

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра материаловедения, технологии
и управления качеством

**Синтез субмикронных частиц карбоната кальция и капсуляция красящих
веществ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 21 группы
направления 22.03.01. «Материаловедение и технологии материалов»
факультета нано- и биомедицинских технологий
Шатских Оксаны Владимировны

Научный руководитель
доцент, к.х.н.

должность, уч. степень, уч. звание

О.А. Иноземцева

инициалы, фамилия

Заведующий кафедрой
профессор, д.ф.-.м.н.

должность, уч. степень, уч. звание

С.Б. Вениг

инициалы, фамилия

Саратов 2016 год

Введение

Карбонат кальция (CaCO_3) является одним из наиболее распространенных минералов. В природе карбонат кальция встречается в виде трех полиморфных модификаций: кальцита – кубической формы с ромбоэдрической кристаллической решеткой, арагонита – иглообразных кристаллов с орторомбической решеткой и ватерита – кристаллов сферической формы с гексагональной решеткой. Неорганические микрочастицы на основе карбоната кальция привлекают широкий интерес в различных научно-исследовательских и прикладных областях благодаря их биосовместимости, биоразлагаемости, высокой удельной площади поверхности и простоте получения. Ватерит, являясь наименее стабильной разновидностью карбоната кальция, привлекает значительный интерес исследователей [1]. Одним из основных преимуществ этих минеральных структур для биомедицинских применений является их химический состав, напоминающий неорганического фазу твердых тканей, таких как кости и зубы [2], что дает возможность использования кристаллов CaCO_3 , а также содержащих их композитов для восстановления и роста костной ткани [3-5]. Кроме того, способность этих пористых частиц инкапсулировать активные вещества является существенным преимуществом для их применения в качестве средств доставки и высвобождения биологически активных молекул, в том числе, реализующих пролонгированное действие [6].

Тем не менее, все эти работы проводились с частицами микронных размеров, так как изготовление наноконтейнеров на основе карбоната кальция достаточно проблематично в силу их нестабильности и склонности к агрегации и перекристаллизации в стабильный кальцит.

В связи с актуальностью указанной проблемы целью данной работы является получение частиц ватерита субмикронных размеров, характеристика их дисперсного состава и капсуляция в их объем модельных макромолекул.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить следующие задачи:

1) Проведение анализа современной периодической литературы, посвященной синтезу, свойствам и применению частиц карбоната кальция, в частности ватерита.

2) Характеризация полученных частиц ватерита с использованием сканирующей электронной микроскопии в качестве контрольного метода.

3) Проведение дисперсионного анализа частиц ватерита на основе СЭМ микрофотографий образцов с помощью программного пакета ImageJ, включая создание инструкции по подсчету распределения по размерам.

4) Капсуляция модельного вещества – бычьего сывороточного альбумина, маркированного тетраметилизотиоцианатом (TRITC-BSA) в субмикронные частицы ватерита и характеризация их размерного распределения.

Данная выпускная квалификационная работа содержит три главы:

- 1 – Карбонат кальция. Свойства и получение частиц карбоната кальция.
- 2 – Материалы и методы.
- 3 – Результаты и их обсуждение.

Основное содержание работы

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи.

Первая глава содержит обзор литературы, в котором рассматриваются свойства частиц карбоната кальция, методы их получения, а также основные области применения. Приводятся методы оценки дисперсного состава неорганических частиц.

Вторая глава описывает использованные материалы, методы приготовления и характеристики образцов. Одним из методов характеристики образцов является программный пакет ImageJ. В данной работе предложен алгоритм проведения дисперсионного анализа на основе обработки микрофотографий частиц карбоната кальция, полученных с помощью сканирующего электронного микроскопа. В качестве характеристики их размера можно использовать диаметр.

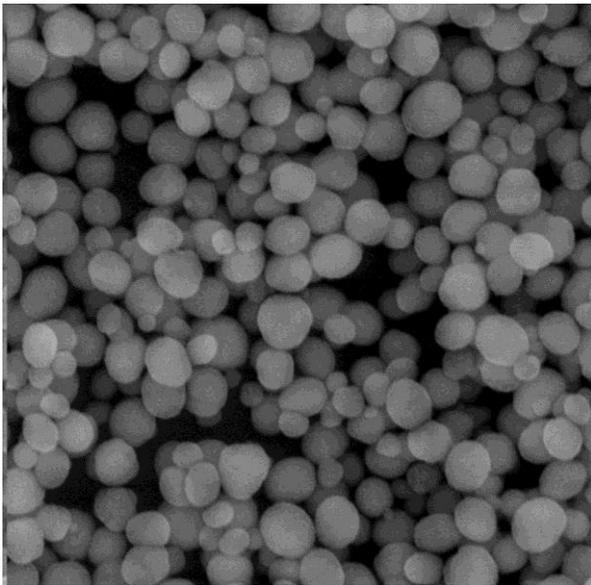
В третьей главе представлены результаты экспериментов по синтезу частиц карбоната кальция. Одной из основных задач данного раздела является исследование изменения распределения по размерам получаемых частиц во времени в отрезке 3-24 часа, а также исследование возможности инкапсуляции высокомолекулярных веществ в полученные нами субмикронные частицы ватерита.

Синтез субмикронного карбоната кальция в этиленгликоле

Общий метод синтеза субмикронных частиц заключается в смешивании растворов солей CaCl_2 Na_2CO_3 в различных средах.

Нами был проведен синтез частиц ватерита в среде, содержащей 83 % этиленгликоля, и исследовано изменение распределения по размерам получаемых частиц во времени в отрезке 3-24 часа.

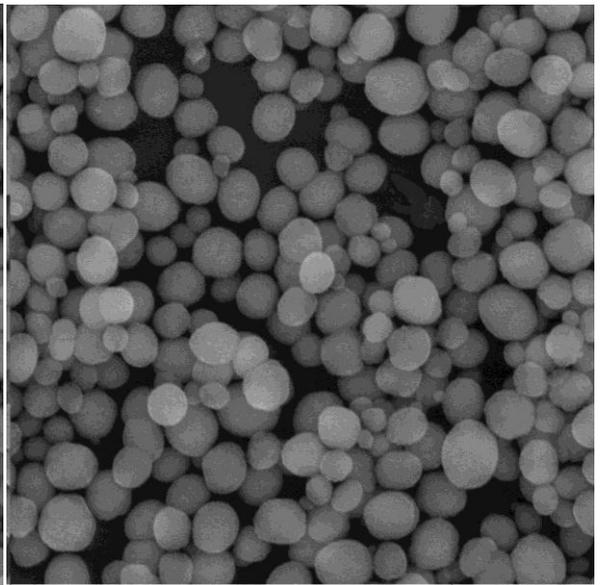
С помощью сканирующего электронного микроскопа были получены следующие фотографии частиц (Рисунок 1).



10 μ m

MIRAI TESCAN

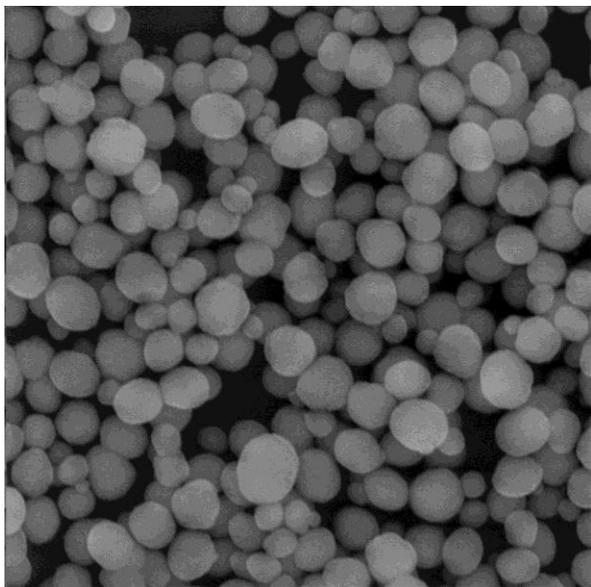
Performance in nanospace



10 μ m

MIRAI TESCAN

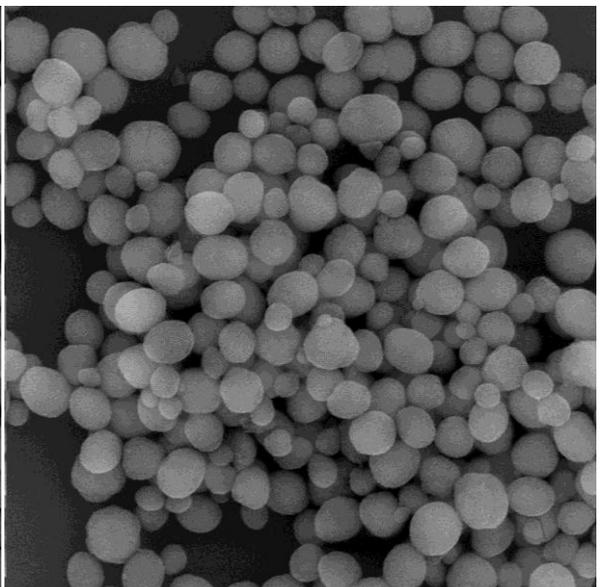
Performance in nanospace



10 μ m

MIRAI TESCAN

Performance in nanospace



10 μ m

MIRAI TESCAN

Performance in nanospace

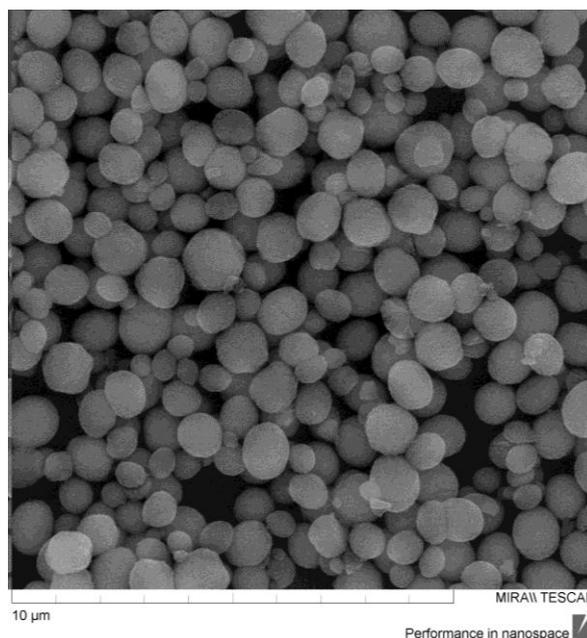


Рисунок 1 – Фотографии микрочастиц карбоната кальция в среде этиленгликоля (временной промежуток – 3,6,9,12,24 часа)

Была построена временная зависимость, для построения которой мы выбрали не среднее значение размера частиц, а размер частиц, максимально присутствующий во фракции (таблица 1) (максимальная массовая доля) – полученная зависимость представлена на рисунке 2.

Таблица 1 – Значения размера частиц для каждого временного отрезка

Время, ч	Размер частиц, максимально присутствующий во фракции, мкм
3	0,794
6	0,816
9	0,792
12	0,776
24	0,858

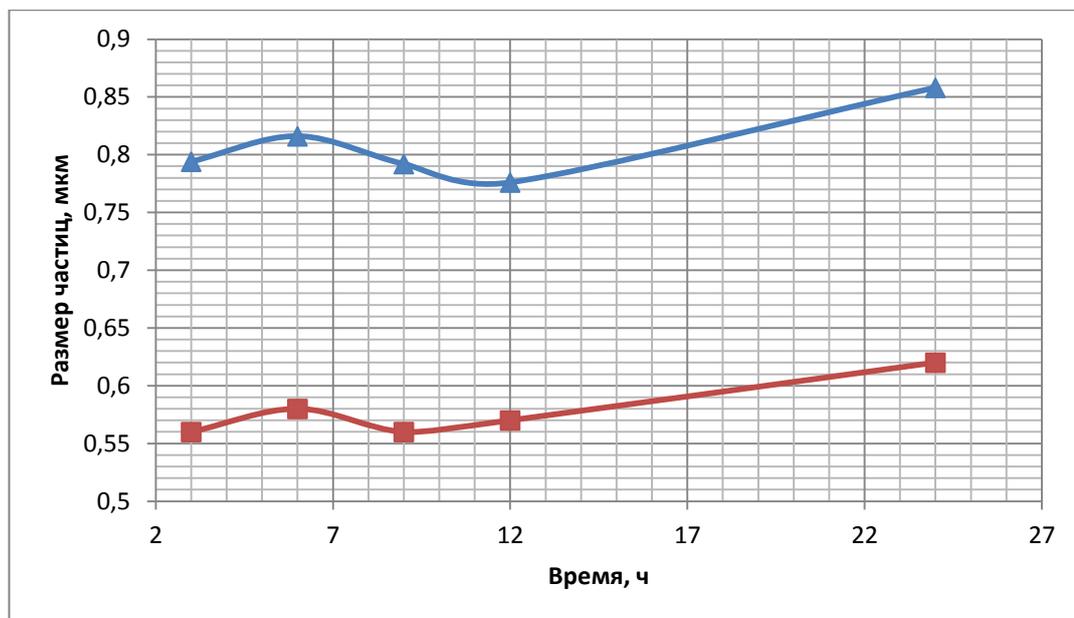


Рисунок 2 – Изменение параметров частиц во времени. Кривая с треугольными маркерами отражает изменения размера частиц, представляющего максимальное содержание во фракции образца. Кривая с квадратными маркерами представляет изменение полидисперсности частиц во времени (коэффициент вариации).

Для того, чтобы оценить насколько наши расчеты отражают реальную ситуацию, мы провели оценку полидисперсности полученных частиц.

Для характеристики степени полидисперсности исследуемой системы может использоваться коэффициент вариации (формула 1):

$$K_n = \frac{\sigma}{\bar{a}_n} 100\%, \quad (1)$$

где σ – стандартное отклонение, которое характеризует широту распределения частиц по размерам.

Полученные данные приведены в таблице 2 и представлены на рисунке 2 в виде кривой с квадратными маркерами.

Таблица 2 – Значения коэффициента вариации для каждого временного отрезка

Время, ч	Коэффициент вариации k_n
3	48,21
6	46,55
9	48,21
12	47,37
24	43,55

Синтез субмикронного карбоната кальция в глицерине

В ходе данной работы наряду с этиленгликолем был реализован синтез субмикронных частиц карбоната кальция в глицерине. Глицерин представляет собой более вязкую среду по сравнению с этиленгликолем.

С помощью сканирующего электронного микроскопа были получены микрофотографии частиц ватерита (рисунок 3). Из представленных изображений видно, что частицы имеют вытянутую форму вдоль одной из осей. Для характеристики параметров мы считали размер по двум осям. Большую ось обозначим – а, а малую ось – b.

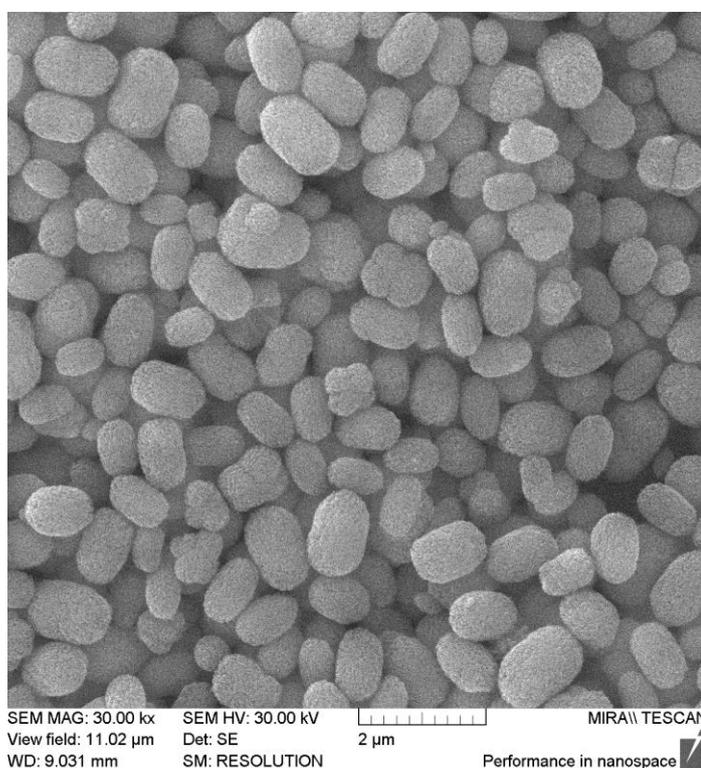


Рисунок 3 – Фотография микрочастиц карбоната кальция, полученных в среде глицерина

По данным ImageJ был получен средний размер частиц и стандартное отклонение. Построена гистограмма распределения частиц по размерам для оси а и б (Рисунок 4,5).

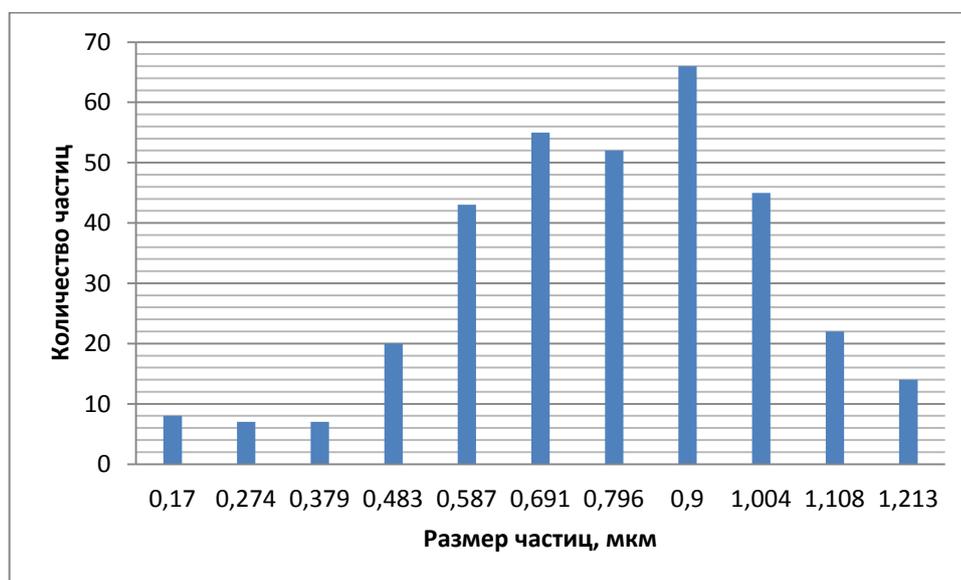


Рисунок 4 – Гистограмма распределения частиц по размерам для оси а

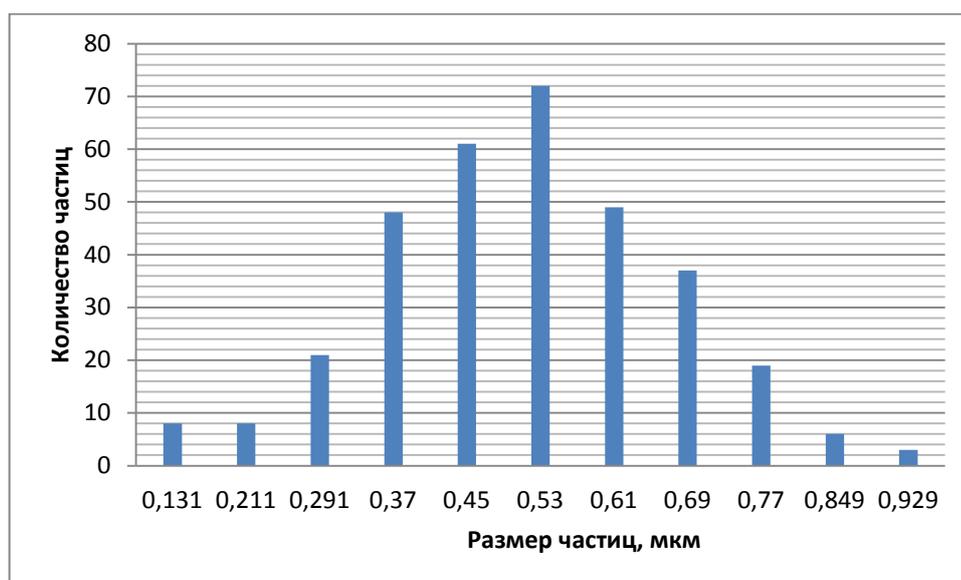


Рисунок 5 – Гистограмма распределения частиц по размерам для оси б.

Таким образом, частицы, полученные в среде глицерина, имеют размеры по большой оси ($0,836 \pm 0,230$) мкм, а по малой оси ($0,553 \pm 0,158$) мкм.

Синтез субмикронных частиц ватерита, содержащих инкапсулированное модельное вещество, в глицерине

Для исследования возможности инкапсуляции высокомолекулярных веществ в полученные нами субмикронные частицы ватерита, мы выбрали

бычий сывороточный альбумин, маркированный красителем родаминового ряда (TRITC – тетраметилродаминизотиоцианат).

С помощью сканирующего электронного микроскопа были получены микрофотографии частиц ватерита, содержащих TRITC-маркированный бычий сывороточный альбумин (рисунок 6). Размер частиц считали также по двум осям.

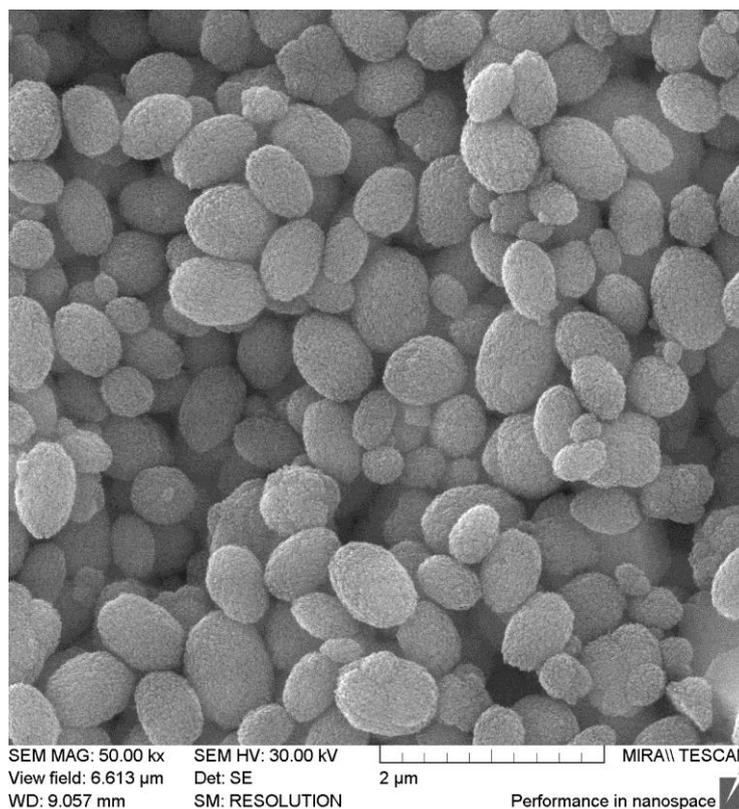


Рисунок 6 – Фотография микрочастиц карбоната кальция, содержащих инкапсулированный маркированный бычий сывороточный альбумин, в глицерине

По данным ImageJ был получен средний размер частиц и стандартное отклонение. Построена гистограмма распределения частиц по размерам для оси а и b (Рисунок 7,8) .

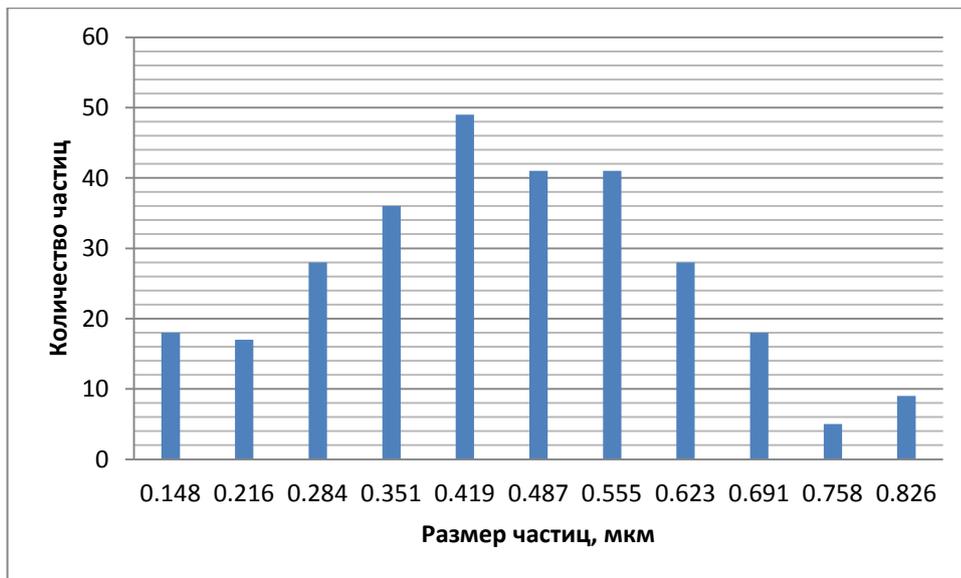


Рисунок 7 – Гистограмма распределения частиц по размерам для оси а

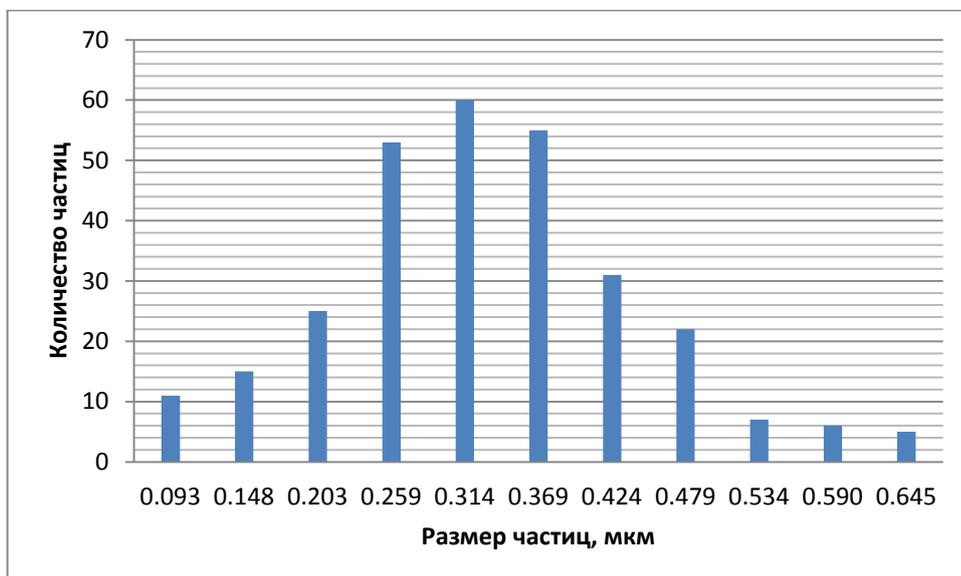


Рисунок 8 – Гистограмма распределения частиц по размерам для оси б

Таким образом, частицы, содержащие инкапсулированный маркированный белок, полученные в среде глицерина, имеют размеры по большой оси $(0,487 \pm 0,165)$ мкм, а по малой оси $(0,357 \pm 0,115)$ мкм.

Заключение

В ходе выполнения выпускной квалификационной работы были выполнены следующие задачи:

1) Проведен анализ современной периодической литературы, посвященной синтезу, свойствам и применению частиц карбоната кальция, в частности ватерита.

2) Охарактеризованы полученные частицы ватерита с использованием сканирующей электронной микроскопии в качестве контрольного метода.

3) Проведен дисперсионный анализ частиц ватерита на основе СЭМ микрофотографий образцов с помощью программного пакета ImageJ, включая создание инструкции по подсчету распределения по размерам.

4) Была продемонстрирована капсуляция модельного вещества – бычьего сывороточного альбумина, маркированного тетраметилизотиоцианатом (TRITC-BSA) в субмикронные частицы ватерита и характеристика их размерного распределения.

Нами был проведен синтез частиц ватерита в среде, содержащей 83 % этиленгликоля, и исследовано изменение распределения по размерам получаемых частиц во времени в отрезке 3-24 часа. Из полученных данных можно сделать вывод, что полученные образцы имеют достаточно высокую полидисперсность, которая незначительно улучшается со временем.

Как результат, мы продемонстрировали возможность инкапсуляции высокомолекулярного модельного вещества в субмикронные частицы ватерита, в среде глицерина. При этом было показано, что частицы, содержащие модельное вещество, имеют меньшие размеры и более низкую полидисперсность.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Wolf, G. Thermophysical Investigations of the Polymorphous Phases of Calcium Carbonate / G. Wolf, C. Gunther // Journal of thermal Analysis and Calorimetry. 2001, 65. P. 687-698.
2. Rhee, S. Synthesis of hydroxyapatite via mechanochemical treatment / S. Rhee // Bio-materials. 2002, 23. P. 1147–1152.
3. Hench, L. Biomaterials: a forecast for the future / L. Hench // Biomaterials. 1998, 19. P. 1419–1423.
4. Palazzo, B. Biomimetic hydroxyapatite–drug nanocrystals as potential bone substitutes with antitumor drug delivery properties / B. Palazzo, M. Iafisco, M. Laforgia etc. // Adv. Funct. Mater. 2007, 17. P. 2180–2188.
5. Roohani-Esfahani, S.-I. The influence hydroxyapatite nanoparticle shape and size on the properties of biphasic calcium phosphate scaffolds coated with hydroxyapatite-PCL composites/ S.-I. Roohani-Esfahani, S. Nouri-Khorasani, Z. Lu etc. // Biomaterials. 2010, 31. P. 5498–5509.
6. Paul, W. Ceramic drug delivery: a perspective / W. Paul, C. Sharma // J. Biomater. 2003, 17. P. 253–264.