

УДК 615.453.3

## ГРАНУЛИРОВАННЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ПЛОХО ОКРИСТАЛЛИЗОВАННОГО КАРБОНАТГИДРОКСИАПАТИТА, ГИДРОСИЛИКАТА КАЛЬЦИЯ И ЖЕЛАТИНА

© 2023 г. А. П. Солоненко<sup>1</sup> \*, А. Е. Шевченко<sup>1</sup>, Д. А. Полонянкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Омский государственный медицинский университет, ул. Ленина, 12, Омск, 644099 Россия

<sup>2</sup>Омский государственный технический университет, пр. Мира, 11, Омск, 644050 Россия

\*e-mail: annsolonenko@gmail.com

Поступила в редакцию 21.07.2022 г.

После доработки 10.12.2022 г.

Принята к публикации 12.12.2022 г.

По суспензионной технологии из синтетических керамических порошков с варьируемой в широком диапазоне пропорцией плохо окристаллизованного карбонатгидроксиапатита и гидросиликата кальция, а также связующего полимера (желатина) получены сферические гранулы. Показано, что в условиях экспериментов формируются полидисперсные образцы, включающие частицы с диаметром от 500 мкм до 5 мм и открытой пористостью порядка 40–60%. Гранулированные материалы содержат 19–29 мас. % желатина и 60–75 мас. % неорганических солей.

**Ключевые слова:** пористые сферические гранулы, фосфаты кальция, силикаты кальция, биоматериалы

**DOI:** 10.31857/S0002337X23020148, **EDN:** YEYSVP

### ВВЕДЕНИЕ

В качестве компонентов биоматериалов, предназначенных для восстановления дефектов твердых тканей, наряду с широко распространенными кристаллическими модификациями трикальция фосфата ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) и гидроксиапатита ( $\text{ГА}$ ,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) могут использоваться плохо окристаллизованные формы веществ с высоким потенциалом биоактивности и совместимости с костной тканью. К таковым относятся, например, карбонатгидроксиапатит (**КГА**) и гидросиликаты кальция (**ГСК**,  $r\text{CaO} \cdot m\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ). Первый рассматривается как аналог минеральной составляющей костной ткани [1] с более высокой растворимостью по сравнению с незамещенным стехиометрическим апатитом, тогда как ГСК, ввиду наличия в их составе кремния, могут принимать активное участие в репаративных процессах костной системы [2]. Названные важные свойства данных веществ и их компонентов обуславливают потенциальную перспективность создания композитных материалов на их основе.

Известны исследования, касающиеся разработки плотных и пористых керамик [3, 4], покрытий [5], цементов [6], гранул [7, 8] на основе КГА. Изучается применимость 3D-матрикс-ов из ГСК в качестве биоматериалов [9, 10]. Публикации, по-

священные получению композитов апатита и ГСК, немногочисленны. Так, в работах [11, 12] получали цементы, в результате твердения которых образовывались композиты КГА и ГСК. Авторами данных исследований отмечено, что присутствие в составе материалов аморфного силиката кальция улучшает биологическую активность цементов *in vitro* и *in vivo* и усиливает пролиферацию клеток на их поверхности.

Важно, что для формирования смесей КГА и ГСК не применимы методики, включающие стадию термической обработки, ввиду нестабильности данных солей при воздействии высоких температур. Объемные материалы на их основе могут быть получены только “мягкими” способами.

Цель данной работы – получение по суспензионной технологии сферических пористых гранул с варьируемой пропорцией плохо окристаллизованного КГА и ГСК, включающих связующий биосовместимый полимер желатин, и их физико-химическое исследование.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходных материалов для синтеза гранул использовали синтетические керамические порошки, представляющие собой композиты плохо окристаллизованного КГА и ГСК ( $\text{Ca/Si} = 1$ ) с при-

**Таблица 1.** Состав исходных керамических порошков

| КГА/ГСК,<br>мас. % | <i>W</i> , мас. % |            |            | <i>D<sub>median</sub></i> ,<br>мкм | <i>S<sub>уд</sub></i> ,<br>м <sup>2</sup> /г |
|--------------------|-------------------|------------|------------|------------------------------------|----------------------------------------------|
|                    | Ca                | P          | Si         |                                    |                                              |
| 100/0              | 40.2 ± 0.9        | 18.6 ± 0.3 | —          | 94.3                               | 90                                           |
| 80/20              | 37.6 ± 0.6        | 14.5 ± 0.2 | 3.7 ± 0.2  | 68.9                               | 67                                           |
| 60/40              | 35.3 ± 0.2        | 9.9 ± 0.1  | 8.8 ± 0.2  | 63.5                               | 101                                          |
| 40/60              | 33.6 ± 0.7        | 6.8 ± 0.1  | 12.7 ± 0.4 | 88.1                               | 117                                          |
| 20/80              | 31.4 ± 0.4        | 3.3 ± 0.1  | 17.0 ± 0.3 | 99.3                               | 123                                          |
| 0/100              | 26.7 ± 0.5        | —          | 18.8 ± 0.7 | 62.2                               | 101                                          |

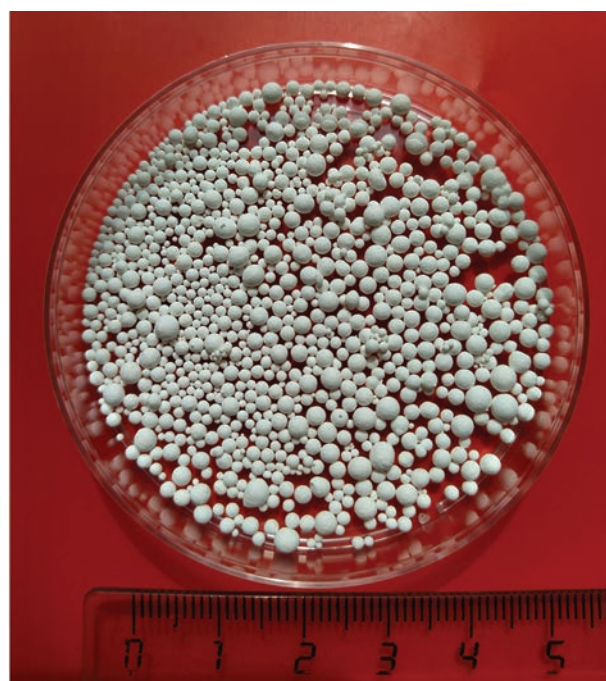
месью кальцита, способ получения, состав и некоторые свойства которых приведены в статье [13] и табл. 1. Гранулы получали по суспензионной технологии, основанной на принципе несмешивающихся жидкостей [1]. Для этого синтетический порошок с заданным соотношением КГА/ГСК (см. табл. 1) массой 1 г смешивали с 2–3 мл 15%-ного раствора желатина (марки П-11, РусХим), разогретого до 40°C, и быстро перемешивали до образования однородной массы. Приготовленную сметанообразную суспензию вводили по каплям в растительное масло и перемешивали на магнитной мешалке со скоростью 1000 об./мин. Образовавшиеся гранулы охлаждали на ледяной бане, отфильтровывали, отмывали от масла 95%-ным этиловым спиртом и сушили на воздухе. Далее образцы высушивали при 100°C в муфельной печи ЭКПС-5 (Смоленское СКТБ СПУ) в течение 2 ч и исследовали.

Рентгенофазовый анализ выполняли на дифрактометре XRD-7000 (Shimadzu). Расшифровку дифрактограмм проводили в программном комплексе Slevе+ с использованием базы данных ICDD PDF-4+ 2022 г. ИК-спектры поглощения гранул регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 (Simex) с помощью программы ZaiR 3.5 (Simex). Образцы готовили прессованием в таблетки с KBr. Запись ИК-спектров проводили в области от 4000 до 500 см<sup>-1</sup>. Термогравиметрический анализ проводили на синхронном термическом анализаторе STA-449C (NETZSCH). Образцы прокаливали на воздухе со скоростью нагрева 10°C/мин. Морфологию поверхности и внутреннюю структуру гранул изучали методом сканирующей электронной микроскопии на электронном микроскопе JCM-5700 (JEOL) с беззотным рентгеновским энергодисперсионным спектрометром для элементного анализа.

Для оценки распределения гранул по размерам образцы материалов рассеивали на серии лабораторных сит с размерами ячеек от 0.5 до 4 мм и взвешивали полученные фракции на аналитических весах AGN100 (AXIS). Открытую пористость устанавливали пикнометрическим методом.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы получены гранулы с различным массовым соотношением КГА/ГСК (табл. 1). Они имеют белый цвет с желтоватым оттенком. Форма гранул близка к сферической (рис. 1). Размеры

**Рис. 1.** Общий вид гранул в чашке Петри.

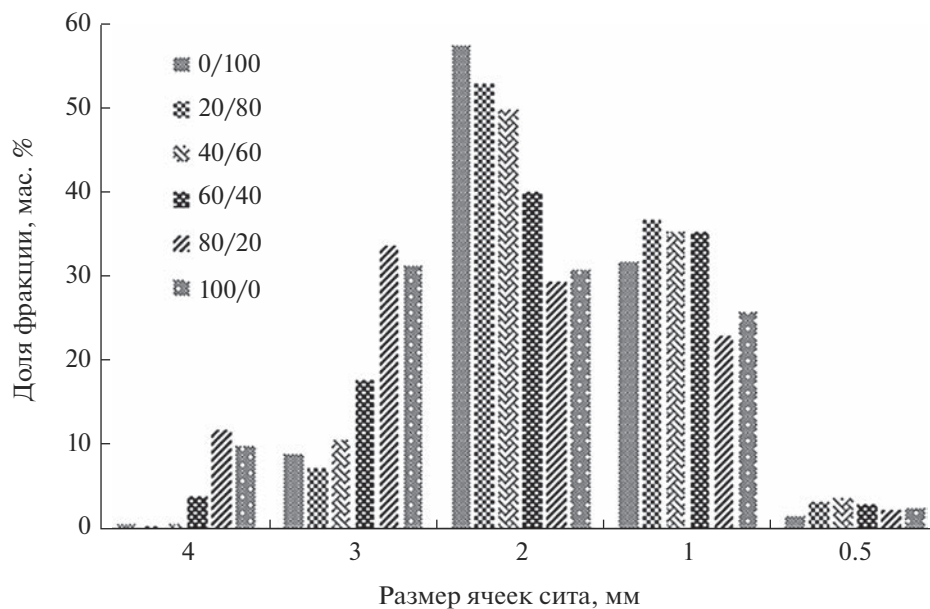


Рис. 2. Диаграмма распределения по размерам гранул с различной пропорцией КГА/ГСК.

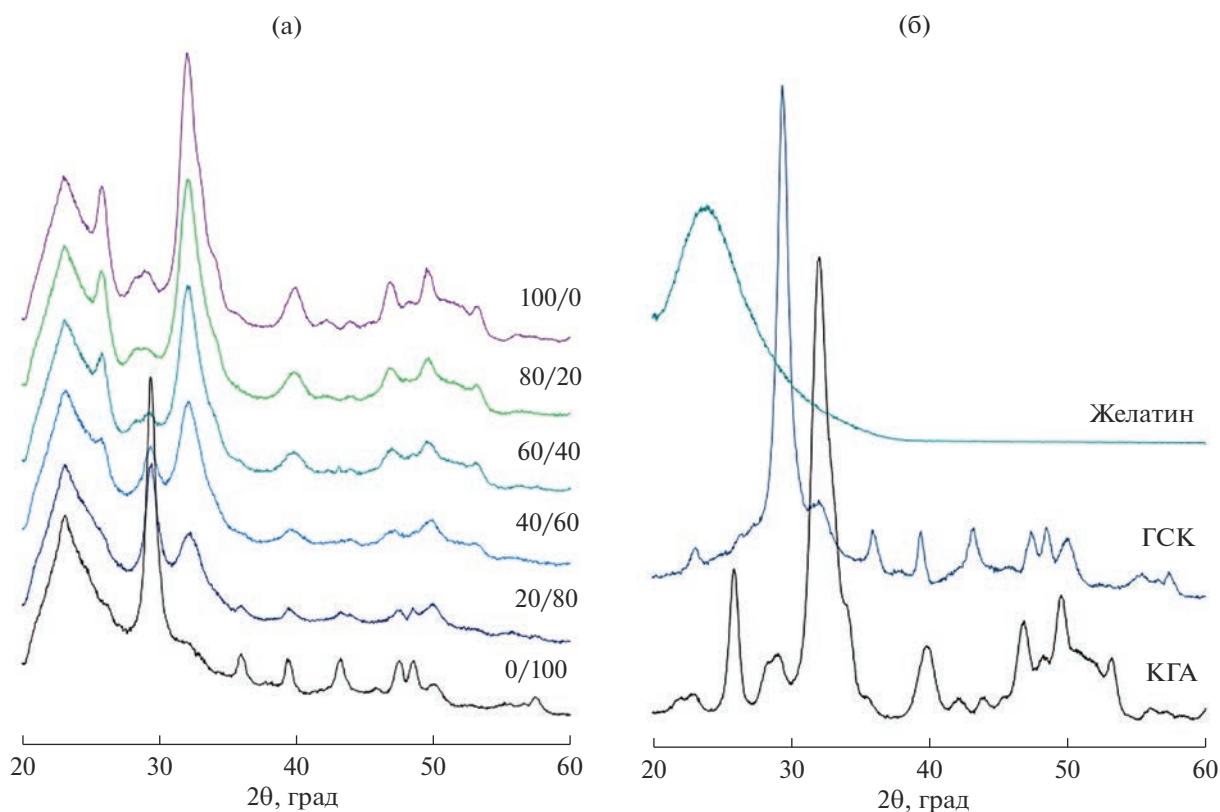


Рис. 3. Дифрактограммы гранул с различной пропорцией КГА/ГСК (а) и чистых исходных компонентов гранул (б).

частиц варьируют от 500 мкм до 5 мм (рис. 2). Основной объем материалов (до 60 мас. %) представлен гранулами с диаметрами 1–3 мм.

Гранулы и их исходные компоненты исследованы методом РФА (рис. 3). На дифрактограммах всех полученных материалов имеется пологий

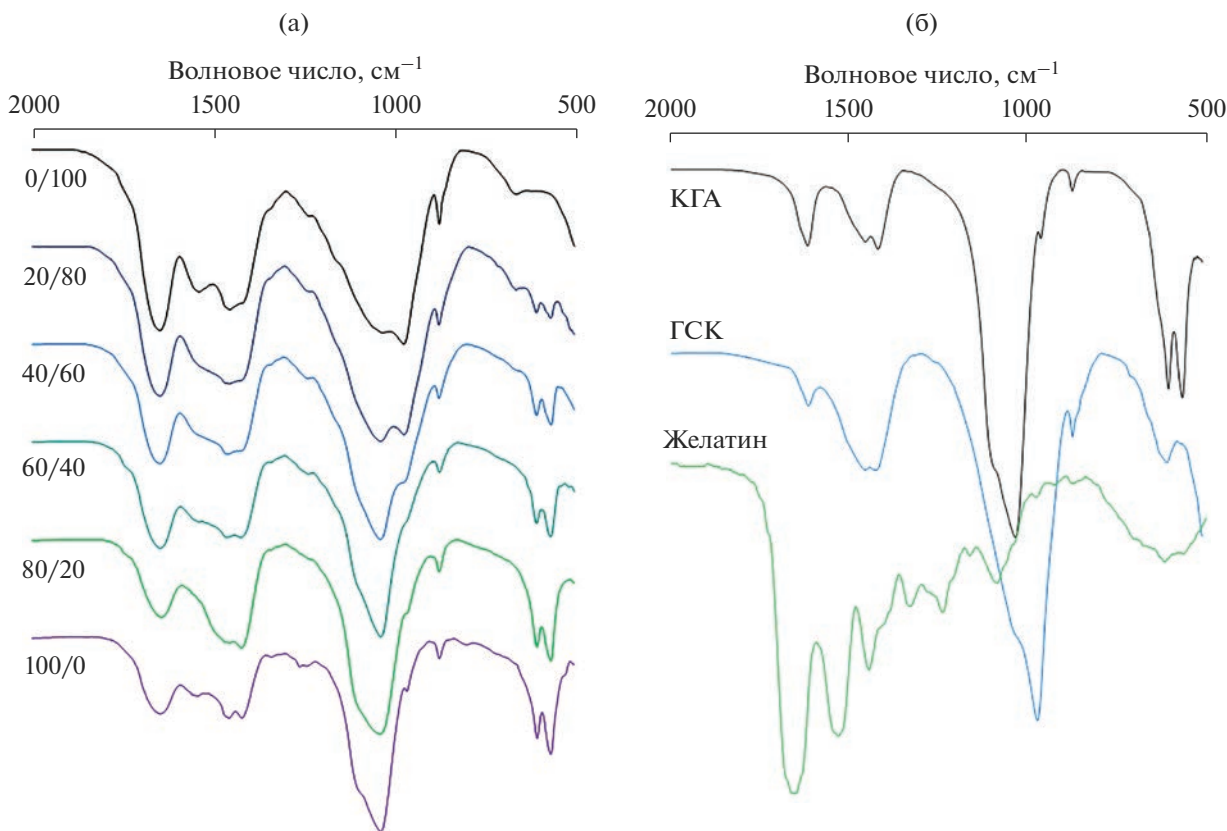
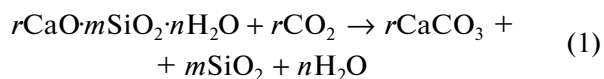


Рис. 4. ИК-спектры гранул с различной пропорцией КГА/ГСК (а) и чистых исходных компонентов гранул (б).

пик в области 20°–27° по 2θ (рис. 3а), обусловленный наличием желатина в их составе (подобное гало присутствует и на дифрактограмме желатина, рис. 3б).

Пики, соответствующие фазе апатита (25.9°, 31.8°, 39.8°, 46.7°, 49.5°, 53.1° по 2θ согласно карточке № 01-085-3476 ICDD PDF-4+), присутствуют на дифрактограммах образцов, полученных из порошков, содержащих КГА. Слабое разрешение рефлексов в области 30°–35° указывает на невысокую степень кристалличности фосфата кальция (ФК). Также отмечено закономерное снижение интенсивности пиков апатита по мере уменьшения его доли в исходном керамическом порошке.

На дифрактограмме ГСК (рис. 3б) четко различимы пики при 23.1°, 29.5°, 36.0°, 39.5°, 43.3°, 47.6°, 48.6°, 50.2°, соответствующие кальциту (CaCO<sub>3</sub>, карточка № 01-083-4606 ICDD PDF-4+), а также пологий пик небольшой интенсивности в области 30°–35°, характерный для ГСК со структурой, близкой к аморфной [14]. Согласно результатам [15, 16], CaCO<sub>3</sub> является естественной примесью ГСК, получаемого осаждением на воздухе. Образующийся по реакции



кристаллический кальцит дает четкие пики на дифрактограммах, тогда как аморфный СК методом РФА фактически не определяется.

Присутствие ГСК в составе материалов однозначно фиксируется методом ИК-Фурье-спектроскопии (рис. 4). Спектры данного образца (рис. 4б) и гранул (рис. 4а) содержат полосы поглощения связей в силоксановых мостиках Si–O–Si (670 см<sup>-1</sup>) и группировках Si–O (970 и 1060 см<sup>-1</sup>), а также моды деформационных колебаний связей Н–О–Н молекул воды (1645 см<sup>-1</sup>), входящих в структуру ГСК [17]. Интенсивность названных полос поглощения на ИК-спектрах гранул закономерно уменьшается при снижении доли СК в керамических порошках, использованных для получения объемных материалов (рис. 4а). Примесь карбоната кальция в образце ГСК (рис. 4б) обнаруживается по полосам, соответствующим модам колебаний связей С–О в ионах CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> (875, 1420, 1460 см<sup>-1</sup>) из состава CaCO<sub>3</sub> [18].

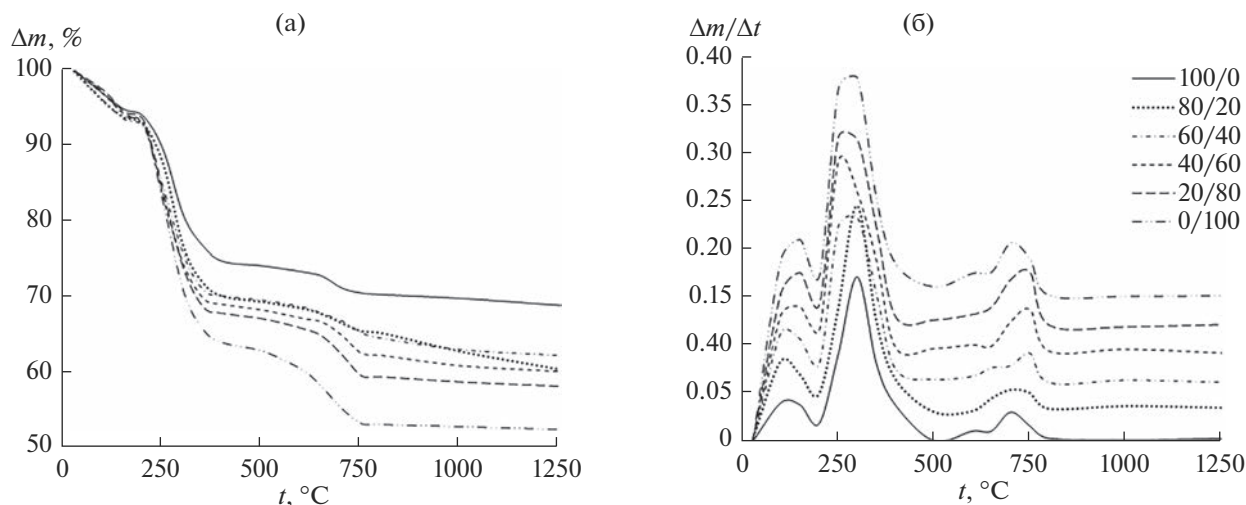


Рис. 5. ТГ- (а) и ДТГ-кривые (б), полученные для гранул с различной пропорцией КГА/ГСК.

Апатит в спектрах гранул идентифицируется по пикам при  $565$  и  $605\text{ см}^{-1}$ , вызванным валентными колебаниями  $\text{O}-\text{P}-\text{O}$ , и  $962$ ,  $1030$  и  $1060\text{ см}^{-1}$ , обусловленным симметричными деформационными колебаниями связей  $\text{P}-\text{O}$  в  $\text{PO}_4$ -тетраэдрах [19]. Слабое разрешение максимумов в области  $1030\text{--}1090\text{ см}^{-1}$  указывает на невысокую степень кристалличности ГА, что согласуется с данными РФА (рис. 3). В спектре ФК (рис. 4б) также регистрируются моды колебаний связей  $\text{C}-\text{O}$  ( $875$ ,  $1420$ ,  $1460\text{ см}^{-1}$ ) в ионах  $\text{CO}_3^{2-}$ , которые частично замещают позиции  $\text{PO}_4$ -тетраэдров в апатите.

Пики карбонат-ионов из структуры КГА в спектрах гранул (рис. 4а) перекрываются с поглощением функциональных группировок, входящих в состав желатина. Так, полосы в области  $1260\text{--}1400\text{ см}^{-1}$  вызваны колебаниями карбоксильных группировок в желатине I типа; максимум при  $1550\text{ см}^{-1}$  отвечает деформационным колебаниям связей  $\text{N}-\text{H}$  в амиде II, а поглощение в области  $3270\text{--}3370\text{ см}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям связей  $\text{N}-\text{H}$ ; при  $1650\text{ см}^{-1}$  проявляются полосы деформационных колебаний связей  $\text{N}-\text{H}$  и валентных колебаний связей  $\text{C}=\text{O}$  и  $\text{O}-\text{H}$  [20].

Таким образом, данные ИК-Фурье-спектроскопии подтверждают поликомпонентный состав гранул, а именно: совместное присутствие в материалах плохо окристаллизованного КГА, ГСК и желатина. Это в свою очередь указывает на неизменность исходных компонентов материалов при их формировании и отсутствие побочных реакций в ходе синтеза.

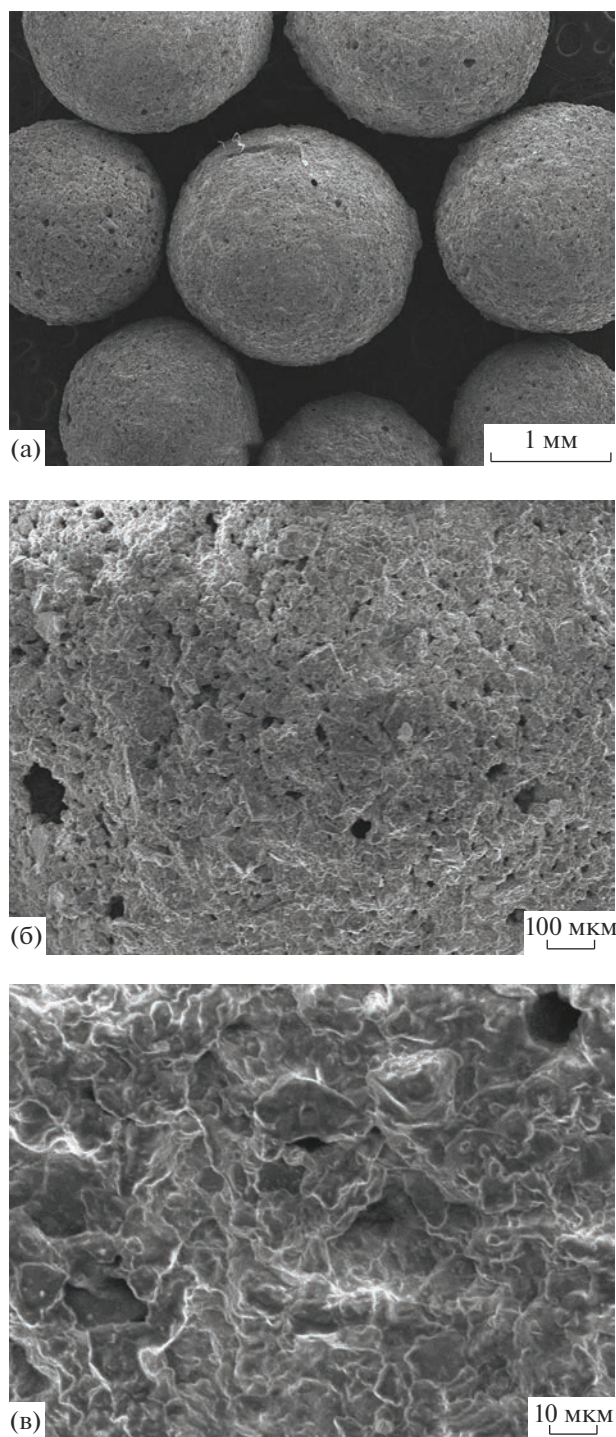
Согласно данным ТГА (рис. 5), при прокаливании гранул на воздухе по мере повышения тем-

пературы происходит непрерывное уменьшение массы материалов в результате последовательного протекания процессов удаления химически не связанной воды (до  $200^\circ\text{C}$ ), пиролиза желатина ( $200\text{--}450^\circ\text{C}$ ), а также выхода из состава ГСК кристаллизационной воды, диссоциации кальцита и потери КГА карбонат-ионов ( $550\text{--}800^\circ\text{C}$ ) [20–23]. Наибольшее изменение массы образцов наблюдается на этапе разложения органической составляющей. В табл. 2 приведены рассчитанные по результатам ТГА содержания желатина и минеральной составляющей (суммарно КГА и ГСК) в гранулах различного состава. Видно, что гранулы состоят преимущественно из неорганических солей (на  $60\text{--}75$  мас. %). Содержание желатина в образцах варьирует в диапазоне  $19\text{--}29$  мас. % и

Таблица 2. Состав гранул

| КГА/ГСК, мас. % | $W_{\text{жел}}$ , мас. % | $W_{\text{МС}}$ , мас. % |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|
| 100/0           | $19.4 \pm 0.7$            | $74.6 \pm 0.6$           |
| 80/20           | $22.3 \pm 1.0$            | $70.0 \pm 0.8$           |
| 60/40           | $22.4 \pm 0.1$            | $70.0 \pm 0.1$           |
| 40/60           | $23.7 \pm 0.3$            | $69.3 \pm 0.1$           |
| 20/80           | $25.1 \pm 0.3$            | $68.3 \pm 0.3$           |
| 0/100           | $29.4 \pm 0.3$            | $63.5 \pm 0.2$           |

Примечание.  $W_{\text{жел}}$  — массовая доля желатина в образце,  $W_{\text{МС}}$  — массовая доля минеральной составляющей (КГА и ГСК суммарно) в образце, остальное до  $100$  мас. % — остаточная влажность.



**Рис. 6.** Общий вид (а) и микрофотографии поверхности (б, в) гранул с пропорцией КГА/ГСК 40/60.

возрастает при повышении доли ГСК в исходном керамическом порошке.

Помимо химического состава материалов, предназначенных для восстановления твердых тканей, важное значение имеют их микроструктура и пористость. На рис. 6а видно, что гранулы имеют форму, близкую к сферической. На их поверхности различимы устья пор различных размеров и формы, появившихся в результате высыхания геля желатина (рис. 6а, 6б). Материалы имеют шероховатую поверхность с углублениями и выступами различной высоты, которые сложены кристаллическими агломератами исходного керамического порошка, склеенными полимером-связкой (рис. 6в). Границы частиц КГА и ГСК сглажены покрывающим их слоем желатина. Этим обусловлено высокое содержание углерода (до 50 мас. %) на поверхности гранул, обнаруживаемое методом энергодисперсионной спектроскопии (рис. 7а).

При элементном анализе (мас. %) среза композитных сфер идентифицируются Ca, P, Si, O и C (рис. 7б). При этом количества Ca, P и Si имеют тот же порядок величины, что и C, поскольку исследуемая область (скол гранул) включает как разломы керамических частиц, так и пограничные слои органического связующего.

На срезе гранул (рис. 8) видна пористая внутренняя структура материалов. Между керамическими частицами (на рис. 8а светлые области) различимы каналы и щели с размерами от единиц до сотен микрон, одиночные или сливающиеся в большие по объему полости. Пores расположены как в приповерхностной, так и во внутренней части гранул. Они распределены в теле материала хаотично, без организации какой-либо специфической пространственной структуры.

Оценка пористости экспериментальных материалов показала, что все образцы имеют открытую пористость от 40 до 60% (табл. 3). Исключением являются гранулы с отношением КГА/ГСК 80/20 мас. % с минимальным значением открытой пористости — 26.4%. Вероятно, это связано с тем, что исходный порошок с данной пропорцией КГА/ГСК характеризуется наименьшей удельной площадью поверхности (табл. 1).

**Таблица 3.** Пористость гранул

| КГА/ГСК, мас. % | 100/0      | 80/20      | 60/40      | 40/60      | 20/80      | 0/100      |
|-----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| П, %            | 40.3 ± 1.6 | 26.4 ± 2.6 | 48.8 ± 1.2 | 57.4 ± 1.1 | 49.4 ± 2.4 | 58.4 ± 2.0 |

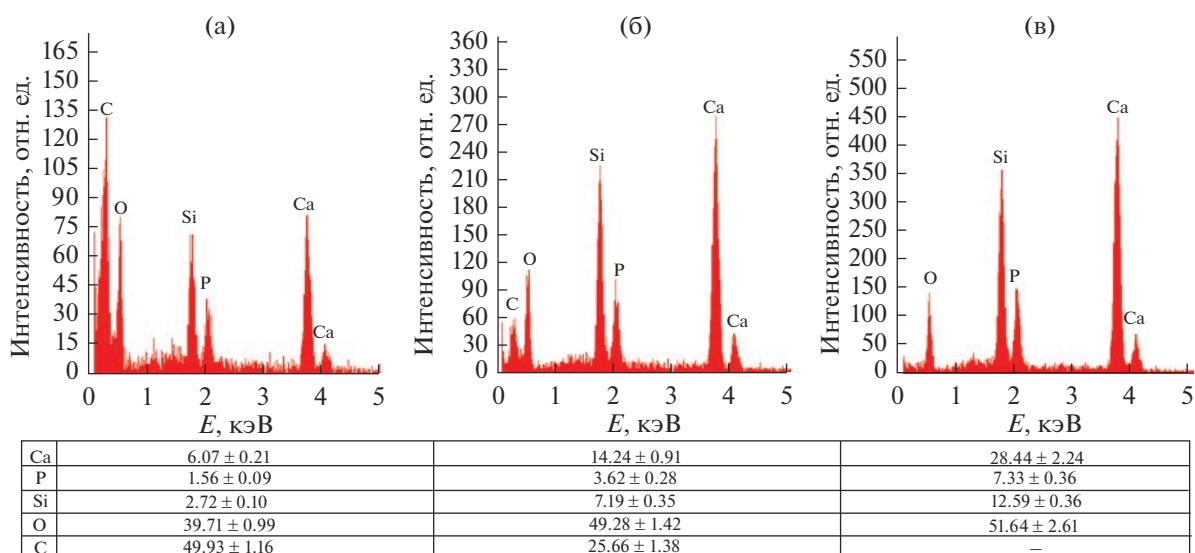


Рис. 7. Результаты энергодисперсионной спектроскопии поверхности (а), скола (б) гранул с пропорцией КГА/ГСК 40/60 и области А на рис. 8б (в).

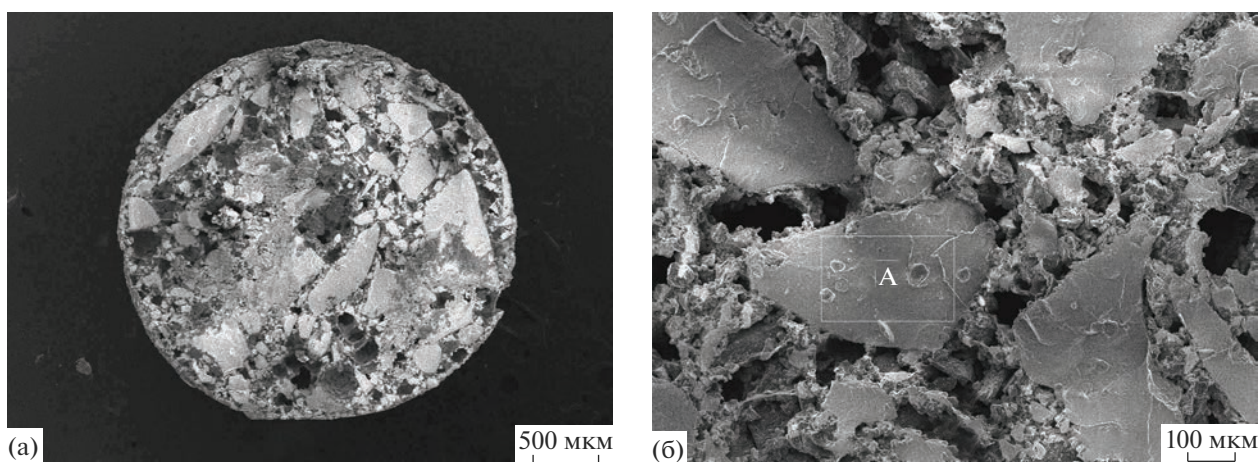


Рис. 8. Микрофотографии внутренней структуры гранул с пропорцией КГА/ГСК 40/60.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По суспензионной технологии получена серия сферических гранул, включающих биосовместимый полимер желатин (до 20 мас. %) и керамические композитные частицы, сложенные плохо окристаллизованным КГА и ГСК в пропорциях от 100/0 до 0/100 мас. % соответственно. Показано, что в условиях эксперимента формируются полидисперсные образцы гранул с преобладающей фракцией 1–3 мм в диаметре. Все материалы имеют пористую структуру и открытую пористость до 60%. Наличие в составе гранул биосовместимых резорбируемых компонентов, а также высокая пористость обуславливают перспективность их применения в костнопластических опе-

рациях и в качестве систем доставки лекарственных веществ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Баринев С.М., Комлев В.С.* Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005. 204 с.
2. *Гроссер А.В., Матело С.К., Купец Т.В.* Микроэлементы и микроэлементозы: кремний, фтор, йод (часть 1) // Профилактика сегодня. 2009. № 10. С. 6–14.
3. *Ortali C., Julien I., Vandenhende M., Drouet C., Champion E.* Consolidation of Bone-Like Apatite Bioceramics by Spark Plasma Sintering of Amorphous Carbonated Calcium Phosphate at Very Low Temperature // J. Eur. Ceram. Soc. 2018. V. 38. № 4. P. 2098–2109. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2017.11.051>

4. *Фадеева И.В., Фомин А.С., Филиппов Я.Ю., Божкова С.А., Лабутин Д.В., Баринов С.М.* Пористая карбонатгидроксипатитовая керамика, полученная по оригинальному методу “керамического бисквита”, для медицины // Перспективные материалы. 2018. № 4. С. 24–30.  
<https://doi.org/10.30791/1028-978X-2018-4-24-30>
5. *Li S., Yu W., Zhang W., Zhang G., Yu L., Lu E.* Evaluation of Highly Carbonated Hydroxyapatite Bioceramic Implant Coatings with Hierarchical Micro-/Nanorod Topography Optimized for Osseointegration // *Int. J. Nanomed.* 2018. V. 13. P. 3643–3659.  
<https://doi.org/10.2147/IJN.S159989>
6. *Cahyanto A., Maruta M., Tsuru K., Matsuya S., Ishikawa K.* Fabrication of Bone Cement that Fully Transforms to Carbonate Apatite // *Dent. Mater. J.* 2015. V. 34. № 3. P. 394–401.  
<https://doi.org/10.4012/dmj.2014-328>
7. *Hayashi K., Tsuchiya A., Shimabukuro M., Ishikawa K.* Multiscale Porous Scaffolds Constructed of Carbonate Apatite Honeycomb Granules for Bone Regeneration // *Mater. Design.* 2022. V. 215. P. 110468.  
<https://doi.org/10.1016/j.matdes.2022.110468>
8. *Tas A.C.* Preparation of Self-Setting Cement-Based Micro- and Macroporous Granules of Carbonated Apatitic Calcium Phosphate // *Advances in Bioceramics and Biocomposites II, Ceramic Engineering and Science Proc.* 2007. V. 27. P. 49–60.
9. *Lin Y.-H., Chiu Y.-C., Shen Y.-F., Wu Y.-H.A., Shie M.-Y.* Bioactive Calcium Silicate/poly-ε-caprolactone Composite Scaffolds 3D Printed under Mild Conditions for Bone Tissue Engineering // *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 2018. V. 29. № 1. P. 11.  
<https://doi.org/10.1007/s10856-017-6020-6>
10. *Mansur A.A.P., Mansur H.S.* Preparation, Characterization and Cytocompatibility of Bioactive Coatings on Porous Calcium-Silicate-Hydrate Scaffolds // *Mater. Sci. Eng.* 2010. V. 30. P. 288–294.  
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2009.11.004>
11. *Huan Z., Chang J.* Calcium–Phosphate–Silicate Composite Bone Cement: Self-Setting Properties and in vitro Bioactivity // *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 2009. V. 20. P. 833–841.  
<https://doi.org/10.1007/s10856-008-3641-9>
12. *Guo H., Wei J., Yuan Y., Liu C.* Development of Calcium Silicate/Calcium Phosphate Cement for Bone Regeneration // *Biomed. Mater.* 2007. V. 2. P. S153–S159.  
<https://doi.org/10.1088/1748-6041/2/3/s13>
13. *Solonenko A.P., Blesman A.I., Polonyankin D.A.* Poorly Crystallized Hydroxyapatite and Calcium Silicate Hydrate Composites: Synthesis, Characterization and Soaking in Simulated Body Fluid // *Mater. Charact.* 2020. V. 161. P. 110158.  
<https://doi.org/10.1016/j.matchar.2020.110158>
14. *Maddalena R., Li K., Chater P.A., Michalik S., Hamilton A.* Direct Synthesis of a Solid Calcium–Silicate–Hydrate (C–S–H) // *Constr. Build. Mater.* 2019. V. 223. P. 554–565.  
<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.06.024>
15. *Solonenko A.P., Blesman A.I., Polonyankin D.A.* Synthesis and Physicochemical Investigation of Calcium Silicate Hydrate with Different Stoichiometric Composition // *J. Phys. Conf. Ser.* 2019. V. 1210. P. 012132.  
<https://doi.org/10.1088/1742-6596/1210/1/012132>
16. *Yarusova S.B., Somova S.N., Kharchenko U.V., Gordienko P.S., Beleneva I.A.* Effect of the Conditions of the Synthesis of Calcium Silicates on the Kinetics of Microbiological Treatment of Aqueous Media // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2021. V. 66. № 8. P. 1135–1140.  
<https://doi.org/10.1134/S0036023621080313>
17. *Yu P., Kirkpatrick R.J., Poe B., McMillan P.F., Cong X.* Structure of Calcium Silicate Hydrate (C–S–H): Near-, Mid-, and Far-Infrared Spectroscopy // *J. Am. Ceram. Soc.* 1999. V. 82. № 3. P. 742–748.  
<https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1999.tb01826.x>
18. *Andersen F.A., Brecevic L.* Infrared Spectra of Amorphous and Crystalline Calcium Carbonate // *Acta Chem. Scand.* 1991. V. 45. P. 1018–1024.  
<https://doi.org/10.1002/CHIN.199209005>
19. *Rey C., Marsan O., Combes C., Drouet C., Grossin D., Sarda S.* Characterization of Calcium Phosphates Using Vibrational Spectroscopies // *Advances in Calcium Phosphate Biomaterials, Springer Series in Biomaterials Science and Engineering.* Berlin: Springer, 2014. V. 2. P. 229–266.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-642-53980-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-642-53980-0_8)
20. *Hossana M.J., Gafurb M.A., Kadirb M.R., Karima M.M.* Preparation and Characterization of Gelatin-Hydroxyapatite Composite for Bone Tissue Engineering // *IJET-IJENS.* 2014. V. 14. № 1. P. 24–32.
21. *Karunadasa K.S.P., Manoratne C.H., Pitawala H.M.T.G.A., Rajapakse R.M.G.* Thermal Decomposition of Calcium Carbonate (Calcite Polymorph) as Examined by in-situ High-Temperature X-ray Powder Diffraction // *J. Phys. Chem. Solids.* 2019. V. 134. P. 21–28.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2019.05.023>
22. *Maruta M., Arahira T., Tsuru K., Matsuya S.* Characterization and Thermal Decomposition of Synthetic Carbonate Apatite Powders Prepared Using Different Alkali Metal Salts // *Dent. Mater. J.* 2019. V. 38. № 5. P. 750–755.  
<https://doi.org/10.4012/dmj.2018-213>
23. *Wan X., Chang C., Mao D., Jiang L., Li M.* Preparation and in vitro Bioactivities of Calcium Silicate Nanophase Materials // *Mater. Sci. Eng. C.* 2005. V. 25. P. 455–461.  
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2004.12.003>