

А.П. Головань, Н.В. Борисенко, Т.В. Крупская, В.В. Туров

ВЛИЯНИЕ РАСТВОРОВ ХЛОРИСТОВОДОРОДНОЙ КИСЛОТЫ НА РАЗМЕР КРИСТАЛЛИТОВ ГИДРОКСИАПАТИТА В ПОРОШКАХ И ИХ КОМПОЗИТАХ С ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Институт химии поверхности им. А.А. Чуйка Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, E-mail: alyusik2001@ukr.net

Современная медицина (стоматология, ортопедия, травматология) требует создания новых композиционных материалов, похожих по структуре, химическому составу и свойствам на естественную костную ткань с улучшенными характеристиками, такими как биоактивность и биосовместимость. Перспективным направлением является применение композиционных материалов на основе гидроксиапатита (ГАП) и биополимеров, в частности белков и углеводов (гиалуроновая кислота ГК). Исследования композиционной биоресорбции *in vitro* с использованием растворенных образцов ГАП в буфере гидрохлоридной кислоты и в изотоническом растворе показали, что повышенная растворимость наноструктурированных ГАП-порошков позволяет предсказать их высокую биологическую активность. Одним из способов регулирования размера частиц ГАП в биополимерной матрице может быть ее удерживание в кислом растворе (рН~5). Целью этой работы является изучение процессов влияния кислой среды (раствора гидрохлоридной кислоты) на размер кристаллов ГАП и возможность ее агрегации с образованием сложных наноструктурированных агрегатов. Гидроксиапатит был получен путем «мокрого» синтеза. Композит на основе гидроксиапатита и гиалуроновой кислоты (ГАП / ГК) был создан с использованием пропитки синтезированного порошка ГАП биополимерным раствором. Методом низкотемпературной ¹H ЯМР-спектроскопии исследован процесс влияния кислых сред (раствора гидрохлоридной кислоты) на размер кристаллов гидроксиапатита и возможность его агрегации с образованием сложных наноагрегатов. Идентификация состава ГАП-порошков до и после обработки гидрохлоридной кислотой подтверждена с использованием рентгеновской и ИК-спектроскопии. Размер кристаллитов в порошках уменьшается (величина удельной поверхности растет), взаимодействуя с гидрохлоридной кислотой. Установлено, что в композитной системе ГАП/ГК влияние раствора кислоты на размер кристаллитов минимальный. Вероятно, это обусловлено формированием стабильных кластеров адсорбированной воды, которые плохо растворяют кислоту. Данный эффект может быть использован для создания биосовместимых композитов, стабильных в кислой среде.

Ключевые слова: гидроксиапатит, гиалуроновая кислота, хлористоводородная кислота, композит

Современная медицина (стоматология, ортопедия, травматология) требует создания новых композитных материалов, близких по строению, химическому составу и свойствам к натуральной ткани. Для улучшения таких характеристик как биоактивность и биосовместимость, необходимо, чтобы состав и структура композита максимально соответствовали натуральной костной ткани. Перспективным направлением является использование композитных материалов на основе гидроксиапатита (ГАП) и биополимеров, в частности, белков [1] и углеводов (гиалуроновая кислота [2]). Известно, что размер кристаллов ГАП в натуральной костной ткани составляет

7×20 нм [3]. В предыдущих работах авторы пытались получить наноразмерный гидроксиапатит путем биомиметического осаждения кристаллов на поверхности биополимерной матрицы [4] и показали, что размеры полученных кристаллов были несколько большими и составляли 15–50 нм.

Исследования *in vitro* процесса биорезорбции композита путем растворения образцов ГАП в солянокислом буфере и изотоническом растворе [5] показали, что повышенная растворимость наноструктурированных порошков ГАП позволяет прогнозировать их высокую биоактивность. Известно, что ГАП растворяется полностью при рН = 4 в течение нескольких дней [6], а

при pH=2.2 (среда солянокислого буфера) – в течение минуты [5]. Одним из способов регулирования размера частиц ГАП в биополимерной матрице может стать выдерживание его в кислом растворе (pH~5). Поэтому целью работы было изучение влияния кислой среды (раствор хлористоводородной кислоты) на размер кристаллов ГАП и возможность его агрегирования с образованием сложных наноструктурированных агломератов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез образцов. Гидроксипатит получали путем «мокрого» синтеза – осаждением из водных растворов солей $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, взятых в соответствующем стехиометрическом соотношении. Щелочная среда (величина pH колебалась в области 11–12) создавалась 25 % водным раствором NH_4OH , согласно методике, описанной в [7]. Композит на основе гидроксипатита и гиалуроновой кислоты (ГАП/ГК) создавали путем пропитки синтезированного порошка ГАП раствором биополимера. Исследовались 5 образцов порошка ГАП по 0.4 г (образцы 1–5) и 2 образца композита ГАП/ГК по 0.4 г (образцы 6, 7). К порошкам ГАП и ГАП/ГК добавляли по 40 мл изотонического раствора (0.9 % раствор NaCl), что давало возможность моделировать среду тканевой жидкости человека. Потом к каждому образцу (кроме контрольных – образцы 5 и 7) добавляли определенное количество 0.1 М раствора HCl : в образец 1 – 1 мл; в образец 2 – 2 мл; в образец 3 – 3 мл; в образец 4 и 6 – 4 мл, соответственно. Образцы выдерживались в термостате при 37 °С, при периодическом перемешивании (2–3 раза в сутки). Процесс резорбции порошков длится 5 суток. Количество ионов кальция Ca^{2+} , которые перешли в раствор, определялось комплексонометрическим титрованием трилоном Б с использованием индикатора Эриохром черный Т по методике [8].

Спектры ЯМР снимали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения (Varian “Mercury”) с рабочей частотой 400 МГц. Использовали восемь 60° зондирующих импульсов, длительностью 1 мкс при ширине полосы 20 кГц. Температура в датчике регулировалась термоприставкой Bruker VT-1000

с точностью ± 1 град. Интенсивности сигналов определялись путем измерения площади пиков с использованием процедуры разложения сигнала на его составляющие в предположении гауссовской формы сигнала и оптимизации нулевой линии и фазы с точностью, которая для хорошо разрешенных сигналов была не ниже 5 %, а для перекрывающихся сигналов ± 10 %. Для предотвращения переохлаждения воды в исследуемых объектах, измерения концентрации незамерзающей воды проводили при нагревании образцов, предварительно охлажденных до температуры 210 К. Температурные зависимости интенсивности сигналов ЯМР проводили в автоматизированном цикле, когда время выдерживания образца при постоянной температуре составляло 9 мин, а время измерения 1 мин.

В качестве основного параметра, определяющего структуру сетки водородных связей воды, использовалась величина химического сдвига протонов (δ_{H}). Предполагалось, что вода, в которой каждая молекула участвует в формировании четырех водородных связей (двух за счет протонов и двух за счет неподеленных электронных пар атомов кислорода) имеет химический сдвиг $\delta_{\text{H}} = 7$ м.д. (реализуется для гексагонального льда), а слабоассоциированная вода (не участвующая в формировании водородных связей в качестве протонодонора) – химический сдвиг $\delta_{\text{H}} = 1-1.5$ м.д. [9]. Для определения геометрических размеров кластеров адсорбированной воды использовалось уравнение Гиббса-Томсона, связывающее радиус сферического или цилиндрического водного кластера или домена (R) с величиной депрессии температуры замерзания [10]:

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_{sl}T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R}, \quad (1)$$

где $T_m(R)$ – температура плавления льда, локализованного в порах радиуса R , $T_{m,\infty}$ – температура плавления объемного льда, ρ – плотность твердой фазы, σ_{sl} – энергия взаимодействия твердого тела с жидкостью и ΔH_f – объемная энтальпия плавления. Для практического использования ур. (1) можно применять в виде $\Delta T_m = k/R$, в котором

константа k для многих гетерогенных систем, содержащих воду, близка к 50 град нм [11]. Методика проведения ЯМР-измерений и способов определения радиусов кластеров межфазной воды подробно описана в [9]. При этом кластерами можно считать полиассоциаты, радиус которых $R < 2$ нм, а полиассоциаты большего размера – доменами или наноклапями, поскольку они содержат несколько тысяч молекул воды [12].

Микрофотографирование порошка ГАП проводили с помощью микроскопа Primo Star (Carl Zeiss, Германия) при увеличении $\times 100$.

Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили методом порошковой дифрактометрии на дифрактометре ДРОН-3М («Буревестник», Россия) в излучении $\text{CuK}\alpha$ линии анода с никелевым фильтром в отраженном пучке и геометрии съемки по Брэггу-Брентано.

ИК – спектры поглощения образцов регистрировали на однолучевом ИК Фурье-спектрометре Thermo Nicolet Nexus FT-IR (Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены зависимости изменения рН суспензий от времени. Образцы исследуемых композитов в физиологическом растворе (кривые 1–6) характеризуются величиной рН, которая изменяется в пределах 4.5–5.5. Кривые 5 и 7 (рис. 1) имеют наивысшие значения рН, которые находятся в нейтральной области (рН = 5.5–7.3). Величина рН образца 7, композита ГАП с гиалуроновой кислотой (кривая 7 рис. 1), на пятый день переходит в нейтральную область и достигает значения рН = 7.5. В то же время, для образцов 1–6 значения рН остается практически постоянным. Кривые, которые соответствуют контрольным образцам (5 и 7), имеют большую величину рН, поскольку к этим образцам не добавляли раствор HCl. Образцы 4 и 6 имеют наименьшие значения рН в течение всего времени проведения измерений. Это объясняется присутствием максимально большого количества хлористоводородной кислоты в данных суспензиях.

На рис. 2 приведена зависимость концентрации ионов кальция C_{Ca} в суспензиях от времени. В верхних частях

графика находятся кривые 4 и 6, которые соответствуют образцам с максимальным содержанием хлористоводородной кислоты. Уже через сутки наблюдается увеличение C_{Ca} для всех образцов (рис. 2 а, б), которое продолжается на протяжении трех дней, после чего значение концентраций выходят на плато. Для образцов 4, 6, 7 – на 5-е сутки наблюдается резкое уменьшение C_{Ca} . Возможно, это связано с образованием фосфатов кальция (ортокальцийфосфата), что приводит к уменьшению количества ионов Ca^{2+} в растворе и, соответственно, укрупнению кристалликов ГАП.

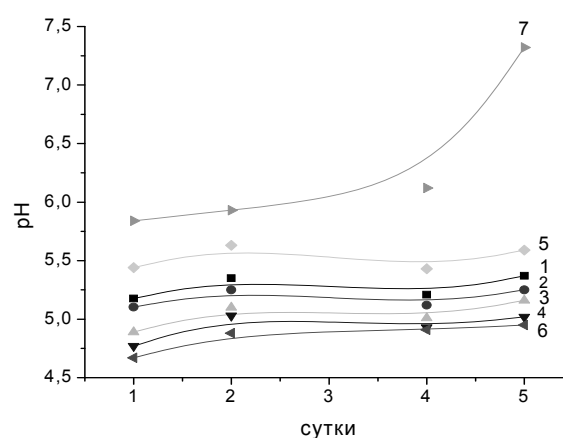


Рис. 1. Зависимость изменения рН исследуемых суспензий от времени (1–7 – номера образцов)

Уменьшение C_{Ca} в образце 7 кривая 7 (рис. 2 б) – может свидетельствовать о том, что гиалуроновая кислота способна связывать определенную часть ионов кальция из раствора. В случае с образцом 6 возможно влияние двух факторов: и хлористоводородной кислоты, и биополимера.

В ИК-спектрах образцов 6 и 7 фиксируются характеристические полосы гиалуроновой кислоты: 1660 см^{-1} амид I, 1479 см^{-1} амид II (рис. 3 а). В образце 6 эти полосы оказались более четкими по сравнению с образцом 7. Что касается ИК-спектров образцов ГАП (рис. 3 б), то оказалось, что в присутствии раствора хлористоводородной кислоты в суспензии образца 4 вид спектров не изменяется.

В дифрактограммах исследуемых образцов (рис. 4) наблюдаются рефлексы, характерные для гидроксиапатита (JCPDS#73-293). По данным РФА с помощью

уравнения Шеррера был рассчитан размер кристаллитов гидроксиапатита в исследуемых образцах (табл. 1).

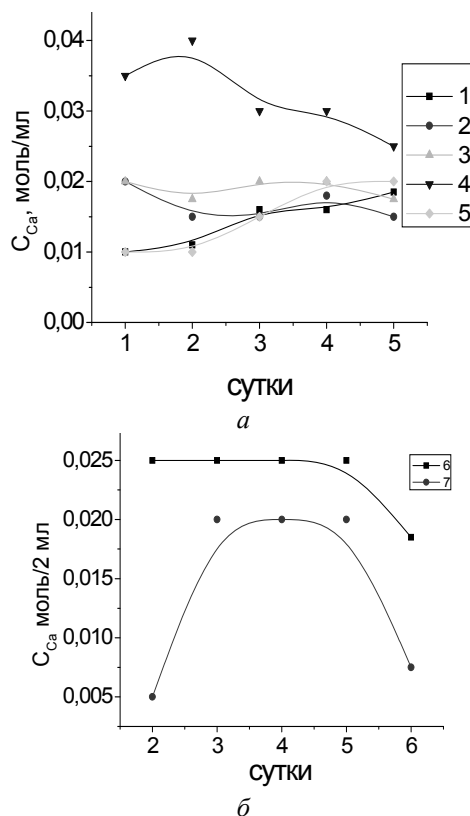


Рис. 2. Зависимость изменения концентрации ионов кальция в суспензиях от времени (1–7 – номера образцов)

Размер кристаллитов оценивали по полуширине пиков $2\theta = 25.9$ hkl {002}. Установлено, что средний размер кристаллитов для образца 4 составлял 39 нм, а для образца 7 – 66 нм (таблица 1). Увеличение размера кристаллитов в случае с образцом 7 обусловлено присутствием молекул биополимера – гиалуроновой кислоты. Как видно из данных таблицы 1, величина удельной поверхности для образца 7 – наименьшая, а для образца 4 будет наибольшей. Таким образом, исходя из данных таблицы 1, установлено, что кислая среда действительно уменьшает размер кристаллитов.

На рис. 5 приведены микрофотографии порошков ГАП в процессе их обработки раствором хлористоводородной кислоты.

Зависимость размеров частиц и их агломератов от концентрации кислоты в растворе и времени имеет сложный вид. Вместе с уменьшением размера частиц, которое происходит при небольшой концентрации HCl, имеет место процесс их коагуляции с образованием объемных агломератов, размер которых может достигать десятков мкм. Для композитной системы, созданной на основе порошка ГАП и ГК, выдерживание в растворе HCl почти не повлияло на размер частиц.

Таблица 1. Характеристики образцов ГАП, полученные методом РФА

Образцы	Удельная поверхность, m^2/g	Размер кристаллитов, нм
образец 4	77	39
образец 5	27	47
образец 6	–	47
образец 7	5	66

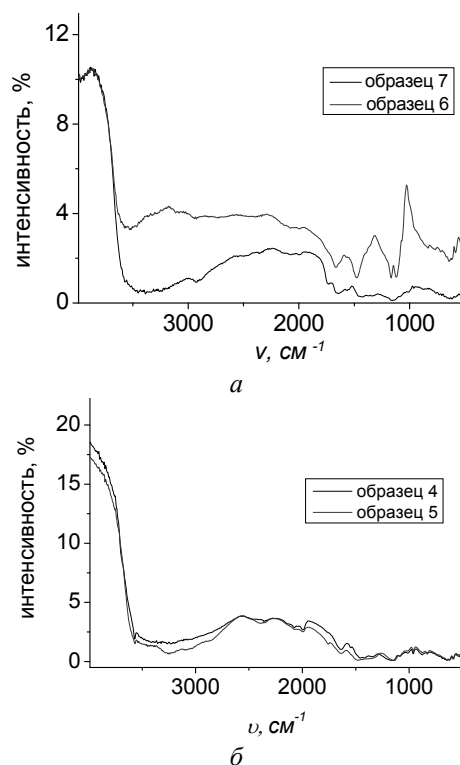


Рис. 3. (а) – ИК-спектры образцов композита ГАП/ГК (образцы 6 и 7); (б) – образцов гидроксиапатита (4 и 5)

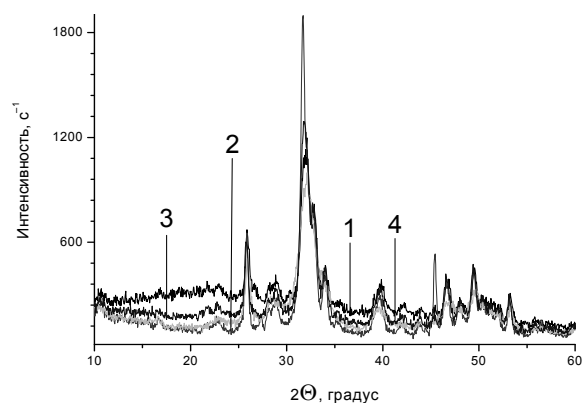


Рис. 4. Дифрактограммы нанопорошков гидроксиапатита: 1 – образец 5; 2 – образец 4; 3 – образец 7; 4 – образец 6

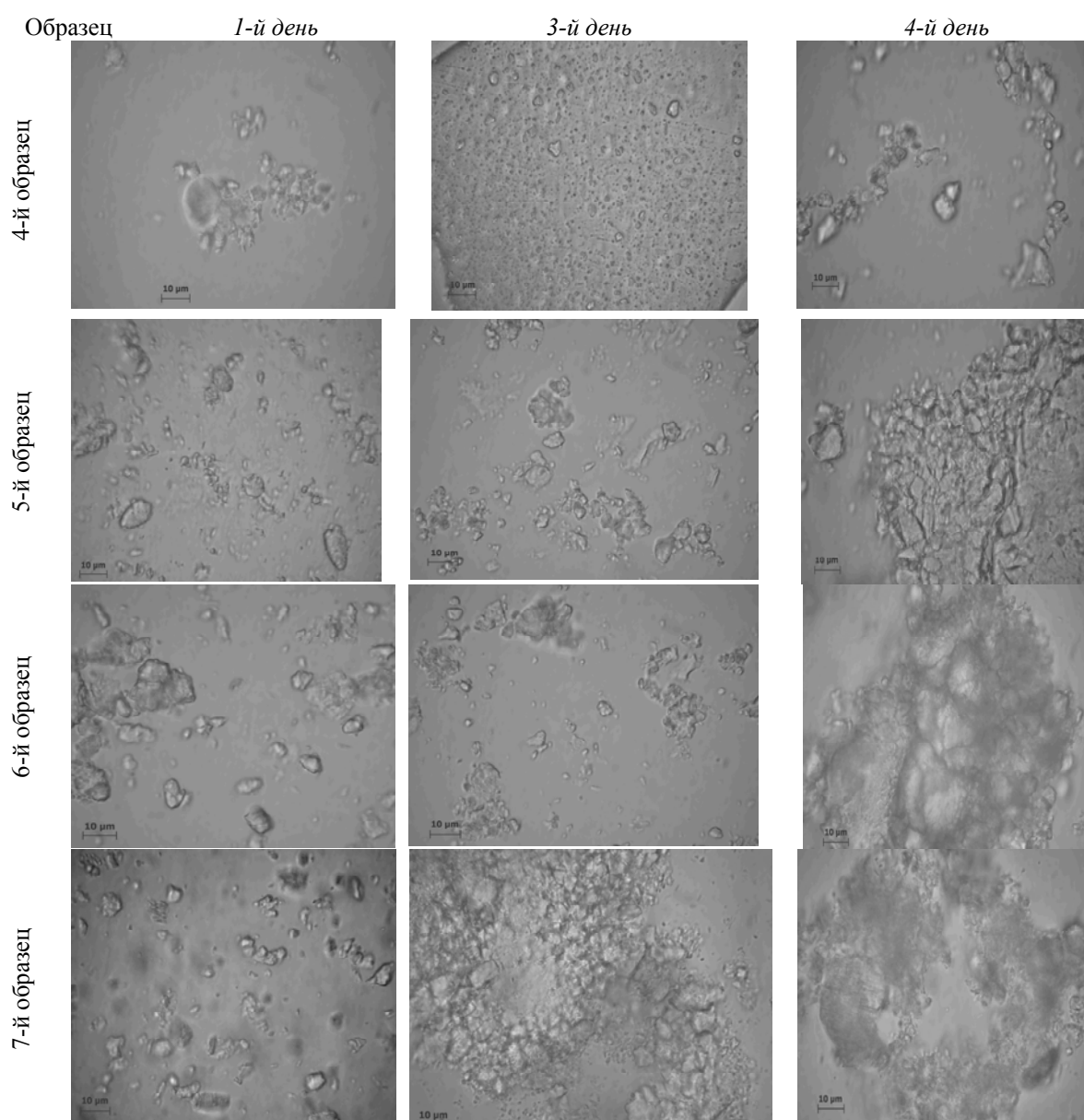


Рис. 5. Микрофотографии образцов ГАП и ГАП/ГК в процессе их обработки раствором хлористоводородной кислоты

С целью определения причин отсутствия значительного влияния раствора хлористоводородной кислоты на размер частиц ГАП в композите ГАП/ГК (образец 7), методом низкотемпературной ^1H ЯМР-спектроскопии было исследовано строение слоев воды, связанной частицами нанокompозита в гидрофобной среде

дейтерированного хлороформа (CDCl_3), и в среде, которая содержала 20 % трифторуксусной кислоты (ТФУК) (рис. 6). Выбор кислоты был обусловлен ее хорошей растворимостью в хлороформе и отсутствием дополнительных сигналов в спектрах ^1H ЯМР.

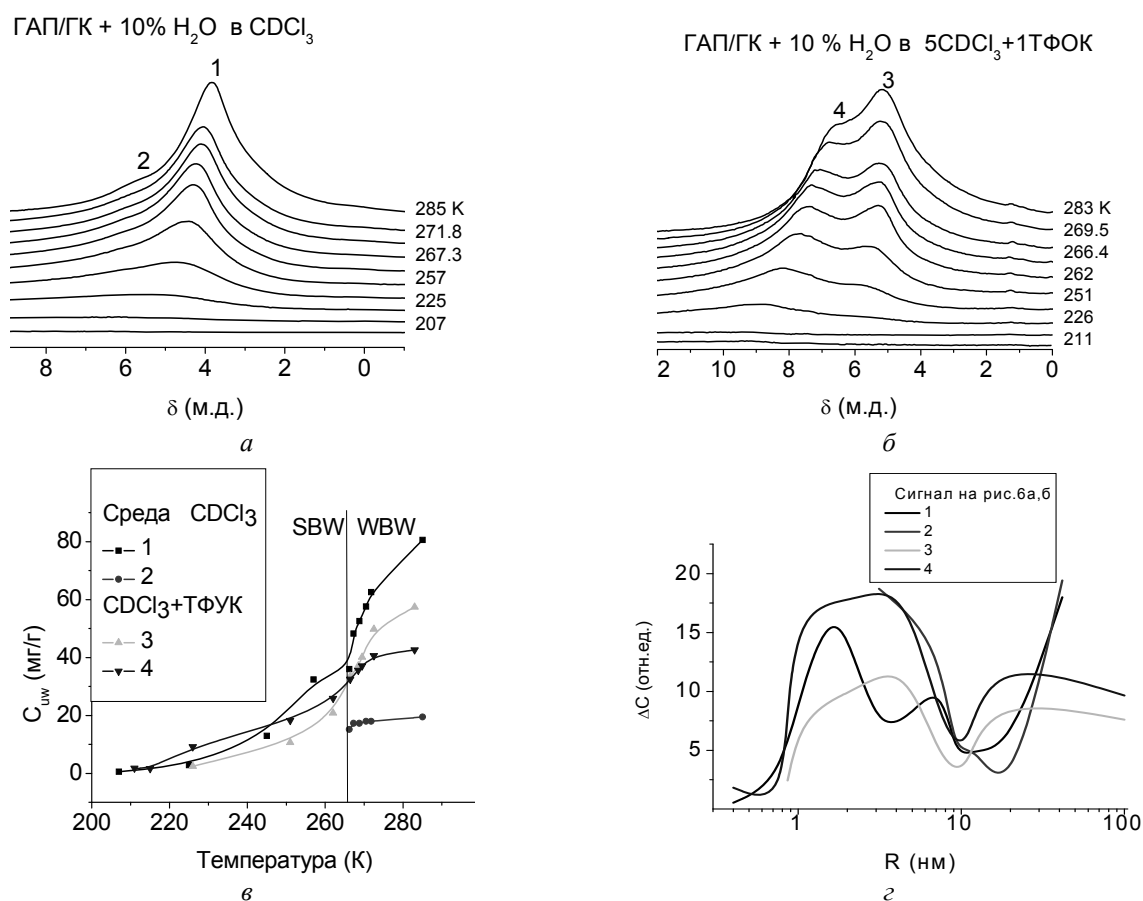


Рис. 6. Спектры ^1H ЯМР воды, адсорбированной композитом ГАП/ГК (а) в среде CDCl_3 ; (б) – в среде CDCl_3 +ТФУК; (в) – изменение с температурой количества незамерзающей воды; (г) – распределение по размерам кластеров (доменов) незамерзающей воды в процессе размораживания образцов

Адсорбированная вода в спектрах наблюдается в виде двух сигналов (сигналы 1, 2), химические сдвиги которых при $T=285\text{ K}$ составляют $\delta_{\text{H}}=3.5$ и 5.5 м.д., соответственно. С понижением температуры происходит сдвиг сигналов в слабые магнитные поля (большие значения δ_{H}), благодаря увеличению упорядоченности сетки водородных связей [9]. Наличие в спектрах сигнала 2 свидетельствует о неоднородности адсорбированной воды. Вероятно, часть воды, ответственная за

наличие сигнала 2, образует кластеры с кислотными центрами композита, которые характеризуются более прочными водородными связями. С уменьшением температуры интенсивность сигналов уменьшается благодаря частичному замерзанию межфазной воды (рис. 6 в). В соответствии с принципами, изложенными в [12], слабосвязанной (WBW) есть та часть воды, которая замерзает при $T > 265\text{ K}$. Другая часть незамерзающей воды может считаться сильносвязанной (SBW) (рис. 6 в).

При добавлении в среду кислотного агента вид спектров существенно изменяется. В них наблюдаются два основных сигнала (сигналы 3, 4, рис. 6 б) с несколько большими значениями химического сдвига, чем сигналы 1, 2 на рис. 6 а. Поскольку химический сдвиг протонов в ТФУК составляет $\delta_{\text{H}} = 11$ м.д., на основании измеренных значений δ_{H} можно оценить концентрацию кислоты в кластерах вода-кислота. Если считать, что для воды характерно значение химического сдвига $\delta_{\text{H}} = 5$ м.д., то в зависимости от температуры концентрация кислоты в кластерах, ответственных за сигнал 4, она составляет 50–80 %, а для сигнала 3 – 10–15 %. Таким образом, значительная часть адсорбированной воды, даже в условиях избытка, почти не содержит растворенной кислоты. Вероятно, в полимерной матрице образование раствора кислота-вода становится термодинамически невыгодным (по сравнению с формированием кластеров (доменов) адсорбированной воды). Это может служить основным фактором отсутствия существенного влияния кислот на размер частиц ГАП в композитных системах ГАП/ГК.

Распределение по размерам кластеров (доменов) незамерзающей воды в процессе нагревания образцов рассчитано в соответствии с формулой (1) на основании зависимостей $C_{\text{ув}}(T)$ и приведено на рис. 6 г.

На этих графиках домены с радиусом $R > 8$ нм соответствуют слабосвязанной воде. На зависимостях могут быть выделены три основных максимума, которые соответствуют значениям $R = 2-3$, $5-7$ и 11 нм. Присутствие в системе кислоты стабилизирует кластеры меньших размеров, поскольку замерзание воды происходит из растворов вода-кислота.

ВЫВОДЫ

Установлено, что присутствие хлористоводородной кислоты в суспензиях исследуемых образцов понижает величину рН до значения 4.5–5.5, что приводит к увеличению концентрации ионов кальция в суспензиях. Максимальная концентрация Ca^{2+} (приблизительно 0.03 моль/мл) наблюдается для образца 4 в течение всего времени эксперимента. Методами РФА и ИК-спектроскопии подтверждена идентичность состава порошков гидроксиапатита и установлено, что размер кристаллитов в порошках уменьшается (удельная поверхность увеличивается) при их обработке раствором хлористоводородной кислоты. В композитной системе ГАП/ГК влияние раствора кислоты на размер кристаллитов минимальный, что, вероятно, обусловлено формированием стабильных кластеров адсорбированной воды, которые плохо растворяют кислоту. Этот эффект может быть использован при создании биосовместимых композитов, стабильных в кислой среде.

Вплив розчинів хлористоводневої кислоти на розмір кристалітів гідроксиапатиту в порошках та їхню композитах з гіалуроновою кислотою

А.П. Головань, М.В. Борисенко, Т.В. Крупська, В.В. Туров

Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, alyusik2001@ukr.net

Сучасна медицина (стоматологія, ортопедія, травматологія) потребують створення нових композиційних матеріалів, подібних за структурою, хімічному складу та властивостям на природну кісткову тканину з покращеними характеристиками, такими як біоактивність та біосумісність. Перспективним напрямом є застосування композиційних матеріалів на основі гідроксиапатиту (ГАП) та біополімерів, зокрема білків та вуглеводів (гіалуронова кислота ГК). Дослідження композиційної біоресорбції *in vitro* з використанням розчинених зразків ГАП в буфері гідрохлоридної кислоти та в ізотонічному розчині показали, що підвищення розчинності наноструктурованих ГАП-порошків дозволяє передбачити їхню високу

біологічну активність. Одним з способів регулювання розміру частинок ГАП в біополімерній матриці може бути її утримання в кислому розчині (рН~5). Метою цієї роботи є вивчення процесів впливу кислого середовища (розчину гідрохлоридної кислоти) на розмір кристалітів ГАП та можливість її агрегації з утворенням складних наноструктурованих агломератів. Гідроксиапатит був отриманий шляхом «мокрого» синтезу. Композит на основі гідроксиапатиту та гіалуронової кислоти (ГАП/ГК) був створений з використанням просочення синтезованого порошку ГАП біополімерним розчином. Методом низькотемпературної ^1H ЯМР-спектроскопії досліджено процес впливу кислих середовищ (розчину гідрохлоридної кислоти) на розмір кристалів гідроксиапатиту та можливість його агрегації з утворенням складних наноагломератів. Ідентифікація складу ГАП-порошків до та після обробки гідрохлоридною кислотою підтверджена з використанням рентгеновської та ГЧ-спектроскопії. Розмір кристалітів в порошках зменшується (величина питомої поверхні збільшується), при взаємодії з гідрохлоридною кислотою. Встановлено, що в композитній системі ГАП/ГК вплив розчину кислоти на розмір кристалітів мінімальний. Імовірно, це обумовлено формуванням стабільних кластерів адсорбованої води, які погано розчиняють кислоту. Даний ефект може бути використаний для створення біосумісних композитів, стабільних в кислому середовищі.

Ключові слова: гідроксиапатит, гіалуронова кислота, хлористоводнева кислота, композит

Effect of hydrochloride acid solutions on crystallite size of hydroxyapatite powders and their composites with hyaluronic acid

A.P. Golovan, N.V. Borisenko, T.V. Krupskaya, V.V. Turov

Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, alyusik2001@ukr.net

Modern medicine (dentistry, orthopedics, traumatology) requires the creation of new composite materials, similar in structure, chemical composition and properties to natural tissue. It is necessary that the composition and structure of the composite maximally correspond to natural bone tissue, to improve characteristics such as bioactivity and biocompatibility. A promising direction is the application of composite materials based on hydroxyapatite (HAP) and biopolymers, in particular, proteins and carbohydrates (hyaluronic acid). The studies of a composite bioresorption in vitro using the dissolving HAP samples in both hydrochloric acid buffer and isotonic solution showed that the increased solubility of nanostructured HAP powders allows predicting their high bioactivity. One of the ways to regulate size of HAP particles in a biopolymer matrix can be to hold it in an acidic solution (pH ~ 5). The aim of this work is to study the processes of the influence of an acidic medium (hydrochloric acid solution) on the size of HAP crystals and the possibility of its aggregation with the formation of complex nanostructured agglomerates. Hydroxyapatite was obtained due to "wet" synthesis. A composite based on hydroxyapatite and hyaluronic acid (HAP / HA) was created using impregnating a synthesized HAP powder by a biopolymer solution. The process of acidic medium influence (hydrochloric acid solution) on hydroxyapatite (HAP) crystals size and the possibility of its aggregation with formation of complex nanoagglomerates were investigated using low-temperature ^1H NMR spectroscopy. The identification of HAP powders composition before and after a treatment with hydrochloride acid was confirmed using XRD and IR spectroscopy. The crystallite size in powders is decreased (vs the specific surface area is increases) interacting with hydrochloride acid. The hydrochloride acid leads to minimum crystallites size in HAP / HA composite. This effect could be cause by formation of stable clusters of absorbed water solving the acid badly. This could be used to create composites of biocompatible, stable in an acidic medium.

Keywords: hydroxyapatite, hyaluronic acid, hydrochloride acid, composite

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang J., Liu C. Biomimetic collagen/hydroxyapatite composite scaffolds: fabrication and characterizations // *J. Bionic Eng.* – 2014. – V. 11, N 4. – P. 600–609.
2. Deen I., Zhitomirsky I. Electrophoretic deposition of composite halloysite nanotube–hydroxyapatite–hyaluronic acid films // *J. Alloys Compd.* – 2015. – V. 586, N 1. – P. 531–534.
3. Касавина Б.К., Торбенко В.П. Жизнь костной ткани. – Москва: Наука, 1979. – 289 с.
4. Головань А.П., Ругаль А.А., Гунько В.М. и др. Моделирование костной ткани нанокompозитными системами на основе гидроксиапатита – альбумина – желатина и их свойства // *Поверхность.* – 2010. – Вып. 17(2). – С. 244–265.
5. Крутько В.К., Кулак А.И., Лесникович Л.А. и др. Влияние условий созревания геля гидроксиапатита на состав ксерогеля // *Журнал прикладной химии.* – 2013. – Т. 86, № 2. – С. 161–165.
6. Уварова И.В., Горбик П.П., Горобець С.В. та ін. Наноматеріали медичного призначення. – Київ: Наукова думка, 2014. – 414 с.
7. Фомин А.С., Комлев В.С., Баринов С.М. и др. Синтез нанопорошков гидроксиапатита для медицинских применений // *Перспективные материалы.* – 2006. – № 2. – С. 51–54.
8. Шварценбах Г., Флашка Г. Комплексонометрическое титрование. – Москва, Химия. 1970. – 360 с.
9. Gun'ko V.M., Turov V.V. Nuclear magnetic resonance studies of interfacial phenomena. – CRC Press, Boca Raton., 2013. – 1040 p.
10. Mikhalovska L.I., Gun'ko V.M., Rugal A.A. et al. Cottonised flax vs cotton fiber: Texture and adsorption capacity of dry, wetting and swollen samples // *RSC Adv.* – 2012. – V. 2, N 5. – P. 2032–2036.
11. Landry M.R. Thermoporometry by differential scanning calorimetry: experimental considerations and applications // *Thermochim. Acta.* – 2005. – V. 433, N 1–2. – P. 27–50.
12. Gun'ko V.M., Turov V.V., Krupskaya T.V. et al. Effects of strongly aggregated silica nanoparticles on interfacial behaviour of water bound to lactic acid bacteria // *RSC Adv.* – 2015. – V. 5. – P. 7734–7743.

REFERENCES

1. Wang J., Liu C. Biomimetic collagen/hydroxyapatite composite scaffolds: fabrication and characterizations. *J. Bionic Eng.* 2014. **11**(4): 600.
2. Deen I., Zhitomirsky I. Electrophoretic deposition of composite halloysite nanotube–hydroxyapatite–hyaluronic acid films. *J. Alloys Compd.* 2015. **586**(1): 531.
3. Kasavina B.K., Torbenko V.P. *The life of the bone tissue.* (Moscow: Science, 1979). [in Russian].
4. Golovan A.P., Rugal A.A., Gun'ko V.M., Barvinchenko V.N., Skubishevska-Ziyemba Ya., Lebeda R., Krupskaya T.V., Turov V.V. Modeling of bone tissue with nanocomposite systems based on hydroxyapatite – albumin - gelatin and their properties. *Surface.* 2010. **17**(2): 244. [in Russian].
5. Krut'ko V.K., Kulak A.I., Lesnikovich L.A., Musskaya O.N., Safronova T.V., Ulasevich S.A. The influence of the conditions of hydroxyapatite gel maturation on composition xerogel. *J. Appl. Chem.* 2013. **86**(2): 161. [in Russian].
6. Uvarova I.V., Gorbik P.P., Gorobec S.V., Ivashenko O.A., Ul'yanchich N.V. *Nanomaterials of medical application.* (Kyiv: Naukova Dumka, 2014). [in Ukrainian].
7. Fomin A.S., Komlev V.S., Barinov S.M., Fadeeva I.V., Rengini K. Synthesis of nanopowders of hydroxyapatite for medical applications. *Perspective materials.* 2006. **2**: 51. [in Russian].
8. Schwarzenbach G., Flaschka G. *Complexometric titration.* (Moscow: Chemistry, 1970). [in Russian].
9. Gun'ko V.M., Turov V.V. *Nuclear magnetic resonance studies of interfacial phenomena.* (CRC Press, Boca Raton., 2013).
10. Mikhalovska L.I., Gun'ko V.M., Rugal A.A., Oranska O.I., Gornikov Yu.I., Morvan C., Domas C., Mikhalovsky S.V. Cottonised flax vs cotton fiber: Texture and adsorption capacity of dry, wetting and swollen samples. *RSC Adv.* 2012. **2**(5): 2032.
11. Landry M.R. Thermoporometry by differential scanning calorimetry: experimental considerations and applications. *Thermochim. Acta.* 2005. **433**(1–2): 27.
12. Gun'ko V.M., Turov V.V., Krupskaya T.V., Tsapko M.D., Skubiszewska-Zięba J., Charnas B., Lebeda R. Effects of strongly aggregated silica nanoparticles on interfacial behaviour of water bound to lactic acid bacteria. *RSC Adv.* 2015. **5**: 7734.

Поступила 23.04.2018, принята 14.08.2018