

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»

На правах рукописи

Чупрунов Константин Олегович

**Разработка метода получения наноструктурных сферических
порошковых материалов на основе гидроксилapatита с регулируемым
фазовым составом и показателями дисперсности**

05.16.09 – Материаловедение (металлургия)

диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
кандидат технических наук
Кузнецов Д.В.

Москва 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Цель диссертационной работы.....	6
Научная новизна	6
Основные положения, выносимые на защиту:	7
1 Аналитический обзор литературы	8
1.1 Гидроксилапатит. Общие сведения	8
1.2 Методы получения гидроксилапатита.....	16
1.3 Области применения гидроксилапатита	43
Выводы по разделу	53
2 Объекты и методы исследования	55
2.1 Исходные материалы.....	55
2.2 Объекты исследования	55
2.3 Методы исследования	65
3 Исследование влияния параметров синтеза на характеристики образцов гидроксилапатита	71
3.1 Выбор системы прекурсоров.....	71
3.2 Влияние уровня pH на характеристики гидроксилапатита	76
3.3 Исследование влияния продолжительности гидротермального синтеза на фазовый состав образцов гидроксилапатита	81
3.4 Исследование влияния ультразвуковой обработки на фазовый состав и структурные характеристики образцов гидроксилапатита	87
4 Разработка методики получения сферических гранул гидроксилапатита с заданными диапазонами размеров.....	96
4.1 Подготовка суспензии гидроксилапатита.....	96
4.2 Исследование влияния температуры термообработки на характеристики гранул гидроксилапатита.....	96
4.3 Исследование влияния термообработки на удельную поверхность образцов гранул гидроксилапатита.....	99
4.4 Разработка параметров процесса распылительной сушки с целью получения гранул гидроксилапатита с заданными размерами.....	100
4.5 Гранулирование образцов гидроксилапатита.....	101
4.6. Результаты оценки биосовместимости сфероидизированных гранулированных порошков гидроксилапатита.....	110

5 Анализ перспектив практического применения сфероидизированных гранулированных порошков гидроксилапатита в биомедицинских приложениях	121
5.1 Анализ мирового рынка порошковых материалов на основе гидроксилапатита.....	121
5.2 Оценка научно-технического уровня полученных результатов в сравнении с лучшими достижениями в данной области.....	123
5.3 Рекомендации по использованию полученных результатов в науке и производстве....	125
ВЫВОДЫ	128
Список использованных источников	129

ВВЕДЕНИЕ

Области материаловедения, связанные с разработкой и использованием биологически совместимых материалов, активно развиваются, что связано с повышением качества медицинских услуг и увеличением средней продолжительности жизни. В качестве таких биоматериалов широко используются различные металлы, керамика и полимеры, при этом все большее внимание уделяется керамическим материалам на основе гидроксилапатита. Это связано с тем, что гидроксилапатит является одним из основных компонентов костной ткани, что наделяет его высоким уровнем биосовместимости. При этом требования по показателям механических свойств, микроструктуры, биорезорбируемости имплантов на основе гидроксилапатита постоянно возрастают, создавая необходимость все более и более тонкого управления свойствами используемых для их создания порошковых материалов на основе гидроксилапатита.

Перспективным направлением улучшения характеристик медицинских материалов для имплантов является получение порошков высокочистого стехиометрического гидроксилапатита с высокой долей кристаллической фазы, что не всегда возможно достичь при использовании классических методов синтеза методами мокрой химии. Дополнительным путем улучшения характеристик таких порошковых материалов является придание частицам сферической формы и узкого распределения по размерам. Такие сферические частицы находят всё более широкое применение в различных биомедицинских приложениях, однако, в зависимости от сферы применения, к конечному продукту предъявляются различные требования к размерным характеристикам. Так, для 3D-печати имплантов требуются частицы со средним размером от 5 до 25 мкм, для биорезорбируемых наполнителей для стимулирования регенерации соединительной ткани кожного покрова в терапии ожогов и косметологии – от 20 до 45 мкм, для технологий газотермического напыления оптимален диапазон размеров частиц 40-125 мкм. При этом возможности тонкого управления гранулометрическим составом и формой частиц таких порошковых материалов пока недостаточно реализованы в промышленности.

В этой связи надо отметить, что гидроксиапатит представляет собой типичный керамический материал. Получение многих других широко применяемых в промышленном производстве керамических порошковых материалов, таких как оксиды алюминия, магния, циркония, титана, цинка, также зачастую осуществляется через стадии осаждения из водных растворов. В частности, в производстве огнеупорных и электротехнических материалов для металлургии и машиностроения сферические керамические порошки с узким распределением по размерам являются наиболее востребованными. Их применение

имеет ряд технологических преимуществ по сравнению с традиционными порошками, содержащих частицы традиционной “осколочной” формы, способствуя, в частности, получению более плотной и прочной керамики. Традиционным способом получения порошков с частицами сферичной формы в керамической промышленности являются технологии плазменной сфероидизации частиц порошков неправильной “осколочной” формы, получаемых размолом массивного материала, что делает такие порошки довольно дорогим и мало востребованным в промышленности продуктом. В связи с этим весьма перспективными представляются направления исследований, связанные с разработкой новых методов управления морфологией и размерами частиц различных видов порошковой оксидной керамики конструкционного и металлургического назначения.

Основным используемым способом получения синтетического гидроксилапатита является синтез при различных условиях из водных растворов, позволяющим осуществлять тонкое управление свойствами получаемых порошковых материалов, и, в том числе, регулировать размеры синтезируемых частиц в диапазоне от нескольких нанометров до десятков микрон. Упомянутые выше параметры порошков гидроксилапатита, включающие средний размер и распределение частиц по размерам, имеют важное значение для их эффективного использования в современных технологиях создания имплантов. В частности, использование порошков гидроксилапатита в технологиях трехмерной печати требует придания частицам сферической формы и диапазона размеров 5-25 мкм. Газотермические методы создания покрытий гидроксилапатита на титановых имплантах подразумевают использование порошков сферической формы диапазонами не менее 40 и не более 125 мкм. Использование их для стимулирования регенерации соединительной ткани требует сферических частиц диапазона размеров 25- 45 мкм. При этом должны соблюдаться требования по высокой степени чистоты материала и как можно более низкой пористости частиц.

К материалам на основе гидроксилапатита обычно предъявляются требования по содержанию примесей, механическим свойствам, биорезорбируемости, способностью к остеоинтеграции. При этом таким важным параметрам порошковых материалов как средний размер частиц, их морфология и распределение по размерам до сих пор уделяется недостаточно внимания. Это связано со сложностью регулирования этих параметров на стадии получения существующими методами.

В связи с этим весьма актуальной представляется разработка нового экономичного способа получения сферических частиц гидроксилапатита, позволяющего точно регулировать распределение частиц по размерам конечного продукта, а также осуществлять контроль фазового состава, степени кристалличности, пористости частиц.

Таким образом, управление формой и диапазонами распределения частиц гидроксилапатита по размерам позволит существенно расширить спектр их использования в новых биомедицинских технологиях и улучшить характеристики существующих методов создания имплантов.

Цель диссертационной работы

Разработка нового метода получения порошков гидроксилапатита, состоящих из частиц сферической формы с заданными мономодальными распределениями частиц по размерам, основанного на сочетании процессов химического осаждения, гидротермальной обработки и распылительной сушки полученных суспензий.

Достижение поставленной цели требует решения следующих задач:

- Исследовать влияния состава исходных компонентов, условий получения химического осаждения и гидротермальной обработки на фазовый состав и степень кристалличности получаемых продуктов на основе гидроксилапатита;
- На основании полученных данных осуществить расчет необходимых концентраций и среднего размера капель коллоидных систем на основе гидроксилапатита, обеспечивающих получение сферических гидроксилапатита заданных размеров;
- Исследовать влияние параметров проведения процесса распылительной сушки на морфологию и распределение частиц гидроксилапатита по размерам;
- Провести оценку биологической совместимости полученных порошковых материалов на основе гидроксилапатита;
- Осуществить анализ перспектив промышленной реализации разработанного метода и направлений использования однофазных порошков гидроксилапатита, состоящих из сферических частиц с заданными мономодальными распределениями частиц по размерам.

Научная новизна

- Предложена оригинальная методика получения однофазных порошков гидроксилапатита, основанная на сочетании стадий химического осаждения, гидротермальной обработки и распылительной сушки, обеспечивающая получение частиц сферической формы с заданным распределением по размерам;
- Установлен характер влияния состава исходных компонентов и условий синтеза на фазовый состав гидроксилапатита в ходе синтеза с использованием методов химического осаждения и гидротермальной обработки;
- Выявлен характер влияния условий получения порошков гидроксилапатита на их морфологию и распределение частиц по размерам.

Практическая значимость

- Определены оптимальные параметры синтеза методами химического осаждения и гидротермальной обработки суспензий гидроксилапатита, содержащих не менее 99 % масс. стехиометрического гидроксилапатита со степенью кристалличности не менее 95 %.
- Установлены оптимальные параметры получения из суспензий методом распылительной сушки порошков гидроксилапатита, содержащих частицы сферической формы с регулируемыми в диапазоне 5-125 мкм размерами частиц;
- Показана возможность эффективного использования полученных сферических порошков с диапазоном размеров частиц 5-25 мкм для получения имплантов путем смешивания порошков с полимером в экструдере, изготовления композитного стренга и трехмерной печати;
- Проведен анализ рыночных перспектив разработанных порошковых материалов, обосновывающих целесообразность промышленной реализации технологии, основанной на предложенных научно-методических подходах.

Основные положения, выносимые на защиту:

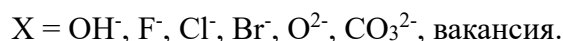
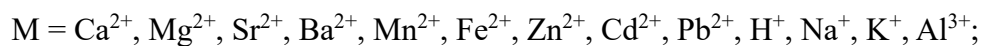
- Результаты определения влияния состава исходных компонентов и условий процесса получения методами химического осаждения и гидротермальной обработки на фазовый состав и степень кристалличности гидроксилапатита;
- Результаты исследований влияния ультразвуковой и термической обработки на физико-химические свойства порошков гидроксилапатита;
- Результаты исследований влияния условий получения методом распылительной сушки на морфологию и распределение частиц гидроксилапатита по размерам;
- Результаты определения оптимальных параметров получения однофазных порошков стехиометрического гидроксилапатита, состоящих из частиц сферической формы с заданными мономодальными распределениями по размерам.

1 Аналитический обзор литературы

1.1 Гидроксилапатит. Общие сведения

1.1.1 Химический состав. Кристаллическая структура

Апатитами называются кристаллические минералы, которые можно представить в виде формулы $M_{10}(ZO_4)_6X_2$. Каждый компонент формулы может быть представлен достаточно большим числом ионов, некоторые из которых перечислены ниже:



Наиболее распространены в природе кальций-фосфатные апатиты, в которых $M = Ca^{2+}$, а $ZO_4 = PO_4^{3-}$. При $X = OH^-$, кальций-фосфатный апатит называется гидроксилапатитом или гидроксиапатитом, химическая формула которого $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, а стехиометрическое соотношение Ca/P составляет 1,67 [1].

Следует отметить, что именно гидроксилапатит, в отличие от фтор- и хлорапатита кальция, имеет две разные кристаллические структуры с разной сингонией: моноклинной и гексагональной. Известно, что в химически чистых условиях возможно получение ГАП с моноклинной сингонией ($P2_1$). Однако чаще из-за несовершенства структуры, обусловленной наличием вакансий, примесей внедрения и замещения, и обусловленных ими искажений в кристаллической решетке становится энергетически выгодным образование гидроксилапатита в гексагональной сингонии $R\bar{6}_3/m$ [2–4]. Для описания структуры гидроксилапатита удобно идеальную стехиометрическую формулу $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ расписать, учитывая разные позиции, занимаемые атомами кальция в решетке гидроксилапатита как $Ca_4Ca_6(PO_4)_6(OH)_2$. Данная особенность характерна для всего класса апатитов кальция и может быть рассмотрена на примере элементарной ячейки гидроксилапатита (Рисунок 1.1) [5].

В элементарной ячейке десять атомов кальция занимают кристаллографически две неэквивалентные позиции: атомы $Ca(1)$ - 40 % расположены на оси C_3 и объединяют фосфорно-кислородные тетраэдры, которые в свою очередь формируют «колонки» вдоль оси c , на стенках которых размещаются ионы кальция $Ca(2)$ — 60 %. По оси сформированного канала из атомов $Ca(2)$ на оси b_3 расположены OH группы (рисунок 1.1). Каждый атом $Ca(1)$ образует комплексы CaO_9 через атомы кислорода тетраэдров PO_4^{3-} . Атомы $Ca(2)$ включают формирование комплексов CaO_6OH совместно с OH группой [2,4].

Ещё одной особенностью гексагонального гидроксилапатита является различный заряд плоскостей. Можно выделить две основные плоскости гидроксилапатита: плоскость «а» и плоскость «с». Плоскость «а» обогащена ионами кальция и заряжена положительно, в то время как плоскость «с» обогащена фосфат- и гидроксил ионами и заряжена отрицательно. Разница в зарядах плоскостей приводит к значительному различию и анизотропии свойств различных поверхностей кристалла. В этой связи, образцы гидроксилапатита различной морфологии будут иметь различные свойства, такие как растворимость, биосовместимость и адсорбционную активность.

Из литературы известно, что позиции кальция могут занимать одно-, двух- и трехвалентные катионы (K, Na, Mg, Sr, Ba, Zn, Cu, Pb, Ni), а позиции анионных групп PO_4 – одно-, двух- и трехвалентные анионы (SiO_4 , CO_3 , SO_4). В то же время OH группы гидроксилапатита могут замещать одно- и двухвалентные анионы (F, Cl, O, CO_3) [2,4,6–9].

Благодаря большому количеству изоморфных замещений, становится возможным направленное изменение свойств гидроксилапатита. Структура гидроксилапатита в большинстве случаев при небольших изменениях, включающих внедрение атомов примесей, наличия вакансий или замещений остаётся постоянной [4,6,8]. При наличии изоморфных замещений в случае одно- или трехвалентных катионов и двухвалентных анионов нейтральность в структуре гидроксилапатита сохраняется с образованием вакансий в катионной или анионной подрешетке или внедрением в структуру гидроксилапатита одно- или двухвалентных анионов/катионов [4,6].

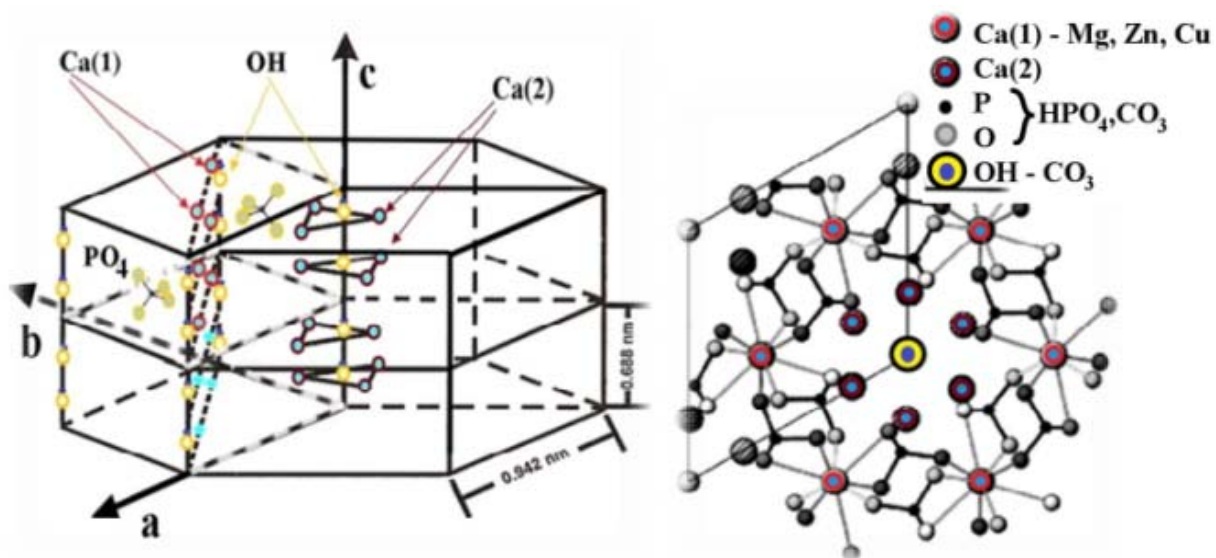


Рисунок 1.1 – Элементарная ячейка гидроксилапатита [5]

Помимо гидроксилапатита, существует ряд других соединений фосфатов кальция, основные из которых представлены в таблице 1.1 [10].

Таблица 1.1 – Основные виды фосфатов кальция

Компонент	Химическая формула	Стехиометрическое соотношение Ca/P
Моногидрат монокальцийфосфата	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.5
Монокальцийфосфат	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5
Брушит (дигидрат дикальций фосфат)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1
Монетит (безводный дикальций фосфат)	CaHPO_4	1
Октокальций фосфат	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
α -трикальций фосфат	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
β -трикальций фосфат	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Аморфный фосфат кальция	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n = 3 - 4.5$; 15 – 20 % H_2O	1.2 – 2.2
Кальций-дефицитный гидроксилапатит	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)	1.5 – 1.67

1.1.2 Химические свойства гидроксилапатита

Растворимость гидроксилапатита измерялась различными группами [11][12], однако данные, которые были получены значительно различались, что учёные связывают со сложностью получения гидроксилапатита стехиометрического состава, а также связанной с этим сильной зависимостью свойств гидроксилапатита от способа получения. В работе [12] растворимость измерялась для апатита, полученного осаждением. Авторы отмечают, что такой материал имеет максимальное сходство по свойствам с минеральной составляющей костной ткани. В связи с этим, в таблице 1.2 приводятся результаты, полученные для данного материала.

Растворение гидроксилапатита можно представить в виде реакции:



Произведение растворимости, соответственно, запишется в виде:

$$\text{KHA} = (\text{Ca}^{2+})^5 (\text{PO}_4^{3-})^3 (\text{OH}^-)$$

Таблица 1.2 – Равновесные произведения растворимости гидроксилapatита при различных рН и температурах [12]

Температура, °C	рН	Произведение растворимости $K_{HA} \cdot 10^{59}$
5	4.46 – 6.28	2.92
15	4.31 – 6.21	3.23
25	3.92 – 6.48	3.04
37	3.77 – 6.39	2.35

Изотермы растворимости в виде зависимостей логарифма концентрации ионов кальция от рН раствора представлены на рисунке 1.2 [12].

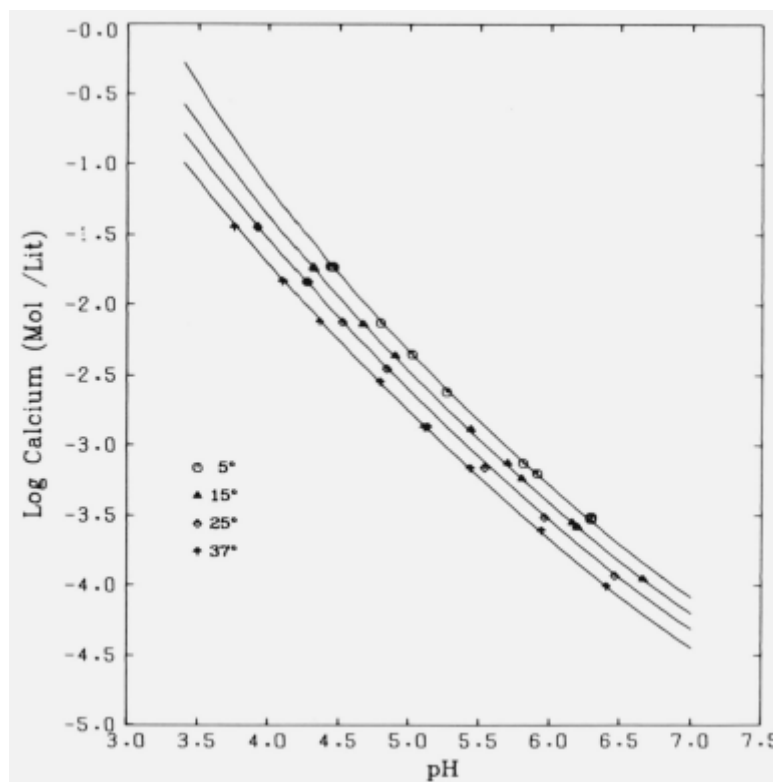


Рисунок 1.2 – Изотермы растворимости (логарифм концентрации кальция в зависимости от рН) для гидроксилapatита в системе $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ при 5, 15, 25 и 37 °C [12]

Следует отметить, что растворимость различных фосфатов кальция уменьшается в ряду Тетрафосфат кальция > α -трикальций фосфат > дигидрат дикальций фосфата > безводный дикальций фосфат ~ Октокальций фосфат > β -трикальций фосфат > гидроксилapatит, что говорит о высокой стойкости гидроксилapatита.

1.1.3 Физические свойства гидроксилapatита

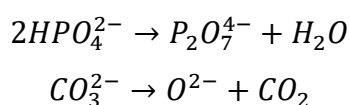
Термическая устойчивость гидроксилapatита является важной технологической характеристикой, которая влияет на параметры обработки материала при изготовлении готовых изделий или синтезе порошковых материалов твёрдофазными методами. При

рассмотрении термической устойчивости следует разделять две возможности прохождения процесса разложения, касающихся стехиометрических и нестехиометрических апатитов. В первом случае процессы, проходящие при нагреве, носят обратимый характер, в то время как во втором случае процессы идут необратимо.

Стехиометрический гидроксилapatит обладает высокой термической стабильностью. Его термообработку возможно проводить при температурах до 1200 – 1250 °С без значительных изменений. Однако при определённых условиях, гидроксилapatит начинает терять воду при 850 °С [13]. Потеря воды значительно зависит от парциального давления воды в атмосфере, в которой проводится обработка. В результате процесса образуется октофосфат кальция, который разлагается до трикальцийфосфата и тетракальцийфосфата при 1050 °С. Процесс разложения заканчивается при температуре 1720 °С, при которой образуется оксид кальция и жидкая фаза.

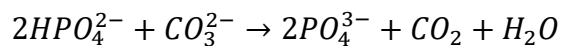
Данные реакции обратимы в случае, если при охлаждении соблюдаются условия повышенной влажности, а также небольших скоростей охлаждения. Другая проблема, которая может возникнуть заключается в испарении фосфора при высоких температурах, например, в ходе процесса плазменного напыления.

Разложение нестехиометрических апатитов происходит по более сложному механизму в зависимости от их начального состава (рисунок 1.3) [14]. Данные реакции связаны с низкой стабильностью кальций-дефицитных апатитов и являются необратимыми. Разложение протекает через образование пирофосфата в случае с апатитами с избытком HPO_4^{2-} ионов и с образованием ионов кислорода, в случае с апатитами, содержащими карбонаты:

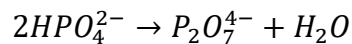


Интересно, что образование ионов пирофосфата нелегко наблюдать с помощью ИК-Фурье спектроскопии, однако, их возможно обнаружить химическими методами. Пирофосфат кальция кристаллизуется в виде отдельной фазы только при температурах выше 750 °С, при этом соотношение Са/Р составляет менее 1,5. Образование ионов кислорода приводит к образованию OH^- в структуре гидроксилapatита, или, в случае высоко карбонизированных апатитов с соотношением Са/Р выше 1,67, к образованию стехиометрического гидроксилapatита и фазы оксида кальция.

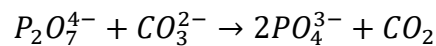
В случае присутствия обоих видов ионов, HPO_4^{2-} и CO_3^{2-} , возможно также протекание реакций:



или



с последующей реакцией



В случае нанокристаллического апатита, процессы разложения могут начинаться при температурах 100 – 200 °С. Конечными продуктами необратимого разложения нестехиометрических апатитов могут быть различные фосфаты кальция в зависимости от начального соотношения Са/Р:

При соотношении $\text{Ca/P} < 1,5$, β -трикальций фосфат и β -пирофосфат кальция;

При соотношении $1,5 < \text{Ca/P} < 1,67$ образуется смесь из β -трикальций фосфата и стехиометрического гидроксилапатита;

При соотношении $\text{Ca/P} > 1,67$ образуется смесь стехиометрического гидроксилапатита и оксида кальция.

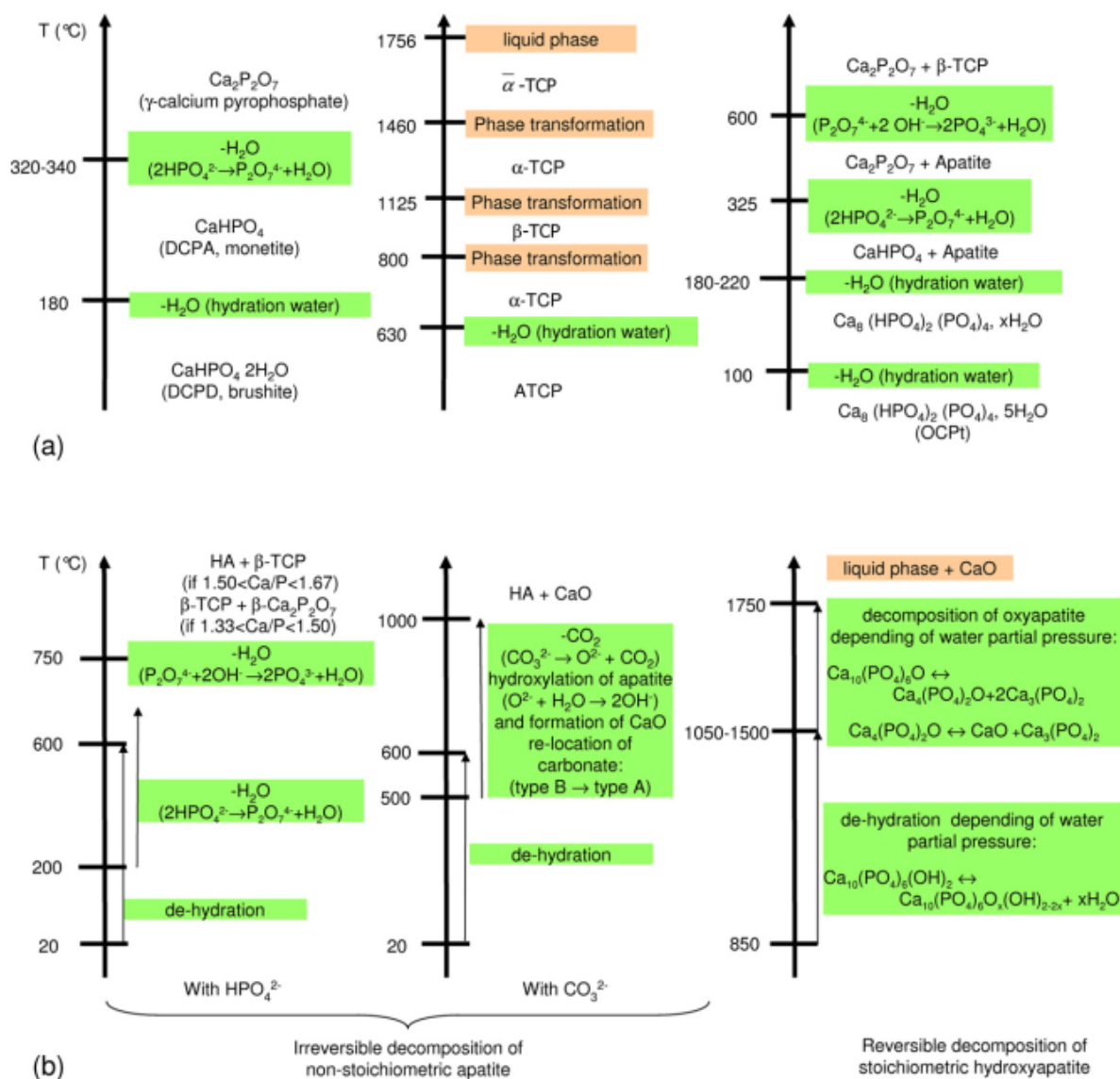


Рисунок 1.3 – Схема обратимого и необратимого процессов разложения различных форм фосфата кальция, а также стехиометрического и нестехиометрического гидроксилapatита [14]

1.1.4 Механические свойства

Фосфаты кальция в чистом виде являются достаточно хрупкими материалами из-за природы ионной связи. В основном механические свойства фосфатов кальция определяются их кристалличностью, размером зёрен, пористостью и стехиометричностью. Прочность на растяжение, сжатие и изгиб керамики на основе гидроксилapatита варьируется в пределах 38 – 300 МПа, 120 – 900 МПа и 38 – 250 МПа соответственно. Модуль Юнга находится в пределах 35 – 120 ГПа, что достаточно близко к значениям, наблюдаемым у костной ткани. Твёрдость по Виккерсу составляет 3 – 7 ГПа [15].

1.1.5 Характеристика биологического гидроксилapatита – минеральной составляющей костной ткани

Кость человека можно описать как композиционный материал, состоящий из гидроксилапатита, коллагена Iго типа, воды, клеток и липидов (Рисунок 1.4) [15]. Клетки костной ткани показаны на рисунке 1.5 [15].

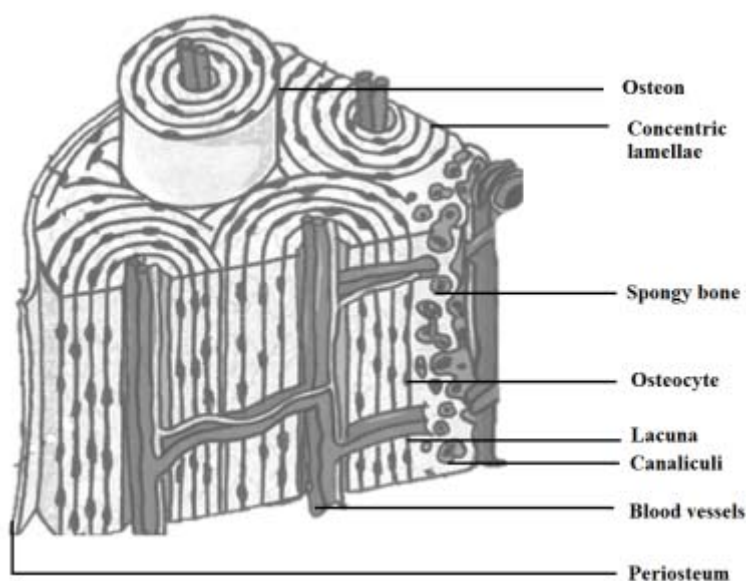


Рисунок 1.4 – Структура костной ткани человека [15]

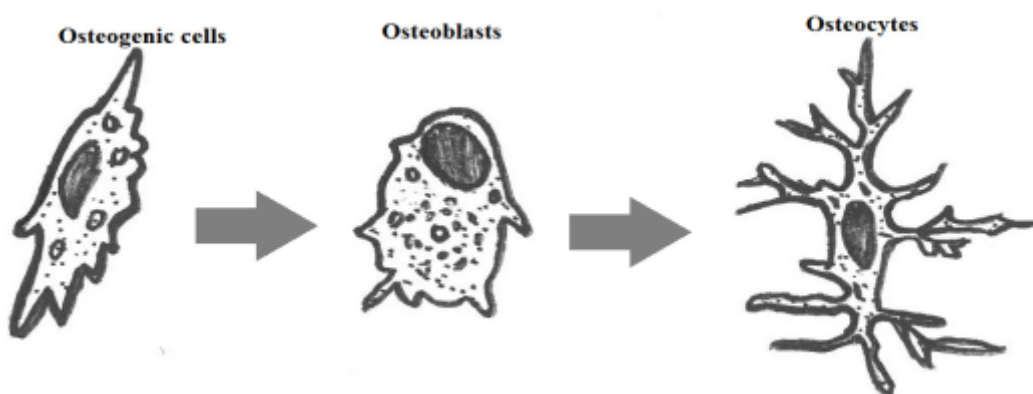


Рисунок 1.5 – Клетки костной ткани [15]

Образование костей происходит через формирование матрицы остеобластов, которые формируют кристаллы гидроксилапатита. Кость можно разделить на 2 различные части: пористая (губчатая) и плотная (кортикальная). Губчатая кость содержит гемоцитобласты, проэритроциты и костный мозг. Губчатая кость обладает низким модулем Юнга и большей эластичностью в сравнении с кортикальной костью. Пористая структура состоит из пор размером от 200 до 500 μm и губчатая костная ткань формирует 30 – 90 % общей пористости кости [16-18]. Механические свойства костной ткани приведены в таблице 1.3.

Таблица 1.3 – Механические свойства костных тканей [15]

Тип костной ткани	Сопротивление сжатию, МПа	Сопротивление изгибу, МПа	Сопротивление растяжению, МПа	Модуль упругости, ГПа	Пористость, %
Кортикальная	130 – 180	135 – 193	50 – 151	12 – 18	5 – 13
Губчатая	4 – 12	-	1 – 5	0,1 – 0,5	30 – 90

В зависимости от типа костной ткани, биологический апатит может иметь различную морфологию. Например, в кости ось «с» кристаллов гидроксиапатита параллельна коллагеновым волокнам, а ось «а» параллельна поверхности кости. Размер кристаллов составляет в среднем 50 нм х 25 нм х 4 нм [19]. В зубной эмали наблюдается обратная картина ориентации кристаллов, при которой ось «с» располагается параллельно поверхности эмали, а кристаллы имеют размеры порядка 100 мкм х 25 нм х 70 нм [20] (рисунок 1.6).

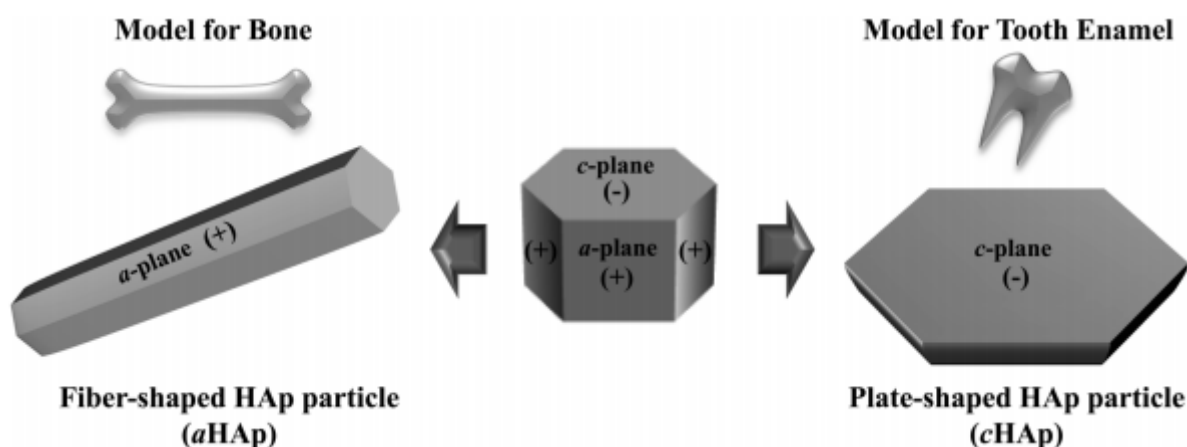


Рисунок 1.6 – Кристаллы гидроксиапатита различной морфологии и преимущественной ориентации [21]

1.2 Методы получения гидроксиапатита

1.2.1 Золь-гель синтез гидроксиапатита

Высокая активность компонентов, используемых при золь-гель синтезе гидроксиапатита позволяет существенно снизить температуру обработки [22, 23]. В общем случае золь-гель метод получения гидроксиапатитов предполагает приготовление алкоксидных растворов с заданной стехиометрией компонентов. В большинстве случаев в качестве фосфор-содержащих прекурсоров используются пентоксид фосфора, триэтилфосфат и триэтилфосфит. Однако различные прекурсоры требуют различных

времени выдержки для образования гидроксилапатита с требуемой стехиометрией. Разница обусловлена различным временем реакции между кальций- и фосфор-содержащих прекурсоров в фазе золь.

В работе [24] наноструктурные частицы гидроксилапатита были получены из различных фосфор-содержащих прекурсоров, таких как пентоксид фосфора и триэтилфосфат. В качестве кальций-содержащего прекурсора использовался нитрат кальция. Влияние выбора прекурсора на свойства полученных продуктов исследовались методами ^{31}P ЯМР, ИК-Фурье спектроскопии, рентгеновской дифрактометрии и ПЭМ.

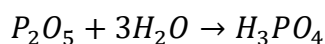
При использовании триэтилфосфата водный раствор нитрата кальция добавляли в золь фосфата при перемешивании. Полученный золь выдерживали при 90 °C в течение различного времени. При использовании в качестве фосфор-содержащего прекурсора пентоксида фосфора, реакцию проводили в среде абсолютированного спирта. Полученный раствор также выдерживался при температуре 90 °C в течение различного времени.

В ходе протекания процесса за 16 часов pH раствора изменялся с 3,56 до 1,08 в случае использования триэтилфосфата и с 4,28 до 1,65 в случае пентоксида фосфора. Это связано с высвобождением нитрат ионов из нитрата кальция в ходе процесса гидролиза. При этом более кислотный pH при использовании триэтилфосфата указывает на его большую реакционную активность. В результате реакции прекурсоров образуются полимерные цепочки $[-\text{Ca}-\text{O}-\text{P}-]$, что приводит к формированию геля.

Безводный пентоксид фосфора хорошо растворим в этаноле и реакция гидролиза происходит путём разрыва связей P-O-P, согласно реакции:



В присутствии воды P_2O_5 гидролизуется с образованием фосфорной кислоты:



Образование фосфорной кислоты способствует выпадению осадка при реакции с нитратом кальция, а не образованию геля. В связи с этим синтез гидроксилапатита золь-гель методом с использованием пентоксида фосфора в качестве прекурсора проводили в среде абсолютированного спирта. Образующиеся продукты гидролиза в этаноле обладают высокой активностью и легко образуют Ca-O-P связи.

Термогравиметрический анализ гелей, полученных из разных фосфор-содержащих прекурсоров, показал, что образование кристаллического гидроксилапатита из аморфной

фазы происходит при температурах 540 – 555 °С в случае триэтилфосфата и при 650 °С при использовании P_2O_5 . Анализ продуктов термообработки гелей при различной температуре методом рентгеновской дифракции показал, что в случае использования триэтилфосфата, после отжига при 300 °С порошок в основном состоит из карбоната кальция, с небольшим количеством гидроксилapatита низкой кристалличности. При этой же температуре образец, полученный с использованием пентоксида фосфора состоит в основном из гидроксилapatита, а карбонат кальция присутствует как примесь. При нагреве до 600 °С пики карбоната кальция исчезали в случае образца, полученного с использованием пентоксида. Для образца, полученного из триэтилфосфата, требовался нагрев до температуры 900 °С для полного исчезновения пиков карбоната кальция.

Авторы [25] использовали разновидность золь-гель метода для получения наночастиц гидроксилapatита, так называемый модифицированный метод Печини. Было использовано два подхода к синтезу гидроксилapatита. Первый подход использовал классический метод Печини. Для получения гидроксилapatита растворы солей $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ и $NH_4H_2PO_4$ смешивались с полиэтиленгликолем и лимонной кислотой. Полученный раствор выпаривался до получения геля, после чего прокаливался при температуре 1000 °С в течение 1 часа. Полученный губчатый материал промывался раствором NH_4NO_3 до pH среды равным 7, после чего дополнительно промывался водой. Во втором подходе лимонная кислота и полиэтиленгликоль были заменены полиакриловой кислотой, а вместо нитрата кальция использовали $(CH_3COO)_2Ca$. Процедура синтеза при этом в этом случае не отличалась от первого подхода.

При использовании классического метода Печини были получены образцы с различным исходным соотношением Ca/P. Было обнаружено, что образцы со стехиометрическим соотношением $Ca/P = 1,67$, полученные после отжига состоят из гидроксилapatита, оксида кальция и β -трикальций фосфата. Образование примесей авторы связывают с недостаточной равномерностью распределения элементов по образцу при получении геля. При использовании исходного соотношения Ca/P равного 5, образец после отжига состоял из гидроксилapatита и оксида кальция. После отмывки образцов фаза оксида кальция полностью исчезала, а конечный образец состоял из чистого гидроксилapatита. При использовании классического метода Печини морфология образцов представляла собой крупные частицы размером 5 – 10 мкм в случае стехиометрического соотношения и смесь из крупных частиц такого же размера и более мелких частиц размером около 50 – 100 нм при соотношении $Ca/P = 5$ (рисунок 1.7).

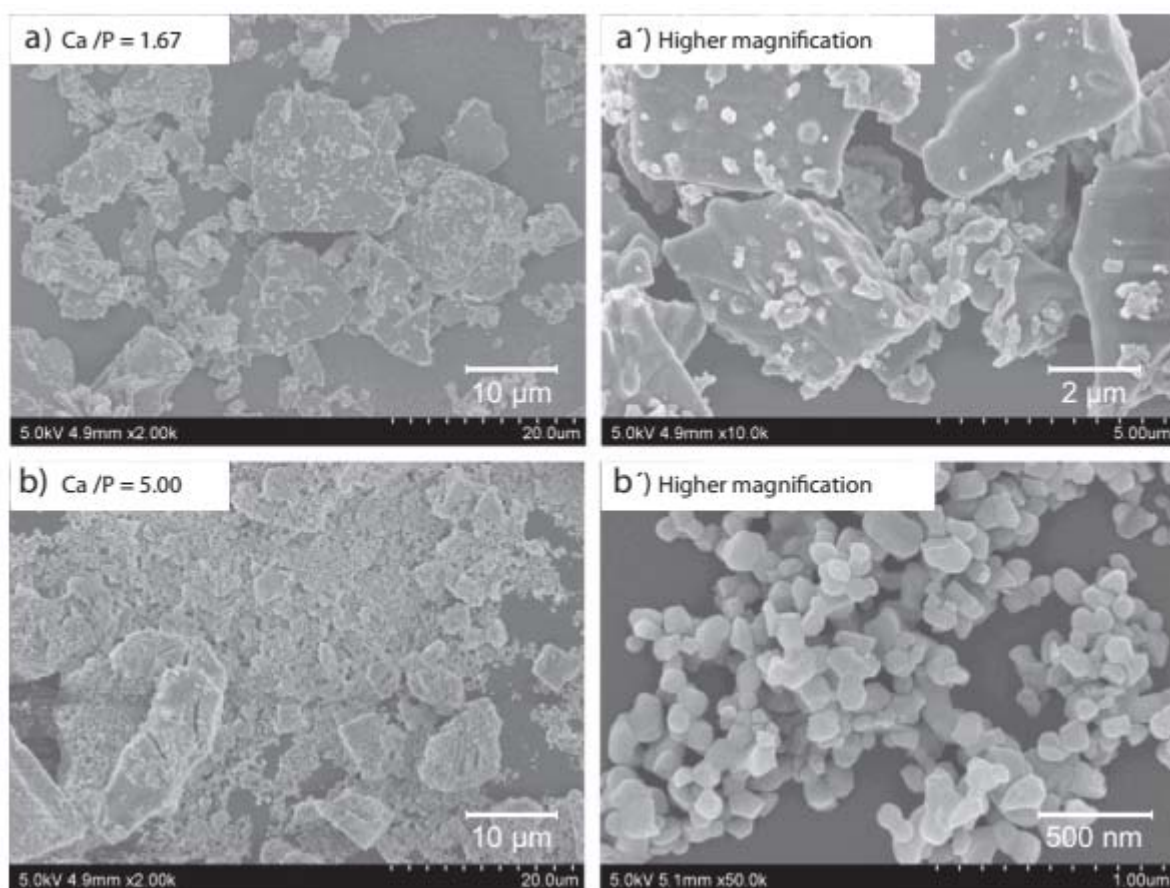
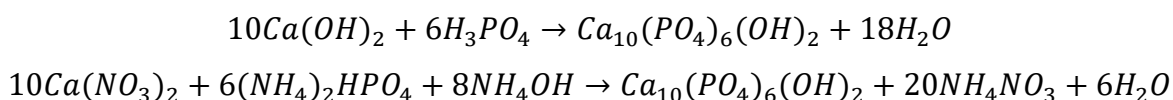


Рисунок 1.7 – Морфология образцов гидроксилапатита полученных с использованием модифицированного метода Печини [25]

При синтезе образцов модифицированным методом Печини, результаты анализа фазового состава показали, что образцы состоят из смеси гидроксилапатита и оксида кальция при использовании исходных соотношений Ca/P в интервале от 1,67 до 13,36. После отмывки, как и в предыдущем случае, образцы состояли из чистого гидроксилапатита. ИК-Фурье спектроскопия показала наличие карбонат ионов CO_3^{2-} , частично заместивших фосфат ионы. Результаты элементного анализа показали, что при использовании стехиометрического соотношения Ca/P исходных компонентов это соотношение сохранялось в конечном продукте и было близко к 1,67. При увеличении этого соотношения в исходных компонентах, Ca/P увеличивался до 1,75 при $(\text{Ca/P})_{\text{исх}} = 6,67$, после чего увеличение исходного соотношения не приводило к изменению этого соотношения в конечном продукте. Отмечается, что величина 1,75 является максимально возможной для обогащённых кальцием гидроксилапатитов. Исследование морфологии полученных продуктов показало, что при увеличении соотношения Ca/P исходных компонентов размер частиц уменьшается с 50 – 100 мкм до 10 – 50 нм, что связано с увеличивающимся количеством фазы оксида кальция, которая растворяется при отмывке отождённых образцов.

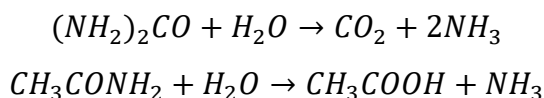
1.2.2 Метод соосаждения

Метод соосаждения широко используется для получения гидроксилапатита из-за своей простоты. Смешение двух водных растворов, содержащих кальций и ортофосфаты при $\text{pH} > 7$ приводит к образованию пересыщенных растворов гидроксилапатита, в результате чего происходит образование осадка из наночастиц в соответствии с реакциями:



Морфология наночастиц гидроксилапатита зависит от условий осаждения, таких как концентрация реагентов, ионная сила, pH и температура.

Существует также другая модификация метода соосаждения, в которой pH раствора меняется плавно в ходе протекания процесса гидролиза мочевины или ацетамида по реакциям:



Образование аммиака приводит к повышению pH раствора и образованию осадка частиц гидроксилапатита. Медленная скорость протекания гидролиза при повышенной температуре приводит к образованию больших частиц гидроксилапатита с высокой кристалличностью.

Авторы [26] получали кристаллы гидроксилапатита гомогенным соосаждением солей в присутствии мочевины и желатина (рисунок 1.8). Реакция образования гидроксилапатита проходила в 2 стадии. Сначала происходило образование кристаллов октокальцийфосфата, из которого образовывался гидроксилапатит. Использование мочевины позволяло добиться регулируемого медленного изменения pH среды в ходе превращения октокальцийфосфата в гидроксилапатит. Желатин, в свою очередь, селективно адсорбируясь на поверхности зародышей кристаллов, выступал в роле вещества, контролирующего морфологию получаемых нанокристаллов.

Для синтеза готовили водный раствор нитрата кальция ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), фосфата натрия ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и желатина. Полученный раствор выдерживали при температуре 100°C в течение 4х дней. Полученный осадок фильтровали, промывали и высушивали при 60°C . Авторы отмечают, что такая процедура синтеза отчасти имитирует рост кристаллов

гидроксилапатита при формировании костной ткани. Полученный в результате процесса продукт обладает игольчатой морфологией с толщиной иголок порядка 100 нм и длиной 50 – 100 мкм. Исследование продукта методом рентгеновской дифракции показало, что полученный продукт представляет собой сильно текстурированный кристаллический гексагональный гидроксилапатит. Текстура вероятнее всего вызвана формой кристалла, которая способствует преимущественной укладке кристаллов параллельно кюветы для съёмки. Рентгенография промежуточных продуктов показала образование гидроксилапатита через формирование кристаллов октокальций фосфата. Интересно, что морфология промежуточных продуктов и конечного гидроксилапатита аналогичны, что говорит о протекании топотактического превращения.

В отсутствие желатина реакция превращения октокальций фосфата в гидроксилапатит протекает аналогично, однако требует большего времени. Также без желатина меняется морфология кристаллов, которые выпадают в осадок в виде пластинок шириной от 2 до 10 мкм (рисунок 1.9). Дальнейшая трансформация октокальций фосфата в гидроксилапатит ведёт к частичному расслоению пластинок, а конечный продукт имеет широкое распределение по размерам.

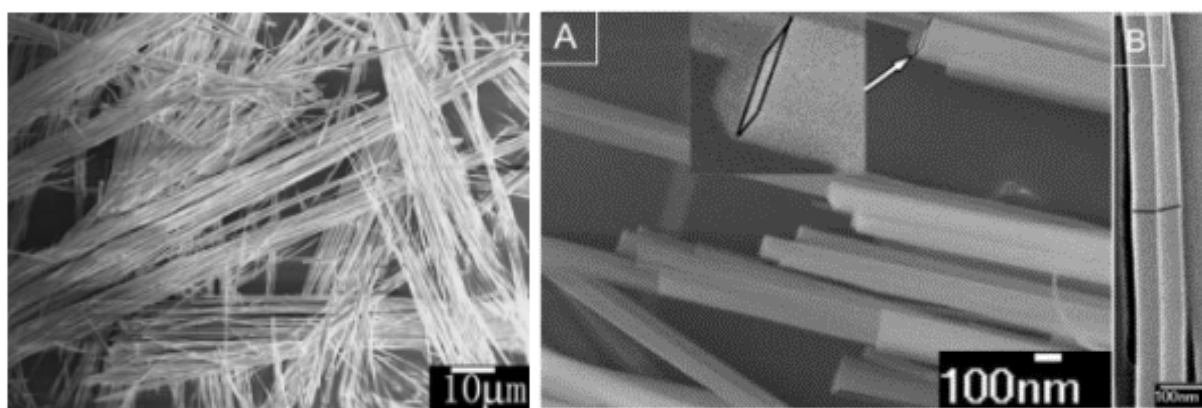


Рисунок 1.8 – Морфология частиц гидроксилапатита полученного в присутствии желатина

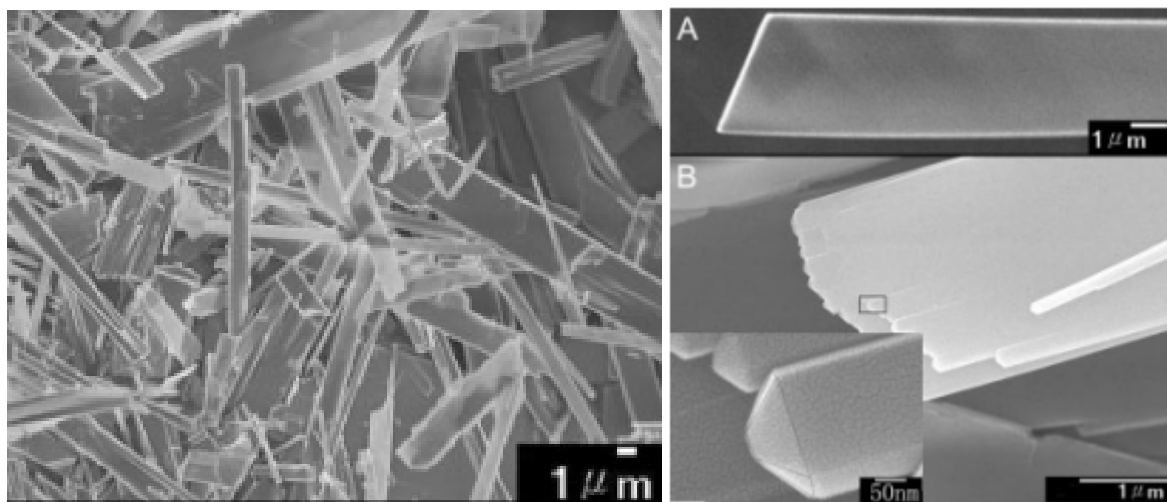


Рисунок 1.9 – Морфология частиц гидроксилапатита синтезированного без использования желатина

Авторы [27] получали гидроксилапатит различной морфологии, используя двухстадийный синтез (рисунок 1.10). На первой стадии готовились водные растворы нитрата кальция $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ и фосфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. pH каждого из растворов доводилась до 2 добавлением азотной кислоты. После смешивания растворов их pH поднимали до 4 с использованием раствора аммиака. В полученный раствор добавляли различное количество мочевины, нагревали до 85°C и выдерживали при этой температуре от 6 до 48 часов. Полученный в результате осадок фильтровали и промывали. На второй стадии полученные с использованием различного количества мочевины порошки смешивали с раствором аммиака ($\text{pH} = 12$) и выдерживали при 60°C в течение 48 ч. Продукт реакции отделяли центрифугированием, промывали и высушивали при 60°C .

При использовании различного количества мочевины изменялся фазовый состав промежуточных продуктов. При использовании 0,03 М раствора продукт состоял из безводного дикальцийфосфата. При увеличении количества мочевины вдвое получаемый продукт содержал наряду с безводным дикальций фосфатом также октокальций фосфат и небольшое количество гидроксилапатита. Несмотря на различные фазовые составы, морфология продуктов реакции была одинаковой. Получаемые частицы имели форму пластинок, размеры которых варьировались в пределах 10 – 50 мкм в длину, 0,2 – 2 мкм в ширину и 50 – 200 нм в толщину.

Исследование процессов трансформации промежуточных продуктов первой стадии в гидроксилапатит показало, что для протекания реакции требуется 48 часов независимо от количества мочевины, используемой при синтезе. Результирующим продуктом является гексагональный гидроксилапатит. Однако морфология продуктов различается. В случае использования прекурсора из безводного дикальций фосфата, частицы гидроксилапатита

состоят из агломератов иголок, имеющих пластинчатую форму (рисунок 1.11). При получении гидроксилапатита через образование октокальций фосфата, иголки собираются в сферические агломераты, формируя структуры «одуванчика».

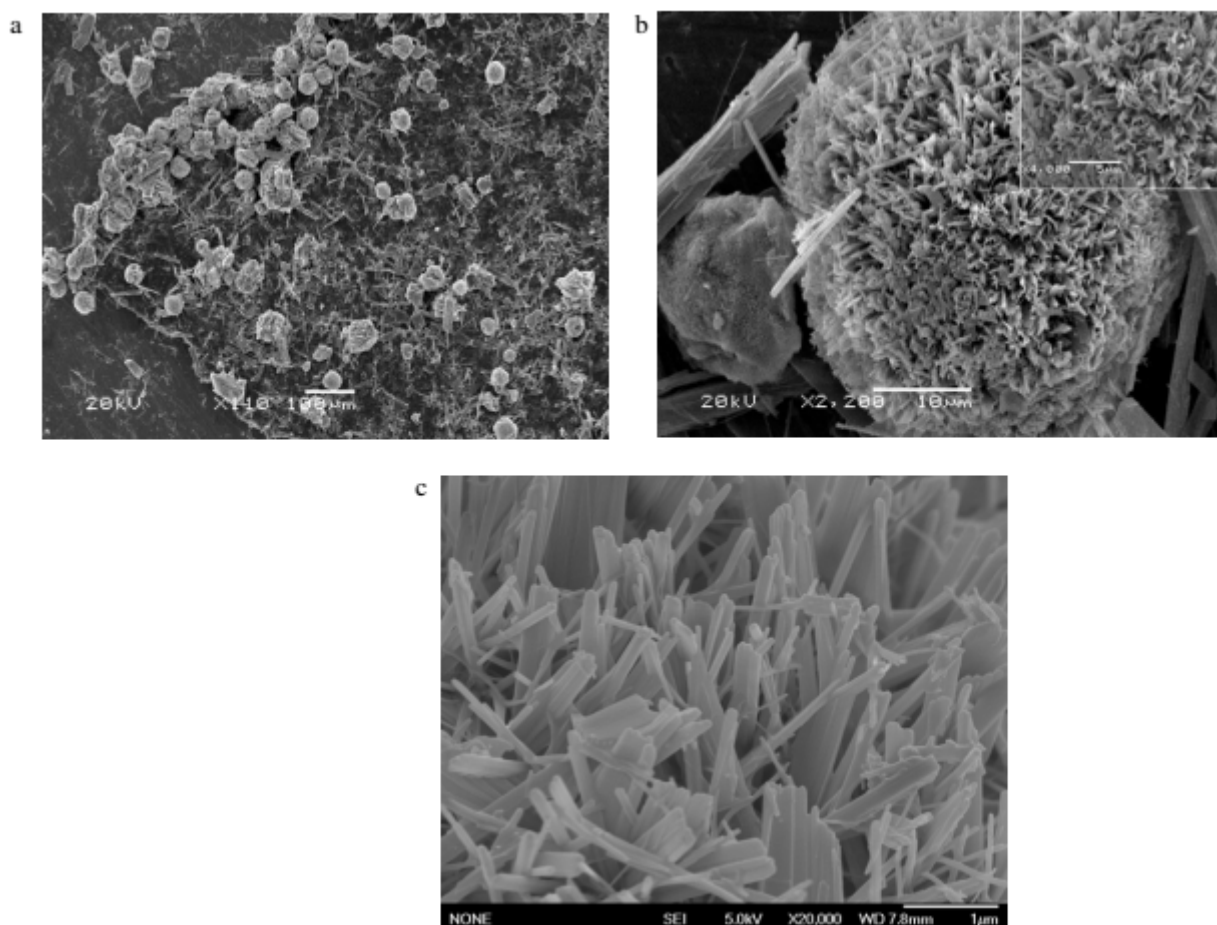


Рисунок 1.10 – Морфология гидроксилапатита, полученного через образование октокальций фосфата [27]



Рисунок 1.11 – Морфология гидроксилапатита, полученного из безводного дикальций фосфата [27]

В работе [28] исследовалось влияние температуры, времени старения и параметров термообработки на морфологию и размер наночастиц гидроксилапатита, полученного соосаждением. Получение гидроксилапатита проводили соосаждением из растворов хлорида кальция и фосфата аммония при pH равном 10. Выдержку проводили в течение различного времени и при различных температурах. Прокаливание гидроксилапатита проводили при температуре 650 °C в течение 6 ч.

Продукты осаждения, полученные при различных температурах реакции с выдержкой в течение 24 ч, содержали только фазу гидроксилапатита. При повышении температуры изменялась кристалличность полученного продукта, которая оценивалась по формуле:

$$X_c = 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}} \quad (1)$$

где $V_{112/300}$ – минимум интенсивности между пиками, соответствующими отражениям от плоскостей (112) и (300);

I_{300} – интенсивность пика (300).

Кристалличность гидроксилапатита увеличивалась с 0,03 до 0,53 при повышении температуры с 15 до 99 °C. Также авторы оценивали изменение размеров ОКР по формуле Дебая-Шеррера. Было показано, что размер ОКР увеличивается с 20,8 нм до 52,7 нм при увеличении температуры.

Морфология образцов гидроксилапатита не изменялась при изменении температуры. Частицы кристаллизовались в виде иголок. Однако, на микрофотографиях отчётливо видно изменение размерных характеристик. При 15 °C иголки были меньшего размера и формировали агломераты, тогда как при увеличении температуры размер иголок увеличивался, а агломерации не наблюдалось. При этом размеры варьировались от 20 до 40 нм по толщине и от 100 до 300 нм по длине.

Влияние времени старения на кристалличность и размер ОКР изучались при температуре осаждения 80 °C. Показано, что при увеличении времени старения от 1 до 96 часов, кристалличность увеличивается с 0,13 до 0,44, а размер ОКР с 34 до 48 нм.

образца до термообработки.

В работе [29] авторы получали сферические частицы гидроксилапатита соосаждением. Соосаждение проводили из фосфорной кислоты (H_3PO_4) и гидроксида кальция ($Ca(OH)_2$). Процесс проводили при 40 °C до установления pH равным 9. Полученную суспензию выдерживали 12 ч при 60 °C для удаления оставшейся

адсорбированной воды. Для улучшения кристалличности полученного образца проводили отжиг при 1000 °С в течение 5 ч.

Авторы работы [30] исследовали влияние параметров термообработки порошков гидроксилапатита, полученных соосаждением с поверхностно-активным веществом, на дисперсность, состав и морфологию продукта. Для исследования были синтезированы частицы гидроксилапатита двух различных морфологий: сферической и в виде стержней. Раствор нитрата кальция ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) смешивали с раствором фосфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ при температуре 20 °С для получения сферических частиц и при температуре 80 °С для получения частиц в виде стержней. Полученная смесь перемешивалась в течение 24 ч при этой температуре. После этого осадок отделяли на центрифуге и промывали до нейтрального pH. В качестве поверхностно-активного вещества использовали полиакриловую кислоту. В дисперсию с частицами гидроксилапатита, полученными соосаждением, добавляли различное количество полиакриловой кислоты и раствор $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ для осаждения комплекса Са-полиакриловая кислота на поверхность частиц. Полученная смесь отфильтровывалась и сушилась при 80 °С. Затем порошок прокаливался при температурах 800 или 1000 °С в течение часа. После охлаждения образец отмывали в растворе NH_4NO_3 до нейтрального pH.

Полученные соосаждением сферические частицы имели средний размер 58 нм. Частицы в форме стержней были большего размера, 350 нм в длину. Образцы различной морфологии состояли только из фазы гидроксилапатита, однако, рентгенограмма сферических частиц характеризовалась сильным уширением, в то время как частицы в форме стержней имели больший размер областей когерентного рассеяния. После отжига сферических частиц без поверхностных модификаторов при температуре 800 °С увеличивалась кристалличность образца, а также наблюдалось появление фазы β -трикальций фосфата. Согласно литературным данным стехиометрический гидроксилапатит термически стабилен до температуры 1200 °С из чего следует, что синтезированные частицы обладали соотношением Са/Р меньше 1.67. При этом сферические частицы с поверхностным модификатором при отжиге при 800 °С сохраняли фазовый состав, что говорит о стабилизирующем действии модификатора. Исследования влияния количества модификатора на фазовый состав продуктов после отжига показал, что при соотношении полиакриловой кислоты к гидроксилапатиту более 3 наблюдается образование карбоната кальция CaCO_3 , что свидетельствует о неполном разложении модификатора. При увеличении температуры или времени отжига образования карбоната кальция не происходит. Зависимость фазового состава образца с частицами в форме стержней была аналогична. Единственное отличие заключалось в отсутствии образования трикальций

фосфата, что свидетельствует об образовании стехиометрического гидроксилапатита в данном случае.

Сканирующая электронная микроскопия образцов показала, что без использования модификатора получаемые частицы спекаются в крупные агломераты размером 10 – 20 мкм. Увеличение количества модификатора приводит к уменьшению степени агломерации частиц, а средний размер частиц уменьшается до 130 нм. Аналогичная закономерность наблюдалась для частиц в форме стержней.

Авторы работы [31] провели исследование влияния параметров синтеза, таких как pH, температура и время выдержки суспензии на кристалличность, размер ОКР и удельную поверхность получаемых образцов. Образцы гидроксилапатита получали осаждением из растворов хлорида кальция CaCl_2 и Na_2HPO_4 . pH раствора контролировали добавлением гидроксида натрия NaOH . Полученную суспензию перемешивали в течение различного времени, после чего фильтровали и промывали водой и спиртом. Для сравнения также получали образец аморфного фосфата кальция при pH равном 8 и температуре 25 °C без выдержки. Результаты исследования приведены в таблице 1.4.

При температуре 40 °C в осадок выпадал аморфный фосфат кальция не зависимо от pH и времени выдержки. Так, например, при pH равном 8, все образцы состояли из аморфного фосфата кальция даже при выдержке в течение 3х часов. При более высоких значениях pH (10 и 12), рассчитанный по формуле (1) коэффициент кристалличности был в пределах 20 – 40 %. При увеличении температуры до 80 °C возможно синтезировать гидроксилапатит различной кристалличности в пределах от 0 до 65 % путём контроля pH и выдержки. При промежуточной температуре 60 °C кристалличность сильнее зависит от pH чем от времени выдержки. В сильнощелочной среде (pH = 12) кристалличность была около 40 – 50 %. Размер ОКР полученных гидроксилапатитов также увеличивался с увеличением температуры синтеза. Увеличение температуры с 40 до 80 °C при pH равном 8 и времени выдержки 3 ч приводило к увеличению размеров ОКР с 165 до 219 Å. Влияние pH и времени выдержки на размер ОКР также носят прямую зависимость, то есть при увеличении параметра увеличивается размер. Изменение удельной поверхности полученных образцов коррелировало с их кристалличностью. Образцы гидроксилапатита, синтезированные при низких значениях pH, были аморфными и имели наибольшие значения удельной поверхности (105 – 139 м²/г). При увеличении pH увеличивалась кристалличность образцов, но падала их удельная поверхность.

Таблица 1.4 – Влияние условий синтеза на кристалличность и размер ОКР гидроксилапатита [31]

Условия синтеза			Результаты исследования свойств		
Температура, °C	pH	Время выдержки, ч	Коэффициент кристалличности	Размер ОКР, Å	Ca/P
40	8	0,5	-	120	1,61
		1	-	137	1,60
		2	-	132	1,57
		3	-	165	1,41
	10	0,5	20	188	1,75
		1	22	189	1,75
		2	24	196	1,71
		3	27	203	1,43
	12	0,5	-	143	1,41
		1	-	172	1,70
		2	-	159	1,72
		3	39	220	1,75
60	8	0,5	18	197	1,77
		1	23	201	1,79
		2	25	217	1,80
		3	27	207	1,37
	10	0,5	23	218	1,80
		1	28	210	1,77
		2	36	234	1,80
		3	37	230	1,55
	12	0,5	43	254	1,29
		1	44	244	1,65
		2	45	241	1,31
		3	46	269	1,76
80	8	0,5	29	214	1,79
		1	31	220	1,74
		2	27	207	1,52
		3	31	219	1,40
	10	0,5	-	160	1,73
		1	52	256	1,69
		2	53	276	1,71
		3	51	259	1,70
	12	0,5	34	200	1,64
		1	43	248	1,77
		2	52	259	1,63
		3	65	302	1,53

Авторы работы [32] исследовали влияние соотношения Ca/P в исходной смеси реагентов на свойства получаемого методом осаждения с мочевиной продукта. Для синтеза готовились растворы нитрата кальция $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, фосфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, мочевины $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ и азотной кислоты HNO_3 с соотношением Ca/P в пределах 1 – 1,67. Получение осадка проходило в две стадии. На первой проводилась выдержка при 80 °C в течение 24 ч

для получения октафосфата кальция, после чего температура поднималась до 90 °С и выдерживалась в течение 72 ч. pH раствора увеличивалось с 3 до 8 из-за образования аммиака в результате гидролиза мочевины.

Полученные в результате образцы состояли из чистой фазы гидроксилапатита, хотя авторы наблюдали ярко выраженную текстуру на рентгенограммах, вероятно связанную с формой полученных частиц. Изменение соотношения Са/Р в исходных растворах привело к изменению этого соотношения в конечных продуктах, хотя зависимость получилась не прямо пропорциональная (рисунок 1.13).

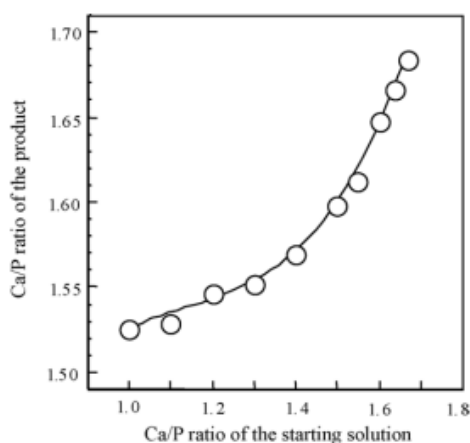


Рисунок 1.13 – Зависимость соотношения Са/Р в гидроксилапатите от соотношения компонентов в исходном растворе [32]

Изменение соотношения Са/Р в конечных гидроксилапатитах происходит в пределах 1,53 – 1,69. Исследования методом ИК-Фурье спектроскопии показали, что гидроксилапатит в полученных образцах характеризуется частичным замещением ионов PO_4^{3-} и OH^- на ионы CO_3^{2-} . При этом, чем выше стехиометрическое соотношение полученного образца, тем меньше интенсивность пиков, соответствующих карбонат ионам. Морфология полученных в работе образцов с различным соотношением компонентов представлена на рисунке 1.14.

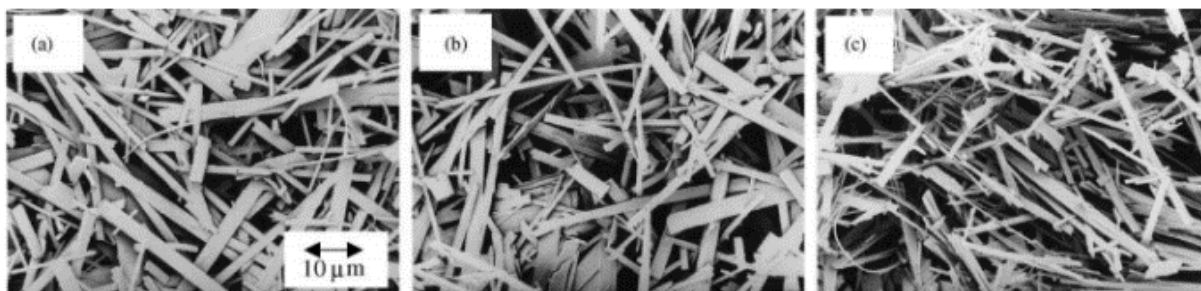


Рисунок 1.14 – Морфология образцов с различным стехиометрическим соотношением исходных компонентов [32]

Видно, что полученные частицы представляют собой волокна с наибольшим размером от 60 до 100 мкм. При увеличении стехиометрического коэффициента происходит небольшое уменьшение диаметра ширины частиц, при этом длина остаётся неизменной.

Главным недостатком использования мочевины для плавного изменения pH раствора при получении гидроксилапатита является выделение в ходе гидролиза газообразного CO_2 , который частично встраивается в структуру получаемого продукта. Для преодоления этого недостатка авторы работы [33] изучали возможность использования формамида (HCONH_2) и ацетамида (CH_3CONH_2) вместо мочевины для получения гидроксилапатита, а также влияние выбора амида на свойства получаемых продуктов.

Осаждение проводили в два этапа. На первом этапе готовили раствор нитрата кальция $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ и NH_4NO_3 в дистиллированной воде свободной от растворённого углекислого газа. К полученному раствору добавляли фосфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ до достижения требуемого стехиометрического соотношения Ca/P. На втором этапе полученный осадок фосфата кальция $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ растворяли при pH равном 3 добавлением азотной кислоты. В полученный раствор добавляли ацетамид или формамид и выдерживали при 100 °C в течение 1 – 14 дней. Полученный осадок фильтровали, промывали дистиллированной водой и сушили в вакууме.

Фазовый состав полученных после 6 часов старения образцов менялся при изменении количества используемого формамида. С увеличением его количества фазовый состав менялся от дикальцийфосфата (CaHPO_4) до гидроксилапатита. Дальнейшее увеличение количества формамида приводило к образованию аморфного фосфата кальция. Аналогичная картина наблюдалась при использовании ацетамида. Различие заключалось в том, что при использовании ацетамида возможно получить гидроксилапатит с более высокой кристалличностью. ИК-Фурье спектроскопия показала, что в образцах отсутствуют пики соответствующие COOH и CN группам, тем самым подтверждая гипотезу о предпочтительном использовании амидов вместо мочевины для получения чистых образцов гидроксилапатита.

На рисунке 1.15 изображены зависимости фазового состава полученных продуктов в зависимости от pH суспензии после старения и времени старения.

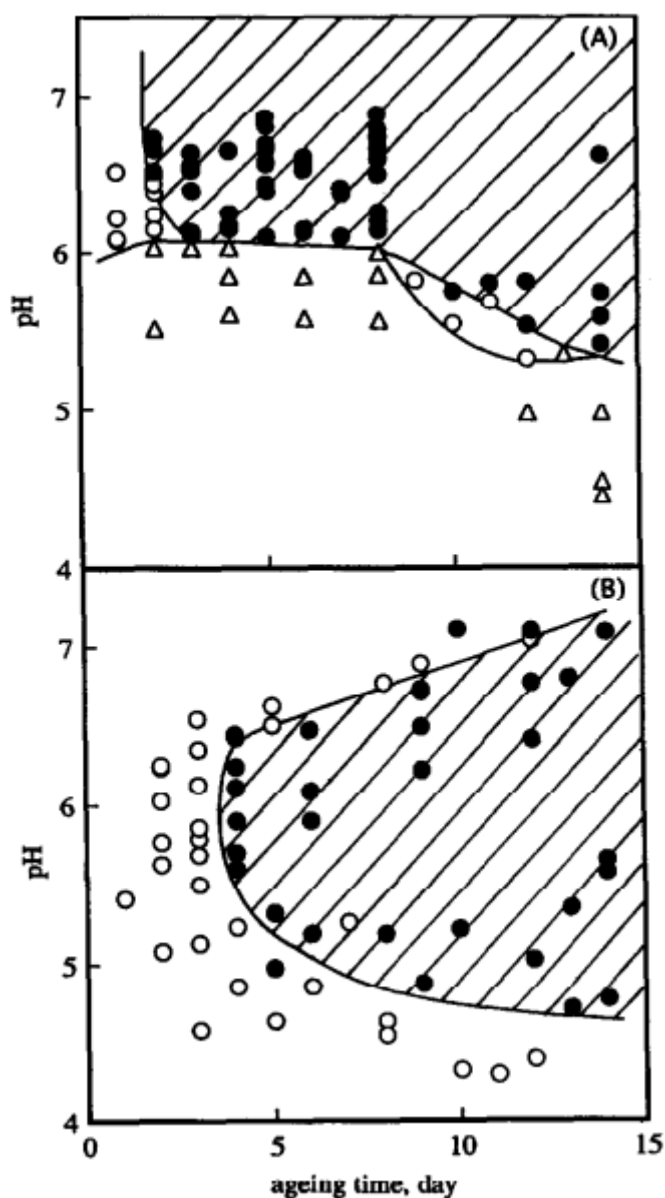


Рисунок 1.15 – Зависимость фазового состава продуктов от pH суспензии после старения и времени старения. Заштрихованная область соответствует однофазному гидроксилapatиту [33]

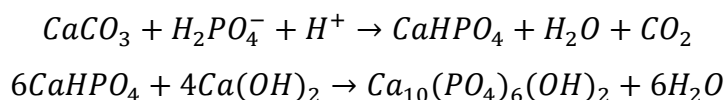
Из рисунка видно, что гидроксилapatит стабилизируется при увеличении pH и времени старения. Стоит также отметить, что при использовании ацетамида и формамида возможно получения гидроксилapatита при кислотных pH. Возможно, это также связано с присутствием нитрата аммония в исходном растворе. Морфология получаемых продуктов сильно зависела от количества используемого амида. Так при низких концентрациях частицы кристаллизовались в форме пластин, в то время как при увеличении концентрации преобладала игольчатая форма частиц.

1.2.3 Гидротермальный синтез

Сущность гидротермального синтеза заключается в одновременном воздействии на синтезируемый образец повышенных температуры и давления. В основе гидротермального метода получения гидроксилапатита лежит гидролиз фосфатов кальция (CaHPO_4 , $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, хлорапатита и фторапатита) или слаборастворимых солей кальция (CaCO_3 и $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), который проводят при повышенных температурах и давлениях с контролем соотношения Ca/P .

Синтез гидроксилапатита возможен из природного источника кальция – кораллов *Porites* – которые в основном состоят из арагонита (CaCO_3) [34]. В этой работе синтез осуществляли в две стадии с использованием различных реагентов. На первой стадии арагонит растворяли вместе с одним из фосфатов кальция ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ или CaHPO_4) в воде с содержанием фосфорной кислоты H_3PO_4 . После проводили гидротермальную обработку в автоклаве при температуре 160 °C и давлении 1 МПа и при 200 °C и 2 МПа. На второй стадии к получившемуся продукту добавляли гидроксид кальция ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), после чего процедуру термообработки повторяли при тех же условиях.

Фазовый состав получившихся продуктов показал, что на первой стадии образуются кристаллы дикальцийфосфата (CaHPO_4) и арагонита. Морфология продуктов, полученных на этом этапе, получается двух видов (рисунок 1.16) - в виде пластинок и в виде стержней. На второй стадии гидротермальной обработки с добавлением гидроксида кальция происходит превращение фосфата и гидроксида в гидроксилапатит. Однако, в составе получаемых продуктов присутствуют примеси арагонита и фосфата CaHPO_4 даже после проведения процесса при 200 °C в течение 7 часов. Рост кристаллов гидроксилапатита происходит на поверхности фосфата кальция, что хорошо заметно на микрофотографиях полученных продуктов. Проведённые исследования позволили сделать вывод о реакциях, протекающих в ходе синтеза:



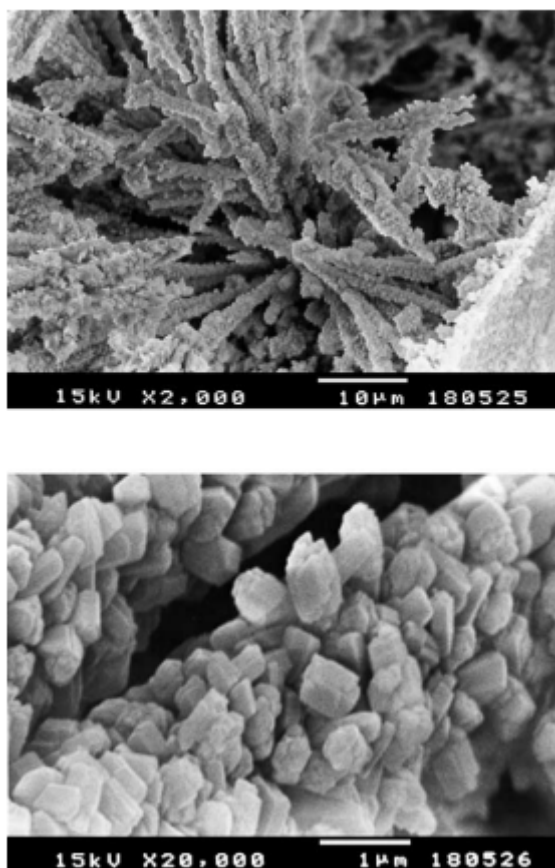


Рисунок 1.16 – Морфология кристаллов гидроксилапатита, получающихся в результате гидротермальной обработки дикальций фосфата, арагонита и гидроксида кальция [34]

Авторы работы [35] использовали для синтеза гидроксилапатита гидротермальным методом добавки альфа-аминопропионовой и глутаминовой кислот. Синтез проводился из раствора хлорида кальция и фосфорной кислоты при pH равном 10. Сначала проводился процесс осаждения, после чего полученная суспензия выдерживалась при 100 °C в автоклаве.

Было отмечено, что в обоих случаях конечным продуктом является кристаллический гидроксиапатит. Кристалличность продукта оказалась лучше в случае использования альфа-аминопропионовой кислоты. Различия в кристалличности, скорее всего, связаны с полярностью использованных кислот. Чем ниже полярность кислоты, тем выше кристалличность получаемого продукта. При этом при синтезе без использования кислот в данных условиях продукт состоит из фазы монетита, что говорит о промотирующем действии кислот на образование гидроксилапатита. Морфология продуктов, полученных с использованием различных добавок, схожа, частицы кристаллизуются в виде иголок. Однако размеры частиц немного отличаются и составляют 80 x 15 нм при использовании альфа-аминопропионовой кислоты и 50 x 10 нм при использовании глутаминовой кислоты.

В работе [36] наночастицы гидроксилапатита получали методом гидротермального синтеза с использованием микроволнового нагрева. Для синтеза готовили раствор

гидроксида кальция и фосфорной кислоты с соотношением Са/Р равным 1.67. Полученный раствор нагревали в микроволновой печи с частотой 2,45 ГГц и плотностью энергии 5 Вт/мл в течение 90 с. Давление в реакторе контролировали на уровне 1 МПа.

Удельная поверхность синтезированных частиц гидроксилапатита составила 236 м²/г. Данные рентгенофазового анализа подтвердили, что синтезированный порошок представляет собой кристаллический гексагональный гидроксилапатит. Соотношение Са/Р полученного гидроксилапатита составило 1.57, что достаточно близко к соотношению минеральной составляющей костной ткани человека. Также полученный образец содержал магний (0,22 вес.%), кремний (0,025 вес.%), натрий (0,0125 вес.%) и марганец (0,0075 вес.%). Полученные частицы представляли собой сферы с диаметром в интервале 5 – 20 нм (рисунок 1.17). ИК-Фурье спектроскопия показала наличие поглощения от ионов CO₃²⁻.

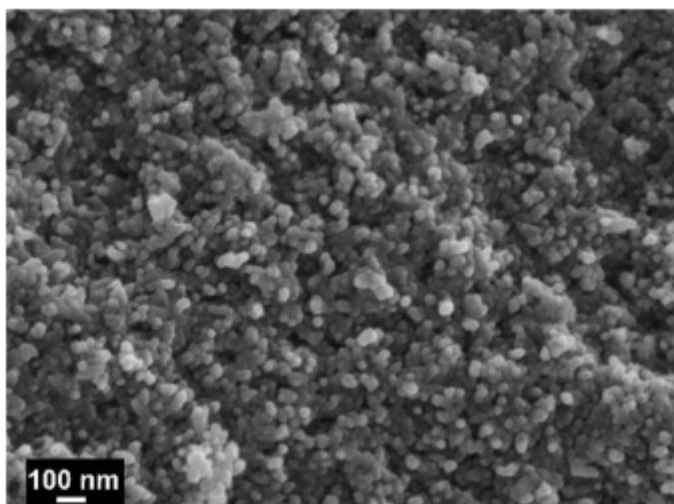


Рисунок 1.17 – Морфология образцов, полученных гидротермальным методом с использованием микроволновой энергии [36]

1.2.4 Механохимический синтез

В работе [37] авторы синтезировали гидроксилапатит механоактивацией смеси гидроксида кальция и пентоксида фосфора. Процесс проводили в контейнере из оксида циркония объёмом 500 мл с использованием 8 шаров с диаметром 20 мм из оксида циркония. Отношение массы шаров к порошку было равно 35, а частота вращения устанавливалась равной 300 мин⁻¹.

Полученный после 6 ч размола порошок состоял только из фазы кристаллического гидроксилапатита со средним размером ОКР 41,5 нм и деформацией кристаллической решётки 1,39 %.

Авторы работы [38] исследовали влияние времени механической активации на характеристики получаемого гидроксилапатита. Процесс проводили с использованием фосфата кальция ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) и гидроксида кальция ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) в качестве исходных компонентов. Синтез проводили в стальных ячейках с использованием стальных шаров с частотой вращения 370 мин^{-1} . Соотношение массы размольных тел к исходным материалам составляла 6.

Было показано, что при обработке в течение 5, 10 и 15 часов продукт состоял из кристаллического гидроксилапатита. Кристалличность и размер ОКР увеличивались при увеличении времени обработки. Размер ОКР увеличивался с 19 нм до 21 нм. Морфология продукта реакции после механической активации в течение 15 часов представляла собой агломераты частиц размером порядка 300 нм (рисунок 1.18). Стехиометрическое соотношение Ca/P было близко к теоретическому и составило 1,677.

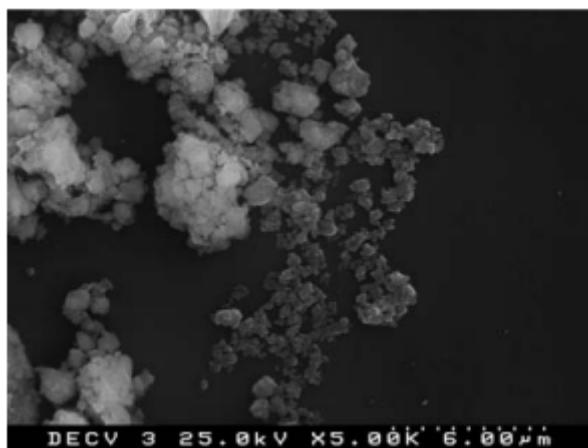


Рисунок 1.18 – Морфология гидроксилапатита, полученного методом механоактивации [38]

В работе [39] авторы исследовали зависимость влияния выбора исходных компонентов и атмосферы на фазовый состав получаемых продуктов. В качестве исходных компонентов использовались безводный дикальций фосфат (CaHPO_4), дикальций фосфат дигидрат ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), гидроксид кальция ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) и карбонат кальция (CaCO_3). Синтез проводили в 350 мл стаканах с использованием 20 10 мм, 10 15 мм и 4 20 мм шаров. Частота вращения составляла 225 мин^{-1} . Для исследования влияния атмосферы проводили эксперименты на воздухе и в азоте.

Полученные результаты показали, что при использовании в качестве исходных компонентов смеси CaO и CaHPO_4 фазовый состав не меняется. Использование в качестве исходных компонентов CaO и $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ приводит к образованию гидроксида кальция. При этом при использовании смеси $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Ca}(\text{OH})_2$ после помола образуется

низкокристаллический гидроксилapatит. Полученные результаты свидетельствуют о большей реакционной активности $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Ca}(\text{OH})_2$ по сравнению с CaO и CaHPO_4 . Рентгенограмма полученного гидроксилapatита соответствует спектру, полученному при исследовании минеральной составляющей костной ткани, из чего можно предполагать идентичные физико-химические свойства полученного синтетического материала.

Исследование зависимости атмосферы при помоле на фазовый состав показали, что для синтеза гидроксилapatита из смеси $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Ca}(\text{OH})_2$ требуется наличие углекислого газа, так как при синтезе в атмосфере азота происходит лишь измельчение фаз, но не образование кристаллов гидроксилapatита. Данные также подтверждаются тем фактом, что при добавлении в смесь карбоната кальция наблюдается образование гидроксилapatита в атмосфере азота. ИК-Фурье спектроскопия показала, что полученные образцы гидроксилapatита содержали в составе карбонат ионы CO_3^{2-} .

Авторы [40] проводили исследование кинетики образования гидроксилapatита механохимическим синтезом из оксида кальция (CaO) и дигидрата дикальций фосфата ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Для синтеза порошок дигидрата дикальцийфосфата смешивался с порошком оксида кальция для получения требуемой стехиометрии, которая варьировалась в пределах соотношения Ca/P от 1,5 до 1,7. Механохимический синтез проводили в 500 мл стаканах с использованием 5 шаров с диаметром 26 мм. Синтез проводили параллельно в двух различных мельницах для проверки воспроизводимости эксперимента.

Было показано, что возможно контролировать соотношение Ca/P с точностью $\pm 0,005$. В результате проведенных исследований были сделаны выводы о том, что в результате синтеза получается порошок гидроксилapatита, состоящий из нанокристаллов размером 20 нм; время полного превращения исходных компонентов пропорционально массе измельчаемого порошка; время полного исчезновения дигидрата дикальций фосфата не зависит от соотношения Ca/P ; время полного завершения реакции увеличивается экспоненциально с изменением соотношения Ca/P ; время исчезновения дигидрата дикальций фосфата и время полного завершения реакции совпадают только при соотношении исходных компонентов, взятых в соответствии с соотношением Ca/P равным 1,5. Полученные результаты позволяют сделать вывод о механизме протекания реакции в 2 стадии: (1) оксид кальция реагирует с дигидратом дикальцийфосфата с образованием аморфного фосфата кальция, который трансформируется в кальций дефицитный гидроксилapatит с соотношением $\text{Ca/P} = 1,5$. В тоже время происходит гидролиз оксида кальция с образованием гидроксида кальция. (2) Если соотношение $\text{Ca/P} > 1,5$ в начальной смеси, гидроксид кальция реагирует с кальций дефицитным гидроксилapatитом образуя связи с HPO_4 группой до тех пор, пока соотношение Ca/P не достигнет исходного значения.

1.2.5 Плазменный синтез

Метод плазменного синтеза гидроксилapatита наряду с такими достоинствами, как простота процесса, воспроизводимость, а также высокая производительность и простое масштабирование технологии имеет значительный недостаток, заключающийся в образовании в ходе процесса синтеза нежелательных фаз, таких как трикальцийфосфаты, оксид кальция, тетракальцийфосфат и аморфный фосфат кальция.

В работе [41] авторы попытались решить проблему путём совмещения методов золь-гель и плазменного синтеза гидроксилapatитов. Для этого исходным материалом плазменного синтеза был золь гидроксилapatита. Основными параметрами, влияющими на свойства получаемых продуктов методом плазменного синтеза, являются мощность высокочастотного генератора, давление в системе, скорость потока газа носителя и скорость подачи реагента. Наиболее важным параметром является мощность высокочастотного генератора, влияние которой на свойства получаемого гидроксилapatита исследовалось в работе.

Золь гидроксилapatита был синтезирован из золя триэтилфосфата, который диспергировался в абсолютном спирте. В полученный золь добавлялось небольшое количество воды для проведения процесса гидролиза. После окончания гидролиза, в полученный раствор добавлялся раствор нитрата кальция в абсолютном спирте в количестве, требуемом для получения соотношения Ca/P равном 1.67. Полученный раствор подвергался старению при комнатной температуре.

Полученный золь аксиально вводился в систему плазменного синтеза, а полученный порошок улавливался на стальном фильтре. Синтез проводили при различных мощностях высокочастотного генератора. Фазовый анализ полученных порошков показал, что они состоят на 60 % из гидроксилapatита, α -трикальций фосфат и оксид кальция, остальное. При этом количественно фазовый состав не меняется при изменении мощности высокочастотного генератора. Полученные частицы имели сферическую морфологию и размер 30 – 70 нм (рисунок 1.19). При этом при увеличении мощности высокочастотного генератора, размер частиц уменьшался, при этом морфология остаётся неизменной. Также было показано, что при использовании низкой мощности, образцы характеризуются наличием примесей CO_2 и H_2O .

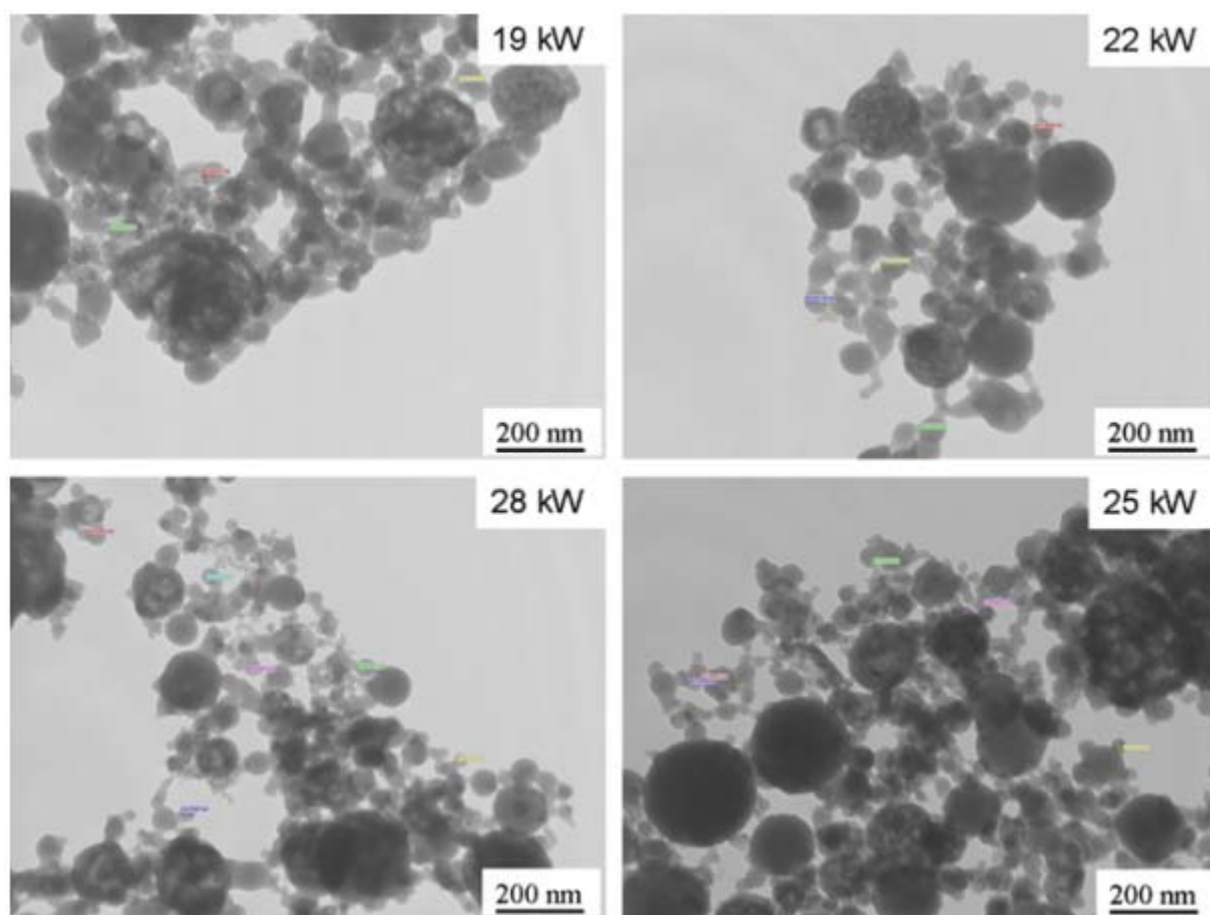


Рисунок 1.19 – Морфология частиц порошка гидроксилапатита, синтезированного при различной мощности

Авторы работы [29] получали сферические частицы гидроксилапатита из порошков гидроксилапатита, полученных методом соосаждения с последующей распылительной сушкой. Исходный порошок представлял из себя сферические частицы с размером 1 – 20 мкм. Плазменное распыление проводили в атмосфере аргона при различных мощностях высокочастотной плазмы.

В результате проведения процесса были получены нанопорошки, агломерированные в микрометровые частицы сферической формы. Фазовый анализ показал, что гидроксилапатит частично разлагается до α -трикальцийфосфата ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) и оксида кальция (CaO). Степень разложения зависит от мощности высокочастотной плазмы. Зависимость имеет экстремальный характер, что связано с наличием конкурирующих процессов, влияющих на физико-химические параметры системы. При увеличении мощности плазмы также уменьшается время нахождения порошка в горячей зоне реакции, и наоборот. Таким образом, увеличение мощности плазмы приводит к увеличению температуры поверхности частицы, однако уменьшение мощности ведёт к увеличению времени нахождения порошка в зоне реакции, что также приводит к увеличению температуры поверхности. В работе было показано, что при использовании мощности

плазмы, составляющей 20 кВт, разложение гидроксилapatита минимально. Исследование полученных наночастиц методом просвечивающей электронной микроскопии показало, что образец состоит из сферических частично спечённых частиц размерами 10 – 100 нм (рисунок 1.20).

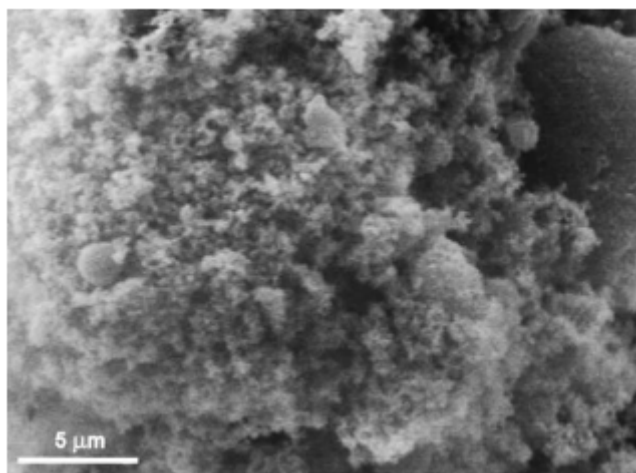


Рисунок 1.20 – Морфология наноструктурных сферических порошков гидроксилapatита, полученных плазменным методом

1.2.6 Метод лазерной абляции

Авторы работы [42] получали нанопорошок гидроксилapatита из массивного образца гидроксилapatита методом лазерной абляции в жидкости. В качестве среды использовалась деионизированная вода. Мишень гидроксилapatита закреплялась на дне стеклянного стакана, который заполнялся водой. Гидроксилapatит подвергался воздействию импульсов лазерного излучения с длиной волны 355 нм, частотой 30 Гц, длительностью каждого импульса 5 – 7 нс и мощностью 30 мВт. При проведении процесса мишень вращалась для предотвращения образования сильных следов абляции. В результате проведения процесса получалась суспензия гидроксилapatита, которая исследовалась рядом методов.

Рентгенофазовый анализ образцов показал, что получившийся порошок представляет собой гексагональный гидроксилapatит без видимых примесей других фосфатов кальция. Полученные частицы имели сферическую морфологию с диаметрами частиц от 5 до 25 нм и средним размером 13 нм (рисунок 1.21). Исследование элементного состава поверхности методом РФС показало, что образец не содержит примесей, а соотношение Са/Р составляет 2.1. Однако, исследование образца методом ИК-Фурье спектроскопии показало наличие следовых количеств карбонат ионов, частично заместивших OH^- .

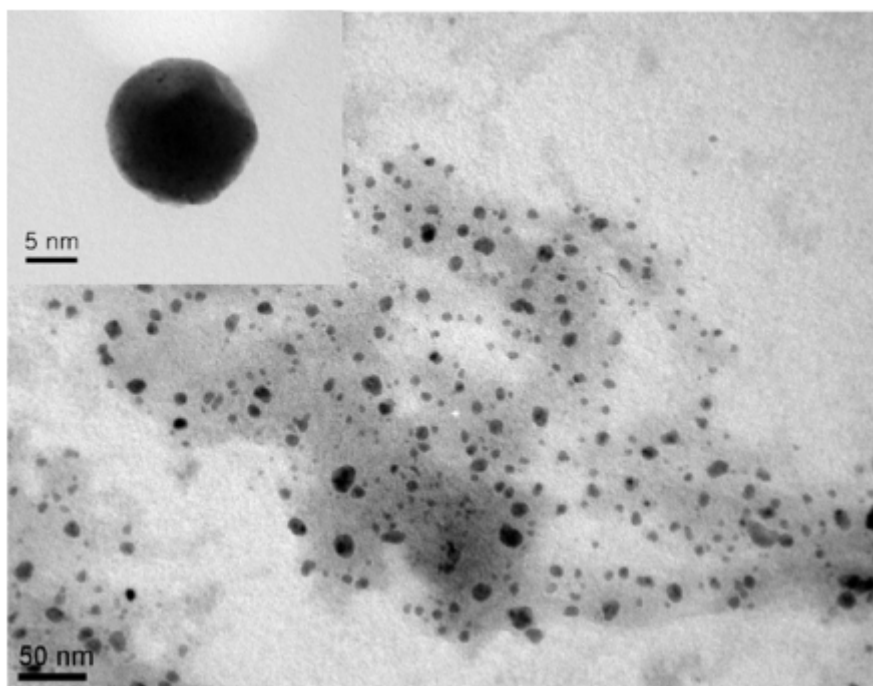


Рисунок 1.21 – Морфология коллоидных наночастиц гидроксилапатита, полученных методом лазерной абляции [42]

В работе [43] авторы получали наноразмерные частицы гидроксилапатита методом лазерной абляции с использованием импульсов с длиной волны 337 нм, длительностью импульса 10 нс с частотой 5 Гц мощностью 1 МВт. Образец массивного гидроксилапатита помещался в стеклянный стакан с водой.

Полученные в ходе синтеза частицы в основном имеют сферическую морфологию и средний размер порядка 80 нм. Соотношение Ca/P, установленное методом РФС, для синтезированных наночастиц получилось равным 1,9, что на 10 % выше стехиометрического. Рамановский анализ полученных частиц и исходного образца показал, что спектры идентичны друг другу, из чего авторы делают вывод об идентичности кристаллической структуры образцов. Следует отметить, что в публикации не приводятся результаты исследования методом рентгеновской дифракции.

1.2.7 Метод электроспиннинга

Авторы [44] использовали процесс электроспиннинга для получения волокон из гидроксилапатита. Для синтеза была приготовлена смесь нитрата кальция и триэтиловый эфир фосфорной кислоты с соотношением Ca/P 1,67. Полученная смесь растворялась в 2-метоксиэтаноле и дистиллированной воде, после чего смесь выпаривалась при 80 °С до получения субстанции требуемой вязкости. Полученный прекурсор смешивался с высокомолекулярным полимером для получения раствора для электроспиннинга. Раствор пропускали через сопло, к которому было приложено высокое напряжение. Волокна

собирались на металлической фольге. Полученные образцы отжигались при различных температурах для получения волокон гидроксилапатита. Полученный после электроспиннинга материал согласно данным рентгеновской дифракции представляет из себя аморфный материал. Отжиг при 500 °С приводит к образованию многофазной смеси из гидроксилапатита, трикальций фосфата и оксида кальция. После отжига при 600 °С материал состоял только из кристаллического гидроксилапатита. Полученные волокна имеют средний диаметр около 25 мкм, которые состоят из частиц размером около 1 мкм (рисунок 1.22).

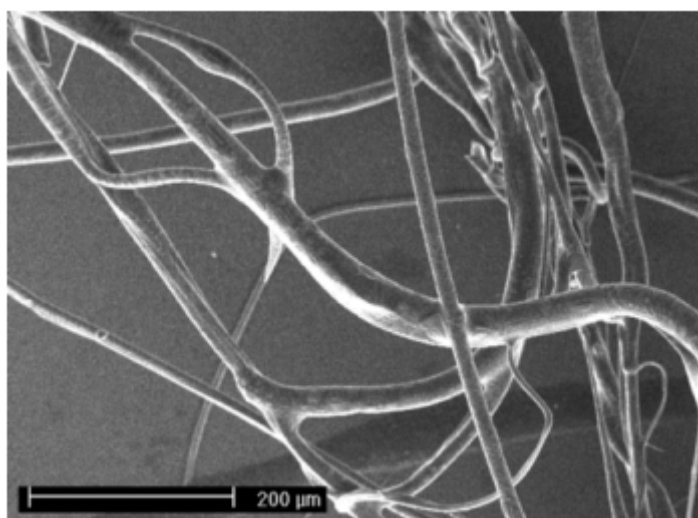
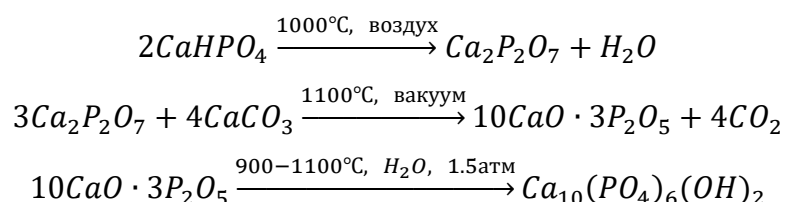


Рисунок 1.22 – Микрофотография волокон гидроксилапатита [44]

1.2.8 Метод твердофазного синтеза

В основе твердофазных методов синтеза лежат топохимические реакции между твёрдыми кальций и фосфорсодержащими компонентами. Обычно этими методами получают высококристаллический гидроксилапатит, однако для этого требуются высокие температуры и длительные времена выдержки.

Авторы работы [45] получали гидроксилапатит по реакциям:



Сначала соль гидроортофосфата кальция прокаливалась при 1000 °С для получения пиррофосфата, являющегося более стабильным реагентом, по сравнению с

гидроортофосфатом. Полученная соль, а также карбонат кальция измельчались в ступке, перемешивались и прессовались в таблетки, после чего проводился отжиг в вакууме при 1100 °С для удаления карбонат ионов. На последнем этапе проводилось насыщение полученных образцов водой при температуре 900 – 1100 °С и давлении водяных паров 1.5 атм.

Согласно данным термогравиметрии, остаточное количество карбонат ионов в гидроксиапатите примерно равнялось 0,04 вес.%. Увеличение веса при насыщении образцов водой на 3м этапе связано с внедрением в кристаллическую решётку ОН группы. Насыщение составило около 99 вес.%. Стехиометричность и чистота получаемого этим методом гидроксиапатита определяется только чистотой исходных компонентов при условии, что в ходе проведения процесса не происходит сублимации компонентов. Авторы отмечают, что при используемых условиях таких процессов не наблюдалось.

Авторы [46] исследовали влияние молярного соотношения и температуры термообработки при синтезе гидроксиапатита твердофазным методом из коммерчески доступных материалов трикальцийфосфата и гидроксида кальция. Порошки диспергировались и смешивались в воде, после чего из полученных паст формовались диски и высушивались при 80 °С. Полученные таблетки отжигались на воздухе при температурах 600 – 1250 °С.

В результате анализа фазового состава полученных образцов было установлено, что однофазные образцы гидроксиапатита получают при сохранении молярного соотношения β -трикальций фосфата и гидроксида кальция равным 3/2 и 1, и при проведении отжига при 1000 °С в течение 8 ч и при 1150 и 1250 °С в течение 2 часов. ИК-Фурье спектроскопия полученных продуктов не показала наличия примесных ионов в данных образцах. Морфология полученных образцов представляет собой агломераты частиц неправильной формы со средним размером 18 – 20 мкм.

Сравнение возможностей и описание различных методов представлены в таблице 1.6. Как видно из таблицы, наибольшие возможности в части управления свойствами частиц гидроксиапатита располагают химические метод – золь-гель синтез, соосаждение и гидротермальный синтез.

Таблица 1.6 – Основные возможности методов получения порошковых материалов на основе гидроксилapatита

Название метода	Основные параметры, влияющие на характеристики продукта	Возможные примеси	Кристалличность	Размер частиц	Морфология частиц
1	2	3	4	5	6
Золь-гель синтез	Состав прекурсоров Время реакции pH среды	$\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$, исчезает при отжиге при 600°C CaO	Низкая, увеличивает ся при нагреве	50 – 100 нм	Частицы неправильной формы
Соосаждение	Состав прекурсоров Концентрация реагентов Температура синтеза pH среды Время реакции	Примесные количества промежуточного соединения $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ при использовании мочевины Без примесей при использовании классического соосаждения	Высокая при использовании мочевины для контроля pH Низкая при соосаждении и при низких температурах	50 - 100 нм x 0,3 - 100 мкм	Игольчатая, пластинчатая, структуры типа «одуванчик», сферическая при использовании распылительной сушилки
Гидротермальный синтез	Состав исходных прекурсоров Температура синтеза	CaCO_3 CaHPO_4	Высокая	10 – 500 нм	Частицы в виде стержней Игольчатая Сферическая
Механохимический синтез	Время реакции Состав исходных компонентов Состав атмосферы синтеза	Непрореагировавшие исходные компоненты	Высокая	600 нм	Частицы неправильной формы
Плазменный синтез	Мощность высокочастотного генератора	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ CaO	Нет данных	Агломераты размером 10 мкм, состоящие из частиц 100 – 200 нм	Сферическая

Продолжение таблицы 1.6

1	2	3	4	5	6
Лазерная абляция	Частота и мощность импульсов	Метод использует массивный гидроксилapatит в качестве исходного вещества, соответственно, наличие примесей определяется чистотой исходных компонентов	Нет данных	5 – 100 нм	Сферическая
Метод электроспиннинга	Вязкость исходного раствора Напряжение на сопло	Материал чистый после правильной термообработки	Низкая, требуется отжиг при 600 °С	25 мкм	Волокна
Твердофазный синтез	Температура синтеза Время синтеза Состав исходных компонентов	Чистота определяется чистотой исходных компонентов	Высокая	18 – 20 мкм	Частицы неправильной формы

1.3 Области применения гидроксилapatита

Хирургическая операция эндопротезирования, при которой разрушенные болезнью части заменяются искусственными биосовместимыми аналогами, такими как, например, высокомолекулярный полиэтилен $((-\text{CH}_2-\text{CH}_2-)_n)$, оксиды алюминия (Al_2O_3) и циркония (ZrO_2), биосовместимые металлы (Ti и Ta), находят все большее применение в современной медицине [47- 49]. Для улучшения биологических свойств металлических имплантатов в настоящее время активно используются наноструктурированные апатитные покрытия, способствующие прямой остеоинтеграции с костью, повышению костной фиксации имплантата и ускорению роста кости [50]. Необходимой задачей для развития данной области является разработка новых биоинертных и нетоксичных материалов, способных образовывать связи с костью напрямую [51]. К таким материалам относится гидроксилapatит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, перспективы применения которого в восстановительной хирургии (лечение заболеваний и повреждений опорно-двигательного аппарата человека, челюстно-лицевая хирургия, заполнение поврежденных частей костей), стоматологии, а также в качестве компонентов зубных паст, косметических и гигиенических средств, биологически

активных добавок [52-54], постоянно увеличиваются благодаря высокой биосовместимости, износостойкости, нетоксичности, простоте и доступности биоактивных покрытий на его основе. Гидроксилapatит является основной неорганической фазой костей и твердых тканей зубов, в связи с чем широко исследуется в качестве наполнителя и протезного покрытия [54].

1.3.1 Наноструктурированная гидроксилapatитная керамика

Развитие материаловедения позволяет решать ряд современных проблем в области медицины, в том числе связанных с лечением нарушений костной ткани, возникающих в результате заболеваний и травм [52, 55-60]. Хирургические операции могут приводить к серьезным послеоперационным дефектам и нарушению работы опорно-двигательного аппарата и органов. В настоящее время дефекты костей устраняют путем введения имплантатов, материалы которых должны удовлетворять основным требованиям по химической, биологической и механической совместимости с живым организмом. К таким материалам относится гидроксилapatит – аналог минеральной составляющей костной ткани человека по фазовому и химическому составу [61-67]. Главное преимущество биологически активного в отношении связи с костной тканью ГА перед биоинертными металлами и полимерами заключается в отсутствии отторжения и отрицательных реакций организма [68-72]. Однако в ряде случаев гидроксилapatитные материалы не имеют достаточной степени надежности для продолжительных физиологических нагрузок из-за малого запаса прочности материала. В связи с этим исследования по созданию высокопрочной гидроксилapatитной керамики в настоящее время являются особенно актуальными. Одним из наиболее перспективных подходов по решению данного вопроса является переход от микро- к наноразмерному состоянию вещества [73, 74].

Кальцийфосфатные материалы являются популярными объектами исследования как в России, так и за рубежом, что, согласно [75], обусловлено ростом числа травм, а также возрастными, генетическими и онкологическими заболеваниями, связанными с нарушениями функций костной ткани. Приоритетным направлением в развитии костной имплантологии является восстановление функциональной недостаточности отдельных органов и опорно-двигательного аппарата с сокращенным сроком реабилитации путем разработки материала, не вызывающего нежелательных процессов взаимодействия с тканями и межтканевыми жидкостями, обладающего достаточными для восстановления и нормального функционирования организма после операции механическими характеристиками, а также способствующего биоинтеграции имплантата или процессу образования новой костной ткани [76]. По происхождению подобные материалы

разделяются на биологические и синтетические [66]. К первой группе относятся вещества, полученные измельчением в порошок и деминерализацией животной кости (аллотрансплантаты), брешковости эмбрионального происхождения (аутоотрансплантаты) или кости самого пациента [77-81]. Применение тканей биологического происхождения осложняется высокой вероятностью отрицательных иммунных реакций, рисками ослабления донорской кости и передачи инфекций, дополнительным хирургическим вмешательством, содержанием тяжелых металлов в аллотрансплантатах и ограниченностью использования, поэтому удобные, доступные и простые в получении биосовместимые синтетические материалы являются более перспективными [82, 83]. Концентрация примесей минеральной составляющей костной ткани (Na, K, Mg, Zn, Fe, Cu, F, Ba, Cl, S и C) не превышает 5 %, но оказывает значительное влияние на биологические, механические и оптические свойства.

Синтетические материалы на основе кальцийфосфатов, а в особенности остеотропный гидроксилапатит, пользуются наибольшей популярностью в ортопедических и стоматологических исследованиях из-за этических и медицинских аспектов, начиная с 60х годов прошлого столетия [84]. Обширный практический интерес к материалу связан с детальным изучением состава, структуры и свойств костной ткани, а также установлением соотношения в биогенном апатите Ca/P, равного 1,67 [61, 85]. Керамика на основе гидроксилапатита способна образовывать биodeградирующую связь непосредственно с костью без каких-либо токсических реакций местного или общего характера [86]. В нейрохирургии она может быть использована в качестве заместителя дефектов черепа и наполнителя трепанационных трещин. В случае применения костной ткани пациента или, например, полиметилметакрилата, согласно [87], процесс сопровождается локальными воспалительными реакциями и кожной деформацией, связанной с резорбцией материала, поэтому использование плотной керамики на основе синтетического гидроксилапатита с повышенной прочностью и устойчивостью к агрессивной коррозионной среде живого организма в настоящее время является предпочтительным.

С точки зрения физики конденсированного состояния, биогенные и некоторые синтетические ГА представляют собой твердые растворы замещения, так как содержат в своей структуре множество примесных атомов, образующих ионные комплексы и группы, искажающие параметры кристаллической решетки, а также новые фазы, поэтому для их применения, например, при замене костной ткани или восстановлении зубной эмали, необходима детальная информация о структуре, механических и оптических свойствах материала.

Нанесение гидроксилapatитных покрытий на металлические имплантаты позволяет добиться биологической совместимости и биоинтеграции в костную ткань [88], что способствует нормальному функционированию вводимых конструкций, а также их прочной и длительной связке.

Гидроксилapatитную керамику активно применяют в лечебной практике костных и зубных повреждений. На ее прочность и плотность существенно влияют процессы роста кристаллической фазы, изменение морфологии и дисперсности, поэтому при изготовлении материала необходим точный контроль структуры и состава. Согласно [73], высокие механические свойства керамики из гидроксилapatита могут быть достигнуты путем использования в качестве исходных материалов наноразмерных порошков. По данным [68, 89] предел прочности при растяжении, сжатии и изгибе плотной керамики из гидроксилapatита соответствует 35-250, 120-150 и 38-300 МПа соответственно. Широкий интервал значений связан со статистическим характером распределения прочности: влиянием остаточной пористости, различным средним размером кристаллов и наличием примесей. Максимальное значение прочности достигается при соотношении $\text{Ca/P} = 1,67$ [68]. Модуль функции Вейбулла находится в диапазоне от 5 до 18, модуль Юнга при изгибе соответствует 44-88 ГПа, а твердость по Виккерсу равна 3-7 ГПа. Значения коэффициента трения и сопротивления износу ГА соизмеримы с аналогичными показателями для зубной эмали. Трещиностойкость находится в диапазоне от 0,8 до 1,2 МПа·м^{1/2}, линейно уменьшаясь с ростом пористости [58, 68, 90].

Наноструктурированный гидроксилapatит обладает повышенными прочностными характеристиками, согласно зависимости Холла-Петча, способностью адсорбировать необходимые для жизнедеятельности клеток белки и избирательностью функций клеток, образующих костную и фиброзную ткани [74]. Для улучшения биологических свойств используется химическое модифицирование кристаллической решетки изоморфными примесями. С целью приближения состава и свойств синтетического материала к природной кости минеральная фаза обогащается натрием, магнием, калием, хлором, фтором и анионными группами карбонатов, сульфатов и силикатов [64, 91-95]. При этом на биологические свойства особое внимание оказывают анионные и катионные замещения; в первом случае реализуемые карбонатными и силикатными группами, а во втором – ионами магния и натрия. Изоморфные примеси, повышая энергию решетки, способствуют образованию дефектов и искажений в структуре керамики из ГА, что отражается на стадиях получения и при физиологических процессах в живом организме.

Под действием коррозионно-активных сред и при наличии механических напряжений активируются процессы увеличения микроструктурных искажений и

дефектов, скорость которых зависит от величины показателя степени коэффициента интенсивности приложенных напряжений, определяемый методом динамической усталости при исследовании зависимости прочности от скорости деформирования образца [96]. В сухих условиях данный коэффициент может изменяться от 26 до 80, а во влажной среде – от 12 до 49, что свидетельствует о высокой чувствительности гидроксилapatитной керамики к росту дефектов.

Использование более растворимой фазы трикальцийфосфата (ТКФ) в качестве второго компонента композиционного материала «ГА-ТКФ» повышает резорбируемость гидроксилapatитной керамики. Изменяя соотношение этих двух компонентов, можно регулировать кинетику биодеградации материала. ТКФ растворяется в жидкости организма, что способствует процессу минерализации [97, 98]. Композиты на основе ГА и ТКФ получают путем термического разложения кальцийдефицитного апатита при высоких температурах (более 700 °C) или механическим смешением [99, 100].

По данным [101-104], материалы на основе изоморфного ГА занимают лидирующее место для получения покрытий имплантатов медицинского назначения. Композиционные и кальцийфосфатные материалы, стеклокерамика и биостекла клинически применяются в ортопедии и стоматологии, начиная с 1980 года. В 1970х годах кальцийфосфатные материалы начали применяться в качестве заместителей костной ткани и наполнителей дефектов [105], благодаря их структурному, поверхностному сходству и крепкому сцеплению без образования фиброзной соединительной ткани [106, 107]. Для применения в качестве цемента в настоящее время рассматриваются материалы на основе гидроксилapatита, кальцийфосфата, октакальцийфосфата, трикальцийфосфата, тетракальцийфосфата и фторапатита, генерирующие низкий теплообмен, что способствует сохранению окружающих клеток [108]. Гидроксилapatитная и бетатрикальцийфосфатная керамика может обладать различными химическими и физическими свойствами в зависимости от метода ее получения [109]. Гидроксилapatит – наиболее химически стабильное соединение с высокими биоактивными свойствами, является основной минеральной составляющей зубной эмали и дентина и обладает самой низкой скоростью растворения среди фосфатов кальция, что позволяет продолжать интеграцию в дефектную область костной ткани после имплантации, в отличие от трикальцийфосфатных материалов, которые полностью резорбируются [110, 108].

1.3.2 Использование порошков гидроксилapatита для покрытия имплантатов

Кальций-фосфатные биоматериалы в настоящее время активно применяются в травматологической и ортопедической практике, включая различные композиции и

производные соединения. Ведущую роль среди подобных материалов играет гидроксилапатит, доминирующий метаболит костной ткани. Альбэ и Мориссоном в 1920 году впервые были проведены первые опыты по применению гидроксилапатита в качестве укорителя при формировании костной ткани. Сегодня, благодаря развитию технологии очистки, выделения и нанесения покрытий, известны многочисленные данные [111] об успешном использовании гидроксилапатита в хирургии, стоматологии и косметологии, которые подтверждаются рентгенографическими, денситометрическими, клиническими и гистологическими результатами многочисленных исследований.

Синтетический чистый гидроксилапатит со стехиометрическим соотношением Са и Р, равным 1,67, и высокой биологической совместимостью [111] является, согласно [112], разрешенным для создания покрытий хирургических имплантатов.

Кэмерон, Пиллар и Мэкнэб в 1976 году впервые использовали биокерамику из ГА в ортопедии и травматологии, а затем к 1990-1991 годам покрытия на Ti, Al и V – подложках стали также широко применяться в стоматологии [113]. Бесцементный метод эндопротезирования на основе материалов из ГА по многим параметрам стал эффективнее цементационной технологии [114]. Толщина керамики из гидроксилапатита составляет несколько микрон, что способствует увеличению прочности композиционного материала в целом. Тазобедренные и зубные эндопротезы с использованием керамических покрытий обладают улучшенными свойствами по сравнению с металлическими аналогами, быстрее образуя связь с костной тканью [113]. По данным [115], ускоренное срастание с костью может происходить по причине растворения ГА-керамики и увеличения концентрации фосфора и кальция, что стимулирует рост новых кристаллов ГА вокруг имплантата, взаимодействующих с коллагеном и образующих полноценную кость [116].

Биологически активный гидроксилапатит ускоряет процесс интеграции имплантата путем полного или частичного растворения керамического слоя, способствуя формированию прочной связи металла, например Ti, с костью. Прочное закрепление имплантата при этом обеспечивается схожей кристаллографической структурой кости и гидроксилапатита.

Процесс кристаллизации гидроксилапатита протекает по спиральному механизму и сопровождается образованием аморфных структур, которые не подчиняются диффузионным законам.

По данным [115], увеличение степени кристаллизации гидроксилапатитной-керамики способствует уменьшению скорости ее биodeградации в питательной среде с добавками β-глицерофосфата и витамина С, а также в живых организмах крыс. Наличие остеоиндуктивного гидроксилапатита сохраняет остеокласты и стимулирует их рост.

Согласно [115], разрушающие костный матрикс клетки, остеокласты способны к удалению гидроксилapatитных частиц.

Кальцийфосфатную керамику используют в связке с прочными, биосовместимыми металлами и сплавами, так как в чистом виде их механические свойства не соответствуют требованиям, предъявляемым к имплантатам наружной фиксации. Структурные свойства имплантатов, их механическая стабилизация, состояние кости и условия лечения являются основными факторами, определяющими эффективность биоинтеграции композиционных включений с пористым покрытием. ГА-керамика способствует более ускоренному врастанию в кость по сравнению с титановыми имплантатами, а также положительно влияет на фиксацию имплантатов в различных условиях. По данным [70], ГА-покрытие препятствует образованию фиброзного слоя, увеличивает степень остеоинтеграции и скорость роста костной ткани, способствует продолжительной фиксации имплантата с костью, предотвращает попадание ионов титана в биологическую жидкость.

Для нанесения ГА-покрытий с целью дальнейшего использования в ортопедии и травматологии наиболее часто применяют методы напыления (плазменное, пламенное, микродуговое и анодно-искровое), электрофорез, набрызгивание ионов, золь-гель, эмалирования, изостатического сжатия, осаждения пара, глубокого покрытия. Согласно [115], максимально эффективными являются покрытия с высоким содержанием кристаллической фазы ГА толщиной от 45 до 65 мкм, с минимальной пористостью (менее 2 %) и высокой прочностью (на растяжение – более 65 МПа, на изгиб при 8,3 МПа – более 10 миллионов циклов). Покрытия данного типа имеют прочную и гладкую связь с костью и не отслаиваются. Через 2 года его толщина составляет от 10 до 30 мкм.

Толщина ГА-покрытия на сплаве Ti-6Al-4V определяет его механические свойства: чем она меньше, тем прочнее биокерамический слой. Предел прочности на растяжение при толщине слоя 50 мкм, по данным [117], составляет 51 МПа, усталостное сопротивление при 10^7 циклах – 391 МПа. В то же время, согласно [118], прочность может уменьшаться из-за повышенной шероховатости поверхности. Для сохранения необходимых для эксплуатации механических характеристик имплантатов, поверхностный слой должен находиться в диапазоне от 50 до 80 мкм. Особенно важно также контролировать фазовый состав в процессе нанесения ГА покрытий. Например, в случае нанесения керамики методом плазменного напыления возможна ускоренная резорбция поверхности при имплантации в организм из-за образования оксида кальция, α , β -трикальцийфосфатов и тетракальцийфосфатов между внутренними и внешними слоями, влияющих на биоустойчивость и механические свойства [116].

1.3.3 Современные требования к костным имплантатам

При создании материалов для костных имплантатов необходимо опираться на количественные и качественные характеристики естественной костной ткани, а также иметь знания о ее физических, механических и химических свойствах. Подход естественной регенерации в последнее время становится все более популярным и подразумевает влияние биodeградации на материал имплантата и рассасывание его в жидкостях организма. При этом регенерация поврежденных тканей производится с одновременной заменой имплантата собственными тканями организма.

Костный минерал в основном состоит из разнообразных форм фосфатов кальция, включая фториды, карбонаты, цитраты и гидроксиды. Минералы попадают в кость из плазмы крови и питательных веществ. Фосфаты кальция имеют вид закристаллизованного или местами закристаллизованного аморфного фосфата кальция (ФК, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) и ГА. Соотношение между кристаллической и аморфной структурой в костной ткани является переменной величиной и определяется различными факторами (к примеру, возрастными) [119].

Поскольку в организме между растворимыми и нерастворимыми фосфатами, согласно нижеприведенному уравнению, существует равновесие, то случается постепенное растворение гидроксиапатита [120]:



При этом дигидро- и гидрофосфаты калия формируют биологическую буферную систему, отвечающую за постоянство pH внутриклеточной жидкости. Переход из аморфной фазы в кристаллическую требует времени, и одновременно с этим изменяется соотношение химических элементов, входящих в состав минерала, в том числе кальция и фосфора; молярное соотношение Ca/P в минеральной фазе костной ткани колеблется от 1,37 до 1,67 [119]. Соотношение химических элементов, которые входят в состав минерала (к примеру фосфора, кальция), изменяется за период времени, при котором происходит переход из аморфной фазы в кристаллическую. Помимо главных элементов (фосфора и кальция), в кости также находятся следующие микроэлементы различных концентраций: калий, магний, натрий, хлор, марганец, фтор и др. [121]. Под влиянием различных условий в биологическом цикле может образовываться некоторое количество фаз фосфатов кальция, одной из которых является менее растворимая фаза ГА, образующаяся в основной или нейтральной среде. Наличие кислых pH часто провоцируют образование минералов типа

дикальцийфосфатгидрата, октокальцийфосфата и аморфного ФК, что может означать присутствие недостатков в структуре минерала.

Необходимые материалы для создания имплантатов должны быть наиболее приближены к свойствам натуральной кости. Условия получения таких материалов должны отвечать нижеприведенным требованиям [122]:

- наличие остеостимулирующего действия, то есть некой биологической активности
- возможности инициировать появление костной ткани;
- соответствие механических свойств материалов свойствам костной ткани человека, а также неизменность в процессе обработки имплантата и в период обычной жизнедеятельности пациента, наступающим после его имплантации;
- биосовместимость, то есть материал, из которого он произведен, не должен вызывать отрицательных иммунных, воспалительных и прочих неблагоприятных реакций у организма;
- различные виды облучения (СВЧ, УВЧ, рентгеновское, гамма-излучение, УФ) и стерилизации не должны изменять такие важные свойства материалов, как биологическая активность, биорезистивность, биосовместимость, биорезистивность и прочностных характеристик. К примеру, при стерилизации методом гамма-излучения ряд полимеров разрушается из-за образования частиц-радикалов во время стерилизации;
- материалы, используемые для костной пластики, обязаны легко подвергаться механической обработке или какому-либо другому способу изменения формы в процессе операции;
- условие масштабирования технологии массового создания готовых к использованию материалов имплантатов является не обязательным, но желательным.

1.3.4 Комбинированное применение кальций фосфатных материалов

Существует два основных типа фосфатов кальция ФК [48]:

1) Низкотемпературные ФК не обрабатываются термически, их синтез происходит при относительно невысоких температурах. При нормальном давлении путем осаждения из водных растворов [123] возможно выделение пяти фосфатов кальция, обладающих различными рентгенограммами. К ним относятся: моногидрат дигидрофосфата кальция $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; дигидрат гидрофосфата кальция $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; дигидрофосфат кальция $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$; гидрофосфат кальция CaHPO_4 ; кристаллический осадок переменного состава с рентгенограммой апатита. Последний осадок является гидроксилapatитом, состав которого можно выразить формулой $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$;

2) Высокотемпературные ФК – окристаллизованные, термически обработанные [28], созданные в процессе твердофазного синтеза и используемые в медицине, в основном представлены следующим рядом: α -, β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α -, β -ТКФ), $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ и композиты типа β -ТКФ-ГА. Диаграммы фазового равновесия в системах $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ и $\text{CaO-H}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ (при 25, 40, 50, 70, 75 и 100 °С) описаны в работе Ван-Везера.

Растворимость ФК в воде является их важнейшим свойством. Это помогает предсказать поведение материалов, имеющих в основании ФК, в среде организма *in vivo*. Определение величин растворимости делает возможным оценку предрасположенности материалов к растворению в жидкостях организма (резорбции). Если растворимость ФК, например, гидроксилапатита, меньше растворимости минеральной части кости, то он деградирует крайне медленно, в обратном случае он подвергается полной резорбции. В ситуации, при которой растворимость минеральной части кости больше растворимости ФК, деградация протекает очень медленно.

Исходя из этого при использовании изотерм растворимости [124] ряд скоростей деградации ФК *in vivo* представляется таким образом: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 > \text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4) \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x} > \text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$.

При этом порядок может не всегда соблюдаться, даже при стабильности всех параметров, за исключением состава. В ходе экспериментов были получены данные о снижении общей скорости деградации при покрытии образца плохо растворимым ФК поверхности высоко растворимого ФК. Так, низкокристаллический ФК, осажденный из водного раствора гидроксилапатита, обладающий молярным соотношением $\text{Ca/P} = 1,50\text{--}1,67$ по растворимости близок к минеральной части кости, в то время как высококристаллический стехиометричный гидроксилапатит ($\text{Ca/P} = 1,67$), созданный при температурах выше 800 °С, растворим гораздо хуже, чем минеральная часть кости [125].

Трикальцийфосфат, гидроксилапатит и брушит целесообразно использовать для производства биосовместимых кальций-фосфатных материалов, имеющих оптимальную биорезорбируемость. Самой растворимой среди биосовместимых ФК фаз является брушит, в то время как наименее растворимой – гидроксилапатит. Гидроксилапатит – это основная составляющая костной ткани, который проявляет качества уникальной биологической совместимости, а также повышенной активности к остеоинтеграции. Синтетический гидроксилапатит в чистом виде нельзя использовать в — качестве имплантируемого материала [126], из-за его слишком низкой растворимости. В связи с этим необходимы дополнительные действия, увеличивающие биорезорбируемость материалов

на его основе. Для этого необходимо было перейти к фосфатам кальция с меньшим, чем у ГА, отношением Ca/P . Так, переход от ГА с $\text{Ca/P} = 1,67$ к трикальцийфосфату (ТКФ) $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ с отношением $\text{Ca/P} = 1,5$ увеличивает растворимость почти на порядок. Разрабатываются композиционные структуры, основанные на ГА и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , других ФК, у которых, растворимость в жидкостях организма более высокая, чем у ГА [127]. Авторами работы [128] исследовались процессы замены катиона Ca^{2+} в структуре фосфата, допустим ТКФ, на однозарядный катион щелочного металла, в области преобразования химического состава ФК. В процессе замещения осуществляется изменение структурного типа $\beta\text{-ТКФ} \rightarrow \beta\text{-CaMPO}_4$ (ренанит). Выделенные смешанные фосфаты кальция и натрия/калия, представленные формулой $\text{Ca}_{3-x}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($x = 0-1$, $\text{M} = \text{Na}, \text{K}$), имеют структуру ТКФ и CaMPO_4 и предлагаются для применения в качестве резорбируемой биокерамики.

Управлять свойством растворимости ГА позволяет, в том числе, регулирование разнообразными биологически активными ионами, которые находятся в составе природной костной ткани ГА [102].

Выводы по разделу

По результатам проведённого обзора можно сделать следующие выводы:

Порошковые материалы из гидроксилапатита обладают комплексом физико-химических свойств, дающих возможность его успешного применения в различных областях медицины, таких как стоматология, ортопедия, косметология и других. Основным преимуществом данного материала является схожесть состава и структуры с минеральной составляющей костной ткани человека, что обуславливает высокую биосовместимость и биорезорбируемость.

К числу перспективных областей применений порошков гидроксилапатита относятся использование в качестве заполнителей костной ткани, материала для создания биосовместимых покрытий и изготовление имплантов методами 3D- печати. Все три области использования требуют заданных характеристик порошков по фазовому составу, распределений частиц по размерам и морфологии.

Функциональные свойства материалов на основе гидроксилапатита во-многом определяются такими его характеристиками, как фазовый состав, стехиометричность, кристалличность, состав и количество присутствующих примесных ионов, средний размер и распределение частиц по размерам, удельная поверхность, пористость и морфология частиц материала.

Характеристики порошков гидроксилapatита возможно контролировать путём выбора метода получения, а также изменения параметров синтеза. При этом для ряда применений существуют оптимальные диапазоны размеров, обеспечивающие наиболее эффективное использование порошковых материалов.

Синтезировать порошковые материалы на основе гидроксилapatита возможно различными методами, однако, среди этих методов наиболее эффективными с точки зрения возможностей управления составом и структурой синтезируемых наночастиц являются методы химического осаждения и гидротермального синтеза, позволяющие добиться получения суспензий наночастиц гидроксилapatита заданными характеристиками фазового состава.

Основным направлением повышения эффективности использования порошков гидроксилapatита в биомедицинских приложениях является управление их морфологией и размерами, а именно, придание частицам сферической формы и возможность контроля распределения частиц в интервале от 5 до 125 мкм, в связи с этим перспективной и нужной задачей является разработка соответствующий методик получения порошков гидроксилapatита заданного состава, морфологии и распределением частиц по размерам.

На основании обзора литературных данных для получения наноструктурных сферических порошков гидроксилapatита была выбрана методика осаждения из раствора, включающая гидротермальную обработку полученного раствора с целью регулирования фазового состава гидроксилapatита. В качестве метода получения сферических гранул из суспензии предложено использовать метод распылительной сушки, который до сих пор не получил широкого распространения в технологиях управления структурными характеристиками порошковой биокерамики.

2 Объекты и методы исследования

2.1 Исходные материалы

В качестве исходных материалов для синтеза образцов порошка и гранул гидроксилапатита с использованием совмещенной методики химического осаждения и гидротермальной обработки использовались следующие реактивы производства АО РЕАХИМ:

- нитрат кальция 4-водный $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ЧДА)
- диаммоний гидрофосфат $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Ч)
- аммоний дигидрофосфат $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (Ч)
- гидроксид аммония NH_4OH (Ч)
- гидроксид кальция $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (ЧДА)
- ортофосфорная кислота 85 % H_3PO_4 (ХЧ)
- дистиллированная вода

2.2 Объекты исследования

Объектами исследования в представленной работе являлись образцы порошков гидроксилапатита, полученные комбинированным методом химического осаждения и последующей гидротермальной обработки, и образцы гранул на основе порошка гидроксилапатита, полученные распылением суспензии порошка гидроксилапатита. На рисунке 2.1 представлена схема выполнения работы.

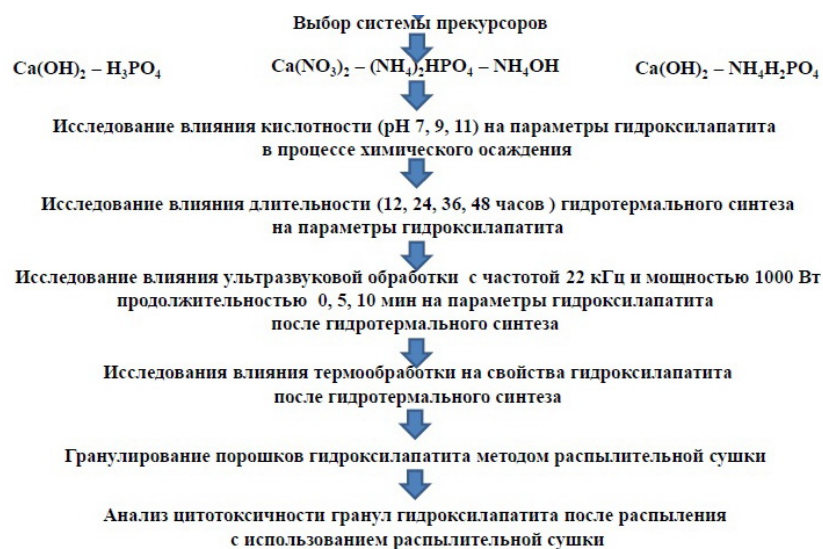


Рисунок 2.1 – Схема проведения экспериментов по получению и исследованию порошков гидроксилапатита

2.2.1 Синтез образцов порошка гидроксилапатита

В ходе выполнения работы при проведении аналитического обзора было установлено, что наиболее часто при получении синтетического гидроксилапатита используют три следующие системы прекурсоров: $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$; $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$.

В системе прекурсоров 1 ($\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$) приготавливались 10 % по массе раствор ортофосфорной кислоты и 10 % по массе суспензия гидроксида кальция в дистиллированной воде. При этом соотношение реактивов рассчитывалось как $\text{Ca}/\text{P} = 1,67$ для достижения стехиометрического состава образца гидроксилапатита. Смешивание прекурсоров проводилось на установке химического осаждения представленной на рисунке 2.2. Установка состоит из кварцевого реактора, верхнеприводной мешалки Heidolph RZR 2051 (Германия), двух перистальтических насосов Heidolph Pumpdrive 5201 (Германия), термостата Lauda E 300, pH метра Mettler Toledo MP 230 (Интернациональная компания) и персональный компьютер.

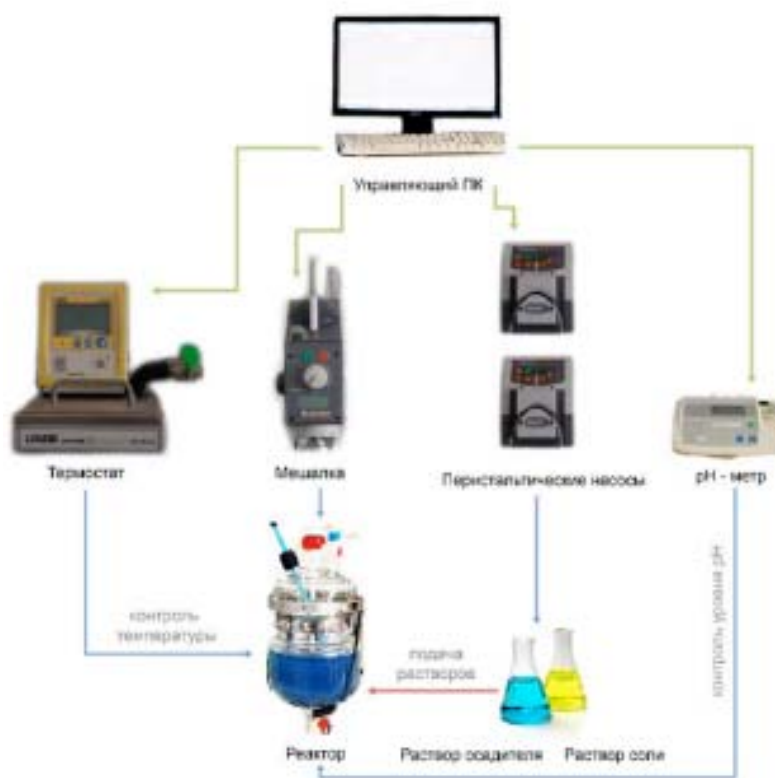


Рисунок 2.2 – Схема установки синтеза материалов методом химического осаждения

После синтеза проводилась обработка полученного коллоида гидроксилапатита в автоклаве при температуре 250 °C и давлении 150 атм при заполнении ячейки 80 % в течение 24 часов. После гидротермальной обработки проводилась отмывка образцов

гидроксилапатита дистиллированной водой до значения $pH = 7$, и вакуумная фильтрация полученного осадка с последующей сушкой в сушильном шкафу при температуре $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов.

В процессе гидротермальной обработки происходит значительное увеличение растворимости веществ, нерастворимых при нормальных условиях. Основные параметры, влияющие на процесс синтеза при гидротермальном синтезе: это продолжительность синтеза, температура и давление. В свою очередь давление в ячейке зависит от температуры синтеза и степени заполнения ячейки обрабатываемым материалом. На рисунке 2.3 представлена зависимость давления в ячейке автоклава от температуры и степени заполнения ячейки.

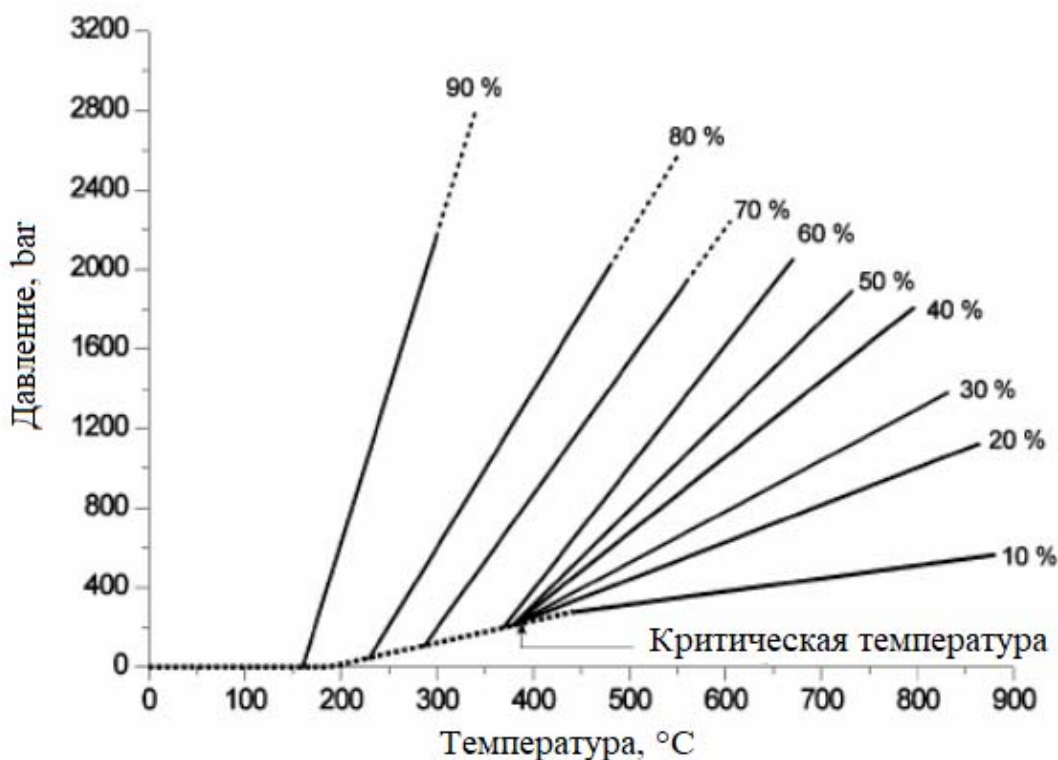


Рисунок 2.3 – Зависимость давления в ячейке автоклава от температуры и степени заполнения ячейки

В системе прекурсоров 2 ($\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) приготавливались 10 % по массе раствор дигидрофосфата аммония и 10 % по массе суспензия гидроксида кальция в дистиллированной воде. При этом соотношение реактивов рассчитывалось как $\text{Ca/P} = 1,67$ для достижения стехиометрического состава образца гидроксилапатита. Смешивание проводилось на установке химического осаждения представленной на рисунке 2.3. После этого проводилась гидротермальная обработка в автоклаве при температуре $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ и

давлении 150 атм при заполнении ячейки 80 % в течение 24 часов. После гидротермальной обработки проводилась отмывка образцов гидроксилапатита дистиллированной водой.

Схема автоклава, использованного при проведении экспериментов, представлена на рисунке 2.4.



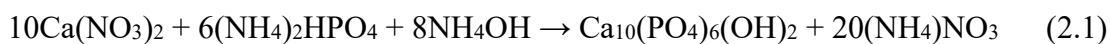
Рисунок 2.4 – Схема автоклава

После гидротермальной обработки проводилась отмывка образцов гидроксилапатита дистиллированной водой до значения $\text{pH} = 7$. Полученную суспензию разделяли методом центрифугирования с использованием центрифуги Rotixa Rotanta (Германия) на скорости вращения 4500 об/мин. Полученный осадок высушивали в сушильном шкафу Binder (Германия) в течение 12 часов при температуре 90 °C.

По результатам рентгенофазового анализа (см. раздел 3 анализ полученных результатов) образцов, полученных из трех систем прекурсоров ($\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$, $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$) было установлено, что целевая фаза гидроксилапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) присутствует только в образце, синтезированном из системы прекурсоров 3, в связи с чем было принято решение отказаться от синтеза гидроксилапатита в системах прекурсоров 1 и 2 и дальнейшие исследования проводить на системе 3 прекурсоров.

Образцы, полученные по системе прекурсоров 3 подвергали исследованию влияния кислотности среды в процессе синтеза гидроксилапатита комбинированным методом

химического осаждения и гидротермального синтеза на характеристики образцов гидроксилапатита. Проводился синтез образцов гидроксилапатита по реакции 2.1 при трех различных значениях pH = 7, 9, 11. Уровень pH контролировался pH метром Mettler Toledo MP 230. Затем проводились исследования характеристик полученных образцов.



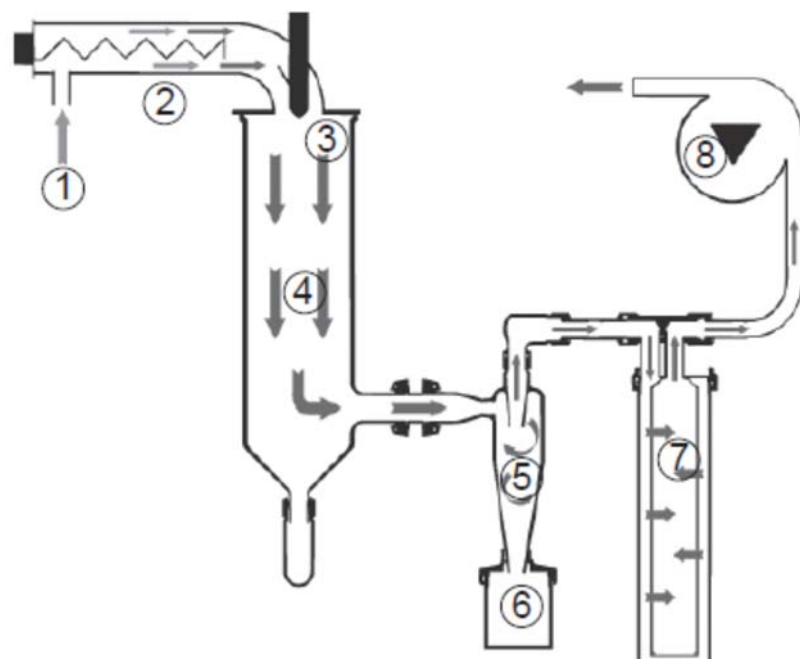
На следующем этапе работы проводилось исследование влияния длительности гидротермальной обработки на характеристики образцов порошков гидроксилапатита. Были синтезированы образцы при длительностях гидротермальной обработки 12, 24, 36 и 48 часов. Затем полученные образцы отмывали дистиллированной водой до значения pH = 7, после чего они высушивались в сушильном шкафу при температуре 90 °C.

Также в рамках работы было проведено исследование влияния ультразвуковой обработки на характеристики образцов порошка гидроксилапатита. Ультразвуковая обработка проводилась на установке Hielsher UIP 1000 HD с рабочей частотой 22 кГц и мощностью 1000 Вт, продолжительность обработки составляла 5 и 10 минут. Концентрация суспензий составляла 2 и 5 % по массе. Затем полученные суспензии высушивались в сушильном шкафу при температуре 90 °C и перемалывались в ножевой мельнице.

2.2.2 Гранулирование порошка гидроксилапатита

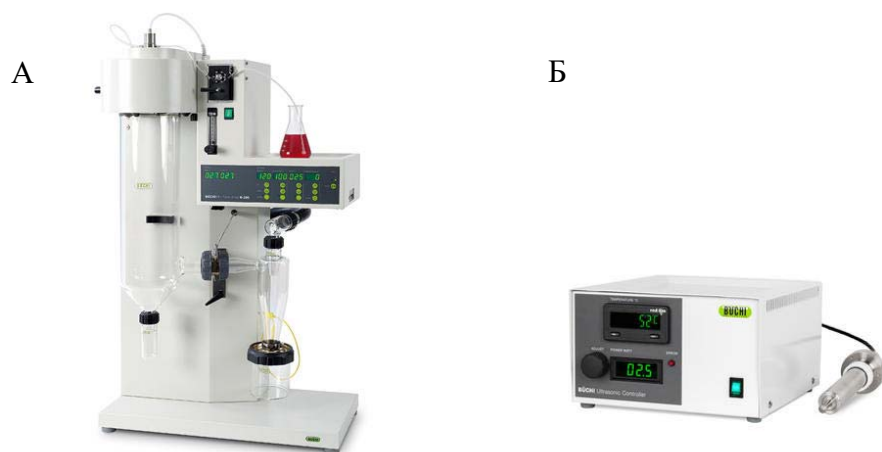
Гранулирование порошка гидроксилапатита проводилось с целью получения сферических гранул заданного гранулометрического состава в диапазонах 2 – 25 мкм, 25 – 45 и 40 – 125 мкм. Гранулирование проводилось на установках Buchi Mini Spray Dryer B-290 с пневматическим соплом и ультразвуковым распылителем Buchi Mini Spray Dryer B-290 Ultrasonic Package и установке Biorus YC-018. (Принципиальная схема процесса распылительной сушки представлена на рисунке 2.5) На рисунке 2.6 представлены использованные в работе установки распылительной сушки.

Основные элементы установок: аспиратор, пневматическая или ультразвуковая форсунка для распыления исходного раствора или суспензии, насос для подачи раствора или суспензии, системы циклонов и бункера для сбора получаемого порошка гидроксилапатита.



1 – газовый вход; 2 – электрический нагревательный блок; 3 – концентрический впуск горячего газа; 4 – распылительный цилиндр; 5 – циклон-фильтр для отделения частиц от потока газа; 6 – сосуд для сбора продукта; 7 – выходной фильтр; 8 – аспиратор для прокачивания газа

Рисунок 2.5 – Принципиальная схема процесса распылительной сушки



В



а) – установка распылительной суши Buchi Mini Spray Dryer B-290 с пневматическим соплом, б) - ультразвуковое сопло Buchi Mini Spray Dryer B-290 Ultrasonic Package и в) – установка распылительной суши Biorus YC-018

Рисунок 2.6 – Используемые в работе установки распылительной суши

В процессе гранулирования порошка гидроксилпатита задавали следующие параметры:

- Температура на газовом входе в интервале 180 – 220 °С,
- Мощность aspirатора, % в интервале 80 – 100 %
- Скорость подачи суспензии в интервале, мл/мин в интервале 5 – 35 мл/мин
- Мощность ультразвукового сопла, Вт в интервале 5,4 – 19,5 Вт
- Расход воздуха, л/ч в интервале 138 – 601 л/ч
- Концентрация исходной суспензии гидроксилпатита, % в интервале 3,6 – 12,7 %

масс

- В качестве дисперсионных сред использовались вода и смесь воды с этиловым спиртом.

На рисунке 2.7 представлена общая схема процесса получения образцов гидроксилпатита.

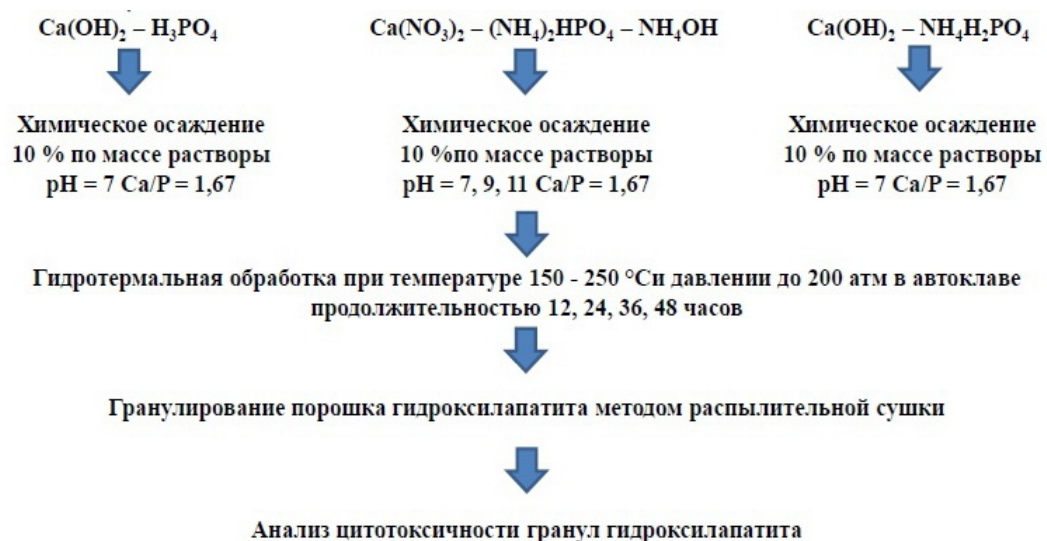


Рисунок 2.7 – Схема получения гранул гидроксилапатита

В таблицах 2.1, 2.2 приведены описания основных полученных в ходе работы образцов

Таблица 2.1 – Сводная таблица синтезированных образцов гидроксилапатита

Синтез порошка гидроксилапатита						
Образец	Условия получения					
	Система	pH	Длительность гидротермального синтеза, ч	Ультразвуковая обработка 22 кГц, 1000 Вт, мин	Концентрация суспензии, % масс	Температура отжига, °C
1.1	$\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$	7	24	-	-	-
1.2	$\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	7	24	-	-	-
1.3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	7	24	-	-	-
1.4	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	9	24	-	-	-
1.5	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	24	-	-	-
2.1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	12	-	-	-
2.2	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	24	-	-	-
2.3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	36	-	-	-
2.4	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	48	-	-	-
3.1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	24	0	15	-
3.2	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	36	5	15	-
3.3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	24	10	15	-
SF-GA	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	24	-	-	-
SF-GA-1000	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	24	-	-	1000
SF-GA-1200	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	24	-	-	1200

Таблица 2.2 – Сводная таблица гранулированных образцов

Гранулирование гидроксилпатита						
Образец	Условия распыления					
	Температура на входе, °C	Мощность аспиратора, %	Скорость подачи мл/мин	Мощность ультразвука, Вт	Расход воздуха, л/ч	Концентрация суспензии, %
Г1	220	100	5	17	150	15
Г2	220	100	5	17	300	15
Г3	220	100	5	17	450	15
Г4	220	100	5	17	600	15
Г5	220	100	10	17	150	15
Г6	220	100	10	17	300	15
Г7	220	100	10	17	450	15
Г8	220	100	10	17	600	15
Г9	220	100	15	17	150	15
Г10	220	100	15	17	300	15
Г11	220	100	15	17	450	15
Г12	220	100	15	17	600	15
Г13	220	100	20	17	150	15
Г14	220	100	20	17	300	15
Г15	220	100	20	17	450	15
Г16	220	100	20	17	600	15
НАРГ-5-25	220	100	5	17	600	15
НАРГ-25-45	220	100	10	17	450	15
НАРГ-40-125	220	100	20	17	300	15

2.3 Методы исследования

Для исследования влияния параметров процессов синтеза на характеристики нанопорошков и сферических гранул гидроксилapatита были использованы перечисленные далее исследовательские методики.

2.3.1 Сканирующая электронная микроскопия

Морфологию материалов исследовали на электронных сканирующих микроскопах Hitachi TM-1000 (Japan) при ускоряющем напряжении 15 кВ, Tescan Vega 3 EasyProbe (Czech Republic) при ускоряющем напряжении 30 кВ и растровом электронном микроскопе JEOL JSM-6610LV (Japan) с приставкой микрорентгеноспектрального состава Oxford Instruments INCA SDD X-MAX (United Kingdom).

2.3.2 Термогравиметрические исследования

Термогравиметрические исследования проводили на совмещенном ТГА ДСК анализаторе Thermal Scientific Instruments SDT Q600 (США) с целью определения термической стабильности образцов порошка гидроксилapatита и гранул гидроксилapatита при нагреве до температуры 1000 °С. Исследования проводились со скоростью нагрева 15 °/мин в атмосфере воздуха.

2.3.3 Рентгенофазовый и рентгеноструктурный анализ

Рентгенофазовый и рентгеноструктурный анализ полученных образцов проводили на рентгеновских дифрактометрах «Дифрей» 401 (CrK α -излучение, 2,2909 Å) и Rigaku Ultima 4 (CuK α -излучение 1,54178 Å). Анализ фаз, содержащихся в образце, проводили по стандартной методике исследования фазового состава [128-131] в соответствии с законом Вульфа-Брегга:

$$\frac{d}{n} = \frac{\lambda}{2 \cdot \sin \theta}, \quad (2.1)$$

где d – межплоскостное расстояние, м;

n – порядок отражения;

λ – длина волны рентгеновского излучения, м;

θ – угол между падающим лучом и отражающей плоскостью, град.

Размер ОКР определяли по уширению рентгеновских линий на дифрактограмме в соответствии с формулой Селякова-Шеррера:

$$D_{hkl} = \frac{0,94 \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta_{hkl}}, \quad (2.2)$$

где D_{hkl} – размер отражающих блоков соответствующей плоскости, м;
 β – физическое уширение линии относительно эталона, рад;
 λ – длина волны рентгеновского излучения, м;
 θ – угол между падающим лучом и отражающей плоскостью, град.

Величина β вычислялась по программе «RENTGEN» методами аппроксимации и Фурье-анализа[35]. Если размытие линий вызвано дисперсностью ОКР, то должно быть справедливо следующее соотношение:

$$\frac{\beta_2}{\beta_1} = \frac{\cos \theta_1}{\cos \theta_2}, \quad (2.3)$$

где β_1 и β_2 – истинное физическое уширение пиков отражения первого и второго порядка отражения, рад;
 θ_1 и θ_2 – угол дифракции первого и второго порядков отражения, в градусах.

Если равенство (2.12) выполняется, то величина отражающих блоков рассчитывается по формуле (2.11). Если же справедливо соотношение:

$$\frac{\beta_1}{\beta_2} = \frac{\operatorname{tg} \theta_1}{\operatorname{tg} \theta_2}, \quad (2.4)$$

то уширение пиков вызвано микронапряжениями.

Анализ кристалличности образцов гидроксилapatита проводили по формуле 2.5

$$X_c = 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}} \quad (2.5)$$

где $V_{112/300}$ – минимум на рентгенограмме между линиями (112) и (300), равный 10 имп. для образца 1.5;

I_{300} – интенсивность линии (300) на рентгенограмме

2.3.4 Анализ величины удельной поверхности и пористости материалов

Величины удельной поверхности ($S_{уд}$) микросфер определяли на анализаторе Quantachrome Instruments NOVA 1200e по теории БЭТ методом низкотемпературной адсорбции азота. Анализ удельной поверхности проводился в интервале 0,05 – 0,3 относительного давления. Анализ пористости материалов проводился в интервале 0,05 – 0,95 и 0,95 – 0,05 относительного давления. Погрешность измерений составляла 3 %. Перед проведением исследований образцы предварительно дегазировались в течение 3 часов при температуре 200 °С. Значение среднего размера агрегатов вычисляли в предположении, что частицы имеют одинаковый размер и сферическую форму:

$$D_{cp} = \frac{6}{\rho \cdot S}, \quad (2.6)$$

где ρ – пикнометрическая плотность, кг/м³;

S – удельная поверхность, м²/кг;

D_{cp} – средний диаметр агрегатов, м.

2.3.5 Гранулометрический анализ

Гранулометрический анализ образцов изучался при комнатной температуре на лазерных дифрактометрах Malvern Zetasizer Nano ZS (ZEN 3600) (Великобритания) методом статического рассеяния света и на Fritsch Analysette 22 (Германия) методом динамического рассеяния света. Для статического рассеяния готовили 1 % по массе суспензию порошка и обрабатывали ее ультразвуком на установке Bandelin UV 3200 мощностью 200 Вт в течение 60 с. Для анализа динамического рассеяния подготавливались суспензии образцов с концентрацией 5 % об.

2.3.6 ИК-Фурье спектроскопия

Анализ состава входящих в образцы соединений гидроксилпатита проводили с использованием ИК-Фурье спектрометра Thermo Scientific Nicolet 360 (США). Анализ проводился в спектральном диапазоне 4000 – 450 см⁻¹ с разрешением 0,9 см⁻¹ и точностью по волновому числу 0,01 см⁻¹. ИК-спектры поглощения позволяют анализировать строение молекул. Количество пиков и расположение по волновым числам позволяет провести качественный анализ образцов, а анализ интенсивности пиков позволяет провести количественный анализ.

2.3.7 Рамановская спектроскопия

Исследования образцов методом спектроскопии комбинационного рассеяния (рамановская спектроскопия) проводили на установке Thermo Scientific Raman Microscope DXR (США). Прибор обладает двумя возбуждающими полупроводниковыми лазерами с длинами волн основной моды 532 и 780 нм с максимальными мощностями 10 и 24 мВт соответственно. Контроль мощности лазера осуществляется с точностью 0,1 мВт. Для съемки спектров использовалась решетка полного спектра. Съемка спектров проводилась с использованием объектива с увеличением $\times 100$ в режиме автоматической выдержки, что обеспечивало оптимальное соотношение сигнал-шум для данного прибора.

2.3.8 Методика оценки биосовместимости

В ходе выполнения работы по оценке биосовместимости порошковых материалов на основе гидроксипатита была проанализирована и выбрана биолюминесцентная методика оценки токсичности материалов на клеточные культуры, в частности, на бактериальные клетки *Escherichia coli* с клонированными *luxCDABE* генами *Photobacterium leiognathi*. Как уже говорилось во вводной части, любой материал, не обладающий токсическим действием по отношению к клеточным культурам, является биосовместимым.

Методика заключается в определении изменения интенсивности биолюминесценции культуры бактерий при воздействии веществ, присутствующих в анализируемой пробе, по сравнению с контролем.

Используемый в работе генно-инженерный штамм бактерий разработан на кафедре микробиологии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и выпускается в виде лиофилизированного препарата под коммерческим названием «Эколюм» (НВО «Иммунотех», Москва). Анализ проводится на специализированном приборе «Биотокс 10М» (НЕРА-С, Москва).

Для оценки применимости описываемого метода в качестве методики исследования биосовместимости гидроксипатитов, проводилось предварительное тестирование образца гидроксипатита диспергированного в среде физиологического раствора (physiological solution – PS) и растворе, моделирующем состав межтканевой жидкости (simulated body fluid–SBF) [132].

В ходе подготовки образца к биотестированию навеску порошка гидроксипатита (10 мг) взвешивали при помощи аналитических весов ViBRA HT (Shinko Denshi, Japan, (точность $\pm 0,0001$ г)) и всыпали в стеклянную пробирку (10 мл) с физиологическим раствором (pH $7,1 \pm 0,2$) или модельной межтканевой жидкостью и перемешивали путем интенсивного встряхивания.

Для оценки биотоксичности лиофилизированную культуру бактерий восстанавливали. Для этого во флакон с бактериями добавляли 10 мл охлажденного до 4–8°C физиологического раствора (рН 7,0–7,4). Суспензии бактерий выдерживали в холодильнике при температуре 2–4°C в течение 30 минут, а затем доводили температуру суспензии бактерий до комнатной температуры (15–25°C).

Подготовку прибора осуществляли согласно руководству по применению. Перед началом тестирования фиксировали уровень шумов нулевого сигнала. В данном случае показатель составлял 7–15 импульсов в секунду (имп/с), согласно ТУ 4389–001–56602627–2005 этот параметр не должен превышать 200 имп/с, т.е. можно говорить о нормальной работе прибора.

Перед началом исследования проводился контроль качества оценки токсичности по определению чувствительности используемых тест-организмов к модельному «эталонному» токсиканту: цинку сернокислому 7-водному ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), растворенному в дистиллированной воде (рН 6,8–7,4). Концентрация модельного токсиканта, при действии которого через 30 минут экспозиции интенсивность биolumинесценции ингибируется не менее чем на 50%, должна быть не более 4,4 мг/см³. В случае, если это условие не соблюдается, биосенсор не пригоден для использования.

В соответствии с методикой 40 мг $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ разводили в 10 мл дистиллированной воды и тестировали в качестве модельного токсиканта. Анализ проводили в 5-ти повторностях, фиксируя показатели люминесценции контрольной и опытной пробы. Результаты показали, что под действием $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ происходит значительное снижение люминесценции более, чем в 2 раза. Это позволило перейти к исследованиям непосредственно гранулированных порошков гидроксилапатита.

После восстановления биореагента его раскапывали в измерительные кюветы, по 200 мкл рабочей суспензии в каждую. Затем в контрольные кюветы добавляли по 800 мкл физиологического раствора или модельной межтканевой жидкости, в опытные – по 800 мкл дисперсий гидроксилапатита (в PS и SBF). Кюветы накрывали герметизирующей пленкой и оставляли для экспозиции. Измерения проводили через несколько временных интервалов: 5 мин; 30 мин; 60 мин; 120 мин.

После окончания времени экспозиции начинали попарное измерение – сначала мерили люминесценцию контрольного образца, затем опытного. Показатели люменометра фиксировали в протоколе исследования.

Количественная оценка параметра тест-реакции выражалась в виде индекса токсичности Т, безразмерной величины, рассчитываемой по формуле: $T = 100 (I_0 - I) / I_0$, где

I_0 и I – интенсивность свечения контроля и опыта, соответственно, при фиксированном времени экспозиции исследуемой пробы с тест–объектом.

Результат токсикологического анализа – индекс токсичности – представлялся в виде:

$$\bar{X} \pm \sigma$$

$\bar{X}$ – среднее арифметическое определений индекса токсичности для n повторов,

σ – среднее квадратичное отклонение, которое определяют по общепринятым формулам:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{X} - x_i)^2}{n-1}}$$

где x_i – i -й результат определения индекса токсичности, n – число повторов.

Указанные статистические параметры вычисляются измерительным прибором «Биотокс–10» автоматически по команде оператора.

Методика допускает три пороговых уровня индекса токсичности:

- 1) допустимая степень: индекс токсичности T меньше 20;
- 2) образец токсичен: индекс T равен или больше 20 и меньше 50;
- 3) образец высокотоксичен: индекс токсичности T равен или более 50.

Отрицательные значения индекса токсичности могут говорить о стимулирующем действии исследуемого материала.

В случае оценки биосовместимости даже допустимая степень токсичности будет свидетельствовать о том, что материал не является биосовместимым.

3 Исследование влияния параметров синтеза на характеристики образцов гидроксилапатита

3.1 Выбор системы прекурсоров

Для синтеза кристаллизованного порошка гидроксилапатита рассматривались три системы прекурсоров $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$ – образец 1.1; $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, образец – 1.2; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$, образец 1.3, которые были выбраны на основе анализа литературных данных. Осаждение образцов приводили при комнатной температуре с использованием 10 % масс. растворов при $\text{pH}=7$. Полученную суспензию порошка гидроксилапатита обрабатывали в автоклаве при температуре 250 °С и давлении 150 атм. Таким образом были синтезированы образцы 1.1, 1.2 и 1.3 (таблица 2.1). Подбор прекурсора проводился с целью установления влияния химического состава прекурсоров на состав получаемых нанопорошков гидроксилапатита и анализа возможности получения порошков однофазного гидроксилапатита. Анализ полученных образцов осуществляли методами рентгеновской дифракции, ИК-спектromетрии и рамановской спектromетрии.

Из представленных систем были синтезированы образцы гидроксилапатита. Результаты рентгенофазовых исследований полученных образцов представлены на рисунке 3.1

По данным рентгенофазового анализа образца 1.1 было установлено, что в образце присутствует одна фаза – фаза кальций фосфата $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. В образце 1.2. наблюдается двухфазный состав гидрофосфата кальция и гидроксилапатита CaHPO_4 , $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Полуколичественный анализ образца 1.2 позволил установить количественное соотношение фаз как 72 % CaHPO_4 на 28 % $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Использование третьей системы прекурсоров приводит к формированию в образце 1.3 двух фаз - гидроксида кальция $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и гидроксилапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. При этом соотношение фаз составляет 17 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$ на 83 % $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Результаты фазового полуколичественного анализа образцов методом рентгеновской дифракции представлены в таблице 3.1.

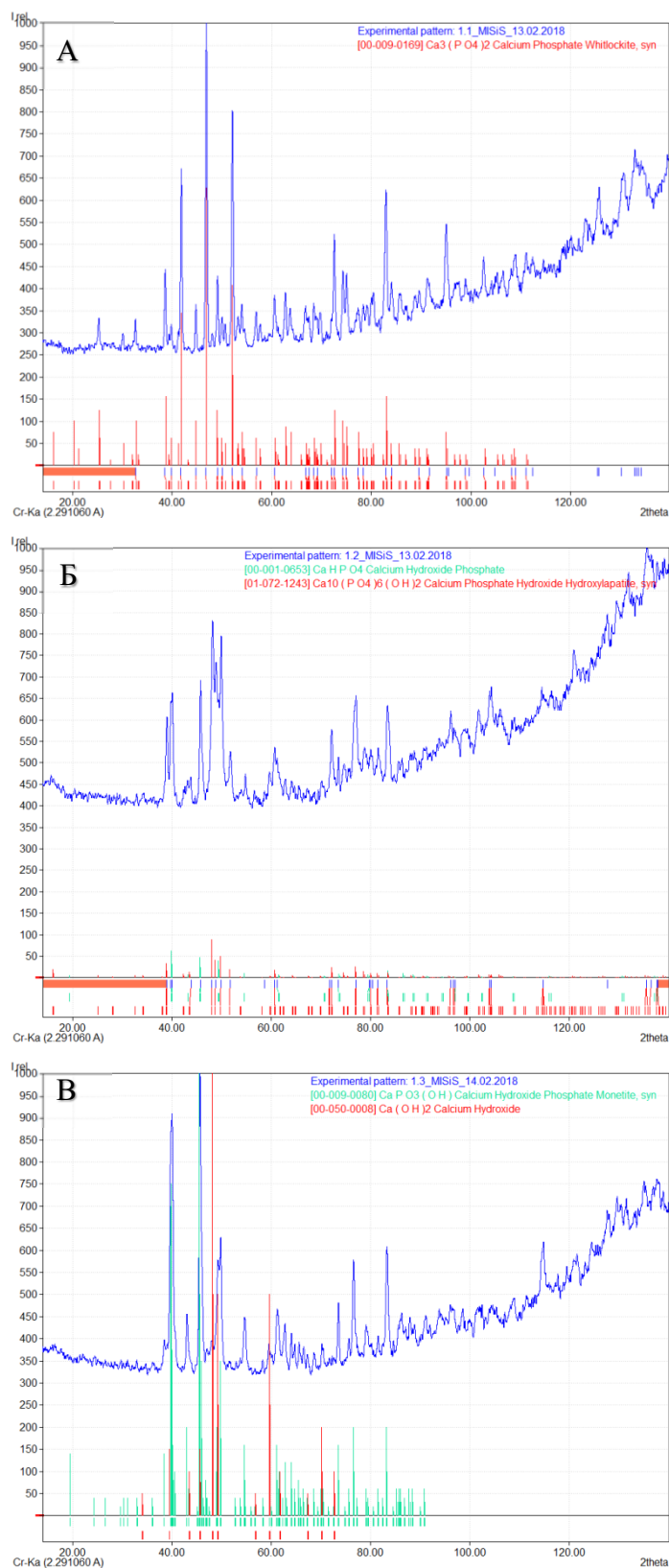


Рисунок 3.1 – Фазовый состав образцов гидроксилатаптита, синтезированных использованием систем прекурсоров а) образец 1.1, б) образец 1.2, в) образец 1.3

Таблица 3.1 – Фазовый состав образцов гидроксилапатита синтезированных из разных систем прекурсоров

Образец	Система прекурсоров	Фазовый состав	Полуколичес- венный анализ, %
1.1	$\text{Ca(OH)}_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	100
1.2	$\text{Ca(OH)}_2 - \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	$\text{CaHPO}_4, \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	72/28
1.3	$\text{Ca(NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	$\text{Ca(OH)}_2, \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	17/83

С целью подтверждения полученных результатов рентгеновской дифракции были проведены исследования образцов альтернативными методиками – ИК-Фурье спектроскопией и рамановской спектроскопией. ИК Фурье и раман-спектры подтвердили присутствие функциональных групп соответствующих фазовым составам образцов 1.1, 1.2 и 1.3.

Полученные спектры образцов представлены на рисунке 3.2 и рисунке 3.3.

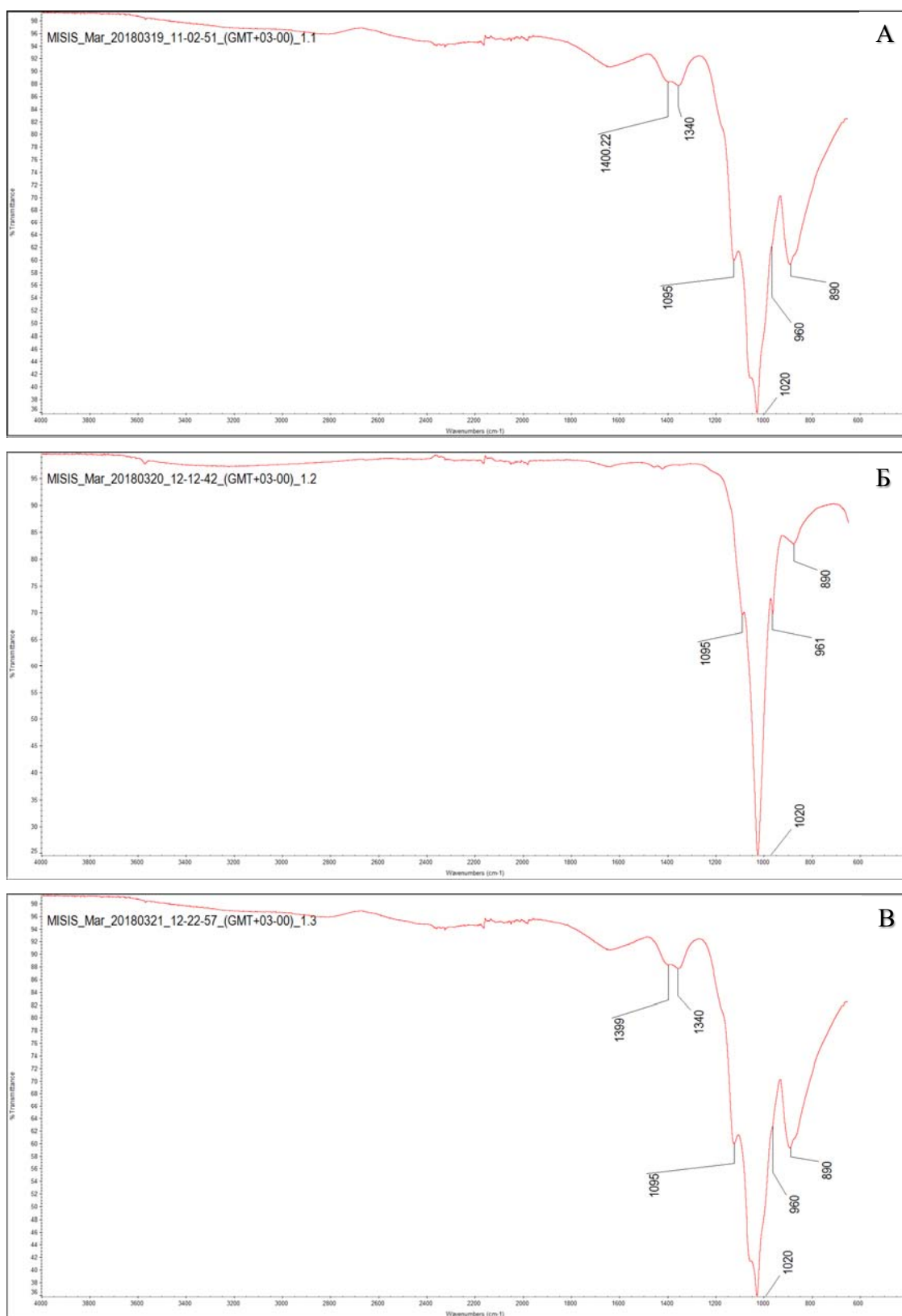


Рисунок 3.2 – ИК Фурье спектры образцов гидроксилапатита а) 1.1, б) 1.2, в) 1.3

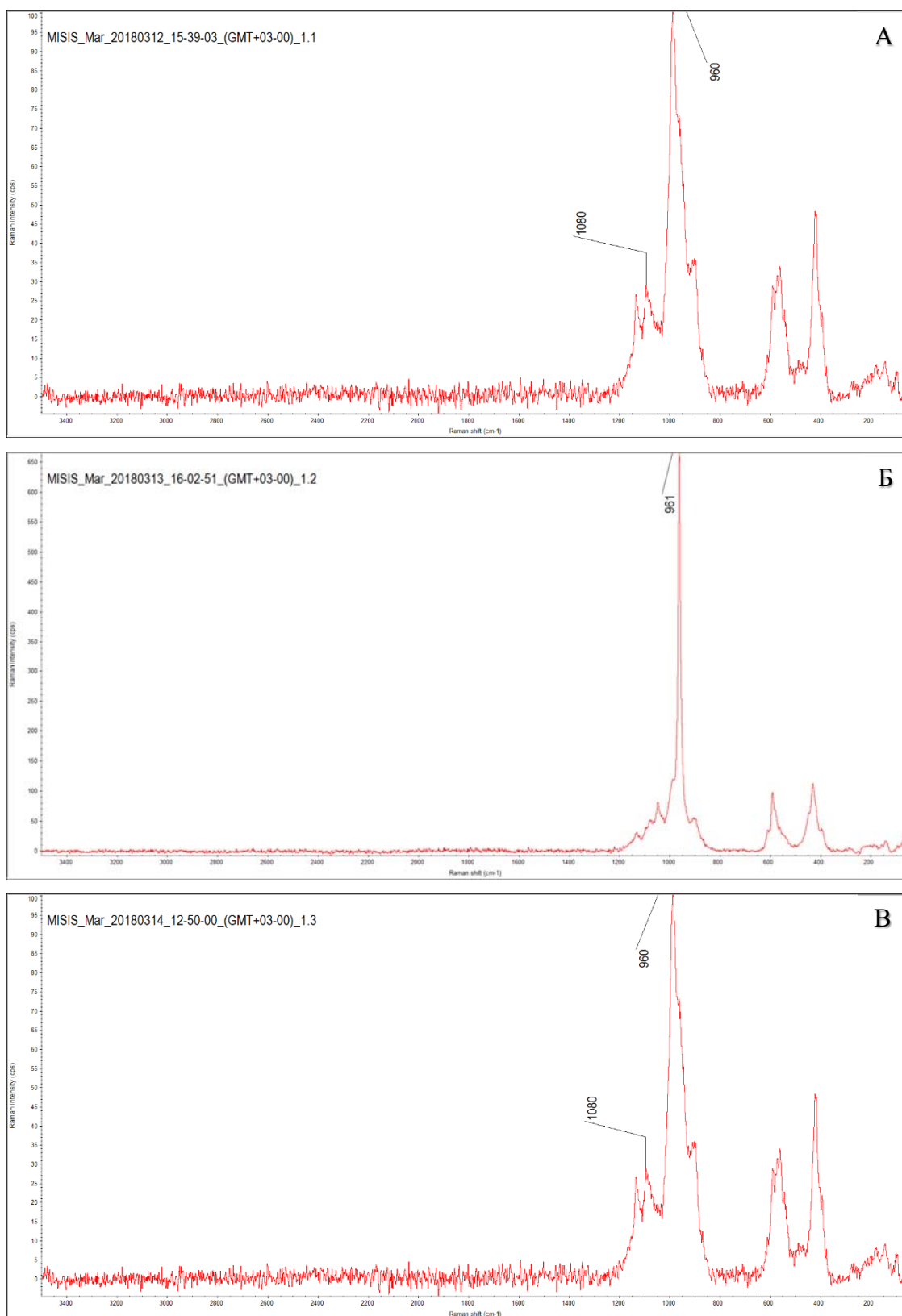


Рисунок 3.3 – Рамановские спектры образцов гидроксилапатита а) 1.1, б) 1.2, в) 1.3

На ИК-спектрах образцов 1.1, 1.2 и 1.3 имеется 4 основных линии 890, 960, 1020 и 1095 см⁻¹. Линия 960 отвечает валентным колебаниям фосфатных групп (PO₄³⁻), линии 1020 и 1095 см⁻¹ как правило относят к деформационным колебаниям PO₄³⁻. Широкая полоса 887

см^{-1} на спектре образца 1.1 имеет небольшую относительную интенсивность. Данную полосу как правило относят к внеплоскостным колебаниям групп CO_3^{2-} . На спектре образца 1.1 также дополнительно имеются линии около $1340\text{--}1400\text{ см}^{-1}$, которые тоже относят к колебаниям карбонатных групп (CO_3^{2-}). Что в свою очередь указывает на значительное содержание карбонатов в данном образце.

На рамановских спектрах образцов 1.1, 1.2 и 1.3 линия 960 см^{-1} , которая соответствует основной колебательной моде фосфатных групп PO_4^{3-} , является наиболее интенсивной на спектрах всех исследованных образцов. В тоже время наблюдаются линии колебаний карбонатных групп $1043\text{ и }1080\text{ см}^{-1}$. Относительная интенсивность дополнительных колебательных мод фосфатных групп $\nu_2(\text{PO}_4^{3-})$ и $\nu_4(\text{PO}_4^{3-})$ существенно выше, что, возможно, связано с присутствием трикальцийфосфата в составе данных образцов.

Таким образом, результаты анализа методами ИК-Фурье спектроскопии и рамановской спектроскопии образцов гидроксилапатита, полученных из различных прекурсоров, подтвердили присутствие в образцах функциональных групп, соответствующих фазовому составу, определенному рентгенофазовым методом.

Полученные результаты исследований фазового состава образцов показали также, что система прекурсоров $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$, приводит к формированию однофазного образца состоящего из фазы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. При использовании в качестве системы прекурсоров $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ в образце формируются две фазы - гидрофосфат кальция (CaHPO_4) и гидроксилапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), при этом содержание фазы гидроксилапатита составляет менее 30 % масс. Использование системы прекурсоров $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$ приводит к образованию двух фаз - гидроксила кальция ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) и гидроксилапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). При этом количество фазы гидроксилапатита составляет более 80 % масс., в связи с чем было принято решение далее работать с системой $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$ в качестве основной при синтезе.

3.2 Влияние уровня pH на характеристики гидроксилапатита

Анализ влияния уровня pH проводился с целью определения оптимального значения для синтеза особо чистого гидроксилапатита с высокой степенью кристалличности получаемого материала. Исследования в соответствии с полученными литературными данными и данными пункта 3.1 данной работы позволили установить интервал для значений уровня pH в интервале 7 – 11 для образцов гидроксилапатита синтезированных комбинированным методом химического осаждения и последующей гидротермальной обработки.

Образцы гидроксилапатита 1.3, 1.4 и 1.5 соответственно были синтезированы при значениях уровня pH 7, 9 и 11 из системы прекурсоров $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$.

Результаты рентгенофазового анализа образцов, полученных при различных значениях pH, представлены на рисунке 3.4.

Результаты исследования образцов методами ИК-Фурье спектроскопии и рамановской спектроскопии представлены на рисунке 3.5 и 3.6 соответственно.

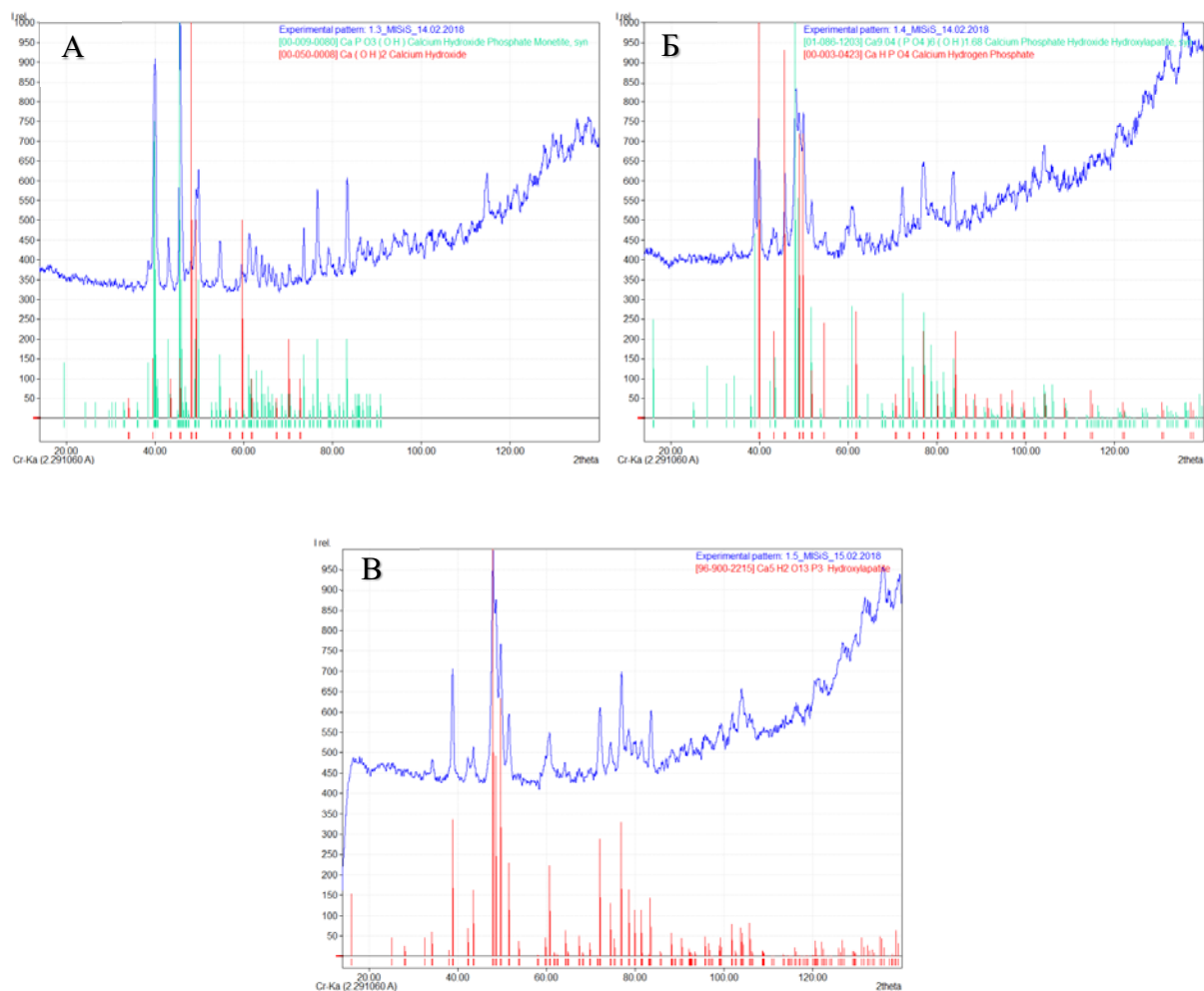


Рисунок 3.4 – Результаты исследования фазового состава образцов гидроксилапатита, полученных при значениях pH = 7, 8, 9 в процессе химического осаждения а) 1.3, б) 1.4 и в) 1.5

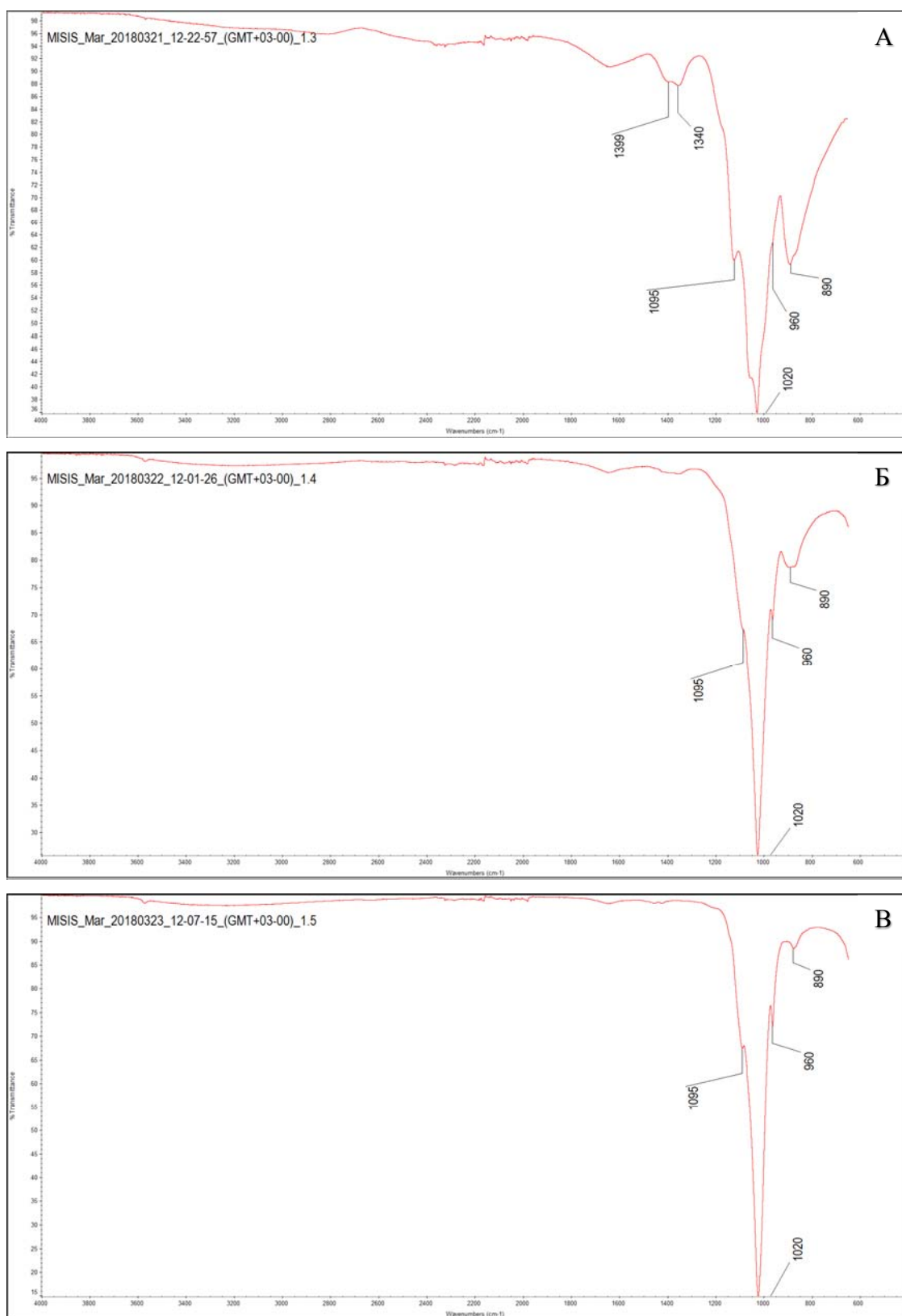


Рисунок 3.5 – ИК-Фурье спектры образцов гидроксилапатита а) 1.3, б) 1.4, в) 1.5

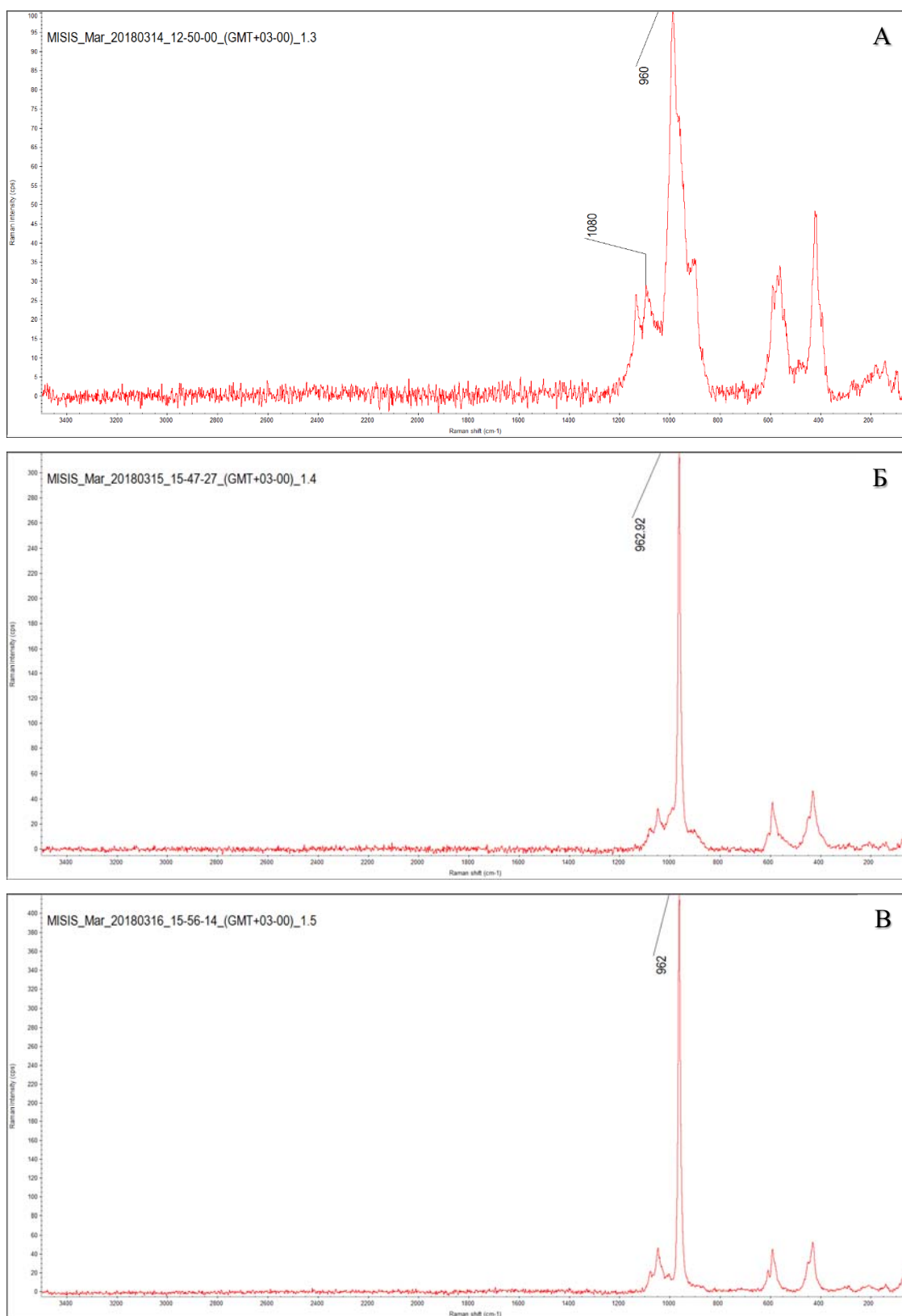


Рисунок 3.6 – Рамановские спектры образцов гидроксилатапата а) 1.3, б) 1.4, в) 1.5

По результатам количественного рентгенофазового анализа было установлено, что образец 1.3 представляет собой двухфазный образец, состоящий из фаз гидроксида кальция $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и гидроксилатапата $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Соотношение фаз составило 17 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и

83 % $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Образец 1.4 также является двухфазным и состоит из фаз гидрофосфата кальция CaHPO_4 и гидроксилapatита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Соотношение фаз составило 5 % CaHPO_4 и 95 % $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Образец 1.5 представляет собой однофазный образец, состоящий из фазы гидроксилapatита. Степень кристалличность образцов 1.3 и 1.4 оценить не представляется возможным ввиду присутствия второй фазы и перекрытием линий фазы гидроксилapatита и линий второй фазы. Степень кристалличности образца 1.5 составила 0,96.

Анализ полученных спектров позволил подтвердить данные рентгеновской дифракции. На ИК-спектре образца 1.3 имеется 4 основных линии 890, 960, 1020 и 1095 cm^{-1} . Линия 960 отвечает валентным колебаниям фосфатных групп (PO_4^{3-}), линии 1020 и 1095 cm^{-1} как правило относят к деформационным колебаниям PO_4^{3-} . Широкая полоса 887 cm^{-1} на спектре образца 1.3 имеет небольшую относительную интенсивность. Данную полосу как правило относят к внеплоскостным колебаниям групп CO_3^{2-} . На спектре образца 1.3 также дополнительно имеются линии около 1340 1400 cm^{-1} , которые тоже относят к колебаниям карбонатных групп (CO_3^{2-}), что, в свою очередь, указывает на значительное содержание карбонатов в данном образце.

На рамановском спектре образца 1.3 линия 960 cm^{-1} , которая соответствует основной колебательной моде фосфатных групп PO_4^{3-} , является наиболее интенсивной на спектрах всех исследованных образцов. В тоже время наблюдается линии колебаний карбонатных групп 1043 и 1080 cm^{-1} . Относительная интенсивность дополнительных колебательных мод фосфатных групп $\nu_2(\text{PO}_4^{3-})$ и $\nu_4(\text{PO}_4^{3-})$ существенно выше, что, по-видимому, связано с присутствием трикальцийфосфата в составе данных образцов.

На ИК-спектрах образцов 1.4 и 1.5 имеется 4 основных линии 890, 960, 1020 и 1095 cm^{-1} . Линия 960 отвечает валентным колебаниям фосфатных групп (PO_4^{3-}), линии 1020 и 1095 cm^{-1} относятся к деформационным колебаниям PO_4^{3-} .

На рамановских спектрах 1.4 и 1.5 линия 960 cm^{-1} , которая соответствует основной колебательной моде фосфатных групп PO_4^{3-} , является наиболее интенсивной на спектрах всех исследованных образцов, однако, в составе образца 1.4 также присутствует фаза гидрофосфата кальция CaHPO_4 .

Фазовый состав образцов гидроксилapatита представлен в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Фазовый состав образцов нанопорошков гидроксилапатита синтезированных при разных значениях pH в процессе синтеза методом химического осаждения

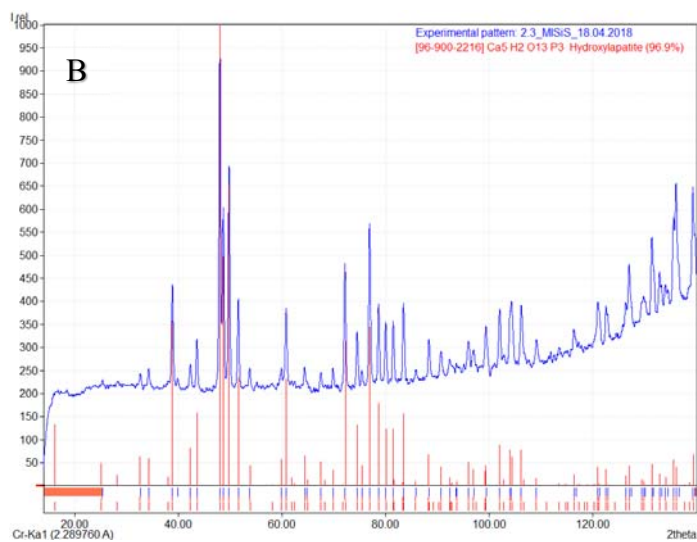
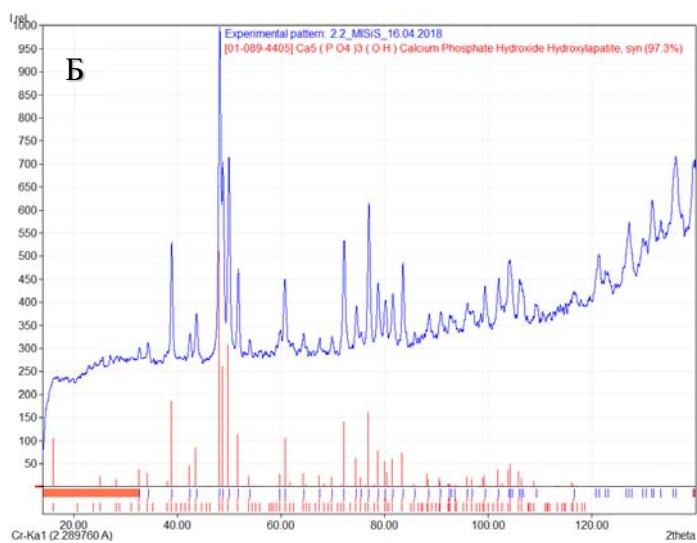
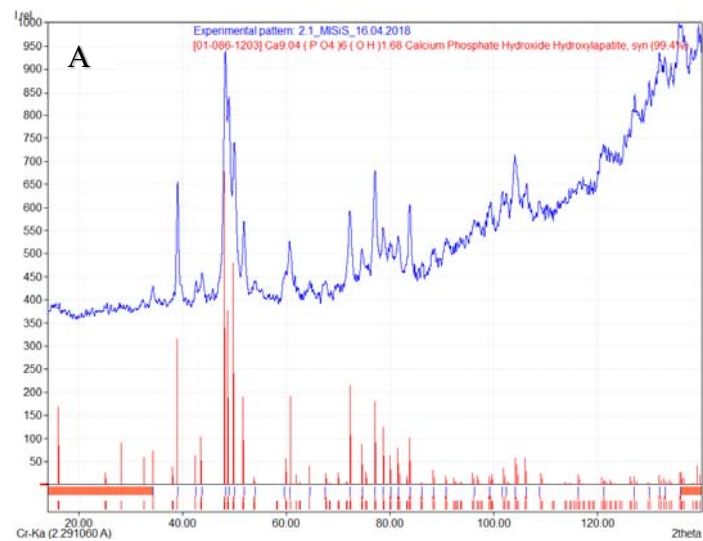
Образец	Система прекурсоров	pH	Фазовый состав	Количественный анализ, %
1.3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	7	$\text{Ca}(\text{OH})_2$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	17/83
1.4	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	9	CaHPO_4 , $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	5/95
1.5	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	11	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	100

По результатам исследований установлено, повышение уровня pH с 7 до 11 в процессе химического осаждения приводит к переходу от формирования двухфазных образцов, содержащих основную фазу гидроксилапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и вторую фазу ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ для образца 1.3 и CaHPO_4 для образца 1.4)

3.3 Исследование влияния продолжительности гидротермального синтеза на фазовый состав образцов гидроксилапатита

Следующим этапом работ являлось изучение продолжительности гидротермальной обработки на фазовый состав образцов гидроксилапатита. Целью исследования, помимо анализа фазового состава, являлся анализ влияния продолжительности обработки на степень кристалличности образцов, которая являлась одним из целевых показателей при выполнении работы. В результате исследования влияния состава прекурсоров и уровня pH на фазовый состав фосфатов кальция было установлено, что оптимальной системой для получения гидроксилапатита является система $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$ при pH = 11. Это стало основанием для исследования влияния длительности гидротермального цикла синтеза на фазовый состав кальций фосфатов, синтезированных гидротермально в системе $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$ при температурах 250 °C и давлении 150 атм. Длительность гидротермального синтеза в автоклаве варьировалась в интервале 12 – 48 часов. Таким образом были синтезированы образцы гидроксилапатита с различной продолжительностью гидротермальной обработки: образец 2.1 - 12 ч, образец 2.2 - 24 ч, образец 2.3 - 36 ч, образец 2.4 - 48 ч.

Результаты рентгенофазового фазового состава образцов гидроксилапатита 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 представлены на рисунке 3.7. На рисунке 3.8 и 3.9 представлены результаты исследования образцов после гидротермальной обработки с использованием методов ИК-Фурье спектроскопии и рамановской спектроскопии.



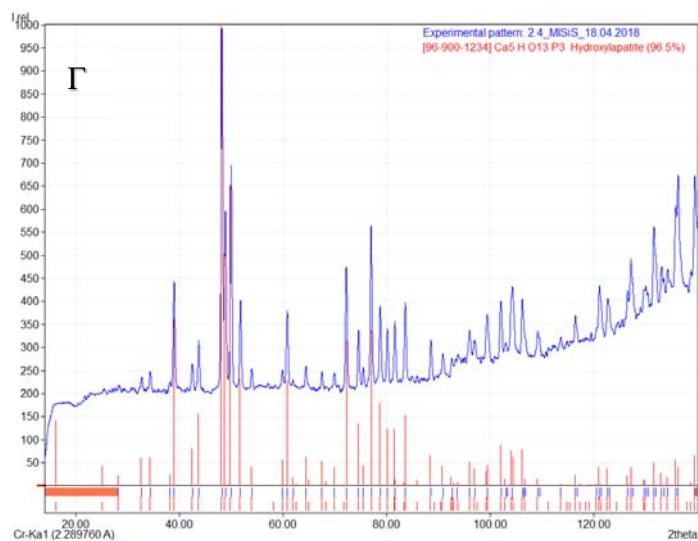


Рисунок 3.7 – Рентгеновские дифрактограммы образцов гидроксилапатита, полученных при разном времени длительности гидротермальной обработки а) 2.1, б) 2.2, в) 2.3, г) 2.4

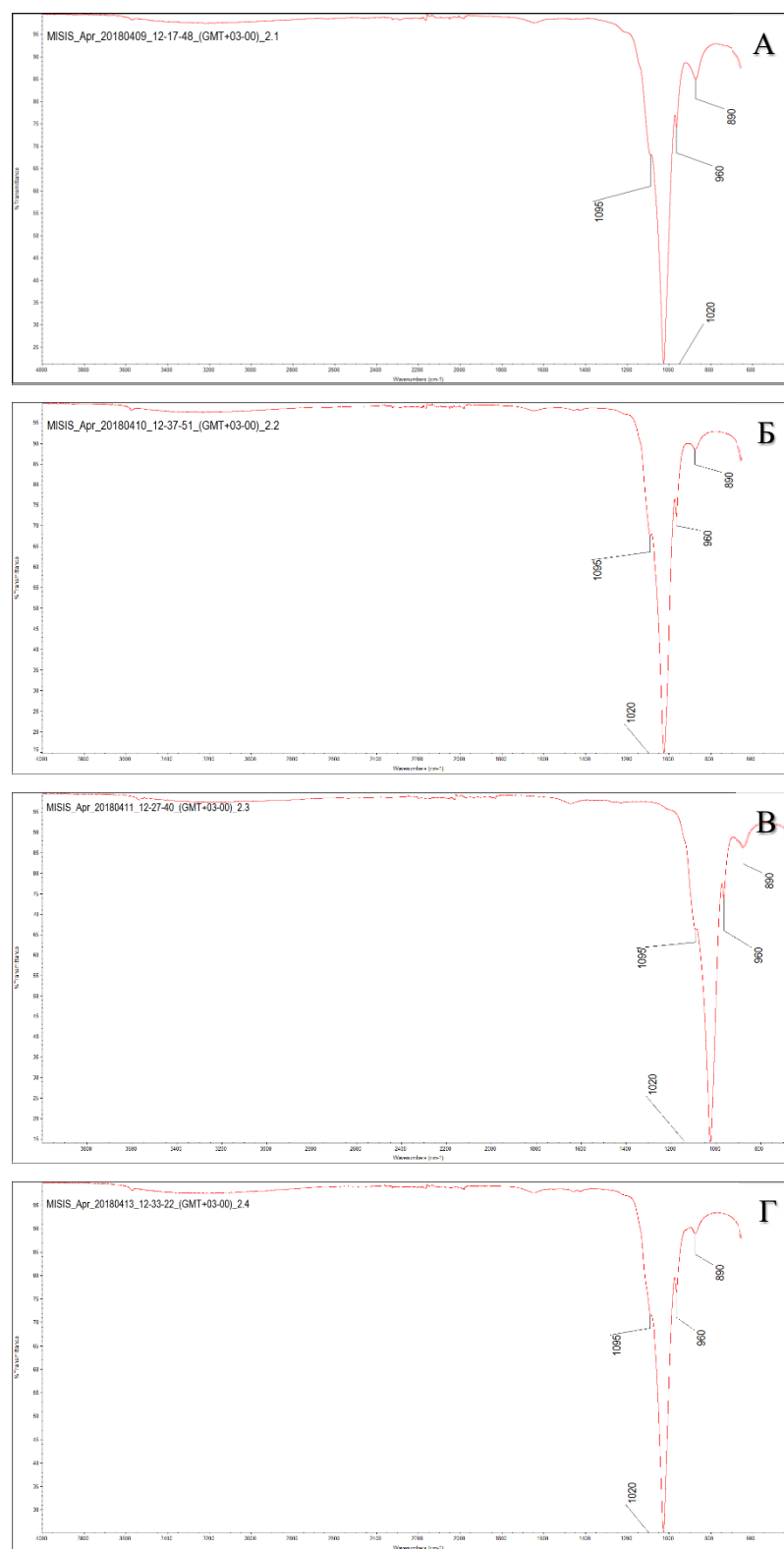


Рисунок 3.8 – ИК-Фурье спектры образцов гидроксилapatита а) 2.1, б) 2.2, в) 2.3, г) 2.4

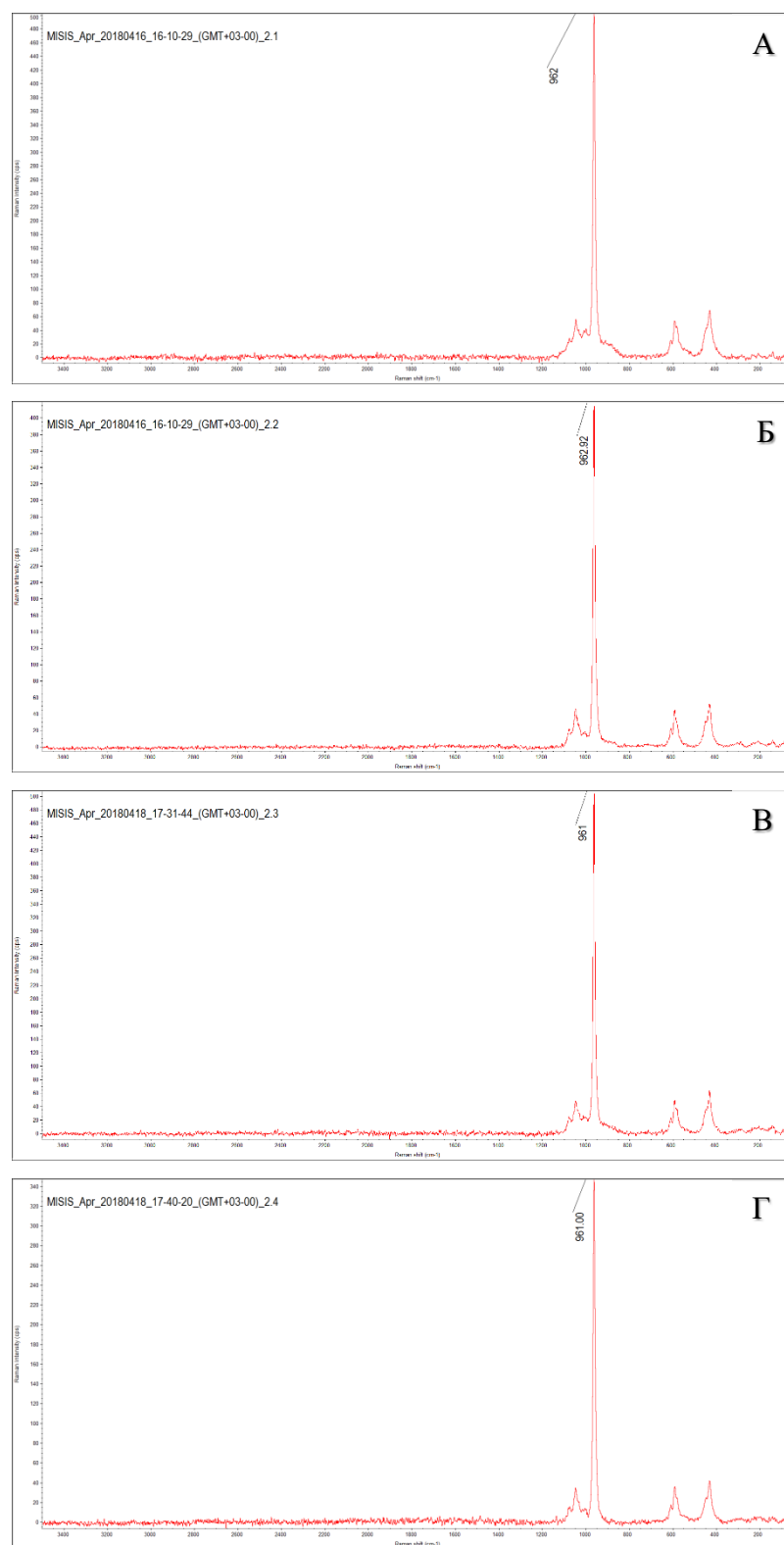


Рисунок 3.9 – Рамановские спектры образцов гидроксилапатита а) 2.1, б) 2.2, в) 2.3, г) 2.4

На ИК-спектрах образцов 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 имеется 4 основных линии 890, 960, 1020 и 1095 см⁻¹. Линия 960 отвечает валентным колебаниям фосфатных групп (PO₄³⁻), линии 1020 и 1095 см⁻¹, как правило, относят к деформационным колебаниям PO₄³⁻.

На рамановском спектре образцов 2,1 2.2, 2.3, 2.4 линия около 960 см^{-1} , которая соответствует основной колебательной моде фосфатных групп PO_4^{3-} , является наиболее интенсивной. Таким образом, спектральные исследования образцов гидроксилапатита показали, что полученные образцы характеризуются наличием только линий, соответствующих радикалу PO_4^{3-} , что подтвердило данные рентгеновских исследований образцов.

Результаты количественного фазового анализа образцов гидроксилапатита, синтезированных при различной длительности гидротермальной обработки представлены в таблице 3.3. Все образцы представляют собой однофазные образцы, состоящие из одной фазы, фазы гидроксилапатита. При этом при повышении времени обработки возрастает степень кристалличности образцов с 0,68 при 12 ч до 0,98 при 48 ч.

Таблица 3.3 – Результат анализа фазового состава образцов гидроксилапатита, полученных при различной продолжительностью гидротермальной обработки

Образец	Длительность гидротермальной обработки, ч	Фаза	Степень кристалличности
2.1	12	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	0,68
2.2	24	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	0,95
2.3	36	$\text{Ca}_5\text{H}_2\text{O}_{13}\text{P}_3$	0,96
2.4	48	$\text{Ca}_5\text{HO}_{13}\text{P}_3$	0,98

Анализ результатов рентгенофазового анализа образцов гидроксилапатитов с различным временем выдержки показал присутствие только одной фазы во всех образцах - фазы гидроксилапатита. Степень кристалличности образцов гидроксилапатита, синтезированных с различным временем гидротермальной обработки, увеличивается с 0,68 для образца 2.1 до 0,95 для образца 2.2. Дальнейшее увеличение времени гидротермальной обработки приводит к незначительному увеличению степени кристалличности с 0,95 для образца 2.2 до 0,98 для образца 2.4. Для образцов 2.2 и 2.3 происходит увеличение степени кристалличности с 0,95 до 0,96. Изменение степени кристалличности для образцов 2.2 – 2.4 незначительны и укладываются в ошибку измерения степени кристалличности.

Результаты анализа фазового состава образцов гидроксилапатита, полученных при различном времени гидротермальной обработки, показали, что времени для получения особо чистого гидроксилапатита с долей кристаллического гидроксилапатита более 95 % достаточное время обработки составляет 24 ч или более, дальнейшее увеличение длительности гидротермальной обработки с 24 до 48 часов приводит к незначительному

увеличению доли кристаллической фазы, в связи с чем, длительность 24 часа была признана оптимальной.

3.4 Исследование влияния ультразвуковой обработки на фазовый состав и структурные характеристики образцов гидроксилапатита

В ходе работы был проведен анализ возможности управления показателями дисперсности частиц гидроксилапатита в суспензии с использованием ультразвуковой кавитации после проведения гидротермальной обработки. После проведения гидротермальной обработки в процессе сброса давления в автоклаве в виде паров воды уходит значительное количество воды и порошок гидроксилапатита представляет собой практически сухой материал, поэтому последующее использование кавитационной обработки для управления свойствами коллоидной системы представляется целесообразным.

Исследование влияния ультразвуковой кавитации проводилось с использованием ультразвукового гомогенизатора Hielscher с рабочей частотой 22 кГц и мощностью генератора 1000 Вт. После проведения химического осаждения и гидротермальной обработки полученный материал использовался для получения 15 % масс. суспензии гидроксилапатита в воде. Полученная суспензия объемом 150 мл обрабатывалась ультразвуком продолжительностью 2 и 5 минут. После чего были проведены исследования фазового состава полученных порошков.

Результаты фазового анализа образцов гидроксилапатита, полученных с использованием ультразвуковой обработки, представлены на рисунке 3.10 и в таблице 3.4.

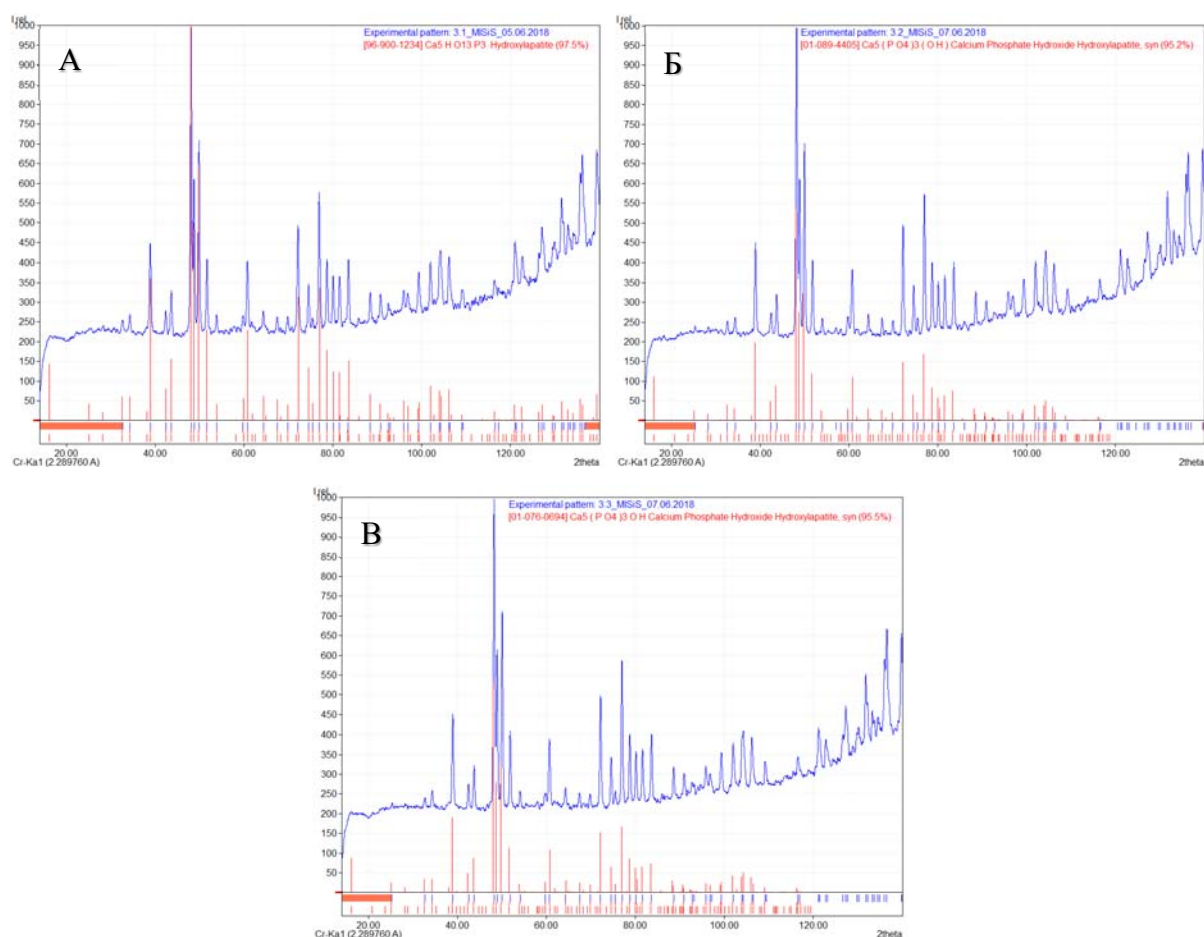


Рисунок 3.10 – Рентгеновские дифрактограммы образцов гидроксилапатита после ультразвуковой обработки

Таблица 3.4 – Фазовый состав образцов гидроксилапатита полученных, с использованием ультразвуковой обработки, после гидротермальной обработки

Образец	Длительность ультразвуковой обработки, мин	Концентрация суспензии, гидроксилапатита, % масс	Фаза	Степень кристалличности
3.1	0	15	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	0,97
3.2	5	15	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	0,96
3.3	10	15	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	0,97

Исследования показали, что ультразвуковая обработка образцов гидроксилапатита не оказывает влияния на фазовый состав и степень кристалличности получаемых образцов гидроксилапатита. Все представленные образцы состоят из одной фазы – фазы гидроксилапатита, при этом степень кристалличности всех образцов более 0,95. Различия в степени кристалличности образцов укладываются в ошибку измерения степени кристалличности.

Для анализа возможного загрязнения полученных образцов гидроксилапатита в ходе кавитационной обработки продуктами эрозии волновода (титан, железо) и другими примесями в ходе гидротермальной и кавитационной обработок был проведенный элементный анализ полученных образцов энергодисперсионным методом, который позволил бы установить наличие в этих образцах посторонних примесей. Результаты анализа представлены на рисунке 3.11.

Элементный анализ, образцов гидроксилапатита, проведенный с использованием метода энергодисперсионного анализа (таблица 3.5, рисунок 3.11), показал присутствие в полученных образцах присутствие только элементов Са, Р и О, входящих в состав фазы гидроксилапатита. Столь значительные отличия образцов по содержанию элементов связаны с наличием структурной и адсорбированной влаги в составе образцов, которая влияет на содержание кислорода. Детектировать водород методом энергодисперсионного анализа не представляется возможным. Основным показателем гидроксилапатита является соотношение элементов Са/Р, которое для все образцов составляет 1,67 и свидетельствует о формирование стехиометрического гидроксилапатита.

Таблица 3.5 – Результаты энергодисперсионного элементного анализа образцов гидроксилапатита

Образец	% ат			Са/Р
	Са	Р	О	
3.1	32,4	19,4	48,2	1,67
3.2	29,2	17,5	53,3	1,67
3.3	39,7	19	49,3	1,67

Данные выводы были подтверждены методом ИК-Фурье спектроскопии (рисунок 3.12), которая показала, что ультразвуковая обработка не влияет на формирование каких-либо дополнительных химических групп и соединений, способных изменить характеристики образца. Спектроскопические исследования образцов методом ИК-Фурье спектроскопии представлены на рисунке 3.11. На ИК-спектре образцов 3.1, 3.2, 3.3 имеется 4 основных линии 890, 960, 1020 и 1095 см^{-1} . Линия 960 отвечает валентным колебаниям фосфатных групп (PO_4^{3-}), линии 1020 и 1095 см^{-1} , как правило, относят к деформационным колебаниям PO_4^{3-} . Таким образом, результаты спектроскопических методов исследования подтвердили результаты рентгенофазового анализа.

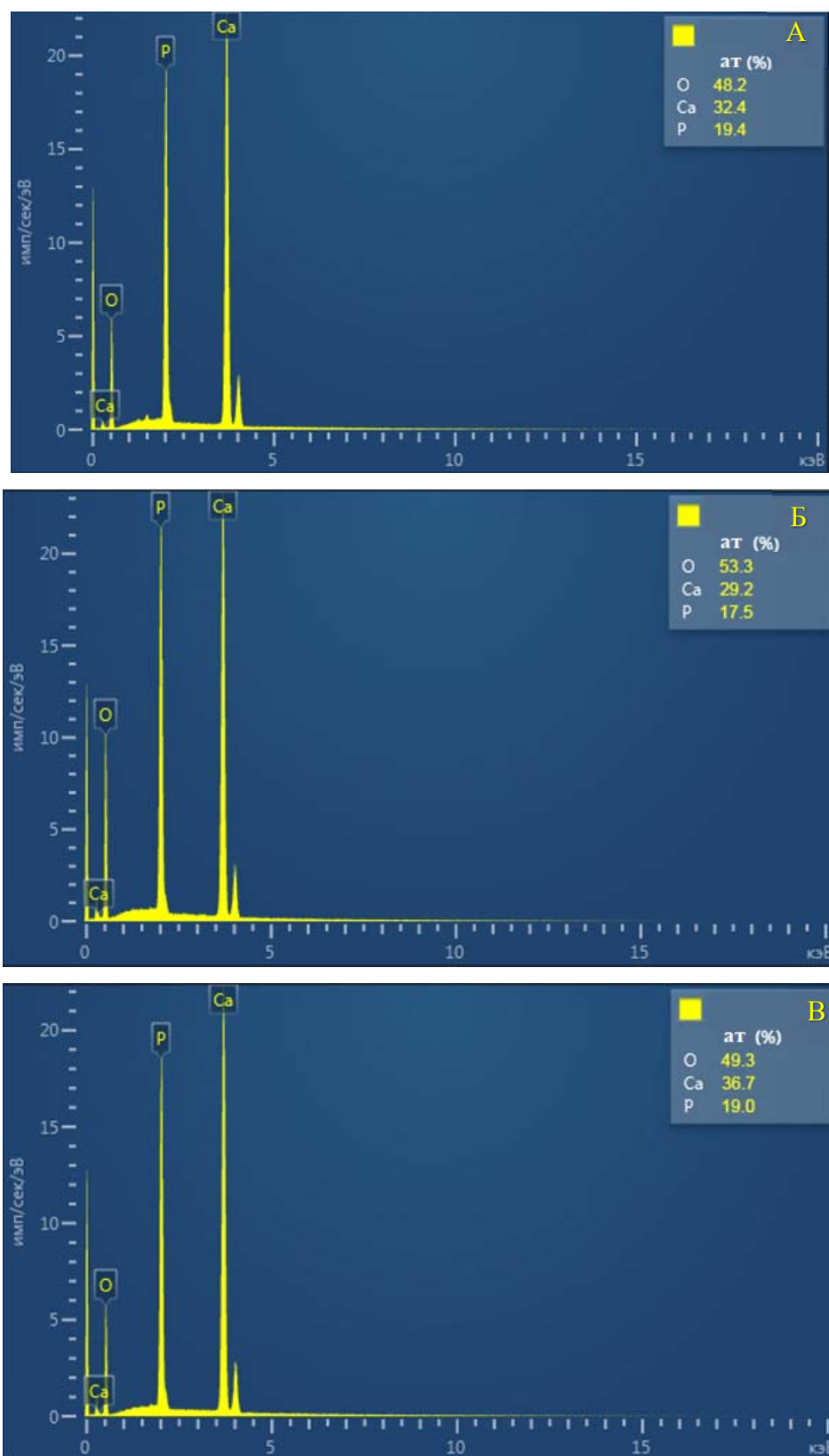


Рисунок 3.11 – Спектры энергодисперсионного элементного анализа образцов гидроксилапатита а) 3.1, б) 3.2, в) 3.3

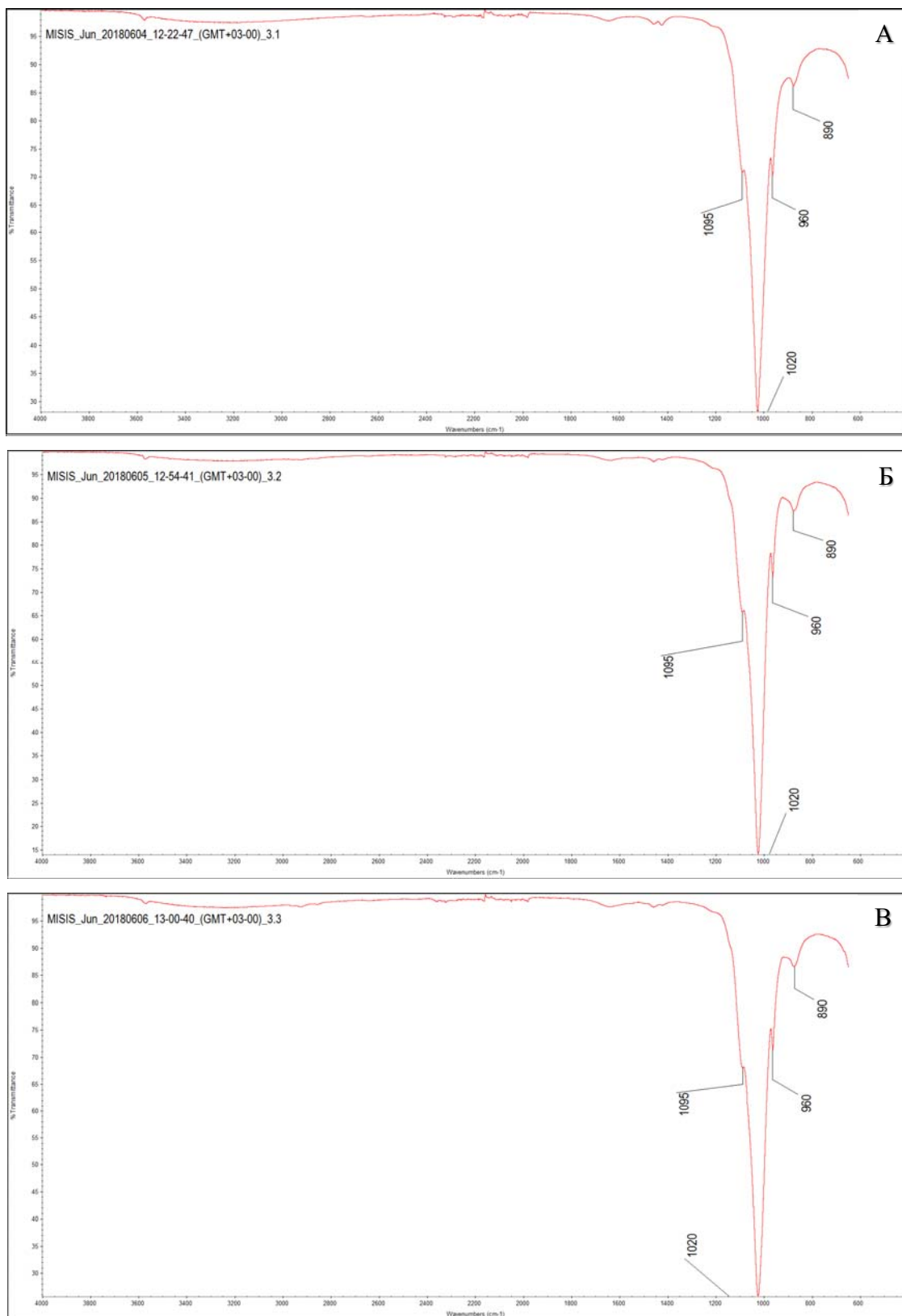


Рисунок 3.12 – Результаты исследований методом ИК-Фурье спектроскопии образцов а) 3.1, б) 3.2, в) 3.3

Таким образом, проведенные исследования фазового состава образцов гидроксилапатита, полученных при различной продолжительности ультразвуковой обработки, показали, что она не оказывает влияния на характеристики образцов

гидроксиапатита, т.е. не приводит к изменению фазового состава вследствие взаимодействия гидроксиапатита с водой.

При этом одним из важных параметров, способных влиять на процессы формирования гранулированных порошковых материалов на основе гидроксиапатита являются размер частиц, используемых для распыления. В связи с этим в рамках работы были проведены исследования структурных характеристик синтезируемых в ходе гидротермальной обработки частиц гидроксиапатита с использованием методов БЭТ, лазерной дифракции, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии.

Проведенные в рамках работы исследования по исследованию влияния pH и параметров гидротермальной обработки на фазовый состав порошков гидроксиапатита позволили установить оптимальные условия для получения образцов заданного состава.

При этой необходимым условием обеспечения процесса получения порошковых гранул с заданными характеристиками методом распылительной сушки является контроль характеристик используемой для распыления суспензии частиц гидроксиапатита в воде, которую получают с использованием кавитационной обработки.

На рисунке 3.13 представлены результаты исследований методом электронной сканирующей микроскопии образца гидроксиапатита 3.1. Условия получения данного образца на основании проведенных исследований были признаны оптимальными для получения суспензии, предназначенной для получения сферических гранул методом распылительной сушки и анализа влияния условий формирования на их характеристики.

Как видно на микрофотографиях получаемые порошки представляют собой в сухом виде пористые частицы осколочного типа, форма которых обусловлена условиями подготовки образца (сушка, размол), состоящие из наночастиц, что полностью подтверждает данные анализа литературных источников.

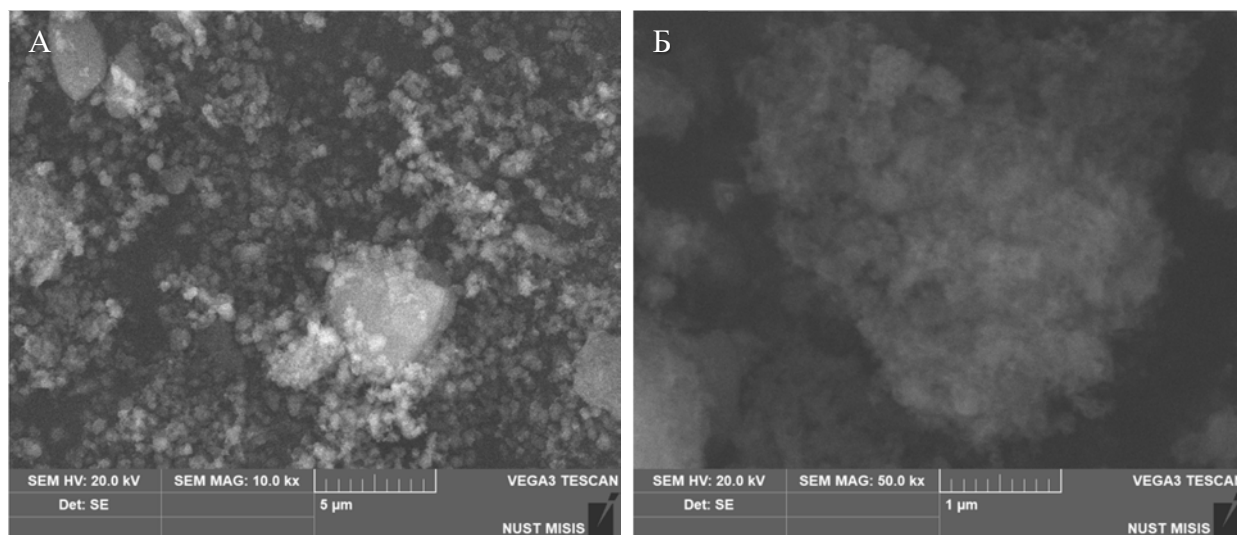


Рисунок 3.13 – СЭМ микрофотографии образцов гидроксилапатита 3.1, отобранных для проведения исследований влияния условий распыления на структурные параметры гранул гидроксилапатита

В рамках работы в связи с необходимостью использования полученных порошков для осуществления процесса распылительной сушки были проведены исследования влияния предварительность кавитационной обработки на показатели удельной поверхности полученных порошков гидроксилапатита. В качестве образца для этих исследований был также выбран образец 3.1, обладающий оптимальными характеристиками с точки зрения фазового состава.

Результаты исследования удельной поверхности образцов гидроксилапатита, измеренной методом низкотемпературной адсорбции по БЭТ, представлены в таблице 3.6. Средний размер частиц рассчитанный $D_{cp}=6/(\rho S_{уд})$ составляет примерно 30 нм, продолжительной ультразвуковой обработки практически не влияет на величину удельной поверхности и, соответственно, рассчитанный по ней средний размер частиц.

Таблица 3.6 – Значения величины удельной поверхности образцов гидроксилапатита 3.1., полученного при оптимальных условиях и предназначенного для получения сферических гранул методом распылительной сушки после кавитационной обработки в течение 0, 5 и 10 минут (образцы 3.2 и 3.3 соответственно).

Образец	$S_{уд}, м^2/г$	$D_{cp}, нм$
3.1	65	29
3.2	61	31
3.3	67	28

Результаты гранулометрического анализа полученных образцов с использованием метода лазерной дифракции представлены на рисунке 3.12. Было установлено, что

ультразвуковая обработка полученных суспензий гидроксилapatита с рабочей частотой 22 кГц и мощностью 1000 Вт оказывает существенное влияние на гранулометрический состав частиц в суспензиях. Для образца 3.1, полученного без ультразвуковой обработки (рисунок 3.14 а)), гранулометрический состав образца находится в интервале 0,5 – 8 мкм, с максимумом распределения на значении 2 мкм. Для образцов 3.2 и 3.3 (5 мин и 10 мин обработки ультразвуком) интервал распределения смещается в область от 0,25 мкм до 2 мкм с максимумом распределения 0,7 мкм для образца 3.2 и от 0,15 мкм до 1,5 мкм с максимумом распределения 0,4 мкм для образца 3.3. Результаты гранулометрического анализа показывают смещение пика распределения частиц по размерам в сторону меньших размеров под действием ультразвука с увеличением времени обработки от 5 до 10 мин, в связи с чем дальнейшие исследования, связанные с получением сферических гранул, проводились на образцах с продолжительностью обработки 10 мин.

Таким образом, проведенные исследования показали, что оптимальной системой прекурсоров для синтеза порошка гидроксилapatита с высокой степенью кристалличности является система $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$. Оптимальным значением уровня pH является значение 11 обеспечивающее получение однофазного образца гидроксилapatита. Оптимальная продолжительность гидротермальной обработки при температуре 250 °С и давлении 150 атм для достижения уровня степени кристалличности не ниже 0,95 составляет 24 часа, при этом при дальнейшем увеличении продолжительности гидротермальной обработки значение степени кристалличности увеличивается не значительно. Ультразвуковая обработка, проводимая после гидротермальной обработки, не оказывает влияния на фазовый состав образцов гидроксилapatита. Ультразвуковая обработка суспензии в течение 10 мин позволяет получить стабильную суспензию частиц гидроксилapatита с интервалом распределения частиц по размерам от 0,15 мкм до 1,5 мкм и максимумом при 1,5 мкм, что является необходимым для эффективного проведения процесса распылительной сушки полученных коллоидов гидроксилapatита с целью получения порошков, состоящих из сферических гранул.

Таким образом, в ходе представленного этапа работы были определены оптимальные условия получения стабильных суспензий однофазного порошка гидроксилapatита с высокой степенью кристалличности, предназначенного для получения сферических гранул.

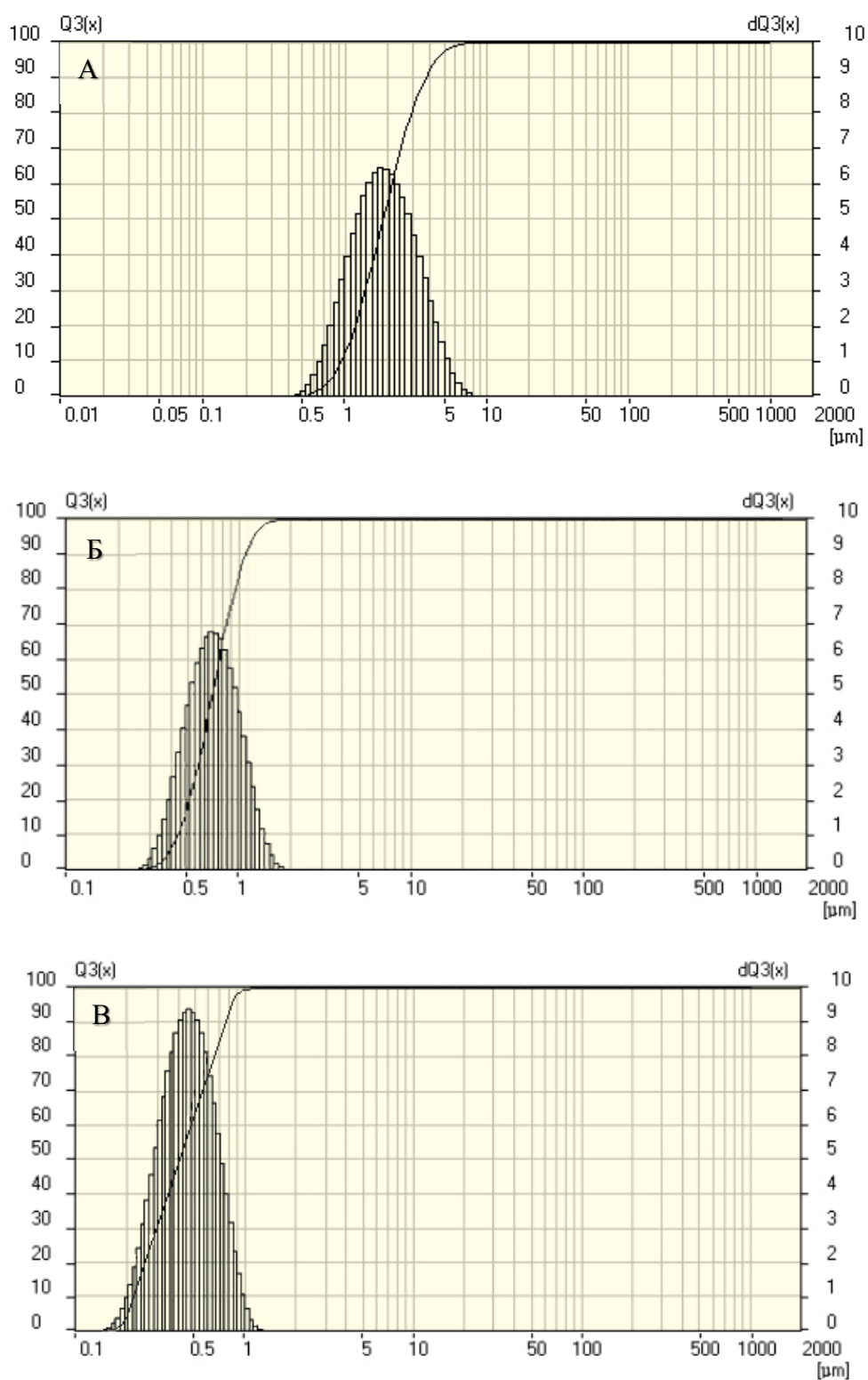


Рисунок 3.14 — Результаты лазерного дифракционного анализа образцов гидроксилапатита после ультразвуковой обработки в течение 0, 5 и 10 минут а) 3.1, б) 3.2, в) 3.3

4 Разработка методики получения сферических гранул гидроксилапатита с заданными диапазонами размеров

4.1 Подготовка суспензии гидроксилапатита

На основании проведенных исследований, посвященных определению оптимальных условий синтеза суспензий гидроксилапатита был получен образец 15 % масс. в количестве 3 кг. Для получения использовался комбинированный метод, включавший химическое осаждение из 10 % по массе растворов в системе $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$, при уровне pH равном 11 затем и обработку полученной суспензии наночастиц гидроксилапатита гидротермальным методом при температуре 250 °C и давлении 150 атм продолжительностью 24 часа. После проведения гидротермальной обработки проводилась обработка ультразвуком с рабочей частотой 22 кГц и мощностью 1000 Вт продолжительностью 5 мин с целью получения стабильной суспензии с концентрацией гидроксилапатита 15 % масс. и размером частиц не более 2 мкм.

Концентрация 15 % масс была обусловлена тем, что при меньших концентрациях в процессе грануляции методом распылительной сушки образуются части размером менее 5 мкм, то есть за пределами целевого диапазона 5-125 мкм. С другой стороны, при концентрациях выше 20 % масс. Было невозможно обеспечить седиментационную стабильность суспензии гидроксилапатита в воде.

4.2 Исследование влияния температуры термообработки на характеристики гранул гидроксилапатита

В процессе 3D-печати керамических материалов возникает необходимость разогрева материала печати до высоких температур порядка 1000 °C – 1200 °C. В связи с этим, возникает необходимость проведения исследования влияния термообработки при высоких температурах в интервале 1000 °C – 1200 °C на характеристики гранул гидроксилапатита.

Для исследования влияния термообработки на характеристики гранул гидроксилапатита были синтезированы 3 образца методом распылительной сушки с последующей термообработкой в муфельной печи SF-GA-1000 и SF-GA-1200, отожженные при температурах 1000 °C и 1200 °C. Распыление суспензии гидроксилапатита проводили на установке распылительной сушки Buchi-290 при рабочей температуре 220 °C с использованием пневматического распылителя. В ходе подбора оптимальных параметров распыления была выявлена существенная зависимость структурных параметров гранул от диаметра внутренней части сопла и, соответственно, вводимой при распылении в поток суспензии гидроксиапатита удельной мощности. Кроме того, была установлена возможность существенного увеличения производительности процесса получения гранул

путем разбавления суспензии гидроксилапатита специальными органическими модификаторами. Распыление проводили под давлением воздуха 5 бар. Оптимальная скорость подачи суспензии составляла 15 мл/мин. Концентрация суспензии исходного гидроксилапатита составляла 15 % масс. После получения полученные гранулы подвергали термообработке при температурах 1000 °С и 1200 °С.

Предварительно проводили термогравиметрические исследования гранул без термообработки в атмосфере воздуха со скоростью нагрева до 1200 °С со скоростью 10 °/мин. Термогравиметрические результаты представлены на рисунке 4.1.

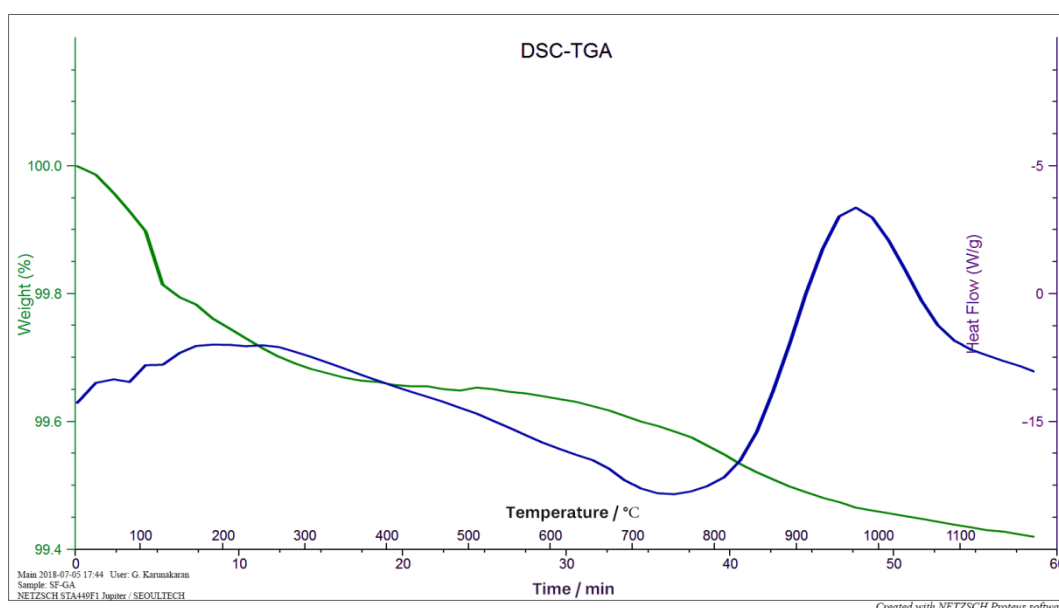


Рисунок 4.1 – Результаты термогравиметрических исследований гранул гидроксилапатита без термической обработки

Согласно данным термогравиметрического анализа масса гранул гидроксилапатита при нагревании уменьшается на 6,7 % масс. При этом на кривых ТГА, можно выделить три этапа: в интервале температур 50-150°C происходит удаление адсорбированной воды; в интервале температур 150-300°C, вероятно, происходит потеря структурной воды. данный этап, вероятно, связан с разложением остаточного нитрата аммония; в интервале температур 450-900°C происходит разложение карбонатгидроксилапатита с выделением CO₂.

Затем с целью изучения влияния термообработки на физико-химические свойства гранул гидроксилапатита был проведен отжиг экспериментального образца гранул гидроксилапатита. Для этого с использованием аналитических весов AND-202) была установлена масса тигля (M_т), затем после засыпки образца гранул гидроксилапатита в тигель установлена масса тигля с образцом (M_{т+обр}). Далее тигель с образцом сферических

гранул гидроксилапатита был помещен высокотемпературную муфельную печь электросопротивления и произведена термообработка при температурах 1000 и 1200 °С в течение 1 часа.

По завершению термообработки, когда температура в электропечи опустилась до значения не более 50 °С, тигель с образцом гранул гидроксилапатита был извлечен и установлена масса тигля с образцом после термообработки ($M_{(T+обр)T}$).

Далее была рассчитано процентное изменение массы образца в результате термообработки по формуле:

$$\Delta M = ((M_{(T+обр)T} - M_T) / ((M_{(T+обр)T} - M_T)) \times 100$$

Результаты измерения изменения массы образца после термообработки представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Результаты измерения изменения массы образца после термообработки.

Образец	Температура термообработки, °С	M_T , мг	$M_{T+обр}$, мг	$M_{(T+обр)T}$, мг	ΔM , %
SF-GA-1000	1000	17,2	39,5	37,9	6,3
SF-GA-1200	1200	16,8	38,3	36,8	7,1

Термообработанные образцы гранул гидроксилапатита исследовались методом термогравиметрии на анализаторе Thermo Scientific SDT Q600. Использовался такой же режим нагрева как и в случае отсутствия термообработки. Кривая нагрева отожжённого при 1000 °С образца гранул гидроксилапатита приведена на рисунке 4.2. Согласно полученным данным при нагрева до температур 1000 и 1200 °С уменьшение массы образцов не превышает 0.5 %, т.е. значимого изменения массы не происходит. Это указывает, что сфероидизированные порошки гидроксилапатита после отжига при этих температурах не подвержены обратной гидратации, которая может привести к ухудшению потребительских свойств порошков.

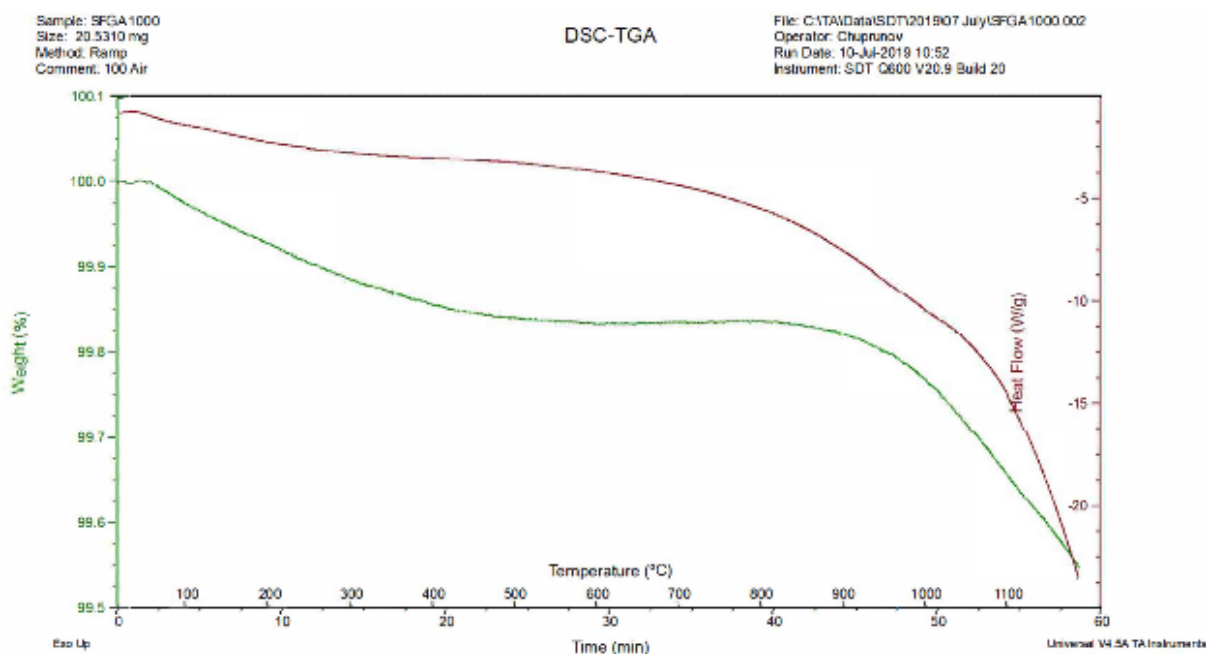


Рисунок 4.2 – Результаты термогравиметрического анализа образца гранул гидроксилапатита после отжига при 1000 °С в течение 60 мин.

4.3 Исследование влияния термообработки на удельную поверхность образцов гранул гидроксилапатита

Анализ удельной поверхности по БЭТ и пористости гранул гидроксилапатита проводили на установке Quantachrome Nova 1200 e в интервале относительных давлений 0.05 – 0.3. В таблице 4.2 представлены результаты измерения удельной поверхности образцов гранул до и после термообработки при 1000 и 1200 °С.

Таблица 4.2 - Результаты анализа удельной поверхности образцов гидроксилапатита после проведения термообработки

Образец	$S_{уд}$, м ² /г	$D_{ср}$, нм
SF-GA	65	29
SF-GA-1000	13	150
SF-GA-1200	5	380

При проведение термической обработки гранул гидроксилапатита происходит уменьшение удельной поверхности с 65 м²/г для необработанных гранул до 13 м²/г и 5 м²/г для образцов отожженных при температурах 1000 °С и 1200 °С в течение 1 часа. При этом размер первичных наночастиц, составляющих гранулы гидроксилапатита, увеличивается с 29 нм до 380 нм, что связано с процессами спекания мелких частиц в ходе термической обработки.

Анализ пористости образцов гранул гидроксилпатита сорбционными методами проводили по моделям BJH и DFT. Полученные результаты показали значения пористости, равные 4 % для образца SF-GA и 3,7 % и 3,5 % для образцов SF-GA-1000 и SF-GA-1200 гранул гидроксилпатита. Таким образом, образцы характеризуются минимальным значением пористости менее 5 %, что позволяет рассматривать в качестве перспективных с точки зрения практического применения керамических материалов.

4.4 Разработка параметров процесса распылительной сушки с целью получения гранул гидроксилпатита с заданными размерами

Распыление 15 % масс. суспензии гидроксилпатита методом распылительной сушки проводили на установке Buchi-290. В качестве распылителей использовались пневматическая и ультразвуковая системы распыления. Распыление проводилось при следующих условиях: температура воздуха на входе в вакуумированную систему 220 °С, мощность аспиратора 100 %, диаметр пневматической форсунки 0,7 мм, мощность ультразвуковой форсунки 17 Вт, концентрация суспензии 15 % масс, дисперсионная среда вода, вода + 25 % этанола. Скорость подачи суспензии варьировалась в интервале 5 – 20 мл/мин с шагом 5 мл/мин. Скорость подачи воздуха варьировалась в интервале 150 – 600 л/ч, с шагом 150 л/ч.

Полученные порошки просеивались сухих и мокрым (этиловый спирт) рассевом на ситах 20 мкм и 60 мкм на ситовой установке Fritsch Analysette 3.

В ходе проведенных экспериментов было показано, что увеличение потока суспензии приводит к увеличению размера гранул, повышение скорости потока газа носителя приводит к уменьшению размера гранул.

Теоретические расчеты для определения размера капель для формирования гранул различной дисперсности представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Дисперсность капель для получения гранул гидроксилпатита с изменяемой дисперсностью

$d_{\text{частиц}}$, мкм	$d_{\text{капель}}$, мкм
5	32
25	160
40	256
45	288
125	800

4.5 Гранулирование образцов гидроксилапатита

Основным практическим результатом работ должны были стать параметры получения порошков гидроксилапатита заданных диапазонов размеров в интервалах 5 – 25 мкм, 25 – 45 мкм, 40 – 125 мкм. Поскольку размер частиц гидроксилапатита определяется размером исходных капель суспензии, содержащей наночастицы гидроксилапатита, в ходе работы был осуществлен теоретических расчет взаимосвязи между размером капель и размером образующихся из них частиц.

Задачей этого расчета являлся выбор оптимального способа распыления суспензии – пневматического или ультразвукового – и выбор оптимальных режимов распыления.

На рисунке 4.3 представлена схема расчета диаметра капли суспензии необходимой для получения гранул определенной дисперсности.

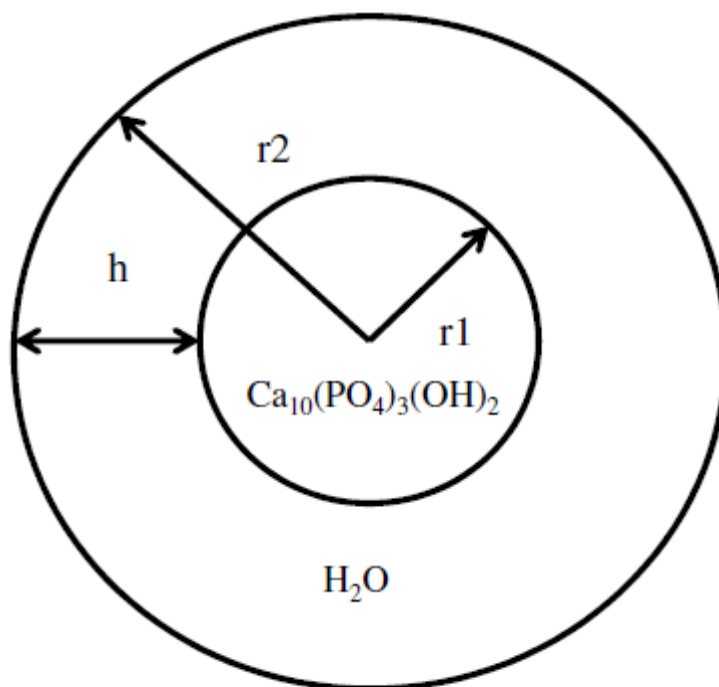


Рисунок 4.3 – Схема расчета диаметра капли

Зная требуемый диаметр гранул гидроксилапатита (d_g) можно рассчитать объем гранулы (V_g) и массу гранулы (m_g), приняв плотность гидроксилапатита (ρ_g) равной 3,15 г/см³. Далее зная, массу гранулы гидроксилапатита и используемую для получения гранул массовую долю суспензии гидроксилапатита W , можно определить массу капли суспензии (m_d), объем капли суспензии (V_d), рассчитав плотность суспензии (ρ_d) для каждой концентрации и рассчитать диаметр капли суспензии (d_d). Таким образом, можно вывести

зависимость диаметра капли суспензии гидроксилapatита от концентрации суспензии. Для определения плотности капель суспензии

$$V_g = \frac{4}{3} \pi \frac{d_g^3}{8}$$

$$m_g = \rho_g V_g$$

$$W = \frac{m_g}{m_d}$$

$$m_d = \frac{m_g}{W}$$

$$V_d = \frac{m_d}{\rho_d}$$

$$d_d = \left(\frac{6V_d}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}}$$

Подставив все формулы, получаем выражение:

$$d_d = d_g \left(\frac{\rho_g}{W \rho_d} \right)^{\frac{1}{3}}$$

Где d_d - диаметр капли суспензии; d_g - диаметр гранул гидроксилapatита; ρ_g - плотность гидроксилapatита; W - массовая доля суспензии гидроксилapatита; ρ_d - плотность суспензии

Учитывая плотность воды ρ_w , равной 1 г/см³ и плотность гидроксилapatита ρ_g равной 3,15 г/см³ [133].

$$\rho_d = W \rho_g + (1 - W) \rho_w$$

Проведенные расчеты позволяют оценить зависимость диаметра капель суспензии необходимых для получения гранул гидроксилapatита с определенным гранулометрическим составом 5 – 25 мкм, 25 – 45 мкм, 40 – 125 мкм. Параметры процессов гранулирования суспензий гидроксилapatита представлены патентах и ноу хау.

В таблице 4.4 представлены результаты оценки размера капель суспензии, которые необходимо получить для гранулирования гидроксилapatита с определенным гранулометрическим составом

Таблица 4.4 – Зависимость диаметра капель суспензии от концентрации суспензии, для гранул гидроксилапатита с гранулометрическим составом 5 – 25 мкм, 25 – 45 мкм, 40 – 125 мкм

W	d_g , мкм	d_d , мкм
0,05	5	19
0,1	5	15
0,15	5	13
0,2	5	11
0,05	25	96
0,1	25	74
0,15	25	63
0,2	25	56
0,05	40	154
0,1	40	118
0,15	40	101
0,2	40	89
0,05	45	173
0,1	45	133
0,15	45	113
0,2	45	100
0,05	125	481
0,1	125	370
0,15	125	314
0,2	125	278

На рисунке 4.4 представлен график зависимости диаметра капель суспензии от концентрации суспензии, для гранул гидроксилапатита с гранулометрическим составом 5 – 25 мкм, 25 – 45 мкм, 40 – 125 мкм.

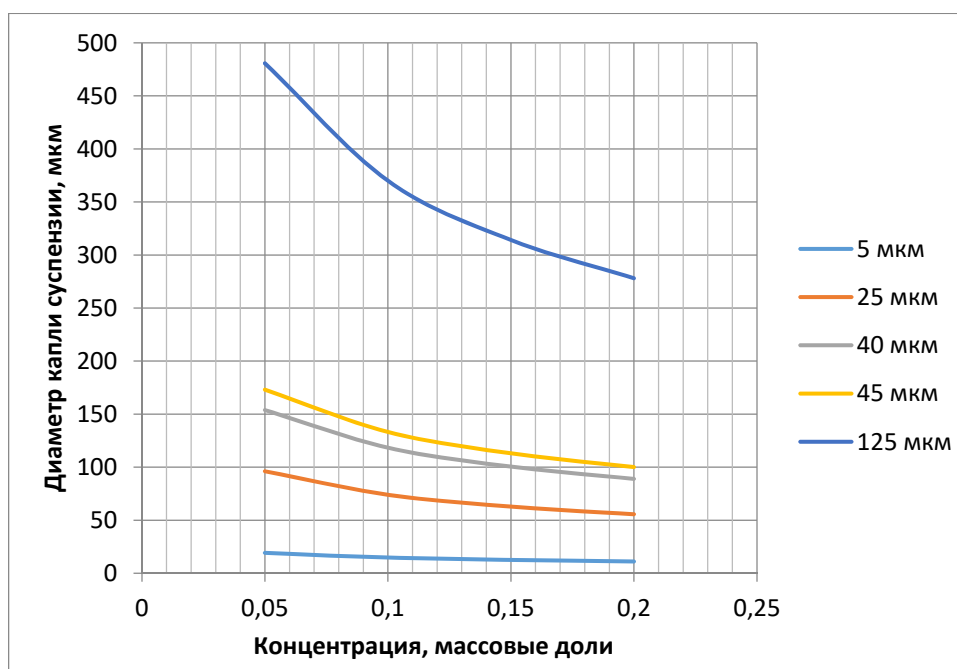


Рисунок 4.4 - График зависимости диаметра капель суспензии от концентрации суспензии

Исходя из проведенных расчётов, для дальнейших исследований были выбраны суспензии с концентрацией 15% гидроксилпатита. При такой концентрации для избегания засорения сопла была выбрана максимальная мощность аспиратора. Температура сопла была подобрана экспериментально - 220 °С. При меньших температурах в гранулах присутствовала остаточная влажность, что вызывало слипание и комкование материала. Для дальнейшего определения оптимальных параметров получения гранул были проведены исследования с изменением скорости подачи суспензии и изменением расхода воздуха. Данные представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 – Сводная таблица полученных гранулированных образцов при концентрации суспензии 15%, мощности аспиратора 100%, мощности ультразвука 17 Вт и температуре на входе 220 °С

Гранулирование гидроксилатапата		
Образец	Условия распыления	
	Скорость подачи мл/мин	Расход воздуха, л/ч
Г1	5	150
Г2	5	300
Г3	5	450
Г4	5	600
Г5	10	150
Г6	10	300
Г7	10	450
Г8	10	600
Г9	15	150
Г10	15	300
Г11	15	450
Г12	15	600
Г13	20	150
Г14	20	300
Г15	20	450
Г16	20	600
НAPG-5-25	5	600
НAPG-25-45	10	450
НAPG-40-125	20	300

Был исследован гранулометрический состав полученных порошков на лазерном анализаторе частиц.

Для первой группы образцов характерный пик представлен на рисунке 4.5.

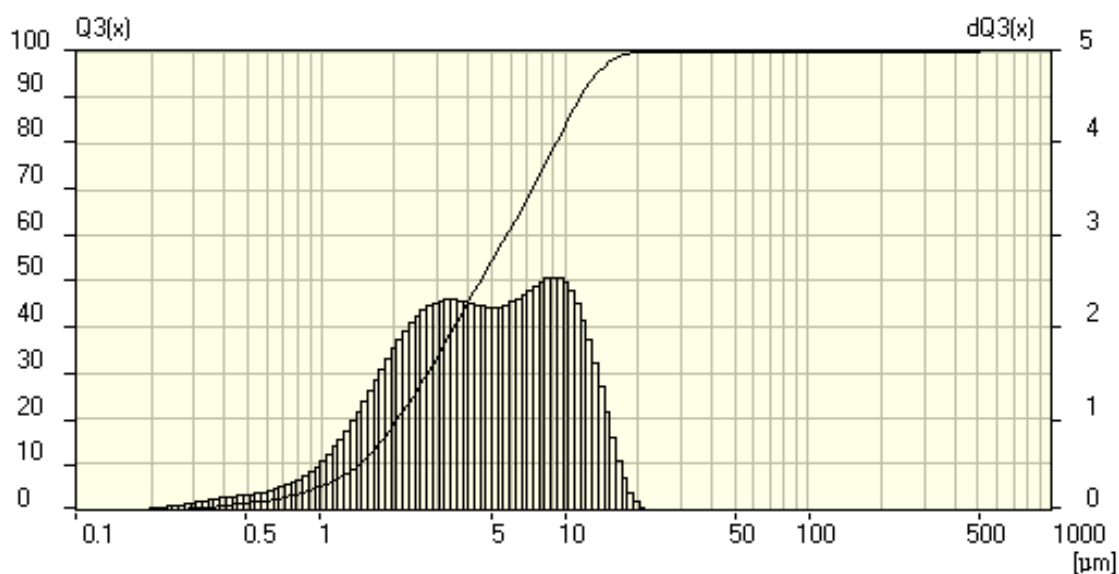


Рисунок 4.5 - Распределение частиц по размерам для образца Г4

Полученные гранулы для всех образцов находятся в диапазоне до 20 мкм. Однако доля частиц менее 5 мкм у образцов Г1-Г3 выше.

Среди гранул Г5-Г8 характерный пик распределения представлен на рисунке 4.6.

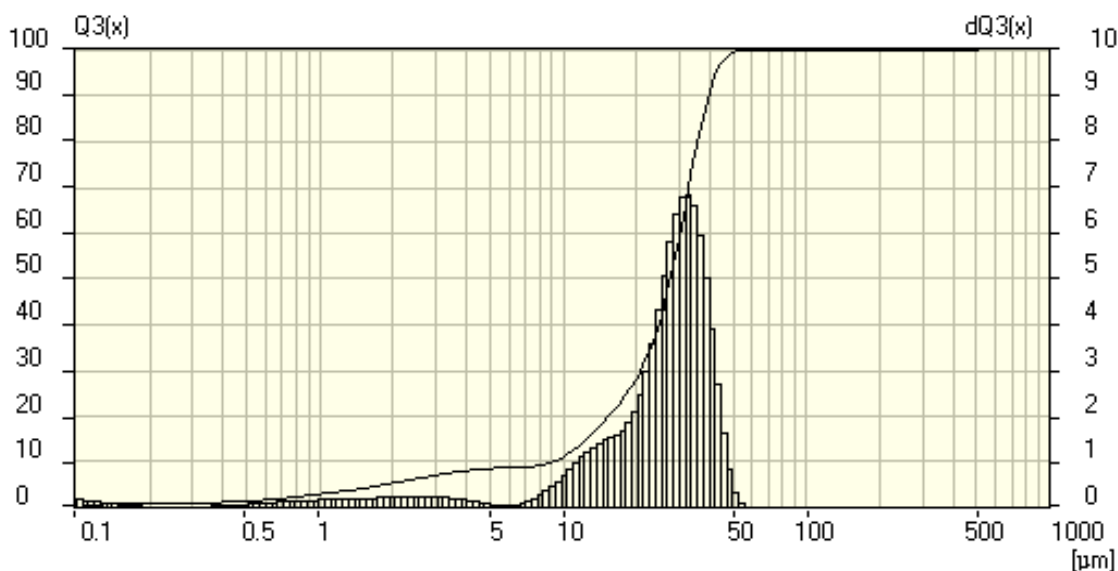


Рисунок 4.6 - Распределение частиц по размерам для образца Г7

Данная группа образцов преимущественно попадает в диапазон частиц 25-45 мкм. При этом для образца Г5 в данной диапозоне находится 50% частиц, для образца Г6 67% частиц, для образца Г7 60%, но при этом пик распределения более выражен, для образца Г8 60%, но при этом неоднородность частиц выше, чем в образце Г7.

Характерный пик распределения для образцов Г9-Г12 представлен на рисунке 4.7

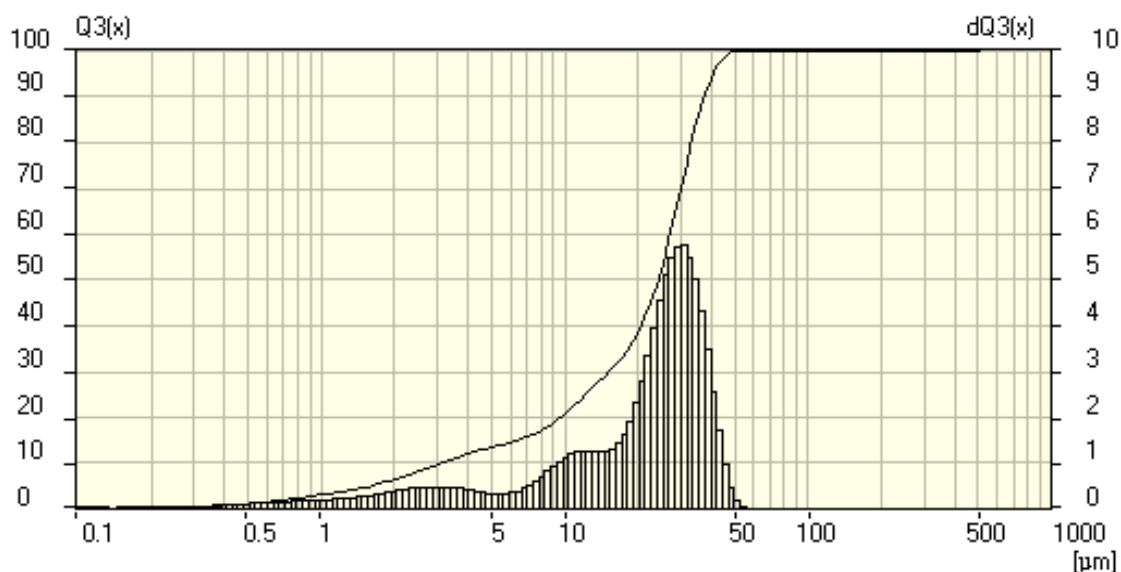


Рисунок 4.7 - Распределение частиц по размерам для образца Г10

Кривые распределения образцов со скоростью подачи суспензии 15 мл/мин схожи с образцами Г5-Г8, однако имеют больший разброс частиц по размеру.

Характерный пик распределения для образцов Г13-Г16 представлен на рисунке 4.8

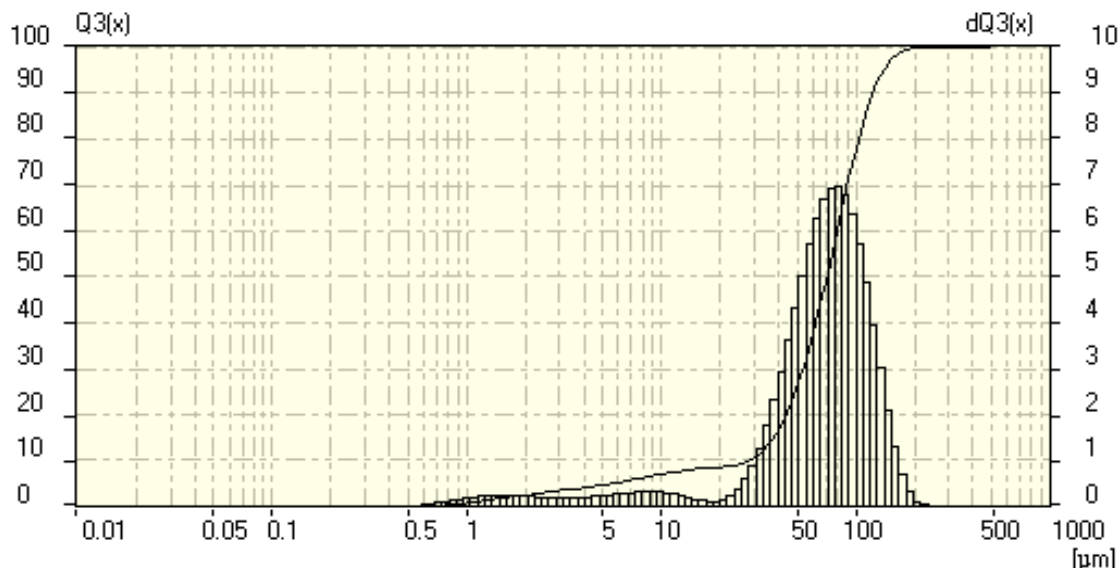


Рисунок 4.8 - Распределение частиц по размерам для образца Г14

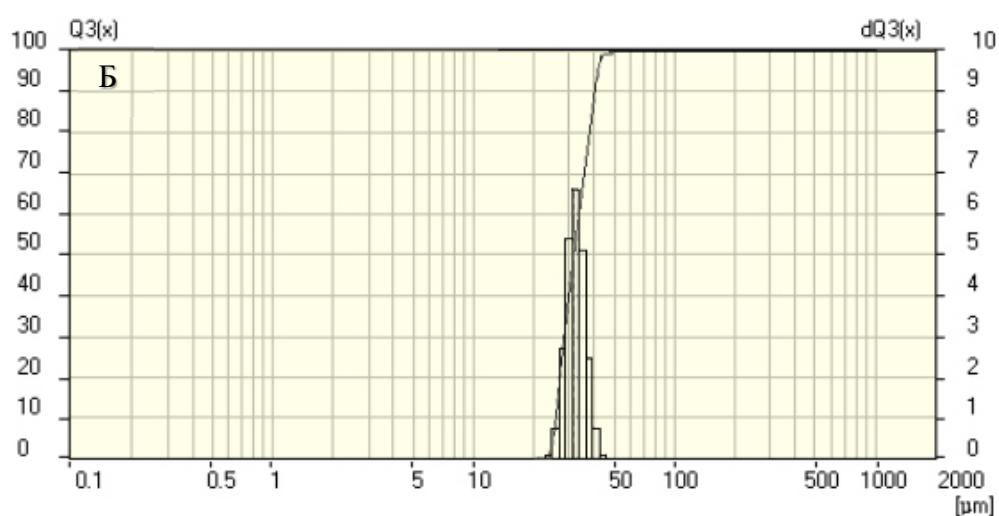
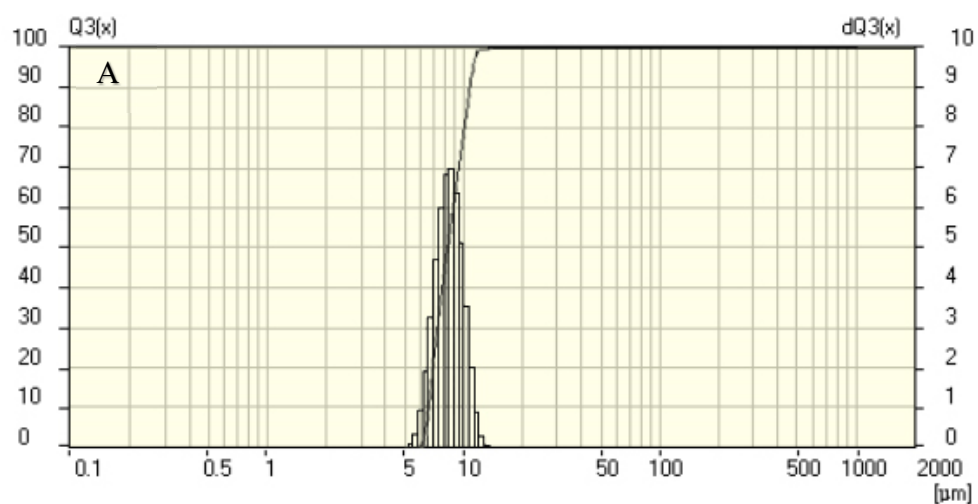
Диаграммы распределения частиц по размерам образцов Г13-Г16 показали пик распределения в диапазоне 30-200 мкм. При этом образец Г14 показал наиболее узкий пик распределения с максимумом около 80 мкм.

Проведённые гранулометрические исследования образцов Г1-Г16 показали, что наиболее оптимальные условия для получения образцов с гранулами в диапазоне 5-25 мкм при скорости подачи суспензии 5 мл/мин и расходе воздуха 600 л/ч. Для получения образцов в диапазоне 25-45 мкм, были выбраны скорость подачи суспензии 10 мл/мин и скорость расхода воздуха 450 л/ч. Образцы в диапазоне 40-125 мкм наиболее оптимально получать при скорости подачи суспензии 20 мл/мин и скорость расхода воздуха 300 л/ч

Как показано на рисунках 4.5, 4.6 и 4.8 распределение частиц по размеру шире обозначенных границ, поэтому полученные образцы просеивались на вибрационных ситах. Во избежание накопления статического заряда на поверхности частиц образцы в процессе помола смачивались этиловым спиртом.

Гранулометрический состав полученных в результате отработки параметров образцов НАРГ-5-25, НАРГ-25-45, НАРГ-40-125 представлены на рисунке 4.9. На рисунке 4.10 представлены микрофотографии образцов гранул НАРГ-5-25, НАРГ-25-45, НАРГ-40-125.

Полученные результаты гранулометрического состава образцов гранул демонстрирует в образце НАРГ-5-25 формирование гранул с размерами частиц в интервале 5 – 15 мкм, с максимумом распределения на 8 мкм (рисунок 4.9 а) Для образца НАРГ-25-45 интервал размеров частиц составил 25 – 45 мкм и максимум распределения на 20 мкм (рисунок 4.9 б). В образце НАРГ-40-125 интервал размеров частиц составляет 50 – 100 мкм с пиком распределения 70 мкм (рисунок 4.9 в). Полученные СЭМ микрофотографии образцов гранул гидроксилпатита подтверждают результаты гранулометрического состава (рисунок 4.10). Гранулы гидроксилпатита представляют собой частицы близкие по форме к сферическим, состоящие из более мелких частиц неправильной формы. Анализ удельной поверхности образцов гранул, представленный в таблице 4.2 подтверждает идею о том, что полученные гранулы гидроксилпатита состоят из более наночастиц с размерами около 30 нм.



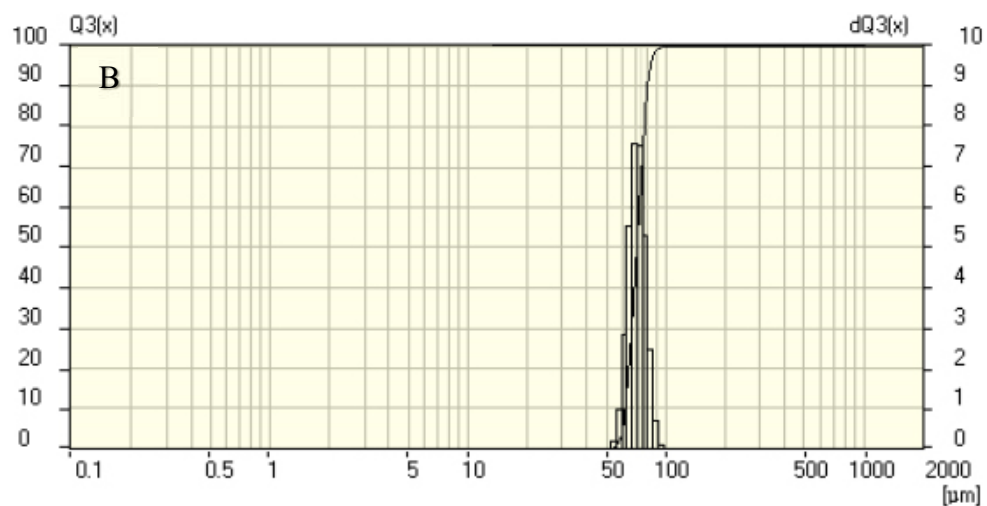


Рисунок 4.10 - Гранулометрический состав образцов а) HAPG-5-25, б) HAPG-25-45, в) HAPG-40-125

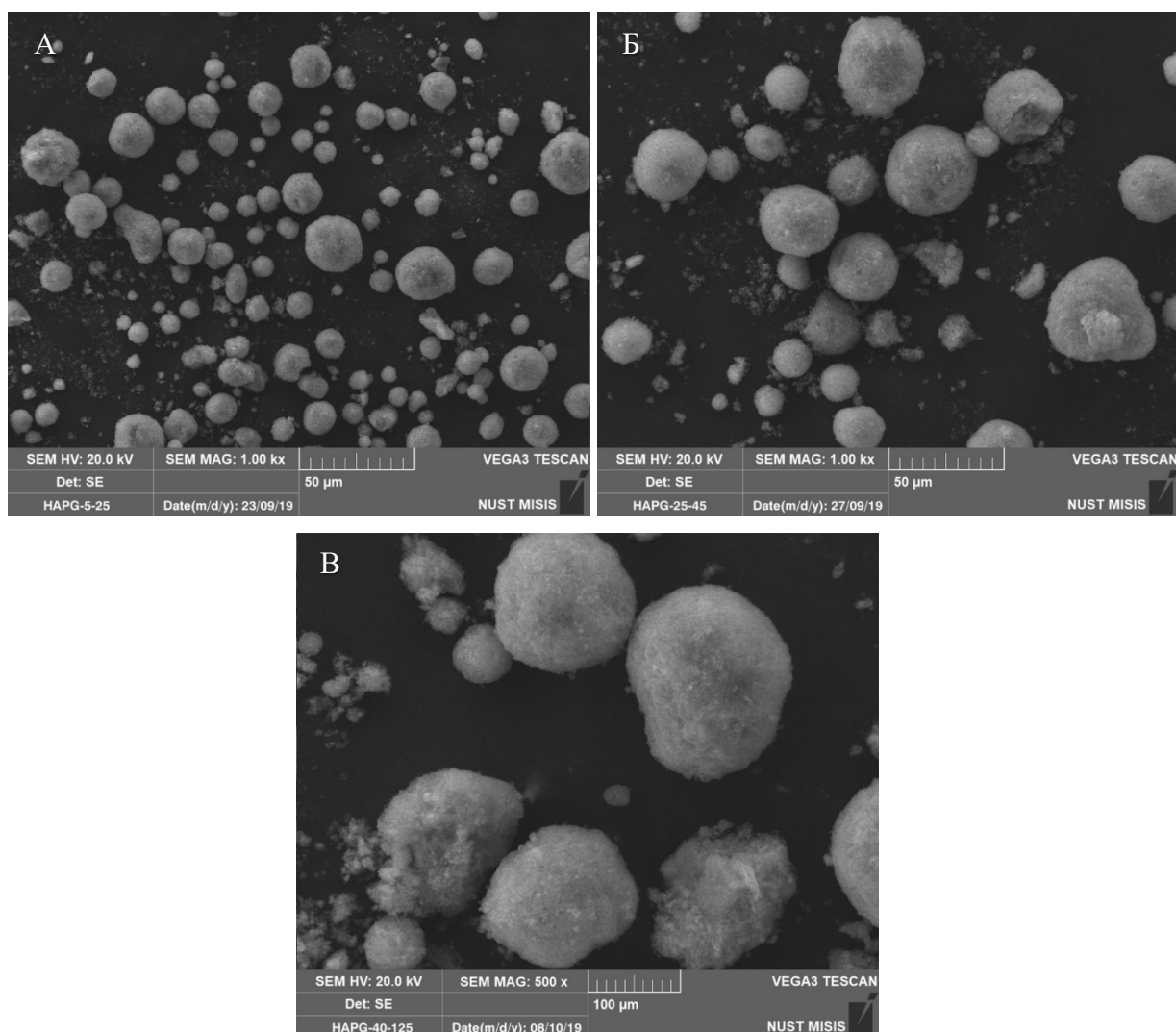


Рисунок 4.10 – результаты исследования методом сканирующей электронной микроскопии образцов гранул гидроксилапатита микрофотографии гранул гидроксилапатита а) HAPG-5-25, б) HAPG-25-45, в) HAPG-40-125

Таким образом, в ходе проведения работ по разработке и подбору параметров процесса распылительной сушки с целью получения гранулированных порошков гидроксилапатита с заданными распределениями частиц по размерам, был проведен теоретический расчет необходимого размера исходных капель суспензии гидроксилапатита, который позволил примерно определить оптимальные способы и режимы распыления. В ходе практических работ были подобраны параметры процесса распылительной сушки, обеспечивающие получение не менее 65 % масс. гранул заданных размеров частиц в диапазонах 5 – 25 мкм, 25 – 45 мкм, 40 – 125 мкм. Установлено, что для обеспечения равномерного распыления суспензии необходимо приготовление суспензии 15 % по масс. с использованием ультразвуковой обработки суспензии с рабочей частотой 22 кГц и мощностью 1000 Вт в течение 5 минут для формирования устойчивой суспензии гидроксилапатита. Также было проведено исследование влияния термообработки на свойства гранул гидроксилапатита. Установлено, что термообработка при температурах 1000 °С и 1200 °С приводит к снижению удельной поверхности и увеличению размера наночастиц, составляющих гранулы гидроксилапатита с 30 до 67 нм, при этом остаточная открытая пористость гранул не превышает 5 %. В результате работы были получены опытные партии гранулированных порошков гидроксилапатита с частицами сферической формы и диапазонами размеров частиц в интервалах 5 – 25 мкм, 25 – 45 мкм и 40 – 125 мкм, которые в дальнейшем были использованы при анализе перспектив использования полученных гранулированных порошков гидроксилапатита.

4.6. Результаты оценки биосовместимости сфероидизированных гранулированных порошков гидроксилапатита

В ходе работы также была проведена оценка показателей биосовместимости сфероидизированных гранулированных порошков гидроксилапатита с распределением по размерам в интервале 5-25 мкм.

Биосовместимость является важнейшим условием использования полученных порошков гидроксилапатита в биомедицинских применениях. Для создания медицинских изделий и устройств привлекают широкий круг материалов естественного и искусственного происхождения, в том числе, синтетические полимерные, биополимеры, металлы, керамику, гидроксиапатиты, углерод, биоткани и гибридные (биоискусственные), основанные на комбинированном использовании биоматериалов и функционирующих клеток различных тканей и органов. При этом все эти материалы и изделия называют биосовместимыми. С 1994 г. под термином "биосовместимость" было предложено понимать способность материала, изделий или устройств выполнять свои функции и не вызывать отрицательных реакций в организме "хозяина". Суммируя существующие

представления о характере взаимодействия чужеродного материала с биологическими структурами организма человека, можно сформулировать основные свойства, которыми должно обладать биосовместимое изделие или материал:

- не вызывать местной воспалительной реакции;
- не оказывать токсического и аллергического действия на организм;
- не обладать канцерогенным действием;
- не провоцировать развитие инфекции;
- сохранять функциональные свойства в течение предусмотренного срока эксплуатации [134].

Необходимость проведения оценки биосовместимости новых медицинских материалов и изделий диктуется двумя важными аспектами: с одной стороны возможное негативное влияние материала как на отдельные непосредственно контактирующие с ним клетки, так и токсическое действие на весь организм в целом; с другой стороны сам материал может деградировать или терять свои функциональные свойства под действием среды организма.

Тест на цитотоксичность позволяет оценить токсический потенциал материала на клеточном уровне, то есть *in vitro*. Преимуществом оценки биосовместимости *in vitro* является высокая чувствительность и относительная дешевизна. Кроме того, метод дает количественные и сопоставимые результаты, следовательно, позволяет быстро оценивать и отбирать токсичные материалы до проведения исследований на животных. В качестве тест-объектов, при оценке цитотоксичности, обычно используют либо культуры клеток, либо одноклеточные микроорганизмы (бактерии, микроводоросли). Как правило, первоначально проводят тест на выживаемость объектов под действием материала или изделия, а затем, в случае выявления негативного эффекта, устанавливаются возможные механизмы токсического действия.

Результаты тестирования гидроксилapatита в среде физиологического раствора представлены на рисунках 4.11 – 4.14.

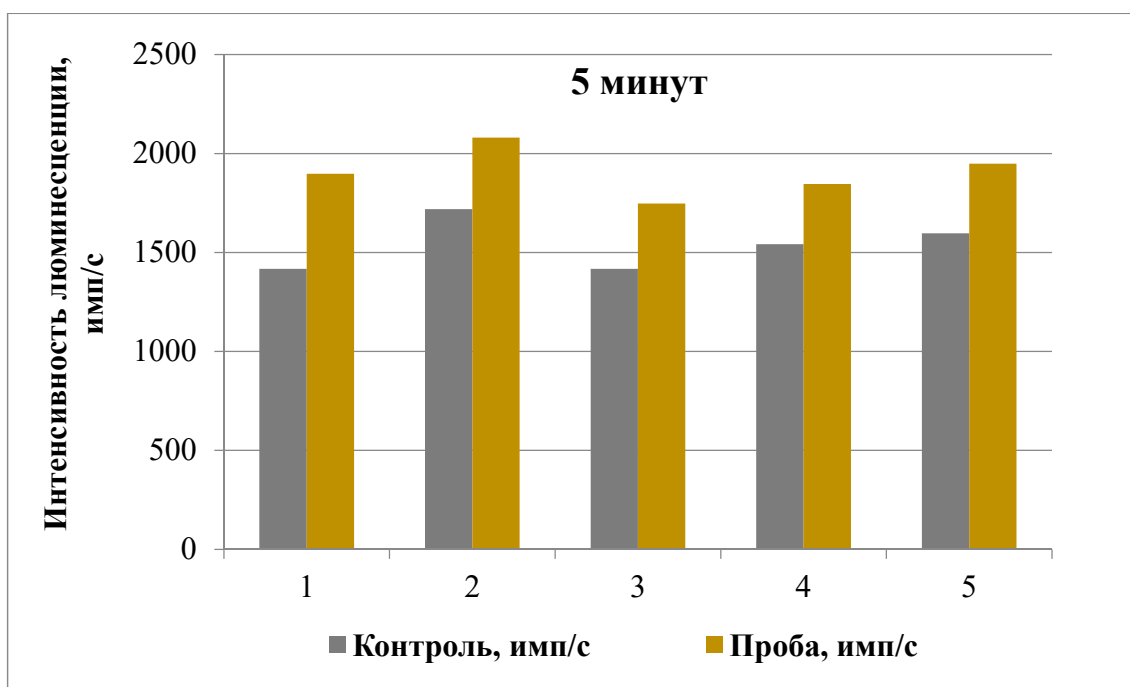


Рисунок 4.11 – Интенсивность люминесценции тест-объекта под действием гидроксилapatита в среде физиологического раствора после 5-ти минутной экспозиции

Как видно из рисунка 4.11, после 5-ти минутной экспозиции интенсивность биолуминесценции биосенсора увеличилась относительно контроля в среднем на 300 – 400 импульсов в секунду. Результаты свидетельствуют о том, что образец гидроксилapatита, используемый при апробации методики, не только не оказывает токсического действия на бактериальные клетки, но и несколько стимулирует жизнеспособность тест-объекта.

Подобные результаты были получены и при 30-ти минутах экспозиции (рисунок 4.12)

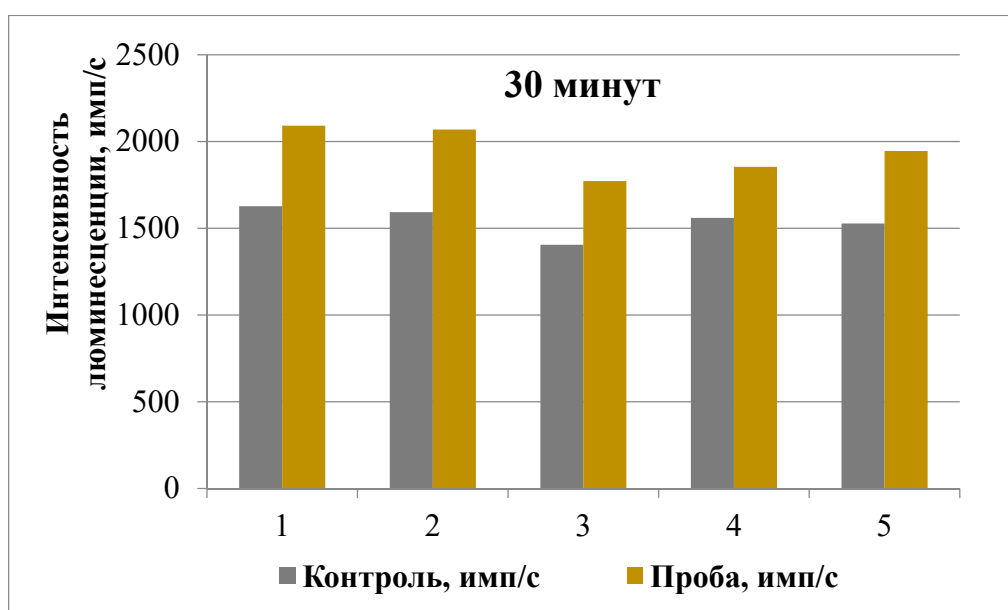


Рисунок 4.12 – Интенсивность люминесценции тест-объекта под действием гидроксилапатита в среде физиологического раствора после 30-ти минутной экспозиции

Анализ результатов исследования влияния образца гидроксилапатита на бактериальные клетки после 60-ти минутной экспозиции (рисунок 4.13), также указывает на стимулирующее действие материала. В данном случае интенсивность биолюминесценции возросла на 400 – 600 имп/с.

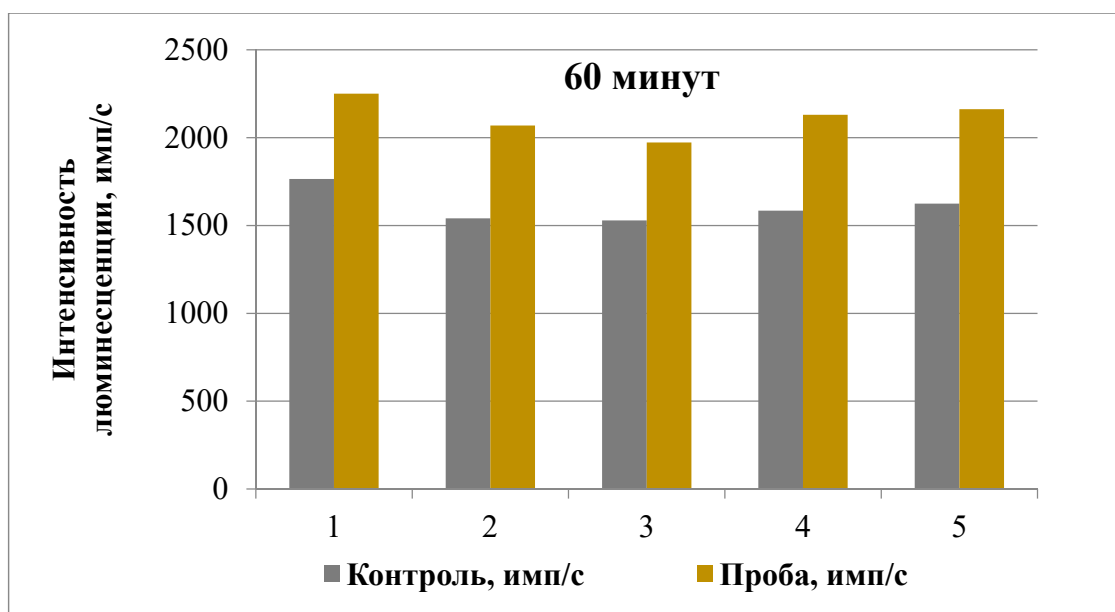


Рисунок 4.13 – Интенсивность люминесценции тест-объекта под действием гидроксилапатита в среде физиологического раствора после 60 –ти минутной экспозиции

После 120 минут выдерживания бактериальных клеток в среде раствора гидроксилапатита отмечалось ещё большее увеличение интенсивности люминесценции биосенсора (рисунок 4.14).

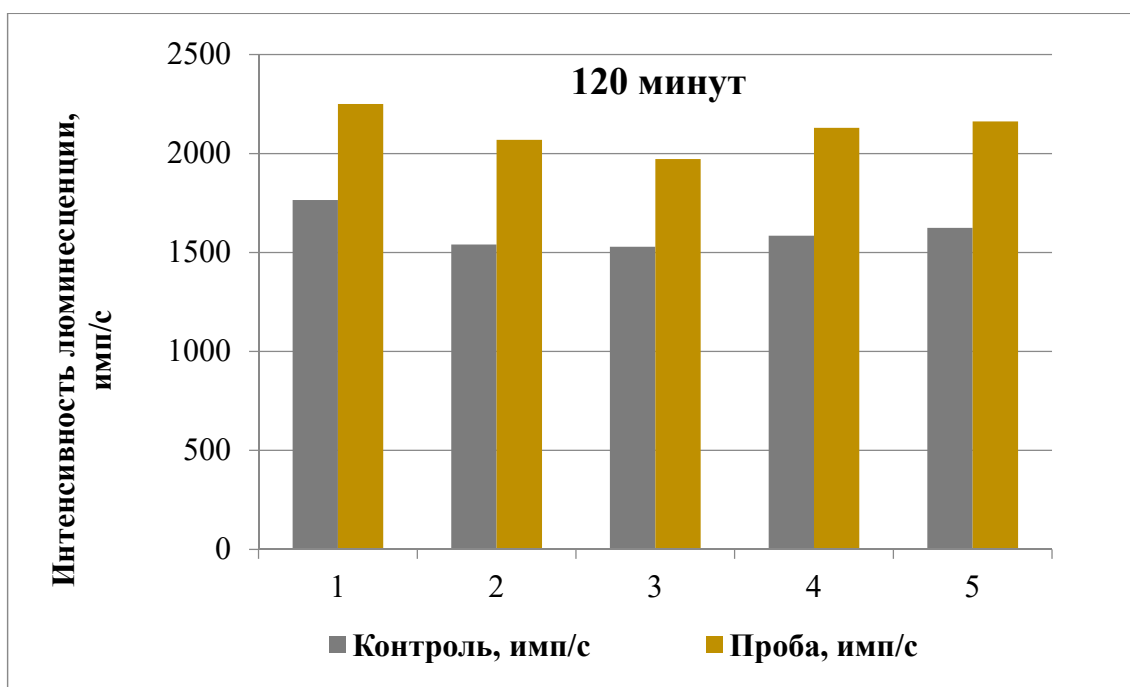


Рисунок 4.14 – Интенсивность люминесценции тест-объекта под действием гидроксилапатита в среде физиологического раствора после 120-ти минутной экспозиции

По окончании эксперимента был проведен анализ влияния гидроксилапатита на бактериальные клетки в среде физиологического раствора. Расчет индекса токсичности показал, что его значения значительно ниже нуля (рисунок 4.15), т.е. образец оказался не только не токсичным, но и оказал некоторое стимулирующее действие на выбранный тест-объект. Причем, как видно из рисунка 4.15, с увеличением времени экспозиции, стимулирующий эффект усиливался.

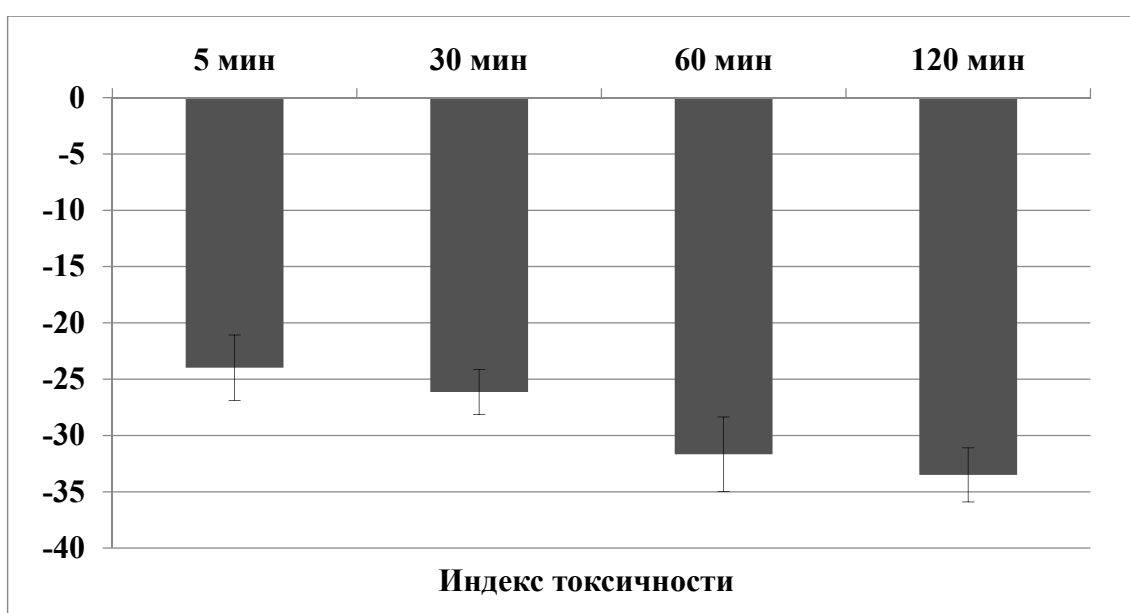


Рисунок 4.15 – Анализ влияния гидроксилапатита на клетки-мишени в среде физиологического раствора

Полученные результаты показали, что исследуемый образец гидроксилапатита не оказал токсического действия на используемый тест-объект в среде физиологического раствора независимо от времени контакта клеток с материалом. Полученные данные подтверждают безопасность исследуемого материала, а отсутствие токсического эффекта по отношению ко всем тест-объектам, позволяет отнести образцы гидроксилапатита, предназначенные для разработки биосовместимых керамических порошковых материалов, к веществам с классом опасности не выше 4-го.

Таким образом, разработанные порошки гидроксилапатита пригодны для использования в различных биомедицинских приложениях, таких как препараты для стимуляции регенерации соединительной ткани кожных покровов, технологии изготовления имплантов методом 3D печати, газотермические методы создания покрытий на металлических имплантах. В рамках данной работы были проведены эксперименты по подбору параметров процесса получения прототипов биомедицинских изделий на основе гранулированных сферических порошков гидроксилапатита методом 3D-печати.

4.7 Разработка методики получения прототипов биомедицинских изделий (заготовок имплантов) методом 3D-печати с использованием сферических гранул гидроксилапатита

Одной из потенциальных областей применений разработанных сферических порошковых материалов на основе гидроксилапатита являлось использование их в технологиях 3D-печати. В связи с этим в рамках работы была проведена работа по созданию оригинальной методики 3D-печати с использованием сферических гранул гидроксилапатита.

Сферичность частиц в данном случае позволяет добиться равномерного распределения гидроксилапатита по объему полимерного композита (заготовки импланта). Одним из наиболее распространённых методов печати является экструзионный, и он весьма чувствителен к структуре и морфологии наполнителя. Основными проблемами использования керамических частиц в экструзионной печати является закупоривание сопла. Это связано, как правило, с неоднородностью гранулометрического состава керамики, а также со сложностью гомогенизации печатающего наполнителя и пластификатора. Разработанная технология грануляции гидроксилапатита позволила решить вопрос с неоднородностью распределения и морфологии частиц, что обеспечило возможности получения качественных биомедицинских изделий на основе гидроксилапатита методами аддитивной печати.

Печать биомедицинских изделий (заготовок имплантов) методами 3D-печати проводилась с использованием гранул биосовместимого материала полилактида. Полилактид - это биосовместимый, термопластичный, алифатический полиэфир, мономером которого является молочная кислота, что определяет его широкое использование для биомедицинских применений.

На рисунке 4.16 представлена формула полилактида.

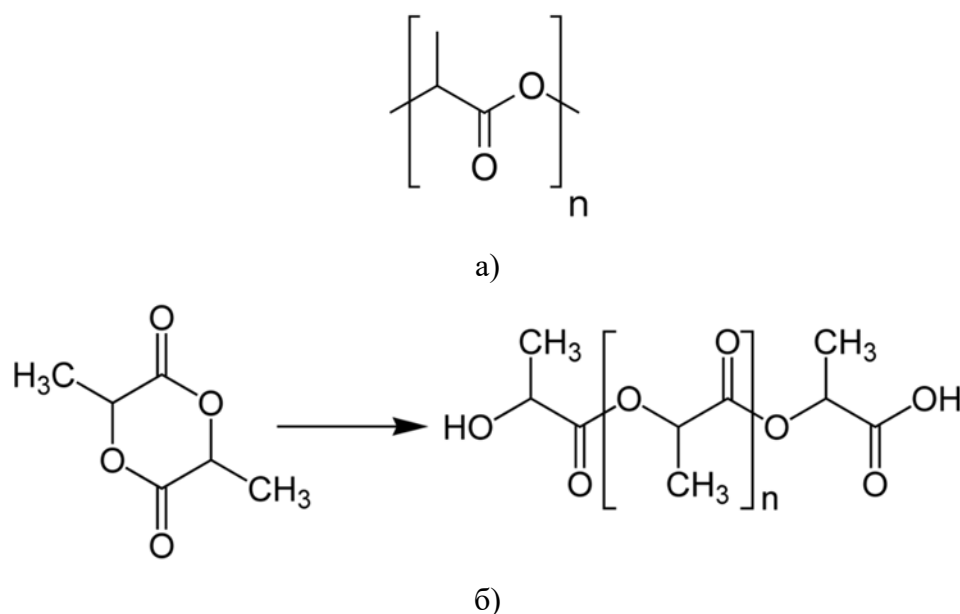


Рисунок 4.16 – Формула полилактида а) сокращенная б) полимеризация

Данный полимер хорошо зарекомендовал себя в качестве биосовместимого материала. В связи с этим было принято решение разрабатывать методику печати биомедицинских изделий (заготовок имплантов) на основе гранул полилактида.

На первом этапе работы проводилось смешивание гранул полилактида порошками гранул особо чистого гидроксилапатита и гидроксилапатит-трикальцийфосфата. Модифицирование гранул полилактида проводили методом совместной горячей экструзии полилактида и навески порошка гранул гидроксилапатита. Предварительно на аналитических весах подготовлены навески гранул полилактида и порошка гранул гидроксилапатита и гидроксилапатит-трикальцийфосфата с расчетом на получение 15 % масс порошка гранул в составе модифицированной нити.

Гранулы биосовместимого материала (полилактида) помещали в сушильный шкаф и нагревали до температуры 200 °С. Далее к ней добавляли навеска гранул гидроксилапатита, после чего полученная смесь замешивалась в лабораторном двухшнековом экструдере (рисунок 4.17).



Рисунок 4.17 - Внешний вид лабораторного экструдера Thermo Scientific Haake MiniJet

В экструдере *гранулы* биосовместимого материала (полилактида) расплавлялись и перемешивались с гранулами гидроксилатапата, полученная смесь экструдировалась в нить диаметром 1,75 мм для дальнейшей печати с использованием 3D-принтера. Диаметр готовой нити 1.75 мм соответствует внутреннему диаметру фильеры экструдера и является стандартным диаметром для использования полимерных 3D-принтерах. Полученная таким образом нить для 3D-печати наматывалась на стандартную катушку для нитей полимерных принтеров диаметров 25 мм и шириной 4 мм.

После этого проводилась сушка полученной нити для 3D -печати. Для этого катушку с нитью для 3D-печати помещали в сушильный шкаф при температуре 80 °C на 4 часа для удаления адсорбированной влаги.

После этого проводится формирование компьютерной 3D-модели биосовместимого каркаса в виде STL-файла, который проверяется на наличие дефектов с помощью программы Netfabb Basic 5.2 или аналогичной. В программе Polygon 2.0, использующей ПО Kisslicer, генерируется g-код. Программируемые параметры 3D-печати: толщина слоя 150 мкм, без дополнительного охлаждения, скорость 15 мм/мин, 100% заполнение.

Изготовление прототипов имплантов проводилось с использованием 3D-принтера PICASO Designer 250PRO (рисунок 4.18)



Рисунок 4.18 - Внешний вид принтера PICASO Designer 250PRO и полученного стренга для печати

Перед экспериментами проводили подготовку 3D-принтера, все детали промывали этиловым спиртом, устанавливали катушку и заправляли полученную нить для 3D-печати в подающее сопло, включали нагрев сопла.

На основании проведенных предварительных экспериментов были подобраны оптимальные условия для получения заготовок: температура сопла 220 ± 2 °C, прогрев печатного стола до температуры 70 °C, скорость вращения шнеков 30 об/мин. Контроль температуры в ходе эксперимента осуществляли по показаниям хромель-алюмелевых термопар. После окончания печати принтер охлаждали на воздухе до комнатной

температуры и проводили очистку внутреннего пространства этиловым спиртом (рисунок 4.19).

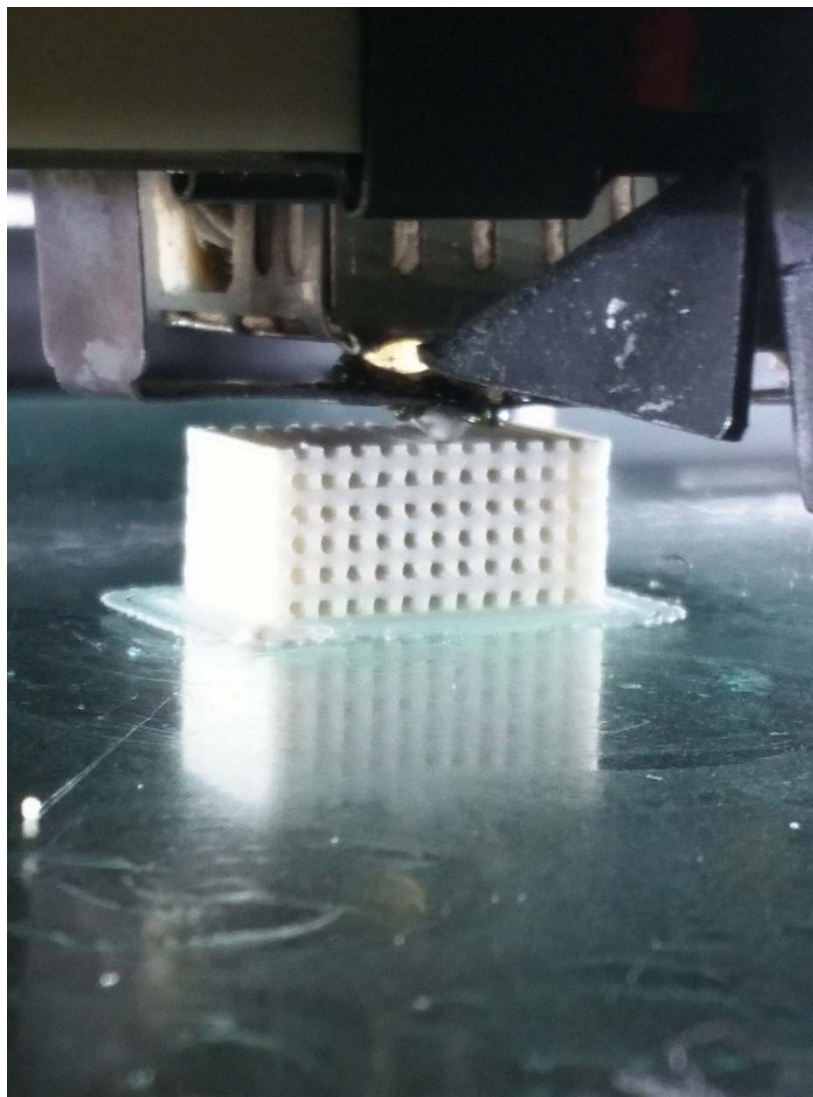


Рисунок 4.19 - Процесс 3D-печати высокопористой модели

Полученные необработанные заготовки имплантов помещали в УЗ-ванну с дистиллированной водой и обрабатывали в течение 15 минут с целью очистки поверхности от нежелательных примесей и механических включений. После этого осуществляли сушку полученных заготовок имплантов в сушильном шкафу при 80 °С в течение 4 ч, полученные заготовки использовали для дальнейших исследований.

На этапе разработки методики были опробованы различные научно-технические подходы и получены лабораторные образцы для проведения испытаний их характеристик, связанных с перспективами их промышленного использования.

В частности, с целью оценки перспектив практического применения разработанных материалов нами было проведен анализ одного из ключевых параметров заготовок для

имплантов - значения модуля Юнга, определяющего механизм восприятия нагрузки материала и его стойкость к циклическим нагрузкам. Для материала костей это значение находится на уровне 3-4 ГПа. На практике для имплантации предъявляются материалы с диапазоном модуля Юнга от 20 МПа до 5 ГПа, что определяется назначением (заполнение полостей, замена элементов костей голени, черепа и т.д.).

Значение Юнга 20 МПа выбрано исследователями исходя из известного значения нижней границы диапазона модуля Юнга на сжатие трабекулярной (губчатой) кости человека (20-40 МПа) [21].

Для определения потенциальных областей использования и проверки соответствия был определен модуль Юнга лабораторных образцов полученных материалов, полученных на стадии разработки методики. Исследования проводили с использованием испытательной машины INSTRON 150LX. Количество образцов в серии составило 3, среднее значение модуля Юнга составило 2.1 ГПа, что позволяет рекомендовать проведение исследований в области оценки перспектив использования разработанных материалов в челюстно-лицевой хирургии.

5 Анализ перспектив практического применения сфероидизированных гранулированных порошков гидроксилапатита в биомедицинских приложениях

Перспективным направлением улучшения характеристик медицинских материалов для имплантов является получение порошков высокочистого стехиометрического гидроксилапатита с высокой долей кристаллической фазы, что не всегда возможно достичь при использовании классических методов синтеза методами мокрой химии. Дополнительным путем улучшения характеристик таких порошковых материалов является придание частицам сферической формы и узкого распределения по размерам. Такие сферические частицы находят всё более широкое применение в различных медицинских приложениях, однако, в зависимости от сферы применения, к конечному продукту предъявляются различные требования к размерным характеристикам. Так, для 3D-печати имплантов требуются частицы со средним размером от 5 до 25 мкм, для биорезорбируемых наполнителей для стимулирования регенерации соединительной ткани кожного покрова в терапии ожогов и косметологии – от 20 до 45 мкм, для технологий газотермического напыления оптимален диапазон размеров частиц 40-125 мкм.

В связи с этим остро стоит необходимость разработки экономичного способа получения сферических частиц гидроксилапатита, позволяющего точно регулировать распределение частиц по размерам конечного продукта. Существующие в настоящее время способы требуют использования повышенных температур и длительного времени проведения процесса, что негативно отражается на себестоимости получаемого продукта. В предложенной технологии получения сферических частиц с регулируемым распределением частиц по размерам снижение себестоимости достигается за счёт использования более экономичного способа сфероидизации частиц гидроксилапатита, позволяющего значительно снизить температуру и энергопотребление процесса. Рассмотрим преимущества разработанных научно-методических приемов и перспективы их широкого использования биомедицинских приложениях.

5.1 Анализ мирового рынка порошковых материалов на основе гидроксилапатита

Спрос на биоактивную керамику в ортопедической и стоматологической помощи быстро растет из-за их высокой биосовместимости и быстрых лечебных свойств. Гидроксилапатит является наиболее широко используемым биоактивным керамическим материалом. Производители постоянно инвестируют в исследования и разработки, чтобы улучшить свойства гидроксилапатита и расширить области его применения. Эти действия

направлены на замену группы -ОН другими ионами или на изменение производственного процесса или температуры синтеза гидроксиапатита. Такие исследования направлены на разработку гидроксиапатита для конкретных приложений, часто достаточно узких. Предполагается, что это расширит возможности для производителей гидроксиапатита, придав производителю конкурентные преимущества и увеличив долю рынка.

Прогнозируется, что рынок гидроксиапатита (HAp) вырастет с 2,22 млрд. долл. США в 2018 году до 2,97 млрд. долл. США к 2023 году при CAGR 5,9% в период между 2018 и 2023 годами. Ожидается, что рынок гидроксиапатита будет расти значительными темпами в течение прогнозируемого периода на фоне повышения осведомленности потребителей о биологически активной керамике и росте расходов на здравоохранение во всем мире.

По типу рынок гидроксиапатита был сегментирован на наноразмерный, микроразмерный, т.е. размерами в десятки сотни микрометров. Сегмент микроразмеров составлял наибольшую долю рынка гидроксиапатита. Микроразмерный гидроксиапатит в основном используется в качестве альтернативы аллогенным и ксеногенным костным трансплантатам. Он также используется в качестве костного цемента для заполнения пустот в костях и зубах, в качестве покрытия для имплантатов и винтов и в фармацевтических целях для контролируемой доставки генов и белков в тканям-мишеням. Основываясь на областях применения, рынок гидроксиапатита можно разделить на ортопедический, стоматологический и пластический сегменты, при этом с точки зрения объемов потребления ортопедический является основным.

Гидроксиапатит довольно широко используется в качестве покрытия для имплантатов, костных трансплантатов и костных наполнителей. Благодаря своей биологической активности гидроксиапатит используется в качестве альтернативы аллогенным и ксеногенным костным трансплантатам, что приводит к сокращению необходимого времени заживления. Старение населения мира и растущий спрос на биоактивную керамику в операциях по замене костей стимулируют спрос на гидроксиапатит для ортопедических применений.

Одним из важных направлений использования гидроксиапатита является косметология и терапия ожогов. В частности, в косметологии возможна замена препарата “ботокс” на микронные порошки гидроксиапатита с заданным фазовым составом и показателями дисперсности, в этой связи весьма перспективны порошки гидроксиапатита в диапазоне размеров от 25 до 40 мкм.

Порошковые материалы диапазона размером 5-25 мкм перспективны для использования в аддитивных технологиях. Разработанная технология грануляции

гидроксилapatита позволила решить вопрос с неоднородностью распределения и морфологии частиц в объеме полимера, что обеспечивает возможности получения высококачественных биомедицинских изделий на основе гидроксилapatита методами аддитивной печати.

Порошковые гидроксилapatит и гидроксилapatит-трикальцийфосфат в диапазоне размеров 45-125 мкм, в свою очередь, все чаще используются для нанесения покрытий на поверхность металлических имплантов с целью повышения адаптации материала в организме и повышению биосовместимости металлического материала в организме за счет создания биоактивного покрытия на поверхности. В рамках дальнейших исследований необходимо провести работу по подбору оптимальных методик и условий нанесения разработанных сфероидизированных порошков гидроксилapatита и гидроксилapatита-трикальцийфосфата с использованием различных методик. Конечной целью таких работ будет являться создание эффективной технологии создания покрытий на основе гидроксилapatита заданного фазового на титановых имплантах.

5.2 Оценка научно-технического уровня полученных результатов в сравнении с лучшими достижениями в данной области.

Сфероидизированные порошки гидроксилapatита с частицами сферической формы являются весьма перспективным материалом для использования в биомедицинских приложениях и основным ограничением их более широкого использования является высокая стоимость. В настоящее время в мире существует только две значимые компании, которые занимаются производством сфероидизированных порошков гидроксилapatита Berkeley Advanced Biomaterials (США) (<http://www.hydroxyapatite.com/>) и SofSera (Япония) (https://sofsera.co.jp/shap_e.html). Для получения порошков ими используется традиционная для керамической отрасли технология получения методом осаждения порошков гидроксилapatита с частицами неправильной осколочной формы с последующей сфероидизацией частиц в плазме. Основными недостатками данной технологии являются невозможность контроля фазового состава вследствие плавления частиц гидроксилapatита, широкое распределение частиц по размерам, высокая стоимость и низкая производительность плазменного оборудования.

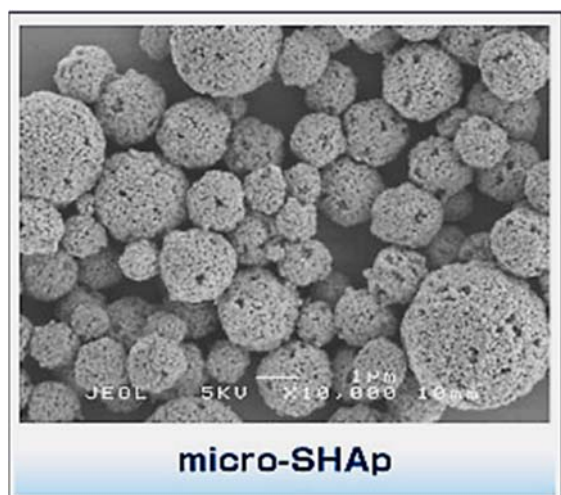
В частности, близкими аналогами разработанной в рамках ПНИ продукции являются производимые Berkeley Advanced Biomaterials (США) порошки гранулированного гидроксилapatита, трикальцийфосфата и их смеси марок BABI-HAP-G2, BABI-TCP-G2, BABI-HATCP-G2 (рисунок 5.1)

GRANULES PRODUCTS		
Morphology: Granules.		
Product List:		
BABI-HAP-G2	Hydroxyapatite	Particle size: 50-150 μm
BABI-TCP-G2	Tri-calcium Phosphate	
BABI-HATCP-G2	Hydroxyapatite and Tri-calcium Phosphate	

Рисунок 5.1 - Описание характеристик гранулированных порошков гидроксиапатита компании Berkeley Advanced Biomaterials (США)

Как видно из рисунка 5.1, производимые аналоги характеризуются возможностью контроля фазового состава, при этом диапазон размеров частиц, в отличие от разработанных в рамках ПНИ материалов, не контролируется и находится в области 50-150 мкм.

В свою очередь, производителем SofSera (Япония) декларируется возможность получения сферических гранул со средним размером менее 5 мкм (рисунок 5.2). При этом, как видно на фотографиях, гранулы характеризуются высокой пористостью. Слишком малый средний размер частиц исключает их использование в качестве материалов для аддитивной печати и в технологиях создания покрытий.



Наименование продукта	Micro-SHAp
Средний размер гранул	$\leq 5\text{мкм}$
Форма частиц	Сферическая
Форма выпуска	Порошок

Рисунок 5.2 - Микрофотографии и характеристики дисперсности порошков гидроксиапатита компании SofSera (Япония)

Таким образом, в отличие от лучших зарубежных аналогов, предложенные в основу научно-методические решения, основанные на сочетании метода гидротермального синтеза гидроксиапатита с последующей его сфероидизацией методом распылительной сушки, характеризуются возможностью тонкого управления фазовым и дисперсным составами

порошков и высокой производительностью, что открывает возможности создания высокоэффективной технологии производства отечественных материалов, что будет способствовать импортозамещению и расширению сферы использования инновационных методов создания биомедицинских препаратов и имплантов на основе гидроксилапатита.

Разработанные материалы и технология в перспективе обеспечивает возможность производителю успешного вывода на отечественный рынок, а в перспективе и мировой, нового конкурентноспособного продукта - сферических гранул высокочистого гидроксилапатита. Основным их конкурентным преимуществом будет являться востребованность в новых областях применения за счет обеспечения сочетания требуемых характеристик – фазового состава, распределения по размерам, пористости.

5.3 Рекомендации по использованию полученных результатов в науке и производстве

В ходе проведённых исследований были предложены научно-методические основы технологии получения образцов сферических гранул гидроксилапатита и трикальцийфосфата в диапазонах 5-25 мкм., 25-45 мкм, 40-125 мкм. Как показал анализ источников литературы, проведённый в первой главе, подобные образцы в данных диапазонах гранулометрического состава будут востребованы в различных областях, связанных с использованием в качестве материалов биомедицинского назначения.

Полученные данные позволяют рекомендовать три основных направлений использования полученных результатов в области науки и производства биомедицинских материалов.

Использование гидроксилапатита в косметологии и терапии ожогов достаточно широко распространено. Однако, есть ряд сложностей, ограничивающих его использование. Так, сложная неправильная форма частиц традиционно используемых порошков гидроксилапатита приводит к его окомкованию и трудностям при гомогенизации в объеме пораженных тканей. Разработанная методика получения образцов сферического гидроксилапатита с размерами гранул 25-45 мкм позволит расширить возможности использования данного материала в косметологии за счет тонкого управления диапазоном размеров частиц. При этом управление фазовым составом позволяет обеспечить требуемый уровень биорезорбции материала и обеспечивать стимуляцию регенерации тканей, способствуя их заживлению после ожогов.

В рамках развития этого направления рекомендуется провести дополнительные исследования по подбору эмульсий, консервантов и других составов на основе сферических частиц гидроксилапатита и испытаниям их взаимодействия с кожными покровами. Также

должны быть выполнены исследования по анализу скорости биорезорбции сфероидизированного гидроксилапатита различного фазового состава.

Порошковые материалы диапазона размером 5-25 мкм разрабатывались с целью использования в аддитивных технологиях. Сферичность частиц в данном случае позволяет добиться равномерного распределения гидроксилапатита по объему полимерного материала в ходе гомогенизации. Одним из наиболее распространённых методов печати является экструзионный, он весьма чувствителен к структуре и морфологии наполнителя. Основными проблемами использования керамических частиц в экструзионной печати является закупоривание сопла. Это связано, как правило, с неоднородностью гранулометрического состава керамики, а также со сложностью гомогенизации печатающего наполнителя и пластификатора. Разработанная технология грануляции гидроксилапатита позволяет решить вопрос с неоднородностью распределения и морфологии частиц, что обеспечивает возможность получения высококачественных биомедицинских изделий на основе гидроксилапатита методами аддитивной печати. В качестве рекомендуемых направлений по дальнейшему развитию работ в этой области необходимо выделить: исследования по подбору оптимального пластификатора, разработка подходов для объёмного заполнения частицами гидроксилапатита при замешивании компонентов печати, тестирование напечатанных имплантов с использованием лабораторных животных.

Порошковые гидроксилапатит и гидроксилапатит-трикальцийфосфат все чаще используются для нанесения покрытий на поверхность титановых и керамических имплантов с целью повышения биосовместимости и улучшения их адгезии к окружающим тканям. Используемые для этого методы газодинамического и газопламенного напыления весьма требовательны к структурным, размерным и реологическим характеристикам порошковых материалов. Замена традиционно используемых порошков, содержащих частицы гидроксилапатита неправильной осколочной формы на сфероидизированные порошки, позволит существенно повысить эффективность процесса напыления и качество таких покрытий. В связи с этим в рамках дальнейших исследований рекомендуется проведение работ по подбору оптимальных методик и условий нанесения разработанных сфероидизированных порошков гидроксилапатита с использованием различных методик напыления. Конечной целью таких работ будет являться создание эффективной технологии создания покрытий на основе гидроксилапатита заданного фазового на титановых имплантах.

Одним из важных результатов работы, имеющим потенциал широкого практического применения в различных областях, связанных с производством

керамических порошков и изделий, является нашедшая практическую реализацию в работе методика получения сферических частиц гидроксилapatита из суспензий методом распылительной сушки. В рамках работы при разработке методики были подобраны способы и условия распыления, обеспечивающие получение частиц сферической формы заданного размера из коллоидных растворов, содержащих наноразмерные керамические частицы гидроксилapatита.

В этой связи надо отметить, что гидроксилapatит представляет собой типичный керамический материал, при этом получение многих других распространенных в промышленном производстве керамических материалов, таких как оксиды алюминия, магния, циркония, также осуществляется через жидкофазное осаждение. В частности, в производстве огнеупорных и электротехнических материалов сфероидизированные керамические порошки являются наиболее востребованными, их использование имеет ряд технологических преимуществ по сравнению с порошками с традиционной осколочной формой и способствует получению более плотной и прочной керамики. Традиционным способом получения сфероидизированных порошков в керамической промышленности являются технологии плазменной сфероидизации традиционных порошков с частицами неправильной осколочной формы, полученных размолотом, что делает такие порошки очень дорогим и мало востребованным продуктом. В связи с этим весьма перспективными представляются направления работ, связанные с расширением сферы применения разработанной методики на область производства различных порошковой оксидной керамики конструкционного назначения.

Представленные в рамках данной работы, выполненной в рамках Соглашения с Минобрнауки РФ №14.578.21.0168 от 26.09.2017 г., научно-методические подходы и технические решения легли в основу проекта создания опытно-промышленного производства сферических порошков гидроксилapatита, осуществленного ООО «Минерал» (г. Александров Московской области).

ВЫВОДЫ

- Предложена оригинальная методика получения порошков гидроксилapatита, основанная на сочетании химического осаждения, гидротермальной обработки и распылительной сушки полученных суспензий, обеспечивающая получение сферических частиц с заданным фазовым составом и распределением по размерам;
- Проведены исследования влияние состава исходных компонентов, условий получения химического осаждения и гидротермальной обработки на фазовый состав и степень кристалличности получаемых продуктов на основе гидроксилapatита, установлены параметры, обеспечивающие содержание в получаемых материалах стехиометрического гидроксилapatита менее 99 % масс. и степень кристалличности не менее 95 %;
- Проведен расчет необходимых концентраций и среднего размера капель коллоидных систем на основе гидроксилapatита, обеспечивающих получение сферических гидроксилapatита заданных размеров в диапазоне от 5 до 125 мкм;
- Исследовано влияние параметров проведения процесса распылительной сушки на морфологию и распределение частиц гидроксилapatита по размерам, определены параметры получения порошков, содержащих частицы сферической формы с мономодальными распределениями по размерам в диапазонах 5 – 25 мкм, 25 – 45 мкм и 40 – 125 мкм;
- Проведена оценка биологической совместимости полученных порошковых материалов на основе гидроксилapatита, показавшая возможность их применения в биомедицинских приложениях;
- Проведен анализ перспектив промышленной реализации разработанного метода и направлений использования однофазных порошков гидроксилapatита, состоящих из сферических частиц с заданными мономодальными распределениями частиц по размерам.

Список использованных источников

1. Okada M., Matsumoto T. Synthesis and modification of apatite nanoparticles for use in dental and medical applications // Jpn. Dent. Sci. Rev. 2015. Vol. 51, № 4. P. 85–95.
2. ИСО 13779-1:2008 Имплантаты для хирургии. Гидроксиапатит. Часть 1. Керамический гидроксиапатит (ISO 13779-1:2008, Implants for surgery — Hydroxyapatite — Part 1: Ceramic hydroxyapatite)
3. ИСО 13779-3:2008 Имплантаты для хирургии. Гидроксиапатит. Часть 1. Керамический гидроксиапатит (ISO 13779-3:2008, Implants for surgery — Hydroxyapatite — Part 3: Ceramic hydroxyapatite)
4. Гидроксиапатит наноструктурированный Технические условия ПНСТ 35—2015. - М.: Стандартиформ, 2015.
5. Каназава Т. Неорганические фосфатные материалы. Киев: Наукова Думка, 1998. 297 р.
6. Данильченко С.Н. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения // Вісник СумДУ. Серія Фізика, математика, механіка. 2007. № 2. Р. 33–59.
7. Шпак А.П., Карбовский В.Л., Трачевский В.В. Апатиты. Киев: Академперіодика, 2002. 414 р.
8. Мозан А.-З.А.А. Исследование физико-химических свойств металл-замещённого нанокристаллического кальций-дефицитного гидроксиапатита. Воронежский государственный университет, 2014. 110 р.
9. Elliott J.C., Wilson R.M., Dowker S.E.P. Apatite structures // Adv. X-ray Anal. 2002. Vol. 45. P. 172–181.
10. Leventouri T. Synthetic and biological hydroxyapatites: Crystal structure questions // J. Biomater. 2006. № 27. P. 3339–3342.
11. Res J. Structures of Biological Minerals in Dental Research // Natl. Inst. Stand. Technol. 2001. № 106. P. 1035–1044.
12. Rulis P., Ouyang L., Ching W.Y. Electronic structure and bonding in calcium apatite crystals: Hydroxyapatite, fluorapatite, chlorapatite, and bromapatite // Phys. Rev. B. 2004. Vol. 70, № 15. P. 1–8.
13. Lin K., Wu C., Chang J. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape // Acta Biomater. 2014. Vol. 10, № 10. P. 4071–4102.
14. NEUMAN W.F., NEUMAN M.W. The chemical dynamics of bone mineral. Chicago: The University of Chicago Press, 1958. 209 p.
15. McDowell H., Gregory T.M., Brown W.E. Solubility of $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ in the system

- Ca(OH)₂ - H₃PO₄-H₂O at 5, 15, 25 and 37°C // J. Res. Natl. Bur. Stand. - A. Phys. Chem. 1977. Vol. 81A, № 2–3. P. 273–281.
16. Trombe J.C., Montel G. Some features of the incorporation of oxygen in different oxidation states in the apatitic lattice—I On the existence of calcium and strontium oxyapatites // J. Inorg. Nucl. Chem. 1978. Vol. 40, № 1. P. 15–21.
 17. Rey C. et al. 1.11 Bioactive Calcium Phosphate Compounds: Physical Chemistry☆ // Comprehensive Biomaterials {II} / ed. Ducheyne P. Oxford: Elsevier, 2017. P. 244–290.
 18. Prakasam M. et al. Fabrication, Properties and Applications of Dense Hydroxyapatite: A Review // J. Funct. Biomater. 2015. Vol. 6, № 4. P. 1099–1140.
 19. Petit R. The use of hydroxyapatite in orthopaedic surgery: A ten-year review // Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol. 1999. Vol. 9, № 2. P. 71–74.
 20. Sinha A., Mishra T., Ravishankar N. Polymer assisted hydroxyapatite microspheres suitable for biomedical application // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2008. Vol. 19, № 5. P. 2009–2013.
 21. Correia R.N. et al. Wet synthesis and characterization of modified hydroxyapatite powders // J. Mater. Sci. Mater. Med. 1996. Vol. 7, № 8. P. 501–505.
 22. Weiner S., and H. D. Wagner. THE MATERIAL BONE: Structure-Mechanical Function Relations // Annu. Rev. Mater. Sci. 1998. Vol. 28, № 1. P. 271–298.
 23. Daculsi G. et al. Length and shape of enamel crystals // Calcif. Tissue Int. 1984. Vol. 36, № 1. P. 550–555.
 24. Aizawa M., Matsuura T., Zhuang Z. Syntheses of Single-Crystal Apatite Particles with Preferred Orientation to the a- and c-Axes as Models of Hard Tissue and Their Applications // Biol. Pharm. Bull. 2013. Vol. 36, № 11. P. 1654–1661.
 25. Bezzi G. et al. A novel sol–gel technique for hydroxyapatite preparation // Mater. Chem. Phys. 2003. Vol. 78, № 3. P. 816–824.
 26. Mavis B., Taş A.C. Dip Coating of Calcium Hydroxyapatite on Ti-6Al-4V Substrates // J. Am. Ceram. Soc. American Ceramics Society, 2000. Vol. 83, № 4. P. 989–991.
 27. Vijayalakshmi U., Rajeswari S. Influence of process parameters on the sol–gel synthesis of nano hydroxyapatite using various phosphorus precursors // J. Sol-Gel Sci. Technol. 2012. Vol. 63, № 1. P. 45–55.
 28. Omori Y. et al. Fabrication of dispersible calcium phosphate nanocrystals via a modified Pechini method under non-stoichiometric conditions // Mater. Sci. Eng. C. 2014. Vol. 42, № Supplement C. P. 562–568.
 29. US Patent № US 6426114 B1. Tomasz Troczynski et. al. Sol-gel calcium phosphate ceramic coatings and method of making same. Date of Patent: 30.07.2002.
 30. Zhan J. et al. Biomimetic Formation of Hydroxyapatite Nanorods by a Single-Crystal-to-

- Single-Crystal Transformation // *Adv. Funct. Mater.* WILEY-VCH Verlag, 2005. Vol. 15, № 12. P. 2005–2010.
31. Zhang Y., Lu J. The transformation of single-crystal calcium phosphate ribbon-like fibres to hydroxyapatite spheres assembled from nanorods // *Nanotechnology*. 2008. Vol. 19, № 15. P. 155608.
 32. Pang Y.X., Bao X. Influence of temperature, ripening time and calcination on the morphology and crystallinity of hydroxyapatite nanoparticles // *J. Eur. Ceram. Soc.* 2003. Vol. 23, № 10. P. 1697–1704.
 33. ASTM F 1185:1988 Стандартная спецификация соединений керамического гидроксиапатита, используемых для хирургических имплантатов
 34. Xu J.L. et al. Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite powders produced in a radio frequency (rf) thermal plasma // *Mater. Sci. Eng. A*. 2004. Vol. 374, № 1. P. 101–108.
 35. Okada M. et al. Influence of calcination conditions on dispersibility and phase composition of hydroxyapatite crystals calcined with anti-sintering agents // *J. Nanoparticle Res.* 2014. Vol. 16, № 7. P. 2469.
 36. Lee W.-H. et al. Synthesis and characterization of hydroxyapatite with different crystallinity: Effects on protein adsorption and release // *J. Biomed. Mater. Res. Part A*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2012. Vol. 100A, № 6. P. 1539–1549.
 37. Aizawa M. et al. Syntheses of calcium-deficient apatite fibres by a homogeneous precipitation method and their characterizations // *J. Eur. Ceram. Soc.* 2006. Vol. 26, № 4. P. 501–507.
 38. Патент РФ № RU 2362730 C2. Сафронова Т. В. и др. Способ получения нанокристаллического гидроксиапатита кальция. Оpubл. 27.07.2009.
 39. Патент РФ № RU 2362731 C2. Сафронова Т. В. и др. Способ получения порошка нанокристаллического гидроксиапатита кальция. Оpubл. 27.07.2009.
 40. Патент РФ № RU 2367633 C2. Баринов С. М. и др. Способ получения наноразмерного порошка на основе системы трикальцийфосфат-гидроксиапатит для синтеза керамических биоматериалов. Оpubл. 20.09.2009.
 41. Патент РФ № RU 2391117 C1. Гужеева Т. И. и др. Способ получения гидроксиапатита. Оpubл. 10.06.2010.
 42. Патент РФ № RU 2100274 C1. Заплешко Н. Н. и др. Способ получения гидроксилатапатита кальция. Оpubл. 27.12.1997.
 43. Патент РФ № RU 2149827 C1. Белякова Е. Г. и др. Способ получения

- мелкодисперсного гидроксиапатита высокой чистоты. Оpubл. 28.01.1999.
44. Патент РФ № RU 2235061 С2. Крылова Е. А. и др. Способ получения микрогранул на основе гидроксиапатита кальция. Оpubл. 27.08.2004.
 45. Патент РФ № RU 2165389 С1. Лонгинова Н. М. и др. Способ получения тонкодисперсного однофазного гидроксиапатита. Оpubл. 20.04.2001.
 46. Получение и исследование наноструктурированных биосовместимых материалов на основе гидроксиапатита. Буланов Е.Н.: Электронное учебно-методическое пособие. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 103 с.
 47. Yasukawa A. et al. Preparation of calcium hydroxyapatite using amides // Polyhedron. 1994. Vol. 13, № 22. P. 3071–3078.
 48. Jinawath S., Polchai D., Yoshimura M. Low-temperature, hydrothermal transformation of aragonite to hydroxyapatite // Mater. Sci. Eng. C. 2002. Vol. 22, № 1. P. 35–39.
 49. Zhang G. et al. Preparation of amino-acid-regulated hydroxyapatite particles by hydrothermal method // Mater. Lett. 2011. Vol. 65, № 3. P. 572–574.
 50. Smolen D. et al. Highly biocompatible, nanocrystalline hydroxyapatite synthesized in a solvothermal process driven by high energy density microwave radiation // Int. J. Nanomedicine. Dove Press, 2013. Vol. 8, № 1. P. 653.
 51. Fathi M.H., Zahrani E.M. Fabrication and characterization of fluoridated hydroxyapatite nanopowders via mechanical alloying // J. Alloys Compd. 2009. Vol. 475, № 1. P. 408–414.
 52. Silva C.C. et al. Crystallite size study of nanocrystalline hydroxyapatite and ceramic system with titanium oxide obtained by dry ball milling // J. Mater. Sci. 2007. Vol. 42, № 11. P. 3851–3855.
 53. Otsuka M. et al. Mechanochemical synthesis of bioactive material: Effect of environmental conditions on the phase transformation of calcium phosphates during grinding // Biomed. Mater. Eng. 1994. Vol. 4, № 5. P. 357–362.
 54. Briak-BenAbdeslam H. El et al. Dry mechanochemical synthesis of hydroxyapatites from dicalcium phosphate dihydrate and calcium oxide: A kinetic study // J. Biomed. Mater. Res. Part A. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2003. Vol. 67A, № 3. P. 927–937.
 55. Roy M., Bandyopadhyay A., Bose S. Bulk Processing of Hydroxyapatite Nanopowder Using Radio Frequency Induction Plasma // J. Am. Ceram. Soc. Blackwell Publishing Inc, 2010. Vol. 93, № 11. P. 3720–3725.
 56. Mhin S.W. et al. Simple synthetic route for hydroxyapatite colloidal nanoparticles via a Nd:YAG laser ablation in liquid medium // Appl. Phys. A. 2009. Vol. 96, № 2. P. 435–440.

57. Musaev O.R. et al. Nanoparticle fabrication of hydroxyapatite by laser ablation in water // J. Appl. Phys. 2008. Vol. 104, № 8. P. 84316.
58. Wu Y. et al. Preparation of Hydroxyapatite Fibers by Electrospinning Technique // J. Am. Ceram. Soc. Blackwell Publishing Ltd, 2004. Vol. 87, № 10. P. 1988–1991.
59. Fowler B.O. Infrared studies of apatites. II. Preparation of normal and isotopically substituted calcium, strontium, and barium hydroxyapatites and spectra-structure-composition correlations // Inorg. Chem. 1974. Vol. 13, № 1. P. 207–214.
60. RAMACHANDRA R.A.O.R., N. R.H., S. K.T. Solid state synthesis and thermal stability of HAP and HAP -- β -TCP composite ceramic powders // J. Mater. Sci. Mater. Med. 1997. Vol. 8, № 8. P. 511–518.
61. Патент РФ № RU 2359708 C1. Смирнов В. В. и др. Наноструктурированный кальцийфосфатный керамический материал на основе системы трикальцийфосфат-гидроксиапатит для реконструкции костных дефектов. Оpubл. 27.06.2009.
62. Современные биокерамические материалы. Путляев, В.И. 2004 г., Соровский образовательный журнал, Т. 8, стр. 44-50.
63. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины. Баринев, С.М. 2010 г., Успехи химии, Т. 79, стр. 15-31.
64. Получение и исследование наноструктурированных биосовместимых материалов на основе гидроксиапатитов. Буланов, Е.Н. 2010 г., стр. 103.
65. Композиционные керамики на основе оксида алюминия, полученные методом электроимпульсного плазменного спекания для трибологических применений. Болдин, М.С. 1, 2012 г., Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, Т. 6, стр. 32-37.
66. Оперативное лечение кист челюстей с использованием гидроксиапатита ультравысокой дисперсности. Безруков, В.М. 1998 г., Стоматология, Т. 1, стр. 31-35.
67. Bioceramics: From concept to clinic. Hench, L. L. 1991 г., J. Am. Soc., Т. 74, стр. 1487-1510.
68. Оптимизация условий синтеза гидроксиапатита. Леонова, Л.А. 2013 г., Науковедение, Т. 3.
69. Hydroxyapatite Nanocrystals as Bone Tissue Substitute. Roveri, N. 2006 г., Nanotechnologies for the Life Sciences, стр. 287-307.
70. Review: Bioceramics. Doremus, R.H. 1992 г., J. Mater. Sci.: Mater. Eng., Т. 27, стр. 285-297.
71. Ceramics for medical applications. Vallet-Regi, M. 2001 г., J. Chem. Soc., Dalton Trans., стр. 97-108.
72. Биоактивные неорганические материалы для костного эндопротезирования. Саркисов, П.Д., Михайленко Н.Ю. 2, 1994 г., Техника и технология силикатов, Т. 1, стр. 5-11.

73. Биокерамика в медицине. Баринов, С.М., Комлев, В.С. М : б.н., 2005 г., стр. 284.
74. Медицинское неорганическое материаловедение в России: кальцийфосфатные материалы. Сафронова, Т.В., Путляев, В.И. 1, 2013 г., Наносистемы: физика, химия, математика, Т. 4, стр. 24-47.
75. Biomaterial developments for bone tissue engineering. Burg, K.J.L., Porter, S., Kellam, J.F. 2000 г., Biomaterials, Т. 21, стр. 2347-2359.
76. Science and medical applications of hydroxyapatite. Aoki, H. 1991 г., JAAS, стр. 245.
77. Tissue, cellular and subcellular events at the bone-ceramic hydroxyapatite interface. Jarcho, M. 1977 г., J. Bioengineering, Т. 1, стр. 19-92.
78. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. Hench. 1971 г., J. Biomed. Eng., Т. 2, стр. 117-141.
79. Грин, Н. Биология. В 3-х томах под ред. Р. Сопера. М. : Мир, 1990. стр. 365.
80. Гидроксиапатит как субстрат для костной пластики: теоретические и практические аспекты проблемы. Безруков, В.М. 5, 1996 г., Стоматология, Т. 75, стр. 7-12.
81. Использование остеопластических материалов в стоматологической имплантологии. Акопян, Г.В. 1, 2012 г., Ассоциация стоматологов Армении, Т. 7, стр. 10-14.
82. Новые технологии создания и применения биокерамики в восстановительной медицине. Строганова, Е.Е. 2008 г., Стекло и керамика, Т. 1, стр. 36-38.
83. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. Suchanek, W. 1, 1998 г., J. Mater. Res., Т. 13, стр. 94-117.
84. In vitro forming of calcium phosphate layer on sol-gel hydroxyapatite-coated metal substrates. Liu, D.M. 10, 2002 г., J. Mater. Sci. Mater. Med., Т. 13, стр. 965-972.
85. Использование имплантатов с биоактивным покрытием при лечении переломов ослабленных костей. Карлов, А.В. 1999 г., Человек и его здоровье, стр. 55.
86. Создание нового поколения биосовместимых материалов на основе фосфатов кальция для широкого применения в медицинской практике. Воложин, А.И. 1, 2004 г., Технология живых систем, Т. 1, стр. 41-56.
87. Nanomedicine for implants: A review of studies and necessary experimental tools. Liu. 2007 г., Biomaterials, Т. 28, стр. 354-369.
88. Современная высокоплотная оксидная керамика с регулируемой микроструктурой. Лукин, Е.С. 1996 г., Огнеупоры и техническая керамика, Т. 9, стр. 2-10.
89. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in Biomedical Engineering. Kalita, S.J. 2007 г., Mater. Sci. Eng., Т. 27, стр. 441-449.
90. Biomaterials in orthopaedics. Navarro, M. 2008 г., J R Soc Interface, Т. 5, стр. 1137-1158.
91. Third-generation biomedical materials. Hench, L.L. 2002 г., Science, Т. 295, стр. 1014-1017.

92. McConnell, D. Apatite: its crystal chemistry, mineralogy, utilization, and biological occurrences. Vienna : Springer Vienna, 1973. стр. 111.
93. Mucalo, M. Hydroxyapatite for biomedical applications. Amsterdam : Elsevier, 2015. стр. 380.
94. Calcium phosphate biominerals. Elliott, J.C. 2002 г., Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance., Т. 48, стр. 427-454.
95. Лесников, В.Н. Материалы и покрытия в медицинской практике. Саратов : Научная книга, 2011. стр. 300.
96. Карлов, А.В. Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики. 2001 : СТУ, Томск. стр. 480.
97. Медицинское неорганическое материаловедение в России: кальцийфосфатные материалы. Т.В., Сафранова. 1, 2013 г., Наносистемы: физика, химия, математика, Т. 4, стр. 24-47.
98. Epple, M. Biomaterialien und biomineralisation. Stuttgart : Teuner Studienbucher Chemie, 2003.
99. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения. Данильченко, С.Н. 2007 г., Вестник СумДУ. Серия физика, математика, механика, Т. 2, стр. 33-59.
100. Tissue, cellular and subcellular events at the bone-ceramic hydroxyapatite interface. Jarcho, M. 1977 г., J. Bioengineering, Т. 1, стр. 79-92.
101. Biomedical Applications of Apatites. Gross, K.A. Reviews in mineralogy and geochemistry, Т. 48, стр. 631-672.
102. Reconstruction of surgical skull defects with hydroxyapatite ceramic buttons and granules. Yamashima, T. 1988 г., Acta Neurochir, Т. 90, стр. 157-162.
103. Biological performance of calcium phosphate films formed on commercially pure Ti by electron-beam evaporation. Lee, I.S. 2002 г., Biomaterials, Т. 23, стр. 609-615.
104. New ideas in biomaterials science - path to engineering biomaterials. Ratner, B.D. 1993 г., J. Biomed. Mater. Res., Т. 27, стр. 837-850.
105. Sintering effects on the strength of hydroxyapatite. Ruys, A.J. 5, 1995 г., Biomaterials, Т. 16, стр. 409-415.
106. Lamellar bone: structure-function relations. Weiner, S. 3, 1999 г., J Struct Biol, Т. 126, стр. 241-255.
107. Introduction to bone biology. Gideon, A. 1992 г., Bone, Т. 3, стр. 534.
108. Bone mineral crestal size. Boskey, A. 2013 г., Osteoporos Int, Т. 14, стр. 16-21.
109. Bone: nature of the calcium phosphate crystals and cellular, structural, and physical chemical

- mechanisms in their formation. Glimcher, M.J. 2006 г., Reviews in Mineralogy and Geochemistry. Mineralogical Society of America, T. 64, стр. 223-282.
110. Каназава, Т. Неорганические фосфатные материалы. Киев : Наукова думка, 1998. стр. 295.
 111. Chitosan–hydroxyapatite composite biomaterials made by a one step co-precipitation method: preparation, characterization and in vivo tests. Danilchenko, S.N. 2009 г., Journal of Biological Physics and Chemistry, T. 9, стр. 119–126.
 112. In Situ Hydroxyapatite Synthesis: Influence of Collagen on Its Structural and Morphological Characteristic. Mendes, L.C. 2012 г., Materials Sciences and Applications, T. 3, стр. 580-586.
 113. Effect of Protein Adsorption onto the Dissolution of Silicon-Substituted Hydroxyapatite. Botelho, C.M. 2011 г., Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences, T. 1, стр. 72-79.
 114. Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanocrystal and gelatin doped with Zn²⁺ and cross linked by glutaraldehyde. Rezakhani, A. 2012 г., International Journal of Physical Sciences, T. 20, стр. 2768 – 2774.
 115. Fabrication and properties of mineralized collagen-chitosan/hydroxyapatite scaffolds. Zhao, H. 2008 г., Polymers for advanced technologies, T. 19, стр. 1590–1596.
 116. Composites of Calcium Phosphate and Polymers as Bone Substitution Materials. Neumann, M. 2006 г., European Journal of Trauma, T. 2, стр. 125-131.
 117. Synthesis and sintered properties evaluation of calcium phosphate ceramics. Deepak, K. 4, 2007 г., Materials Science and Engineering, T. 27, стр. 684-690.
 118. Синтез новых минерал-полимерных композитов для имплантологии и тканевой инженерии. Баграташвили, В.Н. 2005 г., Сборник трудов ИПЛИТ РАН, стр. 158-165.
 119. Е.Н., Буланов. Получение и исследование наноструктурированных биосовместимых материалов на основе гидроксиапатита. Н. Новгород : Электронное учебно-методическое пособие. Нижегородский госуниверситет, 2012.
 120. Evaluation of the Distribution and Orientation of Remineralized Enamel Crystallites in Subsurface Lesions by X-ray Diffraction. Tanaka, T. 2010 г., Caries Res 44, T. 3, стр. 253–9.
 121. Выбор реминерализирующего препарата - вопрос серьезный. Т.В., Камина. 2013 г., Вісник проблем біології і медицини: Український научно-практичний журнал, стр. 53-56.
 122. The effect of zinc-carbonate hydroxyapatite versus fluoride on enamel surfaces after interproximal reduction. G., Alessandri Bonetti. 2014 г., doi: 10.1002/sca.21125, стр. 36(3):356-61.

123. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. K., Najibfard. 5, 2011 г., The Journal of clinical dentistry, T. 22, стр. 139-43.
124. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. Peter, Tschoppe. 2011 г., Journal of dentistry, стр. 430–437.
125. Effect of fluoridated bleaching gels on the remineralization of predemineralized bovine enamel in vitro. P., Tschoppe. 2009 г., Journal of Dentistry, стр. 37:156–62.
126. Effectiveness of nano-hydroxyapatite toothpaste in reducing dentin hypersensitivity: a double-blind randomized controlled trial. M., Vano. 2014 г., Quintessence Int., стр. 45(8):703-11. doi: 10.3290/j.qi.a32240.
127. The effect of zinc-carbonate hydroxyapatite versus fluoride on enamel surfaces after interproximal reduction. G., Alessandri Bonetti. 36(3):356-61. doi: 10.1002/sca.21125.
128. Bleaching Sensitivity Reduction with a Nanohydroxyapatite Paste. W., Browning. 2006 г., J. Dental Research, T. 85.
129. Antimicrobial effects of metal ions (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+}) in hydroxyapatite. Kim, T.N. 1998 г., J. Mat. Sci. Mat. Med., T. 9, стр. 129-134.
130. Biomaterial in orthopaedics. Review. Navarro, M. 2008 г., J. Royal Soc. Interf., T. 5, стр. 1137-1158.
131. Mechanical properties of sintered hydroxyapatite for prosthetic applications. Alkao, M. 1981 г., J. Mat. Sci., T. 16, стр. 809-812.
132. Kyung-Seok Ko, Dong-Chan Koh, and In Chul Kon. Evaluation of the Effects of Nanoparticle Mixtures on Brassica Seed Germination and Bacterial Bioluminescence Activity Based on the Theory of Probability. Nanomaterials. 2017 Oct; 7(10): 344. Oct 23. doi: 10.3390/nano7100344
133. <https://ru.wikipedia.org/wiki/Гидроксиапатит>
134. Филатова Г. П. Имплантация биологических материалов при склероукрепляющих операциях (экспериментально-клиническое исследование) : дис. – ФГУ" Научно-исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов", 2009.