

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

**Сумський державний університет**

Факультет технічних систем та енергоефективних технологій

Кафедра теоретичної та прикладної хімії

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Людмила ПОНОМАРЬОВА

1 грудня 2024 р.


**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на здобуття освітнього ступеня магістр**

зі спеціальності 102 «Хімія»,  
освітньо-професійної програми «Хімія»,  
на тему: «Сорбційні властивості біосумісних матеріалів щодо наночастинок металів».

Здобувача групи ПХ.м-31 Антонової Ганни Олександрівни

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

  
\_\_\_\_\_  
(підпис)

Ганна АНТОНОВА

Керівник доцент кафедри ТПХ, к.т.н., Большаніна С.Б.

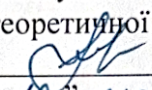
  
\_\_\_\_\_  
(підпис)

Суми – 2024

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
Сумський державний університет  
Факультет технічних систем та енергоефективних технологій  
Кафедра теоретичної та прикладної хімії

Спеціальність 102 „Хімія”  
Освітня програма „Хімія”

**ЗАТВЕРДЖУЮ:**

Завідувач кафедри  
теоретичної та прикладної хімії  
 Л.М. Пономарьова  
“ 10 ” жовтня 2024 р.

**ЗАВДАННЯ**  
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ МАГІСТРА

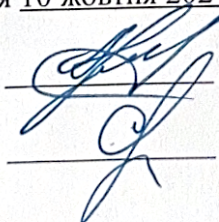
Студенту Антоновій Ганні Олександрівні Група ПХ.м.-31

1. Тема кваліфікаційної роботи: Сорбційні властивості біосумісних матеріалів щодо наночастинок металів.
2. Вихідні дані: зразки наночастинок срібла, оксиду цинка, міді, фізико-хімічні характеристики синтезованого гідроксиапатиту, результати мікробіологічного аналізу композитів.
3. Етапи виконання кваліфікаційної роботи:

№	Етапи і розділи кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1	Літературний огляд	10.08 2024	
2	Аналіз проблеми	10.09.2024	
3	Дослідження кінетики вивільнення наночастинок/іонів з композитного матеріалу GA-NPs.	10.10.2024	
4	Обговорення результатів аналізу	10.11.2024	
5	Оформлення роботи	01.12.2024	
6	Захист роботи	13.12.2024	

Дата видачі завдання 10 жовтня 2024 р.

Здобувач освіти



Антонова Г.О.

Керівник

Большаніна С.Б.

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота магістра складається зі вступу, 3 розділів і загальних висовків. Загальний обсяг роботи 92 сторінки, зокрема 25 рисунків, 12 таблиць, 83 літературних джерела, 1 додаток.

Предметом кваліфікаційної роботи магістра є композитні матеріали на основі гідроксиапатиту, модифіковані наночастинками срібла AgNPs, оксиду цинка ZnONPs та міді CuNPs.

Робота складається з трьох частин: 1 – Загальна характеристика гідроксиапатиту як синтетичного біоматеріалу; 2 – Синтез гідроксиапатиту та наночасток металів; 3 – Експериментальна частина.

Об'єкт дослідження: кінетика вивільнення іонів металів з композитного матеріалу.

Головна мета цієї кваліфікаційної роботи є створенні композитного матеріалу на основі ГА та дослідженні вивільнення з його поверхні в довготривалій перспективі наночастинок срібла AgNPs, оксиду цинка ZnONPs та міді CuNPs.

У роботі виконано (розроблено):

- 1) Синтезовано основу композитного матеріалу – гідроксиапатит;
- 2) Виготовлені зразки композитного матеріалу, що містить в своїй основі ГА із добавками наночастинок срібла AgNPs, оксиду цинка ZnONPs та міді CuNPs;
- 3) Досліджено кінетику вивільнення іонів металів з композитів, що містили наночастинки та порівняти ефективність десорбції.
- 4) Порівняно антимікробну здатність нанокompозитів.

Ключові слова: гідроксиапатит (ГА), наночастинки металів, наночастинки срібла (AgNPs), наночастинки оксиду цинку (ZnONPs), наночастинки міді (CuNPs), сорбційні властивості, композитний матеріал, кінетика вивільнення іонів, біосумісні матеріали.

## ABSTRACT

The master's qualification work consists of an entry, 4 sections, and general conclusions. The complete volume of the work is **92 pages**, including **25 figures**, **12 tables**, and a list of **83 literary sources**, **1 application**.

The purpose of master's qualification work: composite materials based on hydroxyapatite (HA), modified with silver nanoparticles (AgNPs), zinc oxide nanoparticles (ZnONPs), and copper nanoparticles (CuNPs).

**Work consists of four parts:** 1 – General characteristics of hydroxyapatite as a synthetic biomaterial; 2 – Synthesis of hydroxyapatite and metal nanoparticles; 3 – Experimental section.

**A research object is:** the kinetics of metal ion release from the composite material.

**The primary objective of this qualifying work is:** to create a composite material based on hydroxyapatite and investigate the long-term release of silver nanoparticles (AgNPs), zinc oxide nanoparticles (ZnONPs), and copper nanoparticles (CuNPs) from its surface.

**In this work is executed (developed):**

1. Synthesized the base of the composite material – hydroxyapatite.
2. Prepared composite material samples containing hydroxyapatite with added silver nanoparticles (AgNPs), zinc oxide nanoparticles (ZnONPs), and copper nanoparticles (CuNPs).
3. Investigated the kinetics of metal ion release from the composites containing nanoparticles and compared the desorption efficiency.
4. Compared the antimicrobial properties of the nanocomposites.

**Keywords:** hydroxyapatite (HA), metal nanoparticles, silver nanoparticles (AgNPs), zinc oxide nanoparticles (ZnONPs), copper nanoparticles (CuNPs), sorption properties, composite material, ion release kinetics, biocompatible materials.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	7
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІДРОКСИПАТИТУ ЯК СИНТЕТИЧНОГО БІОМАТЕРІЛУ .....	11
1.1. Загальна характеристика гідроксиapatиту. ....	11
1.2. Методи синтезу синтетичного гідроксиapatиту. ....	15
1.2.1. Сухий метод синтезу ГА.....	16
1.2.1.1. Твердофазний метод синтезу ГА.....	16
1.2.1.2. Механохімічний метод.....	17
1.2.2. Мокрий метод.....	19
1.2.2.1. Хімічне осадження.....	20
1.2.2.2. Гідротермальний метод синтезу.....	22
1.2.2.3. Гідроліз.....	24
1.2.3.1. Спалювання.....	26
1.2.3.2. Піроліз.....	28
1.3. Наночастинки (NPs) та їх загальна характеристика. ....	30
1.3.1. Наночастинки срібла (AgNPs).....	32
1.3.2. Наночастинки оксиду цинку (ZnONPs).....	33
1.3.2. Наночастинки міді (CuNPs).....	34
Висновки.....	35
РОЗДІЛ 2 СИНТЕЗ ГІДРОКСИПАТИТУ ТА НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ .....	36
2.1. Методи аналізу, які використовувалися в ході досліджень.....	36
2.1.1. Рентгенофазовий аналіз (XRD). ....	36
2.1.2. Растрова електронна мікроскопія (ТЕМ). ....	38
2.1.3. Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR).....	40

	6
2.1.4. Атомно-абсорбційна спектроскопія (AAS).....	42
2.2. МЕТОДИ ОБЧИСЛЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ .....	44
2.2.1. Програмний продукт Origin.....	44
2.2.2. Програмний продукт Microsoft Excel.....	45
2.3. СИНТЕЗ СТЕХІОМЕТРИЧНОГО ГІДРОКСИАПАТИТУ.....	46
2.4. СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК. ....	51
2.4.1. Синтез наночастинок срібла (AgNPs).....	51
2.4.2. Синтез наночастинок оксиду цинку (ZnONPs).....	53
2.4.3. Синтез наночастинок міді (CuNPs).....	56
Висновки.....	59
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА .....	60
3.1. Дослідження кінетики вивільнення наночастинок/іонів з композитного матеріалу GA-NPs .....	60
3.2. Обговорення. ....	66
3.3. Оцінка антимікробної активності наночастинок Ag та Cu.....	67
Висновки.....	76
ВИСНОВКИ .....	77
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	79
ДОДАТКИ.....	89

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГА – гідроксиапатит;

NPs – наночастинки;

SBF –розчин, який імітує плазму крові (The simulated body fluid composition);

XRD – рентгеноструктурний аналіз (X-Ray diffraction analysis);

AAS – атомно-абсорбційна спектроскопія (Atomic absorption spectrometry);

TEM – растрова електронна мікроскопію (Transmission electron microscopy);

FTIR – інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (Fourier Transform Infrared Spectroscopy);

ТКФ – трикальційфосфат;

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація.

## ВСТУП

Питання розробки та створення нових матеріалів для медичних цілей, заснованих на мінеральних компонентах кісткової тканини є надзвичайно актуальним, особливо під час війни.

Незважаючи на численні спроби, ідеальний матеріал для заміни кістки поки не створено. Матеріал, що найбільш часто використовують для імплантів – гідроксиапатит (ГА). Він має значну хімічну подібність до мінералів, що входять до складу кісток. Через ризик виникнення кісткових інфекцій після імплантацій та операцій, виникла необхідність у створенні місцевих антибактеріальних матеріалів. Кісткові інфекції кардинально змінюють результат одужання пацієнтів.

З іншого боку, поширення стійкості до антибіотиків у всьому світі значно знижує ефективність існуючих лікувальних підходів. Усе перераховане стимулює пошук нових підходів у лікуванні кісткових інфекцій.

Наночастинки металів (NPs) одночасно мають потенціал регенерації кісткової тканини та антибактеріальні властивості, що робить їх перспективним засобом відновлення кісткової тканини [1]. AgNPs ефективні проти широкого спектру бактеріальних патогенів, таких як *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* та *E. coli* [2, 3].

Наночастинки міді та оксиду міді пригнічують патогенні бактерії, такі як *K. pneumoniae*, *S. dysenteriae*, *S. aureus*, *S. typhimurium* та *E. coli*, які відповідають за сповільнене загоєння ран у людей.

Повідомляється, що розмір, морфологія та стабільність наночастинок, їх поєднання з неорганічними компонентами, сильно впливають на їх антимікробну активність [4].



Додавання іонів металів, наночастинок металів та їх оксидів до складу ГА дозволяє отримувати біоматеріали з антибактеріальними властивостями та з можливістю контрольованого і тривалого вивільнення іонів під час формування кісткової тканини.

ГА, збагачений наночастинами, може стати не тільки заміником кісткової тканини, а і ефективним варіантом для попередження інфекцій.

Дана робота присвячена створенню таких матеріалів-замінників кісткової тканини, що мають лікувальні і протизапальні властивості за рахунок присутності в їх структурі наночастинок металів.

Незважаючи на доведену ефективність комбінації ГА-NPs як антимікробного засобу, є чимало питань, які потребують подальшого вивчення перед широким впровадженням цього матеріалу в практику. Одним із ключових моментів є контрольоване вивільнення іонів  $Me^{n+}$  у довготривалій перспективі, що є важливим для забезпечення стійкого антимікробного ефекту цих композитів. Саме тому дослідження фізико-хімічних характеристик, механізмів та кінетики вивільнення іонів  $Me^{n+}$  є актуальними напрямками наукових досліджень.

Мета роботи полягає у створенні композитного матеріалу на основі ГА та дослідженні вивільнення з його поверхні в довготривалій перспективі наночастинок срібла AgNPs, оксиду цинка ZnONPs та міді CuNPs.

Перед собою ми поставили наступні завдання:

- 1) Синтезувати основу композитного матеріалу – гідроксиапатит;
- 2) Зробити зразки композитного матеріалу, що містить в своїй основі ГА із добавками наночастинок срібла AgNPs, оксиду цинка ZnONPs та міді CuNPs;
- 3) Дослідити кінетику вивільнення іонів металів з композитів, що містили наночастинок та порівняти ефективність десорбції.
- 4) Порівняти антимікробну здатність нанокompозитів.

*Об'єкт дослідження* – кінетика вивільнення іонів металів з композитного матеріалу.

*Предмет дослідження* – композитні матеріали на основі гідроксиапатиту, модифіковані наночастинками срібла AgNPs, оксиду цинка ZnONPs та міді CuNPs.

Для вивчення структури композитів та процесів десорбції з композитних матеріалів були використані такі фізико-хімічні методи аналізу: рентгеноструктурний аналіз (XRD), атомно-абсорбційна спектроскопія (AAS), растрова електронна мікроскопію (TEM) та інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR).

## РОЗДІЛ 1

### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІДРОКСИПАТИТУ ЯК СИНТЕТИЧНОГО БІОМАТЕРІАЛУ

#### 1.1. Загальна характеристика гідроксиapatиту.

Протягом останніх десяти років природні матеріали, які отримали назву біоматеріалів, поступово висвітлювалися в біологічних галузях. Однак поняття «біоматеріали» в матеріалознавстві та клінічній медицині може тлумачитися по-різному.

Біоматеріал - це синтетичний матеріал, який імплантують замість живої тканини для відновлення нормальних фізіологічних функцій. Цей тип синтетичної речовини має певну біологічну активність.

Біоматеріали поділяються на дві категорії: природні (колаген, еластин і гелеутворювачі) та штучні (метали, сплави, кераміка, композити і полімери [6]).

Взаємозв'язок між структурою, властивостями, методами отримання та функціями застосування матеріалів досліджує матеріалознавство - міждисциплінарна галузь, яка займається розпізнаванням і використанням властивостей матеріалів. Вона охоплює різні матеріали, серед яких біоматеріали є одними з найбільш важливих та корисних [7].

Біокерамічні матеріали готують у різних фазах для отримання необхідних властивостей і функцій. Це можуть бути монокристали (сапфір), полікристалічне скло (біоскло), склокераміка (апатит/воластоніт) або композити (поліетилен/ГА) [8]. На сьогоднішній день доступна біокераміка на основі ортофосфату кальцію.

У літературі повідомляється про промислову та сільськогосподарську кваліфікацію його найважливіших зразків, керамічних біоматеріалів, зосереджуючись на ортофосфатах кальцію.

Найпопулярнішими представниками ортофосфатів кальцію є гідроксиapatит та трикальційфосфат [9].

Однією з перших публікацій, у якій розглядається біомедичне застосування гідроксиапатиту, стала робота Левітта та його колег (1969 р.), де описано, як вони за допомогою гарячого пресування надавали гідроксиапатиту форми, придатні для біологічних експериментів. Ця рання праця, що висвітлювала матеріалознавчі аспекти природного біомінералу, стала основою для численних досліджень, що сьогодні налічують тисячі публікацій.

Насправді, імплантат з перламутру, описаний в розділі передісторії, може завдячувати своєю ефективністю саме гідроксиапатиту, оскільки було показано, що карбонат кальцію перламутру може перетворюватися у фосфатних розчинах на гідроксиапатит [10].

Гідроксиапатит (ГА) – це різновид кераміки, що належить до родини апатитів. Назва "апатит" походить від грецького слова “apatite”, що означає “обманка”. Таку назву він отримав через свою варіативність за формою та кольором [11].

Апатитом називають групу сполук, що мають молекулярну густину від  $3,16 \times 10^{-3}$  до  $3,14 \times 10^{-3}$  г/мм<sup>3</sup> і мають формулу  $Y_{10}(ZO_4)_6X_2$ . У формулі  $Y_{10}(ZO_4)_6X_2$ , Y позначає катіон двовалентного металу ( $Ca^{2+}$ ), а Z, відповідно - катіон п'ятивалентного фосфору ( $P^{5+}$ ), а X - аніонний радикал, зокрема, один з  $Cl^-$ ,  $F^-$  або  $OH^-$  [12].

Гідроксиапатит майже ідентичний неорганічному компоненту кісток і зубів, що робить його особливо цінним матеріалом. Завдяки високій біосумісності, термічній стабільності, значній біологічній активності та відсутності токсичності, його широко застосовують у біомедицині. Однак через низькі механічні властивості його використання в ортопедії обмежене. До того ж, гідроксиапатит здатний взаємодіяти зі сторонніми іонами, що сприяє покращенню його біосумісності, механічних характеристик та мікроструктури [13, 14].

Саме з цієї причини дослідники приділяють увагу матеріалам для імплантатів, які вже були успішно використані для відновлення та заміни пошкоджених скелетних тканин.

Гідроксиапатит є одним з найбільш вивчених матеріалів, що застосовується для відновлення кісткової тканини та виготовлення протезів. Це природний мінерал, що є складовою частиною кісткової тканини, а також синтезований матеріал, який має широке медичне застосування. Гідроксиапатит можна легко синтезувати у вигляді порошку.

Перед використанням цього матеріалу в медичних цілях дослідники повинні ретельно вивчити його хімічні, фізичні, біологічні, структурні та механічні властивості. Мінерал гідроксиапатит ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) є важливим компонентом сімейства ортофосфатів кальцію. Він володіє видатними властивостями діелектричної та біологічної сумісності, діамагнітними властивостями, термостійкістю, остеопродністю та біологічною активністю. Молярне співвідношення Ca/P у ньому становить 1,67, а ідеальне молярне співвідношення для ГА дорівнює 10/6. Розрахована щільність матеріалу становить 3,219 г/мл [15].

Оскільки ГА має хімічний склад, дуже подібний до складу природних кісток і зубів, він має потенціал для використання в якості матеріалу для імплантації імплантатів у зламані частини скелетної системи людини. У зв'язку зі зростаючим застосуванням ГА в медицині, було відкрито багато методів отримання його наночастинок. Умови отримання синтезованих ГА визначають їх фізико-хімічні характеристики, кристалічну структуру та форму [16].

Синтетичні матеріали ГА мають вищу кристалічність та структурну стабільність, ніж природний кістковий апатит, що негативно впливає на розвиток кістки та руйнування синтетичних матеріалів [17]. Додавання мікроелементів, що містяться у справжній кістці, до синтетичного гідроксиапатиту може знизити кристалічність та структурну стабільність ГА, водночас покращуючи деградацію та біологічні показники [18].

Біоактивність гідроксиапатиту є однією з його ключових характеристик і забезпечує потенціал для стимулювання розвитку та регенерації кісток. Час, необхідний для відновлення пошкоджень, спричинених гідроксиапатитом, значно менший, ніж для пошкоджень, викликаних іншими макророзмірними біоматеріалами подібного типу, завдяки високій біоактивності гідроксиапатиту та покращеній здатності до резорбції. При температурі 1200°C утворюється фаза гідроксиапатиту, однак при температурах, що перевищують цю величину, він розкладається на іншу фазу, відому як ТКФ (трикальційфосфат) [19].

## 1.2. Методи синтезу синтетичного гідроксиапатиту.

Синтетичний ГА може бути синтезований за допомогою декількох методів, які були класифіковані як сухі, мокрі та високотемпературні методи [20].

Окрім чистого кристалічного гідроксиапатиту, кожен із цих методів дозволяє синтезувати фосфат кальцію з різними розмірами, морфологією та кристалічними фазами. Характеристики гідроксиапатиту суттєво впливають на його біоактивність, а також на механічні та біологічні властивості. За словами Кокс [21], ці характеристики визначають біомедичне застосування гідроксиапатиту, що робить розробку методів синтезу, які можуть контролювати морфологію, кристалічність, розмір і хімічний склад ГА, надзвичайно важливою.

Отже, вивчення кожного методу синтезу є необхідним для того, щоб зробити висновки щодо їхніх відмінностей і складності. На рисунку 1 наведено методи, які застосовуються для синтезу синтетичного гідроксиапатиту.

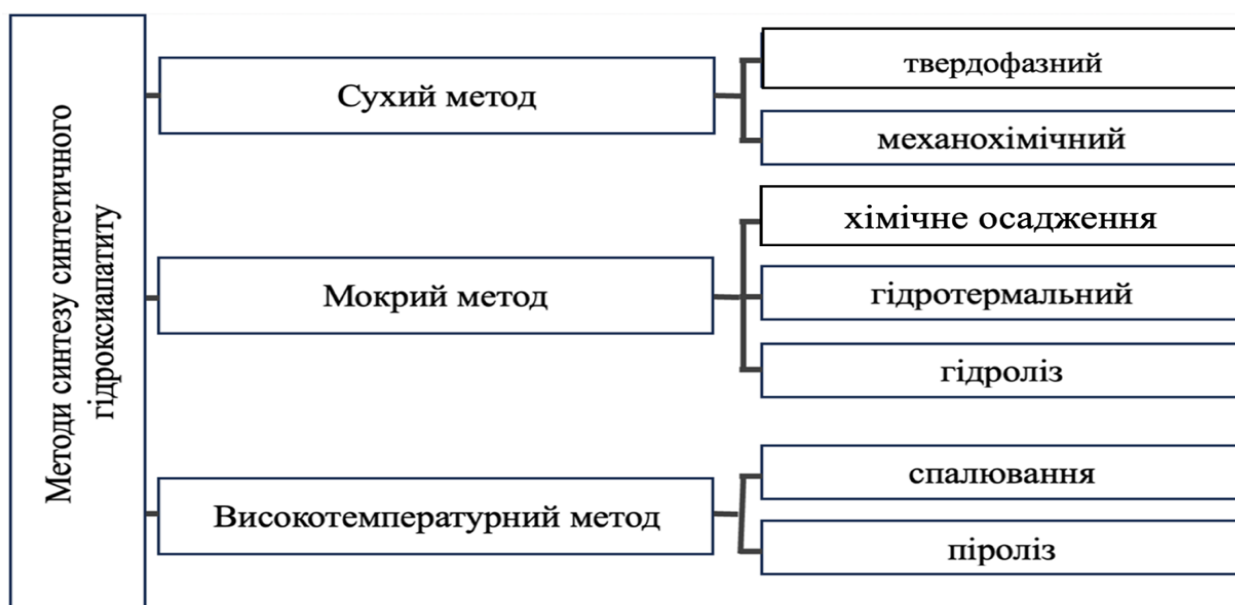


Рис.1.1. – Методи синтезу синтетичного гідроксиапатиту.

### 1.2.1. Сухий метод синтезу ГА.

Синтез ГА за допомогою сухого методу можна класифікувати як два різні методи, а саме: твердофазний і механохімічний. У сухому методі, хімічні речовини-прекурсори (кальцій і фосфат), які знаходяться в сухій формі, змішуються для синтезу ГА. Вчені повідомляють, що більшість сухих методів не потребують точних і контрольованих умов. Це робить їх придатними для масового виробництва порошків [20].

#### 1.2.1.1. Твердофазний метод синтезу ГА.

Твердофазний метод визначають як реакцію розкладання змішаного твердого реагенту при нагріванні з утворенням нових твердих речовин і газів [22]. Твердофазний метод розглядається як простий метод, в якому хімічні прекурсори, що містять кальцій і фосфат, подрібнюються і прожарюються для отримання ГА. Згідно з Кокс [6], механізм цього методу полягає в твердій дифузії іона з хімічних прекурсорів (кальцію і фосфату) з подальшим високотемпературним процесом для ініціювання реакції [21]. Праманік та ін. [23] показали, що за допомогою цього методу прекурсори кальцію (CaO) і фосфату (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) хімічно поєднуються, утворюючи гексагональну структуру ГА [8]. Рентгенофазовий аналіз (XRD) підтверджує, що більша частина піків зразка відповідає монетиту (CaPO<sub>3</sub>(OH)) і дефіцитному кальцію ГА (Ca<sub>9</sub>(HPO<sub>4</sub>)(PO<sub>4</sub>)<sub>5</sub>OH). Можна зробити висновок, що за допомогою твердофазного методу можна виявити багато кальцій-фосфатних фаз [20].

У таблиці 1 наведено результати деяких досліджень, в яких використовувався твердофазний метод синтезу ГА.



Таблиця 1.1. – Твердофазний метод синтезу гідроксиапатиту [24].

Метод	Джерело Са/Р	Результат
Твердофазний	CaO, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Монетит і кальційдефіцитний ГА
	β-ТКФ, Ca(OH) <sub>2</sub>	ГА (Хімічне співвідношення 3:2 і 3:3 при 1000° С)
	CaCO <sub>3</sub> , CaHPO <sub>4</sub>	ГА (1300° С)
	CaCO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	91,23% ГА, 5,27% ТКФ, 3,50% СаО (1250°С протягом 2 годин спікання)

#### 1.2.1.2. Механохімічний метод.

Механохімічний метод - це метод, який використовує стиснення, зсув або тертя через подрібнення та фрезерування для індукування хімічних перетворень. [25].

Механохімічні методи зазвичай використовують кульові або планетарні млини з певною швидкістю або частотою обертання. Під час механохімічної реакції відбувається сильне ударне стиснення [26] та підвищення локальної температури [27], що сприяє протіканню хімічної реакції та посилює процес дифузії [28]. Для того, щоб подолати обмеження в контролі повітря і чутливої до вологи речовини, механохімічний метод зазвичай проводять у герметичній посудині, яка виготовлена з таких матеріалів, як нержавіюча сталь, агат, цирконій тощо [25]. Вчені [20] стверджують, що механохімічний метод дає чітко визначену структуру ГА, порівняно з твердофазним методом, який дає гетерогенну частинку з неправильною формою.

Було вивчено кілька змінних в механохімічному методі, включаючи швидкість, час подрібнення і співвідношення мас порошку і кульки.

Також були дослідження, [29, 30] де використовували механохімічний метод для синтезу фторованого ГА шляхом механічного легування. Гідроксид кальцію ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), оксид п'ятивалентного фосфору ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) та фторид кальцію ( $\text{CaF}_2$ ) механічно змішували за допомогою високоенергетичного планетарного кульового млина з цирконієвою камерою та кульками при температурі навколишнього середовища. Процес подрібнення проводився на різних етапах часу (15 хв, 30 хв, 60 хв, 2 год, 4 год, 6 год, 8 год, 10 год, 15 год) при постійному співвідношенні ваги куль до порошку (35:1) і швидкості обертання 300 об/хв. Рентгенофазовий аналіз зразків показав, що фаза гідроксиду кальцію повністю зникла після 15 хв подрібнення, а фаза  $\text{CaF}_2$  була повністю усунена після 30 хв, що вказує на початок формування апатиту. Повне перетворення фторапатиту відбулося після 6 годин розмелювання [30].

Розмір частинок фторапатиту ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ) коливався від 35 до 65 нм. Таким чином, цей механохімічний метод дозволяє отримувати нанорозмірний фторапатит з високою чистотою. Результати рентгенофазового аналізу показали, що збільшення часу подрібнення призводить до подальшого зростання кристалічності гідроксиapatиту. Крім того, нанорозмірний гідроксиapatит був отриманий після більше ніж 20 годин розмелювання, при цьому середній розмір частинок становив 25 нм після 25 годин подрібнення [29].

Таким чином, можна дійти висновку, що для синтезу гідроксиapatиту застосовували різноманітні кальцієві та фосфатні прекурсори. Збільшення тривалості механічної активації сприяє формуванню гідроксиapatиту, що підтверджується результатами досліджень. Вони показують, що подовження часу подрібнення не лише підвищує рівень кристалічності матеріалу, але й зменшує розмір його частинок. Механохімічний метод синтезу гідроксиapatиту представлений у таблиці 1.2.

Таблиця 1.2. – Механохімічний метод синтезу ГА [24]

Метод	Джерело Са/Р	Результат
Механохімічний	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ , $\text{CaF}_2$ , $\text{P}_2\text{O}_5$	Фторapatит (6 год) з розміром від 35 до 65 нм
	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , $\text{CaCO}_3$	ГА
	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , $\text{CaCO}_3$ , $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$	Карбонізований ГА (1 год) Розмір: 50-150 нм в довжину і 8 нм в ширину після фрезерування протягом 24 годин
	$\text{CaHPO}_4$ CaO	ГА (>20-25 год) з розміром близько 25 нм

### 1.2.2. Мокрий метод.

Мокрий метод синтезу гідроксиapatиту полягає у використанні водних розчинів у процесі його отримання. До найбільш поширених мокрих методів, що використовуються для синтезу гідроксиapatиту, відносяться хімічне осадження, гідроліз та гідротермічні методи. Ці методи дозволяють контролювати морфологію та середній розмір порошку. Однак, незважаючи на свої переваги, вологі методи мають і певні недоліки, серед яких—низька кристалічність гідроксиapatиту, що зумовлено використанням низьких температур обробки. [20].

### 1.2.2.1. Хімічне осадження.

Метод хімічного осадження є одним із найпоширеніших і найефективніших способів синтезу гідроксиапатиту. Цей метод користується великою популярністю завдяки своїй економічності та здатності отримувати значні обсяги гідроксиапатиту за помірну вартість [31].

Метод хімічного осадження зазвичай складається з кількох етапів. Спочатку змішують реагенти, що містять кальцій та фосфати, наприклад, гідроксид кальцію або нітрат кальцію як джерело  $\text{Ca}^{2+}$  і ортофосфорну кислоту або діамоній гідрофосфат як джерело  $\text{PO}_4^{3-}$ , з урахуванням молярного співвідношення для гідроксиапатиту. Потім суміш доводять до потрібного рівня рН, який зазвичай має лужний характер, а температура варіюється від кімнатної до температури кипіння води. [32, 33]. Далі розчин перемішують з метою витримки, і, нарешті, промивають, фільтрують і висушують перед тим, як подрібнити до порошкоподібної форми [5].

Ще в одному дослідженні [34] використовували мокре хімічне осадження, варіюючи три параметри процесу, такі як температура реакції ( $30^\circ\text{C}$ ,  $50^\circ\text{C}$  і  $85^\circ\text{C}$ ), швидкість додавання кислоти (повільна і висока швидкість додавання кислоти) та температура термообробки ( $950^\circ\text{C}$  і  $1250^\circ\text{C}$ ) з метою отримання ГА. Процес реакції гідроксиду кальцію ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) та ортофосфорної кислоти ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) супроводжувався процесами дозрівання, декантації та сушіння. Результати показали, що осади за всіх параметрів успішно набули сферичної морфології ГА [34].

Результат рентгенофазового аналізу показав, що термообробка при  $1250^\circ\text{C}$  утворює шейперні піки, що свідчить про більш кристалічну структуру порівняно з термообробкою при  $950^\circ\text{C}$  [35].

Таким чином, метод хімічного осадження вимагає дотримання кількох важливих технологічних параметрів для синтезу ГА. По-перше, хімічний прекурсор повинен бути підібраний відповідно до молярного співвідношення ГА.

Незбалансоване мольне співвідношення хімічного прекурсору може призвести до утворення іншої сполуки. По-друге, рН суміші є важливим фактором, який впливає на виробництво ГА. Більшість досліджень присвячено вивченню оптимального рН, який може бути використаний під час синтезу ГА [35].

У таблиці 3 наведено кілька попередніх досліджень, в яких для синтезу ГА використовували методи хімічного осадження.

Таблиця 1.3. – Метод хімічного осадження для синтезу ГА [24].

Метод	Джерело Са/Р	Результат
Хімічного осадження	$\text{CaCl}_2, \text{H}_3\text{PO}_4$	ГА сферичної форми та розміром частинок в діапазоні 0,2-1,6 мм
	$\text{Ca}(\text{OH})_2, \text{H}_3\text{PO}_4$	Стрижнеподібні, з довжиною приблизно 200 нм і діаметром 50 нм.
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	Майже сферичні, з розміром частинок 8-20 нм в діаметрі
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O},$ $\text{Na}_3\text{PO}_4$	Короткі нанострижні, діаметром 1,9-14,2 нм і довжиною 4,0-36,9 нм

### 1.2.2.2. Гідротермальний метод синтезу.

Гідротермальний метод можна визначити як метод реакції у водних середовищах, в яких тиск і температура перевищують тиск і температуру навколишнього середовища [36]. Гідротермальний метод синтезу гідроксиапатиту передбачає використання високих температур і тиску для прискорення хімічних реакцій в розчині, що містить прекурсор кальцію та фосфату. Цей процес зазвичай проводиться в умовах високого тиску та температури, наприклад, в автоклаві або спеціальних посудинах під тиском. Підвищення тиску та температури збільшує реакційну здатність, а ефект конденсації сприяє формуванню хімічних зв'язків і утворенню ядер, що дозволяє отримувати відносно стехіометричний та висококристалічний гідроксиапатит [37].

Вчені [38] використовували гідротермальний метод для синтезу ГА шляхом змішування хлориду кальцію ( $\text{CaCl}_2$ ) і прекурсорів фосфорної кислоти. Розчин суміші піддавався гідротермальній реакції при температурі  $100^\circ\text{C}$  протягом 10 годин. Результати рентгенофазового аналізу свідчать про високу чистоту ГА. Морфологія ГА має стрижневу форму і приблизно 80 нм завдовжки і 15 нм завширшки [38].

Таким чином, гідротермальний метод дозволяє отримувати ГА з вищою кристалічністю порівняно з методом хімічного осадження. Більше того, цей метод дозволяє синтезувати контрольований розмір і морфологію порошку ГА.

У таблиці 1.4. наведено кілька досліджень, які використовували гідротермальний метод для синтезу ГА.

Таблиця 1.4. – Гідротермальний метод синтезу ГА [24].

Метод	Джерело Са/Р	Температура(°С)	Результат
Гідротермальний	$\text{CaCl}_2, \text{H}_3\text{PO}_4$	100	ГА стрижневої форми (довжина 80 нм і ширина 15 нм)
	$\text{Ca}(\text{OH})_2, (\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$	200	Неправильна форма агломерату (5-40 нм) карбонізованого ГА Співвідношення Са/Р: 1,86-2,08
	$\text{CaCl}_2, \text{K}_2\text{HPO}_4$	60-150	ГА (120°С) зі стрижневою формою (діаметром 15-20 нм і довжиною 60-75 нм)
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}, (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	25-180	ГА (рН=10) у формі гранул (30, 50 і 75 нм)

### 1.2.2.3. Гідроліз.

Гідроліз - це один з мокрих методів, який найменше використовується для синтезу ГА. По суті, гідроліз визначається як процес іонізації води, який викликає дифузію іонів водню та гідроксиду. Таким чином, гідроліз фосфату кальцію може призвести до утворення нестехіометричного ГА [39].

В одному з досліджень [40] використовували воду та органічні розчинники (етанол, 1-бутанол, 1-гексанол та 1-октанол) для гідролізу  $\alpha$ -ТКФ до ГА.  $\alpha$ -ТКФ змішували з п'ятьма різними розчинниками при перемішуванні протягом 2 - 120 год при 70° С. Результат показує, що різні системи розчинників потребують різної кількості часу для повного перетворення  $\alpha$ -ТКФ в ГА. Використання води та 1-гексанолу в якості розчинників потребує 24 годин для повного перетворення  $\alpha$ -ТКФ в ГА, тоді як 1-октанолу потрібно більше 24 годин. Однак, використання 1-бутанолу вимагає більше 72 годин для перетворення  $\alpha$ -ТКФ в ГА, а використання етанолу затримує перетворення  $\alpha$ -ТКФ в ГА. На мікрофотографіях ТЕМ видно, що ГА має вусату та тромбоцитоподібну структуру [40].

Таким чином, метод гідролізу дозволив перетворити попередників кальцію і фосфатів на високочистий ГА. Проте, більшість методів гідролізу вимагають тривалого часу для повного перетворення ГА [40].

У таблиці 1.5. наведено перелік декількох досліджень, в яких використовувався процес гідролізу для синтезу ГА.



Таблиця 1.5. – Піроліз як метод синтезу ГА [40].

Метод	Джерело Са/Р	Розчинник	Результати
Гідроліз	$\alpha$ -ТКФ	Вода	ГА (24 год)
		Вода+етанол	ГА+ $\alpha$ -ТКФ
		Вода+1-бутанол	ГА (<72 год)
		Вода+1-гексанол	ГА (24 год)
		Вода+1-октанол	ГА (<24 год)
	$\alpha$ -ТКФ	Вода	ГА (48 год при 40° С) ГА (3 год при 100° С)
	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Пропанодіол Етиленгліколь	ГА ГА
ДГФК	NaOH+спирт+ ЦТАБ	ГА	

### 1.2.3. Високотемпературний метод.

Гідроксиapatит також можна синтезувати за допомогою високотемпературного методу, при якому для розкладу матеріалів застосовується висока температура. Високотемпературний метод включає два основні підходи: спалювання та піроліз. Однак серед усіх методів синтезу гідроксиapatиту ці методи використовуються рідше, оскільки вони забезпечують поганий контроль над параметрами обробки і можуть призводити до утворення небажаних вторинних продуктів [20].

### 1.2.3.1. Спалювання.

Метод спалювання використовує швидкі екзотермічні та самопідтримуючі окисно-відновні реакції між окисником та органічним паливом у водній фазі [20].

Реакція починається з нагрівання суміші при низькій температурі до різкого підвищення температури. Заключним етапом цього процесу є швидке охолодження, яке індукує утворення частинок, а також запобігає подальшому зростанню частинок. [20].

У ході досліджень, вчені нітрат кальцію та діамоній гідрофосфат використовували як джерела кальцію та фосфатів, а лимонна і бурштинова кислоти слугували паливом. Осади піддавали спалюванню при температурах від 185° до 425°C, після чого здійснювалося прожарювання при 900°C протягом 2 годин для отримання гідроксиapatиту. Результати показали, що при спалюванні лимонної або бурштинової кислоти формується карбонізований гідроксиapatит, а при спалюванні їхньої суміші —  $\beta$ -трикальційфосфат [41].

У таблиці 1.6 наведено дані з кількох досліджень, які використовували метод спалювання для синтезу гідроксиapatиту. Цей метод дозволяє отримувати висококристалічний матеріал, однак у складі кінцевого продукту часто присутні фазові домішки.

Таблиця 1.6 – Спалювання як метод синтезу ГА [24].

Метод	Джерело Са/Р	Паливо	Температура спалювання (° C)	Результат
Спалювання	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Лимонна кислота, бурштинова кислота	185-425	Відношення Са/Р: 1,67 ТКФ (основний) у суміші палива Одне паливо призводить до карбонізованого ГА
	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> •4H <sub>2</sub> O, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	сечовина	500	ГА (основний) та β-ТКФ(незначний)
	Ca(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> , (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	сечовина	500	ГА (температура займання 500°С при рН 7,4 з 30 хв) Малі нанострижні з гладкими краями діаметром 5 ± 2 нм і довжиною 17 нм
	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , Ca(OH) <sub>2</sub>	сечовина	500	Фази ГА та СаО

### 1.2.3.2. Піроліз.

Метод піролізу передбачає розпилення речовини-прекурсору в гарячу зону електричної печі [37].

Науковці зазначають, що для отримання високо кристалічного продукту застосовували постобробку за допомогою продуктів піролізу. У порівнянні з методом спалювання, піроліз не потребує змішування пального з реагентами, що робить його більш зручним і придатним для безперервного виробництва частинок гідроксиapatиту (ГА) [20].

Піроліз належить до методів, заснованих на аерозольних процесах, де перехід із газової або рідкої фази в тверду форму відбувається завдяки термічному розкладу аерозолі. Цей метод, також відомий як «розпилувальний піроліз», передбачає розпилення розчинів прекурсорів у полум'ї або гарячій зоні електричної печі за допомогою ультразвукового генератора. У процесі відбувається реакція парів і газів при високих температурах, що призводить до утворення кінцевого порошку. Отриманий порошок зазвичай має агреговану й агломеровану структуру [42]. Висока температура призводить до повного випаровування крапель прекурсору з подальшим утворенням і ростом наночастинок у газовій фазі.

Науковці провели спрей-піроліз шляхом змішування фосфату кальцію, тетрагідрату нітрату кальцію та гідрофосфату діамонію при  $1100^{\circ}\text{C}$  зі швидкістю потоку газу-носія 40 л/хв [43].

Результати рентгенофазового аналізу показують, що використання різних попередників фосфату кальцію призводить до утворення різних фаз фосфату кальцію, окрім ГА [43].

У таблиці 1.7. наведено результати кількох досліджень, в яких для синтезу ГА використовували піроліз.

Таблиця 1.7. – Піроліз як метод синтезу ГА[ 24]

Метод	Джерело Са/Р	Результат
Піроліз	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ), Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> •4H <sub>2</sub> O, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Порожниста сфера з розміром 1-4 нм, ГА
	Ca(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> , (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	ГА
	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , HNO <sub>3</sub> Ca(OH) <sub>2</sub> , H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> Ca(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	β-Ca <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Неправильна і плоска форма менше 10 нм (913 К) Неправильна і плоска форма менше 40 нм (1013 К) ГА β-Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ГА, CaCO <sub>3</sub>

### 1.3. Наночастинки (NPs) та їх загальна характеристика.

Нанотехнології стали однією з найважливіших тем сучасного матеріалознавства, відкриваючи нові перспективи для розвитку інноваційних застосувань у різних галузях — від передових текстильних матеріалів і харчової промисловості до сільського господарства та медичних технологій [44].

Це поле охоплює синтез, характеристику та дослідження матеріалів у нанометровому діапазоні (1–100 нм), де формуються унікальні властивості, що можуть значно впливати на функціонування живих систем [45].

До переліку наночастинок можна віднести ті частинки, чії структури демонструють нові та значно покращені фізико-хімічні та біологічні властивості, а також відмінні явища та функціональні можливості в результаті нанорозміру [46]. Саме нанорозмір, як правило, надає наночастинкам (NPs) більшу площу поверхні порівняно з частинками макророзміру [47].

Наночастинки відомі як контрольовані або маніпульовані частинки на атомному рівні, де вони демонструють властивості, які значно відрізняються від властивостей макророзмірних матеріалів [48]. Ця унікальна властивість відкриває можливості для застосування наночастинок у різних сферах, таких як біосенсори, наномедицина та біонанотехнології [47]. Властивості металевих наночастинок, зокрема оксиду цинку (ZnO), титану діоксиду (TiO<sub>2</sub>) та срібла, значною мірою залежать від їхнього розміру, складу, кристалічної структури та морфології. Зменшення розміру до наномасштабів може суттєво змінювати їхні хімічні, механічні, електричні, структурні, морфологічні та оптичні характеристики. Ці зміни дозволяють наночастинкам особливим чином взаємодіяти з біомолекулами клітин, сприяючи їх переміщенню вглиб клітинних структур [49].

Наноструктуровані матеріали мають більший відсоток атомів на своїй поверхні, що призводить до високої реакційної здатності поверхні. Таким чином, за останні роки, наноматеріали набули великого значення у фундаментальних і прикладних науках, а також у біонанотехнологіях [50].

Найбільший інтерес серед науковців та дослідників викликають наночастинки металів та їх оксидів. Серед них наночастинки срібла, ймовірно, є найперспективнішими для лікування бактеріальних інфекцій серед усіх неорганічних наночастинок. Однак, окрім Ag, активно досліджуються й наночастинки інших металів, таких як золото (Au), а також оксиди металів, зокрема оксид цинку (ZnO), оксид міді (CuO), оксид заліза (FeO) та діоксид титану (TiO<sub>2</sub>), для їх потенційного застосування в антимікробних цілях [50].

### 1.3.1. Наночастинки срібла (AgNPs).

Наночастинки срібла (AgNPs) — це наночастинки срібла розміром від 1 до 100 нм. Вони володіють унікальними властивостями, які сприяють розвитку молекулярної діагностики, медичних препаратів і пристроїв, що використовуються в різноманітних медичних процедурах. Відомо, що іони срібла та сполуки, що містять срібло, є високо токсичними для мікроорганізмів, зокрема для 16 основних видів бактерій [51].

Функція AgNPs як антибактеріального засобу має широкий спектр дії, впливаючи як на грампозитивні, так і на грамнегативні бактерії [52].

Наночастинки срібла впливають на клітинну стінку бактерій і проникають в неї, викликаючи структурні зміни в клітинній мембрані, такі як проникність клітинної мембрани і загибель клітин, або, вивільняючи іони срібла через наночастинки, ці іони можуть взаємодіяти з тіловими групами багатьох важливих ферментів та інактивувати їх [53].



### 1.3.2 Наночастинки оксиду цинку (ZnONPs).

Нанорозмірний оксид цинку (ZnO) вражає різноманіттям морфологічних форм та виявляє потужну антибактеріальну активність проти широкого спектра бактеріальних видів, що було підтверджено численними науковими дослідженнями [54].

В даний час ZnO досліджується як антибактеріальний агент як у мікро-, так і в нанорозмірних композиціях. ZnO проявляє значну антимікробну активність, коли розмір частинок зменшується до нанометрового діапазону, тоді нанорозмірний ZnO може взаємодіяти з бактеріальною поверхнею та/або з бактеріальним ядром, де він потрапляє всередину клітини, і згодом демонструє чіткі бактерицидні механізми [55].

Взаємодія між цими унікальними матеріалами, наночастинками ZnO та бактеріями, здебільшого токсична і її використовують для антимікробних цілей, наприклад, у медицині, косметології та харчовій промисловості. Цікаво, що кілька досліджень повідомляють про те, що ZnONPs нетоксичні для клітин людини [56], цей аспект зумовив необхідність їх використання як антибактеріальних агентів, шкідливих для мікроорганізмів і при цьому зберігати хорошу біосумісність з клітинами людини [57].

Різнманітні антибактеріальні механізми наноматеріалів здебільшого пояснюються їх високим співвідношенням площі поверхні до об'єму та їхніми чудовими фізико-хімічними властивостями [58].

### 1.3.2. Наночастинки міді (CuNPs).

Наночастинки міді (CuNPs) — це унікальний тип біоматеріалів, які мають розмір від 1 до 100 нм [59].

Наночастинки міді (CuNPs) мають унікальні характеристики, зокрема тонку мікроструктуру, яка відрізняє їх від більших частинок [60].

Зазвичай у біоматеріалах застосовуються іони міді завдяки їхній доступності та економічності. Проте, через нестабільність матеріалів, що містять іони міді, можливе надмірне вивільнення цих іонів, що може спричинити цитотоксичність і пришвидшену деградацію. На відміну від цього, наночастинки міді (CuNPs) мають кілька переваг. Зокрема, вони здатні стабілізувати фізико-хімічну структуру скафолдів. У порівнянні з іонами міді, CuNPs є хімічно більш стабільними при інтеграції в матеріали, що забезпечує поступове й контрольоване вивільнення іонів  $\text{Cu}^{2+}$ . Це сприяє рівномірному зшиванню основного матеріалу, покращуючи його структуру та загальну стабільність [61].

Із розвитком наномедицини наночастинки міді (НЧ) відкривають нові можливості для вдосконалення підходів до лікування та діагностики. Мідь, як один із важливих мікроелементів, присутній у всіх тканинах організму та виконує важливу роль у численних біохімічних процесах, зокрема у метаболізмі глюкози, холестерину та заліза. Вона необхідна для підтримання здоров'я серцево-судинної системи, забезпечення еластичності легенів, утворення кісткової тканини та синтезу еритроцитів у взаємодії із залізом [62].

Наночастинки міді та її сполуки виявляють виражену антибактеріальну активність проти таких патогенних мікроорганізмів, як *Staphylococcus aureus* (включно з метицилінрезистентними штамми), *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* та *Escherichia coli* [63]. Згідно з дослідженнями, наночастинки міді демонструють навіть вищу антибактеріальну ефективність порівняно з наночастинками срібла (Ag) [64].

Деякі дослідження також вказують на синергетичний антибактеріальний ефект наночастинок міді або оксиду міді (II) у поєднанні з наночастинками срібла [65, 66].

## Висновки

Отже, проаналізувавши інформацію щодо методів синтезу гідроксиапатиту, ми обрали для себе саме мокрий тип синтезу наночастинок ГА. Даний метод привернув свою увагу завдяки своїй екологічності, а саме використання нешкідливих та нетоксичних розчинників, простота процесу та високий вихід продукту. Також у виборі методу ми відштовхувалися від тих реагентів, котрі були доступні для проведення експерименту, та наявність відповідного обладнання для обробки отриманих даних.

Була проведена робота щодо огляду та пошуку наночастинок металів, які виявляють антимікробну та протизапальну дію в організмі, та можуть бути використані для взаємодії з наночастинками гідроксиапатиту.

## РОЗДІЛ 2

### СИНТЕЗ ГІДРОКСИПАТИТУ ТА НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ

2.1. Методи аналізу, які використовувалися в ході досліджень.

2.1.1. Рентгенофазовий аналіз (XRD).

Рентгенофазовий аналіз (XRD) є неруйнівним методом, що дозволяє отримати детальну інформацію про кристалографічну структуру, хімічний склад та фізичні властивості матеріалів. Цей метод ґрунтується на конструктивній інтерференції монохроматичних рентгенівських променів з кристалічним зразком [67].

Рентгенівське випромінювання — це електромагнітне випромінювання з короткою довжиною хвилі, яке генерується внаслідок гальмування заряджених частинок з великою енергією. У процесі XRD рентгенівські промені, що були згенеровані, фокусуються та спрямовуються на зразок наноматеріалу. Взаємодія променів з матеріалом призводить до виникнення дифрагованих променів, які потім виявляються, обробляються та підраховуються. Інтенсивність дифрагованих променів, що розсіюються під різними кутами, відображається на графіку, створюючи дифракційну картину. Кожна фаза матеріалу має свою унікальну дифракційну картину завдяки особливостям хімічного складу та атомарного розташування. Загальна дифракційна картина є результатом суми дифракцій кожної окремої фази. Відомо, що дефекти в матеріалі зразка можуть впливати на характер дифрагованого сигналу. Серед факторів, які сприяють недосконалоостям зразка, виділяють неоднорідність складу, дефекти в кристалічній структурі, мікроплями та розміри кристалітів [67].

На рисунку 2.1. схематично наведений принцип роботи XRD-апарата [68].

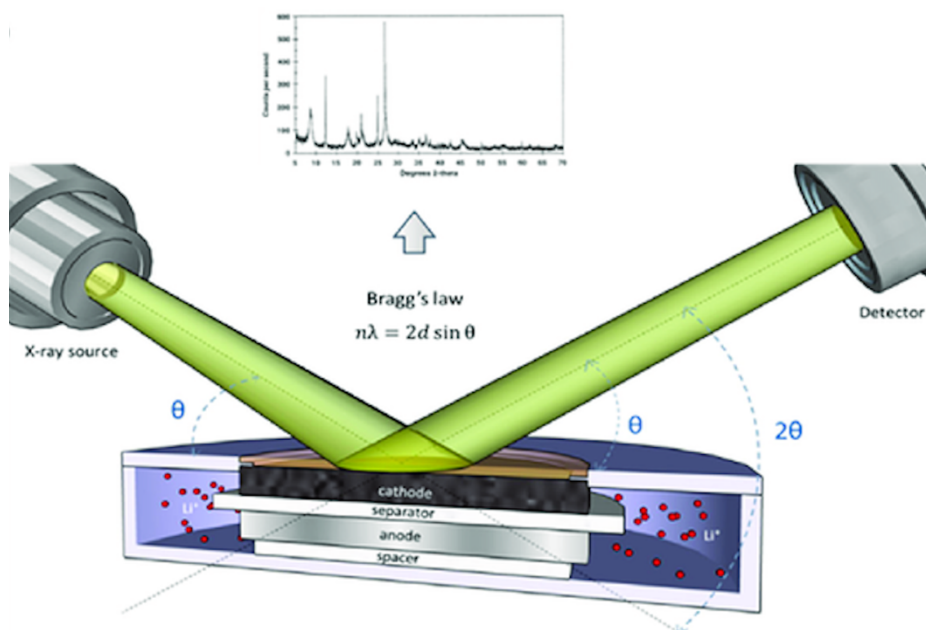


Рисунок 2.1. – Схема принципу роботи XRD з прикладом отриманого зразка [68].

### 2.1.2. Растрова електронна мікроскопія (ТЕМ).

Растрова електронна мікроскопія (ТЕМ) — це потужний метод, призначений для дослідження поверхні матеріалу. У ТЕМ електронний промінь з напругою прискорення до 30 кВ фокусується на досліджуваному зразку. Взаємодія між електронним пучком і зразком випромінює сигнали від зразка, а детектори збирають їх. Записані сигнали комбінуються для формування зображення [69].

Коли зразок опромінюється електронним пучком, відбувається «пружне розсіювання» від електронів атомного ядра або зовнішньої оболонки з аналогічною енергією. Падаючі електрони, які пружно розсіяні під кутом більше 90 градусів, називаються зворотно розсіяними електронами (ЗРЕ). Сигнали ЗРЕ надають як складову, так і топографічну інформацію зразка [69].

ТЕМ є універсальним інструментом для структурної характеристики біоматеріалів. Ці матеріали, як правило, складаються з довгих ланцюгів повторюваних одиниць елементів з низьким атомним номером, таких як вуглець, водень, азот і кисень. Ці легші елементи мають меншу взаємодію з прискореними електронами, що дає поганий контраст; тому для дослідження. Більшість полімерних зразків часто покривають напиленням металами, такими як золото, для отримання оптимального зображення за допомогою ТЕМ [69].

На рисунку 2.2. зазначена спрощена ТЕМ-діаграма з виділенням основних компонентів по всій колонці [70].

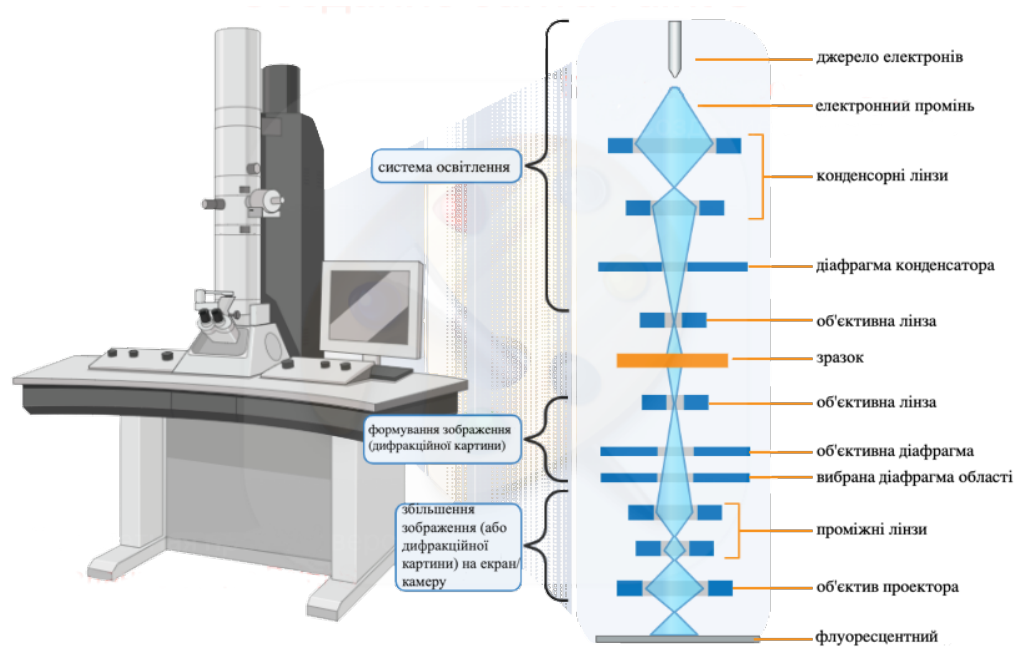


Рисунок 2.2. – Спрощена TEM-схема з виділенням основних компонентів по всій колонці [70].

### 2.1.3. Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR)

Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR) — це швидкий і ефективний метод, який використовується для ідентифікації функціональних груп у матеріалах, що допомагає в їх характеристиці [69].

Зразок опромінюється інфрачервоним випромінюванням в середній частині електромагнітного спектру ( $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ ), яке має більшу довжину хвилі та нижчу частоту порівняно з видимим світлом. Для того щоб молекула була інфрачервоно-активною, її функціональна група повинна змінювати електричний дипольний момент під час вібрації хімічного зв'язку на певних частотах [69].

Молекулярні коливання поділяються на два основних типи: розтягування та згинання. Згинальні коливання пов'язані зі зміною кута між двома зв'язками і включають коливання типу скручування, хитання, ножиць тощо. Розтягувальні коливання змінюють довжину зв'язку і можуть бути симетричними або асиметричними. Поглинання світла різними елементами дозволяє визначити хімічну структуру молекули. Для визначення спектра поглинання молекули використовується спектрофотометр. FTIR-спектрометр складається з джерела випромінювання, інтерферометра та детектора. У інтерферометрі світло розділяється на два пучки з різними шляхами: один проходить через нерухоме дзеркало, а інший — через рухоме. Потім ці промені об'єднуються для створення інтерференційної картини, яка надсилається на детектор. Для аналізу даних застосовується перетворення Фур'є. ІЧ-спектр відображає графік залежності відсотка пропускання (або поглинання) випромінювання через молекулу від хвильового числа випромінювання [69].

На рисунку 2.3. зображено схему основних характеристик інфрачервоного спектрометра з перетворенням Фур'є (FTIR) [71].



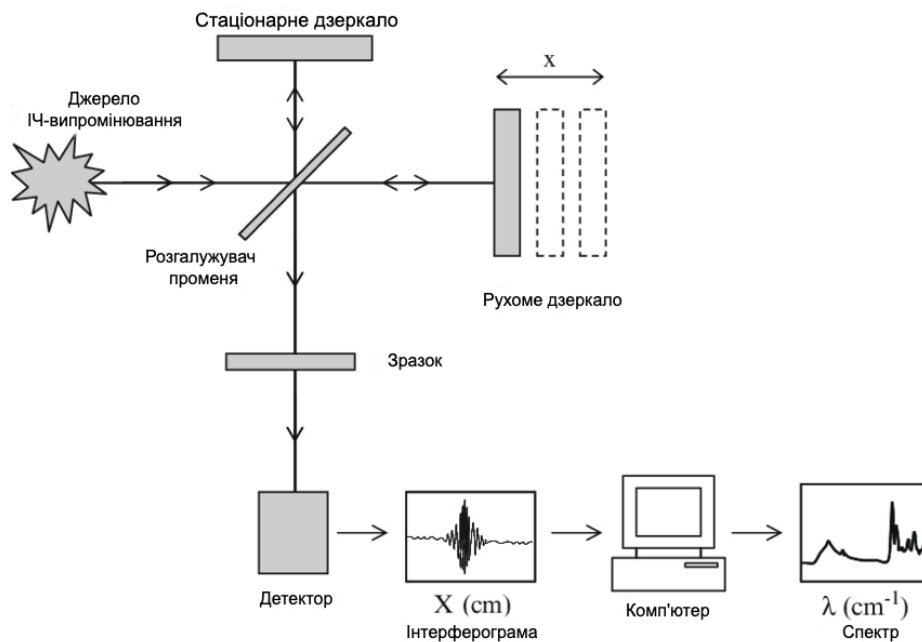


Рисунок 2.3. – Схематичне зображення основних характеристик інфрачервоного спектрометра з перетворенням Фур'є (FTIR) [ 71].

#### 2.1.4. Атомно-абсорбційна спектроскопія (AAS).

Атомно-абсорбційна спектроскопія (AAS) є поширеним кількісним методом для аналізу як металевих, так і неметалічних елементів. Метод ґрунтується на двох етапах: атомізації молекули аналіту та вимірюванні поглинання випромінювання на аналітичній довжині хвилі. Процес починається з атомізації, яка здійснюється, переважно, за допомогою полум'я або електрохімічних методів. Завдяки своїй селективності, чутливості та більшій довжині шляху, для атомізації часто використовуються графітові печі [72].

Система AAS зазвичай складається з лампи з порожнім катодом, пневматичного розпилювача з малим полум'ям, що розщеплює зразок на атоми, стандартного монохроматора з ґратками та фотоелектронного помножувача для детекції. Після електротермічної атомізації деякі атоми поглинають енергію від випромінювання певної частоти, що проходить через полум'я атомів, і переходять на вищі енергетичні рівні, тоді як більшість атомів залишається в основному стані [72].

AAS базується на законі Ламберта-Бера, який встановлює зв'язок між ступенем поглинання світла атомами та їх концентрацією в зразку [72]. На рисунку 2.4. зображено основні компоненти атомно-абсорбційного спектрометра [73].

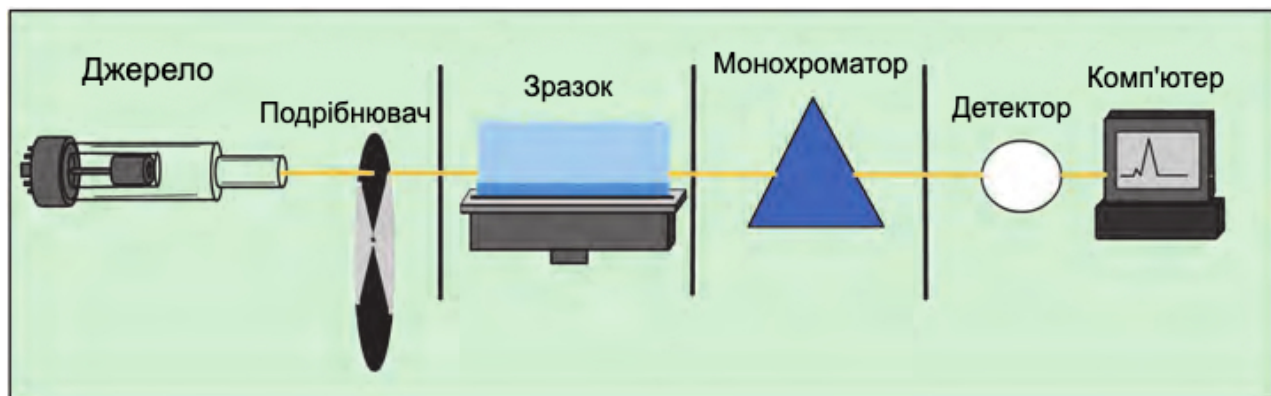


Рисунок 2.4. – Основні компоненти атомно-абсорбційного спектрометра [73].

## 2.2. Методи обчислення отриманих результатів

Для проведення обчислень та побудови графіків, допоміжними програмами в роботі були обчислювально-графічні програмні продукти такі як Origin та Microsoft Excel.

### 2.2.1. Програмний продукт Origin

Програмний продукт Origin є одним з найпотужніших інструментів для графічного представлення результатів. Окрім простого побудови графіків та їх оформлення відповідно до вимог, цей пакет дозволяє виконувати математичну обробку даних: шукати залежності, здійснювати чисельне диференціювання та інтегрування, проводити інтерполяцію і екстраполяцію, а також виконувати необхідні перетворення даних безпосередньо в програмі [74].

### 2.2.2. Програмний продукт Microsoft Excel

Microsoft Excel (повна назва Microsoft Office Excel) — це програма, яка створена для роботи з електронними таблицями.

Найчастіше Excel використовують для наступних цілей:

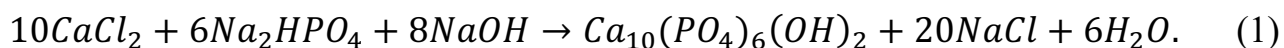
- завдяки тому, що лист Excel являє собою готову таблицю, Excel часто використовують для створення документів без усіляких розрахунків, що просто мають табличне представлення;
- у Excel легко можна створювати різні види графіків і діаграм, які беруть дані для побудови з комірок таблиць;
- його можуть використовувати як звичайний калькулятор;
- Excel містить багато математичних і статистичних функцій, завдяки чому його можна використовувати для розрахунків курсових, лабораторних робіт;
- Excel інтенсивно використовується в бухгалтерії (у багатьох фірмах це основний інструмент для оформлення документів, розрахунків і створення діаграм, для цього він має всі необхідні функції);
- Excel може працювати як база даних [75].

### 2.3. Синтез стехіометричного гідроксиapatиту.

В нашому дослідженні, для синтезу стехіометричного гідроксиapatиту був використаний мокрий метод синтезу ГА.

Гідроксиapatит можна синтезувати за допомогою різноманітних методів, серед яких механохімічний, хімічне осадження, гідроліз, золь-гель та термічне прожарювання. Однак метод мокрого хімічного осадження є особливо привабливим завдяки своїй простоті, економічній ефективності, низьким робочим температурам і високій чистоті отриманих продуктів. Цей метод дозволяє краще контролювати морфологію, кристалічність, склад і умови синтезу гідроксиapatиту, що є важливим для подальших досліджень. Крім того, побічні продукти осадження є нешкідливими, а кінцевий продукт має високу чистоту. Проте, серед недоліків мокрого методу варто відзначити те, що при низьких температурах обробки продукт може мати знижену кристалічність [76].

В нашому дослідженні, синтез стехіометричного гідроксиapatита проводився відповідно до реакції (1) [77].



На рисунку 1 наведена схематично зазначений процес синтезу ГА.

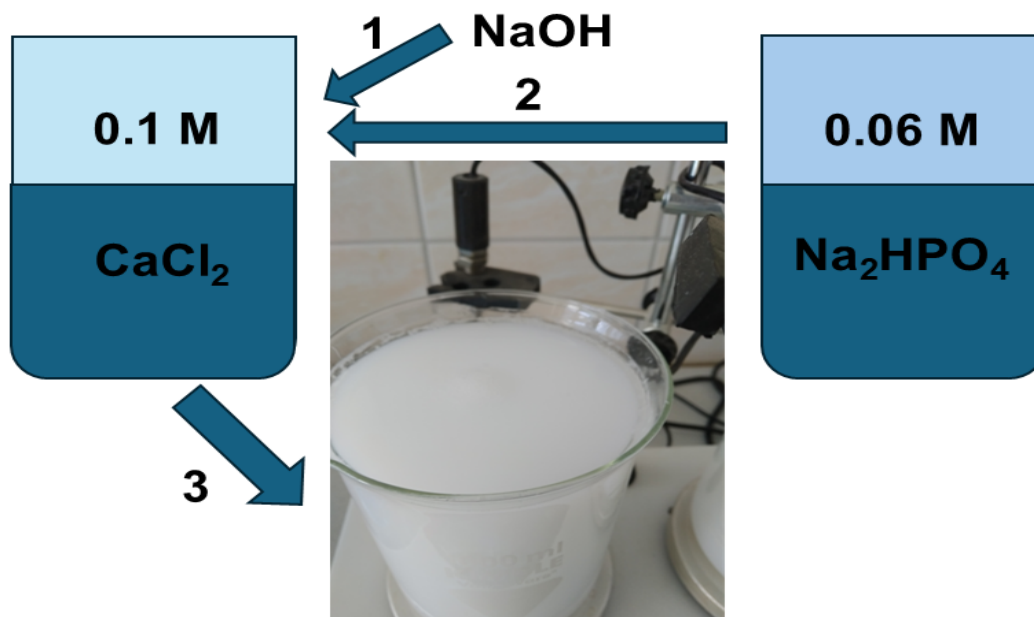


Рисунок 2.5. – Синтез стехіометричного гідроксиапатиту [77].

Процес синтезу можна описати наступним чином.

Перший етап: для початку проводили змішування 0,1 М розчину  $\text{CaCl}_2$  з розчином  $\text{NaOH}$ , що дозволяло досягти необхідного рівня рН, встановленого на позначці 12. Процес змішування здійснювався за умов нагрівання суміші до температури  $80^\circ\text{C}$ . Для забезпечення рівномірності реакції та уникнення утворення нерівномірних осадів використовували постійне перемішування протягом усього етапу.

Другий етап: Після цього, до 0,1 М розчину  $\text{CaCl}_2$  поступово, по краплях, додавали 0,06 М розчин  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Ця реакція була спрямована на утворення гідроксиапатиту, одного з ключових матеріалів у біомедичних дослідженнях. Для підтримання оптимальних умов реакції, суміш підігрівали до температури  $80^\circ\text{C}$  і постійно перемішували протягом двох годин.

Після завершення реакції утворений осад піддавали ретельному очищенню. Для цього його тричі промивали дистильованою водою, що забезпечувало видалення сторонніх домішок і залишків реагентів. Верхній шар розчину після промивання видаляли методом декантації. Потім осад повторно промивали дистильованою водою до досягнення нейтрального рН (приблизно 7). На завершення очищений осад фільтрували, щоб відокремити твердий матеріал, і висушували до утворення порошкоподібного продукту, готового для подальшого використання [77].

Для підтвердження отримання саме стехіометричного гідроксиапатиту внаслідок синтезу, проводили рентгенофазовий аналіз зразків.

На рисунках 2.6 – 2.8 зображені результати рентгенофазового аналізу ГА.

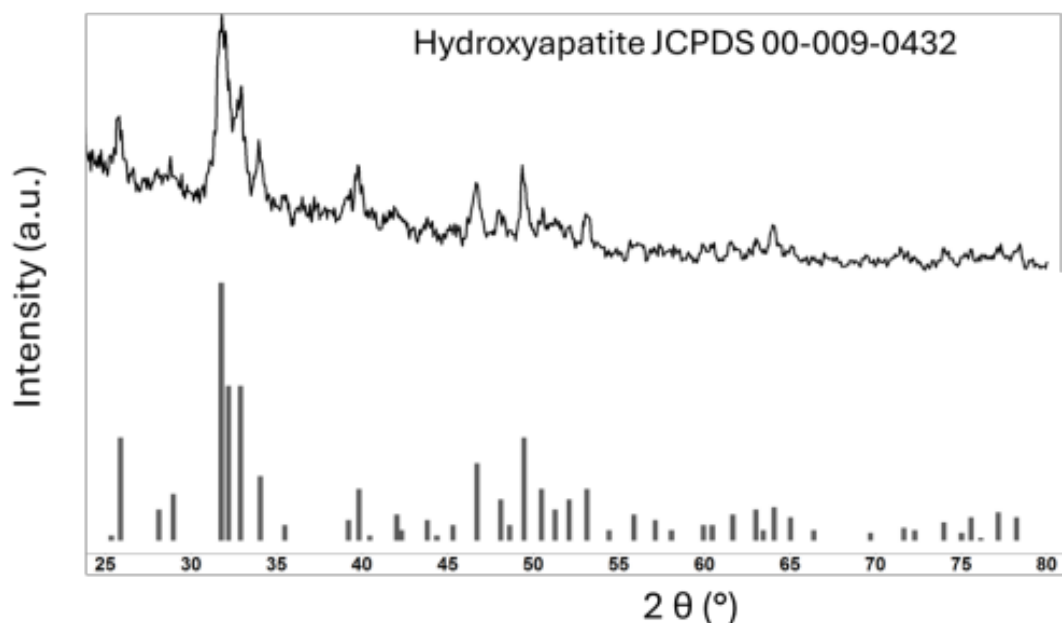


Рисунок 2.6. – XRD-спектр стехіометричного гідроксиапатиту [77].



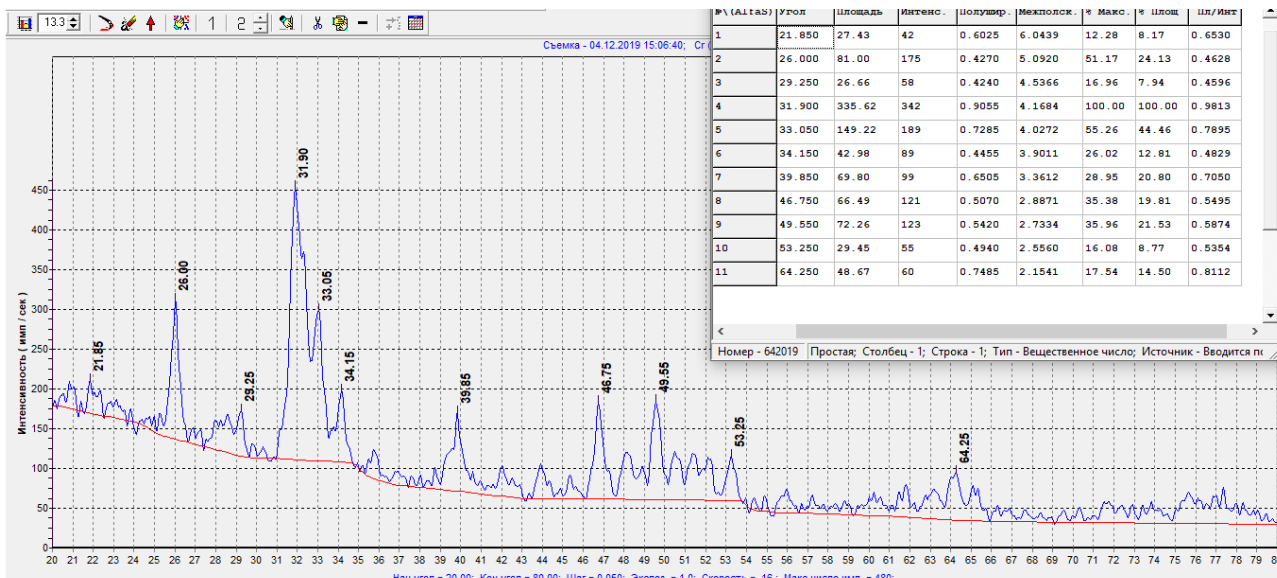


Рисунок 2.7. – XRD-спектр стехіометричного гідроксиапатиту отриманого з тетрагідрат нітрату кальцію  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (до відпалу).

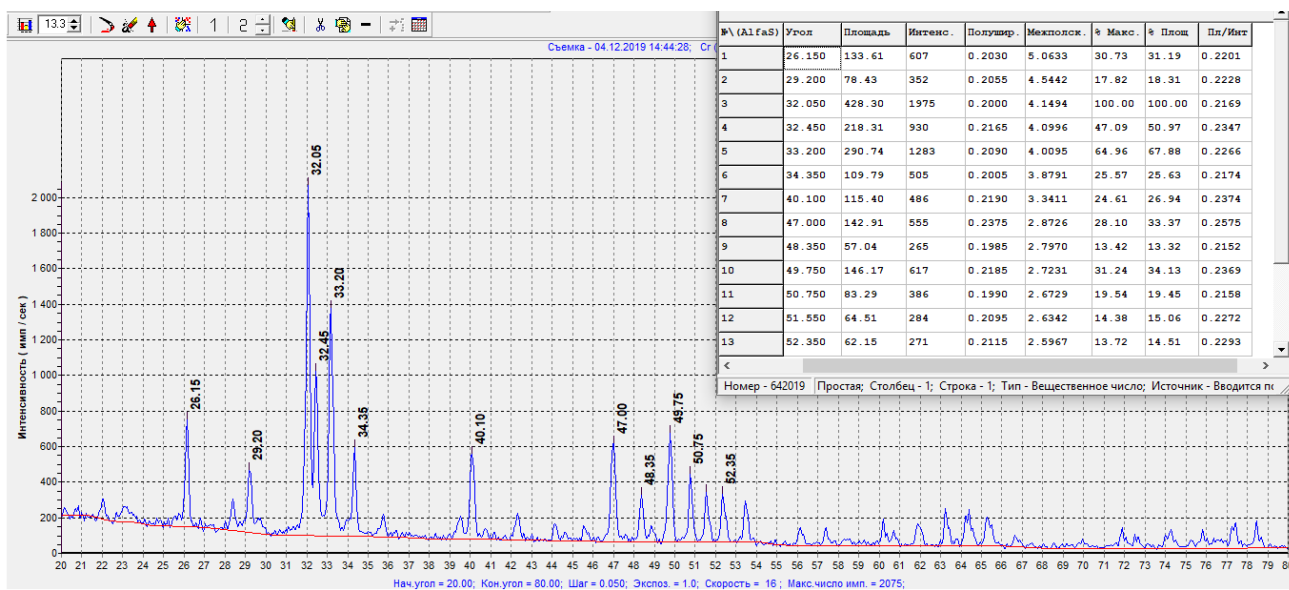


Рисунок 2.8. – XRD-спектр стехіометричного гідроксиапатиту отриманого з тетрагідрат нітрату кальцію  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (після відпалу).

Для опису та дослідження поверхні та зовнішніх характеристик синтезованого гідроксиапатиту було використано дані растрового електронного мікроскопа (ТЕМ).

На рисунку 2.9 зображені знімки поверхні гідроксиапатиту зроблені за допомогою ТЕМ .

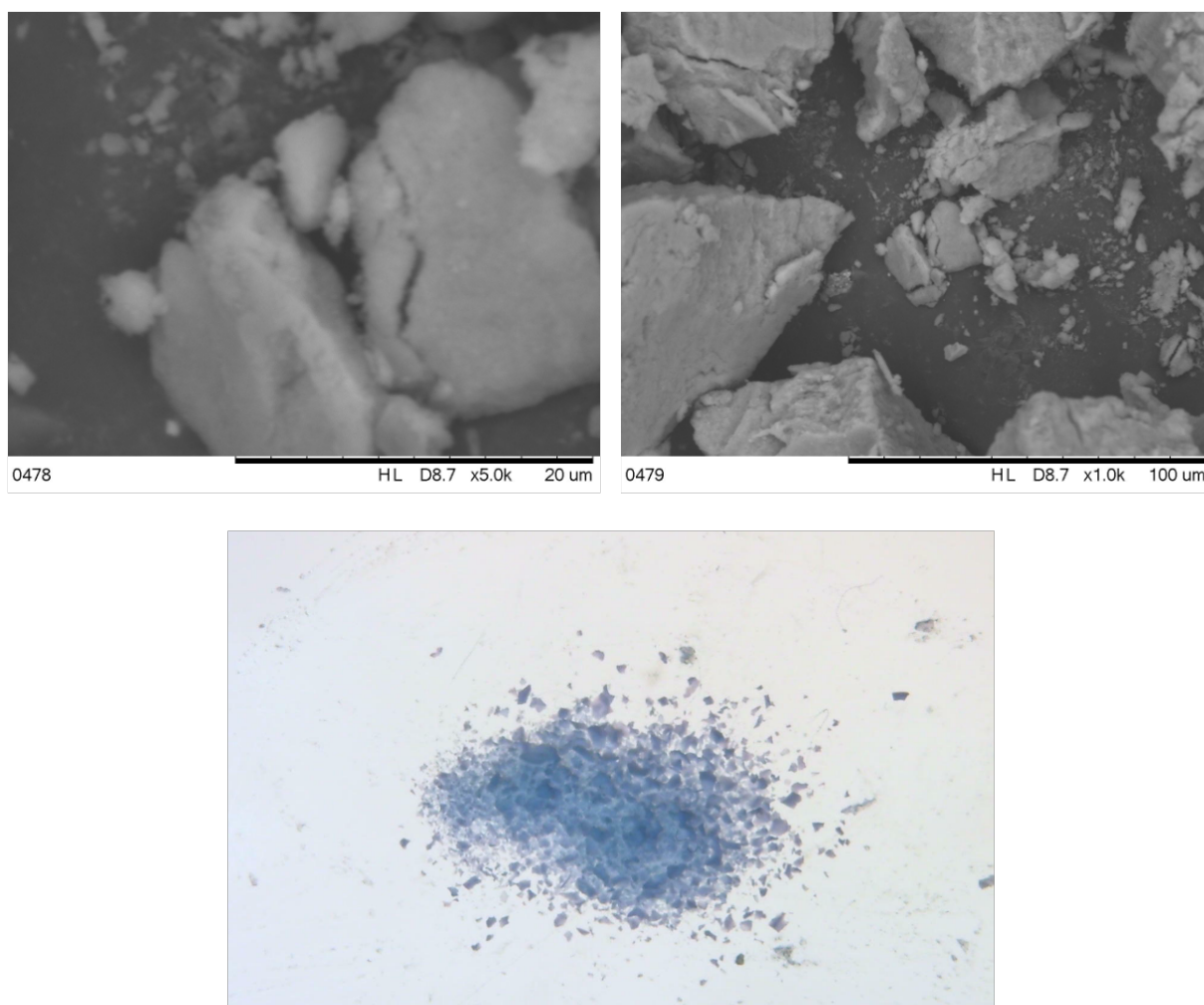


Рисунок 2.9. – Синтезовані частинки стехіометричного ГА.

## 2.4. Синтез наночастинок.

У дослідженні ми використовували металеві наночастинок, котрі потім модифікували з синтезованим гідроксиапатитом.

Вивчивши досвід та наявні дослідження у світі в галузі нанотехнологій та синтезу наночастинок, ми схилилися до трьох видів наночастинок, котрі далі модифікували з гідроксиапатитом. В цей перелік входять наночастинок срібла AgNPs, оксиду цинку ZnONPs та міді CuNPs.

### 2.4.1. Синтез наночастинок срібла (AgNPs)

Синтез кубічних наночастинок срібла було здійснено методом відновлення нітрату срібла за допомогою етиленгліколю у присутності полівінілпіролідону (ПВП). У цьому поліольному процесі етиленгліколь виконував подвійну роль:

- розчинника, завдяки своїм фізико-хімічним властивостям;
- відновника, завдяки наявності гідроксильних груп, що забезпечували відновлення іонів срібла до металевого стану.

ПВП використовувався як стабілізуючий агент, що сприяв формуванню кубічної форми наночастинок. Зазначено, що молярне співвідношення ПВП до іонів срібла відіграє вирішальну роль у визначенні форми та розміру кінцевого продукту.

Для прискорення синтезу інші дослідники запропонували модифікований підхід: додавання невеликої кількості сульфиду натрію ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) або гідросульфиду натрію ( $\text{NaHS}$ ) до стандартного поліольного процесу (рисунок 6). Ця модифікація сприяла формуванню кубічних наночастинок срібла в коротший термін.

Вибір відновника у процесі синтезу критично впливає на такі параметри наночастинок: хімічні властивості, розмір, морфологія, рівень контролю дисперсії [78].

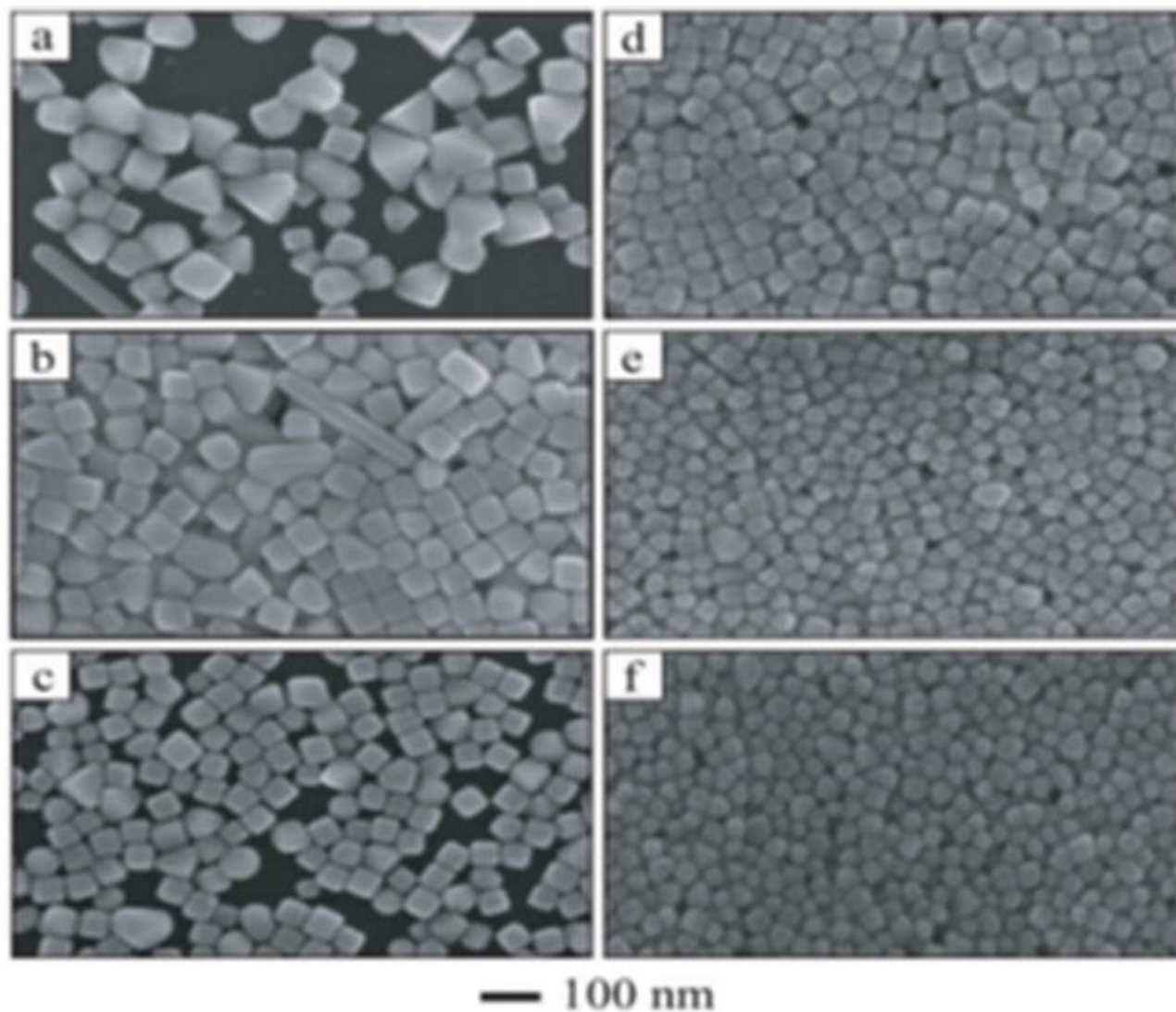


Рисунок 2.10. – SEM-зображення реакцій, що містять зростаючі молярні співвідношення між повторюваною одиницею ПВП і нітратом срібла. Співвідношення ПВП до нітрату срібла становило а - 0,77; б 1,15; с - 1,5; д - 1,9; е - 2,3 і ф - 0,7 [78].

## 2.4.2. Синтез наночастинок оксиду цинку (ZnONPs).

Синтез наночасток оксиду цинку (ZnONPs) проводили за наступною реакцією, рисунок 2.11.:

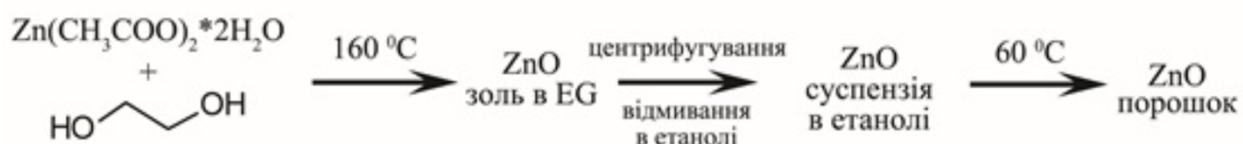


Рисунок 2.11. – Реакція синтезу наночастинок ZnO

На рисунках 2.12 – 2.15. наведені ТЕМ зображення отриманих зразків наночастинок ZnO, графік розподілу їх за розміром, знімок електронної дифракції ZnO та дифрактограма синтезованого оксиду цинку [79].

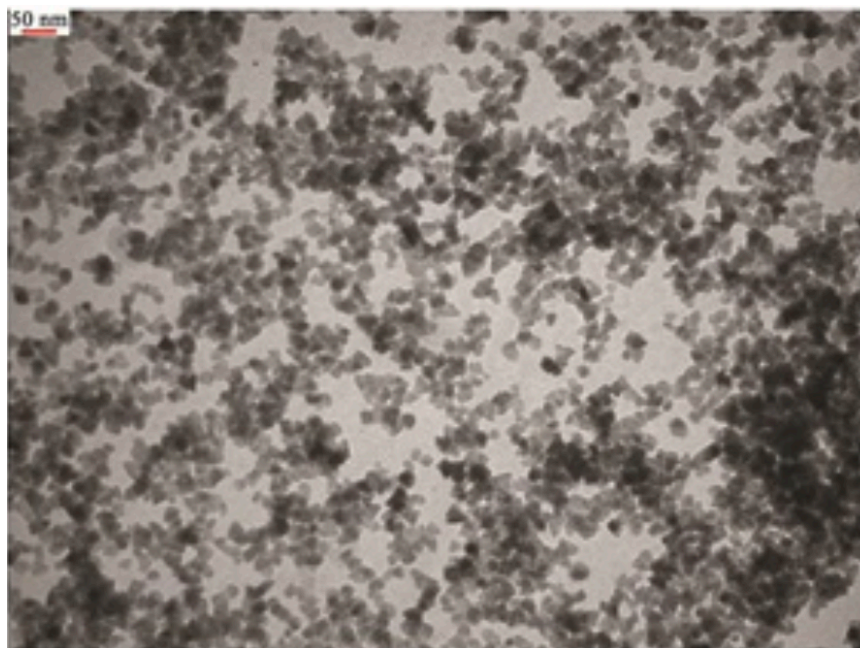


Рисунок 2.12. – ТЕМ зображення зразка ZnO [80].

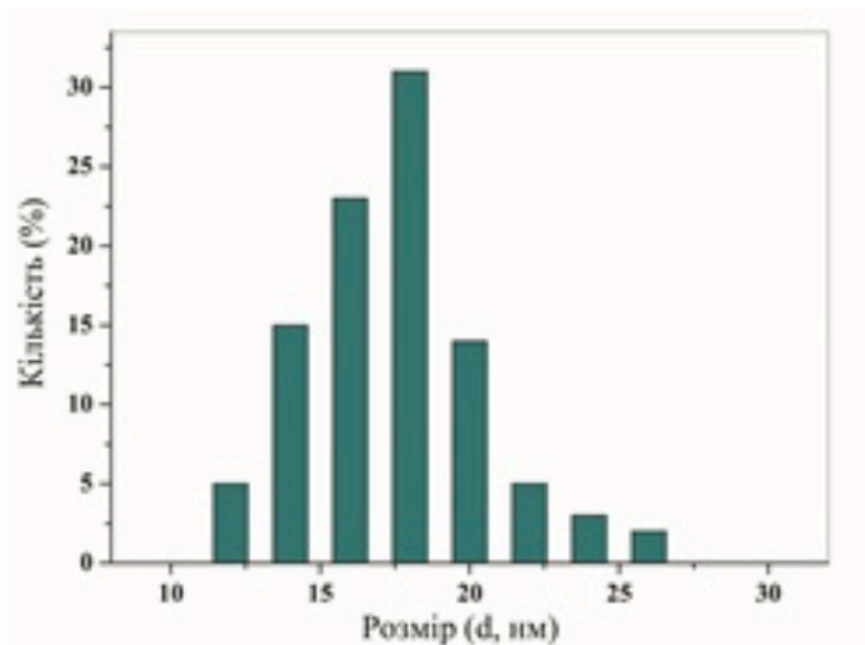


Рисунок 2.13. – Розподіл частинок ZnO за розмірами [80].

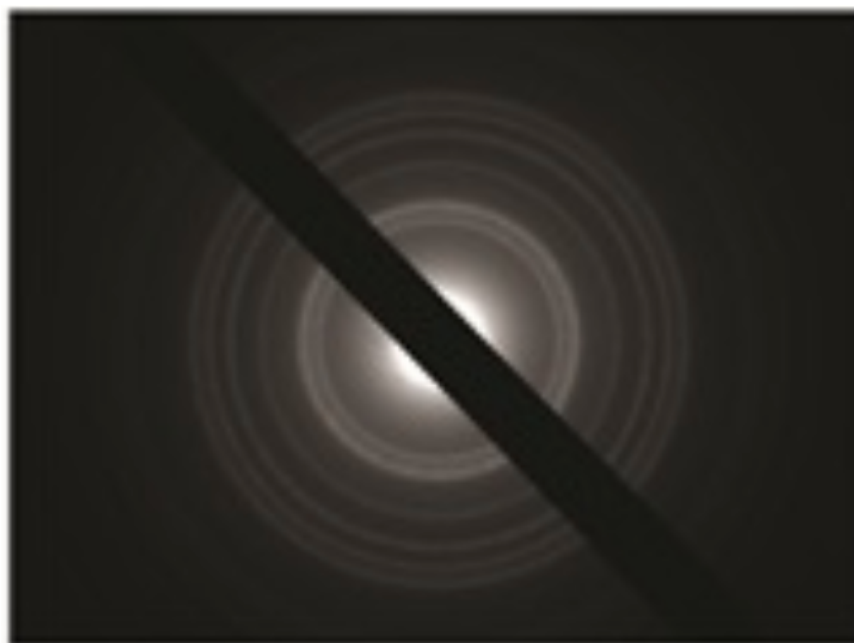
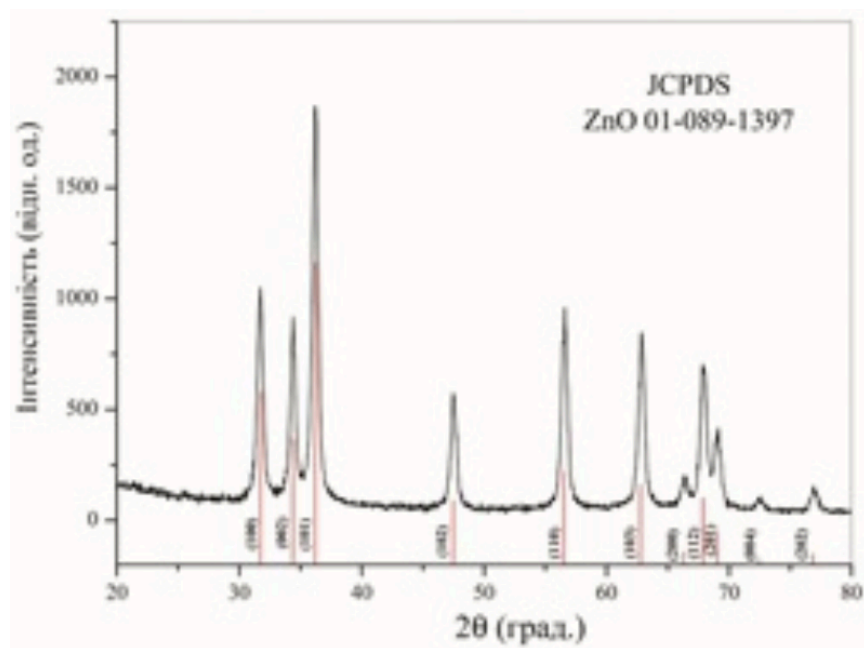


Рисунок 2.14. – Електронна дифракція ZnO [80].



Рисунко 2.15. – Дифрактограма синтезованого ZnO [80].

### 2.4.3. Синтез наночастинок міді (CuNPs).

Наночастинки міді синтезували за допомогою поліольного методу, використовуючи етиленгліколь (EG) як середовище реакції. Для цього застосовували купрум(II) сульфат пентагідрат ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), натрій гіпофосфіт моногідрат ( $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), полівінілпіролідон (PVP, K-30), етиленгліколь та ізопропанол. Усі реактиви відповідали аналітичній якості (analytical grade) [77].

Процес синтезу розпочинали з розчинення натрію гіпофосфіту: його зважували та переносили в тригорлу колбу об'ємом 250 мл, додаючи 40 мл етиленгліколю. Колбу встановлювали на нагрівальний прилад із магнітним перемішувачем і нагрівали до  $70\text{ }^\circ\text{C}$  для повного розчинення. Паралельно готували інший розчин: купрум(II) сульфат і PVP розчиняли в 40 мл етиленгліколю, перемішуючи на магнітній мішалці з підігрівом до  $70\text{ }^\circ\text{C}$  протягом 15 хвилин [77].

Після цього отриманий розчин купрум(II) сульфату з PVP повільно додавали до колби з натрієм гіпофосфітом, забезпечуючи інтенсивне перемішування. Реакційну суміш нагрівали до  $90\text{ }^\circ\text{C}$  та витримували протягом 15 хвилин, після чого реакцію швидко зупиняли охолодженням у льодяній воді.

Для очищення отриманої суспензії наночастинок міді додавали воду та ізопропанол, після чого проводили центрифугування за швидкості 8000 об/хв протягом 10 хвилин. Осад промивали дистильованою водою двічі з подальшим центрифугуванням, а отриману суспензію обробляли ультразвуком протягом 10 хвилин для диспергування частинок. [77]

Концентрацію міді в суспензії визначали за допомогою атомної спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-AES) за допомогою спектрометра iCAP 6300 Duo (Thermo Scientific Corporation, США).



Рентгенофазовий аналіз висушеного при 60 °С осаду підтвердив формування нанокристалічної міді з кубічною структурою. Дифракційні піки синтезованого матеріалу відповідали стандартним даним (JCPDS card No. 004-0836, Рисунок 12). Водночас у зразку була ідентифікована домішка купрум(I) оксиду, що відповідала JCPDS card No. 005-0667 [77].

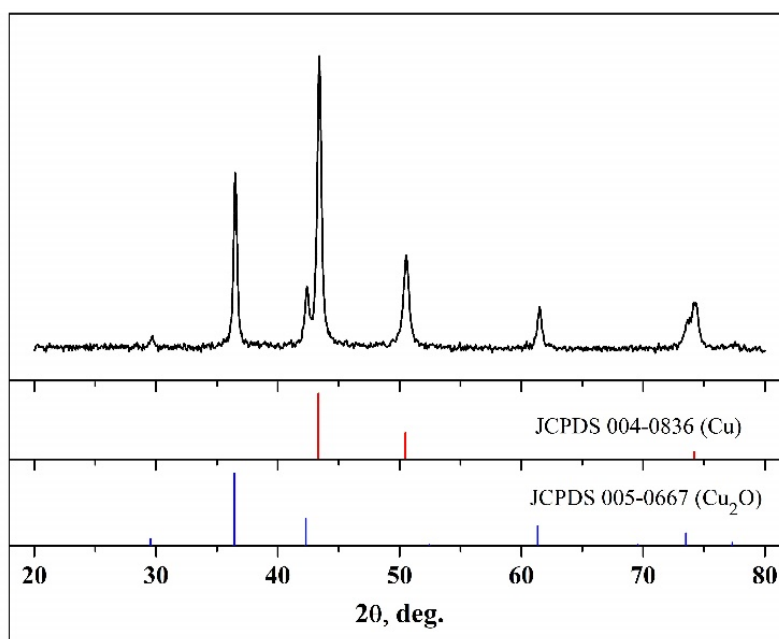


Рисунок 2.16. – XRD-спектр наночастинок Cu [77].

Аналіз знімків растрової електронної мікроскопії показав, що синтезовані наночастинки міді мають переважно кубічну форму з розмірами окремих кристалів в межах 60–100 нм (Рис.13-14) [77].

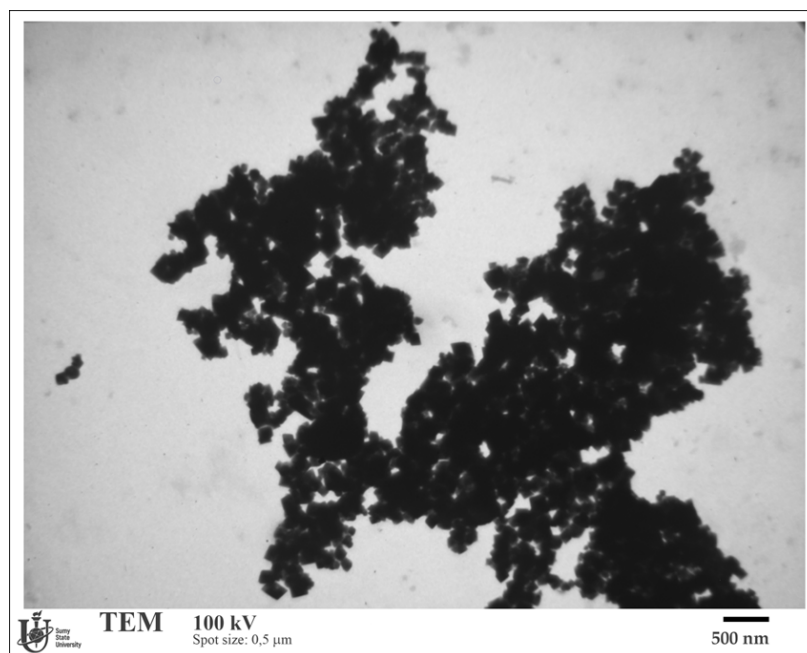


Рисунок 2.17. – TEM зображення наночастинок Cu (масштаб 500 нм).

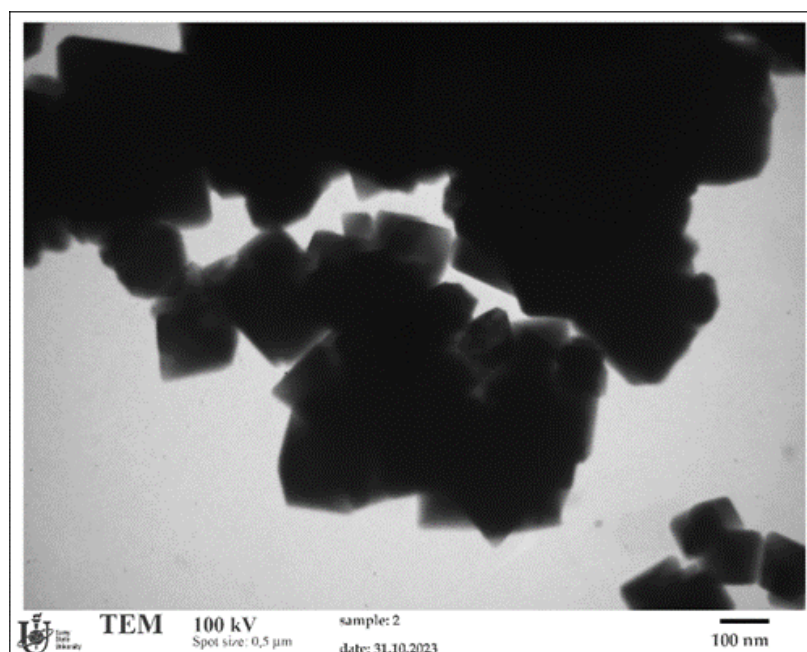


Рисунок 14 - TEM зображення наночастинок Cu (масштаб 100 нм)

## Висновки.

Проведений аналіз за допомогою наведених методів фізико-хімічного аналізу дозволив детально підтвердити структуру синтезованих матеріалів, визначити їх основні характеристики та провести вивчення особливостей процесів, пов'язаних з десорбцією нанокomпонентів. Зокрема, було встановлено поведінку іонів металів і наночастинок під час їх взаємодії з поверхнею композитів. Застосовані методи дозволяють не лише підтвердити хімічну структуру матеріалів, але й забезпечують можливість детального дослідження їх фізико-хімічних властивостей, що є ключовим для розуміння їх функціональних особливостей.

Отримані результати також є важливими для оптимізації процесів десорбції, що відіграє значну роль у створенні ефективних матеріалів для адсорбції та каталізу. Проведені дослідження дають змогу краще зрозуміти механізми взаємодії компонентів системи, що відкриває перспективи для подальшого вдосконалення технологій синтезу та застосування композитних матеріалів у різних галузях науки та промисловості.

## РОЗДІЛ 3

### ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

#### 3.1. Дослідження кінетики вивільнення наночастинок/іонів з композитного матеріалу ГА-NPs

Готували три види композитного матеріалу на основі гідроксиапатиту (ГА), що був модифікований:

1. Наночастинками срібла (ГА-AgNPs);
2. Наночастинками ZnO (ГА-ZnONPs);
3. Наночастинками Cu (ГА-CuNPs).

ГА змішували з розрахованим об'ємом суспензій наночастинок для отримання в композиті необхідних концентрацій Cu (250, 500 та 1000 мкг/г), ZnO (250, 500 та 1000 мкг/г) і Ag (25, 50, 75 100 мкг/г). Отриману суміші ГА-NPs обробляли ультразвуком протягом 10 хв і сушили при 60 °C протягом 24 год. Після цього висушений порошок розтирали в фарфоровій ступці. Приготовлені зразки досліджувалися на здатність матеріалу десорбувати зі своєї поверхні вказані наночастинок, чи їх іони.

Для дослідження кінетики вивільнення наночастинок срібла використовували зразки, що містили AgNPs/ГА: 100 мкг/г. Вміст наночастинок ZnONPs і CuNPs в зразках композиту складав 1000 мкг/г.

Дослідження вивільнення наночастинок /іонів з композитного матеріалу ГА-NPs проводили в статичному режимі, коли зразки композиту контактують з імерсійним середовищем при постійній температурі певний час [81, 82].

В якості імерсійного середовища використовували стандартний розчин SBF, що уявляє з себе розчин з концентрацією близькою до плазми крові людини і це дозволяє імітувати процеси адаптації біоматеріалу в умовах організму [83]. Час контакту становив від 1 до 30 діб.

Зразки композитного матеріалу ГА-NPs г змішували з розчином SBF у співвідношенні 1:100 і в закритих колбах розташовували у термостаті – інкубаторі, де весь період автоматично підтримувалася температурний режим (37°C) . Дослідження зразків тривало 30 діб.

Зразки витримувалися протягом різного часу: 1; 3; 7; 14; 21 і 30 діб. Після завершення запланованого терміну, колби витягали, відкривали і їх вміст піддавали центрифугуванню при 5000 об/с протягом 5 хв. Надосадову рідину фільтрували крізь паперовий фільтр і аналізували на вміст наночастинок/іонів відповідних модифікаторів у фільтраті.

Для визначення вмісту наночастинок/іонів в фільтраті використовували атомно-абсорбційний метод, що базується на здатності вільних атомів (іонів), що утворюються в полум'ї при введенні в нього аналізуємого розчину, селективно поглинати випромінювання срібла, цинку та міді при встановленій довжині хвилі.

Аналіз проводився на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115М1 в пропан-бутан-повітряному полум'ї з використанням лампи з порожнім катодом на срібло ( $\lambda=328,1$  нм), на цинк ( $\lambda=213,9$  нм) та на мідь ( $\lambda=324,8$  нм). Розчини порівняння готували виходячи з стандартних розчинів, що містять іони відповідних металів з концентраціями 1 мг/см<sup>3</sup>, відповідно стандартної методики (ГОСТ 4212-76 з азотнокислого срібла) (ГОСТ 4212).

Дані щодо десорбції наночастинок/іонів з композитних матеріалів ГА-NPs, наведені в таблиці 3.1 і 3.2 та на Рис. 3.1, 3.2, 3.3.

Таблиця 3.1. Результати вивільнення іонів срібла з композитного матеріалу GA-AgNPs, що містив наночастинки срібла в кількісному співвідношенні: 25 мкг/г і 100 мкг/г

<b>Зразок GA-AgNPs</b>	<b>Вміст Ag NPs в композиті, мкг/г</b>	<b>Час контакту з SBF, діб</b>	<b>Вміст у фільтраті, мкг/мл</b>
1	100	1	0,199 0,205 0,196
2	100	3	0,292 0,287 0,291
3	100	7	0,478 0,484 0,478
4	100	14	0,501 0,504 0,497
5	100	30	0,521 0,522 0,518
1a	25	1	0,123 0,119 0,118
2a	25	3	0,201 0,199 0,200
3a	25	7	0,219 0,220 0,223
4a	25	14	0,240 0,241 0,240
5a	25	30	0,247 0,245 0,243

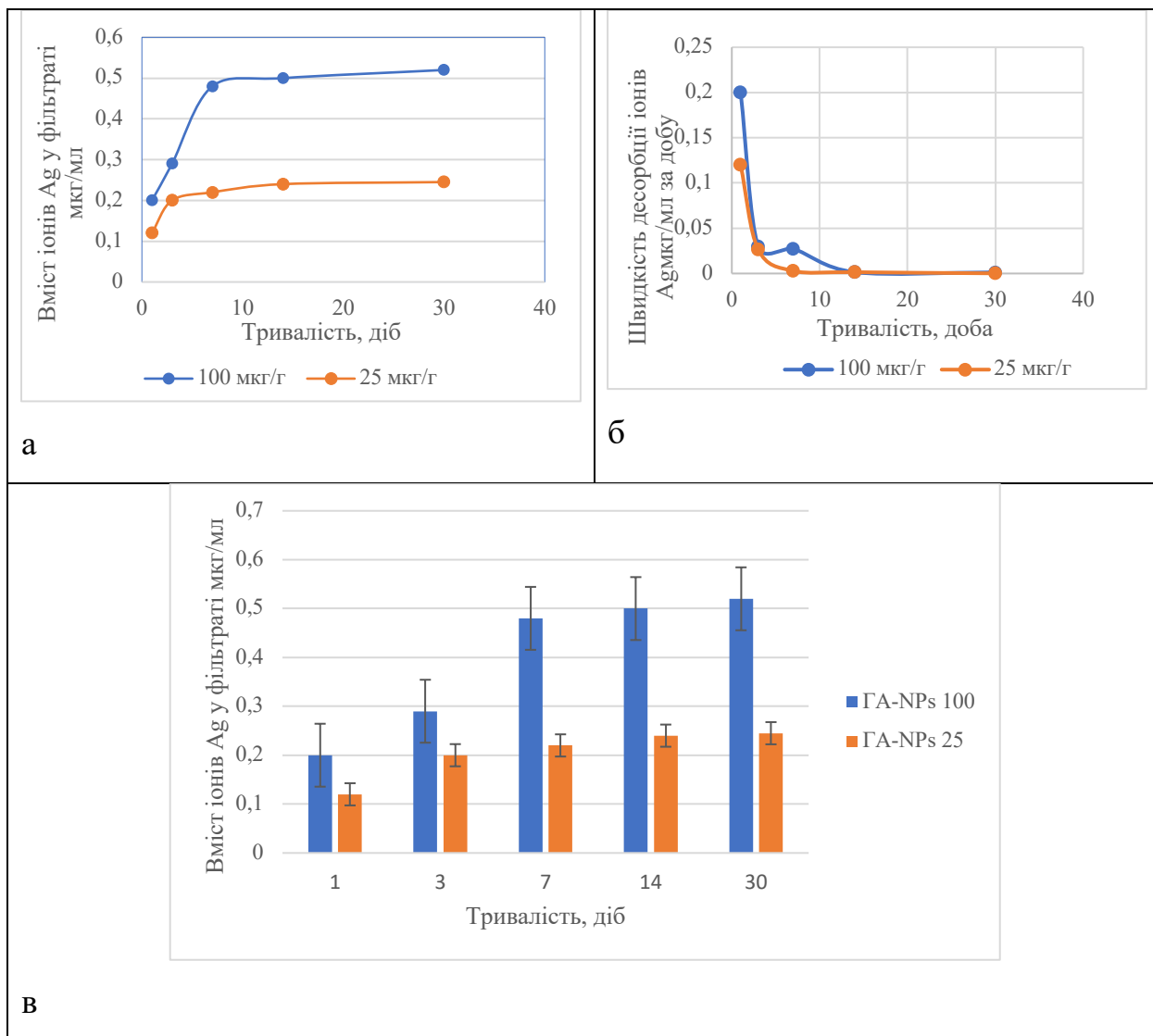


Рисунок 3.1. – Результати вивільнення іонів срібла з композитного матеріалу GA-AgNPs, що містив наночастинки срібла в кількісному співвідношенні AgNPs/GA: 25 мкг/г і 100 мкг/г.

Таблиця 3.2. Результати вивільнення іонів з композитного матеріалу ГА- ZnONPs і CuNPs, що містив наночастинки в кількісному співвідношенні 1000 мкг/г.

<b>Зразок ГА- NPs</b>	<b>Вміст NPs в композиті, мкг/г</b>	<b>Час контакту з SBF, діб</b>	<b>Вміст у фільтраті, мкг/мл</b>
<b>ГА- ZnONPs</b>			
1b	1000	1	0,044 0,046 0,046
2b	1000	3	0,051 0,053 0,049
3b	1000	7	0,041 0,038 0,043
4b	1000	14	0,046 0,050 0,048
5b	1000	30	0,044 0,040 0,048
<b>ГА- CuNPs</b>			
1c	1000	1	0,083 0,082 0,081
2c	1000	3	0,090 0,091 0,090
3c	1000	7	0,086 0,093 0,090



Продовження таб.3.2

4с	1000	14	0,089
			0,092
			0,091
5с	1000	30	0,117
			0,116
			0,117

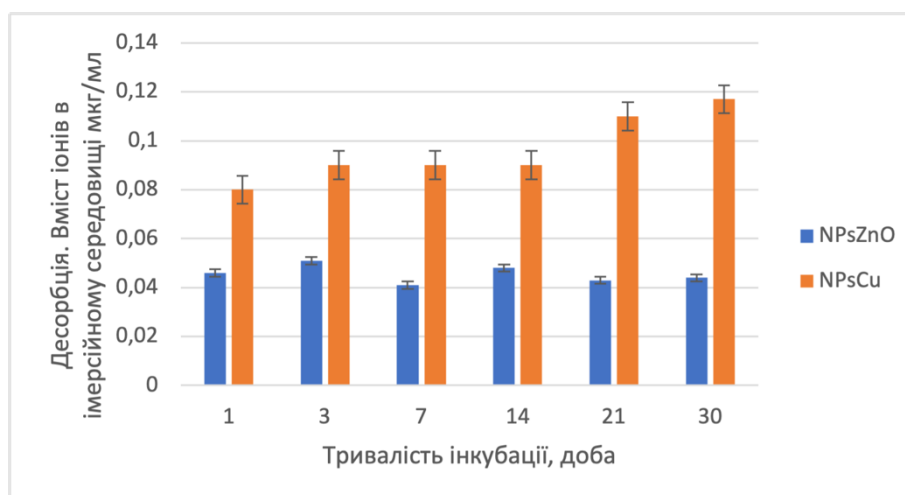
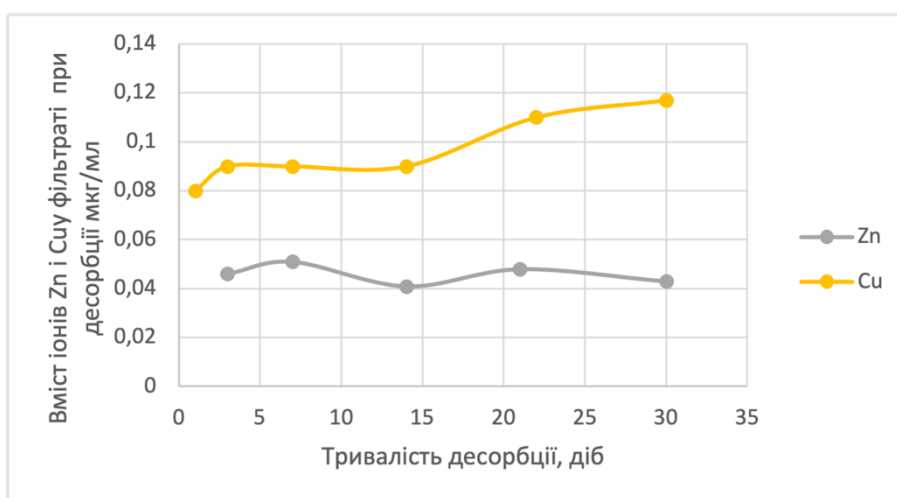


Рисунок 3.2. – Результати вивільнення іонів цинку і міді з композитного матеріалу ГА, ГА- ZnONPs, ГА- CuNPs, що містив наночастинки в кількісному співвідношенні NPs/ГА:1000 мкг/г.

### 3.2. Обговорення.

Як видно з даних представлених в Таблиці 3.1. та на Рис. 3.1а концентрація іонів срібла в розчині SBF із зразками композитів зростала протягом всіх 30 діб. Найбільший вміст іонів срібла спостерігався в розчині, що містив композит із розрахунку 100 мкг/г ГА-AgNPs і через 30 діб становив 0,52 мкг/мл, що становило більше 50 % від загальної маси наночастинок, які містив зразок.

Слід зазначити, що протягом перших трьох діб вивільнення відбувається найбільшою мірою. Причому в першу добу швидкість вивільнення максимальна. В зразках композиту, що містили 100 мкг/г AgNPs за першу добу швидкість становить близько 0,2 мкг/мл за добу, а при вмісті в композиті AgNPs 25 мкг/г, швидкість вивільнення за такий же час становив 0,12 (Рис. 3.1б).

В наступні дні швидкість вивільнення значно зменшується, але все одно відбувається. Слід зазначити, що після витримування зразків більше 14 діб швидкість вивільнення не перевищує  $10^{-3} - 10^{-4}$  мкг/мл за добу.

В таблиці 3.2. і на рис.3.2. представлені дані щодо кінетики вивільнення іонів, що утворюють зразки гідроксиапатиту з наночастинами ZnO і Cu при контакті з імерсійним середовищем – розчином SBF. Порівнюючи їх десорбцію з десорбцією зразків ГА-AgNPs спостерігається значне зменшення кількості іонів, що переходять в розчин. У відсотках для зразків з ГА- ZnONPs десорбція складає не більше 0,5%, а для ГА-CuNPs не більше 1%. При цьому кількість іонів з часом практично не змінюється і коливається в тих же межах, що і в першу добу контакту:  $\pm 0,02-0,04$  мкг/мл. Все це свідчить про нестабільність даних наночастинок в імерсійному середовищі. Дослідження взаємодії між колоїдними розчинами наночастинок і розчином SBF показав швидку коагуляцію ( за декілька хвилин) таких розчинів і утворення нерозчинних осадів, що показано на рис 3.3.

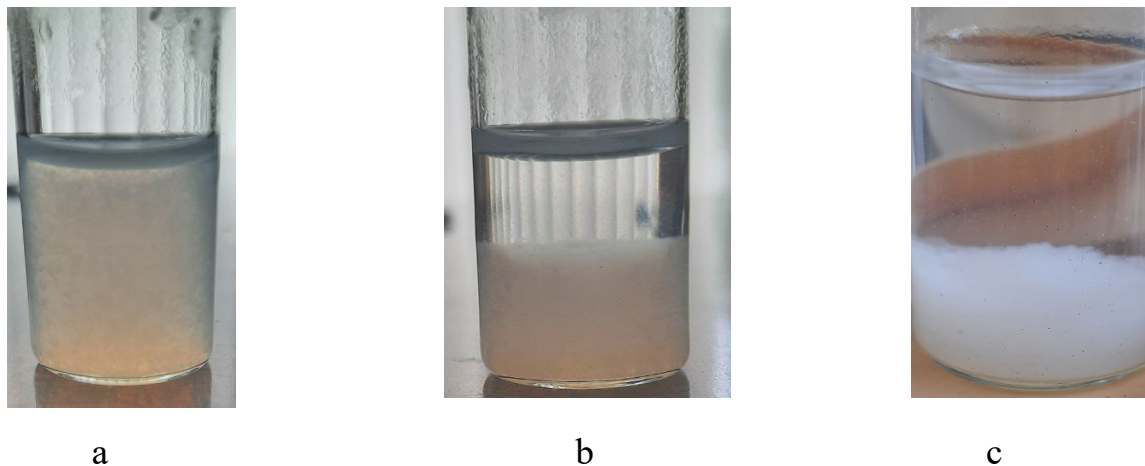


Рисунок 3.3. – Дослідження системи, що утворилася при змішуванні розчинів наночастинок ZnO і розчину SBF. Спостерігається процес коагуляції при змішуванні компонентів (а) і наступна седиментація після 30 хвилин контакту (b), після перебування 24 години в термостаті (c).

З метою встановлення структури утворених комплексів чи функціональних груп, а також для прогнозування складу продуктів взаємодії в системі – розчин наночастинок ZnO/розчин SBF, проводили дослідження на інфрачервоному Фур'є спектрометру Nicolet IS20 вихідних реагентів (спектр ZnONP і буфер SBF) та продуктів коагуляції (Rez-осад рис. 3.c)

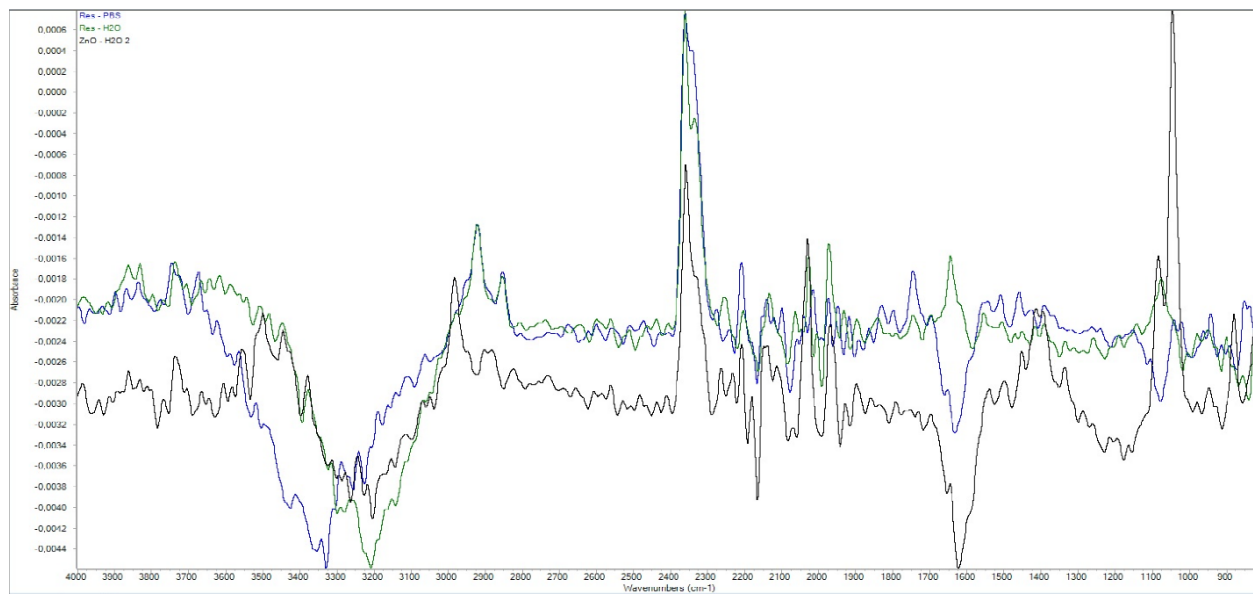


Рисунок 3.4. – Спектри FTIR для зразків наночастинок ZnO, зразків рідини SBF, зразків продуктів взаємодії між ZnONPs і SBF (Rez).

FTIR-спектроскопія (з перетворенням Фур'є) дозволяє визначити функціональні групи та хімічні взаємодії між компонентами у зразку.

Розглянемо області спектру в інтервалі  $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$  та інтерпретуємо їх з урахуванням присутності наночастинок оксиду цинку (ZnO), фосфатного буфера SBF і результатів їх сумісної взаємодії (Rez) при зберіганні в термостаті протягом доби при температурі  $37\text{C}$ :

1. Спостерігається зміна інтенсивності піку і його зміщення в області  $3230\text{--}3190\text{ см}^{-1}$ . Ця область відповідає розтягу O-H в гідроксильних групах. В даному випадку це може бути пов'язана з водою, адсорбованою на поверхні наночастинок ZnO, або гідроксильними групами, що входять до складу фосфатів ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) в SBF. В спектрограмі зразку, що відповідає продукту реакції спостерігається зсув даного піку, що свідчить про утворення водневих зв'язків між компонентами (зразок - Rez).
2. Наявність смуг поглинання в діапазоні  $2930\text{--}2850\text{ см}^{-1}$  для ZnO притаманна розтягувань C-H в алкільних ланцюгах. Це може бути пов'язано із

залишками органічних речовин, що використовували при синтезі ZnO (зокрема цинк ацетат, та етиленгліколь для стабілізації).

3. Смути в області поглинання  $2370\text{--}2330\text{ cm}^{-1}$  скоріше за все пов'язані з адсорбованим  $\text{CO}_2$  або молекулами  $\text{CO}_2$  у газоподібній фазі.
4. Смути поглинання в області  $2040\text{--}1975\text{ cm}^{-1}$  слабкі і знаходяться в області комбінаційних або обертонних вібрацій. Вони можуть бути пов'язані з поверхневими ефектами ZnO або з незначними взаємодіями між компонентами.
5. Піки в області  $1621\text{ cm}^{-1}$  відповідає деформаційним коливанням води ( $\delta(\text{O-H})$ ). Наявність піку в зразках наночастинок ZnO підтверджує присутність адсорбованої води, що зв'язується з поверхнею наночастинок.
6. Смути в області поглинання  $1085\text{--}1040\text{ cm}^{-1}$  характерні для розтягувань P–O у фосфатах ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). І, як видно з спектрів FTIR, інтенсивність даних смуг зменшується в зразку (Rez) порівняно із вихідними компонентами. Зміна інтенсивності і положення піку свідчити про взаємодію між фосфатами та поверхнею ZnO, наприклад, утворення сполук типу  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ .

Область  $540, 550, 505\text{ cm}^{-1}$  - ці низькочастотні піки пов'язані з коливаннями Zn-O в кристалічній решітці оксиду цинку. Вони підтверджують наявність наночастинок ZnO, а область  $630\text{ cm}^{-1}$  також може бути пов'язана з коливаннями Zn-O.

Отже, ознаки взаємодії між ZnO та SBF присутні на спектрограмі, що доказує зсув піків O–H та P–O, а також зміна їх інтенсивності. Все це вказує на формування водневих зв'язків або координаційних зв'язків між гідроксильними та фосфатними групами та поверхнею ZnO.

Інтенсивність піків  $\text{CO}_2$  ( $2370\text{--}2330\text{ cm}^{-1}$ ) можливо пов'язані з адсорбцією вуглекислого газу на поверхні наночастинок ZnO з можливим утворенням карбонатів на поверхні ZnO.

Ці дані підтверджують, що компоненти взаємодіють через фізичну адсорбцію, утворення водневих зв'язків та, можливо, хімічну модифікацію поверхні ZnO.

Дані FTIR-спектроскопії дозволяють пояснити відмінності в кінетиці десорбції, що досліджувалася на композитних матеріалах гідроксиапатиту модифікованими наночастинками срібла і наночастинками оксиду цинку в імерсійному середовищі типу SBF. Відмінності у поведінці нанокомпозитів з наночастинками срібла та оксиду цинку при десорбції можна пояснити наступним чином:

- a) наночастинки срібла слабо зв'язані з поверхнею гідроксиапатиту за рахунок переважно фізичної адсорбції (ван-дер-ваальсові сили) або слабких іонних взаємодій. Це робить їх більш схильними до десорбції у водному середовищі. Наночастинки оксиду цинку мають більш виражені хімічні взаємодії з імерсійним середовищем SBF та поверхнею гідроксиапатиту (FTIR демонструє утворення водневих або координаційних зв'язків між  $Zn^{2+}$  та функціональними групами імерсійного середовища і ймовірно самого гідроксиапатиту), що перешкоджає їх вивільненню.
- b) Наночастинки срібла і іони срібла ( $Ag^+$ ) відрізняються високою хімічною активністю та розчинністю у більшості буферних розчинів. Крім того,  $NPsAg$  можуть стабілізуватися комплексоутворюючими агентами, присутніми в розчині. Іони цинку ( $Zn^{2+}$ ) навпаки схильні до утворення слабо розчинних сполук, таких як гідроксиди або фосфати, карбонати, що зменшує рухливість і знижує десорбцію.
- c) Висока десорбція наночастинок срібла може бути обумовлена їх вищою дифузійною рухливістю, стабільністю агрегатного стану, коагуляційною стійкістю за рахунок достатньо високого значення  $\xi$ -потенціалу, що забезпечує стабільність колоїдної системи і її здатність до дифузії. Низька десорбція оксиду цинку з поверхні композитного матеріалу навпаки,

пов'язана з нестабільним станом колоїдної системи, низьким значенням  $\xi$ -потенціалу схильністю наночастинок до коагуляції, утворення зав'язків з фосфатними та гідроксидними групами, що все разом зменшує здатність до десорбції і дифузії іонів в розчин.

### 3.3. Оцінка антимікробної активності наночасток Ag та Cu.

На початковому етапі було визначено мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) наночастинок срібла (Ag) та міді (Cu) щодо клінічно резистентних патогенів з групи ESKAPE. Для цього використовували метод серійних мікророзведень у рідкому середовищі. Збудників культивували у середовищі Мюллера-Хінтона та додавали до них різні концентрації наночастинок Ag і Cu (від 0,31 до 200 мкг/мл для Ag та від 4,0 до 500 мкг/мл для Cu). Після інкубації протягом 24 годин за температури 37°C визначали МІК як найменшу концентрацію, що повністю пригнічувала видимий бактеріальний ріст [77].

На наступному етапі оцінювали антимікробні властивості композитів гідроксиапатиту, збагачених наночастинами Ag і Cu, за допомогою методу дискової дифузії. Бактерії з групи ESKAPE висівали на агар Мюллера-Хінтона рівномірним шаром. На поверхню агару розміщували диски з композитами гідроксиапатиту, що містили наночастинки Ag (25, 50, 75, 100 мкг/мг) та Cu (250, 500, 1000 мкг/мг). Після інкубації протягом 24 годин при 37°C оцінювали ефективність за розміром зон інгібування бактеріального росту.

Крім того, проводили тестування контактного інгібування для штамів, оброблених композитами гідроксиапатиту з наночастинами Ag і Cu. Це дало змогу підтвердити високу ефективність обох наноматеріалів [77].

Результати досліджень показали, що наночастинки Ag мають значну антибактеріальну активність проти патогенів групи ESKAPE. МІК для наночастинок Ag становила від 2,5 до 5 мкг/мл. Наночастинки Cu також продемонстрували антимікробну дію проти більшості штамів, за винятком *P. aeruginosa*. МІК для Cu виявилася вищою, варіюючи від 4 до 145,3 мкг/мл [77].



Таблиця 3.3. – Мінімальна інгібуюча концентрація AgNPs та CuNPs проти патогенів ESKAPE (мкг/мл) [77].

Типи патогенів	Концентрація	
	AgNPs	CuNPs
<i>S. aureus</i>	5.0	145.3
<i>E. faecalis</i>	2.5	62.5
<i>P.aeruginosae</i>	2.5	0
<i>K.pneumoniae</i>	2.5	62.5
<i>A.baumannii</i>	2.5	4

Наступним етапом досліджували контактне інгібування штамів за допомогою композитів наночастинок ГА з AgNPs та CuNPs, в результаті чого була виявлена антимікробна ефективність обох типів наночастинок.

В таблицях 3.4. та 3.5. наведені дані щодо антимікробної активності наночастинок срібла та наночастинок міді проти збудників ESKAPE [77].

Таблиця 3.4. - Зона пригнічення активності збудників хвороб за допомогою AgNPs (мм)[77].

Типи патогенів	Концентрація AgNPs в композиті (мкг/г)/ Зона затримки росту бактерій (мм).				
	0	25	50	75	100
<i>S. aureus</i>	0	11.3	12.0	12.3	12.0
<i>E. faecalis</i>	0	13.3	12.6	12.6	12.6
<i>P.aeruginosae</i>	0	7.0	11.3	12.0	11.6
<i>K.pneumoniae</i>	0	8.6	10.3	10.0	11.0
<i>A.baumannii</i>	0	9.3	11.6	12.6	12.0

Таблиця 3.5. – Зона пригнічення активності збудників хвороб за допомогою CuNPs (мм) [77].

Типи патогенів	Концентрація CuNPs в композиті (мкг/г)/ Зона затримки росту бактерій (мм)			
	0	250	500	1000
<i>S. aureus</i>	0	7.6	11.3	13.0
<i>E. faecalis</i>	0	12.0	13.0	12.6
<i>P.aeruginosae</i>	0	0	0	0
<i>K.pneumoniae</i>	0	12.3	11.6	8.0
<i>A.baumannii</i>	0	0	0	13.0

Було встановлено, що додавання AgNPs до гідроксиапатиту (ГА) спричинило значно більшу антибактеріальну активність, порівняно з додаванням CuNPs до ГК.

На рисунку 3.5. зображено отримані таблетки композитів ГА-AgNPs, які використовували для дослідження антибактеріальних властивостей [77].



Рисунок 3.5. – Композити ГА/AgNPs для тестування антибактеріальних властивостей.

На рисунку 3.6. зображені тестові зразки таблеток, які брали участь у мікробіологічному дослідженні з патогенами ESKAPE.

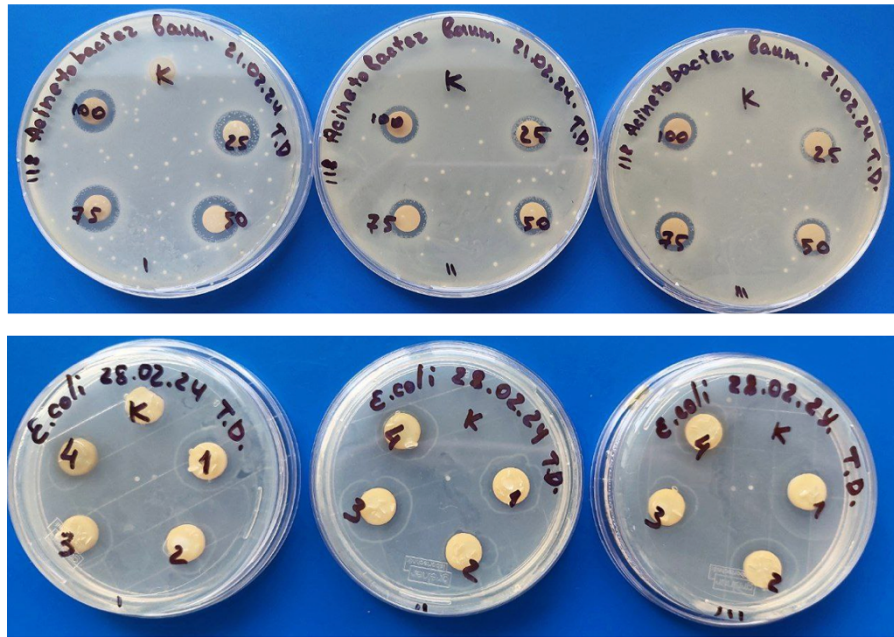


Рисунок 3.6. – Композити ГА/AgNPs та ГА /CuNPs для тестування антибактеріальних властивостей.

## Висновки

Висока десорбція наночастинок срібла і низька десорбція наночастинок оксиду цинку зумовлені їх різними хімічними і фізико-хімічними властивостями. Наночастинки срібла мають високу дифузійну рухливість та стійкість у колоїдних системах, що робить їх більш активним у середовищі SBF. Натомість, наночастинки оксиду цинку за рахунок утворення слабкорозчинних сполук (гідроксидів, фосфатів, карбонатів) демонструє низьку десорбцію і дифузію, що сприяє їх більшому закріпленню в композитному матеріалі.

Ці властивості можуть бути використані для створення матеріалів із контрольованими характеристиками вивільнення, наприклад, у біомедичних застосуваннях, де потрібне тривале вивільнення цинку та швидка антимікробна дія срібла.

## ВИСНОВКИ

Проведений аналіз методів синтезу гідроксиапатиту дозволив вибрати мокрий тип синтезу ГА завдяки його екологічності, використанню нешкідливих розчинників, простоті процесу та високому виходу продукту. Також вибір методу базувався на доступності необхідних реагентів і обладнання для експериментів. Для надання матеріалам антимікробної та протизапальної дії активно застосовують наночастинки металів. Все це дозволило спробувати створити композитний матеріал на основі гідроксиапатиту, модифікованого наночастинками металів.

Фізико-хімічні методи аналізу дозволили підтвердити структуру синтезованих матеріалів, визначити їх характеристики та вивчити процеси десорбції наночастинок та можливі взаємодії між компонентами в складній системі.

Синтезовані матеріали на основі ГА з наночастинками срібла, оксиду цинку і міді вивчали на здатність до десорбції в середовищі SBF. Зразки композитів показали різну здатність до десорбції і вивільнення іонів. Найбільшу активність виявили зразки що містили AgNPs (100мг/г), які через 30 діб десорбували більше 50% від загальної маси наночастинок, що містив зразок. Композити із наночастинками ZnO і Cu демонстрували значно меншу здатність до десорбції іонів не більше 0,5-1%. Для вивчення причин, що гальмують десорбцію вказаних частинок провели дослідження компонентів імерсійного середовища із застосуванням інфрачервоного Фур'є спектрометру. Дослідження показали ознаки взаємодії між наночастинками ZnO та SBF, що доказує зсув піків O–H та P–O, а також зміна їх інтенсивності.

Антимікробна активність композитів з гідроксиапатитом показала різну антибактеріальну активність. Композити гідроксиапатиту з AgNPs

демонстрували значно більшу антибактеріальну активність порівняно з композитами, що містили CuNPs.

Висока десорбція наночастинок срібла і низька десорбція наночастинок оксиду цинку зумовлені їх різними хімічними і фізико-хімічними властивостями. Наночастинки срібла мають високу дифузійну рухливість та стійкість у колоїдних системах, що робить їх більш активним у середовищі SBF. Натомість, наночастинки оксиду цинку за рахунок утворення слабкорозчинних сполук (гідроксидів, фосфатів, карбонатів) демонструє низьку десорбцію і дифузію, що сприяє їх більшому закріпленню в композитному матеріалі.

**Ці властивості можуть бути використані для створення матеріалів із контрольованими характеристиками вивільнення, наприклад, у біомедичних застосуваннях, де потрібне тривале вивільнення цинку та швидка антимікробна дія срібла.**

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Santajit S., Indrawattana, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens // *BioMed Research International*. 2016. Vol. 2016, Issue 1. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>.
2. Ullah Khan S., Saleh T. A., Wahab A., Khan M. H. U., Khan D., W Khan U., Rahim A., Kamal S., Ullah Khan F., Fahad S. Nanosilver: New Ageless and Versatile Biomedical Therapeutic Scaffold // *International Journal of Nanomedicine*. 2018. No 13. P. 733–762. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S153167>
3. Silva-Holguín, P. N., Reyes-López, S. Y. Synthesis of Hydroxyapatite-Ag Composite as Antimicrobial Agent // *Dose Response*. 2020. Vol. 18, No. 3. DOI: <https://doi.org/10.1177/1559325820951342>.
4. Tran C. D., Makuvaza J., Munson E., Bennett B. Biocompatible Copper Oxide Nanoparticle Composites from Cellulose and Chitosan: Facile Synthesis, Unique Structure, and Antimicrobial Activity // *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2017. Vol. 9, No. 49. P. 42503–42515. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.7b11969>
5. Xia X., Zeng J., Zhang Q., Moran C. H., Xia Y. Recent Developments in Shape-Controlled Synthesis of Silver Nanocrystals // *Journal of Physical Chemistry C Nanomaterials Interfaces*. 2012. Vol. 116, No. 41. P. 21647–21656. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp306063p>
6. Shi D. L. *Introduction to Biomaterials*. World Scientific, 2005.
7. Steele B. C. H. Material science and engineering: The enabling technology for the commercialisation of fuel cell systems // *Journal of Materials Science*. 2001. Vol. 36. P. 1053–1068. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1004853019349>.
8. Kaygili O., Dorozhkin S. V., Keser S. Synthesis and characterization of Ce-substituted hydroxyapatite by sol-gel method // *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications*. 2014. Vol. 42. P. 78–82. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.05.024>.

9. Kareem R., Kaygili O. Synthesis and Characterization of Bismuth-Based Hydroxyapatites Doped with CERIUM: Master's Thesis. Firat: Firat University, 2023.
10. Ratner B. D., Hoffman A. S., Schoen F. J., Lemons J. E. Biomaterials Science. Academic Press, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02433-7>.
11. McConnell D. Apatite, Its Crystal Chemistry, Mineralogy, Utilization and Geologic and Biologic Occurrences. Wien/New York: Springer-Verlag, 1973.
12. Rivera-Munoz E. M. Hydroxyapatite-Based Materials: Synthesis and Characterization // Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges / Ed. by Fazel-Rezai, R. London: IntechOpen, 2011. P. 79–95. DOI: <https://doi.org/10.5772/19123>.
13. Agrawal K., Singh G., Puri D., Prakash S. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Sol-Gel Method for Biomedical Application // Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering. 2011. Vol. 10, No. 8. P. 727–734. DOI: <https://doi.org/10.4236/jmmce.2011.108057>.
14. Williams D. F. The Williams Dictionary of Biomaterials. Liverpool: Liverpool University Press, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(99\)80066-2](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(99)80066-2).
15. Yoshimura M., Hiroyuki. Hydrothermal Processing of Hydroxyapatite: Past, Present, and Future // Hydroxyapatite and Related Materials / P. Brown, B. Constantz. CRC Press, 2017. P. 45–72. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9780203751367-3/hydrothermal-processing-hydroxyapatite-past-present-future-masahiro-yoshimura-hiroyuki-suda>
16. Kareem R. O., Bulut N., Kaygili O. Hydroxyapatite Biomaterials: A Comprehensive Review of Their Properties, Structures, Medical Applications, and Fabrication Methods // Journal of Chemical Reviews. 2024. Vol. 6. P. 1–26. DOI: <https://doi.org/10.48309/jcr.2024.415051.1253>.
17. Zhang D., Zhang H., Wen J., Cao J. Preparation and Characteristics of Zinc and Strontium Co-Doped Hydroxyapatite Whiskers // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/233/2/022007>.



18. Ito A., Otsuka M., Kawamura H., Ikeuchi M., Ohgushi H., Sogo Y., Ichinose N. Zinc-Containing Tricalcium Phosphate and Related Materials for Promoting Bone Formation // *Current Applied Physics*. 2005. Vol. 5. P. 402–406. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cap.2004.10.006>.
19. Ghosh R., Sarkar R. Synthesis and Characterization of Sintered Hydroxyapatite: A Comparative Study on the Effect of Preparation Route // *Journal of the Australian Ceramic Society*. 2018. Vol. 54. P. 71–80. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41779-017-0128-5>.
20. Sadat-Shojai M., Khorasani M. T., Dinpanah-Khoshdargi E., Jamshidi A. Synthesis Methods for Hydroxyapatite and Their Effects on Structural and Biological Properties: A Review // *Acta Biomaterialia*. 2013. Vol. 9. P. 7591–7621. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>.
21. Cox S. C., Mallick K. K., Walton R. I. Comparison of Techniques for the Synthesis of Hydroxyapatite // *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials*. 2014. Vol. 4. P. 37–47. DOI: <https://doi.org/10.1680/bbn.14.00010>.
22. Rahaman M., Rahaman M. *Ceramic Processing*. Taylor & Francis, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781315276045>.
23. Pramanik S., Agarwal A. K., Rai K. N., Garg A. Hydroxyapatite Reinforced Biocomposites // *Ceramics International*. 2007. Vol. 33. P. 419–426. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2005.10.025>.
24. Mohd Pu'ad N. A. S., Abdul Haq R. H., Mohd Noh H., et al. Synthesis Method of Hydroxyapatite: A Review // *Materials Today: Proceedings*. 2020. Vol. 29, Part 1. P. 233–239.
25. Achar T. K., Bose A., Mal P. Recent Advances in Hydroxyapatite Synthesis Methods // *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 2017. Vol. 13. P. 1907–1931. DOI: <https://doi.org/10.3762/bjoc.13.186>.
26. Shen T. D., Koch C. C., McCormick T. L., Nemanich R. J. Structural Transformations of Hydroxyapatite Powders under High-Pressure Milling // *Journal of*

- Materials Research. 1995. Vol. 10. P. 139–148. DOI: <https://doi.org/10.1557/JMR.1995.0139>.
27. Teus S. M., Shanina B. D., Konchits A. A., Mogilny G. S., Gavriljuk V. G. Mechanism of Embrittlement of Metals by Surface-Active Elements // *Metallofizika i Noveishie Tekhnologii*. 2018. Vol. 40, No. 2. P. 201–218. DOI: <https://doi.org/10.15407/mfint.40.02.0201>.
28. Yeong K. C. B., Wang J., Ng S. C. Hydroxyapatite-Based Biomaterials // *Biomaterials*. 2001. Vol. 22. P. 2705–2712. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00257-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00257-X).
29. Fathi M. H., Mohammadi Zahrani E. Mechanical Alloying Synthesis and Bioactivity Evaluation of Nanocrystalline Fluoridated Hydroxyapatite // *Journal of Crystal Growth*. 2009. Vol. 311, Issue 5. P. 1392–1403. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2008.11.100>.
30. Fathi M. H., Zahrani E. M. Fabrication and Characterization of Fluoridated Hydroxyapatite Nanopowders via Mechanical Alloying // *Journal of Alloys and Compounds*. 2009. Vol. 475, No. 1-2. P. 408–414. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2008.07.058>.
31. Santos M. H., de Oliveira M., de F. Souza L. P., Mansur H. S., Vasconcelos W. L. Hydroxyapatite-Based Biomaterials // *Materials Research*. 2004. Vol. 7. P. 625–630.
32. Catros S., Guillemot F., Lebraud E., Chanseau C., Perez S., Bareille R., Amédée J., Fricain J. C. Recent Developments in Hydroxyapatite Applications // *IRBM*. 2010. Vol. 31. P. 226–233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.irbm.2010.04.002>.
33. Huang Y., Imura M., Nemoto Y. Advanced Applications of Hydroxyapatite in Material Science // *Science and Technology of Advanced Materials*. 2011. Vol. 12. P. 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1088/1468-6996/12/4/045005>.
34. Yelten-Yilmaz A., Yilmaz S. Wet Chemical Precipitation Synthesis of Hydroxyapatite (HA) Powders // *Ceramics International*. 2018. Vol. 44. P. 9703–9710. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.02.201>.

35. Afshar A., Ghorbani M., Ehsani N., Saeri M. R., Sorrell C. C. Hydroxyapatite Ceramics: Processing and Characterization // *Materials and Design*. 2003. Vol. 24. P. 197–202.
36. Huang, G., Lu, C., Yang, H. Magnetic Nanomaterials for Magnetic Bioanalysis // *Novel Nanomaterials for Biomedical, Environmental and Energy Applications* / Ed. X. Wang, X. Chen. Elsevier Inc., 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814497-8.00003-5>.
37. Fihri A., Len C., Varma R. S., Solhy A. Hydroxyapatite: A Review of Syntheses, Structure and Applications in Heterogeneous Catalysis // *Coordination Chemistry Reviews*. 2017. Vol. 347. P. 48–76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.06.009>.
38. Zhang G., Chen J., Yang S., Yu Q., Wang Z., Zhang Q. Preparation of Amino-Acid-Regulated Hydroxyapatite Particles by Hydrothermal Method // *Materials Letters*. 2011. Vol. 65. P. 572–574. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.10.078>.
39. Sinitsyna O. V., Veresov A. G., Kovaleva E. S., Kolenko Y. V., Putlyaev V. I., Tretyakova Y. D. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite for Biomedical Applications // *Russian Chemical Bulletin, International Edition*. 2005. Vol. 54. P. 79–86.
40. Nakahira A., Sakamoto K., Yamaguchi S., Kaneno M., Takeda S., Okazaki M. Microwave-Assisted Synthesis of Calcium Phosphate Minerals Using Hen's Eggshells as a Calcium Source // *Journal of the American Ceramic Society*. 1999. Vol. 82. P. 2029–2032. DOI: <https://doi.org/10.37190/ppmp/127930>.
41. Sasikumar S., Vijayaraghavan R. Solution Combustion Synthesis of Bioceramic Calcium Phosphates by Single and Mixed Fuels – A Comparative Study // *Ceramics International*. 2008. Vol. 34. P. 1373–1379. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2007.03.009>.
42. Itatani K., Tsugawa T., Umeda T., Musha Y., Davies I. J., Koda S. Preparation of Submicrometer-Sized Porous Spherical Hydroxyapatite Agglomerates by Ultrasonic Spray Pyrolysis Technique // *Journal of the Ceramic Society of Japan*. 2010. Vol. 118. P. 462–466.

43. Cho J. S., Rhee S. H. Preparation of Submicron-Sized Hydroxyapatite Powders by Spray Pyrolysis // *Key Engineering Materials*. 2012. Vol. 493–494. P. 215–218. DOI: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.493-494.215>.
44. Suhag D., Thakur P., Thakur A. Introduction to Nanotechnology // *Integrated Nanomaterials and Their Applications*. 2023. Vol. 7. P. 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-16-6819-7>.
45. Ajith M. P., Aswathi M., Priyadarshini E., Rajamani P. Recent Innovations of Nanotechnology in Water Treatment: A Comprehensive Review // *Bioresource Technology*. 2021. Vol. 342. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126000>.
46. Islam F., Shohag S., Uddin M. J., et al. Exploring the Journey of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) toward Biomedical Applications // *Materials*. 2022. Vol. 15, No. 6. P. 2160. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma15062160>.
47. Ashe B. A Detailed Investigation to Observe the Effect of Zinc Oxide and Silver Nanoparticles in Biological Systems: Thesis. Orissa, 2011. 110 p.
48. Salim E. Influence of Ethocel Polymer (EC) Loaded with Inorganic Nanoparticles (ZnO-NPs) on the Chemical and Physical Properties of Wooden Paper // *Egyptian Journal of Archaeological and Restoration Studies*. 2024. Vol. 14, No. 1. P. 11–18. DOI: <https://doi.org/10.21608/ejars.2024.361164>.
49. Hazim K., Khudair Z. F., Kadhim I. K., Mohamed L., Hameed G. F., Alyasiri F. J. Biosynthesis, Antibacterial Activity, and Photocatalytic Performance of ZnO NPs Using Leaf Extract of the Plant *Primo Fiore* // *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences*. 2022. Vol. 16, No. 4. P. 456–459. DOI: <https://doi.org/10.53350/pjmhs22164456>.
50. Gold K., Slay B., Knackstedt M., Gaharwar A. K. Antimicrobial Activity of Metal and Metal-Oxide Based Nanoparticles // *Advanced Therapeutics*. 2018. Vol. 1. DOI: <https://doi.org/10.1002/adtp.201700033>.
51. Zhao G. J., Stevens S. E. Multiple Parameters for the Comprehensive Evaluation of the Susceptibility of *Escherichia coli* to the Silver Ion // *Biometals*. 1998. Vol. 11. P. 27–32. DOI: <https://doi.org/10.1023/a:1009253223055>.

52. Subha V., Ernest Ravindran R. S., Sruthi P., Renganathan S. An Ecofriendly Approach for Synthesis of Silver Nanoparticles Using Ipomoea pes-caprae Root Extract and Their Antimicrobial Properties // Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2015. Vol. 8. P. 103–106. URL: <https://journals.innovareacademics.in/index.php/ajpcr/article/view/6855>.
53. Feng Q. L., Wu J., Chen G. Q., et al. A Mechanistic Study of the Antibacterial Effect of Silver Ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus // Journal of Biomedical Materials Research. 2008. Vol. 52. P. 662–668. DOI: [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20001215\)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20001215)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3).
54. Jalal R., Goharshadi E. K., Abareshi M., et al. ZnO Nanofluids: Green Synthesis, Characterization, and Antibacterial Activity // Materials Chemistry and Physics. 2010. P. 198–201. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.01.020>.
55. Seil J. T., Webster T. J. Antimicrobial Applications of Nanotechnology: Methods and Literature // International Journal of Nanomedicine. 2012. Vol. 7. P. 2767–2781. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S24805>.
56. Colon G., Ward B. C., Webster T. J. Increased Osteoblast and Decreased Staphylococcus epidermidis Functions on Nanophase ZnO and TiO<sub>2</sub> // Journal of Biomedical Materials Research. 2006. Vol. 78, No. 3. P. 595–604. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30789>.
57. Padmavathy N., Vijayaraghavan R. Enhanced Bioactivity of ZnO Nanoparticles – An Antimicrobial Study // Science and Technology of Advanced Materials. 2008. Vol. 9, No. 3. DOI: <https://doi.org/10.1088/1468-6996/9/3/035004>.
58. Seil J. T., Taylor E. N., Webster T. J. Reduced Activity of Staphylococcus epidermidis in the Presence of Sonicated Piezoelectric Zinc Oxide Nanoparticles // 2009 IEEE 35th Annual Northeast Bioengineering Conference. Cambridge, 2009. P. 1–2. DOI: <https://doi.org/10.1109/NEBC.2009.4967674>.
59. Lewinski N., Colvin V., Drezek R. Cytotoxicity of Nanoparticles // Small. 2008. Vol. 4, No. 1. P. 26–49. DOI: <https://doi.org/10.1002/smll.200700595>.

60. Zhang W., Chang Q., Xu L., et al. Graphene Oxide-Copper Nanocomposite-Coated Porous CaP Scaffold for Vascularized Bone Regeneration via Activation of Hif-1 $\alpha$  // *Advanced Healthcare Materials*. 2016. Vol. 5. P. 1299–1309. DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.201500824>.
61. Midander K., Cronholm P., Karlsson H. L., et al. Surface Characteristics, Copper Release, and Toxicity of Nano- and Micrometer-Sized Copper and Copper(II) Oxide Particles: A Cross-Disciplinary Study // *Small*. 2009. Vol. 5. P. 389–399. DOI: <https://doi.org/10.1002/smll.200801220>.
62. Ruiz L. M., Libedinsky A., Elorza A. A. Role of Copper on Mitochondrial Function and Metabolism // *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2021. Vol. 8. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.711227>.
63. Luong H. T., Nguyen C. X., Lam T. T., et al. Antibacterial Effect of Copper Nanoparticles Produced in a *Shewanella*-Supported Non-External Circuit Bioelectrical System on Bacterial Plant Pathogens // *RSC Advances*. 2022. Vol. 12. P. 4428–4436. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1RA08187J>.
64. Doolotkeldieva T., Bobusheva S., Zhasnakunov Z., Satybaldiev A. Biological Activity of Ag and Cu Monometallic Nanoparticles and Ag-Cu Bimetallic Nanocomposites against Plant Pathogens and Seeds // *Journal of Nanomaterials*. 2022. Volume 2022, Issue 1. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/1190280>.
65. Zhou F., Zhu Y., Yang L., et al. Ag NP Catalysis of Cu Ions in the Preparation of AgCu NPs and the Mechanism of Their Enhanced Antibacterial Efficacy // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2021. Vol. 632. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127831>.
66. Vasiliev G., Kubo A.-L., Vija H., et al. Synergistic Antibacterial Effect of Copper and Silver Nanoparticles and Their Mechanism of Action // *Scientific Reports*. 2023. Vol. 13. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36460-2>.
67. Raja P. B., Munusamy K. R., Perumal V., Ibrahim M. N. M. Characterization of Nanomaterial Used in Nanobioremediation // *Nano-Bioremediation: Fundamentals and*

- Applications / Ed. Hafiz M. N. Iqbal, M. Bilal, T. A. Nguyen. Elsevier, 2022. P. 57–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823962-9.00037-4>.
68. Llewellyn A. V., Matruglio A., Brett D. J. L., et al. Using In-Situ Laboratory and Synchrotron-Based X-ray Diffraction for Lithium-Ion Batteries Characterization: A Review on Recent Developments // *Condensed Matter*. 2020. Vol. 5, No. 4. DOI: <https://doi.org/10.3390/condmat5040075>.
69. Herrero R. Y., Camas L. K., Ullah A. Characterization of Biobased Materials // *Advanced Applications of Biobased Materials*. 2023. P. 111–143. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91677-6.00005-2>.
70. Transmission Electron Microscopy: website. URL: <https://www.nanoscience.com/techniques/transmission-electron-microscopy/>.
71. Ojeda, J., Dittrich, M. Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Molecular Analysis of Microbial Cells // *Microbial Systems Biology* / Ed. A. Navid. Humana Totowa, 2012. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-827-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-827-6_8).
72. Raj S., Alex A., Paulose A. K., et al. Spectroscopic and Microscopic Analysis of Biodegradable and Biocompatible Polymer Nanocomposites // *Biodegradable and Biocompatible Polymer Nanocomposites* / Ed. K. Deshmukh, M. Elsevier, 2023. P. 69–112. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91696-7.00013-1>.
73. Filho H. J. I., Salazar R. F. de S., Capri M. da R., et al. State-of-the-Art and Trends in Atomic Absorption Spectrometry // *Atomic Absorption Spectroscopy*. 2012. P. 13–36. DOI: <https://doi.org/10.5772/26076>.
74. Горват А. А., Молнар О. О., Мінькович В. В. Обробка, візуалізація та аналіз експериментальних даних з використанням пакету Origin: навчальний посібник. Ужгород: Видавництво УЖНУ “Говерла”, 2020. 64 с.
75. Microsoft Excel: сайт. URL: [https://uk.wikipedia.org/wiki/Microsoft\\_Excel](https://uk.wikipedia.org/wiki/Microsoft_Excel).
76. Kareem Z., Eyiler E. Synthesis of Hydroxyapatite from Eggshells via Wet Chemical Precipitation: A Review // *RSC Advances*. 2024. Issue 30. DOI: <https://doi.org/10.1039/D4RA02198C>.

77. Holubnycha V., Pshenychnyi R., Bolshanina, S., et al. The Antimicrobial Effectiveness of the Hydroxyapatite Matrix Loaded with Metal Nanoparticles // 14th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties”. Riga, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1109/NAP62956.2024.10739717>.
78. Güzel R., Erdal G. Synthesis of Silver Nanoparticles. Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications. InTech, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.75363>.
79. Yanovska A., Pshenychnyi R., Husak Y., et al. Synthesis, Characterization, and Antibacterial Activity of Hydroxyapatite Composite Materials Loaded with ZnO Nanoparticles // Nanomaterials in Biomedical Application and Biosensors: Conference proceedings. 2020. P. 67–74. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-15-3996-1>.
80. Синтез та оптимізація властивостей сонячних елементів на основі гетеропереходу n-ZnO/p-Cu<sub>2</sub>ZnSn(S,Se)<sub>4</sub>, отриманих методом друку з використанням наночорнил. URL: <https://chem.teset.sumdu.edu.ua/uk/naukova-robota/naukova-diialnist/2-uncategorised/59-pshenychnyi-naukova-tema>.
81. Mocanu A., Cadar O., Frangopol P. T., et al. Ion Release from Hydroxyapatite and Substituted Hydroxyapatites in Different Immersion Liquids: In Vitro Experiments and Theoretical Modelling Study // Royal Society Open Science. 2021. Vol. 8. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsos.201785>.
82. Maity N., Bruchiel-Spanier N., Sharabani-Yosef O., Mandler D., Eliaz N. Zinc Oxide Nanoparticles Embedded Photo-Crosslinkable PLA-block-PEG toward Effective Antibacterial Coatings // Materials Advances. 2023. Vol. 4. P. 3026-3036. DOI: <https://doi.org/10.1039/D3MA00169E>.
83. Kokubo T. Bioactive Glass Ceramics: Properties and Applications // Biomaterials. 1991. Vol. 12, Issue 2. P. 155–163. DOI: [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(91\)90194-F](https://doi.org/10.1016/0142-9612(91)90194-F).



## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### **Правила техніки безпеки під час роботи в хімічних лабораторіях.**

Лабораторні дослідження проводяться під керівництвом викладача та лаборанта. Перед початком лабораторних занять студенти проходять інструктаж з техніки безпеки, який оформлюється у спеціальному журналі. Крім того, під час кожної роботи вони одержують усний інструктаж від викладача.

Студенти несуть дисциплінарну відповідальність у разі недотримання вимог з охорони праці, техніки безпеки та протипожежної профілактики.

Працювати в лабораторії студенти повинні на постійному робочому місці тільки в халатах, застібнутих на всі гудзики. Волосся має бути підібране під косинку чи шапочку.

Під час виконання лабораторних досліджень необхідно дотримуватися наступних *правил роботи з хімічними речовинами*:

1. Обережно поводитись з хімічними речовинами:

– уникати потрапляння цих речовин на руки, не торкатися ними обличчя та очей, після роботи руки слід ретельно вимити;

– не пробувати хімічні речовини на смак;

– усі речовини слід нюхати дуже обережно, не нахиляючись над посудиною та не вдихаючи на повні груди, а спрямовуючи до себе пари чи газу рухом руки;

– не користуватися невідомими речовинами (без написів і етикеток);

– ніяких речовин з лабораторії *не можна брати додому*.

2. Речовини для дослідів слід брати лише в тих кількостях, які зазначені в методиці. Сухі речовини слід брати за допомогою шпателя, розчини – піпеткою, для кожного реактиву необхідно мати окремий шпатель або піпетку. Набирати отруйні та їдкі рідини в піпетки не ротом, а за допомогою гумової груші.

Подрібнювати сухі луги можна лише в запобіжних окулярах. Брати твердий луг тільки пінцетом або щипцями.

3. Надлишок реактиву не виливати і не висипати назад в посуд, з якого вони взяті; поміщати в посуд для зливу або спускати із струмом води в каналізацію.

4. Дотримуватися обережності в роботі з розчинами кислот, лугів й інших їдких рідин:

– готуючи розчини сірчаної кислоти необхідно лити концентровану кислоту у воду, а не навпаки, оскільки, внаслідок сильного місцевого розігрівання, можливе розбризкування кислоти. Крім того необхідно користуватися тонкостінною склянкою або фарфоровим посудом;

– у разі попадання кислоти на шкіру або слизові оболонки спочатку промити уражене місце великою кількістю води, а потім розчином соди (гідрокарбонату натрію);

– у разі попадання лугу на шкіру або слизові оболонки спочатку промити уражене місце водою до тих пір, поки ділянка не перестане бути слизькою, а потім розчином оцтової кислоти.

5. Проведення дослідів у брудному лабораторному посуді забороняється.

6. Нагріваючи рідини, необхідно тримати пробірку отвором від себе і людей, що знаходяться поруч. Не нахилятися над посудом, в якому щось кипить чи в який наливається рідина, оскільки бризки можуть потрапити в очі.

7. Категорично забороняється нагрівати або охолоджувати будь-які розчини у герметично закритих місткостях, а також закривати колби з гарячою рідиною.

8. Переносити посуд з гарячою рідиною треба використовуючи рушник, тримаючи посудину обома руками: однією – за дно, іншою – за горловину. Великі хімічні стакани з рідиною потрібно піднімати лише двома руками так, щоб відігнуті краї склянки опиралися на вказівні пальці.

9. Роботу з леткими речовинами (етером, бенzenом, ацетоном та ін.), концентрованими лугами та кислотами проводити акуратно і під витяжною шафою, не зливати їх в каналізацію без попереднього розведення.

10. Роботу з легкозаймистими рідинами вести під витяжною шафою та подалі від нагрівальних приладів. У разі загорання спирту, ефіру та інших легкозаймистих рідин не гасити полум'я водою, а скористатися піском.

11. Обережно працювати зі скляним лабораторним посудом, що легко б'ється. Рештки побитого лабораторного скляного посуду слід ретельно змісти у спеціальний збірник. Сировину чи напівфабрикати, у які могли потрапити скляні уламки, необхідно викинути у спеціальний збірник.

12. Негайно прибрати усе пролите, розбите і просипане на столах або на підлозі в лабораторії:

– якщо кислота пролиється на стіл або на підлогу, її слід нейтралізувати лугом або содою;

– меркурій, пролитий в результаті поломки приладів або розбитті термометрів, збирають за допомогою амальгамованих пластинок з міді або білої жести.

13. У дослідах з використанням електроприладів необхідно переконатися в їх справності, правильності підключення до електромережі та контуру заземлення. Під час виконання роботи не можна переносити увімкнуті електроприлади та залишати їх без нагляду. У разі перерви в подачі електроенергії всі пристрої мають бути негайно вимкнуті.

14. Після закінчення роботи в лабораторії необхідно вимкнути всі електроприлади, якими користувалися, витяжну шафу, воду, прибрати свої робочі місця та здати їх лаборантові або завідувачу лабораторії. Обов'язково ретельно вимити руки.

Про усі випадки відхилення від нормального ходу лабораторного зайняття, порушення даних правил, повідомляти передусім викладачеві, черговому лаборантові або завідувачеві лабораторією.

З метою протипожежної безпеки хімічна лабораторія забезпечена вогнегасниками, ящиками з піском, ковдрами. Необхідно знати, де знаходяться протипожежні засоби і порядок термінової евакуації з лабораторії під час пожежі.

У хімічній лабораторії є аптечка. Кожен студент повинен вміти надати першу долікарську допомогу потерпілому, основні етапи якої, в залежності від виду нещасного випадку наведені в таблиці А.1.

*Таблиця А.1 – Надання першої допомоги в результаті нещасного випадку*

<b>Подія</b>	<b>Перша допомога</b>
<b>ОПІКИ</b>	
I- й ступінь (почервоніння)	Накласти вату, змочену етиловим спиртом. Повторити змочування.
II- й ступінь (пухирі)	Те ж саме. Обробляти 5% -м розчином $\text{KMnO}_4$ або 5% -м розчином таніну.
III- й ступінь (руйнування тканин)	Покрити рану стерильною пов'язкою і викликати лікаря.
Опіки кислотами, хлором або бромом	Промити опік великою кількістю води, потім 5%- ним розчином $\text{NaHCO}_3$
Опіки лугами	Промити рясно водою.
Опіки очей	При опіку кислотами промити 3% -м розчином $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . При опіку лугами застосовувати 2% -й розчин оцтової кислоти
<b>ОТРУЄННЯ</b>	
Попадання їдких речовин в рот й органи травлення	У випадку попадання кислоти – випити кашку з оксиду магнію; у випадку попадання лугу – випити розчин лимонної кислоти або дуже розбавленої оцтової кислоти.

Отруєння твердими або рідкими речовинами	Викликати блювоту, випивши 1% -й розчин сульфату міді(II) $\text{CuSO}_4$
Отруєння газами	Потерпілого негайно вивести на свіже повітря.
Порізи шкіри	Рану продезінфікувати розчином перманганату калію або спиртом, обробити з країв йодом і перев'язати бинтом або заклеїти лейкопластиром. У разі надмірної кровотечі накласти джгут
Потрапляння стороннього тіла в очі	Стороннє тіло видаляють струменем розчину борної кислоти або чистої води, спрямовуючи його від виска до носа, і якщо не вдається видалити – негайно звернутися до лікаря