RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE
Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte
Neorganiskā ķīmijas institūts
Biomateriālu zinātniski pētnieciskā laboratorija

Agnese Brangule

Doktora studiju programmas "Ķīmijas tehnoloģija" doktorante

FURJĒ TRANSFORMĀCIJAS INFRASARKANĀS SPEKTROSKOPIJAS PIELIETOJUMS SINTEZĒTO UN DABISKO KALCIJA FOSFĀTU ANALĪZĒ

Promocijas darba kopsavilkums

Zinātniskais vadītājs
asoc. profesors *Dr. sc. ing.*
KĀRLIS AGRIS GROSS

RTU Izdevniecība
Rīga 2017

Brangule A. Furjē transformācijas infrasarkanās spektroskopijas pielietojums nanoizmēra hidroksilapatīta sintēzes procesa kontrolei.
Promocijas darba kopsavilkums. – R.: RTU Izdevniecība, 2017. – 54 lpp.

Iespiests saskaņā ar promocijas padomes "RTU P–02" 2017. gada 4. oktobra sēdes lēmumu Nr. 04030-9.2.1/4.

ISBN 978-9934-22-029-6

PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS RĪGAS TEHNISKĀS UNIVERSITĀTES INŽENIERZINĀTŅU DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI

Promocijas darbs inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2017. gada 6. decembrī plkst. 14.00 Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Paula Valdena ielā 3/7, 272. auditorijā.

OFICIĀLIE OPONENTI

Profesors, *Dr.habil.sc.ing.*, G. Mežinskis
Silikātu materiālu institūta direktors, Materiālzinātnes un Lietišķās Ķīmijsas faultāte, Rīgas Tehniskā universitāte

Profesors, *Dr.habil.chem.*, LZA akadēmiķis A. Zicmanis
Organiskās ķīmijas katedras vadītājs, Latvijas universitāte

Profesors, *Dr.habil.* S. Tamulevičius
Materiālzinātņu institūta vadītājs, Kauņas tehniskā universitāte, Fizikas katedras vadītājs, Lietuva

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Agnese Brangule ……

Datums: …….

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, tajā ir ievads, trīs nodaļas, t. i., literatūras apskats (sešas apakšnodaļas), eksperimentālā daļa (trīs apakšnodaļas), rezultāti un to izvērtējums (trīs apakšnodaļas), secinājumi un izmantotās literatūras saraksts. Promocijas darba saturs izklāstīts 147 lapaspusēs. Darbā ir 74 attēli, 30 tabulas un izmantotās literatūras saraksts, kas ietver 195 literatūras avotu.

PATEICĪBA

Liels paldies manam darba vadītājam *Dr. sc. ing*. Kārlim Agrim Grosam par iespēju veikt pētniecību kalcija fosfātu un biomateriālu jomā.

Es vēlos pateikties ikvienam, kas dalījās savās zināšanās, iedvesmoja, atbalstīja un palīdzēja visu šo gadu garumā!

Prof. Arturam Vīksnam no Latvijas Universitātes Analītiskās ķīmijas katedras (Rīga, Latvija), prof. Andrim Actiņam un *Dr.chem.* Agrim Bērziņam no Latvijas Universitātes Fizikālās ķīmijas katedras, prof. Aivaras Kareiva un viņa grupai no Viļņas Universitātes Neorganiskās ķīmijas katedras.

Paldies Rīgas Stradiņa Univeristātes Bioloģijas un mikrobioloģijas katedras darbiniekiem – *Dr. med.* Ingum Skadiņam un *Dr. med.* Aigaram Reinim – par sadarbību, novērtējot baktēriju mijiedarbību ar izstrādāto materiālu.

Paldies *Dr. hist.* Gunitai Zariņai (Latvijas V*ēstures institūts)* un Anatomijas un antropoloģijas institūta (AAI) direktorei un Morfoloģijas katedras vadītājai prof. *Mārai Pilmanei par iespēju piekļūt mūsdienu un arheoloģisko kaulu materiālam.*

Paldies Rīgas Stradiņa Univeristātes Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedras vadītājam prof. Pēterim Tretjakovam par atbalstu konferenču apmeklējumiem un stingro motivēšanu promocijas darbu novest līdz galam.

Paldies RTU Rūdolfa Cimdiņa Rīgas biomateriālu inovāciju un attīstības centram un *Dr. sc. ing.* Jānim Ločam par atbalstu promocijas darba tapšanā.

Paldies Latvijas Universitātes Ķīmiskās fizikas institūta Radiācijas procesu nodaļas vadītājai *Dr.chem.* Guntai Ķizānei un pētniekiem Artūram Zariņam, Līgai Avotiņai un Mihailam Haļitovam par ieinteresētību un jebkuru manu ideju atbalstu.

Paldies RTU asoc. prof. *Dr. chem.* Dainai Kalniņai par garajām diskusijām kalcija fosfātu jomā.

Vēlos no sirds teikt paldies savai ģimenei, kas darīja visu iespējamo, lai mani atbalstītu un motivētu darba izstrādē un tā pabeigšanas procesā.

SATURS

PATEICĪBA 4

Darbā lietotie saīsinājumi un apzīmējumi 6

DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS 7

Tēmas aktualitāte 7

Promocijas darbam izvirzītais mērķis 7

Promocijas darbam izvirzītie uzdevumi 7

Aizstāvamās tēzes 8

Promocijas darba zinātniskā nozīmība un novitāte 8

Promocijas darba praktiskā nozīmība 8

Darba aprobācija 8

Publikāciju saraksts 9

Dalība konferencēs 9

LITERATŪRAS APSKATS 11

DARBA EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA 15

REZULTĀTI UN IZVĒRTĒJUMS 17

1. FTIR metožu salīdzināšanas modeļa izstrāde un aprobācija nanoizmēra kalcija fosfātu pētniecībā 17

1.1. Modeļa izstrāde dažādu FTIR metožu savstarpējai kvalitatīvai un kvantitatīvai salīdzināšanai 17

1.2. FTIR spektru kvalitatīva analīze 18

1.3. FTIR spektru kvantitatīva (statistiska) analīze 19

1.4. Modeļa izvērtēšana un izmantošanas iespējas 24

2. Termokinētiskie nanoizmēra kalcija fosfāta pētījumi 27

2.1. Žāvēšanas procesa kontroles optimizācija 28

2.2. Karbonātjonu sastāva maiņa temperatūras ietekmē 33

3. Dekonvolūcijas modeļa izstrāde un aprobācija 37

3.1. Dekonvolūcijas modeļa izveide 37

3.2. Dekonvolūcijas modeļa aprobācija 39

4. PAS un DRIFT spektroskopijas izmantošanas priekšrocības nanoizmēra kalcija fosfātu pētīšanā 43

4.1. Mikroparaugu raksturošana 43

4.2. Procesi tilpumā 44

4.3. Mitru un piesārņotu paraugu raksturošana 46

4.4. Procesi uz kalcija fosfātu virsmas 46

SECINĀJUMI 49

LITERATŪRAS SARAKSTS 50

PIELIKUMS 52

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI UN APZĪMĒJUMI

ACP – amorfais kalcija fosfāts
AHCA – aglomeratīvā hierarhisko klasteru analīze
CACP – karbonātjonus saturošs amorfais kalcija fosfāts
CaP – kalcija fosfāti
CCP – karbonātjonus saturošs kalcija fosfāts
CI – kristāliskuma indekss
DHCA – sadalošā hierarhisko klasteru analīze
DoE – statistiskās metodes eksperimentos
DSC – diferenciāli skenējošā kalorimetrija
DTA – diferenciāltermiskā analīze
FSD – Furjē pašdekonvolūcija
FTIR – Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija
FTIR ATR – pavājinātas pilnīgās atstarošanas Furjē infrasarkanā spektroskopija
FTIR DRIFT – difūzi reflektīvā Furjē infrasarkanā spektroskopija
FTIR KBr – transmisijas Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija, presējot vielu KBr tabletē
FTIR PAS – fotoakustiskā Furjē infrasarkanā spektrometrija
HAp – hidroksilapatīts
HCA – hierarhiskā klasteranalīze
HPLC – augsti efektīvā šķidrumu hromatogrāfija
ICP – induktīvi saistītās plazmas spektrometrija
IS – infrasarkanais starojums
KM – Kubelka–Munka vienības
MS – masspektrometrija
PAT – procesa analītiskā tehnoloģija
PC – Galvenais komponents
PCA – galveno komponentu analīze
PKK – Pīrsona korelācijas koeficients
QbD – projektētā kvalitāte
SEM – skenējošā elektronu mikroskopija
SF – sadalīšanās faktors
TCP – trikalcija fosfāts
TG – termogravimetrija
TTCP – tetrakalcija fosfāts
TXRF – pilnīgās atstarošanas rentgenstaru fluorescence
XRD – pulvera rentgendifraktometrija

DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS

Tēmas aktualitāte

Aktīva hidroksilapatīta un citu kalcija fosfātu plaša pētniecība biomateriālu jomā notiek jau vairāk nekā 50 gadu. Tomēr tikai pēdējos 10 gados ir iegūta plašāka izpratne par apatītu struktūras ietekmi uz materiāla biosavietojamību. Tāpēc liela uzmanība tiek pievērsta esošo materiālu modificēšanai, jaunu materiālu radīšanai un vispusīgai raksturošanai.

Joprojām nav pievērsta pietiekama uzmanība ērtai un efektīvai nanoizmēra kalcija fosfātu struktūras un kvalitātes raksturošanai. Attīstoties spektroskopiskajām analīzes metodēm un IT tehnoloģijām, ir iespējams iegūt daudz precīzākus datus par sintezēto materiālu. Piemēram, Furjē transformācijas infrasarkanās spektroskopijas (FTIR) metodes, kas ļoti īsā laikā var sniegt ne tikai kvalitatīvu, bet arī kvantitatīvu informāciju par paraugu, kombinējot ar statistiskajām metodēm, ir iespējams iegūt ērtu datu grafisko un vizuālo attēlojumu. Lai gan statistisko metožu izmantošana spektroskopisko datu analīzē pēdējos 20 gados ir pieaugusi vairāk nekā 10 reižu (*Scopus datubāze: 1996. gadā 20 publikācijas, 2016. gadā – 232 par statistisko metožu izmantošanu FTIR spektroskopijā)*, tomēr kalcija fosfātu pētījumos tā ir nepamatoti aizmirsta vai arī spektru nepietiekamā kvalitāte neļauj to izmantot.

Promocijas darbā iegūtie rezultāti pamato datu daudzfaktoru analīzes augsto potenciālu gan kalcija fosfātu izgatavošanas, gan pētīšanas procesā, jo ļauj daudz detalizētāk analizēt iegūtos datus un paredzēt materiāla fizikāli ķīmiskās īpašības.

Šajā darbā izmantota inovatīva FTIR konsoles tipa fotoakustiskās spektroskopijas (PAS) metode, kas pirmo reizi ir izmantota gan kalcija fosfātu, gan baktēriju spektroskopiskajiem pētījumiem. Firmas *GASERA* izstrādātie un patentētie konsoles tipa fotoakustiskie detektori tiek izmantoti pilnīgi jaunu analīžu metožu izstrādei virknē ES finansētu inovatīvu projektu (piemēram, *IRON* (*HORIZON 2020 EU–PROJECT*), *DOGGIE, CUSTUM*).

Promocijas darbam izvirzītais mērķis

Izstrādāt metodes nanoizmēra sintezēta un dabiska hidroksilapatīta analīzei, izmantojot inovatīvas FTIR spektroskopijas un datu statistiskās apstrādes veidus, nodrošinot metodes augstu efektīvitāti un plašu lietojuma iespēju.

Promocijas darbam izvirzītie uzdevumi

a) Veikt sistemātiskus nanostrukturētu kalcija fosfātu FTIR spektroskopiskos un datu daudzdimensiju analīzes izmantošanas pētījumus.
b) Novērtēt žāvēšanas apstākļu ietekmi uz amorfu kalcija fosfātu struktūru, salīdzinot ar FTIR, XRD, DTG iegūtos rezultātus, un dot ieteikumus par optimālu žāvēšanas apstākļu nodrošināšanu amorfas vai sīkkristāliskas vielas sintēzē.
c) Izvērtēt FTIR spektroskopijas metodes izmantošanas priekšrocības, kalcija fosfātu kristāliskuma pakāpes un struktūras (piemēram, PO_4^{3-}, A, B veida CO_3^{2-} A, B veida) vienlaikus kontrolei.
d) Izvērtēt FTIR PAS metodes izmantošanas potenciālu ķīmiska vai fizikāla procesa kinētiskajai kontrolei, vielas piesārņojuma kontrolei, virsmas un mikroparaugu un bioloģiskās aktivitātes pētījumiem.

Aizstāvamās tēzes

FTIR metode ir efektīva nanoizmēra kalcija fosfātu sintēzes rezultāta kontroles metode, kas nodrošina vispusīgu materiāla raksturojumu, sniedzot jaunas pētniecības un procesa kontroles iespējas.

FTIR spektroskopiskās metodes kopā ar datu statistiskās analīzes metodēm nodrošina augstefektīvu datu apstrādi un automatizācijas iespējas.

FTIR PAS nodrošina jaunas nedestruktīvas iespējas presēta/formēta vai 3D drukāta nanoizmēra kalcija fosfāta virsmas pētījumiem, kas nav iespējamas ar iepriekš izmantotājām FTIR paraugošanas metodēm (ATR, DRIFT, KBr).

Promocijas darba zinātniskā nozīmība un novitāte

Izstrādātais FTIR spektroskopisko datu apstrādes modelis nodrošina efektīvu datu apstrādi, aizstājot citas fizikāli ķīmiskās metodes un nodrošinot plašākas informācijas iegūšanu īsākā analīžu veikšanas laikā.

Pirmo reizi izstrādāta FTIR PAS metode, kas ļauj vienlaikus pētīt gan kalcija fosfāta virsmu, gan mikrobioloģiskos paraugus uz tās.

Pirmo reizi sistemātiski un kompleksi pētītas un izvērtētas sakarības starp dažādu FTIR metožu nanoizmēra kalcija fosfātu spektriem ar dažādu kristāliskuma pakāpi, iekļaujot pētījumos inovatīvo konsoles tipa FTIR PAS.

Pirmo reizi, balstoties uz FTIR un XRD spektriem kalcija fosfātiem ar dažādu kristāliskuma pakāpi, izstrādāts statistisks galveno komponentu (PCA) modelis, kas ļauj novērtēt nezināma CaP kristāliskuma pakāpi un daļiņu lielumu.

Pirmo reizi kalcija fosfātu kristāliskuma pakāpes noteikšanai (indeksam) ir piedāvāta optimizēta metode, papildinot esošo metodi ar FTIR spektra absorbcijas joslu dekonvolūciju.

Promocijas darba praktiskā nozīmība

Pētījumos iegūtie rezultāti nodrošina iespēju vispusīgi un izmaksefektīvi kontrolēt amorfa un sīkkristāliska HAP sintēzes procesu, kontrolēt sintēzes rezultāta atbilstību izvirzītajiem mērķiem, nosakot vienlaikus iegūtā materiāla kristāliskuma pakāpi, piesārņojumu ar sintēzes un žāvēšanas procesa izejvielām, izvairoties no laikietilpīgiem analīžu posmiem vai dārgām papildu iekārtām. Piedāvātā metodika samazina kontroles izmaksas un sniedz plašu informāciju par nanoizmēra kalcija fosfātu kvalitatīviem parametriem. Darba rezultātā iegūtie dati pierāda PAS FTIR jaunās iespējas, nodrošinot plašākas pētniecības iespējas.

Darba aprobācija

Promocijas darba zinātniskie sasniegumi un galvenie rezultāti atspoguļoti septiņās pilna teksta zinātniskās publikācijās, par tiem ziņots 17 starptautiskās zinātniskās konferencēs (18 recenzētas zinātniskās konferenču tēzes).

Publikāciju saraksts

1. Brangule, A., Skadiņš, I., Reinis, A., Kroiča, J., Gross, K., *In vitro* characterization perspectives using Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy (FTIR PAS), *Key Engineering Materials*, **2017,** Vol. 758, pp. 273–277. Doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.758.273, (**Scopus**).
2. Brangule, A., Avotiņa, A., Zariņš, A., Haļitovs, M., Gross, K., Ķizāne, G. Thermokinetic investigation of the drying conditions on amorphous calcium phosphate, *Key Engineering Materials*, **2017,** Vol. 758, pp. 204–209. Doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.758.204, (**Scopus**).
3. Brangule, A., Gross, K., Stepanova V. Cantilever–enhanced photoacoustic spectroscopy applied in the research of natural and synthetic calcium phosphate. *IOP Conf. Ser.: Journal of Physics.,* **2017***,* Vol. 829, (**Scopus**).
4. Brangule, A., Gross, K., Skadiņš, I., Reinis, A., Kroiča, J. Simultaneous Identification of Amorphous Calcium Phosphate and *S.epidermidis* Bacteria by Photoacoustic Spectroscopy. *Key Engineering Materials*, **2016**, Vol. 720, pp. 125–129. Doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.720.125, (**Scopus**).
5. Brangule, A., Gross, K., Importance of FTIR spectra deconvolution for the analysis of amorphous calcium phosphates. *IOP Conf. Ser.: Materials Science and Engineering,* **2015**, 77(1). Doi:10.1088/1757–899X/77/1/012027, (**Scopus**).
6. Brangule, A., Gross, K., Effect on drying conditions on amorphous calcium phosphate. *Key Engineering Materials*, **2015**, Vol. 631, pp. 99–103. Doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.631.99, (**Scopus**).
7. Brangule, A., Gross, K., Komarovska, L., Viksna, A. Exploring zinc apatites through different synthesis routes. *Key Engineering Materials*, **2014**, 587, pp. 171–176. Doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.587.171, (**Scopus**).

Dalība konferencēs

Presentations at International Conferences with Published Abstracts

1. Brangule, A., Avotiņa, A., Zariņš, A., Haļitovs, M., Gross, K., Ķizāne, G. Thermokinetic investigation of the drying conditions on amorphous calcium phosphate, *29th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 29).* France, Tuluza, 25–27 October, **2017**.
2. Brangule, A., Skadiņš, I., Reinis, A., Kroiča, J., Gross, K., *In vitro* characterization perspectives using Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy (FTIR PAS), *29th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 29).* France, Tuluza, 25–27 October, **2017**.
3. Brangule, A., Gross, K. Application of FTIR spectroscopy to the control of nanosized calcium phosphate synthesis, International Conference Nanotechnology and Innovation in the Baltic Sea Region, Lithuania, Kaunas, 14–16 June, **2017**.
4. Brangule, A., Gross, K. FTIR spektru apstrādes metodes un hemometrijas izmantošana kalcija fosfātu pētniecībā, 75th Annual Conference of the University of Latvia, 9 February, Latvia, Riga, **2017**.
5. Brangule, A., Gross, K., Stepanova, V. Cantilever–enhanced photoacoustic spectroscopy applied in the research of natural and synthetic calcium phosphate

Applied Nanotechnology and Nanoscience International Conference (ANNIC 2016), Spain, Barcelona, 9–11 November, **2016**.

6. Brangule, A., Gross, K., How Statistical Methods Guide the Selection of FTIR Methods Chemistry and Chemical Technology 2016, International conference of Lithuanin Society of Chemistry, Lithuania, Vilnius, 28–29 April, **2016**.
7. Brangule, A., Gross, K., Ūbele, D. A Measure of Crystallinity in Nanosized Calcium Phosphate, *Riga Technical University 57th International Scientific Conference*, Latvia, Riga, 21 October, **2016**.
8. Brangule, A., Gross, K., Skadiņš I., Reinis, A., Kroiča, J. Simultaneous Identification of Amorphous Calcium Phosphate and *S.epidermidis* Bacteria by Photoacoustic Spectroscopy, *28th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 28).* USA, North Caroline, Charlotte, 18–21 October, 2016.
9. Brangule, A., Gross, K., Spectroscopic characterization of natural calcium phosphates by FTIR–DRIFT**,** *8th Annual meeting of the Scandinavian Society for Biomaterials*, Latvia, Sigulda, 6–8 May, **2015**.
10. Brangule, A., Gross, K., Characterization of Calcium Phosphates with Photoacoustic Spectroscopy*, Riga Technical University 56th International Scientific Conference*, Latvia, Riga, 14–17 October, **2015**.
11. Brangule, A., Zariņa, G. Importance of FTIR Spectra Deconvolution in Characterization of Bones and Synthesized Bone Materials. *3rd Baltic Bioarchaeology Meeting*. Latvia, Riga, 15–16 April, **2014.**
12. Brangule, A., Gross, K., Effect on drying conditions on amorphous calcium phosphate. *26th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 26)***,** Spain, Barcelona, 6–8 November, **2014**.
13. Brangule, A., Gross, K., Importance of FTIR Spectra Deconvolution in Amorphous Calcium Phosphate Analysis, *Joint International Symposium RCBJSF – 2014 – FM&NT*, Latvia, Riga, 29 September – 2 October, **2014**.
14. Brangule, A., Gross, K., Advantages of FTIR–DRIFT sampling in calcium phosphate research, *Ecobalt 2014*, Latvia, Riga, 8–10 October, **2014**.
15. Brangule, A., Gross, K., Ūbele, D., Comparison of FTIR methods for analyzing calcium phosphates, *Riga Technical University 55th International Scientific Conference*, Latvia, Riga, 14–17 October, **2014**.
16. Gross, K.A., Brangule, A., Komarovska, L., Viksna, A. Exploring zinc incorporation in apatite for orthopedics and dentistry *(Standing report). 18th International scientific conference EcoBalt 2013,* Lithuania, Vilnius, 25–27 October, **2013**.
17. Brangule, A., Gross, K., Komarovska, L., Viksna, A. Exploring zinc apatites through different synthesis routes. *25th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 25)***,** Romania, Bucharest, 7–10 November, **2013**.

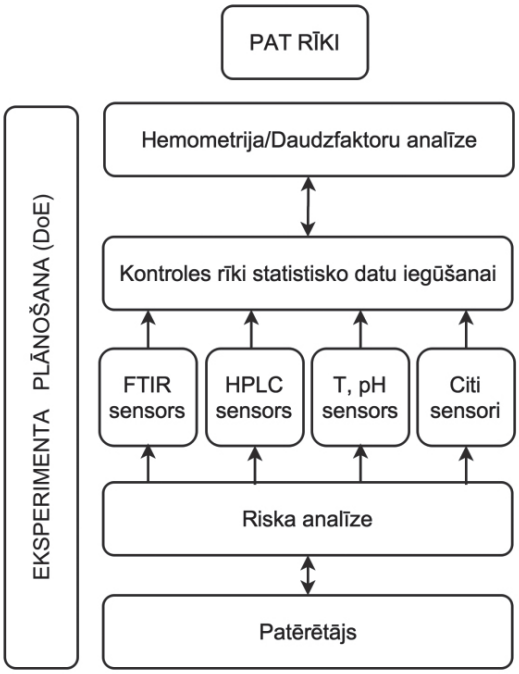
LITERATŪRAS APSKATS

Mūsdienīgs ražošanas process. Attīstoties tehnoloģijām un komunikācijai, mainās ne tikai pats tehnoloģiskais process un iespējas, bet mainās arī komunikācija starp ražotāju un patērētāju. Mūsdienīgs ražošanas process nosaka, ka:

1. ražotājam (piedāvājumam) ir jāparedz patērētāja (pieprasījuma) vajadzības;
2. kvalitāte ir galvenais parametrs, kas nosaka panākumus tirgū un veido komunikāciju starp piegādātāju un patērētāju [1].

21. gs. ražošanas procesa pamatā ir uz pierādījumiem balstīta kvalitātes kontrole ne tikai pašās procesa beigās, bet tā ir integrēta produktos, projektējot kvalitāti ražošanas procesā (QbD). Procesa analītiskā tehnoloģija (PAT) ir tehnoloģija, kas nodrošina projektētās kvalitātes (QbD) "tulkošanu" reālajā ražošanas procesā [2].

PAT tehnoloģija nav ierobežota tikai vienas iekārtas lietošanā [3]. Šī tehnoloģija aptver dažādu "rīku" kopumu, piemēram, daudzdimensiju statistiskā analīze datu vākšanai apstrādei un vizualizēšanai, produktu kvalitātes novērtēšanai, nepārtrauktai ražošanas procesa uzlabošanai un zināšanu pārvaldīšanai (1. att.).



1. att. PAT moduļu sistēma, izveidota pēc [3].

Viens no būtiskiem "rīkiem" procesu pētīšanai tiešsaistē (*on–line*), ir:

a) spektroskopiskās metodes jeb sensori materiāla vai vielas raksturošanai;
b) viedsensori, kas mēra ražošanas parametrus.

Šo sensoru sniegtā informācija tiek izmantota matemātisko modeļu veidošanai. Tas ir pierādījums, ka ražošanas procesa kvalitāti nosaka ne tikai mūsdienīgas iekārtas, bet arī matemātiskie modeļi un algoritmi [4]. Tomēr, lai šādu sistēmu varētu pārvaldīt ne tikai

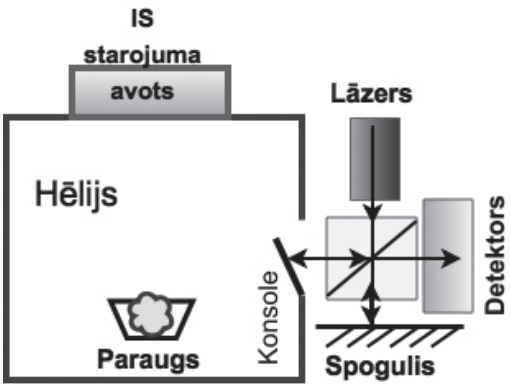
šauras nozares speciālisti, bet arī ražotāji, procesa analītiskajai kontrolei (PAT) ir jāatbilst šādām prasībām: lietotājam draudzīga saskare; standartizēta dokumentācija un izsekojamība; bezīpašumtiesību risinājums; standartizēta saskare; nenozīmīgs matricas efekts un ārējā ietekme; atbilstoša precizitāte; pielāgojama aktīvu pārvaldības funkcionalitāte; atbilstība drošības (sprādzienbīstamības, darba u. c.) prasībām; noturība (robustums) un industriālā lietojamība; zemas lietošanas izmaksas; pieejamība un ilglaicīga stabilitāte [5].

Furjē trasnsformācijas infrasarkanās (FTIR) spektroskopijas metožu izmantošanas iespējas. Kalcija fosfātu pētīšanā un raksturošanā izmanto dažādas metodes, piemēram, FTIR, XRD, Ramana u. c. metode, kas tiek plaši lietota kalcija fosfātu pētīšanā jau kopš 20. gs. 60. gadiem [6, 7]. Šī metode lietojama gan kvalitatīvas, gan kvantitatīvas analīzes veikšanai [8].

Visbiežāk minētās FTIR metodes priekšrocības tieši kalcija fosfātu pētniecībā ir: metode ir jutīga un nedestruktīva vai tikai nedaudz sabojā paraugu; nav nepieciešama paraugu sagatavošana vai tā ir minimāla; mērīšanai nepieciešami nelieli parauga daudzumi [9]. Šajā darbā tika izvērtētas vairākas FTIR paraugošanas metodes, pievēršot vislielāko vērību tieši FTIR PAS un FTIR DRIFT izmantošanai. Abu metožu priekšrocības: nav nepieciešama paraugu sagatavošana; nepiesārņo paraugu; nepieciešami nelieli parauga daudzumi; augsta jutība; ar PAS metodi iespējams mērīt arī virsmu.

Fotoakustiskā spektroskopija (PAS). Fotoakustiskās spektroskopijas pamatā ir fotoakustiskais efekts, ko 1880. gadā atklāja zinātnieks A. G. Bells: ja vielu apstaro ar pulsējošu gaismu, tad viela izstaro akustiskus viļņus, kuriem piemīt tāda pati frekvence kā pulsējošajai gaismai. Turpmākajos eksperimentos viņš pievienoja dzirdes cauruli un fiksēja skaņas [10]. A. G. Bella sākotnējie darbi radīja zinātniekos interesi, un p***ētnieki, piemēram, Rentgens, Tindals un Prīss*** veicināja agrīno pētījumus fotoakustiskās spektroskopijas jomā.

Šajā darbā izmantota inovatīvā konsoles tipa PAS. 2003. gadā J. Kaupinena grupas izgudrotā silikona konsole aizstāja mazāk jutīgo mikrofona membrānu (2. att.). Turklāt konsoles kustību radās iespēja nolasīt gan ar optisko staru novirzi, gan interferometru. J. Kaupinena grupa izvēlējās interferometrisko nolasījumu, jo tas piedāvāja lielāku dinamisko diapazonu [11].



2. att. PAS ar konsoles veida detektoru principiālā shēma. Autores attēls.

Kalcija fosfātu biomateriāli. Atdarinot dabu, ir iespējams izstrādāt un sintezēt kauliem vai audiem līdzīgus materiālus. Šie viedie materiāli var tikt izmantoti, lai izstrādātu inovatīvus trešās paaudzes biomateriālus [12]. Biomateriāli jeb bioloģiski saderīgi materiāli galvenokārt ir biomimētiskie materiāli, kas spēj ne tikai mijiedarboties ar biomateriāliem (piemēram, audiem, kauliem), bet arī atdarināt vai pat uzlabot to funkcijas [13]. Zīdītāju kaulu un zobu struktūra bieži tiek pielīdzināta apatītu struktūrai, ko pierāda, izmantojot minerāla hidroksilapatīta difraktogrammas un analizējot apatītā kalcija un fosfora attiecības [14]. Kā idealizētu kaulu un zobu neorganiskā sastāva modeli pieņemts uzskatīt stehiometrisku kalcija hidroksilapatītu (HAp), $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ [7]. Pētījumos ir uzsvērts, ka dabiskais un sintētiskais apatīts tomēr būtiski atšķiras no idealizētā HAp modeļa ne tikai pēc struktūras, sastāva, sakārtotības pakāpes un daļiņu lieluma, bet arī pēc fizikālajām un ķīmiskajām īpašībām [15]. Tāpēc šajā darbā kā kaulu neorganiskā sastāva modelis galvenokārt tiks apskatīts amorfais kalcija fosfāts (ACP) un karbonātjonus saturošie ACP un HAp savienojumi, kas pēc sastāva un īpašībām ir līdzīgāki kaula neorganiskajai daļai nekā tīrs hidroksilapatīts.

Sintezējot un ražojot kalcija fosfātus, žāvēšana ir tikpat svarīga ražošanas procesa sastāvdaļa kā sintēze, jo žāvēšana ietekmē filtrēto daļiņu izmēru, kristāliskuma pakāpi, sastāvu, struktūru un fāzu tīrību. Visbiežāk piedāvātie žāvēšanas apstākļi ir liofilizācija (–50 °C, vakuums, 48–72 h) [16], kā arī žāvēšana gaisā dažādās temperatūrās, piemēram, istabas temperatūrā [17], 70–90 °C 15–24 h [18], 100–150 °C 24–48 h [19] vai nogulšņu skalošana ar organisku šķīdinātāju: spirtu vai acetonu, kam seko žāvēšana >100 °C temperatūrā [20]. Žāvēšanas process arī būtiski ietekmē fizikāli un ķīmiski saistītā ūdens sastāvu kalcija fosfātā. Tāpēc šajā darbā tiks pētīta žāvēšanas procesa ietekme uz amorfu un sīkkristālisku struktūru, izmantojot ne tikai FTIR metodes, bet arī DTG un MS.

Spektru apstrāde un daudzdimensiju statistiskā analīze. FTIR spektroskopija kopā ar daudzdimensiju analīzi paver ļoti plašas iespējas gan kalcija fosfātu pētīšanā, gan *in vitro* pētījumos. Mūsdienās datu apstrādi parasti veic ar datortehniku, izmantojot jau gatavu programmu nodrošinājumu. Darba izpildītāja galvenie uzdevumi ir: 1. izvēlēties pētījumam vispiemērotāko metodi un atbilstošo programmu vai programmas; 2. novērtēt, pareizi izskaidrot un interpretēt iegūtos rezultātus. Būtiska nozīme ir FTIR spektru apstrādei, ko nosacīti var iedalīt divos posmos:

- **spektru pirmapstrāde** (fona korekcija, spektru līdzināšana, normalizācija), kas nepieciešama, lai uzlabotu spektru izskatu un palielinātu iespējas spektru interpretācijai un analīzei;
- **spektru apstrāde** (atvasināšana, dekonvolūcija un Furjē pašdekonvolūcija), kas nepieciešama, lai matemātiski uzlabotu izšķirtspēju, ja iekārtas iespējas ir jau izsmeltas [21].

Daudzdimensiju analīzes galvenie uzdevumi ir:

1. datu aprakstīšana un vispārējas datu matricas struktūras modelēšana;
2. datu diskriminēšana, klasifikācija un grupēšana, lai visus datus iedalītu divās vai vairāk grupās (objekti);
3. regresija un prognozēšana; metode, kas saista divus mainīgos, tos savstarpēji kvantificējot [22].

FTIR spektrus iespējams attēlot datu matricas veidā, kur kolonnas attēlo viļņu garumus (mainīgos), bet rindas attēlo novērojumus (spektrus). Tas nozīmē, ka katru spektru

iespējams attēlot kā skaitļu rindu matricā [23]. Šajā darbā tiks apskatīta daudzdimensiju analīzes nepārraudzīta metode. Tās uzdevums ir meklēt sakarības lielās datu kopās un neuzlabotās datu matricās, nav nepieciešama standartparaugu lietošana [24]. Nepārraudzīto datu apstrādes metodi var izmantot modeļu veidošanai un kā pirmapstrādi pārraudzītai datu analīzei [22]. Nepārraudzītas metodes ir, piemēram, galveno komponentu analīze PCA, hierarhiskā klasteru analīze HCA un Pīrsona korelācijas koeficientu analīze PKK [25].

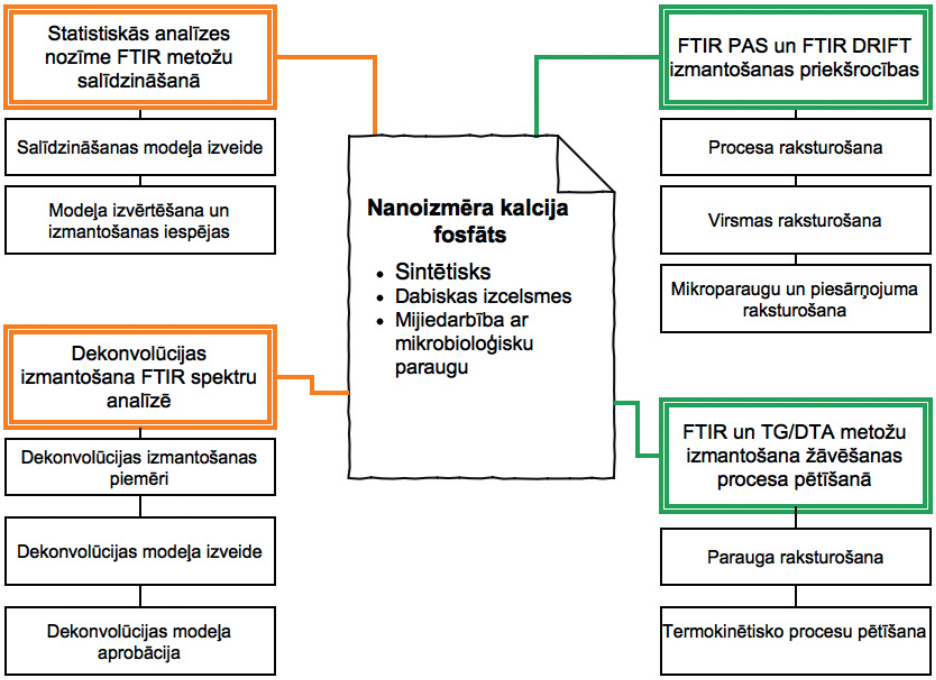
DARBA EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

Promocijas darba shēma parādīta 3. attēlā.

Galvenā pētīšanas metode šajā darbā ir Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija. Sintezēto un dabisko kalcija fosfātu pētīšanai izmantoja četras FTIR paraugošanas metodes: konsoles tipa PAS, DRIFT, ATR un FTIR KBr. Eksperimentālajā daļā tika veikta FTIR metožu izšķirtspējas novērtēšana un validēšana. Tika veikts precizitātes un atkārtojamības tests.

Darbā tika izmantotas arī citas pētīšanas metodes:

- rentgendifraktometrija (XRD), lai spriestu par fāzu kvalitatīvo un kvantitatīvo sastāvu, produkta kristāliskumu un daļiņu izmēru. Rietvelda analīzei izmantoja *Profex3.10.2* programmu;
- termogravimetrija (TG/DTA), ķīmiski un fizikāli saistītā ūdens noteikšanai un vielas sastāva un tīrības noteikšanai;
- skenējošā elektronu mikroskopija (SEM) presēta kalcija fosfāta virsmas analīzei, mikrobioloģiskā parauga analīzei un Ca/P kvantitatīvā sastāva novērtēšanai;
- masspektroskopija sintezētā un dažādos apstākļos žāvētā kalcija fosfāta tīrības, termiskās stabilitātes analīzei un piemaisījumu molmasas noteikšanai.



3. attēls. Promocijas darba shēma.

Par kalcija fosfāta biomateriālu paraugiem izvēlēti šādas vielas un materiāli:

- kā kaulu neorganiskā sastāva modelis ir apskatīts amorfais kalcija fosfāts (ACP) un karbonātjonus saturošie ACP un HAp savienojumi, kas pēc sastāva un īpašībām ir līdzīgāki kaula neorganiskajai daļai nekā tīrs hidroksilapatīts. Paraugi sintezēti ar dažādu kristāliskuma pakāpi (amorfs, sīkkristālisks, kristālisks) un daļiņu izmēru (~1–70 nm);
- mūsdienu un arheoloģiskie cilvēku kauli (mezolītiskais laikmets, neolītiskais laikmets, 15–16. gs.);
- sintētiskais kalcija fosfāts mijiedarbībā ar mikrobioloģisko paraugu – *in vitro* pētījumi.

Sintētisko paraugu iegūšanai izmantota ķīmiskās nogulsnēšanas metode. Darbā tika izmantotas modificētas E. Hajeka (*E. Hayek*) un M. Džarho (*M. Jarcho*) metodes, ko savos darbos vairākkārt ir aprakstījis K. Rejs (*C. Rey*) [16], lai iegūtu amorfus nanoizmēra savienojumus.

FTIR spektru apstrādei un pārvēršanai digitālā formātā tika apkopota informācija par komerciālām un brīvpieejas datorprogrammām. Tika izmēģinātas šādas programmas: *SpekWin32 1.72*, *SpectraGryph 1.06*, *MagicPlot Student 2.5.1*, *Grams/Al*, *Origin 10*, *Simca 14*. Spektru apstrādē tika veikta: fona korekcija; spektra līdzināšana; normalizēšana; Furjē pašdekonvolūcija (FSD); otrais atvasinājums.

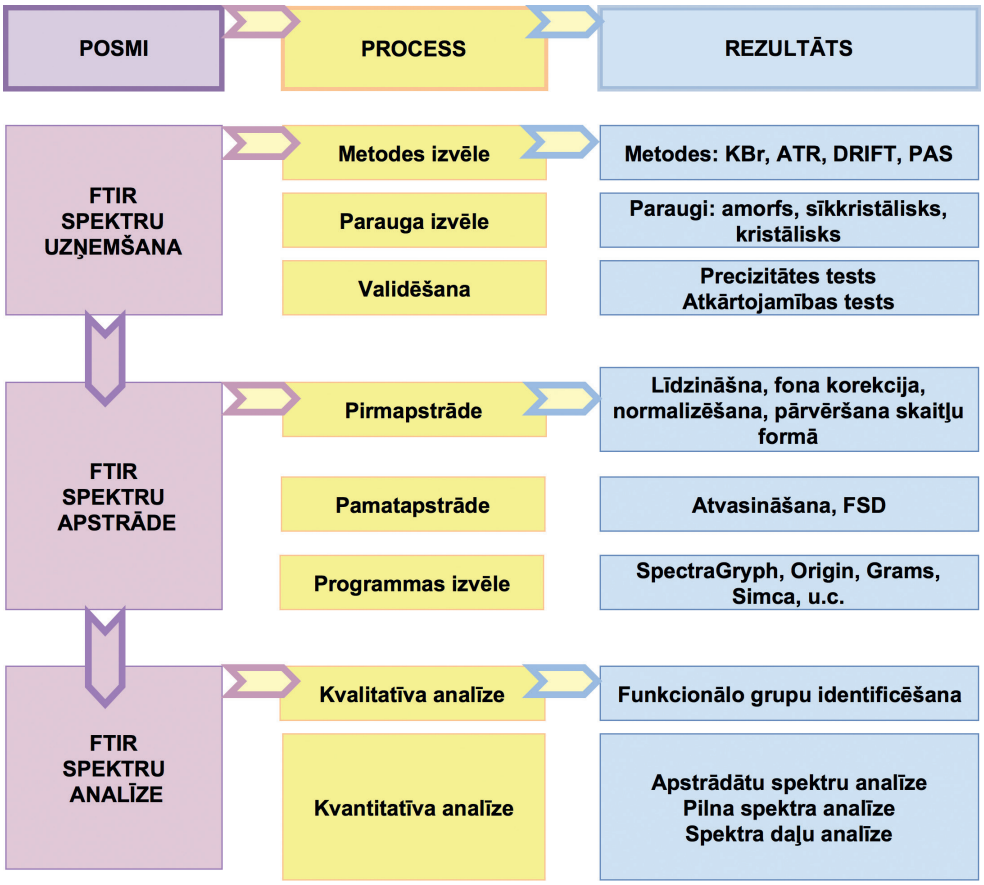
Datu statistiskā analīze tika veikta, izmantojot šādas datorprogrammas: *Origin 10*, *Simca 14, Statistica 10.0*.

REZULTĀTI UN IZVĒRTĒJUMS

1. FTIR metožu salīdzināšanas modeļa izstrāde un aprobācija nanoizmēra kalcija fosfātu pētniecībā

1.1. Modeļa izstrāde dažādu FTIR metožu savstarpējai kvalitatīvai un kvantitatīvai salīdzināšanai

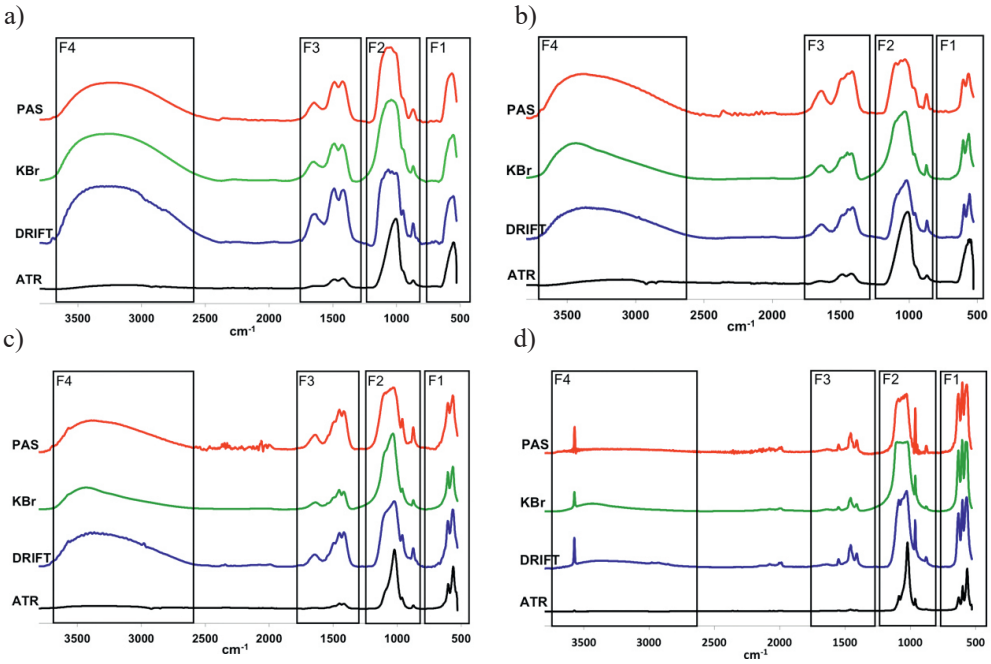
Viens no būtiskiem uzdevumiem bija noskaidrot: vai un kā var salīdzināt FTIR spektrus, kas uzņemti ar četrām dažādām paraugošanas metodēm (PAS, DRIFT, ATR un KBr), ja par paraugiem izmanto karbonātjonus saturošus CP ar dažādu kristāliskuma pakāpi un kristalītu izmēru: P–1 , amorfa pulverveida viela, daļiņu izmērs < 1nm, P–2, sīkkristāliska viela, daļiņu izmērs ~10 nm, P–3, sīkkristāliska viela, daļiņu izmēru ~20 nm, P–4, kristāliska viela, daļiņu izmēru ~70 nm. Pētījuma sākuma posmā tika izstrādāta darba shēma, kas ietver darba gaitu un sagaidāmos rezultātus (4. att.).



4. att. Darba shēma dažāadu FTIR metožu salīdzināšanai.

1.2. FTIR spektru kvalitatīva analīze

Visi uzņemtie spektri sākotnēji tika salīdzināti kvalitatīvi (5. att.).



5. att. FTIR spektri četrām paraugošanas metodēm paraugiem, ar dažādu kristāliskuma pakāpi un izmēru: a) P–1– CCP daļiņu izmērs <1 nm, b) P–2 – CCP daļiņu izmērs ~10 nm, c) P–3 – CCP daļiņu izmērs ~20 nm, d) P–4 – CCP daļiņu izmērs ~70 nm.

ATR metodes spektra uzņemšanas apgabals ir šaurāks nekā citām metodēm, tāpēc turpmāk visas paraugošanas metodes tika salīdzinātas 528–4000 cm^{-1} apgabalā. Gan ATR, gan PAS spektriem 1950–2450 cm^{-1} apgabalā novērojami spektrālie "trokšņi". Tomēr šie "trokšņi" neietekmēja FTIR spektru kvalitatīvo analīzi HAP, jo atrodas ārpus analītiski nozīmīgā apgabala, kurā atrodas funkcionālās grupas. Visi FTIR spektri tika sadalīti un novēroti četros apgabalos (6. att.): *F1_528–700*; *F2_800–1200*; *F3_1350–1800*; *F4_3450–3950*. Galvenie rezultāti apkopti 1. tabulā.

Vizuāli visas četras FTIR paraugošanas metodes spektrus apraksta līdzīgi, tomēr novēro vairākas atšķirības tieši ATR spektros:

1. karbonātjonu apgabalā spektriem ir daudz zemāka absorbcijas intensitāte;
2. sīkkristāliskiem paraugiem nav saskatāmas absorbcijas līnijas OH^- grupas 2450–3950 cm^{-1} spektra apgabalā;
3. kristāliskiem paraugiem ir ļoti vājas absorbcijas līnijas OH^- grupai 2450–3950 cm^{-1} spektra apgabalā;
4. amorfos un sīkkristāliskos paraugos ATR metode uzrāda ļoti vāju H_2O absorbciju ~ 2450–3950 cm^{-1} spektra apgabalā.

ATR spektru atšķirības ir būtiskas kalcija fosfātu spektru interpretācijā. Tās norāda uz metodes vājo jutību attiecīgajos apgabalos. Šī metode nav izmantojama kalcija fosfātu

1. tabula

Kvalitatīva funkcionālo grupu noteikšana ar FTIR paraugiem ar dažādu kristāliskuma pakāpi

Spektra apgabals, cm^{-1}	**Funkcionālās grupas**	**P–1 Amorfs** < 1nm	**P–2 Sīkkristālisks** ~10 nm	**P–3 Sīkkristālisks** ~20 nm	**P–4 Kristālisks** ~70 nm
F1 450–780	$\nu_4\ PO_4^{3-}$	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR
	OH^-	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR
F2 800–1200	$\nu_1, \nu_3\ PO_4^{3-}$ $\nu_2\ CO_3^{2-}$	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR	KBr, DRIFT, PAS, ATR
F3 1350–1800	$\nu_3\ CO_3^{2-}$ A, B, neapatītiskais; OH^-	KBr, DRIFT, PAS, ATR (vāji)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (vāji)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (ļoti vāji)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (ļoti vāji)
F4 ~245 –3950	OH^-	KBr, DRIFT, PAS, ATR (nenovēro)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (nenovēro)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (nenovēro)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (ļoti vāji)
	H_2O	KBr, DRIFT, PAS, ATR (nenovēro)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (nenovēro)	KBr, DRIFT, PAS, ATR (nenovēro)	KBr (vāji), DRIFT (vāji), PAS (vāji), ATR (nenovēro)

kristāliskuma raksturošanai un karbonātjonu kvantitatīvai raksturošanai, jo tas var dot maldīgus secinājumus.

1.3. FTIR spektru kvantitatīva (statistiska) analīze

Kombinējot FTIR metodes ar daudzdimensiju statistisko analīzi, tika iegūti kvantitatīvi dati un secinājumi par spektra apstrādes ietekmi uz iegūtajiem rezultātiem, visi FTIR spektri tika analizēti gan pilnā to garumā *FULL* (528–4000 cm^{-1}), gan sašaurinātos apgabalos: *CUT* (528–700 cm^{-1} ($\nu_4\ PO_4^{3-}$, OH^-), 800–1200 cm^{-1} (ν_1 un $\nu_3\ PO_4^{3-}$, $\nu_2\ CO_3^{2-}$), 1350–1800 cm^{-1} ($\nu_3\ CO_3^{2-}$ A, B, neapatītiskais; OH^-)), gan atsevišķu funkcionālo grupu (*F1, F2, F3, F4*) apgabalos.

Tika izvērtētas dažādas spektru apstrādes metodikas: līdzināšana (L); normalizēšana (N); fona korekcija (F); Furjē pašdekonvolūcijas metode (FSD). Apstrādātajiem spektriem tika lietots otrās kārtas atvasinājums (2DER). Pētījumā salīdzināti apstrādāti spektri ar un bez otrās kārtas atvasinājuma. Paraugi atbilstīgi apstrādes metodēm tika kodēti: *Apstrade_FN, Apstrade_FNL, Apstrade_FNL_FSD, Apstrade_FN_2DER, Apstrade_FNL_2DER, Apstrade_FNL_FSD_2DER.*

Darbā lietotas šādas statistiskās metodes: Pīrsona korelācijas koeficienti (PKK); galveno komponentu analīze (PCA); klasteru analīze (HCA).

PKK aprēķiniem spektri tika salīdzināti pret FTIR KBr, jo tā ir visbiežāk izmantotā metode gan kvalitatīviem, gan kvantitatīviem kalcija fosfātu pētījumiem un tiek uzskatīta par mērījumiem viss atbilstošāko [6, 7]. Visas iegūtās korelācijas ir ticamas, ja $|r| > r_{0,05;24}$.

PCA analīzei vislielākās variances uzrādīja pirmie divi komponenti (PC1 un PC2), tāpēc to variances un kumulatīvā dispersija tiks aplūkotas turpmākajā nodaļā. Visos komponentu aprēķinos metodes ticamības līmenis 95 %. Klasteru veidošanās tika attēlota diagrammās un dendogrammās. Sagatavojot dendrogrammu, izmantots Varda (*Ward*) līdzības princips un Eiklīda attāluma metode.

Pilns spektra apgabals – *FULL* (528–4000 cm^{-1}).

Pīrsona koeficienti. ATR metode uzrāda par 30–40 % zemākas PKK vērtības (0,508 pret DRIFT, 0,642 pret KBr, 0,688 pret PAS) nekā DRIFT vai PAS pret KBr. Korelācijas koeficienti ir < 0,750 ($|r| > r_{0,05;24}$), kas norāda uz vidēju korelāciju. Amorfu paraugu P–1 ATR spektriem Pīrsona koeficienta vērtības ir atkarīgas no spektra apstrādes metodes. Tās ir nedaudz zemākas nekā kristāliskiem paraugiem. Atvasinot spektrus, novēro strauju PKK vērtību kritumu. Piemēram, *Apastrade_FNL_2DER* (< 0,550) un ar *Apastrade_FNL_FSD_2DER* (< 0,300), kas norāda uz ļoti vāju korelāciju, bet paver iespējas paraugu diferencēšanai.

Kristālisku paraugu P–4 ATR spektriem Pīrsona koeficienta vērtība nav atkarīga no spektra apstrādes metodes, jo uzrāda ļoti līdzīgas Pīrsonu korelācijas koeficientu vērtības visām apstrādes metodēm. Pīrsona korelācijas koeficienti ir > 0,750 ($|r| > r_{0,05;24}$), kas norāda uz ciešu korelāciju. Atvasinātiem kristālisku paraugu spektriem arī novēro PKK vērtību kritumu. Tomēr šis kritums ir līdzīgs visām apstrādes metodēm.

Galveno komponentu analīzē PC variances ietekmē spektra apstrādes metode.

Neatvasinātiem apstrādātiem spektriem PC1 variances ir lielākas, nekā ar otrās kārtas atvasinājumu apstrādātiem spektriem. Atvasinātiem spektriem samazinās PC1 variances ietekme, bet palielinās PC2 un katra nākamā PC ietekme; kumulatīvās vērtības PC1 un PC2 summai samazinās, kas norāda uz nākamo galveno komponentu, piemēram, PC3, PC4 ietekmi. Tas paver iespēju līdzīgāku spektru diferencēšanai, jo mazāk tiek ņemta vērā spektra analītiski nenozīmīgā daļa (fons, "trokšņi"). Kopējā kumulatīvā dispersija veidojas 90 %, ja izveido divus galvenos komponentus neatvasinātiem spektriem un atsevišķos gadījumos pat 5–7 komponentus – atvasinātiem spektriem (skat. 2. tabulu).

2. tabula

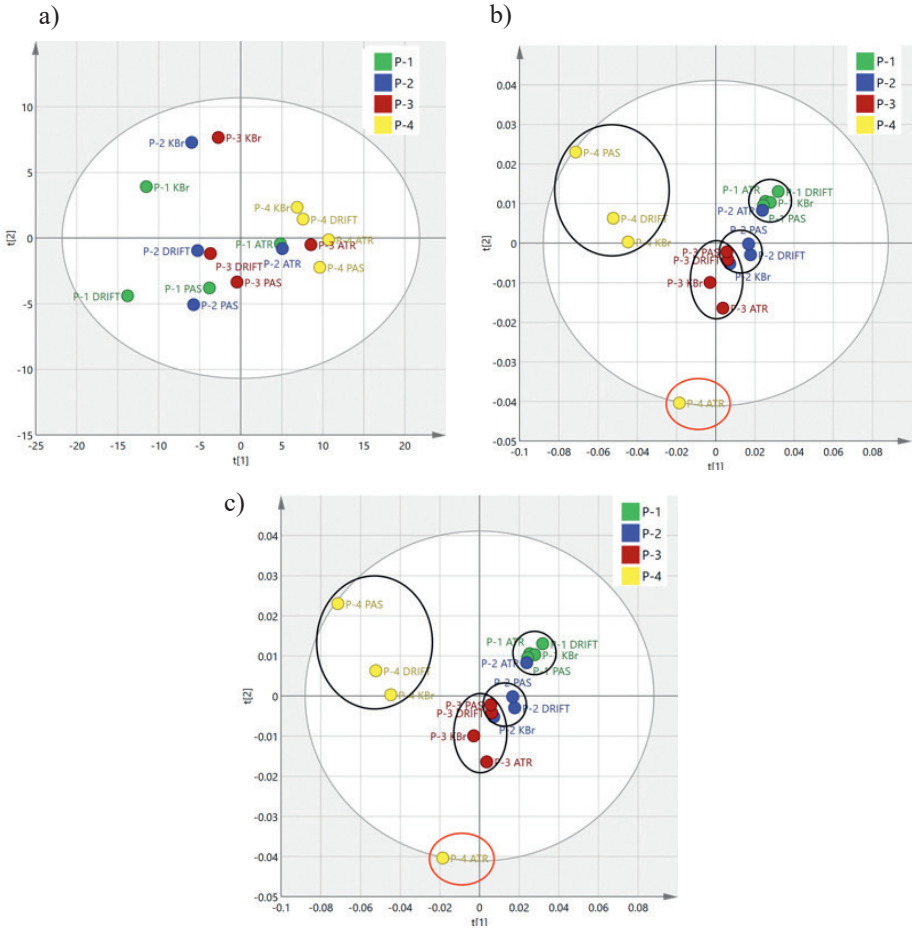
Galveno komponentu variances un kumulatīvā dispersija pēc spektra apstrādes veidiem *FULL* (528–4000 cm^{-1}) apgabalā

Spektru apstrādes veids	PC1 un PC2 variances, %	Kopējā kumulatīvā dispersija, %
Apstrade_FN	PC1(68,4) + PC2 (16,4)	84,8
Apstrade_FNL	PC1(88,8) + PC2 (4,0)	92,9
Apstrade_FNL_FSD	PC1(86,7) + PC2 (5,0)	91,8
Apstrade_FNL_2DER	PC1(58,7) + PC2 (21,0)	79,7
Apstrade_2DER	PC1(50,6) + PC2 (14,4)	65,0
Apstrade_FNL_FSD_2DER	PC1(58,5) + PC2 (12,8)	71,3

* ticamības līmenis 95 %.

Klasteru analīze, izmantojot 2D diagrammas. Izmantotā spektru izlase ir homogēna, klasteru veidošanās iespējamību ietekmē spektra apstrādes metode (6. att.). ATR metodes paraugu novietojums klasteros būtiski atšķiras no pārējo trīs FTIR metožu novietojuma,

bieži atrodas ārpus metodes būtiskuma 95 % robežas vai pievienojas citiem klasteriem, vai veido atsevišķus ATR metodes klasterus. Tas liek secināt, ka klasteru veidošanos neietekmē FTIR metodes izvēle, izņemot gadījumus, kad tiek izvēlēta ATR metode (piemēram, 6. b, c att.). Neatvasinātiem apstrādātiem spektriem neatkarīgi no spektra apstrādes veida nenovēro izteiktu klasteru veidošanos (piemēram, 6. a att.).



6. att. Klasteru veidošanās 4 FTIR metožu apstrādātiem spektriem pilnā spektra apgabalā: atkarībā no apstrādes metodes: a) *Apstrade_FNL*, b) *Apstrade_FNL_2DER,* c) *Apstrade_FNL_FSD_2DER.*

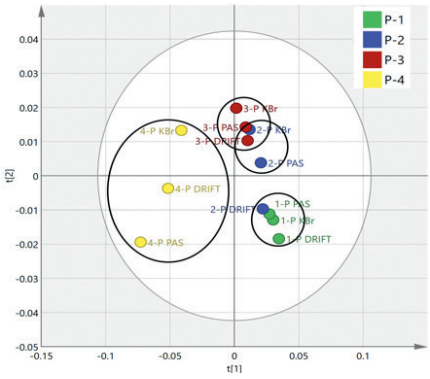
Atvasinātiem spektriem novēro izteiktu 2–3 klasteru veidošanos (skat. 6. b, c att.) atbilstīgi kristalizācijas pakāpei un daļiņu izmēram:

- kristāliskā *P–4* paraugu klasteris veidojas visizteiktāk visos aplūkotajos gadījumos. Tas liek secināt, ka klasteru veidošanā būtiska loma ir kristalizācijas pakāpei un tās ietekme uz spektra formu ir pietiekama, lai to varētu izmantot pētījumiem;
- kopējs sīkkristālisko *P–2* un *P–3* paraugu klasteris. Parauga daļiņu izmērs ir ļoti līdzīgs, tāpēc sadalīt šos paraugus atsevišķos klasteros iespējams tikai tad, ja spektram veic apstrādi *Apstrade_FNL_FSD_2DER* vai statistiskajā analīzē izmanto

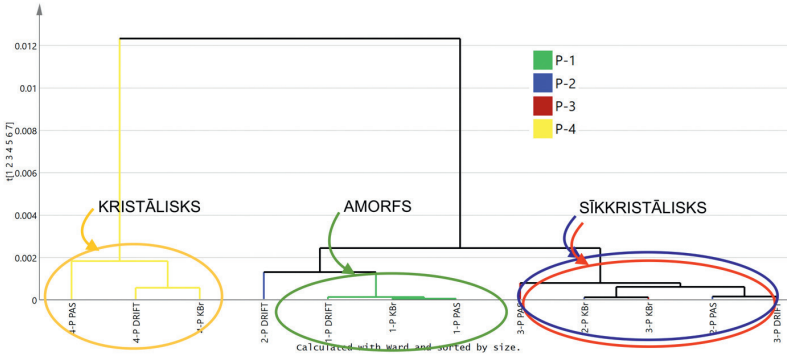
tikai trīs FTIR metožu (KBr, DRIFT un PAS, izslēdzot būtiski atšķirīgo ATR) spektrus vai tikai atsevišķu funkcionālo grupu apgabalus (7. a att.).

Amorfā *P–1* parauga klasteris vairākos gadījumos (piemēram, 6. b, c att.) pārklājas ar sīkkristālisko *P–2* un *P–3* paraugu klasteriem. Tomēr šo klasteri ir iespējams izdalīt, ja spektram veic *Apstrade_FNL_FSD_2DER* un statistiskajā analīzē izmanto tikai trīs FTIR metožu (KBr, DRIFT un PAS) spektrus (7. a att.).

a)



b)



7. att. a) Klasteru veidošanās 3 FTIR metožu apstrādātiem spektriem pilnā spektra apgabalā ar *Apstrade_FNL_FSD_2DER;* b) HCA analīze a) pilnam spektram pilnam spektram trīs FTIR metodes ar *Apstrade_FNL_FSD_2DER.*

Klasteru analīzē, izmantojot dendrogrammas, līdzīgi kā iepriekš aplūkotajās metodēs, visizteiktāk klasteri veidojas apstrādātiem atvasinātiem spektriem (piemēram, 7. att. a). Analīze uzrāda, ka vislielākā ietekme klasteru veidošanā ir nevis FTIR metodes izvēlei, bet gan parauga kristāliskuma pakāpei un daļiņu izmēram. Visprecīzāk to novēro diagrammās bez ATR metodes (piemēram, 7. b att.).

Sašaurinot pētāmos apgabalus, atstājot tikai analītiski nozīmīgos apgabalus, piemēram, **F1 (528–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-), F2 800–1200 cm^{-1} (ν_1 un ν_3 PO_4^{3-}, ν_2 CO_3^{2-}), F3 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais OH^-) iegūst šādu informāciju:**

Pīrsona koeficienti. PKK pieaug par ~ 20–30 %. Tas ir > 0,850 ($|r| > r_{0,05;24}$). Korelācija ir ļoti cieša. Visaugstākos korelācijas koeficientus (> 0,920) neatkarīgi no kristalizācijas pakāpes un spektru apstrādes metodes uzrāda karbonātu apgabals: 1350–1800 cm^{-1}

(ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-). Atvasinātiem amorfu paraugu spektriem PKK vērtības samazinās par 40–50 %, bet kristāliskiem tikai par ~ 20 %. Zemās PKK vērtības amorfiem un sīkkristāliskiem paraugiem paver iespējas paraugu diferencēšanai;

Galveno komponentu analīzē novēro būtisku PC1 variances samazināšanos un nākamo komponentu PC2 utt. ietekmes palielināšanos ar otrās kārtas atvasinājumu apstrādātiem spektriem (skat. 3. tabulu).

3. tabula

Galveno komponentu variances un kumulatīvā dispersija pēc spektra apstrādes veidiem F3_1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-) apgabalā

Spektru apstrādes veids	PC1 un PC2 variances, %	Kopējā kumulatīvā dispersija, %
Apstrade_FN	PC1(93,1) + PC2 (4,8)	97,9
Apstrade_FNL	PC1(97,1) + PC2 (14,5)	98,6
Apstrade_FNL_FSD	PC1(96,6) + PC2 (14,7)	98,0
Apstrade_FN_2DER	PC1(55,6) + PC2 (21,8)	77,4
Apstrade_2DER	PC1(46,8) + PC2 (21,2)	67,9
Apstrade_FNL_FSD_2DER	PC1(50,7) + PC2 (22,3)	73,0

* ticamības līmenis 95 %.

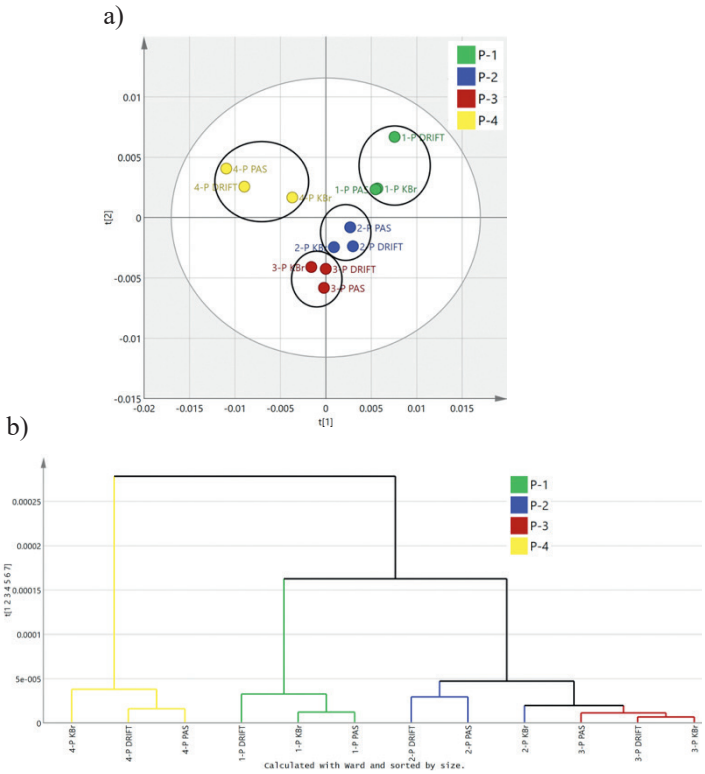
Klasteru analīzes 2D diagramma un dendrogramma trim FTIR metodēm pierāda (8. a un b att.), ka galvenā ietekme klasteru veidošanā ir tieši daļiņu izmēram un kristāliskuma pakāpei:

a) amorfiem un sīkkristāliskiem paraugiem spektra apstrādes metodei ir liela nozīme paraugu diferencēšanā. Vislabāk var diferencēt ar otrās kārtas atvasinājumu apstrādātus spektrus;
b) jo lielāka ir parauga kristāliskuma pakāpe, jo līdzīgāki ir visu četru metožu spektri un jo mazāk rezultātus ietekmē spektru apstrādes metodes.

Secinājumi

1. Pīrsona koeficienti, galveno komponentu analīze un klasteru analīze apstiprina rezultātus, kas iegūti, kvalitatīvi analizējot četrus FTIR paraugošanas metožu spektrus paraugiem ar dažādu kristāliskuma pakāpi;
2. ATR metodes PKK vērtības un novietojums klasteros būtiski atšķiras no pārējām FTIR metodēm;
3. FTIR DRIFT, PAS un KBr metodes uzrāda ciešu korelāciju, tāpēc var secināt, ka metodes izvēlei ir neliela ietekme nanoizmēra kalcija fosfātu diferencēšanā;
4. spektru apstrādes metode ietekmē paraugu diferencēšanas iespējas: visizteiktāk klasteri veidojas atvasinot apstrādātus spektrus;
5. visbūtiskāk paraugu diferencēšanu ietekmē to kristalizācijas pakāpe un daļiņu izmērs: visizteiktāk klasteri veidojas, sašaurinot apstrādātu atvasinātu spektra apgabalus līdz funkcionālo grupu apgabaliem.

Pētījumā iegūtā informācija ir izmantojama pētīšanas modeļa veidošanā un nezināmu paraugu diferencēšanā.



8. att. a) 2D diagramma. Klasteru veidošanās trīs FTIR metožu apstrādātiem spektriem: *F3 apgabalā 1350–1800 ar Apstrade_FNL_FSD_2DER;* b) klasteru veidošanās trīs FTIR metožu apstrādātiem spektriem: *F3 apgabalā 1350–1800 ar Apstrade_FNL_FSD_2DER.*

Apkopojot iegūto informāciju, tika izveidota shēmas par FTIR metožu izvēli un spektru apstrādi un analīzi, kas parāda galvenos posmus no FTIR spektra uzņemšanas līdz secinājumu izdarīšanai (skat. 1. pielikumu).

1.4. Modeļa izvērtēšana un izmantošanas iespējas

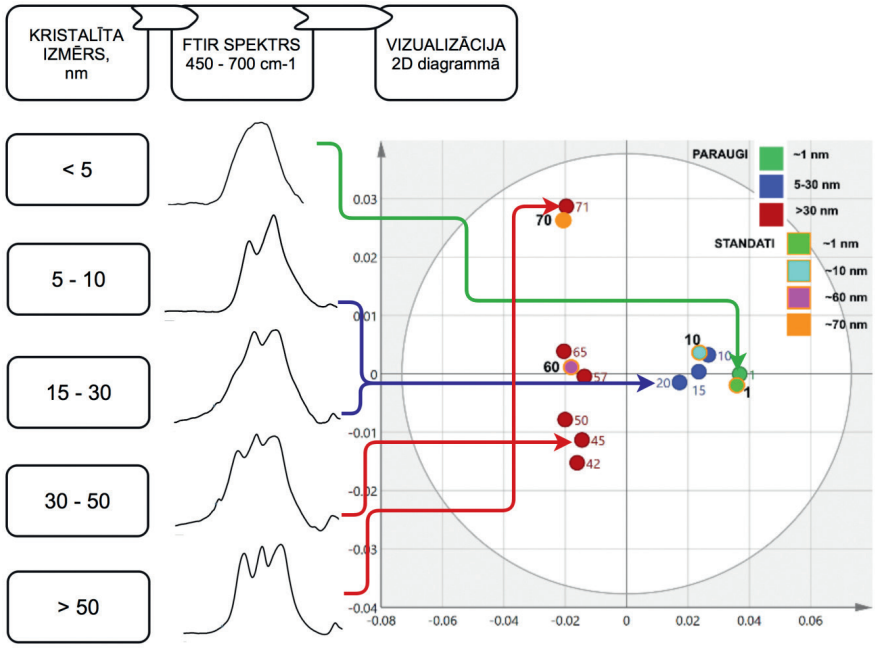
Izstrādātajā modelī, visciešākās korelācijas tika novērotas, klasificējot paraugus pēc vielas kristalizācijas pakāpes un daļiņu izmēra. Tāpēc, aprobējot modeli, tika izvirzīts pieņēmums, ka vizuāla FTIR spektru interpretācija ļauj paredzēt sasniedzamo rezultātu, jo veidojas izteikta sakarība starp spektra vizuālo attēlu 450–750 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-) apgabalā, kristalītu izmēru un datu vizuālo attēlojumu 2D PC1, PC2 diagrammās un klasteru HCA dendrogrammās (9. attēls):

1. amorfiem paraugiem, kuru daļiņu izmērs ir < 5 nm, ir redzams viens plats apsorbcijas maksimums (ν_4 PO_4^{3-}) apgabalā, un tie PC un HCA diagrammās veidos kopēju klasteri;
2. sīkkristāliskiem paraugiem, kuru daļiņu izmērs ir 5–30 nm, ir readzami divi apsorbcijas maksimumi (ν_4 PO_4^{3-}) apgabalā, un tie PC un HCA diagrammās veidos kopēju klasteri;

3. kristāliskiem paraugiem, kuru daļiņu izmērs ir > 30 nm, ir redami trīs apsorbcijas maksimumi (ν_4 PO_4^{3-}) apgabalā, un tie PCA un HCA diagrammās veidos kopēju klasteri.

Modeļa aprobācijai izmantoja kalcija fosfāta standartvielas ar dažādu kristāliskuma pakāpi un daļiņu izmēru: amorfs (~ 1 nm), sīkkristālisks (10 nm) un divi kristāliski paraugi (60 un 70 nm).

- Lai paplašinātu mērījumu skaitu, tika izvēlēti 10 paraugi – nanoizmēra karbonātjonus saturoši kalcija fosfātu pulveri – ar dažādu kristalizācijas pakāpi un daļiņu izmēru.
- Darba metode – FTIR–DRIFT un salīdzināšanai XRD un Rietvelda analīze.
- Spektru apstrādes metode – *Apstrade_FNL_2DER.*

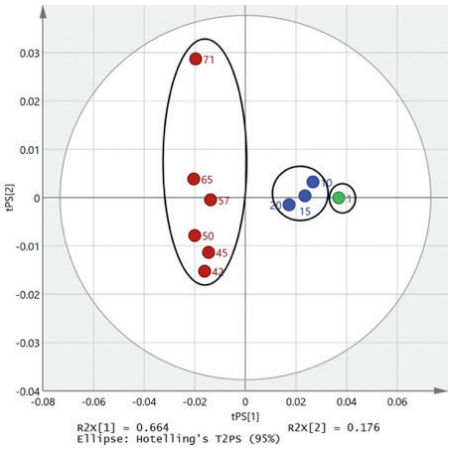


9. att. FTIR vizuālās interpretācijas un statistiskās analīzes sakarības kalcija fosfāta kristāliskuma pakāpes un daļiņu izmēra noteikšanai.

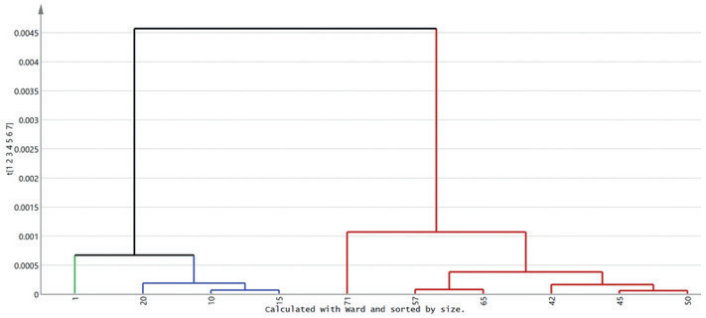
Modeļa analīze. Pieņēmums par paraugu novietojumu klasteros apstiprinājās, jo paraugi izveidoja klasterus ar standartiem iezīmētajās vietās.

Apstrādātiem spektriem pilnā spektra apgabalā veidojas trīs klasteri pēc daļiņu izmēra un kristāliskuma pakāpes (10. a att.). Iegūtos datus apstiprina HCA dendro–gramma (10. b att.), jo redzams, ka veidojas divi krasi atšķirīgi klasteri: viens pilnīgi kristāliskiem paraugiem, bet otrs amorfiem un sīkkristā–liskiem paraugiem, kas savukārt veido divus savstarpēji mazāk atšķirīgus klasterus. Paraugs ar daļiņu izmēru 71 atrodas kopējā klasterī ar paraugiem, kuru daļiņu izmērs ir lielāks par 30 nm. Ir redzams, ka paraugi, kuru daļiņu izmērs ir lielāks vai vienāds ar 70 nm, varētu veidot atsevišķu klasteri, tomēr pētījumi šajā virzienā netika turpināti.

a)



b)



10. att. Modeļa aprobācija pilnā spektra apgabalā paraugiem ar dažādu kristāliskuma pakāpi un daļiņu izmēru: a) 2D diagramma ar PC1 un PC2, b) HCA.

Turpinot modeļa aprobāciju atsevišķos funkcionālo grupu apgabalos, ir redzams, ka klasteri veidojas visos kalcija fosfātam analītiski nozīmīgajos apgabalos: 450–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-), 800–880 (ν_3 CO_3^{2-}), 900–1200 cm^{-1} (ν_1 υ_3 PO_4^{3-}), 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-) (skat. 11. att.).

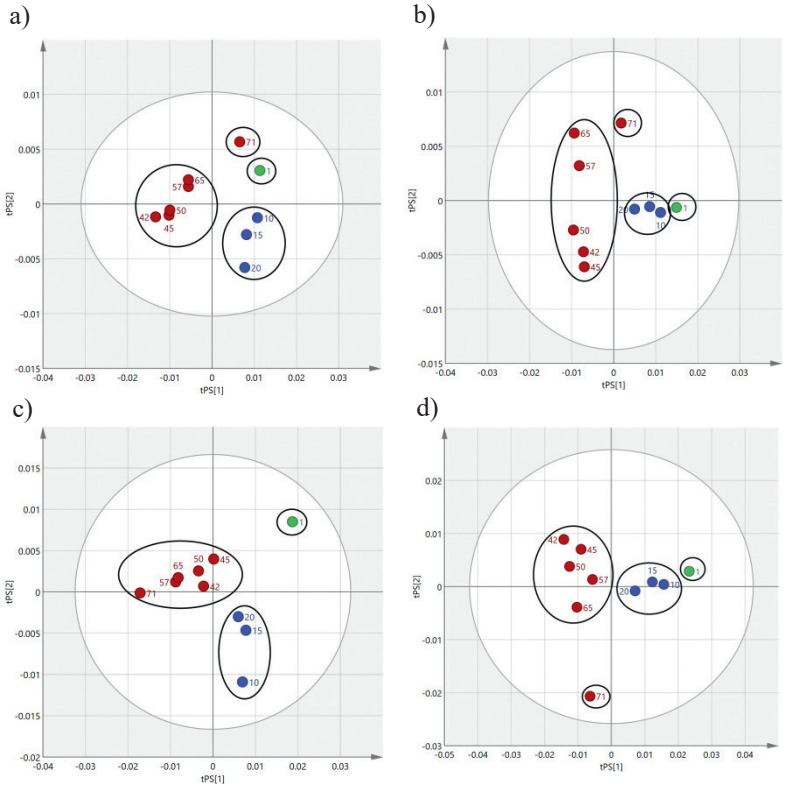
Spriežot pēc 2D diagrammām, visizteiktāk klasteri veidojas F1 450–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-) un F4 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-) apgabalos, kurus arī visbiežāk izmanto, lai secinātu par parauga kristāliskuma pakāpi un sastāvu.

F1 450–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-) un F3 900–1200 cm^{-1} (ν_1 ν_3 PO_4^{3-}) apgabalu dendrogrammās var novērot, ka paraugi, kas > 70 nm, var veidot atsevišķu klasteri. Tāpat funkcionālo grupu dendrogrammās var novērot, ka iespējams diferencēt amorfus un sīkkristāliskus paraugus (skat. 11. att.).

Secinājumi

Modeļa aprobācija apstiprina, ka izstrādāto modeli, kas ietver parauga izvēli ar dažādu kristāliskuma pakāpi, izmēru līdz 100 nm un spektra apstrādes metodi ar otrās kārtas atvasinājumu, var sekmīgi izmantot:

1. aptuvenai kristalītu izmēru un kristalizācijas pakāpes (amorfs, sīkkristālisks, kristālisks) novērtēšanai paraugā, neizmantojot XRD un Rietvelda metodes;



11. att. Klasteru veidošanās atsevišķās funkcionālajās grupās: a) 800–880 (ν_3 CO_3^{2-}), b) 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-), c) 450–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-), d) 900–1200 cm^{-1} (ν_1 ν_3 PO_4^{3-}).

2. pēc vizuālā attēla FTIR spektra apgabalā 450–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-) ir iespējams prognozēt parauga novietojumu klasterī un kristalītu parametrus (izmēru un kristāliskuma pakāpi);
3. PC un HCA analīze palīdz apstiprināt vai noliegt pieņēmumus un izvērtēt faktoru ietekmi uz klasteru veidošanos.

2. Termokinētiskie nanoizmēra kalcija fosfāta pētījumi

Lai vielu pakļautu temperatūras ietekmei, ir jāgūst informācija par tās termisko stabilitāti. Ražošanas procesā kalcija fosfātus termiskai apstrādei pakļauj vairākkārt: žāvējot, kalcinējot un saķepinot. Temperatūras ietekmē kalcija fosfātiem var mainīties gan to fāzes, gan kristāliskuma pakāpe, gan daļiņu izmērs. Tāpat temperatūras ietekmē karbonātjonus saturošiem amorfajiem kalcija fosfātiem pārmaiņas novēro šādos FTIR spektra apgabalos: 400–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-), 800–950 cm^{-1} (ν_2 CO_3^{2-}), 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-) un 3450–3950 cm^{-1} (H_2O; OH^-).

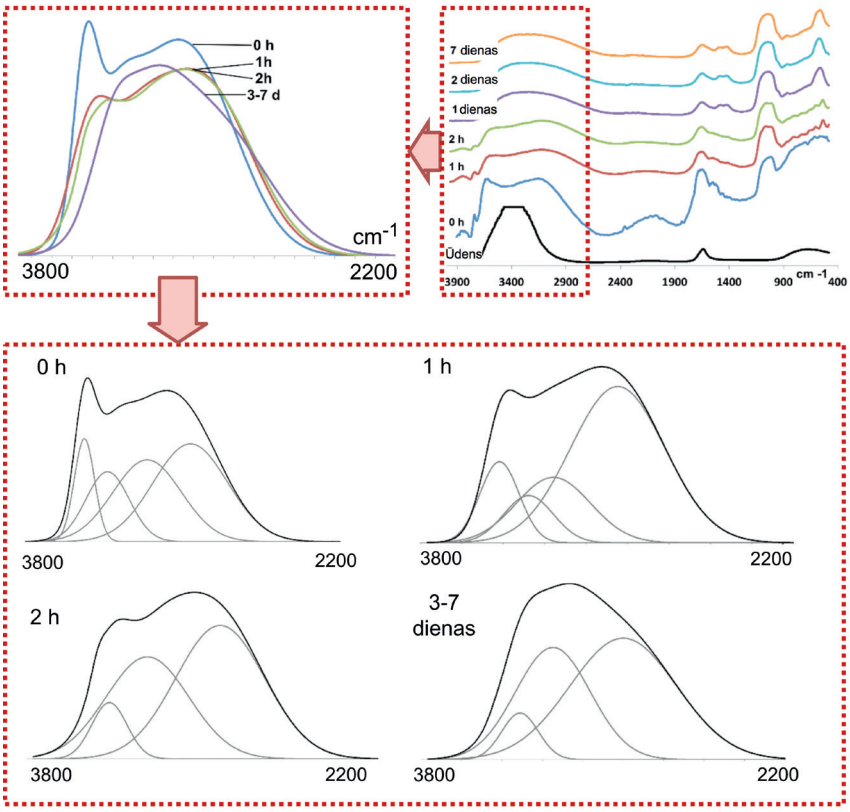
2.1. Žāvēšanas procesa kontroles optimizācija

Galvenais uzdevums bija izpētīt gan amorfās fāzes stabilitāti, gan fizikāli un ķīmiski saistītā ūdens maiņu žāvēšanas procesā. Procesa pētīšanai tika izmantotas FTIR DRIFT, FTIR PAS un DTA/TG metodes.

Vispirms tika pētīts tikko nofiltrēta ACP žūšanas process, izmantojot FTIR spektroskopiju. FTIR spektroskopija ļauj novērot O–H saites vibrācijas, kas ir atkarīgas no ūdeņražsaites stipruma, garuma, mērīšanas temperatūras, u.c. faktoriem.

Uzņemot FTIR PAS spektrus filtrētajām nogulsnēm (skat. 12. att.), jau pirmajās stundās ir redzamas būtiskas izmaiņas FTIR spektrā. Pirmajās stundās galvenās izmaiņas notiek 3450–3950 cm^{-1} (H_2O; OH^-) un 1640 cm^{-1} spektra daļās un tikai pēc 24 h, spektrā var novērot apatītam raksturīgo 400–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-) un 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais) pīķu veidošanos.

Detalizētāku informāciju par ūdens un OH grupu izmaiņām var iegūt, dekonvulējot spektra apgabalu 2200–3800 cm^{-1}. Salīdzinot dotos apgabalus, ir redzama formas maiņa laikā (skat. 12. att.).



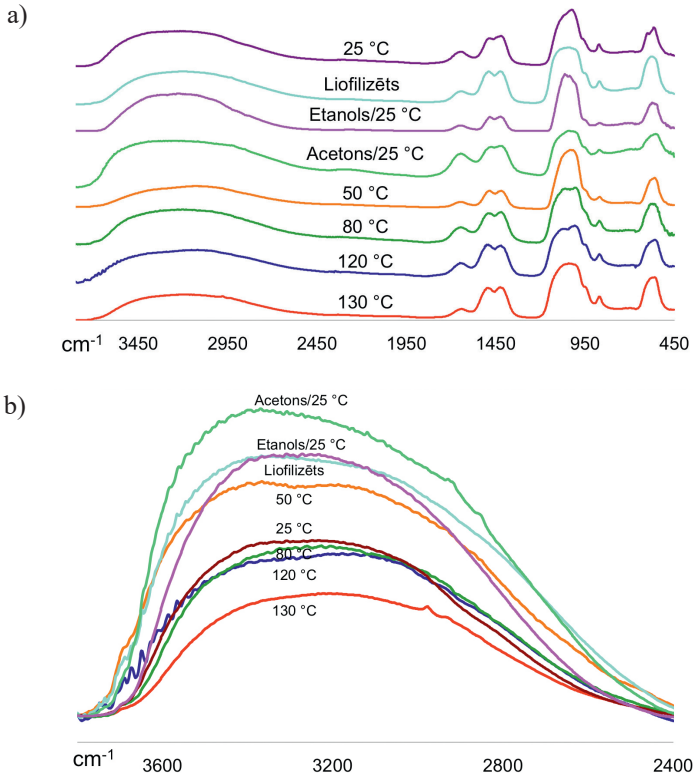
12. att. CACP žāvēšanas kinētika, žāvējot gaisā.

* Kinētikas mērīšanai izmantoti FTIR PAS metode.

Dekonvulējot var noskaidrot, ka sākotnēji ir redzami četri ūdenim raksturīgie apsorbcijas maksimumi pie 3020, 3272, 3488 un 3622 cm^{-1}, kas laika gaitā "pārbīdās", saplūst un veido amorfam kalcija fosfātam raksturīgās H_2O/OH absorbcijas līnijas (12. att.). Ātrās izmaiņas FTIR spektrā norāda, ka sākotnēji liels daudzums ūdens ir tikai fizikāli sorbēts uz virsmas un nav nepieciešama liela enerģija tā aizvadīšanai.

Šajā darbā tika pētīti karbonātjonus saturoši ACP, kas žāvēti dažādos apstākļos: liofilizēts, 25 °C, 50 °C, 80 °C, etanols/25 °C, acetons/25 °C, 120 °C un 130 °C un pēc žāvēšanas vēl saglabā amorfu vai sīkkristālisku struktūru.

FTIR PAS spektros 2400–4000 cm^{-1} apgabalā var novērot absorbcijas intensitāšu samazināšanos atkarībā no žāvēšanas temperatūras. Novēro sakarību – jo augstāka ir žāvēšanas temperatūra, jo zemāka ir saišu intensitāte. Atšķirīgas intensitātes novēro arī gaisā žāvētiem paraugiem – ja paraugs pirms žāvēšanas ir skalots ar organisku šķīdinātāju (etanolu vai acetonu), tad intensitātes ir augstākas nekā parastam gaisā žāvētam paraugam. Novērotās izmaiņas ir saistītas ar fizikāli un saistītā ūdens desorbciju žāvēšanas procesā (skat. 13. att.).



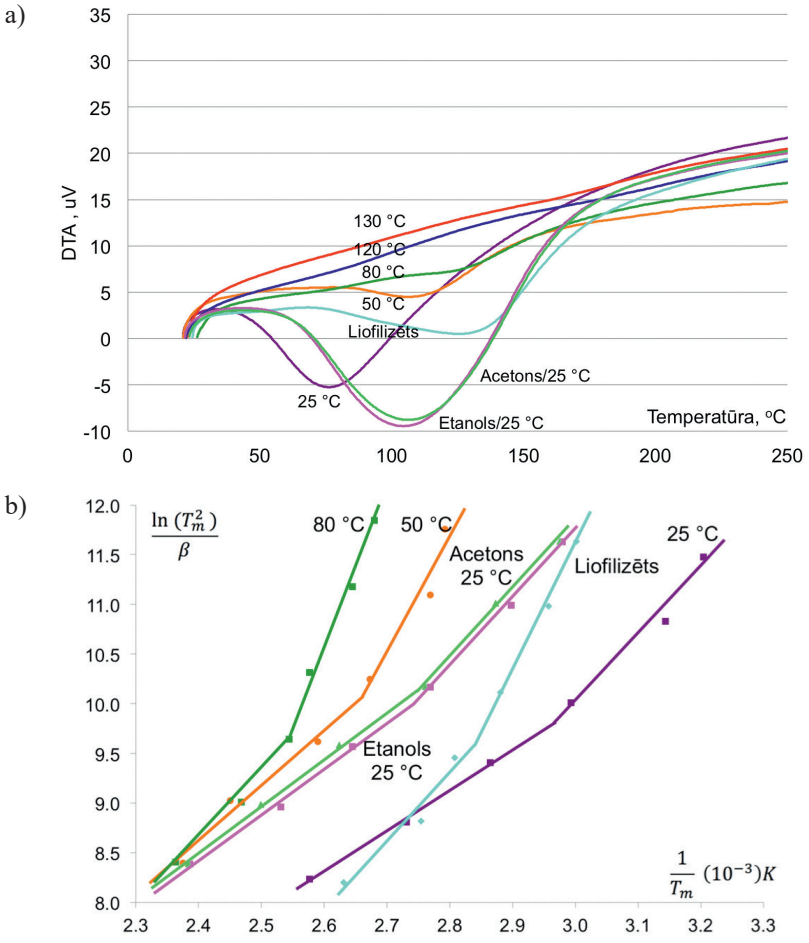
13. att. Žāvētu CACP FTIR DRIFT spektri: a) pilnā spectra apgabalā; b) 3800–2000 cm^{-1} apgabalā.

Pētījumā par galveno metodi tika izvēlēta TG/DTA metode, jo FTIR un XRD metodes tomēr nespēja atbildēt uz šādiem jautājumiem.

1. Vai ir kādas būtiskas atšķirības starp dažādi žāvētajiem amorfajiem paraugiem?

2. Kādos žāvēšanas apstākļos CACP zaudē fizikāli saistīto ūdeni, bet vēl saglabā ķīmiski saistīto ūdeni?

Aplūkojot dažādos apstākļos žāvēto paraugu termogrammas 25 °C–1000 °C intervālā, visiem paraugiem ir redzams viens eksotermisks pīķis un viens endotermisks pīķis. Turpmākajā darbā tiks aplūkots tikai endotermiskais pīķis, jo tas ir saistīts ar galveno ūdens zudumu kalcija fosfāta paraugos (14. a att.).



14. att. Kalcija fosfāta DTA: a) endotermiskie pīķi dažādi žāvētiem paraugiem. Karsēšanas ātrums abos attēlos 10 °C/min; b) Amorfa kalcija fosfāta Arēniusa līknes, kur β ir karsēšanas ātrums, bet Tm ir minimālā temperatūra, kas noteikta DTA endotermiskās līknes minimumā.

Temperatūras intervālā no 25 °C–150 °C paraugiem, kas žāvēti 25 °C, 50 °C, 80 °C, etanols/25 °C, acetons/25 °C endotermiskais pīķis ir izteikts, liofilizētam paraugam – vājāk izteikts. Bet 120 °C un 130 °C endotermisko praktiski nenovēro, izņemot 120 °C paraugam pie karsēšanas ātruma 40 °C/min. DTA termogrammās dažādi žāvētiem paraugiem pie vienāda TG uzņemšanas ātruma 10 °C/min. novēro atšķirīgas temperatūras endotermiskā

pīķa minimumā. Piemēram, 25 °C (T_{min} = 71 ± 4 °C), 50 °C (T_{min} = 105 ± 5 °C), 80 °C (T_{min} = 122 ± 5 °C), etanols/25 °C (T_{min} = 103 ± 5 °C), acetons/25 °C (T_{min} = 105 ± 5 °C).

Fizikāli un ķīmiski sorbētā ūdens analīzei tika aprēķinātas aktivācijas enerģijas un kritiskās temperatūras pēc Ozavas–Flinna–Valla (*Ozawa–Flynn–Wall*) un Kisindžera metodes (*Kissinger*) un uzzīmēti Arēniusa grafiki (14. b att.). Katrs grafiks sastāv no divām taisnēm (apakšējā – fizikāli sorbētā ūdens gradients, augšējā – ķīmiski sorbētā ūdens gradients), kas krustojas pārliekuma punktā. Pārliekuma punktā var noteikt kritisko temperatūru, kad ir izdalījies fizikāli sorbētais ūdens un sāk izdalīties ķīmiski sorbētais ūdens.

Lai gan visiem pētītajiem paraugiem vizuāli FTIR spektri un difraktogrammas ir ļoti līdzīgas, tomēr aprēķini uzrāda paraugiem atšķirīgas aktivācijas enerģijas kritiskās temperatūras, fizikāli un ķīmiski saistītā ūdens izdalīšanai (4. tabula).

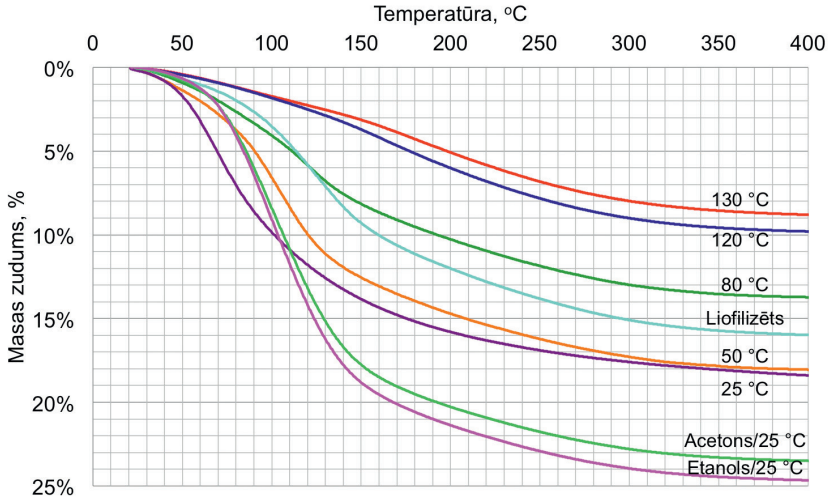
Gaisā žāvētiem paraugiem (gan parasti žāvētiem, gan ar šķīdinātāju apstrādātiem) T_{krit} un E_a uzrāda zemākas vērtības nekā liofilizētiem un 50–80 °C temperatūrā apstrādātiem paraugiem, kas liecina par šo paraugu lielāku stabilitāti turpmākā uzglabāšanas procesā (4. tabula).

4. tabula

Amorfu žāvētu paraugu kritiskās temperatūras un aktivācijas enerģijas

Parametri	Gaiss	Liofilizācija	50 °C	80 °C	Etanols/ gaiss	Acetons/ gaiss
T_{krit}, °C	64 ± 3	86 ± 4	103 ± 4	124 ± 5	91 ± 4	84 ± 5
E_a (fiz), kJ/mol	34 ± 1	59 ± 2	49 ± 2	57 ± 2	38 ± 1	41 ± 1
E_a(ķīm) kJ/mol	54 ± 2	100 ± 4	92 ± 4	120 ± 5	57 ± 2	57 ± 2

Analizējot TG līknes, paraugi uzrāda atšķirīgus masas zudumus karsēšanas procesa beigās –1200 °C. Atšķirības masas zudumā var novērot jau pašā karsēšanas procesa sākumā (15. att.).



15. att. TG līknes dažādi žāvētiem amorfiem kalcija fosfātiem

Galvenās atšķirības visiem paraugiem masas zudumā novēro pirms un pēc T_{krit} (skat. 5. tabula). Līdz 200 °C vislielākais masas zudums ir ar organisko šķīdinātāju apstrādātiem paraugiem. To varētu skaidrot ar šķīdinātāja piesārņojumu ne tikai uz parauga virsmas, bet arī struktūrā, un ar hidrofīlo šķīdinātāju tieksmi veidot aceotropus maisījumus, kas karsēšanas procesā izdalās augstākās temperatūrās, nekā tās ir pašiem šķīdinātājiem.

Šķīdinātāju klātbūtnes pierādīšanai tika izmantota masspektrometrija. Masspektri uzskatāmi parādīja (16. att.), ka, žāvējot paraugu istabas temperatūrā, nav iespējams atbrīvoties no organiskiem šķīdinātājiem – etanola un acetona.

Visi pētītie paraugi uzrāda līdzīgus masas zudumus temperatūrā 200–650 °C, ko varētu skaidrot ar to, ka visos pētītajos paraugos ir palicis tikai ķīmiski sorbētais ūdens un pamata struktūra visos paraugos ir līdzīga. Atšķirības masas zudumā pēc 650 °C var skaidrot ar atšķirīgo karbonātjonu novietojumu kalcija fosfāta struktūrā. Par karbonātjonu novietojumu struktūrā temperatūras ietekmē aprakstīts nākamajā darba nodaļā.

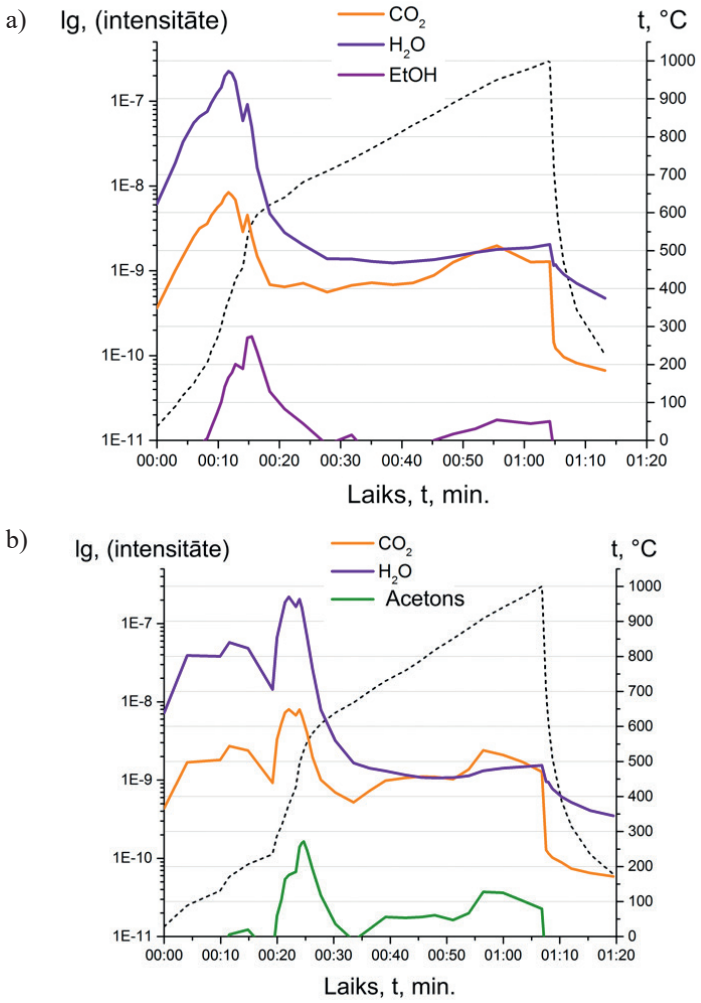
5. tabula

Amorfu žāvētu paraugu masas zudums dažādās temperatūrās

Parametri	Gaiss	Liofilizācija	50 °C	80 °C	Etanols/gaiss	Acetons/gaiss	120 °C	130 °C
Δm %, T_{krit}	1,5 ± 0,2	2,6 ± 0,3	7,1 ± 0,4	6,2 ± 0,4	8,0 ± 0,4	4,7 ± 0,3	3,2 ± 0,3	2,4 ± 0,3
Δm %, $T_{krit–200}$	9,6 ± 0,5	6,7 ± 0,4	8,2 ± 0,4	4,3 ± 0,3	14,0 ± 0,6	15,7 ± 0,7	4,4 ± 0,3	2,6 ± 0,3
Δm %, $T_{200–600}$	4,1 ± 0,3	4,6 ± 0,3	5,0 ± 0,3	4,7 ± 0,3	5,7 ± 0,3	5,4 ± 0,3	5,4 ± 0,3	5,0 ± 0,3
Δm %, $T_{600–650}$	0,2 ± 0,05	0,2 ± 0,05	0,3 ± 0,05	0,2 ± 0,05	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
Δm %, $T_{650–1000}$	3,4 ± 0,3	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1	2,1 ± 0,2	1,6 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,2
Δm %, $T_{20–1000}$	17,6 ± 0,9	14,3 ± 0,7	19,8 ± 1,0	15,3 ± 0,8	27,3 ± 1,3	25,6 ± 1,3	14,7 ± 0,8	11,9 ± 0,6

Secinājumi

1. Vielu žāvēšanas tehnoloģijai ir kritiska ietekme uz vielas uzbūvi un mitruma pakāpi.
2. Organisko šķīdinātāju izmantošana vielu žāvēšanas procesā nav vēlama, jo tādā veidā šķīdinātāji tiek iesaistīti struktūrā un var ietekmēt to izmantošanu biomedicīniskiem mērķiem.
3. Ūdens izdalīšanās no paraugiem ir novērojama līdz pat 600 °C, kas norāda uz tā ciešo saistīšanos vielas struktūrā.
4. CO_2 un H_2O izdalīšanos novēro visā žāvēšanas procesā, pat līdz 600 °C, kas norāda uz izmaiņām vielas struktūrā nevis vienkāršu mitruma zudumu, kā tika iepriekš uzskatīts, ka H_2O un CO_2 izdalīšanās ir secīgs process.

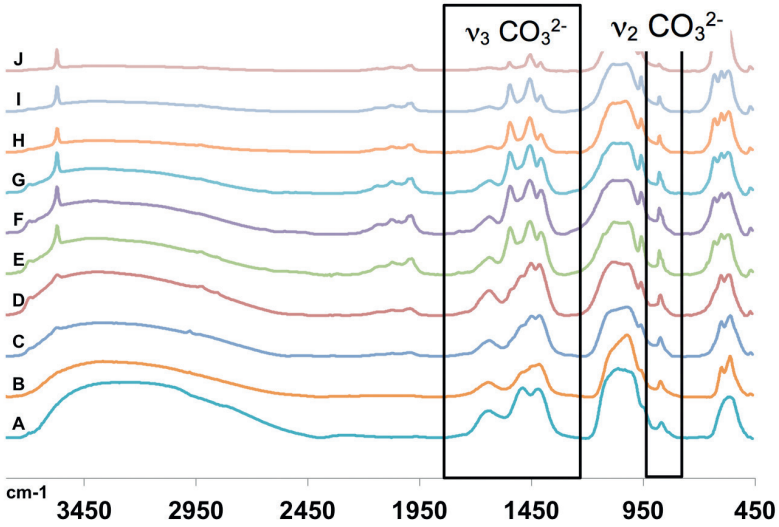


16. att. Masspektri: a) ar etanolu un b) acetonu mazgātiem paraugiem.

2.2. Karbonātjonu sastāva maiņa temperatūras ietekmē

Karbonātjonu apgabals tiek pētīts tāpēc, ka temperatūras ietekmē var mainīties to sastāvs un novietojums kalcija fosfāta struktūrā: A veida CO_3^{2-}, B veida CO_3^{2-} vai neapatītisks CO_3^{2-} (skat. 6. tabulu). Pētījuma mērķis: izmantojot dekonvolūciju, izanalizēt, kā mainās karbonātjonu novietojums struktūrā žāvēšanas un kalcinēšanas procesā.

Šajā nodaļā tika pētīti FTIR DRIFT spektru karbonātjonu apgabali, skat. 17. attēlu: 800–950 cm^{-1} (ν_2 CO_3^{2-}) un 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-). Pētījumam tika izraudzīti paraugi ar dažādu kristāliskuma pakāpi, daļiņu izmēru un karbonātjonu sastāvu, kas iegūts, žāvējot un karsējot paraugus dažādos apstākļos. Visus paraugus pēc XRD un Rietvelda analīzes iedalīja trīs grupās: amorfs (paraugs A), sīkkristālisks (B–D) un kristālisks (E–J).



17. att. FTIR DRIFT spektrs karbonātjonu sastāva maiņa temperatūras ietekmē pilnā apgabalā, kur A – liofilizēts, B – 80 °C/4h, C – 200 °C, D – 300 °C, E – 700 °C/10 min, F – 700 °C/30min, G – 700 °C/50 min, H – 800 °C/20 min, I – 800 °C/40 min, J – 900 °C/20min.

Pētījumā no FTIR spektriem pilnā to apgabalā vizuāli tika noteikta karbonātjonu klātbūtne un aptuveni novērtēta to A un B karbonātu struktūra. Tas bija iespējams, jo tika izmantotas literatūrā norādītās funkcionālās grupas [7,17]. Lai gan FTIR spektrā karbonātjonu smailes pārklājas, tomēr var secināt, ka B smaiļu maksimumi dominē pie zemākām cm^{-1} vērtībām, bet A smaiļu apgabali – pie augstākām cm^{-1} vērtībām (17. att.). Izteikts B karbonātu sastāvs ir redzams amorfiem paraugiem un dominē sīkkristāliskiem paraugiem, bet A karbonātu sastāvs – pilnībā kristāliskiem paraugiem.

Detalizētas informācijas iegūšanai tika izmantota dekonvolūcijas metode.

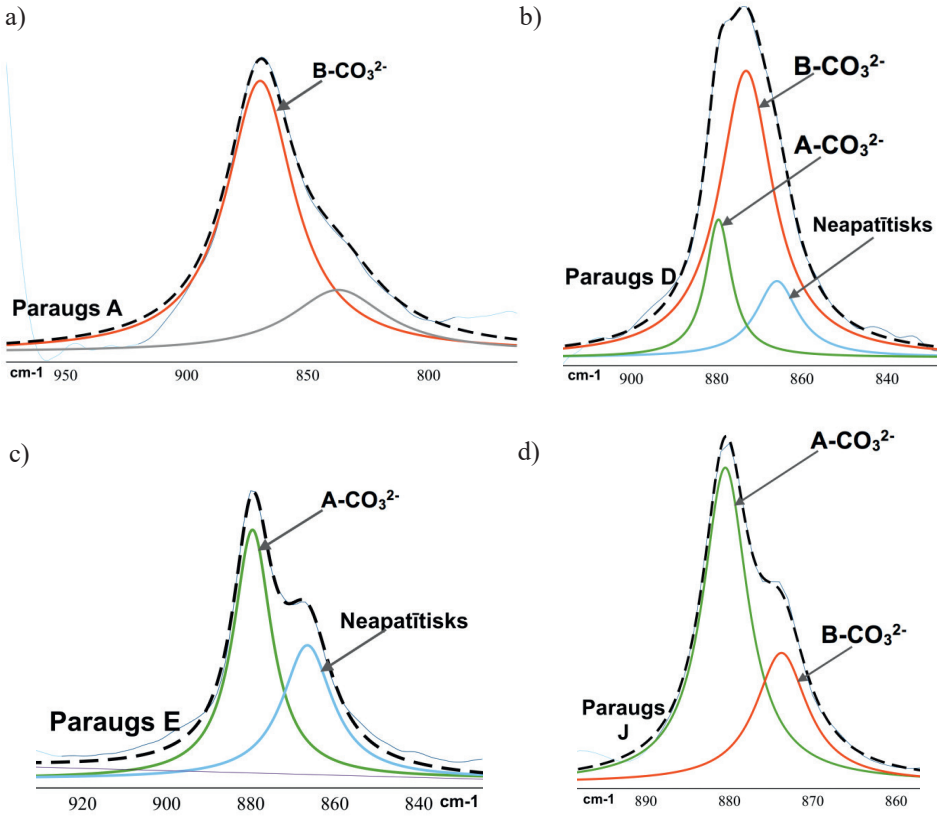
ν_2 CO_3^{2-} apgabala dekonvolūcija_uzskatāmi parāda, ka:

- amorfā paraugā ir raksturīgas B–CO_3^{2-} vibrācijas (18. att. paraugs A);
- sīkkristāliskos paraugos (18. att. paraugs D) karbonātu sastāvs var būt ļoti dažāds, pat visas trīs karbonātjonu veidi (B–CO_3^{2-}, A–CO_3^{2-} un neapatītisks);
- kristāliskos paraugos (18. att. paraugs J) karbonātu sastāvā dominē A–CO_3^{2-} karbonātu veids, bet var konstatēt arī B–CO_3^{2-} klātbūtni. Piemēram, dekonvulējot paraugu E, var novērot izteiktu A karbonātu absorbcijas maksimumu un secināt, kāds ir minimālais laiks un temperatūra, lai veidotos izteikts A–karbonātu apgabals. Bet, dekonvulējot paraugu J (18. att.), var secināt, ka karsēšanas apstākļi 900 °C 20 min. nav pietiekami, lai pilnībā B–CO_3^{2-} struktūru aizvietotu ar A–CO_3^{2-} struktūru.

Dekonvolūcija sniedz iespēju izsekot, vai karsēšanas procesā ir sasniegta vēlamā parauga struktūra. Dekonvolūcija ν_2 CO_3^{2-} apgabalā uzskatāmi apkopota 19. attēlā.

ν_3 CO_3^{2-} apgabala dekonvolūcija uzskatāmi parāda, ka:

- amorfā paraugā ir raksturīgas B–CO_3^{2-} vibrācijas (19. att. paraugs A);
- sīkkristāliskos paraugos (19. att. paraugi B un D) karbonātu sastāvs var būt ļoti dažāds, piemēram, B–CO_3^{2-} vai pat divi veidi (B–CO_3^{2-}, neapatītisks). Dekonvolūcija



18. att. ν_2 CO_3 saišu apgabals (800–920 cm^{-1}): paraugs A – liofilizēts; paraugs B – 80 °C/4h; paraugs D – 300 °C;
paraugs E – 700 °C/10 min; paraugs J – 900 °C/20 min.

* Dekonvulēšanai tika izmantotas tikai Lorenca līknes. Dekonvolūcija tika veikta, izmantojot brīvpieejas programmu *MagicPlot Student.*

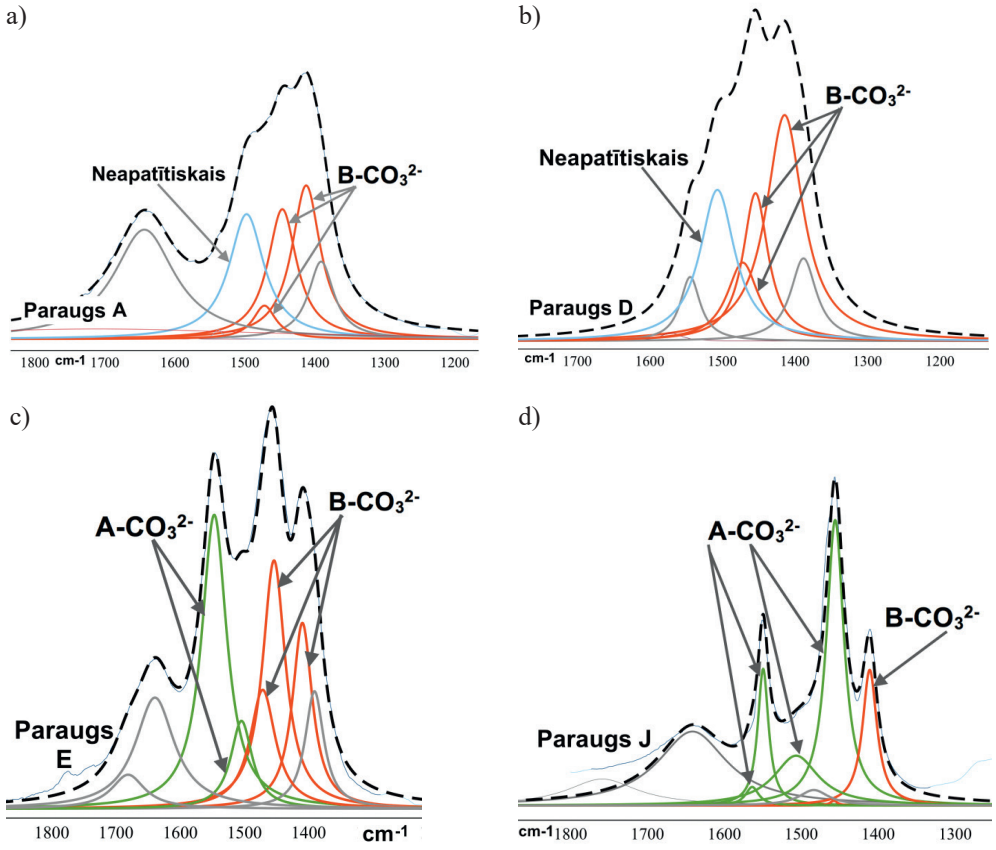
sniedz iespēju izsekot karbonātu veida maiņai pat salīdzinoši nelielos temperatūras intervālos;

- kristāliskos paraugos (19. att. paraugs J) karbonātu sastāvā dominē A–CO_3^{2-} karbonātu veids, bet var konstatēt arī B–CO_3^{2-} klātbūtni. Karbonātu veida maiņu no B–CO_3^{2-} uz A–CO_3^{2-} var konstatēt pat paraugos, kas karsēti pat salīdzinoši neilgu laiku, piemēram, paraugā E, kas karsēts 700 °C tikai 10 minūtes, var konstatēt gan A, gan B karbonātu klātbūtni.

Dekonvolūcija ν_3 CO_3^{2-} apgabalā uzskatāmi apkopota 19. attēlā.

Metodiski ieteikumi dekonvolūcijai

Pētījuma rezultātā tika izveidoti metodiski ieteikumi FTIR spektru dekonvolūcijai karbonātjonu apgabalā, kas plašāk apskatīta promocijas darba pilnajā tekstā.



19. att. ν_3 CO_3 saišu apgabals (1350–1800 cm^{-1}): paraugs A – liofilizēts, paraugs B – 80 °C/4h, paraugs D – 300 °C, paraugs E – 700 °C/10min, paraugs J – 900 °C/20min.

* Dekonvulēšanai tika izmantotas tikai Lorenca līknes. Dekonvolūcija tika veikta, izmantojot brīvpieejas programmu *MagicPlot Student.*

Secinājumi

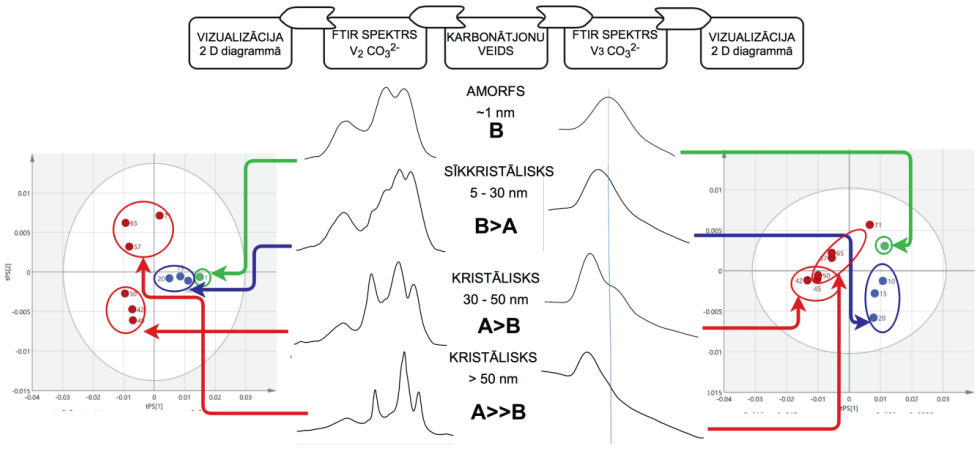
Dekonvulējot spektrus, gan ν_2 CO_3^{2-}, gan ν_3 CO_3^{2-} apgabalā tika formulēti šādi secinājumi:

1. karbonātu sastāvs un struktūra ir atkarīga no temperatūras un karsēšanas laika;
2. karsējot ir iespējams mainīt karbonātu veidu parauga struktūrā: no B–CO_3 veida uz A–CO_3^{2-} veidu;
3. spektrā abos karbonātu apgabalos ν_2 CO_3^{2-}, ν_3 CO_3^{2-} karbonātu sastāvs ir līdzīgs:
   a) amorfiem paraugiem dominē B–CO_3 struktūra (18. un 19. att. paraugs A);
   b) sīkkristāliskiem paraugiem karbonātu veids ir atkarīga no temperatūras. Struktūrā var būt gan tikai B–CO_3^{2-}, gan vienlaikus abas A–CO_3^{2-} un B–CO_3^{2-} vai pat visas trīs karbonātu struktūras (A, B un neapatītiskā struktūra) (19. un 20. att. B un D paraugi);
   c) kristāliskos paraugos novēro strauju A–CO_3^{2-} apgabala intensitātes palielināšanos un B–CO_3^{2-} apgabala intensitātes samazināšanos;

4. dekonvolūcijas metode dod iespēju izsekot karbonātu struktūras maiņai pat salīdzinoši nelielos temperatūras intervālos – gan kvalitatīvi, gan kvantitatīvi, tāpēc to var izmantot, lai mērķtiecīgi sintezētu paraugus ar izvēlēto karbonātu sastāvu.

Iegūtie rezultāti korelē ar iepriekšējā sadaļā izveidoto FTIR pētīšanas modeli un statistiskās analīzes rezultātiem (9. att.–12.att.).

Pamatojoties uz iepriekš iegūtajiem secinājumiem, tika izveidota shēma (20. att.), kas attēlo FTIR spektra vizuālās interpretācijas un statistiskās analīzes sakarības kalcija fosfātiem ar dažādu daļiņu izmēru, kristāliskuma pakāpi un karbonātu saturu. Izveidotā shēma 20. att. parāda, ka vizuālo attēlu FTIR spektru ν_2 CO_3^{2-}, ν_3 CO_3^{2-} apgabalos ir iespējams saistīt ar parauga novietojumu klasterī, ar kristalizācijas pakāpi (amorfs, sīkkristālisks un kristālisks) un karbonātu veidu struktūrā.



20 att. FTIR vizuālās interpretācijas un statistiskās analīzes sakarības kalcija fosfāta kristāliskuma pakāpes, daļiņu izmēra un karbonātu satura noteikšanai.

3. Dekonvolūcijas modeļa izstrāde un aprobācija

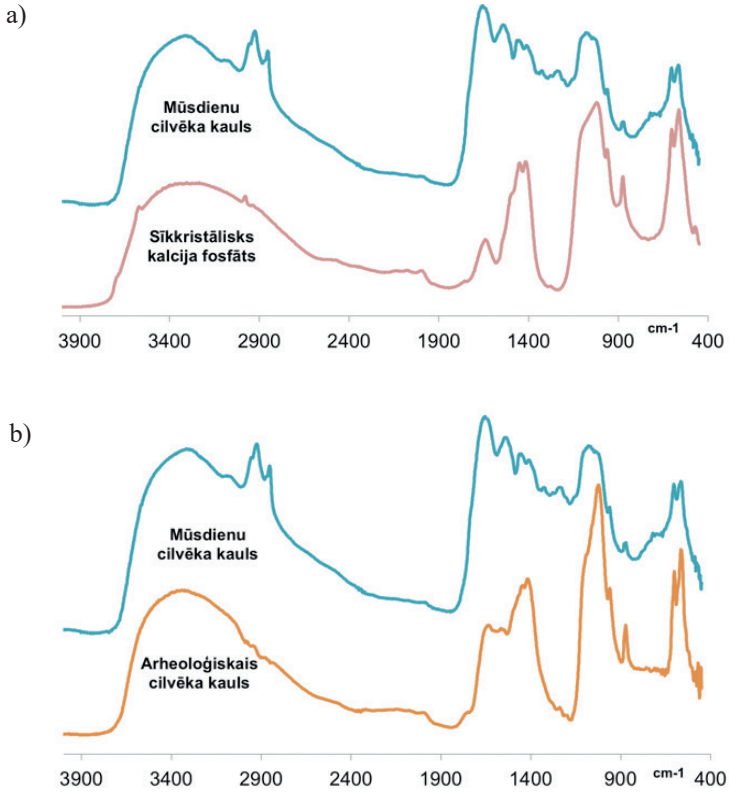
3.1. Dekonvolūcijas modeļa izveide

Cilvēka kaulu spektra dekonvolūcija ir nepieciešama, lai labāk izprastu kaula struktūru un sastāvu un varētu sintezēt materiālus, kuru sastāvs un struktūra būtu tiem līdzīga (21. att.).

Dekonvolūcijas modeļa plānošanas procesā tika ņemti vērā šādi faktori:

1. pieauguša cilvēka blīvajos kaulaudos ir apmēram 30 % organiskās vielas, 60 % neorganiskās vielas un 10 % ūdens. Organisko vielu pamatā ir olbaltumvielas, no kurām 90 % veido proteīnu kolagēna molekulas [26], bet neorganisko vielu pamatā ir hidroksilapatīts, kas satur aptuveni 7 % karbonātjonus [14];
2. kaulu FTIR spektriem ir raksturīgas amīdu vibrācijas un karbonātjonus saturošam hidroksilapatītam raksturīgo funkcionālo grupu vibrācijas;
3. hidroksilapatīta struktūra kaulos ir sīkkristāliska.

Plānošanas procesā tika apkopota informācija par saišu vibrācijām gan amīdiem, gan karbonātjoniem hidroksilapatītā un uzņemti FTIR DRIFT spektri, gan mūsdienu cilvēka kaulam, gan sīkkristāliskam karbonātjonus saturošam hidroksilapatītam (skat. 21. att.).



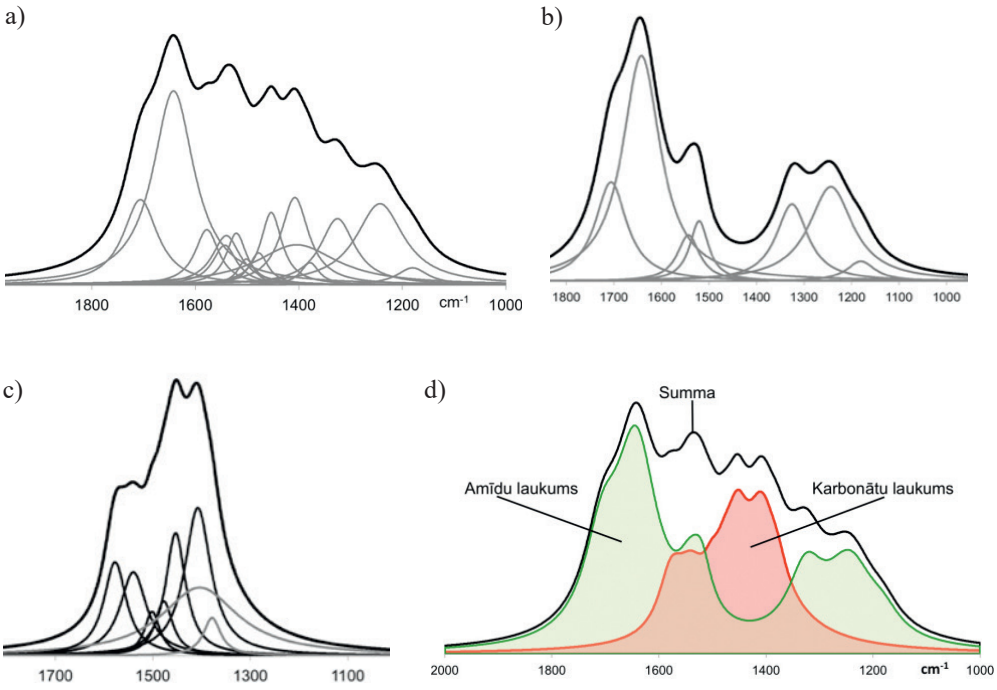
21. att. Cilvēka kaula un sintezēta kalcija fosfāta spektrs a) mūsdienu cilvēka kauls un kalcija fosfāts, b) mūsdienu cilvēka kauls un akmens laikmeta cilvēka kauls

Dekonvolūcijas modeļa izveidē par pamatu tika izmantots mūsdienu cilvēka kaula FTIR DRIFT spektra (21. att.) daļa 1000–2000 cm^{-1}. Tajā tika ievietotas amīdu apgabalam raksturīgās saišu pozīcijas un karbonātjoniem raksturīgās saišu pozīcijas (22. a att.). No literatūras datiem ir redzams, ka 1000–2000 cm^{-1} apgabalā amīdu un karbonātjonu vibrācijas ir ļoti tuvas vai pat pārklājas.

Lai padarītu modeli saprotamāku, tika izmantota konvolūcija – dekonvulēto smaiļu sapludināšana. Izveidoja divus atsevišķus laukumus: vienu, kas raksturīgs amīdu saitēm; otru, kas raksturīgs tikai karbonātjoniem. Abus konvulētos laukumus ievietoja atpakaļ izdalītajā FTIR DRIFT daļā (22. b, c, d att.). Turpmākajiem pētījumiem modelis tika nosacīti sadalīts: organisko vielu (amīdu) apgabals (23. b att.) un neorganisko vielu (karbonātu) apgabals (22. c att.).

Savietojot kopā konvulētos apgabalus, ir redzams:

1. organisko vielu (amīdu) apgabals;
2. neorganisko vielu (karbonātu) apgabals;
3. neorganisko un organisko vielu pārklāšanās laukums (22. d att.).



22. att. Dekonvulēts un konvulēts mūsdienu cilvēka kauls: a) dekonvulēts mūsdienu kaula apgabals; b) dekonvulēts un konvulēts amīda apgabals; c) dekonvulēts un konvulēts karbonātjonu apgabals; d) konvulēts mūsdienu kauls.

* Konvolūcija un dekonvolūcija tika veikta, izmantojot brīvpieejas programmu *MagicPlot Student.*

3.2. Dekonvolūcijas modeļa aprobācija

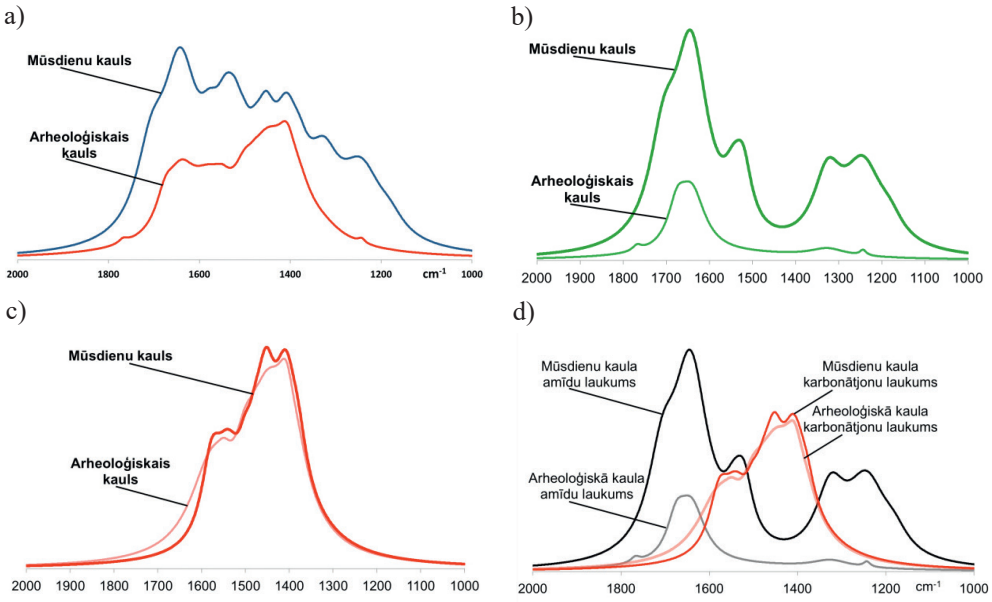
Dekonvolūcijas modelis tika aprobēts, izmantojot arheoloģisko cilvēka kaulu un baktērijas uz presēta kalcija fosfāta virsmas.

Arheoloģiska cilvēka kaula izpēte. Vizuāli salīdzinot arheoloģiskā kaula FTIR DRIFT spektru ar mūsdienu cilvēka spektru, redzams, ka visbūtiskākās atšķirības (23. a att.) novēro tieši 1000–2000 cm^{-1} apgabalā. Arheoloģiskā kaula FTIR DRIFT spektrs līdzinās sintezēta sīkkristāliska kalcija fosfāta spektram.

Atšķirību starp mūsdienu un arheoloģisko kaulu var skaidrot ar to, ka arheoloģiskajā kaulā organiskās vielas ir daļēji sadalījušās. Lai to noskaidrotu, tika izmantots izstrādātais dekonvolūcijas modelis (23. att.).

Secinājumi

1. Galvenās atšķirības amīdu apgabalā ir saistītas ar organisko vielu (olbaltumvielu) sadalīšanos.
2. Nelielās atšķirības karbonātjonu apgabalā, iespējams, ir radušās kaulu mijiedarbības ar augsni un apkārtējo vidi dēļ.
3. Dotajā akmens laikmeta kaulā tomēr ir saglabājušās organiskās vielas (23. d att.), ko apstiprina neliela ar karbonātjoniem neapklāts amīdu apgabals.



23. att. Mūsdienu un arheoloģiskā kaula salīdzināšana: a) FTIR DRIFT apgabali 1000–2000 cm^{-1}; b) konvulētie amīdu laukumi; c) konvulēto karbonātu laukumi; d) konvulēto amīdu un karbonātu laukumi.

* Konvolūcija un dekonvolūcija tika veikta, izmantojot brīvpieejas programmu *MagicPlot Student*

Lietojums

1. Izstrādāto modeli var izmantot cilvēka kaulu struktūras un sastāva pētīšanā.
2. Izmantojot izstrādāto modeli arheoloģiskajiem kauliem, ir iespējams noteikt, vai kaulā ir palikušas organiskas vielas un vai ir lietderīgi paraugu nosūtīt uz daudzkārt dārgāko C–14 izotopu analīzi vai ķīmisko analīzi.

Baktēriju kvalitatīva noteikšana uz presēta kalcija fosfāta virsmas

Pirms eksperimenta tika izvirzīts pieņēmums, ka, izmantojot FTIR PAS, ir iespējams vienlaikus novērot divus procesus: izmaiņas uz presēta kalcija fosfāta virsmas un konstatēt baktēriju klātbūtni, novērot baktēriju augšanu.

Pieņēmums tika balstīts uz šādiem faktiem:

1. FTIR PAS metode ir izmantojama ne tikai pulverveida vielu, bet arī virsmu pētīšanā;
2. ja uz presēta karbonātjonus saturoša kalcija fosfāta (CACP) virsmas novieto baktērijas, tad FTIR spektrā būtu jāredz gan kalcija fosfātam raksturīgās funkcionālās grupas 450–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-), 800–880 (ν_3 CO_3^{2-}), 900–1200 cm^{-1} (ν_1 ν_3 PO_4^{3-}), 1350–1800 cm^{-1} (ν_3 CO_3^{2-} A, B, neapatītiskais; OH^-), ~ 2450–3950 cm^{-1} (OH, H_2O), gan baktērijām raksturīgo organisko vielu funkcionālās grupas. Tika pieņemts, ka baktēriju galvenie komponenti ir ogļhidrāti un olbaltumvielas, tāpēc FTIR spektrā būtu noteikti jāredz amīdiem raksturīgās smailes.

Spektru analīze

1. Vizuāli salīdzinot uzņemtos FTIR PAS spektrus (24. att. a), tika konstatēts:
   a) CACP tablete virsmas spektrs attēlo kalcija fosfātam raksturīgās funkcionālās grupas (ν_1, ν_3, ν_4 PO_4^{3-}, ν_3 CO_3^{2-}, ~ 2450–3950 cm^{-1} for OH, H_2O);
   b) baktēriju spektrs attēlo *Staphylococcus epidermidis (S. epidermidis)* baktērijām raksturīgās funkcionālās grupas [27];
   c) presēta CACP virsma ar baktērijām attēlo gan baktērijām, gan CACP raksturīgās funkcionālās grupas.
2. Attēlā 25. a redzami trīs apgabali, kas pētītajos spektros parāda galvenās atšķirības:

   I – apgabals: 1310–1200 cm^{-1} amīda III saites, raksturīgas tikai baktērijām;

   II – apgabals: raksturīgs gan baktērijām, gan CACP, notiek funkcionālo grupu FTIR spektru savstarpēja pārklāšanās: amīdiem I un II spektrālās līnijas organiskajās vielās ar karbonātjonu ν_3CO_3 A, B un OH neorganiskajās vielās;

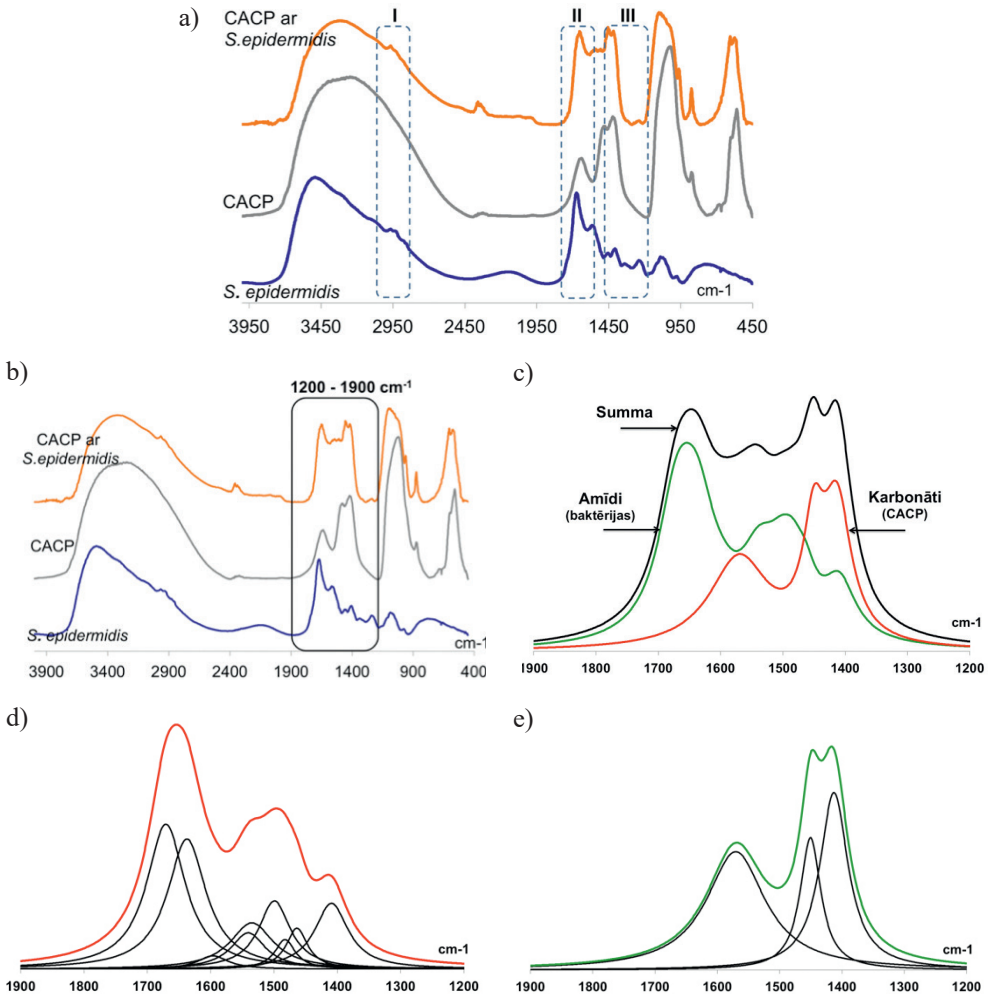
   III – apgabals: $-CH_3$, $>CH_2$, $\equiv CH$ funkcionālām grupām raksturīgas absorbcijas maksimumi, kas raksturīgi tikai baktērijām.

Galvenās atšķirības novēroja 1200–1900 cm^{-1} apgabalā, tāpēc šo apgabalu izmantoja turpmākai dekonvolūcijai un analīzei (24. b att.).

Dekonvulējot un konvulējot 1200–1900 cm^{-1} apgabalā karbonātu saitēm un amīdu saitēm atbilstošās absorbcijas smailes, ieguva tikai karbonātu (neorganisko vielu) spektrālo raksturlīniju un amīdiem raksturīgo raksturlīniju (organisko vielu) – (24. c, d, e att.).

Secinājumi un lietojums

FTIR PAS metodi un izstrādāto dekonvolūcijas/konvolūcijas metodiku var izmantot, lai vienlaikus analizētu gan funkcionālās grupas un izmaiņas uz kalcija fosfāta virsmas, gan kvalitatīvi konstatētu baktēriju klātbūtni un baktēriju vairošanās procesu uz neorganiskās virsmas, tādējādi novērtējot vielas bakteraloģiskās īpašības.



24. att. FTIR PAS spektri presēta kalcija fosfāta virsmai ar un bez baktērijas:
a) pilns spektrs ar iezīmētiem atšķirīgiem apgabaliem baktērijām un CACP;
b) pilns spektra apgabals ar iezīmētu 1000–1900 cm^{-1} apgabalu dekonvulēšanai;
c) konvolētais amīdu un karbonātu apgabals; d) amīdu apgabals; e) karbonātu apgabals.

* Konvolūcija un dekonvolūcija tika veikta, izmantojot brīvpieejas programmu *MagicPlot Student*

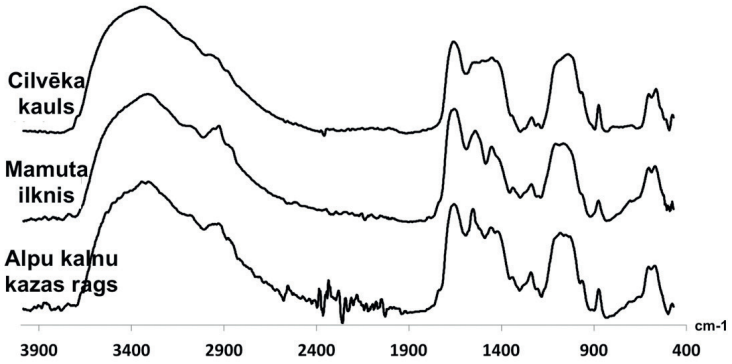
4. PAS un DRIFT spektroskopijas izmantošanas priekšrocības nanoizmēra kalcija fosfātu pētīšanā

4.1. Mikroparaugu raksturošana

Arheoloģiskos izrakumos iegūto kaulu materiāla un gemoloģisko kaulu materiālu analīzei ir nepieciešama nedestruktīva metode. Tomēr metodei ir jāspēj atbildēt uz jautājumiem par parauga sastāvu, izcelsmi un autentiskumu. Tādas metodes ir FTIR PAS un DRIFT. Par paraugiem tika izmantoti: mūsdienu cilvēka kauli, arheoloģisko izrakumu cilvēku kauli (mezolītiskais laikmets, neolītiskais laikmets, 15.–16. gs.) un gemoloģiskais kaulu materiāls.

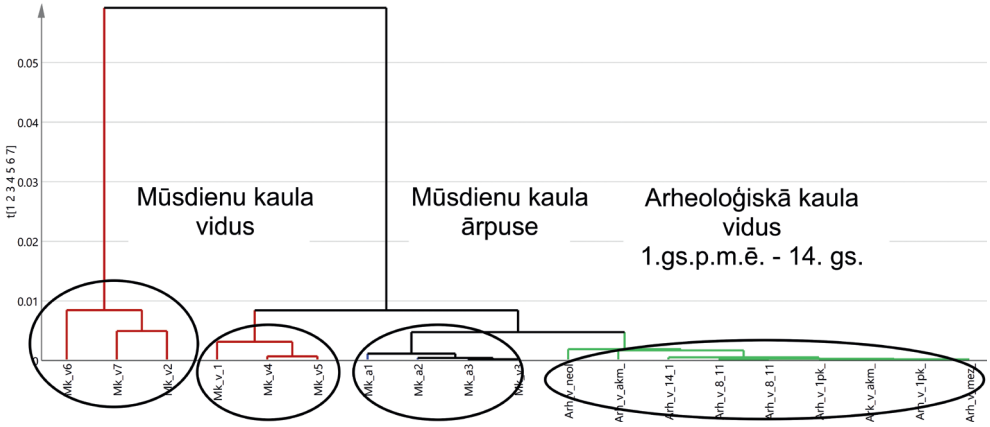
Spektru analīze

a) Abas metodes uzrādīja kaulu materiālam raksturīgās grupas (25. att.): 460–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-), 900–1200 cm^{-1} (ν_1 ν_3 PO_4^{3-}) un H_2O klātbūtni 2500–3900 cm^{-1}. 1000–1900 cm^{-1} apgabalā tika konstatēti organiskajām vielām raksturīgie amīdu pīķi un neorganiskajām vielām raksturīgās karbonātjonu grupas, kuru konstatēšanai izmantoja dekonvolūcijas metodi.



25. att. FTIR PAS cilvēka kaulam un gemoloģiskajam kaulu materiālam.

b) Ar abām metodēm uzņemtie spektri uzrādīja atšķirības starp cilvēka kaula spektru un gemoloģiskā materiāla kaulu materiālu (25. att).
c) Ar abām metodēm uzņemtie spektri uzrādīja atšķirības spektros atkarībā no parauga ņemšanas vietas: kaula vidus vai kaula ārpuses.
d) Statistiski salīdzinot mūsdienu cilvēka kaula spektrus un arheoloģisko izrakumu cilvēka kaulu spektrus, izmantojot HCA metodi, redzams, ka veidojas trīs atsevišķi klasteri – arheoloģiskajiem kauliem un mūsdienu kaulam atkarībā no parauga ņemšanas vietas (skat. 26. att.).



26. att. HCA dendrogramma arheoloģiskajiem un mūsdienu cilvēku kaulu paraugiem, izmantojot FTIR DRIFT metodi.

Secinājumi un lietojums

1. FTIR DRIFT un FTIR PAS var izmantot kaulu materiāla identificēšanai.
2. FTIR DRIFT un FTIR PAS metodē izmantotais materiāls ir pietiekams, lai atšķirtu:
   a) mūsdienu kaula materiālu no arheoloģiskā kaula materiāla;
   b) dzīvnieka kaula materiālu un cilvēka kaula materiālu;
   c) grupētu cilvēka kaulu paraugus pēc parauga paņemšanas vietas;
   d) FTIR DRIFT ir izmantojama arheoloģiskā un kaulu materiāla analīzei nelielā parauga daudzuma dēļ un būtu izmantojama vērtīgu paraugu vispusīgi ātrai un precīzai analīzei.

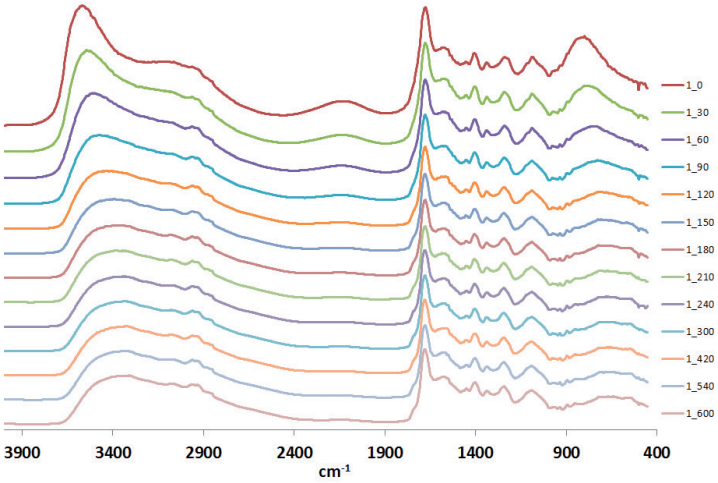
4.2. Procesi tilpumā

FTIR DRIFT un PAS tika izmantots, lai pētītu *Pseudomonas aeruginosa* un *Streptococcus epidermidis* baktērijas. Paraugi tika pētīti tieši, bez parauga sagatavošanas.

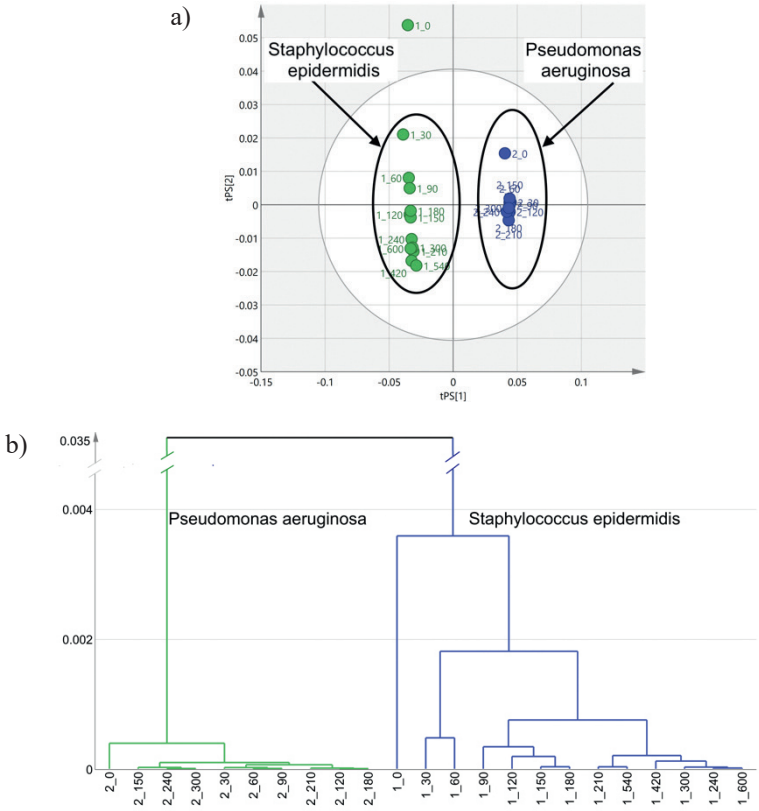
Izmantojot FTIR DRIFT, novēroja, ka uz dimanta nūjiņas notiek baktēriju parauga žūšana laikā (skat. 27. att.), tāpēc tika veikti pētījumi, vai žūšanas process ietekmē baktēriju noteikšanu un atšķiršanu.

Secinājumi

1. Izmantojot galveno komponentu analīzi, ieguva pārliecinošus rezultātus, ka FTIR DRIFT un FTIR PAS var sekmīgi izmantot ne tikai baktēriju klātbūtnes identificēšanai, bet arī to atšķiršanai (skat. 28. att.).
2. FTIR DRIFT un FTIR PAS var sekmīgi izmantot parauga žūšanas procesa un kristalizācijas procesa pētīšanai.
3. Pētīšanai var izmantot mitrus paraugus bez to iepriekšējas sagatavošanas.



27. att. FTIR DRIFT metode. *Staphylococcus epidermidis* baktēriju žūšanas process laikā.



28. att. *Pseudomonas aeruginosa* un *Staphylococcus epidermidis* 2D PC un HCA diagrammas.

4.3. Mitru un piesārņotu paraugu raksturošana

Lai raksturotu mitru paraugu analīzi, kā kalcija fosfātu iegūšanas metode tika izvēlēta izsmidzināšanas žāvēšanas metode, jo bija iespēja iegūt CCP ar konstantu mitruma saturu (9 %) un nitrātjonu un amonija jonu piesārņojumu.

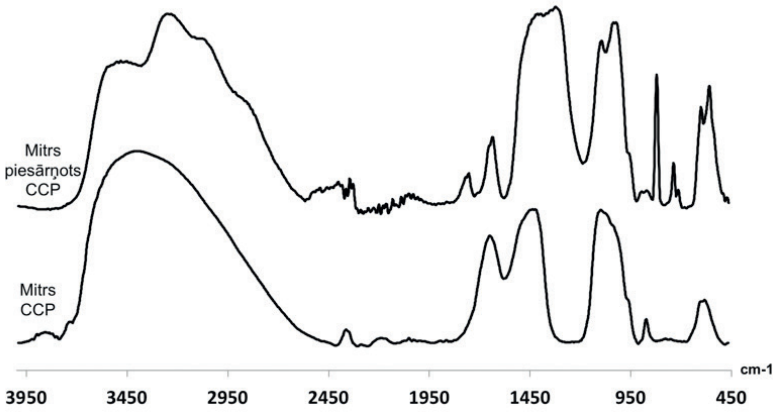
FTIR PAS spektri tika uzņemti piesārņotam ar amonija joniem un nitrātjoniem un tīram paraugam.

Spektru analīze

1. Abos FTIR spektros novēro CCP raksturīgo funkcionālo grupu vibrācijas (skat. 29. att.).
2. Piesārņotā pulverī novēro papildu līnijas, kas raksturīgas nitrātjoniem un amonija joniem: 3000–3500 cm^{-1}, 2500 cm^{-1}, 1000–1500 cm^{-1}.

Secinājumi un lietojums

1. FTIR PAS metode ir izmantojama mitru paraugu analīzē, jo atšķirībā no FTIR DRIFT un FTIR KBr neietekmē paraugu.
2. FTIR PAS metode ir pietiekami jutīga, lai uzrādītu paraugā nelielu piesārņojumu ar nitrātjoniem un amonija joniem.
3. Mitru paraugu kvalitātes kontrole ļauj ietaupīt vismaz 2 h, kas parasti tiek tērētas paraugа žāvēšanai.



29. att. Mitra piesārņota un mitra tīra CCP parauga FTIR DRIFT spektri.

4.4. Procesi uz kalcija fosfātu virsmas

Izmantojot FTIR spektroskopiju, ir iespējams analizēt gan kalcija fosfātu, gan baktērijas. Tomēr līdz šim katru no šiem objektiem analizēja atsevišķi. Šajā pētījumā tika pierādīts, ka, izmantojot FTIR PAS, var vienlaikus noteikt kalcija fosfātam raksturīgās saites 460–700 cm^{-1} (ν_4 PO_4^{3-}, OH^-), 900–1200 cm^{-1} (ν_1 ν_3 PO_4^{3-}) un H_2O klātbūtni 2500–3900 cm^{-1}, gan baktērijām raksturīgās amīdsaites.

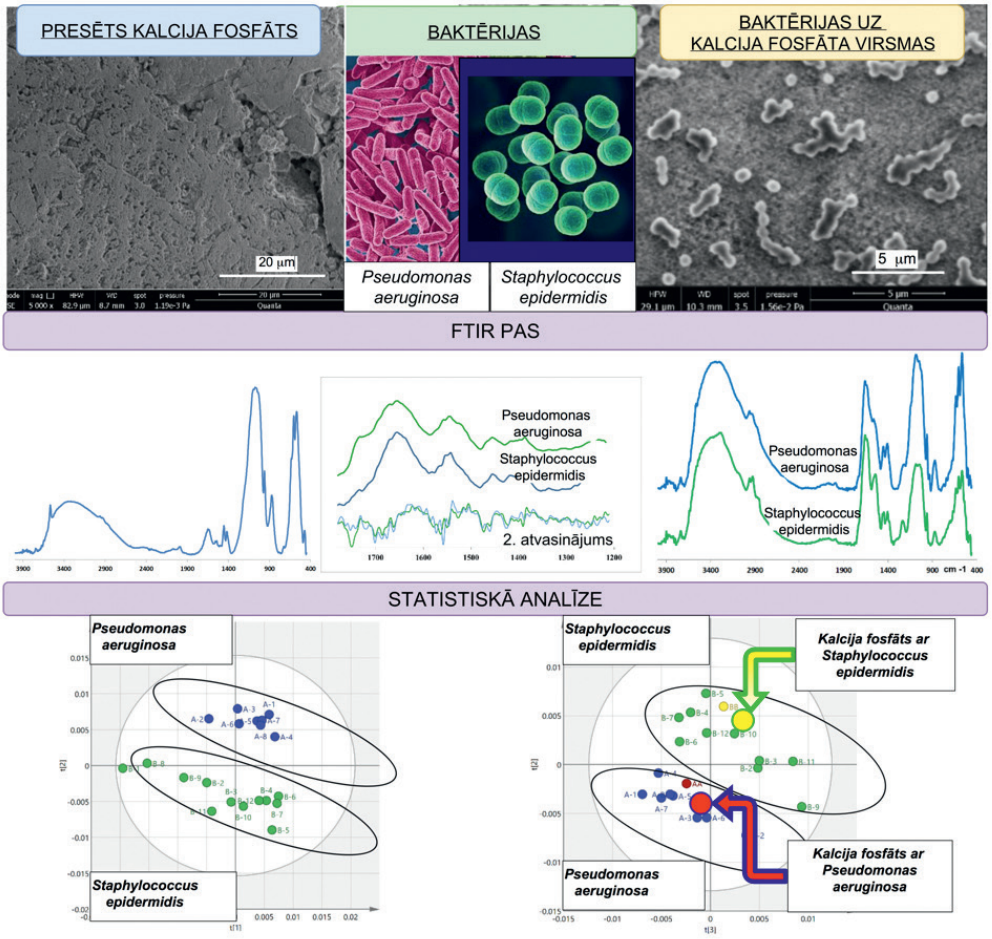
Par paraugu tika izvēlētas kolonizētas *Pseudomonas aeruginosa* un *Staphylococcus epidermidis* baktērijas uz presētas kalcija fosfāta virsmas.

Dekonvulētie spektri ļāva konstatēt baktēriju klātbūtni un izmaiņas uz kalcija fosfāta virsmas. Tomēr, izmantojot izstrādāto metodiku, nebija iespējams atšķirt vienu no otra

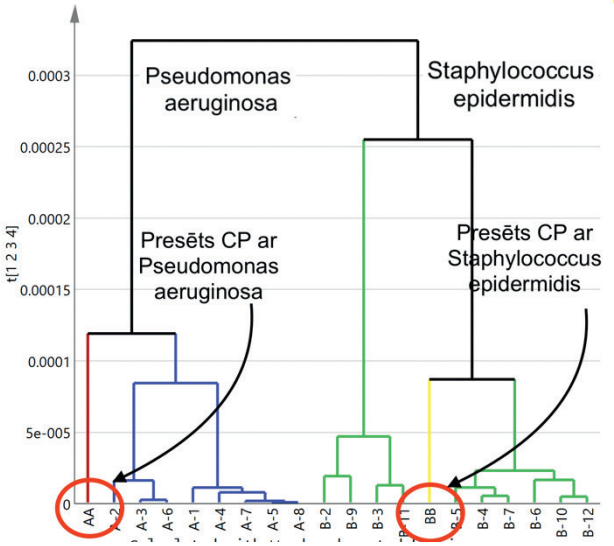
Pseudomonas aeruginosa un *Staphylococcus epidermidis* baktērijas. Arī izmantojot SEM metodi, neizdevās iegūt pārliecinošus rezultātus, jo baktērijas izveidoja plēves.

Atšķirības starp baktērijām tika konstatētas, izmantojot iepriekšējās nodaļās izstrādātās spektru apstrādes metodes un statistiskās metodes baktēriju FTIR PAS spektriem. Veicot spektriem pirmapstrādi un apstrādājot ar otro atvasinājumu, tika iegūti pārliecinoši *Pseudomonas aeruginosa* un *Staphylococcus epidermidis* klasteri.

Līdzīgi tika apstrādāti (atvasinot un izmantojot statistiku) FTIR spektri baktērijām uz presēta kalcija fosfāta virsmas. Iegūtie rezultāti pārliecinoši iekļāvās iepriekš izveidotajos klasteros (skat. 30. att. un 31. att.).



30. att. Baktēriju identificēšana un atpazīšana, izmantojot FTIR PAS un FTIR DRIFT metodes.



31. att. *Pseudomonas aeruginosa un Staphylococcus epidermidis* klasteru analīze.

Secinājumi

a) FTIR PAS sekmīgi var izmantot, lai vienlaikus pētītu gan kalcija fosfātu, gan baktērijas uz tā virsmas.

b) Papildinot izstrādāto mērīšanas metodi ar statistikas metodēm, iespējams identificēt baktērijas veidu tieši uz kalcija fosfāta (implanta) virsmas, kas ļauj ietaupīt laiku, kas tiek tērēts baktēriju kolonizēšanai un identificēšanai pēc standarta metodes.

SECINĀJUMI

1. Nanoizmēra kalcija fosfātu pētīšanā FTIR PAS un DRIFT paraugošanas metodes ir vispiemērotākās metodes amorfa vai nanokristāliska kalcija fosfāta ražošanas procesa kontrolei, kas ir grūti realizējamas vai nav iespējamas ar tradicionālām FTIR paraugošanas metodēm:
   - mitru paraugu raksturošanai;
   - procesu pētīšanai tilpumā (piemēram, žūšanas procesu kinētika);
   - procesu pētīšanai tieši uz virsmas;
   - paraugu automatizētai rezultātu apstrādei un analīzei *in–line* vai *on–line* kontroles sistēmas režīmā.

2. Izveidotais modelis par FTIR metožu un daudzdimensiju statistiskās analīzes izmantošanu sniedz iespēju prognozēt nezināma nanoizmēra kalcija fosfāta parauga daļiņu izmēru, kristāliskuma pakāpi, fāzu sastāvu un karbonātu sastāvu (A, B veida CO_3^{2-}). Analizējot lielus datu apjomus, nodrošina iespēju veikt datu apstrādes automatizāciju un uzskatāmu vizualizāciju, novēršot datu apstrādes subjektivitāti.

3. Izveidoto modeli par FTIR metožu un spektru dekonvolūciju un konvolūciju var izmantot:
   - vienlaicīgai kalcija fosfāta (piemēram, bioimplanta) virsmas un baktēriju pētīšanai, identificēšanai un diferencēšanai;
   - arheoloģijā kā efektīvu ekspresmetodi organisko vielu identificēšanai pirms dudzkārt dārgākās C–14 izotopu analīzes.

4. Kombinējot FTIR metodes ar DTG metodi, iespējams konstatēt, vai ražošanas procesā ir iegūts produkts ar prognozēto mitruma saturu (fizikāli un ķīmiski saistīto ūdeni), kas savukārt ļauj prognozēt produkta stabilitāti uzglabāšanas apstākļos.

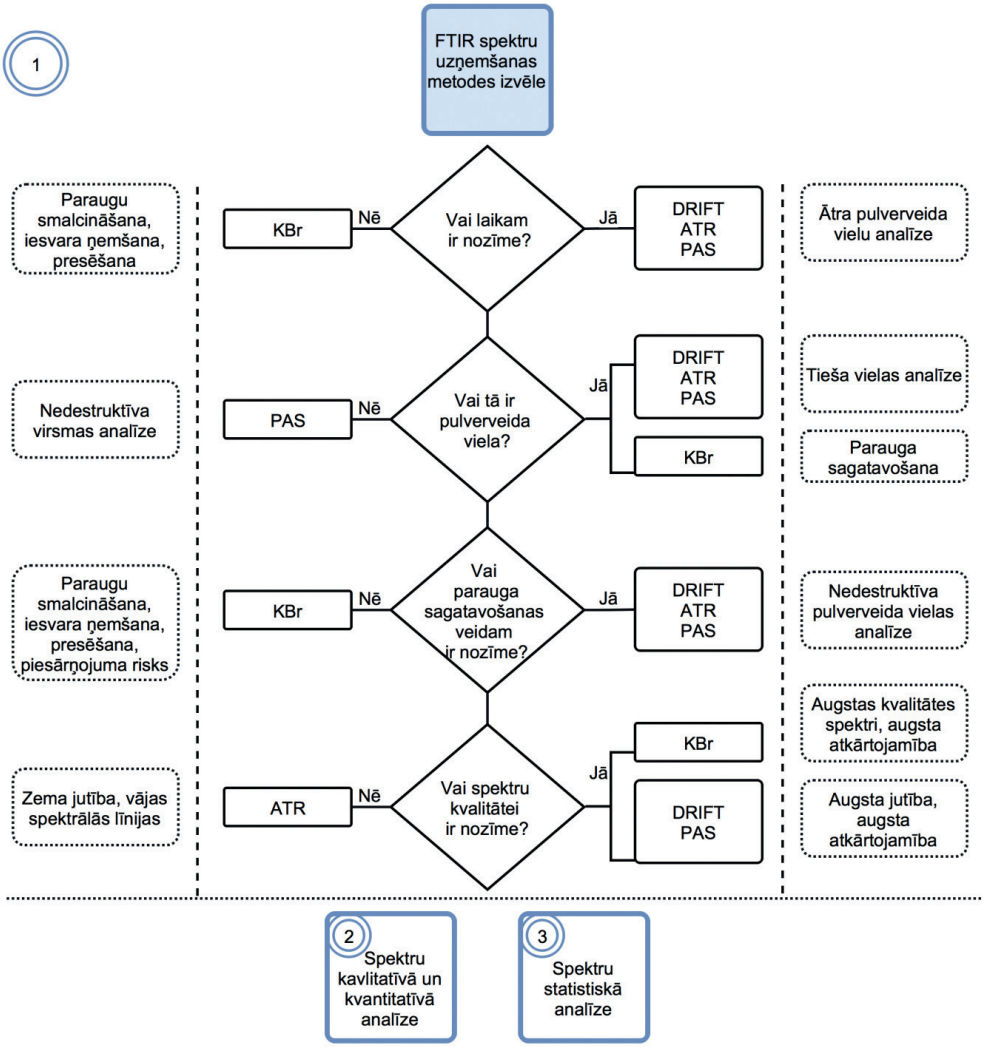
LITERATŪRAS SARAKSTS

1. **Jochem, R.** *Was kostet Qualität? Wirtschaftlichkeit von Qualität ermitteln.* München: Carl Hanser Verlag, 2010, 1–25.
2. U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Guidance for Industry, *PAT – a Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing and Quality Assurance*, FDA, Silver Spring, 2004, [tiešsaiste] – [skatīts 05.05.2017.]. Pieejams: http://www. fda.gov/cvm/guidance/published.html.
3. **Kessler, R.W.,** *Prozessanalytik. Strategien und Fallbeispiele aus der industriellen Praxis*, Weinheim: Wiley–VCH, 2006, 25–35.
4. **Kandelbauer, A., Rahe, M., Kessler, R. W.,** Industrial Perspectives. *In: Handbook of Biophotonics*, 2013, [tiešsaiste] – [skatīts 05.05.2017.] Pieejams: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9783527643981.bphot082/abstract
5. **Becker, T. and Krause, D.** Softsensorsysteme–Mathematik als Bindeglied zum Prozessgeschehen. *Chem. Ing. Tech.*, 2010, vol. 82 N 4, p. 429–440.
6. **Eichert D., Drouet C., Sfihi H.,** et.al. Nanocrystalline apatite–based biomaterials : Synthesis, processing and characterization. Biomaterials research advances, 2007, 93–143.
7. **Rey C., Combes C., Drouet C.,** et.al. Bioactive Ceramics: Physical Chemistry. In: P. Ducheyne, K.E. Healy, D.W. Hutmacher, D.W. Grainger, C.J. Kirkpatrick (eds.) Comprehensive Biomaterials, Elsevier, Amsterdam et.al., 2011, vol. 1, p. 187–221.
8. **Smith B.C.** *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy,* CRC Press, 2011, p. 20–65.
9. **Stuart B.H.** Inrared spectroscopy: Fundamentals and Applications. ***In:*** *Analytical Techniques in the Sciences*, 2005 [tiešsaiste] – [skatīts 05.05.2017.]. Pieejams: http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0470011149
10. **Bell A. G.** On the production and reproduction of sound by light, *Am. J. Sci*. 1880, vol. S3–20, p. 305–324.
11. **Kauppinen J., Wilcken K., Kauppinen I.,** et.al. High sensitivity in gas analysis with photoacoustic detection. *Microchem. J.*, 2004, vol. 76, p. 151–159.
12. **Roveri N., Iafisco M.** Evolving application of biomimetic nanostructured hydroxyapatite. *Nanotechnology, Science and Applications*, 2010, vol.3, p. 107–125.
13. **Hench L.L., Polak J.M.** Third–generation biomedical materials. *Science*, 2002, vol.295, p. 1014–1017.
14. **LeGeros R.Z.** Calcium phosphate–based osteoinductive materials. *Chem Rev*., 2008, vol.108, N 11, p. 4742–4753.
15. **Rey C., Lian J., Grynpas M.,** et.al. Non–apatitic environments in bone mineral: FT–IR detection, biological properties and changes in several disease states, *Connective Tissue Research*, 1989, vol. 21, N 1–4, p. 267–273.
16. **Combes C., Rey C.** Amorphous calcium phosphates: Synthesis, properties and uses in biomaterials. *Acta Biomater*., 2010, vol. 6, p. 3362–78.
17. **Elliott J.C., Wilson R.M., Dowker S.E.P.** Apatite Structures. *Adv. X–Ray Anal.,* 2002, vol. 45, p. 172–181.
18. **Soenju Clasen A. B., Ruyter I. E.** Quantitative Determination of Type A and Type B Carbonate in Human Deciduous and Permanent Enamel By Means of Fourier Transform Infrared Spectrometry, *Adv. Dent. Res.*, 1997, p. 523–527.
19. **Lafon J. P., Champion E., Bernache–Assollant D.** Processing of AB–type carbonated hydroxyapatite Ca10–x(PO4)6–x(CO3)x(OH)2–x–2y(CO3)y ceramics with controlled composition. *J. Eur. Ceram. Soc.*, 2008, vol. 28, N 1, p. 139–147.
20. **Markovic M., Fowler B. O., Tung M. S.** Preparation and comprehensive characterization of a calcium hydroxyapatite reference material, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, 2004, vol. 109, p. 553–568.
21. **Mendelsohn R.** Fourier Transform Infrared Spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, vol. 129, N 43, p. 13358, Oct.

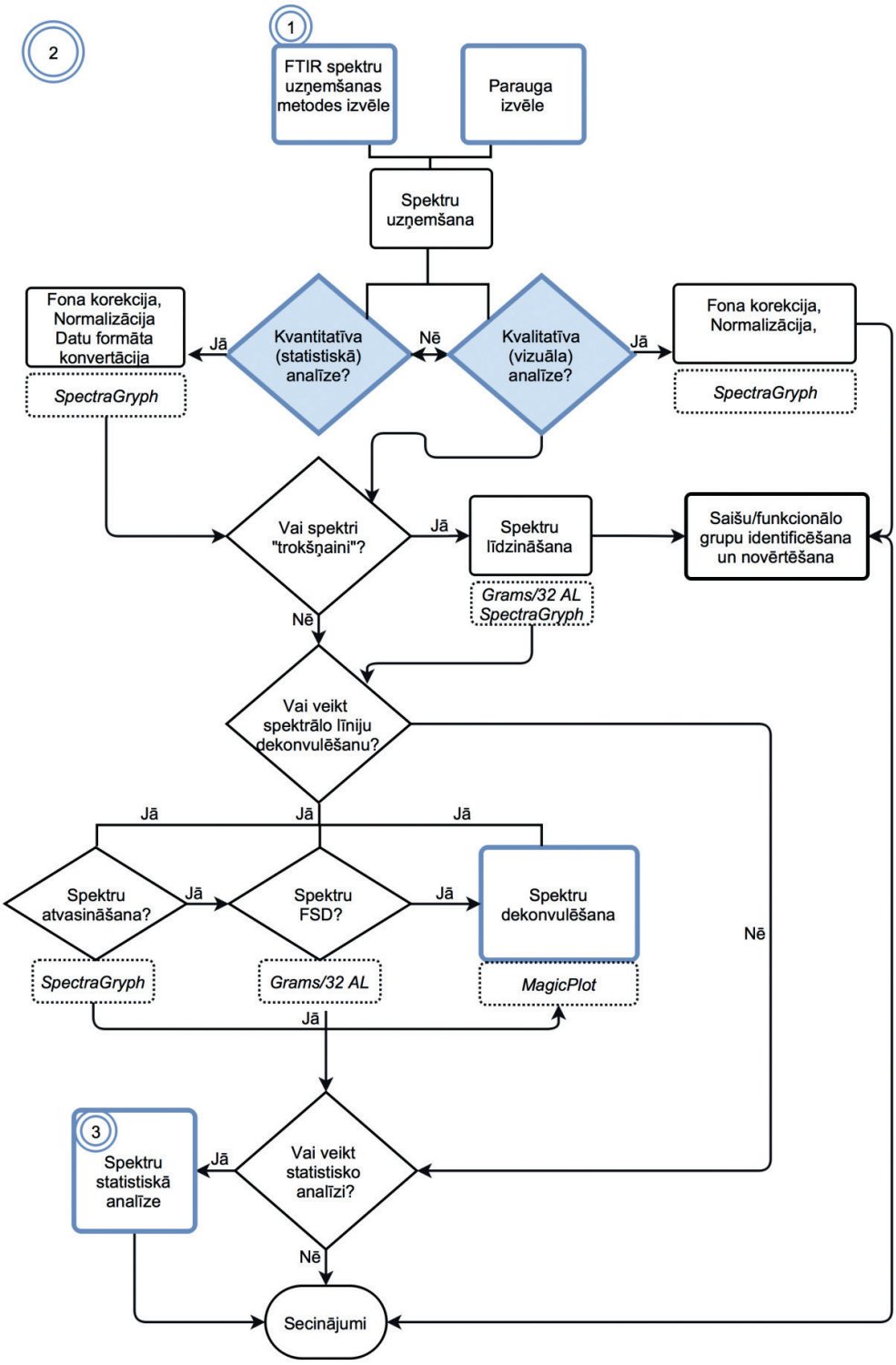
22. **Gautam R., Vanga S., Ariese F.** Review of multidimensional data processing approaches for Raman and infrared spectroscopy. *EPJ Tech. Instrum.,* 2015, vol. 2, N 1, p. 8.
23. **Geladi P.** Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics. Spectrochim. *Acta B.,* 2003, vol. 58, p. 767–82.
24. **Davis R., Mauer L.** Fourier transform infrared (FT–IR) spectroscopy: a rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. *Curr. Res. Technol. Educ. Top*. 2010, N 1, p. 1582–1594.
25. **Maetschke S. R., Madhamshettiwar P. B., Davis M. J.,** et. al. Supervised, semi–supervised and unsupervised inference of gene regulatory networks. *Briefings in Bioinformatics*, 2014, vol. 15, N 2, p. 195–211.
26. **Pollard, A. M., Heron, C.** *Archaeological Chemistry*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2008, 438 p.
27. **Naumann D., Labischinski H., Giesbrecht P.** The characterization of microorganisms by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT/IR), ***In***: Modern Techniques for Rapid Microbiological Analysis (Eds.), W.H. Nelson, VCH, New York, 1991, p. 43–96.

PIELIKUMS

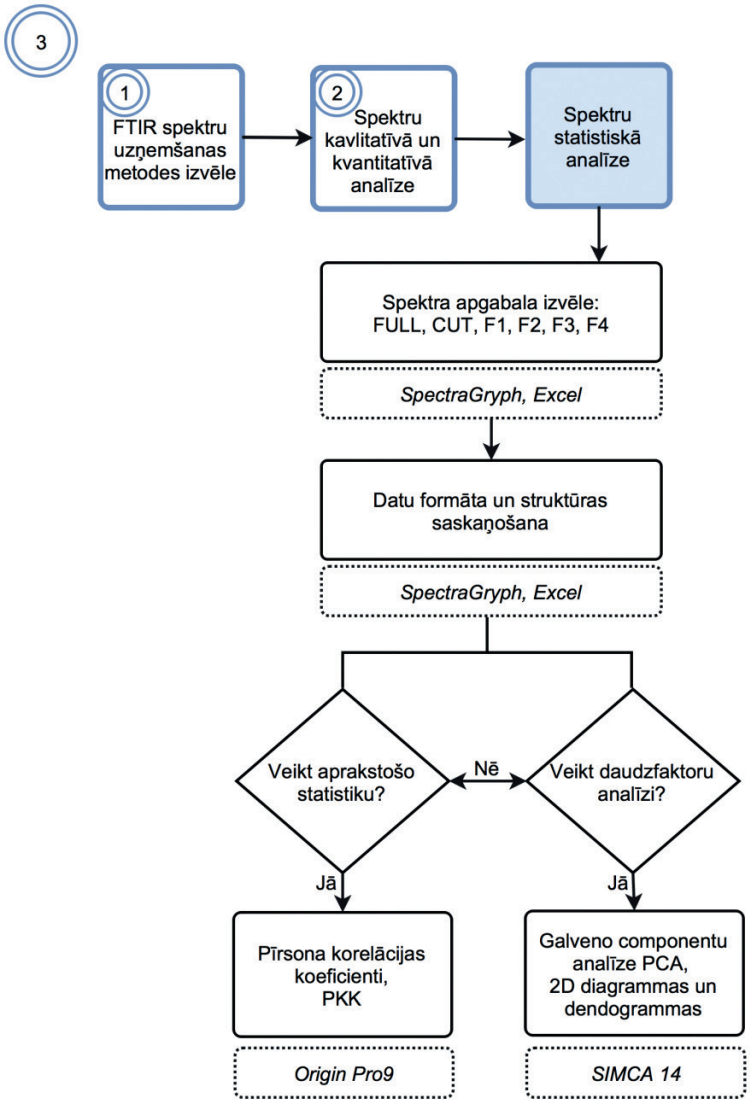
Shēmas par FTIR metožu izvēli, spektru apstrādi un analīzi, kas parāda galvenos posmus no FTIR spectra uzņemšanas līdz secinājumu izdarīšanai.



1. att. FTIR metodes izvēle nanoizmēra kalcija fosfātu pētīšanā.



2. att. Spektru sagatavošana kvalitatīvai un kvantitatīvai analīzei.



3. att. Spektru statistiskā analīze.