

Стабилизация аморфного фосфата кальция в структуре гидроксиапатита при жидкофазном синтезе

И.Е. Глазов, В.К. Крутько, О.Н. Мусская, А.И. Кулак

ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»

220072, Республика Беларусь, Минск, ул. Сурганова, 9/1

che.glazov@mail.ru

DOI: 10.26456/pcascnn/2024.16.815

Аннотация: Жидкофазным синтезом при pH 11 получен аморфизированный гидроксиапатит со стабилизированными включениями аморфного фосфата кальция. Надежными признаками присутствия аморфного фосфата кальция в структуре гидроксиапатита являются: 1) рефлекс α -трикальцийфосфата на дифрактограммах после 800°C ; 2) выраженный экзоэффект кристаллизации аморфной фазы при 600 – 850°C на термограммах. Кристаллизация аморфного фосфата кальция в α -трикальцийфосфат ингибирована влиянием межкластерной воды (0,5 молекул/кластер). В условиях жидкофазного синтеза, ключевым фактором стабилизации до 16% аморфных включений является высокое пересыщение реакционной среды, обеспечиваемое скоростью смешивания растворов реагентов $\sim 10^{-1}$ моль/с. Высокое пересыщение реакционной среды способствует формированию оболочки гидроксиапатита вокруг ядра аморфного фосфата кальция. Оболочка гидроксиапатита обуславливает устойчивость аморфной фазы к взаимодействию с ионами маточного раствора на протяжении 30 сут и затрудняет аллотропный переход ($\alpha \rightarrow \beta$)-трикальцийфосфат при 800°C .

Ключевые слова: аморфный фосфат кальция, жидкофазный синтез, гидроксиапатит, ядро – оболочка, двухфазные фосфаты кальция.

1. Введение

Перспективным классом биоматериалов для костной пластики являются резорбируемые композиты, которые с течением времени замещаются новообразованной костной тканью. Биоактивность таких материалов определяется балансом между скоростью их резорбции и скоростью образования новой костной ткани [1]. В качестве неорганической основы резорбируемых биоматериалов широко используют фосфаты кальция (ФК), такие как гидроксиапатит (ГА) и трикальцийфосфат (ТКФ), за счёт химического подобия минеральной составляющей костной ткани [2].

Значительный интерес вызывают многофазные композиты на основе ФК с высокой степенью биоактивности и регулируемой резорбируемостью, за счёт соотношения фаз с различной растворимостью [3]. Распространенным методом получения многофазных ФК является прогрев при $\sim 750^\circ\text{C}$ метастабильных низкотемпературных прекурсоров, например, кальцийдефицитного ГА с образованием композитов ГА / β -ТКФ [4] либо аморфного фосфата кальция (АФК) с образованием композитов α -ТКФ / β -ТКФ [5]. Многофазные композиты ФК также

получают методами твердофазного, гидротермального и золь-гель синтеза [6, 7].

Многофазные композиты ФК в большинстве случаев состоят из высокотемпературных фаз α/β -ТКФ, кристаллического ГА, оксиапатита, тетракальцийфосфата [7]. Композиты на основе низкотемпературных апатитов и АФК являются перспективными в качестве резорбируемых материалов, поскольку их синтез не требует больших энергетических затрат и позволяет формировать аморфные/аморфизированные продукты с высокой степенью биоактивности. Известно, что двухфазные композиты на основе кальцийдефицитного ГА и АФК могут быть получены в неравновесных условиях при малом времени созревания осадков под маточным раствором до 30 мин [8] либо в присутствии биополимеров [9]. Однако такие композиты являются неустойчивыми и при длительном нахождении под маточным раствором превращаются в медленно резорбируемый стехиометрический ГА. Поэтому целью данной работы являлось получение стабилизированных включений АФК в структуре ГА при жидкофазном синтезе и выявление факторов их стабилизации.

2. Экспериментальная часть

Синтез ФК осуществляли взаимодействием растворимых солей $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich) и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Carl Roth); величину pH регулировали добавлением 25% раствора аммиака (ч.д.а., База № 1 химреактивов, РФ).

1) Осадки АФК получали быстрым ($v_{mix} \sim 10^{-1}$ моль/с) взаимодействием реагентов при отношении $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{HPO}_4^{2-}]$, равном 1,50; pH 9, отделяли на фильтре, промывали дистиллированной водой до pH 7,0-7,5, обезвоживали этанолом и прогревом при 400°C.

2) Апатиты синтезировали взаимодействием реагентов при скорости v_{mix} от $\sim 10^{-5}$ моль/с (для ГА) до $\sim 10^{-1}$ моль/с (для ГА / АФК); отношении $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{HPO}_4^{2-}]$, равном 1,67; pH 11. Осадки, созревшие под маточным раствором в течение 4 сут, промывали декантацией дистиллированной водой до pH 7,0-7,5 и высушивали при 60°C.

3) Метастабильные прекурсоры ГА выделяли на начальных этапах формирования геля ГА без созревания под маточным раствором. Осадки отделяли на фильтре, промывали дистиллированной водой, обезвоживали этанолом и прогревом при 400°C.

Рентгенофазовый анализ (РФА) образцов осуществляли на дифрактометре ADVANCE D8 (Bruker, Германия) при $\lambda_{\text{CuK}\alpha}$ 0,15409 нм, обработку данных осуществляли с использованием программного обеспечения Profex 4.2 [10] и базы данных COD v.210114. Отношение

Ca/P и содержание АФК в апатитах рассчитывали по содержанию продуктов термической кристаллизации при 800°C [9].

Совмещенный термический анализатор STA 409 PC LUXX (Netzsch, Германия) применяли для проведения дифференциального термического анализа (ДТА) и дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) образцов на воздухе при скорости нагрева 10°C/мин. Уменьшение массы ФК, связанное с фазовыми превращениями при 550-1000°C, приводили для сухих остатков ($\Delta m_{dry}, \%$) и рассчитывали по формуле (1):

$$\Delta m_{dry} = \Delta m_2 / (100\% - \Delta m_1), \quad (1)$$

где Δm_1 и Δm_2 – изменение массы образца (%) в диапазоне температур 250-550°C и 550-1000°C, соответственно.

3. Результаты и обсуждение.

Взаимодействие Ca^{2+} , HPO_4^{2-} -содержащих реагентов в водных растворах с $pH > 9$ сопровождается образованием кластеров АФК формулой $Ca_n(PO_4)_6 \cdot nH_2O$, $n = 3,0-4,5$ с отношением Ca/P 1,50, кристаллизация которых затруднена влиянием межкластерной воды [11]. Молекулы воды могут оказывать стабилизирующее либо дестабилизирующее влияние на АФК, поскольку в присутствии адсорбированной воды ускоряется превращение аморфной фазы в апатит. Поэтому выделение АФК осуществляли в условиях быстрой дегидратации осадков.

На дифрактограммах АФК после 400°C (см. рис. 1 а) представлено широкое рентгеноаморфное гало при 2θ 20-36°. После прогрева при 650°C АФК ($\Delta_f H^0 = -4065$ кДж/моль [12]) кристаллизуется в метастабильный при данной температуре α -ТКФ $Ca_3(PO_4)_2$ ($\Delta_f H^0 = -4113$ кДж/моль), вследствие удаления межкластерной воды, а при 800°C α -ТКФ превращается в термодинамически устойчивую β -модификацию ($\Delta_f H^0 = -4121$ кДж/моль). В α -ТКФ при температурах ниже 1200°C может превращаться только АФК, поэтому образование α -ТКФ при 800°C свидетельствует о присутствии АФК в многофазных ФК.

Созревание осадков АФК под маточным раствором сопровождается кристаллизацией апатитного ТКФ $Ca_9H(PO_4)_6OH$ ($\Delta_f H^0 = -12708$ кДж/моль [13]) с последующим превращением в кальцийдефицитные апатиты $Ca_{10-x}H_x(PO_4)_6(OH)_{2-x}$, $0 < x < 1$ до формирования стехиометрического ГА $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ($\Delta_f H^0 = -13477$ кДж/моль).

Метастабильные прекурсоры ГА выделяли без созревания осадков под маточным раствором и в условиях тщательной дегидратации. Дифрактограмма прекурсора ГА после 400°C (см. рис. 1 б, кривая 1)

представлена уширенными рефлексами апатита (2θ 25,8°; 31,8°; 32,8°; 34,0°; 39,8°) с расчетным размером кристаллитов 13 нм, который после прогрева при 800°С кристаллизуется в β -ТКФ с Ca/P 1,50.

Продолжительное созревание осадков под маточным раствором (4 сут при pH 11) позволяет формировать стехиометрический ГА (Ca/P 1,67). Дифрактограмма ГА со временем созревания 4 сут после 60°С (см. рис. 1 б, кривая 2) содержит уширенные рефлексы апатита, который характеризуется размером кристаллитов 15 нм, а после прогрева при 800°С – 35 нм.

Скорость взаимодействия реагентов является важным параметром, определяющим полноту превращения метастабильных ФК в ГА. Формирование осадков ФК из пересыщенных растворов происходит быстро [14], а диффузия стимулирована перемешиванием, соответственно, скорость взаимодействия реагентов лимитирована скоростью добавления раствора HPO_4^{2-} -ионов к раствору Ca^{2+} -ионов, обозначенной v_{mix} (моль/с).

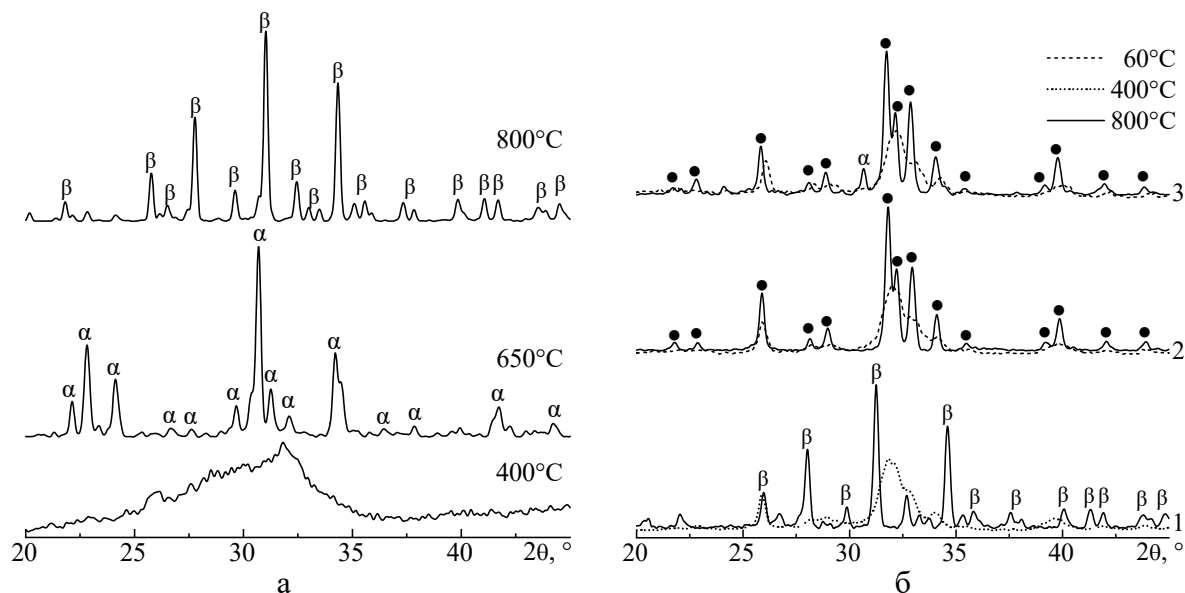


Рис. 1. Дифрактограммы после прогрева при различных температурах АФК (а) и апатитов (б): 1 – прекурсоры ГА (созревание 0 сут); 2 – ГА (созревание 4 сут); 3 – ГА / АФК (созревание 4 сут). α / β – модификации ТКФ; ● – ГА.

Формирование стехиометрического ГА (см. рис. 1 б, кривая 2) достигнуто в условиях взаимодействия реагентов при $v_{mix} \sim 10^{-5}$ моль/с. Высокое значение $v_{mix} \sim 10^{-1}$ моль/с способствует формированию апатита с размером кристаллитов 14 нм (ГА / АФК), дифрактограмма которого после 60°С (см. рис. 1 б, кривая 3) практически не отличается от ГА. Прогрев ГА / АФК при 800°С сопровождается кристаллизацией в 83% ГА / 17% α -ТКФ с Ca/P 1,63. Состав продуктов термической кристаллизации и отношение Ca/P образцов ГА / АФК сохраняется после длительного

созревания осадков (до 30 сут), что свидетельствует об их устойчивости при хранении под маточным раствором с pH 11.

Образование фазы α -ТКФ в структуре ГА после прогрева при 800°C упоминается в работах [15, 16], однако механизм формирования недостаточно изучен. Как показано ранее, α -ТКФ образуется из АФК при 650°C , однако при 800°C α -ТКФ превращается в β -ТКФ. Предположительно, апатитная структура обеспечивает отвод теплоты от включений АФК, поэтому продуктом кристаллизации при 800°C является именно α -ТКФ. Утверждение согласуется с работой [15], согласно которой увеличение содержания апатита в композитах ГА / α -ТКФ способствует повышению температуры полиморфного перехода ($\alpha \rightarrow \beta$)-ТКФ.

Образование α -ТКФ в составе ГА / АФК после 800°C соответствует присутствию 16% включений АФК в апатитной структуре до прогрева. Устойчивость включений АФК при длительном созревании под маточным раствором с pH 11 может быть связана со стабилизирующим влиянием структуры ГА, экранирующей АФК от взаимодействия с маточным раствором. Стабилизирующее влияние апатита свидетельствует о неоднозначности взаимодействия ГА с АФК, так как кристаллизация АФК в апатит ускоряется в присутствии апатитных зародышей [11].

Формирование ГА без включений АФК с высокой вероятностью достигается при v_{mix} ниже условно порогового значения $1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/с. Выше данного значения формируются устойчивые двухфазные 84-94% ГА / 6-16% АФК с отношением Ca/P 1,63-1,65, которые при 800°C кристаллизуется в 83-93% ГА / 7-17% α -ТКФ. Варьирование содержания включений АФК от 6 до 16% не коррелирует с варьированием скорости взаимодействия реагентов от $1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/с до 10^{-1} моль/с, что может быть обусловлено одновременным влиянием нескольких факторов на зародышеобразование ФК в условиях жидкофазного синтеза [17].

Предположительно, неравновесные условия формирования прекурсоров ГА способствуют стабилизации АФК в структуре апатита, однако на дифрактограмме образца после 800°C (см. рис. 1 б, кривые 1) не визуализируется α -ТКФ. По-видимому, апатитный ТКФ не обеспечивает стабилизацию α -ТКФ при 800°C , поскольку переходит в β -ТКФ. Поэтому образцы апатитов дополнительно исследовали термическим анализом, позволяющим идентифицировать АФК в многофазных композитах [18].

Термограмма АФК (см. рис. 2 а) содержит эндоэффект дегидратации с минимумом на кривой ДТГ при 77°C и широкий экзоэффект при 150 - 550°C структурных превращений – релаксации напряжений [19] и изменения теплопроводности [20]. Структурные превращения не

сопровождаются значительным изменением массы, что отличает их от дегидратации и фазовых превращений. Уменьшение массы АФК при 25-550°C достигает 5,8% и обусловлено удалением адсорбированной воды. В диапазоне температур при 600-1000°C на термограмме АФК представлен интенсивный экзоэффект кристаллизации аморфной фазы в α -ТКФ. Данный экзоэффект сопровождается выраженным минимумом на кривой ДТГ при 663°C, который сопровождается уменьшением массы сухого остатка до 1,0% за счёт удаления межкластерной воды. Экспериментально определенное уменьшение массы на 1,0% соответствует значению $n = 0,5$ для АФК формулой $Ca_9(PO_4)_6 \cdot nH_2O$, что меньше теоретического значения $n = 3,0-4,5$ [11]. Предположительно, экспериментально определенная величина соответствует минимальному запасу межкластерной воды, способному ингибировать превращение кластеров АФК в α -ТКФ.

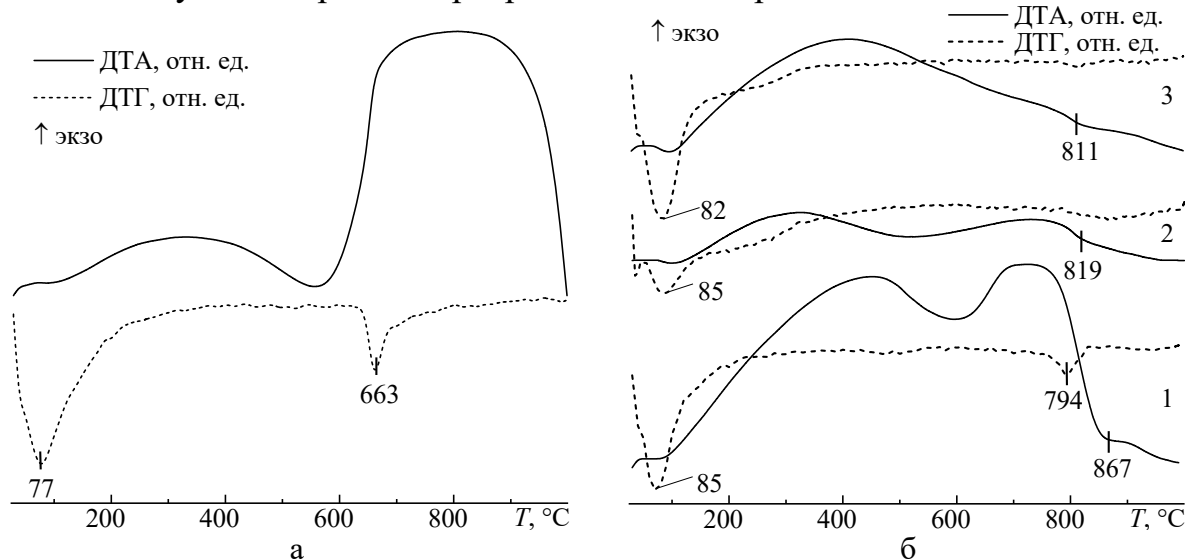


Рис. 2. Термограммы АФК после прогрева при 400°C (а) и апатитов (б): 1 – прекурсоры ГА (созревание 0 сут) после 400°C; 2 – ГА (созревание 4 сут) после 60°C; 3 – ГА / АФК (созревание 4 сут) после 60°C

Термограмма прекурсоров ГА, выделенных без созревания (см. рис. 2 б, кривая 1) содержит эндоэффект дегидратации с выраженным минимумом на кривой ДТГ при 85°C и широкий экзоэффект структурных превращений в диапазоне температур при 190-600°C; уменьшение массы достигает 5,1% за счёт дегидратации кальцийдефицитного апатита и АФК. Экзоэффект при 600-850°C свидетельствует о кристаллизации АФК в α -ТКФ, а последующий эндоэффект при 867°C – о превращении апатитного ТКФ в β -ТКФ [21]. Эндоэффект разложения апатитного ТКФ сопровождается выраженным минимумом при 794°C на кривой ДТГ в отличие от выраженного минимума при 663°C, сопровождающего экзоэффект кристаллизации индивидуального АФК (см. рис. 2 а). Уменьшение массы сухого остатка при 550-1000°C составляет 1,0% и

обусловлено разложением апатитного ТКФ в β -ТКФ.

Кривая ДТА для ГА после созревания в течение 4 сут (см. рис. 2 б, кривая 2) характеризуется присутствием эндоэффекта дегидратации при 85°C. Уменьшение массы ГА при 20-550°C достигает 7,3% и обусловлено удалением адсорбционной и кристаллогидратной воды. Широкий экзоэффект при 200-500°C соответствует структурным превращениям, а эндоэффект при 819°C – удалению CO_3^{2-} -ионов из структуры ГА. Уменьшение массы сухого остатка ГА при 500-1000°C достигает 1,2% и обусловлено преимущественно декарбонизацией [8].

На термограмме ГА / АФК (см. рис. 2 б, кривая 3) представлен эндоэффект дегидратации с минимумом на кривой ДТГ при 82°C и широкий экзоэффект структурных превращений при 180-700°C; уменьшение массы при 20-550°C (6,1%) обусловлено дегидратацией. На термограмме ГА / АФК в области фазовых превращений содержится малоинтенсивный эндоэффект декарбонизации при 811°C, а экзоэффект кристаллизации АФК не наблюдается из-за его малого содержания. В диапазоне температур 550-1000°C на кривой ДТГ отсутствуют выраженные минимумы кристаллизации АФК, поэтому уменьшение массы 0,2% обусловлено декарбонизацией.

Установлено, что при переходе от прекурсора ГА (апатитный ТКФ / АФК), выделенного без созревания (см. рис. 2 б, кривая 1), к образцу 84% ГА / 16% АФК, выделенному после созревания 4 сут (см. рис. 2 б, кривая 3), уменьшается интенсивность экзоэффекта кристаллизации АФК, что свидетельствует о повышенном содержании аморфной фазы в апатитах с малым временем созревания.

Интенсивный экзоэффект при 600-850°C являются надежным маркером присутствия включений АФК в структуре кальцийдефицитных апатитов, на дифрактограммах которых после 800°C не визуализируется α -ТКФ. В случае ГА с малым содержанием аморфной фазы (до 16%) данные экзоэффекты не визуализируются на термограммах из-за перекрывания с эндоэффектами декарбонизации.

На основании полученных данных предложен механизм стабилизации АФК в структуре ГА при жидкофазном синтезе, основанный на формировании агрегатов «оболочка ГА – ядро АФК» (см. рис. 3). Ключевым фактором стабилизации АФК является скорость взаимодействия реагентов, которая определяет степень пересыщения реакционной среды по отношению к Ca^{2+} , HPO_4^{2-} -ионам [22].

Высокая степень пересыщения при $v_{mix} 10^{-1}$ моль/с способствует формированию большого числа мелких частиц АФК, которые формируют крупные агрегаты с меньшей удельной площадью поверхности по сравнению с агрегатами, формируемыми при 10^{-5} моль/с (см. рис. 3, I) [23].

Кристаллизация АФК в апатит распространяется от поверхности в объем агрегатов с промежуточным образованием апатитной оболочки вокруг аморфных включений (см. рис. 3, II).

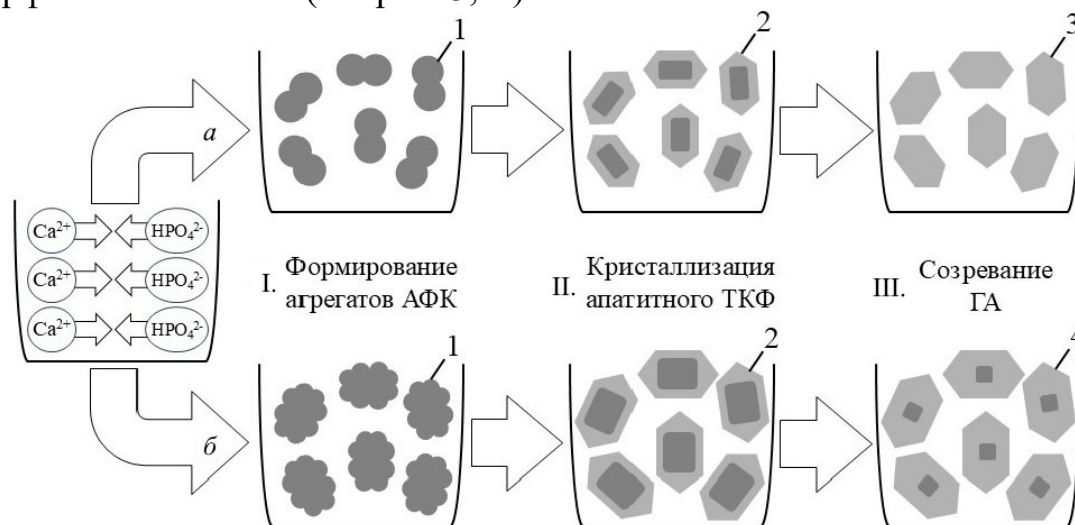


Рис. 3. Схема формирования апатитов при $v_{\text{mix}} \sim 10^{-5}$ моль/с (а) и 10^{-1} моль/с (б): 1 – АФК; 2 – апатитный ТКФ / АФК; 3 – ГА; 4 – ГА / АФК.

В случае крупных агрегатов апатитная оболочка достигает необходимой толщины для ограничения диффузии ионов реакционной среды в объём агрегатов и стабилизации АФК (см. рис. 3, III). Формирование апатитной оболочки согласуется с экспериментальными данными о присутствии α -ТКФ в составе ГА / АФК после прогрева при 800°C .

4. Заключение

Жидкофазным осаждением при pH 11 получены стабилизированные включения аморфного фосфата кальция в структуре гидроксиапатита. Кристаллизация аморфного фосфата кальция в α -трикальцийфосфат ингибирована влиянием межкластерной воды – 0,5 молекул на кластер. Ключевым фактором стабилизации до 16% аморфных включений при жидкофазном осаждении является высокое пересыщение реакционной среды за счет скорости смешивания растворов реагентов ($\sim 10^{-1}$ моль/с). Предложен механизм стабилизации аморфного фосфата кальция в структуре гидроксиапатита, основанный на формировании агрегатов со структурой «апатитная оболочка – аморфное ядро». Наличие оболочки гидроксиапатита обуславливает устойчивость аморфной фазы к взаимодействию с ионами маточного раствора и ограничивает аллотропный переход ($\alpha \rightarrow \beta$)-трикальцийфосфат при 800°C .

Работа выполнена при финансовой поддержке ГНПИ «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биооргхимия» по заданию 2.1.04.7 на 2021-2025 годы и гранта ГКНТ Х22КИТГ-010 на 2022–2024 г.

Библиографический список:

1. **Schilling, A.F.** Resorbability of bone substitute biomaterials by human osteoclasts / A.F. Schilling, W. Linhart, S. Filke et al. // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25. – I. 18. – P. 3963-3972. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.079.
2. **Dorozhkin, S.V.** Calcium orthophosphates (CaPO₄): occurrence and properties / S.V. Dorozhkin // *Progress in Biomaterials*. – 2016. – V. 5. – I. 1. – P. 9-70. DOI: 10.1007/s40204-015-0045-z.
3. **Kickelbick, G.** Hybrid materials—past, present and future / G. Kickelbick // *Hybrid Materials*. – 2014. – V. 1. – I. 1. – P. 39-51. DOI: 10.34657/541.
4. **LeGeros, R.Z.** Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications / R.Z. LeGeros, S. Lin, R. Rohanizadeh, D. Mijares et al. // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2003. – V. 14. – I. 3. – P. 201-209. DOI: 10.1023/A:1022872421333.
5. **Li, Y.** Novel highly biodegradable biphasic tricalcium phosphates composed of α -tricalcium phosphate and β -tricalcium phosphate / Y. Li, W. Weng, K.C. Tam // *Acta Biomaterialia*. – 2007. – V. 3. – I. 2. – P. 251-254. DOI: 10.1016/j.actbio.2006.07.003.
6. **Yang, X.** Synthesis of biphasic ceramics of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate with controlled phase content and porosity / X. Yang, Z. Wang // *Journal of Materials Chemistry*, – 1998. – V. 8. – I. 10. – P. 2233-2237. DOI: 10.1039/A802067A.
7. **Dorozhkin, S.V.** Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO₄) bioceramics and their biomedical applications / S.V. Dorozhkin // *Ceramics International*. – 2016. – V. 42. – I. 6. – P. 6529-6554. DOI: 10.1016/j.ceramint.2016.01.062.
8. **Глазов, И.Е.** Апатитные фосфаты кальция: жидкофазное формирование, термические превращения, терминология и идентификация / И.Е. Глазов, В.К. Крутько, О.Н. Мусская, А.И. Кулак // *Журнал неорганической химии*. – 2022. – Т. 67. – № 2. – С. 193-202. DOI: 10.31857/S0044457X22020040.
9. **Glazov, I.E.** Formation of hydroxyapatite-based hybrid materials in the presence of platelet-poor plasma additive / I.E. Glazov, V.K. Krut'ko, T.V. Safronova et al. // *Biomimetics*. – 2023. – V. 8. – I. 3. – Art. № 297. – 12 p. DOI: 10.3390/biomimetics8030297.
10. **Doebelin, N.** Profex: a graphical user interface for the Rietveld refinement program BGMN / N. Doebelin, R. Kleeberg // *Journal of Applied Crystallography*. – 2015. – V. 48. – I. 5. – P. 1573-1580. DOI: 10.1107/S1600576715014685.
11. **Combes, C.** Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials / C. Combes, C.C. Rey // *Acta Biomaterialia*. – 2010. – V. 6. – I. 9. – P. 3362-3378. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.02.017.
12. **Hurle, K.** Calorimetry investigations of milled α -tricalcium phosphate powders to determine the formation enthalpies of α -TCP and X-ray amorphous tricalcium phosphate / K. Hurle, J. Neubauer, M. Bohner et al. // *Acta Biomaterialia*. – 2015. – V. 23. – P. 338-346. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.05.026.
13. **Martin, R.I.** Aqueous formation of hydroxyapatite / R.I. Martin, P.W. Brown // *Journal of Biomedical Materials Research* – 1997. – V. 35. – I. 3. – P. 299-308. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4636(19970605)35:3<299::AID-JBM4>3.0.CO;2-C.
14. **Montes-Hernandez, G.** Nucleation of brushite and hydroxyapatite from amorphous calcium phosphate phases revealed by dynamic in situ Raman spectroscopy / G. Montes-Hernandez, F. Renard // *Journal of Physical Chemistry C*. – 2020. – V. 124. – I. 28. – P. 15302-15311. DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c04028.
15. **Huang, Y.** Phase transition from α -TCP into β -TCP in TCP/HA composites / Y. Huang, W. Huang, L. Sun et al. // *International Journal of Applied Ceramic Technology* – 2010. – V. 7. – I. 2. – P. 184-188. DOI: 10.1111/j.1744-7402.2009.02384.x.
16. **Vani, R.** Hydrothermal synthesis of porous triphasic hydroxyapatite/(α and β) tricalcium phosphate / R. Vani, E.K. Girija, K. Elayaraja et al. // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* – 2009. – V. 20. – P. 43-48. DOI: 10.1007/s10856-008-3480-8.
17. **Maggioni, G.M.** Modelling the stochastic behaviour of primary nucleation / G.M. Maggioni, M. Mazzotti // *Faraday Discussions*. – 2015. – V. 179. – P. 359-382. DOI: 10.1039/C4FD00255E.
18. **Zhang, H.** Characterization and thermal behavior of calcium deficient hydroxyapatite whiskers with various Ca/P ratios / H. Zhang, M. Zhang // *Materials Chemistry Physics* – 2011. – V. 126. – I. 3. – P. 642-648. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2010.12.067.
19. **Gross, K.A.** Thermal analysis of amorphous phases in hydroxyapatite coatings / K.A. Gross, V. Gross, C.C. Berndt // *Journal of American Ceramic Society*. – 1998. – V. 81. – I. 1. – P. 106-112. DOI: 10.1111/j.1151-2916.1998.tb02301.x.
20. **Locardi, B.** Thermal behaviour of hydroxyapatite intended for medical applications / B. Locardi, U.E. Pazzaglia, C. Gabbi et al. // *Biomaterials*. – 1993. – V. 14. – I. 6. – P. 437-441. DOI: 10.1016/0142-9612(93)90146-S.

21. **Destainville, A.** Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate / A. Destainville, E. Champion, D. Bernache-Assollant et al. // *Materials Chemistry and Physics*. – 2003. – V. 80. – I. 1. – P. 269-277. DOI: 10.1016/S0254-0584(02)00466-2.
22. **Addai-Mensah, J.** Aggregation behaviour of gibbsite crystals in supersaturated sodium and potassium aluminate liquors / J. Addai-Mensah, J. Li, C.A. Prestidge // *Developments in Chemical Engineering and Mineral Processing*. – 2002. – V. 10. – I. 5-6. – P. 539-551. DOI: 10.1002/apj.5500100607.
23. **Jiang, S.** Effect of the aggregation state of amorphous calcium phosphate on hydroxyapatite nucleation kinetics / S. Jiang, W. Jin, Y.N. Wang et al. // *RSC Advances*. – 2017. – V. 7. – I. 41. – P. 25497-25503. DOI: 10.1039/C7RA02208E.

References:

1. Schilling A.F., Linhart W., Filke S. et al. Resorbability of bone substitute biomaterials by human osteoclasts, *Biomaterials*, 2004, vol. 25, issue 18, pp. 3963-3972. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.079.
2. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates (CaPO₄): occurrence and properties, *Progress in Biomaterials*, 2016, vol. 5, issue 1, pp. 9-70. DOI: 10.1007/s40204-015-0045-z.
3. Kickelbick G. Hybrid materials—past, present and future, *Hybrid materials*, 2014, vol. 1, issue 1, pp. 39-51. DOI: 10.34657/541.
4. LeGeros R.Z., Lin S., Rohanizadeh R., Mijares D. et al. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications, *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 2003, vol. 14, issue 3, pp. 201-209. DOI: 10.1023/A:1022872421333.
5. Li Y., Weng W., Tam K.C. Novel highly biodegradable biphasic tricalcium phosphates composed of α -tricalcium phosphate and β -tricalcium phosphate, *Acta Biomaterialia*, 2007, vol. 3, issue 2, pp. 251-254. DOI: 10.1016/j.actbio.2006.07.003.
6. Yang, X., Wang Z. Synthesis of biphasic ceramics of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate with controlled phase content and porosity, *Journal of Materials Chemistry*, 1998, vol. 8, issue 10, pp. 2233–2237. DOI: 10.1039/A802067A.
7. Dorozhkin S.V. Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO₄) bioceramics and their biomedical applications, *Ceramics International*, 2016, vol. 42, issue 6, pp. 6529-6554. DOI: 10.1016/j.ceramint.2016.01.062.
8. Glazov I.E., Krut'ko V.K., Musskaya O.N., Kulak A.I. Calcium phosphate apatites: wet formation, thermal transformations, terminology, and identification, *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, 2022, vol. 67, issue 2, pp. 173-182. DOI: 10.1134/S0036023622020048.
9. Glazov I.E., Krut'ko V.K., Safronova T.V. et al. Formation of hydroxyapatite-based hybrid materials in the presence of platelet-poor plasma additive, *Biomimetics*, 2023, vol. 8, issue 3, art. no. 297, 12 p. DOI: 10.3390/biomimetics8030297.
10. Doebelin N., Kleeberg R. Profex: a graphical user interface for the Rietveld refinement program BGMN, *Journal of Applied Crystallography*, 2015, vol. 48, issue 5, pp. 1573-1580. DOI: 10.1107/S1600576715014685.
11. Combes C., Rey C.C. Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials, *Acta Biomaterialia*, 2010, vol. 6, issue 9, pp. 3362-3378. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.02.017.
12. Hurler K., Neubauer J., Bohner M. et al. Calorimetry investigations of milled α -tricalcium phosphate powders to determine the formation enthalpies of α -TCP and X-ray amorphous tricalcium phosphate, *Acta Biomaterialia*, 2015, vol. 23, pp. 338-346. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.05.026.
13. Martin R.I., Brown P.W. Aqueous formation of hydroxyapatite, *Journal of Biomedical Materials Research*, 1997, vol. 35, issue 3, pp. 299-308. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4636(19970605)35:3<299::AID-JBM4>3.0.CO;2-C.
14. Montes-Hernandez G., Renard F. Nucleation of brushite and hydroxyapatite from amorphous calcium phosphate phases revealed by dynamic *in situ* Raman spectroscopy, *Journal of Physical Chemistry C*, 2020, vol. 124, issue 28, pp. 15302-15311. DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c04028.
15. Huang Y., Huang W., Sun L. et al. Phase transition from α -TCP into β -TCP in TCP/HA composites, *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 2010, vol. 7, issue 2, pp. 184-188. DOI: 10.1111/j.1744-7402.2009.02384.x.
16. Vani R., Girija E.K., Elayaraja K. et al., Hydrothermal synthesis of porous triphasic hydroxyapatite/(α and β) tricalcium phosphate, *Journal of material science: Materials in Medicine*, 2009, vol. 20, pp. 43-48. DOI: 10.1007/s10856-008-3480-8.
17. Maggioni G.M., Mazzotti M. Modelling the stochastic behaviour of primary nucleation, *Faraday Discussions*, 2015, vol. 179, pp. 359-382. DOI: 10.1039/C4FD00255E.
18. Zhang H., Zhang M. Characterization and thermal behavior of calcium deficient hydroxyapatite whiskers with various Ca/P ratios, *Materials Chemistry and Physics*, 2011, vol. 126, issue 3, P. 642-648. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2010.12.067.

19. Gross K.A., Gross V., Berndt C.C. Thermal analysis of amorphous phases in hydroxyapatite coatings, *Journal of American Ceramic Society*, 1998, vol. 81, no. 1, pp. 106-112. DOI: 10.1111/j.1151-2916.1998.tb02301.x.
20. Locardi B., Pazzaglia U.E., Gabbi C. et al. Thermal behaviour of hydroxyapatite intended for medical applications, *Biomaterials*, 1993, vol. 14, issue 6, pp. 437-441. DOI: 10.1016/0142-9612(93)90146-S.
21. Destainville A., Champion E., Bernache-Assollant D., Laborde E. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate, *Materials Chemistry and Physics*, 2003, vol. 80, issue 1, pp. 269-277. DOI: 10.1016/S0254-0584(02)00466-2.
22. Addai-Mensah J., Li J., Prestidge C.A. Aggregation behaviour of gibbsite crystals in supersaturated sodium and potassium aluminate liquors, *Developments in Chemical Engineering and Mineral Processing*, 2002, vol. 10, issue 5-6, pp. 539-551. DOI: 10.1002/apj.5500100607.
23. Jiang S., Jin W., Wang Y.N. et al. Effect of the aggregation state of amorphous calcium phosphate on hydroxyapatite nucleation kinetics, *RSC Advances*, 2017, vol. 7, issue 41, pp. 25497-25503. DOI: 10.1039/C7RA02208E.

Original paper

Stabilization of amorphous calcium phosphate in the structure of hydroxyapatite during liquid-phase synthesis

I.E. Glazov, V.K. Krut'ko, O.N. Musskaya, A.I. Kulak

The Institute of General and Inorganic Chemistry of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

DOI: 10.26456/pcascnn/2024.16.815

Abstract: Amorphized hydroxyapatite with stabilized inclusions of amorphous calcium phosphate was obtained by a wet synthesis at *pH* 11. Reliable indicators of the presence of amorphous calcium phosphate in the hydroxyapatite structure includes: 1) peaks of α -tricalcium phosphate in the X-Ray Diffraction patterns after 800°C; 2) a pronounced exoeffect of crystallization of the amorphous phase at 600-850°C in the thermograms. Crystallization of amorphous calcium phosphate into α -tricalcium phosphate is inhibited by the effect of intercluster water (0,5 molecules per cluster). Under wet synthesis conditions, the key factor in stabilizing up to 16% of amorphous inclusions is a high supersaturation of the reaction medium, ensured by the mixing rate of reagent solutions of $\sim 10^{-1}$ mol/s. The high supersaturation of the reaction medium promotes the formation of a hydroxyapatite shell around the core of amorphous calcium phosphate. The hydroxyapatite shell provides stabilization of the amorphous phase toward interaction with the mother solution for 30 days and inhibits the allotropic ($\alpha \rightarrow \beta$)-tricalcium phosphate transition at 800°C.

Keywords: *amorphous calcium phosphate, wet synthesis, hydroxyapatite, core-shell, biphasic calcium phosphates.*

Глазов Илья Евгеньевич – к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории фотохимии и электрохимии ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»

Крутько Валентина Константиновна – к.х.н., доцент, заведующий лабораторией фотохимии и электрохимии ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»

Мусская Ольга Николаевна – к.х.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории фотохимии и электрохимии ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»

Кулак Анатолий Иосифович – академик НАН Беларуси, д.х.н., профессор, директор ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»

Ilya E. Glazov – Ph. D., Senior Researcher, Laboratory of Photochemistry and Electrochemistry, Institute of General and Inorganic Chemistry of the NAS of Belarus

Valentina K. Krut'ko – Ph. D., Assistant Professor, Head of the Laboratory of Photochemistry and Electrochemistry, Institute of General and Inorganic Chemistry of the NAS of Belarus

Olga N. Musskaya – Ph. D., Assistant Professor, Leading Researcher, Laboratory of Photochemistry and Electrochemistry, Institute of General and Inorganic Chemistry of the NAS of Belarus

Anatoly I. Kulak – Academician, D. Sc., Professor, Director of the Institute of General and Inorganic Chemistry of the NAS of Belarus

Поступила в редакцию/received: 30.08.2024; после рецензирования/ revised: 04.10.2024; принята/accepted 09.10.2024.