

współczynnika wypełnienia, oraz wzrost i spadek średniej szarości [2, 3]. Jedynie obliczona szerokość w zbliżony sposób korelowała z czasem biodegradacji zarówno w przypadku biodegradacji nici węglowej, włókien węglowych i kompozytu C-C-Ep-HAP. Z kolei średni stopień szarości najsilniej korelował z czasem biodegradacji w przypadku polimeru C-C-Ep-HAP. Należy nadmienić, że każdy proces biodegradacji przebiegał w nieco odmiennych warunkach tkankowych jak również przy odmiennych wpływach mechanicznych, mogących rzutować na mierzone wartości. Nic węglowa podawana była zmiennym naprężeniem podczas żucia, z kolei kompozyt C-C-Ep-HAP ulegał ściśnięciu przez regenerującą kość długą. Analiza morfometryczna wskazuje więc na istotną rolę warunków tkankowych w procesie biodegradacji.

## Wniosek

Charakterystyka morfometryczna biodegradacji implantów kompozytu węgiel-osnowa epoksydowa-hydroksyapatyt (C-C-Ep-HAP) wskazuje na ich stabilność we wczesnym okresie pooperacyjnym i nieznaczne zmiany gęstości optycznej. Zasadniczym czynnikiem wpływającym na wyniki morfometryczne procesu biodegradacji wydają się być narządowe warunki mechaniczne i biochemiczne.

## HYDROKSYAPATYT NATURALNY – PREPARATYKA, WŁAŚCIWOŚCI

KRZYSZTOF HABERKO, MIROSLAW BUĆKO, MARIA HABERKO,  
WŁODZIMIERZ MOZGAWA, ANNA PYDA, JERZY ZARĘBSKI

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA W KRAKOWIE

## Streszczenie

*Opracowano metodę ekstrakcji naturalnego hydroksyapatytu (HAp) z kości zwierzęcych poprzez oddziaływanie na nie gorącym roztworem NaOH. Pozostająca w materiale substancja organiczna ulega utlenieniu w atmosferze powietrza w umiarkowanych temperaturach. W naturalnym hydroksyapatycie występują grupy węglanowe oraz niewielkie udziały magnezu, nieobecne w syntetycznym materiale. Udział grup węglanowych zmniejsza się ze wzrostem temperatury, równocześnie pojawia się wolny CaO. Struktura hydroksyapatytu zostaje jednak zachowana.*

## Wstęp

Hydroksyapatyt, dzięki swojej biogodności i podobieństwu strukturalnemu do mineralnej części kości zwierzęcych i ludzkich wykazuje właściwości osteoindukcyjne. Po wszczępieniu naturalna kość zastępuje stopniowo implant [1, 2]. Porowaty materiał lepiej spełnia zadanie odtworzenia ubytku kostnego niż materiał lity. Wymienić można dwie

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Bajor G., Paszenda Z., Bohosiewicz J., Marciniak J.: "Badania kompozytu węglowego w mikroskopie skaningowym po wszczępieniu do tkanki kostnej zwierząt". *Inżynieria Biomateriałów* 1999; 7-8: 37-43.
- [2] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślik T., Szczurek Z.: "Analiza średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókien węglowych" *Inżynieria Biomateriałów* 2002; 20: 15-20.
- [3] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślik T., Szczurek Z.: "Statystyczna analiza parametrów geometrycznych włókien węglowych użytych do wypełnień ubytków tkanki kostnej" *Inżynieria Biomateriałów* 2002; 20: 21-29.
- [4] Dąbrowka K., Zembala-Nożyńska E., Nożyński J.K., Cieślik T.: "Zachowanie się wartości geometrycznych nici węglowej w procesie biodegradacji" *Inżynieria Biomateriałów*, 2002; 21: 15-22.
- [5] Dąbrowka K., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Błażewicz S.: Średni stopień szarości - obiektywny parametr biodegradacji włókien węglowych. *Inżynieria Biomateriałów* (2001), 13, 3-8.

## NATURAL HYDROXYAPATITE – PREPARATION, PROPERTIES

KRZYSZTOF HABERKO, MIROSLAW BUĆKO, MARIA HABERKO,  
WŁODZIMIERZ MOZGAWA, ANNA PYDA, JERZY ZARĘBSKI

FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, AGH UNIVERSITY  
OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW, POLAND

## Abstract

*Natural origin hydroxyapatite (HAp) was extracted from the animal bones by their treatment with hot NaOH solution. Remaining organic matter oxidizes in air atmosphere at moderate temperatures. In the material of this kind carbonate groups and small amounts of magnesium were found, not present in the synthetic HAp. Fraction of carbonate groups decreases with temperature and also CaO appears, but structure of hydroxyapatite becomes preserved.*

## Introduction

Hydroxyapatite (HAp) with its high biocompatibility and good bioaffinity, stimulates osteoconduction and is slowly replaced by the host bone after implantation [1, 2]. From this point of view porous material fulfils better its role compared to the dense one. Two kinds of application of hydroxyapatite can be pointed out: i) as a porous material useful in bone surgery and ii) as an additive to organic polymers improving their biofunctionality.



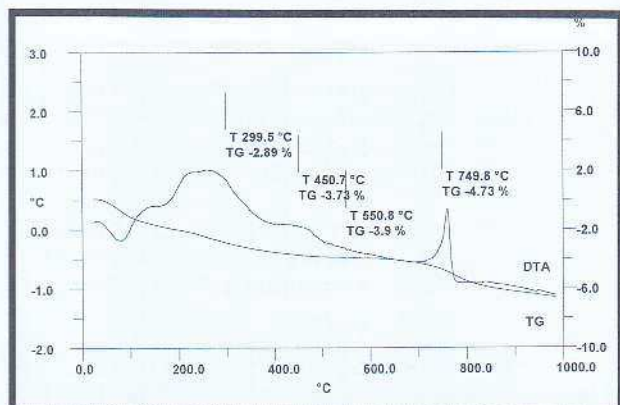
grupy zastosowań hydroksyapatytu: a) jako materiał porowaty, który może znaleźć zastosowanie w chirurgii kostnej oraz b) jako dodatek do polimerów organicznych poprawiający ich biofunkcyjność.

Opracowano kilka technik chemicznej syntezy hydroksyapatytu [3-7]. Natomiast celem prac przedstawionych w tej publikacji było zbadanie możliwości pozyskiwania naturalnego hydroksyapatytu z kości zwierzęcych. Wyniki pracy stały się przedmiotem zgłoszenia patentowego [8].

## Synteza

Doświadczenia wstępne wykonane z zastosowaniem kości wołowych wykazały, że pozytywny rezultat, polegający na niemal całkowitym usunięciu części organicznych zawartych w wyjściowym materiale, można uzyskać poddając ten materiał działaniu stężonego roztworu zasady sodowej (NaOH).

Wyniki przedstawione poniżej objęły hydroksyapatyt pozyskany z części korowej kości długich wołu i świni. Sposób preparatyki przedstawiał się następująco: porcję ok. 200 g kości zadano w zlewce teflonowej 1 dcm<sup>3</sup> roztworu NaOH o stężeniu 4 M. Zlewkę zaopatrzoną w przykrywkę teflonową wstawiono do suszarki nagrzanej do temperatury 120°C. Po 24 h procesu roztwór NaOH wymieniono na świeży. Preparat przetrzymywano przez kolejne 24h w podanej temperaturze. Uzyskany materiał przemywano wielokrotnie przez dekantację wodą destylowaną na gorąco, aż do uzyskania odczynu (pH), charakterystycznego dla czystej wody destylowanej a następnie wysuszono w temperaturze 120°C w atmosferze powietrza.



RYS. 1. Kość wołowa. Krzywe DTA i TG. Szybkość ogrzewania 10°C/min., atmosfera-powietrze.  
FIG. 1. Bovine bone. DTA and TG curves. Rate of temperature increase 10°C/min., air atmosphere.

## Właściwości

### Przemiany zachodzące podczas ogrzewania próbek

Wykresy przedstawione na RYS. 1 i 2 obrazują zmiany masy (TG) i krzywe termicznej analizy różnicowej preparatów otrzymanych w opisany wyżej sposób. Oś rzędnych z lewej strony pokazuje różnicę temperatury (w °C) pomiędzy próbką badaną i wzorcową, zaś z prawej strony - zmiany masy wyrażone w % wyjściowej masy próbki. Na osi odciętych zaznaczono temperaturę. Oznaczenia wykonano posługując się Derivatographem mod. C produkcji MOB Budapest. Szybkość ogrzewania w atmosferze powietrza próbek o masie 0,1g wynosiła 10°C/min.

Several techniques of HAP synthesis were elaborated [3-7]. In the present work we focused on the extraction of the natural HAP from animal bones (Polish patent pending from 2003 [8]).

## Synthesis

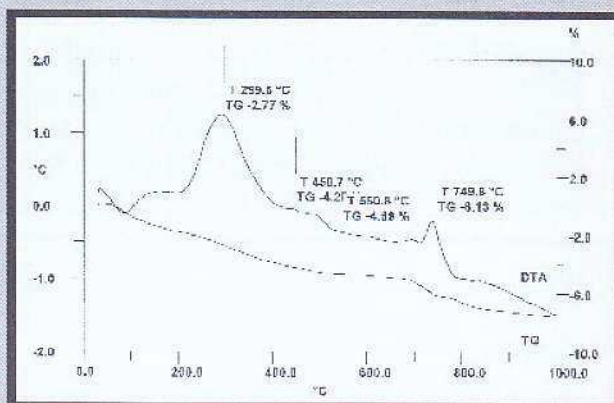
Preliminary experiments have shown that organic matter can be nearly totally removed from the bovine bones by treating them with hot concentrated sodium hydroxide solution. In the present study results of our experiments with the extraction of hydroxyapatite from cortical part of long bovine and pig bones will be shown.

The following preparation route was applied: about 200 g of bones were treated at 120°C for 24h with NaOH water solution of 4M concentration. The treatment was repeated for another 24 h at 120°C with the new NaOH solution of the same concentration. Then the material was washed until pH of distilled water was reached and dried at 120°C in air atmosphere.

## Properties

### Temperature transformation

In FIG. 1 and 2 differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetric (TG) curves of the samples are shown. On the Y-axis in the left part of the plot, temperature difference (in °C) between the studied sample and the reference one is indicated. Right Y-axis represents mass change of the sample (in %). Rate of temperature increase of 10°C/min, air atmosphere and 0.1 g samples were applied using thermal analyser Derivatograph C (MOM, Budapest).



RYS. 2. Kość wieprzowa. Krzywe DTA i TG. Szybkość ogrzewania 10°C/min., atmosfera - powietrze.  
FIG. 2. Pig bone. DTA and TG curves. Rate of temperature increase 10°C/min., air atmosphere.

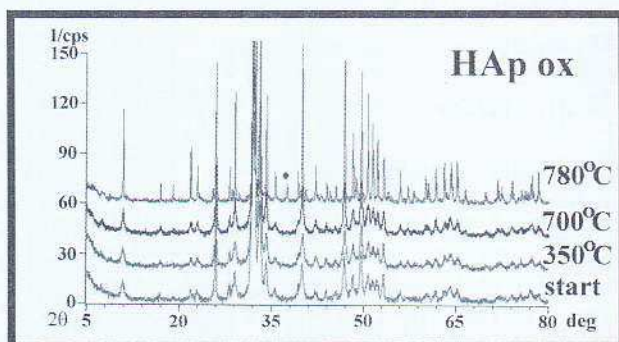
Similar behaviour of both studied materials is observed. The low temperature endothermic effect should plausibly be attributed to evaporation of water adsorbed on the high surface area of the materials. At higher temperatures two exothermic effects occur. Within the whole temperature range samples lose their mass.

In order to recognize the reason of these effects samples were calcined for 30 min. at the end temperatures of each of the exothermic effects, i.e. at 350°C, 780°C and additionally at 700°C. FIG. 3 and 4 demonstrate X-ray diffraction patterns of the starting samples and the samples calcined at indicated temperatures. In the whole calcination temperature range diffraction patterns correspond to hy-



Oba typy preparatów zachowują się podobnie: w zakresie niskich temperatur obserwuje się efekt endotermiczny, związany prawdopodobnie z desorpcją wody zaadsorbowanej na powierzchni próbek. Następnie pojawia się efekt egzotermiczny. Temperatura szczytu tego efektu jest nieco różna w obu preparatach, po czym w niemal identycznej temperaturze w obu przypadkach (<760°C) występuje kolejny efekt egzotermiczny. W całym zakresie stosowanych temperatur ogrzewania w Derivatographie występują straty masy obu próbek.

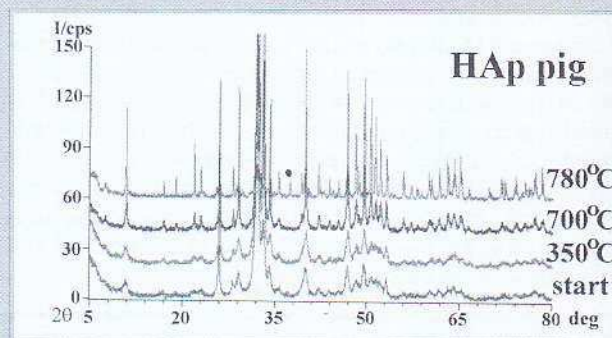
Chcąc rozpoznać naturę opisanych wyżej efektów, opierając się na wynikach tych pomiarów preparaty poddano ogrzewaniu przez 30 min. w temperaturach odpowiadających zakończeniu każdego z efektów egzotermicznych, tj. w 350°C i 780°C oraz dodatkowo w temperaturze 700°C tuż przed początkiem drugiego efektu egzotermicznego. Podobnie jak w pomiarach DTA/TG szybkość wzrostu temperatury wynosiła 10°C/min.



RYS. 3. Dyfraktogram rentgenowski próbki hydroksyapatytu wołowego nie poddanego obróbce cieplnej oraz ogrzewanego we wskazanych temperaturach. Promieniowanie  $\text{CuK}\alpha$ .

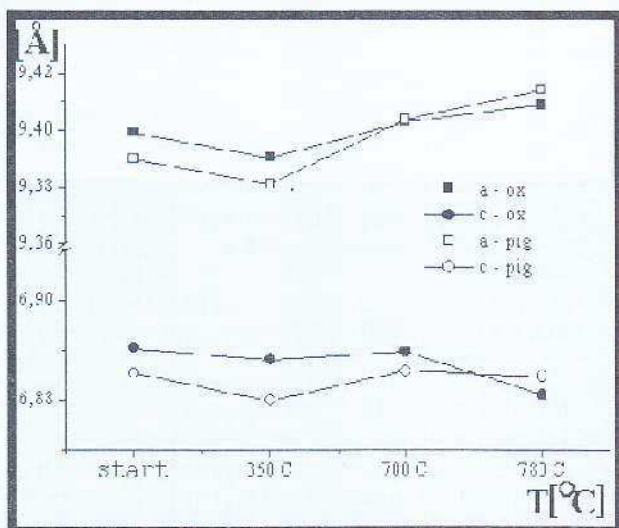
FIG. 3. X-ray diffraction pattern of the bovine hydroxyapatite thermally untreated and heat treated at indicated temperatures.  $\text{CuK}\alpha$  radiation.

droxyapatite. But materials heat treated at 780°C show an additional peak appears (marked by the black point). It can be ascribed to the strongest reflection of CaO. The remaining reflections of this oxide are most probably covered by the reflections of the major phase, i.e. hydroxyapatite. An additional verification of the CaO presence in the calcined samples was obtained by immersing 0.1g of the powder in 100 cm<sup>3</sup> of distilled water and measuring pH of the suspension. The samples were calcined using the DTA/TG equipment and 10°C/min. rate of temperature increase. After reaching the predetermined temperature system was quickly cooled down. Results shown in TABLE 1 demonstrate distinct increase of pH in case of calcination temperature equal to or higher than the second exothermic effect. Qualitative analysis of the suspension filtrate with kalces have shown Ca presence in the solution. So we conclude that the second exothermic effect should be attributed to crystallization of CaO from hydroxyapatite. It is worth to notice that this process neither leads to HAp decomposition (cf FIG. 3 and 4) nor to the visible changes of the HAp lattice parameters, determined by the Rietveld method (FIG. 5).



RYS. 4. Dyfraktogram rentgenowski próbki hydroksyapatytu wieprzowego nie poddanego obróbce cieplnej oraz ogrzewanego we wskazanych temperaturach. Promieniowanie  $\text{CuK}\alpha$ .

FIG. 4. X-ray diffraction pattern of the pig hydroxyapatite thermally untreated and heat treated at indicated temperatures.  $\text{CuK}\alpha$  radiation.



RYS. 5. Parametry sieciowe (a i c) hydroksyapatytu wołowego (ox) i wieprzowego (pig) w zależności od warunków prażenia.

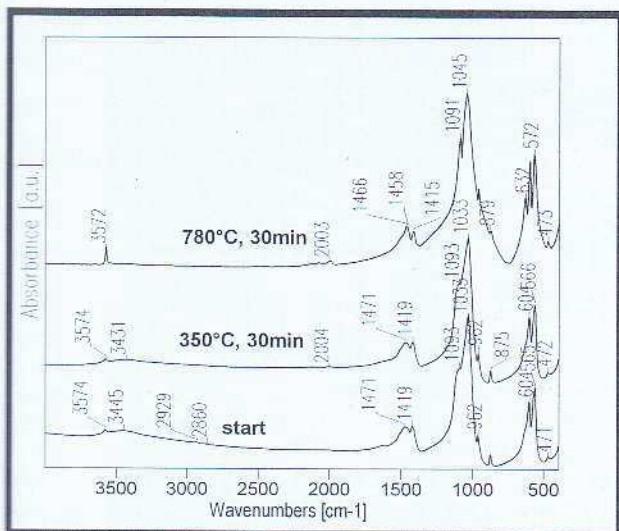
FIG. 5. Lattice parameters (a and c) bovine and pig hydroxyapatite vs. calcination conditions.

Presence of calcium oxide in materials for medical applications seems to be undesirable. It was found however, that it can be easily removed by washing with water even essentially densified samples.

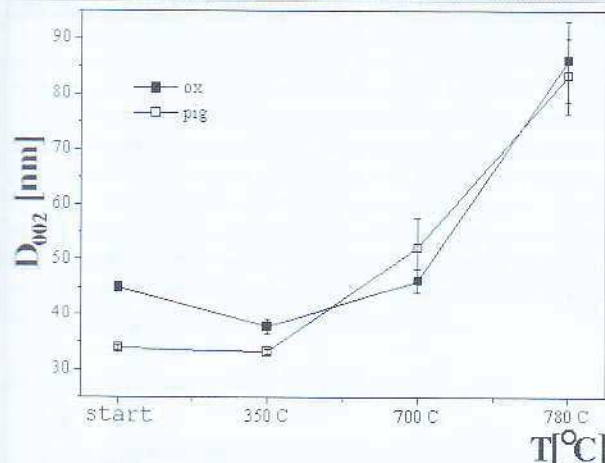
In FIG. 6 and 7 infrared (IR) spectra of the same samples as in FIG. 3 and 4 are demonstrated. Absorption bands were ascribed to particular bonds according to [9]. Vibrations of the P-O bonds are responsible for the absorption bands within wave number ranges of 471-603 cm<sup>-1</sup> and 992-1091 cm<sup>-1</sup>. Bands of the 1415-1468 cm<sup>-1</sup> range confirm existence of carbonate groups in the natural hydroxyapatite. Absorption bands of 2857 and 2928 cm<sup>-1</sup> correspond to stretching vibrations of the C-H bonds. The remaining bands in the high wave number range result from stretching vibrations of the O-H bonds. They occur both in water adsorbed on the high surface area of the starting powder and in hydroxyl groups in the HAp structure.

Carbonate groups occur in the structure of the natural hydroxyapatite. This is an essential feature of this material. Analysis of the integral intensity of the MIR spectrum band in the 1350-1500 cm<sup>-1</sup> range indicates decrease of the fraction of these groups. In the starting, (uncalcined) pig bone sample, intensity of the carbonate bands equals to 10.9% of all absorption bands. In case of the sample calcined at



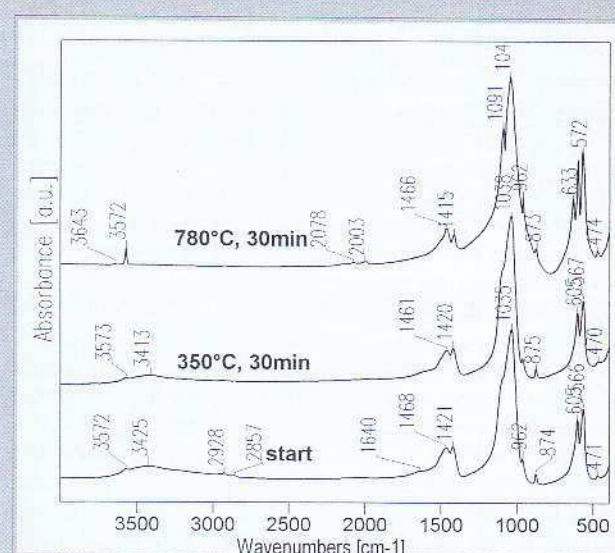


**RYS. 6.** Widma transmisyjne w podczerwieni hydroksyapatytu pochodzącego z kości wołowej. Na rysunku podano warunki prażenia.  
**FIG. 6.** Transmission infrared spectra of bovine hydroxyapatite. Calcination conditions indicated.



**RYS. 8.** Wielkość krystalitów hydroksyapatytu w zależności od temperatury prażenia.  
**FIG. 8.** Crystallite size of hydroxyapatite samples vs. calcination temperature.

Na RYS. 3 i 4 przedstawiono wyniki rentgenowskiej analizy fazowej materiałów wyjściowych i prażonych w podanych temperaturach. W całym zakresie temperatur prażenia obraz dyfrakcyjny odpowiada hydroksyapatytowi. Natomiast w próbkach prażonych w temperaturze 780°C pojawia się dodatkowy refleks zaznaczony na wykresach kropką. Można go przyporządkować najsilniejszemu refleksowi tlenku wapnia (CaO). Pozostałe refleksy od tego związku są prawdopodobnie zamaskowane silnymi refleksami większościowej fazy (HAp). Dodatkową weryfikację obecności CaO w próbkach prażonych w temperaturach odpowiadających drugiemu efektowi egzotermicznemu (i wyższych) uzyskano wprowadzając 0,1 g proszku do 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i mierząc pH zawiesiny. Ogrzewanie próbek z szybkością przyrostu temperatury taką jak podczas pomiaru DTA prowadzono w piecu urządzenia do termicznej analizy różnicowej (Derivatograph). Po osiągnięciu zadanej temperatury



**RYS. 7.** Widma transmisyjne w podczerwieni hydroksyapatytu pochodzącego z kości wieprzowej. Na rysunku podano warunki prażenia.  
**FIG. 7.** Transmission infrared spectra of pig hydroxyapatite. Calcination conditions indicated.

Temperatura prażenia, °C Calcination temperature	20	300	450	550	750	1000
pH zawiesiny HAp w H <sub>2</sub> O pH of HAp in H <sub>2</sub> O suspension	6,0	6,7	6,8	7,2	10,3	10,2

**TABELA 1.** pH zawiesiny HAp w wodzie w zależności od temperatury prażenia.  
**TABLE 1.** pH of the HAp in water suspension vs. calcination temperature.

350°C it decreases to 9.3%. And calcination at 780°C results in the value of 9.0%. Simultaneously shape of the carbonate band in sample calcined at 780°C changes compared to the starting material and to the samples heat treated at lower temperatures. It indicates change of symmetry of these groups. Crystallite sizes, determined on the basis of the X-ray line broadening, are shown in FIG.8. Their increase occurs at moderate temperatures. It is indicative of intensive mass transport at this temperature range and predicts good sintering ability of such powders.

Absorption bands related to the C-H vibrations in the uncalcined samples indicate that not all organic matter is removed by the NaOH treatment. These absorption bands disappear in the materials calcined at 350°C and higher. Basing on this we conclude that the exothermic effect observed at low temperature range (FIG.1 and 2) corresponds to the oxidation of the remaining organic matter.

#### Comparative characteristics of different origin hydroxyapatite materials

FIG. 9 presents infrared spectra of commercial HAp materials produced by Elektromet (Rzeszów, Poland), Mitsubishi (Japan) and Bio-Oss (Geistlich Biomaterials, Switzerland). The Elektromet and Mitsubishi specimens are nearly totally lacking of carbonate groups. But this is not the



układ szybko studzono. Wyniki pomiaru pH w zależności od temperatury prażenia przedstawia TABELA 1.

Jak łatwo zauważyć wyraźny wzrost pH zawiesiny pojawia się w temperaturze odpowiadającej drugiemu efektowi egzotermicznemu i wyższej. W świetle tych obserwacji można przyjąć za udowodnione, że efekt egzotermiczny wiąże się z krystalizacją CaO wydzielającego się z hydroksyapatytu, jednak bez rozkładu tego związku (por. RYS.3 i 4) i zarazem bez istotnych zmian parametrów sieciowych obu preparatów oznaczonych metodą Rietvelde (RYS.5). Tlenek wapnia reagując z wodą tworzy wodorotlenek wapnia alkaliczujący środowisko. Ostateczny dowód na tworzenie się tlenku wapniowego uzyskano analizując przesącz po zadaniu wodą destylowaną próbek prażonych w temperaturze 750°C i 1000°C. Posługując się odczynnikiem kalces stwierdzono w przesączu obecność wapnia. Obecność CaO w próbkach do zastosowań medycznych jest niepożądana. Doświadczenia jednak wykazały, iż można tlenek ten usunąć, nawet z częściowo spieczonych próbek, przez ich przemycanie wodą destylowaną.

Kolejne rysunki (RYS. 6, 7) przedstawiają widma absorbcyjne w podczerwieni próbek prażonych w zaznaczonych temperaturach. Przypisanie pasm absorbcyjnych dokonano na podstawie pracy [9]. Pasma w zakresie liczb falowych 471-603  $\text{cm}^{-1}$  oraz 992 -1091  $\text{cm}^{-1}$  odpowiadają drganiom w obrębie wiązań P-O, z kolei pasma w zakresie 1468 -1415  $\text{cm}^{-1}$  wynikają z obecności w hydroksyapatycie naturalnym grup  $\text{CO}_3^{2-}$ , w końcu pasma 2857 i 2928  $\text{cm}^{-1}$  pochodzą od drgań rozciągających wiązania C-H. Pozostałe pasma w zakresie wysokich liczb falowych odpowiadają drganiom rozciągającym O-H i wynikają z obecności w próbce wyjściowej (start) zaadsorbowanej wody oraz z obecności w strukturze hydroksyapatytu grup hydroksylowych.

Istotną cechą naturalnego hydroksyapatytu jest obecność grup węglanowych, przy równoczesnym braku węglanu wapnia. Udział tych grup maleje ze wzrostem temperatury obróbki cieplnej. Oceniono go na podstawie analizy intensywności integralnej pasm widm MIR w zakresie 1350-1500  $\text{cm}^{-1}$ . Zastosowano metodę matematycznej dekompozycji widm na pasma składowe wykorzystując program Win-IR. Intensywność pasm oceniono na podstawie pola powierzchni pasm we wspomnianym zakresie i wyrażono jako udział procentowy powierzchni wspomnianego pasma w stosunku do powierzchni wszystkich pasm (nie tylko węglanowych). W próbce wyjściowej (nieprażonej) intensywność pasm węglanowych wynosiła 10,9%, w próbce poddanej prażeniu w 350°C zmalała do 9,3%, a w próbce prażonej w 780°C do 9,0%. Jednocześnie zmiana kształtu pasm w widmie próbki prażonej w 780°C w stosunku do dwóch pozostałych sugeruje zmianę symetrii grup  $\text{CO}_3^{2-}$ . Natomiast w miarę wzrostu temperatury obróbki cieplnej obserwuje się rozrost krystalitów (RYS. 8). Świadczy to o intensywnym transporcie masy już w zakresie niskich temperatur, co stwarza nadzieje na uzyskiwanie spieczonych tworzyw w umiarkowanych temperaturach.

Obecność w próbkach nie poddanych obróbce cieplnej pasm pochodzących od drgań rozciągających C-H wskazuje, że traktowanie kości roztworem NaOH nie prowadzi do całkowitego usunięcia z nich substancji organicznej. Natomiast pasma te zanikają całkowicie w próbkach wygrzewanych w temperaturze 350°C i wyższych. Na tej podstawie można przyjąć, iż efekt egzotermiczny w zakresie niskich temperatur (RYS. 1, 2) odpowiada utlenianiu resztek substancji organicznej zawartej w obu preparatach.

#### Porównawcza charakterystyka preparatów komercyjnych i uzyskanych w ramach tej pracy

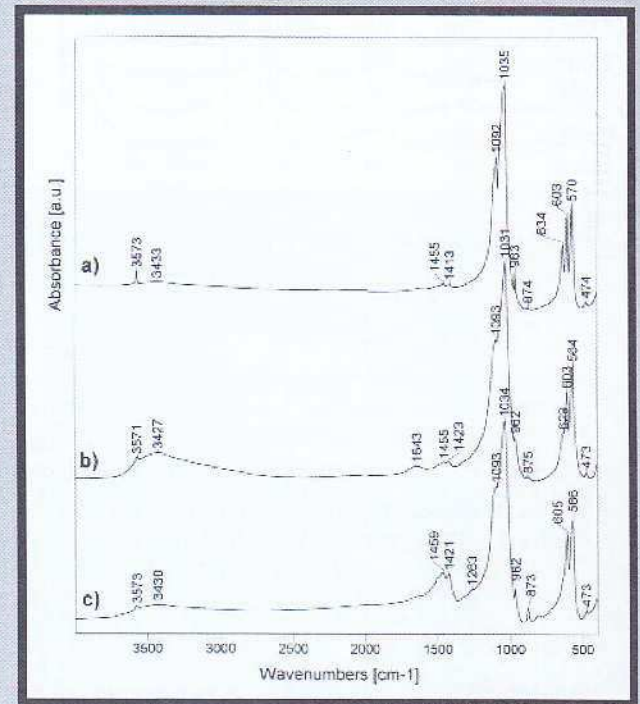
Kolejna ilustracja (RYS. 9) przedstawia widma w podczerwieni komercyjnych preparatów hydroksyapatytowych.

Preparat Sample	Elektromet	Mitsubishi	Bio-Oss	HAp (woł.) HAp (bovine)	HAp (wieprz.) HAp (pig)
Powierzchnia właściwa Specific surface area, [ $\text{m}^2/\text{g}$ ]	0,4	69,8	59,5	79,7	71,4

TABELA 2. Powierzchnia właściwa preparatów hydroksyapatytowych.  
TABLE 2. Specific surface area of the hydroxyapatite samples.

case in the Bio-Oss material which is known to be produced of bovine bones. In TABLE 2 specific surface areas of all powders, determined by the nitrogen adsorption, are shown. Except of the Elektomet powder all other show high specific surface area. It allows us to rate them among nanometric powders (cf. FIG.8).

TABLE 3 shows results of chemical analyses the materials. Additional bovine and pig origin bones, coming from different delivery source (marked \*), were also tested in order to gain information on the changeability of these material.



RYS. 9. Widma transmisyjne w podczerwieni komercyjnych proszków hydroksyapatytowych. a-Sp.Elektromet, b-Mitsubishi, c-Bio-Oss.

FIG. 9. Transmission infrared spectra of commercial hydroxyapatites: a-Elektromet, b-Mitsubishi, c-Bio-Oss.

As it was pointed out, the essential difference between synthetic and natural hydroxyapatite lies in that the latter contains carbonate groups. Chemical analyses show another two differences. The Ca/P ratio in case of natural HAP is higher than that of the synthetic ones. The latter is closer to the stoichiometric material. Natural HAP contains Mg which is lacking in the synthetic material.



Preparat Sample	Elektromet	Mitsubishi	Bio-Oss	HAp(wol.) HAp (bovine)	HAp*(wol.) HAp* (bovine)	HAp (wieprz.) HAp (pyg.)	HAp* (wieprz.) HAp* (pyg.)
CaO	55,71	51,65	51,59	51,76	52,25	51,37	52,21
MgO	śl., traces	0,05	0,98	0,55	0,41	0,62	0,47
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	42,74	38,88	38,35	38,37	38,29	37,76	38,71
Ca/P	1,66	1,68	1,70	1,71	1,73	1,72	1,71

Są to: produkt firmy Elektromet (Rzeszów), firmy Mitsubishi (Ja-ponia) oraz Preparat Bio-Oss szwajcarskiej firmy Geistlich Biomaterials. Jak łatwo zauważyć syntetyczne preparaty (a-Elektromet i b-Mitsubishi) pozbawione są niemal całkowicie grup węglanowych. Odróżnia je to od preparatu Bio-Oss, o którym wiadomo, że produkowany jest na bazie kości wołowych. Wyniki pomiarów powierzchni właściwej preparatów otrzymanych w tej pracy i produktów komercyjnych przedstawiono w TABELI 2. Oznaczenia wykonano metodą adsorpcji azotu w temperaturze ciekłego azotu (BET). Za wyjątkiem preparatu firmy Elektromet pozostałe próbki charakteryzują się dużym rozwinięciem powierzchni. Pozwala to, łącznie z pomiarami wielkości kryształitów (RYS.8) zakwalifikować je do klasy proszków nanometrycznych.

TABELA 3 zawiera wyniki analiz chemicznych opisywanych dotychczas preparatów. Ponadto analizie poddano dodatkowe, pochodzące z innej dostawy, próbki naturalnych hydroksyapatytów (oznaczono je \*). Miało to na celu uzyskanie wstępnej informacji o zmienności tego materiału. Jak wspomniano istotna różnica pomiędzy badanymi przez nas preparatami syntetycznymi i naturalnymi polega na obecności w tych ostatnich grup węglanowych. Wyniki analiz chemicznych wskazują na kolejne różnice: naturalne hydroksyapatyty wykazują wyższy stosunek Ca/P niż syntetyczne a ponadto zawierają pewien udział magnezu, nieobecny w materiałach syntetycznych.

## Podsumowanie i wnioski

Przedstawiona w pracy technika pozwala na ekstrakcję hydroksyapatytu z kości zwierzęcych. Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy materiałem z kości wołowych i wieprzowych. Rozmiar kryształitów naturalnego hydroksyapatytu leży w zakresie setnych części mikrometra. Jest to więc materiał nanometryczny. Naturalny hydroksyapatyt charakteryzuje się obecnością grup węglanowych, nieobecnych w badanych przez nas preparatach syntetycznych, chociaż znana jest metoda syntezy tzw. węglanowego HAp [7]. Kolejną cechą odróżniającą HAp syntetyczny od naturalnego jest obecność w tym ostatnim magnezu. Oba materiały syntetyczne są pozbawione tego pierwiastka. Z próbek pochodzenia zwierzęcego podczas ogrzewania wydziela się CaO jednak bez rozkładu samego hydroksyapatytu. Z punktu widzenia potencjalnych zastosowań medycznych tlenek wapniowy jest składnikiem szkodliwym. Można go jednak usunąć poprzez przemywanie materiału wodą destylowaną.

## Podziękowania

Pracę tę wykonano w ramach projektu badawczego PBZ-KBN-082/T08/2002 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji.

TABELA 3. Analizy chemiczne preparatów hydroksyapatytowych.

TABLE 3. Chemical analyses of hydroxyapatite samples.

## Summary and conclusions

The presented preparation route allows us to extract hydroxyapatite from the animal bones. No essential difference between bovine and pig bones have been noticed. Crystallite sizes of the natural HAp classify it to be a nanometric material. Natural HAp contains carbonate groups lacking in the studied by us synthetic materials, although it must be emphasized that there are known synthesis routes [7] leading to the so called carbonate HAp. Natural HAp contains small fractions of magnesium which is not present in the synthetic material. Calcium oxide, undesirable in a biomaterial, appears when natural HAp is calcined at higher temperatures. It can easily be removed by washing the material with water.

## Acknowledgements

This work was supported by research grant PBZ-KBN-082/T08/2002.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] B.-S. Chang, C.-K. Lee, K.-S. Hong, H.-J. Youn, H.-S. Ryun, S.S. Chung, K.-W. Park: "Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configuration" *Biomaterials* 21 (2000) 1291-1298.
- [2] L.L. Hench: "Biomaterials: from concept to clinic" *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991) 1487-1510.
- [3] H. Aoki: "Science and medical applications of hydroxyapatite" Japanese Association of Apatite Science, Tokyo 1991.
- [4] W.L. Suchanek, M. Yoshimura: "Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as a hard tissue replacement implants", *J. Mater. Res.* 13 (1998) 94-117.
- [5] W.L. Suchanek, H. Suda, M. Kakihana, M. Yoshimura: "Biocompatible whiskers with controlled morphology and stoichiometry" *J. Mater. Res.* 10 (1995) 521-529.
- [6] A. Ślósarczyk: "Bioceramika hydroksyapatytowa" *Prace Komisji Nauk Ceramicznych PAN, Polski Biuletyn Ceramiczny* Nr 1, Ceramika 51, Kraków 1997.
- [7] W.L. Suchanek, P. Shuk, K. Byrappa, R.E. Riman, K.S. TenHuisen, V.F. Janas: "Mechanochemical-hydrothermal synthesis of carbonated apatite powder at room temperature" *Biomaterials* 23 (2002) 699-710.
- [8] K. Haberko, M. Haberko, W. Pyda, Z. Pedzich, J. Chłopek, W. Mozgawa, M. Bućko, B. Sawicki: "Sposób otrzymywania naturalnego hydroksyapatytu z kości zwierzęcych" projekt wynalazczy P-359960 z mocą od dnia 05.05.2003.
- [9] V.C. Farmer: *The infrared Spectra of minerals*, Mineralogical Society Monograph 4, Mineralogical Society 41 Queen's Gate, London 1974.