

AGNIESZKA SOBCZAK, ZYGMUNT KOWALSKI*

METODY MOKRE OTRZYMYWANIA HYDROKSYAPATYTU

WET METHODS OF HYDROXYAPATITE PREPARATION

Streszczenie

W niniejszym artykule przedstawiono charakterystykę metod mokrych otrzymywania proszków hydroksyapatytowych. Omówiono wpływ parametrów procesu, takich jak stężenie substratów, temperatura oraz pH środowiska na otrzymany produkt, a także wpływ dodatkowej kalcynacji na stopień krystaliczności. Przedstawiono również wpływ organicznego rozpuszczalnika na morfologię hydroksyapatytu otrzymanego metoda hydrotermalną.

Słowa kluczowe: biomateriały, hydroksyapatyt, metody mokre, metody hydrotermalne

Abstract

In this work characteristics of wet methods of obtaining of hydroxyapatite powders is presented. It has been discussed influence of process parameters i.e. substrate concentrations, temperature and pH of reaction on the product obtained, and also effect of additional calcining on crystallization degree. Effect of organic solvent on morphology of hydroxyapatite obtained by hydrothermal method has been introduced.

Keywords: biomaterials, hydroxyapatite, wet methods, hydrothermal methods

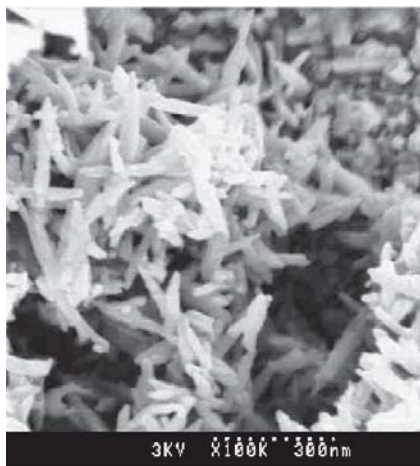
* Mgr inż. Agnieszka Sobczak, prof. dr hab. inż. Zygmunt Kowalski, Instytut Chemii i Technologii Nieorganicznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska.

1. Wstęp

Otrzymywanie materiałów hydroksyapatytowych do zastosowań w medycynie i stomatologii stanowi przedmiot badań wielu placówek naukowo-badawczych zarówno w Polsce, jak i na całym świecie. Ceramiczne materiały hydroksyapatytowe ze względu na wysoki stopień biogodności, osteokonduktywność oraz zdolność do tworzenia z żywymi tkankami połączeń chemicznych są uważane za jedne z wiodących materiałów w chirurgii kostnej. HAp jest materiałem słabo rozpuszczalnym i wolno resorbującym się w tkankach. Materiał ten jest szeroko stosowany w medycynie i stomatologii, głównie w formie porowatej oraz jako materiał pokryciowy na różnego rodzaju podłożach. Łatwość łączenia ceramiki hydroksyapatytowej z innymi materiałami stwarza możliwości tworzenia nowych materiałów kompozytowych. Materiały lite mają ograniczone zastosowanie ze względu na właściwości mechaniczne, są używane do uzupełniania niewielkich ubytków kostnych.

2. Metody otrzymywania hydroksyapatytu

Jest wiele metod otrzymywania proszków hydroksyapatytowych: mokre, suche, topnikowe oraz zol-żel [1]. Znana jest również metoda mechanochemiczna otrzymywania hydroksyapatytu [2], jednak nie znalazła ona szerokiego zastosowania. Hydroksyapatyt można również uzyskiwać z materiałów naturalnych, takich jak koralowce czy kości zwierzęce [3–5]. Najszerszej stosowanymi metodami na skalę przemysłową i laboratoryjną są metody mokre. Poszczególne metody umożliwiają otrzymanie materiałów o odpowiedniej morfologii, strukturze krystalicznej, właściwym stosunku molowym Ca/P, jak również pozwalają na wbudowanie obcych kationów lub anionów do struktury hydroksyapatytu.



Rys. 1. Obraz SEM nanowłókien hydroksyapatytowych [8]

Fig. 1. SEM photograph of hydroxyapatite nanofibers in [8]

2.1. Metody mokre

Syntezy hydroksyapatytu metodami mokrymi są najpowszechniej stosowane na skalę laboratoryjną i przemysłową [1]. Syntezy metodami mokrymi prowadzone są w roztworach lub zawiesinach z utrzymaniem odpowiedniego pH. Tymi metodami uzyskuje się materiały amorficzne lub o małym stopniu krystaliczności, jak również materiały manometryczne [1, 6]. Substratami są na ogół kwasy i zasady lub też odpowiednie sole wapniowe i fosforanowe [1, 6, 7]. Na rysunku 1 przedstawiono obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego nanocząsteczek hydroksyapatytu w formie włókien otrzymanego z zastosowaniem kwasu ortofosforowego i wodorotlenku wapnia jako substratów [8]. W tabeli 1 przedstawiono przykładowe substraty stosowane w metodach mokrych.

Substraty i reakcje zachodzące w syntezie mokrej [1, 6, 7, 14]

Substrat 1	Substrat 2	Reakcja	
Ca(NO ₃) ₂	(NH ₄) ₂ HPO ₄	$10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 12\text{NH}_4\text{NO}_3 + 8\text{HNO}_3$	pH 8–12
Ca(OH) ₂	H ₃ PO ₄	$10\text{Ca}(\text{OH})_2 + 6\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 18\text{H}_2\text{O}$	pH 8
CaCl ₂	Na ₂ HPO ₄	$10\text{CaCl}_2 + 6\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 12\text{NaCl} + 8\text{HCl}$	
Ca(NO ₃) ₂	(NH ₄) ₃ PO ₄	$10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 + 2\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{NO}_3$	pH ≥ 9

Optymalne pH na poziomie 8–12 jest zapewniane przez dodatek wody amoniakalnej lub mocznika [9]. Gdy wartość pH jest poniżej optymalnej, mogą przebiegać dodatkowe reakcje prowadzące do powstania innych faz [10]. Temperatura procesu mieści się w zakresie od temperatury pokojowej do 90–100°C [11]. W każdej syntezie niezależnie od zastosowanych substratów można wyróżnić następujące etapy procesu:

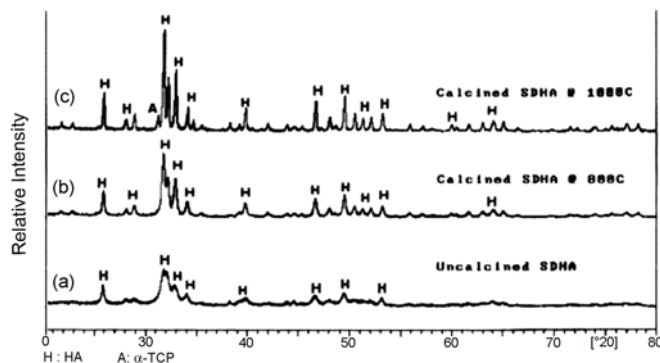
- przygotowanie roztworów bądź zawiesin substratów o odpowiednim stężeniu,
- dodawanie kroplami jednego z substratów w ilości stechiometrycznej,
- mieszanie przez określony czas (pH, T),
- odfiltrowanie i przemycie osadu do pH = 7,0,
- suszenie produktu.

Stężenie wyjściowych substratów oraz temperatura reakcji mają istotny wpływ na rozmiar oraz kształt otrzymanego produktu. Zarówno długość, jak i szerokość cząstek hydroksyapatytu wzrastają wraz z temperaturą reakcji, natomiast spada skłonność do aglomeracji. Stężenie również wpływa na morfologię końcowego produktu. Po zastosowaniu substratów o mniejszych stężeniach otrzymuje się cząstki hydroksyapatytu o kulistym kształcie i niewielkiej średnicy, gdy zwiększa się stężenie substancji wyjściowych, kształt cząstek jest coraz bardziej nitkowaty [12].

Suszenie galaretowatego osadu może być wykonane tradycyjnie lub z zastosowaniem suszarki rozpyłowej [10, 13]. W tym celu sporządza się zawiesinę hydroksyapatytu z dodatkiem 1% polialkoholu winylowego jako substancji wiążącej [10].

Można zastosować kalcynację w zakresie temperatur 300–1200°C w celu zwiększenia stopnia krystaliczności gotowego produktu [7, 15]. W temperaturze powyżej 1000°C mogą pojawiać się dodatkowe fazy; tlenek wapnia oraz fosforan trójwapniowy [10]. Na rysunku 2 przedstawiono wpływ temperatury kalcynacji na stopień krystaliczności hydroksyapatytu, który wzrasta wraz z temperaturą kalcynacji.

Zaletą syntezy mokrej jest możliwość wprowadzenia w sposób substytucyjny do struktury hydroksyapatytu obcych pierwiastków, takich jak magnez, sód, potas i in. oraz grup węglanowych [14, 16], które są obecne w naturalnej kości, ponieważ kośćce spełnia nie tylko funkcję podporową, ale jest także magazynem wielu jonów w ustroju. Obecność obcych pierwiastków wpływa na aktywność enzymów związanych z działaniem komórek kostnych [17].



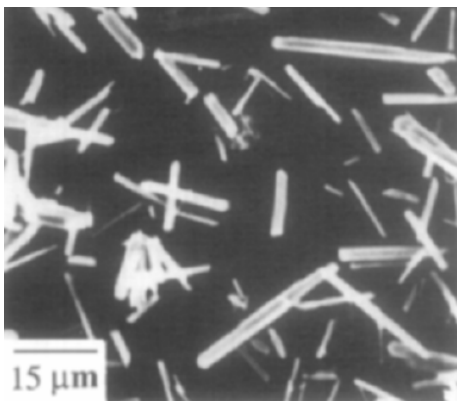
Rys. 2. Wpływ kalcynacji na stopień krystalizacji proszku hydroksyapatytowego [10]

Fig. 2. Effect of calcinations on crystallization degree of hydroxyapatite powder [10]

W literaturze są opisywane syntezy metodami mokrymi z dodatkowym zastosowaniem homogenizatora ultradźwiękowego [9, 18], jak również zastosowanie atmosfery gazu obojętnego [8].

2.2. Metody hydrotermalne

Do grupy metod mokrych zaliczają się również metody hydrotermalne. Proces otrzymywania hydroksyapatytu odbywa się w autoklawach w warunkach hydrotermalnych (temperatura wynosi 120–300°C, natomiast ciśnienie pary wodnej jest rzędu 0,2–8,5 MPa).



Rys. 3. Obraz SEM hydroksyapatytu otrzymanego metodą hydrotermalną [20]

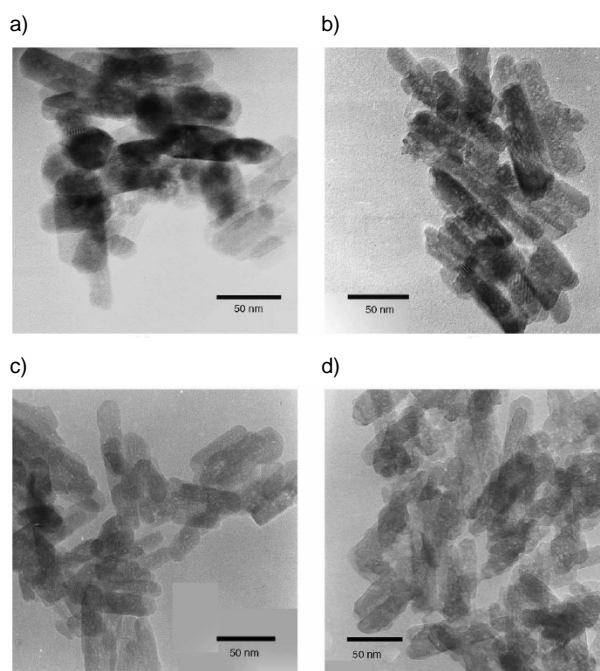
Fig. 3. SEM photograph of hydroxyapatite obtained by hydrothermal method [20]

Hydroksyapatyt otrzymany na drodze hydrotermalnej charakteryzuje się dużymi kryształami o niezaburzonej strukturze krystalicznej [1]. Jako surowce wyjściowe znalazły zastosowanie monetyt CaHPO_4 , bruszyt $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, aragonit CaCO_3 [1, 19]. Hydroksyapatyt z deficytem jonów wapnia można otrzymać w warunkach hydrotermalnych poprzez rozkład chelatu Ca-EDTA w obecności grup ortofosforanowych przy utrzymaniu wartości pH w granicach 8–12 i temperaturze 200°C. Uzyskane w ten sposób cząstki hydroksyapatytu charakteryzują się kształtem nitkowatym (rys. 3) [20].

W metodach hydrotermalnych znajdują zastosowanie również substraty, takie jak w klasycznych metodach mokrych, np. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ czy H_3PO_4 i $\text{Ca}(\text{OH})_2$ [21, 22].

Istotny wpływ na stechiometrię otrzymanego produktu ma pH środowiska reakcji. Wraz ze wzrostem wartości pH stosunek molowy jonów $\text{PO}_4^{3-}/\text{Ca}^{2+}$ zwiększa się [20]. Stosując

metodę hydrotermalną, można wprowadzać do struktury HAp zarówno kationy, jak i aniony. W miejsce jonów Ca^{2+} mogą być wprowadzone następujące: Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ i in. [23]. Grupy fosforanowe, jak również w niewielkim stopniu grupy hydroksylowe mogą być wymienione na węglanowe, krzemianowe i in. [21]. Jako prekursor grup krzemianowych stosuje się $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_4$, który jest dodawany do środowiska reakcji w tym samym czasie co pozostałe reagenty [21].



Rys. 4. Morfologia cząstek hydroksyapatytu syntezowanego w różnych środowiskach: a) izopropanol 0%, b) izopropanol 20%, c) izopropanol 50%, d) izopropanol 70% [22]

Fig. 4. Morphology of hydroxyapatite particles synthesized in different media: a) isopropanol 0%, b) isopropanol 20%, c) isopropanol 50%, d) isopropanol 70% [22]

W metodzie hydrotermalnej istotną rolę odgrywa zastosowany rozpuszczalnik. Najczęściej jest to środowisko wodne, jednak w literaturze można spotkać zastosowanie jako środowiska reakcji mieszaniny alkoholu, np. izopropanolu i wody [22]. Ilość izopropanolu w stosunku do wody ma wpływ na skład chemiczny oraz stopień krystaliczności hydroksyapatytu. Stwierdzono zależność pomiędzy zawartością grup węglanowych w strukturze hydroksyapatytu a zawartością izopropanolu w środowisku reakcji. Wraz ze wzrostem stężenia alkoholu zwiększa się liczba grup węglanowych w produkcie, jednak izopropanol obniża stopień krystaliczności hydroksyapatytu. Rozpuszczalnik wpływa również na morfologię i skłonność do aglomeracji cząstek. Wraz ze wzrostem stężenia izopropanolu skłonność do aglomeracji cząstek hydroksyapatytu wzrasta (rys. 4).

3. Podsumowanie

Spośród materiałów implantacyjnych HAp – ze względu na liczne zalety – odgrywa istotną rolę w implantologii. W ostatnich latach prowadzone są intensywne badania nad otrzymaniem biomateriałów hydroksyapatytowych o pożądanym właściwościach biologicznych, fizykochemicznych oraz mechanicznych. Spośród wszystkich metod otrzymywania hydroksyapatytu największe zastosowanie znalazły metody mokre ze względu na łagodne warunki syntezy. Tradycyjnymi metodami mokrymi otrzymuje się proszki amorficzne, o małym stopniu krystaliczności lub nanometryczne. Stopień krystaliczności hydroksyapatytu można zwiększyć poprzez dodatkową obróbkę cieplną. Z zastosowaniem warunków hydrotermalnych można otrzymać proszki o dużym stopniu krystaliczności, głównie w formie wydłużonych walców. Klasycznymi metodami mokrymi, jak i hydrotermalnymi, można wprowadzać do struktury tak obce kationy, jak i aniony.

Literatura

- [1] Ślósarczyk A., *Bioceramika hydroksyapatytowa*, Biuletyn Ceramiczny 13, Ceramika 51, Polskie Towarzystwo Ceramiczne, Kraków 1997.
- [2] Rhee S.H., *Synthesis of hydroxyapatite via mechanochemical treatment*, Biomaterials 23, 2002, 1147-1152.
- [3] Haberko K., Bućko M.M., Brzezińska-Miecznik J., Haberko M., Mozgawa W., Panz T., Pyda A., Zarębski J., *Natura hydroxyapatite – its behaviour during heat treatment*, Journal of the European Ceramic Society 2006, 26, 537-542.
- [4] Ooi C.Y., Hamdi M., Ramesh S., *Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone*, Ceramics International, 2007, 33, 1171-1177.
- [5] Kowalski Z., Wzorek Z., Krupa-Żuczek K., Sobczak A., *Możliwości otrzymywania hydroksyapatytu poprzez kalcynację półproduktów kostnych z przemysłu mięsnego*, Inżynieria Stomatologiczna Biomateriały, 2007, 4.
- [6] Mobasherpour I., Soulati Heshajin M., Kazemzadeh A., Zakeri M., *Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method*, Journal of Alloys and Compounds, 2007, 430, 330-333.
- [7] Yeong K.C.B., Wang J., Ng S.C., *Fabricating densified hydroxyapatite ceramics from a precipitated precursor*, Materials Letters, 1999, 38, 208-213.
- [8] Saeri M.R., Afshar A., Ghorbani M., Ehsani N., Sorrell C.C., *The wet precipitation process of hydroxyapatite*, Materials Letters, 2003, 57, 4064-4069.
- [9] Cao L., Zhang C., Huang J., *Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles in ultrasonic precipitation*, Ceramics International, 2005, 31, 1041-1044.
- [10] Kweha S.W.K., Khora K.A., Cheang P., *The production and characterization of hydroxyapatite (HA) powders*, Journal of Materials Processing Technology, 1999, 89, 90, 373-377.
- [11] Tian J., Tian J., *Preparation of porous hydroxyapatite*, Journal of Material Science, 2001, 36, 3061-3066.

- [12] Kothapalli C., Wei M., Vasiliev A., Shaw M.T., *Influence of temperature and concentration on the sintering behavior and mechanical properties of hydroxyapatite*, Acta Materialia, 2004, 52, 5655-5663.
- [13] Luo P., Nieh T.G., *Synthesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method*, Materials Science and Engineering C, 1995, 3, 75-78.
- [14] Ślósarczyk A., Paszkiewicz Z., Paluszkiewicz C., *FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods*, Journal of Molecular Structure, 2005, 744-747, 657-661.
- [15] Ruixue S., Musen L., Yupeng, Aijuan W., *Immersion behaviour of hydroxyapatite (HA) powders before and after sintering*, Materials Characterization, 2006, 56, 250-254.
- [16] Laghizila A., Elhercha N., Bouhaoussa A., Lorenteb G., Coradinb T., Livageb J., *Electrical behavior of hydroxyapatites $M_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ($M = Ca, Pb, Ba$)*, Materials Research Bulletin, 2001, 36, 953-962.
- [17] Święcicki Z., *Bioceramika dla ortopedii*, Instytut Podstawowych Problemów Techniki PAN, Wyd. Spółdzielcze Sp. z o.o., Warszawa 1992.
- [18] Li T., Takikawa K., Yoshizawa K., Sakatsume M., Aoki H., *Reaction of hydroxyapatite-sol In bone marrow*, Bio-Medical Materials and Engineering, 1995, 5, 83-92.
- [19] Yoshimura M., Sujaridworakun P., Koh F., Fujiwara T., Pongkao D., Ahniyaz A., *Hydrothermal conversion of calcite crystals to hydroxyapatite*, Materials Science and Engineering C, 2004, 24, 521-525.
- [20] Andres-Verges M., Fernandez-Gonzalez C., Martinem-Gallego M., *Hydrothermal synthesis of calcium deficient hydroxyapatites with controlled size and homogeneous morphology*, Journal of the European Ceramic Society, 1998, 18, 1245-1250.
- [21] Tang X.L., Xiao X.F., Liu R.F., *Structural characterization of silicon-substituted hydroxyapatite synthesized by a hydrothermal method*, Materials Letters, 2005, 59 3841-3846.
- [22] Guo X., Xiao P., *Effects of solvents on properties of nanocrystalline hydroxyapatite produced from hydrothermal process*, Journal of the European Ceramic Society, 2006, 26, 3383-3391.
- [23] Kongjun Z., Kazumichi Y., Rie S., Ayumu O., Koji K., *Preferential occupancy of metal ions in the hydroxyapatite solid solutions synthesized by hydrothermal method*, Journal of the European Ceramic Society, 2006, 26509-26513.