

Лазерная технология формирования электропроводящих пленочных и объемных композитов на основе фосфата кальция и углеродных нанотрубок для инженерии костной ткани

Аннотация

Предложена лазерная технология формирования пленочных и объемных электропроводящих композитов из фосфата кальция и биополимера альбумина, пронизанного сетью из углеродных нанотрубок. Воздействие импульсным излучением с длиной волны 1064 нм на композитные пленки, сформированные из дисперсий с концентрациями нанотрубок 0,1 и 1 мг/мл, позволило получить максимальную электропроводность при мощности излучения 3 и 2,4 Вт – 21 и 100 мСм·м⁻¹. Для пленки на основе дисперсии с концентрацией нанотрубок 0,1 мг/мл получен максимальный рост удельной электропроводности в 3,3 раза после лазерного воздействия. Максимальное количество узлов перколяции в объемной сети из нанотрубок в диэлектрической матрице фосфата кальция и альбумина достигалось при воздействии непрерывным излучением с длиной волны 810 нм и мощностью 9 Вт в течение 80 мин. Электропроводность композитных пленок соответствует электропроводности кости человека, а объемных композитов – превосходит на 3 порядка. Представленная технология может найти применение в культивировании костных клеток и/или регенерации костных тканей при их электростимуляции.

Введение

Одним из подходов к восстановлению поврежденных в результате травм или болезней дефектов костной ткани является применение тканевой инженерии [1]. Одну из ключевых ролей в тканевой инженерии костной ткани играет включение в состав имплантационных материалов фосфата кальция (ФК), благодаря его биосовместимости и остеокондуктивности [2]. Одним из эффективных инструментов инженерии костных тканей является электростимуляция пролиферации клеток и регенерации тканей [3]. Электростимуляция позволяет улучшить адгезию клеток к поверхности имплантационного материала, активировать дифференцировку клеток и ускорить их биологический рост, стабилизировать метаболические клеточные реакции за счет активации трансмембранных каналов и рецепторов. Добавление в имплантационные материалы углеродных нанотрубок (УНТ) позволяет достичь контролируемых электрофизических и оптических свойств. Под воздействием лазерного излучения на жидкие дисперсные среды с УНТ возможно создание электропроводящих сетей из углеродных нанотрубок внутри диэлектрических матриц [4]-[7]. Для создания однородных дисперсных сред с нанотрубками в качестве поверхностно-активного вещества хорошо себя зарекомендовал биополимер бычий сывороточный альбумин (БСА) [8].

В связи с этим в настоящей статье предложена лазерная технология формирования пленочных и объемных электропроводящих композитов из фосфата кальция и биополимера альбумина, пронизанного сетью из углеродных нанотрубок. Такие композиты могут найти применение в качестве субстратов для культивирования костных клеток и/или регенерации костных тканей при их электростимуляции.

Материалы и методы

Для формирования пленочных композитов были изготовлены однородные дисперсии Д1 и Д2, в состав которых входили ФК (50 мг/мл), многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) (Д1 – 0,1 мг/мл и Д2 – 1 мг/мл) и этиловый спирт. Для создания объемных композитов дисперсия Д3 состояла из ФК (50 мг/мл), МУНТ (0,1 мг/мл), БСА (100 мг/мл) и дистиллированной воды. ФК был получен методом жидкофазного синтеза из водно-спиртовых растворов ацетата кальция и гидрофосфата аммония при поддержании значения pH $9 \pm 0,1$ 10%-ным раствором гидроксида натрия. Далее суспензия промывалась водой и фильтровалась до получения густой белой пасты. Соотношение Са / Р составляло 1,33, а размер частиц достигал 0,2 мкм. Паста содержала в 20 раз больше адсорбированной воды, чем масса ФК. В пасте ФК содержится в виде кластеров или аморфных агрегатов, переход которых в кристаллическое

состояние происходит при удалении воды [9]. Применялись МУНТ производства «Таунит-МД» (ООО «НаноТехЦентр», Россия), которые имели параметры: внутренний диаметр 5...15 нм, внешний диаметр 8...30 нм, длина нанотрубок ≥ 20 мкм. Использовался БСА с чистотой свыше 99 % («BioClot GmbH»). На первом этапе дисперсии из 0,005 г МУНТ (Д1, Д2) и 0,05 г МУНТ (Д3) смешивались с 2,5 г ФК и этиловым спиртом (Д1, Д2) и дистиллированной водой в случае Д3. Полученная смесь перемешивалась магнитной мешалкой в течение 40 мин. Второй этап заключался в воздействии на дисперсии ультразвукового гомогенизатора в течение 30 мин. В случае дисперсии Д3 добавляли БСА в количестве 5 г и на третьем этапе все дисперсии помещали в ультразвуковую ванну на 60 мин при температуре 25 °С.

Для формирования однородных тонких пленок из дисперсий Д1 и Д2 применялась установка для послойного нанесения дисперсий на подложку. В установку входили: модуль перемещения и напыления, нагревательный столик (рис. 1). Работа установки и параметры перемещения задавались при помощи программного обеспечения. Для формирования пленки ФК/МУНТ дисперсию помещали в модуль напыления под давлением 3 кг/см² и перемещали со скоростью 10 мм/с на стеклянную подложку. Подложка, в свою очередь, располагалась на нагревательном столике при температуре 80 °С. За счет мгновенного испарения спирта из дисперсий получены однородные пленки без образования капель и неровностей. Таким образом, на стеклянную подложку производилось напыление различного числа слоев для формирования пленочных композитов толщиной 200...800 нм.

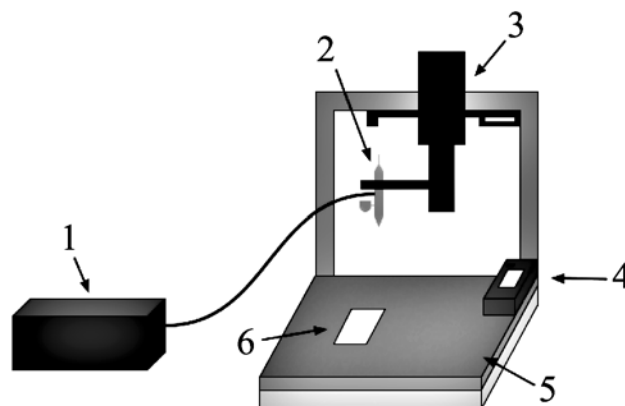


Рис. 1. Схема установки для напыления дисперсий: 1 – компрессор; 2 – модуль напыления; 3 – модуль перемещения; 4 – модуль управления нагревательным столом; 5 – нагревательный стол; 6 – подложка

Лазерное облучение является одним из методов увеличения электропроводности материалов, в состав которых входят УНТ [9]. В процессе синтеза нанотрубок существует большая вероятность образования дефектов. При лазерном воздействии на нанотрубки дефектные области нагреваются, происходит процесс структурирования, при котором нанотрубки связываются между собой за счет образования химических связей.

Пленки ФК/МУНТ облучались импульсным волоконным иттербиевым лазером с длиной волны 1064 нм (рис. 2).

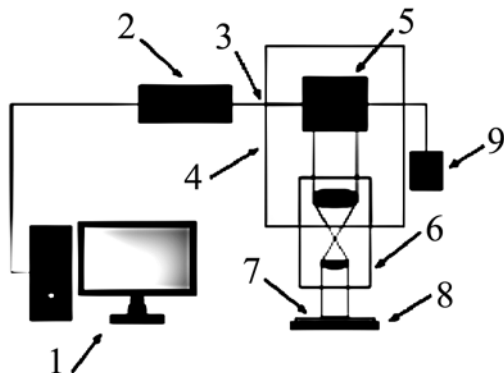


Рис. 2. Лазерная установка для формирования пленочных композитов: 1 – компьютер; 2 – лазер; 3 – оптоволоконно; 4 – сканирующая головка; 5 – система позиционирования; 6 – расширитель лазерного луча; 7 – участок, обрабатываемый лазером; 8 – подложка; 9 – датчик расстояния

Композитные пленки ФК/МУНТ на основе дисперсий Д1 и Д2 подверглись лазерному воздействию по квадратной траектории для получения областей размером 4 x 4 мм (рис. 3). Мощность лазерного излучения варьировалась в заданном диапазоне 2,1...4,5 Вт при диаметре пучка в фокусе 35 мкм и длительности импульса 100 нс. Скорость перемещения лазерного луча составляла 500 мм/с.

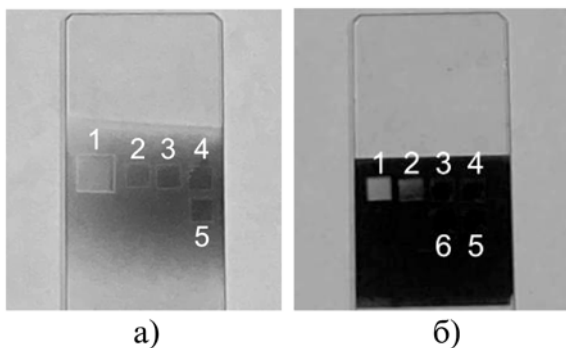


Рис. 3. Вид нанокompозитных пленок на основе дисперсий Д1 (а) и Д2 (б) (1...6 – участки размером 4 x 4 мм, подвергнутые лазерному воздействию с заданной мощностью)

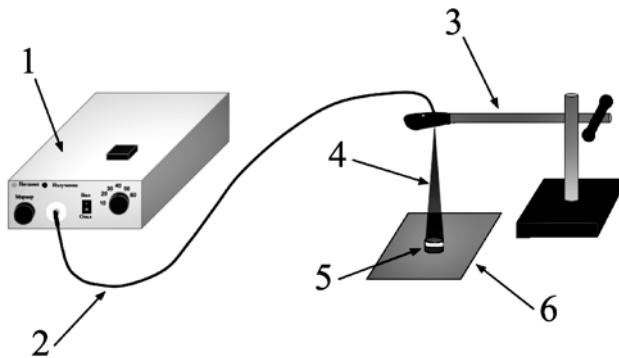


Рис. 4. Лазерная установка для формирования объемных композитов: 1 – непрерывный диодный лазер; 2 – оптоволоконно; 3 – штатив; 4 – лазерное излучение; 5 – сосуд с дисперсией; 6 – подложка

Объемные композиты формировались при воздействии непрерывного лазерного излучения с длиной волны 810 нм и мощностью излучения 9 Вт на дисперсию Д3, которая дозировалась толщиной 5 мм в цилиндрический сосуд диаметром 13 мм и высотой 15 мм (рис. 4). Диаметр лазерного излучения соответствовал диаметру сосуда. Таким способом были сформированы образцы 1...4 (табл. 3), вид образцов 2 и 3 представлен на рис. 5.



Рис. 5. Вид объемных композитов, сформированных из дисперсии Д3: а) образец 2; б) образец 3

Сопротивление образцов измерялось при помощи четырехзондового метода. Полученные значения использовались для расчета удельной электропроводности:

$$\sigma = \frac{1}{\rho}; \quad (1)$$

$$\rho = \frac{R \times S}{L}, \quad (2)$$

где σ – удельная электропроводность образца; ρ – удельное сопротивление образца; R – сопротивление образца; S – площадь поперечного сечения измеряемого участка на образце; L – длина участка.

Результаты

В табл. 1 и 2 приведены значения сопротивления и удельной электропроводности участков на пленках Д1 и Д2 до и после лазерного воздействия.

Таблица 1

Значения сопротивления и удельной электропроводности до и после лазерного воздействия на участках композитной пленки из дисперсии Д1

Область	P , Вт	$R_{до}$, МОм	$\sigma_{до}$, мСм·м ⁻¹	$R_{после}$, МОм	$\sigma_{после}$, мСм·м ⁻¹
1	3,6	4,9	6,38	5,9	5,65
2	3,3	5,1	6,13	3,0	9,77
3	3,0	6,0	5,21	3,2	10,75
4	2,7	4,9	6,38	1,5	20,83
5	2,4	6,1	5,12	2,5	12,50

Таблица 2

Значения сопротивления и удельной электропроводности до и после лазерного воздействия на участках композитной пленки из дисперсии Д2

Область	P , Вт	$R_{до}$, КОм	$\sigma_{до}$, мСм·м ⁻¹	$R_{после}$, КОм	$\sigma_{после}$, мСм·м ⁻¹
1	4,5	0,80	31,25	200,00	0,13
2	3,3	0,60	41,67	4,00	6,41
3	3,0	0,50	50,00	0,45	56,26
4	2,7	0,55	45,46	0,40	62,50
5	2,4	0,27	92,59	0,25	100,00
6	2,1	0,34	73,53	0,28	89,29

Из табл. 1 видно, что снижение мощности с 3,6 до 2,7 Вт способствовало образованию наибольшего числа связей между нанотрубками в матрице из ФК. При этом минимальное сопротивление и максимальная удельная электропроводность достигались в области композитной пленки, сформированной при мощности лазерного излучения ~ 2,7 Вт. Дальнейшее по-

вышение мощности приводило к снижению электропроводности. Для пленок, сформированных из дисперсии Д2 с меньшей концентрацией нанотрубок, было установлено, что при мощности излучения 2,4 Вт образуется наибольшее число узлов перколяции.

Для объемных композитов, сформированных при разном времени воздействия излучения, был зафиксирован рост удельной электропроводности с увеличением времени воздействия (табл. 3).

Таблица 3

Значения сопротивления и удельной электропроводности объемных композитов

Образец	P , Вт	t , мин	R , кОм	σ , См·м ⁻¹
1	9,0	40	128	1,86
2		60	92	2,72
3		80	73	3,42
4		100	84	3,17

Заключение

Разработана лазерная технология формирования пленочных и объемных электропроводящих композитов из фосфата кальция и биополимера альбумина, пронизанного сетью из углеродных нанотрубок, для применения в инженерии костной ткани. Установлено, что для формирования максимально электропроводящей композитной пленки из дисперсии с меньшим содержанием нанотрубок необходимо лазерное воздействие импульсным излучением наибольшей мощности, поскольку обеспечивается эффект образования максимального количества узлов перколяции в диэлектрической матрице ФК. Воздействие импульсным излучением с длиной волны 1064 нм на области композитных пленок, сформированных из дисперсий с концентрациями нанотрубок 0,1 и 1 мг/мл, позволило получить максимальную электропроводность при мощности излучения 3 и 2,4 Вт – 21 и 100 мСм·м⁻¹. Для пленки на основе дисперсии с концентрацией нанотрубок 0,1 мг/мл был получен максимальный рост удельной электропроводности в 3,3 раза после лазерного воздействия.

Для формирования объемных композитов предложено использование в составе исходной водной дисперсии биополимера альбумина с концентрацией 100 мг/мл совместно с ФК. При этом фазовый переход дисперсии в композит осуществлялся при лазерном воздействии непрерывным излучением с длиной волны 810 нм и мощностью 9 Вт. Максимальное количество узлов перколяции в объемной сети из нанотрубок в диэлектрической матрице ФК и альбумина достигалось при воздействии излучением в течение 80 мин.

Для электростимуляции регенерации костной ткани необходимо, чтобы имплантационный материал обладал электропроводностью не ниже электропроводности кортикальной кости человека (0,92 мСм·м⁻¹) [7]. Электропроводность композитных пленок соответствует, а объемных композитов превосходит данное значение на 3...4 порядка. Таким образом, разработанная технология может найти применение в культивировании костных клеток и/или регенерации костных тканей при их электростимуляции.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ (проект № 0591-2021-0002).

Список литературы:

1. *Koons G.L., Diba M., Mikos A.G.* Materials design for bone-tissue engineering // *Nature Reviews Materials*. 2020. Vol. 5 (8). PP. 584-603.
2. *Taktak R. et al.* Tricalcium phosphate-fluorapatite as bone tissue engineering: Evaluation of bioactivity and biocompatibility // *Materials Science and Engineering: C*. 2018. Vol. 86. PP. 121-128.

3. *Privalova P. Y. et al.* Electrical stimulation of human connective tissue cells on layers of composite structures with a nanocarbon framework // *Biomedical Engineering*. 2019. Vol. 52 (5). PP. 301-304.
4. *Hopley E.L. et al.* Carbon nanotubes leading the way forward in new generation 3D tissue engineering // *Biotechnology Advances*. 2014. Vol. 32 (5). PP. 1000-1014.
5. *Gerasimenko A.Y. et al.* Laser fabrication of composite layers from biopolymers with branched 3D networks of single-walled carbon nanotubes for cardiovascular implants // *Composite Structures*. 2021. Vol. 260. P. 113517.
6. *Tereschenko S.A., Lysenko A.Yu.* Reconstruction of the Radiation Source Spatial Distribution in a Proportional Scattering Medium // *Technical Physics*. 2021. Vol. 66. PP. 710-719.
7. *Balmer T.W. et al.* Characterization of the electrical conductivity of bone and its correlation to osseous structure // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8. P. 8601.
8. *Gerasimenko A.Y. et al.* The study of the interaction mechanism between bovine serum albumin and single-walled carbon nanotubes depending on their diameter and concentration in solid nanocomposites by vibrational spectroscopy // *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2021. Vol. 227. PP. 1-10.
9. *Gerasimenko A.Y. et al.* Influence of laser structuring and barium nitrate treatment on morphology and on morphology and electrophysical characteristics of vertically aligned carbon nanotube arrays // *Diamond & Related Materials*. 2019. Vol. 96. PP. 104-111.

*Денис Тарасович Мурашко,
аспирант, инженер,
Светлана Зиновьевна Жовнир,
студент, инженер,*

*Институт биомедицинских систем,
ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский университет «МИЭТ»,
г. Москва, г. Зеленоград,
Михаил Сергеевич Савельев,
канд. физ.-мат. наук, доцент,
Институт биомедицинских систем,
ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский университет «МИЭТ»,*

*Институт бионических технологий и инжиниринга,
Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
г. Москва,*

*Александр Юрьевич Федотов,
канд. техн. наук, ст. научный сотрудник,
Павел Викторович Лобжанидзе,
аспирант, инженер-исследователь,
лаборатория керамических
композиционных материалов,
ФГБУН «Институт металлургии и
материаловедения им. А.А. Байкова» РАН,
г. Москва,*

*Евгений Павлович Кицюк,
канд. техн. наук, начальник лаборатории,
научно-исследовательская лаборатория
перспективных материалов,
НПК «Технологический центр»,
г. Москва, г. Зеленоград,
e-mail: skorden@outlook.com*