

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 244036 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **434278**

(22) Data zgłoszenia: **2020.06.10**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2021.12.13 BUP 37/2021**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.11.20 WUP 47/2023**

(51) MKP:

B81B 1/00 (2006.01)

B82B 3/00 (2006.01)

A61L 27/12 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:
POLITECHNIKA WARSZAWSKA, Warszawa, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:
JOANNA LATOCHA, Warszawa, PL
MICHAŁ WOJASIŃSKI, Warszawa, PL
PAWEŁ SOBIESZUK, Warszawa, PL
TOMASZ CIACH, Warszawa, PL
ŁUKASZ MAKOWSKI, Radonice, PL
PAULINA LISZEWSKA, Warszawa, PL

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Małgorzata Dominiak, Warszawa, PL

(54) Tytuł:

Reaktor do ciągłej syntezy nanocząstek hydroksyapatytu

PL 244036 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest reaktor przeznaczony do ciągłej syntezy nanocząstek hydroksyapatytu, z roztworów soli wapnia i soli fosforanowej, opcjonalnie w obecności lecytyny.

Leczenie ubytków tkanek twardych jest jednym z wyzwania stawianych dzisiejszej medycynie. Rozległe urazy wykluczają możliwość autoregeneracji, w związku z czym istnieje konieczność poszukiwania materiałów umożliwiających zastąpienie uszkodzonych fragmentów kości czy zębów. Fosforany wapnia, ze względu na podobieństwo do mineralnego składnika ludzkich tkanek twardych, zostały zaproponowane do leczenia urazów już w roku 1920 [Habraken W. i wsp., "Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future?", 2016]. Najpowszechniej stosowanym związkem zaliczanym do tej grupy jest hydroksyapatyt (HAp). Nie tylko najbardziej przypomina on apatyt biologiczny, ale też wykazuje inne, pożądane w przypadku implantów cechy. Materiały wszczepienne wykonane z hydroksyapatytu nie powodują odpowiedzi immunologicznej organizmu. Dodatkowo, stwarzają korzystne warunki do odbudowy urazu – komórki kostne otaczające implant chętnie go kolonizują, a komórki macierzyste są stymulowane do przekształcania się w komórki kostne, które następnie regenerują uszkodzoną tkankę [Lu C. i wsp., "Biological properties of calcium phosphate biomaterials for bone repair: a review", 2018]. Implanty wykonane z hydroksyapatytu mogą być w całości zastąpione przez tkankę twardą gospodarza, gdyż związek ten z czasem ulega rozkładowi i wydaleniu z organizmu. Wykorzystanie hydroksyapatytu nie ogranicza się jedynie do medycyny regeneracyjnej. Związek ten znajduje zastosowanie również w stomatologii [Kula H. i wsp., "The Applications of Calcium Phosphates in Dentistry", 2014], chromatografii przy oczyszczaniu kwasów nukleinowych i białek [Dorozhkin S. V. i wsp., "Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine", 2009], jako nośnik leków [Kumta P. N. i wsp., "Nanostructured calcium phosphates for biomedical applications: novel synthesis and characterization", 2005], czy też jako katalizator [Zahouily M. i wsp., "Hydroxyapatite: new efficient catalyst for the Michael addition", 2003].

Istnieje wiele metod syntezy okresowej hydroksyapatytu [Sadat-Shojai M. i wsp., "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures," 2013]. Dzielą się one na suche (np. mechanochemiczna), mokre (głównie precypitacja, metoda emulsyjna i hydrotermalna), wysokotemperaturowe (np. piroliza) i synteza ze źródeł biogenych. Zdecydowanie najbardziej rozpowszechnioną metodą jest precypitacja. Generalnie precypitacja prowadzona w sposób okresowy polega na łączeniu w tym samym naczyniu jonów ortofosforanowych i wapniowych w odpowiednim stosunku w celu wytrącenia się hydroksyapatytu [Mateus A.Y.P. i wsp., "Comparative study of nanohydroxyapatite microspheres for medical applications", 2008; Yelten-Yilmaz A. i Yilmaz S., "Wet chemical precipitation synthesis of hydroxyapatite (HA) powders", 2018; Wang P. i wsp., "Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process", 2010; Wang P. i wsp. "Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process", 2010; Liu Y. i wsp. "A simple wet chemical synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods", 2004]. Głównym celem takiej syntezy jest otrzymanie hydroksyapatytu, a nie innej soli fosforanowo-wapniowej. Pożądane jest, aby otrzymać HAp w postaci nanocząstek. Tak zdefiniowany skład chemiczny oraz rozmiar produktu ma na celu zapewnienie jak największego podobieństwa do mineralnego składnika tkanek twardych, co przekłada się z kolei na lepszą biogodność materiału finalnego. Niestety proces okresowy nie pozwala na zbyt duże spektrum sterowania warunkami procesowymi. W zasadzie są to pH, temperatura, szybkość mieszania i czas starzenia się osadu. W związku z tym, aby polepszyć właściwości otrzymywanych nanocząstek, stosuje się syntezę okresową z różnymi dodatkami. W literaturze jest wiele przykładów syntezy cząstek HAp z dodatkiem pierwiastków chemicznych lub jonów. Domieszkowanie ma na celu zmianę właściwości fizykochemicznych syntezowanego HAp przy jego zastosowaniu w konkretnym celu. Jednym z przykładów reakcji z dodatkiem pierwiastka chemicznego jest synteza z dodatkiem krzemu, która powoduje otrzymanie struktury o większej wytrzymałości [Martínez-Vázquez F. J. i wsp., "Fabrication of novel Sidoped hydroxyapatite/gelatine scaffolds by rapid prototyping for drug delivery and bone regeneration", 2015]. Domieszkowanie za pomocą jonów Zn^{2+} poprawia biokompatybilność [Ghorbani F. M. i wsp., "PCL/chitosan/Zn-doped nHA electrospun nanocomposite scaffold promotes adipose derived stem cells adhesion and proliferation", 2015], a dodatek srebra powoduje otrzymanie środka przeciwbakteryjnego skierowanego przeciw *Escherichia coli* [Zhou K. i wsp., "Preparation and characterization of nanosilver-doped porous hydroxyapatite scaffolds", 2015]. Innym typem rozpowszechnionych dodatków do HAp są kwasy tłuszczowe, które mogą powodować zmianę właściwości hydroksyapatytu np. z hydrofilowych na hydrofobowe [Murugan S., Rajan M.,

“Greener Synthesis of Nano Hydroxyapatite using Fatty acids template for the application of Tissue Engineering Nano Hydroxyapatite: Fatty acids Synthesis and Characterizations”, 2017; Jiang J i wsp., “Synthesis and characterization of multilamellar mesostructured hydroxyapatites using a series of fatty acids”, 2011]. Biorąc jednak pod uwagę, że obok pożądanego składu hydroksyapatytu, celem syntezy mokrej jest otrzymywanie nanocząstek o zdefiniowanej wielkości i strukturze, bardzo częstym dodatkiem są surfaktanty. Wyróżnić można przykłady zastosowania takich surfaktantów jak: CTAB (bromek cetrymetyloamoniowy) [Wang Y. i wsp., “Surfactant-assisted synthesis of hydroxyapatite particles”, 2006], MAEPK (fosforan lauryloeteru potasowego) [Yang S. i wsp., “Surfactant-assisted synthesis of oriented hydroxyapatite nanoclusters by reflux method” 2013], surfaktant pluronowy [Nga N. K. i wsp., “Surfactant-assisted size control of hydroxyapatite nanorods for bone tissue engineering”, 2014], SDS (laurylosiarczan sodu) [Kołodziejczak-Radzimska A. i wsp., “Synthesis of hydroxyapatite in the presence of anionic surfactant”, 2014]. Obiecujące badania dotyczą syntezy hydroksyapatytu w obecności lecytyny. Dodatek tego surfaktantu nie tylko zwiększa kompatybilność hydroksyapatytu, ale jego stężenie wpływa też korzystnie na morfologię otrzymywanych nanocząstek [Wojasiński M. i wsp., “Lecithin-based wet chemical precipitation of hydroxyapatite nanoparticles”, 2015]. Stwierdzono również wpływ pH i temperatury na średnicę nanocząstek HAp podczas syntezy okresowej z lecytyną [J. Latocha i wsp., “Impact of morphology-influencing factors in lecithin-based hydroxyapatite precipitation”, 2019; PL 229015 B1].

Duże lepsze możliwości sterowania właściwościami produktu podczas mokrej syntezy hydroksyapatytu dają procesy ciągłe. Najprostszym rozwiązaniem jest klasyczny reaktor rurowy, tak jak przedstawiony u Fujii i innych, gdzie opisano ciągłą syntezę hydroksyapatytu z wykorzystaniem przepływowego reaktora rurowego [Fujii E. i wsp., “Fabrication of calcium phosphate nanoparticles in a continuous flow tube reactor”, 2015]. W zaproponowanym układzie rolę reaktora pełni rurka wykonana z teflonu o średnicy wewnętrznej 2 mm i długości 10 m. Reagenty były podawane do komory mieszania typu T przy pomocy pomp tłokowych, skąd następnie trafiały do reaktora. W celu zapewnienia precyzyjnej kontroli temperatury reakcji zarówno mieszalnik, jak i reaktor umieszczone zostały w termostacie. Kolejnym proponowanym rozwiązaniem aparatu ciągłego jest wykorzystanie reaktora OFR (ang. Oscillatory Flow Reactor). Zazwyczaj jest to cylindryczna kolumna zawierająca równo rozmieszczone przegrody. Na jej końcu (bądź obu, zależnie od konstrukcji aparatu) znajdują się przesłony, miechy lub tłoki odpowiedzialne za wytworzenie oscylacji. Zastosowanie fluktuacji płynu w kierunku osiowym pozwala na efektywne wymieszanie mieszaniny reakcyjnej. Intensywność mieszania kontrolowana jest poprzez amplitudę oraz częstotliwość oscylacji [Reis M. F., “Novel Oscillatory Flow Reactors for Biotechnological Applications”, 2006]. Ten typ aparatu do syntezy hydroksyapatytu został wykorzystany przez Castro i innych [Castro F. i wsp., “Continuous-Flow Precipitation of Hydroxyapatite at 37°C in a Meso Oscillatory Flow Reactor”, 2013]. Synteza hydroksyapatytu w innowacyjnym reaktorze meso-OFR przebiegała w układzie, gdzie rolę reaktora pełniła szklana rurka o średnicy wewnętrznej 4,4 mm i długości 35 cm, zawierająca rozmieszczone co 13 mm wgłębienia o średnicy wewnętrznej 1,6 mm. Reaktor miał objętość 4 mL i był osadzony na systemie oscylacyjnym. Ten sam zespół zaproponował także syntezę w powiększonym reaktorze meso-OFR, na który składało się 8 reaktorów podstawowych połączonych ze sobą w sposób szeregowy. Całkowita pojemność takiego układu to około 30 mL. Kolejnym rozwiązaniem układów przepływowych są mikroreaktory. Prowadzenie reakcji w mikroreaktorach niesie za sobą szereg korzyści – dzięki zmniejszeniu skali możliwe jest zwiększenie intensywności procesów transportowych oraz lepsza kontrola nad warunkami reakcji [Song Y. i wsp., “Microfluidic Synthesis of Nanomaterials”, 2008]. Latocha i inni [Latocha J. i wsp., “Precipitation of hydroxyapatite nanoparticles in 3D-printed reactors”, 2018]] prowadzili syntezę hydroksyapatytu w mikroreaktorze jednokanałowym w kształcie litery Y. Przekrojem kanału był kwadrat o boku 1 mm. Proces był prowadzony w dwóch aparatach, które różniły się długością kanału głównego – wynosiła ona 10 mm lub 150 mm. Kolejnym rozwiązaniem zaproponowanym przez Castro i innych mającym na celu poprawę mieszania była synteza w ultradźwiękowym mikroreaktorze rurowym [Castro F. i wsp., “Process intensification and optimization for hydroxyapatite nanoparticles production”, 2013]. Był to również mikroreaktor jednokanałowy, ale zastosowanie ultradźwięków w trakcie syntezy umożliwiło przyspieszenie procesu nukleacji oraz zmniejszenie stopnia agregacji syntezowanych cząstek poprzez skrócenie czasu wzajemnego kontaktu. Zaproponowany przez ten zespół układ reakcyjny obejmował komorę mieszania oraz mikroreaktor rurowy, które były zanurzone w łaźni ultradźwiękowej. Koncepcja mikroreaktorów z pojedynczymi kanałami pozwala jedynie na uzyskanie niewielkich ilości produktu. W celu zwiększenia wydajności procesu, a jednocześnie zachowania zalet małych rozmiarów, stosuje się koncepcję „numbering-up”, która polega na powielaniu liczby identycznych mikrokanalów lub dystrybucji mediów, która rozdziela większe

przepływy do mikroprzepływów. Pozwala to czerpać energię na mieszanie z samego przepływu (mieszanie pasywne) bez zewnętrznych źródeł energii, jak oscylacje czy też ultradźwięki (mieszanie aktywne).

Ze względu na przedstawione powyżej ograniczenia metod okresowych w zakresie kontroli rozmiaru produkowanych w precypitacji modyfikowanych cząstek hydroksyapatytu, jak również niską wydajność reaktorów jednokanałowych w tego rodzaju procesie, zaproponowano sposób ciągłej syntezy nanocząstek hydroksyapatytu w reaktorach przepływowych o wielowłotowej komorze mieszania typu pudełkowego do precypitacji cząstek z roztworów soli wapnia i fosforanu. Reaktory będące przedmiotem proponowanego wynalazku pozwalają na precypitację zarówno nanocząstek hydroksyapatytu niemodyfikowanych, jak i nanocząstek modyfikowanych lecytyną, w celu zwiększenia ich biogodności.

Reaktor do ciągłej syntezy nanocząstek hydroksyapatytu metodą precypitacji na mokro z roztworów soli wapnia i soli fosforanowej, w kształcie litery Y, zawierający dwa kanały wlotowe skierowane do siebie pod kątem 120° oraz kanał wylotowy skierowany pod kątem 120° do kanałów wlotowych, według wynalazku charakteryzuje się tym, że każdy z kanałów wlotowych rozszerza się, a w końcowej części posiada parzystą liczbę otworów wlotowych do komory mieszania, w której łączą się strumienie reagentów z kanałów wlotowych, a komora mieszania ma przewężenie wylotowe usytuowane w początkowej części kanału wylotowego.

Korzystnie każdy kanał wlotowy ma taką samą liczbę otworów wlotowych.

Reaktor według wynalazku jest reaktorem zderzeniowym, wielostrumieniowym. Kanały wlotowe, odmiennie niż w reaktorze znanym ze stanu techniki, nie mają jednakowego przekroju na całej długości, a ich rozszerzająca się przestrzeń jest na wlocie do komory mieszania ograniczona przegrodą z otworami. Te cechy zmieniają prędkość liniową strumieni reagentów, co pozwala na znaczącą poprawę efektywności procesu syntezy nanocząstek hydroksyapatytu. Natomiast zastosowanie przewężenia wylotowego z komory mieszania powoduje skrócenie czasu przebywania reagentów w strefie mieszania, również ze względu na wzrost prędkości liniowej mieszanki. W rezultacie uzyskuje się nanocząstki hydroksyapatytu o wysokim stopniu jednorodności (niskie wartości odchylenia standardowego rozkładów rozmiarów). Kanał wylotowy zapewnia ostateczne wymieszanie reagentów.

Korzystne jest, aby liczba otworów wlotowych do komory mieszania była parzysta. Nieparzysta liczba otworów powoduje inny rozkład prędkości przed otworami wlotowymi do komory mieszania. Przy nieparzystej liczbie otworów wlotowych do komory mieszania otwór wlotowy do reaktora jest w osi ze środkowym otworem wlotowym do komory mieszania, przez co nie dochodzi do odpowiedniego rozprzewadzenia reagenta do komory mieszania, co potwierdzono badaniami modelowymi CFD. W rezultacie wymieszanie reagentów w komorze mieszania może być gorsze i powstają mniej jednorodne nanocząstki.

W reaktorze według wynalazku można wytwarzać zarówno nanocząstki hydroksyapatytu niemodyfikowane, jak i modyfikowane, np. czynnikiem zwiększającym biogodność, takim jak lecytyna.

Dodatkową zaletą reaktora według wynalazku jest to, że może on zostać wykonany techniką modelowania przyrostowego, tzw. techniką druku 3D lub innymi znanymi w sztuce technikami.

W reaktorze według wynalazku prowadzi się ciągłą syntezę nanocząstek hydroksyapatytu, polegającą na skontaktowaniu ze sobą dwóch roztworów soli wapnia i soli fosforanowej. Jako roztwory soli rozumiane są tutaj roztwory wodne soli wapnia, np. azotanu wapnia oraz roztwory wodne soli fosforanowej, np. diwodorofosforanu amonu. Przed przystąpieniem do syntezy nanocząstek hydroksyapatytu pH roztworów soli jest ustalane do wartości 10,0. Zastosowanie pH niższego niż 10,0 skutkuje otrzymaniem innych fosforanów wapnia, których synteza jest również możliwa w reaktorze według wynalazku. W przypadku otrzymywania nanocząstek hydroksyapatytu modyfikowanych lecytyną, do roztworu soli wapniowej dodawana jest odpowiednia ilość lecytyny, korzystnie w ilości prowadzącej do stężenia od 0,1 do 15 g/L lecytyny w roztworze soli wapniowej.

Otrzymaną zawiesinę produktu precypitacji zbiera się na wylocie ze zderzeniowego wielostrumieniowego reaktora według wynalazku pracującego w sposób ciągły do reaktora, w którym prowadzi się starzenie produktu. Możliwe są trzy sposoby starzenia: brak starzenia, starzenie w temperaturze pokojowej, starzenie w podwyższonej temperaturze, korzystnie w temperaturze 60°C . Proces starzenia według wynalazku polega na mieszanii zawiesiny produktu precypitacji przez około 24 godziny w zadanych warunkach temperatury.

Uzyskaną zawiesinę po procesie starzenia poddaje się wirowaniu i oczyszczaniu przez płukanie wodą destylowaną i ponowne wirowanie od 1 do 4 razy, korzystnie 4 razy, w celu usunięcia niezwiązanych z cząstkami pozostałości lecytyny oraz nadmiaru amoniaku.

Uzyskany osad poddaje się suszeniu w temperaturze 50°C przez około 24 godziny, a następnie poddaje się procesowi rozdrabniania znanymi w sztuce technikami, korzystnie przez mielenie w młyńcu kulowym, do uzyskania proszku.

Reaktor według wynalazku został pokazany w przykładzie wykonania na rysunku, na którym:

Fig. 1 przedstawia reaktor według wynalazku o ośmiu otworach wlotowych do komory mieszania w widoku i przekrojach,

Fig. 2 przedstawia schemat instalacji do precypitacji hydroksyapatytu z wykorzystaniem reaktora według wynalazku pracującego w sposób ciągły,

Fig. 3 przedstawia widma FTIR dla nanocząstek hydroksyapatytu otrzymanych w procesie ciągłym w warunkach starzenia: bez starzenia, starzenie w temperaturze pokojowej, starzenie w temperaturze 60°C, w reaktorach według wynalazku o 4 wlotach do komory mieszania, 8 wlotach do komory mieszania i o 12 wlotach do komory mieszania przy stężeniu lecytyny wynoszącym 3 g/L, i przepływie każdego z reagentów na wlocie do reaktora wynoszącym 2,7 L/h,

Fig. 4 przedstawia zdjęcia ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) nanocząstek hydroksyapatytu otrzymanych w procesie ciągłym bez starzenia w reaktorach według wynalazku o 4 wlotach do komory mieszania, o 8 wlotach do komory mieszania i o 12 wlotach do komory mieszania, przy stężeniu lecytyny wynoszącym 3 g/L, i przepływie każdego z reagentów na wlocie do reaktora wynoszącym 2,7 L/h;

Fig. 5 przedstawia zdjęcia SEM nanocząstek hydroksyapatytu otrzymanych w procesie ciągłym bez starzenia w reaktorze według wynalazku o 8 wlotach do komory mieszania przy stężeniu lecytyny wynoszącym 0, 3, 15 g/L, i przepływie każdego z reagentów na wlocie do reaktora wynoszącym 2,7 L/h;

Fig. 6 przedstawia zdjęcia SEM nanocząstek hydroksyapatytu otrzymanych w procesie ciągłym bez starzenia w reaktorze według wynalazku o 8 wlotach do komory mieszania przy stężeniu lecytyny wynoszącym 3 g/L, i przepływie każdego z reagentów na wlocie do reaktora wynoszącym 1, 2,7 i 5 L/h;

Fig. 7 przedstawia zdjęcia SEM nanocząstek hydroksyapatytu otrzymanych w procesie ciągłym w warunkach starzenia: bez starzenia, starzenie w temperaturze pokojowej, 60°C w reaktorze według wynalazku o 8 wlotach do komory mieszania przy stężeniu lecytyny wynoszącym 3 g/L, i przepływie każdego z reagentów na wlocie do reaktora wynoszącym 2,7 L/h.

Obecność charakterystycznych dla hydroksyapatytu i lecytyny grup funkcyjnych w otrzymanych proszkach HAp badano za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) z użyciem spektrometru Nicolet™ 6700 (wyprodukowany przez ThermoScientific).

W celu oceny morfologii i rozmiaru otrzymanych cząstek zastosowano skaningową mikroskopię elektronową. Próbkę proszku umieszczono na taśmie przewodzącej i pokryto warstwą przewodzącego metalu (około 10 nm chromu). Tak przygotowane próbki obrazowano za pomocą mikroskopu SU8230 (wyprodukowany przez Hitachi). Rozmiar cząstek otrzymywanych w precypitacji określono jako średnią z pomiaru 50 pojedynczych cząstek na zdjęciach mikroskopowych.

Wynalazek zostanie poniżej opisany w szczegółach za pomocą przykładów i przykładów porównawczych.

Przykład 1 do 33.

Prowadzono ciągły proces otrzymywania nanocząstek hydroksyapatytu w reaktorze przedstawionym na Fig. 1, mającym kształt litery Y. Reaktor posiada dwa kanały wlotowe 1a i 1b do komory mieszania 3, skierowane do siebie pod kątem 120°. Każdy z kanałów 1a i 1b jest usytuowany pod kątem 120° do kanału wylotowego 5. Każdy z kanałów wlotowych 1a i 1b posiada parzystą liczbę otworów wlotowych 2 do komory mieszania 3, a komora mieszania 3 ma przewężenie wylotowe 4. W wersji przedstawionej na Fig. 1 każdy z kanałów 1a i 1b posiada po osiem otworów wlotowych, ale opisany w przykładach proces prowadzono także w reaktorze z czterema i dwunastoma otworami. Odważono odpowiednią dla każdego Przykładu ilość (patrz Tabela 1) lecytyny (fosfatydylocholina, Lipoid S PC-3, produkowana przez Lipoid GmbH) i uwodniono w 200 mL wody ultraczystej w temperaturze 58–59°C przez 30 minut mieszając. Do otrzymanego roztworu dodano 23,616 g azotanu wapnia $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. W ten sposób otrzymano pierwszy z reagentów. Odważono 7,924 g diwodorofosforanu amonu $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ i rozpuszczono w 200 mL wody ultraczystej. W ten sposób otrzymano drugi z reagentów. Ilości $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ dobrano tak, aby otrzymać stosunek molowy Ca/P równy 1,67. Następnie ustalono pH otrzymanych reagentów na 10,0 za pomocą wodnego roztworu amoniaku (25% v/v). W procesie zastosowano reaktor według wynalazku o liczbie otworów wlotowych do komory mieszania 3 według Tabeli 1 dla poszczególnych Przykładów. Przepływ każdego z przygotowanych reagentów, zależnie od wariantu syntezy, ustalono na wartość według Tabeli 1. Reagenty podawano za

pomocą pomp zębatych (Model GA-X21.J8FS.A, wyprodukowane przez Micropump). Proces precypitacji prowadzono do momentu wyczerpania reagentów, a otrzymaną zawieszynę nanocząstek hydroksyapatytu zbierano do reaktora do starzenia, mieszając ją z szybkością 500 obr./min. Cząstki poddano/nie poddano procesowi starzenia według Tabeli 1 dla każdego z Przykładów. Otrzymaną w poprzednim etapie zawieszynę poddano wirowaniu przez 30 minut z szybkością obrotową 5500 obr./min (MPW-55, wyprodukowana przez MPW MED.INSTRUMENTS). Otrzymany osad czterokrotnie przeemyto 8 mL wody ultraczystej oraz odwirowano (10 min, 5500 obr./min). Powstały produkt suszono w temperaturze 50°C przez 24 godziny, a następnie zmielono z wykorzystaniem młyna kulowego (PULVERISETTE 6, produkowany przez Fritsch) przez 5 minut, z prędkością 150 obr./min. Otrzymano biały proszek, który poddano analizie opisanymi powyżej technikami.

Tabela 1

	Reaktor*	Przepływ [L/h]	Stężenie lecytyny [g/L]	Sposób starzenia**	Rozmiar cząstek ± SD [nm]
Przykład 1	BOX4	1	3	bs	18 ± 3
Przykład 2	BOX4	1	3	RT	17 ± 4
Przykład 3	BOX4	1	3	60 °C	19 ± 4
Przykład 4	BOX4	2,7	3	bs	19 ± 3
Przykład 5	BOX4	2,7	3	RT	17 ± 3
Przykład 6	BOX4	2,7	3	60 °C	18 ± 3
Przykład 7	BOX4	5	3	bs	14 ± 3
Przykład 8	BOX4	5	3	RT	15 ± 3
Przykład 9	BOX4	5	3	60 °C	17 ± 3
Przykład 10	BOX8	1	3	bs	17 ± 3
Przykład 11	BOX8	1	3	RT	15 ± 3
Przykład 12	BOX8	1	3	60 °C	21 ± 4
Przykład 13	BOX8	2,7	3	bs	19 ± 3
Przykład 14	BOX8	2,7	3	RT	16 ± 3
Przykład 15	BOX8	2,7	3	60 °C	19 ± 3
Przykład 16	BOX8	5	3	bs	16 ± 3
Przykład 17	BOX8	5	3	RT	15 ± 2
Przykład 18	BOX8	5	3	60 °C	17 ± 3
Przykład 19	BOX12	1	3	bs	18 ± 4
Przykład 20	BOX12	1	3	RT	17 ± 3
Przykład 21	BOX12	1	3	60 °C	18 ± 3
Przykład 22	BOX12	2,7	3	bs	20 ± 3
Przykład 23	BOX12	2,7	3	RT	17 ± 3
Przykład 24	BOX12	2,7	3	60 °C	18 ± 3
Przykład 25	BOX12	5	3	bs	18 ± 3
Przykład 26	BOX12	5	3	RT	17 ± 3
Przykład 27	BOX12	5	3	60 °C	17 ± 2
Przykład 28	BOX8	2,7	15	bs	20 ± 4
Przykład 29	BOX8	2,7	15	RT	19 ± 4
Przykład 30	BOX8	2,7	15	60 °C	20 ± 2
Przykład 31	BOX8	2,7	0	bs	23 ± 4
Przykład 32	BOX8	2,7	0	RT	19 ± 3
Przykład 33	BOX8	2,7	0	60 °C	24 ± 4

*Reaktor oznacza tutaj typ reaktora, gdzie BOXN oznacza reaktor typu pudełkowego o liczbie N wlotów do komory mieszania

**Sposób starzenia oznacza tutaj sposób prowadzenia starzenia mieszaniny poreakcyjnej, gdzie bs – bez starzenia, RT – starzenie przez 24 godziny w temperaturze pokojowej, 60 °C – starzenie przez 24 godziny w temperaturze 60 °C.

Przykład porównawczy 1 do 6.

Prowadzono ciągle otrzymywanie nanocząstek hydroksyapatytu w reaktorze jednokanałowym w kształcie litery Y, z jednym otworem wlotowym do każdego kanału wlotowego, bez zwężenia

w komorze mieszania. Przekrojem kanału był kwadrat o boku 1 mm. Odważono 1,2 g lecytyny (fosfatydylocholina, Lipoid S PC-3, produkowana przez Lipoid GmbH) i uwodniono w 200 mL wody ultraczystej w temperaturze 58–59°C przez 30 minut, mieszając. Do otrzymanego roztworu dodano 23,616 g azotanu wapnia $\text{Ca}(\text{NCO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. W ten sposób otrzymano pierwszy z reagentów. Odważono 7,924 g diwodorofosforanu amonu $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ i rozpuszczono w 200 mL wody ultraczystej. W ten sposób otrzymano drugi z reagentów. Ilości $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ dobrano tak, aby otrzymać stosunek mowy Ca/P równy 1,67. Następnie ustalono pH otrzymanych reagentów na 10,0 za pomocą wodnego roztworu amoniaku (25% v/v). Zastosowano reaktor typu Y o długości wylotu wynoszącej 10 mm, a przepływ każdego z przygotowanych reagentów ustalono na wartość według Tabeli 2 dla poszczególnych Przykładów porównawczych. Reagenty podawano za pomocą pomp zębatych (Model GA-X21.J8FS.A, wyprodukowane przez Micropump). Proces precypitacji prowadzono do momentu wyczerpania reagentów, a otrzymywaną zawiesinę nanocząstek hydroksyapatytu zbierano do reaktora do starzenia, mieszając ją z szybkością 500 obr./min. Cząstki poddano/nie poddano procesowi starzenia według Tabeli 2 dla każdego z Przykładów porównawczych. Po zakończeniu etapu starzenia otrzymaną zawiesinę poddano wirowaniu przez 30 minut z szybkością obrotową 5500 obr./min (MPW-55, wyprodukowana przez MPW MED.INSTRUMENTS). Uzyskany osad czterokrotnie przemyto 8 mL wody ultraczystej oraz odwirowano (10 min, 5500 obr./min). Powstały produkt suszono w temperaturze 50°C przez 24 godziny, a następnie zmielono z wykorzystaniem młyna kulowego (PULVERISETTE 6, produkowany przez Fritsch) przez 5 minut, z prędkością 150 obr./min. Otrzymano biały proszek, który poddano analizie opisanymi powyżej technikami.

Tabela 2

	Reaktor*	Przepływ [L/h]	Stężenie lecytyny [g/L]	Sposób starzenia**	Rozmiar cząstek ± SD [nm]
Przykład Porównawczy 1	Y10	1	3	bs	16 ± 2
Przykład Porównawczy 2	Y10	1	3	RT	17 ± 2
Przykład Porównawczy 3	Y10	1	3	60 °C	21 ± 3
Przykład Porównawczy 4	Y10	2	3	bs	18 ± 3
Przykład Porównawczy 5	Y10	2	3	RT	17 ± 2
Przykład Porównawczy 6	Y10	2	3	60 °C	21 ± 3

*Reaktor oznacza tutaj typ reaktora, gdzie YL oznacza reaktor o kształcie litery Y i długości wylotu wynoszącej L [mm]
 **Sposób starzenia oznacza tutaj sposób prowadzenia starzenia mieszaniny poreakcyjnej, gdzie bs – bez starzenia, RT – starzenie przez 24 godziny w temperaturze pokojowej, 60 °C – starzenie przez 24 godziny w temperaturze 60 °C.

Zastosowanie reaktorów według wynalazku pozwala na otrzymanie nanocząstek hydroksyapatytu o średnich rozmiarach od około 15 do około 25 nm, zarówno modyfikowanych lecytiną, jak i niemodyfikowanych, przy wydajnościach od 2 do 10 L/h zawiesiny reakcyjnej (Tabela 1). Przedstawione jako porównanie zastosowanie znanego ze stanu techniki reaktora typu Y pozwala na otrzymanie podobnych cząstek z wydajnością od 2 do 4 L/h mieszaniny reakcyjnej (Tabela 2). Porównanie wyników wskazuje, że reaktory według wynalazku pozwalają na produkcję nanocząstek hydroksyapatytu o zadanych parametrach od 2,5 do 5 razy wydajniej.

Co więcej, przedstawione wyniki otrzymano wykorzystując reaktory wyprodukowane techniką modelowania przyrostowego – znaną jako druk 3D. Reaktory według wynalazku nie tylko zapewniają wysoką wydajność precypitacji nanocząstek hydroksyapatytu, ale mogą również być produkowane prostszymi niż frezowanie precyzyjne lub laserowe metodami druku 3D.

Zastrzeżenia patentowe

1. Reaktor do ciągłej syntezy nanocząstek hydroksyapatytu metodą precypitacji na mokro z roztworów soli wapnia i soli fosforanowej, w kształcie litery Y, zawierający dwa kanały wlotowe skierowane do siebie pod kątem 120° oraz kanał wylotowy skierowany pod kątem 120° do kanałów wlotowych, **znamienny tym**, że każdy z kanałów wlotowych (1a, 1b) rozszerza się, a w końcowej części posiada parzystą liczbę otworów wlotowych (2) do komory mieszania (3), w której łączą się strumienie reagentów z kanałów wlotowych (1a, 1b), a komora mieszania (3) ma przewężenie wylotowe (4) usytuowane w początkowej części kanału wylotowego (5).
2. Reaktor według zastrz. 1, **znamienny tym**, że każdy kanał wlotowy (1a, 1b) ma taką samą liczbę otworów wlotowych (4).

Rysunki

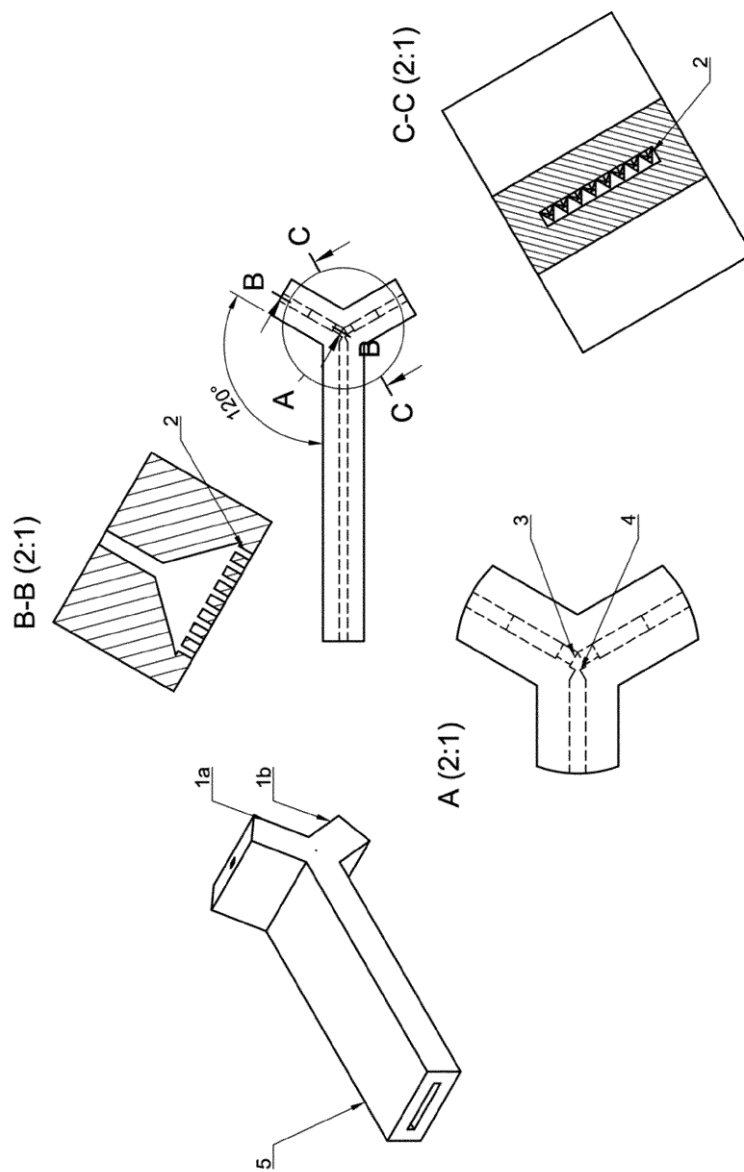


Fig. 1

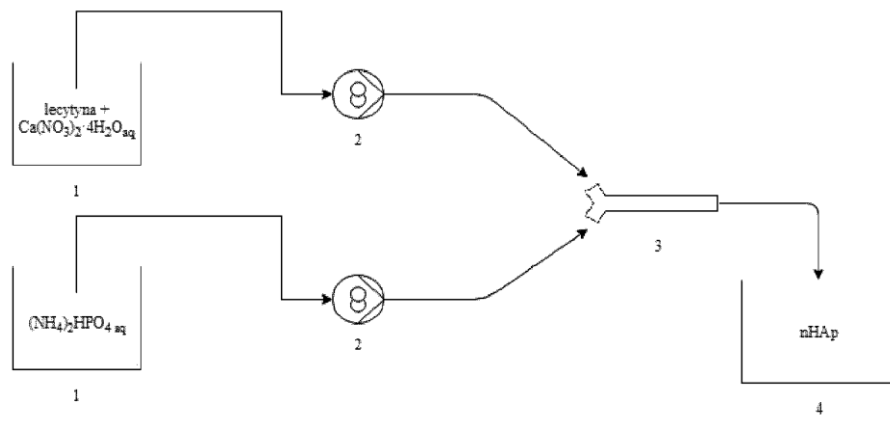


Fig. 2

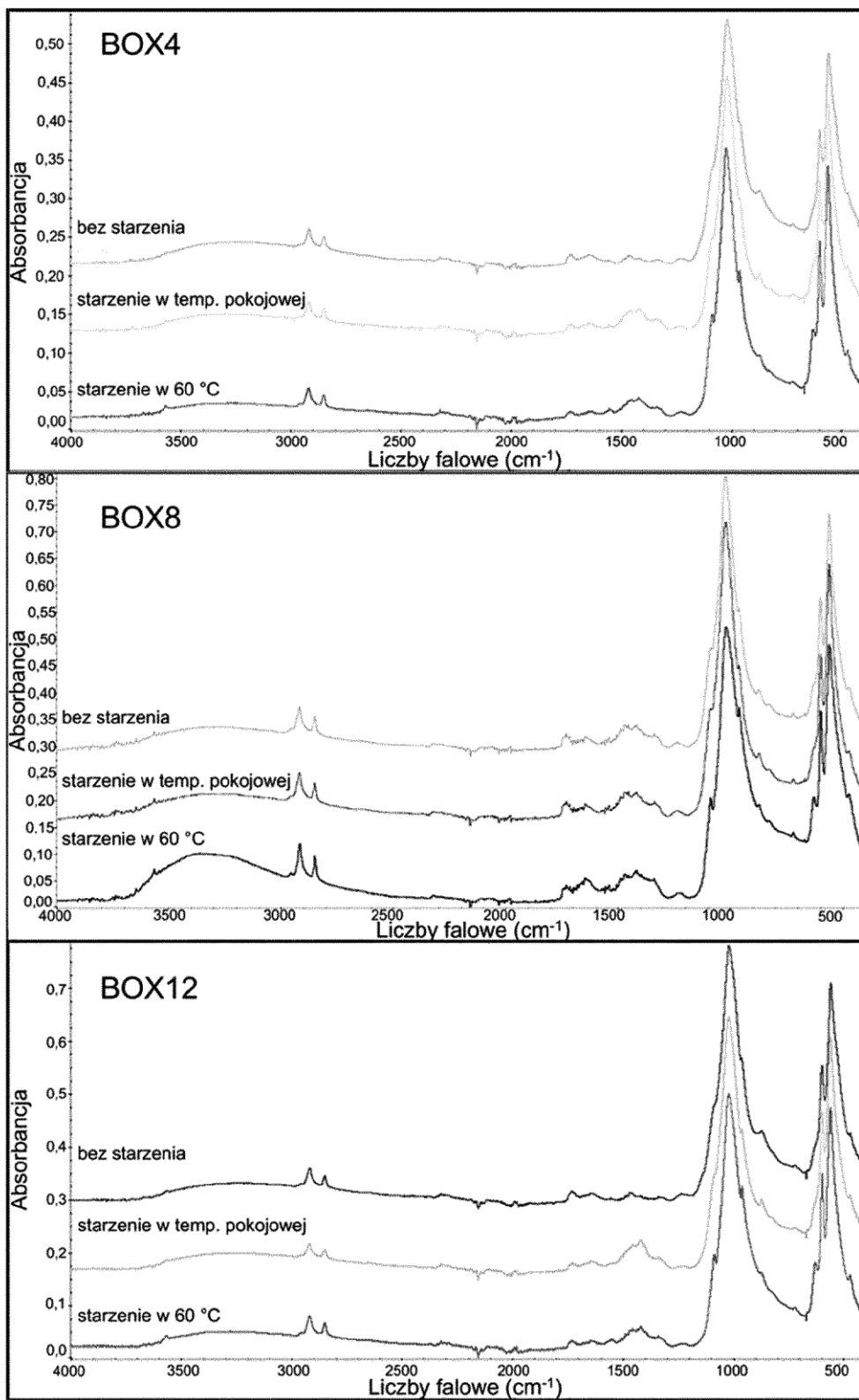


Fig. 3

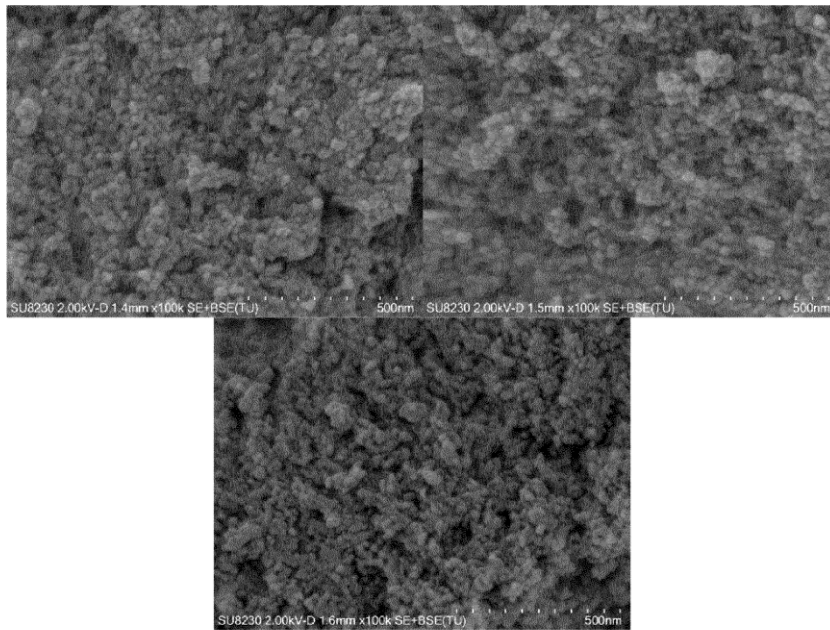


Fig. 4

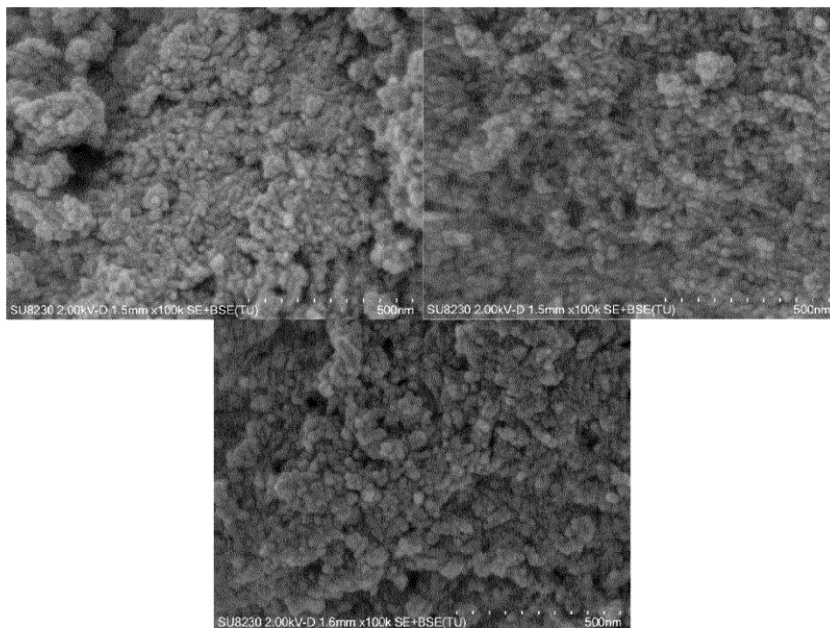


Fig. 5

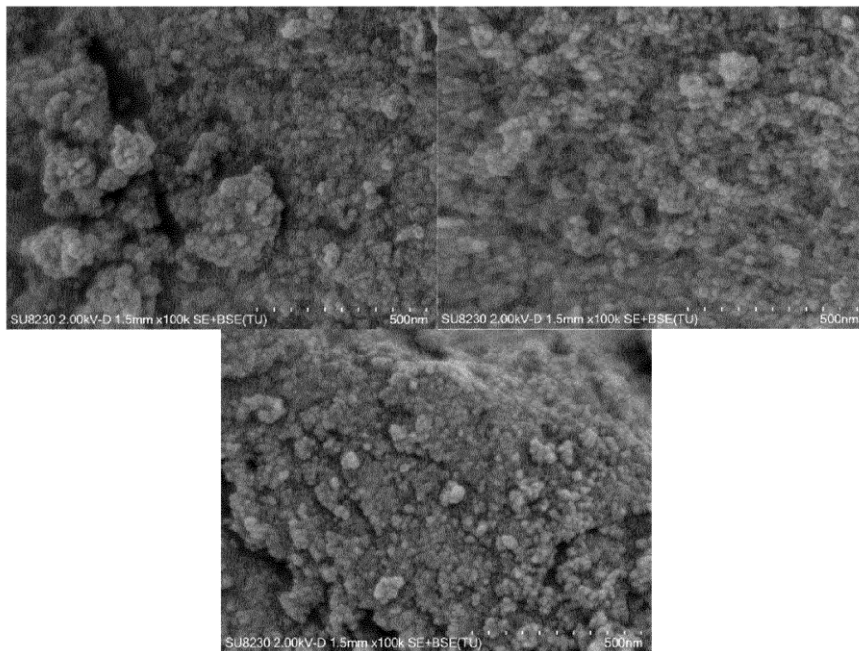


Fig. 6

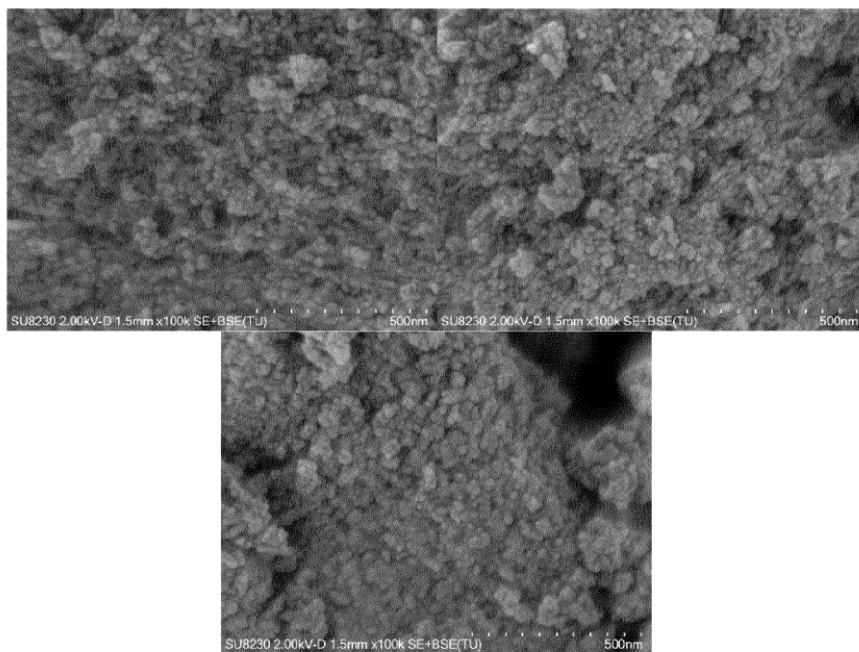


Fig. 7