

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE
Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte
Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūts

Kristīne ŠALMA-ANCĀNE
Doktora studiju programmas „Biomateriāli un biomehānika” doktorante

**KALCIJA FOSFĀTU SINTĒZES
PARAMETRU IETEKME UZ
BIOKERAMIKAS ĪPAŠĪBĀM**

Promocijas darbs

Zinātniskais vadītājs
Profesore, Dr.sc.ing.
L.BĒRZIŅA-CIMDIŅA

Rīga 2011

Promocijas darbs izstrādāts: Rīgas Tehniskās universitātes, Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūtā.

Darba zinātniskais vadītājs:

Profesore, Dr.sc.ing. Līga Bērziņa-Cimdiņa

2011.gadā iesniegts aizstāvēšanai Rīgas Tehniskās universitātes
Biomateriālu un biomehānikas apakšnozares Promocijas padomē P-03

PATEICĪBA

Vēlos izteikt visdziļāko pateicību promocijas darba zinātniskai vadītājai profesorei, Dr.sc.ing. Līgai Bērziņai-Cimdiņai par motivāciju un atbalstu promocijas darba izstrādes laikā. Paldies par objektīvu darba kritiku un vērtīgiem padomiem visus šos studiju gadus.

Vēlos izteikt sirsnīgu pateicību Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūta un RTU Rīgas Biomateriālu inovāciju un attīstības centra darbiniekiem – draudzīgiem un kompetentiem kolēģiem par vērtīgām diskusijām un ieteikumiem, kā arī praktisku līdzdarbošanos darba izstrādes procesā.

Vissirsnīgākais paldies maniem tuviniekiem - vecākiem, mātai ar ģimeni, vīram un dēlam, vīra ģimenei par iedvesmu, ticību un neizmērojamu atbalstu.



Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā «Atbalsts RTU doktora studiju īstenošanai».

ANOTĀCIJA

KALCIJA FOSFĀTI, ŠĶĪDUMA ĶĪMISKĀ NOGULSNĒŠANA, BIOKERAMIKA, KAULU AIZVIETOTĀJMATERIĀLI, HIDROKSILAPATĪTS, TRIKALCIJA FOSFĀTS, DIVFĀŽU KALCIJA FOSFĀTI

Promocijas darbā pirmo reizi pētīta un izvērtēta sintētisko un biogēno kalcija oksīdu saturošu izejmateriālu kvalitātes ietekme uz iegūtās hidroksilapatīta biokeramikas fizikālķīmiskajām īpašībām un izstrādāta homogēnas, smalkdispersas kalcija hidroksīda suspensijas iegūšanas tehnoloģija kalcija fosfātu sintēzei ar šķīduma ķīmisko nogulsnešanas metodi. Izstrādāta kalcija fosfātu prognozējamu un reproducējamu multifāžu sintēzes tehnoloģija laboratorijas apstākļos biokeramikas iegūšanai (ar regulējamu stabilās hidroksilapatīta fāzes un bioresorbējošās β -trikalcijs fosfāta fāzes saturu) implantmateriālu izgatavošanai. Izvērtēta sintēzes temperatūras režīma, reaģentu koncentrācijas un beigu pH ietekme uz sintezēto un augsttemperatūrā apstrādāto kalcija fosfātu produktu kristālisko fāžu sastāvu un termisko stabilitāti, molekulāro struktūru, morfoloģiju un mikrostruktūru. Iegūtie kalcija fosfātu produkti pēc sintēzes un augsttemperatūras apstrādes pētīti un raksturoti ar modernām pētniecības metodēm: rentgenstaru pulverdifrakciju, lauka emisijas skenējošo elektronmikroskopiju, Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopiju u.c.

Literatūras apskatā apkopota un analizēta informācija par kalcija fosfātiem medicīniskam pielietojumam, to fizikālķīmiskajām īpašībām un iegūšanas metodēm, īpašu izklāstu veltot šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodei laika periodā no 1939. līdz 2011.gadam.

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā, tā apjoms 163 lpp. Darbs satur 69 attēlus, 23 tabulas un tajā izmantoti 149 literatūras avoti.

ANNOTATION

CALCIUM PHOSPHATES, WET CHEMICAL PRECIPITATION, BIO-CERAMICS, BONE SUBSTITUTES, HYDROXYAPATITE, TRICALCIUM PHOSPHATE, BIPHASIC CALCIUM PHOSPHATES

For the first time, investigation and evaluation of quality influence of calcium phosphate containing inorganic and biogenic starting materials on physicochemical properties of hydroxyapatite bioceramics was performed. Development of preparation

technology of highly dispersive calcium hydroxide suspension for wet chemical precipitation synthesis of calcium phosphates are investigated. Synthesis technology in laboratory reactor of predictable and reproducible multiphase calcium phosphates for medical applications as bioceramics (with composition of variable stable phase of hydroxyapatite and resorbable phase of β -tricalcium phosphate) for implant materials production was performed. Influence of synthesis' temperature, starting reagent's concentration and ending pH on crystalline phase composition and thermal stability, molecular structure, morphology and microstructure of calcium phosphate products after synthesis and thermal treatment was investigated. Synthesized and thermal treated products of calcium phosphates were characterized using modern research technique: x-ray powder diffraction, field emission electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy etc.

Literature review gives an overview about calcium phosphates for medical applications, their physical chemical properties and synthesis methodologies, as well as special review about wet chemical precipitation method concerning period from 1939 till 2011.

The doctoral theses is written in the Latvian language, consist of 163 pages. The theses contain 69 pictures, 23 tables and 149 references.

SATURS

SATURS	6
SAĪSINĀJUMI UN APZĪMĒJUMI	9
IEVADS	11
1. LITERATŪRAS APSKATS	20
1.1. Kalcija fosfātu biomateriālu izstrādes nepieciešamība	20
1.2. Kalcija fosfātu kā biomateriālu vispārīgs raksturojums	22
1.2.1. Komerciāli pieejamie kalcija fosfātu biomateriāli.....	23
1.2.2. Kalcija fosfātu materiālu klases vispārīgs raksturojums.....	26
1.2.3. Kalcija fosfātu klases nozīmīgāko pārstāvju raksturojums.....	28
1.2.4. Ar joniem aizvietoti kalcija fosfāti.....	34
1.2.5. Kalcija fosfātu - biomateriālu klases pārstāvju raksturojums.....	38
1.3. Kalcija fosfātu biokeramika	44
1.3.1. Hidroksilapatīta/ β -trikalcija fosfāta biokeramikas sistēma.....	48
1.4. Sintētisko kalcija fosfātu iegūšanas tehnoloģijas	49
1.4.1. Kalcija fosfātu iegūšana no dabīgiem prekursoriem.....	51
1.4.2. Hidroksilapatīta sintēzes metodes.....	51
1.4.3. Šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metode.....	53
1.4.4. Kalcija fosfātu nogulsnešana.....	54
1.4.5. Hidroksilapatīta iegūšana ar šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodi.....	55
1.5. Šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodes tehnoloģisko parametru ietekme uz kalcija fosfātu īpašībām	57
1.5.1. Reaģentu sākotnējā koncentrācija.....	59
1.5.2. Sintēzes temperatūra.....	60
1.5.3. Reaģentu pievienošanas ātrums.....	61
1.5.4. Maisīšanas ātrums.....	62
1.5.5. Nobriedināšanas laiks.....	63
1.5.6. Sintēzes atmosfēra.....	63
LITERATŪRAS APSKATA KOPSAVILKUMS	65
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	66
2.1. Kalcija fosfātu sintēze ar modificētu šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodi	66

2.1.1.	Sintēzes metodes izvēle un modificēšana.....	66
2.1.2.	Izmantotais laboratorijas aprīkojums un analīzes metodes	70
2.1.2.1.	<i>Rentgenstaru pulverdifrakcija (XRD)</i>	71
2.1.2.2.	<i>Hidroksilapatīta/β-trikalcija fosfāta fāžu attiecības noteikšana ar puskvantitatīvo XRD metodi</i>	72
2.1.2.3.	<i>Kristalītu izmēra (L_{200} un L_{300}) noteikšana</i>	76
2.1.2.4.	<i>Kristāliskuma pakāpes (X_C) noteikšana</i>	77
2.1.2.5.	<i>Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (FT-IR)</i>	78
2.1.2.6.	<i>Lauka emisijas skenējošā elektronu mikroskopija (FE-SEM) un enerģijas dispersīvā rentgenstaru spektroskopija (EDS)</i>	79
2.1.2.7.	<i>Induktīvi saistītās plazmas masspektrometrija (ICP-MS)</i>	79
2.1.2.8.	<i>Diferenciāļtermiskā analīze (DTA)</i>	80
2.1.2.9.	<i>Augsttemperatūras mikroskopija (ATM)</i>	80
2.1.2.10.	<i>Optiskā mikroskopija</i>	80
2.1.2.11.	<i>Arhimēda (piesūcināšanas) metode</i>	80
2.1.3.	Izejmateriālu sagatavošana un apstrāde.....	82
2.1.3.1.	<i>Dažādas izcelsmes kalcija oksīdu saturošu izejmateriālu izvēle</i>	83
2.1.3.2.	<i>Dažādas izcelsmes kalcija oksīdu saturošu izejmateriālu sagatavošana un raksturojums</i>	84
2.1.3.3.	<i>„Kaļķu dzēšanas” procesa eksperimentālais izvērtējums</i>	89
2.1.3.4.	<i>Kalcija hidroksīda suspensijas homogenizācija planetārajās bumbu dzirnavās</i>	92
2.1.4.	Sintēzes mainīgo tehnoloģisko parametru izvēle un iestatīšana.....	96
2.1.4.1.	<i>Sintēzes beigu pH un temperatūras režīms</i>	96
2.1.4.2.	<i>Dažādas izcelsmes kalcija oksīdi</i>	97
2.1.4.3.	<i>Skābes šķīduma koncentrācija</i>	97
2.1.4.4.	<i>Sintēzes temperatūras režīms</i>	98
2.1.5.	Sintēzes konstanto tehnoloģisko parametru iestatīšana.....	99
2.1.6.	Sintēzes darba gaita	100
3.	REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	101
3.1.	Kalcija fosfātu biokeramikas izstrāde ar regulējamu fāžu sastāvu	101
3.1.2.	β -Trikalcija fosfāta biokeramikas izstrāde un raksturojums.....	110
3.1.2.1.	<i>Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte</i>	111
3.1.2.2.	<i>Molekulārās struktūras analīze</i>	113
3.1.2.3.	<i>Morfoloģijas un mikrostruktūras, saķepšanas procesa pētījumi</i>	115
3.1.3.	Divfāžu kalcija fosfātu biokeramikas izstrāde un raksturojums.....	118
3.1.3.1.	<i>Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte</i>	119
3.1.3.2.	<i>Morfoloģijas un mikrostruktūras, saķepšanas procesa pētījumi</i>	121
3.2.	Hidroksilapatīta biokeramikas izstrāde no dažādas izcelsmes kalcija oksīdu izejmateriāliem	123
3.2.1.	Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte	123

3.2.2.	Molekulārās struktūras analīze	126
3.2.3.	Ķīmisko mikroelementu analīze	129
3.2.4.	Morfoloģijas un mikrostruktūras pētījumi	131
3.2.5.	Kristalītu izmērs un kristāliskuma pakāpe	138
3.3.	Skābes šķīduma koncentrācijas ietekme uz hidroksilapatīta biokeramikas īpašībām	139
3.3.1.	Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte	140
3.3.2.	Kristalītu izmērs un kristāliskuma pakāpe	140
3.3.3.	Morfoloģijas un mikrostruktūras, saķepšanas procesa pētījumi	142
3.4.	Temperatūras režīma ietekme uz hidroksilapatīta biokeramikas īpašībām	144
3.4.1.	Morfoloģijas un mikrostruktūras pētījumi	144
3.4.2.	Kristalītu izmērs un kristāliskuma pakāpe	146
SECINĀJUMI	147	
CONCLUSIONS	149	
IZMANTOTĀ LITERATŪRA	151	

SAĪSINĀJUMI UN APZĪMĒJUMI

ACP	amorfais kalcija fosfāts
Am-TCP	amorfais trikalcija fosfāts
Ap	apatīts
Ap-TCP	apatītiskais trikalcija fosfāts
ATM	augsttemperatūras mikroskopija
BCP	divfāžu kalcija fosfāts
CaP	kalcija fosfāti
CDHAp	hidroksilapatīts ar kalcija deficītu
β -CPP	β -kalcija pirofosfāts
D	vidējais kristalītu izmērs, nm
DCPA	kalcija hidrogēnofosfāts bezūdens
DCPD	kalcija hidrogēnofosfāta dihidrāts
DTA	diferenciāļtermiskā analīze
EC Nr.	Eiropas Komisijas Nr. komerciāli pieejamai ķīmiskai vielai
EDS	enerģijas dispersīvā rentgenstaru spektroskopija
FE-SEM	lauka emisijas skenējošā elektronu mikroskopija
FT-IR	Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija
FWHM	difrakcijas maksimuma pilns pusplatums pie pusintensitātes, rad
FWHM ₀₀₂	difrakcijas maksimuma (002) pilns pusplatums pie pusintensitātes, rad
HAp	hidroksilapatīts
<i>hkl</i>	kristalogrāfiskā plakne
I ₃₀₀	difrakcijas maksimuma (300) intensitāte
I _{apr}	aprēķinātā intensitāte
ICP-MS	induktīvi saistītās plazmas masspektrometrija
I _{eksp}	eksperimentālā intensitāte
<i>in vitro</i>	bioloģiskās studijas, kas veiktas ārpus dzīvā organisma mākslīgā vidē, tādā kā šūnu kultūras vide
<i>in vivo</i>	bioloģiskās studijas, kas veiktas dzīvā organismā
k	kristalītu formas faktora konstante
L ₀₀₂	kristalītu izmērs - garums c ass virzienā perpendikulāri kristalogrāfiskai plaknei (<i>hkl</i>)

L_{002}/L_{300}	kristalītu garuma/platuma attiecība
L_{300}	kristalītu izmērs - platums a ass virzienā, nm
MCPA	kalcija dihidrogēnfosfāts bezūdens
MCPM	kalcija dihidrogēnfosfāta monohidrāts
OAp	oksiapatīts
OCP	oktakalcija fosfāts
OHAp	oksihidroksilapatīts
pH_{beigu}	sintēzes suspensijas pH vērtība pēc stabilizācijas laika
R^2	aproximācijas labuma koeficients
t_s	sintēzes suspensijas stabilizācijas laiks, h
T_s	sintēzes temperatūras režīms, °C
TTCP	tetrakalcija fosfāts
$V_{112/300}$	iedobes intensitāte starp difrakcijas maksimumiem (112) un (300)
X_A, X_B	masas daļa katram elementam, kas ir savienojumā
X_C	kristāliskuma pakāpe, %
XRD	rentgenstaru pulverdifrakcija
α -TCP	α – trikalcija fosfāts
β -TCP	β – trikalcija fosfāts
θ	rentgenstara difrakcijas leņķis, °
λ	rentgenstara viļņa garums, 0.15406 nm
μ_A, μ_B	masas absorbcijas koeficients katram elementam, kas ir savienojumā
μ_M	masas absorbcijas koeficients vielai, kas attiecīgi satur masas daļas w_A un w_B elementiem A un B
τ	sintēzes suspensijas nobriedināšanas laiks, h
$\sum \Delta^2$	eksperimentālo un aprēķināto intensitāšu starpību kvadrātu summa
45°C*	sintēzes temperatūra, kas const visu sintēzes laiku, °C
70°C↓	sintēzes temperatūra, kas krītas sintēzes aktīvajā periodā – skābes šķīduma pilināšanas laikā, °C
22°C	sintēze veikta apkārtējās atmosfēras temperatūrā

IEVADS

Pasaules Veselības organizācija (World Health Organization) un 37 valstis visā pasaulē pasludināja laika posmu no 2000.-2010.gadam par „Kaulu un locītavu desmitgadi” [1]. Šīs globālās iniciatīvas mērķis ir uzlabot cilvēku ar muskuloskeletālās sistēmas traucējumiem, piemēram, artrītu, dzīves kvalitāti, kā arī sekmēt izpratni un šo traucējumu ārstēšanu, izmantojot profilakses, izglītības un pētniecības iespējas.

Neapšaubāmi nozīmīgu ieguldījumu šīs aktuālās problēmas risināšanā pēdējā desmitgadē ir sniedzis plašais, pieejamais kaulu implantmateriālu klāsts, kas izskaidrojams ar pieaugošu pieprasījumu un intensīvu izstrādes tehnoloģiju progresu.

Neskatoties uz to, klīniskās studijas pierāda, ka joprojām pastāv daudz neatbildētu jautājumu un problēmu, kas saistītas ar esošo kaulu implantmateriālu atbilstību un funkcionēšanu dzīvajā organismā.

Turpmākais pētniecības mērķis paliek nemainīgs, t.i., kombinējot dažādus biomateriālus un izmantojot īpašas apstrādes tehnoloģijas, izstrādāt biomateriālus, kuriem ir piemērotas vai atbilstošas mehāniskās, ķīmiskās un fizikālās struktūras īpašības ar pacienta kaulaudiem, tādējādi veicinot kaulu defektu sadzīšanu [2].

Praksē ir zināmas vairākas kaulu implantmateriālu kategorijas, kas ietver dažādas materiālu klases, ieguves avotus un izcelsmi (dabiska vai sintētiska). Daudzi no šiem implantmateriāliem ir kompozīti, kas sastāv no vairāku materiālu veidiem, tomēr parasti šie materiāli ir izstrādāti uz bāzes materiāliem, tādiem kā demineralizēta kaula matrica, dabīgi vai rekombinēti augšanas faktori, šūnas, polimēri vai keramika.

Gandrīz 60% no visiem kaulu aizvietotājmateriāliem ietver biokeramika kalcija fosfātu, bioaktīvā stikla un kalcija sulfātu formā. Tieši bioaktīvā un rezorbējošā kalcija fosfātu biokeramika ir bāzes materiāls dažādu kaulu implantmateriālu izstrādē, kas vairāk nekā 40 gadus ieņem stabilu vietu pasaules zinātnisko pētījumu topā, t.sk., klīnisko studiju jomā [3].

Pētījumu rezultāti parāda, ka kalcija fosfātu biokeramika ir potenciāls „jaunās paaudzes” materiāls alternatīvas pielietošanas jomā, kā piemēram, gēnus aktivējošas kalcija fosfātu biokeramiskās pamatnes, kas pielāgotas noteiktiem pacientiem slimību skartās vietās [2, 4].

Latvijā un Baltijas reģionā kopumā joprojām nav izveidota kalcija fosfātu biomateriālu - augstas pievienotās vērtības produktu ražotne (1 g cena ir ~100 EUR),

kas spētu konkurēt ar Eiropas un pasaules līmeņa biomateriālu ražotājiem. Pēc Rīgas Stradiņa universitātes Stomatoloģijas institūta (Latvijas lielākā specializētās zobārstniecības, ortodontijas, mutes, sejas un žokļu ķirurģijas ārstniecības iestāde) datiem par 2010.gadu kopumā izmantoti vairāk kā 2 kg komerciālo kalcija fosfātu produktu par kopējo summu 200000 EUR.

Šis darbs tika aizsākts 2007.gadā ar mērķi izstrādāt kalcija fosfātu bāzes materiālu iegūšanas tehnoloģiju laboratorijas apstākļos, kurus varētu izmantot dažādu implantmateriālu ar augstu pievienoto vērtību izstrādei medicīniskam pielietojumam, kā arī biotehnoloģijas, audu inženierijas un vides tehnoloģiju nozarēs.

Līdz ar to viens no svarīgākajiem darba uzdevumiem bija izvēlēties un izstrādāt atbilstošu sintēzes metodi, kura atbilstu diviem pamatkritērijiem:

- 1)vienkārša un ekonomiska, videi draudzīga metode, kuru iespējams mērogot un pārnest uz ražošanu lielos apjomos laboratorijas apstākļos;
- 2)modifikācijām un pētījumiem piemērota metode, kuras iegūtie rezultāti būtu noderīgi ne tikai turpmākai kalcija fosfātu materiālu attīstībai, bet arī sniegtu nozīmīgu zinātnisku ieguldījumu šajā laukā.

Promocijas darbam izvirzītais mērķis

Izstrādāt prognozējamu un reproducējamu multifāžu kalcija fosfātu (hidroksilapatīta, β -trikalcijs fosfāta, divfāžu kalcija fosfātu ar regulējamu hidroksilapatīta un β -trikalcijs fosfāta fāžu attiecību) iegūšanas tehnoloģiju laboratorijas mēroga reaktorā medicīniskam pielietojumam un izvērtēt sintēzes tehnoloģisko parametru ietekmi uz biokeramikas īpašībām.

Promocijas darbam izvirzītie uzdevumi

- 1.Vadoties pēc literatūras analīzes datiem, izstrādāt kalcija fosfātu sintēzes metodes shēmu hidroksilapatīta, β -trikalcijs fosfāta un divfāžu kalcija fosfātu iegūšanai pēc termiskās apstrādes.
- 2.Izvēlēties mainīgos tehnoloģiskos parametrus, kas spētu ietekmēt sintēzes produkta fāžu sastāvu un struktūru pēc termiskās apstrādes.
- 3.Sintezēt kalcija fosfātu produktu sērijās, sistemātiski mainot izvēlētos tehnoloģiskos parametrus.

4. Noteikt izvēlēto sintēzes produktu sastāvu un struktūru ietekmējošo tehnoloģisko parametru robežvērtības.
5. Izpētīt sintētisku un biogēnu kalcija oksīdu saturošu izejmateriālu ietekmi uz hidroksilapatīta biokeramikas fizikāli ķīmiskajām īpašībām.
6. Izpētīt sintēzes temperatūras režīma un reaģentu koncentrācijas ietekmi uz sintēzes produkta sastāvu un struktūru.
7. Raksturot sintezēto un termiski apstrādāto (700-1300°C) kalcija fosfātu produktu sastāvu un struktūru.

Promocijas darba zinātniskā nozīmība un novitāte

1. Pirmo reizi sistemātiski izpētītas un salīdzinātas no biogēnas izcelsmes un sintētiskiem kalcija oksīdiem iegūtu kalcija hidroksīda suspensiju morfoloģijas pēc „kaļķu dzēšanas” procesa, kā arī homogenizācijas planetārajās bumbu dzirnavās.
2. Pirmo reizi kalcija fosfāti sintezēti ar modificētu šķīduma ķīmisko nogulsnešanas metodi, izmantojot reaģentu šķīdumus ar nestehiometrisku molāro koncentrāciju attiecību $[Ca^{2+}]/[PO_4^{3-}] = 0.15 \text{ M}/4.76 \text{ M}$.
3. Pirmo reizi pētīta biogēnas izcelsmes un sintētisku kalcija oksīdu izejmateriālu ietekme uz hidroksilapatīta biokeramikas mikrostruktūru un krāsas maiņu.
4. Izvērtēta sintēzes temperatūras režīma, beigu pH, reaģentu koncentrācijas ietekme uz sintezēta un termiski apstrādātā kalcija fosfāta produkta kristālisko fāžu sastāvu un termisko stabilitāti, molekulāro struktūru, morfoloģiju un mikrostruktūru.

Promocijas darba praktiskā nozīmība

1. Izstrādāta efektīva multifāžu kalcija fosfātu (ar regulējamu stabilās hidroksilapatīta fāzes un biorezorbējošās β -trikalcija fosfāta fāzes saturu pēc termiskās apstrādes) iegūšanas tehnoloģija, kas ir perspektīva biokeramisko implantmateriālu izgatavošanai ar prognozējamu sastāvu un struktūru.
2. Izstrādāta homogēnas, smalkdispersas kalcija hidroksīda suspensijas iegūšanas tehnoloģija planetārajās bumbu dzirnavās kalcija fosfātu sintēzei ar šķīduma ķīmisko nogulsnešanas metodi.

Darba aprobācija

Par promocijas darba zinātniskiem sasniegumiem un galvenajiem rezultātiem ziņots 20 starptautiskās zinātniskās konferencēs, ir publicētas 8 pilna teksta zinātniskās publikācijas un 12 recenzētas zinātniskās konferenču tēzes.

Pilna teksta zinātniskās publikācijas:

1. Salma K., Irbe Z., Jakovlevs D., Borodajenko N., Berzina-Cimdina L. Comparison of biphasic calcium phosphate bioceramics fabricated using different techniques// Advanced Materials Research. – 2011. – Vol.222. – 225.-228. p.
2. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N. Calcium phosphate bioceramics prepared from wet chemically precipitated powders// Processing and Application of Ceramics. – 2010. – Vol.4(1). - 45.-51. p.
3. Loca D., Locs J., Salma K., Berziņa-Cimdina L., Zalite V., Vempere D. Development of Porous Calcium Phosphate Bone Scaffolds for Drug Delivery// Journal of the georgian ceramists' association "Ceramics". – 2010. – Vol.2(23). 33.-36. p.
4. Salma K., Berzina-Cimdina L., Stunda A., Borodajenko N. Influence of the Parameters of Technological Process on Properties of Synthesized Calcium Phosphates// Scientific Journal of RTU/Materials Sciences and Applied Chemistry. – 2009. – Vol.20. – 93.-101. p.
5. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N., Zalite V., Pluduma L., Perederija T. Phase Composition Investigations of Synthesized Calcium Phosphates// Scientific Journal of RTU/Materials Sciences and Applied Chemistry. 2009. – Vol.20. – 102.-110. p.
6. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N., Irbe Z., Pluduma L. Calcium Phosphates for Clinical Application with Variable Phase Composition: Synthesis and Characterization// Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal. – 2009. – Vol.6. - 41.-42. p.
7. Salma K., Borodajenko N., Plata A., Berzina-Cimdina L., Stunda A. Fourier Transform Infrared Spectra of Technologically Modified Calcium Phosphates// IFMBE Proceedings. – 2008. – Vol.20. – 68.-71. p.

8. Seržāne R., Bērziņa-Cimdiņa L., Šalma K., Šalma I. Porainas kalcija fosfātu keramikas 3D - struktūras bioloģisko šūnu pamatnēm// Scientific Journal of RTU/Materials Sciences and Applied Chemistry. – 2007. – Vol.15. – 85.-91. p.

Recenzētas zinātniskās konferenču tēzes:

9. Salma K., Irbe Z., Berzina-Cimdina L. Comparison of biphasic calcium phosphate bioceramics fabricated using // INTER ACADEMIA 2010: The 9th International Conference on Global Research and Education, Latvia, Rīga, 9.-12. August, 2010. - pp 223-224.
10. Pluduma L., Salma K., Berzina-Cimdina L. Characterization of HAp/TCP bioceramics with variable phase ratio // European Cells and Materials. – 2010. – Vol.20(3). – 203. p.
11. Vecbiskena L., Irbe Z., Salma K., Berzina-Cimdina L. Characterization of Bone Graft Substitutes Prepared by Transformation of β -Tricalcium Phosphate to Hydroxyapatite in Aqueous Environment // European Cells and Materials. – 2010. – Vol.20(3). - 263. p.
12. Salma K., Berzina-Cimdina L., Mironova-Ulmane N., Borodajenko N., Zalite V., Pluduma L. The Effect of Calcium Source Quality on the Physiochemical Properties of Hydroxyapatite Bioceramics // Proceedings of 23rd European Conference on Biomaterials ESB2010 in CD-ROM, 3565. p.
13. Salma K., Berzina-Cimdina L. Wet chemical precipitation of hydroxyapatite for clinical application // International School of Crystallization Abstract Book, Spain, Granada, 24.-28. May, 2010. - pp 110-110.
14. Salma K., Borodajenko N., Pluduma L., Zalite V., Berzina-Cimdina L. Preparation and sintering behaviour of β -tricalcium phosphate // International Conference FM&NT „Functional materials and nanotechnologies 2010”, Book of abstracts, Latvia, Riga, 16.-19. March, 2010. - pp 60-60.
15. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N. Calcium Phosphate Bioceramics Prepared by Wet Chemical Precipitation Route // VIII Students' Meeting, Processing and Application of Ceramics, Serbia, Novi Sad, 2.-5. December, 2009. - pp 50-51.

16. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N., Irbe Z., Zalite V. Influence of Synthesis Conditions on Hydroxyapatite Prepared by Wet Chemical Precipitation Rout // Book of Abstracts International Baltic Sea Region Conference „Functional materials and nanotechnologies” FM & NT - 2009, Latvia, Rīga, 31.March-3. April, 2009. - pp 198-198.
17. Borodajenko N., Salma K., Berzina-Cimdina L. Characterization of calcium phosphate synthesis products by XRD. 11-th European Powder Diffraction Conference, Book of Abstracts EPDIC 11, 2008, p. 126.
18. Salma K., Borodajenko N., Plata A., Berzina-Cimdina L., Stunda A. Fourier Transform Infrared Spectra of Technologically Modified Calcium Phosphates, Abstracts of 14th Nordic-Baltic conference on biomedical engineering and medical physics, 2008, p.133.
19. Salma K., Berzina-Cimdina L., Stunda A., Skagers A. Influence of the technological parameters on the crystal structure of hydroxyapatite. Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, 2007, Suppl. 1(4), p.38.
20. Salma K., Berzina-Cimdina L., Stunda A., Skagers A. Influence on technological parameters at structure of calcium phosphates. A Supplement of the “BULLETIN DU G.I.R.S.S.O. (Groupement Internationale pour la Recherche Scientifique en Stomatologie et Odontologie), 2007, p. 34.

Mutiskie ziņojumi starptautiskās konferencēs:

1. Vecbiskena L., Irbe Z., Salma K., Berzina-Cimdina L. Preparation and Characterization of Mechanically Activated β -Tricalcium Phosphate for Bone Cement// Materials of the XIX-th International Baltic Conference, Materials Engineering & BALTRIB 2010, October 28.-29, 2010, Riga, Latvia.
2. Salma K., Pluduma L., Zalite V., Vecbiskena L., Mezmale L., Liga Berzina-Cimdina. Effect of synthesis temperature on characteristics of precipitated hydroxyapatite// RTU 51. International Scientific conference, October 12-16. 2010, Riga, Latvia.
3. Salma K., Berzina-Cimdina L., Mironova-Ulmane N., Borodajenko N., Zalite V., Pluduma L. Effect of Calcium Source Quality on the Physiochemical Properties of Hydroxyapatite Bioceramics// 23rd European Conference on

Biomaterials, The annual conference of the European Society for Biomaterials, September 11-15, 2010, Tampere, Finland .

4. Salma K., Irbe Z., Jakovlevs D., Borodajenko N., Berzina-Cimdina L. Comparison of biphasic calcium phosphate bioceramics fabricated using different techniques// Inter-Academia 2010, 9th International Conference on Global Research and Education, August 9-12, 2010, Riga, Latvia.
5. Salma K., Borodajenko N., Pluduma L., Zalite V., Berzina-Cimdina L. Preparation and sintering behaviour of β -tricalcium phosphate// International Conference FM&NT „Functional materials and nanotechnologies 2010”, March 16-19, 2010, Riga, Latvia.
6. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N. Calcium phosphate bioceramics prepared by wet chemical precipitation route// The Eighth Students' Meeting, SM-2009 „Processing and Application of Ceramics”, December 2-5, 2009.
7. Salma K., Bērziņa-Cimdiņa L., Borodajenko N., Plūduma L., Zālīte V. Hidroksilapatīta ķīmiskās nogulsnešanas sintēze uz dabīgu izejvielu bāzes// RTU 50. Starptautiskā zinātniskā konference, 2009.gada 14.-16.oktobris, Rīga, Latvija.
8. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N., Irbe Z., Pluduma L. Calcium phosphates for clinical application with variable phase composition: synthesis and characterization// 10th Joint symposium Rostock – Riga „Biomaterials And Bioengineering For Oral And Maxillofacial Surgery”, May 7–10, 2009, Riga, Latvia.
9. Salma K., Borodajenko N., Plata A., Berzina-Cimdina L., Stunda A. Fourier Transform Infrared Spectra of Technologically Modified Calcium Phosphates// 14-th Nordic-Baltic Conference on Biomedical Engineering and Medical Physics, June16 –20, 2008, Riga, Latvia.
10. Salma K., Berzina-Cimdina L., Stunda A., Skagers A. Influence on technological parameters at structure of calcium phosphates// European Cost Action B23, „Oral-Facial Regeneration and Development”, 31 May – 2 June, 2007, Castelldefels, Barcelona, Spain.

Stenda referāti starptautiskās konferencēs:

11. Pluduma L., Salma K., Berzina-Cimdina L. Characterization of HAp/TCP bioceramics with variable phase ratio// Third International NanoBio Conference 2010, August 24-27, 2010, Zurich, Switzerland.
12. Vecbiskena L., Irbe Z., Salma K., Berzina-Cimdina L. Characterization of Bone Graft Substitutes Prepared by Transformation of β -Tricalcium Phosphate to Hydroxyapatite in Aqueous Environment// Third International NanoBio Conference 2010, August 24-27, 2010, Zurich, Switzerland.
13. Salma K., Berzina-Cimdina L. Wet chemical precipitation of hydroxyapatite for clinical application// International School of Crystallization. „Crystallization Fundamentals. Crystallization Techniques”, May 24-28, 2010, Granada, Spain.
14. Salma K., Berzina-Cimdina L., Borodajenko N., Irbe Z., Zalite V. Influence of synthesis conditions on hydroxyapatite prepared by wet chemical precipitation route// International Baltic Sea Region Conference „Functional materials and nanotechnologies”. FM & NT – 2009, March 31 – April 3, 2009, Riga, Latvia.
15. Salma K., Berzina-Cimdina L. Calcium Phosphates for Clinical Application Prepared by Wet Chemical Precipitation Route// 3rd Marie Curie Cutting Edge Practical Training Course „Tissue engineering, stem cells and biocompatibility testing of biomaterials”, August 24 – September 3, 2009, Aachen, Germany.
16. Šalma K., Bērziņa-Cimdiņa L., Borodajenko N., Zālīte V., Plūduma L., Perederija T. Sintezēto kalcija fosfātu fāžu sastāva pētījumi// RTU 49. Starptautiskā zinātniskā konference, 2008.gada 13.-15.oktobris, Rīga, Latvija.
17. Borodajenko N., Salma K., Berzina-Cimdina L. Characterization of calcium phosphate synthesis products by XRD// 11-th European Powder Diffraction Conference, EPDIC 11, September 19-22, 2008, Warsaw, Poland.
18. Salma K., Berzina-Cimdina L., Stunda A., Skagers A. Influence of the technological parameters on the structure of hydroxyapatite// The 2nd Baltic Scientific Conference of Dentistry, November 8-10, 2007, Riga, Latvia.
19. Šalma K., Bērziņa-Cimdiņa L., Stunda A., Borodajenko N. Kalcija fosfātu sintēzes produktu īpašību atkarība no tehnoloģiskā procesa parametriem// RTU 48. Starptautiskā zinātniskā konference. Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte, 2007.gada 11.–13.oktobris, Rīga, Latvija.

20. Seržāne R., Bērziņa-Cimdiņa L., Šalma K., Šalma I. Porainas kalcija fosfātu keramikas 3D - struktūras bioloģisko šūnu pamatnēm// RTU 47. Starptautiskā zinātniskā konference. Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte, 2006.gada 12.–14.oktobris, Rīga, Latvija.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Kalcija fosfātu biomateriālu izstrādes nepieciešamība

2008.gadā biomateriālu produktu noieta tirgus tika novērtēts ar 25,5 biljoniem USD un biomateriālu ierīču noieta tirgus ar 115,4 biljoniem USD ar prognozējamu tirgus izaugsmi 252,7 biljoni USD 2014.gadā. Biomateriāli ortopēdiskam un stomatoloģiskam pielietojumam sastāda 55% no kopējā biomateriālu tirgus. Pasaules ortopēdisko biomateriālu tirgus ir audzis no 4,2 biljoni USD 2005.gadā līdz 5,4 biljoniem USD 2007.gadā (saskaņā ar Healthpoint Capital datiem).

Pacientu dzīves kvalitātes uzlabošanas iespēja ir svarīgākais faktors, kas stimulē biomateriālu tirgus izaugsmi. Citi būtiskākie tirgus stimulējošie faktori ir gados vecu cilvēku īpatsvara palielināšanās, pieaugošas zināšanas, produktu ātrāka nonākšana tirgū, kā arī plašākas pielietošanas iespējas. Uzlabotas ražošanas tehnoloģijas un jaunu produktu attīstība ar konkurētspējīgu cenu ir galvenais nosacījums biomateriālu pieprasījuma tirgus paplašināšanās iespējām nākotnē. ASV un Eiropa pārvalda lielāko daļu biomateriālu tirgus, kamēr Ķīna, Indija, Japāna, Brazīlija, Krievija un Rumānija izvērsī ļoti straujus attīstības tempus šajā nozarē [2].

Populācijas novecošanās un demokrātiska pieeja augsta riska sporta veidiem ir izraisījusi kaulu slimību un kaulu traumu skaitlisku pieaugumu. Tā rezultātā pēdējā desmitgadē ir būtiski pieaugusi kaulu implantmateriālu izmantošana. Katru gadu aptuveni diviem miljoniem pacientu visā pasaulē ir nepieciešama kaulu aizvietotājmateriālu implantācija kaulu defektu labošanai, kas radušies slimības vai traumas rezultātā. Šīs nozares attīstība skaidrojama arī ar citiem faktoriem: jaunu un pusmūža cilvēku piekrišana ķirurģiskām manipulācijām, tehnoloģiju un dzīves kvalitātes uzlabojums, lielāka izpratne par ķermeņa funkcionalitāti un estētiku. 2009.gadā ASV stomatoloģisko zobu implantmateriālu un citu biomateriālu tirgus sasniedza 210 miljonus USD [2-4].

„Zelta standarts” kaulu aizvietošanai ar implantmateriālu ir izmantot autotransplantātu, t.i., kaulu, kas paņemts no paša pacienta kādas ķermeņa daļas. Tomēr gan nepieciešamība pēc otrreizējas operācijas un donora vietas saslimšanas risks ir iemesls alternatīvu materiālu meklējumiem. Viena no alternatīvām ir izmantot allotransplantātu, t.i., speciāli apstrādāts kauls, kas iegūts no bojāgājuša vai miruša cilvēka vai pacienta. Taču abos gadījumos ir iespējams negatīvs rezultāts, šie materiāli var izraisīt imunoloģisku reakciju vai pat slimību pārvešanu, piemēram, HIV

pārņemšanu [5]. Tomēr allotransplantātus ir iespējams apstrādāt, lai iegūtu vēlamo ģeometriju vai īpašības, piemēram, demineralizēts kauls modulējamas pastas veidā. Citas kompānijas ierosina izmantot deproteinizētu cilvēka kaulu, lai samazinātu bioloģisko risku, kas saistīts ar organisko vielu klātbūtni. Līdzīga pieeja ir attiecināma arī uz ksenotransplantātiem, t.i., kaula materiāliem, kas paņemti no dzīvniekiem. Piemēram, liellopa kaulu var deproteinizēt („BioOss” produkts) vai apdedzināt virs 1000°C, lai pilnībā atbrīvotu no kaula organiskās daļas („Endobon” produkts). Taču uz nākotni orientēta pieeja ir attīstīt sintētiskus kaulu implantmateriālus ar uzlabotām ķīmiskām un bioloģiskām īpašībām [5].

Pētnieciskais darbs gandrīz vienmēr ir cieši saistīts ar komerciāliem mērķiem, ir svarīgi apzināt, cik liels ir kaulu implantmateriālu tirgus. Kaulu aizstājējamateriālu tirgus apgrozījums ir vērtējams ar 1 miljonu USD gadā ar ikgadēju tirgus pieaugumu tuvu 10%. Kaulu implantmateriāla 1 g cena ir aptuveni 100 USD, līdz ar to katru gadu saražoto produktu apjoms ir relatīvi neliels – ~ 10 tonnas [2]. Starp pasaules ekonomiskajiem reģioniem (Z-Amerika, Eiropa, Āzija) ir novērojamas būtiskas kaulu implantmateriālu tirgus (cena, apgrozījums un tirgus pieaugums) un produktu atšķirības. Jaunu kaulu implantmateriālu meklējumi, kas būtu klīniski efektīvāki par autotransplantātiem, ir galvenais ražotāju stimuls šajā strauji augošajā tirgū, saskaņā ar Frost&Sullivan (F&S) pārskatu. Sintētiskie kaulu implantmateriāli ir tikai 15% no kopējā kaulu implantmateriālu tirgus, toties tādu materiālu tirgus attīstības tempi ir daudzkārt straujāki (tuvu 15% ik gadu) [2].

Pasaulē katru gadu tiek veiktas aptuveni 1 miljons iegurnā, mugurkaula un citu ķermeņa ekstremitāšu kaulu aizvietošanas procedūru. Kaulu un locītavu slimību lielais īpatsvars, kā arī korpulences, diabēta un vēža izraisītie ortopēdiskie bojājumi ir galvenie faktori, kas ietekmē cilvēka skeleta veselības stāvokli un kuri sekmē kaulu implantmateriālu izmantošanu. Traumu, slimību un disfunkciju gadījumā bieži ir nepieciešama ķirurģiska labošana vai aizvietošana. Ja pacientam ir locītavu sāpes, svarīgākais uzdevums ir atbrīvot pacientu no sāpēm un palīdzēt atgūt veselīgu un funkcionālu dzīvesveidu. Bieži vien ir nepieciešamība aizvietot kādu noteiktu skeleta daļu, kas ietver ceļus, gūžas, pirkstu locītavas, elkoņus, skriemeļus, zobus un apakšžokli [6].

1.2. Kalcija fosfātu kā biomateriālu vispārīgs raksturojums

Biomateriāli ir saīsinājums no jēdziena „bioloģiski saderīgi materiāli”, kurus var definēt kā sintētiskas vai dabiskas izcelsmes materiālus dažādu organisma sistēmas daļu aizvietošanai vai funkciju veikšanai ciešā kontaktā ar dzīvajiem audiem. Biomateriāli saskarsmē ar dzīvajiem audiem var būt gan dzīvotspējīgi, gan dzīvotnespējīgi [7, 8].

Šobrīd gandrīz visi biomateriālu klases pārstāvji galvenokārt ir biomimētiskie materiāli – sintētiskas matricas ar sastāvu un īpašībām, kas līdzīgas bioloģiskiem materiāliem. Kalcija fosfātu biomateriālu klases pārstāvis - hidroksilapatīts (HAp), kuru izmanto mākslīgo gūžas endoprotēžu pārklāšanai, ir viens no raksturīgākajiem biomimētikas, piemēriem, kas veicina implanta piesaistīšanos pie dzīvajiem audiem [5].

Galvenā motivācija izmantot kalcija fosfātus kā kaulu aizvietotājmateriālus, ir šo materiālu ķīmiskā līdzība ar zīdītāju kaulu un zobu neorganisko sastāvdaļu. CaP ir netoksiski, biosaderīgi, uzrāda bioaktivitāti un integrējas dzīvajos audos, aktivējot veselu kaulaudu reģenerācijas procesu. Tāda veida integrācija sekmē ciešas fizioloģiskās saites veidošanos starp implantu un kaulu (osteointegrāciju). CaP ir definēti kā osteokonduktīvi materiāli, t.i., materiāli, kas spējīgi nodrošināt pamatni jaunu kaulaudu veidošanai, kā arī sekmēt osteoblastu adhēziju un proliferāciju [7, 8].

Galvenie ierobežojumi šo materiālu, precīzāk, CaP biokeramikas izmantošanai organisma slogotās vietās ir saistīti ar tās mehāniskajām īpašībām – tā ir ļoti trausla ar zemu slodzes izturību. Zemas mehāniskās īpašības ir vairāk raksturīgas porainai CaP biokeramikai un šūnu pamatnēm, jo porainība virs ~ 100 μm ir nepieciešama vaskularizācijai un kaulu šūnu kolonizācijai. Tādēļ CaP visbiežāk izmanto kā pildmateriālus un pārklājumus, ņemot vērā, ka CaP materiālus nevar izmantot lielu kaula defektu labošanai [4, 6].

CaP biokeramikas medicīniskā pielietojuma diapazons ir ļoti plašs, to iespējams pielietot gandrīz jebkurā vietā skeleta sistēmā. Šis pielietojums ietver kaulu defektu labošanu, lūzumu ārstēšanu, pilnīgu locītavu aizvietošanu, ortopēdiju, galvaskausa, mutes, sejas un žokļu rekonstrukciju, otolaringoloģiju un muguras ķirurģiju. Atkarībā no tā, vai ir nepieciešams bioresorbējošs vai biokatīvs materiāls, tiek izmantoti dažādi kalcija fosfāti [4, 6, 7, 8, 9, 10].

Kontrolējot struktūru un sastāvu, bija iespējams izvēlēties bioloģiski stabilu CaP biokeramiku, kas iekļaujas skeleta struktūrā, vai arī resorbējošu biokeramiku. 21.gs. CaP biokeramikai izvirzīta jauna koncepcija – nodrošināt kaulaudu reģenerācijas procesu. Pašreiz CaP biokeramiku ir iespējams izmantot gūžu, ceļu, zobu, cīpslu, muskuļu saišu aizvietošanai, kā arī periodontālu abscesu labošanai, mutes, sejas un žokļu rekonstrukcijai, žokļa kaula palielināšanai un stabilizācijai, mugurkaula korekcijai un kaulu aizpildīšanai pēc audzēja operācijas [11]. Potenciālais un daudzsološais CaP biokeramikas pielietojums ietver zāļu piegādes sistēmas, kā arī efektīvus augšanas faktoru, bioaktīvu peptīdu un/vai dažādu šūnu tipu nesējus audu inženierijā [9, 10].

1.2.1. Komerčiāli pieejamie kalcija fosfātu biomateriāli

Pieejamās literatūras dati liecina, ka pirmie mēģinājumi, izmantot kalcija fosfātus kā mākslīgus materiālus kaulu defektu labošanai trušiem, tika īstenoti 1920.gadā. Albee un Morrison ziņoja par „trīskārša kalcija fosfāta” izmantošanu kaulu augšanas stimulēšanai [12]. Iespējams tās bija pirmās zinātniskās studijas CaP izmantošanai kaulu defektu labošanai. 1951.gadā Ray un Ward novērtēja sintētisko HAp granulu efektivitāti ķirurģisku defektu labošanai suņu un kaķu kaulos [12]. Tajā pašā 1920.gadā Albee ziņoja par pirmo CaP biokeramikas veiksmīgo medicīnisko pielietojumu cilvēkos un Nery ar līdzautoriem paziņoja par šīs biokeramikas pirmo stomatoloģisko pielietojumu dzīvniekos [11, 12]. Vairāk kā 50 gadus vēlāk CaP pirmo reizi izmantoja stomatoloģijā periodontālu defektu labošanai, t.sk., blīvu HAp cilindru izmantošana zobu sakņu aizvietošanai.

HAp biokeramikas komercializēšana stomatoloģiskam un ķirurģiskam pielietojumam notika 20.gs. 80.gados, galvenokārt ar tādu pionieru centieniem, kā Jarcho, de Groot, Aoki. Tādā veidā HAp biokeramika kļuva kā galvenais atsauksmes materiāls kalcija fosfātu biomateriālu laukā. Aptuveni tajā pašā laika periodā tika izstrādāti apatīti, kas iegūti no jūras koraļļiem un liellopu kauliem [7, 8].

Līdz ar lielo pieprasījumu pēc kaulu aizstājējmateriāliem, mūsdienās piedāvātais komerciālo kalcija fosfātu klāsts ir ļoti plašs. Biomateriālu tirgū ir pieejami dažādas formas un ķīmiskā sastāva komerciālie CaP materiāli stomatoloģiskam un ortopēdiskam pielietojumam. Parasti komerciālie CaP produkti ir pieejami keramisko pulveru, granulu, monolītu matricu, bloku vai pastu veidā. Lai izvēlētos labāko un

piemērotāko komerciālo produktu konkrēta pacienta individuālai izmantošanai, ir labi jāorientējas plašajā ražotāju piedāvātajā klāstā. Pazīstamāko ražotāju komerciālie CaP biomateriāli apkopoti 1.2.1. tabulā [6, 7].

1.2.1. tabula

Pasaulē vadošo ražotāju komerciāli pieejami CaP produkti

CaP	Prečzīme un ražotājs
CDHAp	Cementek (Teknimed, Francija)
Sintētisks HAp	Apaceram TM (Pentax Corp., Japāna) Calcitite® (Calcitek, ASV) Bonofil (Mitsubishi Materials Corp., Japāna) Bonetite (Mitsubishi Materials Corp., Japāna) Boneceram (Sumitomo Osaka Cement Co., Japāna) Ostegraf® (Ceramed, ASV) Ceratipite (Ceraver, Francija) Synatite (SBM, Francija) Ostim® (Heraeus Kulzer, Vācija) Bioroc® (DePuy-Bioland, Francija)
Sintētisks HAp (neapdedzināts)	Osteogen® (Impladent, ASV) Ostim® (Heraeus Kulzer, Vācija)
HAp/polimēra kompozīts	HAp/polietilēna kopm. - HAPEX® (Gyrus, ASV) CHAp/kolagēns - Healos TM (Orquest Inc., ASV)
HAp/minerāla kompozīts	HAp/CaSO ₄ – Hapset® (Lifecore, ASV)
Koraļļu HAp	Interpore®200 (Interpore Int., ASV) ProOsteon®200 (Interpore Int., ASV) ProOsteon®500 (Interpore Int., ASV) Prosteon TM 200R (Interpore Int., ASV) ProOsteon TM 500R (Interpore Int., ASV)
No aļģēm iegūts HAp	Algipore® (Dentsply Friadent, Vācija)
Liellopa kaula apatīts (neapdedzināts)	Tutoplast (IOP, ASV) Lubboc (Ost-Developpement, Francija) Laddec (Ost-Developpement, Francija) Oxbone (Bioland biomateriaux, Francija) BioOss® (EdGeitslich, Šveice)
Liellopa kaula apatīts (apdedzināts)	Endobon® (Merck, Vācija) PepGen P-15 (Dentsply Friadent, Vācija) Cerabone (aap Implantate, Vācija) Osteograf®-N (Ceramed, ASV) Trubone® (Japāna)
β-TCP	Bioresorb (Sybron Implant Solutions, Vācija) Biosorb (SBM S.A., Francija) Calciresorb (Ceraver, Francija) ChronOS (Synthes, ASV) Ceros (Thommen Medical, Šveice) Cerasorb (Curasan, Vācija)

	Conduit (DePuy Spine, ASV) JAX (Smith and Nephew Orthopaedics, ASV) Graftys BCP (Graftys, Francija) Osferion (Olympus Terumo Biomaterials, Japāna)
BCP (HAp + β-TCP)	MBCP® (Biomatlante, Francija) 60/40, 20/80 Tribone 80® (Strycker Europe) 20/80 Triosite® (Zimmer, ASV) 60/40 Ceraform (Teknimed, Francija) Biosel (Depuy Bioland, Francija) TCH (Kasios, Francija) Calciresorb (Ceraver, Francija) Osteosynt® (Einco, Brazīlija) 60/40 4Bone® (MIS, Izraēla) 60/40 Kainos (Signus, Vācija) SBS (Expanscience, Francija) Eurocer 400® (Depuy-Bioland, Francija) 55/45 Eurocer 200® (Depuy-Bioland, Francija) 65/35 OptiMX® (Exactech, ASV) 60/40 BCP (Medtronic, ASV) Hatric (Arthrex, Naples, ASV)
BCP kompozīti	Allograft (Zimmer, ASV) <i>BCP/kolagēns</i> MBCP Gel® (Biomatlante, Francija) <i>BCP/HPMC</i> Tricos® (Baxter BioSciences BioSurgery) <i>BCP/fibrīns</i> FlexHA (Xomed, ASV) <i>BCP/silikons</i>
BCP (HAp + α-TCP)	Skelite (Millennium Biologix, Kanāda)
Karbonātapatīts	Healos (Orquest, ASV)

Prakse rāda, ka ne vienmēr iegādātie CaP materiāli, pārsvarā komerciālie CaP izejmateriāli, atbilst tām īpašībām un kvalitātei, kuru norāda ražotājs. Bieži vien, ražotāju sniegtā informācija par piedāvāto produktu ir nepilnīga vai neprecīza, tādējādi apgrūtinot CaP izejmateriālu izmantošanu implantu izstrādei. Parasti CaP izejmateriālu nepilnības - neprognozējams īpašību spektrs pēc augsttemperatūras apstrādes (kristālisko fāžu sastāvs un tīrība, ķīmiskais sastāvs, termiskā stabilitāte u.c.) tiek atklātas pēc gatava implantmateriāla augsttemperatūras apstrādes.

Jau vairākus gadus RTU Rīgas Biomateriālu inovāciju un attīstības centrā tiek veikti apjomīgi dažādu komerciālo CaP izejmateriālu īpašību pētījumi (piemēram, I.Vuškarnieces bakalaura darbs „Komerciālo kalcija fosfātu izmantošana biokeramikas ieguvei” 2007.g., vad. L.Bērziņa-Cimdiņa), kuri apliecina, ka ražotāju sniegtā informācija par produkta īpašībām ir izteikti nepilnīga vai nesakrīt ar analīžu rezultātos iegūto informāciju.

Īpaši nozīmīga CaP izejmateriālu kvalitāte ir CaP biomateriālu un biokeramikas implantmateriālu ražotājiem, kas jau no gataviem CaP bāzes materiāliem veido augstas pievienotās vērtības komerciālos produktus, kas ir piemēroti lietošanai, kā piemēram, šūnu pamatnes audu inženierijā, porainas matricas zāļu piegādes sistēmām, keramiskie pārklājumi uz implantu virsmas utt. Tieši tādēļ viens no šī darba mērķa argumentiem bija izstrādāt CaP bāzes materiālu iegūšanas tehnoloģiju ar prognozējamu un atkārtojamu īpašību spektru.

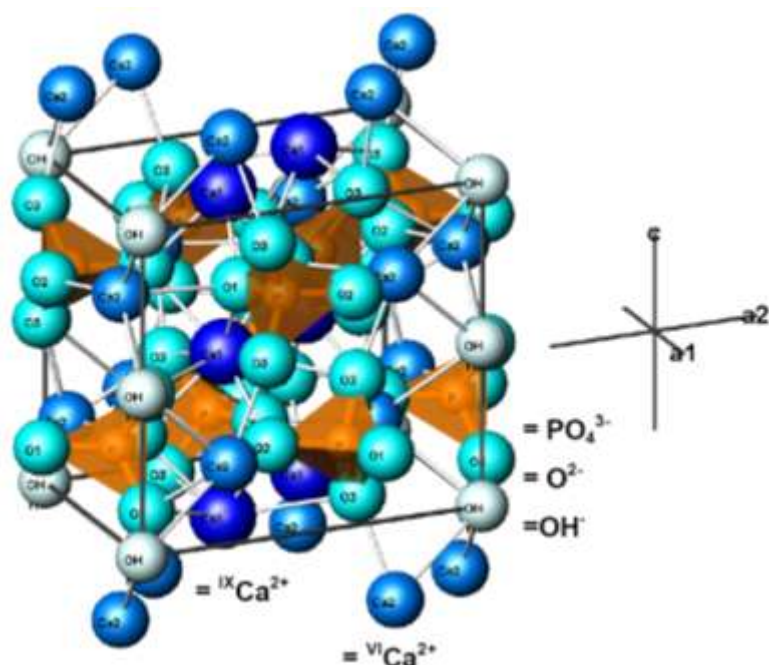
1.2.2. Kalcija fosfātu materiālu klases vispārīgs raksturojums

Kalcija fosfāti (CaP) ir ķīmiski savienojumi, par kuriem joprojām ir liela interese daudzās interdisciplinārās zinātnes nozarēs, ieskaitot ģeoloģiju, ķīmiju, bioloģiju un medicīnu. Pēc literatūras datiem pirmos mēģinājumus atklāt CaP unikālo ķīmisko sastāvu veica J.Berzelius 19.gs. vidū. Tomēr pirmās sistemātiskās studijas par CaP tika veiktas F.K.Cameron un H.Basset vadībā 20.gs. sākumā. Abi zinātnieki strādāja ar dažādiem kalcija fosfātu ķīmiskajiem savienojumiem, kuri līdz tam tika saukti par apatītiem [4]. CaP šķīdību un līdzsvara fenomenu saistībā ar cieto audu pārkalķošanās procesu sāka pētīt jau 1925.gadā [4].

Pēc definīcijas visi CaP sastāv no trīs pamatelementiem kalcija (oksidācijas pakāpe +2), fosfora (oksidācijas pakāpe +5) un skābekļa (oksidācijas pakāpe -2). Daudzu CaP sastāvā ir iekļauts ūdeņradis kā daļa no skābā ortofosfāta anjona ((HPO_4^{2-}) vai $(\text{H}_2\text{PO}_4^-)$), hidroksīds (piemēram, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) un/vai ūdens ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Dažādas CaO un P_2O_5 kombinācijas (ar/bez ūdens) veido plašu CaP klāstu, kas atšķiras pēc fosfāta anjona veida; orto- (PO_4^{3-}), meta- (PO_3^-), piro- ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) un poli- ($(\text{PO}_3)_n^{n-}$). Ņemot vērā, ka CaP var būt multiuzlādēti anjoni (ortofosfāti un pirofosfāti), tos var iedalīt arī pēc anjonam piesaistīto ūdeņraža jonu skaita, piemēram, mono- ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$), di- (CaHPO_4), tri- ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) un tetra- ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) kalcija fosfāti [4].

Kalcija fosfātu atomu izvietojums ir sakārtots apkārt ortofosfāta $[\text{PO}_4]$ grupu sistēmai, kas nodrošina pilnīgu struktūras stabilitāti. HAp kristālu struktūra sastāv no $[\text{PO}_4]$ grupu tetraedru pamatnes. Atkarībā no $[\text{OH}]$ grupu izkārtojuma, HAp ieņem monoklīno vai heksagonālo struktūru. Gaisa atmosfērā HAp ieņem monoklīno (P21/b) un pie 250°C heksagonālo (P6₃/m) telpisko struktūru. Jāatzīmē, ka bioloģiskais apatīts (mugurkaulnieku cieto audu neorganiskā daļa) kaulu un zobu sastāvā ir ar

heksagonālu struktūru, bet emaljas sastāvā – ar monoklīnu struktūru [13]. Ņemot vērā HAp kristāliskā režģa parametrus ($a = 0.95 \text{ nm}$, $c = 0.68 \text{ nm}$) un tā simetriju (heksagonāla, $P6_3/m$), visticamāk tā elementāršūna ir orientēta c ass virzienā (1.2.1. att.) [14, 15]. Tas apstiprinātu faktu par bioloģiskā apatīta kristālu orientētu augšanu c ass virzienā un adatveida morfoloģiju. Līdz ar to HAp uzrāda tādas īpašības kā biosaderība, bioaktivitāte, osteokonduktivitāte, tieša saistīšanās ar kaulu u.c. [15]. Režģa elementāršūnā (Ca^{2+}) joni atrodas divās pozīcijās: heksagonālais un kolumnārais kalcijs. Heksagonālie (Ca^{2+}) ir saistīti ar (OH^-) joniem, veidojot vienādsānu trīsstūrus, kas centrēti perpendikulāri $[\text{OH}]$ grupu kolonnām. Seši $[\text{PO}_4]$ grupu tetraedri arī atrodas šajās plaknēs. Kolumnārie (Ca^{2+}) joni ir izvietoti režģa punktos.



1.2.1. att. Hidroksilapatīta kristālstruktūra, kas projicēta perpendikulāri c assij [14]

Kalcija fosfātus var klasificēt 3 strukturālos tipos:

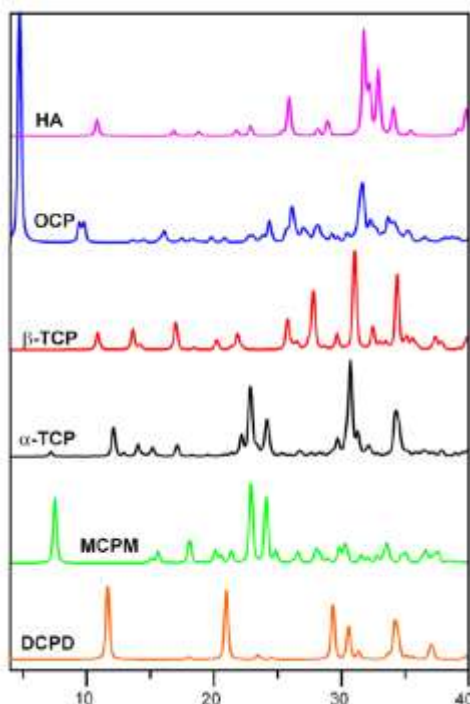
- 1) Apatīta tips, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$, kas ietver hidroksilapatīta ($\text{X} = \text{OH}^-$) un fluorapatīta ($\text{X} = \text{F}^-$) vai hlorapatīta ($\text{X} = \text{Cl}^-$) atvasinājumus, kā arī pie apatīta tipa struktūras pieskaitāms oktakalcija fosfāts (OCP, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) un tetrakalcija fosfāts (TTCP, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$);
- 2) Glazerīta tips, kas ietver visus trikalciya fosfāta (TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) 4 polimorfās modifikācijas: α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α -TCP) fāze, kas stabila $1125^\circ\text{C} - 1470^\circ\text{C}$ intervālā, bet

metastabila zem 1125°C; α' -TCP fāze stabila virs 1470°C; β -Ca₃(PO₄)₂ (β -TCP) stabila līdz 1125°C un β' -TCP fāze ir stabila augstākā temperatūrā;

3) Ca-PO₄ slāņus saturoši savienojumi, kas ietver kalcija hidrogēnfosfāta dihidrātu (DCPD, CaHPO₄·2H₂O), kalcija hidrogēnfosfātu bezūdens (DCPA, CaHPO₄), kā arī kalcija dihidrogēnfosfāta monohidrātu (MCPM, Ca(H₂PO₄)₂·H₂O) un kalcija dihidrogēnfosfātu bezūdens (MCPA, Ca(H₂PO₄)₂).

1.2.3. Kalcija fosfātu klases nozīmīgāko pārstāvju raksturojums

Ternārajās sistēmās Ca(OH)₂ - H₃PO₄ - H₂O (vai CaO - P₂O₅ - H₂O) ir zināmi vienpadsmit kalcija fosfāti ar Ca/P molāro attiecību no 0.5-2.0, kas uzskaitīti 1.2.2. tabulā [4, 10, 11, 16]. Šo CaP kristalogrāfiskie dati, kā arī rentgenstaru difrakcijas (XRD) ainas atspoguļotas atbilstoši 1.2.3. tabulā un 1.2.2. attēlā [4, 10, 11, 16]. Dažu CaP fāžu režģa parametri ir ļoti līdzīgi, sekmējot rentgenstaru difrakcijas maksimumu pārklāšanos, līdz ar to apgrūtinot XRD ainu interpretāciju.



1.2.2. att. Izplatītāko kalcija fosfātu rentgenstaru difrakcijas ainas (uzņemtas ar Cu K α starojumu $\lambda = 0.15418$ nm)

1.2.2. tabula

Nozīmīgāko kalcija fosfātu nomenklatūra

Ca/P molārā attiecība	Savienojums	Ķīmiskā formula	Šķīdība ūdenī 25°C, -log(K _s)	Šķīdība ūdenī 25°C, g/L	Šķīduma pH diapazons, kurā savienojums ir stabilš 25°C
0.5	Kalcija dihidrogēnfosfāta monohidrāts (MCPM)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	1.14	~ 18	0.0 - 2.0
0.5	Kalcija dihidrogēnfosfāts bezūdens (MCPA)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.14	~ 17	[c]
1.0	Kalcija hidrogēnfosfāta dihidrāts (DCPD), minerāls brušīts	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	6.59	~ 0.088	2.0 – 6.0
1.0	Kalcija hidrogēnfosfāts bezūdens (DCPA), minerāls monetīts	CaHPO ₄	6.90	~ 0.048	[c]
1.33	Oktakalcija fosfāts (OCP)	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ ·5H ₂ O	96.6	~ 0.0081	5.5 – 7.0
1.5	α-Trikalcija fosfāts (α-TCP)	α-Ca ₃ (PO ₄) ₂	25.5	~ 0.0025	[a]
1.5	β-Trikalcija fosfāts (β-TCP)	β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	28.9	~ 0.0005	[a]
1.2-2.2	Amorfais kalcija fosfāts (ACP)	Ca _x H _y (PO ₄) _z ·nH ₂ O, n=3-4.5; 15-20% H ₂ O	[b]	[b]	~5 – 12 ^[d]

1.5-1.67	Hidroksilapatīts ar kalcija deficītu (CDHAp) ^[e]	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)	~ 85.1	~ 0.0094	6.5 - 9.5
1.67	Hidroksilapatīts (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	116.8	~ 0.0003	9.5 - 12
1.67	Fluorapatīts (FAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	120.0	~ 0.0002	7 - 12
2.0	Tetrakalcija fosfāts (TTCP), minerāls hilgenstokīts	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	38 - 44	~ 0.0007	[a]

^[a]Šos savienojumus nevar izgulsnēt no šķīdumiem.

^[b]Nav iespējams precīzi izmērīt, literatūrā atrodami sekojoši dati: 25.7 ± 0.1 (pH = 7.40), 29.9 ± 0.1 (pH = 6.00), 32.7 ± 0.1 (pH = 5.28).

^[c]Stabils temperatūrā virs 100°C.

^[d]Vienmēr metastabilā stāvoklī.

^[e]Literatūrā sauc arī par nogulsnētu HAp.

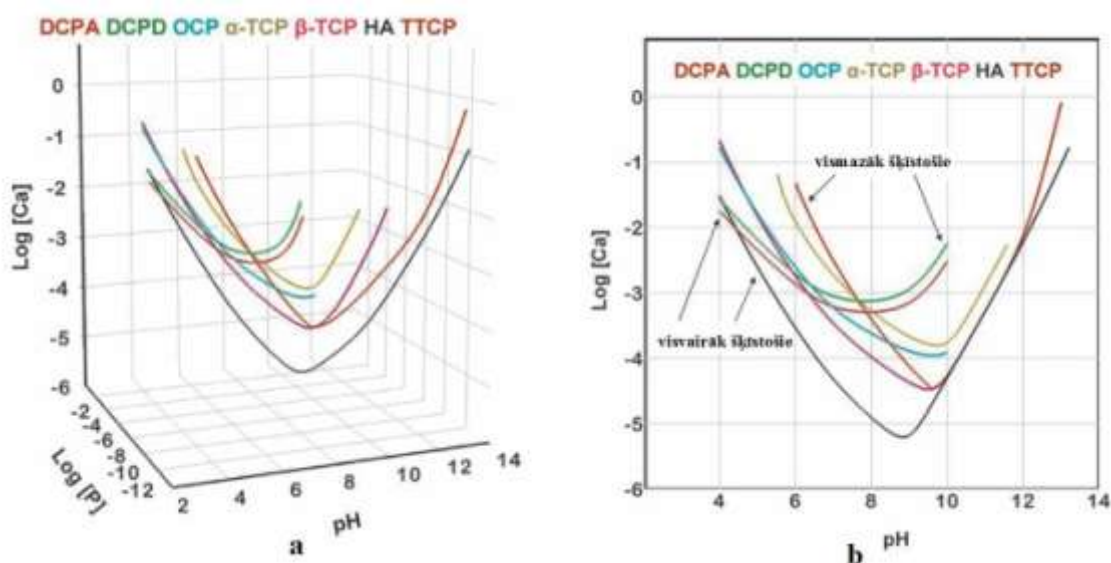
^[f]Ja Ca/P molārā attiecība ir 1.5 ($x = 1$), tad CDHAp ķīmiskā formula ir $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$.

CaP kristalogrāfiskie dati

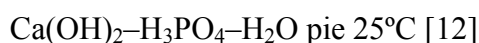
Savienojums	Telpiskā struktūra	Elementāršūnas parametri	Blīvums
MCPM	triklīna	$a = 5.6261(5)$, $b = 11.889(2)$, $c = 6.4731(8)$ Å, $\alpha = 98.633(6)^\circ$, $\beta = 118.262(6)^\circ$, $\gamma = 83.344(6)^\circ$	2.23
MCPA	triklīna	$a = 7.5577(5)$, $b = 8.2531(6)$, $c = 5.5504(3)$ Å, $\alpha = 109.87(1)^\circ$, $\beta = 93.68(1)^\circ$, $\gamma = 109.15(1)^\circ$	2.58
DCPD	monoklīna	$a = 5.812(2)$, $b = 15.180(3)$, $c = 6.239(2)$ Å, $\beta = 116.42(3)^\circ$	2.32
DCPA	triklīna	$a = 6.910(1)$, $b = 6.627(2)$, $c = 6.998(2)$ Å, $\alpha = 96.34(2)^\circ$, $\beta = 103.82(2)^\circ$, $\gamma = 88.33(2)^\circ$	2.89
OCP	triklīna	$a = 19.692(4)$, $b = 9.523(2)$, $c = 6.835(2)$ Å, $\alpha = 90.15(2)^\circ$, $\beta = 92.54(2)^\circ$, $\gamma = 108.65(1)^\circ$	2.61
α-TCP	monoklīna	$a = 12.887(2)$, $b = 27.280(4)$, $c = 15.219(2)$ Å, $\beta = 126.20(1)^\circ$	2.86
β-TCP	romboedriska	$a = b = 10.4183(5)$, $c = 37.3464(23)$ Å, $\gamma = 120^\circ$	3.08
HAp	monoklīna vai heksagonāla	$a = 9.84214(8)$, $b = 2a$, $c = 6.8814(7)$ Å, $\gamma = 120^\circ$ (monoclinic); $a = b = 9.4302(5)$, $c = 6.8911(2)$ Å, $\gamma = 120^\circ$ (hexagonal)	3.16
FAp	heksagonāla	$a = b = 9.367$, $c = 6.884$ Å, $\gamma = 120^\circ$	3.20
TTCP	monoklīna	$a = 7.023(1)$, $b = 11.986(4)$, $c = 9.473(2)$ Å, $\beta = 90.90(1)^\circ$	3.05

Visi ķīmiski tīrie CaP ir kristāliskas vielas baltā krāsā, kamēr dabīgie kalcija fosfāta minerāli vienmēr ir krāsaini, jo to sastāvā ir dažādi piemaisījumi, tādi kā Fe, Mn, un retzemju elementi.

Svarīgākie CaP raksturojošie parametri ir Ca/P molārā attiecība, bāziskums/skābums un šķīdība. Šie parametri korelē ar šķīduma pH. Jo zemāka Ca/P molārā attiecība, jo skābāka un ūdenī šķīstošāka ir kalcija fosfāta fāze. Augsta šķīdības pakāpe ir raksturīga skābiem Ca/P savienojumiem, tādiem kā MCPM, bet zema šķīdības pakāpe – bāziskiem CaP, tādiem kā apatīti. Dažādu CaP šķīdības izoterma parādītas 1.2.3. attēlā.



1.2.3. att. Fāžu šķīdības diagrammas (a - 3D, b - 2D) ternārai sistēmai



Fāžu šķīdības diagrammās parādītas dažādu CaP šķīdības līknes (šķīdības izoterma). Katra izoterma raksturo CaP šķīdību, kas izteikta ar kalcija jonu un fosfora jonu koncentrāciju piesātinātā šķīdumā kā funkciju no pH (skat. 1.2.3. a att.). CaP, kuru izoterma diagrammā atrodas zemāk par citām, ir mazāk šķīstoši (termodinamiski vairāk stabili). Šajās diagrammās konstatējams, ka HAP ir vismazāk šķīstoša CaP fāze, bet 1.2.3. b attēlā - TTCP un DCPD ir divi visšķīstošākie CaP pie pH vērtībām $7.6 < \text{pH} < 7.6$. Salīdzinājumam, DCPA un HAP ir divi vismazāk šķīstoši CaP pie pH vērtībām $4.4 < \text{pH} < 4.4$.

Tomēr klasiskie CaP šķīdības izoterma dati bieži vien ir neatbilstoši, kas skaidrojams ar vienkāršotu un aptuvenu šķīdības aprēķināšanu. Izmantojot pilnīgu

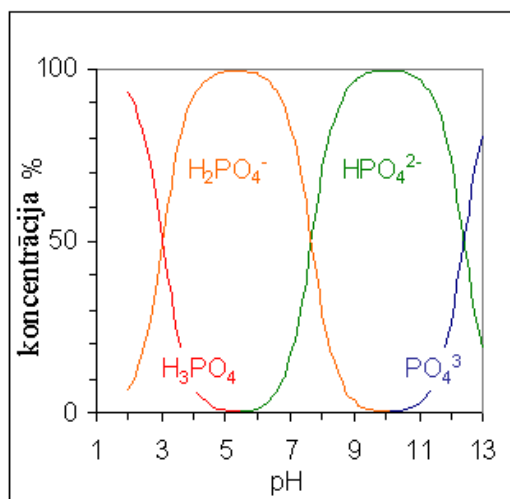
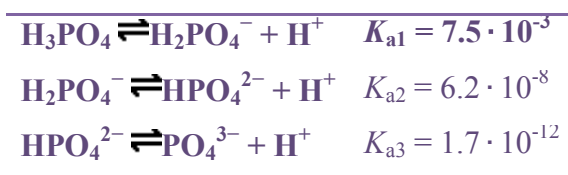
cietas vielas titrēšanas metodi, noteikts, ka HAp šķīdības izoterma atrodas daudz zemāk nekā atspoguļots iepriekš parādītajās diagrammās [4].

Ir noteikts, ka daudzu CaP kristalizācija ietver metastabilas prekursora fāzes veidošanos, kas izšķīst, sākoties nogulsņēšanas reakcijai. Šo komplekso strupfāzi var izgulsnēt kristalizācijas procesā. Vismazāk šķīstošā HAp fāze galvenokārt veidojas neitrālā vai bāziskā vidē. Daudz skābākos šķīdumos parasti veidojas brušīts (DCPD) un oktakalcija fosfāts (OCP). Pat ideālos HAp nogulsņēšanas apstākļos, nogulsnētais produkts ir nestehiometrisks apatīts ar kalcija deficītu (CDHAp) [16].

Nemot vērā, ka fosfātus saturošā šķīdumā ir trīspakāpju disociācija jonus, pH variācijas izmaina fosforskābes 4 protonēto formu relatīvās koncentrācijas šajā šķīdumā (1.2.4. tab., 1.2.4. att.), kā rezultātā izmainās CaP kristālu ķīmiskais sastāvs un daudzums, kas veidojas nogulsņēšanas rezultātā [4, 10]. Piemēram, sāls ar (H_2PO_4^-) protonēto formu var izkristalizēties no šķīduma, kura pH ir 5.5, bet sāls ar (HPO_4^{2-}) protonēto formu - pie pH 10.

1.2.4. tabula

Fosforskābes protonēto formu šķīdības konstantes [56]



1.2.4. att. Fosforskābes šķīduma jonu koncentrāciju atkarība no pH

Pēc šķīdības izotermām var spriest, kādā secībā CaP visātrāk sadalīsies *in vivo* apstākļos:



1.2.4. Ar joniem aizvietoti kalcija fosfāti

Ļoti stabilā un elastīgā apatīta struktūra ir cēlonis dažādu katjonu un anjonu iekļaušanai tās struktūrā [17]. Apatīti ir strukturāla tipa savienojumi ar vispārēju formulu $M_{10}(XO_4)_6Y_2$, kuriem kristālrežģī ir iespējamās dažādas aizvietoto jonu un grupu modifikācijas un kombinācijas. Tomēr galvenokārt termins „apatīti” tiek lietots, lai apzīmētu kalcija fosfātus, $Ca_{10}(PO_4)_6X_2$, kur $X = (OH^-)$ (hidroksilapatīts, HAp), (F^-) (fluorapatīts, FAp), (Cl^-) (hlorapatīts, ClAp). (X^-) jonu pozīcijas apatītos vai tā sauktie „X jonu kanāli” var tikt aizvietoti arī ar (Br^-) , (CO_3^{2-}) un (O_2^-) joniem vai ar vakancēm, vai dažādām kombinācijām. (Ca^{2+}) jonus ir iespējams aizvietot ar dažādiem katjoniem: monovalentiem (Na^+ , K^+), divalentiem (Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}) un trivalentiem (Y^{3+} , Al^{3+}) katjoniem. (PO_4^{3-}) jonus var aizvietot ar (CO_3^{2-}) , $(H_2PO_4^-)$, (HPO_4^{2-}) , (SiO_4^{4-}) , (VO_4^{3-}) , (AsO_4^{3-}) un (SO_4^{2-}) anjoniem [5, 17, 18]. Ar fluorīdiem aizvietotie apatīti ir mazāk šķīstoši kā sintētiskie un bioloģiskie apatīti [8].

Pateicoties līdzībai ar biomineralizēto audu neorganisko fāzi, kalcija fosfāti raksturojas ar izcilu biosaderību un bioaktivitāti, kas sekmē šo materiālu plašu izmantošanu kā biomateriālu cieto audu aizvietošanai un rekonstrukcijai. Interese ir ne tikai par HAp, bet arī par resorbējošiem CaP, tādiem kā ACP, α -TCP, β -TCP, OCP un DCPD, kuri organismā viegli transformējas par nanokristālisku apatītu - bioloģisko apatītu [9, 19, 20, 21]. Bioloģiskā apatīta nukleācija un augšana bioloģiskajās sistēmās notiek ar joniem bagātā vidē, kuri var ietekmēt gan kinētiku, gan kristalizācijas termodinamiku, kā arī CaP relatīvo stabilitāti. Jonu iekļaušana CaP struktūrā ir svarīga vairāku iemeslu dēļ, ieskaitot labāku izpratni par biomineralizācijas procesu, nogulsnētā bioloģiskā apatīta īpašību kontroli, materiāla bioaktivitātes paaugstināšanu un jonu piegādi, kas spējīgi iedarboties uz kaulu slimībām.

CaP ir īpaša nozīme bioloģiskajā sistēmā kā galvenajai mugurkaulnieku cieto audu komponentei. Visu mugurkaulnieku kauli un zobi ir dabīgie kompozītmateriāli, kuros pamatkomponente ir neorganiska viela, karbonāthidroksilapatīts jeb bioloģiskais apatīts. Tā daudzums sasniedz 69% no kopējās kaulu masas, kur atlikušo masas daļu sastāda organiskās vielas un ūdens (9%). Lielākā daļa no šīm organiskajām vielām ir kolagēns - 20%. Tā molekulas ir sasaistītas, veidojot lineāras ķēdes, kuras pēc kārtas sakārtotas šķiedrās, radot atšķirīgas makroskopiskas struktūras (1.2.6. att.) [15]. Galvenās bioloģiskā apatīta īpašības ir ilustrētas 1.2.5. attēlā [4]. Kaulu un zobu minerālā fāze ir CaP, kas ir līdzīga sintētiskajam HAp [4, 15, 22, 23].

Tomēr bioloģiskie apatīti atšķiras no stehiometriskā HAp ar nestehiometriju, ar kalcija deficītu, mazu kristālu izmēru un zemu kristāliskuma pakāpi (ar zemu strukturālās sakārtotības pakāpi), kā arī iekšējiem kristāldefektiem un citu jonu klātbūtni kristālrežģī [4]. Bioloģiskie apatīti ir karbonātapatīti, kas satur nozīmīgu daudzumu citu jonu, kas iekļauti apatīta kristālrežģī vai adsorbēti uz kristālu virsmas. Kaulu, emaljas un dentīna minerālās fāzes uzrāda nedaudz atšķirīgu jonu sastāvu (1.2.5. tab.), kristāliskuma pakāpi un šķīdību [17, 24]. Zema kristāliskuma pakāpe un mazs kristālu izmērs, kas izkliedēts organiskajā matricā, (parasti kaulu adatveida vai plākšņveida kristāli ir 40-60 nm gari, 20 nm plati un 1.5-5 nm biezi [11]) ir nozīmīgs faktors, kas saistīts ar bioloģisko apatītu relatīvi augsto šķīdību organismā attiecībā uz stehiometrisko HAp [4]. Nano-HAp un citu CaP materiālu attīstība un izmantošana ortopēdijā tiek uzskatīta par daudzsoļu tieši līdzības dēļ ar kaulu kristālu izmēru [11].

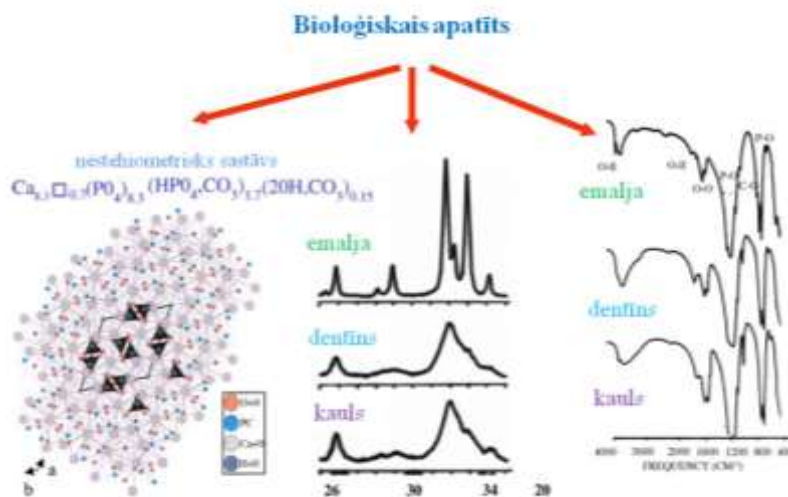
1.2.5. tabula

Cilvēka emaljas, dentīna un kaulu ķīmiskais sastāvs

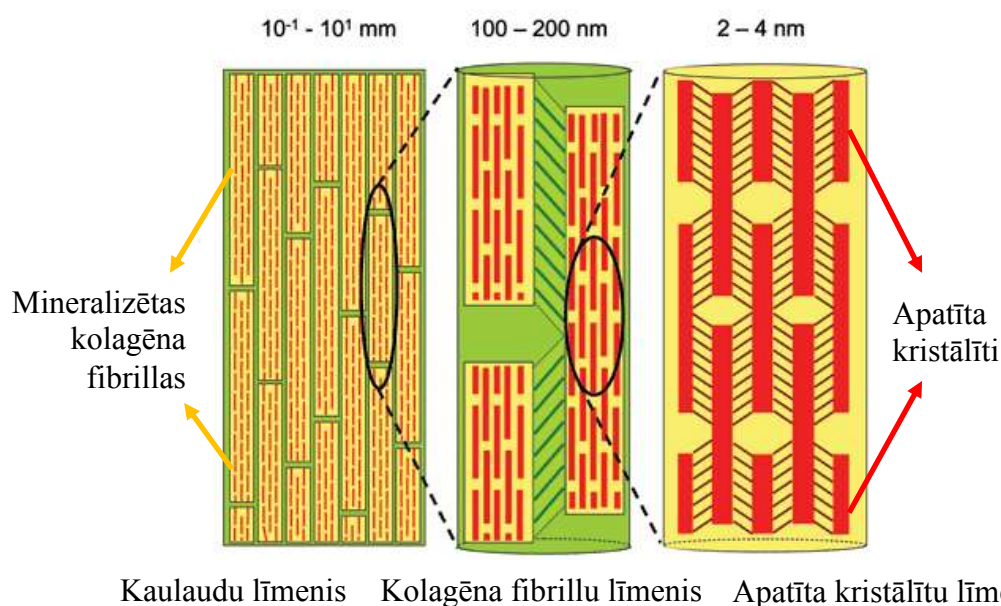
Mikroelementi	Emalja	Dentīns	Kauli
Ca (masas %) ^a	37.6	40.3	36.6
P (masas %) ^a	18.3	18.6	17.1
CO ₂ (masas %) ^a	3.0	4.8	4.8
Na (masas %) ^a	0.70	0.1	1.0
K (masas %) ^a	0.05	0.07	0.07
Mg (masas %) ^a	0.2	1.1	0.6
Sr (masas %) ^a	0.03	0.04	0.05
Cl (masas %) ^a	0.4	0.27	0.1
F (masas %) ^a	0.01	0.07	0.1
Zn (mg/kg) ^b	263	173	39 ^c
Ba (mg/kg) ^b	125	129	
Fe (mg/kg) ^b	118	93	
Al (mg/kg) ^b	86	69	
Ag (mg/kg) ^b	0.6	2	
Cr (mg/kg) ^b	1	2	0.33 ^d
Co (mg/kg) ^b	0.1	1	< 0.0025 ^d
Sb (mg/kg) ^b	1	0.7	
Mn (mg/kg) ^b	0.6	0.6	0.17 ^d
Au (mg/kg) ^b	0.1	0.07	
Br (mg/kg) ^b	34	114	

Si (mg/kg)			500 ^e
Ca/P ^a	1.59	1.67	1.65

^a[22], ^b[25], ^c[26], ^d[27], ^e[28].



1.2.5. att. Bioloģiskā apatīta kristāliskā struktūra. Emaljas, dentīna un kaula XRD ainas un IS spektri [4, 15]



1.2.6. att. Kaula uzbūves hierarhiskā struktūra

Bioloģisko apatītu nestehiometrijas iemesls ir piemaisījumu iekļaušana to kristālrežģī, parasti aizvietojot Ca atomus. (HPO₄²⁻) joni un strukturā iekļautais ūdens ir sastopams gan sintētiskajos, gan bioloģiskajos apatītos, bet to strukturālā atrašanās vieta nav noskaidrota. Bioloģiskais apatīts satur 2-8% (CO₃²⁻) jonus (atkarībā no indivīda vecuma [29]), kas daļēji ir aizvietoti ar (PO₄³⁻) joniem B vietās apatīta

struktūrā („B-tipa” aizvietošana) un (OH⁻) joniem A vietās („A-tipa” aizvietošana) [4, 17]. Bioloģiskie apatīti principā ir „B-tipa” karbonātapatīti (CAp) ar nelielu daudzumu „A-tipa” (CO₃²⁻) joniem [17, 29]. Sintētiskos „A-tipa” karbonātapatītus [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)_{2-2y}(CO₃)_y (0 ≤ y ≤ 1)] var iegūt tīra HAp augsttemperatūras apstrādes procesā 800-1000°C sausā CO₂ atmosfērā. „B-tipa” karbonātapatītus [Ca_{10-x}(PO₄)_{6-x}(CO₃)_x(OH)_{2-x} (0 ≤ x ≤ 2)] var sintezēt ar nogulsnešanas metodi. Sintēzes parametri (pH, temperatūra, reaģentu ķīmiskā daba, reaģentu koncentrācija u. c.) ietekmē gala produkta – pulvera ķīmiskās īpašības. Sintētiskajos HAp, kas iegūti ar šķīduma ķīmiskām metodēm ir iespējama gan (PO₄³⁻), gan (OH⁻) jonu aizvietošana ar (CO₃²⁻) joniem („AB-tips”) [30]. „A-tipa” un „B-tipa” karbonātapatītus var atšķirt pēc atšķirīgajām režģa konstantēm un [CO³] grupu absorbcijas joslu pozīcijām infrasarkanajā (*infrared* - IR) spektrā. Starp dažādām HAp biokeramikām, CHAp (karbonāthidroksilapatīts) ir viens no daudzsološākajiem materiāliem bioresorbējošu kaulu aizvietotāju izstrādei. Saķepšanas laiks, temperatūra un atmosfēra ir svarīgākie parametri, lai kontrolētu (CO₃²⁻) jonu iekļaušanas tipu un pakāpi. (CO₃²⁻) jonu klātbūtne HAp struktūrā ietekmē sadalīšanos, saķepšanas procesu, šķīdību, kā arī implantmateriāla bioloģisko reaktivitāti.

Dažādu neorganisko piemaisījumu – metālu jonu un neorganisko sāļu anjonu, iekļaušana HAp struktūrā var veicināt materiāla saķepšanu, kā arī var nozīmīgi ietekmēt HAp biokeramikas struktūras, fizikālķīmiskās, mehāniskās un bioloģiskās īpašības [18, 31]. Ir svarīgi atzīmēt, ka pēdējos gados CaP biomateriālu specifisku īpašību nodrošināšanai, to struktūrā tiek intensīvi iekļauti ķīmiskie elementi, kas nav sastopami dabīgajos kaulos vai to koncentrācija kaulu sastāvā nepārsniedz miljonās daļas (1.2.5. tab.). Piemēram, (Ag⁺), (Zn²⁺), (Cu²⁺) jonu pievienošana nodrošina pretmikrobu efektu, bet radioaktīvie izotopi ⁹⁰Y, ¹⁵³Sm, ¹⁸⁶Re tiek iekļauti HAp biokeramikas struktūrā un materiāls injecēts ceļgala locītavā, lai ārstētu reimatoīdo locītavu sinovītu [4]. (Mg²⁺), (Zn²⁺), (Cd²⁺) un (Y³⁺) jonu iekļaušana HAp struktūrā paaugstina tā biosaderību dzīvajā organismā [32, 33, 34]. Šie joni pārsvarā aizvieto (Ca²⁺) jonus HAp kristāliskajā struktūrā, nodrošinot vietas proteīnu adsorbīcijai un tādā veidā veicinot šūnu adhēziju. Salīdzinot dažādu ar joniem aizvietoto HAp *in vitro* pētījumu rezultātus, ievērojami labākā osteoblastu adhēzija ir novērojama ar (Y³⁺) joniem aizvietotam HAp. Kopumā HAp ir sintezēts ar dažādiem metāla katjoniem (Mg²⁺, Zn²⁺, La³⁺, In³⁺, Bi³⁺, Y³⁺) [35]. Ar trīsvērtīgiem katjoniem aizvietotam HAp ir lēnāks sadalīšanās ātrums kā tīram HAp vai ar divvērtīgiem katjoniem aizvietotam

HAp. LeGeros ar līdzautoriem izpētīja, ka (CO_3^{2-}) jonu iekļaušana (PO_4^{3-}) jonu vietā, kā arī $(\text{Na}^+) - (\text{Ca}^{2+})$ jonu vietā var izmainīt apatīta kristālu izmēru un formu. (Mg^{2+}) jonu klātbūtne var ietekmēt CaP nogulsnešanas apstākļus, t.i., HAp nogulsnešanu, tie kavē nukleāciju, augšanu un nobriedināšanu, kā arī veicina nestehiometriskā HAp veidošanos, kas pēc augsttemperatūras apstrādes sadalās. (Zn^{2+}) un (Mg^{2+}) joni kavē HAp kristalizācijas procesu. Ar joniem aizvietotam un neaizvietotam HAp ir atšķirīgi režģa parametri, kas savukārt ietekmē HAp kristāliskuma pakāpi, termisko stabilitāti, šķīdību vai sadalīšanās īpašības. Ja HAp kristālrežģī ir iekļautas divas vai vairākas jonu grupas, aizvietotājiem var būt sinerģisks vai antagonistisks efekts uz apatīta īpašībām, piemēram, (Mg^{2+}) un (CO_3^{2-}) joniem ir sinerģisks efekts uz sintētisko apatītu kristāliskuma pakāpi un sadalīšanās īpašībām [5, 36].

Vairākums eksperimentālo darbu veltīti ar Si aizvietota HAp sintēzei, kā arī mēģinājumi iekļaut Sr un Zn. Ņemot vērā, ka izmaiņas CaP ķīmiskajā sastāvā ietekmē CaP šķīdību un struktūru, kā arī šie parametri ietekmē CaP resorbciju un atbrīvošanos dzīvajā organismā, bioloģisko īpašību izmaiņas ar iekļauto jonu bioloģisko efektu (piemēram, Si) var būt neviennozīmīgas, jo bioloģiskās izmaiņas var būt saistītas arī ar netiešu iekļauto jonu efektu - izmaiņas kalcija un/vai fosfāta atbrīvošanās procesā [2].

1.2.5. Kalcija fosfātu - biomateriālu klases pārstāvju raksturojums

MCPM ir skābākais un ūdenī šķīstošākais kalcija fosfāts. To var izgulsnēt no stipri skābiem šķīdumiem. Virs 100°C MCPM pārvēršas par MCPA. Pamatojoties uz šī kalcija fosfāta zemo pH vērtību un šķīdību, tas nav sastopams bioloģiskā formā cilvēka organismā. Tīrs MCPM nav biosaderīgs ar cietajiem audiem. Medicīnā tas tiek izmantots kā sastāvdaļa kalcija fosfāta cementos [4, 17]. MCPA (monokalcija fosfāts bezūdens, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) ir MCPM bezūdens forma. Tas kristalizējas tādos pašos apstākļos kā MCPM, bet temperatūrā virs 100°C . MCPA nav sastopams cilvēka organismā un nav biosaderīgs. Šim CaP savienojumam nav pielietojuma medicīnā. MCPA var izmantot MCPM vietā, bet hidroskopiskās īpašības samazina tā komerciālu pielietojumu [17].

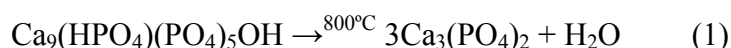
DCPD var viegli kristalizēt no ūdens šķīdumiem pie $\text{pH} < 6.5$. DCPD pārvēršas MCPA formā virs 80°C . DCPD ir bieži sastopams cieto audu patoloģiskajā pārkaļķošanās procesā (zobakmens, hondrocalcinoze, urīnceļu sāļi un urīnakmeņi).

DCPD bioloģiskā forma ir sastopama kā strapfāze kaulu veidošanās un zobu remineralizācijas procesā, kā arī zobu emaljas izšķīšanas procesā skābē (zobu erozija). Medicīnā DCPD tiek izmantots kalcija fosfātu cementos. DCPD tiek pievienots zobu pastām aizsardzībai pret kariesu un kā abrazīvais aģents [10].

DCPA ir no ūdens brīva DCPD forma. DCPA var iegūt, kristalizējot no ūdens šķīdumiem virs 100°C. DCPA bioloģiskā forma ir sastopama cieto audu normālā un patoloģiskajā pārkaļķošanās procesā. DCPA tiek pielietots medicīniskajos kalcija fosfātu cementos.

OCP bieži rodas kā metastabilā strapfāze par termodinamiski daudz stabilāku CaP apatītisko kalcija fosfātu (piemēram, CDHAp) izgulsnēšanās procesā no ūdens šķīdumiem. OCP ir liela bioloģiskā nozīme dzīvajā organismā, jo tas ir viens no stabilākajiem savienojumiem zobakmens un urīnakmeņu sastāvā. OCP ir nozīmīga loma apatītisku biominerālu veidošanās procesā *in vivo* [10]. Kaut gan OCP nav sastopams asinsvadu apkaļķošanās procesā, tas ir bioloģiskā apatīta prekursora fāze, kas novērojams pie dabīgajiem un mākslīgajiem sirds vārstuļiem [10]. Ķirurģijā OCP izmanto kā implantmateriālu kaulu defektu novēršanai. Tas veidojas uz biomateriālu virsmas *in vivo* sākumstadijā [17].

β-TCP nevar izgulsnēt no ūdens šķīdumiem. β-TCP ir augsttemperatūras fāze, kuru ir iespējams iegūt CDHAp termiskās sadalīšanās rezultātā virs 800°C (1) vai skābo CaP cietvielu reakcijā, piemēram, DCPA ar CaO.



Ar joniem aizvietotu β-TCP var iegūt kaulaudu apdedzināšanas procesā, iegūstot tā sauktos „kaulu pelnus”. β-TCP sastāv no trīs veida kristalogrāfiski neekvivalentām [PO₄] grupām, kas atrodas kristāla pamatpunktos. Katrai [PO₄] grupai ir atšķirīgi iekšējo tetraedrālo saišu garumi un leņķi. Virs 1125°C β-TCP transformējas par augsttemperatūras fāzi α-TCP. β-TCP fāze ir stabila istabas temperatūrā un mazāk šķīstoša ūdenī kā α-TCP. Tīrs β-TCP nav sastopams dzīvajā organismā, vienīgi ar Mg aizvietotā forma β-TCMP - vitlokīts ir atrodams zobakmens, urīnakmeņu, zobu kariesa, siekalu dziedzeru akmeņu sastāvā, kā arī osteoartrīta jeb deformējošās artrozes (locītavu slimība) un mīksto audu pārkaļķošanās procesā, tomēr tas nav novērots emaljas, dentīna un kaulu sastāvā. Medicīnā β-TCP izmanto CaP kaulu cementos. β-TCP dažādās daudzuma kombinācijās ar HAp veido divfāžu

kalcija fosfātus (BCP, HAp/ β -TCP), kurus tāpat kā tīru β -TCP izmanto kā biokeramiku kaulu defektu novēršanai [4, 17].

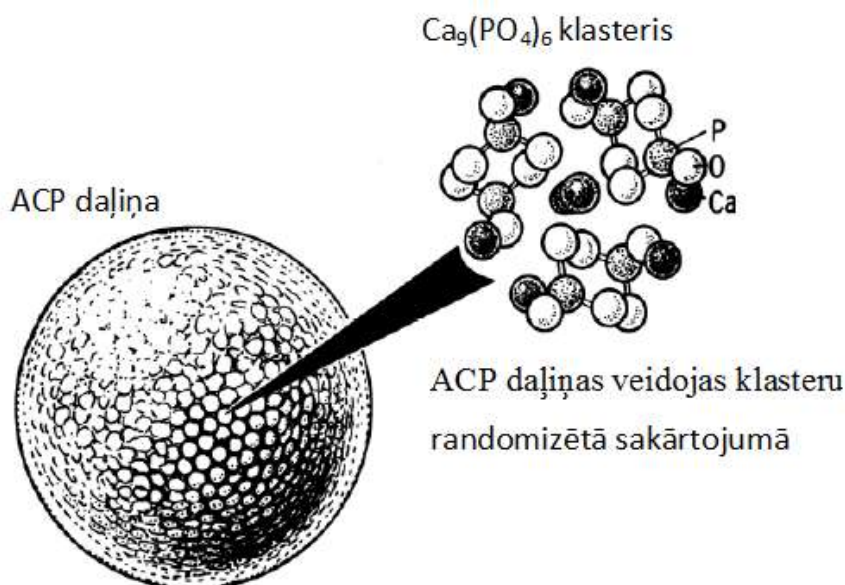
α -TCP parasti iegūst β -TCP termiskās apstrādes rezultātā virs $\sim 1125^\circ\text{C}$ un to var uzskatīt par β -TCP augsttemperatūras fāzi. α -TCP un β -TCP ir pilnīgi vienāds ķīmiskais sastāvs, bet šīs fāzes atšķiras ar kristālisko struktūru un šķīdību. β -TCP fāze ir daudz stabilāka par α -TCP fāzi. α -TCP ir daudz reaktīvāks ūdens vidē, ar augstāku specifisko enerģiju. Šī fāze nav sastopama organismā, bet medicīnā ķīmiski tīru α -TCP izmanto kalcija fosfātu cementos. Par α -TCP nav liela interese medicīnā, jo tam ir būtisks trūkums – strauja resorbcija organismā, kas ierobežo tā pielietošanu kā biomateriālu. Tomēr ar Si stabilizēts α -TCP kopā ar HAp kā divfāžu kompozīts, tas ir komercializēta izejviela bioresorbējošu porainu 3D pamatņu izgatavošanai, kuras izmanto kā mākslīgus kaulu implantmateriālus [17].

HAp ir otrs stabilākais un arī vismazāk šķīstošais kalcija fosfāts pēc FAp. Ķīmiski tīrs HAp kristalizējas monoklīnā singonijā ($P2_1/b$), bet temperatūrā virs 250°C notiek HAp monoklīnas fāzes pāreja uz heksagonālo fāzi ($P6_3/m$). Detalizēta HAp struktūra pirmo reizi tika aprakstīta 1964.gadā un tās interpretācija saistībā ar $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ klasteru (Posnera klasteri) agregāciju tiek bieži lietota kopš Posnera un Betta raksta publicēšanas [16, 37]. Heksagonālai HAp fāzei (OH^-) joni ir daudz nesakārtotāki katrā no rindām, salīdzinot ar HAp monoklīno formu. Tas rada spriegumus, kas tiek kompensēti ar jonu aizvietošanu vai vakancēm. Daļēja (OH^-) jonu aizvietošana ar (Cl^-) vai (F^-) joniem stabilizē HAp heksagonālo struktūru istabas temperatūrā. Šī iemesla dēļ heksagonālais HAp reti ir stehiometriskā fāze un ļoti reti dabīgā HAp monokristāli atbilst heksagonālai singonijai. HAp heksagonālā struktūra tiek plaši izmantota medicīnā. Dažādas metodes tiek izmantotas HAp iegūšanai, tās var iedalīt cietvielu reakcijās un šķīduma metodēs, kuras ietver nogulsnešanu, hidrotermālās reakcijas un citu kalcija fosfātu hidrolīzes. Pat stehiometrijai ideālos apstākļos, nogulsnētais produkts parasti ir nestehiometriski. HAp var iegūt no ūdens šķīdumiem, samaisot stehiometriskus daudzumus (Ca^{2+}) un (PO_4^{3-}) jonus saturošus šķīdumus pie $\text{pH} > 9$, tad vārot sintēzes šķīdumu vairākas dienas no CO_2 brīvā atmosfērā (nobriedināšanas stadija), filtrējot, žāvējot un parasti apdedzinot virs 1000°C . Ievērojot, ka pirmās nogulsnes ir nestehiometriski produkti: ACP un CDHAp, nobriedināšanas stadija ir ļoti svarīga: Ca/P molārā attiecība 1.67 tiek iegūta mazākais pēc 5 h reakcijas norises 90°C . Svaigi nogulsnēta HAp virsma sastāv no strukturēta, hidratēta slāņa, kas satur viegli aizvietojamus kustīgus jonus. Parasti

neapdedzināts HAp ir vāji kristālisks un arī nestehiometrisks, līdzīgs iepriekšminētajam CDHAp. Mikrokristāliskus HAp paraugus var iegūt citu CaP (MCPM, DCPA, DCPD, OCP) cietvielu reakcijā ar CaO, Ca(OH)₂ vai CaCO₃ virs 1200°C slāpekļa un ūdens tvaika atmosfērā. HAp var iegūt hidrotermālajā sintēzē. No ūdens brīvu sintēzi var nodrošināt etanola vidē no Ca(OEt) (Et = ethyl) un H₃PO₄. HAp var iegūt sausa CaO un DCPD maisījuma mehanoķīmiskajā sintēzē vai koraļļu skeleta karbonāta hidrotermālajā reakcijā. Relatīvi lielus HAp monokristālus var iegūt no hlorapatīta vai ar kontrolētu homogēnu nogulsnešanas metodi. HAp smalkas daļiņas var iegūt ar pirosoļa metodi, kur (Ca²⁺) un (PO₄³⁻) jonus (atbilstošā attiecībā) saturošs aerosols tiek transportēts pirolīzes krāsnī. Ir iespējams sintezēt divdimensionālu nanokristālisku HAp, kā arī iegūt caurspīdīgu HAp biokeramiku. Tīrs HAp nav sastopams bioloģiskajā sistēmā. Tomēr kaulu un zobu minerālu ķīmiskā līdzība ar HAp nodrošina tā izmantošanu kā stomatoloģiskos implantus un ortopēdisko protēžu pārklājumus (vairāk par HAp izmantošanu medicīnā skat. 1.3. nod.) [4].

ACP rodas kā pārejas fāze CaP veidošanās procesā no ūdens šķīdumiem. Parasti ACP ir pirmā fāze, ko var izgulsnēt no pārsātināta šķīduma, kas pagatavots strauji sajaucot kalcija un fosfāta jonus saturošus šķīdumus. ACP parasti veidojas arī nogulsnešanas sākuma stadijā, jo tam ir zemāka virsmas enerģija kā OCP un apatītiem. ACP amorfuma pakāpe pieaug, paaugstinot kalcija un fosfāta jonus saturošu šķīdumu koncentrāciju, kā arī pie augstāka šķīduma pH un zemākas kristalizācijas temperatūras. ACP nogulšņu nobriedināšana „mātes šķīdumā”, īpaši pie paaugstinātas temperatūras, sekmē lēnu rekristalizāciju un kristālisku savienojumu, tādu kā CDHAp, veidošanos. ACP stabilitāte ūdens šķīdumā ir atkarīga no pH, temperatūras, un citu molekulu un jonu klātbūtnes. ACP var pastāvēt kādu laika periodu un saglabāt amorfu stāvokli tikai noteiktos, specifiskos eksperimentālos apstākļos. ACP ķīmiskais sastāvs ir stipri atkarīgs no nogulsnešanas apstākļiem: pH un reaģentu sākotnējās koncentrācijas. ACP transformācija par CDHAp šķīdumā ir f-ja no šķīduma pH un atkarīga no eksperimentālajiem apstākļiem, kas regulē gan ACP šķīdību, gan HAp kristalizācija centru veidošanos. ACP ir apatīta struktūra ar tik smalku kristālu izmēru, ka tas ir rentgenamorfis. Ir zināms, ka ACP satur 10-20% saistīto ūdeni, no kura ir iespējams atbrīvoties ar vakuuma žāvēšanu paaugstinātā temperatūrā. ACP infrasarkanais spektrs parāda platas, neizteiksmīgas fosfātu absorbcijas joslas. ACP elektronu mikroskopijā uzrāda neizteiksmīgas gandrīz

sfēriskas daļiņas ar diametru no 20-200 nm. Ir pieņemts, ka ACP pamatstruktūrvienība ir ar diametru 9.5 Å, veidojot sfērisku jonu klasteri (Posnera klasteri) ar sastāvu $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ (1.2.7. att.) [4, 17].



1.2.7. att. ACP struktūras modelis

Posnera klasteri eksperimentāli atklāti kā pirmie HAp kristalizācijas centri un modelis izstrādāts, lai raksturotu HAp kristalizāciju kā pakāpienveidīgu konstrukcijas veidošanu no šīm vienībām [16, 37]. ACP bioloģiskā forma (bieži satur nātrija, magnija, karbonāta, pirofosfāta jonus) sastopama mīksto audu patoloģiskās pārkaļķošanās procesā (piemēram, sirds vārstuļu apkaļķošanās nieru mazspējas gadījumā). Medicīnā ACP izmanto CaP cementos un kā plombēšanas materiālus zobārstniecībā. ACP un polimēru bioaktīvam kompozītam piemīt īpašības, kas piemērotas tā izmantošanai zobārstniecībā un ķirurģijā.

CDHAp var viegli pagatavot, strauji pievienojot kalcija un fosfāta jonus saturošus šķīdumus vārošā ūdenī un pēc tam vārot suspensiju dažas stundas. Šajā laikā sākotnēji nogulsnētais ACP pārstrukturējas un transformējas par CDHAp. Tieši tādēļ starp nogulsnētajiem bāziskā vidē ($\text{pH} > 8$) ACP un CDHAp ir daudz līdzības gan struktūrā, gan īpašībās un pielietojumā. CDHAp kristāli ir vāji kristāliskā stāvoklī un ar nanometru izmēru. CDHAp ir ļoti liels specifiskais virsmas laukums, parasti 25 - 100 m^2/g . Termiski apstrādājot izžāvētu CDHAp ($\text{Ca}/\text{P} = 1.5$) virs 700°C , tas pārveidojas par β -TCP, bet CDHAp ar $1.5 < \text{Ca}/\text{P} < 1.67$ pārveidojas par HAp un β -TCP maisījumu (BCP). CDHAp dažādās Ca/P molārās attiecības ir skaidrojamas ar

vairāku modeļu palīdzību: virsmas adsorbciju, aizvietošanu kristāla režģī un strapkristāliskiem HAp un OCP maisījumiem. Ņemot vērā, ka CDHAp ir nestehiometrisks savienojums, tas parasti satur citus jonus. CDHAp struktūra joprojām nav izpētīta un elementāršūnas parametri nav noteikti. CDHAp var uzskatīt par HAp ar Ca jonu deficītu. Jo vairāk kalcija jonu ir deficītā, jo vairāk defektu un novirzes ir CDHAp struktūrā. Saskaņā ar CDHAp ķīmisko formulu, šī savienojuma kristālstruktūrā ir brīvās (Ca^{2+}) jonu un (OH^-) jonu vakances. Tomēr nekas nav zināms par fosfātu jonu vakancēm: CDHAp daļa (PO_4^{3-}) jonu ir vai nu protonēti par (HPO_4^{2-}), vai arī aizvietotas ar citiem joniem, piemēram, (CO_3^{2-}). Ar joniem neaizvietotais CDHAp (t. i., satur tikai, (PO_4^{3-}), (HPO_4^{2-}), (OH^-) jonus) neeksistē bioloģiskā sistēmā. Ar (Na^+), (K^+), (Mg^{2+}) vai (Sr^{2+}) joniem (Ca^{2+}) jonu vietā vai ar (CO_3^{2-}) joniem (PO_4^{3-}) jonu vietā aizvietots CDHAp kopā ar ūdeni veido bioloģisko apatītu - galveno cieto audu neorganisko daļu cilvēku un dzīvnieku normālas un patoloģiskās pārkalķošanās procesā. Tieši tādēļ CDHAp ir perspektīvs savienojums mākslīgo kaulu aizvietotājmateriālu izstrādei [17].

FAp (vai FA) (fluorapatīts, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, bet parasti raksta $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, lai parādītu ka kristāla elementāršūna satur divas molekulas) ir cietākais (5 pēc Mossa skalas), stabilākais un vismazāk šķīstošais CaP. Pastāv varbūtība, ka tādas galējas FAp īpašības ir saistītas ar specifisku F^- jonu pozīciju kristālstruktūrā $\text{Ca}2$ trīsstūru centros. FAp īpašības nodrošina tā plašu komerciālu izmantošanu. Ķīmiski tīra FAp iegūšanas metodes ir līdzīgas HAp iegūšanas metodēm, kas minētas iepriekš, ar nosacījumu, ka sintēzes notiek ar noteikta daudzuma F^- jonu klātbūtni (parasti tiek pievienots NaF vai NH_4F). FAp kristālstruktūra pirmo reizi tika aprakstīta 1930.gadā. FAp ar HAp viegli veido cietos šķīdumus ar jebkurām vēlamajām F/OH molārajām attiecībām. Tādus savienojumus sauc par fluorhidroksilapatītiem (FHAp vai FHA) vai hidroksilfluorapatītiem (HFAP vai HFA) ar ķīmisko formulu $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{F}_x$, kur $0 < x < 2$. Ja F/OH molārā attiecība nav zināma vai ir nebūtiska, tad FHAp un HFAP ķīmiskā formula ir $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F},\text{OH})_2$. Tāpat kā tīrs HAp, arī FAp nav sastopams bioloģiskā sistēmā, jo tīrs FAp satur 3.7% (masas %) fluorīdus. Fluorīdu akūtā toksiskā deva dzīvā organismā ir ~ 5 mg/kg no ķermeņa svara. Apskatot cilvēka cietos audus, augstākā fluorīdu koncentrācija ir atrodama kaulos un zemākā koncentrācija – zobu emaljā. Tomēr, pat tā fluorīdu koncentrācija, kas atrodama kaulos, nav pietiekama, lai veidotos FAp, tāpēc tiek uzskatīts, ka kaulu neorganiskā daļa sastāv no ar joniem aizvietota CDHAp. Ķīmiski tīra FAp specifiskās īpašības:

zemākā šķīdība no visiem CaP, laba ķīmiskā noturība un fluorīdu toksiskums lielos daudzumos, ierobežo tā izmantošanu kā kaulu aizvietotājmateriālu. Tomēr FAp spēja veidot FHAp un/vai HFAP nodrošina iespēju nelielu daudzumu fluorīdu pievienot CaP biomateriāliem. Fluorīdu saturoša FHAp ietekme uz osteoblastu [38] un leukēmijas šūnu proliferāciju [39] aprakstīta vairākās publikācijās [4, 10].

TTCP (vai TetCP) (tetrakalcija fosfāts, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, minerāls hilgenstokīts) ir bāziskākais kalcija fosfāts, tomēr tā šķīdība ūdenī ir augstāka kā HAp. TTCP nevar izgulsnēt no ūdens šķīdumiem, bet var iegūt cietvielu reakcijā virs 1300°C , piemēram, apdedzinot homogenizētus ekvimolārus DCPA un CaCO_3 daudzumus sausa gaisa vai slāpekļa atmosfērā. DCPA var aizvietot ar amonija fosfātiem. Šīm reakcijām ir jānotiek sausā atmosfērā, vakuumā vai ātri dzesējot reakcijas maisījumu, lai novērstu ūdens klātbūtni un HAp veidošanos. TTCP nav ļoti stabils ūdens šķīdumos: tas lēnām hidrolizējas par HAp un $\text{Ca}(\text{OH})_2$, tādēļ tas nav sastopams bioloģiskā sistēmā. Medicīnā TTCP bieži tiek izmantots dažādu pašcietējošu kalcija fosfāta cementu pagatavošanai, tomēr biomateriālu tirgū nav pieejams neviens komerciāls kaulu aizvietošanas produkts, kas saturētu tikai TTCP [4, 17].

1.3. Kalcija fosfātu biokeramika

Diemžēl līdz pat mūsdienām visi mēģinājumi sintezēt kaulu aizvietotājmateriālus klīniskajam pielietojumam ar tādām raksturīgām īpašībām kā fizioloģiskā tolerance, biosaderība un ilglaicīga stabilitāte ir guvuši relatīvus panākumus, ja salīdzinām šos materiālus ar dabīgu kaula struktūru, kas ir kompleksa un komplicēta. Kaulus var uzskatīt par porainiem kompozītmateriāliem – kaula ārējo slāni veido kortikālo vai kompakto kaulaudu slānis, kas pārklāj iekšējo spongiozo vai trabekulāro kaulaudu poraino tīkļveida struktūru (porainība ~ 75-95%) [3, 4]).

No biomateriāliem izgatavoto implantu īpatsvars pasaules medicīnas praksē pēdējos 10 gados ir ievērojami pieaudzis. Biokeramiku izmanto traumatoloģijā un ortopēdijā, sejas žokļu ķirurģijā, otorinolaringoloģijā - kaulu defektu ārstēšanai, stomatoloģijā - zobu sakņu metāla implantātu bioaktīvu pārklājumu iegūšanai un zobārstniecības profilaktisku materiālu ražošanai. Sevišķi strauja ir bioaktīvu biomateriālu attīstība, tos izmanto ne tikai kā implantmateriālus, bet arī kā implantu/audu fiksācijas paātrinātājus, pamatnes (angl. - scaffold) šūnu audzēšanai un zāļu deponēšanas ierīcēs [7, 8, 15, 17].

Kalcija fosfātu biokeramika ir bioaktīva keramika, kas nodrošina specifisku bioloģisko reakciju uz robežvirsmas, veidojot bioloģiski funkcionālu saisti starp implantmateriālu un cietajiem audiem. Šī bioloģiskā saiste ir veidota no bioloģiski aktīva hidroksilkarbonāta apatīta slāņa. Šī apatīta veidošanās, kas līdzīga kaula bioloģiskam apatītam, ir saistīta ar kalcija un fosfora jonu izdalīšanos no biokeramikas virsmas. Apatīta slānis savieno jonu saitēm saistīto biokeramiku ar organiskām saitēm saistītos cietos audus – kaulus [7, 8].

CaP biokeramiku plaši pielieto kā kaulu implantmateriālus, keramiskos implantpārklājumus, zāļu piegādes sistēmas un pamatnes audu inženierijā, jo tā ir līdzīga kaulaudu neorganiskai daļai, relatīvi viegli izgatavojama un nodrošina labu šūnu piesaisti. CaP biokeramikas biosaderība, drošība, prognozējama uzvedība ķermenī, neierobežota pieejamība, zema pacientu saslimstība pēc implantācijas un izmaksu ekonomiska efektivitāte nodrošina nozīmīgu priekšrocību pār auto- un alotransplantātiem, kā arī sekmē šo materiālu izvēles priekšrocības rekonstruktīvajā ķirurģijā, ortopēdijā, stomatoloģijā, žokļu un galvaskausa ķirurģijā, mugurkaula un neiroķirurģijā (1.3.1. att.) [40].



1.3.1. att. CaP biokeramikas pielietojums mutes, sejas un žokļu ķirurģijā [32]

Mutes, sejas un žokļu ķirurģijā CaP biokeramiku izmanto vairāk kā 25 gadus [3]. Ievērojot, ka CaP biokeramikai ir diezgan vājas mehāniskās īpašības, to pārsvarā izmanto vietās ar zemu biomehānisko slodzi keramisko granulu veidā kā kaulu pildviela, pārklājumu veidā uz implantu virsmas, porainu bloku vai pamatņu veidā [40]. Viena no izplatītākajām procedūrām ir žokļa kaula palielināšana zobu implantu ievietošanai, izmantojot CaP biokeramiskās granulas [32].

Galvenokārt CaP biokeramika ir veidota no tādiem CaP savienojumiem, kā HAp, β -TCP un/vai divfāžu CaP (BCP - *biphasic calcium phosphates*), kas ir HAp + β -TCP, HAp + α -TCP maisījums. BCP pielietošanas koncepcija pamatojas uz optimālu līdzsvaru starp stabilo HAp fāzi un šķīstošo α - vai β -TCP fāzi. Jo augstāka α - vai β -TCP savienojuma biodegradācijas spēja, jo augstāka BCP reaktivitāte organismā, kas pieaug līdz ar TCP/HAp attiecības palielināšanos. Tādējādi BCP biokeramikas *in vivo* bioresorbciju var kontrolēt ar fāžu sastāvu tajā.

Resorbējoša CaP biokeramika - β -TCP sadalās pakāpeniski noteiktā laika periodā un tiek aizvietota ar pacienta cietajiem audiem. Tāda biokeramika ir optimāls risinājums, ja ir prasības pēc īstermiņa kaulaudu stiprināšanas [3]. Pamatnosacījums tādas biokeramikas pielietošanai ir saglabāt stiprību un stabilitāti uz robežvirsmas starp implantu un kaulaudiem sadalīšanās un aizvietošanas periodā ar pacienta kaulaudiem, kā arī saskaņots resorbcijas ātrums ar kaulaudu atjaunošanās ātrumu. Resorbējošā β -TCP biokeramika sastāv tikai no metaboliskam procesam atbilstošām vielām. Tāda veida biokeramiku bieži izmanto zāļu piegādes sistēmu matricu izveidei vai periodontālu kaulaudu defektu rekonstrukcijai. β -TCP biokeramikas resorbciju vai biodegradāciju izraisa materiāla fizikālķīmiskā šķīšana, fizikālā šķīdināšana vai materiāla fagocitoze [2, 4, 7, 8].

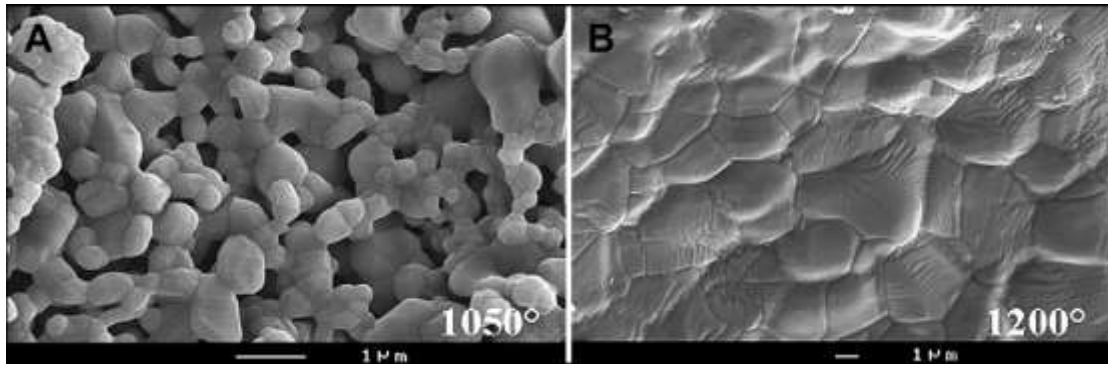
Būtiski ir izprast BCP biokeramikas fizikālķīmiskās īpašības, kas ietekmē cieto audu veidošanās laiku, progresu un dabu. Pie kam jaunu kaulaudu viesošanās ātrums un veids ir atkarīgs no pacienta vecuma, bioloģiskās sistēmas apstākļiem, pacienta vielmaiņas un dzīves veida, rekonstrukcijai pakļautās anatomiskās vietas, kā arī kaula defekta lieluma. Dažādas vietas cilvēka skeletā uzrāda atšķirīgas funkcionālās slodzes, kaulu blīvumu un vaskularizācijas pakāpi. Šie nosacījumi lielā mērā ietekmē BCP biokeramikas degradācijas ātrumu, kā arī kopējo kaulaudu reģenerācijas procesu [7, 8].

CaP saķepšanas procesam ir nozīmīga loma, lai iegūtu biokeramiku ar vēlamajām īpašībām. CaP saķepšanas laikā notiek virkne dažādu procesu. Pirmkārt,

mitrums, viegli gaistoši savienojumi, kas palikuši no sintēzes procesa (amonjaks, nitrāti, citi organiskie savienojumi) termiskās apstrādes procesā izdeg un izdalās kā gāzveida produkti. Otrkārt, pulveris sablīvējas, radot materiāla sarukumu. Treškārt, šīs ķīmiskās izmaiņas ir saistītas ar vienlaicīgu kristālu izmēra pieaugumu un īpatnējā virsmas laukuma samazināšanos. Ceturtkārt, notiek visu skābo kalcija fosfātu ķīmiskā sadalīšanās un transformācija uz citiem CaP (piemēram, $2\text{HPO}_4^{2-} \rightarrow \text{P}_2\text{O}_7^{4-} + \text{H}_2\text{O}$) [6]. Saķepšanas procesa temperatūra un ilgums ietekmē CaP biokeramikas īpašības (blīvums, porainība, graudu izmērs, ķīmiskais sastāvs, stiprība), kas korelē ar saķepšanas režīma parametriem [41]. Saķepšana zem 1000° izraisa sākotnējo daļiņu apvienošanos, ar nelielu sablīvēšanos, kā arī ar ievērojamu virsmas laukuma vai porainības samazināšanos. Sablīvēšanās pakāpe ir atkarīga no saķepšanas temperatūras, bet jonu difūzijas procesa norisi regulē ar saķepšanas procesa ilgumu [41]. Parasti CaP biokeramiku termiski apstrādā $1000\text{-}1200^\circ\text{C}$ diapazonā. Apstrāde augstākā temperatūrā var novest pie pārspīlēti lielu graudu augšanas un fāžu sadalīšanās (piemēram, HAp fāze ir nestabila $\sim 1250\text{-}1300^\circ\text{C}$) [6, 22]. Ir zināms, ka HAp sadalīšanās temperatūra ir funkcija no ūdens tvaika parciālā spiediena. Augsttemperatūras apstrāde vakuumā noved pie ātrākas fāzes sadalīšanās, bet apstrāde pie augsta ūdens parciālā spiediena aizkavē sadalīšanos. No otras puses, ūdens klātbūtne saķepšanas atmosfērā kavē HAp sablīvēšanos un paātrina graudu augšanu [42].

CaP biokeramikas mikroporainība (poru izmērs $< 10 \mu\text{m}$) definēta pēc materiāla tilpuma, kas impregnēts ar bioloģiskiem šķīdumiem [6, 43]. Mikroporainība ir atkarīga no saķepšanas procesa, bet poru izmērs ir atkarīgs no fāžu sastāva, termiskā cikla un saķepšanas laika. Mikroporainība nodrošina lielāku virsmas laukumu proteīnu adsorbcijai un paaugstina jonu šķīšanu. Jo augstāka saķepšanas temperatūra, jo zemāka mikroporainība un biokeramikas īpatnējais virsmas laukums. Proti, HAp biokeramikai, kas apdedzināta 1200°C , ir ievērojami zemāka mikroporainība un būtiskas kristālu izmēra izmaiņas salīdzinot ar biokeramiku apdedzinātu 1050°C (1.3.2. att.) [6].

In vivo pētījumi apliecināja, ka pieaugot CaP biokeramikas īpatnējam virsmas laukumam un poru tilpumam, paātrinās bioloģiskā apatīta nogulsnešanās uz CaP biokeramikas implanta virsmas, tādējādi paaugstinot kaulaudu veidošanās bioaktivitāti [6].



1.3.2. att. HAp biokeramikas SEM mikrofotogrāfijas pēc apdedzināšanas
a) 1050°C; b) 1200°C

1.3.1. Hidroksilapatīta/ β -trikalcija fosfāta biokeramikas sistēma

Divfāžu CaP biokeramika – BCP, kas sastāv no stabilās fāzes HAp un resorbējošās fāzes β -TCP dažādās attiecībās uzrāda būtisku priekšrocību citu CaP biokeramikas materiālu vidū, t.i., iespēju kontrolēt bioaktivitāti un līdzsvaru starp resorbciju/šķīdību dzīvajā organismā, kas garantē biokeramikas stabilitāti kaula ieaugšanas procesa stimulēšanas laikā [7, 44]. HAp/ β -TCP attiecība tiešā veidā ietekmē BCP materiāla reaktivitāti, parasti, jo zemāka attiecība, jo augstāka reaktivitāte (izteikta *in vitro* kā šķīdības pakāpe skābes buferšķīdumā pētījumos) [44]. Tomēr reaktivitāte ir atkarīga arī no BCP biokeramikas daļiņu izmēra, mikro- un makroporainības, kas savukārt atkarīga no apdedzināšanas temperatūras un izturēšanas laika, kā arī citiem apstrādes posmiem [44]. Atkarībā no stabilās fāzes un šķīstošās fāzes attiecības, ir iespējams iegūt BCP biokeramiku, kuru var izmantot lielu kaulu defektu novēršanai, slodzi nesošās vietās un pielāgotas formas implantu izgatavošanai, kas saglabā savu formu ilgu laika periodu [40].

HAp – β -TCP (BCP) biokeramiku ir iespējams iegūt:

- a) mehāniski samaisot noteiktās attiecībās HAp un β -TCP;
- b) termiski apstrādājot CDHAp ($1.50 < \text{Ca/P} < 1.667$), kas iegūts ar šķīduma ķīmiskās nogulsnesšanas metodi, temperatūrā virs 700°C [7, 44, 45, 46].

Izvēloties starp abām metodēm, priekšroka tiek dota pēdējai metodei, jo tā nodrošina abu fāžu samaisīšanos kristalītu līmenī, līdz ar to arī HAp un β -TCP graudu homogēnu izkliedi biokeramikas tilpumā [7, 44, 46].

BCP biokeramikas iegūšana ar variējamu fāžu attiecību no sintezēta (ar šķīduma ķīmisko nogulsnesšanas metodi) CDHAp pulvera ir lielā mērā atkarīga no sintēzes apstākļiem (sintēzes pH un temperatūras), kas ietekmē sintēzes nogulšņu Ca/P molāro

attiecību un līdz ar to arī fāžu kompozīciju pēc augsttemperatūras apstrādes [7, 46]. Balstoties uz Raynaud pētījumu [47], BCP biokeramikas HAp/ β -TCP fāžu kompozīcijas atkarība no pulvera Ca/P molārās attiecības apkopota 1.3.1. tabulā.

Jāņem vērā, ka BCP biokeramika ar vienādu HAp/ β -TCP fāžu attiecību var uzrādīt krasi atšķirīgas šķīdības īpašības [44]. Tas izskaidrojams ar atšķirīgu kristalītu izmēru, kā arī materiāla miko- un makroporainību. Šie parametri var ietekmēt šķīdības pakāpi gan *in vitro*, gan *in vivo*: jo lielāka porainība un mazāks kristalītu izmērs, jo augstāka BCP biokeramikas šķīdības pakāpe [44].

1.3.1. tabula

BCP biokeramikas fāžu sastāva atkarība no CDHAp pulvera Ca/P molārās attiecības

Ca/P molārā attiecība	HAp/ β -TCP fāžu attiecība 1000°C (masas %)
1,511 ± 0,001	93% β -TCP + 7% HAp
1,535 ± 0,004	78% β -TCP + 22% HAp
1,631 ± 0,004	80% HAp + 20% β -TCP
1,643 ± 0,003	87% HAp + 13% β -TCP
1,655 ± 0,002	93,5% HAp + 6,5% β -TCP
1,663 ± 0,001	98% HAp + 2% β -TCP
1,667 ± 0,005	>99,5% HAp

1.4. Sintētisko kalcija fosfātu iegūšanas tehnoloģijas

Parasti apatītu, kā arī citu CaP iegūšana notiek daudz šķīstošākas fāzes – metastabila fosfāta transformācijas rezultātā šķīdumā. Dažādu biomateriālu jomā izmantojamu CaP galvenās iegūšanas metodes apkopotas 1.4.1. tabulā [17].

1.4.1. tabula

Kalcija fosfātu galvenās iegūšanas metodes

Kalcija fosfāts	Galvenās iegūšanas metodes
HAp	<ul style="list-style-type: none"> - Ca(OH)₂ titrēšana ar H₃PO₄; - [HPO₄²⁻] šķīduma pilienvēida pievienošana [Ca²⁺] šķīdumam, pH > 9; - citu CaP hidrolīze;

OCP	- Ca(Ac) ₂ pilienveida pievienošana [HPO ₄ ²⁻ /H ₂ PO ₄ ⁻] šķīdumiem pie 60°C, pH 5;
β-TCP	- CaCO ₃ un DCPD cietvielu reakcija 900°C; - CDHAp termiskā konversija;
α-TCP	- β-TCP augsttemperatūras apstrāde 1300°C;
ACP	- [Ca ²⁺] un [HPO ₄ ²⁻] šķīdumu ātra samaisīšana;
MCPM	- H ₃ PO ₄ titrēšana ar Ca(OH) ₂ stipri skābā vidē;
MCPA	- MCPM augsttemperatūras apstrāde T > 100°C;
DCPD	- [Ca ²⁺] šķīduma pilienveida pievienošana [HPO ₄ ²⁻] šķīdumam, 60°C, pH 4;
TTCP	- DCPD cietvielu reakcija ar CaCO ₃ ;
CDHAp	- ACP vai α-TCP hidrolīze.

Nozīmīgākie kalcija fosfātu klases pārstāvji, kuri joprojām tiek plaši pētīti un izmantoti medicīnā, ir HAp un β-TCP. Eksperimentālajā darbā kalcija fosfāti (HAp, β-TCP, BCP) sintezēti ar šķīduma ķīmisko nogulsnešanas metodi un tādēļ literatūras apskatā detalizētāk aprakstīta šī metode.

Pēdējos 20-30 gados ir veikta ievērojama un plaša CaP iegūšanas metožu pētniecība. Pēdējā piecgadē pētniecības darbs ir veltīts „klasisko” metožu optimizēšanai, kuras ir pielietojamas CaP iegūšanai komerciāliem nolūkiem, kā arī jaunu, alternatīvu tehnoloģiju izstrādei. Šis apjomīgais un nepārtrauktais zinātniskais darbs ir saistīts ar pieprasījumu pēc CaP materiāliem ar noteiktām, uzlabotām īpašībām speciālam medicīniskam pielietojumam, kas lielā mērā ir atkarīgas ne tikai no sintēzes metodes, bet arī no noteiktās metodes tehnoloģiskajiem parametriem.

Sintezētajiem CaP pulveriem ir jāatbilst noteiktām īpašībām: ķīmiskajam sastāvam un struktūras parametriem: stehiometrijai, morfoloģijai, kristāliskuma pakāpei, īpatnējam virsmas laukumam, daļiņu izmēram u.c. Šie parametri būtiski ietekmē gala materiāla – biokeramikas īpašības: fāžu sastāvu, blīvumu, termisko stabilitāti, mikrostruktūru, mehāniskās īpašības pēc termiskās apstrādes un līdz ar to arī kvalitāti – šūnu atbildes reakciju organismā.

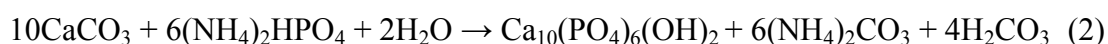
Zinātnieku mērķis joprojām paliek nemainīgs, iegūt tādu kaulu aizvietotājmateriālu, kura ķīmiskās, biomehāniskās, fizikālās, bioloģiskās īpašības pēc iespējas vairāk atbilstu dabīgā kaula īpašībām.

1.4.1. Kalcijs fosfātu iegūšana no dabīgiem prekursoriem

Kalcijs fosfātus var iegūt, izmantojot gan sintētiskas izejvielas, gan biogēnus materiālus, kas sastopami dabā. Galvenokārt, literatūrā ir pieejami dati par HAp, kas iegūts no dabīgiem avotiem, tādiem kā koraļļiem, jūras gliemežvākiem, olu čaumalām, sēpijas čaulām, dabīgā ģipša, kalcīta un liellopu kaula.

Gliemežvāki un koraļļi satur 94% CaCO₃ un 4% organiskās vielas, kā arī nelielos daudzumos citus oksīdus (0.696% SiO₂, 0.649% MgO, 0.419% Al₂O₃, 0.33% SrO, 0.204% P₂O₅, 0.984% Na₂O, 0.724% SO₃), kas pēc hidrotermiskās transformācijas paliek HAp kristāliskajā struktūrā, veidojot kaulam līdzīgu ķīmisko sastāvu [7, 8].

HAp iegūšana no dabīgā aragonīta (CaCO₃ polimorfā modifikācija), izmantojot hidrotermisko transformāciju, ir pazīstama kopš 70. gadiem, kad no Klusā okeāna koraļļiem tika iegūtas HAp 3-dimensiju pamatnes ar mineralizētām kaulam līdzīgu biomimētisku struktūru. Šīs metodes pamatā ir sekojoša reakcija:



Vēl viena iespēja ir izmantot dabīgos CaCO₃ prekursorus CaO iegūšanai, kas savukārt ir viena no populārākajām izejvielām HAp iegūšanai pēc šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodes. Lai iegūtu CaO, šos dabīgos prekursorus apdedzina virs 1000°C, lai likvidētu organisko daļu [39].

1.4.2. Hidroksilapatīta sintēzes metodes

HAp vairākas desmitgades ir ļoti plaši pielietots CaP biomateriāls medicīnā, līdz ar to izstrādāts plašs HAp sintēžu klāsts, izmantojot dažādus reaģentus (1.4.2. tab.) [4, 6, 7, 8, 9, 10].

1.4.2. tabula

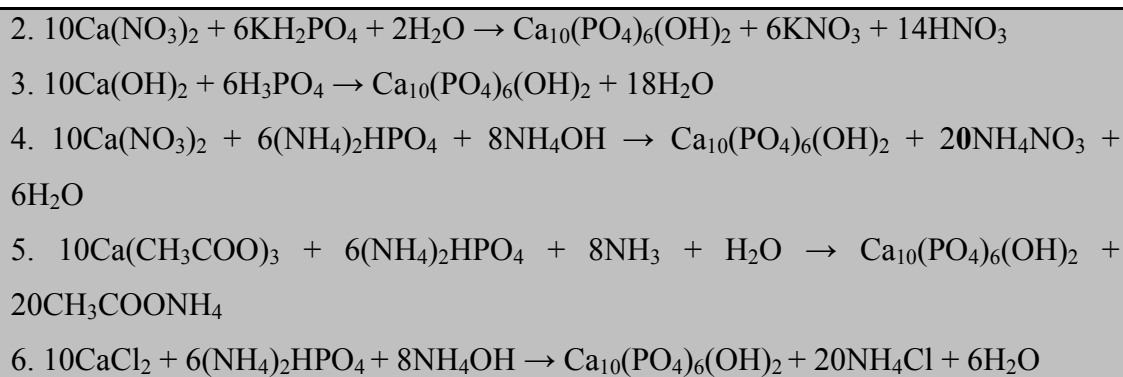
Plašāk pielietotās HAp sintēzes reakcijas

A. Sausās ķīmiskās metodes reakcijas:

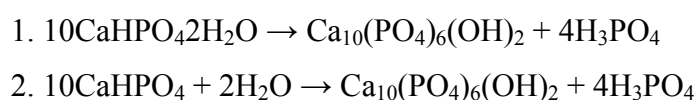
1. $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
2. $3\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + 4\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 4\text{CO}_2$
3. $\text{CaHPO}_4 + 4\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{CO}_2$

B. Šķīduma ķīmiskās metodes reakcijas:

1. $12\text{CaCl}_2 + 8\text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 2\text{CaHPO}_4 + 24\text{HCl}$



C. Hidrotermiskās reakcijas



Ievērojot, ka visi apatīti (CDHAp, HAp un FAp) ir vāji šķīstoši savienojumi, vienkārši samaisot kalciju un fosfātu saturošus šķīdumus pie $\text{pH} > 7$, rodas pārsātināts šķīdums, no kura strauji nogulsnējas milzīgs skaits ļoti smalku kristālu, sākotnēji tie ir ACP kristāli, kuri rekristalizējas par apatīta kristāliem. Nogulsnētā apatīta nanokristālu izmēri nedaudz pieaug Ostvalda nobriedināšanas procesa laikā, kas notiek vārot vai nogatavinot „mātes šķīdumā” (apatīta suspensija pēc sintēzes) apkārtējā gaisa atmosfērā. Pēc nogulšņu filtrēšanas CDHAp apdedzina virs 700°C , lai iegūtu kristālisku, stehiometrisku HAp. Tieši tādēļ nanoizmēra un/vai nanokristālisku apatītu iegūšana nav problēma un ir zināma jau daudzus gadus, jo visi nogulsnētie apatīti pārsvarā ir nanoizmēra [4, 6, 9, 10].

Sintētiskais HAp ir bioloģiskā nanokristāliskā apatīta prototips, tādējādi pēdējos 5 gadus plaši pētītas sintētiska nanoizmēra un/vai nanokristāliska HAp pulvera iegūšanas metodes. NanoHAp sintēzes metodes ietver ķīmisku nogulsnēšanu ar sekojošu žāvēšanu izsmidzinot vai realizējot hidrotermisko apstrādi, sola-gēla metodi, mikroemulsijas metodi, nogulsnēšanu no kompleksa šķīduma ar sekojošu mikroviļņu karsēšanu, šķīduma ķīmisko metodi ar sekojošu žāvēšanu sasaldējot, mehanoķīmisko un hidrotermisko sintēzi, kā arī elektronogulsnēšanas metodi, līdzgulsnēšanas metodi, malšanu bumbu dzirnavās, kaulu vibromalšanu, radiofrekvences indukcijas plazmu, elektrokristalizāciju, mikroviļņu apstrādi, citu kalcija fosfātu hidrolīzi un citas metodes, ar kurām var iegūt dažādas formas un izmēra nanodaļiņas. Galvenokārt apatīta nanodaļiņu forma, izmērs un īpatnējais virsmas laukums ir atkarīgs no sintēzes reakcijas temperatūras un izejvielu pievienošanas ātruma [4, 6, 9, 10].

1.4.3. Šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metode

Nogulsnešanas procesa mehānisms.

Nogulsnešana ir vāji šķīstošu vielu kristalizācija [48]. Nogulsnešanas procesa pētījumus un kontroli apgrūtina tā norise, jo tas ietver vienlaicīgu un strauju primāro procesu virkni sekundāro procesu klātbūtnē. Primārie procesi ietver reaģentu maisīšanu makro, mikro un molekulārajā līmenī, kā arī ķīmisku reakciju, nukleāciju un daļiņu augšanu [48]. Sekundārie procesi ir nogatavināšana (Ostvalda nobriedināšana – *Ostwald ripening*), rekristalizācija, koagulācija, aglomerācija [49, 50].

Nogulsnešana ir process, kurā ir svarīgi gan kristalizācijas, gan reakcijas aspekts. Kristalizācija šķīdumos ir stāvokļa maiņa no šķīdras fāzes uz cietu fāzi, t.i., kristāliem ar regulāru un organizētu struktūru. Kristalizācijas virzītājspēks un nozīmīgākais parametrs ir pārsātinājums. Pārsātinājums nogulsnešanas procesā veidojas ķīmiskas reakcijas rezultātā starp diviem šķīstošiem komponentiem, rezultātā veidojot mazāk šķīstošu produktu, kas kristalizējas [48, 49, 50].

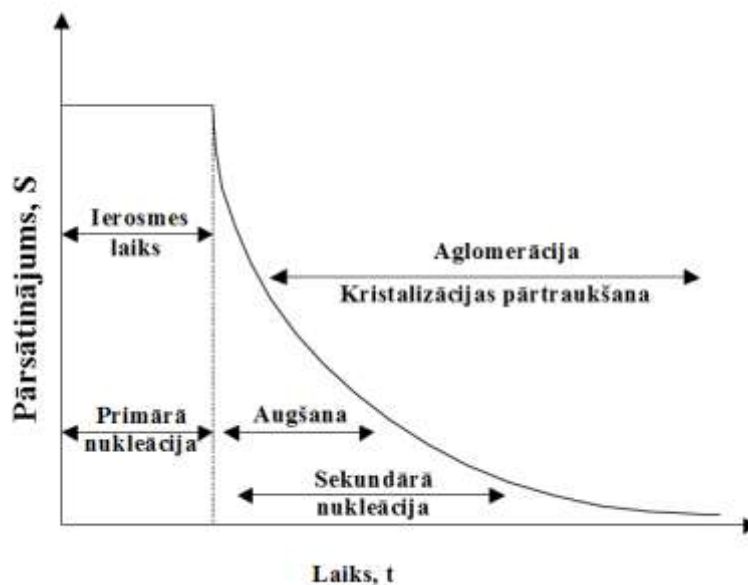
Reaģenti, kurus izmanto nogulsnešanas reakcijā, var būt molekulas vai joni. Reaģenti var izveidot šķīstošas molekulas, kuras pēc tam kļūst cietas vai vāji šķīstoša viela, kas uzreiz nogulsnejas. Jebkurā gadījumā reakcija un kristalizācija notiek vienlaicīgi un ir jāņem vērā gan reakcijas, gan kristalizācijas kinētika [49].

Nogulsnešanas procesā sasniegta ļoti augsta pārsātinājuma pakāpe, kas izraisa augstu nukleācijas kinētiku, bet kristālu augšana ir ļoti vāja, rezultātā veidojot mazas daļiņas nano- vai mikrometru izmērā [49].

Nukleācijas procesam atbilst jaunu daļiņu parādīšanās. Ir iespējami vairāki nukleācijas mehānismi atkarībā no pārsātinājuma pakāpes ķīmiskajā reaktorā. Homogēnai primārajai nukleācijai atbilst kristalizācijas centru parādīšanās tieši pārsātinātā šķīdumā. Heterogēnā primārā nukleācija notiek uz svešām virsmām, kas var būt putekļi suspensijā vai uz reaktora daļām. Virsmas sekundārās nukleācijas (patiesā sekundārā nukleācija) gadījumā kristalizācijas centri veidojas uz jau esošu daļiņu virsmas. Kontakta sekundārā nukleācija tiek ierosināta ar nogulsnētās vielas daļiņām [48].

Nogulsnešanas procesa ierosmes laiks ir atkarīgs no maisīšanas kinētikas, ķīmiskās reakcijas kinētikas, nukleācijas ātruma un izveidoto daļiņu augšanas ātruma.

1.4.1. attēlā parādīta nogulsnešanas procesa mehānisma attīstība atkarībā no nogulsnešanas laika.



1.4.1. att. Nogulsnešanas procesa mehānisma attīstība atkarībā no nogulsnešanas laika [50]

Aglomerācijas process ir kristālu salipšana, veidojot lielākas daļiņas. Kristalizācijas procesa laikā var novērot gan aglomerāciju, gan agregāciju. Aglomerācijas process norit pakāpeniski: 1) divu daļiņu saskarsme; 2) pietiekams laika posms, kurā divas daļiņas atrodas viena otrai blakus; 3) divu daļiņu salipšana pārsātinājuma laikā [48, 49].

Nogulsnešanas procesa pirmreizēju izstrādi vēlamā produkta iegūšanai bieži veic maza tilpuma laboratorijas traukā ar maisītāju. Nogulsnešanas parametru (pH, temperatūra, koncentrācija, maisīšanas ātrums, nobriedināšanas laiks u.c.) sistemātiskas variācijas tiek veiktas ar mērķi, lai atrastu optimizētu parametru kopumu, kas ir dārgs process. Mērogošanas kritēriji, lai pārnestu optimizētus laboratorijas parametrus uz ražošanas mērogu, joprojām ir nenoteikti [48]. Tieši tādēļ nogulsnešanas process joprojām tiek aktīvi pētīts dažādās zinātnes disciplīnās.

1.4.4. Kalcija fosfātu nogulsnešana

Pārsātinātos šķīdumos atkarībā no sistēmas pH un temperatūras, kā arī reaģentu sākotnējās koncentrācijas ir iespējams izgulsnēt dažādas CaP fāzes. Parasti CaP veidošanās šķīdumos ir atkarīga no reaģentu stehiometrijas un šķīduma pH kontaktā

ar cietām vielām. Tā fāze, kura rezultātā tiks izgulsnēta būs termodinamiski visstabilākā fāze, CaP gadījumā tā parasti ir HAp fāze. Saskaņā ar Ostvalda likumu primārās vai spontānā nukleācijas procesā neveidojas termodinamiski visstabilākā fāze, bet gan termodinamiski visnestabilākā fāze, tā saucamā „prekursora fāze”, kurai ir augstāka šķīdība kā stabilai fāzei [51]. Pēc tam šī prekursora fāze rekrystalizējas par termodinamiski visstabilāko fāzi, piemēram, HAp, attiecīgajā nogulsnešanas sistēmā. Atkarībā no sintēzes – nogulsnešanas apstākļiem, prekursora fāze var būt: DCPD ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), OCP ($\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), ACP ($\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$). Pie pH > 9 ACP transformējas par HAp, bet pie pH 7 – 9 transformācija notiek sekojošā secībā: $\text{ACP} \rightarrow \text{OCP} \rightarrow \text{HAp}$, pie kam fāžu pārvēršanās ātrums ir atkarīgs no temperatūras un sintēzes suspensijas pH [8, 10].

Šķīduma ķīmisko metožu priekšrocība ir iespēja iegūt ķīmiski aktīvāku un reaģētspējīgāku HAp pulveri ar mazām daļiņām un lielu virsmas laukumu, kā arī šīs metodes ir salīdzinoši vienkāršas un ar ekonomiskām izmaksām, kā arī piemērotas sintēzes produkta iegūšanai lielos daudzumos. Galvenās šķīduma ķīmisko metožu problēma ir noteiktu kalcija fosfātu fāžu sintēze un reproducēšanas iespēja. Galvenā problēma rodas neprecīzas tehnoloģisko parametru kontroles rezultātā, tas ietekmē nogulsnešanu, reakcijas vides pH, temperatūru, reaģentu Ca/P molāro attiecību u.c. [15].

1.4.5. Hidroksilapatīta iegūšana ar šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodi

Ķīmiskā nogulsnešana no šķīdumiem ir viena no plašāk pielietotajām metodēm kalcija fosfātu, galvenokārt HAp, iegūšanai [15].

Divas pazīstamākās metodes HAp nogulsnešanai ir atklājuši zinātnieki Rathje 1939.gadā, kā arī Hayek un Newesely 1963.gadā [8, 52]. Hayek un Newesely metodes pamatā ir reakcija B4 (1.4.2. tab.), tā saucamā “*apmaiņas metode*”. Šo metodi vēlāk attīstīja Jarcho ar zinātnieku grupu (1976.g.) [8, 53]. “*Apmaiņas metode*” ir dārgāka un sarežģītāka par metodi, kuras pamatā ir reakcija B3 (1.4.2. tab.), bet ar to ir iespējams iegūt augstas kvalitātes HAp produktu. Šo apsvērumu dēļ metodi visbiežāk izmanto HAp pētniecībā, bet reti - komerciāliem nolūkiem.

Rathje reakcija [54] pamatojas uz fosforskābes pilienvēda pievienošanu kalcija hidroksīda suspensijai to nepārtraukti maisot, saskaņā ar reakciju B3 (1.4.2. tab.). Vēlāk šo metodi attīstīja zinātnieki Akao, Tagai un Aoki (1980.g.) [8, 55, 57] un

Osaka ar zinātnieku grupu (1991.g.) [58]. Bieži vien šī metode tiek saukta par „skābes-bāzes” metodi, jo ietver neitralizācijas reakciju starp dzēstiem kaļķiem un fosforskābi pie $\text{pH} > 9.5$. Tā ir visvairāk pielietotā metode HAp sintēzei komerciāliem nolūkiem, jo reaģentu izmaksas ir relatīvi zemas [44].

Jāatzīmē, ka 20.gs. 70.gadu sākumā pie HAp attīstības komercializēšanas vienlaicīgi, bet neatkarīgi strādāja trīs zinātnieku grupas: Jarcho ar zinātnieku grupu ASV, deGroot ar zinātnieku grupu un Denissen Eiropā, kā arī Aoki ar zinātnieku grupu Japānā [3, 8].

Būtiski ir tas, ka ar šo metodi iegūtā produkta kvalitāte ir lielā mērā atkarīga no izejvielām, kas tiek pielietotas sintēzē. Analizējot pieejamo literatūru, tomēr bija sarežģīti atrast konkrētus pētījumus par izejvielu ietekmi uz produkta īpašībām. Šis secinājums pamatots ar veiktajiem pētījumiem eksperimentālajā daļā. Vienīgi Bernard ar līdzautoriem konstatēja [59], ka HAp iegūšanu ar šo metodi apgrūtina CaO sastāvā esošais Mg, kas sekmē nestehiometriskā HAp veidošanos sintēzes laikā, kurš sadalās pēc augsttemperatūras apstrādes.

Pētījumi, kas veikti šīs metodes ietvaros, norāda, ka tehnoloģiskie parametri: reaģentu koncentrācija un pievienošanas ātrums, maisīšanas ātrums un veids, sintēzes beigu pH un temperatūra sintēzes laikā, reakcijas laiks, sintēzes vide, suspensijas nobriedināšanas laiks, var ļoti būtiski ietekmēt iegūtā produkta īpašības (fāžu un ķīmisko sastāvu, kristāliskuma pakāpi, kristalītu izmēru, morfoloģiju, daļiņu lieluma sadalījumu, virsmas laukumu un blīvumu) [44]. Nobriedināšanas laiks var būtiski ietekmēt kristāliskuma pakāpi un saķepšanas procesu, bet izejvielu īpašības blīvas biokeramikas iegūšanai ir saistītas ar produkta mehāniskajām īpašībām. Tādēļ, lai iegūtu vēlamu CaP fāzi pēc augsttemperatūras apstrādes (HAp, β -TCP), ir nepieciešams rūpīgi kontrolēt sintēzes tehnoloģiskos parametrus.

Kopumā HAp pulverim, kas būtu piemērots biokeramikas iegūšanai, ir jāatbilst sekojošām prasībām:

- 1) Pulvera fāžu sastāvam ir jānodrošina vēlamais biokeramikas fāžu sastāvs pēc augsttemperatūras apstrādes;
- 2) Pulverim jā satur smalkas daļiņas un tādējādi jānodrošina liels īpatnējais virsmas laukums;
- 3) Pulverim jābūt ar noteiktu strukturālo organizāciju (noteikta attiecība starp dažāda izmēra aglomerātiem);
- 4) Kristalītiem, kas satur pulvera daļiņas, ir jābūt ar izteikti defektīvu struktūru.

Pēdējās trīs prasības attiecināmas uz saķepšanas procesu, kas nodrošina biokeramikas kvalitāti raksturojošas īpašības [60].

Ideja par dažādu jonu iekļaušanu šķīdumā kristalizācijas laikā ir rosinājusi zinātniekus izpētīt ķīmisku grupu un elementu (fluorīds, karbonāts, magnijs, cinks, silīcijs, dzelzs, stroncijs u.c.) iekļaušanu HAp kristālrežģī, kas ir kaulu vai emaljas sastāvā. Tāda veida HAp modifikācija tiek izmantota, lai noregulētu tādas HAp īpašības kā šķīdību, mehānisko izturību un saistīšanās spēju ar kaulaudiem, piemēram, (Ca^{2+}) jonu aizvietošana ar (Mg^{2+}) vai (Sr^{2+}) joniem var paaugstināt apatīta šķīdības pakāpi. No otras puses, iegūtajam sintēzes produktam nepieciešams kontrolēt pieļaujamo vai optimālo piemaisījumu daudzumu. Jāatzīmē, ka HAp piemaisījumu daudzums miljonajās daļās nevarētu būtiski ietekmēt materiāla vispārējo biosaderību organismā [61]. Piemaisījumu daudzums komerciāli pieejamos HAp pulveros norādīts 1.4.3. tabulā.

1.4.3. tabula

Piemaisījumu daudzums komerciālos HAp pulveros

Mikroelements	Elementu koncentrācija (mg/kg)
Al	100-1000
Cu	1-10
Fe	100-1000
Ge	10-100
Mg	1000-2000
Mn	100-1000
Na	1000-3000
Pb	1-10
Si	100-1000
Ti	30-1000
Zn	10-100

1.5. Šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodes tehnoloģisko parametru ietekme uz kalcija fosfātu īpašībām

Ņemot vērā, ka darba eksperimentālajā daļā CaP sintēzei izvēlēta šķīduma ķīmiskā nogulsnešanas metode pēc Rathje reakcijas, šajā nodaļā analizēta sintēzes tehnoloģisko parametru ietekme uz HAp galaprodukta īpašībām.

Kivrak un Tas eksperimentālajā darbā konstatēts, ka augstākā sintēzes temperatūrā veidojas HAp fāze, kas izskaidrojams ar HAp fāzes šķīdības palielināšanos zemākā temperatūrā [62].

Seckler ar līdzautoriem izpētīja, ka ilgāks reaģentu pievienošanas laiks nodrošina HAp iegūšanu ar augstāku kristāliskuma pakāpi [63]. Sintēzes pH ietekmē kristāliskuma pakāpi un kristālu izmēru. Augstāka kristāliskuma pakāpe un nano izmēra kristāli veidojas pie augstākām pH vērtībām (8.5–9).

Rodriguez-Lorenzo un Vallet-Regi izpētīja, ka reaģentu koncentrācija neuzrāda būtisku ietekmi uz iegūtā HAp pulvera īpašībām [64]. Paaugstinot sintēzes temperatūru, samazinās XRD maksimumu platumi un daļiņu virsmas laukums, savukārt pagarinot sintēzes reakcijas laiku, paaugstinās produkta Ca/P molārā attiecība, kā arī veidojas lielāki kristāli. Pretēji [63] avota datiem, pie zemākas pH vērtības veidojas pulveri ar zemāku Ca/P molāro attiecību un mazāku kristālu izmēru.

Liu ar līdzautoriem konstatēja, ka paaugstināta sintēzes temperatūra virs 35°C paātrina HA veidošanos [65], kā arī temperatūra būtiski ietekmē HAp morfoloģiju, piemēram, 15°C daļiņu izmērs mazāks par 10 nm, 60°C daļiņu izmērs ~ 100 nm.

Torrent-Burgues un Rodriguez-Clemente noskaidroja, ka reaģentu (CaCl_2 , KH_2PO_4) pievienošanas secība ietekmē produkta iznākumu un tā Ca/P molāro attiecību, kā arī produkta kristāliskuma pakāpi [66]. Savukārt reaģentu pievienošanas ātrums neietekmē iegūtā HAp stehiometriju un kristāliskuma pakāpi.

Kim ar līdzautoriem, pretēji [64] avota datiem, secināja, ka relatīvā kristāliskuma pakāpe ir atkarīga no (OH^-) jonu koncentrācijas. Relatīvā kristāliskuma pakāpe samazinās, ja (OH^-) jonu koncentrācija paaugstinās. Kristālu izmērs ir atkarīgs no (OH^-) jonu koncentrācijas. Līdz ar (OH^-) jonu koncentrācijas paaugstināšanos, seko pH paaugstināšanās un kristālu izmēru samazināšanās. Tas nozīmē, ka nukleācijai labvēlīgāka ir augstāka (OH^-) jonu koncentrācija vai pH vērtība, bet kristālu augšanai - zemāka (OH^-) jonu koncentrācija vai pH vērtība [67].

Arifuzzaman un Rohani konstatēja, ka augstākas reaģentu sākotnējās koncentrācijas veicina nukleāciju pie zemākas pH vērtības. Sākotnējā kalciju un fosfātus saturošo reaģentu koncentrācija būtiski neietekmē vidējo kristālu izmēru [68].

1.5.1. Reaģentu sākotnējā koncentrācija

HAp kristalizācija pakļaujas Ostvalda likumam, tāpēc HAp veidojas pēc prekursora fāžu (OCP, DCPD, ACP) rekristalizācijas. Tieša HAp nogulsnešana ir iespējama tikai ar zemām reaģentu koncentrācijām (diapazonā 10^{-3} M pie pH 7.4), kad šķīdums ir nepārsātināts vai nedaudz pārsātināts [56, 69]. HAp, kas iegūts no prekursora fāzes, ir ar kalcija deficītu un tam ir nepieciešams ilgs nobriedināšanas laiks, lai pietuvotos stehiometriskam HAp. Tomēr ievērojot ekonomiskos apsvērumus - reaģentu koncentrācijai jābūt maksimāli augstai. Augstāka reaģentu koncentrācija un pievienošanās ātrums, kā arī zemāka temperatūra un mazs nobriedināšanas laiks var būtiski paaugstināt produkta iznākumu un samazināt sintēzes izmaksas [70]. No otras puses, šie parametri var veicināt heterogēnu fāžu sastāvu, morfoloģiju un kalcija deficītu iegūtajā produktā. Vallet-Regí ar līdzautoriem norāda, ka ar augstākām reaģentu koncentrācijām ir iespējams iegūt lielāku homogēna produkta daudzumu [15].

Noteicoša loma HAp veidošanās procesā ir ķīmiskai nogulsnešanas videi, kuru ietekmē ne tikai pārsātinājuma efekts, bet arī reaģentu daba un koncentrācija. Galvenās grūtības nogulsnešanas procesā rodas, jo kalcija fosfātu sistēmai ir kompleksa daba un kinētisko parametru dominējoša loma pār termodinamiskajiem parametriem fāžu pārvērtību laikā [71]. (PO_4^{3-}) jonu aizvietošana ar (HPO_4^{2-}) joniem ļauj variēt ar Ca/P atomāro attiecību starp 9/6 un 10/6. Tas noved pie CDHAp veidošanās, kas augsttemperatūras apstrādes ietekmē sadalās par HAp un β -TCP. Šo fāžu attiecība ir atkarīga no reaģentu sākotnējās koncentrācijas.

Vairums sintēžu veiktas saskaņā ar tradicionālo „stehiometriskā šķīduma metodi”, kur noteikts molu skaits „P” saturoša šķīduma pievienots pie noteikta molu skaita „Ca” saturoša šķīduma, rezultātā iegūstot sintēzes šķīdumu, kas atbilst attiecīgas CaP fāzes stehiometriskai molārajai attiecībai, piemēram, HAp – 1.67, attiecīgi $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{PO}_4^{3-}] = 0.25 \text{ M}/0.15 \text{ M}$, $0.50 \text{ M}/0.30 \text{ M}$, $1.00 \text{ M}/0.60 \text{ M}$, $1.67 \text{ M}/1.00 \text{ M}$, $2.00 \text{ M}/1.20 \text{ M}$, $3.00 \text{ M}/1.80 \text{ M}$ utt.

Tanaka ar līdzautoriem norādīja, ka palielinot reaģentu sākotnējās koncentrācijas, samazinās sintezētā HAp kristālu izmērs un primāro daļiņu izmērs, kā arī tiek sekmēta adatveida kristālu veidošanās [72]. Sintezēto HAp kristālu morfoloģija ir atkarīga ne tikai no „Ca” un „P” saturošu reaģentu veida, bet arī no šo reaģentu sākotnējās koncentrācijas. Izmantojot $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensiju un H_3PO_4

šķīdumu ar koncentrācijām 0.50 M/0.30 M iegūti sfēriski kristāli, bet ar koncentrācijām 1.67 M/1.00 M – adatveida kristāli. Tanaka pētījumi pierāda, ka palielinot reaģentu sākotnējās molārās koncentrācijas, paaugstinās nukleācijas ātrums un kristalītu izmērs samazinās [72]. Safronova ar līdzautoriem secināja, ka viena no iespējām, kā kontrolēt keramikas mikrostruktūru, ir variēt ar sākotnējo reaģentu koncentrāciju [60].

1.5.2. Sintēzes temperatūra

Sintēzes temperatūra var būtiski ietekmēt kristāliskās fāzes frakciju, kristalītu izmēru un rezultātā arī īpatnējo virsmas laukumu. Kontrolējot sintēzes temperatūru nogulsšanās procesa laikā, Tampieri ar līdzautoriem variēja ar galaprodukta kristāliskuma pakāpi (norāda uz pilnīgu kristāliskas fāzes frakciju) 20-80% robežās [73]. Arī sintēzes produkta morfoloģija ir atkarīga no sintēzes temperatūras un laika. Augstākā sintēzes temperatūrā virs 50°C ir iespējams iegūt sintēzes produktu ar augstāku kristāliskuma pakāpi, kā arī sintēzes produktu ar sfērisku kristālu morfoloģiju. Tādā veidā tīru HAp kristālu morfoloģija ir lielā mērā atkarīga no sintēzes temperatūras. Ķīmiskās nogulsšanās B4 reakcijas (1.4.2. tab.) gadījumā, paaugstinot nogulsšanās temperatūru no 20°C līdz 100°C, tiek izmainīta kristālu morfoloģija no adatveida uz sferoīdu. Tomēr, ja HAp nogulsnēts saskaņā ar B3 reakciju (1.4.2. tab.), kristālu morfoloģijas izmaiņas, paaugstinot sintēzes temperatūru, notiek apgrieztā secībā, t.i., no sferoīda uz adatveida kristālu morfoloģiju [73]. Galvenokārt, adatveida kristālu morfoloģija ir prognozējama, ja kristālu augšanas ātrums ir lielāks un platuma/garuma proporcija samazinās līdz ar augšanas ātruma samazināšanos. Tādā veidā var prognozēt, ka HAp kristālu augšanas ātrums palielināsies līdz ar temperatūras paaugstināšanos B3 reakcija gadījumā, bet samazināsies līdz ar temperatūras paaugstināšanos B4 reakcijas gadījumā. Morfoloģijas izmaiņas temperatūras ietekmē analizētas ņemot vērā (Ca^{2+}) un (PO_4^{3-}) jonu pārsātinājuma pakāpi. Reaģentu pārsātinājuma pakāpe, īpaši (Ca^{2+}) jonu koncentrācija var būtiski ietekmēt nogulšņu morfoloģiju klasiskajā skābes-bāzes reakcijā. Pang un Bao secināja, ka kristāliskuma pakāpes paaugstināšanās līdz ar sintēzes temperatūras paaugstināšanos nav lineāri saistītas [74]. Sintēzes temperatūra, kas zemāka par 70°C, neizraisa būtiskas kristāliskuma pakāpes izmaiņas, bet būtisks kristāliskuma pakāpes palielinājums novērojams sintēzes temperatūrā virs

70°C. Smiciklas ar līdzautoriem atzīmēja, ka, paaugstinot sintēzes temperatūru, palielinās kristālītu izmērs un kristāliskās fāzes frakcija, kamēr specifiskais virsmas laukums samazinās [70]. Paaugstinot sintēzes temperatūru, HAp aglomerātu izmērs samazinās, kā arī lielāki aglomerāti veidojas no relatīvi mazākām daļiņām, kas sintezētas 25°C. Conn norādījis, ka temperatūra, kurā notiek ķīmiskās nogulsņēšanas reakcija, nenozīmīgi ietekmē produkta kvalitāti vai procesa efektivitāti [75]. Zemāka temperatūra un nobriedināšanas laiks var uzlabot produkta iznākumu. Tomēr šie parametri var veicināt heterogēna sastāva un morfoloģijas veidošanos gala produktā.

1.5.3. Reaģentu pievienošanas ātrums

Lai iegūtu tīru stehiometriksu HAp fāzi, ir nepieciešama lēna un kontrolēta fosforskābes pievienošana bāziskai sistēmas videi [76, 77, 78]. Lēns reaģentu pievienošanas ātrums var nodrošināt tīra HAp iegūšanu ar augstu kristāliskuma pakāpi, jo pievienošanas režīmā tiek nodrošināta zema pārsātinājuma pakāpe un sistēmas lokāla neviendabīguma novēršana [79]. Liels skābes pievienošanas ātrums var novest pie CDHAp veidošanās galaproduktā [76]. Reaģentu pievienošanas ātrums ietekmē HAp nukleācijas ātrumu. Lēns pievienošanas ātrums nodrošina izvairīšanos no turpmākas nukleācijas. Pievienošanas ātrums 60 min laikā vai ilgāk nodrošina HAp iegūšanu ar augstu kristāliskuma pakāpi, kamēr 30 min ilgs pievienošanas ātrums nodrošina divfāžu maisījuma: HAp un ACP veidošanos gala produktā. Šajā gadījumā reaģentu pievienošanas ātrums ir augstāks par to patēriņa ātrumu HAp kristalizācijas reakcijā [69]. Tāpēc kalcija un fosfāta jonu koncentrācija šķīdumā veidojas pievienošanas periodā līdz šķīdums kļūst pārsātināts un sākotnēji veidojas ACP. Ja pievienošanas ātrums ir ilgāks (240 min), kristāliskuma indekss ir augstāks. Kaut gan šis rezultāts nav attiecināms vienīgi uz pievienošanas laiku, tomēr tas ir veids, kā paaugstināt kristāliskuma pakāpi. Nozīme ir arī secībai, kādā tiek pievienoti reaģenti, lai iegūtu tīru HAp fāzi. Ja „Ca” saturošs šķīdums tiek pievienots „P” saturošam šķīdumam, reakcijas sākumstadijā veidojas CDHAp un gala produkts arī ir CDHAp. Tā ir būtiskākā šķīduma ķīmiskās nogulsņēšanas metodes problēma [80]. Ja „P” saturošs šķīdums tiek pievienots „Ca” saturošam šķīdumam, sākotnēji veidojas nogulsnes ar Ca pārkāpumu, kas līdz reakcijas beigām pakāpeniski transformējas stehiometriskā HAp [80]. Ja fosforskābes pievienošanas ātrums ir ļoti liels (2400 ml/min), sintēzes reakcijas ķīmiskās pārvērtības samazinās un gala produktā rodas

Ca(OH)₂. Ja skābes pievienošanas ātrums ir mazāks par 100 ml/min, reakcijas ķīmisko pārvērtību ātrums ir 100% [56]. Reaģentu pievienošanas ātrums sintēzes laikā var būtiski ietekmēt gala produkta sastāvu. Lielāks pievienošanas ātrums sistemātiski paaugstina nevēlamu Ca(OH)₂ saturu. Tas izskaidrojams ar reakcijas vides pH. Ja skābe tiek pievienota ļoti ātri, reakcijas vides pH ļoti strauji samazinās (pH < 7).

Ja pH > pK_a, tad H₃PO₄ disociācija notiek saskaņā ar Le Šateljē principu [56]. Citā gadījumā notiek rekombinācija. Tādēļ strauji pievienojot skābi reakcijas videi (2400 ml/min), pH samazināšanās noved pie nepilnīgas fosforskābes disociācijas un bez (PO₄³⁻) jonu klātbūtnes HAp veidošanās ir neiespējama. Šis gadījums izskaidro neizreāģējušā vai pārpalikušā Ca(OH)₂ klātbūtni gala produktā, kas pēc augsttemperatūras apstrādes transformējas par CaO. Tādos apstākļos sintezētais HAp satur (H₂PO₄⁻) vai (HPO₄²⁻) jonus, kas aizvieto (PO₄³⁻) jonus, kas arī izskaidro pārpalikušo Ca(OH)₂. Hidrogenfosfātu fāzes ir sarežģīti detektēt ar XRD, šo fāžu klātbūtne izraisa nelielu elementāršūnu deformāciju. Šīs fāzes var izteikt ar sekojošu ķīmisko formulu: Ca_{10-x}(HPO₄)_x(PO₄)_{6-x}(OH)_{2-x}, kur 0 < x < 2 [56].

1.5.4. Maisīšanas ātrums

Lai būtu iespējams nogulsnēt kristālisku produktu, ķīmiskai nogulsnēšanas reakcijai ir nepieciešama samaisīšana molekulārajā līmenī. Maisīšanas režīms var ietekmēt gala produkta stehiometriju [80]. Guilletti ar līdzautoriem izpētīja maisīšanas apstākļus, kas ietekmē kristālu formu, tīrību, kristāliskuma pakāpi un pat fāzes, kas veidojas gala produktā [81]. Pētījumos konstatēts, ka lielu kristālu ar augstu kristāliskuma pakāpi un tīrību iegūšanai nepieciešams nogulsnēšanas process pie zemas pārsātinājuma pakāpes. Tādēļ reaģenti ir jāpievieno tuvu augstas maisīšanas intensitātes zonām.

Ja ir nepieciešams iegūt smalkas daļiņas ar šauru daļiņu lieluma sadalījumu, nepieciešama intensīva maisīšana ar strauju kontaktu starp koncentrētiem reaģentiem [81]. Maisīšanas efekts ir jāņem vērā, lai korekti ekstrapolētu eksperimentālo reaktoru rūpnieciskā mērogā [82]. Hidrodinamiskie faktori, kas regulē maisīšanu un sākotnējo kontaktu starp reaģentiem, būtiski ietekmē morfoloģiju un kristālu lieluma sadalījumu [69]. Maisīšanas ātrumam ir jābūt tādā, lai nodrošinātu homogēnas vides iegūšanu. Monetīta un brušīta veidošanās ir novērojama nepietiekošas Ca(OH)₂ suspensijas samaisīšanas rezultātā fosforskābes pievienošanas laikā [70]. (PO₄³⁻) jonu

koncentrācija pieaug, ja tie netiek homogēni izkliedēti sintēzes tilpumā un veidojas lokalizēts zems pH līmenis, kas izraisa šķīstošu nogulšņu veidošanos [77]. Lai novērstu dikalcija fosfāta veidošanos, ir jāizvairās no fosforskābes augstas lokālās koncentrācijas.

1.5.5. Nobriedināšanas laiks

Nobriedināšanas laikā HAp kristāli ir pakļauti procesam, kas ietver šķīšanu un rekrystalizāciju. Nobriedināšanas laikā mazākiem kristāliem ir tieksme izzust, bet lielākiem – turpināt augt. Šī procesa rezultātā samazinās kopējais kristālu skaits un kristālu virsmas raupjums, kā rezultātā savukārt samazinās specifiskais virsmas laukums [76]. HAp kristāliskuma pakāpe ir lielā mērā atkarīga no nobriedināšanas laika pēc nogulsnešanas reakcijas [73]. HAp pulveru kristāliskuma pakāpe un kristālītu izmērs ļoti strauji palielinās agrīnā nobriedināšanas stadijā un pakāpeniski izlīdzinās nobriedināšanas beigās. Tampieri ar līdzautoriem novēroja, ka HAp kristāliskuma pakāpe paaugstinās 20-70% robežās, palielinot nobriedināšanas laiku līdz 24 h [73, 74]. Suspensijas nobriedināšana izraisa nogulšņu augšanu un morfoloģijas izmaiņas [83]. Nobriedināšana var ilgt vairākas dienas vai pat mēnešus, un galvenokārt, uzlabo produkta kvalitāti, kas iezīmējas ar lielāku kristālu izmēru un augstāku kristāliskuma pakāpi. HAp kristālu iegūšana no stipri pārsātināta šķīduma notiek ar starpfāzes vai prekursora fāzes (OCP, TCP) palīdzību, kurai ir īslaicīga eksistence. Prekursora fāzes nelielu daudzumu var novērot pat pēc pagarināta nobriedināšanas laika [78]. Sintēze pie paaugstinātas temperatūras (piemēram, 90°C) un nobriedināšana uzlabo materiāla strukturālo perfekciju un tādā veidā samazina kristālītu defektu blīvumu un vājina sintezētā pulvera saķepšanas īpašības. Šie novērojumi liecina, ka nobriedināšanas laiks, kas var ilgt dažas nedēļas vai mēnešus, ir jāizslēdz no HAp pulvera iegūšanas tehnoloģijas vai tam ir jāilgst tikai dažas minūtes [60].

1.5.6. Sintēzes atmosfēra

CaP sintēzes, īpaši ķīmiskās nogulsnešanas laikā var notikt atmosfēras CO₂ adsorbēcija, kas (CO₃²⁻) anjonu formā tiek iekļauts HAp kristālrežģī, rezultātā radot mikrosprigumus un stehiometriskā HAp režģa deformācijas. Tomēr arī ar slāpekli kontrolētā sintēzes vidē, paraugos ir konstatēts neliels (CO₃²⁻) anjonu daudzums [70].

Lai izvairītos no sintēzes vides piesārņojuma ar apkārtējo atmosfēru, sintēzes reaktorā un skābes šķīduma tilpnē nogulsnešanas procesa laikā ir nepārtraukti jāievada filtrēta inertā gāze [77].

LITERATŪRAS APSKATA KOPSAVILKUMS

Izvērtējot literatūras apskatā analizēto zinātniskās literatūras informāciju, var secināt, ka neskatoties uz ilggadīgu kalcija fosfātu pētniecību un sekmīgu pielietošanu biomateriālu pētniecības nozarē, joprojām ir milzīgs potenciāls šo materiālu attīstībai un turpmākai pētniecībai dažādās zinātnes disciplīnās: materiālzinātnē, bioloģijā, medicīnā, kas saistītas ar funkciju atjaunošanu cilvēka orgānismā.

Nākotnes intereses būtu saistītas ar jaunas paaudzes kalcija fosfātu pamatņu izstrādi gēnu aktivēšanai specifiskam pielietojumam konkrēta pacienta bojāto kaulaudu aizvietošanai. Tomēr, lai īstenotu nākotnes kalcija fosfātu biomateriālu vīziju, ir nepieciešams atrisināt joprojām pastāvošas un aktuālas problēmas kalcija fosfātu izmantošanai biomateriālu jomā, piemēram, uzlabot mehāniskās īpašības, paaugstināt bioaktivitāti, uzlabot biomedicīnisko pārklājumu termisko un mehānisko stabilitāti u.c.

Kaut gan biomateriālu tirgū ir pieejams ļoti plašs kalcija fosfātu bāzes materiālu klāsts, tomēr daudziem no šiem biomateriāliem ir relatīvi prognozējamas īpašības pēc termiskās apstrādes - fāžu sastāvs, ķīmiskais sastāvs, mikrostruktūra, kristāliskuma pakāpe, termiskā stabilitāte u.c., kas nepieciešamas implantmateriālu izstrādei.

Galvenais faktors, kas ietekmē šo materiālu raksturojumu, ir izvēlēta iegūšanas tehnoloģija un tehnoloģisko multiparametru regulācijas iespējas, kas neatgriezeniski izmaina gala produkta īpašības.

Šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodes (izvēlēta kalciju fosfātu sintēzei eksperimentālajā daļā) raksturojums uzskatāmi norāda uz šī procesa komplicētību un gala produkta mainīgumu atkarībā no tehnoloģiskajiem parametriem. Tāpēc joprojām ir aktuāla kalcija fosfātu bāzes materiālu izstrādes tehnoloģija, kas ļautu iegūt produktu ar variējamu īpašību klāstu un prognozējamu, reproducējamu kvalitāti.

Uz literatūras apskata analīzes pamata secināms, ka perspektīva un maz pētīta ir dažādu izjemateriālu izmantošana kalcija fosfātu sintēzes vai iegūšanas procesā un to tieša vai netieša ietekme uz produkta īpašībām, kas spētu ietekmēt materiāla bioaktivitāti.

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Kalcija fosfātu sintēze ar modificētu šķīduma ķīmiskās nogulsņēšanas metodi

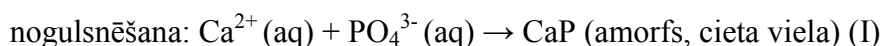
2.1.1. Sintēzes metodes izvēle un modificēšana

Kalcija fosfātu fāžu (HAp, β -TCP un BCP) sintēzei izvēlēta šķīduma ķīmiskās nogulsņēšanas metode saskaņā ar reakciju B3 (1.4.2. tab.), kuru tradicionāli izmanto HAp sintēzei (1.4.5. nod.) [8, 44, 54].

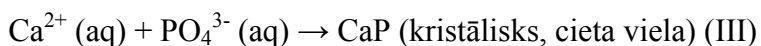
Šī reakcija ir sadalīta divos secīgos procesos:

- 1) Ca(OH)_2 šķīdināšana;
- 2) HAp nogulsņēšana [80].

CaP cietas vielas veidošanās ietver divus procesus: pirmais ir nogulsņēšana no šķīduma (cietas vielas veidošanās), bet otrais - cietas vielas kristalizācija:



Šie abi procesi var notikt arī vienlaicīgi, ja nogulsnētais produkts jau ir kristālisks:



Ņemot vērā, ka Ca(OH)_2 mazšķīstošs ūdenī un (PO_4^{3-}) jonu stāvoklis ir atkarīgs no vides pH, sintēzes vides pH kontrole ir svarīga, lai izvairītos no nevēlamu CaP fāžu veidošanās.

Salīdzinājumā ar citām zināmām metodēm, šīs metodes priekšrocības ir:

- 1) Piemērota CaP iegūšanai lielos apjomos;
- 2) Liels sintēzes iznākums (~ 87%);
- 3) Zemas izmaksas;
- 4) Relatīvi vienkārša iegūšanas tehnoloģija;
- 5) Videi draudzīga metode, vienīgais sintēzes blakusprodukts ir ūdens;
- 6) Sintēzes produkts ar variējamām īpašībām.

Šīs metodes izvēle pamatota ar iespēju veikt sintēzes procesa mērogošanu un līdz ar to sintēzes tehnoloģijas pārnesi uz ražošanu lielos apjomos, kas būtu šī darba galvenais ieguvums turpmākiem pētījumiem un eksperimentiem. Par galveno trūkumu

var uzskatīt – precīzu tehnoloģisko multiparametru regulāciju, kuru izmaiņas var būtiski ietekmēt sintēzes galaprodukta, kā arī biokeramikas īpašības pēc termiskās apstrādes. Šo daudzo parametru regulācija var būtiski ietekmēt sintēzes procesa atkārtojamību (reproducējamību), lai iegūtu nemainīgas kvalitātes produktu. Sintēzes procesa atkārtojamības iespēja ir galvenais priekšnosacījums ražošanai lielos apjomos.

Lai novērstu metodes trūkumus un ar izvēlēto sintēzes metodi iegūtu ne tikai hidroksilapatīta, bet arī β -trikalcija fosfāta vai divfāžu kalcija fosfāta produktus pēc termiskās apstrādes, eksperimentālā darba ietvaros veikta sintēzes metodes modificēšana. Izvēlētai sintēzes metodei veikti sekojoši uzlabojumi:

- 1) Ca(OH)_2 suspensijas apstrāde planetārajās bumbu dzirnavās, lai iegūtu homogēnu un smalkdispersu suspensiju, kā arī nodrošinātu sintēzes vides homogenitāti CaP fāžu nogulsnešanas procesā. Novērsts „kaļķu dzēšanas” procesa trūkums - neizreaģējušu CaO kristālu un lielu Ca(OH)_2 aglomerātu veidošanās hidratācijas procesā, kas veido heterogēnu sistēmu;
- 2) Minimizēts mainīgo tehnoloģisko parametru skaits (mainīgie parametri - sintēzes beigu pH un sintēzes temperatūra), lai nodrošinātu prognozējamu un reproducējamu produkta iegūšanu, saglabājot iespēju iegūt CaP produktu ar variējamu HAp un β -TCP fāžu attiecību;
- 3) Izvēlētas Ca(OH)_2 suspensijas un H_3PO_4 šķīduma molārās koncentrācijas, kas neatbilst tradicionālam „stehiometriskā šķīduma metodes” pamatprincipam, respektīvi, stehiometriskai reaģentu molāro koncentrāciju attiecībai - 1.67. Pie tam, precīza sintēzes šķīduma stehiometrijas kontrole negarantē iegūtā gala produkta stehiometriju. Balstoties uz eksperimentālo rezultātu bāzes, izmantojot dažādas reaģentu koncentrācijas, sintēzes veiktas ar $c = [\text{Ca}^{2+}]/[\text{PO}_4^{3-}] = 0.15 \text{ M}/4.76 \text{ M}$. Augstāka H_3PO_4 šķīduma koncentrācija noved pie ātrākas Ca(OH)_2 izšķīšanas un CaP nogulsnešanas. Novērsts galvenais „stehiometriskā šķīduma metodes” trūkums - nepieciešamība pēc liela tilpuma atšķaidītiem šķīdumiem, iegūstot relatīvi mazu produkta iznākumu.

Literatūras apskats un iepriekš veikto eksperimentu rezultāti izmantoti par pamatu šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas metodes nozīmīgāko tehnoloģisko parametru identificēšanai, kas ietekmē CaP galaprodukta īpašības. Tehnoloģiskie parametri, kas ietekmē CaP fāžu nogulsnešanu: sintēzes beigu pH un sintēzes temperatūra, reaģentu Ca/P molārā attiecība utt. Šie parametri ietekmē arī produkta

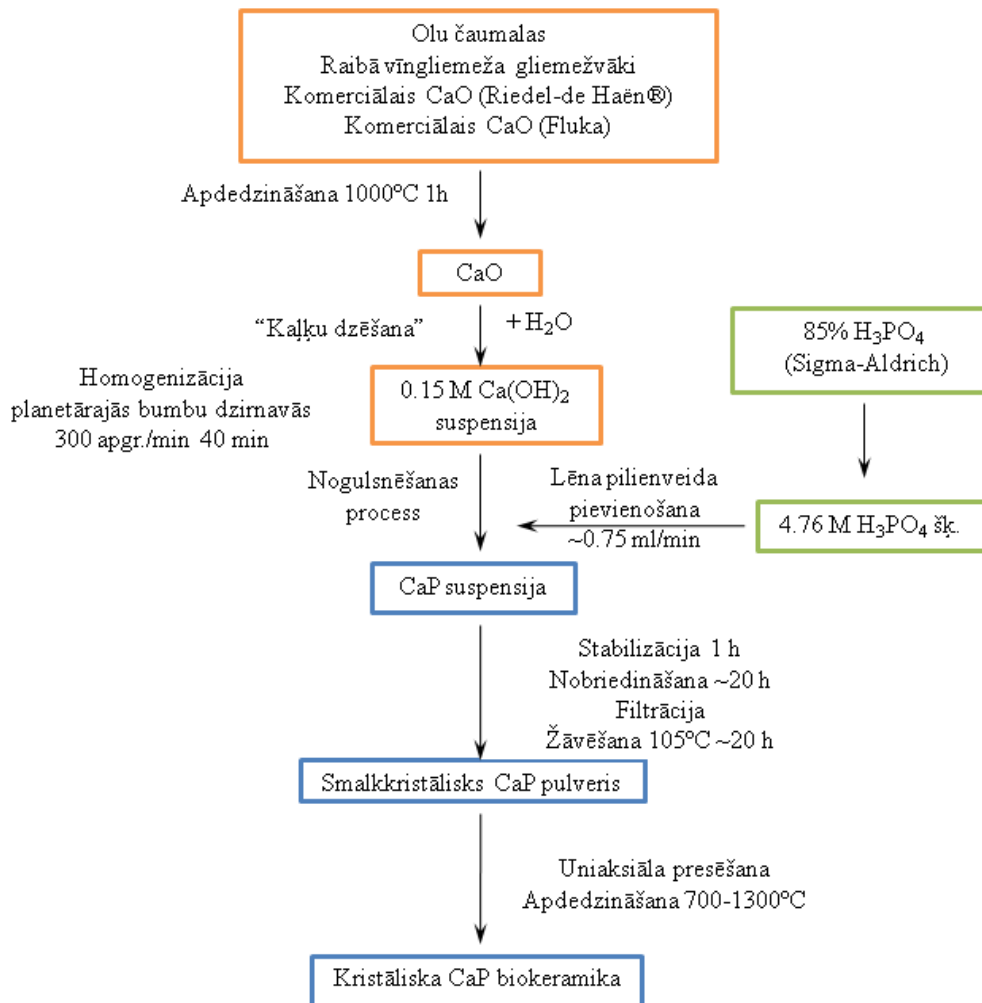
stehiometriju, kristāliskuma pakāpi, morfoloģiju, var veicināt atšķirīgu iegūtā materiāla *in vivo* un *in vitro* uzvedību t. i., materiāla bioaktivitāti organismā [61].

Eksperimentālā darba ietvaros svarīgi izstrādāt tehnoloģiju, ar kuru iespējams iegūt lielu un reproducējamu vēlamās CaP fāzes (HAp, β -TCP, HAp/ β -TCP) daudzumu, kuru ir iespējams optimizēt specifiskam pielietojumam vai apstrādes prasībām, kontrolējot fāžu sastāvu, piemaisījumus, morfoloģiju, kristālu un daļiņu izmēru.

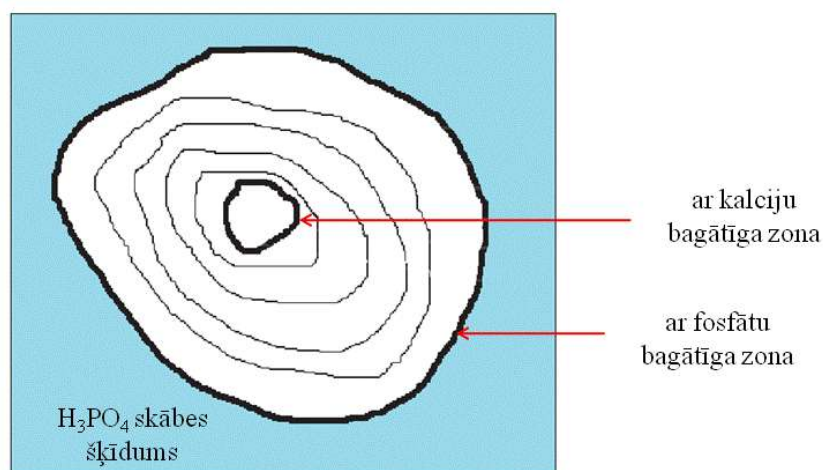
Eksperimentālajā daļā kalcija fosfāti sintezēti ar modificētu šķīduma ķīmiskās nogulsņēšanas metodi. Salīdzinājumā ar tradicionālām nogulsņēšanas metodes tehnoloģijas stadijām, CaO tika dzēsts ar destilētu ūdeni un iegūtā suspensija malta planetārajās bumbu dzirnavās, lai iegūtu homogēnu un smalkdispersu $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensiju un novērstu neizreaģējušā CaO veidošanos pēc augsttemperatūras apstrādes CaP biokeramikas paraugos. Detalizēta CaP sintēzes un biokeramikas iegūšanas tehnoloģiskā shēma parādīta 2.1.1. attēlā.

Eksperimentāli pierādīts, ka tradicionālajā „kaļķu dzēšanas” procesā praktiski nav iespējams izvairīties no neizreaģējušu CaO kristālu un lielu $\text{Ca}(\text{OH})_2$ aglomerātu veidošanās hidratācijas procesā. Bernard ar zinātnieku grupu konstatējis, ka $\text{Ca}(\text{OH})_2$ šķīšanas ātrums ir atkarīgs ne tikai no maisīšanas ātruma, sintēzes temperatūras, skābes šķīduma pievienošanas ātruma, bet arī no sākotnējā $\text{Ca}(\text{OH})_2$ daļiņu lieluma sadalījuma [80]. Savukārt no $\text{Ca}(\text{OH})_2$ šķīšanas kinētikas ir atkarīgs sintēzes suspensijas pH un līdz ar to arī CaP fāžu veidošanās.

Eksperimentālajā darbā CaP produktu sintēzēm pirmo reizi izmantotas izejmateriālu nestehiometriska molāro koncentrāciju attiecība, kas ir ne tikai nestehiometriska, bet arī ar atšķirīgu koncentrācijas pakāpi: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensijai - 10^{-1} M, H_3PO_4 šķīdumam - 10^1 M. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensijas reakcija ar H_3PO_4 šķīdumu norit heterogēnā sistēmā, kurā saistībā ar daļēji šķīstošu $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ir masas pārnese ierobežojumi, līdz ar to eksperimentālajā darbā izmantotais augstas koncentrācijas H_3PO_4 šķīdums varētu labāk šķīdināt $\text{Ca}(\text{OH})_2$ graudus (2.1.2. att.).



2.1.1. att. CaP biokeramikas iegūšanas principiālā tehnoloģiskā shēma



2.1.2. att. Daļēji reaģējoša ar H₃PO₄ šķīdumu Ca(OH)₂ grauda struktūra ar vairākiem koncentrācijas gradienta slāņiem; reakcijas vides Ca/P molārā attiecība pieaug šķīdinot Ca(OH)₂ graudus dinamiskā sistēmā

2.1.2. Izmantotais laboratorijas aprīkojums un analīzes metodes

Eksperimentālajā darbā izmantotais laboratorijas aprīkojums uzskaitīts 2.1.1. tabulā.

2.1.1. tabula

Izmantotais laboratorijas aprīkojums

Aprīkojums	Raksturojums
Laboratorijas reaktors	<p>„IKA EUROSTAR Power Control-Visc P7”</p> <p>$V_{\text{DARBA}} = 500-2000 \text{ ml}$</p> <p>$T_{\text{DARBA}} = 20-230^{\circ}\text{C}$</p> <p>Enkurveida maisītājs, 8-290 apgr./min</p> <p>Turbulenta plūsma ($Re > 10^4$)</p> <p>Griezes moments max 380 Ncm</p>
Titrēšanas sistēma	<p>„TITRONIC”</p> <p>$V_{\text{STIKLA TVERTNEI}} = 1000 \text{ ml}$</p> <p>$V_{\text{BIRETEI}} = 20 \text{ ml}$</p> <p>Dozēšana 0.01-999.99 ml</p> <p>Dozēšanas precizitāte 0.15% no nominālā V</p>
Filtrēšanas sistēma	<p>Bunzena kolba (vakuumkolba) Bīhnera piltuve, vakuumsūknis</p>
pH-metrs	<p>„ino Lab pH 720”</p> <p>$\text{pH}_{\text{DARBA}} = 0-14$</p> <p>$T_{\text{DARBA}} = -5^{\circ}\text{C}-105^{\circ}\text{C}$</p> <p>Precizitāte $\pm 0,01$</p> <p>Temperatūras precizitāte $\pm 1^{\circ}\text{C}$</p> <p>Kalibrēšanas šķīduma precizitāte ± 0.01</p>
Planetārās bumbu dzirnavas	<p>„FRITSCH planetary mill PULVERISETTE 5”</p> <p>50- 400 apgr./min</p> <p>$V_{\text{DARBA}} = 10-900 \text{ ml}$</p> <p>Ahāta maļķermeņi, $\varnothing 10 \text{ mm}$</p> <p>Galaprodukta smalkums $< 1 \mu\text{m}$</p>
Laboratorijas elektriskā plītiņa ar temperatūras sensoru	<p>„IKA RCT basic,,</p> <p>Temperatūras precizitāte ar sensoru $\pm 1^{\circ}\text{C}$</p>

	$T_{\text{DARBA}} = 20\text{-}310^{\circ}\text{C}$
Universālā krāsns, sterilizators, inkubators	„Mettler Excellent” $T_{\text{max}} = 220^{\circ}\text{C}$ Precizitāte $\pm 1^{\circ}\text{C}$
Muflēkrāsns	„Nabertherm LHT 08/17” $T_{\text{MAX DARBA}} = 1650^{\circ}\text{C}$ Precizitāte $\pm 3^{\circ}\text{C}$
Multifunkcionālā prese ar hidraulisko cilindru	„P/O/WEBER PW 40 PK” max spiediena spēks 100 kN
Malšanas ierīce	„FRITSCH Mini-mill PULVERISETTE 23” ZrO_2 smalcināšanas trauks ($V_{\text{max}} = 5 \text{ ml}$) ar smalcināšanas lodi Malšanas ierīces svārstības: 900-3000 svārst./min

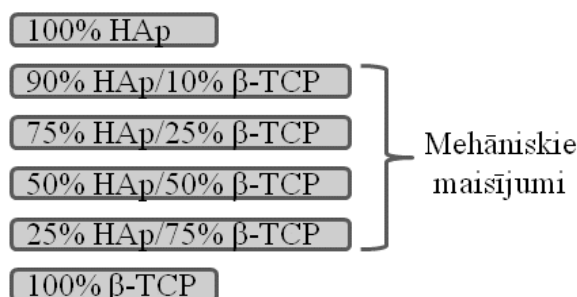
Eksperimentālajā darbā izejmateriālu un sintēzes produktu raksturošanai izmantoto analīzes metožu uzskaitījums un apraksts uzrādīts turpmākajos punktos.

2.1.2.1. Rentgenstaru pulverdifrakcija (XRD)

Sintēzes izejmateriālu un iegūto CaP produktu kristālisko fāžu sastāva analīze veikta ar pulvera XRD. Paraugu analīzei izmantots „PANalitical X’Pert PRO” rentgendifraktometrs ar Cu $K\alpha$ starojumu ($\lambda=1.5406 \text{ \AA}$). Paraugi uzņemti rotējošā režīmā „spinning mode” (lai samazinātu iespējamās teksturēšanās ietekmi), izmantojot daudzpunktu detektoru, 2θ diapazonā no $20\text{-}70^{\circ}$ ar skenēšanas soli 0.0334° un izturēšanas laiku 30.480 s un 200.025 s. Pirms analīzes pulverveida paraugi saberzti pietā. Kristālisko fāžu identificēšanai izmantoti PDF-2 datu bāzē esošie tīru fāžu rentgendifrakcijas dati no ICDD (International Centre for Diffraction Data), izmantojot datorprogrammas X’Pert HighScore un X’Pert Data Viewer.

2.1.2.2. Hidroksilapatīta/ β -trikalcijs fosfāta fāžu attiecības noteikšana ar puskvantitatīvo XRD metodi

Termiski apstrādāto CaP produktu HAp/ β -TCP fāžu attiecības noteikšanai ar puskvantitatīvo metodi izmantota kalibrēšanas līkne, kas iegūta pēc sekojošu pulverveida paraugu rentgendifrakcijas rezultātiem (2.1.3. att.).



2.1.3. att. HAp un β -TCP fāžu attiecības mehānisko maisījumu pagatavošanai

Mehāniskiem maisījumiem izmantotie HAp un β -TCP paraugi iegūti darba eksperimentālajā daļā. Lai iegūtu mehāniskos maisījumus un konstruētu kalibrēšanas līkni, kā arī noteiktu HAp/ β -TCP fāžu attiecības iegūtajos produktos, ievēroti identiski pulverveida paraugu sagatavošanas un rentgendifraktogrammas uzņemšanas noteikumi:

- 1) sintezētie HAp (Ap), β -TCP (β -TCP) pulveri pēc žāvēšanas žāvskapī ($105^{\circ}\text{C} \sim 20$ h) saberzti piestā un apdedzināti mufelkrāsnī 1100°C 1h;
- 2) apdedzinātie pulverveida maisījumi (~ 1 g) malti dzirnavās 2 min;
- 3) samaltajiem pulverveida paraugiem uzņemtas rentgendifraktogrammas 2 θ diapazonā no 20 - 45° ar soli 0.0334° un izturēšanas laiku 200.025 s.

Šī metode pielietota maisījuma kvantitatīvā sastāva noteikšanai, izmantojot rentgendifraktogrammas pilna profila datus, taču šī ir puskvantitatīva metode un tās relatīvā kļūda svārstās no 1–5% paraugiem ar vienādu vai ļoti līdzīgu masas absorbcijas koeficientu, bet relatīvā kļūda palielinās līdz pat 20%, ja masas absorbcijas koeficients ir krasi atšķirīgs [84].

Masas absorbcijas koeficients ir aditīva funkcija un vielai to var aprēķināt kā elementiem piemītošu summu (2.1.1) [84]:

$$\mu_M = w_A \mu_A + w_B \mu_B \quad (2.1.1)$$

kur μ_M - masas absorbcijas koeficients vielai, kas satur attiecīgi masas daļas w_A un w_B elementiem A un B;

μ_A, μ_B - masas absorbcijas koeficients katram elementam, kas ir savienojumā.

Jo mazāks masas absorbcijas koeficients, jo mazāks būs relatīvās intensitātes ieguldījums fāžu maisījuma rentgendifraktogrammā, līdz ar to palielinās relatīvā kļūda masas daļas aprēķināšanā.

Lai konstruētu kalibrēšanas līkni, nepieciešams veikt uzņemto difraktogrammu apstrādi. Intensitāte fāžu maisījuma difraktogrammā ir tīru vielu rentgendifraktogrammu intensitāšu monotona funkcija, tāpēc ir iespējams aprēķināt katras fāzes masas daļu maisījumā, neatkarīgi no difrakcijas maksimumu pārklāšanās. Vienas fāzes masas daļa aprēķināta, izmantojot mazāko kvadrātu metodi. Aprēķinos izmantots katrs rentgendifraktogrammas punkts ar soli 0.0334° . Katrā punktā no tīrajām fāzēm aprēķināta maisījuma teorētiskā intensitāte (2.1.2) [84]:

$$I_{apr} = \frac{I_A w_A \mu_A}{w_A \mu_A + (1 - w_A) \mu_B} + \frac{I_B (1 - w_A) \mu_B}{w_A \mu_A + (1 - w_A) \mu_B} \quad (2.1.2)$$

kur I_{apr} - aprēķinātā intensitāte;

w_A, w_B - masas daļa katram elementam, kas ir savienojumā;

μ_A, μ_B - masas absorbcijas koeficients katram elementam, kas ir savienojumā (2.1.2. tab.).

2.1.2. tabula

CaP fāžu masas absorbcijas koeficients

CaP fāze	Masas absorbcijas koeficients [μ]
HAp	87.07
β -TCP	86.26

Optimizēšanai izmantota MS Excel funkcija Solver, lai iegūtu vismazāko starpības kvadrātu summu $\sum \Delta^2$, vienlaicīgi aprēķinot vienas fāzes masas daļu. Mērījuma precizitātes raksturošanai izmanto relatīvo kļūdu. Tā ir mērījuma absolūtās kļūdas attiecība pret mērīšanā iegūtā fizikālā lieluma skaitlisko vērtību.

Eksperimentālo un pēc vienādojuma aprēķināto intensitāšu starpību un šo starpību kvadrātu summu $\sum \Delta^2$ aprēķina sekojoši (2.1.3) [84]:

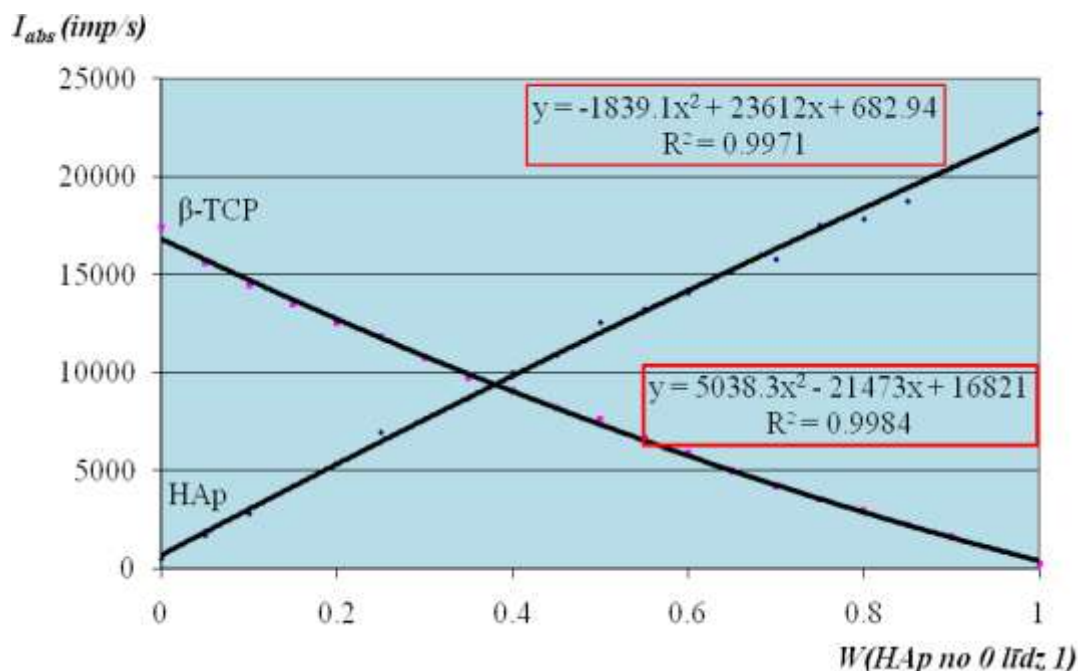
$$\sum \Delta^2 = \sum (I_{apr} - I_{eksp})^2 \quad (2.1.3)$$

kur $\sum \Delta^2$ – eksperimentālo un aprēķināto intensitāšu starpību kvadrātu summa;

I_{apr} - aprēķinātā intensitāte;

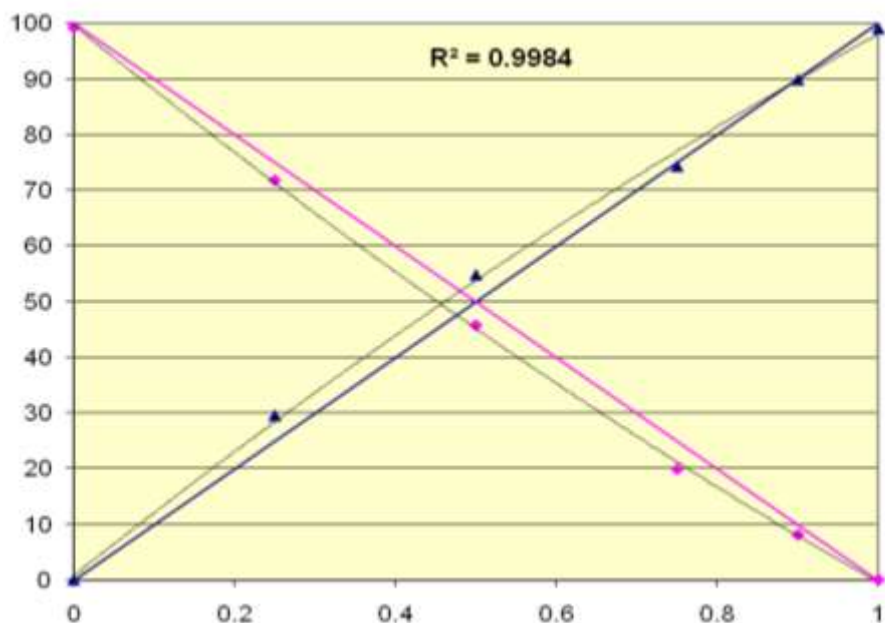
I_{eksp} - eksperimentālā intensitāte.

Kalibrēšanas grafiks konstruēts, izmantojot intensitātes pie HAp fāzes maksimuma $31.804^\circ 2\theta$ un β -TCP fāzes maksimuma $31.045^\circ 2\theta$ (šie maksimumi izvēlēti, jo tie ir pietiekami intensīvi un nav novērojama savstarpēju maksimumu pārklāšanās). No eksperimentālajiem datiem var izvilkt divas lineāras taisnes (2.1.3. att.), tādēļ ka masas absorbcijas koeficienti HAp un β -TCP fāzēm ir līdzīgi (2.1.2. tab.).



2.1.3. att. HAp/ β -TCP maisījumu kalibrēšanas grafiks

Aproksimācijas labuma koeficients R^2 ļauj novērtēt, cik labi modelis atbilst eksperimentālajiem datiem. 2.1.3. attēlā uzrādītajam kalibrēšanas grafikam $R^2 = 0.9984$, t.i., šis grafiks izmantojams pietiekami precīzai HAp/ β -TCP attiecības nolasīšanai. Masas pavājinājuma koeficienti abām fāzēm nav pilnīgi identiski, līdz ar to precīzāku rezultātu iegūšanai izmantojams kalibrēšanas grafiks, kas konstruēts, izmantojot polinomu sakarību (2.1.4. att.).



2.1.4. att. HAp/β-TCP maisījumu kalibrēšanas grafiks

HAp/β-TCP attiecības noteikšana iegūtajos CaP produktos īstenota sekojošos posmos:

- 1) Uzņemta difrakcijas aina pulverveida paraugam (parauga sagatavošanu un programmas izvēli skatīt iepriekš);
- 2) Noņemts fons difraktogrammai;
- 3) Rezultāti pārnesti Excel formātā;
- 4) Nolasīta intensitāte pie HAp fāzes maksimuma $31.804^\circ 2\theta$;
- 5) Pēc kalibrēšanas grafika (2.1.4. att.) vienādojuma aprēķināta intensitātei atbilstoša HAp fāzes masas daļa;
- 6) Pēc vienādojuma (2.1.2) aprēķināta pētāmā maisījuma teorētiskā intensitāte;
- 7) Aprēķināta eksperimentālo un aprēķināto intensitāšu starpību kvadrātu summa $\sum \Delta^2$;
- 8) Izmantojot MS Excel funkciju Solver, optimizēta starpības kvadrātu summa $\sum \Delta^2$, vienlaicīgi aprēķinot vienas fāzes masas daļu;
- 9) Aprēķināta iegūtā rezultāta relatīvā kļūda, kas ir robežās no 1.3–4.6 %.

2.1.2.3. Kristalītu izmēra (L_{200} un L_{300}) noteikšana

Sintezētu HAp produktu vidējais kristalītu izmērs (tilpuma izmērs) (D) divās Millera kristalogrāfiskajās plaknēs (L_{200} un L_{300}) aprēķināts pēc Šērera vienādojuma (2.4.1.) [70, 74, 78, 84-93]:

$$D = k \cdot \lambda / FWHM \cdot \cos \theta \quad (2.1.4)$$

kur D - vidējais kristalītu izmērs, nm;

k - kristalītu formas faktora konstante;

(iegareniem apatīta kristalītiem - 0.9);

λ - rentgenstara viļņa garums, nm;

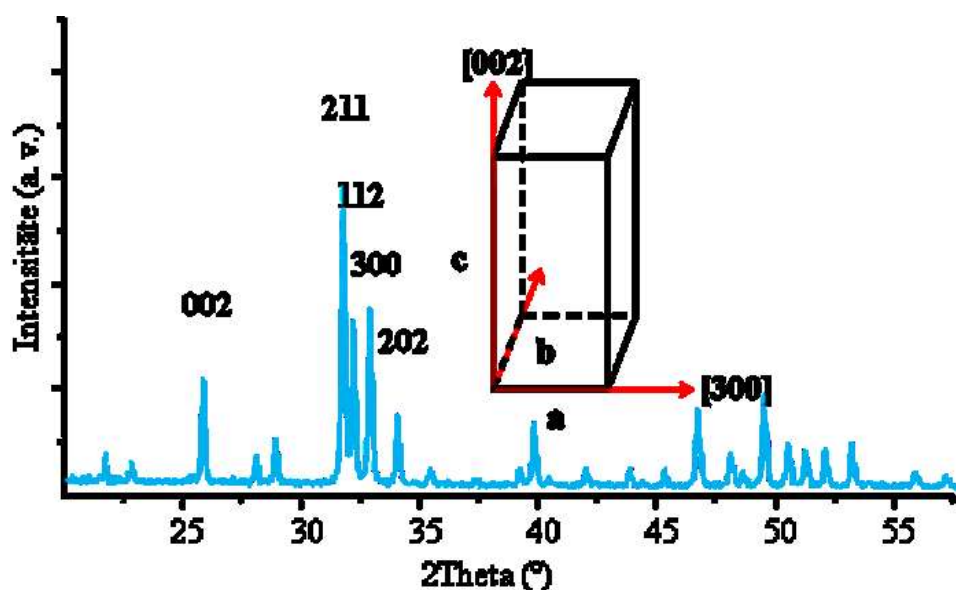
(Cu $K\alpha$ starojumam $\lambda = 0.15406$ nm);

FWHM - difrakcijas maksimuma pilns pusplatums pie pusintensitātes, rad;

θ - rentgenstara difrakcijas leņķis, °.

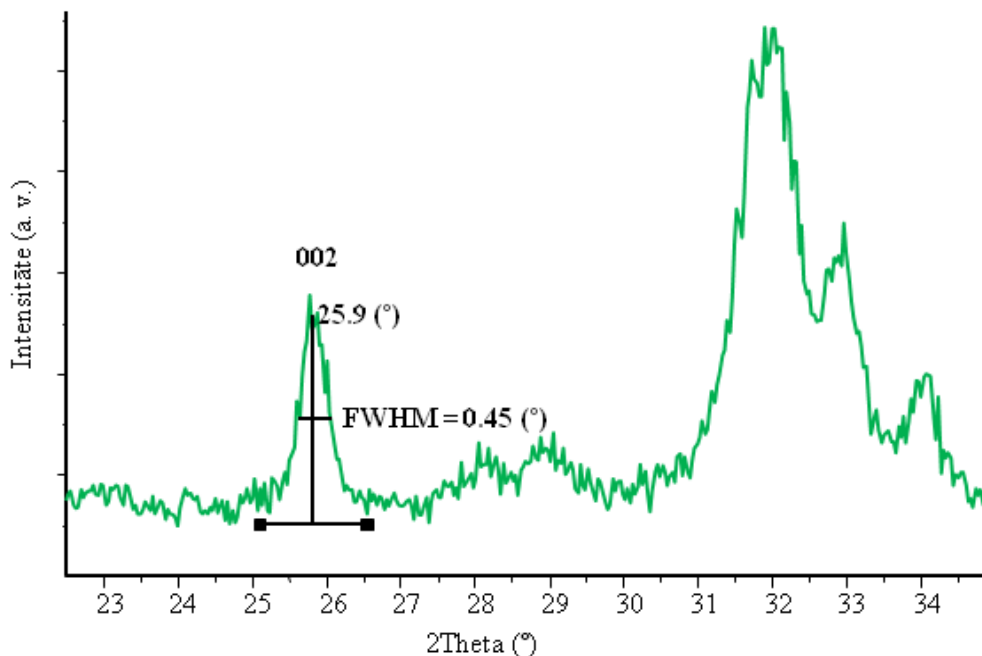
FWHM vērtība HAp difrakcijas maksimumam $25.9^\circ 2\theta$ (002) plaknē raksturo kristalītu izmēru L_{002} - garumu c ass virzienā perpendikulāri kristalogrāfiskai plaknei (hkl) [94], bet HAp difrakcijas maksimumam $32.9^\circ 2\theta$ (300) plaknē raksturo kristalītu izmēru L_{300} - platumu a ass virzienā (2.1.5. att.) [70, 95]. Jo platāki maksimumi, jo mazāki kristalīti [85].

Jāatzīmē, ka Šērera vienādojumu vidējā kristalītu izmēra noteikšanai izmanto kristalītiem, kuru izmēri ir 10-100 nm robežās, kā arī aprēķinātais kristalītu izmērs ir tilpuma izmērs, līdz ar to netiek ņemtas vērā kristāliskā režģa mikrodeformācijas.



2.1.5. att. Apdedzināta HAp produkta raksturīgo difrakcijas maksimumu indeksi [96]

Difrakcijas maksimums pie 25.9° 2θ atbilst Millera plakņu kopas (002) indeksam, kas uzrāda HAp kristāliskās struktūras kristalītu augšanu c ass virzienā un izvēlēts kristalītu lieluma aprēķināšanai HAp produktiem pēc sintēzes, jo ir izolēts un relatīvi smailāks par citiem difrakcijas maksimumiem (2.1.6. att.) [89].



2.1.6. att. FWHM mērīšanas metodika sintezēta HAp produkta rentgendifraktogrammā

No aprēķinātajiem HAp kristalītu izmēra parametriem L_{002} un L_{300} , tika izteikta HAp kristalītu garuma/platuma attiecība L_{002}/L_{300} [97, 98].

2.1.2.4. Kristāliskuma pakāpes (X_C) noteikšana

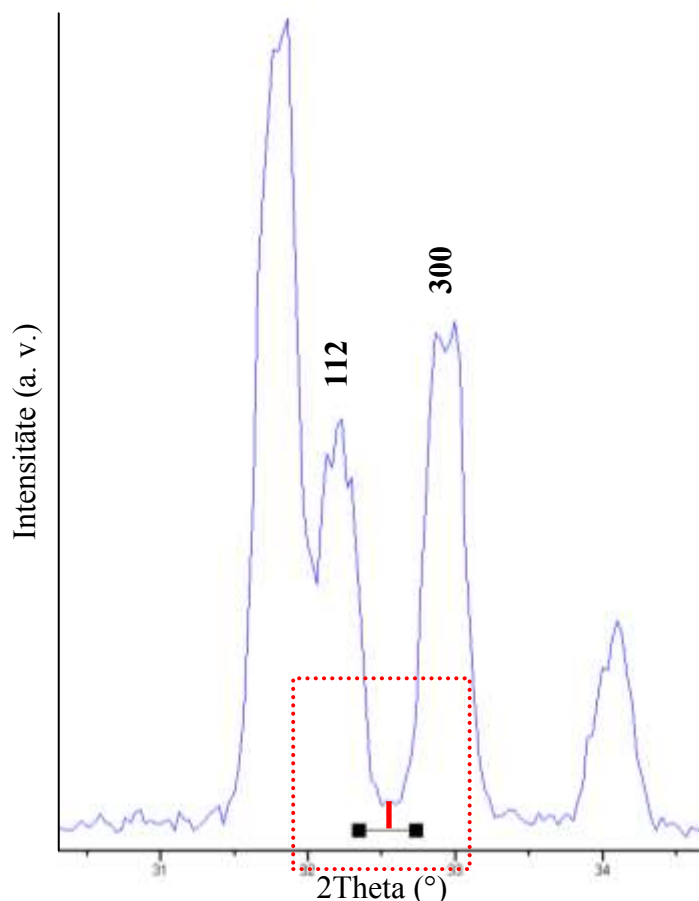
Kristāliskuma pakāpe (X_C), kas atbilst kristāliskās fāzes frakcijai termiski apstrādāto HAp paraugu tilpumā, aprēķināta pēc sekojošas formulas (2.1.5) [31, 46, 56, 57, 70, 74, 89, 90-93, 99, 100]:

$$X_C \approx 1 - (V_{112/300} / I_{300}) \cdot 100 \quad (2.1.5)$$

kur X_C - kristāliskuma pakāpe, %;

I_{300} - difrakcijas maksimuma (300) intensitāte;

$V_{112/300}$ - iedobes intensitāte starp difrakcijas maksimumiem (112) un (300) (2.1.7. att.).



2.1.7. att. Iedobes intensitātes $V_{112/300}$ mērīšanas metodika

Ievērojot, ka kristāliskuma pakāpes noteikšanas aprēķins atkarīgs arī no kristalītu izmēriem, ir iespējams veikt aprēķinātās kristāliskuma pakāpes vērtības verifikāciju ar sekojošu sakarību (2.1.6) [31, 91, 99, 100]:

$$FWHM_{002} \cdot \sqrt[3]{X_C} = K \quad (2.1.6)$$

kur $K = 0.24$ - konstante, kas ir vienāda un piemērojama dažādiem HAp pulveriem;

$FWHM_{002}$ - difrakcijas maksimuma (002) pilns pusplatums pie pusintensitātes, rad.

Ar abām augstāk minētajām sakarībām (2.1.5) un (2.1.6) vairākumā gadījumu ir iespējams iegūt vienu un to pašu X_C vērtību.

2.1.2.5. Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (FT-IR)

Sintezēto un termiski apstrādāto CaP produktu molekulārās struktūras analīze - raksturīgo ķīmisko funkcionālo grupu absorbcijas joslu infrasarkanie spektri - uzņemti ar „Varian 800” Furjē transformācijas infrasarkanā spektrometru „Scimitar Series” viļņu garuma apgabalā no 400–4000 cm^{-1} . Iekārtas izšķiršanas spēja ir 4 cm^{-1} . Katra

spektra uzņemšanai veikti 50 skenējumi. Spektru apstrāde veikta ar „Varian Resolutions” lietotājprogrammu. Paraugu sagatavošanai izmantota KBr tabletes presēšanas metode. Tablešu pagatavošanai iesvērts 0.300 g KBr un 0.005 g sasmalcināta pētāmā parauga un kopējā masa malta dzirnavās 20 min. Pirms infrasarkanā (IR) spektra uzņemšanas, sapresētās tabletes žāvētas 105°C ~ 20 h.

2.1.2.6. Lauka emisijas skenējošā elektronu mikroskopija (FE-SEM) un enerģijas dispersīvā rentgenstaru spektroskopija (EDS)

Sintezēto un termiski apstrādāto CaP produktu morfoloģijas, mikrostruktūras pētījumi, kā arī ķīmiskā sastāva analīze veikta ar „Tescan”, „Mira/LMU Schottky” tipa lauka emisijas skenējošo elektronu mikroskopu ar enerģijas dispersīvo rentgenstaru spektrometru (EDS) Inca Energy 350 (Oxford Instruments). Sekundāro elektronu detektors aprīkots ar YAG (Y3Al5O12) scintilācijas kristālu. Detektors darbojas vakuuma režīmā. Paraugi pirms analīzes pārklāti (uzputinātājs „Emitech K550X”) ar zelta slāni 20 nm biezumā elektronvadītspējas nodrošināšanai. CaP biokeramiskos paraugus pagatavo laužot. CaP suspensijas paraugi uznesti uz priekšmetstikliņa un izžāvēti 105°C ~ 20 h. SEM mikrofotogrāfiju uzņemšanai izmanto paātrināšanas spriegumu diapazonā no 3 līdz 30 kV ar darba distanci 5 līdz 10 mm.

EDS analīzei izmantots paātrināšanas spriegums diapazonā no 20 līdz 30 kV ar darba distanci 23 mm. Paraugi pirms analīzes pārklāti (uzputinātājs „Emitech K550X”) ar sudraba slāni 20 nm biezumā elektronvadītspējas nodrošināšanai. Katram paraugam veikti 4 paralēli EDS mērījumi.

2.1.2.7. Induktīvi saistītās plazmas masspektrometrija (ICP-MS)

Sintezēto un termiski apstrādāto CaP produktu ķīmiskā sastāva noteikšanai izmantots inductīvi saistītās plazmas masspektrometrs „PerkinElmer SCIEX ELAN DRC-e” (dzesējošā un plazmas gāze Ar ar tīrības pakāpi 99.999%). Ir iespējams veikt multielementu analīzi (~ 30 elementi) ar noteikšanas robežu ~ 1 ng/kg. Pirms analīzes paraugi izšķīdināti koncentrētā HNO₃ un koncentrētā H₂O₂ atvērtā sistēmā atmosfēras spiedienā ar šķīduma mineralizācijas metodi un apstrādāti mikroviļņu mineralizācijas iekārtā. Katra parauga iesvars – 0.30 g ar precizitāti ± 0.0001 g. Sr, Mn, Cu, Zn, Cd, Ba un Pb koncentrācija analizējamajos paraugu šķīdumos tika noteikta, lietojot ICP-MS

kopējās kvantificēšanas programmā, duālā tipa detektora režīmā. Kalibrēšanas grafiku uzņemšanai izmantots standartšķīdums, kas satur visus nosakāmos jonus ar sākotnējo koncentrāciju 10 µg/mL. Kalibrēšana veikta R² diapazonā no 0.999929 līdz 0.999999. Analizējamajiem paraugiem iegūtie rezultāti apstrādāti ar datorprogrammu ELAN (Version 3.3). Iegūtie rezultāti uzrāda nosakāmo elementu masas koncentrācijas analizējamo paraugu šķīdumos. Katram paraugam veikti 5 paralēlie mērījumi.

2.1.2.8. Diferenciāļtermiskā analīze (DTA)

Sintezēto CaP produktu fāžu termiskās stabilitātes pētījumiem izmantota iekārta „BÄHR-Thermoanalyse GmbH DTA/DSC 703”. Iekārtas izšķiršanas spēja -0.01°, precizitāte +/- 2%. Mērījumi veikti gaisa atmosfērā, kā standartmateriālu izmantojot Al₂O₃. 30 mg CaP parauga un 30 mg Al₂O₃ karsēti līdz 1450°C ar ātrumu 10°/min, paraugi dzesēti ar ātrumu 13°/min līdz 300°C. Pirms analīzes paraugi žāvēti 105°C ~ 20 h.

2.1.2.9. Augsttemperatūras mikroskopija (ATM)

Sintezēto CaP produktu saķepšanas procesa pētījumiem izmantots augsttemperatūras mikroskops „EMO-1750/30-K”, kas aprīkots ar CCD fotokameru. Paraugi karsēti gaisa atmosfērā līdz 500°C ar ātrumu 80°/min, tālāk līdz 1350°C ar ātrumu 15°/min. Parauga iesvars ir aptuveni 20 mg. Kā saistviela parauga cilindveida formas iegūšanai izmantots izopropanola šķīdums.

2.1.2.10. Optiskā mikroskopija

Ca(OH)₂ suspensiju vispārīgiem morfoloģijas pētījumiem izmantots „Leica MZ16 A” stereomikroskops. Paraugu pētīšanai izmantota atstarotā gaisma (sānu apgaismojums).

2.1.2.11. Arhimēda (piesūcināšanas) metode

HAp, β-TCP un BCP biokeramikas paraugiem noteikts sarukums, atvērtā un kopējā porainība, šķietamais blīvums, izmantojot zemāk minētos vienādojumus (2.1.7), (2.1.8), (2.1.9), (2.1.10), (2.1.11).

Sarukums noteikts, veicot paralēlus mērījumus 10 vienādiem CaP zaļķermeņa un biokeramikas paraugiem. Par reālo sarukuma vērtību pieņemta vidējā aritmētiskā

vērtība. Lai noteiktu atvērto un kopējo porainību, šķietamo blīvumu, veikti paralēli mērījumi 10 vienādiem CaP biokeramikas paraugiem.

Tilpuma sarukums ir zaļķermeņa (sapresēts paraugs pirms apdedzināšanas 1100°C temperatūrā) un gatavā biokeramikas izstrādājuma tilpumu starpības attiecība pret zaļķermeņa tilpumu, kas izteikta procentos:

$$S = \frac{V_z - V_i}{V_z} \cdot 100 \quad (2.1.7)$$

kur S – tilpuma sarukums, %;

V_z – zaļķermeņa tilpums, mm³;

V_i – gatavā izstrādājuma tilpums, mm³.

Sarukums noteikts cilindra formas paraugam (tabletei), kura tilpums aprēķināts pēc formulas:

$$V = \frac{\pi \cdot d^2 \cdot h}{4} \quad (2.1.8)$$

kur V – cilindra tilpums, mm³;

d – diametrs, mm;

h – augstums, mm.

Atvērtā porainība raksturo, cik lielu daļu (procentos) no materiāla tilpuma aizņem poras, kas savienotas ar apkārtējo vidi. Procedūras, kas veicamas, lai noteiktu porainību:

- a) nosaka sausa parauga masu (m_0);
- b) ievieto paraugu vakuumsikatorā, notur 15 min līdz 600 mbar;
- c) gaisa retinājumā pārlej paraugu ar dest. ūdeni, notur 15 min;
- d) izņem paraugu no vakuumsikatora un gaisa atmosfērā notur ūdenī 20 min;
- e) ar slapju drānu nosusina no parauga lieko ūdeni un nosver gaisā (m_1);
- f) nosaka parauga masu ūdenī (m_2).

Atvērto porainību aprēķina, izmantojot vienādojumu:

$$P_a = \frac{m_1 - m_0}{m_1 - m_2} \cdot 100 \quad (2.1.9)$$

kur P_a – atvērtā porainība, tilpuma %;

m_0 – sausa parauga masa, g;

m_1 – ar ūdeni piesūcināta parauga masa, g;

m_2 – ar ūdeni piesūcināta parauga masa ūdenī, g.

Šķietamais blīvums ($\rho_{\text{šķ}}$) ir materiāla masa noteiktā tilpumā, ieskaitot poras. Paraugu šķietamo blīvumu aprēķina pēc 2.1.10 vienādojuma, izmantojot iepriekš iegūtās masas - m_0 , m_1 , m_2):

$$\rho_{\text{šķ}} = \frac{m_0}{m_1 - m_2} \quad (2.1.10)$$

Kopējā porainība raksturo, cik lielu daļu (procentos) no materiāla tilpuma aizņem slēgtās poras un poras, kas savienotas ar apkārtējo vidi. Kopējo porainību nosaka, izmantojot vienādojumu:

$$P_k = \frac{100 - (\rho_{\text{šķ}} \cdot 100)}{\rho_{\text{HAp}(\beta\text{-TCP})}} \quad (2.1.11)$$

kur P_k – kopējā porainība, tilpuma %;

$\rho_{\text{šķ}}$ – šķietamais blīvums, g/cm^3 ;

ρ_{HAp} – HAp teorētiskais blīvums ($3.16, \text{g/cm}^3$ [4]);

$\rho_{\beta\text{-TCP}}$ – β -TCP teorētiskais blīvums ($3.08, \text{g/cm}^3$ [4]).

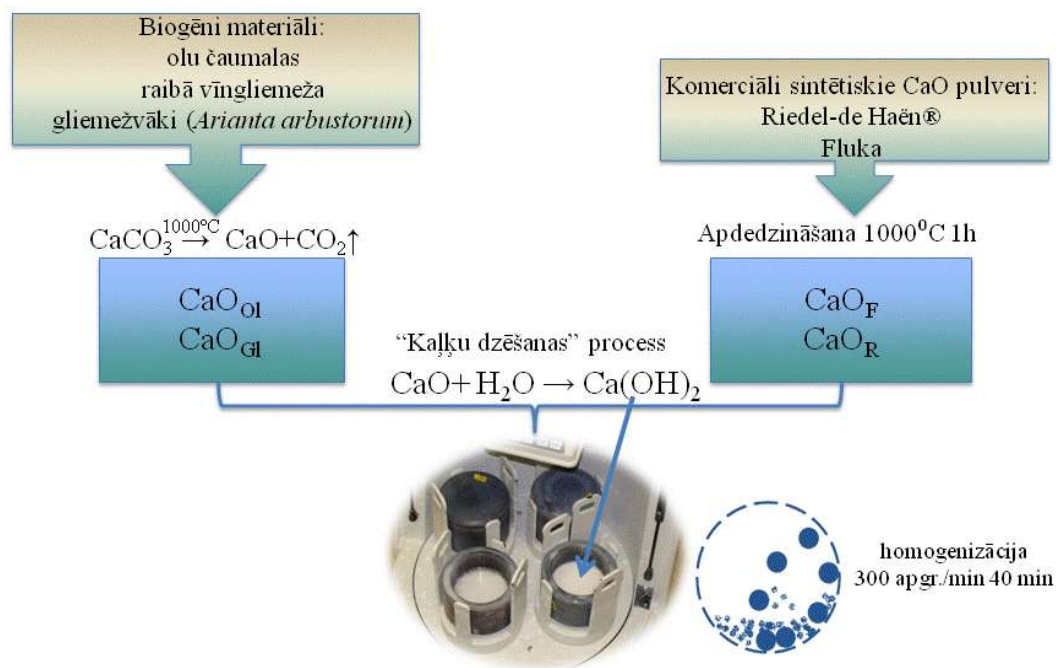
Ņemot vērā, ka HAp un β -TCP teorētiskie blīvumi ir gandrīz vienādi, BCP produktu kopējās porainības aprēķiniem izmantots ρ_{HAp} .

2.1.3. Izejmateriālu sagatavošana un apstrāde

Zinātniskajā literatūrā praktiski nav atrodami dati par specifisku $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensijas pagatavošanu turpmākai izmantošanai CaP šķīduma ķīmiskās nogulsnešanas sintēzē. Tradicionāli $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensiju iegūst, suspendējot CaO pulveri (pārsvarā, kas iegūts CaCO_3 apdedzināšanas procesā [70, 101-104] vai disperģējot $\text{Ca}(\text{OH})_2$ pulveri destilētā ūdenī [13, 31, 58, 61, 72, 99, 105-107].

Eksperimentālajā darbā $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensijas iegūšanai izmantota modificēta tehnoloģija, papildus „kaļķu dzēšanas” procesam pielietojot planetārās bumbu dzirnavas homogēnas un smalkdispersas suspensijas iegūšanai (2.1.8. att.).

Izejmateriālu sagatavošana un apstrāde



2.1.8. att. CaO saturošu izejmateriālu sagatavošanas un apstrādes principiālā tehnoloģiskā shēma

2.1.3.1. Dažādas izcelsmes kalcija oksīdu saturošu izejmateriālu izvēle

Zinātniskajā literatūrā ir ļoti maz informācijas par pētījumiem, kas saistīti ar izejmateriālu (piemēram, CaO, Ca(OH)₂) kvalitātes (ķīmiskās un fizikālās īpašības) ietekmi uz iegūtās CaP biokeramikas īpašībām. Tanaka ar līdzautoriem izpētījis [72], ka Ca(OH)₂ suspensijas daļiņu īpatnējais virsmas laukums neietekmē galaprodukta kristālītu izmēru un īpatnējo virsmas laukumu, kā arī Bernard ar līdzautoriem norādījis [59], ka liela uzmanība jāpievērš izejmateriālu piemaisījumiem, kā piemēram, Mg var būtiski ietekmēt iegūtā HAp stehiometriju. Ievērojot, ka sintezētos CaP produktus ir paredzēts izmantot medicīniskam pielietojumam, šo materiālu izstrāde ietver noteiktus un konkrētus kritērijus, kas saistīti ar galaprodukta tīrību un atkārtojamību (t.i., izstrādi ar nemainīgu kvalitāti). Šos parametrus iespējams var ietekmēt izejmateriālu izvēle un piemaisījumi tajos. Literatūras analīze liecina, ka joprojām nav veikti nozīmīgi pētījumi izejmateriālu kvalitātes izvērtējumam.

Ekspierimentālajā darbā izstrādāta HAp biokeramika no 4 dažādiem CaO saturošiem izejmateriāliem un pētīta šo izejmateriālu ietekme uz HAp biokeramikas fizikālķīmiskajām īpašībām.

Pirms sintēžu uzsākšanas veikta izejvielu atlase un kompleksa izpēte. Par „Ca” prekursoriem izvēlēti divi komerciāli pieejami sintētiski CaO pulveri no „Riedel-de Haën[®]” (CaO_R) and „Fluka” (CaO_F), kā arī divi biogēnas izcelsmes materiāli, kas izplatīti dabā – olu čaumalas un raibā vīngliemeža gliemežvāki (*Arianta arbustorum*). Šie dabas materiāli izvēlēti kā izejmateriāli CaO iegūšanai un turpmākai izmantošanai CaP sintēzes procesā.

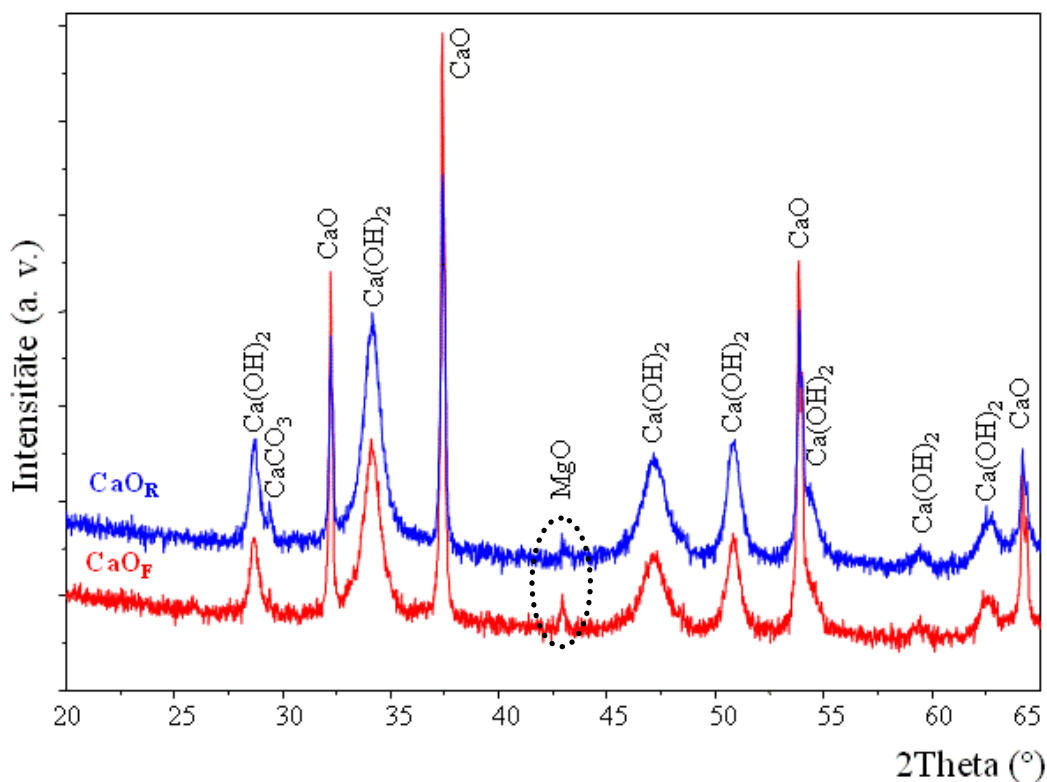
2.1.3.2. Dažādas izcelsmes kalcija oksīdu saturošu izejmateriālu sagatavošana un raksturojums

Lai no olu čaumalām un gliemežvākiem iegūtu CaO_{Ol} un CaO_{Gl} pulveri, kā arī atbrīvotos no organiskās daļas, veikta olu čaumalu un gliemežvāku (satur ~ 94-97% CaCO₃) apdedzināšana 1000°C 1 h:



Ievērojot, ka eksperimentāli noteikts – apdedzināšana uzlabo CaO vai Ca(OH)₂ reaktivitāti [59, 108], arī komerciālie CaO termiski apstrādāti 1000°C 1 h, lai pilnībā atbrīvotos no nevēlamās CaCO₃ fāzes paraugos (2.1.9. att.). Pirms apdedzināšanas, analīžu veikšanas un Ca(OH)₂ suspensijas pagatavošanas, visi CaO saberzti pietā.

Komerčiālo CaO (intensīvākais rentgenstaru difrakcijas maksimums (200) Millera plaknē atbilst 37.4° 2θ skalā [92, 56]), sastāvā konstatēta arī Ca(OH)₂ fāzes klātbūtne (intensīvākais rentgenstaru difrakcijas maksimums (101) Millera plaknē atbilst 34° 2θ skalā [56, 109]), MgO fāzes klātbūtne nelielā daudzumā (intensīvākais rentgenstaru difrakcijas maksimums Millera plaknē atbilst (200) 43° 2θ skalā) [110], kā arī neliels daudzums CaCO₃ polimorfās modifikācijas – kalcīta fāzes (intensīvākais rentgenstaru difrakcijas maksimums (104) Millera plaknē atbilst 29.4° 2θ skalā [56]) (2.1.9. att.). CaCO₃ klātbūtne CaO ir nevēlama, jo Ca(OH)₂ suspensijas iegūšanas procesā rada kļūdu precīza reaģenta daudzuma pagatavošanai, līdz ar to arī produkta reproducēšanai [44], kā arī traucē homogēnas Ca(OH)₂ suspensijas iegūšanu, kas nepieciešama turpmākajai CaP sintēzei. Pēc biogēno izejmateriālu un komerciālo CaO apdedzināšanas 1000°C, visu sintēzes izejmateriālu rentgenogrammas uzrādīja CaO kristālisko fāzi ar nelielu daudzumu MgO fāzi, kā arī Ca(OH)₂, kas radies CaO saskarsmē ar apkārtējā gaisa mitrumu, ievērojot, ka CaO ir higroskopisks [92].

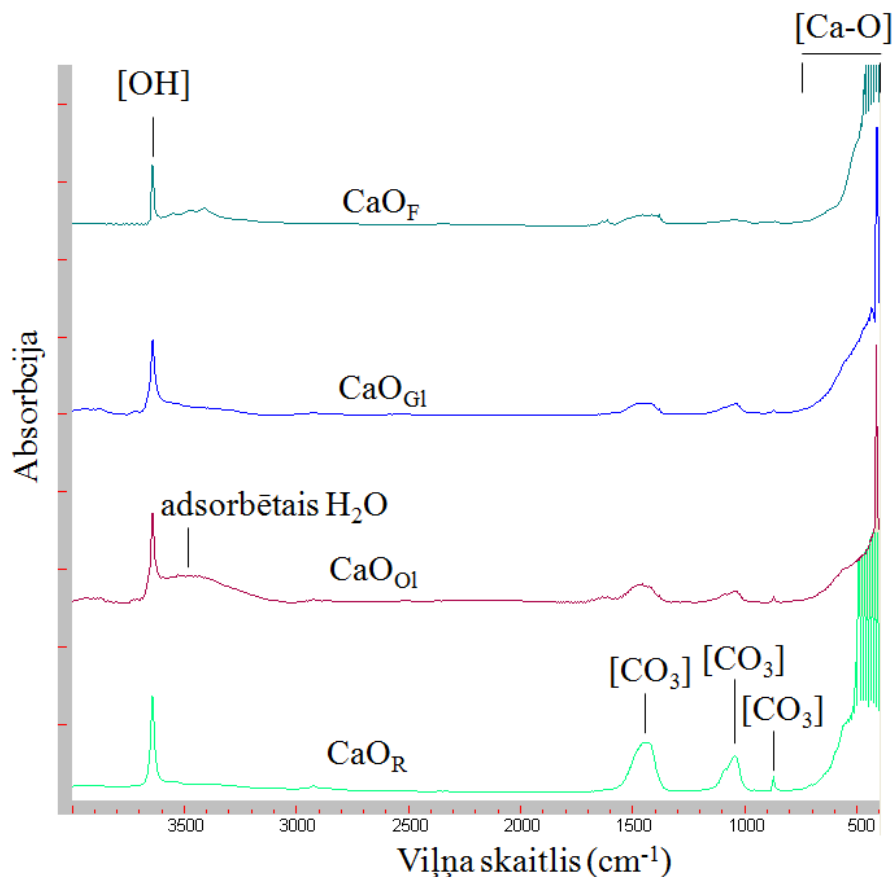


2.1.9. att. Komerčiālo CaO XRD difraktogrammas pirms kalcinēšanas

Termiski apstrādātiem CaO paraugiem uzņemti arī FT-IR spektri, kuros konstatētas līdzīgas ainas (2.1.10. att.). Visos IS spektros vērojams izteikts absorbcijas maksimums pie 3642 cm^{-1} , kas norāda uz Ca(OH)_2 (radies CaO konversijas rezultātā ar apkārtējā gaisa mitrumu [111]) [OH] grupu valentajām (*stretching*) svārstībām [92, 109, 112]. Uz CaO klātbūtni paraugos norāda [Ca-O] grupas plata intensīva absorbcija josla, kas centrēta pie $\sim 400\text{ cm}^{-1}$ [111]. Absorbcijas maksimumi pie 874 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} [113], kā arī pie 1420 cm^{-1} norāda uz [CO₃] grupu klātbūtni paraugos, kas liecina par vieglu Ca(OH)_2 karboksilēšanu no atmosfēras CO₂ [109]. Absorbcijas josla no $3430\text{--}3550\text{ cm}^{-1}$ norāda uz adsorbētu ūdens molekulu klātbūtni paraugos.

Pēc kalcinēšanas iegūto biogēno CaO pulveru morfoloģijas un komerciālo CaO pulveru morfoloģijas parādītas 2.1.11. attēlā. Kā redzams FE-SEM mikrofotogrāfijās, biogēnas izcelsmes un komerciālajiem CaO pulveriem ir krasi atšķirīgas morfoloģijas, kā arī aglomerēto daļiņu struktūras un vidējais aglomerātu lielums. CaO_{OI} uzrāda blīvu, aglomerētu, makroporainu struktūru ar smalku daļiņu aglomerātiem, bet CaO_{GI} sastāv no izteiktiem, līdzīgas formas aglomerātiem ar izmēru $\sim 7\text{ }\mu\text{m}$, kurus veido ļoti smalkas daļiņas. CaO_R pulverim ir cieši aglomerēta struktūra ar irdenām, relatīvi smalkām daļiņām ($\sim 1\text{ }\mu\text{m}$), bet CaO_F ir irdena struktūra ar relatīvi lielākām

aglomerētām daļiņām (~ 2-3 μm). Šīs atšķirīgās CaO pulveru morfoloģijas, iespējams, var būtiski ietekmēt tā reakciju ar ūdeni, Ca(OH)₂ veidošanās kinētiku un morfoloģiju.

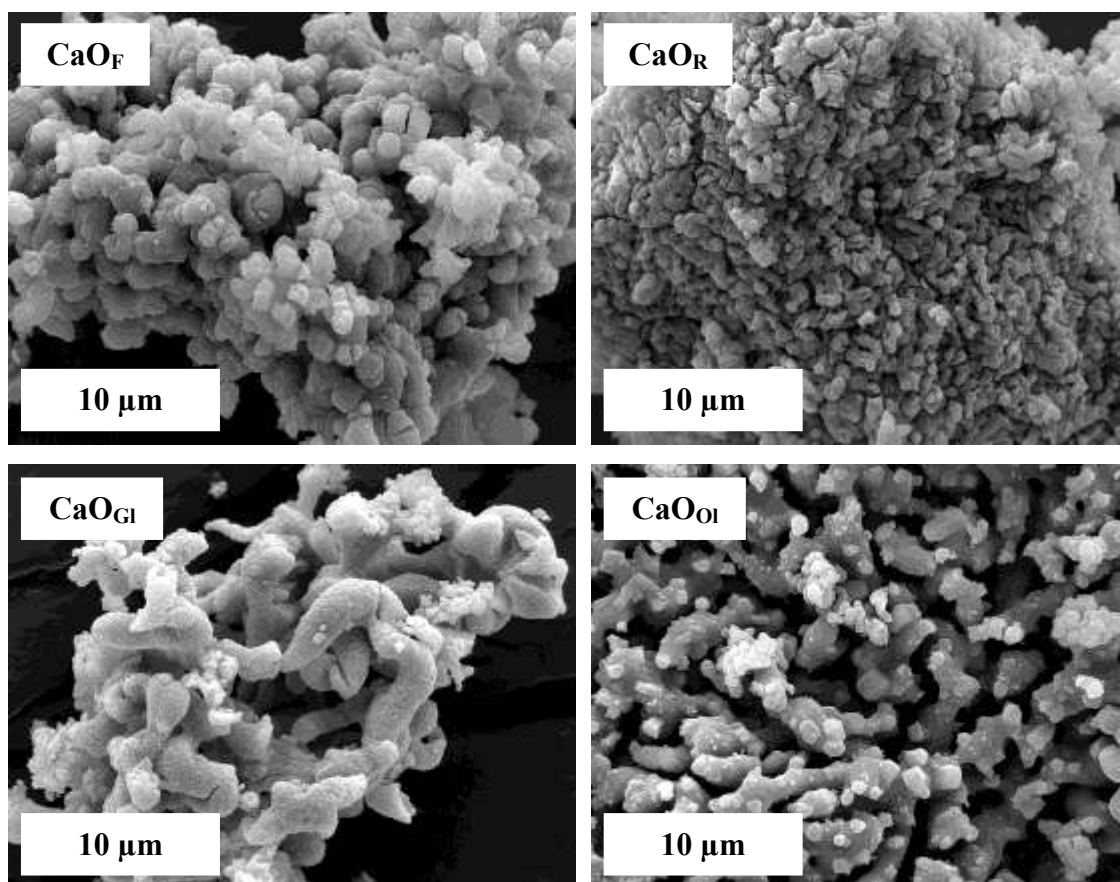


2.1.10. att. Biogēno un komerciālo CaO FT-IR spektri pēc apdedzināšanas 1000°C 1 h

Apdedzināšana 1000°C izvēlēta, jo literatūras dati liecina, ka šī ir optimāla temperatūra reaktīva CaO iegūšanai [107]. Savukārt eksperimentālajos pētījumos konstatēts, ka atkarībā no apdedzināšanas temperatūras mainās CaO mikrostruktūra, kas ietekmē CaO reaktivitāti ūdenī. Reaktīvs CaO ir nepieciešams turpmākai reakcijai ar ūdeni – „kaļķu dzēšanai”, kas nodrošina homogēnas Ca(OH)₂ suspensijas iegūšanu. Līdz ar apdedzināšanas temperatūras paaugstināšanu virs 1000°C, strauji pieaug CaO kristāļu izmērs. Jo augstāka apdedzināšanas temperatūra (> 1000°C), jo blīvāka CaO kristāļu struktūra.

[107] avotā noskaidrots, ka mazākiem CaO kristāļiem ar lielāku skaitu kristālu defektu ir lielāka brīvā enerģija uz kristālu virsmas, tādā veidā daudz nestabilāka kristālstruktūra. CaO ar tādu struktūru uzrāda augstāku reaģētspēju ar ūdeni. Ir jāatzīmē, ka CaO, kas pirmreizēji iegūts CaCO₃ augsttemperatūras apstrādes rezultātā, saglabā tipisku CaCO₃ romboedrisku struktūru, kuras kristālrežģis ir diezgan

defektīvs. Tādā kristālu struktūrā ir vairāk vakanču un defektu, struktūra ir nestabila un kristālu izmēri ir mazi. Paaugstinot augsttemperatūras apstrādes temperatūru līdz 1200°C, CaO kristāli aug un to struktūra mainās uz kubisku [107].



2.1.11. att. Biogēno un komerciālo CaO vispārējās morfoloģijas FE-SEM mikrografijas pēc kalcinēšanas 1000°C 1 h

Ražotāju sniegtā informācija par sintētiskajiem CaO apkopota 2.1.3. tabulā.

2.1.3.tabula

Ražotāju informācija par sintētiskajiem CaO

CaO _R (Riedel-de Haën [®])	CaO _F (Fluka)
Smalks pulveris	Gabali (iegūts no marmora)
Tīrība ≥ 98.5% (<i>puriss</i>)	Tīrība ≥ 97.0% (<i>purum</i>)
≤ 2.5% Mg	-
≤ 3mg/kg As	-
≤ 2mg/kg Pb	-
EC Nr. 215-138-9	EC Nr. 215-138-9

Papildus sintēzes izejmateriāliem - biogēnajiem un komerciālajiem CaO tika veikta ķīmisko mikroelementu analīze izmantojot ICP-MS metodi (2.1.4. tab.).

2.1.4. tabula

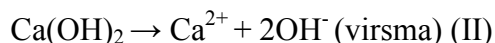
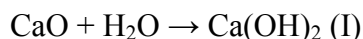
Ķīmisko mikroelementu masas koncentrācijas (γ) CaO paraugos				
Ķīmiskie elementi	CaO _R γ [mg/kg]	CaO _F γ [mg/kg]	CaO _{OI} γ [mg/kg]	CaO _{GI} γ [mg/kg]
Mn	84.0 ± 0.01	7.11 ± 0.01	0.51 ± 0.01	19.38 ± 0.01
Ba	2.60 ± 0.01	2.11 ± 0.01	21.00 ± 0.01	28.01 ± 0.01
Zn	1.39 ± 0.01	4.86 ± 0.01	1.30 ± 0.01	1.38 ± 0.01
Cu	0.13 ± 0.01	0.77 ± 0.01	0.83 ± 0.01	0,57 ± 0.01
Cd	0.08 ± 0.01	0.30 ± 0.01	-	0.07 ± 0.01
Pb	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0,09 ± 0.01
Sr	236.45 ± 0.01	238.77 ± 0.01	203.00 ± 0.01	202.05 ± 0.01

- zem metodes noteikšanas robežas

Izvērtējot ķīmisko piemaisījumu daudzumu dažādas izcelsmes CaO saturošos izejmateriālos (2.1.4. tab.), ir novērojamas būtiskas atšķirības Mn saturā katrā no CaO paraugiem. Mn koncentrācija CaO_R paraugā gandrīz 12 reizes pārsniedz Mn koncentrāciju CaO_F. Ievērojot, ka CaO izejmateriālu ķīmisko piemaisījumu daudzums var tiešā veidā ietekmēt sintezēto produktu kvalitāti, balstoties uz ASTM (American Society for Testing and Materials) ASTM F 1185-1188, ASTM F 1088-87 standartu prasībām par pieļaujamo toksisko smago metālu daudzumu (kopējais toksisko smago metālu daudzums nevar pārsniegt 50 mg/kg) HA_p un β -TCP materiālos medicīniskam pielietojumam, Cd un Pb koncentrācijas visos CaO izejmateriālos nepārsniedz pieļaujamo normu: Cd \leq 5 mg/kg, Pb \leq 30 mg/kg [13, 114, 115]. Šo elementu daudzums ir jākontrolē to toksiskās iedarbības dēļ cilvēka organismā. Sārmzemju metālam Sr ir līdzīgas fizikālās un ķīmiskās īpašības kā Ca un minerālus, kurus izmanto CaO iegūšanai, ir grūti attīrīt no stroncija piemaisījumiem, Sr koncentrācija visos CaO paraugos ir visaugstākā (~ 200 mg/kg).

2.1.3.3. „Kaļķu dzēšanas” procesa eksperimentālais izvērtējums

Ca(OH)₂ suspensijas pagatavošanai (tā saucamais hidratācijas vai „kaļķu dzēšanas” process) izmantoti dažādi CaO pulveri (CaO_F, CaO_R, CaO_{Ol}, CaO_{Gl}) un destilēts ūdens. Ievērojot, ka CaO ir daļēji šķīstošs ūdenī, tā šķīdināšanas process ūdenī notiek pēc sekojoša reakciju mehānisma [80]:



Šis process ir ļoti nozīmīgs kvalitatīvas homogēnas, smalkdispersas Ca(OH)₂ suspensijas iegūšanai un turpmākai izmantošanai sintēzes procesā. Ca(OH)₂ šķīšana ir lielā mērā atkarīga no kristālu lieluma, jo lielāki kristāli, jo mazāka to šķīšana. Kristālu šķīšana, kuru izmērs ir 1 μm ir ~ 13 reizes mazāka, nekā kristāliem ar izmēru 0.01 μm. Iegūtais Ca(OH)₂ ir spējīgs piesaistīt ūdeni un veidot dažāda sastāva kristālhidrātus, kas ir noturīgi tikai pazeminātās temperatūrās. Ar ūdens pārpalikumu kalcija hidroksīds veido suspensiju ar koloīdas sistēmas dabu. Šajā sistēmā esošās Ca(OH)₂ augsti dispersās daļiņas (0.02-0.5 μm) adsorbē uz savas virsmas ūdens molekulas un veido micellas [116].

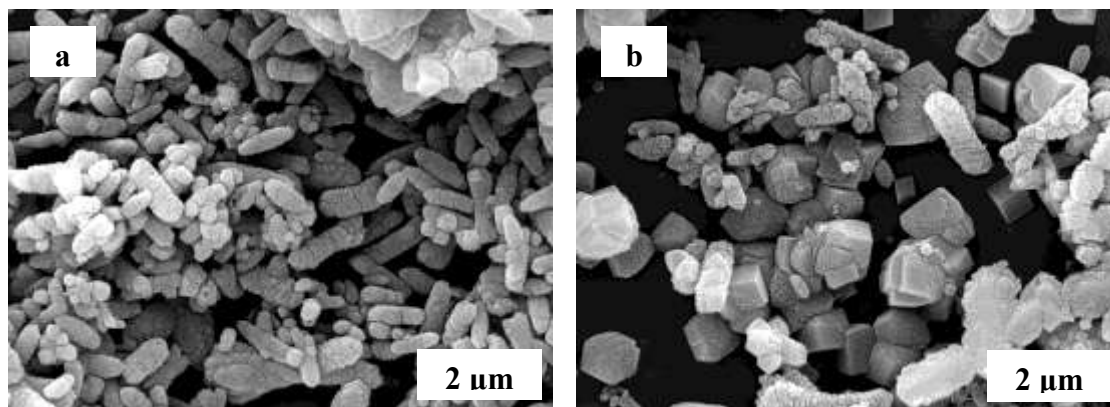
Analizējot literatūras datus par rūpniecisku Ca(OH)₂ suspensijas iegūšanas procesu, ņemti vērā vairāki faktori kvalitatīvas Ca(OH)₂ suspensijas iegūšanai eksperimentālā darba ietvaros. Ir jāatzīmē, ka pieejamajā literatūrā nav informācijas par veiktajiem pētījumiem un nav sniegta precīza informācija par Ca(OH)₂ suspensijas pagatavošanu turpmākai izmantošanai CaP šķīduma ķīmiskai nogulsnešanai.

Ir svarīgi nepieļaut CaO pārkaršanu ūdens pievienošanas procesā, kuras rezultātā veidojas palielināti Ca(OH)₂ aglomerāti, kuri nav spējīgi homogēni izkliedēties ūdens vidē smalkās daļiņās un vienmērīgi reaģēt ar skābes šķīdumu. Šīs reakcijas vides temperatūrai ir jābūt 60-80°C robežās, lai no vienas puses, nenotiktu materiāla pārkaršana, bet no otras puses Ca(OH)₂ un ūdens mijiedarbība notiktu intensīvi un ātri [116]. Šīs reakcijas laikā CaO ūdens klātbūtnē ir nepieciešams nepārtraukti maisīt, lai uz CaO daļiņām neveidotos Ca(OH)₂ plēvītes, kas pārtrauc CaO hidratāciju Neizreaģējušas CaO daļiņas negatīvi ietekmē reakciju ar skābes šķīdumu sintēzes laikā.

Lai pilnīgi „nodzēstu kaļķus”, sākotnēji ir nepieciešams ievadīt noteiktu daudzumu ūdens, kas ir pietiekošā daudzumā, lai stabilizētu reakcijas vides

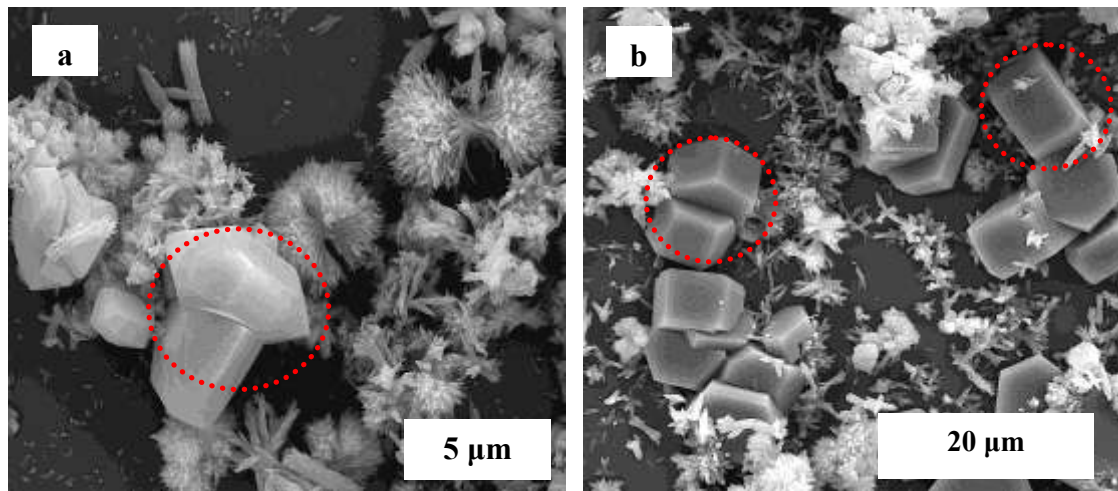
temperatūru iepriekš minētājā diapazonā un līdz ar to neapslāpētu CaO reaktivitāti (ja ūdens tiek pievienots pārāk strauji un lielā daudzumā), kā arī nepieļautu Ca(OH)₂ aglomerātu veidošanos (ja ūdens ir par maz un notiek CaO pārkaršana).

Lai eksperimentāli pagatavotu 0,15 M Ca(OH)₂ suspensiju, sākotnēji pie 16.8 g piestā samalta CaO pulvera tika pievienots 400 ml dest. H₂O. Dest. H₂O pievienošana notiek vienmērīgi, nepārtraukti maisot reakcijas vidi un regulējot temperatūru (~80°C) līdz CaO ir pilnībā izreaģējis un pārvēršas par Ca(OH)₂ suspensiju, par ko liecina reakcijas vides temperatūras samazināšanās līdz apkārtējās atmosfēras temperatūrai. Reaktīva CaO pulvera un ūdens ātras mijiedarbības rezultātā rodas Ca(OH)₂ suspensija smalkdispersu daļiņu formā, kurām ir tieksme veidot aglomerātus (2.1.12. att. a, b).



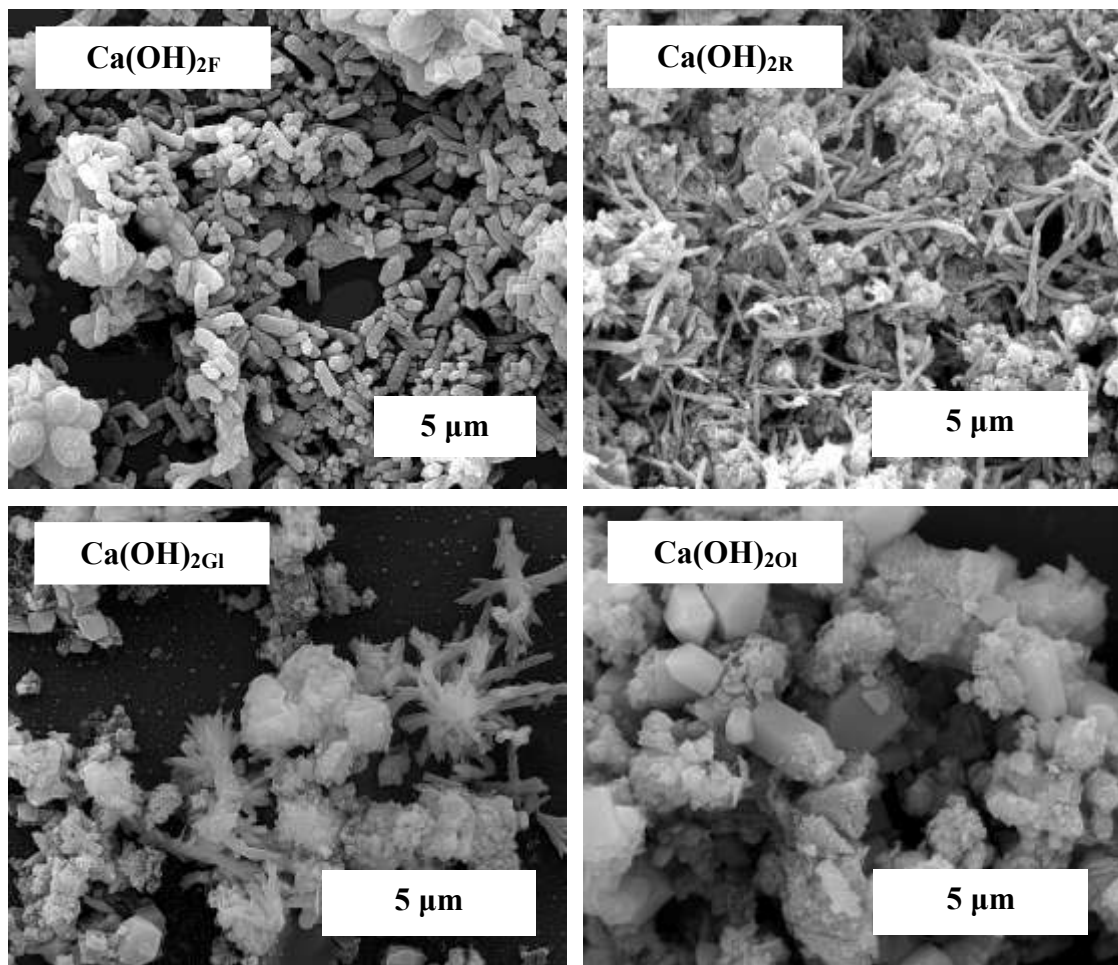
2.1.12. att. „Kaļķu dzēšanas” procesā iegūtās Ca(OH)_{2F} suspensijas vispārējās morfoloģijas FE-SEM mikrofotogrāfijas

Ca(OH)₂ suspensija „kaļķu dzēšanas” procesa rezultātā sastāv ne tikai no smalkdispersiem daļiņu aglomerātiem (a), bet arī no pussabrukušiem un līdz galam neizreaģējušiem CaO kubiskiem kristāliem (b) (2.1.12. att.). Tomēr identiski atkārtojot „kaļķu dzēšanas” procesu, suspensijā veidojas lieli Ca(OH)₂ heksagonāli plākšņuveida kristāli ar slāņainu struktūru (2.13. att. a) [116, 117], un iespējams kubiski CaO (un/vai MgO) kristāli (abiem oksīdiem ir kubiska - izometriskā singonija ar planaksiālu simetriju [118]) (2.1.13. att. b). Palielinātu Ca(OH)₂ kristālu veidošanās varētu būt saistīta ar CaO lēnu reakciju ar ūdeni, bet CaO (un/vai MgO) kristālu klātbūtne var liecināt par Ca(OH)₂ un/vai Mg(OH)₂ plēvīšu veidošanos uz kristālu virsmas nepietiekošas maisīšanas vai par daudz pievienota ūdens rezultātā.



2.1.13. att. „Kaļķu dzēšanas” procesā iegūtas $\text{Ca}(\text{OH})_{2\text{F}}$ suspensijas vispārējās morfoloģijas FE-SEM mikrofotogrāfijas

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensiju FE-SEM mikrofotogrāfijas, kas iegūtas no 4 veidu CaO „kaļķu dzēšanas” procesā, parādītas 2.1.14. att.



2.1.14. att. Biogēno un komerciālo $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensiju FE-SEM mikrofotogrāfijas pēc „kaļķu dzēšanas” procesa

Iegūto Ca(OH)_2 suspensiju morfoloģijas krasi atšķiras viena no otras (2.1.14. att.) $\text{Ca(OH)}_{2\text{OI}}$ suspensija sastāv no ļoti smalku daļiņu aglomerātiem un lieliem heksagonāliem Ca(OH)_2 kristāliem, savukārt $\text{Ca(OH)}_{2\text{GI}}$ suspensijai raksturīgi smalku daļiņu aglomerāti un kristāli ar sferulītveida morfoloģiju. $\text{Ca(OH)}_{2\text{F}}$ suspensija veidota no gariem, īrdenas struktūras aglomerātiem, kā arī lielākiem aglomerātiem, bet $\text{Ca(OH)}_{2\text{R}}$ suspensija no smalkdispersiem aglomerātiem un kristāliem ar dendrītveida morfoloģiju garu skaru veidā.

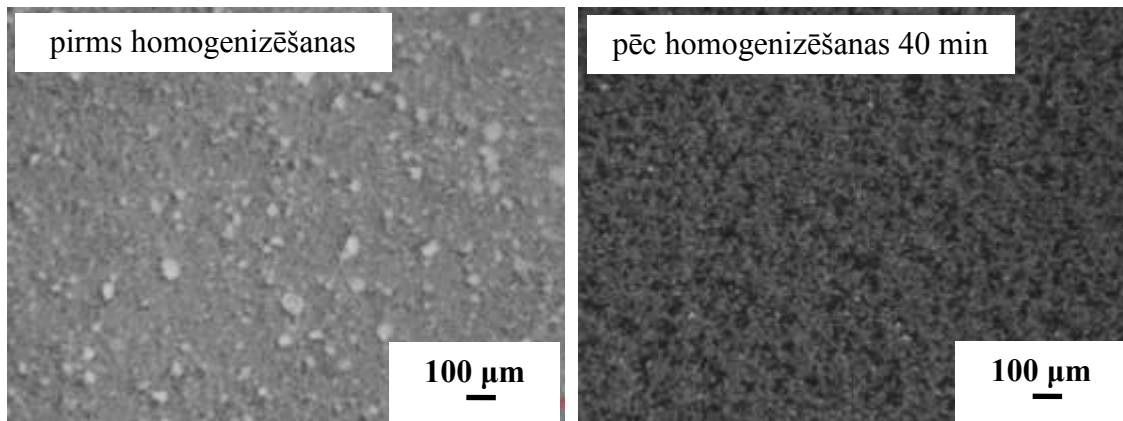
Izvērtējot „kaļķu dzēšanas” procesā iegūto suspensiju morfoloģijas, var secināt, ka praktiski neiespējami reproducēt līdzīgas morfoloģijas Ca(OH)_2 suspensijas iegūšanu, izmantojot identiskus procesa parametrus, kā arī iegūt smalkdispersu suspensiju. Pie tam, ir problemātiski izvairīties no neviendabīgas suspensijas veidošanās ar multimodālu aglomerātu lielumu. No dažādiem CaO iegūtās suspensijas uzrāda krasi atšķirīgas Ca(OH)_2 suspensiju morfoloģijas. Šīs atšķirīgās morfoloģijas var būtiski ietekmēt turpmāko Ca(OH)_2 dispersiju un šķīšanas laiku, kas savukārt var ietekmēt CaP nogulsnešanas procesu. Literatūras dati liecina, ka Ca(OH)_2 šķīšanas laiks ir īsāks, ja daļiņu izmērs ir mazāks [59]. Savukārt ātrāka šķīšana veicina homogēna šķīduma veidošanos, nogulsnešanas un CaP, piemēram, stehiometriskā HAp, veidošanos.

Lai novērstu heterogēnas suspensijas veidošanos, pēc „kaļķu dzēšanas” procesa veikta apstrāde planetārajās bumbu dzirnavās.

2.1.3.4. Kalcijs hidroksīda suspensijas homogenizācija planetārajās bumbu dzirnavās

Viendabīgas, smalkdispersas Ca(OH)_2 suspensijas ar maksimālu daļiņu dispersiju un smalku, homogēnu daļiņu lieluma sadalījumu iegūšanai un neizreaģējušu CaO un/vai MgO kristālu, kā arī palielinātu Ca(OH)_2 un/vai Mg(OH)_2 aglomerātu veidošanās novēršanai, modificēts Ca(OH)_2 suspensijas iegūšanas process, t.i., suspensija pēc „kaļķu dzēšanas” procesa homogenizēta planetārajās bumbu dzirnavās (principiālo shēmu skat. 2.1.8. att.).

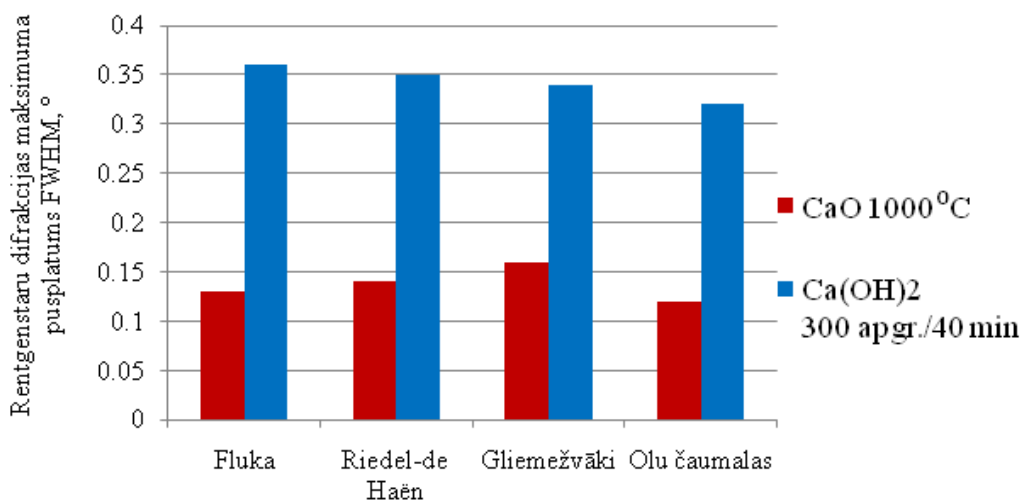
400 ml Ca(OH)_2 suspensija sadalīta 200 ml katrā dzirnavu trauciņā kopā ar 100 g ahāta maļķermeņiem un homogenizēta ar 300 apgr./min 40 min. Homogenizētās suspensijas salīdzinājums ar „kaļķu dzēšanas” procesā iegūto suspensiju pārdīts stereomikroskopijas bildēs (2.1.15. att.).



2.1.15. att. $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{F}$ suspensijas stereomikroskopijas attēli pirms homogenizēšanas un pēc 40 min homogenizēšanas planetārējās bumbu dzirnavās

Stereomikroskopijas bildēs redzams, ka pēc „kaļķu dzēšanas” procesa suspensija ir neviendabīga ar multimodālu aglomerātu lielumu, bet pēc 40 min homogenizācijas suspensija ir smalkdispersa un viendabīga, kas norāda uz $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspensijas apstrādes procesa efektivitāti un nepieciešamību turpmākai izmantošanai CaP sintēzē.

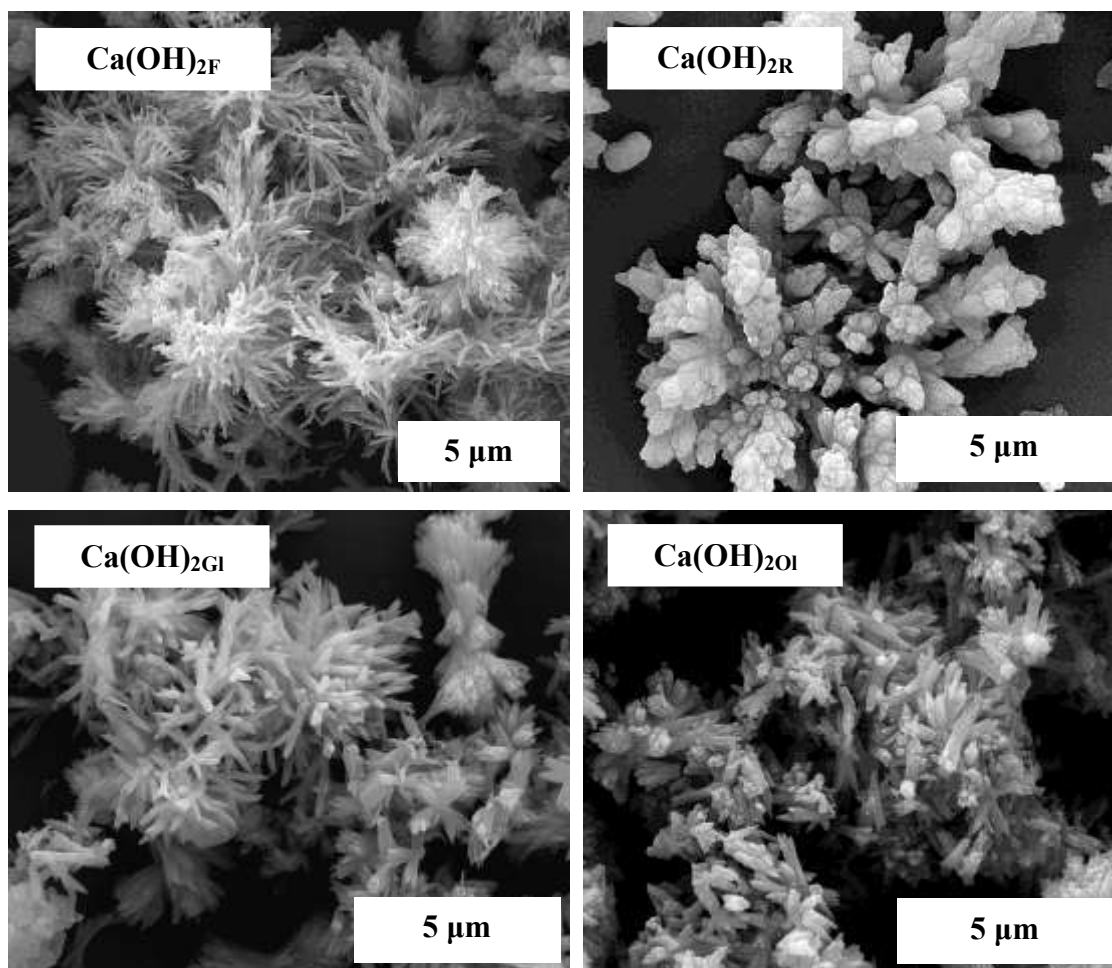
Salīdzinot izmērīto FWHM (rentgenstaru difrakcijas maksimuma pilns pusplatums pie pusintensitātes) vērtības intensīvākajiem CaO (apdedzināts 1000°C) un $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (malts planetārējās bumbu dzirnavās 40 min) rentgenstaru difrakcijas maksimumiem, respektīvi, (200) pie $37.4^\circ 2\theta$ un (101) pie $34^\circ 2\theta$, var novērot strauju rentgenstaru difrakcijas maksimumu pusplatumu (FWHM) paaugstināšanos, kas savukārt liecina par $\text{Ca}(\text{OH})_2$ kristalītu izmēra samazināšanos pēc malšanas (2.1.16. att.).



2.1.16. att. CaO un $\text{Ca}(\text{OH})_2$ FWHM salīdzinājums

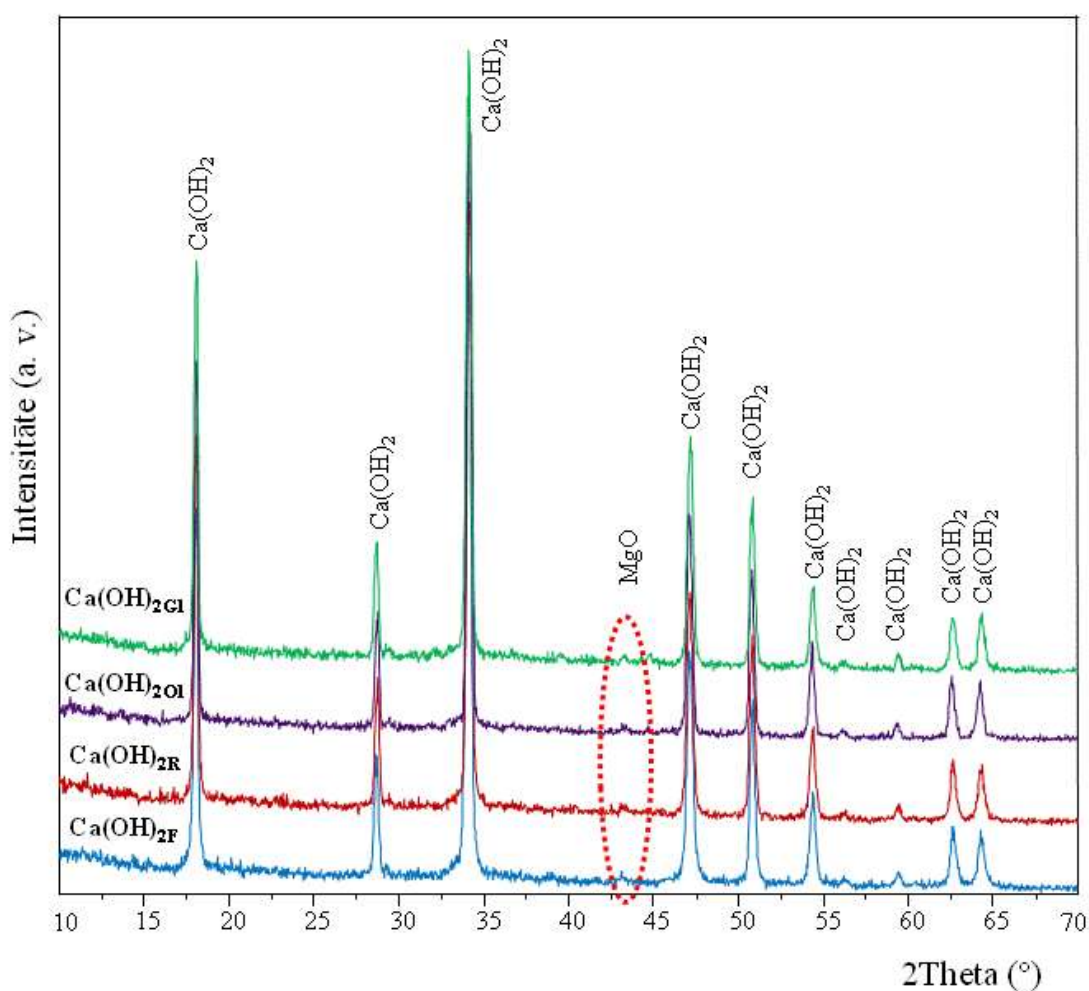
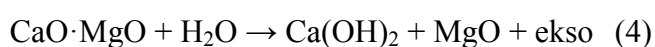
Homogenizēto Ca(OH)_2 suspensiju FE-SEM mikrofotogrāfijas, kas iegūtas no dažādas izcelsmes CaO , parādītas 2.1.17. attēlā. Salīdzinot „kaļķu dzēšanas” procesā iegūtās mikrofotogrāfijas ar suspensiju mikrofotogrāfijām pēc apstrādes planetārajās bumbu dzirnavās, var novērot, ka apstrāde planetārajās bumbu dzirnavās iespējams ir izmainījusi Ca(OH)_2 suspensijas ar sferulītveida kristālu morfoloģiju - adatveida kristāli, kas aug no kristalizācijas centra un izvietoti hanteles formā.

Tomēr iegūtās Ca(OH)_2 suspensiju mikrofotogrāfijas ir nevienozīmīgi interpretējamas un var liecināt par suspensijas paraugu sagatavošanas stadiju ietekmi uz iegūtajiem rezultātiem. Iespējams uz izžāvēto suspensiju pilienvēda paraugu virsmas ir notikusi atmosfēras CO_2 adsorbēcija, rezultātā izveidojot CaCO_3 . Neatkarīgi no iegūtajiem Ca(OH)_2 suspensiju FE-SEM rezultātiem, XRD dati un stereomikroskopijas attēli liecina par suspensijas apstrādes efektivitāti.



2.1.17. att. Biogēno un komerciālo Ca(OH)_2 suspensiju FE-SEM mikrofotogrāfijas pēc homogenizācijas planetārajās bumbu dzirnavās (300 apgr./min 40 min)

Salīdzinot 40 min malto Ca(OH)_2 suspensiju XRD difraktogrammas, var novērot tikai Ca(OH)_2 fāzei raksturīgus maksimumus [109], kas liecina, ka malšanas procesa laikā atmosfēras CO_2 klātbūtnē nav notikušas kristālisko fāžu pārvērtības. Jāatzīmē, ka XRD difraktogrammās nav novērojama Mg(OH)_2 fāzes klātbūtne (intensīvākais maksimums pie $39.9^\circ 2\theta$). Tomēr visās Ca(OH)_2 suspensiju XRD difraktogrammās ir saskatāms izteikti mazintensīvs maksimums pie $43^\circ 2\theta$, kas liecina par neizreaģējuša MgO klātbūtni paraugos (2.1.18. att.). Tas nozīmē, ka MgO nav reaģējis ar ūdeni atmosfēras temperatūrā un spiedienā un saglabājis savu struktūru atbilstoši reakcijai [115]:



2.1.18. att. Ca(OH)_2 suspensiju XRD difraktogrammas pēc 40 min apstrādes planetārajās bumbu dzirnavās

2.1.4. Sintēzes mainīgo tehnoloģisko parametru izvēle un iestatīšana

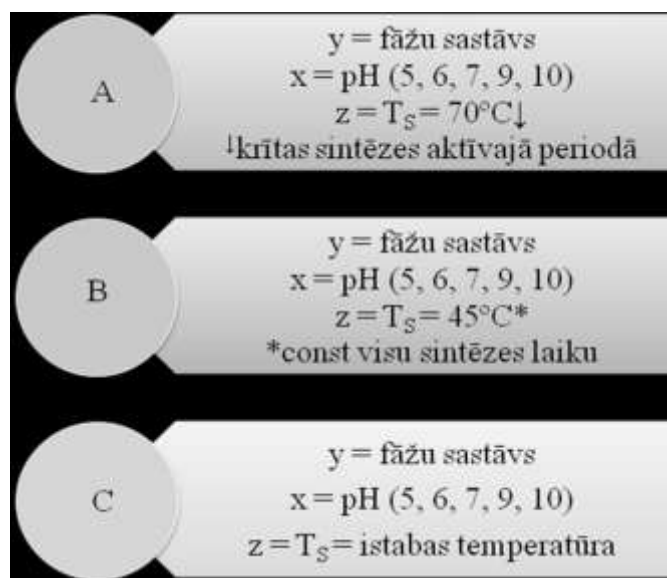
2.1.4.1. Sintēzes beigu pH un temperatūras režīms

Analizējot dažādu autoru pētījumu datus par šķīduma ķīmiskās nogulsņēšanas metodi, kā arī, pamatojoties uz iepriekš veikto eksperimentu bāzes, secināts, ka nozīmīgākie tehnoloģiskie parametri, kas varētu ietekmēt sintēzes produkta fāžu sastāvu, ir sintēzes beigu pH un sintēzes temperatūra (T_S). Atbilstoši darba mērķim eksperimentālajā darbā sintezētas 3 CaP produktu sērijas A, B, C, kas atbilst funkcijai $y = f(x)$ pie $z = \text{const}$, kur

y - sintēzes produkta fāžu sastāvs;

x – sintēzes pH_{beigu};

z – sintēzes temperatūras režīms (T_S) (2.1.19. att.).



2.1.19. att. CaP sintēžu sēriju funkcijas un raksturīgie parametri

Izvērtējot biogēno un komerciālo CaO izejmateriālu mikroelementu analīzi ar ICP-MS un pieejamību liela daudzuma CaP produktu izstrādei, turpmākai CaP produktu sēriju sintēzei izvēlēts CaO_F , kurš pilnībā atbilst CaP biomateriālu tīrības specifikācijai.

Sintēzes veiktas pie const:

- $\text{Ca}(\text{OH})_{2F}$ (iegūta no CaO_F) suspensijas koncentrācijas: 0.15 M;
- H_3PO_4 šķīduma koncentrācijas: 4.76 M.

Iegūtajām sintēžu sērijām pētīta sintēzes beigu pH un temperatūras (T_S) ietekme uz gala produkta fāžu sastāvu pēc termiskās apstrādes. Turpmākiem pētījumiem

izvēlēti daži CaP produkti: HAp, β -TCP un BCP, kuriem raksturotas sekojošas īpašības: morfoloģija, mikrostruktūra, funkcionālo grupu saturs, termiskā stabilitāte, kristalītu izmērs, kristāliskuma pakāpe pirms un pēc termiskās apstrādes.

2.1.4.2. Dažādas izcelsmes kalcija oksīdi

Zinātniskajā literatūrā nav atrasta informācija par dažādas izcelsmes CaO izejmateriālu ietekmi uz HAp sintēzes gala produkta, t.sk., biokeramikas īpašībām, kas var ietekmēt biosaderību un bioaktivitāti organismā, tādēļ eksperimentiem izmantoti dažādas izcelsmes CaO. Viens no būtiskākajiem nosacījumiem reaģentu izvēlē, ir to ietekme uz gala produkta kvalitāti, kas var ietekmēt materiāla šūnu atbildes reakciju organismā.

Lai veiktu dažādu CaO saturošu izejmateriālu ietekmes izpēti uz HAp biokeramikas raksturojumu, eksperimentālajā darbā izstrādāta HAp biokeramika no biogēnas izcelsmes un komerciālajiem CaO saturošiem izejmateriāliem (2.1.5. tab.).

2.1.5. tabula

HAp sintēzei izmantotie dažādas izcelsmes CaO un iegūtie produkti

Produkta Nr.	Izejmateriāla apzīmējums	Izcelsme
HAp_R	CaO _R	Riedel-de Haën [®] , komerciāls
HAp_F	CaO _F	Fluka, komerciāls
HAp_{OI}	CaO _{OI}	Biogēna (olu čaumalas)
HAp_{GI}	CaO _{GI}	Biogēna (raibā vīngliemeža gliemežvāki)

Sintēzes veiktas pie const:

- Ca(OH)₂ suspensijas koncentrācijas: 0.15 M;
- H₃PO₄ šķīduma koncentrācijas: 4.76 M;
- sintēzes temperatūras režīma (T_S): 45°C*;
- sintēzes pH_{beigu}: 9.

2.1.4.3. Skābes šķīduma koncentrācija

Zinātniskajā literatūrā ir nepilnīga informācijas par reaģentu koncentrācijas ietekmi uz HAp pulvera īpašībām (sastāvu, daļiņu izmēru, morfoloģiju, saķepšanas intensitāti) un keramikas mikrostruktūru.

Lai pētītu skābes koncentrācijas ietekmi uz sintēzes galaproduktu, izstrādāta HAp biokeramika, sintēzei izvēloties 4 dažādas skābes šķīduma koncentrācijas (2.1.6. tab.). Par „P” prekursoru eksperimentiem izmantota Riedel-de Haën[®] fosforskābe (H₃PO₄, 85%).

2.1.6. tabula

HAp sintēzes sākotnējā reaģentu molārā koncentrācija		
Produkta Nr.	Ca(OH) _{2F} suspensijas koncentrācija, [M]	H ₃ PO ₄ šķīduma koncentrācija, [M]
1.00 M	0.15	1
2.00 M	0.15	2
3.00 M	0.15	3
4.76 M	0.15	4.76

Sintēzes veiktas pie const:

- Ca(OH)_{2F} suspensijas (iegūta no CaO_F) koncentrācijas: 0.15 M;
- sintēzes temperatūras režīma (T_S): 45°C*;
- sintēzes pH_{beigu}: 9.

2.1.4.4. Sintēzes temperatūras režīms

HAp sintēze paaugstinātā temperatūrā ir detalizēti pētīts parametrs, kas būtiski ietekmē produkta kristāliskuma pakāpi un kristalītu izmēru, tomēr publiski pieejamā literatūrā netika atrasti dati par temperatūras režīma ietekmi uz sintēzes gala produktu.

Lai pētītu temperatūras režīma ietekmi uz sintēzes galaproduktu, izstrādāta HAp biokeramika, veicot HAp sintēzi divos dažādos temperatūras režīmos (2.1.7. tab.).

Konstanta sintēzes temperatūra varētu sekmēt homogēnas morfoloģijas un izmēra kristalītu veidošanos, savukārt sintēzes temperatūra, kas pakāpeniski samazinās sintēzes laikā, iespējams, veicina heterogēnas morfoloģijas un multimodāla kristalītu izmēra veidošanos sintēzes produktā.

2.1.7. tabula

HAp sintēzes temperatūras režīms	
Sintēzes sērija	Temperatūras režīms
45°C*	45°C ± 1°C - const visu sintēzes laiku
70°C↓	70°C ± 1°C - krītas sintēzes aktīvajā periodā

Sintēzes veiktas pie const:

- Ca(OH)_{2R} (iegūta no CaO_F) suspensijas koncentrācijas: 0.15 M
- H_3PO_4 šķīduma koncentrācijas: 4.76 M;
- sintēzes pH_{beigu} : 9.

2.1.5. Sintēzes konstanto tehnoloģisko parametru iestatīšana

Sintēzes konstantie tehnoloģiskie parametri izvēlēti un optimālās vērtības iestatītas atkarībā no sintēzes reaktora tehniskās specifikācijas un hidrodinamikas:

- Ca(OH)_2 suspensijas koncentrācija: 0.15 M^1 ;
- sintēzes suspensijas maisīšanas ātrums: $\sim 100 \text{ apgr./min}^2$;
- lēns un regulārs skābes šķīduma pievienošanas ātrums sistēmai sintēzes laikā, lai Ca(OH)_2 šķīdināšana notiktu dinamiskā sistēmā: $\sim 0.75 \text{ ml/min}^3$;
- sintēzes suspensijas stabilizācijas laiks t_S : $\sim 1 \text{ h}^4$;
- sintēzes suspensijas nobriedināšanas laiks τ : $\sim 20 \text{ h}^5$.

¹Zema Ca(OH)_2 suspensijas koncentrācija izvēlēta, lai notiktu ātra un dinamiska Ca(OH)_2 šķīšana, kā arī reaģentu koncentrācija nodrošina lielāku produkta iznākumu (1.5.1. nod.).

²Sintēzes suspensijas maisīšanas ātrums būtiski ietekmē Ca(OH)_2 šķīšanu un iestatīts atbilstoši reaktora hidrodinamikai [80] (1.5.4. nod.).

³Skābes šķīduma pievienošanas ātrums būtiski ietekmē Ca(OH)_2 šķīšanu, kā arī lokālo daļiņu koncentrāciju sintēzes suspensijas vidē [80]. Lēns skābes šķīduma pievienošanas ātrums nodrošina zemu pārsātinājuma pakāpi sistēmā un sintēzes produktu ar augstāku kristāliskuma pakāpi (1.5.3. nod.).

⁴Sintēzes suspensijas stabilizācijas laiks (pēc H_3PO_4 šķīduma pilināšanas pārtraukšanas, sintēzes suspensiju nepārtraukti maisa ar $\sim 100 \text{ apgr./min}$ 1 h laikā, lai stabilizētu pH_{beigu} pie noteiktās vērtības) noteikts eksperimentāli pēc kinētikas līknes: sintēzes suspensijas pH izmaiņas atkarība no skābes šķīduma pievienošanas daudzuma sintēzes laikā un pēc pievienošanas pārtraukšanas stabilizācijas laikā.

⁵Nobriedināšanas laikam ir būtiska nozīme produkta ieguvē ar augstu kristāliskuma pakāpi (1.5.5. nod.). Eksperimentāli pierādīts, ka sintēzes suspensijas nobriedināšanas efektivitāte un būtiska ietekme uz produkta kristāliskuma pakāpi, kristalītu augšanu un morfoloģiju ir novērojama tikai agrīnajā nobriedināšanas stadijā, t.i., pirmajās $\sim 20 \text{ h}$ pēc nogulsnešanas [73, 74].

2.1.6. Sintēzes darba gaita

400 ml homogenizētas Ca(OH)_2 suspensijas (pagatvošanas procesu skat. 2.1.3.3., 2.1.3.4. nod.) ielej sintēzes reaktorā un pievieno vēl 1600 ml dest. H_2O , rezultātā iegūstot 0.15 M Ca(OH)_2 suspensiju.

Sintēzes process notiek laboratorijas tipa pusautomātiskas vadības reaktorā (vienas sintēzes darba tilpums - 2 l), kas aprīkots ar enkurveida maisītāju, pH metru un titrēšanas sistēmu, elektrisko plītiņu ar temperatūras sensoru, kā arī ūdens vannu (sintēzei izmantotais laboratorijas aprīkojums uzskaitīts 2.1.1. tab.). Skābes šķīdumu pievieno Ca(OH)_2 suspensijai ar lēnu pievienošanas ātrumu (~ 0.75 ml/min), intensīvi maisot sintēzes vidi ar ~ 100 apgr./min. Sintēzes laikā kontrolē temperatūra, pēc vajadzības mainot temperatūras režīmu. Skābes šķīduma pievienošanu pārtrauc, sasniedzot noteiktu sintēzes vides pH_{beigu} vērtību. Pēc pievienošanas pārtraukšanas, suspensiju turpina maisīt ar ~ 100 apgr./min 1 h laikā, lai stabilizētu pH_{beigu} vērtību. Suspensiju nobriedina „mātes šķīdumā” (sintēzes šķīduma vidē) 20 h apkārtējās vides atmosfērā. Pēc nobriedināšanas suspensiju vakuumfiltrē un nogulsnes žāvē $105^\circ\text{C} \sim 20$ h. Izzāvēto pulveri saberž piestā, sablīvē presformā un uniaksiāli sapresē (2 kN) ar pussauso metodi cilindriskās tabletēs ($\varnothing 10$ mm), kuras apdedzina pie dažādiem temperatūras režīmiem (temperatūras celšanas ātrums $\sim 5^\circ\text{C}/\text{min}$). Ilustratīva CaP produktu iegūšanas stadiju shēma parādīta 2.1.20. att.



2.1.20. att. CaP produktu izstrādes stadiju ilustratīvā shēma

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. Kalcija fosfātu biokeramikas izstrāde ar regulējamu fāžu sastāvu

Eksperimentālā darba ietvaros ar šķīduma ķīmisko nogulsnešanas metodi, mainot pH_{beigu} un T_{S} , izstrādātas 3 sintēžu sērijas A, B, C, iegūti 15 CaP produkti (2.1.4.1. nod., 3.1.1. tab.).

3.1.1. tabula

Sintezētie CaP produkti

Sintēzes sērija	Sintēzes Nr.	Sintēzes mainīgie parametri
A	A1	pH 5, 70°C↓
A	A2	pH 6, 70°C↓
A	A3	pH 7, 70°C↓
A	A4	pH 9, 70°C↓
A	A5	pH 10, 70°C↓
B	B1	pH 5, 45°C*
B	B2	pH 6, 45°C*
B	B3	pH 7, 45°C*
B	B4	pH 9, 45°C*
B	B5	pH 10, 45°C*
C	C1	pH 5, 22°C
C	C2	pH 6, 22°C
C	C3	pH 7, 22°C
C	C4	pH 9, 22°C
C	C5	pH 10, 22°C

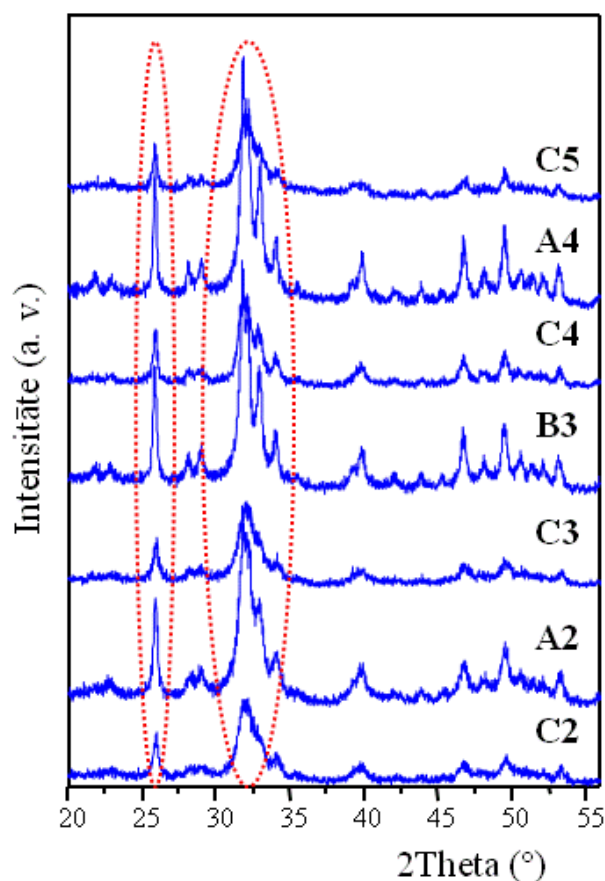
Vidējais produkta iznākums katrā sintēzē - ~ 29 (± 2 g produkta zudumi sintēzes tehnoloģisko etapu laikā). Salīdzinājumam, konvencionālās „stehiometriskā šķīduma metodes” gadījumā ar $c = [\text{Ca}^{2+}]/[\text{PO}_4^{3-}] = 0.50 \text{ M}/0.30 \text{ M}$ no 1 g CaO iegūts 0.93 g gala produkta (V.Stepanovas maģistra darbs „Sintēzes mērogošanas faktoru ietekme uz hidroksilapatīta īpašībām” 2009.g., vad. L.Bērziņa-Cimdiņa), ar eksperimentālo metodi no 1 g CaO - 1.7 g gala produkta. Salīdzinātie produktu iznākumi norāda uz modificētas sintēzes metodes efektivitāti.

3.1.1. Fāžu identifikācija un sastāva analīze

Sintezēto un termiski apstrādāto CaP fāžu identifikācija un fāžu sastāva analīze veikta ar rentgenstaru pulverdifrakcijas (XRD) metodi.

No uzņemtajām sintezēto CaP produktu XRD difraktogrammām konstatēts, ka visi paraugi ir ar sīkkristālisku struktūru un zemu kristāliskuma pakāpi, par ko liecina rentgenstaru difrakcijas ainas ar relatīvi platiem un zemas intensitātes rentgenstaru difrakcijas maksimumiem. Veicot sintezēto produktu XRD fāžu identifikācijas analīzi, noskaidrots, ka neatkarīgi no sintēzes atšķirīgajiem tehnoloģiskajiem parametriem, sākotnēji visos paraugos veidojas apatīta struktūra.

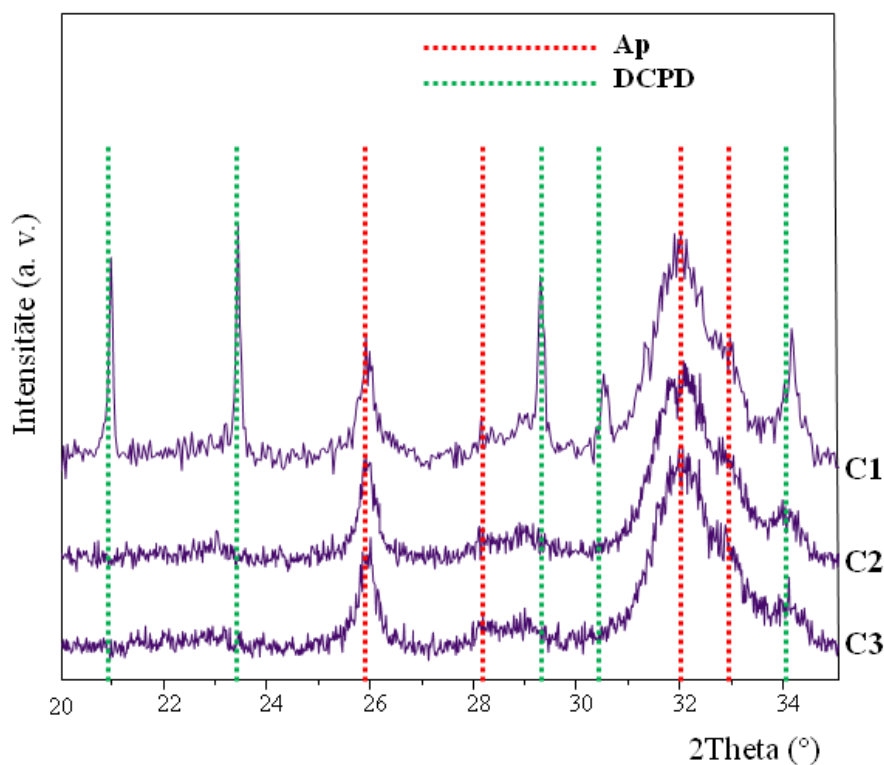
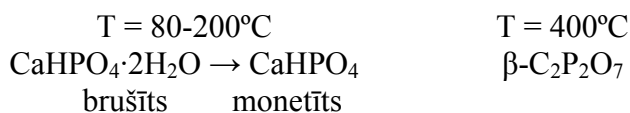
Sintēžu sēriju A un B XRD ainas pilnībā atbilst sintezētu apatītu struktūrai [52, 86, 95, 96, 113, 119, 120-123] (3.1.1. att., 3.2.1. att.). A, B sēriju difraktogrammās iezīmējamas apatīta fāzei raksturīgais triplets vai plata, intensīva difrakcijas josla diapazonā no 31.7° - 33° 2θ un viens maksimums pie 25.7° 2θ [123] (3.1.1. att.).



3.1.1. att. Sintezēto CaP produktu XRD difraktogrammas pēc žāvēšanas $105^{\circ}\text{C} \sim 20 \text{ h}$

Sintēžu sēriju A, B XRD ainās novērojami relatīvi augstākas intensitātes maksimumi, kas liecina par sintēzes temperatūras ietekmi uz produkta kristālītu izmēru un kristāliskuma pakāpi. Var secināt, ka paaugstināta sintēzes temperatūra sekmē kristālītu augšanu, paaugstina kristāliskuma pakāpi un iekšējās strukturālās sakārtotības pakāpi [70].

CaP sintēžu sērijai C XRD difrakcijas ainās novērojami zemas intensitātes maksimumi un tie tikai daļēji sakrīt ar apatīta fāzei raksturīgajiem maksimumiem (3.1.1., 3.1.2. att.). CaP produktam C1 XRD ainā identificēta blakus fāze DCPD ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, brušīts), kas pēc termiskās apstrādes virs 400°C transformējas par β - β -CPP ($\beta\text{-C}_2\text{P}_2\text{O}_7$, kalcija pirofosfāts) [7, 8]:

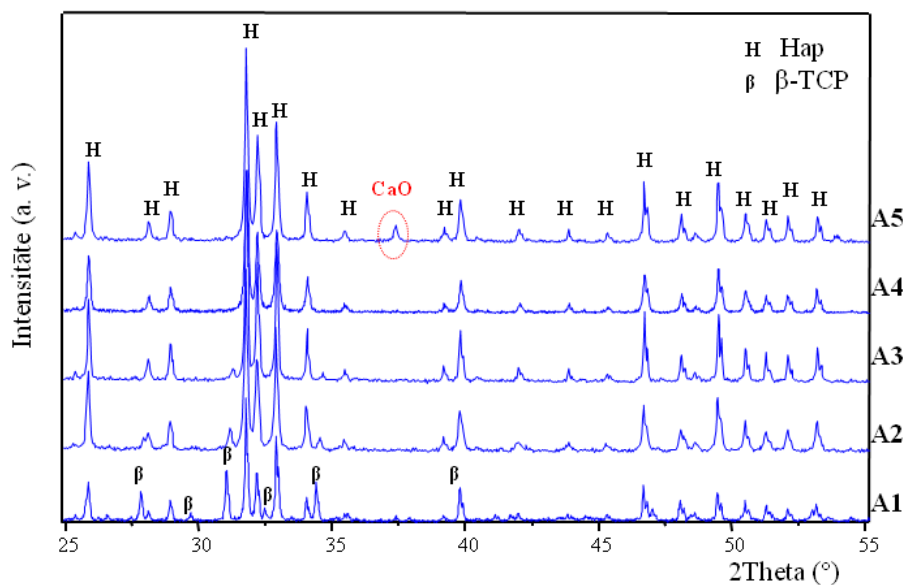


3.1.2. att. CaP sintēžu sērijas C sintezēto produktu XRD difrakcijas ainās pēc žāvēšanas $105^\circ\text{C} \sim 20$ h

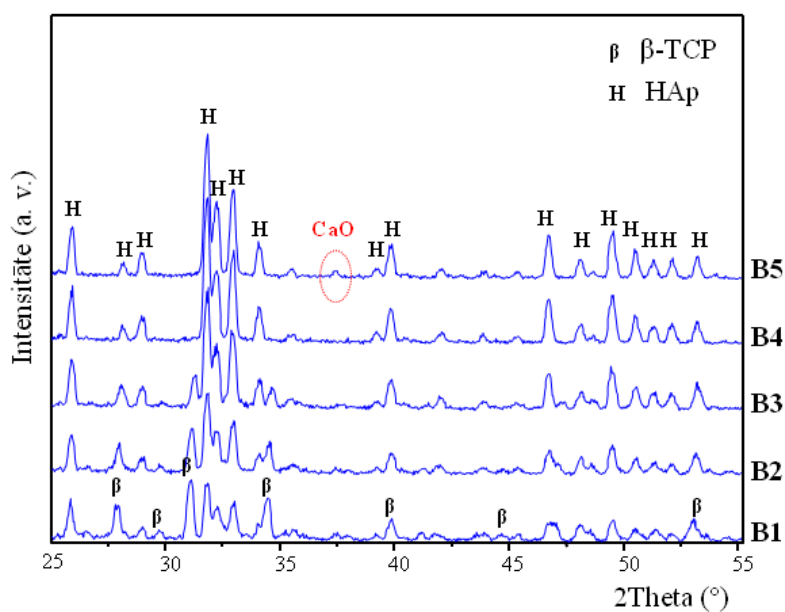
DCDP fāzes klātbūtne sintezētajā CaP produktā liecina par CDHAp ar molāro Ca/P < 1.5, kas sastāv no sintezēta TCP (ap-TCP) un DCDP [47]. CaP produktu C2,

C3 XRD ainas ir identiskas un atbilst apatīta fāzei, kas raksturīga CDHAp produktiem ar molāro Ca/P attiecību 1.5-1.67 [123], līdz ar to patiesā CaP produktu fāžu kristāliskā rentgenstruktūra iezīmēsies tikai pēc augsttemperatūras apstrādes.

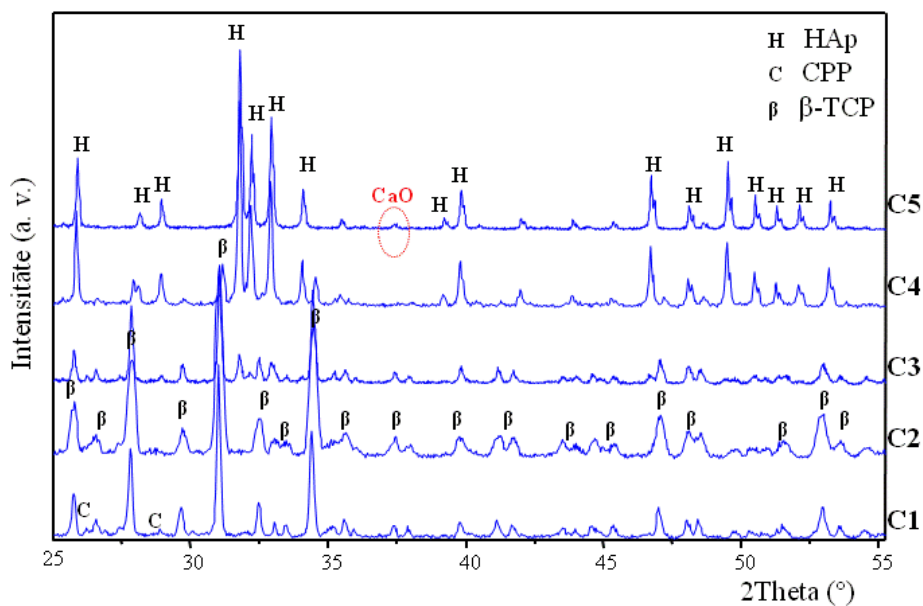
Izvērtējot CaP produktu XRD ainas pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C, katrā no paraugiem identificētas viena vai vairākas kristāliskās fāzes (3.1.3. att., 3.1.4. att., 3.1.5. att., 3.1.2. tab.).



3.1.3. att. CaP sintēžu sērijas A produktu XRD difrakcijas ainas pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h



3.1.4. att. CaP sintēžu sērijas B produktu XRD difrakcijas ainas pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h



3.1.5. att. CaP sintēžu sērijas C produktu XRD difrakcijas ainās pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h

3.1.2. tabulā apkopotas CaP produktos identificētās kristāliskās fāzes, kas sarindotas tādā secībā, ka pirmā CaP produktā ir dominējošā fāze.

3.1.2. tabula

CaP produktos identificētās fāzes pēc sintēzes un augsttemperatūras apstrādes

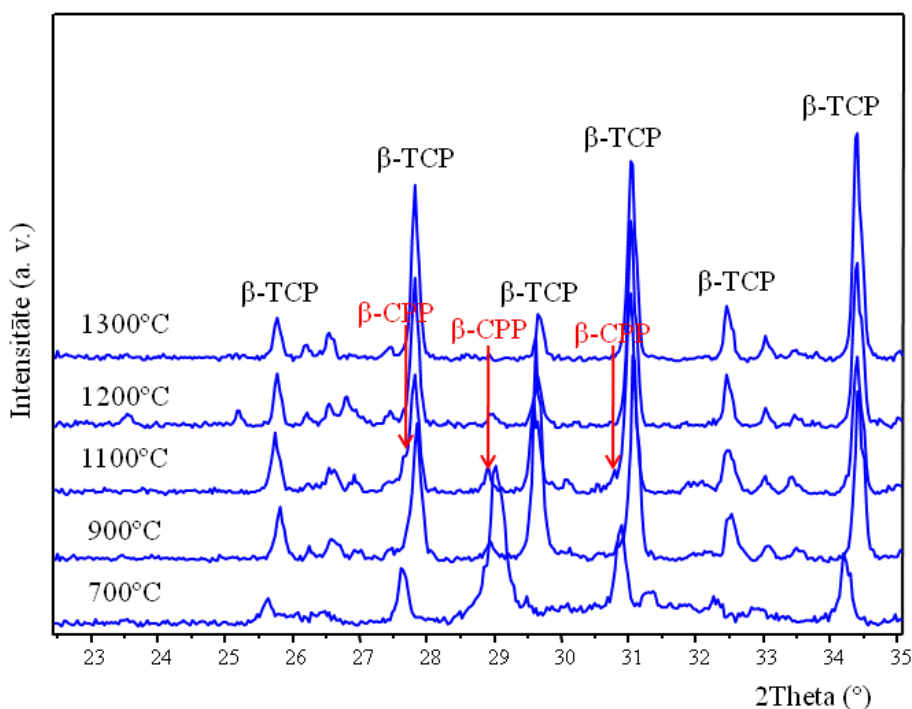
Sintēzes Nr.	Identificētās CaP fāzes pēc sintēzes	Identificētās CaP fāzes 1100°C 1h
A1	CDHAp	HAp + β-TCP
A2	CDHAp	HAp + β-TCP
A3	CDHAp	HAp + β-TCP
A4	apatīts	HAp
A5	CDHAp + Ca(OH) ₂	HAp + CaO
B1	CDHAp	β-TCP + HAp
B2	CDHAp	HAp + β-TCP
B3	CDHAp	HAp + β-TCP
B4	apatīts	HAp
B5	CDHAp + Ca(OH) ₂	HAp + CaO
C1	apTCP + DCPD	β-TCP + β-CPP
C2	ap-TCP	β-TCP
C3	CDHAp	β-TCP + HAp
C4	CDHAp	HAp + β-TCP
C5	CDHAp + Ca(OH) ₂	HAp + CaO

Pamatojoties uz eksperimentālajam darbam izvirzīto mērķi - iegūt HAp, β -TCP un BCP produktus medicīniskam pielietojumam, turpmākai raksturošanai izvēlēti CaP produkti bez CaO un β -CPP fāžu klātbūtnes pēc augsttemperatūras apstrādes, kas identificētas XRD difrakcijas ainās (skat. iekrāsotos CaP produktus 3.1.2. tab.).

CaO nav biosaderīgs cilvēka organismā, tam atbilstošā Ca(OH)₂ bāze var izraisīt apkārtējo audu kairinājumu cilvēka organisma neitrālajā vai viegli skābajā vidē, līdz ar to ir jāizvairās no šīs fāzes klātbūtnes CaP implantmateriālos. CaO fāze sekmē HAp termisko sadalīšanos daudz zemākā temperatūrā, kā arī, transformējoties par Ca(OH)₂, izraisa HAp biokeramikas iekšējos spriegumus, radot plaisas un pavājinot mehāniskās īpašības [46]. CaO veidojas nestehiometriskos HAp produktos (molārā Ca/P > 1.67) termiskās apstrādes rezultātā (A5, B5, C5) [119]. CaO fāzes rašanās ir saistīta ar sintēzes suspensijas vidē pārpalikumā esošo Ca(OH)₂, kas termiskās apstrādes rezultātā transformējās par CaO. Ievērojot, ka Ca(OH)₂ intensīvākais rentgendifrakcijas maksimums pie 34° 2 θ sakrīt ar apatīta fāzes maksimumu, to ir grūti detektēt XRD difrakcijas ainās pirms termiskās apstrādes. Neskatoties uz to, Ca(OH)₂ fāzes klātbūtni ir iespējams prognozēt, analizējot sintezēto CaP produktu FT-IR spektrus, kuros salīdzinot ar pārējiem CaP sintēzes produktu spektriem ir paaugstināts [CO₃] grupu saturs, ko apliecina intensīvāki absorbcijas maksimumi pie 1418 cm⁻¹, 1458 cm⁻¹ un 875 cm⁻¹. Šie absorbcijas maksimumi radušies atmosfēras CO₂ šķīšanas rezultātā bāziskā sintēzes vidē [41, 124-126]. Ņemot vērā faktu, ka, CaO fāzes klātbūtne detektēta sintēzes produktos, kas sintezēti pie pH_{beigu} 10, secināts, ka CaO fāzes veidošanos sintēzes produktā pēc termiskās apstrādes veicina paaugstināts [CO₃] grupu saturs sintēzes produktos pēc sintēzes. Jāatzīmē, ka augstāka sintēzes temperatūra samazina atmosfēras CO₂ šķīdību sintēzes vidē, tomēr neatkarīgi no sintēzes režīma (22°C, 45°C vai 70°C↓) visos produktos, kas iegūti pie pH_{beigu} 10, konstatēts paaugstināts [CO₃] grupu saturs un līdz ar to arī CaO fāzes klātbūtne pēc termiskās apstrādes. Ślósarczyk ar līdzautoriem norādīja [127], ka (CO₃²⁻) jonu klātbūtne struktūrā samazina HAp produkta termisko stabilitāti, veicinot HAp sadalīšanos zemākā temperatūrā un CaO kā sekundārās fāzes parādīšanos produktā. Izvērtējot CaP produktu A5, B5, C5 XRD difrakcijas ainas pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h, visos CaP produktos konstatēta CaO fāze, uz ko norāda intensīvākais CaO maksimums pie 34° 2 θ (3.1.3. att.).

CaP produkta C1 XRD difrakcijas ainā pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h ir sarežģīti identificēt β -CPP fāzi, kuras intensīvākais rentgendifrakcijas

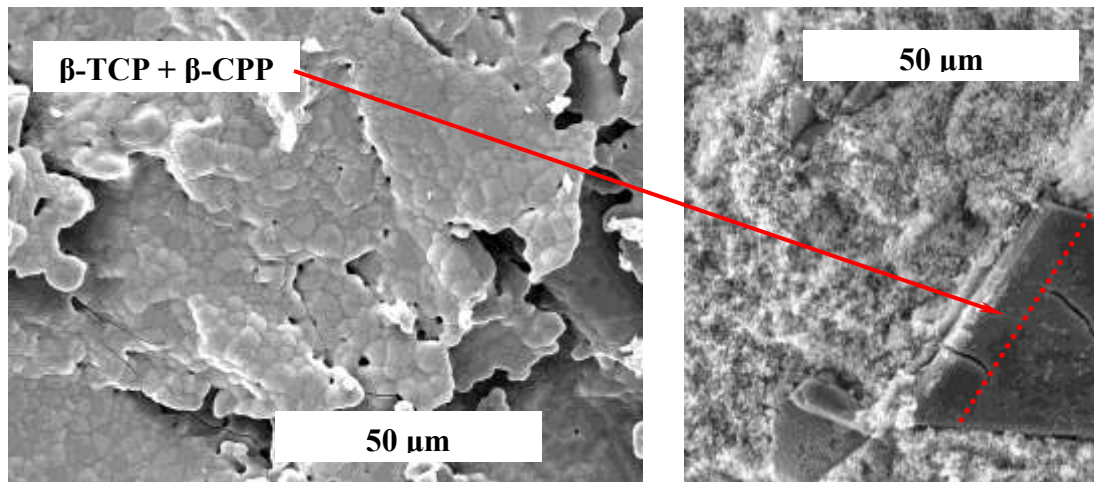
maksimums pie $29.56^\circ 2\theta$ (relatīvā intensitāte 100%) gandrīz pilnībā sakrīt ar β -TCP fāzes maksimumu pie $29.66^\circ 2\theta$. Neskatoties uz to, β -CPP fāzes maksimums pie $28.87^\circ 2\theta$ (relatīvā intensitāte 54%) detektēts 900°C (3.1.6. att.) [47, 128].



3.1.6. att. CaP produkta C1 XRD difraktogrammas pēc termiskās apstrādes $700\text{--}1300^\circ\text{C}$ 1 h

Literatūrā norādīts, ka β -TCP \rightarrow α -TCP transformācijas rezultātā, materiālā rodas mikroplaisas, kas samazina β -TCP biokeramikas mehānisko izturību [129]. Lai risinātu šo problēmu, biosaderīgu β -CPP fāzi izmanto kā dopinga aģentu β -TCP biokeramikā, nodrošinot tās saķepināšanu augstākā temperatūrā un iegūstot blīvāku keramiku ar uzlabotām mehāniskām īpašībām [129]. Tomēr eksperimentāli iegūtam CaP produktam C1 FE-SEM mikrostruktūras pētījumos pēc termiskās apstrādes konstatēts, ka β -CPP fāze atstāj negatīvu efektu uz β -TCP biokeramikas saķepšanas pakāpi un mikrostruktūru, veidojot heterogēnu mikrostruktūru ar palielinātiem graudiem un mikroplaisas (3.1.7. att. pa kreisi), kā arī milzīgus ($\sim 50\ \mu\text{m}$) β -CPP kristālus (3.1.7. att. pa labi). Šie mikrostruktūras defekti būtiski samazina biokeramikas materiāla mehāniskās īpašības.

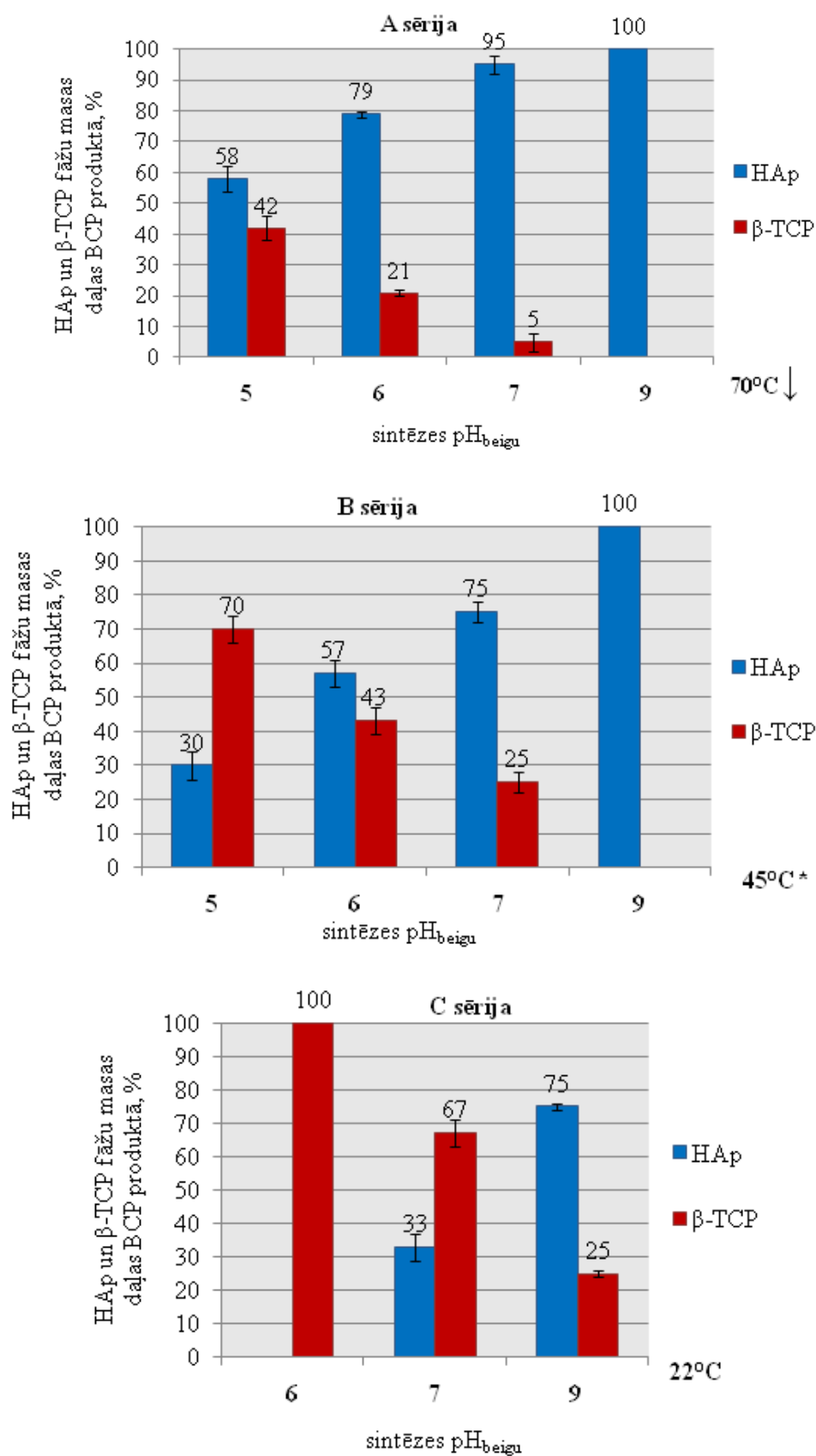
Jāatzīmē, ka eksperimentāli iegūtā β -TCP biokeramika (CaP produkts C2) uzrādīja blīvu un viendabīgu mikrostruktūru un termisko stabilitāti līdz pat 1350°C (3.1.2. nod.).



3.1.7. att. Iegūtās β -TCP + β -CPP biokeramikas virsmas FE-SEM mikrografijas pēc augsttemperatūras apstrādes 1200°C (pa kreisi) un 900°C (pa labi) 1h

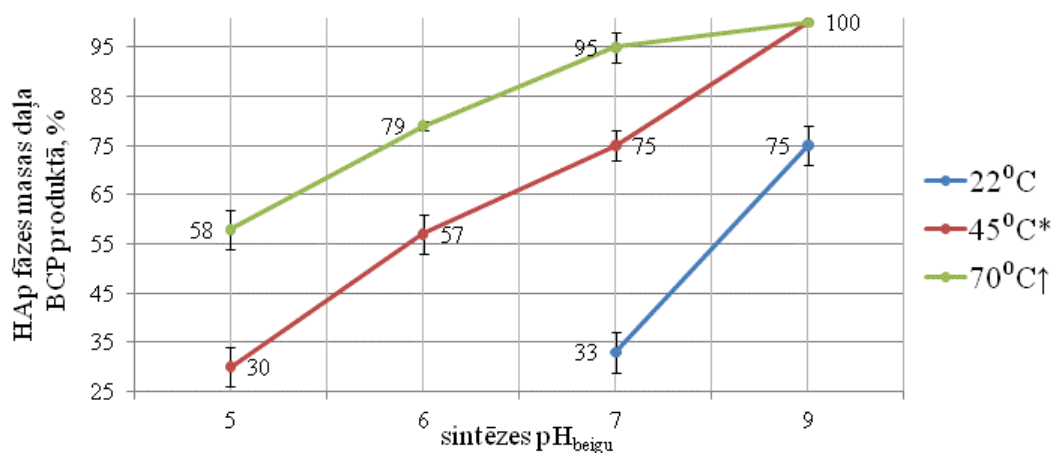
Izmantojot XRD puskvantitatīvās metodes kalibrēšanas līkni, CaP produktiem pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h aprēķinātas HAp un β -TCP fāžu masas daļas (%). Iegūtās HAp un β -TCP fāžu masas daļas (%) katram CaP produktam atspoguļotas 3.1.8. att. A, B, C sēriju grafikos. Katra produkta HAp fāzes masas daļai (%) aprēķināta relatīvā kļūda, kas ir 1.3-4.6% robežās.

Izvērtējot HAp un β -TCP fāžu masas daļas katrā no CaP produktiem, konstatēts, ka zemāks pH_{beigu} veicina BCP ar HAp kā mazākumā esošas fāzes vai rentģentīras β -TCP fāzes veidošanos pēc augsttemperatūras apstrādes, bet augstāks pH_{beigu} - BCP ar HAp kā dominējošas fāzes vai rentģentīras HAp fāzes veidošanos CaP produktā. T_S ir dominējoša ietekme uz HAp vai β -TCP fāzes veidošanos pēc augsttemperatūras apstrādes. No iegūtajiem grafikiem var secināt, ka paaugstināts T_S neatkarīgi no pH_{beigu} sekmē HAp kā dominējošās fāzes veidošanos sintēzes produktā, savukārt apkārtējās atmosfēras T_S veicina β -TCP kā dominējošās fāzes veidošanos sintēzes produktā pēc augsttemperatūras apstrādes.



3.1.8. att. HAp un β -TCP fāžu masas daļas (%) CaP produktos pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1h

HAp fāzes veidošanās tendence atkarībā no sintēzes pH_{beigu} dažādos temperatūras režīmos atspoguļota 3.1.9. att.



3.1.9. att. HAp fāzes masas daļas (%) atkarība no sintēzes pH_{beigu} BCP produktā pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h

Pārskatot CaP produktu XRD puskvantitatīvās analīzes datus, kā arī izvērtējot HAp un β -TCP fāžu veidošanās tendenci katrā no sintēžu sērijām A, B, C, turpmākai pētniecībai izvēlēti HAp (A4, B4), β -TCP (C2) un BCP (B1, B2, B3) produkti, kas norādīti 3.1.3. tabulā. Izvēlētie BCP produkti no sintēžu sērijas B uzrādīja precīzāku reproducēšanas iespēju, ja salīdzina A sērijas CaP produktu raksturojumu ar XRD un FTIR.

3.1.3. tabula

Izvēlētie CaP produkti turpmākai pētniecībai

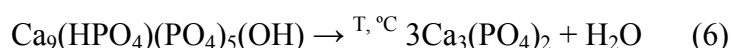
CaP produkti pēc termiskās apstrādes	Sintēzes Nr.
HAp (3.2. nod., 3.3. nod.)	A4, B4
β-TCP (3.1.2. nod.)	C2
BCP	
HAp/ β -TCP (3.1.3. nod.)	
30/70	B1
57/43	B2
75/25	B3

3.1.2. β -Trikalcija fosfāta biokeramikas izstrāde un raksturojums

Eksperimentāli iegūtais CaP produkts C2 ir ap-TCP, kas radies am-TCP kristalizācijas rezultātā ūdens vidē:



Ap-TCP ir CDHAp, kam raksturīga apatīta struktūra ar Ca/P molāro attiecību 1.5 un ķīmisko formulu $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_x$ [7]. CDHAp termiskās apstrādes (700-800°C) rezultātā rodas β -TCP:

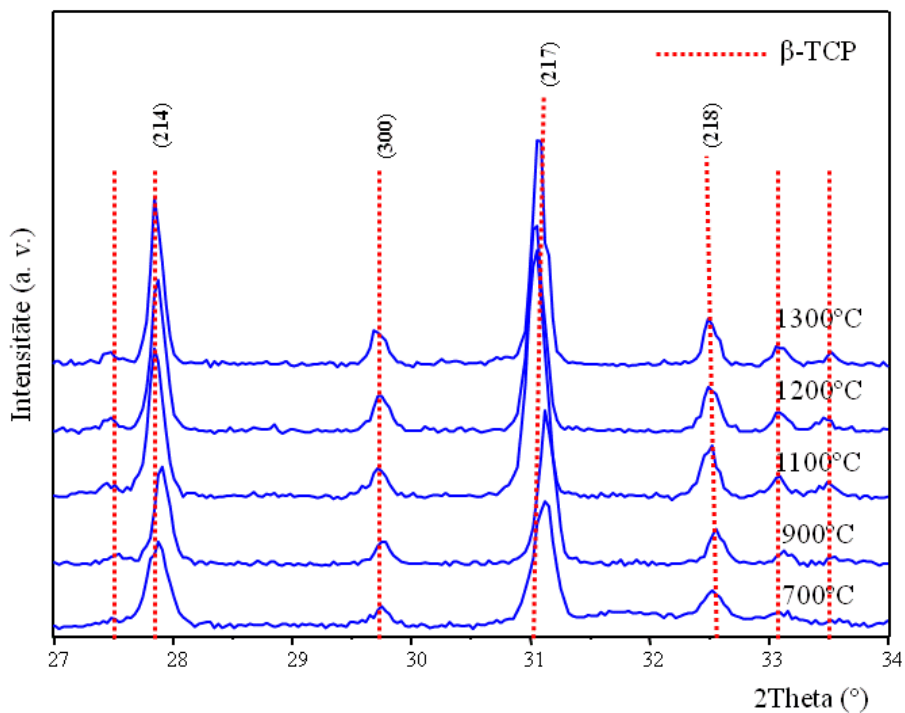


Nozīmīgākais sintēzes tehnoloģiskais parametrs (pie pārējiem const parametriem), kas nosaka ap-TCP fāzes veidošanos pēc sintēzes un rentģentīras β -TCP fāzes veidošanos pēc termiskās apstrādes ir pH_{beigu} . Sintēzes beigu pH robežvērtības ap-TCP fāzes iegūšanai: $5.90 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 6.06$, $T_S = 22 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.1.2.1. Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte

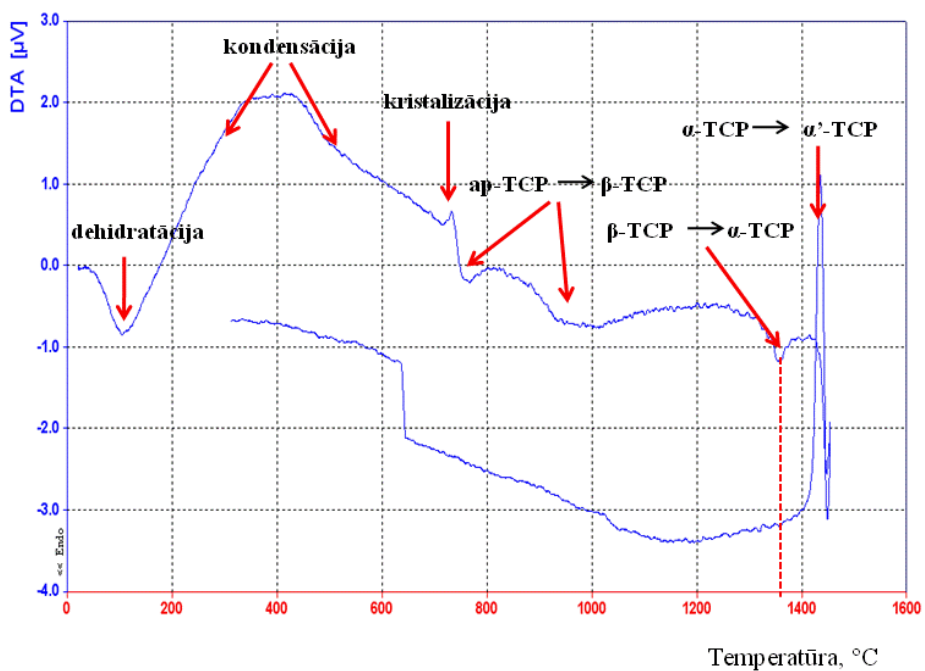
CaP sintēzes produkta C2 XRD difrakcijas ainā pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C identificēta rentģentīra β -TCP kristāliskā fāze (CaP produkts ar molāro Ca/P = 1.5), kas stabila līdz pat 1300°C (3.1.10. att.). XRD diapazons no 27°-34° 2 θ ir izvēlēts, lai varētu detektēt nevēlamo blakusfāžu β -CPP, α -TCP klātbūtni CaP produktā.

Pēc sintēzes CaP produkts sastāv no apatītiska TCP, kas dehidroksilācijas rezultātā 700-900°C pārstrukturējās par β -TCP kristālisko fāzi [7, 47]. Ap-TCP ir zemtemperatūras, nestabila fāze, kuru ir iespējams izmantot metāla protēžu pārklāšanai ar bioresorbējošu, reaktīvu pārklājumu, kā arī kā sastāvdaļu CaP cementos un minerālorganiskajos kompozītos [7].



3.1.10. att. Iegūtās β -TCP biokeramikas XRD difrakcijas ainās pēc termiskās apstrādes 700-1300°C 1 h

β -TCP kristāliskās fāzes termisko stabilitāti apliecināja arī uzņemtā DTA līkne ap-TCP sintēzes produktam (3.1.11. att.).



3.1.11. att. Sintezētā ap-TCP DTA raksturlīkne

Endotermiskais efekts $\sim 100^{\circ}\text{C}$ liecina par fizikāli adsorbēto H_2O un CO_2 aizvadīšanu; otrais endotermiskais efekts $\sim 750\text{-}900^{\circ}\text{C}$ - ap-TCP sadalīšanos par β -TCP, endotermiskais efekts $\sim 1350^{\circ}\text{C}$ norāda uz β -TCP fāzes pārvērtību par α -TCP. Analizējot DTA raksturlīkni, konstatēts, ka iegūtā augsttemperatūras kristāliskā fāze - β -TCP ir termiski stabila līdz $\sim 1350^{\circ}\text{C}$. Endotermiskais efekts $\sim 1470^{\circ}\text{C}$ liecina par alotropisku fāžu pārvērtību: α -TCP \rightarrow α' -TCP. Eksotermiskais efekts $320\text{-}360^{\circ}\text{C}$ norāda uz (HPO_4^{2-}) jonu kondensāciju par $(\text{P}_2\text{O}_7^{2-})$ joniem un otrs eksotermiskais efekts $470\text{-}530^{\circ}\text{C}$ - $(\text{P}_2\text{O}_7^{2-})$ jonu transformācija par (PO_4^{3-}) joniem, bet eksotermiskais efekts $\sim 720^{\circ}\text{C}$ liecina par ap-TCP kristalizācijas procesu.

Pēc literatūras datiem, β -TCP fāze ir stabila līdz $1120\text{-}1180^{\circ}\text{C}$ [7, 128]. Šī temperatūra ir pārāk zema un nepietiekoša β -TCP biokeramikas sablīvēšanai, jo β -TCP \rightarrow α -TCP pārvērtību rezultātā biokeramikā veidojas mikroplaisas atšķirīgu β - un α -TCP materiālu blīvumu dēļ, tādējādi nenodrošinot atbilstošas β -TCP biokeramikas mehāniskās īpašības. Eksperimentāli iegūtā β -TCP biokeramika FE-SEM mikrofotogrāfijās uzrādīja blīvu un homogēnu mikrostruktūru, kas varētu nodrošināt nepieciešamos mehāniskos parametrus.

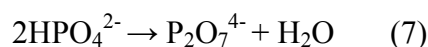
3.1.2.2. Molekulārās struktūras analīze

Sintezētā un augsttemperatūrā apstrādātā TCP pulvera molekulārās struktūras analīze veikta ar Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopiju (FT-IR). Sintezētā ap-TCP FT-IR spektrā konstatētas apatīta fāzei raksturīgās $[\text{PO}_4]$, $[\text{OH}]$ funkcionālo grupu absorbcijas joslas (3.1.12. att.). Papildus FT-IR spektrā novērojams $[\text{HPO}_4]$ grupai raksturīgs absorbcijas maksimums pie 875 cm^{-1} , kā arī $[\text{CO}_3]$ grupai raksturīgā absorbcijas josla pie 1420 cm^{-1} un 1468 cm^{-1} . Absorbcijas maksimums pie 875 cm^{-1} varētu būt attiecināma arī uz $[\text{CO}_3]$ grupas klātbūtni sintezētā ap-TCP IR spektrā, tomēr $[\text{HPO}_4]$ un $[\text{OH}]$ grupu klātbūtne IR spektrā apstiprina, ka apatīta fāze ir ar kalcija deficītu. $[\text{HPO}_4]$ grupas klātbūtni apliecina arī DTA raksturlīkne (3.1.11. att.). Pēc augsttemperatūras apstrādes FT-IR spektrā novērojamas būtiskas $[\text{PO}_4]$ grupu absorbcijas joslu pārstrukturēšanās, kā arī pilnīga $[\text{HPO}_4]$, $[\text{OH}]$ un $[\text{CO}_3]$ grupu absorbcijas joslu izzušana. Ap-TCP un β -TCP FT-IR spektru raksturīgo grupu absorbcijas joslas apkopotas 3.1.4. tabulā un uzrādītas 3.1.12. att.

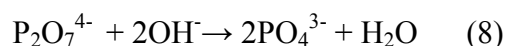
Ap-TCP un β -TCP raksturīgo grupu FT-IR absorbcijas joslas

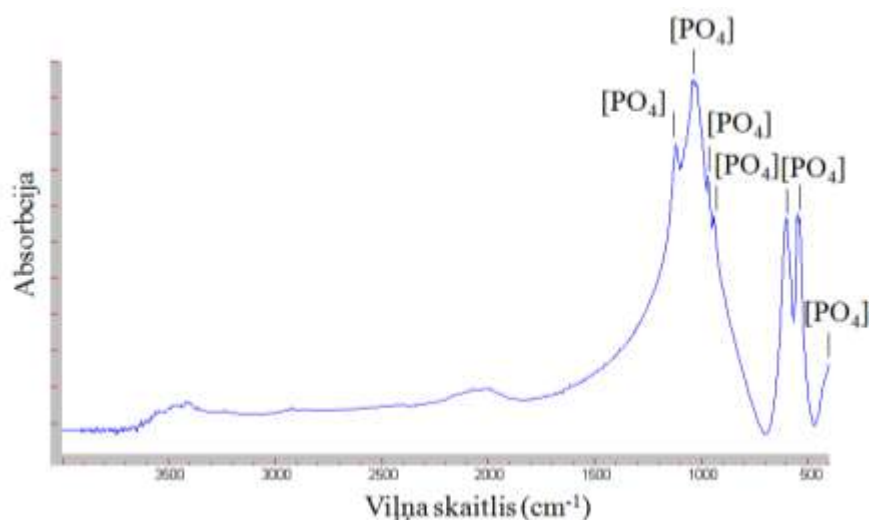
Raksturīgās grupas	Absorbcijas joslas (cm^{-1})	
	Sintezēts ap-TCP	β -TCP 1100°C
[PO ₄] v ₂	472	436
[PO ₄] v ₄	574	552
[PO ₄] v ₄	606	592; 605
[PO ₄] v ₁	963	944
[PO ₄] v ₃	1000-1200	971; 1025; 1042; 1120
[OH]	3569	-
[OH]	631	-
[HPO ₄]	875	-
[CO ₃] v ₃	1420	-
[CO ₃] v ₃	1468	-
H ₂ O _{adsorb} v ₁ , v ₃	2800-3600	

Absorbcijas maksimums pie 875 cm^{-1} attiecināms uz [HPO₄] grupas klātbūtni paraugos (liecina par β -kalcija pirofosfāta (β -CPP) fāzes klātbūtni, ja tie ir apatīti ar kalcija deficītu un pēc termiskās apstrādes no 200-650°C notiek (HPO₄²⁻) jonu kondensācija, veidojot (P₂O₇⁴⁻) jonus ([P₂O₇] grupa pie 720 cm^{-1}) un H₂O saskaņā ar sadalīšanās reakciju [117, 130, 131]:



Diapazonā no 700-850°C notiek sekojoša reakcija, kuras rezultātā veidojas β -TCP fāze [117, 130, 131]:





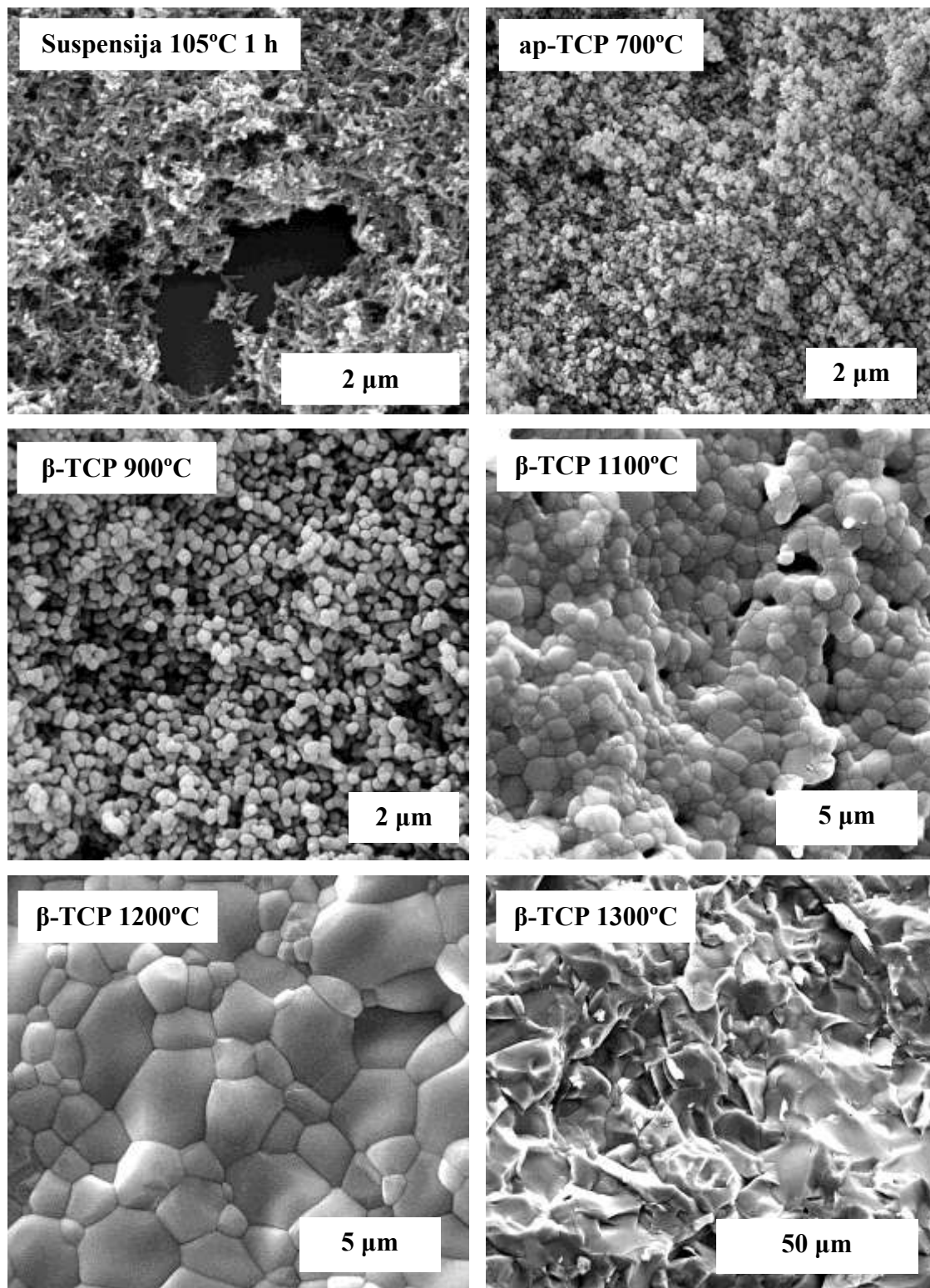
3.1.12. att. β -TCP biokeramikas FT-IR spektri pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h

3.1.2.3. Morfoloģijas un mikrostruktūras, saķepšanas procesa pētījumi

Sintezētas ap-TCP suspensijas FE-SEM mikrofotogrāfija (3.1.13. att.) uzrāda tipisku apatīta pulvera adatveida kristalītu morfoloģiju, kas raksturīga arī sintezētai HAp suspensijai (3.2.5. att.). Balstoties uz literatūras datiem [45], sintezēto CDHAp produktu kristalītu izmēram ir tendence samazināties, atbilstoši samazinoties CDHAp Ca/P molārajai attiecībai, respektīvi, ap-TCP produktam ar Ca/P molāro attiecību 1.5, sākotnējie kristalītu izmēri ir mazāki nekā sintezēto HAp produktu kristalītu izmēri (3.2.4. tab.). Šis apgalvojums pilnībā korelē ar eksperimentāli iegūto sintezēto CaP produktu XRD datiem, respektīvi, CaP produktu C1 (Ca/P < 1.5), C2 (Ca/P ~ 1.5), C3 (Ca/P < 1.67) XRD difrakcijas ainās apatīta fāzei raksturīgais triplets ir plata, zemas intensitātes difrakcijas josla (kas liecina par produkta sīkkristālisku struktūru) salīdzinot ar HAp produktu A4 (Ca/P ~ 1.67), B4 (Ca/P ~ 1.67) XRD difrakcijas ainām (3.1.1. att., 3.1.2. att.).

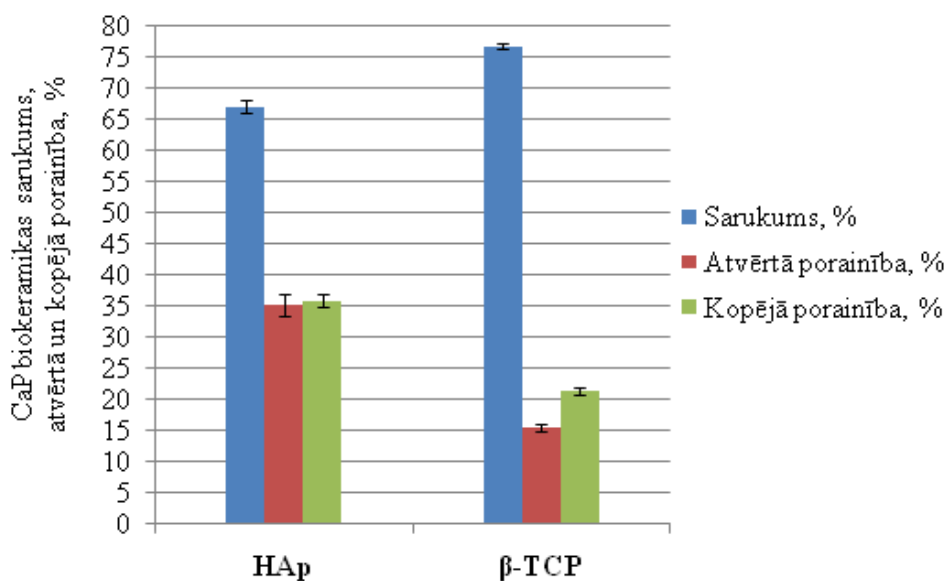
FE-SEM mikrofotogrāfija 700°C liecina par biokeramikas daļēju saķepšanas sākumu – kristalītu noapaļošanu (3.1.13. att.). FE-SEM mikrofotogrāfija 900°C iegūtais β -TCP biokeramikas paraugs sastāv no homogēniem, sfērveidīgiem ~ 150-200 nm lieliem graudiem. Paaugstinot temperatūru līdz 1100°C, FE-SEM mikrofotogrāfijā novērojama intensīva graudu augšana, bet paaugstinot līdz 1200°C - mikrostruktūra ar heterogēna izmēra pilnībā saaugušiem graudiem. β -TCP

biokeramikas mikrostruktūra 1300°C ir blīva, gandrīz pilnīgi izzudušas graudu robežvirsmas, nav novērojamas slēgtās vai vaļējās poras, kā arī plaisas.



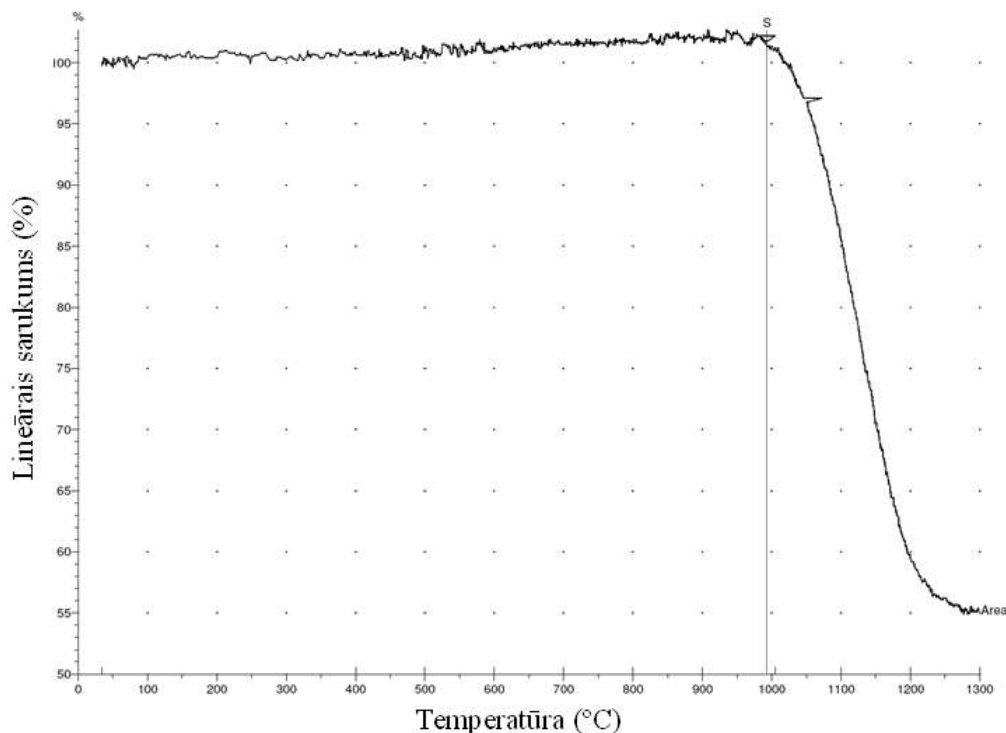
3.1.13. att. Sintezētā ap-TCP vispārējā morfoloģija pēc žāvēšanas 105°C ~20 h un β-TCP biokeramikas lūzuma mikrostruktūra pēc termiskās apstrādes 700-1300°C 1 h

Pilnīgākam eksperimentāli iegūtās β -TCP biokeramikas mikrostrukturās raksturojumam noteikts sarukums, atvērtā un kopējā porainība salīdzinājumā ar izstrādāto HAp biokeramikas (B4) mikrostruktūru (3.1.14. att.). Izvērtējot iegūtos mikrostruktūru raksturojošos datus, secināts, ka lielāks sarukums ir β -TCP biokeramikai, kas liecina par saķepšanas sākumu zemākā temperatūrā nekā HAp. Šie rezultāti pilnībā korelē ar HAp biokeramikas gandrīz 2 reizes lielāku mikroporainību, kas saglabājas saķepšanas procesa sākumstadijā.



3.1.14. att. β -TCP biokeramikas mikrostrukturās raksturojums salīdzinājumā ar HAp biokeramiku 1100°C 1 h

FE-SEM β -TCP biokeramikas mikrostrukturās izmaiņas termiskās apstrādes ietekmē korelē ar β -TCP saķepšanas procesa pētījumiem, izmantojot augsttemperatūras analīzi (3.1.15. att.). Pirms dilatometriskās raksturlīknes uzņemšanas, sintezētais ap-TCP pulveris termiski apstrādāts 900°C 1 h, lai to pārvērstu β -TCP. Saķepšanas process sākas ~ 780°C. Maksimālais sablīvēšanās (sarukšanas) ātrums ir starp 950 un 1000°C. Jāatzīmē, ka salīdzinot ar HAp, β -TCP sablīvējas zemākā temperatūrā (HAp max sarukuma ātrums ir 1100°C) [128]. Raksturlīknes beigu posmā starp 1200-1300°C nav novērojams izteikts maksimums, kas liecinātu par β -TCP \rightarrow α -TCP pārvērtību, tādējādi ierosinot lineāru izplešanos blīvumu nesakritības dēļ (3.08 - β -TCP, 2.89 - α -TCP) . Šis fakts korelē ar XRD un DTA analīzēs iegūtajiem datiem (3.1.11., 3.1.12. att.).



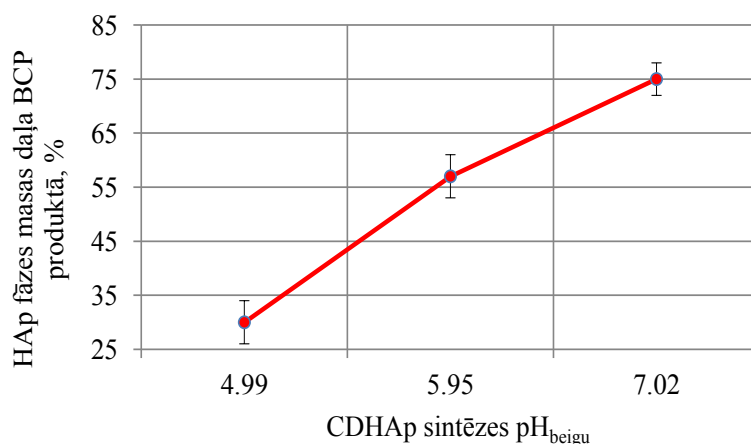
3.1.15. att. Termiski apstrādāta 900°C 1h ap-TCP dilatometriskā raksturlīkne

3.1.3. Divfāžu kalcija fosfātu biokeramikas izstrāde un raksturojums

Analizējot literatūras datus par BCP biokeramikas *in vivo* pētījumiem, kā arī iepazīstoties ar komerciāli pieejamo BCP produktu klāstu, turpmākai materiālu pētniecībai un raksturojumam izvēlēti 3 dažādi iegūtie BCP produkti B1, B2, B3 ar HAp/ β -TCP attiecībām, kas pēc vērtības ir tuvas visplašāk izmantotājām attiecībām komerciālajos BCP produktos: 75/25, 60/40, 30/70. Klīniskajos pētījumos BCP ar HAp/ β -TCP = 75/25 uzrāda labus rezultātus ķirurģiski izveidoto periodontālo defektu labošanā, savukārt BCP ar HAp/ β -TCP = 30/70 ir viena no atbilstošākajām kombinācijām, kas stimulē jaunu kaulaudu veidošanos [44, 46].

Sintēzes tehnoloģiskie parametri pH_{beigu} un T_s (pie pārējiem const parametriem) nosaka CDHAp produkta veidošanos pēc sintēzes un HAp vai β -TCP fāzes veidošanos pārākumā pēc termiskās apstrādes. Izvērtējot šo parametru ietekmi uz reproducējamu HAp un β -TCP fāžu attiecību iegūšanu BCP produktā, const T_s nodrošina procesa atkārtojamību. Temperatūras režīms sintēzes procesa laikā ir const un to var uzturēt ar temperatūras sensoru (precizitāte $\pm 1^\circ\text{C}$), līdz ar to katru sintēzi var veikt ar precīzu un atkārtojamu temperatūras vērtību. Eksperimentāli konstatēts, ka

otrs nozīmīgākais parametrs pH_{beigu} , kura vērtība nobīdās vienas iedaļas robežās ± 1 , izmaina iegūtā BCP produktā esošo HAp vai β -TCP fāzes saturu ~ 20 masas daļas (%) robežās (3.1.16. att.). Sintēzes beigu pH robežvērtības CDHAp fāzes iegūšanai: $4.97 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 7.08$, $T_S = 45 \pm 1^\circ\text{C}^*$ vai $5.00 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 6.87$, $T_S = 70 \pm 1^\circ\text{C} \downarrow$ vai $6.95 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 9.01$, $T_S = 22 \pm 1^\circ\text{C}$.



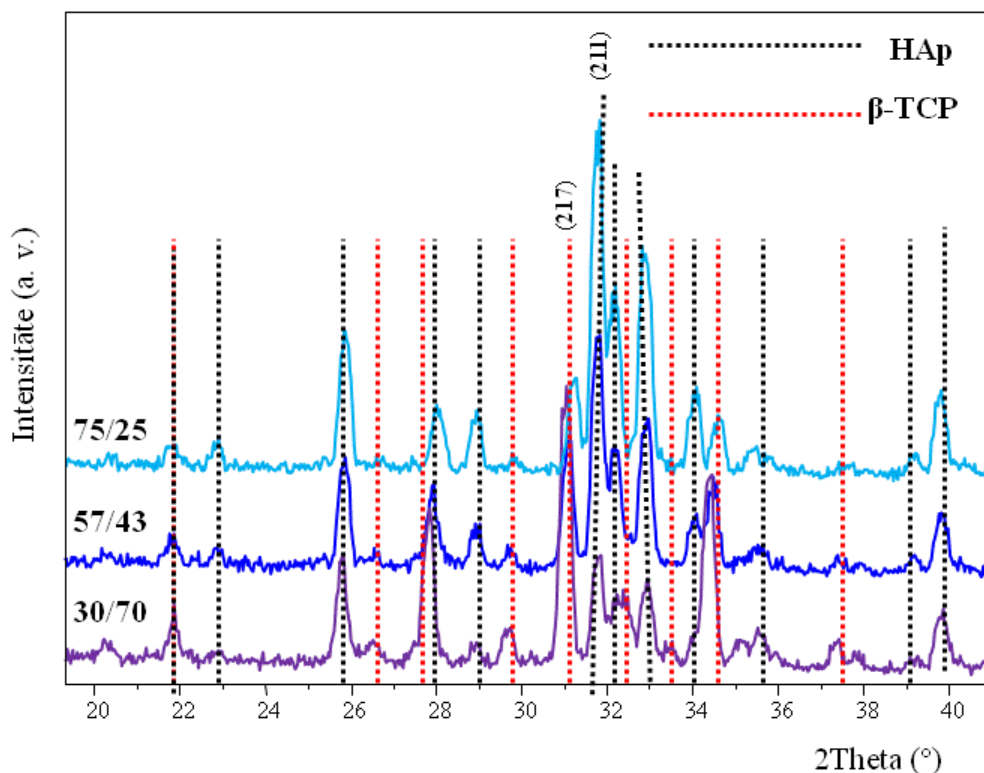
3.1.16. att. HAp fāzes masas daļas (%) BCP produktos 1100°C 1 h atkarība no sintēzes pH_{beigu} vērtības

Konvencionāli BCP produktu ar vēlamu HAp/ β -TCP attiecību iegūšanai izmanto metodi, kuras pamatā ir precīza sākotnējo reaģentu šķīdumu Ca/P molārās attiecības kontrole sintēzes laikā atbilstoši vēlamajai CaP produkta stehiometriskai attiecībai. Jāatzīmē, ka ar šo metodi iegūto BCP produktu reproducēšanas iespēja ir zema precīzas molārās attiecības kontroles dēļ [45].

3.1.3.1. Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte

Sintezēto B1, B2, B3 produktu XRD ainas pilnībā atbilst apatīta fāzei, kurai raksturīgs triplets vai plata, intensīva difrakcijas josla diapazonā no 31.7° - 33° 2θ un viens maksimums pie 25.7° 2θ (3.1.1. att.). Pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C XRD ainās iezīmējas BCP produkti ar atšķirīgu HAp un β -TCP fāžu attiecību (3.1.2. tab., 3.1.4. att., 3.1.8. att.). BCP produktu fāžu sastāvs ir atkarīgs no kalcija deficīta pakāpes katrā no CDHAp, t. i., no Ca/P molārās attiecības. Jo zemāka Ca/P attiecība, jo mazāks HAp fāzes saturs produktā. Izvērtējot BCP produktu XRD difrakcijas ainas pēc termiskās apstrādes 1300°C 1 h, BCP produktā B1 detektēta α -TCP fāze (intensīvākie maksimumi pie 24.1° un 30.73° 2θ), kas liecina par daļēju β -TCP \rightarrow α -

TCP transformāciju (3.1.17. att.). Salīdzinot BCP produktu XRD difrakcijas ainas 1100°C un 1300°C, būtiskas HAp vai β -TCP maksimumu intensitāšu izmaiņas nav novērojamas, kas liecina par nemainīgu HAp un β -TCP fāžu attiecību paraugos.

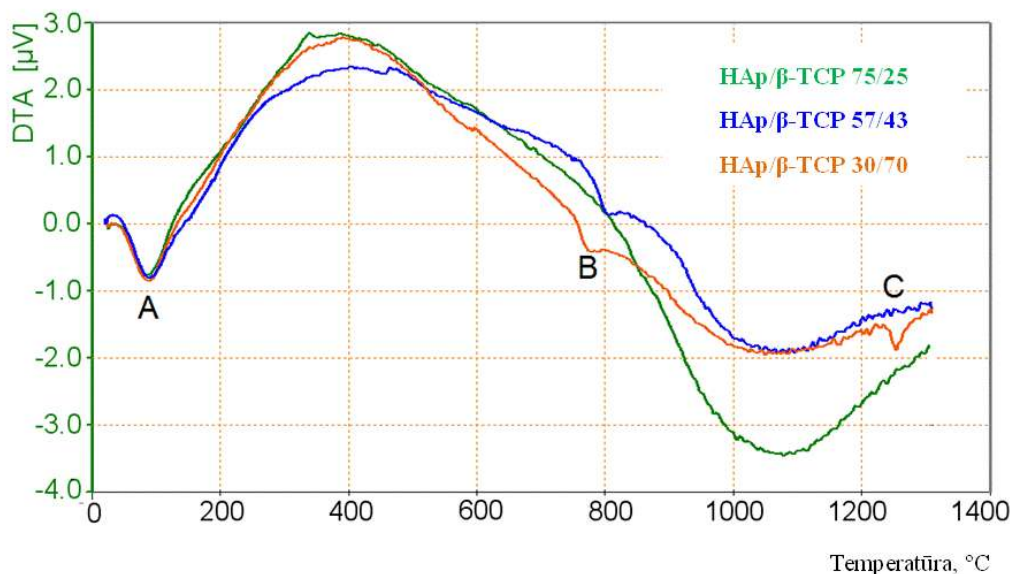


3.1.17. att. BCP produktu XRD difraktogrammas pēc augsttemperatūras apstrādes 1300°C 1 h

BCP produktu XRD difrakcijas ainas pēc termiskās apstrādes 1300°C korelē ar BCP produktu DTA raksturlīknēm un norāda uz katra BCP produkta termisko stabilitāti (3.1.18. att.). Eksperimentāli iegūtām DTA raksturlīknēm ir līdzīgs raksturs, kas iezīmējas ar sekojošiem endotermiskiem un eksotermiskiem efektiem:

- A (50-150°C) – fizikāli adsorbētā H₂O un CO₂ aizvadīšana;
- B (750-830°C) – CDHAp sadalīšanās par HAp un β -TCP maisījumu;
- C (1230-1290°C) – β -TCP → α -TCP transformācija (BCP 34/66).

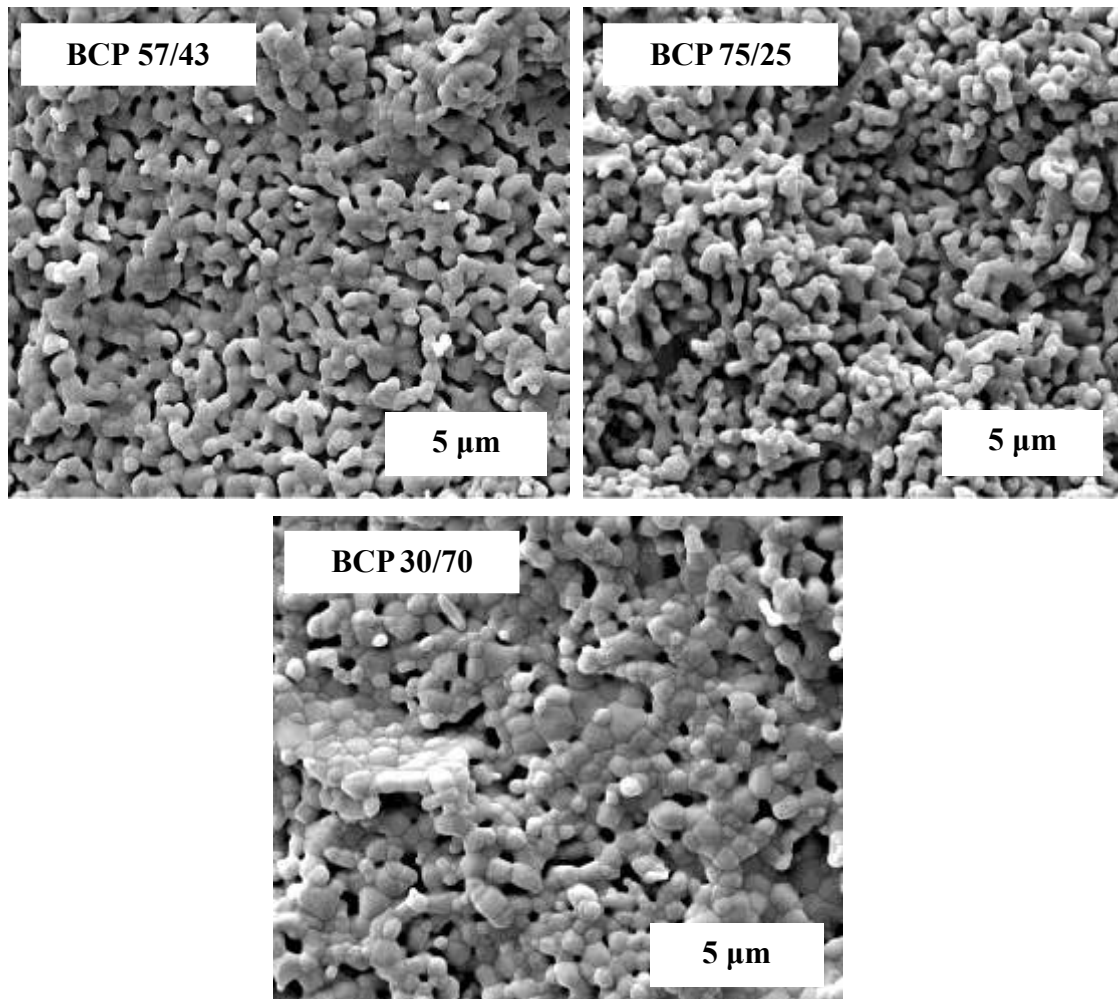
Eksotermiskais efekts 320-360°C norāda uz (HPO₄²⁻) jonu kondensāciju par (P₂O₇²⁻) joniem un otrs eksotermiskais efekts 470-530°C – (P₂O₇²⁻) jonu transformācija par (PO₄³⁻) joniem.



3.1.18. att. BCP produktu B3 (75/25), B2 (57/43), B3 (30/70) DTA raksturlīknes

3.1.3.2. Morfoloģijas un mikrostruktūras, saķepšanas procesa pētījumi

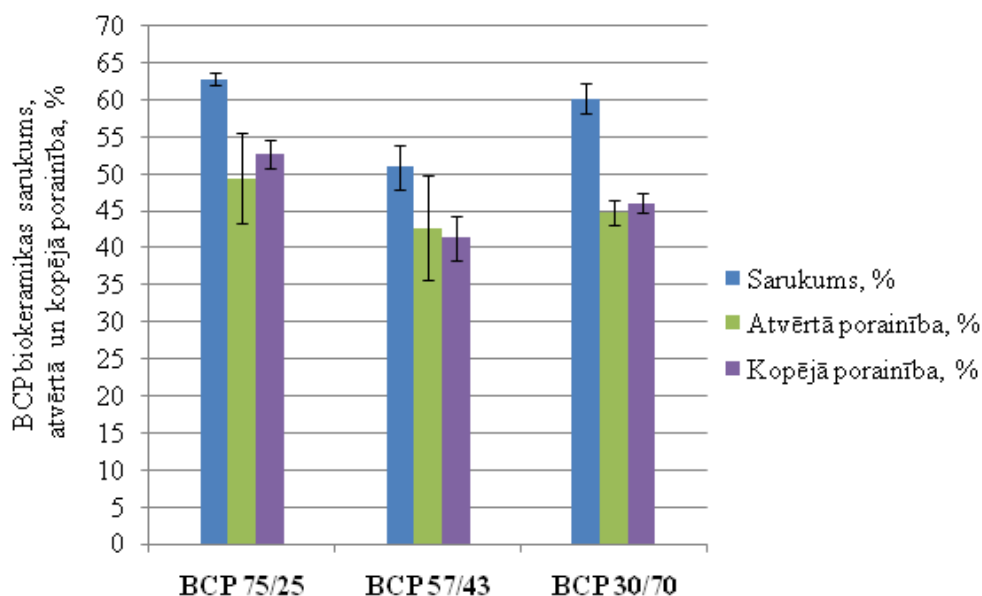
Sintezētu CDHAp suspensiju FE-SEM mikrofotogrāfijas uzrāda adatveida kristalītu morfoloģiju, kas raksturīga arī sintezētai HAp un ap-TCP suspensijai (3.1.16. att., 3.2.6. att.). Izvērtējot eksperimentāli iegūtās FE-SEM mikrofotogrāfijas, konstatēts, ka visu produktu mikrostruktūrām raksturīga augsta mikroporainība ar daļēji saķepušu graudu struktūru (3.1.19. att.). BCP 75/25 biokeramikai konstatēta vismazāk sablīvēta struktūra ar neregulāras formas graudiem. BCP 30/70 mikrostruktūrai raksturīgi heterogēna izmēra graudi, kā arī intensīva, bet nepilnīga graudu sablīvēšanās. Secināts, ka BCP biokeramika ar β -TCP kā dominējošo fāzi, saķepšanas process ir sācies zemākā temperatūrā nekā BCP biokeramikai ar pārākumā esošo HAp fāzi (BCP 75/25). Šie dati saskan ar β -TCP un HAp materiālu saķepšanas procesa pētījumiem, izmantojot ATM raksturlīknes - β -TCP sablīvēšanās sākas zemākā temperatūrā, HAp - augstākā (3.1.2.3. nod.).



3.1.19. att. BCP (HAp/ β -TCP) biokeramikas B2 (57/43), B3 (75/25), B1 (30/70) lūzuma FE-SEM mikrofotogrāfijas pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h

Pilnīgākam eksperimentāli iegūtās BCP biokeramikas mikrostrukturā raksturojumam, aprēķināts sarukums, atvērtā un kopējā porainība (3.1.20. att.). Izvērtējot BCP produktu atvērto un kopējo porainību (mikroporainība, poru $\varnothing < 10 \mu\text{m}$), secināts, ka FE-SEM mikrostrukturā pilnībā korelē ar FE-SEM un ATM datiem. BCP biokeramikai ar pārākumā esošo HAp fāzi kopējā un atvērtā porainība ir augstāka. BCP biokeramikas paraugiem novērojama kopēja saistība starp sarukumu un porainības raksturlielumiem – lielāks sarukums raksturīgs BCP produktam ar augstāku mikroporainību (BCP 75/25). Zema mikroporainība un zems īpatnējais virsmas laukums var būtiski pazemināt BCP biokeramikas bioaktivitāti un šķīdības īpašības. Lai nodrošinātu optimālu BCP iedarbību *in vitro* un *in vivo*, mikroporainībai jābūt vismaz 20% [7]. Tomēr jāatzīmē, ka mikroporainību lielā mērā var regulēt ne tikai ar kristalītu izmēru un termiskās apstrādes režīmu (temperatūra, izturēšanas

laiks), bet daļēji arī ar zaļķermeņa presēšanas režīmu (presēšanas spēks, izturēšanas laiks).



3.1.20. att. BCP (HAp/ β -TCP) biokeramikas produktu sarukums, atvērtā un kopējā porainība (%) 1100°C 1 h

Iegūto BCP biokeramikas paraugu augstā mikroporainība daļēji saistīta ar mazu presēšanas spēku - 2 kN. Paaugstinot presēšanas spēku līdz ~ 20 kN, BCP biokeramikas mikroporainība var strauji samazināties, iespējams 3-25% robežās [7].

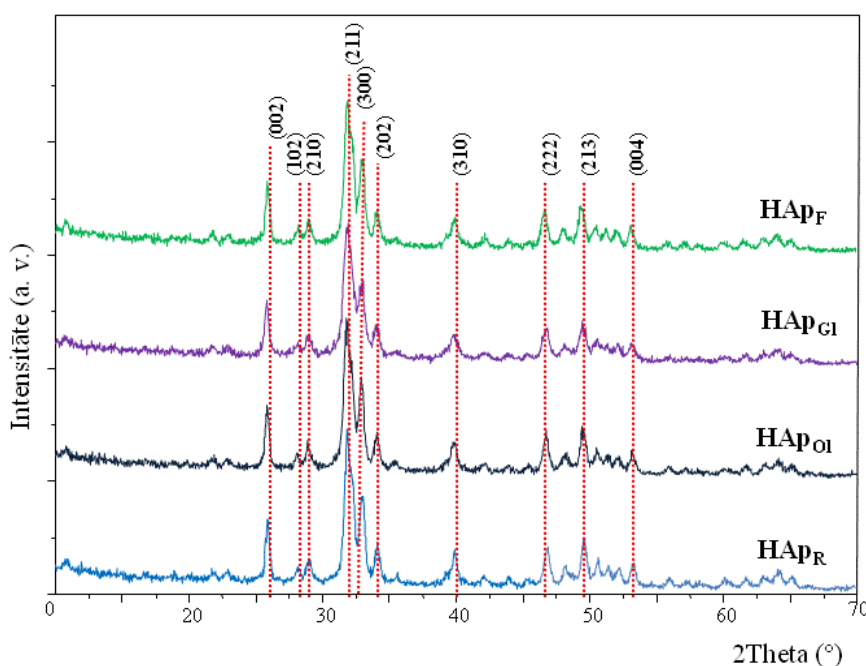
3.2. Hidroksilapatīta biokeramikas izstrāde no dažādas izcelsmes kalcija oksīdu izejmateriāliem

Eksperimentālā darba ietvaros veikta B4 produkta sintēze, izmantojot 4 veida CaO saturošus izejmateriālus, iegūti 4 produkti: HAp_R, HAp_F, HAp_{Ol}, HAp_{Gl} (2.1.4.2. nod.). Sintēzes beigu pH robežvērtības HAp fāzes iegūšanai: $8.83 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 9.05$, $T_s = 45 \pm 1^\circ\text{C}^*$.

3.2.1. Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte

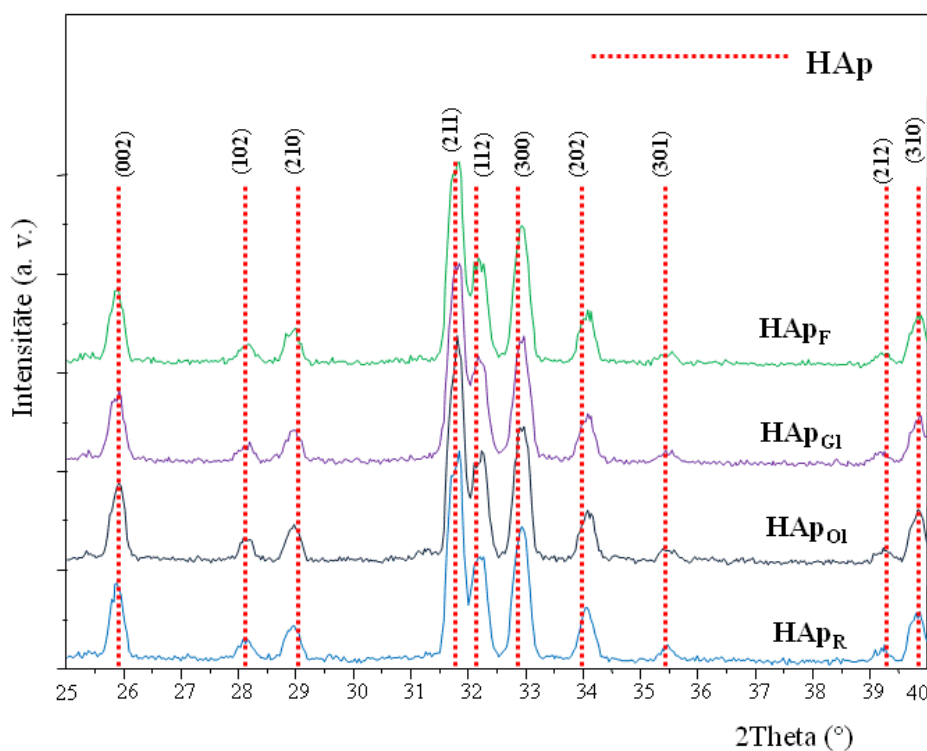
Sintezēto HAp pulveru XRD difraktogrammās konstatētas apatīta struktūrai raksturīgas rentgenstaru difrakcijas ainas ar relatīvi platiem un zemas intensitātes rentgenstaru difrakcijas maksimumiem, kas norāda uz fāzes sīkkristālisku stāvokli un zemu kristāliskuma pakāpi (3.2.1. att.). Galvenie raksturīgie rentgenstaru difrakcijas maksimumi atbilst HAp fāzei, kas atzīmēti ar attiecīgiem Millera indeksiem [52, 86,

95, 96, 113, 119, 120, 122]. Rentgenstaru difrakcijas maksimumi pie $25.9^\circ 2\theta$ (002) un $31.8^\circ 2\theta$ (211) ir relatīvi intensīvāki un smailāki par pārējiem maksimumiem. Šie novērojumi korelē ar literatūras datiem par kristalītu augšanu c ass virzienā heksagonālajā HAp struktūrā [86, 132]. Blakus fāžu (β -TCP, α -TCP, TTCP, CaO) eksistenci sintezētajos paraugos ir iespējams konstatēt tikai pēc termiskās apstrādes virs 700°C .



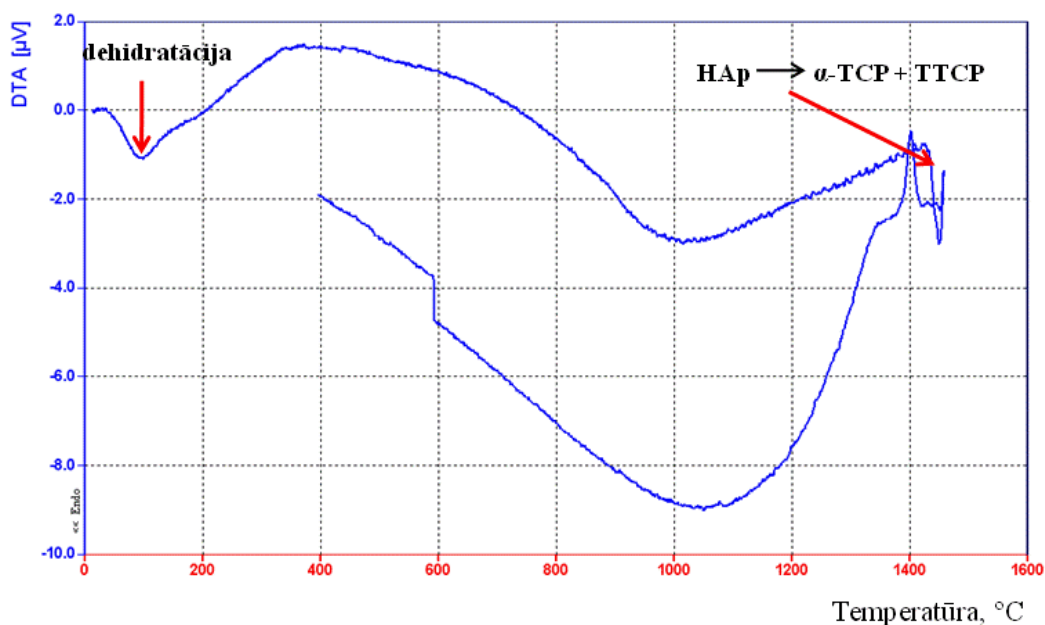
3.2.1. att. Sintezēto HAp produktu XRD difraktogrammas pēc žāvēšanas $105^\circ\text{C} \sim 20$ h

Pēc sintezēto HAp produktu augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h, biokeramikas paraugu rentgendifrakcijas ainās novērojami intensīvi un smaili difrakcijas maksimumi diapazonā no 25° - $40^\circ 2\theta$ - apgabals, kurā atrodas intensīvākie HAp fāzes rentgenstaru difrakcijas maksimumi (002), (211), (112), (300), (202) (3.2.2. att.) [103]. Visi difrakcijas maksimumi pilnībā atbilst rentģentīrai kristāliskai HAp fāzei. HAp fāzes transformācija nav novērojama līdz pat 1350°C . β -TCP, CaO, TTCP, β -CPP, kā arī α -TCP fāžu rentgendifrakcijas maksimumi, kas liecinātu par HAp fāzes termisko sadalīšanos augsttemperatūras apstrādes ietekmē [133, 134], HAp biokeramikas rentgendifrakcijas ainās pie 1100°C un 1350°C nav novērojami. Iegūtie XRD dati liecina par visu iegūto HAp biokeramikas paraugu relatīvi augstu termisko stabilitāti.



3.2.2. att. No dažādiem CaO iegūtās HAp biokeramikas XRD difraktogrammas pēc apdedzināšanas 1100°C 1 h

Termiskās stabilitātes pētījumos ar DTA, visu HAp produktu raksturlīknēs iezīmējamas līdzīgi siltumefekti (3.2.3. att.). Pirmais endotermiskais efekts 50-150°C saistīts ar fizikāli adsorbētā H₂O un CO₂ aizvadīšanu, otrais nozīmīgākais endotermiskais efekts ~ 1450°C norāda uz HAp sadalīšanos par α -TCP un TTCP.



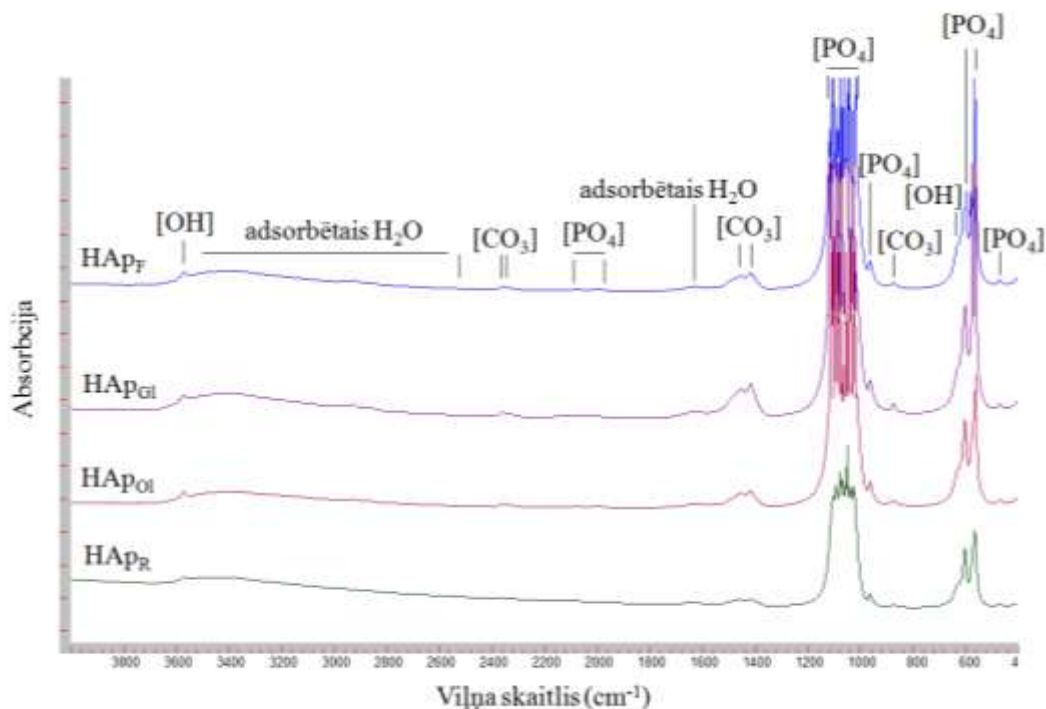
3.2.3. att. Sintezēta HAp DTA raksturlīkne

Iegūtie dati norāda, ka sintezētie HAp produkti gaisa atmosfērā ir stabili līdz pat $\sim 1450^{\circ}\text{C}$. Relatīvi augsta termiskā stabilitāte liecina par HAp materiāla stehiometriju, t. i., Ca/P molāro attiecību tuvu 1.67 [133, 134], kā arī intensīvāku saķepšanu [135].

Pēc literatūras datiem, HAp termiskā sadalīšanās ir novērojama jau pie 1050°C , 1200°C [73], 1350°C [134], vai pat 1450°C .

3.2.2. Molekulārās struktūras analīze

Sintezēto un termiski apstrādāto HAp pulveru molekulārās struktūras analīze veikta ar Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopiju (FT-IR). Sintezētie pulveru FT-IR spektri attēlo HAp fāzei raksturīgās ķīmisko funkcionālo grupu absorbcijas joslas, kā arī dažādu piemaisījumu absorbcijas joslas, kas izzūd pēc augsttemperatūras apstrādes (3.2.4. att.).



3.2.4. att. No dažādiem CaO sintezēto HAp produktu FT-IR spektri pēc žāvēšanas pie $105^{\circ}\text{C} \sim 20$

HAp fāzei raksturīgo ķīmisko funkcionālo grupu absorbcijas joslas:

- a) absorbcijas maksimumi pie 3570 cm^{-1} un 628 cm^{-1} , kurus rada ar ūdeņradi nesaistītas O-H valentās svārstības, ir attiecināmi uz strukturālās [OH] grupas (O-H) valento (*stretching*) un svārstību (*librational*) modām uz HAp kristalītu virsmas vai kristalītos [46, 52, 92, 95, 122, 129, 136];

b) par tetraedrālai apatīta struktūrai raksturīgo $[\text{PO}_4]$ grupu klātbūtni paraugos liecina absorbcijas maksimums pie 472 cm^{-1} , kas raksturīgs $[\text{PO}_4]v_2$ grupas (v_2 O-P-O) deformāciju (*bending*) svārstībām [92, 136]; divkāršs maksimums pie 570 cm^{-1} un 602 cm^{-1} ar augstu izšķirtspēju attiecināms uz $[\text{PO}_4]v_4$ grupas (v_4 O-P-O) asimetriskajām un simetriskajām deformāciju modām [95, 99, 137]; absorbcijas maksimums pie 963 cm^{-1} atbilst $[\text{PO}_4]v_1$ grupas (v_1 P-O) simetriskai valentai modai [99]; intensīva absorbcijas josla intervālā no $1040\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ atbilst $[\text{PO}_4]v_3$ grupas (v_3 P-O) raksturīgo maksimumu pie 1040 cm^{-1} un 1090 cm^{-1} antisimetriskai valentai modai, kurus kā izteiktus maksimumus visticamāk varēs novērot pēc paraugu augsttemperatūras apstrādes [46, 52, 92, 95, 99, 122, 129, 136, 137];

c) vājas intensitātes absorbcijas josla intervālā no $1950\text{-}2100\text{ cm}^{-1}$ ir saistīta ar $[\text{PO}_4]v_3$, v_1 modu kombinācijām. Šie funkcionālo grupu absorbcijas joslu novietojumi skaidri norāda uz tipiskas HAp struktūras izveidošanos sintezētajos paraugos [92]. Smaili absorbcijas maksimumi pie 602 cm^{-1} un 570 cm^{-1} norāda uz HAp, kas ir kristāliskā stāvoklī ar relatīvi augstu kristāliskuma pakāpi [136].

Vāji absorbcijas maksimumi pie 2365 cm^{-1} un 2344 cm^{-1} radušies atmosfēras CO_2 piesaistes rezultātā [92].

$[\text{CO}_3]v_4$, v_1 modu absorbcijas joslas netika novērotas, jo tām ir vēl zemāka intensitāte.

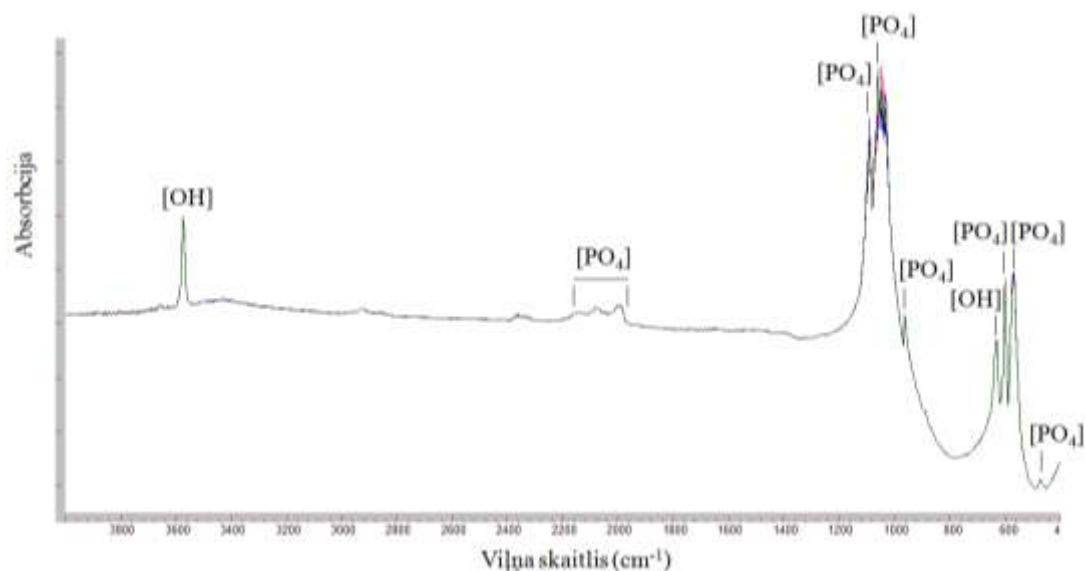
Vājas intensitātes absorbcijas joslas, kas centrētas pie 1418 cm^{-1} un 1458 cm^{-1} atbilst $[\text{CO}_3]v_3$ grupas (C-O) asimetriskajām un simetriskajām valentajām modām [92, 99, 136, 137]. Absorbcijas maksimums pie $\sim 870\text{ cm}^{-1}$ var liecināt par $[\text{CO}_3]v_2$ valentās modas klātbūtni (pie $\sim 872\text{ cm}^{-1}$ [29, 99]), kura intensitāte ir aptuveni 1/5 daļa no $[\text{CO}_3]v_3$, vai arī par $[\text{HPO}_4]$ grupas absorbcijas maksimumu. Ņemot vērā, ka $[\text{HPO}_4]$ grupas absorbcijas maksimums daļēji nosedz $[\text{CO}_3]v_2$, sarežģīti detektēt, kuras grupas maksimums tas ir [91]. Par $[\text{HPO}_4]$ grupas klātbūtni sintezētajos HAp paraugos liecina absorbcijas joslas pie 1210 cm^{-1} un 1130 cm^{-1} un izteikts maksimums pie 879 cm^{-1} [124]. Sintezēto HAp FT-IR spektros šīs absorbcijas joslas netika novērotas. $[\text{CO}_3]$ grupu klātbūtni var identificēt ar izteikti redzamu absorbcijas joslu intervālā no $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ un absorbcijas maksimumu pie 875 cm^{-1} [92], kuras ir novērojamas arī sintezēto paraugu spektros. Šo absorbcijas maksimumu klātbūtne

liecina par atmosfēras CO₂ šķīšanu sintēzes suspensijā, ja sintēze notiek bāziskā vidē [41, 124-126].

Absorbcijas joslu kombinācija - [CO₃]_{v3} grupas absorbcijas joslas pie 1418 cm⁻¹ un 1458 cm⁻¹, kā arī pie 875 cm⁻¹, norāda uz „B-tipa” [PO₄] grupu aizvietošanu ar [CO₃] grupām HAp kristālrežģī [29, 90, 92]. [CO₃] grupas absorbcijas maksimums pie 875 cm⁻¹ var liecināt arī par „AB-tipa” ([PO₄] un [OH] grupu) aizvietošanu HAp struktūrā [5], kā arī vāja absorbcijas josla pie 3571 cm⁻¹ sintezētajos HAp paraugos var norādīt uz „AB-tipa” aizvietošanu [29]. Absorbcijas joslas pie 880 cm⁻¹, 1455 cm⁻¹ un ~ 1540 cm⁻¹, kas norāda uz „A-tipa” [OH] grupu aizvietošanu ar [CO₃] grupām HAp kristālrežģī, nav novērojamas [29, 136].

Plata absorbcijas josla intervālā no ~3600 cm⁻¹ līdz pat 2500 cm⁻¹ norāda uz ν_3 un ν_1 ar ūdeņradi saistītu H₂O molekulu valentajām modām un absorbcijas josla pie 1629 cm⁻¹ attiecināma uz H₂O_{v2} molekulu deformāciju modu [30, 92, 136], kas liecina par fizikāli adsorbētā ūdens klātbūtni sintezētajos paraugos [92].

Pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C HAp paraugu FTIR spektri ievērojami atšķiras no sintezēto HAp spektriem. Visas absorbcijas joslas, kas saistītas ar [CO₃] grupām un adsorbēto ūdeni pilnībā izzūd, kā arī ir notikusi funkcionālo [PO₄] grupu pārstrukturēšanās, [OH] un [PO₄] grupu absorbcijas joslu relatīvā intensitāte būtiski paaugstinājusies [91] (3.2.5. att.).



3.2.5.att. No dažādiem CaO iegūtās HAp biokeramikas FT-IR spektri pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h

HAp biokeramikas IS spektru absorbcijas joslas pilnībā pārklājās viena ar otru, norādot, ka visas iegūtās HAp molekulārās struktūras ir līdzīgas. Relatīvi intensīvs [OH] grupas absorbcijas maksimums pie 628 cm^{-1} norāda uz HAp biokeramikas produktu augstu kristāliskuma pakāpi. HAp biokeramikas FT-IR spektros detektētās funkcionālo grupu absorbcijas joslas apkopotas 3.2.1. tabulā.

3.2.1. tabula

HAp biokeramikas funkcionālo grupu FT-IR absorbcijas joslas

Raksturīgās grupas	Absorbcijas joslas (cm^{-1})
	HAp 1100°C
[PO ₄]v ₂	472
[PO ₄]v ₄	602; 572
[PO ₄]v ₁	962
[PO ₄]v ₃	1090; 1043
[PO ₄]v _{3, v1}	1998; 2081
[OH]	631;
[OH]	3573

3.2.3. Ķīmisko mikroelementu analīze

Nozīmīgs apsvērums HAp materiālu ražošanas un apstrādes procesā ir ķīmisko piemaisījumu līmeņa kontrole un šo piemaisījumu samazināšana, tomēr, kā jau iepriekš norādīts literatūras apskatā, piemaisījumu daudzums miljonajās daļās nevarētu būtiski ietekmēt HAp materiāla vispārējo biosaderības reakciju [61], vēl jo vairāk, pēdējo gadu zinātniskie pētījumi vērsti uz ķīmisko elementu, kas nav sastopami dabīgajos kaulaudos vai to koncentrācija nepārsniedz miljonās daļas, iekļaušanu HAp struktūrā, lai veicinātu materiāla specifisku uzvedību vai biosaderību un bioaktivitāti dzīvajā organismā.

Sintezēto un termiski apstrādāto HAp paraugu ķīmisko mikroelementu analīze noteikta ar ICP-MS metodi. Sintezētu un 1100°C apdedzinātu HAp produktu ICP-MS dati salīdzinājumā ar kaula mikroelementu koncentrācijām apkopoti 3.2.2. tabulā.

Izvērtējot ICP-MS datus, noskaidrots, ka HAp produkti atbilst ASTM F 1185-1188, ASTM F 1088-87 standartu prasībām par HAp un β -TCP materiālos

medicīniskam pielietojumam toksisko smago metālu daudzumu: $Cd \leq 5 \text{ mg/kg}$, $Pb \leq 30 \text{ mg/kg}$ [13, 114, 115].

Ķīmisko mikroelementu koncentrācijas sintezētajos HAp produktos korelē ar CaO izejmateriālu ķīmisko mikroelementu sastāvu. Mn koncentrācija izejmateriālā CaO_R ir 12 reizes lielāka kā izejmateriālā CaO_F (2.1.4. tab.), sekojoši arī HAp_R produktā Mn koncentrācija gandrīz 10 reizes pārsniedz HAp_F produktā konstatēto Mn koncentrāciju. Otra lielākā Mn koncentrācija novērojama HAp_{GI} paraugā, kas arī korelē ar CaO ICP-MS datiem (2.1.4. tab.).

3.2.2. tabula

Ķīmisko mikroelementu koncentrācijas HAp pulveros un biokeramikas paraugos salīdzinājumā ar kaula mikroelementu koncentrācijām (mg/kg)

HAp produkts	Mn	Cu	Zn	Sr	Cd ≤ 5 mg/kg	Ba	Pb ≤ 30 mg/kg	
Kaulaudi [av, ab]	0.17	-	39	500	-	129 dentīns	-	
HAp _R	sint.	99.34	19.45	55.61	178.50	0,52	37.36	2.32
	1100°C	100.54	17.43	65.11	161.57	0.21	12.29	1.70
HAp _{OI}	sint.	9.43	22.88	60.08	186.67	0,17	50.07	2.30
	1100°C	2.83	27.04	45.06	181.51	0.29	31.61	-
HAp _{GI}	sint.	29.24	24.79	54.67	185.94	0,51	64.70	1.49
	1100°C	22.41	27.10	50.10	180.39	0.11	46.31	0.17
HAp _F	sint.	10.72	26.78	$\frac{105.7}{3}$	147.04	0.66	36.63	17.11
	1100°C	8.37	26.03	54.93	160.54	0.08	3.51	-

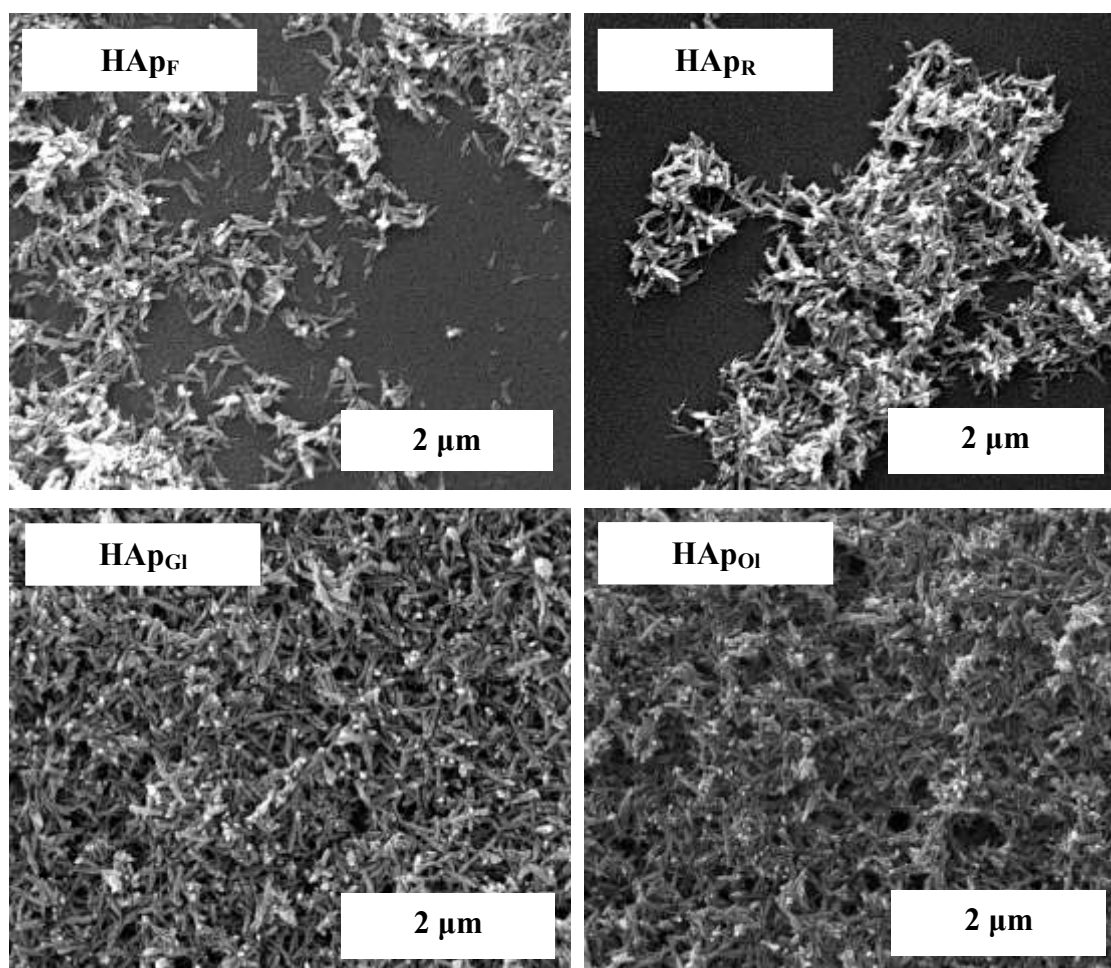
kļūdas robeža $\pm 0.01 \text{ mg/kg}$; - zem metodes noteikšanas robežas

Būtiskas atšķirības novērojamas Zn un Cu koncentrācijām CaO un atbilstošos HAp produktos. Cu un Zn koncentrācijas palielinātas visu sintēžu galaproduktos (Cu: 40-60 reizes; Zn: 2-30 reizes), salīdzinot ar CaO izejmateriālos noteiktajām koncentrācijām. Šo piemaisījumu koncentrāciju pieaugums HAp paraugos varētu būt izskaidrojams ar kontamināciju paraugu sagatavošanas laikā ar ICP-MS. Izvērtējot HAp sintēzes un izstrādes procesa etapus, materiāla kontaminācija šajā posmā ir izslēgta. Sintezēto HAp paraugu noteiktais ķīmisko mikroelementu koncentrācijas

nepārsniedz komerciālajos HAp pulveros konstatēto piemaisījumu daudzumu (1.4.3. tabula).

3.2.4. Morfoloģijas un mikrostruktūras pētījumi

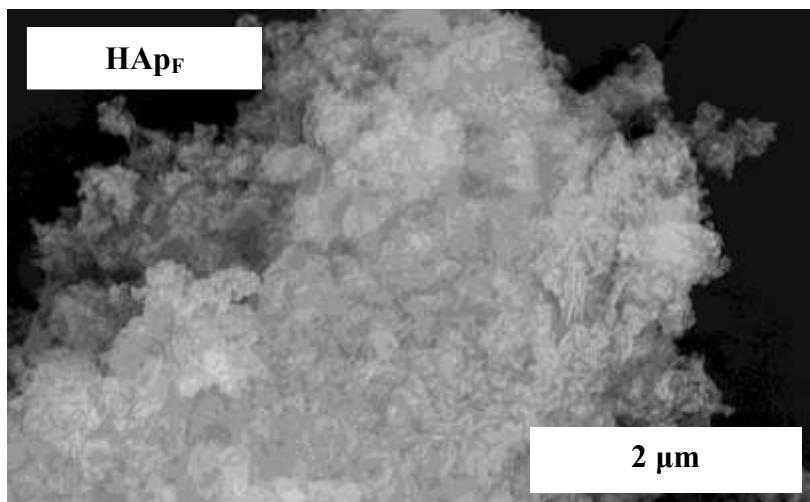
Morfoloģiskiem pētījumiem sintezētie HAp paraugi iegūti suspensijas veidā uzreiz pēc sintēzes suspensijas stabilizācijas 1 h laikā. Sintezēto un izžāvēto HAp suspensiju FE-SEM mikrofotogrāfijas parādītas 3.2.6. att. HAp suspensijas, kas sintezētas no dažādiem CaO, neuzrāda būtiskas morfoloģiskas atšķirības. Visi HAp paraugi uzrāda homogēnu nanoizmēra adatveida kristalītu morfoloģiju tievu, garu (~150-200 nm) kristalītu veidā, kuriem ir tendence aglomerēties primārajos vai sekundārajos aglomerātos, pie tam saglabājot adatveida formu. Salīdzinot FE-SEM morfoloģijas pētījums un kristalītu izmēra aprēķinus, var secināt, ka FE-SEM redzamie adatveida kristāli ir primārie kristalītu aglomerāti.



3.2.6. att. Sintezēto HAp suspensiju vispārējās morfoloģijas FE-SEM mikrofotogrāfijas pēc 1 h stabilizācijas un žāvēšanas 105°C ~ 20 h

Sintezēto un izžāvēto HAp suspensiju morfoloģijas pētījumi pēc ~ 20 h nobriedināšanas laika neuzrādīja būtiskas morfoloģiskas atšķirības, vienīgi kristāli daudz ciešāk saistījušies viens ar otru primāro aglomerātu veidā.

Sintezēto un izžāvēto HAp pulveru (paraugi iegūti no izžāvētām HAp nogulsnēm pēc sintēzes) mikrofotogrāfijas krasi atšķiras no izžāvēto HAp suspensiju mikrofotogrāfijām – izžāvētais pulveris ir izteikti aglomerētā stāvoklī, līdz ar to praktiski ir grūti novērtēt tā kristālu morfoloģiju. Šo parādību var izskaidrot ar flokulācijas procesu, kura rezultātā veidojas mīksti aglomerāti (pēc Rahmana klasifikācijas) – primāro daļiņu vai kristālu klasteri (3.2.7. att.) [83]. Izvērtējot iegūtās mikrofotogrāfijas, konstatēts, ka sintezēto produktu morfoloģijas pētījumiem ar FE-SEM izstrādāta efektīva mikroskopijas paraugu sagatavošanas metode.



3.2.7. att. Sintezēta HAp_F pulvera vispārējās morfoloģijas FE-SEM mikrofotogrāfija pēc ~ 20 h nobriedināšanas un žāvēšanas 105°C ~20 h

Bouyer ar līdzautoriem norādīja [56], ka HAp (iegūts ar identisku metodi) ar adatveida kristālu morfoloģiju veidojas pie zemas sintēzes temperatūras ~ 25°C un paaugstinot sintēzes temperatūru līdz 85°C, veidojas regulāras cirkulāras formas morfoloģija. Šie dati pilnībā neatbilst eksperimentāli iegūtajiem rezultātiem - 45°C veidojas izteikti adatveida kristāli (3.2.6. att.). Pang un Bao konstatēja [74], ka HAp kristāli, kas sintezēti apkārtējā atmosfērā, ir nedaudz tievāki un garāki ar neregulārām, neskaidrām kontūrām un tendenci aglomerēties.

Ir zināms, ka bioloģiskais apatīts cilvēka kaulos eksistē adatveida kristālu formā, kas izklidēti kolagēna matricā [15, 138]. Atbilstoši eksperimentāli iegūtie HAp produkti ar nano izmēra adatveida morfoloģiju varētu būt augstas biosaderības bāzes materiāli specifiskam pielietojumam.

HAp produktiem pēc apdedzināšanas 1100°C 1 h veikta ķīmiskā sastāva analīze, izmantojot FE-SEM/EDS (4.2.3. tab.). Katram HAp produktam veikti 4 paralēlie mērījumi un tabulā attēlotas ķīmisko elementu vidējās vērtības masas %. Iegūtie dati liecina, ka visi HAp biokeramikas paraugi sastāv no galvenajiem elementiem Ca, P, O, kā arī salīdzinoši neliela daudzuma Mg.

3.2.3. tabula

HAp biokeramikas paraugu ķīmisko elementu koncentrācija pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1 h

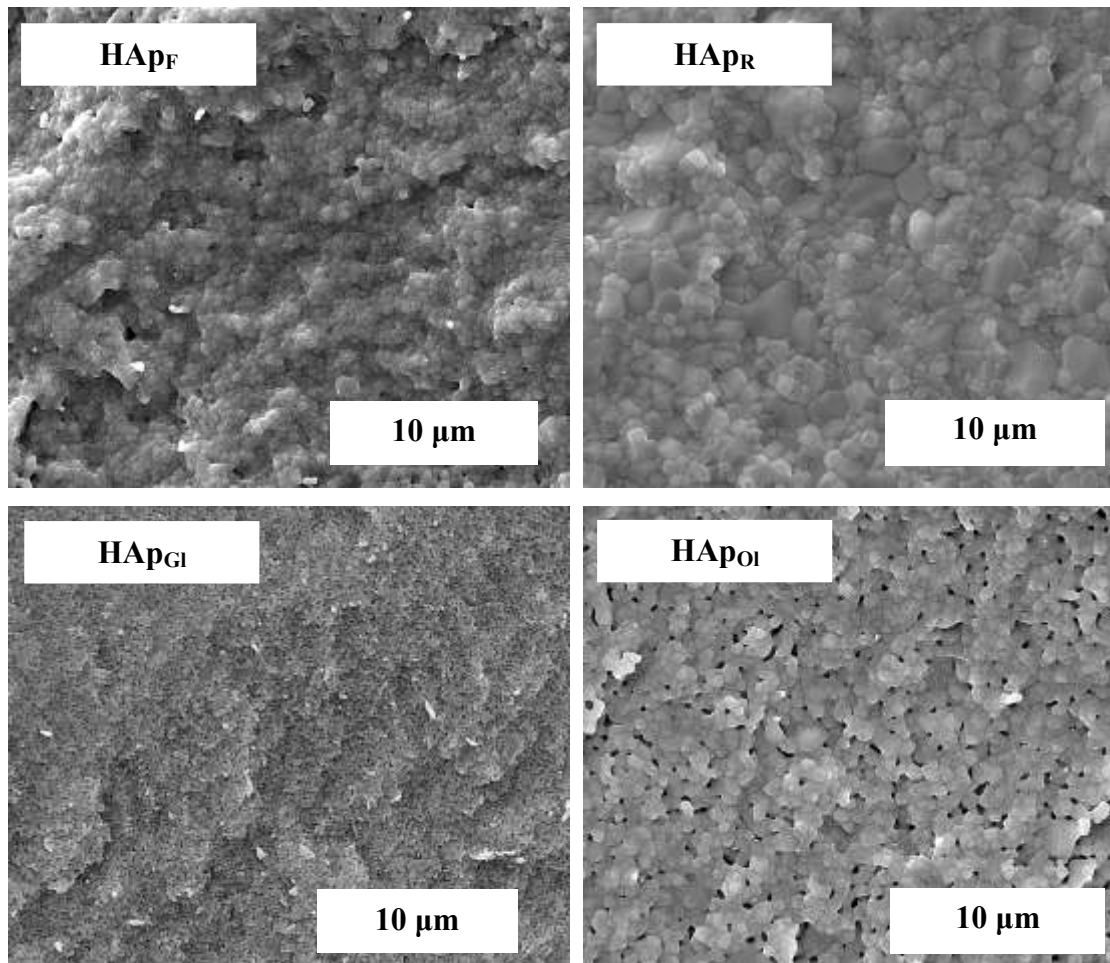
Ķīm. elem.	HAp _F	HAp _{GI}	HAp _{OI}	HAp _R	Kaulaudi
	Masas %	Masas %	Masas %	Masas %	Masas %
O	65.05±1.43	65.60±0.57	65.75±1.54	64.65±1.72	-
Mg	0.27±0.07	0.49±0.04	0.54±0.51	0.43±0.25	0.55
P	14.54±0.49	14.20±0.15	14.21±0.48	14.3±0.68	11.5
Ca	20.14±0.97	19.71±0.51	19.51±0.66	20.61±1.15	24.5

Jāatzīmē, ka EDS ir virsmas analīze, kura var neatspoguļot pilnīgu ķīmisko elementu spektru paraugā. Pie tam ICP-MS ir vismaz 1000 reizes precīzāka metode par FE-SEM/EDS. Ar ICP-MS metodi parasti var identificēt elementus, kuriem ir spektrāla pārklāšanās FE-SEM/EDS analīzē [139]. Ja salīdzina HAp biokeramikas ķīmisko elementu analīzi ar ICP-MS un FE-SEM/EDS, Mg daudzums HAp biokeramikas produktos ir 2700-5400 ppm robežās, kamēr Mn daudzums ir 2.83.-100.54 ppm robežās.

Izvērtējot Ca/P attiecību katrā no HAp produktiem, konstatēts, ka noteiktās Ca un P masas % attiecības, respektīvi, HAp_F - 1.39, HAp_{GI} - 1.39, HAp_{OI} - 1.37, HAp_R - 1.44, neatbilst teorētiskai stehiometriskajai HAp attiecībai 1.67. Ņemot vērā faktu, ka SEM/EDS nav precīza metode elementu koncentrācijas noteikšanai, kā arī iepriekš veiktie eksperimenti norāda, ka šos mērījumus būtiski ietekmē uz analizējamā parauga uzklātā elektronvadošā pārklājuma daba (sudraba, zelta vai oglekļa) un iespējamā brīvā lādiņa uzkrāšanās uz parauga virsmas, secināts, ka ar sudrabu pārklātie HAp paraugi SEM/EDS elementanalīzē uzrāda elementu koncentrācijas ar relatīvi lielu standartnovirzi, līdz ar to paaugstinot kļūdas robežu. Iespējams, nepieciešams izmantot oglekļa elektronvadošo pārklājumu precīzai elementanalīzes veikšanai. Šie

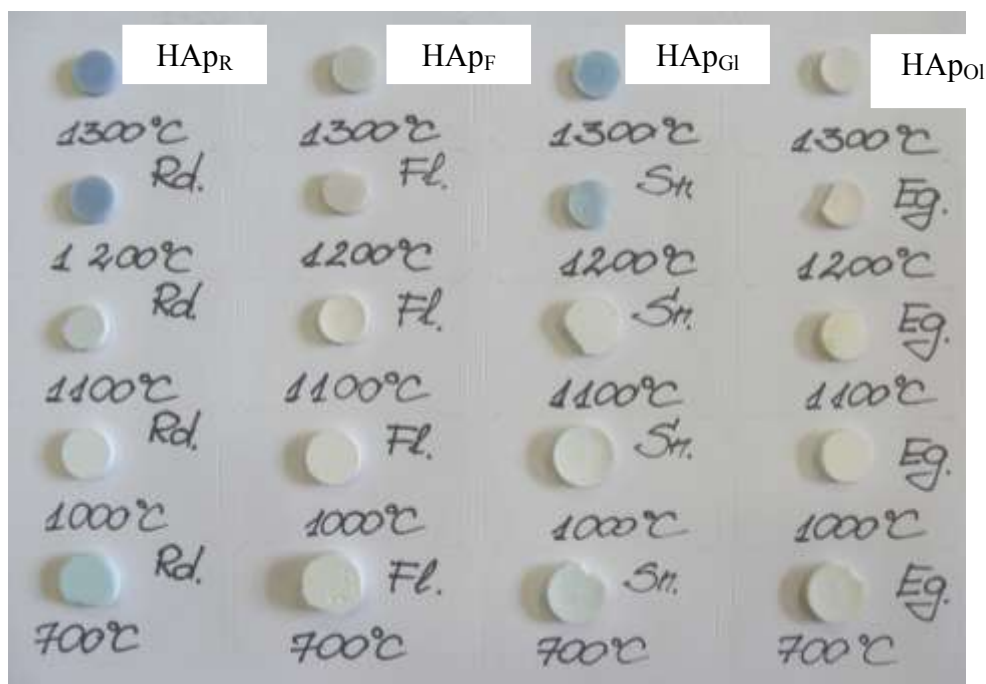
dati ir pilnībā neatbilstīgi XRD un DTA pētījumiem, kuros HAp produkti uzrāda augstu termisko stabilitāti un secīgi stehiometriju (Ca/P molārā attiecība ~ 1.67) (3.2.1. nod.).

Pārskatot sintezēto un augsttemperatūrā apstrādāto HAp produktu galvenos raksturojošos parametrus: fāžu struktūru, morfoloģiju, funkcionālo grupu saturu un ķīmisko elementu sastāvu – XRD dati liecina par rentģentīras, termiski stabilas $\sim 1450^{\circ}\text{C}$ HAp fāzes iegūšanu katrā no produktiem. Tomēr HAp biokeramikai, kas iegūta no dažādiem CaO izejmateriāliem, novērojamas būtiskas atšķirības tās mikrostruktūrā (3.2.7. att.), kā arī krāsas izmaiņas pēc termiskās apstrādes (3.2.8. att.). HAp biokeramikas paraugu mikrostruktūras attēlotas 3.2.8. att. FE-SEM mikrofotogrāfijās. Mikroporaina (poru $\varnothing < 10\ \mu\text{m}$ [7]) struktūra ar izteikti smalkiem, homogēniem sfēriskas formas ($\sim 100\text{-}150\ \text{nm}$) graudiem novērojama HAp_{GI} biokeramikai. HAp_{OI} biokeramikas mikrostruktūrai raksturīgi daudz lielāki graudi, kas tikai daļēji saistījušies viens ar otru – novērojama mikroporaina ar caurejošām porām struktūra un dažāda izmēra graudiem un porām, kas norāda uz daļēju saķepšanas procesu. Heterogēna, blīva mikrostruktūra ar cieši saistītiem neregulāras formas un lieluma graudiem ($\sim 500\ \text{nm} - 5\ \mu\text{m}$) novērojama HAp_R biokeramikai. HAp_F biokeramikai raksturīga salīdzinoši homogēna un blīva, smalkgraudaina mikrostruktūra ar cieši saistītiem graudiem ($\sim 250\text{-}300\ \text{nm}$). Izteikti mikroporainas struktūras ir novērojamas no biogēniem izejmateriāliem iegūtai biokeramikai - HAp_{GI}, HAp_{OI}. Salīdzinot HAp produktu mikrostruktūras, secināts, ka saķepšanas process ātrāk sācies HAp_R biokeramikai (ar heterogēnu graudu augšanu), kā arī HAp_F biokeramikai. Smalki graudi un mikroporas nodrošina lielu virsmas laukumu, kas savukārt uzlabo materiāla bioaktivitāti [7]. Ir pamats uzskatīt, ka katra no dažādiem CaO izejmateriāliem iegūtajām HAp biokeramikām varētu atšķirīgi uzvesties *in vitro* un *in vivo* pētījumos, jo CaP biokeramikas bioaktivitāti lielā mērā ietekmē ne tikai virsmas ķīmija, bet arī virsmas mikrostruktūra un mikroporainība un/vai makroporainība, kas ir nozīmīgi faktori osteokonduktivitātes (kaulaudu augšana uz implantmateriāla virsmas) un osteoinduktivitātes (kaulaudu veidošanās spēja ārpus kaulaudu veidošanās vietām) nodrošināšanai [7, 140-142]. Atšķirīgā HAp biokeramikas mikrostruktūra var atstāt būtisku iespaidu arī uz materiāla mehāniskajām īpašībām. HAp_{GI} varētu būt blīvākā un mehāniski stabilākā biokeramika, jo tai raksturīgs smalks un homogēns graudu izmērs.



3.2.8. att. No dažādiem CaO iegūtās HAp biokeramikas virsmas FE-SEM mikrofotogrāfijas pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1h

Termiski apstrādājot no dažādiem CaO izejmateriāliem iegūtas HAp biokeramikas paraugus diapazonā no 700-1300°C, HAp_R un HAp_{GI} biokeramikai novērotas acīmredzamas krāsas izmaiņas: gaiši zila vai zaļa → balta → tumši zila → intensīvi tumši zila (3.2.9. att.). Izvērtējot HAp produktu ķīmiskā sastāva saturu, konstatēts, ka šīs krāsas izmaiņas radušās pārejas elementu oksidēšanās rezultātā, kas dislocējušies HAp kristālrežģa struktūrā. Mn, Zn, Cu, Cd pārejas elementu klātbūtne HAp paraugos konstatēta ar ICP-MS mikroelementu analīzi (4.2.2. tab.). Iespējams, šie elementi nevar atstāt negatīvu efektu uz HAp biokeramikas biosaderību dzīvajā organismā, tomēr ASV Pārtikas un zāļu administrācijas (FDA – *Food and Drug Administration*) kritēriji pieprasa HAp pulveri medicīniskam pielietojumam tīrā, baltā krāsā [143]. Ņemot vērā faktu, ka Mn koncentrācija visos HAp paraugos ir augstāka par citiem pārejas elementiem, ir pamats uzskatīt, ka krāsas izmaiņas radušās Mn oksidēšanās rezultātā apkārtējā atmosfērā.



3.2.9. att. HAp biokeramikas paraugu krāsas izmaiņas atkarībā no augsttemperatūras apstrādes temperatūras 1 h laikā

Literatūras dati liecina, ka pirms augsttemperatūras apstrādes Mn var eksistēt HAp kristāliskajā struktūrā (Mn^{2+}) jonu formā - sintezētie HAp produkti ir baltā krāsā [144]. Tomēr, Mn savienojumos var eksistēt ar oksidēšanās pakāpi no -3 līdz pat +7. Tāpēc nav iespējams precīzi noteikt Mn oksidēšanās pakāpi katra no iegūtajiem HAp produktiem pēc sintēzes un termiskās apstrādes. Termiski apstrādātai 700°C HAp_R un HAp_{GI} biokeramikai novērojama gaiši zila krāsa, kas pēc intensitātes ir atšķirīga abiem paraugiem un liecina par Mn oksidēšanos termiskās apstrādes ietekmē oksidējošā atmosfērā. Parasti zila krāsa ir raksturīga (Mn^{5+}) joniem, kas vistīcamāk atrodas HAp struktūrā $[PO_4]$ grupu vietās. 1000-1100°C HAp biokeramika atkal ir gandrīz baltā krāsā. Termiskās apstrādes rezultātā 1200°C HAp_R un HAp_{GI} biokeramikai novērojama zilās krāsas intensitātes paaugstināšanās, kas varētu liecināt par (Mn^{2+}) jonu pilnīgu oksidēšanos (Mn^{5+}) jonu formā (3.2.9. att.). Tomēr HAp_R un HAp_{GI} biokeramikai novērojama atšķirīgas intensitātes un zilā toņa krāsa, kas iespējams liecina par atšķirīgu Mn savienojumu eksistenci iegūto HAp produktu struktūrā. Jāatzīmē, ka eksperimentāli iegūtie produkti - β -TCP un BCP no CaO_R ir baltā krāsā un krāsas izmaiņas pēc termiskās apstrādes nav novērojamas. Var secināt, ka Mn jonu oksidācija un eksistence HAp kristālos atkarīga no $[OH]$ grupām HAp struktūrā, kas vistīcamāk arī ietekmē HAp biokeramikas krāsas izmaiņas.

Salīdzinot pārejas elementu daudzumu sintezētajos un biokeramikas HAp produktos, noskaidrots, ka lielākās pārejas elementu koncentrācijas ir Mn un Zn, kaut gan arī šīs koncentrācijas ir relatīvi niecīgas, attiecīgi ~ 0.005 masas % (~ 50 ppm) Zn un ~ 0.009 masas % (~ 90 ppm) Mn. Neskatoties uz HAp biomateriālu krāsas ierobežojumiem, ar pārejas elementiem (Zn, Cu, Mn), kā arī ar Mg. Sr aizvietoti HAp biomateriāli intensīvi pētīti *in vitro* un *in vivo* studijās.

(Mn²⁺) jonu iekļaušana HAp strukturā veicina bioloģisko šūnu aktivitāti, šūnu adhēziju uz HAp biomateriāla virsmas, kā arī osteoblastu proliferāciju, metabolisma aktivāciju un diferenciāciju [17, 18, 145].

(Zn²⁺) jonu iekļaušana HAp implantmateriālu strukturā uzlabo osteoblastu aktivitāti un līdz ar to kaulaudu veidošanos apkārt materiālam [17, 146-148].

(Mg²⁺) joni, kuru koncentrācija ir daudzkārt lielāka par pārejas elementu koncentrāciju (Mg ~ 0.40 masas %), veicina osteoblastu un osteoklastu aktivitāti, tādējādi sekmējot kaulaudu veidošanās procesu, kā arī Sr²⁺ veicina kaulaudu veidošanos, paaugstinot osteoblastu diferenciācijas procesu [17].

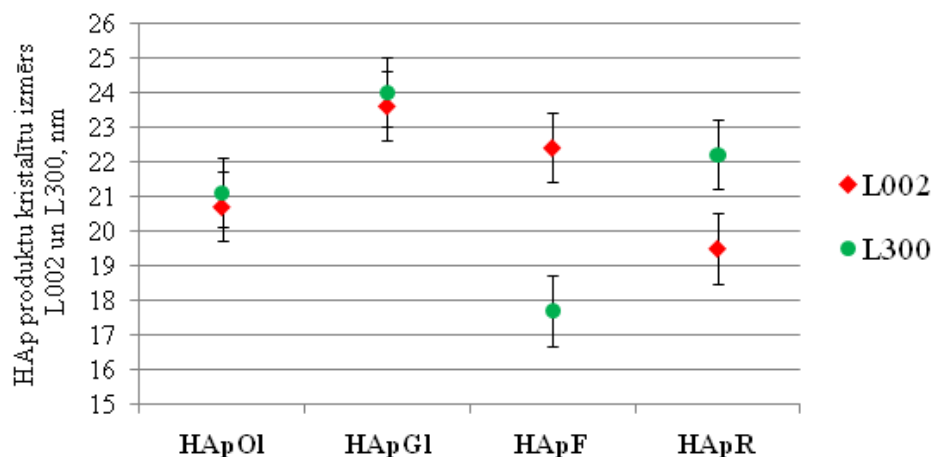
Aplūkojot eksperimentāli iegūtās HAp biokeramikas mikrostruktūras, ir pamats uzskatīt, ka mikroelementi Mn, Zn, Cu, Pb, Cd, Sr, Ba, kā arī Mg ir būtiski ietekmējuši HAp kristāliskā režģa parametrus, radot kristāliskā režģa defektus. Šie mikrodefekti atstāj būtisku ietekmi uz HAp produktu mikrostruktūru pēc termiskās apstrādes, kas lielā mērā ietekmē materiāla bioaktivitāti dzīvajā organismā. Literatūrā norādīts, ka HAp ar zemu Mn koncentrāciju neuzrāda jūtamas HAp kristālrežģa parametru izmaiņas, bet pazemina HAp biokeramikas termisko stabilitāti [17]. Eksperimentāli noteikts, ka izstrādātā HAp biokeramika ir termiski stabila līdz pat 1450°C.

Izmantojot dažādas izcelsmes CaO saturošus izejmateriālus, tajā skaitā komerciāli pieejamus CaO, kas šķietami atbilst tīrības specifikācijai, tomēr nav iespējams iegūt pilnībā reproducējamus HAp biokeramikas materiālus. Šī izpēte apliecina, ka pieejami dažādi CaO saturoši izejmateriāli, kas var būtiski ietekmēt iegūtā HAp produkta īpašības. Eksperimentālie pētījumi pierāda, ka nepieciešams kontrolēt CaO saturošu izejmateriālu kvalitāti, lai nodrošinātu iegūto CaP produktu reproducēšanas iespēju.

3.2.5. Kristalītu izmērs un kristāliskuma pakāpe

Kristalītu izmērs aglomerētas sistēmās, tādās kā HAp produkti, ir viens no svarīgākajiem parametriem, kas ietekmē keramikas apstrādes procesu [41]. Sintezētiem HAp produktiem vidējais kristalītu izmērs aprēķināts saskaņā ar Šērera vienādojumu. Jāņem vērā, ka kristalītu izmērs aprēķināts tikai sintezētiem HAp produktiem, jo HAp biokeramika kā polikristālisks materiāls veidota no pulvera graudiem (daļiņām), kas parasti sastāv no vairākiem kristalītiem. Izvērtējot sintezēto HAp produktu aprēķināto kristalītu izmēru c ass virzienā (3.2.4. tab.), kas norāda uz kristalītu garumu, konstatēts, ka visu HAp produktu vidējais garums ir ~ 7-10 reizes mazāks par FE-SEM redzamo garumu (3.2.6. att.). Šie rezultāti ir līdzīgi ar dažu autoru novērojumiem par bioloģiskā apatīta kristālu garumu noteikšanai ar mikroskopijas un XRD metodi [149]. Veicot sintezēto HAp produktu FWHM mērījumus (300) plaknē, nebija iespējams noteikt difrakcijas maksimumam $32.9^\circ 2\theta$ atbilstošu FWHM, jo maksimums daļēji nosedzas ar citiem apatīta struktūrai raksturīgajiem tripleta maksimumiem diapazonā no 31.7° - $33^\circ 2\theta$ (3.2.1. att.), kas liecina par HAp produktu defektīvu kristālisko struktūru. Lai veiktu FWHM mērījumus (300) plaknē, kā arī papildus (200) plaknē, HAp produkti termiski apstrādāti 700°C 1 h.

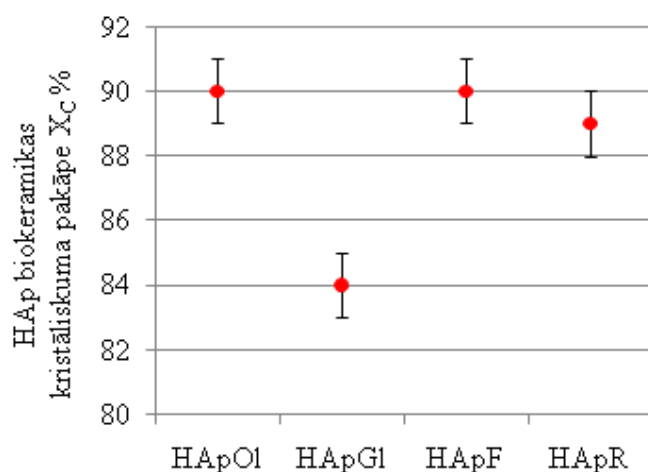
Izvērtējot iegūtos kristalītu izmērus L_{002} un L_{300} , secināts, ka kristalītu dimensijas sintezētiem HAp produktiem ir līdzīgas ~ 20 nm robežās (3.2.10. att.).



3.2.10. att. HAp produktu kristalītu izmērs L_{002} un L_{300} pēc termiskās apstrādes 700°C

Izvērtējot kristalītu garuma/platuma attiecību ($L_{002}/L_{300} \sim 1$), secināts, ka HAp kristalīti pēc termiskās apstrādes 700°C ir homogēnas formas ar lielāku biezumu, kas liecina par HAp kristalītu noapaļošanās un sablīvēšanās sākumu, kas raksturīgs HAp produktu saķepšanas procesam. HAp_F kristalītu L_{002}/L_{300} attiecība norāda uz garākas formas kristalītiem salīdzinot ar pārējiem HAp produktiem (3.2.10. att).

Aprēķinātā kristāliskuma pakāpe visiem HAp biokeramikas produktiem 1100°C 1 h ir ~ 90% robežās, kas liecina par blīvas keramikas iegūšanu. Nedaudz zemāka kristāliskuma pakāpe ir HAp_{Gl} biokeramikas paraugam - 84±1%, kas liecina par keramikas smalkgraudaināku struktūru (3.2.8. att.). Augsta kristāliskuma pakāpe nodrošina zemu šķīdības pakāpi *in vitro* un resorbcijas spēju, kā arī intensīvāku kaulaudu tiešu saisti ar materiālu *in vivo* [66, 68].



3.2.11. att. HAp biokeramikas kristāliskuma pakāpe X_c 1100°C 1 h

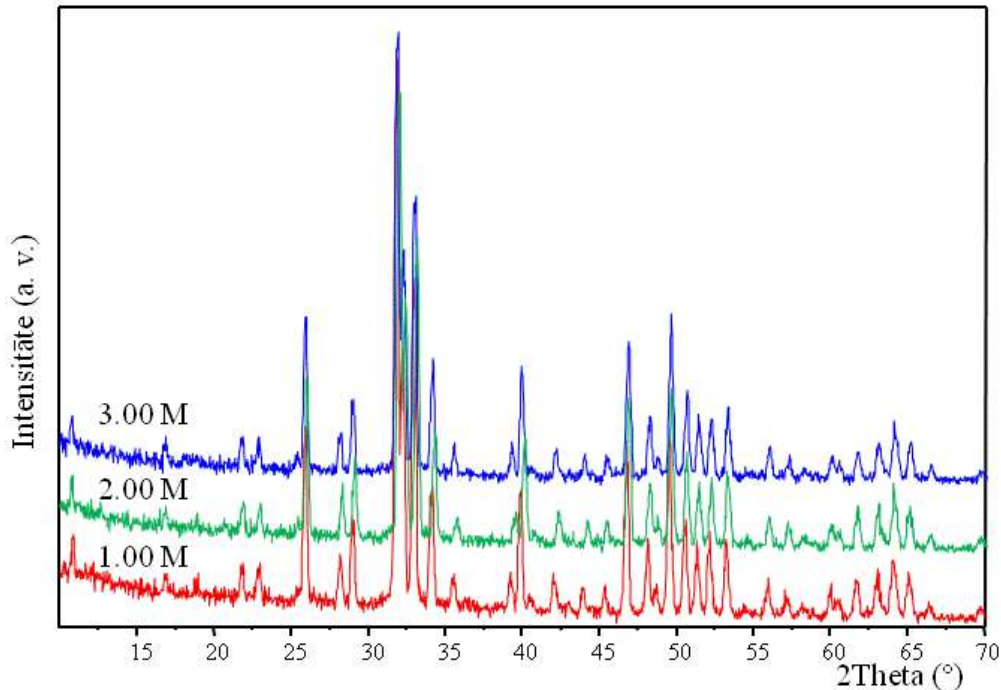
3.3. Skābes šķīduma koncentrācijas ietekme uz hidroksilapatīta biokeramikas īpašībām

Eksperimentālā darba ietvaros veikta B4 produkta sintēze, izmantojot 1.00 M, 2.00 M, 3.00 M H_3PO_4 šķīdumu, iegūti 3 HAp produkti – 1.00 M, 2.00 M, 3.00 M, kas salīdzināti ar HAp produktu B4 (4.76 M).

Literatūrā norādīts, ka augstāka sintēzes izejmateriālu koncentrācija var būtiski paaugstināt produkta iznākumu [15]. Eksperimentāli konstatēts, ka iegūto CaP produktu iznākums atkarībā no H_3PO_4 šķīduma koncentrācijas ir vidējā produkta iznākuma robežās (3.1. nod.).

3.3.1. Fāžu sastāva analīze un termiskā stabilitāte

No XRD difrakcijas ainām konstatēts, ka ar dažādām H_3PO_4 šķīduma koncentrācijām iegūtie HAp produkti pēc sintēzes un apdedzināšanas līdz $1300^\circ C$ pilnībā atbilst rentģentūrai HAp kristāliskai fāzei ar raksturīgiem intensīviem maksimumiem, kas koncentrēti diapazonā no 31.8° - 52.5° 2θ (3.3.1. att.).

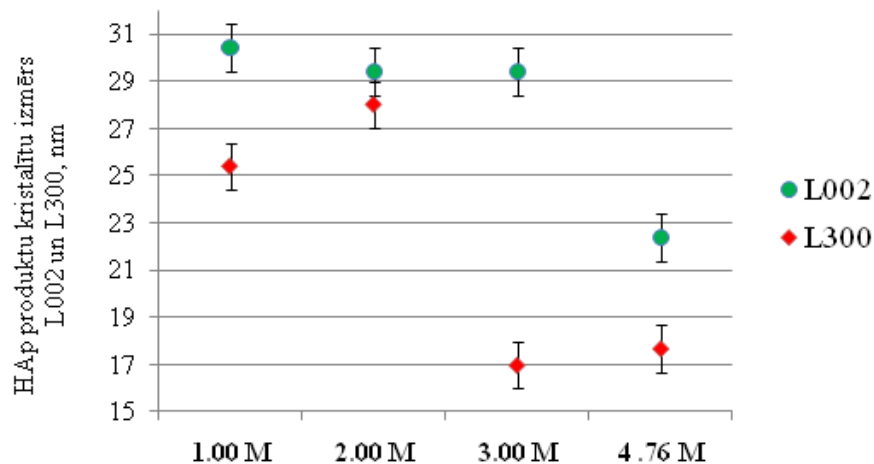


3.3.1. att. No dažādām H_3PO_4 šķīduma koncentrācijām iegūtās HAp biokeramikas XRD difraktoqrammas pēc augsttemperatūras apstrādes $1300^\circ C$ 1 h

XRD ainās nav novērojamas izteiktas maksimumu intensitāšu atšķirības, kas varētu liecināt par krasi atšķirīgu kristāliskuma pakāpi un kristalītu izmēru katram no HAp produktiem. HAp produktu termiskā stabilitāte ar nemainīgu fāžu sastāvu līdz $1300^\circ C$ novērojama 3.3.1. att. XRD ainās.

3.3.2. Kristalītu izmērs un kristāliskuma pakāpe

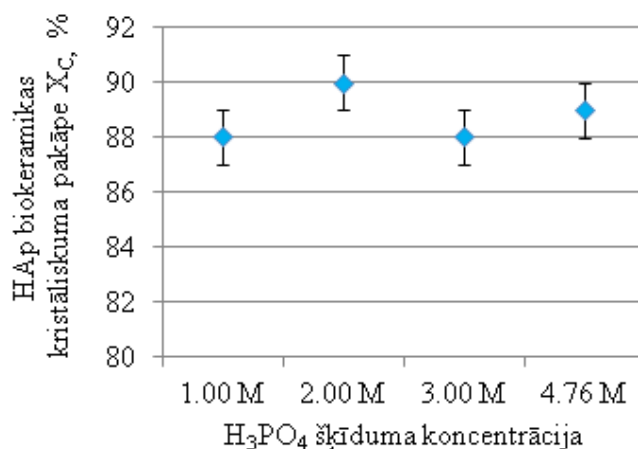
Izvērtējot termiski apstrādātu $700^\circ C$ 1 h HAp produktu kristalītu izmērus, kā arī HAp biokeramikas ($1100^\circ C$ 1 h) produktu kristāliskuma pakāpi, secināts, ka H_3PO_4 šķīduma koncentrācija ir būtiski ietekmējusi HAp produktu augstāk minētos parametrus (3.3.2. att., 3.3.3. att.). Pie tam aprēķinātais kristalītu izmērs, kas noteikts pēc Šērera vienādojuma, attiecināms uz vidējo kristalītu izmēru c un a ass virzienā, kur netiek ņemts vērā profila mikrodeformācijas.



3.3.2. att. HAp produktu kristalītu izmērs L₀₀₂ un L₃₀₀ pēc termiskās apstrādes 700°C

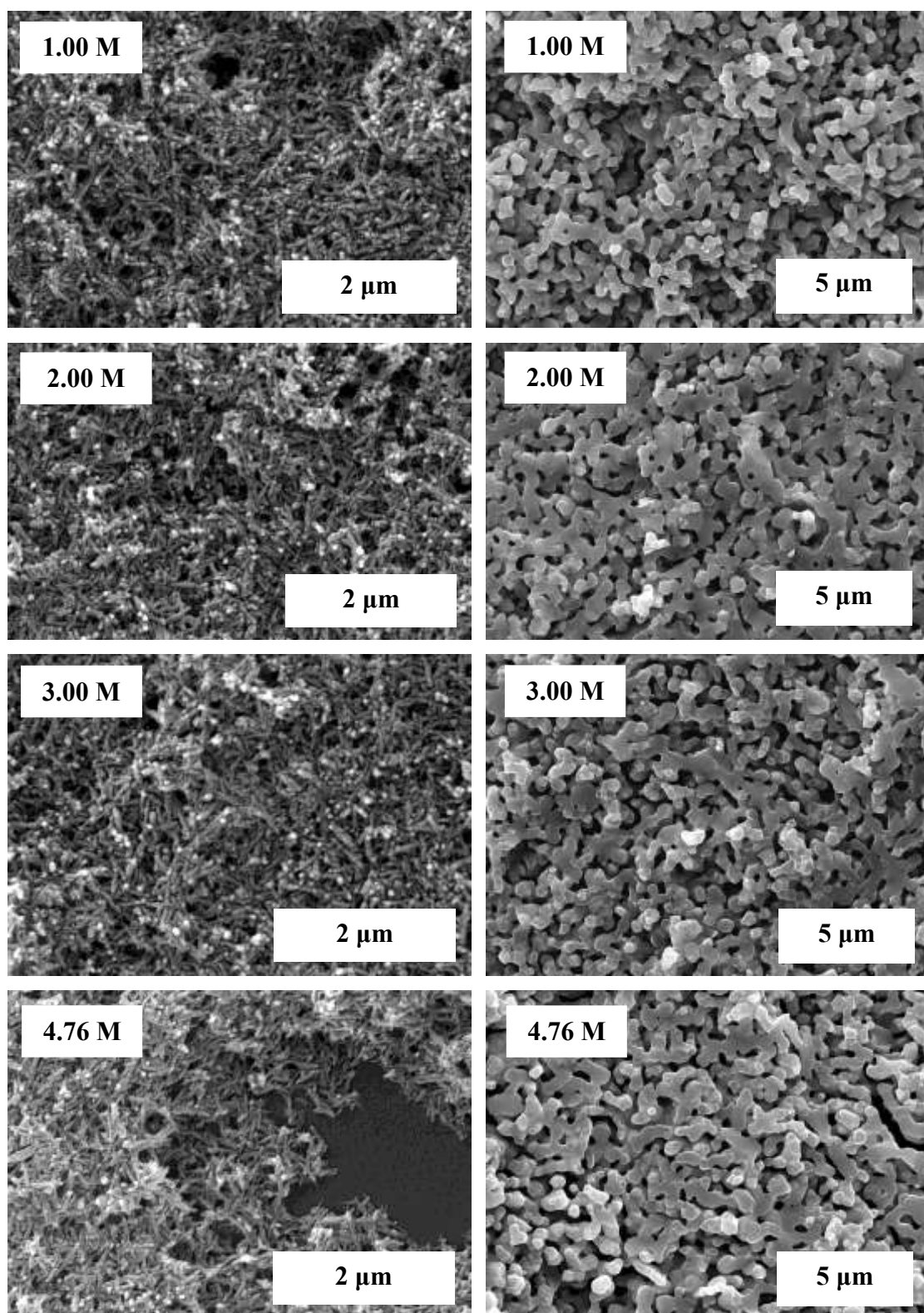
No iegūtajiem rezultātiem konstatēts, ka līdz ar H₃PO₄ šķīduma koncentrācijas palielināšanu, visiem HAp produktiem samazinās kristalītu izmērs daļēji gan a, gan c ass virzienā, vismazākie adatveida formas kristalītu izmēri konstatēti HAp produktam 4.76 M. HAp produktam 3.00 M novērojami garākas un tievākas formas kristalīti, salīdzinot ar HAp produktu 1.00 M un 2.00 M kristalītiem, kuru forma ir sfēriska. Savukārt, HAp biokeramikas produktu kristāliskuma pakāpe ir līdzīga visiem produktiem ~ 90% robežās.

Literatūras dati liecina par līdzīgu tendenci reaģentu koncentrācijas ietekmei uz kristalītu izmēru, respektīvi, paaugstinot reaģentu koncentrāciju – kristalītu izmērs samazinās [60].



3.3.3. att. HAp biokeramikas produktu kristāliskuma pakāpe X_C 1100°C 1 h

3.3.3. Morfoloģijas un mikrostruktūras, saķepšanas procesa pētījumi



3.3.4. att. HAp suspensiju morfoloģiju pēc žāvēšanas 105°C ~ 20 h (pa kreisi) un biokeramikas lūzumu mikrostruktūru pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1h (pa labi) FE-SEM mikrofotogrāfijas

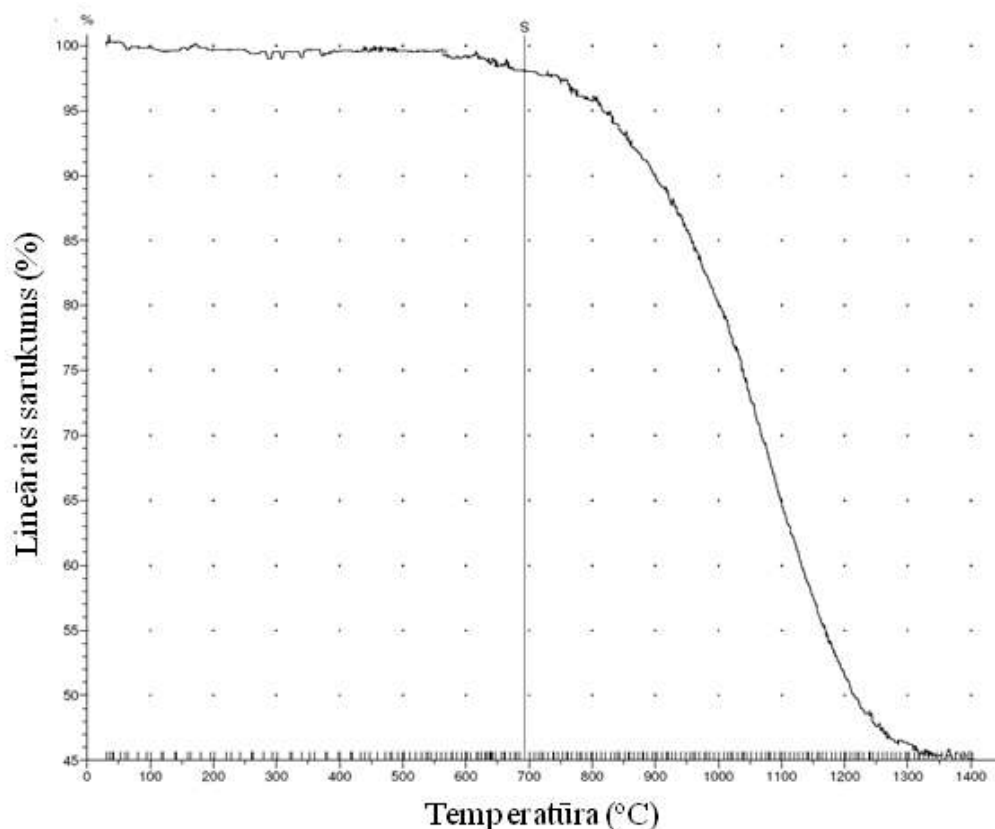
Izvērtējot ar dažādām H_3PO_4 šķīduma koncentrācijām iegūto HAp suspensiju morfoloģijas, secināts, ka visiem HAp produktiem raksturīga nanoizmēra adatveida morfoloģija tievu, garu (~ 150-200 nm) kristalītu veidā, kas korelē ar HAp produkta B4 (4.76 M) morfoloģiju (3.2.6. att., 3.3.4. att.).

Salīdzinot FE-SEM morfoloģijas pētījumus un aprēķinātos kristalītu izmērus, mikrofotogrāfijās ir redzami smalku kristalītu primārie un/vai sekundārie aglomerāti, tādēļ to vizuālais garums ir lielāks.

Salīdzinot ar dažādām H_3PO_4 šķīduma koncentrācijām iegūto HAp biokeramikas produktu FE-SEM mikrofotogrāfijas, novērojams, ka visiem paraugiem raksturīga homogēna, daļēji sablīvējusies, mikroporaina, smalkgraudaina struktūra, ar noapaļotiem, daļēji saaugušiem graudiem. Izvērtējot HAp produktu 1.00 M un 4.76 M mikrostruktūru saķepšanas pakāpi, novērojams, ka produkta 4.76 M mikrostruktūra ir blīvāka un intensīvāk saķepusi, kamēr produkta 1.00 M mikrostruktūra ir irdenāka, ar izteiktākām graudu robežvirsmām. Blīvāka un intensīvāk sablīvējusies mikrostruktūra liecina par smalkākiem homogenākiem graudiem, t.sk., mazāku kristalītu izmēru HAp produktā pēc sintēzes (HAp produkts 4.76 M).

Eksperimentāli iegūtiem HAp produktiem 1.00 M, 2.00 M, 3.00 M, 4.76 M novērojamas līdzīga rakstura dilatometriskās raksturlīknes. Diapazonā no 700-950°C novērojams intensīvākais sablīvēšanās process, kura laikā notiek mikroporu likvidēšana. Šis diapazons raksturīgs HAp sākotnējai saķepšanas stadijai (3.3.5. att.). Virs 1300°C HAp biokeramikas mikrostruktūra ir pilnībā saķepusi. Kristalītu izmēra atšķirības nav atstājušas būtisku efektu uz HAp biokeramikas saķepšanas procesu.

Tomēr iegūtie eksperimentālie rezultāti tikai daļēji apstiprina literatūrā norādīto apgalvojumu par HAp biokeramikas mikrostruktūras kontroli, variējot ar reaģentu koncentrācijām [60], kā arī pilnībā atspēko apgalvojumu par sintēzes produkta iegūšanu ar heterogēnu fāžu sastāvu, morfoloģiju un kalcija deficītu, mainot sākotnējās reaģentu koncentrācijas [15].



3.3.5. att. HAp produkta 1.00 M dilatometriskā raksturlīkne

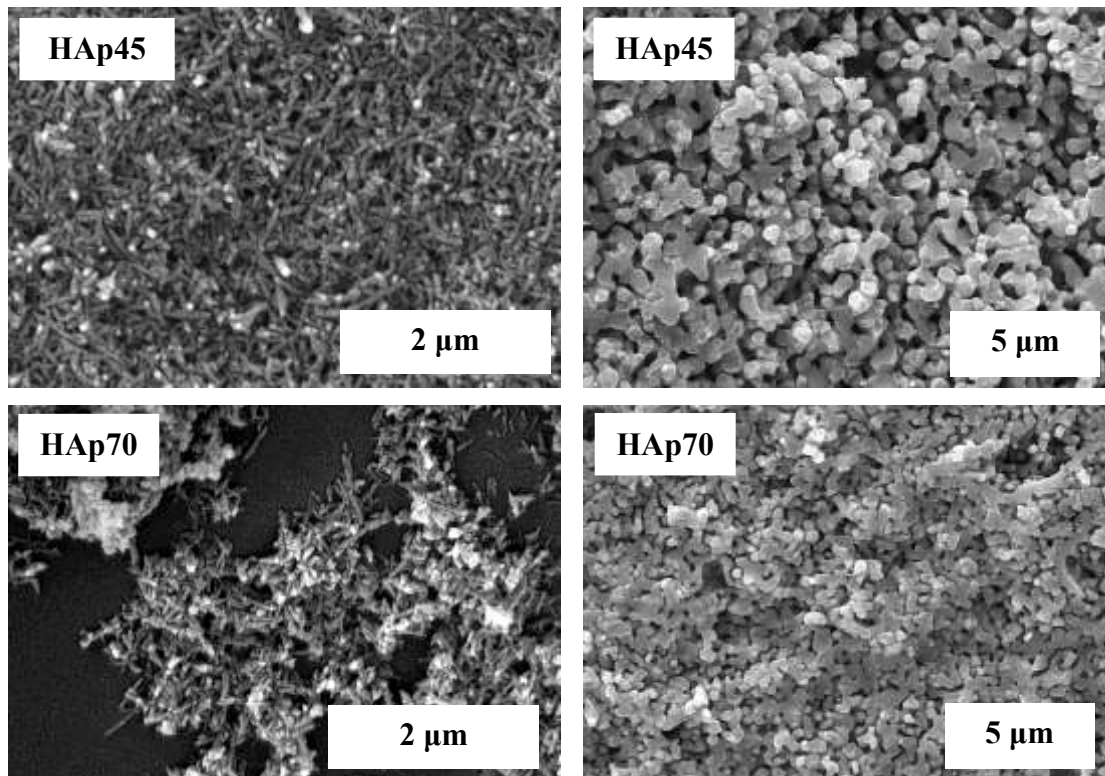
3.4. Temperatūras režīma ietekme uz hidroksilapatīta biokeramikas īpašībām

Eksperimentālā darba ietvaros veikta A4 un B4 produktu sintēze, attiecīgi mainot sintēzes temperatūras režīmu $70^{\circ}\text{C}\downarrow$ un 45°C^* , iegūti 2 HAp produkti – HAp45, HAp70.

No XRD difrakcijas ainām konstatēts, ka dažādos temperatūras režīmos iegūtie HAp produkti arī 1300°C pilnībā atbilst rentģentīrai HAp kristāliskai fāzei ar raksturīgiem intensīviem maksimumiem (3.2.2. att.). XRD ainās nav novērojamas izteiktas maksimumu intensitāšu atšķirības, kas varētu liecināt par krasi atšķirīgu kristāliskuma pakāpi katram no HAp produktiem 1100°C 1 h.

3.4.1. Morfoloģijas un mikrostruktūras pētījumi

Izvērtējot dažādos temperatūras režīmos sintezētu un termiski apstrādātu HAp produktu morfoloģiju un mikrostruktūru, konstatēts, ka sintēzes temperatūras režīms ir atstājis būtisku efektu un sintezēto HAp kristalītu izmēru, kā arī biokeramikas mikrostruktūru (3.4.1. att.).



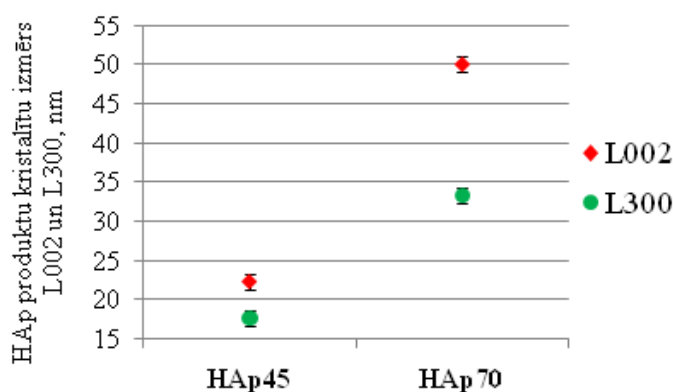
3.4.1. att. HAp suspensiju morfoloģiju pēc žāvēšanas 105°C ~ 20 h (pa kreisi) un biokeramikas mikrostruktūru lūzumu pēc augsttemperatūras apstrādes 1100°C 1h (pa labi) FE-SEM mikrofotogrāfijas

HAp kristalīti, kas iegūti 45°C*, uzrāda homogēnu nanoizmēra adatveida kristālītu morfoloģiju tievu, garu (~ 150-200 nm) kristālītu veidā, kuriem ir tendence aglomerēties primārajos vai sekundārajos aglomerātos, pie tam saglabājot adatveida formu. HAp kristalīti, kas iegūti 70°C↓, uzrāda daudz smalkāku adatveida kristālītu morfoloģiju ar izteikti smalkām, tievām adatām. HAp70 produkts ir intensīvāk aglomerētā stāvoklī, par ko liecina heterogēna izžāvētās suspensijas struktūra. Intensīvāka aglomerācija norāda uz smalkāku kristālītu izmēru.

Eksperimentāli iegūtās HAp70 biokeramikas FE-SEM mikrofotogrāfija uzrāda smalkgraudainu (~ 200-300 nm), homogēnu, daļēji saķepušu mikrostruktūru. Arī HAp45 biokeramikas mikrostruktūra ir homogēna un smalkgraudaina (~ 250-500 nm), tomēr graudu izmērs un mikroporainība ir krietni lielāka un sablīvēšanās pakāpe ir mazāk intensīva kā HAp70 biokeramikai.

3.4.2. Kristalītu izmērs un kristāliskuma pakāpe

Izvērtējot iegūto HAp produktu kristalītu izmēru, konstatēts, ka paaugstināta sintēzes temperatūra veicinājusi kristalītu augšanu c ass virzienā, t.i., HAp70 produkta kristalītu garums L_{002} ir 2 reizes lielāks nekā HAp45 produkta L_{002} (3.4.2. att.). Arī kristalītu izmērs L_{300} a ass virzienā ir lielāks HAp70 produktam. No iegūtajiem rezultātiem konstatēts, ka kristalītu garuma/platuma attiecība L_{002}/L_{300} palielinās, pieaugot sintēzes temperatūrai. Savukārt lielāka L_{002}/L_{300} attiecība liecina par garāku un tievāku kristalītu veidošanos paaugstinātas temperatūras ietekmē.



3.4.2. att. HAp produktu kristalītu izmērs L_{002} un L_{300} pēc termiskās apstrādes 700°C

Izvērtējot FE-SEM mikrofotogrāfijas un kristalītu izmērus, secināts, ka HAp produkta kristalītu izmērs nav lineāri saistīts ar HAp biokeramikas graudu izmēru. HAp70 produkts ar garākiem un biežākiem kristalītiem uzrāda smalkgraudaināku struktūru. Izvērtējot HAp biokeramikas produktu kristāliskuma pakāpi 1100°C 1 h, tā ir ar līdzīgu vērtību $\sim 87\%$. Neskatoties uz atšķirīgu HAp produktu kristalītu izmēru, iegūto produktu ATM raksturlīknes uzrādīja identiska rakstura ainās.

SECINĀJUMI

1. Izstrādāta prognozējama un reproducējama multifāžu kalcija fosfātu iegūšanas tehnoloģija un tās parametri hidroksilapatīta, β -trikalcija fosfāta un divfāžu kalcija fosfātu (ar regulējamu hidroksilapatīta/ β -trikalcija fosfāta fāžu attiecību) biokeramikas iegūšanai pēc termiskās apstrādes.
2. Noteikti reglamentējošie tehnoloģiskie parametri: sintēzes beigu pH un temperatūra un to robežvērtības hidroksilapatīta ($8.48 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 8.97$, $T_S = 70 \pm 1^\circ\text{C} \downarrow$ vai $8.83 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 9.05$, $T_S = 45 \pm 1^\circ\text{C}^*$), β -trikalcija fosfāta ($5.90 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 6.06$, $T_S = 22 \pm 1^\circ\text{C}$) un divfāžu kalcija fosfātu ($4.97 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 7.08$, $T_S = 45 \pm 1^\circ\text{C}^*$ vai $5.00 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 6.87$, $T_S = 70 \pm 1^\circ\text{C} \downarrow$ vai $6.95 \leq \text{pH}_{\text{beigu}} \leq 9.01$, $T_S = 22 \pm 1^\circ\text{C}$) iegūšanai pēc termiskās apstrādes.
3. Pirmo reizi kalcija fosfāti sintezēti ar modificētu šķīduma ķīmisko nogulsnešanas metodi, izmantojot reaģentu šķīdumus ar nestehiometrisku molāro koncentrāciju attiecību $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{PO}_4^{3-}] = 0.15 \text{ M}/4.76 \text{ M}$.
4. Izmantojot biogēnas izcelsmes un komerciālos kalcija oksīdus kalcija hidroksīda suspensiju iegūšanai, „kalķu dzēšanas” procesā iegūtas atšķirīgas, heterogēnas suspensiju morfoloģijas.
Konstatēts, ka tradicionālajā „kalķu dzēšanas” procesā praktiski nav iespējams izvairīties no neizreaģējušu kalcija oksīda kristālu, palielinātu kalcija hidroksīda kristālu vai aglomerātu veidošanās.
Eksperimentāli pierādīta kalcija hidroksīda suspensijas homogenizācijas planetārējās bumbu dzirnavās efektivitāte smalkdispersas un viendabīgas suspensijas iegūšanai.
5. Izmantojot biogēnas izcelsmes un komerciālos kalcija oksīdu saturošus izejmateriālus, iegūtas hidroksilapatīta biokeramikas ar atšķirīgu mikrostruktūru un krāsu pēc termiskās apstrādes, pie tam morfoloģija pēc sintēzes, fāžu sastāvs un molekulārā struktūra šīm biokeramikām ir identiska. Hidroksilapatīta biokeramikai no gliemežvākiem (zilā krāsā) konstatēta izteikti homogēna un smalkgraudaina mikrostruktūra (graudi $\sim 100\text{-}150 \text{ nm}$), kamēr hidroksilapatīta biokeramikai no Riedel-de Haën® (zilā krāsā) mikrostruktūra ir heterogēna ar palielinātiem graudiem ($\sim 500 \text{ nm} - 5 \mu\text{m}$). Atšķirīgas hidroksilapatīta biokeramikas mikrostruktūru veidošanās liecina par mikroelementu ietekmi uz hidroksilapatīta kristāliskā režģa parametriem, radot

kristāliskā režģa defektus un atstājot būtisku ietekmi uz produktu mikrostruktūru pēc termiskās apstrādes. Savukārt hidroksilapatīta biokeramika tīrā, baltā krāsā iegūta no olu čaumalām un Fluka kalcija oksīdu saturošiem izejmateriāliem. Zilā krāsā hidroksilapatīta biokeramikas paraugos saistīta ar pārejas elementu, iespējams Mn oksidēšanos termiskās apstrādes ietekmē tās struktūrā.

6. Sistemātiskie pētījumi pierādīja, ka reproducējamus kalcija fosfātus ar noteiktu sastāvu un struktūru, kas savukārt būtiski ietekmē biokeramikas implantu struktūru un īpašības, var iegūt precīzi kontrolējot kalciju saturošu izejmateriālu sastāvu un struktūru, kā arī sākotnējās sintēzes suspensijas īpašības.

CONCLUSIONS

1. A predictable, reproducible multi-phase technology with suitable technological parameters to obtain calcium phosphates – pure hydroxyapatite, pure β -tricalcium phosphate and biphasic calcium phosphate (with controllable ratio of hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate) bioceramics has been developed.
2. Technological parameters necessary to control synthesis outcome were defined: final pH and temperature of synthesis, their boundary values to obtain pure hydroxyapatite ($8.48 \leq \text{pH}_{\text{final}} \leq 8.97$, $T_S = 70 \pm 1^\circ\text{C} \downarrow$ or $8.83 \leq \text{pH}_{\text{final}} \leq 9.05$, $T_S = 45 \pm 1^\circ\text{C}^*$), pure β -tricalcium phosphate ($5.90 \leq \text{pH}_{\text{final}} \leq 6.06$, $T_S = 22 \pm 1^\circ\text{C}$) and biphasic calcium phosphates ($5.00 \leq \text{pH}_{\text{final}} \leq 6.87$, $T_S = 70 \pm 1^\circ\text{C} \downarrow$ or $4.97 \leq \text{pH}_{\text{final}} \leq 7.08$, $T_S = 45 \pm 1^\circ\text{C}^*$ or $6.95 \leq \text{pH}_{\text{final}} \leq 9.01$, $T_S = 22 \pm 1^\circ\text{C}$) after thermal treatment.
3. For the first time calcium phosphates have been synthesized using modified wet chemical precipitation method with non-stoichiometric ratio of reagent concentrations $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{PO}_4^{3-}] = 0.15 \text{ M}/4.76 \text{ M}$.
4. Using commercially available synthetic and biogenic calcium oxides to obtain calcium hydroxide suspensions, during the „lime slaking” process, various heterogeneous suspension morphologies were obtained. It was found that during a conventional „lime slaking” process, it is almost impossible to eliminate unreacted calcium oxide crystals, enlarged calcium hydroxide crystals or agglomerates. By experiments, effectiveness of homogenization of calcium hydroxide suspension in a planetary ball mill was proven necessary to obtain a fine-dispersed and homogenous suspension.
5. Using commercially available synthetic and biogenic calcium oxides, hydroxyapatite bioceramics with a different microstructure and color after thermal treatment were obtained.

At the same time, morphology of as-synthesized powders, phase composition and molecular structure of bioceramics are identical. For hydroxyapatite ceramics made from shells (blue colored), there is an explicitly homogenous and fine-grained microstructure is (grain size $\sim 100\text{-}150 \text{ nm}$), while hydroxyapatite ceramics from Riedel-de Haën® (blue colored) have heterogeneous microstructure with enlarged grains ($\sim 500 \text{ nm} - 5 \mu\text{m}$). Formation of different microstructures of hydroxyapatite bioceramics demonstrate the impact of

microelements on hydroxyapatite crystal lattice – creation of defects in crystal lattice – and brings a significant impact on the hydroxyapatite product microstructure after thermal treatment. Blue color of hydroxyapatite bioceramic samples is caused by oxidation of transition elements, possibly Mn, during thermal treatment of hydroxyapatite.

6. Systematic research has proven that calcium phosphates with reproducible quality and a determined composition and structure bring a significant impact on structure and properties of bioceramic implants and can be obtained by precise control of composition and structure of calcium containing raw materials and properties of suspension for start of synthesis.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Lidgren L. The Bone and Joint Decade 2000-2010// B. World Health Organ. - 2003. - Vol.81(9). - 629. p.
2. Bohner M. Resorbable biomaterials as bone graft substitutes// Mater. Today. – 2010. – Vol.13(1-2). – 24.-30. p.
3. Best S.M., Porter A.E., Thian E.S., et. al. Bioceramics: Past, present and for the future// J. Eur. Ceram. Soc. – 2008. – Vol.28. – 1319.-1327. p.
4. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine// Materials. – 2009. – Vol.2. – 399.-498. p.
5. Ślósarczyk A., Paszkiewicz Z., Zima A. The effect of phosphate source on the sintering of carbonate substituted hydroxyapatite// Ceram Int. – 2010. –Vol.36. – 577.-582. p.
6. Dorozhkin S.V. Bioceramics of calcium orthophosphates// Biomaterials. – 2010. – Vol.31. – 1465.-1485. p.
7. Kokubo T. Bioceramics and their clinical applications. – Cambridge: CRC Press, 2008. – 760 p.
8. Hench L.L., Wilson J. An introduction to bioceramics. – Singapore: World Scientific, 1993. – 386 p.
9. Dorozhkin S.V., Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates// Angew. Chem. Int. Edit. – 2002. – Vol.41. – 3130.-3146. p.
10. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates// J. Mater. Sci. – Vol.42. – 2007. – 1061.-1095. p.
11. Kalita S.J., Bhardwaj A., Bhatt H.A. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering// Mater. Sci. Eng., C. – 2007. –Vol.27. – 441.-449. p.
12. Chow L.C. Next generation calcium phosphate-based biomaterials// Dent. Mater. J. – 2009. – Vol.28(1). – 1.-10. p.
13. Vázquez C.G., Barba C.P., Munguía N. Stoichiometric hydroxyapatite obtained by precipitation and sol gel processes// Rev. Mex. Fis. – 2005. – Vol.51(3). – 284.-293. p.
14. Wilson R.M., Elliott J.C., Dowker S.E.P. Rietveld refinement of the crystallographic structure of human dental apatites// Am. Mineral. – 1999. – Vol.84. – 1406.-1414. p.

15. Vallet-Regí M., González-Calbet J. M. Calcium phosphate as substitution of bone tissues// *Prog. Solid State Ch.* – 2004. – Vol.32. – 1.-31. p.
16. Wang L., Nancollas G.H. Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution// *Chem Rev.* – 2008. – Vol.108(11). – 4628.–4669. p.
17. Boanini E., Gazzano M., Bigi A. Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature// *Acta Biomater.* – 2010. – Vol.6. – 1882.-1894. p.
18. Paluszkiwicz C., Ślósarczyk A., Pijocha D., et. al. Synthesis, structural properties and thermal stability of Mn-doped Hydroxyapatite// *J. Mol. Struct.* – 2010. – Vol.976. – 301.-309. p.
19. LeGeros R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates// *Clin. Orthop.Relat. R.* – 2002. – Vol.395. – 81.-98. p.
20. Xin R., Leng Y., Wang N. In situ TEM examinations of octacalcium phosphate to hydroxyapatite transformation// *J. Cryst. Growth.* – 2006. – Vol.289. – 339.–344. p.
21. Suzuki O., Kamakura S., Katagiri T., et al. Bone formation enhanced by implanted octacalcium phosphate involving conversion into Ca-deficient hydroxyapatite// *Biomaterials.* – 2006. – Vol.27. – 2671.–2681. p.
22. Elliott J.C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. - Amsterdam: Elsevier Science Ltd., 1994. – 404 p.
23. Kay M.I., Young R.A., Posner A.S. Crystal structure of hydroxyapatite// *Nature.* – 1964. – Vol.204. – 1050.–1052. p.
24. LeGeros R.Z. Calcium phosphate-based osteoinductive materials// *Chem. Rev.* – 2008. – Vol.108. – 4742.–4753. p.
25. McConnell D. Apatite: Its Crystal Chemistry, Mineralogy, Utilization, and Geologic and Biologic Occurrences. - Wien: Springer-Verlag, 1973. – 111 p.
26. Li X., Sogo Y., Ito A., et. al. The optimum zinc content in set calcium phosphate cement for promoting bone formation in vivo// *Mater. Sci. Eng.: C.* – 2009. - Vol. 29. – 969.–975. p.
27. Garcia F., Ortega A., Domingo J.L., et. al. Accumulation of metals in autopsy tissues of subjects living in Tarragona County, Spain// *J. Environ. Sci. Heal. A.* – 2001. – Vol.36. – 1767.–1786. p.
28. Carlisle E.M. Silicon: a possible factor in bone calcification// *Science.* – 1970. – Vol.167. – 279.–280. p.

29. Barinov S.M., Rau J.V., Cesaro S.N. Carbonate release from carbonated hydroxyapatite in the wide temperature range// J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2006. – Vol.17. – 597.-604. p.
30. Lafon J.P., Champion E., Bernache-Assollant D. Processing of AB-type carbonated hydroxyapatite $C_{a10-x}(P_{O4})_{6-x}(C_{O3})_x(OH)_{2-x-2y}(C_{O3})_y$ ceramics with controlled composition// J. Europ. Ceram. Soc. – 2008. – Vol.28. – 139.-147. p.
31. Bianco A., Cacciotti I., Lombardi M., et. al. Si-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sinterability// Mater. Res. Bull. – 2009. – Vol.44. – 345.-354. p.
32. Adamopoulos O., Papadopoulos T. Nanostructured bioceramics for maxillofacial applications// J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2007. – Vol.18. – 1587.-1597. p.
33. Webster T.J., Ergun C., Doremus R.H., et. al. Hydroxylapatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium. I. Structure and microstructure// J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – Vol.59(2). – 305.-311. p.
34. Webster T.J., Ergun C., Doremus R.H., et. al. Hydroxylapatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium. II. Mechanisms of osteoblast adhesion// J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – Vol.59(2). – 312.-317. p.
35. Webster T.J., Massa-Schlueter E.A. Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations// Biomaterials. – 2004. - Vol.25(11). – 2111.-2121. p.
36. Legeros R.Z., Kijkowska R., Bautista C., et. al. Synergistic effects of magnesium and carbonate on properties of biological and synthetic apatites// Connect. Tissue Res. – 1995. - Vol.3. – 1.-7. p.
37. Yin X., Stott M.J. Biological calcium phosphates and Posner's cluster// J. Chem. Phys. – 2003. – Vol.118(8). – 3717.-3723. p.
38. Qu H., Wei M. The effect of fluoride contents in fluoridated hydroxyapatite on osteoblast behavior// Acta Biomater. – 2006. – Vol.2. – 113.-119. p.
39. Theiszova M., Jantova S., Letasiova S., et. al. Cytotoxicity of hydroxyapatite, fluorapatite and fluor-hydroxyapatite: a comparative *in vitro* study// Neoplasma. – 2008. – Vol.55. – 312.-316. p.
40. Lobo S.E., Arinzeh T.L. Biphasic Calcium Phosphate Ceramics for Bone Regeneration and Tissue Engineering Applications// Materials. – 2010. – Vol.3. – 815.-826. p.

41. Mostafa N.Y. Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes// *Mater. Chem. Phys.* – 2005. – Vol.94. – 333.-341. p.
42. Suchanek W.L., Yoshimura M. Processing and properties of Hydroxyapatite based biomaterials for use as hard tissue replacement implants// *J. Mater. Res.* – 1998. – Vol.13. – 94.-117. p.
43. Hing K., Annaz B., Saeed S., et. al. Microporosity enhances bioactivity of synthetic bone graft substitutes// *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2005. – Vol.16. – 467.-475. p.
44. Zyman Z.Z., Tkachenko M.V., Polevodin D.V. Preparation and characterization of biphasic calcium phosphate ceramics of desired composition// *J. Mater. Sci. - Mater. Med.* – 2008. – Vol.19. – 2819.-2825. p.
45. Zhou H., Zhang D., Gou L., et. al. The Synthesis and Phase Transformation of Calcium-Deficient Apatite With Different Ca/P Ratios// *Am. J. Appl. Sci.* - 2006. – Vol.1(4). – 1.-4. p.
46. Nilen R.W.N., Richter P.W. The thermal stability of hydroxyapatite in biphasic calcium phosphate ceramics// *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2008. – Vol.19(4). – 1693.-1702. p.
47. Raynaud S., Champion E., Bernache-Assollant D., et. al. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterization and thermal stability of powders// *Biomaterials.* – 2002. – Vol.23., 1065.-1072. p.
48. Kind M. Colloidal aspects of precipitation processes// *Chem. Eng. Sci.* – 2002. – Vol.57. – 4287.-4293. p.
49. Rodríguez-Clemente R., Gómez-Morales J., López-Macipe A., et. al. Solid particles formation from solutions, an intellectual and industrial meeting point and challenge// *Contrib. Sci.* – 1999. – Vol.1(10). – 63.-77. p.
50. Schubert U., Hüsing N. *Synthesis of Inorganic Materials.* – Wiley-VCH., 2000. – 396 p.
51. Montastruc L., Azzaro-Pantel C., Biscans B., et. al. A thermochemical approach for calcium phosphate precipitation modeling in a pellet reactor// *Chem. Eng. J.* – 2003. – Vol.94(1). – 41.-50. p.
52. Li Y., Ooi C.P., Cheang P.H.N. Synthesis and Characterization of Neodymium(III) and Gadolinium(III)-Substituted Hydroxyapatite as Biomaterials// *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* – 2009. – Vol.6(4). – 501.-512. p.

53. Jarcho M., Bolen C.H. Hydroxyapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form// *J. Mater. Sci.* – 1976. – Vol.11. – 2027.-2035. p.
54. Rathje W. Zur Kenntnis der Phosphate I: Über Hydroxyapatit// *Plant Nutr. Soil Sc.* – 1939. – Vol.12(1-2). – 121.–128. p.
55. Ferraz M.P., Monteiro F.M. Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies// *J. Appl. Biomater. Biom.* – 2004. – Vol.2. – 74.-80. p.
56. Bouyer E., Gitzhofer F., Boulos M.I. Morphological Study of Hydroxyapatite Nanocrystal Suspension// *J. Mater. Sci. – Mater. Med.* - Vol.11. – 523.–531. p.
57. Boskey A.L., Posner A.S. Formation of Hydroxyapatite at Low Supersaturation// *J. Phys. Chem.* – 1976. - Vol.80. – 41.–45. p.
58. Osaka A., Miura Y., Takeuchi K., et. al. Calcium apatite prepared from calcium hydroxide and orthophosphoric acid// *J. Mater. Sci. –Mater. Med.* – 1991. - Vol.2. 51.-55. p.
59. Bernard L., Freche M., Lacout J.L., et. al. Preparation of hydroxyapatite by neutralization at low temperature – influence of purity of the raw material// *Powder Technol.* – 1999. – Vol.103. – 19.-25. p.
Safranova T.V., Shekhirev M.A., Putlyaev V.I., et. al. Hydroxyapatite-Based Ceramic Materials Prepared Using Solutions of Different Concentrations// *Inorg. Mater.* – 2007. – Vol.43. 901.-909. p.
60. Santos M.H., de Oliveira M., de Freitas Souza L.P., et. al. Synthesis Control and Characterization of Hydroxyapatite Prepared by Wet Precipitation Process// *Mater. Res.* – 2004. - Vol.7(4). – 625.-630. p.
61. Kivrak N., Tas, A.C. Synthesis of calcium hydroxyapatite – tricalcium phosphate (HA-TCP) composite bioceramic powders and their sintering behavior// *J. Am. Ceram. Soc.* – 1998. – Vol.81(9). – 2245.–2252. p.
62. Seckler M.M., Danese M., Derenzo S. Influence of process conditions on Hydroxyapatite crystallinity obtained by direct crystallization// *Mater. Res.* – 1999. – Vol.2(2). – 59.–62. p.
63. Rodriguez-Lorenzo L.M., Vallet-Regi M. Controlled crystallization of calcium phosphate apatites// *Chem. Mater.* – 2000. –Vol.12. – 2460.–2465. p.
64. Lui C., Huang Y., Shen W., et. al. Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11// *Biomaterials.* – 2001. – Vol.22. – 301.-306. p.

65. Torrent-Burgues J., Rodriguez-Clemente R. Hydroxyapatite precipitation in a semibatch process// *Cryst. Res. Technol.* – 2001. – Vol.36(8–10). – 1075.–1082. p.
66. Kim W.S., Yano F., Kim W.S., et. al. Crystallinity of hydroxyapatite produced by reaction crystallization at low temperature// *Chem. Eng. Transac.* – 2002. – Vol.1. – 611.–616. p.
67. Arifuzzaman S.M., Rohani S. Experimental study of brushite precipitation// *J. Cryst. Growth.* – 2004. – Vol.267. – 624.–634. p.
68. Seckler M.M., Danese M., Derenzo S., et. al. Influence of Process Conditions on Hydroxyapatite Crystallinity Obtained by Direct Crystallization// *Mater. Res.* – 1999. - Vol.2. – 59.–62. p.
69. Smičiklas I., Onjia A., Raičević S. Experimental Design Approach in the Synthesis of Hydroxyapatite by Neutralization Method// *Sep. Purif. Technol.* – 2005. - Vol.44(2). – 97.–102. p.
70. Lazi S., Katani-Popovi J., Zec S., et al. Properties of Hydroxyapatite Crystallized from High Temperature Alkaline Solutions// *J. Cryst. Growth.* – 1996. - Vol.165. – 124.–128. p.
71. Tanaka Y., Hirata Y., Yoshinaka R. Synthesis and characteristics of ultrafine hydroxyapatite particles// *J. Ceram. Process Res.* – 2003. – Vol.4. – 197.-201. p.
72. Tampieri A., Celotti G., Sprio S. Characteristics of Synthetic Hydroxyapatites and Attempts to Improve their Thermal Stability// *Mater. Chem. Phys.* – 2000. - Vol. 64.- 54.–61. p.
73. Pang, Y.X., Bao X. Influence of Temperature, Ripening Time and Calcination on the Morphology and Crystallinity of Hydroxyapatite Nanoparticles// *J. Eur. Ceram. Soc.* – 2003. - Vol.23. – 1697.–1704. p.
74. Conn, J. F. et al. Process for Producing Hydroxyapatite. Patent No. US 4.324.772 (1982).
75. Kweh, S.W.K., Khor K.A., Cheang P. The Production and Characterisation of Hydroxyapatite (HA) Powders// *J. Mater. Process. Tech.* – 1999. - Vol.89-90. - 373–377. p.
76. Afshar A., Ghorbani M., Ehsani N., et. al. Some Important Factors in the Wet Precipitation of Hydroxyapatite// *Mater. Des.* – 2003. - Vol.24. – 197.–202. p.

77. Koutsopoulos S. Synthesis and Characterisation of Hydroxyapatite Crystals: A Review Study on the Analytical Methods// *J. Biomed. Mater. Res.* – 2002. – Vol.62(4). – 600.-612. p.
78. Knowles J.C., Callcut S., Georgiou G. Characterisation of the Rheological Properties and Zeta-Potential of a Range of Hydroxyapatite Powders// *Biomaterials.* – 2000. - Vol.21. – 1387.–1392. p.
79. Bernard L., Freche M., Lacout J.L., et. al. Modelling of the Dissolution of Calcium Hydroxide in the Preparation of Hydroxyapatite by Neutralization// *Chem. Eng. Sci.* – 2000. - Vol.55. – 5683.–5692. p.
80. Giulietti M., Seckler M.M., Derenzo S., et al. Industrial Crystallisation and Precipitation from Solutions: State of the Technique// *Braz. J. Chem. Eng.* – 2001. - Vol.15(4). – 423.–440. p.
81. Luo P., Nieh T.G. Synthesis of Ultrafine Hydroxyapatite Particles by a Spray Dry Method// *Mater. Sci. Eng.* – 1995. – Vol.C3. – 75.–78. p.
82. Saeri, M. R., Afshar A., Ghorbani M., et al. The Wet Precipitation Process of Hydroxyapatite// *Mater. Lett.* – 2003. - Vol. 57. – 4064.–4069. p.
83. Jenkins R., Snyder R. L. *Introduction to X-ray Powder Diffractometry.* - New York: Wiley & Sons Inc., 1996. – 403 p.
84. Bob B. He. *Two-Dimensional X-Ray Diffraction.* - Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2009. - 426 p.
85. Kalita S. J., Verma S. Nanocrystalline hydroxyapatite bioceramics using microwave radiation: Synthesis and characterization// *Mater. Sci. Eng. C.* – 2010. – Vol.30. - 295.-303. p.
86. Patterson A. The Scherrer Formula for X-Ray Particle Size Determination// *Phys. Rev.* – 1939. – Vol.56(10). – 978.–982. p.
87. Martins M.A., Santos C., Almeida M.M., et. al. Hydroxyapatite micro- and nanoparticals: Nucleation and growth mechanism in the presence of citrate species// *J. Colloid Interf. Sci.* – 2008. – Vol.318. – 210.-216. p.
88. Fathi M.H.; Hanifi A.; Mortazavi V. Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder// *J. Mater. Process. Tech.* – 2008. – Vol.202. – 536.-542. p.
89. Sanosh K.P., Chu M.-C., Balakrishnan A., et. al. Synthesis of nano hydroxyapatite powder that simulates teeth particle morphology and composition// *Curr. Appl. Phys.* – 2009. – Vol.9. – 1459.-1462. p.

90. Cacciotti I., Bianco A., Maringela L., et. al. Mg-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sintering behaviour// *J. Eur. Ceram. Soc.* – 2009. – Vol.29. – 2969.-2978. p.
91. Qian J., Kang Y., Zhang W., et. al. Fabrication, chemical composition change and phase evolution of biomorphic hydroxyapatite// *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2008. – Vol.19. – 3373.-3383. p.
92. Siva Rama Krishna D., Siddharthan A., Seshadri S. K., et. al. A novel route for synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite from eggshell waste// *J. Mater. Sci. - Mater. Med.* – 2007. – Vol.18. – 1735.-1743. p.
93. Cullity B.D. *Elements of X-Ray Diffraction.* - Addison-Wesley Publishing Company, Inc., 1956. – 514 p.
94. Xiao X., Lui R., Lui F., et al. Effect of poly(sodium 4-styrene-sulfonate) on the crystal growth of hydroxyapatite prepared by hydrothermal method// *Mater. Chem. Phys.* – 2010. – Vol.120. – 603.-607. p.
95. Kothapalli C., Wei M., Vasiliev A., et. al. Influence of temperature and concentration on the sintering behavior and mechanical properties of hydroxyapatite// *Acta Mater.* – 2004. – Vol.52. – 5655.-5663. p.
96. Liou S.-C., Chen S.-Y., Liu D.-M. Synthesis and characterization of needlelike apatitic nanocomposite with controlled aspect ratios// *Biomaterials.* – 2003. – Vol.24. – 3981.–3988. p.
97. Synthesis of Hydroxyapatite – Hyaluronic acid Nano Composite Sol under Well-Controlled Condition// *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* 788, 2004, L3.21.1-L3.21.6.
98. Bianco A., Cacciotti I., Lombardi M., et. al. Thermal Stability and Sintering Behaviour of Hydroxyapatite Nanopowders// *J. Therm. Anal. Calorim.* – 2007. – Vol.88(1). – 237.-243. p.
99. Landi E., Tampieri A., Celotti G., et. al. Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites// *J. Eur. Ceram. Soc.* – 2000. – Vol.20. – 2377.– 2387. p.
100. Paluszkiwicz C., Śłosarczyk A., Pijocha D., et. al. Synthesis, structural properties and thermal stability of Mn-doped hydroxyapatite// *J. Mol. Struct.* – 2010. – Vol.976. – 301.-309. p.
101. Tang C.Y., Uskokovic P.S., Tsui C.P., et. al. Influence of microstructure and phase composition on the nanoindentation characterization of bioceramic

- materials based on hydroxyapatite// *Ceram. Int.* - 2009. – Vol.35(6). – 2171.-2178. p.
102. 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. – 553.-568. p.
 103. Lazić S., Zec S., Miljević N., et. al. The effect of temperature on the properties of hydroxyapatite precipitated from calcium hydroxide and phosphoric acid// *Thermochim Acta.* - 2001. – Vol.374(1). – 13.-22. p.
 104. Li Y., Ooi C.P., Cheang P.H.N., et. al. Synthesis And Characterization of Neodymium (III) and Gadolinium (III)-Substituted Hydroxyapatite as Biomaterials// *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* – 2009. – Vol.6(4) – 501.-512. p.
 105. Greil P., Bressiani J.C., Bressiani A., et. al. Influence of Synthesis Conditions on the Characteristics of Biphasic Calcium Phosphate Powders// *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* – 2009. – Vol.6(1). – 60.-71. p.
 106. Landi E., Tampieri A., Celotti G., et. al. Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite// *Biomaterials.* – 2004. – Vol.25. – 1763.-1770. p.
 107. Shi H., Zhao Y., Li W. Effect of temperature on the hydration characteristics of free lime// *Cement Concrete Res.* – 2002. - Vol.32. – 789.-793. p.
 108. Liu T., Zhu Y., et. al. Synthesis and characterization of calcium hydroxide nanoparticles by hydrogen plasma-metal reaction method// *Mater. Lett.* – 2010. – Vol.64. – 2575.-2577. p.
 109. Jin J., Zhang Z., Ma H., et. al. Surface modification of spherical magnesium oxide with ethylene glycol// *Mater. Lett.* – 2009. – Vol.63. – 1514.-1516. p.
 110. Zaki M.I. Influence of phosphonation and phosphorylation on surface acid-base and morphological properties of CaO as investigated by in situ FTIR spectroscopy and electron microscopy// *J. Colloid. Interf. Sci.* – 2006. – Vol.303. – 9.-17. p.
 111. Ji G., Zhu H., Jiang X., et. al. Mechanical Strength of Epoxy Resin Composites Reinforced by Calcined Pearl Shell Powders// *J. Appl. Polym. Sci.* – 2009. - Vol.114. – 3168.-3176. p.
 112. Skibsted J., Hall C. Characterization of cement minerals, cements and their reaction products at the atomic and nano scale// *Cement Concrete Res.* – 2008. – Vol.38. – 205.-225. p.

113. ASTM Standard F1609 (2003), Standard specification for Calcium Phosphate Coatings for Implantable Materials.
114. Garbuz V.V., Dubok V.A., Kravchenko L.F., et. al. Analysis of the Chemical Composition of a Bioceramic Based on Hydroxyapatite and Tricalcium Phosphate// Powder Metall. Met. Ceram. - 1998. – Vol.37. – 193.-195. p.
115. Волженский А.В., Буров Ю.С, Колокольников В.С. Минеральные вяжущие вещества: технология и свойства. – Москва: Стройиздат, 1979. – 476 с.
116. Yoshida K., Kobayashi M., Hyuga H., et. al. Reaction sintering of β -tricalcium phosphate and their mechanical properties// J. Eur. Ceram. Soc. – 2007. - Vol.27. – 3215.-3220. p.
117. Sung Y.-M., Lee J.-C., Yang J.-W. Crystallization and sintering characteristics of chemically precipitated hydroxyapatite nanopowder// J. Cryst. Growth. – 2004. – Vol.262. – 467.-472. p.
118. *Mineralogy Database: Lime Mineral Data / Internets.* – <http://webmineral.com/data/Lime.shtml>
119. Wang A., Yin H., Liu D., et. al. Effects of organic modifiers on the size-controlled synthesis of hydroxyapatite nanorods// Appl. Surf. Sci. – 2007. – Vol.253. – 3311.- 3316. p.
120. Kuriakosea T.A., Kalkuraa S.N., Palanichamyc M., et. al. Synthesis of stoichiometric nano crystalline hydroxyapatite by ethanol-basedsol–gel technique at low temperature// J. Cryst. Growth. – 2004. – Vol.263. – 517.-523. p.
121. Sun Y., Guo G., Wang Z. Synthesis of single-crystal HAP nanorods// Ceram. Int. – 2006. - Vol.32. – 951.-954. p.
122. Lioua S.-C., Chena S.-Y., Lee H.-Y., et. al. Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders// Biomaterials. – 2004. - Vol.25. – 189.-196. p.
123. Van der Houwen J.A.M., Cressey G., Cressy B.A., et. al. The effect of organic ligands on the crystallinity of calcium phosphate// J. Cryst. Growth. – 2003.- Vol.249(3–4). – 572.–583. p.
124. Montazeri N., Jahandideh R., Biazar E. Synthesis of fluorapatite–hydroxyapatite nanoparticles and toxicity investigations// Int. J. Nanomed. – 2011. – Vol.6. – 197.-201. p.
125. Kannan S., Lemos I.A.F., Rocha J.H.G., et. al. Synthesis and characterization of magnesium substituted biphasic mixtures of controlled hydroxyapatite/ β -

- tricalcium phosphate ratios// *J. Solid State Chem.* – 2005. – Vol.178. – 190.-196. p.
126. Ślósarczyk A., Paszkiewicz Z., Paluszkiewicz C. FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods// *J. Mol. Struct.* – 2005. – Vol.(744-747). – 657.-661. p.
127. Destainville A., Champion E., Bernache-Assollant D. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate// *Mater. Chem. Phys.* – 2003. – Vol.80. – 269.-277. p.
128. Kannan S., Ventura J.M.G., Ferreira J.M.F. Synthesis and thermal stability of potassium substituted hydroxyapatites and hydroxyapatite/b-tricalciumphosphate mixtures// *Ceram. Int.* – 2007. – Vol.33. – 1489.-1494. p.
129. Lazić S., Zec S., Miljević N., et. al. The effect of temperature on the properties of hydroxyapatite precipitated from calcium hydroxide and phosphoric acid// *Thermochim. Acta.* – 2001. – Vol.374. – 13.-22. p.
130. Kannan S., Goetz-Neunhoeffler F., Neubauer J., et. al. Synthesis and structural characterization of strontium - and magnesium-co-substituted b-tricalcium phosphate// *Acta Biomater.* – 2010. – Vol.6. – 571.-576. p.
131. Yubao L., Klein C.P.A.T., Xingdong Z., et. al. Formation of a bone apatite-like layer on the surface of porous hydroxyapatite ceramics// *Biomaterials.* – 1994. – Vol.15. – 835.-841. p.
132. Chai C., Ben-Nissan B. Hydroxyapatite – Thermal Stability of Synthetic Hydroxyapatites// *International Ceramic Monographs.* – 1994. - Vol.1. - 79.-85. p.
133. Liao C.J., Lin F.-H., Chen K.-S., et. al. Thermal decomposition and reconstitution of Hydroxyapatite in air atmosphere// *Biomaterials.* – 1999. - Vol.20. – 1807.-1813. p.
134. Lu H., Ou Z., Zhou Y. Preparation and mechanical properties of dense polycrystalline hydroxyapatite through freeze-drying// *J. Mater. Sci. Mater. M.* – 1999. – Vol.9. – 583.-587. p.
135. Markovic M., Fowler B.O., Tung M.S., et. al. Preparation and Comprehensive Characterization of a Calcium Hydroxyapatite Reference Material// *J. Res. Natl. Inst. Stan. Technol.* - 2004. - Vol.109. – 553.-568. p.

136. Hatzistavrou E., Chatzistavrou X., Papadopoulou L., et. al. Characterisation of the bioactive behaviour of sol–gel hydroxyapatite–CaO and hydroxyapatite–CaO–bioactive glass composites// *Mater. Sci. Eng., C.* – 2010. –Vol.30. – 497.-502. p.
137. Meng Y.H., Tang C.Y., Tsui C.P., et. al. Fabrication and characterization of needle-like nano-HA and HA/MWNT composites// *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2008. – Vol.19. – 75.–81. p.
138. Goldstein J.I., Newbury D.E., Echlin P., et. al. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis.* - New York: Plenum Press, 1994. - 689 p.
139. Zhu X.D., Zhang H.J., Fan H.S., et. al. Effect of phase composition and microstructure of calcium phosphate ceramic particles on protein adsorption// *Acta Biomater.* – 2010. - Vol. 6. - 1536.-1541. p.
140. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration// *Eur. Spine. J.* – 2001. – Vol.10. - S96.–S101. p.
141. Li X., van Blitterswijk C.A, Feng Q., et. al. The effect of calcium phosphate microstructure on bone-related cells in vitro// *Biomaterials.* – 2008. - Vol. 29. - 3306.-3316. p.
142. Calcium Phosphate (Ca-P) Coating Draft Guidance for Preparation of FDA Submissions for Orthopaedic and Dental Endosseous Implants// U.S. Food and Drug Administration. – 1992.
143. Yubao L., Klein C.P.A.T., Xingdong Z., et. al Relationship between the colour change of hydroxyapatite and the trace element manganese// *Biomaterials.* – 1993. – Vol.14. - 969–972. p.
144. Mayer I., Cuisinier F.J.G., Gdalya S., et. al. TEM study of the morphology of Mn²⁺-doped calcium hydroxyapatite and b-tricalcium phosphate// *J. Inorg. Biochem.* – 2008. – Vol.102. – 311.-317. p.
145. Ito A., Ojima K., Naito H., et. al. Preparation, solubility, and cytocompatibility of zinc-releasing calcium phosphate ceramics// *J. Biomed. Mater. Res.* – 2000. – Vol.50. – 178.–183. p.
146. Ito A., Kawamura H., Otsuka M., et al. Zinc-releasing calcium phosphate for stimulating bone formation// *Mater. Sci. Eng.* – 2002. – Vol.C22. – 21.–25. p.
147. Tang Y., Chappell H.F., Dove M.T., et. al. Zinc incorporation into hydroxylapatite// *Biomaterials.* – 2009. - Vol.30. – 2864.–2872. p.

148. Danilchenko S.N., Kukhareno O. G., Moseke C., et. al. Determination of the Bone Mineral Crystallite Size and Lattice Strain from Diffraction Line Broadening// Cryst. Res. Technol. – 2002. – Vol.37(11). - 1234–1240. p.
149. Monmaturapoj N. Nano-size Hydroxyapatite Powders Preparation by Wet-Chemical Precipitation Route// J. Min. Met. Mat. – 2008. – Vol.18(1). – 15.-20. p.