

DOI: <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2024-90-6-23-26>

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИТИЯ И КАЛЬЦИЯ В НОВЫХ МАТЕРИАЛАХ ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТОВ МЕТОДОМ ЭМИССИОННОЙ ФОТОМЕТРИИ ПЛАМЕНИ

© Алла Алексеевна Фомина¹, Анна Юрьевна Демина¹,
Надежда Александровна Андреева¹, Татьяна Николаевна Пенкина¹,
Наталья Валерьевна Петракова¹, Дарья Геннадьевна Филатова^{2*}

¹ Институт металлургии и материаловедения им. А. А. Байкова Российской академии наук, Россия, 119334, Москва, Ленинский просп., д. 49.

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, химический факультет, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3; *e-mail: gak1.analyt@gmail.com

*Статья поступила 10 апреля 2024 г. Поступила после доработки 10 апреля 2024 г.
Принята к публикации 25 апреля 2024 г.*

Предложена методика определения добавок лития и компонента основы пробы — кальция при синтезе новых материалов на основе гидроксиапатитов (ГА) методом эмиссионной фотометрии пламени для установления связи «условия синтеза — состав — функциональные свойства». Образцы керамики получены методом совместного осаждения с использованием карбоната лития и прокаливанием при 1300 °С. Синтезировали материалы с содержанием лития от 0,25 до 1 % ат., часть образцов — с добавлением от 0,25 до 1 % ат. церия ($\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$). Для определения лития в образцах ГА использовали метод добавок и адекватные растворы сравнения. Кальций определяли в отдельных аликвотах после разбавления в 50 раз. Показано, что определение лития на уровне концентраций 0,1 мг/л методом фотометрии пламени в растворах гидроксиапатитов возможно с S_r 0,1. Установлено, что допировать материал литием методом совместного осаждения из растворов затруднительно, при этом термическая обработка в процессе синтеза не влияет на результат. Предложено использовать совместное допирование материала литием и церием, при этом не менее 0,25 % ат. Li включается в структуру ГА. Разработанная методика может быть использована для определения лития и кальция с применением пламенного фотометра ПФА-378 на всех этапах синтеза новых материалов на основе ГА.

Ключевые слова: керамика на основе фосфатов кальция; литий; определение; эмиссионная фотометрия пламени.

QUANTIFICATION OF LITHIUM AND CALCIUM IN NOVEL HYDROXYAPATITE-BASED MATERIALS FOR OSTEOPLASTY USING FLAME PHOTOMETRY

© Alla A. Fomina,¹ Anna Yu. Demina,¹ Nadezhda A. Andreeva,¹ Tatiyana N. Penkina,¹
Nataliya V. Petrakova,¹ Dariya G. Filatova^{2*}

¹ Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science of the Russian Academy of Sciences, 49, Leninsky prosp., Moscow, 119334, Russia.

² Lomonosov Moscow State University, 1-3, Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russia; *e-mail: gak1.analyt@gmail.com

Received April 10, 2024. Revised April 10, 2024. Accepted April 25, 2024.

A method for quantification of lithium additives and calcium as a sample base component during synthesis of new materials based on hydroxyapatites (HA) using flame atomic emission spectroscopy is proposed to reveal a connection in the chain “synthesis conditions — composition — functional properties.” Ceramic samples were obtained by co-deposition using Li carbonate and calcination at 1300 °C. The materials were synthesized with a lithium content of 0.25 to 1 at.%, some of the samples were synthesized with the co-addition of cerium $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ from 0.25 to 1 at.%. The method of additives and reference solutions were used to determine Li in HA samples. The determination of calcium was carried out in separate aliquots after 50-fold dilution. It is shown that the determination of lithium at concentrations of 0.1 mg/liter by flame photometry in hydroxyapatite solutions is possible with S_r of 0.1. It is shown that it is difficult to dope the material with lithium by co-precipitation from solutions, while heat treatment during synthesis does not affect the result. It is proposed to use joint doping of the material with lithium and cerium, while at least 0.25 at.% Li is included in the HA structure. The developed

technique can be used to determine lithium and calcium using a flame photometer PFA 378 at all stages of the synthesis of new materials based on HA.

Keywords: calcium phosphate ceramics; lithium; determination; flame photometry; lithium-doped calcium phosphates.

Введение

Включение легирующих ионов металлов в синтетические материалы для остеопластики на основе фосфатов кальция, в частности, гидроксиапатитов (ГА), может обеспечить безопасную и эффективную доставку добавок в организм и ускорить заживление костной ткани. Структура апатитов допускает большие вариации состава, включая частичное или полное замещение как катионных, так и анионных центров, образование нестехиометрических форм и твердых растворов. Более половины встречающихся в природе элементов могут быть размещены в структуре апатита [1, 2]. Показано, что ионы, например, лития, цинка, магния, марганца, кремния, стронция усиливают остеогенез и неоваскуляризацию [3]. В последнее время литий активно изучают в качестве легирующего элемента материалов для остеопластики, поскольку его ионы играют существенную роль в остеогенезе [4]. Кроме того, добавки лития обеспечивают гемосовместимость, антимикробное действие и биорезорбируемость костных имплантатов [5 – 8], а также ингибируют апоптоз [9]. При этом литий представляет потенциальную опасность для организма человека из-за узкого терапевтического индекса [10, 11]. Таким образом, необходим поиск подходов к экспрессному и точному определению лития в новых биосовместимых материалах на основе ГА. Для определения химического состава и количественного соотношения компонентов на поверхности твердых ГА чаще используют электронную микроскопию в сочетании с локальным энергодисперсионным анализом (ЭДА, EDX) [2, 12 – 15]. При этом на точность количественного анализа влияют состояние поверхности и пористость образца, микронеоднородность, плотность материала, количество добавки. Часть факторов можно учесть, используя стандартные образцы состава, однако для новых материалов такие образцы отсутствуют. Реже для характеристики таких материалов применяют методы рентгеновской дифракции [16]. Следует отметить, что в данном случае подтверждается только входление лития в структуру ГА, содержание добавки в материале оценивается как введенное при синтезе. В растворах материалов для костной пластики литий определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с микроволновой плазмой по водным растворам сравнения [17]. Описано определение лития, фосфора, кальция в растворах композитов методом ИСП-МС [2, 18]. Следует отметить, что

определение лития и кальция этим методом затруднено из-за наложения пиков аргона и кальция, а также малой массы лития. Определение лития методом ИСП-АЭС представляется более удобным и достаточно чувствительным, предел определения составляет 0,1 мг/л [19, 20]. Воспроизводимость результатов определения лития можно улучшить с использованием хорошо известного метода эмиссионной фотометрии пламени. Этот метод применяют для определения щелочных и щелочноземельных металлов в биологических жидкостях [21, 22], однако подходы к определению лития в материалах для остеопластики на основе фосфатов кальция не описаны. Цель настоящей работы — разработка методики определения добавок лития и компонента основы пробы — кальция на всех этапах синтеза новых материалов на основе ГА с применением пламенного фотометра ПФА-378 для установления связи «условия синтеза – состав – функциональные свойства».

Экспериментальная часть

Образцы керамики были получены методом совместного осаждения с использованием нитрата, а также карбоната лития и прокаливанием при 1300 °С по методике [23]. Синтезировали образцы с содержанием лития от 0,25 до 1 % ат., часть образцов — с совместным добавлением от 0,25 до 1 % ат. церия в виде $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$. Растворы образцов получены после разложения в HCl (1:1) с добавлением 2 – 3 капель HNO_3 при нагревании. Растворы разбавляли деионизированной водой. Для анализа использовали пламенный фотометр ПФА-378 с пламенем пропан – бутан – воздух. Для построения градуировочных зависимостей использовали стандартные растворы лития с концентрациями 0,1 – 10,0 мг/л и кальция — 1 – 300 мг/л. Для изучения влияния основы пробы на определение лития готовили модельные растворы, содержащие 50 – 300 мг/л Са и 25 – 150 мг/л Р.

Определение лития проводили на длине волны 670,8 нм, а Са — 622 нм.

Обсуждение результатов

При анализе чистых стандартных растворов найдено, что предел определения лития, рассчитанный как 10 ПО по 3S-критерию, составляет 0,1 мг/л, кальция — 8 мг/л.

При анализе модельных растворов установлено, что совместное присутствие макроколичеств Са (от 150 до 300 мкг/л) и Р (от 50 до 150 мкг/л) приводит к завышению результатов определения лития на 15 %, что, вероятно, связано с эффектом матрицы, при котором равновесие ионизации аналита смещается в сторону образования свободных атомов. Разбавление растворов для снижения влияния основы пробы неприменимо из-за недостаточной чувствительности метода для определения лития, поэтому использовали метод добавок и адекватные растворы сравнения. Определение кальция проводили в отдельных аликвотах после разбавления в 50 раз. Результаты определения лития и кальция в синтезированных образцах керамики в разных условиях представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, определение лития на уровне концентраций 0,1 мг/л методом фотометрии пламени в растворах гидроксиапатитов возможно с S_r 0,1. При этом для правильного определения лития необходимы применение метода добавок и построение градуировочного графика с использованием адекватных растворов сравнения на основе Са и Р. Правильность определения лития и кальция подтверждена при анализе растворов методом ИСП-АЭС, определение проводили методом добавок по адекватным растворам сравнения, рассчитанное значение S_r составило 0,17. Отмечено, что воспроизводимость определения аналитов в пламени выше. Показано, что допировать материал литием методом со-

вместного осаждения из растворов не удалось, при этом термическая обработка в процессе синтеза не влияет на результат. При анализе фильтратов методом фотометрии пламени установлено, что введенный литий находится в этих растворах. Следует отметить, что данных об успешном введении лития в структуру ГА недостаточно. Так, авторы работы [16] считают, что апатитовая структура, принадлежащая ГА, полностью трансформировалась в фазу $\text{Ca}_{10}\text{Li}(\text{PO}_4)_7$ с добавлением Li при синтезе золь-гель методом, но не смогли идентифицировать литий в материале методом ЭДРЭС. Замещение крупных катионных позиций ГА без образования вакансий в сочетании со стабильностью полученной структуры возможно для крупных заместителей, например, висмут – натрий [24]. Нами предложено использовать совместное допирование материала литием и церием. При синтезе Ce^{3+} замещает кальций в структуре апатита с появлением катионной вакансии, образующаяся при этом неустойчивая структура стабилизируется катионом Li^+ . Установлено, что при введении 0,25 и 0,5 % ат. Се удается допировать ГА 0,25 и 0,45 % ат. лития соответственно (табл. 2).

Заключение

Предложен подход к определению лития и кальция в новых материалах на основе гидроксиапатитов для остеопластики методом эмиссионной фотометрии пламени. Согласно получен-

Таблица 1. Результаты определения Са и Li методом эмиссионной фотометрии пламени ($n = 5$; $P = 0,95$)

Table 1. Results of Ca and Li determination by flame photometry ($n = 5$; $P = 0,95$)

Образец ГА	Заложено Li/Ca, % ат.	Найдено в растворе, мг/л		Рассчитано в образце Li/Ca, % ат.
		Li	Ca	
После термообработки	0,25	0,13 ± 0,01	148 ± 7	0,01
	0,5	0,20 ± 0,01	113 ± 6	0,02
	1,0	0,11 ± 0,01	120 ± 6	0,01
До термообработки	0,25	0,15 ± 0,01	86 ± 3	0,02
	0,5	0,23 ± 0,01	260 ± 10	0,01
	1,0	0,16 ± 0,01	92 ± 5	0,02

Таблица 2. Результаты определения Са и Li методом эмиссионной фотометрии пламени ($n = 5$; $P = 0,95$)

Table 2. Results of Ca and Li determination by flame photometry ($n = 5$; $P = 0,95$)

Добавка Се, % ат.	Заложено, Li/Ca, % ат.	Найдено в растворе, мг/л		Рассчитано в образце Li/Ca, % ат.
		Li	Ca	
0,25	0,25	0,10 ± 0,01	114 ± 6	0,01
0,5	0,5	0,10 ± 0,01	120 ± 6	0,01
1,0	1,0	0,22 ± 0,01	126 ± 7	0,02
0,25	2,5	1,3 ± 0,1	60 ± 4	0,25
0,5	2,5	3,7 ± 0,3	95 ± 4	0,45

ным данным, правильное определение лития на уровне концентраций 0,1 мг/л этим методом в растворах ГА возможно с S_r 0,1. При этом для правильного определения лития необходимо применять метод добавок и построение градуировочного графика с использованием модельных растворов на основе Са и Р. Установлено, что допировать материал литием методом совместного осаждения из растворов не удалось, при этом термическая обработка осадка в процессе синтеза не влияет на результат. Предложено использовать совместное допирование материала литием и церием: показано, что введение в раствор 0,25 и 0,5 % ат. Се позволяет допировать ГА 0,25 и 0,45 % ат. лития соответственно.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-23-00640, <https://rscf.ru/project/23-23-00640>, при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды»

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Ptáček P. Apatites and their Synthetic Analogues — Synthesis, Structure, Properties and Applications. Chapter 6. Substituents and Dopants in the Structure of Apatite. Intech Open, 2016. DOI: 10.5772/62213
2. Šupová M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review / *Ceram. Int.* 2015. Vol. 41. P. 9203 – 9231. DOI: 10.1016/j.ceramint.2015.03.316
3. Bose S., Fielding G., Tarafder S., Bandyopadhyay A. Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics / *Trends Biotechnol.* 2013. Vol. 31. N 10. P. 594 – 605. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.06.005
4. Wang W., Wei J., Lei D., et al. 3D printing of lithium osteogenic bioactive composite scaffold for enhanced bone regeneration / *Composites, Part B.* 2023. Vol. 256. 110641. DOI: 10.1016/j.compositesb.2023.110641
5. Panda S., Biswas Ch. K., Paul S. A comprehensive review on the preparation and application of calcium hydroxyapatite: A special focus on atomic doping methods for bone tissue engineering / *Ceram. Int.* 2021. Vol. 47. P. 28122 – 28144. DOI: 10.1016/j.ceramint.2021.07.100
6. Wang Y. P., Yang X., Qin H., et al. In vitro study on the degradation of Lithium-doped hydroxyapatite for bone tissue engineering scaffold / *Mater. Sci. Eng., C.* 2016. Vol. 66. P. 185 – 192. DOI: 10.1016/j.msec.2016.04.065
7. Drdlik D., Slama M., Hadraba H., et al. Physical, mechanical, and biological properties of electrophoretically deposited lithium-doped calcium phosphates / *Ceram. Int.* 2018. Vol. 44. N 3. P. 2884 – 2891. DOI: 10.1016/j.ceramint.2017.11.035
8. Duta L., Chifiriuc M. C., Popescu-Pelin G., et al. Pulsed Laser Deposited Biocompatible Lithium-Doped Hydroxyapatite Coatings with Antimicrobial Activity / *Coatings.* 2019. Vol. 9. N 1. 54. DOI: 10.3390/coatings9010054
9. Alicka M., Sobierajska P., Kornicka K., et al. Lithium ions (Li⁺) and nanohydroxyapatite (nHAp) doped with Li⁺ enhance expression of late osteogenic markers in adipose-derived stem cells. Potential theranostic application of nHAp doped with Li⁺ and co-doped with europium (III) and samarium (III) ions / *Mater. Sci. Eng., C.* 2019. Vol. 99. P. 1257 – 1273. DOI: 10.1016/j.msec.2019.02.073
10. Cipriani A., Pretty H., Hawton K., Geddes J. R. Lithium in the prevention of suicidal behavior and all-cause mortality in patients with mood disorders: a systematic review of randomized trials / *Am. J. Psychiatry.* 2005. Vol. 162. P. 1805 – 1819. DOI: 10.1176/appi.ajp.162.10.1805
11. Bernard A. Lithium / *Handbook on the Toxicology of Metals*, G. F. Nordberg, M. Costa, Eds. Chapter 20. — Academic Press, 2002. P. 495 – 500. DOI: 10.1016/B978-0-12-822946-0.00018-0
12. Jia B., Hao D., Qiao F., et al. Metal-doped bioceramic nanopowders with tunable structural properties aimed at enhancing bone density: Rapid synthesis and modeling / *Ceram. Int.* 2020. Vol. 46. N 18. Part A. P. 28064 – 28083. DOI: 10.1016/j.ceramint.2020.07.301
13. Kolekar Tanaji V., Bandgar Sneha S., Yadav Hemraj M., et al. Hemolytic and biological assessment of lithium substituted hydroxyapatite nanoparticles for L929 and Hela cervical cancer cells / *Inorg. Chem. Commun.* 2022. Vol. 137. 109172. DOI: 10.1016/j.inoche.2021.109172
14. Popescu A. C., Florian P. E., Stan G. E., et al. Physical-chemical characterization and biological assessment of simple and lithium-doped biological-derived hydroxyapatite thin films for a new generation of metallic implants / *Appl. Surf. Sci.* 2018. Vol. 439. P. 724 – 735. DOI: 10.1016/j.apsusc.2018.01.008
15. Badran H., Yahia I. S., Hamdy Mohamed S., Awwad N. S. Lithium-doped hydroxyapatite nano-composites: Synthesis, characterization, gamma attenuation coefficient and dielectric properties / *Radiat. Phys. Chem.* 2017. Vol. 130. P. 85 – 91. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2016.08.001
16. Kaygil O., Keser S., Ates T., Yakuphanoglu F. Synthesis and characterization of lithium calcium phosphate ceramics / *Ceram. Int.* 2013. Vol. 39. N 7. P. 7779 – 7785. DOI: 10.1016/j.ceramint.2013.03.037
17. Salam N., Gibson I. R. Lithium ion doped carbonated hydroxyapatite compositions: Synthesis, physicochemical characterisation and effect on osteogenic response in vitro / *Biomater. Adv.* 2022. Vol. 140. 213068. DOI: 10.1016/j.bioadv.2022.213068
18. Hurle K., Mai F. R., Ribeiro V. P., et al. Osteogenic lithium-doped brushite cements for bone regeneration / *Bioact. Mater.* 2022. Vol. 16. P. 403 – 417. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.12.025
19. Marycz K., Sobierajska P., Smieszek A., et al. Li⁺ activated nanohydroxyapatite doped with Eu³⁺ ions enhances proliferative activity and viability of human stem progenitor cells of adipose tissue and olfactory ensheathing cells. Further perspective of nHAP: Li⁺, Eu³⁺ application in theranostics / *Mater. Sci. Eng., C.* 2017. Vol. 78. P. 151 – 162. DOI: 10.1016/j.msec.2017.04.041
20. Lewen N., Nugent D. The use of inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES) in the determination of lithium in cleaning validation swabs / *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010. Vol. 52. P. 652 – 655. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.02.015
21. Aljerf L., Mashlah A. Characterization and validation of candidate reference methods for the determination of calcium and magnesium in biological fluids / *Microchem. J.* 2017. Vol. 132. P. 411 – 421. DOI: 10.1016/j.microc.2017.03.001
22. Pickett E. E., Hawkins J. L. Determination of lithium in small-animal tissues at physiological levels by flame emission photometry / *Anal. Biochem.* 1981. Vol. 112. N 2. P. 213 – 218. DOI: 10.1016/0003-2697(81)90283-9
23. Nikitina Y. O., Petrakova N. V., Lysenkov A. S., et al. Cerium-containing hydroxyapatites with luminescent properties / *Russ. J. Inorg. Chem.* 2021. Vol. 66. N 8. P. 1067 – 1072. DOI: 10.1134/S0036023621080179
24. Belokoneva E. L., Volkov A. S., Dimitrova O. V., et al. Hydrothermally synthesized first acentric apatite (Bi₅Na₅)[PO₄]₁₆Cl₂ with wide Bi-Na isomorphism and doubled c-axis / *New J. Chem.* 2024. N 17. DOI: 10.1039/D4NJ00480A