила в биологических средах происходит на порядок медленнее, чем из анатаза. Примеси в решетке анатаза способствуют его трансформации в рутил. Если эти примеси находятся в более низкой степени окисления, чем титан ( $Ti^{4+}$ ), количество кислородных вакансий возрастает, и переход анатаза в рутил облегчается. Если же примеси находятся в более высоком окисленном состоянии, например,  $P^{5+}$ , переход анатаза в рутил тормозится. В этом случае даже длительная высокотемпературная обработка образца не будет способствовать стабилизации его структуры и переходу анатаза в рутил.

Ионизированный титан ( $Ti^{4+}$ ,  $Ti^{3+}$ ) или его оксид образуют в наружном слое покрытия соединения с анионами фосфатов и кальцием, поступающим в зону реакции в виде комплекса  $[CaY]^{2-}$ . Процессы, происходящие в разрядах, можно отобразить элементарной брутто-схемой:



Перовскит  $CaTiO_3$  обладает высокой биорезорбируемостью. Титанофосфат кальция  $CaTi_4(PO_4)_6$ , о формировании которого в режиме искрения сообщали также авторы работы [10], увеличивает адгезию между титаном и гидроксиапатитом и уменьшает растворение гидроксиапатита в кислых средах. Метафосфат кальция является результатом обезвоживания однозамещенных ортофосфатов при 275–300°C. Дегидратация дигидрофосфата кальция  $Ca(H_2PO_4)_2$  при температурах выше 300°C позволяет получать  $\gamma$ - $Ca(PO_3)_2$ , а выше 450°C —  $\beta$ - $Ca(PO_3)_2$ .

Результаты испытаний покрытий в К-SBF приведены на рис. 6.

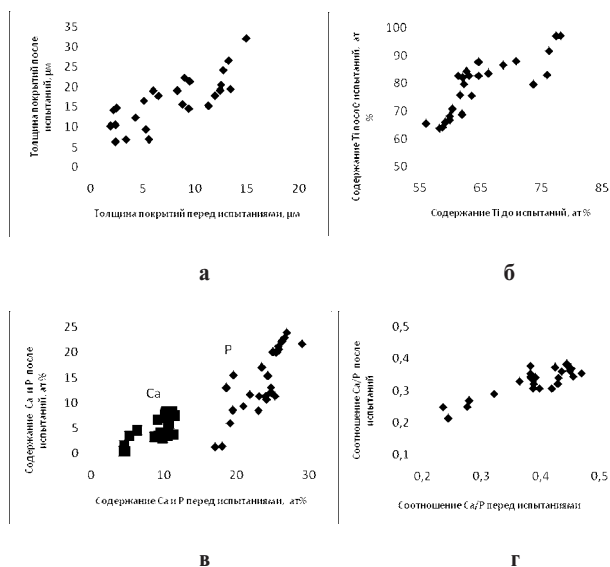


Рис. 6. Изменение толщины покрытий (а), содержания титана (б), кальция и фосфора Р (в), а также соотношения Ca/P (г) в покрытии после SBF теста

Видно, что толщина покрытий (рис. 6,а) и содержание титана в них (рис. 6,б) несколько возрастают, при этом концентрации Ca и P снижаются (рис. 6,в и 6,г). Расчеты показывают, что средние относительные потери кальция и фосфора, рассчитанные как  $s(\%) = \frac{C_b - C_a}{C_b} \cdot 100$ , составляют для Ca~50%, для P~40% и соотношения Ca/P~15%. Здесь  $C_b$  и  $C_a$  — начальное (до испытаний в SBF) и конечное (после испытаний в SBF) содержание компонентов покрытия.

Известно [11], что растворение кальция ускоряет формирование гидроксиапатита в костях человека, что позволяет судить о биоактивных свойствах полученных покрытий. Рост содержания титана, так же, как и увеличение толщины пленки следует, возможно, объяснять накоплением продуктов растворения металлической основы, однако с большей надежностью этот вывод может быть подтвержден данными рентгеноструктурного анализа поверхности после SBF испытаний.

### Выводы

Исследование процесса формирования кальций-фосфатного покрытия на титане из водных растворов анодно-искровым способом показало, что основным компонентом покрытий является титан, оксид титана (анатаза), а также кальций-фосфатные соединения в форме  $Ca_3(PO_4)_2$ ,  $CaTi_4(PO_4)_6$ ,  $Ca(PO_3)_2$ .

Атомное соотношение кальция и фосфора в покрытии практически не зависит от концентрации электролита и при времени электролиза 3–15 мин колеблется в диапазоне 0,35–0,45.

14-дневная выдержка покрытий в SBF ра-



створе приводит к снижению соотношения Ca/P в среднем на 20%, что может свидетельствовать об их биорезорбтивных свойствах.

Работа финансировалась грантом SCOPES № IZ73Z0\_152399 «Theory and application of plasma electrolytic treatment of new generation titanium alloys for biomedical applications».

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Manley M.T. Calcium phosphate biomaterials: a review of the literature. In: Geesink RGT, Manley MT, editors. Hydroxyapatite coatings in orthopaedic surgery. – New York: Raven Press. – 1993. – P.1-19.

2. Gao Y., Yerokhin A., Matthews A. Effect of current mode on PEO treatment of magnesium in Ca and P-containing electrolyte and resulting coatings // *Applied Surface Science*. – 2014. – Vol.316. – P.558-567.

3. Pongkao Kashima D., Rakngarm A. Calcium phosphate film coating on titanium substrate by electrochemical deposition // *Journal of Metals, Materials and Minerals*. – 2008. – Vol.18. – P.27-31.

4. Anodic plasma-chemical treatment of CP titanium surfaces for biomedical applications / Frauchiger V.M., Schlottig F., Gasser B., Textor M. // *Biomaterials*. – 2004. – Vol. 25. – P.593-606.

5. Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings on titanium / Prado Da Silva M.H., Lima J.H.C., Soares G.A., Elias C.N., Andrade M.C., Best S.M., Gibson I.R. // *Surface and Coatings Technology*. – 2001. – Vol.137. – P.270-276.

6. Real-time imaging of coating growth during plasma electrolytic oxidation of titanium / Matykina E., Berkani A., Skeldon P., Thompson G.E. // *Electrochimica Acta*. – 2007. – Vol.53. – P.1987-1994.

7. A novel biomimetic treatment for an improved osteointegration of titanium / Sandrini E., Chiesa R., Rondelli G., Santin M., Cigada A. // *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*. – 2003. – P.33-42

8. Water vapor-plasma-enhanced oxidation of thin titanium films / Pranevicius L., Tuckute S.; Pranevicius L.L., Gedvilas K. // *Proceedings of the IX International Conference ION 2012, Kazimierz Dolny, Poland, June 25-28, 2012, Acta Physica Polonica A*. – 2013. – Vol.123. – P.907-910.

9. Chen Y., Wan X., Xu W. Surface reaction of TiAl with water vapour and oxygen // *J. Mater. Sci. Technol.* – 2003. – Vol.19. – P.334-336.

10. Zhao Z., Wen S. Direct preparation of CaTi<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub> coatings on the surface of titanium substrate by micro arc oxidation // *J. Mater Sci: Mater Med.* – 2007. – Vol.18. – P.2275-2281.

11. Evaluation of degradability of CaTiO<sub>3</sub> thin films in simulated body fluids / Ohtsu N., Sato K., Saito K., Hanawa T., Asami K. // *Materials Transactions*. – 2004. – Vol.45. – P.1778-1781.

## SYNTHESIS AND BIORESORPTION OF CALCIUM PHOSPHATE COATINGS ON TITANIUM

O.A. Kalinichenko <sup>a</sup>, O. Banakh <sup>b</sup>, T. Journot <sup>b</sup>, P.A. Gay <sup>b</sup>, L.A. Snizhko <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ukrainian State University of Chemical Technology, Dnepropetrovsk, Ukraine

<sup>b</sup> Institut des Microtechnologies Appliquées Arc., La Chaux-de-Fonds, Switzerland

The formation mechanism and some properties of coatings obtained from tricalcium phosphate solutions on titanium by anodic spark deposition were studied. The process was carried out in galvanostatic mode on unipolar pulses with frequency of 50 Hz at the current density of 400 A·m<sup>-2</sup> and voltage of 700 V. The propensity of coatings to dissolution in biologically active environments (SBF-test) was assessed by measurement of thickness, X-ray and elemental analysis data obtained before and after testing. It has been established that the basic components of coatings are titanium, titanium dioxide in anatase form, as well as calcium phosphate compounds, such as Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, CaTi<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>, and Ca(PO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Ca/P atomic ratio of 0.35 to 0.45 weekly depended on the concentration of electrolyte and time of electrolysis in the range of 3 to 15 min. After a two weeks' endurance in SBF, Ca/P ratio declined on average by 20%, which testifies to the bioresorptive properties of obtained coatings. At the same time, the thickness of the film and content of titanium have increased, which may indicate the accumulation of titanium dissolution products in sublayer of the coatings.

**Keywords:** titanium; calcium-phosphate coating; anodic-spark deposition; bioresorption.

## REFERENCES

1. Manley M.T., *Calcium phosphate biomaterials: a review of the literature*. In: Geesink R.G.T., Manley M.T. (Eds.), Hydroxyapatite coatings in orthopaedic surgery. Raven Press, New York, 1993, pp. 1-19.

2. Gao Y., Yerokhin A., Matthews A. Effect of current mode on PEO treatment of magnesium in Ca and P-containing electrolyte and resulting coatings. *Applied Surface Science*, 2014, vol. 316, pp. 558-567.

3. Pongkao Kashima D., Rakngarm A. Calcium phosphate film coating on titanium substrate by electrochemical deposition. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 2008, vol. 18, no. 1, pp. 27-31.

4. Frauchiger V.M., Schlottig F., Gasser B., Textor M. Anodic plasma-chemical treatment of CP titanium surfaces for biomedical applications. *Biomaterials*, 2004, vol. 25, pp. 593-606.

5. Prado Da Silva M.H., Lima J.H.C., Soares G.A., Elias C.N., Andrade M.C., Best S.M., Gibson I.R. Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings on titanium. *Surface and Coatings Technology*, 2001, vol. 137, pp. 270-276.

6. Matykina E., Berkani A., Skeldon P., Thompson G.E. Real-time imaging of coating growth during plasma electrolytic oxidation of titanium. *Electrochimica Acta*, 2007, vol. 53, pp. 1987-1994.

7. Sandrini E., Chiesa R., Rondelli G., Santin M., Cigada A. A novel biomimetic treatment for an improved osteointegration of titanium. *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*, 2003, no. 1, pp. 33-42.

8. Pranevicius L., Tuckute S.; Pranevicius L.L., Gedvilas K. Water vapor-plasma-enhanced oxidation of thin titanium films. *Acta Physica Polonica A*, 2013, vol. 123, no. 5, pp. 907-910.

9. Chen Y., Wan X., Xu W. Surface reaction of TiAl with water vapour and oxygen. *Journal of Materials Science and Technology*, 2003, vol. 19, no. 4, pp. 334-336.

10. Zhao Z., Wen S. Direct preparation of CaTi<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub> coatings on the surface of titanium substrate by micro arc oxidation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2007, vol. 18, no. 12, pp. 2275-2281.

11. Ohtsu N., Sato K., Saito K., Hanawa T., Asami K. Evaluation of degradability of CaTiO<sub>3</sub> thin films in simulated body fluids. *Materials Transactions*, 2004, vol. 45, no. 5, pp. 1778-1781.

Поступила в редакцию 16.11.2015