

УДК 541.18.05/052

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ДИСПЕРСНОЙ СИСТЕМЫ ГИДРОКСИАПАТИТ КАЛЬЦИЯ – ВОДНЫЙ РАСТВОР ТВИН 80

А.В. Руднев¹, Н.И. Иванова², Н.Г. Ванифатова¹, Т.Г. Джераян¹

(¹Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского; ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; e-mail: ini@colloid.chem.msu.ru)

Изучено влияние времени воздействия ультразвуковой обработки и концентрации водного раствора Твин 80 на устойчивость суспензий гидроксиапатита кальция. С использованием метода капиллярного зонного электрофореза, динамического светорассеяния и сканирующей электронной микроскопии найдены условия, при которых система становится стабильной. Показана возможность оценки устойчивости системы на основании изучения электрофоретического поведения частиц.

Ключевые слова: гидроксиапатит кальция, Твин 80, ультразвук, капиллярный зонный электрофорез, сканирующая электронная микроскопия, динамическое светорассеяние.

Примерно четверть века назад было обнаружено, что керамика на основе кальций-фосфорных соединений практически идентична по структуре и химическому составу природной костной ткани. Известно, что костная ткань представляет собой композит, состоящий из фосфатов кальция, придающих костям механическую прочность, и коллагена, обеспечивающего их эластичность.

Керамика на основе кальций-фосфорных соединений обладает способностью активно связываться со здоровой костной тканью без каких-либо нежелательных последствий [1–5]. Однако в отличие от природной костной ткани керамика, состоящая на 100% из фосфатов кальция, хрупка и сравнительно легко разрушается под нагрузкой. Поэтому заменитель кости (имплантат) готовят из более прочных материалов (титана или его сплавов, нержавеющей стали и др.), а для обеспечения интеграции импланта с костной тканью на его поверхность наносят покрытие из биоактивного материала. В качестве биоактивного материала используют кальций-фосфорные соединения, в частности гидроксиапатит кальция (ГАП) – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [4]. В таком комбинированном импланте все механические нагрузки ложатся на прочную металлическую сердцевину, а поверхностный слой фосфатов кальция способствует его приживаемости.

Существуют разные способы нанесения кальций-фосфорных покрытий на металлическую основу, одним из которых является электрофоретическое осаждение [4, 6, 7]. Для его осуществления важно получение устойчивой дисперсии ГАП [7, 8].

Известно, что многие органические соединения могут влиять на размер и устойчивость получаемых частиц ГАП непосредственно в ходе синтеза [8, 9–12]. В то же время часто возникает необходимость получения седиментационно устойчивых систем путем дезагрегирования крупных агрегатов [13].

Наночастицы ГАП в воде агрегативно неустойчивы вследствие большого избытка свободной поверхностной энергии на границе раздела фаз и быстро выпадают в осадок, образуя рыхлые агрегаты [4]. Один из эффективных способов повышения устойчивости таких систем – адсорбция как ионогенных, так и неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ) на твердой поверхности. Широкое распространение в качестве стабилизаторов суспензий и эмульсий получили продукты взаимодействия сорбитанов с этиленоксидами – твины (сорбитали) [14].

Цель данной работы – изучение совместного влияния ультразвуковой обработки (УЗ) и Твин 80 (Тв) на стабильность систем, содержащих частицы ГАП.

Объекты и методы исследования

В работе использовали $5,5 \times 10^{-2}$ М водную суспензию ГАП, синтезированную по реакции гидроксида кальция с фосфорной кислотой [14]. Исходную суспензию разбавляли $4,0 \times 10^{-3}$ М буферным раствором Na_2HPO_4 («х.ч.») так, чтобы концентрация ГАП составляла $1,1 \times 10^{-3}$ М. Буферный раствор, готовили растворением соответствующего количества соли в трижды дистиллированной воде.

В качестве стабилизатора мы выбрали мицеллообразующее неионогенное поверхностно-активное вещество Тв, моноолеат сорбитана с 20 оксиэтильными группами (ОЕ) и молекулярной массой 1308 Да («Fetac», Германия), который использовали без дополнительной очистки. Тв относится к классу малотоксичных и биоразлагаемых неионогенных ПАВ и широко применяется в фармацевтической и пищевой промышленности [14, 15].

Соответствующее количество Тв растворяли в буферном растворе (рН 8,4), а затем добавляли суспензию ГАП в воде. Концентрация растворов Тв изменялась от 1×10^{-5} до 4×10^{-3} М. По литературным данным критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) лежит в интервале $(1-5) \times 10^{-5}$ М [16–19].

Полученные системы подвергали воздействию ультразвука на диспергаторе УЗД 2-0,1/22 (ФГУП «ВНИИТВЧ», Санкт-Петербург, Россия). Удельная мощность УЗ-воздействия, определенная калориметрически, составила $0,8 \text{ Вт/см}^3$.

Непосредственно после воздействия ультразвука раствор анализировали методом капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ) с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель-105М» («Люмэкс», Санкт-Петербург, Россия), снабженного спектрофотометрическим детектором с переменной длиной волны (190–380 нм). В работе использовали кварцевый капилляр (внутренний диаметром 75 мкм, общая длина 39,0 см и эффективная длина 31,0 см). Эксперименты проводили при 25°C и длине волны 220 нм с источником высокого напряжения положительной полярности. Маркером электроосмотического потока (ЭОП) служил бензиловый спирт. Для восстановления активной поверхности капилляра между измерениями его промывали последовательно в течение 2 мин водой, $0,1 \text{ М}$ раствором NaOH и буферным $4,0 \times 10^{-3} \text{ М}$ раствором Na_2HPO_4 (рН 8,4), контролируя при этом по электрофореграмме (ЭФГ) степень очистки капилляра.

Метод КЗЭ основан на движении анализируемых частиц в капилляре в среде буферного раствора под действием внешнего электрического поля. Основные достоинства КЗЭ – высокая эффективность, экспрессность и отсутствие стационарной или псевдостационарной фаз, что позволяет исключить нежелательные взаимодействия. Этот метод успешно используется для разделения органических, неорганических, биологических субмикро- и наночастиц [13, 20, 21].

Основными количественными характеристиками частиц ГАП при анализе методом КЗЭ служат

электрофоретическая подвижность частиц, определяемая по времени их детектирования на ЭФГ и площадь пика.

Результаты экспериментов обрабатывали с помощью программы «Эльфран». По величинам площади пиков (S) рассчитывали их нормированные значения

$$S_{\text{норм.}} = S/t,$$

где t – время выхода пика. Электрофоретическую подвижность частиц определяли по разности между наблюдаемой и электроосмотической подвижностью. Из полученных ЭФГ вычисляли значения абсолютной средневзвешенной подвижности ($\mu_{\text{св}}$) частиц ГАП

$$\mu_{\text{св.}} = \mu_1 x_1 + \mu_2 x_2 + \mu_3 x_3 + \dots + \mu_n x_n,$$

где μ_n – подвижность, соответствующая положению отдельного пика, а x_n – доля площади этого пика.

Средний размер частиц ГАП в дисперсионной среде определяли методом динамического светорассеяния (ДС) на приборе «PhotoCor-SP» (Россия). В качестве источника света использовали лазер с длиной волны 632 нм. Распределение частиц по размерам, а также дзета-потенциал частиц ГАП получены на приборе «Zetatracs» («Microtrac Inc.», США).

Форму и размер частиц ГАП исследовали на сканирующем электронном микроскопе «JEOL JSM-6700F» («JEOL», Япония) с холодной полевой эмиссией катода. Систему, содержащую частицы ГАП, предварительно наносили на очищенную полированную кремниевую подложку, что позволило добиться лучшего контраста при наблюдении за индивидуальными частицами ГАП.

Результаты и их обсуждение

Дисперсия ГАП в буферном растворе седиментационно неустойчива: в течение нескольких минут после ее приготовления выпадает осадок, состоящий из рыхлых агрегатов (рис. 1, а). При этом в дисперсионной среде над осадком остаются частицы, участвующие в броуновском движении (рис. 1, б). Их размер, как следует из данных, представленных на рис. 2 (гистограмма 1), лежит в интервале 650–900 нм. ЭФГ этой системы, приведенная на рис. 3, позволяет определить средневзвешенную электрофоретическую подвижность частиц ГАП, которые регистрируются в виде острых пиков ($-(24,6 \pm 0,8) \times 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ В}^{-1} \text{ с}^{-1}$), а также нормированную площадь пиков.

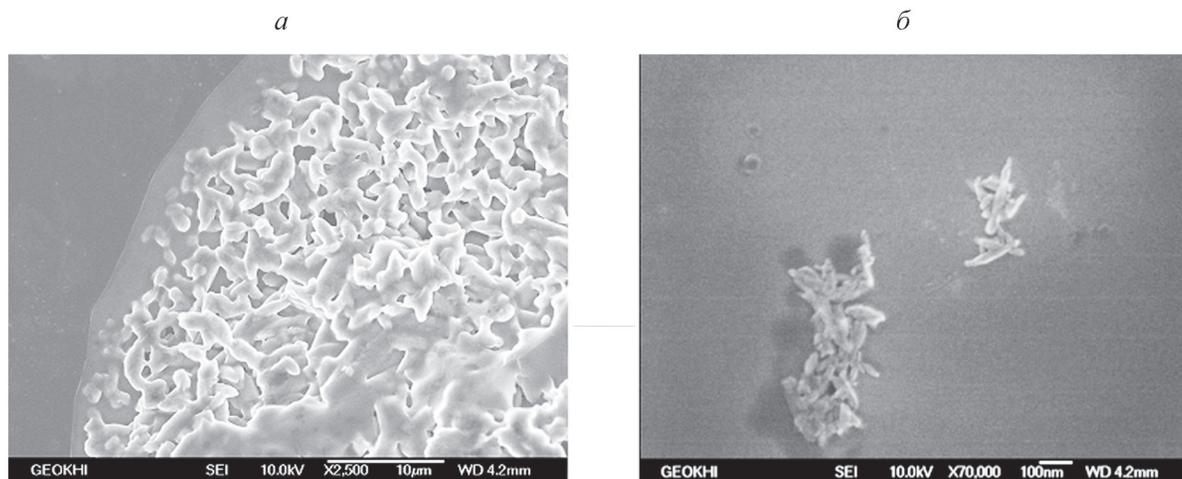


Рис. 1. Микрофотография осадка исходной суспензии (а), микрофотография частиц дисперсной фазы в дисперсионной среде в исходной суспензии (б)

После воздействия ультразвука (время воздействия 10 мин) распределение частиц по размерам становится более широким и смещается в область частиц меньших размеров (рис. 2, гистограмма 2). При этом форма и положение пиков на ЭФГ практически не изменяются, т.е. воздействие ультразвука не влияет на средневзвешенную подвижность частиц. В то же время нормированная площадь пиков увеличивается на 70%, что может быть связано с повышением концентрации частиц в дисперсионной

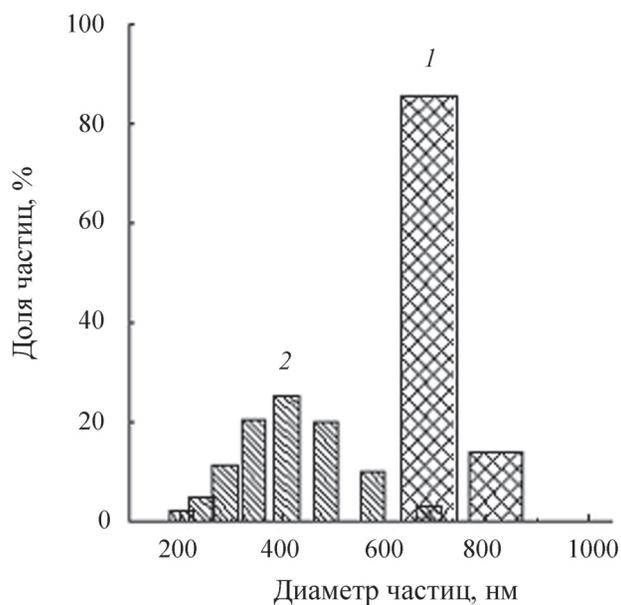


Рис. 2. Распределение частиц по размерам в буферном растворе над осадком: 1 – до воздействия ультразвука, 2 – после воздействия (10 мин) ультразвука

среде за счет разрушения агрегатов. После воздействия ультразвука седиментационная устойчивость системы сохраняется в течение 10 ч.

Исследование суспензий ГАП в присутствии Тв

В результате предварительных экспериментов показано, что устойчивость суспензии, содержащей частицы ГАП, зависит от концентрации ПАВ в растворе, резко возрастающая при концентрации Тв, превышающей $3,0 \times 10^{-3}$ М. На основе этих экспериментов была выбрана концентрация раствора Тв, равная $4,0 \times 10^{-3}$ М, что на два порядка превышает концентрацию ККМ.

На рис. 4 (гистограмма 1) представлено распределение частиц по размерам в растворе Тв после простого перемешивания. Сопоставление этой гистограммы с гистограммой 1 на рис. 2 показывает, что присутствие молекул Тв хотя и способствует диспергированию агрегатов ГАП, но система остается неустойчивой, и в течение суток происходит практически полное оседание частиц. Присутствие в системе Тв не влияет на форму и положение пиков ГАП на ЭФГ. Средневзвешенная электрофоретическая подвижность также практически не изменяется и составляет величину $-(23 \pm 1) \times 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ В}^{-1} \text{ с}^{-1}$. Площадь пиков возрастает на 30%.

Исследование суспензий ГАП в присутствии Тв с УЗ обработкой

На рис. 5 представлена зависимость среднего размера частиц ГАП от времени воздействия ультразвука. Полученные результаты показывают, что воздействие ультразвука в течение 1 мин приводит к резко-

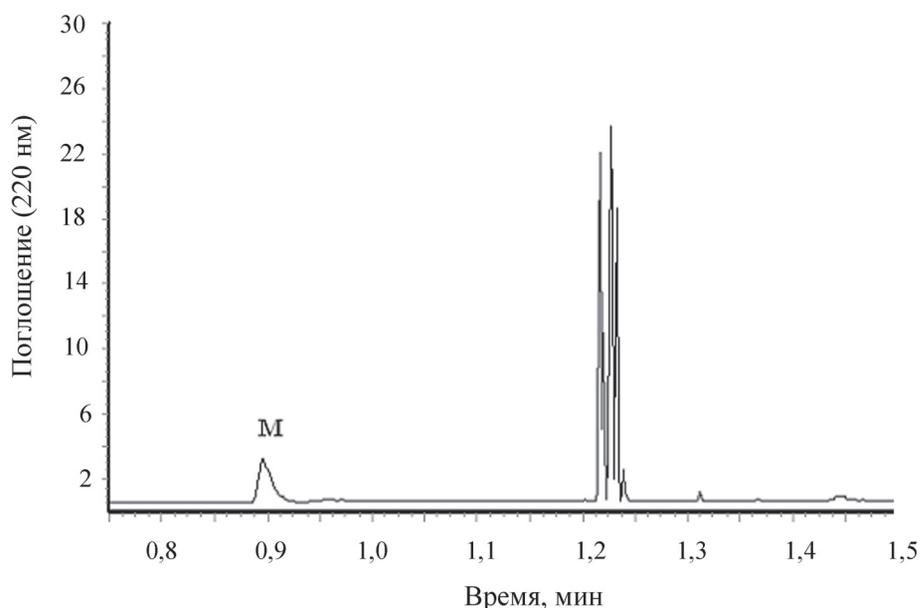


Рис. 3. ЭФГ суспензии ГАП в буферном растворе (М – маркер ЭОП)

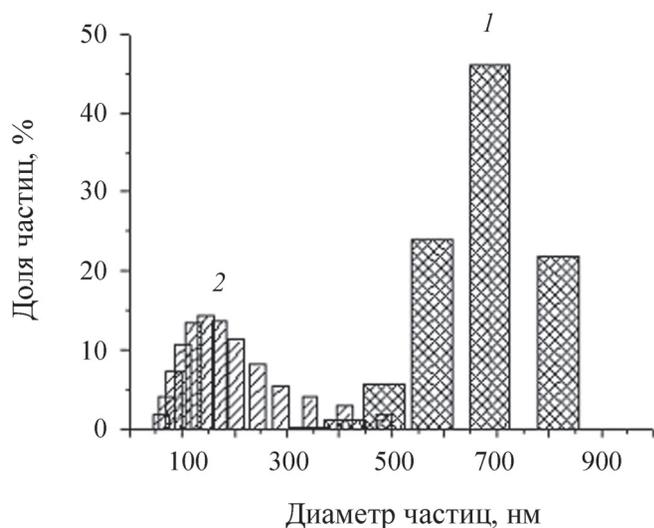


Рис. 4. Распределение частиц по размерам в растворе Тв: 1 – после простого перемешивания исходной системы, 2 – после воздействия (10 мин) ультразвука

му уменьшению среднего размера частиц вследствие разрушения агрегатов ГАП. При дальнейшем увеличении времени воздействия средний размер частиц меняется не столь резко, оставаясь после 8 мин практически неизменным.

Распределение частиц по размерам в системе ГАП–Тв после воздействия ультразвука в течение 10 мин, представлено на рис. 4 (гистограмма 2). Из полученных результатов следует, что размер основной доли частиц составляет 100–250 нм. На ЭФГ этой системы (рис. 6), в отличие от ЭФГ исходной суспен-

зии ГАП (рис. 3), наряду с двумя пиками Тв регистрируется широкий пик ГАП, что также свидетельствует об уменьшении размеров частиц в системе. Площадь широкого пика в 2,3 раза превышает площадь узких пиков на ЭФГ исходной суспензии в результате перехода ГАП из осадка в дисперсионную среду.

Абсолютная величина электрофоретической подвижности частиц возрастает и составляет $-(34) \times 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ В}^{-1} \text{ с}^{-1}$. Таким образом, УЗ-обработка суспензии ГАП, содержащей Тв, приводит не только к уменьшению размеров частиц ГАП, но и к повышению агрегативной устойчивости системы. Так, было показано, что средний размер частиц,

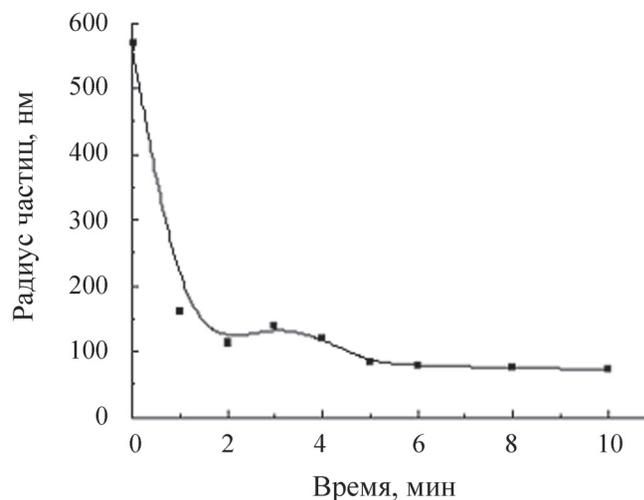


Рис. 5. Зависимость радиуса частиц ГАП в растворе Тв от времени воздействия ультразвука

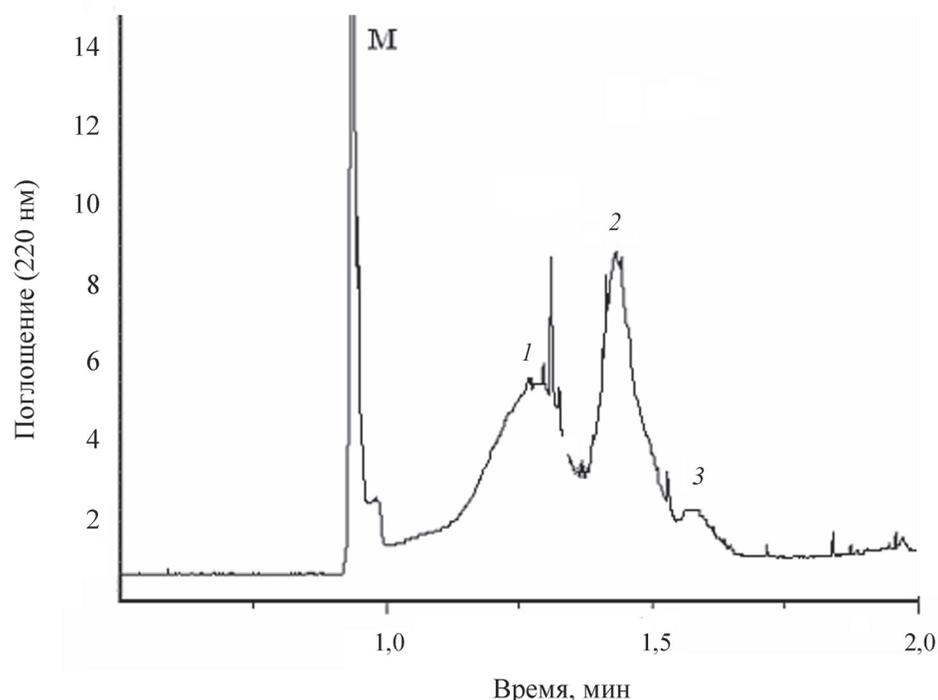


Рис. 6. ЭФЛ` суспензии ГАП в растворе Тв после воздействия (10 мин) ультразвука (М – маркер ЭОП; 1, 3 – Тв, 2 – ГАП)

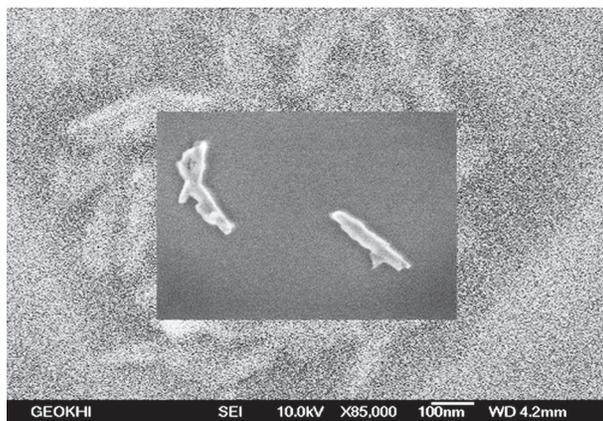


Рис. 7. Микрофотография частиц ГАП в растворе Тв после ультразвуковой обработки в течение 10 мин

распределение их по размерам и ЭФГ практически не изменяются в течение 315 ч.

Диспергирование крупных агрегатов ГАП в растворах Тв под влиянием ультразвука возможно вплоть до образования индивидуальных частиц, что подтверждается данными электронной микроскопии (рис. 7) и хорошо согласуется с другими методами определения размеров частиц.

Роль ПАВ заключается в адсорбции молекул Тв на вновь образовавшейся поверхности диспергированных частиц. Образующийся адсорбционный слой обеспечивает агрегативную устойчивость частиц

ГАП и стабильность образовавшейся системы. Из литературных данных [22, 23] известно, что гидратированные ионы кальция, находящиеся на поверхности частиц ГАП, могут взаимодействовать с ОЕ-группами неионогенного ПАВ с образованием водородной связи по схеме: $-\text{CaOH} \cdots \text{O}(\text{CH}_2 \text{CH}_2)_2=$. Следует отметить, что мономолекулярная адсорбция неионогенных ПАВ на полярной твердой поверхности реализуется только в узкой области концентраций, меньших ККМ. При концентрациях, равных и выше ККМ, на твердой поверхности адсорбируются мицеллы ПАВ [22, 24, 25], в которых молекулы располагаются так, что их полярные группы ориентированы в раствор ПАВ. Таким образом, поверхность твердых частиц становится более гидрофильной. При этом избыток свободной поверхностной энергии на границе раздела частиц дисперсной фазы с дисперсионной средой уменьшается, что приводит к повышению стабильности дисперсной системы. Образовавшийся адсорбционный слой уменьшает также межмолекулярное ван-дер-ваальсово взаимодействие между частицами ГАП.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что под влиянием ультразвука возможен переход суспензии гидроксиапатита кальция в водном растворе Твин 80 в нанодисперсную систему. Полученная система остается стабильной в течение длительного времени (нескольких месяцев).

Авторы признательны старшему научному сотруднику кафедры радиохимии химического факультета МГУ В.Н. Рудину за предоставленный образец суспензии ГАП.

тета МГУ В.Н. Рудину за предоставленный образец суспензии ГАП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hench L.* // J.Amer.Ceram. 1998. **81**. N 7. P. 1705.
2. *Chow L.C., Sun L., Hochev B.* // J. Res. Natl. Inst. Technol. 2004. **109**. N 6. P. 543.
3. *Pramonik S., Agarwal A.K., Rai K.N.* // Trends. Biomater. Artif. Organs. 2005. **19**. N 1. P. 46.
4. *Баринов С.М., Комлев В.С.* Биокерамика на основе фосфатов кальция. М., 2005. С. 187.
5. *Вересов А.Г., Путьяев В.И., Третьяков Ю.Д.* // Рос. хим. ж. 2004. **48**. № 4. С. 52.
6. *Stoch A., Brozek A., Kmita G., Stoch J., Jastrebski W.* // J. Molecular Structure. 2001. **596**. N 1–3. P. 191.
7. *Martina V., De Ricardis M.F., Carbone D.* // Advanc. in Sci. and Technol. 2010. **66**. P. 29.
8. *Javidi M., Bahrololoom M.E., Javadpour S., Ma J.* // Advanc. in Appl. Ceramics. 2009. **108**. N 4. P. 241.
9. *Han Y., Li S., Wang X., Bauer I., Yin M.* // Ultrasonics Sonochemistry. 2007. **14**. N 3. P. 286.
10. *Jianfeng H., Juanyang L., Liyun C., Liping Z.* // J. Appl. Polymer Sci. 2010. **116**. N 3. P. 1782.
11. *Wang Y., Pang X., Zhitomirsky I.* // Colloid and Surf. B- Bio-interfaces. 2011. **87**. N 2. P. 505.
12. *Fujii S., Okado M., Furuzono T.* // J. Colloid and Interf. Sci. 2007. **315**. P. 287.
13. *Руднев А.В., Ванифатова Н.Г., Джераян Т.Г., Лазарева Е.В., Булычев Н.А.* // ЖАХ. 2013. **68**. № 8. С. 1.
14. *Emello G.G., Bondarenko Zh.V., Grukalo Ya.V., Firsova L.D.* // Proc. of BSTU. Chem. Org. Substances Technology and Biotechnology. 2012. Issue 4. P. 20.
15. *Prieto C., Calvo L.* // Hindawi Publ. Corp. J. Appl. Chem. **2013**. P. 1–10.
16. *Рудин В.Н., Комаров В.Ф., Мелихов И.В., и др.* // Способ получения суспензии гидроксипатита. Пат. РФ № 2122520. 1998.
17. *Cirin D.M., Posa M.M., Krstonosic V.S., Milanovic M.L.* // Hem. Ind. 2012. **66**. N1. P. 21.
18. *Задьмова Н.М., Иванова Н.И.* // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2013. **54**. № 2. С. 112.
19. *Досон.Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс.* // Справочник биохимика. М., 1991. С. 238.
20. *Rodriguez M.A., Armstrong D.W.* // J. Chromatogr. B 2004. **800**. P. 7.
21. *Ванифатова Н.Г., Спиваков Б.Я.* // Рос. хим. ж. 2005. **49**. № 2. С. 16.
22. *Иванова Н.И.* // Коллоидный журн. 2000. **62**. № 1. С. 56.
23. *Hui Gang Zhang, Qingshan Zhu.* // Mater. Lett. 2005. **59**. P. 3054.
24. *Giordano-Palmino F., Denoel R., Rouquerol J.* // J. Coll. Interf. Sci. 1994. **165**. P. 823.
25. *Stiernstedt J., Fröberg J.C., Tiberg F., Rutland M.W.* // Langmuir. 2005. **21**. P. 1875.

Поступила в редакцию 12.12.14

INFLUENCE OF ULTRASONICATION ON THE STABILITY OF AN AQUEOUS DISPERSE SYSTEM CALCIUM HYDROXYAPATITE – TWEEN 80

A.V. Rudnev, N.I. Ivanova, N.G. Vanifatova, T.G. Dzherajan

(Division of Colloid Chemistry)

Effects of ultrasonication time and Tween 80 concentration on the stability of calcium hydroxyapatite aqueous suspensions were studied. The optimal conditions under which the system becomes stable were found using methods of capillary zone electrophoresis, dynamic light scattering, and scanning electron microscopy. The possibility of estimating the system stability was shown based on study of particles electrophoretic behavior.

Keywords: calcium hydroxyapatite, Tween 80, ultrasound, capillary zone electrophoresis, scanning electron microscopy, dynamic light scattering.

Сведения об авторах: Руднев Александр Васильевич – ст. науч. сотр. Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского, канд. хим. наук (rudalex@mail.ru); Иванова Нина Ивановна – доцент кафедры коллоидной химии химического факультета МГУ (ini@colloid.chem.msu.ru); Ванифатова Наталья Георгиевна – ст. науч. сотр. Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского, канд. хим. наук (vanifatova@mail.ru); Джераян Татьяна Георгиевна – ст. науч. сотр. Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского, канд. хим. наук (Dzherajan@mail.ru).