

УДК 538.958:606

СТРУКТУРНЫЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И СОРБЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ДЕФЕКТНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ, ОСНОВЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ БИОМИМЕТИЧЕСКИХ КОМПОЗИТОВ

© 2019 г. Д. Л. Голощапов^{1, *}, А. С. Леньшин¹, К. А. Никитков¹, В. Н. Бартнев¹, Д. В. Савченко^{2, 3}, Е. А. Тутов⁴, П. В. Середин^{1, 5, **}

¹Воронежский государственный университет, 394018 Воронеж, Россия

²Institute of Physics of the Czech Academy of Sciences (CAS), 18221 Prague, Czech Republic

³National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”, 03056 Kyiv, Ukraine

⁴Воронежский государственный технический университет, 394006 Воронеж, Россия

⁵Уральский федеральный университет, 620002 Екатеринбург, Россия

*E-mail: goloshchapov@phys.vsu.ru

**E-mail: paul@phys.vsu.ru

Поступила в редакцию 28.01.2019 г.

После доработки 25.02.2019 г.

Принята к публикации 28.02.2019 г.

С применением комплекса структурно-спектроскопических методов анализа изучены взаимосвязи между структурой, морфологией и сорбционными характеристиками образцов нанокристаллического карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция, синтезированного с использованием биогенного источника кальция (яичной скорлупы птиц) методом химического осаждения из раствора. Методами рентгеновской дифрактометрии и рентгеноспектрального микроанализа установлено, что примеси попадают в синтезированный материал из яичной скорлупы птиц, что ведет к изменению параметров элементарной ячейки кристалла гидроксиапатита без образования дополнительных фосфатных фаз. Методами оптической спектроскопии и электронного парамагнитного резонанса установлено, что в результате наследования набора карбонат-ионов образуется структура гидроксиапатита В-типа. Увеличение содержания фосфатных групп PO_4 в процессе синтеза материалов в атмосфере приводит к уменьшению содержания структурно связанных групп CO_3 . Понижение величины рН раствора на этапе синтеза, связанное с повышением содержания анионов PO_4^{3-} , влияет на морфологию образцов за счет увеличения размера дефектов – нанопор на поверхности нанокристаллов. Подобное изменение морфологии материалов приводит к изменениям в сорбционных характеристиках образцов, определяемых методом тепловой десорбции азота. Площадь удельной поверхности порошков составляет $\sim 55.5 \pm 0.9 \text{ м}^2/\text{г}$, что превышает в разы известные аналоги. Несмотря на развитую поверхность, образцы карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция остаются стабильными в атмосфере насыщенных паров воды, а основные потери при поляризации связаны с потерями Максвелла–Вагнера. Анализ характеристик полученных из биогенного источника кальция образцов карбонатзамещенного гидроксиапатита показывает их потенциальную значимость для создания биомиметических материалов, имитирующих структуру, морфологию и анизотропию нативных твердых тканей человеческого зуба.

Ключевые слова: нанокристаллический карбонатзамещенный гидроксиапатит кальция, биомиметические материалы, нативные твердые ткани зуба человека, структура, морфология, сорбционные характеристики.

DOI: 10.1134/S0207352819080067

ВВЕДЕНИЕ

Использование наноструктурированных композитов при решении задач терапевтической стоматологии, связанных с реставрацией и регенера-

цией нативной твердой ткани, обусловлено иерархической природой и функциональными характеристиками зубной эмали и дентина [1–3]. Органоминеральные биокомпозиты неродственного твердой ткани зуба состава активно исполь-

зуются при создании стоматологических цементов и керамик [3, 4]. Следует отметить, что их морфология, прочностные и износостойкие характеристики отличаются от свойств нативной ткани зуба. Терапия с использованием этих материалов часто приводит к появлению трещин, деминерализации, вторичному кариесу, эрозии и механической деформации зубов [1, 5]. Несмотря на интенсивные исследования в области биоматериаловедения, данная проблема остается неразрешенной и по-прежнему актуальной.

Современные исследования минеральной и органической составляющей зубов демонстрируют перспективность использования биокомпозитов с максимально близкими к зубной ткани свойствами [1, 6–8]. Поэтому в состав разрабатываемых, а также уже созданных органо-минеральных биомиметических композитов для стоматологии непременно входит аналог минеральной составляющей твердой ткани зуба – гидроксиапатит кальция [3, 8, 9]. Он не только обладает уникальной структурой, но и широким диапазоном требуемых характеристик в различных формах благодаря самым разнообразным способам и методикам получения, что позволяет ему выступать перспективным модификатором стоматологических керамик и цементных масс [8, 10, 11]. Хорошо известно, что физико-химические свойства гидроксиапатита кальция и его морфологическая организация могут достаточно широко варьироваться за счет способа получения и типа вносимых в структуру примесей [3, 12–14], а также используемых для его получения источников [15–17].

Поэтому важной задачей в области современного стоматологического материаловедения и фундаментальной медицины является поиск методик синтеза гидроксиапатита кальция, который может стать основой высокотропных к интактной ткани биомиметических композитов, воспроизводящих структурные, физико-химические, морфологические, оптические и биомеханические свойства, имитирующие структуру (в том числе на наноуровне), иерархию и особенности анизотропии твердых тканей зуба человека, а также способных образовывать устойчивую функциональную связь с нативной тканью [7, 8, 18].

Одним из возможных способов получения гидроксиапатита кальция является использование в качестве источника кальция биогенных материалов [15, 16, 19]. Целесообразность данного подхода заключается в соответствии получаемых материалов по структурным и морфологическим характеристикам и элементному составу апатиту костной ткани человеческого организма. Однако физико-химические свойства подобных образцов гидроксиапатита кальция требуют всестороннего исследования, так как исходные биогенные мате-

риалы, обладающие собственной морфологией, структурой, разнообразным элементным и фазовым составом, оказывают огромное влияние на финальные свойства синтезируемых образцов [20, 21]. Литературный обзор показывает, что существует огромное количество работ, посвященных исследованиям морфологии, размерного фактора, структурной организации, влияния типа внедренных примесей на свойства гидроксиапатита [13, 22–24]. Однако мало исследованной областью остаются сорбционные свойства синтезированных гидроксиапатитов кальция [25], которые играют огромную роль и имеют важное значение при создании стоматологических цементов нового класса, поскольку данная характеристика определяет его усадку и адгезию к нативной ткани при реставрации зуба.

Как было показано ранее [26–31], гидроксиапатит кальция с использованием яичной скорлупы может быть получен методом химического осаждения в наноформе. Однако такие образцы могут содержать примеси различных ионов. В частности, в ряде работ [28, 31] указывается на возможное включение карбонат-аниона в структуру гидроксиапатита кальция при получении образцов на воздухе. Следует отметить, что при использовании карбоната кальция и ортофосфорной кислоты возможен синтез карбонатзамещенного гидроксиапатита с содержанием карбонат-аниона ~8 мас. % [32]. Морфологически, с использованием яичной скорлупы могут быть получены различные материалы со средними размерами нанокристаллов 40–100 нм [30, 31], в том числе пластинчатой формы, толщиной 8–15 нм и диаметром 30–5 нм [26]. Следует отметить, что с применением методов “мокрой” химии возможно создание материалов с более развитой удельной поверхностью, чем при высокотемпературной обработке натуральных костей животных [33], что является преимуществом данной методики при обработке биогенных источников.

Поэтому целью настоящей работы было установление зависимости сорбционных, морфологических и структурных характеристик нанокристаллического гидроксиапатита кальция от параметров синтеза и последующей обработки, а также возможностей использования финального материала для создания стоматологических биомиметических композитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Технология синтеза. Нанокристаллический гидроксиапатит кальция был получен с использованием яичной скорлупы птиц по методике, описанной в [15]. Изменение концентрации включенных карбонат-групп контролировали по изменению содержания заранее рассчитанного количества раствора ортофосфорной кислоты

0.3 М и значения рН конечного раствора от 9 до 7 с шагом 0.5 с применением рН-метра/ионметра ИПЛ 111-1. Поскольку при создании стоматологических цементов, а также биомиметических материалов образцы гидроксиапатита кальция зачастую подвергают прессованию, порошкообразные материалы прессовали при давлении 250 бар в стальной пресс-форме без использования пластификатора.

Рентгеноструктурный анализ. Дифрактометрические исследования с высоким разрешением были проведены на канале ANKA-PDIFF синхротрона ANKA центра KIT KNMF (Karlsruhe, Германия). Источником излучения служил поворотный магнит, генерирующий магнитное поле с индукцией 1.5 Тл ($E_c = 6$ кэВ). В эксперименте использовали монохроматическое излучение, соответствующее $K_{\alpha 1}$ -излучению кобальта с длиной волны $\lambda = 1.7902 \text{ \AA}$. Поток на образец сфокусированного излучения с энергией 10 кэВ составлял $\sim 2 \times 10^{16}$ Вт/м² при токе в канале 100 мА. Размер поперечного сечения пучка, падающего на образец, $\sim 0.5 \times 0.5$ мм. Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили с использованием базы данных JCPDS-ICDD 2018 г.

Рентгеноспектральный микроанализ. Элементный анализ полученных образцов исследовали методом рентгеноспектрального анализа (РСМА) с помощью приставки Inca-250 к растровому электронному микроскопу JEOL JSM-6380LV.

Инфракрасная спектроскопия и комбинационное рассеяние света. ИК-спектры образцов были получены с использованием приставки Diamond ATR с алмазной призмой к ИК-фурье-спектрометру VERTEX 70 BRUKER для изучения нарушенного полного внутреннего отражения. Спектры пропускания были зарегистрированы с разрешением 4 см^{-1} в диапазоне $400\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$. Спектры комбинационного рассеяния света (КРС) были зарегистрированы с помощью спектрометра Raman Microscope RamMics M532 En-Spectr в области $350\text{--}3650 \text{ см}^{-1}$ с использованием лазера с длиной волны 532 нм.

Электронный парамагнитный резонанс. С целью определения радикалов в структуре полученных образцов нанокристаллического гидроксиапатита кальция были записаны спектры стационарного и эхо-детектированного электронного парамагнитного резонанса с помощью спектрометра Bruker E580. Метод эхо-детектирования применяли с целью разделения перекрывающихся компонент электронных парамагнитных спектров при $g = 2.0000$.

Просвечивающая электронная микроскопия. Метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) был использован для непосредственной оценки размеров нанокристаллов синтезированных образцов. Исследование проводили в элек-

тронном микроскопе Libra 120 Carl Zeiss. При подготовке к исследованию образцы подвергали ультразвуковому воздействию (~ 1 ГГц).

Тепловая десорбция азота. Для оценки пористости порошкообразных образцов использовали метод тепловой десорбции азота. Результаты измерений объема газа (азота), сорбируемого на исследуемых образцах при четырех различных значениях парциального давления, рассчитывали с использованием программного обеспечения UniSorbi для прибора СОРБИ-MS по теории Брунауера–Эммета–Теллера (БЭТ).

Диэлектрическая спектроскопия. Для проведения экспериментов образцы гидроксиапатита кальция спрессовывали под давлением 250 бар с оловянной фольгой для формирования плоского конденсатора. Образованный конденсатор помещали в сосуд с насыщенными парами воды, давление которых постоянно контролировали. Диэлектрические характеристики изучали на приборе LCR-meter GW Insteck LCR-819.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рентгенофазовый анализ. Влияние концентрации фосфатных групп в конечном растворе на фазовый состав получаемых образцов было изучено методом РФА. Результаты показали, что для всех порошкообразных образцов, полученных при значениях рН раствора от 9 до 7 с шагом 0.5 и отожженных при температуре 400°C , характерно образование единственной фазы – гидроксиапатита кальция (рис. 1 кривые 1 и 2). Анализ данных рентгеновской дифракции и данных из базы стандартов JCPDS-ICDD (карточка № 01-074-0565) показывает, что в образцах возникают искажения кристаллической решетки, вызванные включением в элементарную ячейку примесных атомов, входящих в состав прекурсора гидроксиапатита – биогенного карбоната кальция яичной скорлупы птиц.

Анализ структурных изменений, вызванных прессованием исходного порошкообразного гидроксиапатита для проведения сорбционных характеристик, был выполнен по данным рентгеновской дифрактометрии. В качестве примера на рис. 2 представлена типичная дифрактограмма порошка гидроксиапатита кальция, полученного из раствора с рН 8.5 (кривая 1) и спрессованной таблетки (кривая 2). Результаты показывают, что после прессования порошка на дифрактограмме образца хорошо видно перераспределение интенсивностей основных дифракционных рефлексов. Эксперимент демонстрирует уменьшение относительной интенсивности дифракционных рефлексов 002 и 004 и возрастание интенсивности рефлекса 300. Данный факт связан с образовани-

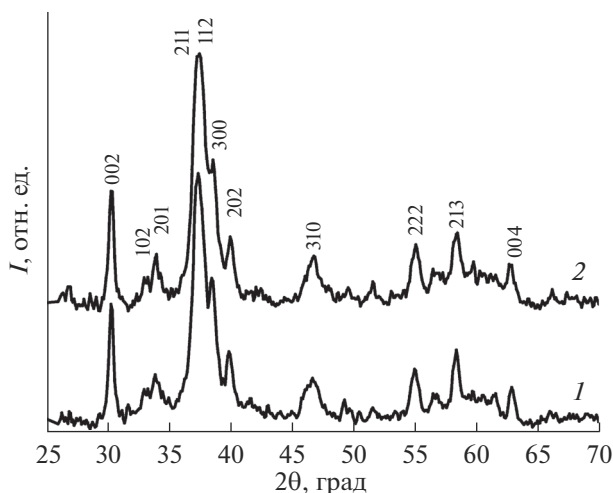


Рис. 1. Дифрактограммы образцов гидроксиапатита, полученных при pH 7 (1) и 9 (2) и отожженных при температуре 400°C.

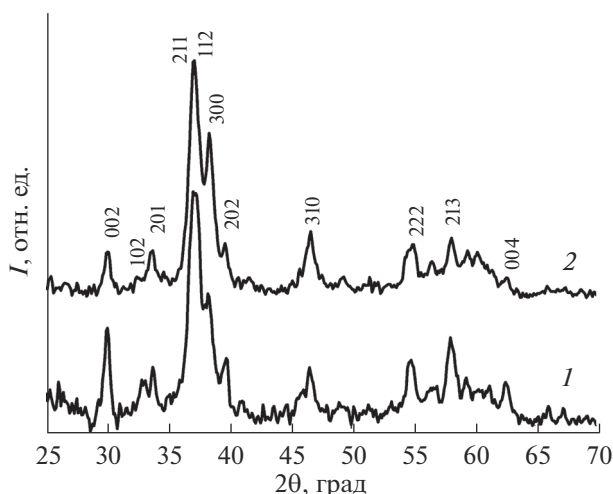


Рис. 2. Дифрактограммы образца гидроксиапатита, полученного из раствора с pH 8.5 и отожженного при температуре 400°C, в форме: порошка (1); спрессованной таблетки (2).

ем текстуры в образцах гидроксиапатита кальция после прессования под давлением 250 бар.

Рентгеноспектральный микроанализ. В табл. 1 представлены результаты РСМА скорлупы яиц, усредненной по 10 образцам. Как видно из полученных данных, в составе исходного реагента

(яичной скорлупы) присутствуют атомы магния, серы, калия и хлора, которые способны встраиваться в структуру синтезируемого материала и образовывать дефекты. Исследования полученных по описанной технологии образцов гидроксиапатита кальция методом РСМА продемонстрировали, что в составе синтезированных материалов обнаруживаются только атомы магния в следовой концентрации, тогда как атомы серы, калия и хлора указанным методом не регистрируются. Данный факт свидетельствует о том, что в процессе синтеза часть содержащихся в исходном растворе примесных атомов удаляется из конечного материала или присутствует в нем еще в более низкой концентрации.

ИК-спектроскопия. Оптические исследования синтезированных и подготовленных образцов гидроксиапатита кальция позволили уточнить молекулярный состав материалов, а также их тонкие структурные свойства. На рис. 3 представлены ИК-спектры образцов, полученных при значениях pH 7 (кривая 1) и 9 (кривая 2) и отожженных при температуре 400°C. Как видно из рис. 3, в ИК-спектрах образцов наблюдается один и тот же набор колебательных полос. Частота основных колебаний не изменяется, а также не происходит и перераспределение их интенсивности. Этот результат находится в хорошем соответствии с данными РФА о существовании во всех образцах (отожженных при 400°C) лишь одной фазы – гидроксиапатита кальция.

Следует отметить, что для всех полученных образцов характерной особенностью является присутствие в спектрах колебательных полос группы CO_3 при 1415 и 1450 cm^{-1} . Хорошо известно, что появление этих колебательных мод в спектрах гидроксиапатита кальция связано с замещением в кристаллической решетке гидроксиапатита группы PO_4 группой CO_3 и образованием карбонатзамещенного гидроксиапатита В-типа. Об этом свидетельствует и тот факт, что с понижением величины pH раствора, использованного при получении материалов, уменьшается и интенсивность колебательной полосы включенной в структуру гидроксиапатита кальция карбонат-аниона.

Спектроскопия КРС. В ряде работ по исследованию карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция [34, 35] было показано, что в случае появления искажения в кристаллической решетке

Таблица 1. Элементный состав образцов яичной скорлупы птиц, использованной для получения карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция

Концентрация элементов, ат. %							
Ca	P	O	C	Mg	S	K	Cl
10.6 ± 2.3	1.4 ± 1.1	55.7 ± 4.60	30.9 ± 4.70	1.0 ± 0.40	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00

гидроксиапатита кальция и включении аниона CO_3 в его структуру в спектрах КРС наблюдался сдвиг полос PO_4 . Образцы, полученные в настоящей работе при различных значениях pH 9, 8.5, 8, 7.5, 7, в которых по данным ИК-спектроскопии содержание группы CO_3 может варьироваться в широких пределах, были исследованы методом спектроскопии КРС.

Как видно из рис. 4, в спектрах КРС образцов, полученных при различных значениях pH раствора, кроме основных мод, соответствующих фосфорно-кислородной группе PO_4 и локализованных около 961, 587 и 431 cm^{-1} , наблюдается дополнительная мода в области $\sim 1070 \text{ cm}^{-1}$. Ее появление в спектрах можно соотнести с карбонат-анионом

CO_3^{2-} . Детальное рассмотрение формы и интенсивности колебаний, наблюдаемых в области 1000–1150 cm^{-1} и относимых к группе PO_4 (1030, 1048 cm^{-1}) и группе CO_3 (1073 cm^{-1}) показывает, что с увеличением интенсивности моды PO_4 в спектре (образец, полученный при pH 7, т.е. с большим содержанием фосфатных групп) снижается интенсивность полосы группы CO_3 . Этот факт хорошо коррелирует с данными ИК-спектроскопии о природе карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция B-типа. Наблюдаемые в ИК- и спектрах КРС колебательные моды представлены в табл. 2.

Электронный парамагнитный резонанс. Для уточнения данных о радикалах, присутствующих в образцах, был использован метод ЭПР. Следует отметить, что сигналы ЭПР в полученных образцах карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция до облучения не наблюдались. Для регистрации сигнала ЭПР высушенные при 400°C (1 ч) образцы были подвергнуты облучению электронами с дозой 10 кГр. Результаты были получены методами стационарного и эхо-детектированного ЭПР через семь дней после облучения.

Для определения природы радикалов было проведено моделирование спектров ЭПР всех образцов. Это позволило установить, что в общей сложности в спектрах ЭПР наблюдаются пять сигналов: от радикалов O^- , CO_3^{2-} , CO_3^{3-} , CO_3^{3-} [36] и от органического радикала CH_3 [37]. Параметры парамагнитных радикалов, наблюдаемых в спектрах ЭПР исследуемых образцов, интерпретировали в соответствии с [36–39], они приведены в табл. 3.

Было установлено, что при изменении содержания фосфорно-кислородных групп в образцах спиновая концентрация парамагнитных карбонатных радикалов CO_3^{2-} , CO_3^{3-} , CO_3^{3-} (так же как и интенсивность их парамагнитных центров по данным ИК- и спектроскопии КРС) возрастает, в

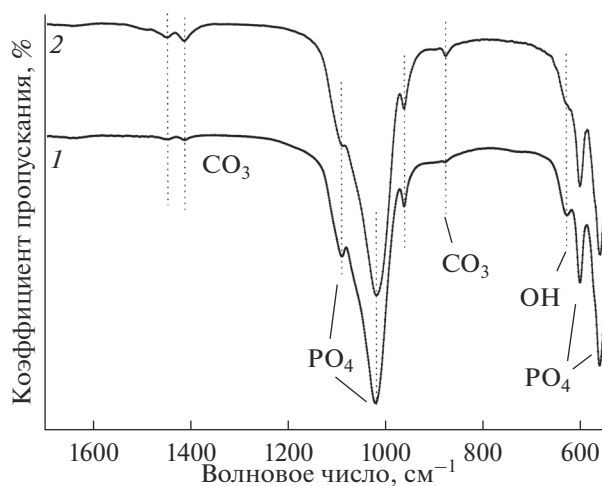


Рис. 3. ИК-спектры образцов гидроксиапатита, полученных при pH 7 (1) и 9 (2) и отожженных при температуре 400°C.

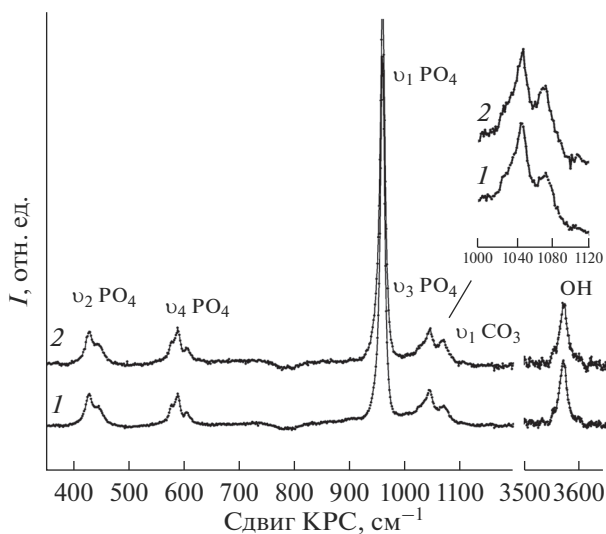


Рис. 4. Спектры КРС образцов, полученных при pH 7 (1) и 9 (2) и отожженных при температуре 400°C, $\lambda_{\text{возб}} = 532 \text{ nm}$.

то время как спиновая концентрация радикалов O^- и CH_3 уменьшается.

Просвечивающая электронная микроскопия. Внутривещечные замещения в полученных образцах и образование карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция должны обязательно отразиться на наноструктуре материала. Для того чтобы уточнить кристаллическую структуру, а также установить фазовый состав отдельного нанокристаллита в синтезированных образцах, был использован метод ПЭМ высокого разрешения. Были изучены образцы, полученные с различными значениями pH 9, 8.5, 8, 7.5, 7 и отожженные

Таблица 2. Наблюдаемые в спектрах ИК и КРС моды

Мода КРС	Сдвиг КРС, см ⁻¹	Молекулярная группа	ИК-полоса	ω , см ⁻¹
ν_2 PO ₄	431	Изгиб O–P–O, ν_2	–	–
ν_2 PO ₄	447	Изгиб O–P–O, ν_2	–	–
ν_4 PO ₄	579	Изгиб O–P–O, ν_4	PO ₄ ν^4	573
ν_4 PO ₄	590	Изгиб O–P–O, ν_4	PO ₄ ν^4	602
ν_4 PO ₄	607	Изгиб O–P–O, ν_4	–	–
ν_4 PO ₄	614	Изгиб O–P–O, ν_4	–	–
–	–	ОН	ОН	627
P–(ОН)	880–885	HPO ₄	CO ₃ (ν^3)	872
ν_1 PO ₄	962	Растяжение P–O	PO ₄ ν^1	963
HPO ₄	1005	Симметричное растяжение	–	–
ν_3 PO ₄	1028	PO ₄	–	–
ν_3 PO ₄	1040	Плечо P–O, антисимметричное растяжение	–	–
ν_3 PO ₄	1047	Самая интенсивная мода ν_3 PO ₄	–	–
ν_3 PO ₄	1052	Плечо P–O, антисимметричное растяжение	–	–
ν_1 CO ₃ , B-тип	1070–1072	B-тип CO ₃	–	–
ν_3 PO ₄	1076–1077	Антисимметричное растяжение P–O	–	–
ν_1 CO ₃ , A-тип	1106	A-тип	–	–
–	–	PO ₄	PO ₄ ν^3	1090
–	–	CO ₃	CO ₃ (ν^3)	1415
–	–	CO ₃	CO ₃ (ν^3)	1451
ОН	3570	ОН	ОН	3570

Таблица 3. Параметры парамагнитных радикалов, наблюдаемых в спектрах ЭПР в образцах гидроксиапатита кальция при $T = 300$ К

Парамагнитный радикал	Парамагнитный центр [4]	Положение [1–4]	g_1	g_2	g_3	$A_1 = A_2 = A_3$, мТл	Ссылка
O ⁻	O ²⁻	В прослойках вблизи поверхности нанокристаллов	2.0422(5)	2.0333(5)	2.0023(5)	–	[36, 38]
CO ₂ ⁻	CO ₂ ⁰ /CO ₃ ²⁻		2.0032(3)	2.0020(3)	1.9977(3)	–	[36]
CO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻		2.016(1)	2.0100(3)	2.004(1)	–	[39]
СН ₃	–		2.0029(3)	2.0029(3)	2.0029(3)	2.23	[37]
CO ₃ ³⁻	CO ₃ ²⁻	В позициях групп PO ₄ ³⁻	2.0048(3)	2.0032(3)	2.0017(3)	–	[36]

при 400°C, которые дополнительно подвергались ультразвуковому диспергированию в водной среде. Эксперимент показал, что образовавшиеся нанокристаллы всех исследованных образцов имеют стержневидную форму, их диаметр ~20 нм и длина ~50 нм. На рис. 5 и 6 представлены изображения нанокристаллов, полученных из раство-

ров с рН 7 и 9 и отожженных при 400°C. Детальное исследование образцов карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция методом ПЭМ с нанометровым разрешением показало пористую структуру этих материалов (рис. 5, 6).

Тепловая десорбция азота. Хорошо известно, что развитая поверхность пористых карбонатза-

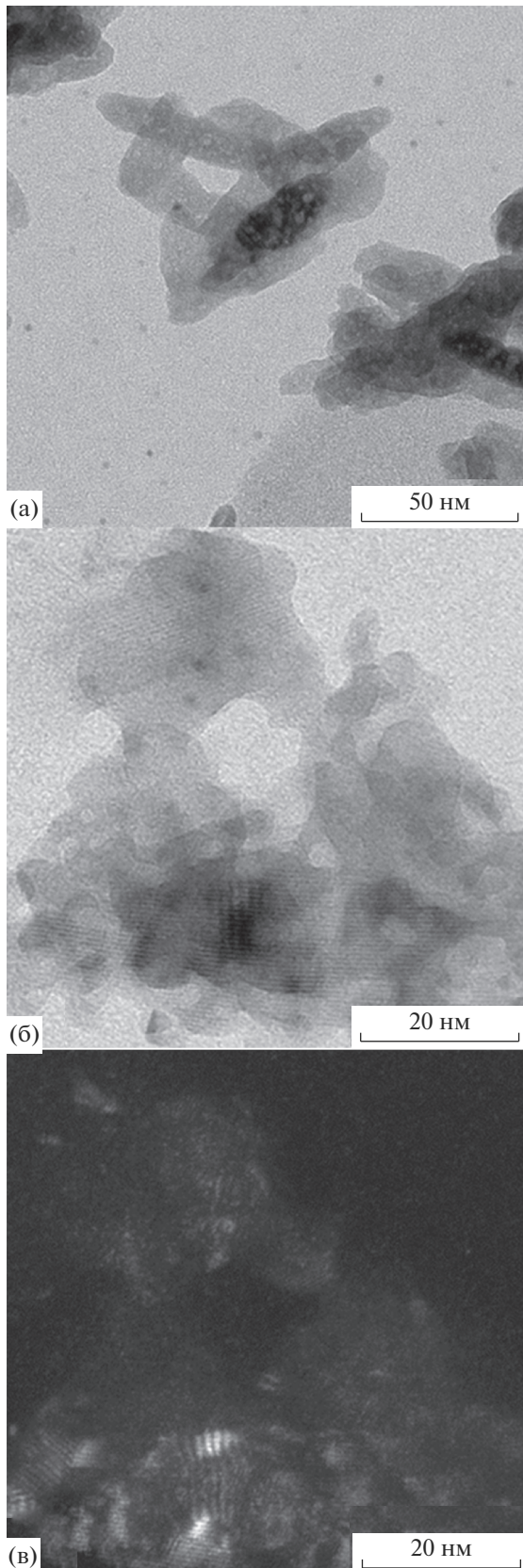


Рис. 5. ПЭМ-изображение образца, полученного при pH 9 и отожженного при температуре 400°C.

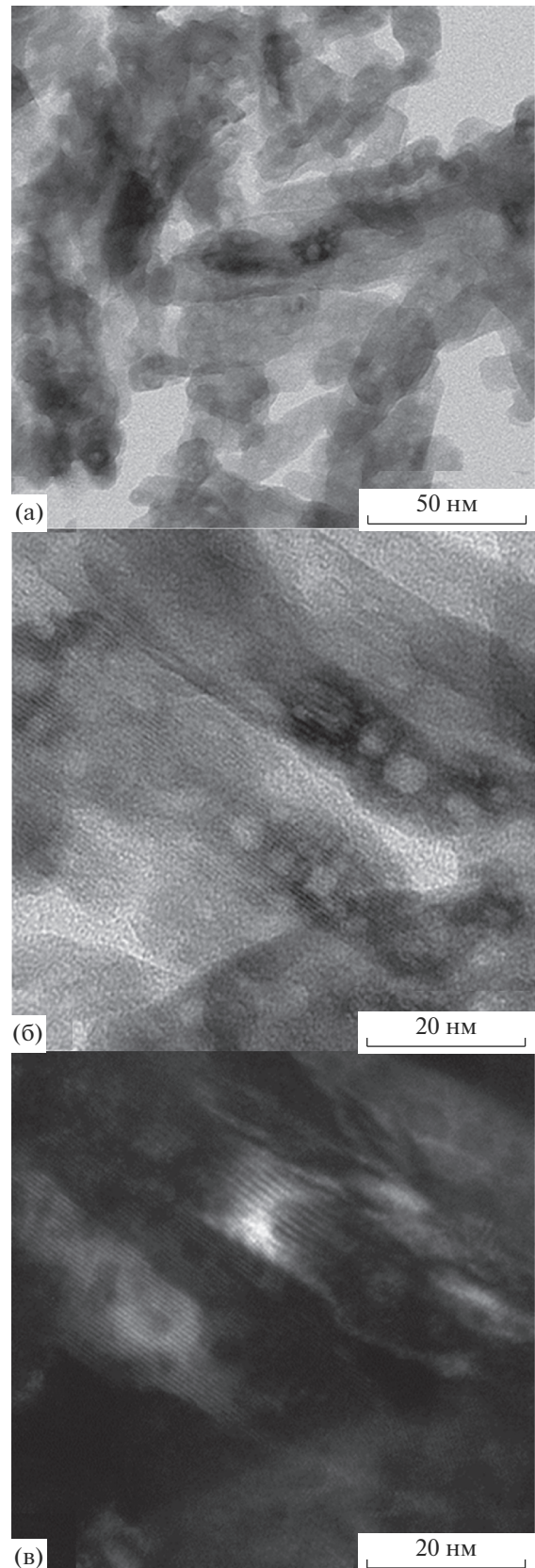


Рис. 6. ПЭМ-изображение образца, полученного при pH 7 и отожженного при температуре 400°C.

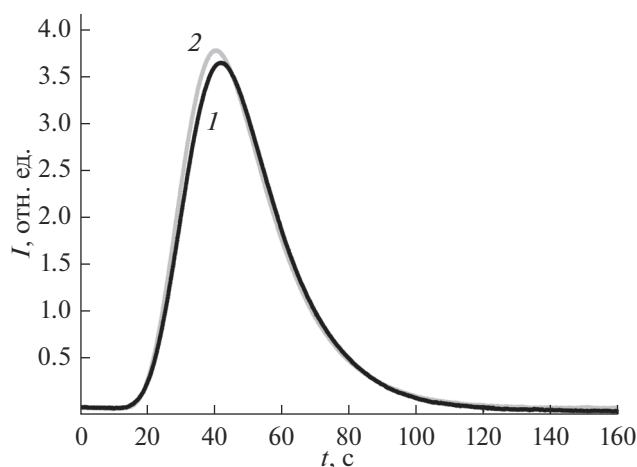


Рис. 7. Зависимости тепловой десорбции азота из образцов карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция, полученных при значениях pH 7 (1) и 9 (2), а также отожженных при 400°C , $p/p_0 = 0.09$.

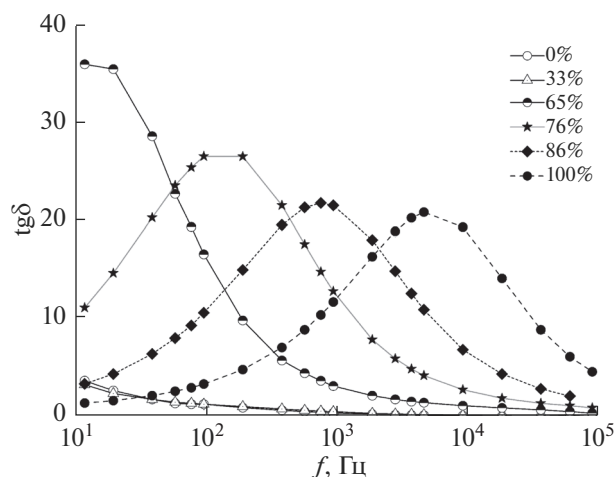


Рис. 8. Зависимость тангенса угла диэлектрических потерь $\text{tg}\delta$ от частоты f в образцах карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция при различной влажности p/p_s .

мещенных гидроксиапатитов кальция является важной характеристикой такого рода образцов, используемых в стоматологическом материаловедении, в том числе при создании биомиметических материалов. Поэтому были определены удельные площади поверхности синтезированных порошков с использованием метода тепловой десорбции азота. Оценки удельных площадей проведены в приближении одинакового размера частицы. На рис. 7 представлены кривые тепловой десорбции азота из материалов, синтезированных при значениях pH 7 и 9 и отожженных при 400°C (кривые 1 и 2 соответственно). Расчет удельной поверхности для всех порошков методом БЭТ показал, что образцы, полученные при

различных значениях pH 9, 8.5, 8, 7.5, 7, имеют одинаковую площадь удельной поверхности $\sim 55.4 \pm 0.9 \text{ м}^2/\text{г}$.

Диэлектрическая спектроскопия. Развитая поверхность образцов карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция, а также тот факт, что гидроксиапатит является широкозонным диэлектриком ($E_g = \sim 7.7 \text{ эВ}$), однозначно должны отразиться на его электрохимических свойствах. Наиболее удобным методом исследования выступает импеданс-спектроскопия, с использованием которой уже было установлено, что в отожженных материалах гидроксиапатита вид зависимости тангенса угла диэлектрических потерь $\text{tg}\delta$ определяется наличием структурных дефектов, возникающих в ходе его получения [40]. Однако при использовании материалов на основе гидроксиапатита кальция в реальных условиях часто имеют дело с влажными средами. Поэтому для изучения зависимости $\text{tg}\delta$ от частоты электрического поля полученные образцы исследовали в условиях контролируемой сорбции паров воды.

Полученные результаты измерения тангенса угла диэлектрических потерь показали (рис. 8), что в интервале частот 10 Гц–100 кГц и диапазоне относительной влажности p/p_s , 0–100% проводимость образцов карбонатзамещенного гидроксиапатита определяется сорбированной водой. Особенность тангенса угла диэлектрических потерь, вызванных поляризацией Максвелла–Вагнера, заключается в появлении в экспериментальных спектрах широкой полосы с явно выраженным максимумом. Положение этого максимума смещается в сторону высоких частот при возрастании относительной влажности p/p_s в диапазоне 65–100%. Подобный эффект отмечается и для схожих по конструкции систем на основе гидроксиапатита кальция [41].

Обсуждение результатов. Сопоставление полученных методом РФА результатов для всех образцов позволяет сделать заключение, что изменение концентрации фосфатных групп в исходном растворе не приводит к изменению фазового состава конечного материала, однако проявляется в искажении кристаллической решетки гидроксиапатита. Для всех образцов гидроксиапатита кальция были определены параметры их элементарной ячейки. Полученные результаты, а также данные из базы данных JCPDS–ICDD представлены в табл. 4.

Из сопоставления параметров элементарной ячейки видно, что синтезированные в работе материалы имеют меньшие значения параметров, чем аналогичные образцы, представленные в базе JCPDS–ICDD. Хорошо известно, что условия синтеза гидроксиапатита кальция влияют на процессы роста кристаллов, а это в свою очередь может приводить к изменению параметров кристал-

лической структуры [42]. Поэтому меньшие значения параметров элементарной ячейки a , b и c полученных в работе образцов можно связать с особенностью использованной методики синтеза гидроксиапатита кальция из яичной скорлупы птиц, а также с наличием примесей в ее составе (табл. 1). В различных работах показано, что скорлупа птиц содержит магний и фосфор в концентрации от ~1% [43]. Исходя из представленных экспериментальных данных видно, что в составе гидроксиапатита кальция также присутствуют примеси атомов S, K, Cl на уровне 0.1–0.2 ат. %. Эти примеси и группы в составе скорлупы способствуют созданию биомиметического композита, наиболее схожего по элементному составу с гидроксиапатитом костной и зубной ткани [44]. Изменение содержания фосфатных групп в процессе получения образцов и изменение величины рН на ± 0.5 влияет на отношение Са/Р, что также обнаружено в ходе количественного анализа, проведенного методом РСМА, который подтвердил данные РФА и ИК-спектроскопии.

Данные ИК-спектроскопии (рис. 3 и табл. 2) согласуются с данными рентгеновской дифракции о том, что причиной искажений кристаллической решетки гидроксиапатита является внедрение примесных атомов и групп в его структуру. По данным ИК-спектроскопии установлено влияние включения карбонат-аниона в гидроксиапатит в случае пониженного содержания фосфатных групп в образце (рис. 3, кривые 1, 2). Полученные результаты соответствуют литературным данным [9, 32, 45, 46].

Аналогичные корреляции обнаруживаются при рассмотрении спектров КРС полученных образцов (рис. 4, кривые 1 и 2). На врезке выделен участок спектра, соответствующий модам PO_4 и CO_3 и наглядно показывающий, что при введении большего количества фосфатных групп в раствор интенсивность моды колебаний карбонат-аниона уменьшается, что совпадает с данными ИК-спектроскопии. Следует отметить, что как в ИК-спектрах зубной ткани, так и в спектрах КРС [47, 48] обнаруживаются полосы, соответствующие карбонат-аниону [7, 9], поэтому его наличие в образцах подтверждает возможность использования данных материалов в качестве основы для создания стоматологических биомиметических композитов.

Методом ЭПР, который является чувствительным к разнообразного рода структурным дефектам и часто применяется для изучения гидроксиапатита кальция и его замещенных форм [36, 38, 39, 49], подтверждено образование карбонатзамещенного гидроксиапатита В-типа для всех полученных образцов (табл. 3). Более того, согласно данным ЭПР с уменьшением отношения Са/Р в образцах с рН 9, 8.5, 8, 7.5, 7 интенсивность сигналов от радикалов CO_3^{2-} и CO_3^{3-} возрастает. Этот факт дополняет данные ИК- и спектроскопии

Таблица 4. Параметры элементарной ячейки полученных образцов гидроксиапатита в сравнении с образцами из базы данных JCPDS–ICDD

Гидроксиапатит	$a, b, \text{Å}$	$c, \text{Å}$
ICDD № 09-432	9.418	6.884
ICDD № 01-074-0565	9.424	6.879
рН 9	9.406	6.871
рН 7	9.404	6.864

КРС о зависимости содержания карбонат-аниона в кристаллической решетке гидроксиапатита.

Развитая поверхность полученных образцов карбонатзамещенного гидроксиапатита, обнаруженная методом ПЭМ, может быть использована для увеличения сорбционной емкости материалов и образования биоактивных композитов. Пористая структура характерна для образцов гидроксиапатита кальция, получаемых методами химического осаждения [50]. Нанопоры в карбонатзамещенном гидроксиапатите кальция являются 3D дефектом. Из рис. 5, 6 видно, что при уменьшении значения рН раствора размеры нанопор увеличиваются.

Высокая удельная поверхность полученных образцов может быть связана не только с особенностями состава и структуры используемого источника кальция при его получении (яичной скорлупы), но и с малыми размерами и особенностями морфологии нанокристаллов. Поскольку карбонатзамещенный гидроксиапатит кальция часто применяют в качестве наполнителя цементных паст пломбирочных материалов, высокая удельная поверхность может способствовать лучшему связыванию материала в составе цемента.

Что же касается характера изменения тангенса угла диэлектрических потерь в образцах, то следует отметить, что в известных аналогичных работах [51–55] по изучению беспримесного гидроксиапатита кальция изменения связывают с переориентацией групп ОН. Объяснение полученным в настоящей работе данным можно дать исходя из следующих предположений. Полагаем, что заряды в образцах карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция под действием внешнего электрического переменного поля будут образовываться на границах раздела проводящих и изоляционных слоев. В данном случае границу между нанокристаллами гидроксиапатита и сорбированной водой можно рассматривать как совокупность диполей, направление моментов которых меняется вместе с изменением приложенного поля. Из эксперимента следует, что диэлектрические потери в образцах возрастают, когда период колебаний напряженности электриче-

ского поля становится сопоставим со временем релаксации поверхностной поляризации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании экспериментальных данных, полученных с применением комплекса структурно-спектроскопических методов анализа, удалось показать, что с использованием биогенного источника кальция (яичной скорлупы птиц) возможно получение наноразмерного карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция с высокими сорбционными характеристиками. Методами просвечивающей электронной микроскопии установлено, что изменение величины pH раствора в процессе синтеза материалов ведет к изменению поверхности нанокристаллов и влияет на величину нанопор на их поверхности. Обнаруженные методом ЭПР в нанокристаллах структурные дефекты связаны с примесями, существующими в исходном реагенте — яичной скорлупе. Присутствие этих примесей в структуре конечного материала приводит к изменению параметров элементарной кристаллической ячейки. Наличие карбонат-ионов в структуре карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция В-типа подтверждается методами ИК-спектроскопии и спектроскопии КРС и также заметно влияет на морфологию поверхности.

Расчет удельной поверхности порошков методом БЭТ по данным тепловой десорбции азота показал, что площадь удельной поверхности полученных образцов карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция при значениях pH от 9 до 7 (шаг 0.5) составляет $\sim 55.4 \pm 0.9$ м²/г, что превышает известные аналоги примерно в три раза и является важной характеристикой синтезированных материалов. Обнаруженная сорбционная способность порошков связана с методом получения и определяется развитой морфологией материала.

Исследования синтезированных и подвергнутых прессованию нанокристаллов карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция, проведенные методом рентгеновской дифракции и импеданс-спектроскопии, позволяют предположить, что преобразованные, таким образом, порошки гидроксиапатита не изменяют своего фазового состава, однако весьма чувствительны к содержанию в них ОН-групп.

Благодаря своим характеристикам синтезированные по представленной технологии из биогенного источника кальция образцы карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция потенциально значимы для создания биомиметических материалов, близких по своей структуре к нативным твердым тканям человеческого зуба.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант № 18-29-11008 мк). Исследование в части синтеза нанокристаллического карбонатзамещенного гидроксиапатита кальция было выполнено при поддержке гранта Президента Российской Федерации № МК-419.2019.2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Xavier J.R., Desai P., Varanasi V.G. et al.* // Nanotechnology in Endodontics / Ed. Kishen A. Springer International Publishing, 2015. P. 5.
2. *Eliaz N., Metoki N.* // Materials. 2017. V. 10. № 4. P. 334.
3. *Dorozhkin S.V.* Hydroxyapatite and Other Calcium Orthophosphates: Bioceramics, Coatings and Dental. N.Y.: Applications Nova Science Publishers, 2017. 462 p.
4. *Mikhail S.S., Azer S.S., Schricker S.R.* // Handbook of Nanomaterials Properties / Ed. Bhushan B., Luo D. et al. Berlin—Heidelberg: Springer, 2014. P. 1377.
5. *Hamouda I.M., Shehata S.H.* // J. Biomed. Res. 2011. V. 25. № 6. P. 418.
6. *Hannig M., Hannig C.* // Adv. Dental Res. 2012. V. 24. № 2. P. 53.
7. *Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Prutskij T., Ippolitov Y.A.* // Res. Phys. 2017. V. 7. P. 1086.
8. *Lübke A., Enax J., Wey K. et al.* // Bioinspiration Biomimetics. 2016. V. 11. № 3. P. 035001.
9. *Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Kashkarov V.M. et al.* // J. Surf. Invest.: X-ray, Synchrotron Neutron Tech. 2018. V. 12. № 3. P. 442.
10. *Galamboš M., Šchánek P., Rosskopfová O.* // J. Radioanal. Nucl. Chem. 2012. V. 293. № 2. P. 613.
11. *Barandehfard F., Kianpour Rad M., Hosseinnia A. et al.* // Ceramics Int. 2016. V. 42. № 15. P. 17866.
12. *Kolmas J., Groszyk E., Kwiatkowska-Rozycka D.* // BioMed Res. Int. 2014. V. 2014. P. 1.
13. *Mouriño V., Cattalini J.P., Boccaccini A.R.* // J. R. Soc. Interface. 2012. V. 9. № 68. P. 401.
14. *Domashevskaya E.P., Al-Zubad A.A.i., Goloshchapov D.L. et al.* // J. Surf. Invest. X-ray, Synchrotron Neutron Tech. 2014. V. 8. № 6. P. 1128.
15. *Goloshchapov D.L., Kashkarov V.M., Romyantseva N.A. et al.* // Ceramics Int. 2013. V. 39. № 4. P. 4539.
16. *Akram M., Ahmed R., Shakir I. et al.* // J. Mater. Sc. 2014. V. 49. № 4. P. 1461.
17. *Laonapakul T.* // KKU Engin. J. 2015. V. 42. № 3. P. 269.
18. *Seredin P.V., Goloshchapov D.L., Kashkarov V.M. et al.* // Res. Phys. 2016. V. 6. P. 447.
19. *Liu Q., Huang S., Matinlinna J.P. et al.* // BioMed Res. Int. 2013. V. 2013. P. 1.
20. *Matsumoto T., Tamine K., Kagawa R. et al.* // J. Ceram. Soc. Jpn. 2006. V. 114. № 1333. P. 760.
21. *Manoj M., Subbiah R., Mangalaraj D. et al.* // Nanobiomedicine. 2015. V. 2. P. 1.
22. *Šupová M.* // Ceram. Int. 2015. V. 41. P. 9204.
23. *Lakshkar N.J., Lee I.-H., Kim H.-W. et al.* // Adv. Drug Delivery Rev. 2013. V. 65. № 4. P. 405.
24. *Bose S., Fielding G., Tarafder S., Bandyopadhyay A.* // Trends Biotechnol. 2013. V. 31. № 10. P. 594.
25. *Turon P., del Valle L., Alemán C., Puiggali J.* // Appl. Sci. 2017. V. 7. № 1. P. 60.

26. *Siva Rama Krishna D., Siddharthan A., Seshadri S.K., Sampath Kumar T.S.* // J. Mater. Sci. Mater. Medicine. 2007. V. 18. № 9. P. 1735.
27. *Prabakaran K., Balamurugan A., Rajeswari S.* // Bull. Mater. Sci. 2005. V. 28. № 2. P. 115.
28. *Sasikumar S., Vijayaraghavan R.* // Trends Biomater. Artificial Organs. 2006. V. 19. № 2. P. 70.
29. *Sopyan A.P.D.I., Raihana M.F., Hamdi M., Ramesh S.* // Proceed. 4th Kuala Lumpur Int. Conf. on Biomedical Engineering. Kuala Lumpur, 2008. V. 21. P. 333.
30. *Rivera-Muñoz E., Curiel R., Rodríguez R.* // Mater. Res. Innov. 2003. V. 7. № 2. P. 85.
31. *Khandelwal H., Prakash S.* // J. Miner. Mater. Char. Engin. 2004. V. 4. № 2. P. 119.
32. *Ishikawa K., Matsuya S., Lin X. et al.* // J. Ceram. Soc. Jpn. 2010. V. 118. № 1377. P. 341.
33. *Sobczak-Kupiec A., Malina D., Kijkowska R., Wzorek Z.* // Digest J. Nanomater. Biostruct. 2012. V. 7. № 1. P. 385.
34. *Penel G., Delfosse C., Rey C. et al.* // Dental Med. Problems. 2003. V. 40. P. 37.
35. *Khan A.F., Awais M., Khan A.S. et al.* // Appl. Spectr. Rev. 2013. V. 48. № 4. P. 329.
36. *Callens F., Vanhaelewyn G., Matthys P., Boesman E.* // Appl. Magn. Resonance. 1998. V. 14. № 2. P. 235.
37. *Gilinskaya L.G.* // J. Struct. Chem. 2010. V. 51. P. 471.
38. *Moens P., Callens F., Matthys P. et al.* // J. Chem. Soc. Faraday Transac. 1991. V. 87. № 19. P. 3137.
39. *De Oliveira L.M., Rossi A.M., Lopes R.T., Rodrigues L.N.* // Rad. Protection Dosimetry. 2002. V. 101. № 1–4. P. 539.
40. *Itoh S., Nakamura S., Kobayashi T. et al.* // Calcified Tissue Int. 2006. V. 78. № 3. P. 133.
41. *Goloshchapov D.L., Lenshin A.S., Tutov E.A. et al.* // Smart Nanocomposites. 2013. V. 4. № 1. P. 101.
42. *Dorozhkin S.V.* // Mater. 2009. V. 2. № 4. P. 1975.
43. *King'ori A.M.* // Int. J. Poultry Sci. 2011. V. 10. № 11. P. 908.
44. *Buddhachat K., Klinhom S., Siengdee P. et al.* // PLoS One. 2016. V. 11. № 5. P. e0155458.
45. *Yusufoglu Y., Akinc M.* // J. Am. Ceram. Soc. 2008. V. 91. № 1. P. 77.
46. *De Araújo J.C., Moreira E.L., Moraes V.C.A. et al.* // Mater. Res. 2011. V. 14. № 3. P. 376.
47. *Goloshchapov D.L., Kashkarov V.M., Ippolitov Y.A. et al.* // Res. Phys. 2018. V. 10. P. 346.
48. *Seredin P., Goloshchapov D., Prutskij T., Ippolitov Y.* // PLoS One. 2015. V. 10. № 4. P. 1.
49. *Ishii H., Ikeya M.* // Appl. Rad. Isotopes. 1993. V. 44. № 1. P. 95.
50. *Mujahid M., Sarfraz S., Amin S. et al.* // Mater. Res. 2015. V. 18. № 3. P. 468.
51. *Teterskij A.V., Morozov V.A., Stefanovich S.Y., Lazoryak B.I.* // Russ. J. Inorgan. Chem. 2005. V. 50. № 7. P. 986.
52. *Gittings J.P., Bowen C.R., Dent A.C.E. et al.* // Acta Biomaterialia. 2009. V. 5. № 2. P. 743.
53. *Mahabole M.P., Aiyer R.C., Ramakrishna C.V. et al.* // Bull. Mater. Sci. 2005. V. 28. № 6. P. 535.
54. *Mensah-Darkwa K., Gupta R.K., Kumar D.* // J. Mater. Sci. Technol. 2013. V. 29. № 9. P. 788.
55. *Jogiya B.V., Jethava H.O., Tank K.P. et al.* // AIP Conf. Proceed. 2016. V. 1728. № 1. P. 020227.

Structural, Morphological, and Sorption Characteristics of Nanocrystalline Defective Calcium Hydroxyapatite for Creation of Dental Biomimetic Composites

D. L. Goloshchapov, A. S. Lenshin, K. A. Nikitkov, V. N. Bartenev, D. V. Savchenko, E. A. Tutov, P. V. Seredin

Using the complex of structural-spectroscopic analysis methods, the relationships between the structure, morphology, and sorption characteristics of samples of nanocrystalline carbonate-substituted calcium hydroxyapatite synthesized with a biogenic source of calcium (bird's eggshell) by chemical precipitation from solution are studied. Using X-ray diffractometry and X-ray microanalysis, impurities are found to enter the structure of the synthesized material from the eggshell calcium carbonate of birds, which leads to a change in the unit cell parameters of the hydroxyapatite crystal without the formation of additional phosphate phases. Using optical spectroscopy and electron paramagnetic resonance, it has been established that, as a result of the inheritance of a set of carbonate-ion impurities, a structure of *B*-type hydroxyapatite is formed. An increase in the content of the PO₄ phosphate groups during the process of synthesis of materials in the atmosphere results in a decrease in the content of structurally related CO₃ groups. A decrease in the pH of the solution at the synthesis stage, due to an increase in the content of PO₄³⁻ anions, affects the morphology of the samples by increasing the size of intracrystalline defects – nanopores on the surface of nanocrystals. Such a change in the morphology of materials results in changes in the sorption characteristics of the samples, determined by the method of thermal desorption of nitrogen. The specific surface area of the powders is $\sim 5.5 \pm 0.9$ m²/g, which exceeds many times the known analogs. Despite the developed surface, the samples of carbonate-substituted calcium hydroxyapatite remain stable in the atmosphere of saturated water vapor, and the main losses during polarization are associated with the Maxwell–Wagner losses. Analysis of the characteristics of carbonate-substituted hydroxyapatite samples obtained from a biogenic source of calcium shows their potential significance for creating biomimetic materials that imitate the structure, morphology, and anisotropy of native solid tissue of a human tooth.

Keywords: nanocrystalline carbonate-substituted calcium hydroxyapatite, biomimetic materials, native hard tissues of a human tooth, structure, morphology, sorption characteristics.