

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**HIDROKSILAPATĪTI AR DAŽĀDĀM  
KALCIJA/FOSFORA MOLĀRAJĀM ATTIECĪBĀM**

MAĢISTRA DARBS

Autore: **Laura Komarovska**

Studenta apliecības Nr.: lk10068

Darba vadītājs: Dr. Inž., asoc. prof. Kārlis Agris Gross

Dr. Ķīm., prof. Arturs Vīksna

RĪGA 2015

## ANOTĀCIJA

**Hidroksilapatīti ar dažādām kalcija/fosfora molārajām attiecībām.** Komarovska L., zinātniskie vadītāji: Dr. Inž., asoc. prof. Gross K. A., Dr. Ķīm., prof. Vīksna, A. Maģistra darbs, 63 lappuses, 23 attēli, 24 tabulas, 56 literatūras avoti, 5 pielikumi. Latviešu valodā.

Darbā apkopota informācija par kalcija fosfātu īpašībām un to izmantošanu. Aprakstīta izmantotā aparatūra un tās darbības principi. Eksperimentālajā daļā veiktas hidroksilapatītu sintēzes ar dažādām kalcija/fosfora molārajām attiecībām, izmantojot nogulsnešanas metodi. Iegūto pulveru kvalitatīvais sastāvs raksturots ar pulvera rentgendifraktometriju un Furjē transformācijas infrasarkano spektroskopiju. Hidroksilapatītu kvantitatīvais sastāvs noteikts ar liesmas atomabsorbciometriju, spektrofotometriju un kompleksonometriju.

HIDROKSILAPATĪTI, KALCIJA/FOSFORA MOLĀRĀ ATTIECĪBA, RENTGENDIFRAKTOMETRIJA, INFRASARKANĀ SPEKTROSKOPIJA, LIESMAS ATOMABSORBCIOMETRIJA; SPEKTROFOTOMETRIJA, KOMPLEKSONOMETRIJA.

## ABSTRACT

**Hydroxylapatite with variable calcium/phosphorus molar ratio.** Komarovska L., scientific supervisors: Dr. Ing. asoc. prof. Gross K. A., Dr.chem., prof. Vīksna, A. Master's thesis, 63 pages, 23 figures, 24 tables, 56 literature references, 5 appendix. In Latvian.

Information about preparation and uses, as well as, properties of calcium phosphates has been studied in this work. Information about basic principles of methods used was also summarized. The experimental work includes synthesis of hydroxyapatites with variable calcium/phosphorus molar ratio. Inclusion was achieved with precipitation method. Synthesized powders qualitative analysis were carried out by powder X-ray diffraction and Fourier –transformation infrared spectroscopy. Quantitative composition was characterized by flame atomic absorption spectrometry, spectrophotometry and complexonometry.

HYDROXYLAPATITE, CALCIUM/PHOSPHORUS MOLAR RATIO, X-RAY DIFFRACTOMETRY, INFRARED SPECTROSCOPY, FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY, SPECTROPHOTOMETRY, COMPLEXONOMETRY.

# SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS .....	6
IEVADS .....	7
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	8
1.1 Kalcija fosfāti.....	8
1.2 Hidroksilapatīts (HAp) .....	9
1.3 Amorfs kalcija fosfāts (ACP) .....	10
1.4 Ca/P molārās attiecības ietekme uz kalcija fosfātu veidošanos .....	12
1.5 Hidroksilapatītu sintēzes metodes .....	14
1.6 Pulvera rentgendifraktometrija (PXR) .....	16
1.7 Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (FT-IR).....	18
1.8 Hidroksilapatītu ķīmiskā sastāva raksturošana .....	20
1.9 Liesmas atomabsorbcimetrija (FAAS) .....	21
1.10 Darbā lietoto metožu salīdzinājums.....	23
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA .....	24
2.1 Izmantotā aparatūra un reaģenti.....	24
2.2 HAp sintēze - nogulsnešanas metode .....	25
2.3 Sintezēto produktu raksturošana ar PXR un <i>Rietveld</i> metodēm .....	27
2.4 Paraugu analīze ar FT-IR un IR spektru dekonvolūcija .....	27
2.5 Spektrofotometriska fosfora jonu noteikšana .....	28
2.6 Kompleksonometriska kalcija jonu noteikšana .....	30
2.7 Kalcija daudzuma noteikšana ar FAAS gaisa-acetilēna liesmā.....	32
2.8 Kalcija daudzuma noteikšana ar FAAS slāpekļa(I) oksīda-acetilēna liesmā ..	35
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS.....	39
3.1 Paraugu kvalitātes novērtējums ar PXR metodi un <i>Rietveld</i> analīzi.....	39
3.2 Paraugu karsēšanas veidu salīdzinājums .....	45
3.3 HAp paraugu raksturošana ar FT-IR spektroskopiju.....	47

3.4	FT-IR spektru dekonvolūcija .....	49
3.5	Spektrofotometriska fosfora jonu noteikšana paraugos .....	51
3.6	Kompleksonometriska kalcija jonu noteikšana HAp paraugos .....	53
3.7	Kalcija daudzuma noteikšana ar FAAS .....	54
3.8	Kalcija noteikšanas metožu salīdzinājums.....	55
3.9	Iegūto kalcija/fosfora molāro attiecību izvērtējums .....	56
SECINĀJUMI.....		58
IZMANTOTĀ LITERATŪRA.....		59
PIELIKUMI .....		64
1.pielikums <i>Rietveld</i> analīzes dati .....		
2.pielikums Hidroksilapatītu FT-IR spektri .....		
3.pielikums FT-IR spektru dekonvolūcija .....		
4.pielikums Kalcija noteikšanas metožu salīdzinājums .....		
5.pielikums Konfernces tēzes.....		

## APZĪMĒJUMU SARAKSTS

**ACP** – amorfs kalcijs fosfāts (*amorphous calcium phosphate*);

**FAAS** – liesmas atomabsorbciometrija (*Flame atomic absorption spectrometry*);

**FAAS (Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)** – liesmas atomabsorbciometrija, kā gāzes izmantojot gaisu-acetilēnu;

**FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)** – liesmas atomabsorbciometrija, kā gāzes izmantojot slāpekļa(I) oksīdu-acetilēnu;

**FT-IR** – Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (*Fourier –transformation infrared spectroscopy*);

**HAp** – hidroksilapatīti;

**HAp<sub>1,8</sub>** – hidroksilapatīts ar kalcijs/fosfora molāro attiecību 1,8;

**HAp<sub>2,0</sub>** – hidroksilapatīts ar kalcijs/fosfora molāro attiecību 2,0;

**HAp<sub>2,2</sub>** – hidroksilapatīts ar kalcijs/fosfora molāro attiecību 2,2;

**HAp<sub>2,4</sub>** – hidroksilapatīts ar kalcijs/fosfora molāro attiecību 2,4;

**HAp<sub>2,6</sub>** – hidroksilapatīts ar kalcijs/fosfora molāro attiecību 2,6;

**HAp<sub>2,8</sub>** – hidroksilapatīts ar kalcijs/fosfora molāro attiecību 2,8;

**IR** – infrasarkanais starojums (*Infrared radiation*);

**KM** – kompleksonometrija;

**PXRD** – pulvera rentgendifraktometrija (*Powder X-Ray Diffraction*);

**SP** – spektrofotometrija.

## IEVADS

Mūsdienās arvien palielinās interese par kalcija fosfora minerāliem. Vieni no populārākajiem fosfora minerāliem ir apatīti, tieši, hidroksilapatīti. Tie ir izpelnījušies uzmanību ar to, ka dabiskais kalcija hidroksilapatīts ir galvenā mūsu kaulu un zobu sastāvdaļa, līdz ar to tā sintētiskais analogs ir bioloģiski savienojams ar mūsu organismu.

Hidroksilapatīts - viens no visplašāk pētītajiem un arī lietotajiem implantu materiāliem ir hidroksilgrupu ietverošs kalcija fosfāts, kura Ca/P molārā attiecība ir 1,67. Ca/P molārā attiecība ir viens no galvenajiem kalcija fosfātus raksturojošajiem lielumiem. Tās ietekmi uz hidroksilapatītu īpašībām ir pētījuši daudzi zinātnieki, tomēr vēl joprojām nav pilnīgi izprasta Ca/P molārās attiecības ietekme uz hidroksilapatītu pulveru īpašībām un raksturojumu [1].

Ir zināms, ka hidroksilapatīti ar kalcija deficītu var veidoties, ja Ca/P molārā attiecība ir mazāka par 1,67. Mazāk pētīti ir hidroksilapatīti ar kalcija pārākumu. Šī pētījuma mērķis ir noskaidrot vai ir iespējams sintezēt hidroksilapatītus ar paaugstinātu kalcija daudzumu un cik daudz kalcija var iekļauties hidroksilapatīta struktūrā. Sintezējot hidroksilapatītu kā sākotnēja fāze veidojas amorfs kalcija fosfāts, kuru, karsējot paaugstinātā temperatūrā, iegūst kristālisku fāzi. Līdzīgs process noris arī dabā, kur veidojas abas iepriekš minētās fāzes.

Šobrīd visā pasaulē notiek dažādi hidroksilapatītu pētījumi. Arī Latvijā hidroksilapatītu, kā inovatīvu biomedicīnas materiālu, pētījumi ietilpst valsts prioritārajos zinātnes virzienos [2].

**Maģistra darba mērķis:** Sintezēt hidroksilapatītus ar dažādām kalcija/fosfora molārajām attiecībām un raksturot iegūto pulveru kvantitatīvo sastāvu un kvalitāti.

### **Darba uzdevumi:**

1. Sintezēt amorfās fāzes hidroksilapatītus ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām, izmantojot nogulsnešanas metodi, un izvērtēt metodes piemērotību;
2. Pārlicināties par sintezēto produktu kvalitāti, izmantojot pulvera rentgendifraktometriju un Furjē transformācijas infrasarkanu spektroskopiju;
3. Noteikt sintezēto hidroksilapatītu kvantitatīvo sastāvu, izmantojot spektrofotometrijas, liesmas atomabsorbciometrijas un kompleksonometriskās titrēšanas metodes;
4. Izvērtēt karsēšanas veidu piemērotību hidroksilapatītu, ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām, iegūšanai.

Maģistra darbā iegūtie rezultāti aprobēti starptautiskā konferencē 8<sup>th</sup> Conference of Scandinavian Society for Biomaterials, kas notika Siguldā 2015. gada 6.-8. maijā.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1 Kalcija fosfāti

Kalcija fosfāti ir ķīmiskie savienojumi, kuri izraisa īpašu interesi daudzās interdisciplinārās nozarēs kā ģeoloģija, ķīmija, bioloģija un medicīna. Pēc literatūras datiem pirmos pētījumus kalcija fosfātu ķīmiskā sastāva noteikšanā veica *J. Berzelius* 19.gs. vidū. Savukārt pirmos sistemātiskos pētījumus 20.gs. sākumā veica *F.K. Cameron* un *H. Bassett*. Abi pētnieki strādāja ar dažādiem kalcija fosfātu ķīmiskajiem savienojumiem, kurus līdz tam brīdim dēvēja par apatītiem.

Pēc definīcijas visi kalcija fosfāti pamatā sastāv no trīs galvenajiem ķīmiskajiem elementiem: kalcija (oksidēšanās pakāpe +2), fosfora (oksidēšanās pakāpe +5) un skābekļa (oksidēšanās pakāpe -2). Skābeklis ir visizplatītākais ķīmiskais elements - uz zemes ir 47 masas % skābekļa. Kalcijs ierindojies piektajā vietā (3,3 – 3,4 masas %) un fosfors (0,08 – 0,12 masas %) ir divdesmit visizplatītāko elementu sarakstā uz mūsu planētas [3, 4].

Daudzu kalcija fosfātu sastāvā ir ūdeņradis kā daļa no skābajiem fosfāta anjoniem (piemēram,  $\text{HPO}_4^{2-}$  vai  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), hidroksīda (piemēram,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) un/vai ūdens (piemēram,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Dažādas CaO un  $\text{P}_2\text{O}_5$  kombinācijas veido plašu kalcija fosfātu klāstu, kuri atšķiras pēc fosfāta anjona tipa: orto- $(\text{PO}_4^{3-})$ , meta- $(\text{PO}_3^-)$ , piro- $(\text{P}_2\text{O}_7^{4-})$  un poli- $(\text{PO}_3)_n^{n-}$ . Kalcija fosfātus var iedalīt arī pēc anjonam piesaistīto ūdeņraža jonu skaita, piemēram, mono- $(\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2)$ , di- $(\text{CaHPO}_4)$ , tri- $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$  un tetra- $(\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7)$  kalcija fosfāti.

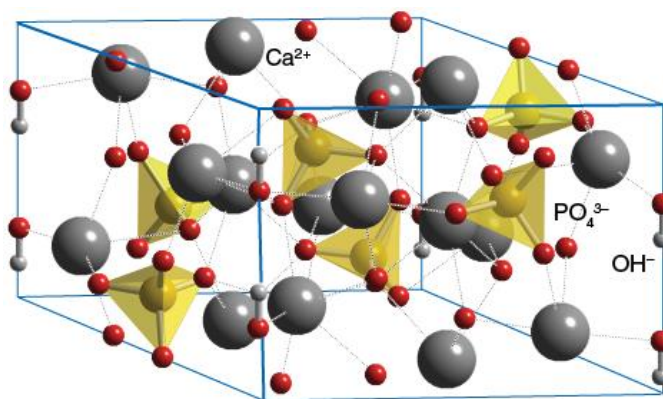
Visi sintētiskie kalcija fosfāti ir baltas, kristāliskas vielas, turpretī, dabīgie minerāli vienmēr ir krāsaini, jo to sastāvā ir dažādi piemaisījumi, no kuriem visizplatītākie ir dzelzs, mangāns un retzemju elementi [3].

Kalcija fosfātiem mūsdienās ir ļoti plašs pielietojums. Bioloģiskiem mērķiem tos izmanto dažādu lūzumu ārstēšanai, kaulu defektu aizpildīšanai, kaulu pastiprināšanai un implantēšanai. Savienojumi, kuru Ca/P molārā attiecība ir mazāka par 1, nav piemēroti bioloģiskajiem mērķiem, jo tiem ir augsta šķīdība [5]. Īpaša interese kā par implantēšanas materiāliem, metāliskajiem pārklājumiem un abrazīvajām vielām zobārstniecībā galvenokārt ir par trikalcijs fosfātu (TCP), hidroksilapatītu (HAp) un kalcija pirofosfātu. Lielāka uzmanība tiek pievērsta tieši HAp, jo tas ir visstabilākais ūdenī [6].

## 1.2 Hidroksilapatīts (HAp)

Hidroksilapatīts (HAp) ir neorganisks savienojums, kas ir plaši izplatīts dabā. Tas ir galvenā sastāvdaļa mugurkaulnieku cietajos audos, kaulos. HAp ir vispiemērotākais biomateriāls implantēšanai, jo HAp ir raksturīga bioloģiska saderība un bioloģiski aktīvas īpašības, lai veicinātu kaulaudu veidošanos ap implantu. To kā biomateriālu izmanto ortopēdijā un zobārstniecībā [7 - 9]. HAp ir ļoti plašs pielietojums biokeramikā, hromatogrāfijā kā adsorbents, skābju un bāzu katalizators, antibakteriāla sastāvdaļa zobupastās un pārklājumos uz metāliem vai silīcija substrātiem, pildviela polimēru matricām. HAp ir otrs stabilākais un mazāk šķīstošais kalcija fosfāts aiz fluorapatīta [3, 5, 7].

Pirmoreiz, 1964. gadā, detalizēti aprakstīja HAp struktūru, 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. HAp atomu izkārtojums kristālrežģī ir balstīts uz  $\text{PO}_4^{3-}$  grupu tetraedra pamatnes, kas nodrošina struktūras stabilitāti [3]. HAp telpiskā uzbūve redzama 1.1. attēlā.



1.1. att. Hidroksilapatīta telpiskā uzbūve [10]

Vispārīgi ar jēdzienu „apatīti” apzīmē salīdzinoši lielu fosfātu minerālu grupu. Minerāla nosaukums „apatīts” cēlies no grieķu valodas vārda „*apate*”, kas nozīmē „krāpšana”. Tas skaidrojams ar to, ka minerāls bija atrodams dažādās krāsās, tādēļ to bieži kļūdaini uzskatīja par vērtīgu minerālu kā akvamarīns vai ametists. Šādas izmaiņas apatītā ir iespējamas, jo tā struktūrā spēj iesaistīties dažādi joni, kā rezultātā apatīts var mainīt krāsu [11].

Vispārējā apatīta ķīmiskā formula ir  $\text{Me}_{10}(\text{XO}_4)_6\text{Y}_2$ , kur Me apzīmē ar divlādiņa metāla katjoniem, piemēram,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ;  $\text{XO}_4$  - ar trīslādiņa anjoniem kā piemēram  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{VO}_4^{3-}$  un Y – ar vienlādiņa anjonu, piemēram,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ . Apatīta sastāvā var iekļaut daudzus citus jonus, kā piemēram, katjonu var daļēji aizvietot ar trīslādiņa katjonu, piem.,  $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ , divlādiņa katjonu, piem.,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  vai vienlādiņa katjoniem kā  $\text{Na}^+$  un  $\text{K}^+$ . Trīslādiņa anjonu var daļēji aizvietot ar divlādiņa vai četrslādiņa anjoniem, piemēram

$\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  vai  $\text{SiO}_4^{4-}$ . Vienlādiņa anjonu Y var daļēji aizstāt ar divlādiņa anjonu  $\text{CO}_3^{2-}$  vai  $\text{O}^{2-}$  vai vienlādiņa anjonu Cl, F. Jonu maiņa var ietekmēt režģa parametrus, morfoloģiju, kristalizāciju, šķīdību un termisko stabilitāti [3, 12].

*Raquel LeGeros* 1960. gadā bija pirmā, kura aizsāka karbonātu hidroksilapatītu raksturošanu biomedicīniskiem mērķiem. Kopš šiem pētījumiem, tas ir kļuvis par visplašāk pētīto sintētiski aizvietoto HAp, galvenokārt tāpēc, ka karbonātjoni ir dabīgā kaula sastāvā (3-8 masas %) [12, 13]. Karbonātjoni ir plaši sastopami sārmainā vidē, un visplašāk zināmais karbonātu minerāls ir kalcīts,  $\text{CaCO}_3$ , kas var darboties kā fosfātu saistviela. Joprojām tiek pētīta karbonātu loma kalcija fosfātu veidošanās procesā [14]. Ir iespējama divu veidu aizvietošana ar karbonātjoniem, tie var iesaistīties  $\text{OH}^-$  grupas vietā (A tipa karbonāti) un/vai  $\text{PO}_4^{3-}$  grupas vietā (B tipa karbonāti). Abos gadījumos aizvietošanās ietekmē kristalogrāfiskos režģa parametrus. Pierādīts, ka ar karbonātjoniem aizvietoti sintētiskie HAp ir piemērotāki implantēšanai nekā tīri sintētiskie HAp [12, 15, 16].

Neskatoties uz ievērojamiem sasniegumiem ortopēdijā un zobu ķirurģijā, ideāls kaulu implanta materiāls vēl nav atrasts un pierādīts, tādēļ turpinās hidroksilapatītu pētījumi, lai atrastu vispiemērotāko materiālu [12].

### 1.3 Amorfs kalcija fosfāts (ACP)

ACP ir viena no visbiežāk sastopamajām kalcija fosfātu minerālu formām bioloģiskajā organismā. Tas ir atrodams eikariotu šūnu mitohondrijos un prokariotu šūnās, kā arī ACP joprojām tiek uzskatīts par prekursoru mugurkaulnieku kauliem [17].

ACP ir nozīmīga loma cilvēka organismā, jo to var izmantot kā starpfāzi kalcija fosfātu veidošanā. ACP veidošanās un pārveidošanās par stabilāko formu, HAp, ir pielīdzināms bioloģiskā apatīta veidošanās procesam organismā un tā pārveidošanās procesam cilvēka dzīves laikā [18]. Cilvēka organismā, palielinoties cilvēka vecumam, pieaug kaulu kristāliskuma pakāpe. Jaundzimušajiem un zīdaiņiem kaulu kristāliskuma pakāpe ir zemāka, un, līdz ar to, kauli ir elastīgāki un izturīgāki pret lūzumiem. Galvenā ACP priekšrocības ir to spēja vieglāk pielāgoties, jo vēl nav izveidojusies stabila struktūra [19, 20].

ACP ir sākotnējā fāze, kas izgulsnējas no pārsātinātiem šķīdumiem, sajaucot kopā kalcija jonus un fosfātjonus saturošus šķīdumus. Sākotnējā fāze veidojas ACP, jo tai ir zemāka virsmas enerģija nekā oktakalcija fosfātiem un apatītiem. Stabilitāti un ķīmisko sastāvu ūdens šķīdumos ietekmē reaģentu sākotnējās koncentrācijas, citu jonu vai molekulu klātbūtne, šķīduma pH un temperatūra [3].

ACP ir plaši sastopams dabā, kur tas veidojas ūdens vidē, savukārt, sintētiskās apstrādes ceļā to galvenokārt var iegūt divos veidos: ūdens šķīdumā zemā temperatūrā (*wet route*) vai izmantojot augstas enerģijas pārstrādes metodes augstā temperatūrā (*dry route*). Atkarībā no izvēlētajām metodēm un sintēzes apstākļiem (pH, pārsātināšana u.c.) ACP Ca/P molārā attiecība var svārstīties no 1 līdz 2, vai pat augstāk [17, 19].

Literatūrā ir atrodama informācija par ACP ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām. Visplašāk sastopamais un literatūrā aprakstītais ACP ir trikalcija fosfāts (TCP) ar ķīmisko formulu  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , kas iegūts sārmainā šķīdumā (pH diapazonā no 9 līdz 11) ar Ca/P molāro attiecību 1,5. Skābākos šķīdumos ACP var saturēt  $\text{HPO}_4^{2-}$  jonus nevis  $\text{PO}_4^{3-}$ , līdz ar to tam ir arī zemāka Ca/P molārā attiecība. ACP, kas ir iegūts ar attiecību 1,15, ir ļoti nestabils, tādēļ ātri kristalizējas par kalcija hidroģēnfosfāta dihidrātu (DCPD –  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Lai iegūtu ACP ar augstāku Ca/P molāro attiecību ( $\text{Ca/P} > 1,5$ ), HAp ir nepieciešams pievienot citus jonus, piemēram, karbonātionus vai skābekļa jonus [17].

Sintētisko ACP izmanto zobārstniecībā kā pildvielu un ķirurģijā kā bioaktīvu kompozītmateriālu, kā arī tas ir daudzu biomateriālu sastāvā, piemēram, metāliskajos endoprotezēšanas pārklājumos. ACP izmanto arī stikla un keramikas ražošanā, kā izejvielu vairāku organisko fosfātu iegūšanā [3, 6, 17]. ACP galvenās pielietojšanas iespējas apkopotas 1.1. tabulā.

1.1. tabula

ACP lietošanas iespējas [17]

<b>Materiāla veids</b>	<b>Pielietojums</b>	<b>Funkcionalitāte</b>
Jonu cementi	Kaulu aizvietotāji; Zobu implantanti	Cietinātājs; Virsmas aktivitāte
Pārklājumi	Protēžu pārklājumi	Bioloģiskā saderība
Mīnerālie-organiskie pārklājumi	Zobu, emaljas remineralizācija; Kaulu aizvietotāji	Mehāniskās īpašības; Bioloģiskā aktivitāte

ACP zemā stabilitāte (tie ir termiski nestabili savienojumi) ir liela problēma to ražošanai, uzglabāšanai un pārstrādei, kas ierobežo biomateriālu attīstību. Pētījumi turpinās, jo ACP kā biomateriālam ir plašs pielietojums pārklājumos, tam piemīt augsta bioloģiskā aktivitāte un saķere [17, 20].

#### 1.4 Ca/P molārās attiecības ietekme uz kalcija fosfātu veidošanos

Ternārajās sistēmās  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  (vai  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$ ) ir zināmi vienpadsmit kalcija fosfāti ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām. Kalcija fosfātu bioloģiskās un mehāniskās īpašības lielā mērā ir atkarīgas no to ķīmiskā sastāva. Svarīgākie kalcija fosfātus raksturojošie lielumi ir Ca/P molārā attiecība, skābums/bāziskums un šķīdība [13, 15, 21, 22]. Šie parametri ir atkarīgi no šķīduma pH – jo zemāka Ca/P molārā attiecība, jo kalcija fosfāts ir šķīstošāks. Var novērot, ka šķīdība svārstās no augstām vērtībām, kā, piemēram, kalcija dihidrogēnfosfāta monohidrāta, MCPM, gadījumā, līdz zemām vērtībām sārmaināku šķīdumu gadījumā kā, piemēram, HAp un fluorapatīta, FAp [3, 4].

Kalcija fosfātu minerāli, kurus pēta saistībā ar to izmantošanas iespējām bioloģiski saderīgu materiālu izveidē, apkopoti 1.2. tabulā.

1.2. tabula

Plašāk pētītie kalcija fosfātu minerāli ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām [4, 13, 22]

Kalcija fosfāts	Ķīmiskā formula	Ca/P molārā attiecība	Šķīdība ūdenī, 25°C, $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Kalcija dihidrogēnfosfāta monohidrāts, MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,5	~18
Kalcija hidrogēnfosfāta dihidrāts, DCPD	$\text{CaHPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	~0,088
Oktakalcija fosfāta pentahidrāts, OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	~0,0081
Alfa - trikalcija fosfāts, $\alpha$ -TCP	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0,0025
Beta - trikalcija fosfāts, $\beta$ -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0,0005
HAp ar kalcija deficītu, CDHAp	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ( $0 < x < 1$ )	1,50 – 1,67	~0,0094
Hidroksilapatīts, HAp	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	~0,0003

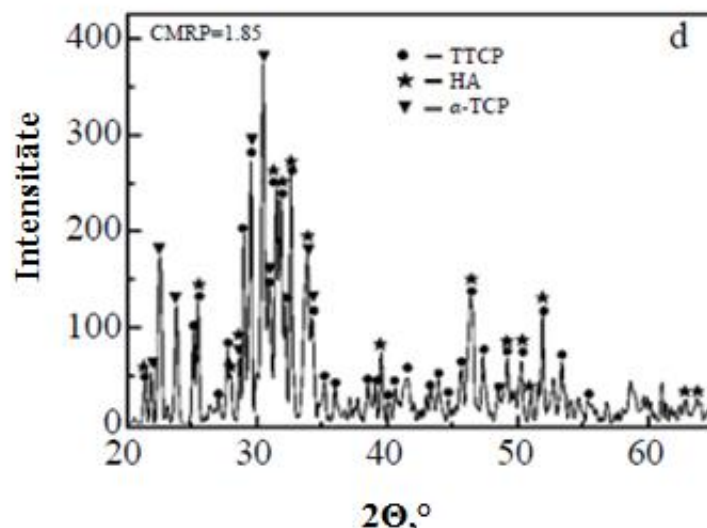
Kalcija fosfāts	Ķīmiskā formula	Ca/P molārā attiecība	Šķīdība ūdenī, 25°C, g·L <sup>-1</sup>
Fluorapatīts, FAp	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	1,67	~0,0002
Tetrakalcija fosfāts, TTCP	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	2,0	~0,0007
Amorfs kalcija fosfāts, ACP	Ca <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>y</sub>	1,2 – 2,5	~30

Tīra HAp sastāvs ir 39,68 % kalcija, 18,45 % fosfora; Ca/P molārā attiecība ir 1,67. Molārās attiecības ietekme uz HAp īpašībām joprojām tiek pētīta. Tā ietekmē HAp sadalīšanos, fāžu pārveidošanos un termisko stabilitāti. Tomēr ir samērā maz pētījumu par fāžu sastāva maiņu, ko ietekmē Ca/P molārās attiecības izmaiņas [23, 24].

Pie zemas Ca/P molārās attiecības (Ca/P < 1,50) galvenie reakcijas produkti ir kalcija pirofosfāts, Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, α-TCP un β-TCP, kā arī var veidoties bezūdens kalcija hidroģēnfosfāts, CaHPO<sub>4</sub>. Blakusfāzes, α-TCP un β-TCP, var veidoties arī, ja Ca/P molārā attiecība ir robežās no 1,5 līdz 1,67. Palielinoties Ca/P molārajai attiecībai (Ca/P > 1,50) galvenokārt veidojas α-TCP un HAp. Ja Ca/P molārā attiecība ir augstāka par 1,67, tad kā piemaisījumi parādās TTCP, Ca(OH)<sub>2</sub> un CaO [9, 12].

Blakusfāžu veidošanās HAp, kurus ir paredzēts izmantot bioloģiskiem mērķiem, var negatīvi ietekmēt bioloģisko reakciju ar kaulu [9, 25]. Lai gan α-TCP, β-TCP, TTCP un HAp ir laba bioloģiskā saderība un bioloģiskā aktivitāte, tomēr to šķīdība ķermeņa šķidrumā atšķiras (TTCP > α-TCP > β-TCP >> HAp). Ja pārklājuma materiālā ir liels daudzums TTCP un TCP, tad paātrināsies pārklājuma izšķīšana, var notikt resorbcija vai pārklājuma noārdīšanās. Lai uzlabotu pārklājuma materiāla stabilitāti, pārklājumam galvenokārt ir jā sastāv no HAp [25].

Lielākoties ir pētīta Ca/P molārā attiecība, kas ir mazāka par 1,67 (HAp ar kalcija deficītu), tomēr zinātnieki Xiaowei, Xin un Taihong ir atklājuši, ka sasniedzot Ca/P molāro attiecību 1,85, HAp pēc karsēšanas sāk parādīties blakusfāzes – TTCP un α-TCP, tomēr galvenokārt pulveris sastāv no HAp un TTCP (skatīt 1.2. attēlu). Literatūrā tiek minēts, ka TTCP daudzums strauji palielinās - palielinoties Ca/P molārajai attiecībai. To novēro rentgendifraktogrammās - strauji palielinās TTCP signāls [23 - 26].



1.2. att. Hidroksilapatīta (Ca/P = 1,85) un tā blakusfāžu rentgendifraktogramma [25]

Sākotnējā Ca/P molārā attiecība šķīdumā var ietekmēt reakcijas ātrumu un nogulsņu morfoloģiju, tomēr ir veikti samērā maz pētījumi par Ca/P molārās attiecības ietekmi uz HAp kristalizāciju. Tiek lēsts, kad daļiņu izmērs un morfoloģija būtiski nemainās, mainoties Ca/P molārajai attiecībai [27]. Pētījumā par amorfu HAp Ca/P molārajām attiecībām no 1,5 līdz 2,0, zinātnieki *Kim, Ryu, Jung* un *Hong* atklāja, ka palielinoties Ca/P molārajai attiecībai paātrinās kristāliskās fāzes veidošanās, tādējādi var samazināties arī kristalizācijas temperatūra, jo HAp kristalizējas ātrāk. Tas ir izskaidrojams ar to, ka inkubācijas laiks HAp nukleācijas procesā samazinās, jo šķīdumā pastāv kalcija jonu pārākums, kas sekmē nukleācijas procesu [5].

Literatūrā ir atrodama informācija, ka Ca/P molārā attiecība ietekmē saišu stiprumu - palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, samazinās saišu izturība. Tomēr vēl joprojām nav pilnīgi izprasta Ca/P molārās attiecības ietekme uz HAp pulveru īpašībām un raksturojumu [25, 28].

## 1.5 Hidroksilapatītu sintēzes metodes

HAp var iegūt izmantojot dažādas sintēzes metodes, kuras tiek iedalītas divās lielās grupās: cietvielu un šķīdumu metodes, kas sevī ietver nogulsnešanas, hidrotermālās reakcijas, sola-gēla metodi un citu kalcija fosfātu hidrolīzi [9].

Cietvielu reakcijas balstās uz reaģentu kalcionēšanu 900°C – 1000°C temperatūrā. Citi kalcija fosfāti, piemēram, TCP, tiek sajaukti ar CaCO<sub>3</sub>, CaO vai Ca(OH)<sub>2</sub>, sapresēti un karsēti ūdens tvaikā paaugstinātā temperatūrā (skatīt 1.3. tabulā apskatītās „a” – d” reakcijas) [15].

Šķīdumu metodes ir salīdzinoši vienkāršākas un lētākas. Galvenie parametri, kas ir jāievēro šķīduma metodēs ir pH, temperatūra, šķīduma nobriedināšanas laiks un reaģentu pievienošanas ātrums. HAp kompozīcija ir ļoti jutīga pret sagatavošanas apstākļiem, jo tie ietekmē HAp fizikāli-ķīmiskās īpašības, kristālu izmērus un morfoloģiju [9, 15, 18, 21].

Izmantojot šķīdumu metodes, HAp var iegūt tiešās neitralizācijas reakcijā starp kalcija hidroksīdu un fosforskābes šķīdumu; izmantojot dubulto sadalīšanas metodi starp šķīstošajiem kalcija un fosfora sāļiem vai citu kalcija fosfātu hidrolīzes reakcijas, kurās kā izejvielas galvenokārt izmanto kalcija hidrogēnfosfāta dihidrātu un bezūdens kalcija hidrogēnfosfātu. Popularitāti ir guvušas arī sola-gēla un bezūdens metodes. Neitralizācijas reakcija ir piemērota rūpnieciskiem mērķiem, jo, izmantojot šo metodi, var izvairīties no citu blakusproduktu veidošanās. Dubultās sadalīšanas metode ir piemērota laboratoriskiem pētījumiem, kā arī to bieži izmanto rūpnieciskajā ražošanā. Hidrolīzes reakcijās ir nepieciešams liels ūdens daudzums un reakcijas gaitā var zaudēt daļu no fosfātiem [15].

Plašāk lietotās HAp sintēzes reakcijas uzskatāmi parādītas 1.3. tabulā. Vispopulārākās ir šķīdumu metodes [9, 15].

1.3. tabula

Plašāk lietotās HAp sintēzes reakcijas [4]

<i>Cietvielu reakcijas:</i>
a. $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
b. $3\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + 4\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 4\text{CO}_2$
c. $\text{CaHPO}_4 + 4\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{CO}_2$
d. $\text{CaCO}_3 + 3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + \text{CO}_2$
<i>Šķīdumu metodes reakcijas:</i>
e. $12\text{CaCl}_2 + 8\text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 2\text{CaHPO}_4 + 24\text{HCl}$
f. $10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6\text{KH}_2\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 6\text{KNO}_3 + 14\text{HNO}_3$
g. $10\text{Ca}(\text{OH})_2 + 6\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 18\text{H}_2\text{O}$
h. $10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 8\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{NO}_3 + 6\text{H}_2\text{O}$
i. $10\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_3 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 8\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{CH}_3\text{COONH}_4$
j. $10\text{CaCl}_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 8\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{Cl} + 6\text{H}_2\text{O}$
<i>Hidrotermiskās reakcijas:</i>
k. $10\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 4\text{H}_3\text{PO}_4$
l. $10\text{CaHPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 4\text{H}_3\text{PO}_4$

Ir veikti daudzi pētījumi par HAp veidošanos ūdens vidē bioloģiskai mineralizācijai un biomedicīnas materiāliem. HAp nogulsnes veidojas pārsātinātā, sārmainā vai neitrālā vidē. Sākotnēji izgulsnējas amorfā kalcija fosfāta (ACP) fāze, kas vēlāk pārveidojas uz stabilāku fāzi – oktakalcija fosfātu vai HAp. Kristalizācijas mehānisms precīzi nav zināms, tomēr daži pētnieki apgalvo, ka ACP izzūd HAp nukleācijas procesā [5, 29, 30], kamēr citi uzskata, ka kristalizācijas process ir balstīts uz iekšējo strukturālo pārkārtošanos [5, 31 - 33]. *Kim, Ryu* un *Shin* pētījumos novērots, ka HAp nukleācijas process notiek tieši ACP fāzē, no tā var secināt, ka iekšējais reorganizācijas process ir atbildīgs par ACP-HAp transformāciju un HAp kristalizāciju. Šis apgalvojums gan ir pretrunā ar viedokli par ACP izzušanu HAp nukleācijas procesā [5].

Sākotnēji ūdens vidē veidojas kalcija deficīts HAp, līdz ar to pārkāpumā esošajiem kalcija joniem ir tendence samazināt kalcija trūkumu HAp. Pētījumi turpinās, lai labāk izprastu lieko jonu ietekmi uz gala HAp kristāla sastāvu un HAp veidošanās procesu, it īpaši ar kalcija jonu pārkāpumu. Sintezējot HAp ar kalcija pārkāpumu ir svarīgi samazināt kalcija deficītu HAp [5].

Plaši pētīta ir nogulsnešanas metode, tā balstās uz *Rathje, Hayek* un *Newesely* izstrādātajām metodēm [15, 24].

*Rathje* reakcijā fosforskābi,  $H_3PO_4$ , pa pilienam pievieno kalcija hidroksīda suspensijai,  $Ca(OH)_2$ . Metode balstās uz neitralizācijas reakciju starp skābi un bāzi. Sintēze noris saskaņā ar 1.3. tabulā apskatīto „g” reakciju. Lai nodrošinātu HAp veidošanos, nepieciešams pievienot amonjaka ūdens šķīdumu,  $NH_3 \cdot H_2O$ , bāziskas vides uzturēšanai. Tehnoloģiskie parametri kā reaģentu pievienošanas ātrums un koncentrācija, maisīšanas veids un ātrums, suspensijas nobriedināšanas laiks, temperatūra sintēzes laikā un sintēzes beigu pH var būtiski ietekmēt iegūtā produkta īpašības.

*Hayek* un *Newesely* „apmaiņas metode” balstās uz reakciju starp kalcija nitrātu,  $Ca(NO_3)_2$ , un diamonija hidrogēnfosfātu,  $(NH_4)_2HPO_4$ , pievienojot  $NH_3 \cdot H_2O$  bāziskās vides uzturēšanai (skatīt 1.3. tabulā „h” reakciju). Metode ir jutīga pret reakcijas vides pH un katra reaģenta koncentrāciju. Ar *Hayek* un *Newesely* metodi ir iespējams iegūt augstas kvalitātes HAp produktu. Sintēzi veicot istabas vai zemākā temperatūrā, sākotnēji veidojas ACP, kuru vēlāk karsējot, iegūst kristālisku HAp [15, 24].

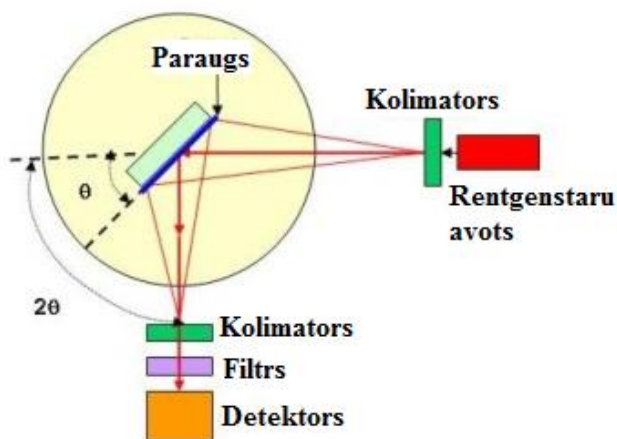
## 1.6 Pulvera rentgendifraktometrija (PXRD)

Rentgendifraktometrija ir kristālisko vielu pētīšanas un analīzes metode, ar kuras palīdzību, vielas paraugu apstarojot ar rentgenstariem, tiek iegūti dati, kuri ļauj noteikt vielas struktūru. Tā ir viena no svarīgākajām vielu nesagraujošajām metodēm [24, 34].

Metodei ir savas priekšrocības: tā ir vienkārša metode, lai noteiktu kristāla struktūru; ir iespējami mērījumi kā gaisā, tā arī nepieciešamajā atmosfērā; paraugu sagatavošana ir vienkārša un var kvantitatīvi novērtēt vidējo kristāla struktūru [24].

Rentgendifraktometrijai ir divi galvenie paveidi – monokristālu rentgendifraktometrija un pulvera rentgendifraktometrija. Abas šīs metodes atšķiras ar analizējamo objektu veidu un tehnisko izpildījumu. Pulvera metode galvenokārt tiek izmantota vielu kvalitatīvai un kvantitatīvai analīzei. Ar pulvera rentgendifraktometrijas metodi iegūtajās rentgendifraktogrammās, kas katrai no vielām ir atšķirīgas, parādās vairāki difrakcijas maksimumi, kuru atrašanās pozīcijas ļauj identificēt vielas, salīdzinot signālu atrašanās vietas ar datu bāzē norādītajām [24, 34].

Rentgendifraktometra galvenās sastāvdaļas ir rentgenstaru avots, parauga turētājs un rentgenstaru detektors [24]. Rentgendifraktometra uzbūve parādīta 1.3. attēlā.



1.3. att. Rentgendifraktometra principiālā uzbūve [35]

Rentgenstaru avota attālums līdz paraugam ir tāds pats kā attālums paraugam līdz detektoram. Paraugs atrodas stacionārā stāvoklī, savukārt detektors un rentgenstaru avots pārvietojas pa riņķa līniju ap to. Rentgenstaru kūlis no rentgenlampas krīt uz pētāmo paraugu noteiktā leņķī ( $\theta$ ) un rentgenstari tiek atstaroti un nonāk detektora spraugā. Atkarībā no atomu izvietojuma kristāliskajā režģī un leņķa, kādā rentgenstari krīt uz paraugu, mainās izkliedētā starojuma intensitāte, kas tiek reģistrēta ar scintilācijas detektoru [24].

PXRD, iespējams, ir viena no lietderīgākajām kvantitatīvajām metodēm, lai iegūtu informāciju par daudzkomponentu savienojumiem. Rentgendifraktometrija dod kvantitatīvu informāciju par kristālu struktūru, tomēr daudziem savienojumiem signāli mēdz pārklāties, jo dažādās fāzes mēdz būt ar līdzīgiem režģu attālumiem, bet ar dažādu kristālu simetriju. Šādā

gadījumā PXRD metode sniedz nepietiekamu informāciju. Lai koriģētu pārklāšanās problēmu un precizētu relatīvās fāzu proporcijas, izmanto *Rietveld* metodi [36 – 39].

*Rietveld* metode ir vērtīgs instruments dažādu kristālisku materiālu struktūru analīzēm. To izmanto kopš 1969. gada un to izstrādājis *H.Rietveld*. Sākotnēji to izmantoja magnētisko struktūru noteikšanai ar reģistrētu neitronu intensitāti pie nemainīga viļņu garuma. Vēlāk šo metodi veiksmīgi izmantoja pulveru analizēšanai, kā primāro starojumu izmantojot neitronus vai rentgenstarojumu pie nemainīga viļņu garuma un mainīga izkliedes leņķa vai pie fiksēta izkliedes leņķa un mainīga viļņu garuma [36 - 39].

### 1.7 Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (FT-IR)

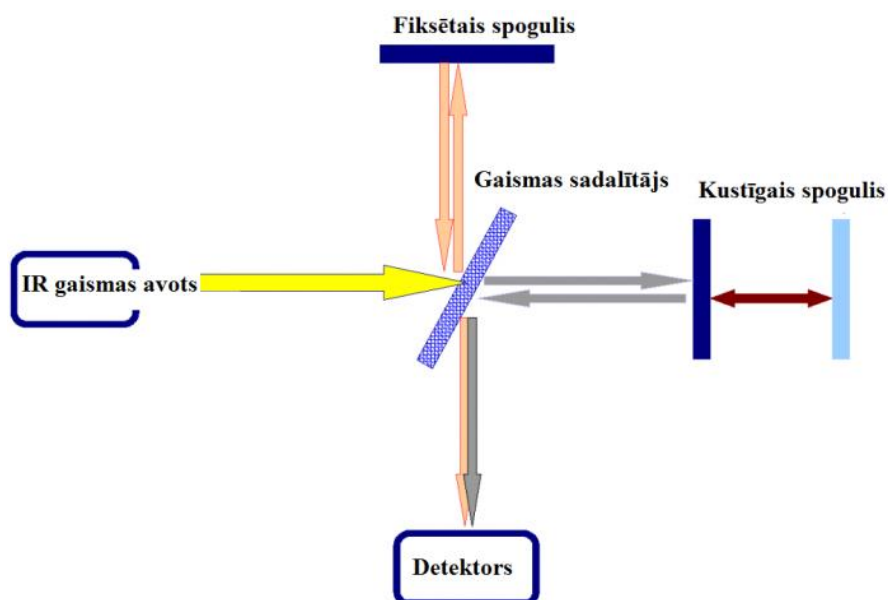
Infrasarkanais (IR) spektrālais apgabals ir daļa no elektromagnētisko viļņu spektra. IR apgabals tiek dalīts: tuvajā ( $4000-14000\text{ cm}^{-1}$ ), vidējā ( $400-4000\text{ cm}^{-1}$ ) un tālajā ( $4-400\text{ cm}^{-1}$ ) IR apgabalā. Lielākā daļa savienojumu absorbē IR starojumu tieši vidējā IR apgabalā [40].

Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (FT-IR) ir moderna, specifiska optiskās spektroskopijas metode, kura tiek plaši lietota dažādu materiālu un produktu testēšanā (polimēru, pārklājumu, pārtikas produktu, medikamentu u.c.), ķīmisko reakciju gaitas un ķīmisko saišu noteikšanā, tomēr, galvenokārt, to izmanto, lai identificētu ķīmiskus savienojumus un noteiktu savienojumos esošās funkcionālās grupas. Metodes izmantošanai ir pietiekams vielas daudzums miligramos vai mikrogramos [24, 41].

FT-IR metodei ir savas priekšrocības: metode ir universāla; no IR spektriem var iegūt plašu informāciju; tā ir ātra un samērā vienkārša metode vielu identificēšanai; jutīga, vielu nesagraujoša, puskvantitatīva metode. Metode ir pielietojama gāzveida, šķidriem un cietiem paraugiem, polimēriem, organiskas un neorganiskas dabas savienojumiem. Tomēr ar FT-IR nevar detektēt maisījumus un ūdeni [40].

Metode balstās uz IR starojuma absorbciju, tam ejot cauri paraugam. IR gaismai, iedarbojoties uz molekulu, tā absorbē enerģiju un tajā esošās ķīmiskās saites vibrē ātrāk. IR spektrs uzrāda parauga „pirkstu nospiedumus” - absorbcijas spektrus, kas atbilst vibrācijas frekvencēm starp atomu saitēm savienojumā. Ķīmiskās saites tiecas absorbēt enerģijas infrasarkanos kvantus un pie attiecīgiem viļņu garumiem IR spektrā novērojamas to absorbcijas joslas [24]. Jo stiprāka ir saite starp molekulām, jo pie augstākām frekvencēm novērojama absorbcijas josla. Pēc tā, ka dažādas saites absorbē dažādas enerģijas IS kvantus, ir iespējams pētāmajā vielā noteikt kādu elementu savstarpējās saites tur pastāv un ir iespējams identificēt struktūras elementus pēc IS absorbcijas spektrā redzamajām joslām [41].

FT-IR spektroskopija ir balstīta uz Mihelsona interferometru (skatīt 1.4. attēlu).



1.4. att. Mihelsona interferometra darbības shēma [42]

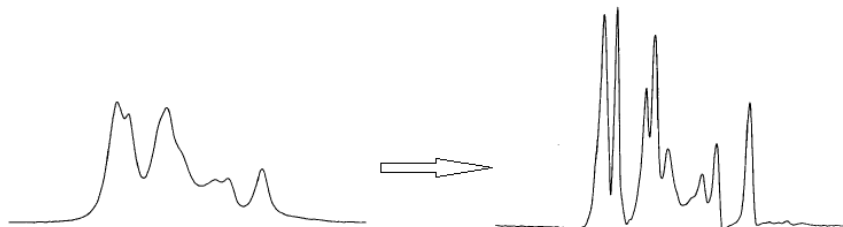
Mihelsona interferometrā polihromatiska gaisma iet cauri signāla sadalītājam, kur gaisma tiek sadalīta vienādās daļās. Daļa gaismas tiek novirzīta uz kustīgo spoguļi un daļa uz fiksēto spoguļi. Gaismai atstarojoties no spoguļiem, tā atkārtoti iet caur gaismas sadalītāju un tiek novirzīta uz paraugu, kur tiek absorbēta. Ar detektoru tiek reģistrēta pētāmā starojuma interferogramma, kas tālāk tiek apstrādāta un pārveidota starojuma spektrā [24].

FT-IR spektroskopiju izmanto, lai identificētu lielāko daļu kalcija fosfātu. Ar šo metodi paraugā var konstatēt galvenās HAp raksturojošās grupas – fosfātjonus, karbonātjonus, adsorbētā ūdens molekulas un hidroksīdjonus. Fāzes, ko nevar viegli atšķirt pēc rentgendifraktogrammām, var noteikt izmantojot FT-IR. Galvenā šīs metodes priekšrocība, salīdzinājumā ar PXRD, ir tā, ka ar to var noteikt smalku strukturālu informāciju, jo īpaši attiecībā uz HAp. IR spektros var noteikt karbonātjonu saistīšanās vietu – vai tie ir A vai B tipa karbonātjoni, kā arī  $\text{HPO}_4^{2-}$  un  $\text{OH}^-$  klātbūtni pētāmajā paraugā [15, 16].

IR spektroskopija ir universāla metode, lai noteiktu materiālā esošās ķīmiskās saites. Analizējot kalcija fosfātus, FT-IR metode ne vienmēr sniedz pietiekamu informāciju, jo IR spektros blakus esošās absorbcijas joslas mēdz pārklāties. FT-IR spektroskopija kombinācijā ar dekonvolūciju piedāvā papildus priekšrocības kvalitatīvai un kvantitatīvai analīzei, kā arī var iegūt papildus informāciju par ACP izmaiņām, ko ar citām metodēm, kā piemēram, PXRD nav iespējams iegūt.

Konvolūciju var aprakstīt ar vienādojumu  $f \cdot g = h$ , kur  $f$  un  $g$  ir funkcijas (frekvences), kas pārklājoties veido trešo funkciju  $h$ . Dekonvolūcija ir pretēja darbība konvolūcijai. To lieto dažādu signālu (spektu) apstrādē un attēlu apstrādē. Vēsturiski dekonvolūciju sāka izmantot 1950. gadā seismoloģijā [43].

Dekonvolūcijas mērķis ir atdalīt pārklājušās absorbcijas joslas, tādējādi iegūstot papildus informāciju par parauga struktūru un ķīmiskajām saitēm. Tā balstās uz *J.K. Kaupinena* u.c. 1980. gadā izstrādāto metodiku - matemātisku procedūru, ko dēvē par „izšķirtspējas uzlabošanu” ar kuras palīdzību var atdalīt pārklājušos signālus (skatīt 1.5. attēlu) [44].



1.5. att. Joslu dekonvolūcijas piemērs [45]

## 1.8 Hidroksilapatītu ķīmiskā sastāva raksturošana

HAp raksturošana ar fizikāli-ķīmiskajām metodēm kā PXRD vai FT-IR ir viens no galvenajiem soļiem, tomēr ļoti svarīga loma ir arī HAp ķīmiskajai raksturošanai, lai precīzi noteiktu ķīmisko elementu daudzumu pētāmajā paraugā. Iespējams izšķirt trīs veidu jonus gan bioloģiskajos, gan sintētiskajos kalcija fosfātos: galvenie joni kā  $\text{Ca}^{2+}$ , ortofosfāti, ieskaitot,  $\text{PO}_4^{3-}$  un  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  un  $\text{OH}^-$ ; mazākumā esošie joni kā  $\text{Na}^+$  un  $\text{Mg}^{2+}$ ; mikroelementi kā  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$ . Ir atšķirīgi paņēmieni kā nosaka attiecīgo elementu klātbūtni pētāmajā paraugā [15].

Ca/P molārās attiecības noteikšanai izmanto ķīmiskās analīzes metodes, atomabsorbciometriju vai elektronu spektroskopiju (*electron-microprobe spectroscopy*). Arī šīm metodēm ir savi trūkumi – tās ir laikietilpīgas, kā arī nav iespējams vienlaicīgi noteikt gan kalciju, gan fosforu [18].

**Kalcijs.** Kalcijs ir viens no galvenajiem komponentiem kalcija fosfātos. Pastāv daudz un dažādas metodes kalcija noteikšanai, piemēram, atomabsorbciometrija (AAS), induktīvi saistītās plazmas atomemisijas spektrometrija (ICP-AES), jonometrija, izmantojot specifisku elektrodu, jonu hromatogrāfija, kā arī konkurētspējīgā ķīmiskā metode – kompleksonometrija, izmantojot etilēndiamīntetraetiķskābi (EDTA, Kompleksons III). Fizikāli-ķīmiskās metodes kā WD-XRF un elektronu mikroskopija arī ir izmantojamas kalcija noteikšanai. Ar AAS un ICP-AES iegūtie dati uzskatāmi par precīzākiem, nekā kompleksonometriski noteiktie, jo šīs metodes ir specifiskākas. Kompleksonometriski nosakot kalciju, var rasties kļūdas, ko varētu izraisīt citu katjonu kompleksveidošanās titrēšanās gaitā, tādējādi uzrādot neprecīzus

rezultātus. Tieša kalcija noteikšana šķīdumā ar jonu hromatogrāfiju vai jonometriju nav tik precīza kā ar AAS un ICP-AES.

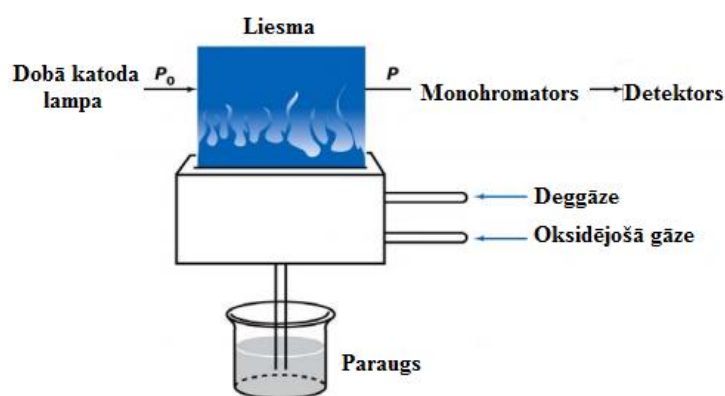
**Fosfors.** Fosfors HAp sastāvā var būt vai nu ortofosfātjonu formā ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) vai arī kā pirofosfātjons ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ). Kopējo fosfora daudzumu HAp paraugā var noteikt izmantojot, piemēram, ICP-AES, jonu hromatogrāfiju un elektronu mikroskopiju ar XRD zondi. Izmantojot šīs metodes, nav iespējams atšķirt ortofosfātjonus no citām fosforu saturošajām molekulām vai joniem. Ortofosfātjonu noteikšanai var izmantot spektrofotometriskās metodes – tiešo noteikšanu (dzeltenais krāsojums), vai nosakot pēc reducēšanas (zilais krāsojums). Spektrofotometriski netiek noteikts fosfors, kas atrodas pirofosfātjonu vai metafosfātjonu (*metaphosphates*) formā [15].

### 1.9 Liesmas atomabsorbciometrija (FAAS)

Atomabsorbciometrija ir kvantitatīva noteikšanas metode, kas balstīta uz gāzveida stāvoklī esošu brīvo atomu gaismas absorbciju [24]. Gaismas avoti izstaro līniju spektru, kurš raksturīgs nosakāmajam elementam. Katrs atoms absorbē gaismu pie noteikta viļņu garuma [46, 47].

Metodei ir savas priekšrocības: tā ir ātra; jutīga (ar to var noteikt mazas koncentrācijas ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )); selektīva; iespējams vienlaicīgi noteikt vairākus elementus vienā šķīdumā.

Liesmas atomabsorbciometrs sastāv no: atomizatora, kas veidots no izsmidzinātāja un degļa; starojuma avota - dobā katoda lampas; monohromatora un detektora. Shematiski uzbūve attēlota 1.6. attēlā.



1.6. att. Shematiska liesmas atomabsorbciometra uzbūve [48]

Ar izsmidzinātāju metāla atomi sīku aerosola pilienu veidā nonāk liesmā, kur analizējamais paraugs tiek sajaukts ar oksidējošo gāzi un deggāzi un tiek pārvērsts atomtvaikā. Gaisu, skābekli un slāpekļa(I) oksīdu izmanto kā oksidējošās gāzes, savukārt

propānu, butānu, ūdeņradi un acetilēnu izmanto kā deggāzes. Visbiežāk kā oksidējošo gāzi izmanto gaisu, savukārt kā deggāzi – acetilēnu, šīs liesmas temperatūra ir 2300°C. Plaši tiek lietots arī slāpekļa(I) oksīds–acetilēns, kura maksimālā liesmas temperatūra ir apmēram 2900°C [24, 48]. Temperatūrai ir svarīga nozīme, jo tā ietekmē parauga sadalīšanos atomos un jonus. Pārāk augstā temperatūrā notiek nevēlamais efekts – jonizācija. Lai nepieļautu šādu procesu, ir jāizvēlas nepieciešamā liesmas temperatūra, kas maksimāli paraugu atomizē un minimāli to jonizē, jo starojumam, kas nāk no dobā katoda lampas, ir noteiktas emisijas līnijas, kas ir atbilstošas atomiem, nevis joniem [24].

Pēc parauga atomizēšanās liesmā, analizējamās vielas daudzums tiek kvantitatīvi noteikts mērot absorbēto starojumu. Mērījumu veikšanai tiek izvēlēts tāds starojuma avots, lai tā izstarotais starojums satur emisijas līniju, kas atbilst visintensīvākajai līnijai nosakāmā elementa atomu spektrā [49]. Dobā katoda lampu, kas ir pildīta ar inerti gāzi, neonu vai argonu, izmanto kā starojuma avotu. Tā sastāv no katoda un anoda. Katods sastāv no nosakāmā elementa materiāla, savukārt anods ir izgatavots no volframa. Pieliekot elektrodiem strāvu, pozitīvi lādētie joni triecas uz katodu, izsit no tā elementa atomus, un termiski tos ierosina līdz augstākam enerģētiskajam līmenim. Ierosinātie atomi atgriežas pamatstāvoklī, izstarojot noteiktu viļņu garuma gaismu [46, 48].

Monohromatoru izmanto, lai atdalītu interesējošo viļņa garumu (rezonanses līniju) no apkārtējo līniju spektra. Pēc tam detektors pārveido uztverto starojuma enerģiju elektriskā signālā, kas tiek apstrādāta ar speciālu datorprogrammu [24].

Kalcija fosfāti kondensētajā fāzē veido mazāk gaistošu savienojumu – kalcija pirofosfātu. Šis savienojums samazina brīvā kalcija koncentrāciju atomtvaikā, tādējādi samazinot signāla intensitāti, kas rada noteikšanas kļūdu. Fosfātjonu ietekmi uz kalcija noteikšanu var novērst divos veidos: nosakot kalcija koncentrāciju gaisa–acetilēna liesmā, pievienojot reaģentus kā lantāna vai stroncija savienojumus, kas palielina absorbcijas signālu saistoties ar fosfātjoniem un atbrīvojot kalcija jonus, tādējādi uzlabojot  $\text{Ca}^{2+}$  atomizāciju. Var izmantot arī etilēndiamīntetraetiķskābi (EDTA), kas veido stabilāku kompleksu ar kalcija joniem nekā fosfātjoni. Augstā temperatūrā  $\text{Ca}(\text{EDTA})^{2-}$  viegli sadalās, tādējādi netiek nomākta kalcija jonu noteikšana. Alternatīva metode ir noteikt kalcija jonus slāpekļa(I) oksīda–acetilēna liesmā, tādējādi novēršot fosfātjonu ietekmi. Augstā liesmas temperatūra var veicināt kalcija jonizāciju, kas samazina analītisko jutību. Jonizācijas efektu var novērst pievienojot viegli jonizējošu savienojumu - kāliju saturošu vielu [50, 51].

### 1.10 Darbā lietoto metožu salīdzinājums

Pulvera rentgendifraktometrijas (PXRD), Furjē transformācijas infrasarkanās spektroskopijas (FT-IR), liesmas atomabsorbciometrijas (FAAS), spektrofotometrijas (SP) un kompleksonometrijas (KM) metožu priekšrocības un trūkumi apkopoti 1.4. tabulā. Izmantojot šīs metodes, iespējams raksturot paraugu struktūru un kvantitatīvo sastāvu.

1.4. tabula

Instrumentālo metožu salīdzinājums [24, 49]

Parametri	PXRD	FT-IR	FAAS	SP	KM
<b>Multielementu analīzes metode</b>	Jā	Jā	Nē	Nē	Nē
<b>Nepieciešamais parauga daudzums, g</b>	0,25	0,005	0,25	0,25	0,25
<b>Analītiskais koncentrāciju diapazons:</b> <b>1 mg·kg<sup>-1</sup> – 1g·kg<sup>-1</sup></b> <b>1g·kg<sup>-1</sup> – 100g·kg<sup>-1</sup></b>	- +	+ +	+ +	+ +	- +
<b>Paraugu sagraujoša metode</b>	Nē	Nē	Jā	Jā	Jā
<b>Analīzes laiks</b>	2-15 min	2 -10 min	5 - 10 s/elem.	5 - 10 s	5 -10 min
<b>Paraugu sagatavošanas laiks</b>	ātrs	ātrs	vidēji ātrs	lēns	vidēji ātrs

## 2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

### 2.1 Izmantotā aparatūra un reaģenti

- Laboratorijas svāri *KERN 440 – 33N*, precizitāte  $\pm 0,01\text{g}$ ,  $m_{\text{max}} = 200\text{ g}$ ;
- analītiskie svāri *Precisa XB 220A*, precizitāte  $\pm 0,0001\text{g}$ ,  $m_{\text{max}} = 220\text{ g}$ ;
- analītiskie svāri *BOECO BBC 100*, precizitāte  $\pm 0,00001\text{g}$ ,  $m_{\text{max}} = 210\text{ g}$ ;
- cilindriskā krāsns *Ceramic Engineering* ( $t_{\text{max}} = 1250^\circ\text{C}$ , garums – 1 m,  $\varnothing = 10\text{ cm}$ );
- žāvējamais skapis *Memmert*,  $t_{\text{max}} = 220^\circ\text{C}$ ;
- pulvera rentgendifraktometrs *Bruker D8 ADVANCE* (starojuma avots: Cu  $K_\alpha$ ,  $\lambda = 1.54180\text{Å}$ ; detektors: pozīcijas jutīgais detektors *LynxEye*;  $U = 40\text{ kV}$ ,  $I = 40\text{ mA}$ );
- spektrofotometrs *KFK-3* (monohromators - difrakcijas režģis; gaismas avots – halogēnlampa);
- IR spektrometrs *PerkinElmer Spectrum BX FT-IR* (izšķirtspēja  $4\text{ cm}^{-1}$ );
- liesmas atomabsorbciometrs *Agilent Technologies FSAA240* (deggāze – acetilēns, plūsmas ātrums –  $2,0\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ; oksidētājgāze – gaiss, plūsmas ātrums –  $13,5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ );
- liesmas atomabsorbciometrs *Varian SpectraAA880* (deggāze – acetilēns, plūsmas ātrums –  $6,35\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ; oksidētājgāze – slāpekļa(I) oksīds, plūsmas ātrums –  $11,00\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ );
- motorbirete *TITRONIC Basic*, precizitāte  $\pm 0,01\text{ mL}$ ,  $v_{\text{max}} = 99,99\text{ mL}$ ;
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Ražotājs: *AppliChem*, tīrība 99 – 103 %);
- $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (Ražotājs: *AnalaR NORMAPUR*, tīrība 99,2 %);
- $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (Ražotājs: *AppliChem*, tīrība – tīrs);
- konc.  $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$  (Ražotājs: *Sigma-Aldrich*, tīrība – analītiski tīrs);
- $\text{HNO}_3$  65% (Ražotājs: *Merck*, tīrība – analītiski tīrs);
- $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Ražotājs: *PENTA*, tīrība 99,0 %);
- $\text{NaOH}$  (Izplatītājs: *enola SIA*, tīrība – tīrs);
- $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Ražotājs: *PEAXIM*, tīrība 98,5 %);
- indikators – hromtumšzīlais (Ražotājs: *PEAXIM*);
- Kompleksons III (Ražotājs: *PEAXIM*, tīrība 98,8 – 100,2 %);
- Kompleksona III fiksānāls (Ražotājs: *Черкасский химзавод*, tīrība 99,0 %);
- $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Ražotājs: *PEAXIM*, tīrība 99,0 – 101,0 %);
- $\text{NH}_4\text{VO}_3$  (Ražotājs: *Свердловский совнархоз*, tīrība 98,0 %);
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Ražotājs: *Merck*, tīrība – analītiski tīrs);

- $\text{Ca}^{2+}$  standartšķīdums  $\gamma = 1000 \pm 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Ražotājs: *ROTH*, tīrība – analītiski tīrs);
- KCl (Ražotājs: *RDH*, tīrība – analītiski tīrs);
- KBr (Ražotājs: *BDH*, tīrība – analītiski tīrs);
- dejonizēts  $\text{H}_2\text{O}$  *Millipore Simplicity*,  $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ .

## 2.2 HAp sintēze - nogulsnešanas metode

Sintezēja tīru HAp ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām, izmantojot nogulsnešanas metodi. Metode izvēlēta pamatojoties uz to, ka tā nav sarežģīta un nav nepieciešamas sarežģītas un dārgas iekārtas.

HAp sintēzē izmantoja šādas izejvielas:  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ , konc.  $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ , dejonizētu  $\text{H}_2\text{O}$ . Sintēzēm stehiometriski nepieciešamo kalcija jonu daudzumu aprēķināja pēc fosfora jonu daudzuma. Izmantoto izejvielu masas parādītas 2.1. tabulā. Nepieciešamo kalcija nitrāta masu aprēķināja pēc 2.1. vienādojuma, diamonija karbonāta masu aprēķināja pēc 2.2. vienādojuma.

$$m_{\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}} = \frac{m_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4}}{M_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4}} \cdot x_{\text{Ca/P}} \cdot M_{\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}}, \quad (2.1)$$

$$m_{(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3} = \frac{m_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4}}{M_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4}} \cdot (x_{\text{Ca/P}} - x_{\text{Ca/P,TCP}}) \cdot M_{(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3}, \quad (2.2)$$

kur  $m_{\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}}$  – kalcija nitrāta tetrahidrāta masa, g;

$M_{\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}}$  – kalcija nitrāta tetrahidrāta molmasa,  $236,09 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;

$x_{\text{Ca/P}}$  – kalcija/fosfora molārā attiecība, attiecīgi: 1,8; 2,0; 2,2; 2,4; 2,6 un 2,8;

$x_{\text{Ca/P,TCP}}$  – trikalcija fosfāta kalcija/fosfora molārā attiecība, 1,5;

$m_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4}$  – diamonija hidrogēnfosfāta masa, g;

$M_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4}$  – diamonija hidrogēnfosfāta molmasa,  $132,06 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;

$m_{(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3}$  – diamonija karbonāta masa, g;

$M_{(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3}$  – diamonija karbonāta molmasa,  $96,09 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

2.1. tabula

Izmantoto izejvielu masas HAp sintēzē

Vielas HAp	$m_{\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}}, \text{ g}$	$m_{(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3}, \text{ g}$	$m_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4}, \text{ g}$
HAp <sub>1.8</sub>	12,74	0,86	3,96
HAp <sub>2.0</sub>	14,16	1,44	
HAp <sub>2.2</sub>	15,58	2,02	

<b>Vielas</b> <b>HAp</b>	$m_{Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O}, g$	$m_{(NH_4)_2CO_3}, g$	$m_{(NH_4)_2HPO_4}, g$
<b>HAp<sub>2.4</sub></b>	16,95	2,60	3,96
<b>HAp<sub>2.6</sub></b>	18,35	3,16	
<b>HAp<sub>2.8</sub></b>	19,77	3,74	

Aprēķinātu daudzumu  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  šķīdināja 250 mL dejonizēta ūdens, pievienojot 30 mL konc.  $NH_3 \cdot H_2O$ . Paralēli šķīdināja  $(NH_4)_2HPO_4$  un  $(NH_4)_2CO_3$  maisījumu 125 mL dejonizēta ūdens. Abus šķīdumus salēja kopā un izveidoto suspensiju 10 minūtes maisīja ar magnētisko maisītāju. Maisījumu filtrēja, izmantojot vakuumsūkni. Iegūtais filtrāts - bezkrāsains, nogulsnes – baltas. Tās skaloja ar 1 L dejonizēta ūdens, kuram iepriekš pievienoti 5 mL konc.  $NH_3 \cdot H_2O$ . Sintēzes beigās nogulsnes skaloja vēl ar 150 mL tīra dejonizēta ūdens.

Iegūtos sintēžu gala produktus liofilizēja. Liofilizācijas metode izvēlēta, jo sintezēja amorfo fāzi un žāvēšana izsaldējot nodrošina to, ka iegūto paraugu struktūrā iespējamās mazākas izmaiņas, nekā žāvējot paaugstinātā temperatūrā. Pēc liofilizācijas paraugus glabāja ledusskapī, lai novērstu fāzu maiņu no amorfas uz kristālisku.

**Paraugu karsēšanas veidi.** Sintezētos paraugus karsēja četros dažādos veidos, lai no amorfās fāzes iegūtu kristālisko fāzi:

1. Porcelāna trauciņos cilindriskajā krāsnī:
  - a) 2 stundas  $700^\circ C$  temperatūrā, gaisā;
  - b) 2 stundas  $900^\circ C$  temperatūrā, gaisā;
2. Žāvēšanas skapī 2 stundas  $150^\circ C$  temperatūrā, ūdenī.

Sagatavošana: nosvēra 0,5000 g HAp pulveri, tam pievienoja 2 mL dejonizēta ūdens. Maisījumu sagatavoja teflona trauciņā, ko ievietoja metāla korpusā - hidrotermiskajā traukā;

3. Žāvēšanas skapī 2 stundas  $150^\circ C$  temperatūrā, ūdens tvaikos.

Sagatavošana: stikla trauciņā nosvēra 0,05000 g HAp pulveri. To ievietoja teflona trauciņā, kurā pirms tam ielēja 2 mL ūdens. Teflona trauciņu ar paraugu pēc tam ievietoja hidrotermiskajā traukā.

### 2.3 Sintezēto produktu raksturošana ar PXRD un *Rietveld* metodēm

Lai pārlicinātos par paraugu kvalitāti, kā arī vai ir iegūts plānotais sintēzes produkts, uzņēma rentgendifraktogrammas. Sintezēto produktu saberza porcelāna piestiņā un iepresēja kivetē. Ievēroja, lai paraugs kivetē būtu izlīdzināts vienādā augstumā ar padziļinājuma malām. Sagatavoto kiveti ievietoja rentgendifraktometra parauga turētājā. Rentgendifraktogrammas uzņēma leņķa  $2\theta$  intervālā  $5 - 60^\circ$ , ar soļa intervālu  $0,1^\circ$ . Iegūto rentgendifraktogrammu uzņemšanai lietoja programmu: *DIFFRAC plus XRD commander*; tās apstrādāja un analizēja izmantojot datorprogrammu: *Diffra.EVA 2.0*.

Lai samazinātu PXRD signālu pārklāšanās problēmu un precizētu relatīvās fāzu proporcijas, izmantoja *Rietveld* metodi. Ar *Rietveld* analīzi noteica paraugu kvantitatīvo fāzu sastāvu un kristālu izmērus. *Rietveld* analīzei lietoja datorprogrammu *Profex 3.1.3*. un struktūru datubāzi. Datu apstrādei izmantoja rentgendifraktogrammas, kas uzņemtas leņķa  $2\theta$  intervālā  $5 - 60$  ar soļa intervālu  $0,1^\circ$ .

Lai noteiktu precīzu sastāvu izkarsētajiem paraugiem, rentgendifraktogrammas analizēja struktūru datubāzē, izvēloties piecas dažādas fāzes:  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, HAp, CaO un  $\text{CaCO}_3$ . Līdz ar fāzu sastāva noteikšanu noteica arī katras fāzes kristālu izmērus.

### 2.4 Paraugu analīze ar FT-IR un IR spektru dekonvolūcija

Aptuveni 0,0030 g analizējamās vielas saberza piestā ar 0,3000 g KBr pulvera. Pirms KBr tablešu sagatavošanas, KBr pulveri  $\sim 12$  stundas turēja žāvēšanas skapī  $120^\circ\text{C}$  temperatūrā, lai atbrīvotos no saistītajām ūdens molekulām. Pielietojot spiedi, pulveri sapresēja tabletēs, kuras izmantoja IR spektru uzņemšanai. IR spektru uzņemšanai lietoja FT-IR spektroskopu *PerkinElmer, Spectrum BX*, diapazonā  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  ar izšķirtspēju  $4 \text{ cm}^{-1}$ . FTIR spektri apstrādāti ar brīvpieejas lietotni *Specwin32*.

Lai precīzi varētu analizēt iegūtos FTIR datus, uzņemtajiem IR spektriem veica dekonvolūciju. Šim nolūkam izmantoja programmatūru *MagicPlot Student*. Spektrālo sadalīšanu veica, atņemot lineāro bāzes līniju, viļņu skaitļa diapazonā  $800 - 900 \text{ cm}^{-1}$ , kas atbilst karbonāta grupu saišu vibrācijas režīmam. Dekonvolūcijai izmantoja Lorencas līknes.

## 2.5 Spektrofotometriskā fosfora jonu noteikšana

### *Šķīdumu gatavošana*

- $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$  standartšķīdums: dejonizētā ūdenī šķīdināja 1,9174 g kristāliska  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , kvantitatīvi pārnesa 1 L mērkolbā un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei;
- 1,25 M  $\text{HNO}_3$  šķīdums: 1 L mērkolbā nelielam daudzumam dejonizēta ūdens pievienoja 78,1 mL konc.  $\text{HNO}_3$  un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei;
- 10 %  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  šķīdums: sildot dejonizētā ūdenī (~ 500 mL), šķīdināja 106,19 g kristāliska  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ , kvantitatīvi pārnesa 1 L mērkolbā un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei;
- 0,25 %  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  šķīdums: dejonizētā ūdenī šķīdināja 2,50 g kristāliska  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ , kvantitatīvi pārnesa 1 L mērkolbā un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei.

**Kalibrēšanas taisnes uzņemšana.** No fosfora (V) oksīda standartšķīduma ( $\gamma_{\text{P}_2\text{O}_5}=1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 50 mL mērkolbās gatavoja šķīdumu sēriju ar fosfora (V) oksīda masas koncentrāciju no  $0,002 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  līdz  $0,020 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Vajadzīgos tilpumus aprēķināja pēc 2.3. vienādojuma:

$$v_{st} = \frac{\gamma \cdot v_{m\acute{e}rk}}{\gamma_{st}}, \quad (2.3)$$

kur  $v_{st}$  - nepieciešamais standartšķīduma tilpums, mL;

$\gamma$  – šķīdumu sērijai nepieciešamā fosfora (V) oksīda masas koncentrācija,  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;

$v_{m\acute{e}rk}$  – mērkolbas tilpums, kurā veic atšķaidīšanu, 50 mL;

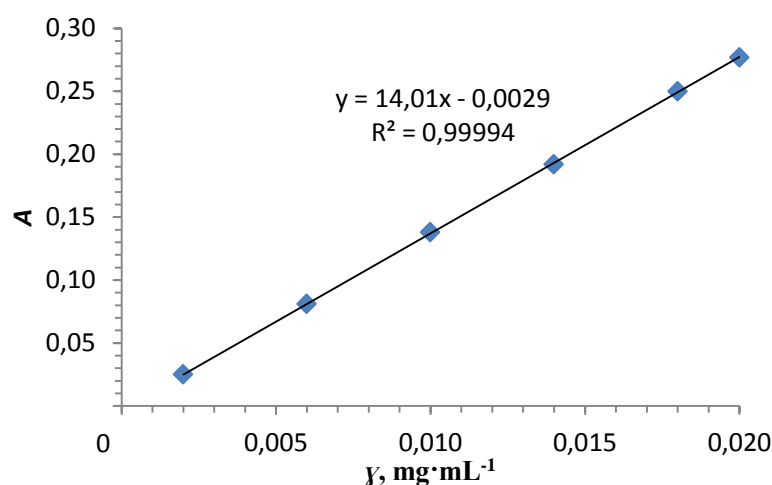
$\gamma_{st}$  - standartšķīduma masas koncentrācija,  $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Katrā mērkolbā, šķīdumu maisot, pievienoja 10 mL 1,25 M slāpekļskābes šķīduma, 10 mL 0,25 % amonija vanadāta šķīduma un 10 mL 10 % amonija molibdāta šķīduma. Maisījumu uzpildīja līdz atzīmei ar dejonizētu ūdeni un samaisīja. Līdzīgi gatavoja arī salīdzināšanas šķīdumu (pievienoja visus reaģentus, izņemot standartšķīdumu). Veica absorbcijas mērījumus pēc 30 minūtēm ar spektrofotometru pie  $\lambda = 440 \text{ nm}$  pret salīdzināšanas šķīdumu 3 cm kivetē. Iegūtie dati, kā arī izmantoto šķīdumu koncentrācijas, parādīti 2.2. tabulā.

**Absorbcija (A) atkarībā no P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> standartšķīdumu  
masas koncentrācijas (γ), lietojot spektrofotometriju**

N.p.k	$v_{st}$ , mL	$v_{mērks}$ , mL	$\gamma$ , mg·mL <sup>-1</sup>	A
1.	0,100	50	0,002	0,025
2.	0,300		0,006	0,081
3.	0,500		0,010	0,138
4.	0,700		0,014	0,192
5.	0,900		0,018	0,250
6.	1,000		0,020	0,277

No iegūtajiem datiem konstruēja kalibrēšanas grafiku  $A = f(\gamma)$ , atliekot uz  $x$  ass – fosfora (V) oksīda masas koncentrāciju un uz  $y$  ass izmērītās absorbcijas vērtības (skatīt 2.1. attēlu).



2.1. att. Kalibrēšanas grafiks spektrofotometriskai P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> noteikšanai

**HAp parauga sagatavošana.** Sverglāzītēs nosvēra 0,1000 g HAp ar Ca/P molārajām attiecībām no 1,8 līdz 2,8. Nosvērtos pulverus izšķīdināja 500 μL konc. HNO<sub>3</sub> un atšķaidīja 100 mL mērkolbās ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei. Alikvoto daļu (2 mL) iemērija 50 mL mērkolbās un pievienoja 10 mL 1,25 M slāpekļskābes šķīduma, 10 mL 0,25% amonija vanadāta šķīduma un 10 mL 10% amonija molibdāta šķīduma. Maisījumu uzpildīja līdz atzīmei ar dejonizētu ūdeni un samaisīja. Gaismas absorbciju mērija pēc 30 minūtēm pie 440 nm attiecībā pret salīdzināšanas šķīdumu, izmantojot 3 cm kivetī. Iegūtie dati parādīti 2.3. tabulā.

## Spektrofotometriski noteiktā gaismas absorbcija HAp paraugiem

Apstrādes metode	Paraugi	A		
		1.	2.	3.
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	0,173	0,165	0,172
	HAp <sub>2.0</sub>	0,153	0,155	0,157
	HAp <sub>2.2</sub>	0,138	0,137	0,137
	HAp <sub>2.4</sub>	0,120	0,121	0,122
	HAp <sub>2.6</sub>	0,177	0,119	0,118
	HAp <sub>2.8</sub>	0,104	0,107	0,105
ACP karsēti ūdenī 150°C/2h	HAp <sub>1.8</sub>	0,188	0,185	0,189
	HAp <sub>2.0</sub>	0,169	0,170	0,170
	HAp <sub>2.2</sub>	0,153	0,155	0,152
	HAp <sub>2.4</sub>	0,141	0,145	0,142
	HAp <sub>2.6</sub>	0,135	0,138	0,136
	HAp <sub>2.8</sub>	0,120	0,120	0,122

## 2.6 Kompleksonometriskā kalcija jonu noteikšana

*Šķīdumu gatavošana*

- 0,025 M MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O standartšķīdums: dejonizētā ūdenī šķīdināja 1,5405 g kristāliska MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, kvantitatīvi pārnesa 250 mL mērkolbā un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei;
- 6 M NaOH šķīdums: dejonizētā ūdenī šķīdināja 24,00 g kristāliska NaOH, kvantitatīvi pārnesa 100 mL mērkolbā un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei;
- 0,025 M kompleksona III šķīdums: dejonizētā ūdenī šķīdināja 9,31 g kristāliska kompleksona III, kvantitatīvi pārnesa 1 L mērkolbā un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei;
- Amonija buferšķīdums (pH = 10): 54 g kristāliska NH<sub>4</sub>Cl pievienoja 350 mL konc. NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O un atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni līdz 1 L.

**Kompleksona III šķīduma standartizēšana.** Koniskajā kolbā iemērīja 10,00 mL  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  standartšķīduma ar koncentrāciju  $c = 0,025 \text{ M}$ , pievienoja 5 mL amonija buferšķīduma ( $\text{pH} = 10$ ),  $\frac{1}{2}$  karotīti indikatora eriohrommelnā un nātrija hlorīda maisījuma (1:100). Standartšķīdumu titrēja ar kompleksona III šķīdumu, kura koncentrācija ir  $c \sim 0,025 \text{ M}$ , līdz sarkanā krāsa pāriet zilā. Kompleksona III koncentrāciju aprēķināja pēc 2.4. vienādojuma. Iegūtie dati apkopoti 2.4. tabulā.

$$c_{\text{kompl}} = \frac{c_{\text{MgSO}_4} \cdot v_{\text{kompl}} \cdot z_{\text{MgSO}_4}}{v_{\text{MgSO}_4} \cdot z_{\text{kompl}}}, \quad (2.4)$$

kur  $c_{\text{MgSO}_4}$  –  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  standartšķīduma koncentrācija, 0,025 M;

$v_{\text{kompl}}$  – analīzei izlietotais kompleksona III tilpums, mL;

$v_{\text{MgSO}_4}$  – analīzei ņemtais  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  tilpums, 10 mL;

$\frac{z_{\text{MgSO}_4}}{z_{\text{kompl}}}$  –  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  un kompleksona III stehiometriskās attiecības.

2.4. tabula

**Kompleksona III standartizēšanā iegūtie rezultāti  
ar standartnovirzēm ( $S_n$ ) un drošības intervāliem (DI)**

N.p.k.	$v_{\text{MgSO}_4}$ , mL	$v_{\text{kompl}}$ , mL	$c_{\text{kompl}}$ , M	$c_{\text{kompl,vid}}$ , M	$S_n$ , M	DI, M
1.	10,00	9,90	0,02525	0,0252	0,00007	0,0002
2.	10,00	9,90	0,02525			
3.	10,00	9,95	0,02513			

**HAp parauga sagatavošana.** Analīzēm izmantoja iepriekš pagatavotos šķīdumus (skatīt 2.5. apakšnodaļu). Titrēšanai vārglāzē iemērīja 10 mL analizējamā šķīduma, pievienoja 1 mL 6 M NaOH šķīduma un 10 mL dejonizēta ūdens, pievienoja  $\frac{1}{2}$  karotīti indikatoru hromtumšzilo un titrēja ar kompleksonu III līdz krāsas maiņai no sarkani-rozā uz zilu. Iegūtie titrēšanas dati parādīti 2.5. tabulā.

## Iegūtie kompleksometriskās titrēšanas dati HAp paraugiem

Apstrādes metode	Paraugi	v, mL		
		1.	2.	3.
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	2,80	2,86	2,81
	HAp <sub>2.0</sub>	2,90	2,85	2,92
	HAp <sub>2.2</sub>	2,98	2,94	2,94
	HAp <sub>2.4</sub>	3,14	3,07	3,10
	HAp <sub>2.6</sub>	3,07	3,11	3,16
	HAp <sub>2.8</sub>	3,21	3,24	3,30
ACP karsēti ūdenī 150°C/2h	HAp <sub>1.8</sub>	3,15	3,20	3,20
	HAp <sub>2.0</sub>	3,26	3,28	3,36
	HAp <sub>2.2</sub>	3,35	3,39	3,40
	HAp <sub>2.4</sub>	3,44	3,42	3,46
	HAp <sub>2.6</sub>	3,50	3,54	3,58
	HAp <sub>2.8</sub>	3,54	3,51	3,57

## 2.7 Kalcija daudzuma noteikšana ar FAAS gaisa-acetilēna liesmā

*Šķīdumu gatavošana*

- ~0,05 M kompleksona III šķīdums: dejonizētā ūdenī, 500 mL mērkolbā šķīdināja 0,025 M kompleksona III fiksānāla saturu un uzpildīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei.

Izmantojot FAAS (Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) metodi, noteica kalcija jonu daudzumu HAp struktūrā. Izmantotās iekārtas darbības režīms uzrādīts 2.6. tabulā. Paraugi analizēti Rīgas Stradiņa universitātes Darba drošības un vides veselības institūta struktūrvienībā Higiēnas un arodslimību laboratorijā.

FAAS (Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) darbības režīma parametri

Parametri	Ca <sup>2+</sup>
Spektrālīnija, nm	422,7
Atvērums, nm	0,5
Liesma	gaiss - acetilēns

## 2.6. tabulas turpinājums

Parametri	Ca <sup>2+</sup>
Gaisa plūsmas ātrums, L·min <sup>-1</sup>	13,5
Acetilēna plūsmas ātrums, L·min <sup>-1</sup>	2,0
Ca <sup>2+</sup> lampas strāva, mA	7,5

**Kalibrēšanas grafika uzņemšana.** Izmantojot Ca<sup>2+</sup> standartšķīdumu ar masas koncentrāciju  $\gamma = 1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , pagatavoja šķīdumus kalibrēšanas grafikam. No sākotnējā standartšķīduma ņēma 10 mL un atšķaidīja 100 mL mērkolbā līdz atzīmei, lai iegūtu standartšķīdumu ar masas koncentrāciju  $\gamma = 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Vajadzīgos tilpumus aprēķināja pēc 2.5. formulas:

$$v_{st} = \frac{\gamma \cdot v_{m\acute{e}rk}}{\gamma_{st}}, \quad (2.5)$$

kur  $v_{st}$  - nepieciešamais atšķaidītā standartšķīduma tilpums, mL;  
 $\gamma$  – kalibrēšanas grafika šķīduma masas koncentrācija,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  
 $v_{m\acute{e}rk}$  – mērkolbas tilpums, kurā veic atšķaidīšanu, 50 mL;  
 $\gamma_{st}$  - standartšķīduma masas koncentrācija,  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

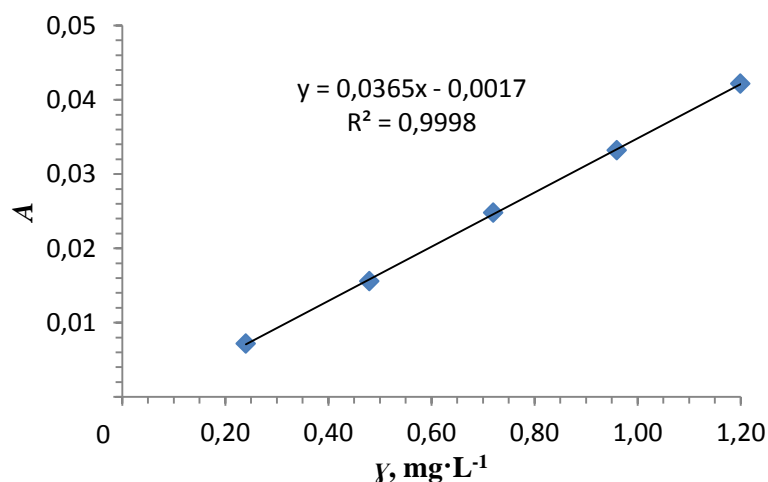
Ar FAAS izmērīja iegūtajiem šķīdumiem absorbciju. Iegūtie dati, kā arī izmantoto standartšķīdumu koncentrācijas, uzrādīti 2.7. tabulā.

## 2.7. tabula

**Absorbcija (A) atkarībā no Ca<sup>2+</sup> standartšķīdumu masas koncentrācijas ( $\gamma$ ), lietojot FAAS (Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)**

N.p.k	$v_{st}$ , mL	$v_{m\acute{e}rk}$ , mL	$\gamma$ , $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	A
1.	0,120	50	0,240	0,0091
2.	0,240		0,480	0,0180
3.	0,360		0,720	0,0280
4.	0,480		0,960	0,0371
5.	0,600		1,200	0,0452

No iegūtajiem datiem konstruēja kalibrēšanas grafiku  $A = f(\gamma)$ , atliekot uz  $x$  ass – kalcija jonu masas koncentrāciju un uz  $y$  ass izmērītās absorbcijas vērtības (skatīt 2.2. attēlu).



2.2. att. Kalibrēšanas grafiks kalcija jonu noteikšanai ar FAAS (Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)

Pirms paraugu apstrādes iepriekš izšķīdinātos HAp paraugus (skatīt 2.5. apakšnodaļu) atšķaidīja vēl 10 reizes. Divpadsmit 50 mL mērkolbās katrā ar pipeti iemērija 5 mL HAp paraugu šķīdumu un uzpildīja līdz atzīmei ar dejonizētu ūdeni.

**Ķīmisko traucējumu ietekmes novērtēšana.** Septiņās 50 mL mērkolbās katrā ar pipeti iemērija 1,0 mL HAp (Ca/P molārā attiecība 2,8) šķīdumu. Pirmo mērkolbu atšķaidīja līdz atzīmei, otrajā pievienoja 2,5 mL kompleksona III (EDTA) šķīdumu ar koncentrāciju ~0,05 M, trešajā pievienoja 5,0 mL kompleksona III šķīdumu, ceturtajā pievienoja 10,0 mL kompleksona III šķīdumu, piektajā pievienoja 15,0 mL kompleksona III šķīdumu, sestajā pievienoja 20,0 mL kompleksona III šķīdumu un septītajā pievienoja 30,0 mL kompleksona III šķīdumu. Pēc tam šķīdumus mērkolbās atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei un samaisīja. Izmērija gaismas absorbciju. Iegūtie dati apkopoti 2.8. tabulā.

2.8. tabula

Ķīmisko traucējumu ietekmes novērtēšana ar FAAS (Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)

N.p.k.	v <sub>HAp2,8</sub> , mL	v <sub>EDTA</sub> , mL	v <sub>mērk</sub> , mL	A
1.	1,00	0,0	50	0,411
2.		2,5		0,503
3.		5,0		0,608
4.		10,0		0,613
5.		15,0		0,590
6.		20,0		0,617
7.		30,0		0,621

**Kalcija jonu daudzums HAp paraugos.** 50 mL mērkolbā ar pipeti iemērīja 1,00 mL analizējamo šķīdumu, pievienoja 15 mL kompleksona III šķīduma ( $c \sim 0,05$  M). Otrajā 50 mL mērkolbā ar pipeti iemērīja 1,00 mL tukšo fona šķīdumu, pievienoja identisku kompleksona III tilpumu. Pēc tam šķīdumus mērkolbās atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei un samaisīja. Izmērīja gaismas absorbciju. Absorbcijas mērījumiem automātiski tiek noņemta tukšā fona šķīduma koncentrācija. Iegūtie dati apkopoti 2.9. tabulā.

2.9. tabula

Ar FAAS (Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) noteiktā kalcija jonu masas koncentrācija ( $\gamma_{Ca}$ )

HAp paraugos ar standartnovirzēm ( $S_n$ ) un drošības intervāliem ( $DI$ )

Apstrādes metode	Paraugi	$\gamma_{Ca}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$			$\gamma_{Ca, \text{vid.}}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$S_n$	$DI, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\gamma_{Ca, \text{vid.}}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
		1.	2.	3.				
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	0,597	0,594	0,602	0,598	0,004	0,010	0,598 ± 0,010
	HAp <sub>2.0</sub>	0,598	0,601	0,599	0,599	0,002	0,004	0,599 ± 0,004
	HAp <sub>2.2</sub>	0,573	0,565	0,560	0,566	0,007	0,016	0,566 ± 0,016
	HAp <sub>2.4</sub>	0,585	0,581	0,578	0,581	0,004	0,009	0,581 ± 0,009
	HAp <sub>2.6</sub>	0,625	0,631	0,622	0,626	0,005	0,011	0,626 ± 0,011
	HAp <sub>2.8</sub>	0,632	0,635	0,641	0,636	0,005	0,011	0,636 ± 0,011
ACP karsēti ūdenī 150°C/2h	HAp <sub>1.8</sub>	0,758	0,753	0,767	0,759	0,007	0,02	0,76 ± 0,02
	HAp <sub>2.0</sub>	0,803	0,801	0,811	0,805	0,005	0,013	0,805 ± 0,013
	HAp <sub>2.2</sub>	0,952	0,946	0,951	0,950	0,003	0,008	0,950 ± 0,008
	HAp <sub>2.4</sub>	0,805	0,801	0,814	0,807	0,007	0,02	0,81 ± 0,02
	HAp <sub>2.6</sub>	0,756	0,744	0,758	0,753	0,008	0,02	0,75 ± 0,02
	HAp <sub>2.8</sub>	0,762	0,755	0,753	0,757	0,005	0,012	0,757 ± 0,012

## 2.8 Kalcija daudzuma noteikšana ar FAAS slāpekļa(I) oksīda-acetilēna liesmā

Izmantojot FAAS metodi ar slāpekļa(I) oksīda-acetilēna liesmu, FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), precizēja kalcija jonu daudzumu HAp struktūrā. Izmantotās iekārtas darbības režīms uzrādīts 2.10. tabulā. HAp paraugi analizēti Latvijas Hidroekoloģijas institūta Jūras monitoringa nodaļā.

2.10. tabula

**FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) darbības režīma parametri**

Parametri	Ca <sup>2+</sup>
Spektrālviļņa, nm	422,7
Atvērums, nm	0,5
Liesma	slāpekļa(I) oksīds-acetilēns
Slāpekļa (I) oksīda plūsmas ātrums, L·min <sup>-1</sup>	11,0
Acetilēna plūsmas ātrums, L·min <sup>-1</sup>	6,35
Ca <sup>2+</sup> lampas strāva, mA	10,0

**Kalibrēšanas grafika uzņemšana.** Izmantojot iepriekš pagatavoto Ca<sup>2+</sup> standartšķīdumu ar masas koncentrāciju  $\gamma = 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , pagatavoja šķīdumus kalibrēšanas grafikam. Vajadzīgos tilpumus aprēķināja pēc 2.7. apakšnodaļā minētās 2.5. formulas.

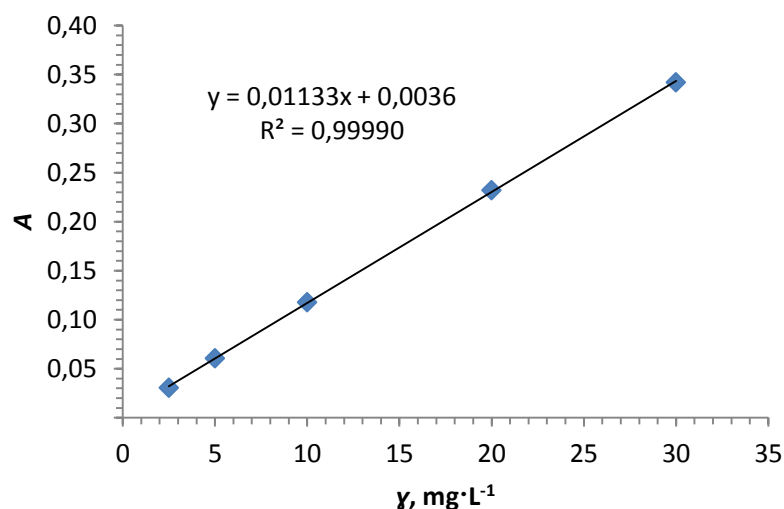
Ar FAAS izmērīja iegūtajiem standartšķīdumiem absorbciju. Iegūtie dati, kā arī izmantoto standartšķīdumu koncentrācijas, uzrādīti 2.11. tabulā.

2.11. tabula

**Absorbcija (A) atkarībā no Ca<sup>2+</sup> standartšķīdumu masas koncentrācijas ( $\gamma$ ), lietojot FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)**

N.p.k	$v_{st}$ , mL	$v_{mērk}$ , mL	$\gamma$ , mg·L <sup>-1</sup>	A
1.	1,25	50	2,5	0,0305
2.	2,50		5,0	0,0606
3.	5,00		10,0	0,1177
4.	10,00		20,0	0,2321
5.	15,00		30,0	0,3422

No iegūtajiem datiem konstruēja kalibrēšanas grafiku  $A = f(\gamma)$ , atliekot uz  $x$  ass – kalcija jonu masas koncentrāciju un uz  $y$  ass izmērītās absorbcijas vērtības (skatīt 2.3. attēlu).



2.3. att. Kalibrēšanas grafiks kalcija jonu noteikšanai ar FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)

*Kalcija jonu daudzums HAp paraugos.* 50 mL mērkolbās ar pipeti iemērīja 10 mL analizējamos šķīdumus, pievienoja 5 mL KCl šķīduma ( $\gamma = 20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Otrajā 50 mL mērkolbā ar pipeti iemērīja 10 mL tukšo fona šķīdumu, pievienoja identisku KCl tilpumu. Pēc tam šķīdumus mērkolbās atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei un samaisīja. Izmērīja gaismas absorbciju. Absorbcijas mērījumiem automātiski tiek noņemta tukšā fona šķīduma koncentrācija. Iegūtie rezultāti apkopoti 2.12. tabulā.

2.12. tabula

Ar FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) noteiktā kalcija jonu masas koncentrācija ( $\gamma_{Ca}$ )

HAp paraugos ar standartnovirzēm ( $S_n$ ) un drošības intervāliem ( $DI$ )

Apstrādes metode	Paraugi	$\gamma_{Ca}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$			$\gamma_{Ca,vid.}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$S_n$	$DI, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\gamma_{Ca,vid.}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
		1.	2.	3.				
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	6,158	6,177	6,126	6,154	0,03	0,06	6,15 ± 0,06
	HAp <sub>2.0</sub>	6,288	6,296	6,285	6,290	0,006	0,014	6,290 ± 0,014
	HAp <sub>2.2</sub>	6,367	6,391	6,357	6,372	0,02	0,04	6,37 ± 0,04
	HAp <sub>2.4</sub>	6,344	6,304	6,353	6,334	0,03	0,06	6,33 ± 0,06
	HAp <sub>2.6</sub>	6,411	6,437	6,398	6,415	0,02	0,05	6,42 ± 0,05
	HAp <sub>2.8</sub>	6,429	6,421	6,423	6,424	0,004	0,010	6,424 ± 0,010

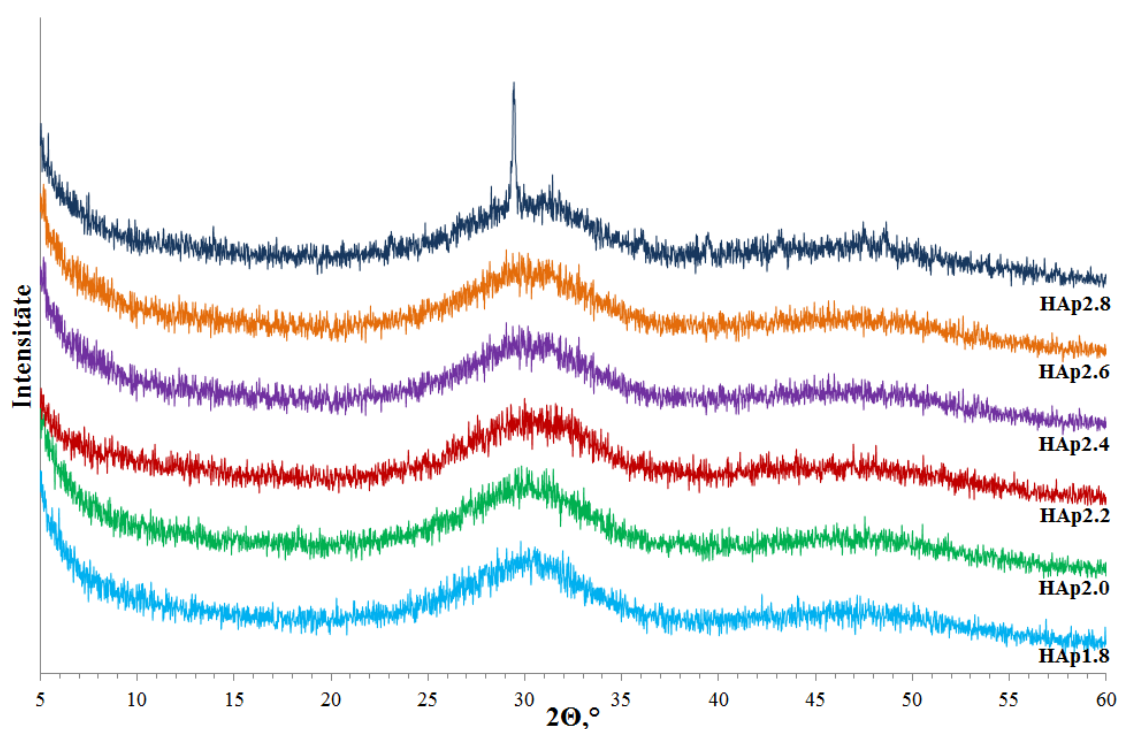
Apstrādes metode	Paraugi	$\gamma_{Ca}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$			$\gamma_{Ca,vid.}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$S_n$	$DI, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\gamma_{Ca,vid.}, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
		1.	2.	3.				
ACP karsēti 150°C/2h, ūdenī	HAp <sub>1.8</sub>	6,798	6,795	6,780	6,791	0,010	0,02	6,79 ± 0,02
	HAp <sub>2.0</sub>	6,894	6,997	6,892	6,928	0,060	0,15	6,93 ± 0,15
	HAp <sub>2.2</sub>	7,022	7,061	7,007	7,030	0,03	0,07	7,03 ± 0,07
	HAp <sub>2.4</sub>	6,998	6,989	7,01	6,999	0,011	0,03	7,00 ± 0,03
	HAp <sub>2.6</sub>	7,375	7,377	7,362	7,371	0,008	0,02	7,37 ± 0,02
	HAp <sub>2.8</sub>	7,431	7,440	7,424	7,432	0,008	0,02	7,43 ± 0,02

### 3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

#### 3.1 Paraugu kvalitātes novērtējums ar PXRD metodi un *Rietveld* analīzi

Izmantojot PXRD metodi, konstatēja vai analizējamie paraugi ir amorfā vai kristāliskā fāzē. Nekarsētu HAp rentgendifraktogrammas redzamas 3.1. attēlā.

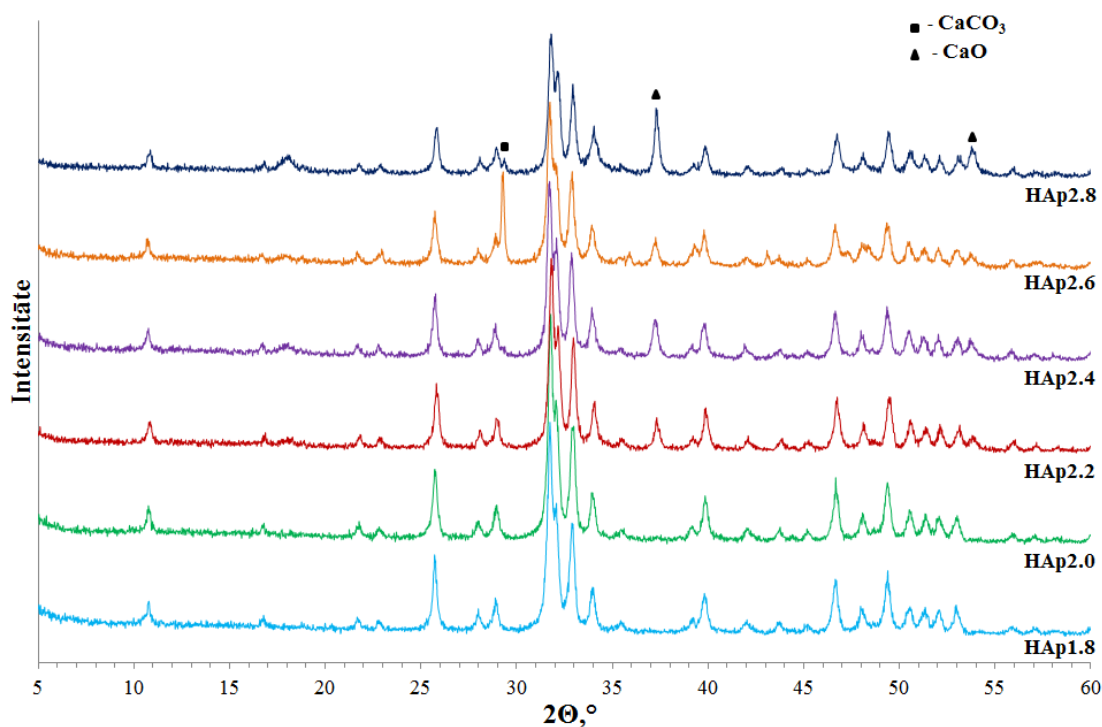
Literatūrā minēts, ka amorfas fāzes HAp Ca/P molārā attiecība var būt robežās no 1,2 līdz 2,5 [13]. No uzņemtajām rentgendifraktogrammām var secināt, ka paraugi ir amorfī līdz pat Ca/P molārajai attiecībai 2,6.



3.1. att. Rentgendifraktogrammas nekarsētiem HAp paraugiem pēc liofilizācijas

Paraugiem, kuru Ca/P molārā attiecība ir augstāka par 2,6, kā sākotnējo fāzi neizdevās iegūt amorfū HAp. Tas sakrīt ar literatūrā minēto, ka palielinoties Ca/P molārajai attiecībai amorfos HAp, paātrinās to kristalizācija [16].

HAp paraugiem, kas iegūti amorfā fāzē karsējot 2 stundas  $700^\circ\text{C}$  temperatūrā, uzņemtajās rentgendifraktogrammās (skatīt 3.2. attēlu) redzams, ka signāli ir ar pietiekami augstu intensitāti, kas liecina par augstu kristalizācijas pakāpi.



3.2. att. Rentgendifraktogrammas HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot 2 stundas 700°C temperatūrā

Literatūrā minēts, ka vienfāzes HAp var iegūt plašā Ca/P molārās attiecības diapazonā – no 1,2 līdz 2,5 [52]. Pēc rentgendifraktogrammām, kas redzamas 3.2. attēlā, var secināt, ka vienfāzes HAp veidojas paraugiem ar Ca/P molāro attiecību 1,8 un 2,0. Palielinoties Ca/P molārajai attiecībai ( $\text{Ca/P} \geq 2,2$ ) sintezētajos paraugos, parādās blakusfāze - CaO. Pie augstākas Ca/P molārās attiecības, kas ir lielāka par 2,6, var novērot, ka parādās vēl vienas blakusfāzes,  $\text{CaCO}_3$ , piemaisījumi.

Uzņemtajām rentgendifraktogrammām tika veikta *Rietveld* analīze, lai noskaidrotu fāžu daudzumu HAp paraugos (skatīt 3.1. tabulu). *Rietveld* analīzes datu kļūdas aprēķinātas pēc *Round Robin* apstrādātajiem statistiskās precizitātes mērījumu datiem [53].

3.1. tabula

*Rietveld* analīzes dati HAp paraugiem, kas karsēti 2 stundas 700°C temperatūrā

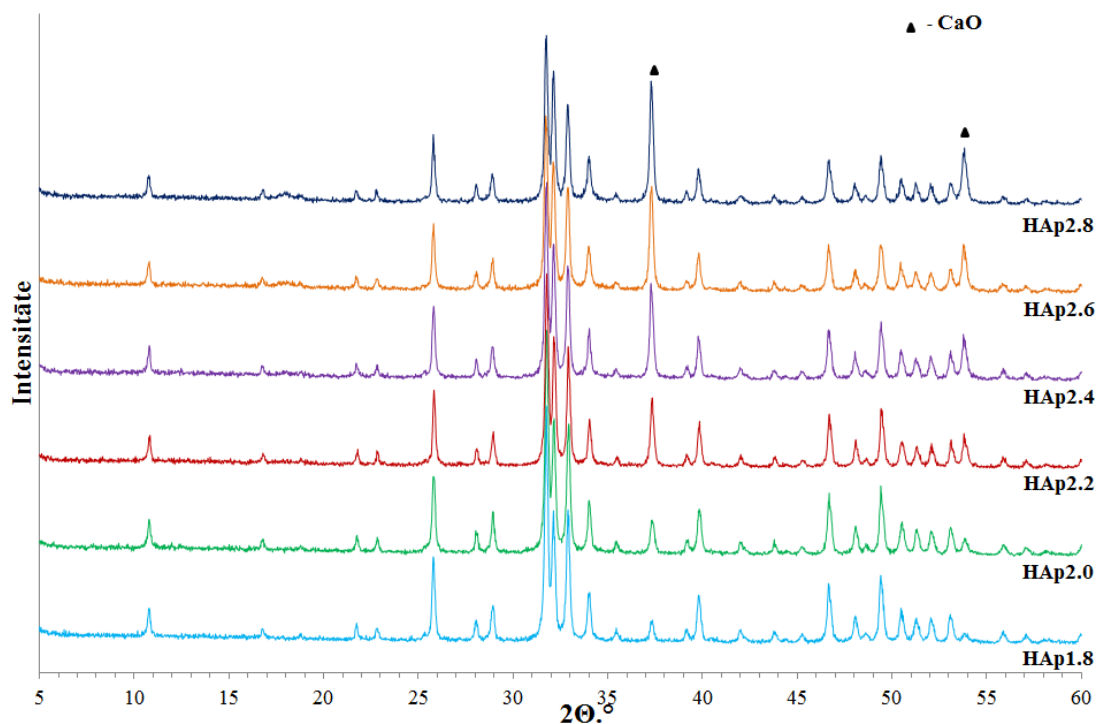
Paraugs	Fāzes daudzums, $w \pm \Delta w$ , %		
	HAp	CaO	CaCO <sub>3</sub>
HAp <sub>1.8</sub>	99 ± 2	< 1	-
HAp <sub>2.0</sub>	99 ± 2	< 1	-
HAp <sub>2.2</sub>	95 ± 2	4 ± 2	< 1
HAp <sub>2.4</sub>	94 ± 2	5 ± 2	< 1

## 3.1. tabulas turpinājums

Paraugs	Fāzes daudzums, $w \pm \Delta w$ , %		
	HAp	CaO	CaCO <sub>3</sub>
HAp <sub>2.6</sub>	85 ± 2	4 ± 2	11 ± 2
HAp <sub>2.8</sub>	83 ± 2	15 ± 2	2 ± 1

No iegūtajiem *Rietveld* datiem var secināt, ka pie Ca/P molārās attiecības 2,2 parādās neliels CaCO<sub>3</sub> blakusfāzes piemaisījums, ātrāk nekā novērojams rentgendifraktogrammās. Palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, HAp daudzums paraugos samazinās, un pieaug blakusfāžu piemaisījumi. Vistīrākie HAp paraugi iegūti ar Ca/P molāro attiecību 1,8 un 2,0.

Salīdzinot iegūtās rentgendifraktogrammas 700°C temperatūrā ar 3.3. attēlā apskatāmajām rentgendifraktogrammām, kas uzņemtas paraugiem, kas iegūti, amorfo fāzi karsējot 2 stundas 900°C temperatūrā, var novērot, ka, palielinoties karsēšanas temperatūrai, signāli kļūst smailāki un šaurāki. Tas liecina, ka paraugiem ir augstāka kristāliskuma pakāpe.



3.3. att. Rentgendifraktogrammas HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot 2 stundas 900°C temperatūrā

Paraugiem, kas iegūti, amorfo fāzi karsējot 2 stundas 900°C temperatūrā, pie Ca/P molārās attiecības 1,8 parādās CaO blakusfāze. Palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, palielinās CaO signāla intensitāte, kas liecina par CaO daudzuma pieaugumu paraugā. Tas redzams arī *Rietveld* analīzes datos, kas apkopoti 3.2. tabulā. No tabulas datiem redzams, ka

vēl viena blakusfāze,  $\beta$ -TCP, parādās pie augstākas Ca/P molārās attiecības. Tas varētu būt izskaidrojams ar to, ka  $\beta$ -TCP var veidoties temperatūrā, kas ir augstāka par 750°C.

3.2. tabula

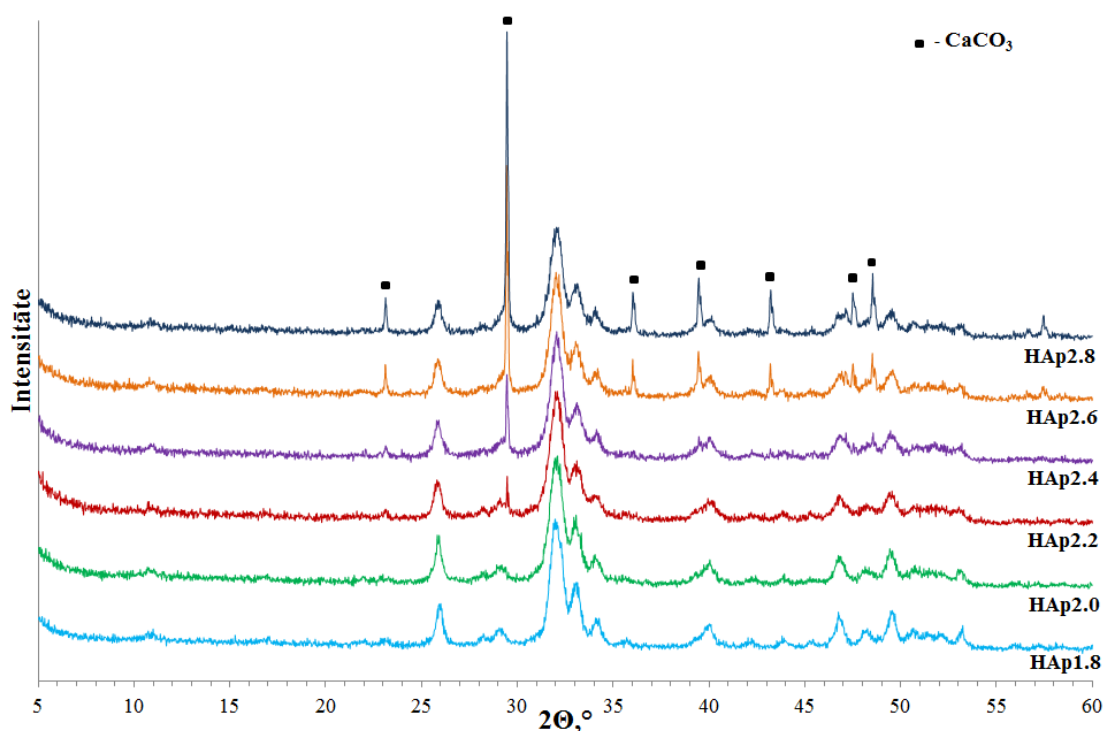
**Rietveld analīzes dati HAp paraugiem, kas karsēti 2 stundas 900°C temperatūrā**

Paraugs	Fāzes daudzums, $w \pm \Delta w$ , %		
	HAp	CaO	$\beta$ -TCP
HAp <sub>1.8</sub>	97 ± 2	3 ± 2	-
HAp <sub>2.0</sub>	95 ± 2	5 ± 2	-
HAp <sub>2.2</sub>	91 ± 2	9 ± 2	-
HAp <sub>2.4</sub>	88 ± 2	12 ± 2	-
HAp <sub>2.6</sub>	85 ± 2	13 ± 2	2 ± 1
HAp <sub>2.8</sub>	82 ± 2	16 ± 2	2 ± 1

Pie augstākas karsēšanas temperatūras, netiek novērota CaCO<sub>3</sub> veidošanās, kas ir izskaidrojams ar to, ka karsējot paraugus paaugstinātā temperatūrā ( $\geq 900^\circ\text{C}$ ) CaCO<sub>3</sub> sadalās par kalcija oksīdu un ogleņskābo gāzi. Literatūrā minēts, ka 900°C temperatūrā ir iespējama HAp sadalīšanās [15]. Iepriekš apskatītajās rentgendifraktogrammās 3.3. attēlā redzams, ka paaugstinātā temperatūrā nenotiek HAp sadalīšanās, kas liecina par HAp struktūras stabilitāti.

Apskatot 3.4. attēlu, var novērot, ka, karsējot paraugus ūdenī, hidrotermiskajā traukā, 2 stundas 150°C temperatūrā, vienfāzes HAp ir iegūts līdz Ca/P molārajai attiecībai 2,0, tāpat kā karsējot paraugus gaisā 700°C temperatūrā (skatīt 3.1. attēlu). Rentgendifraktogrammās novērojams, ka paraugi nav pilnībā kristāliski, jo ir ļoti augsts fona līmenis.

Paraugos novērojama blakusfāzes, CaCO<sub>3</sub>, klātbūtne, kas uzrādās arī *Rietveld* analīzes datos (skatīt 3.3. tabulu). No tabulas datiem var secināt, ka, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, palielinās CaCO<sub>3</sub> signāla intensitāte – pieaug CaCO<sub>3</sub> fāzes saturs paraugos, līdz ar to samazinās HAp tīrība. Nelieli blakusfāzes piemaisījumi parādās jau pie Ca/P molārās attiecības 1,8 un 2,0.



3.4. att. Rentgendifraktogrammas HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot ūdenī 2 stundas 150°C temperatūrā

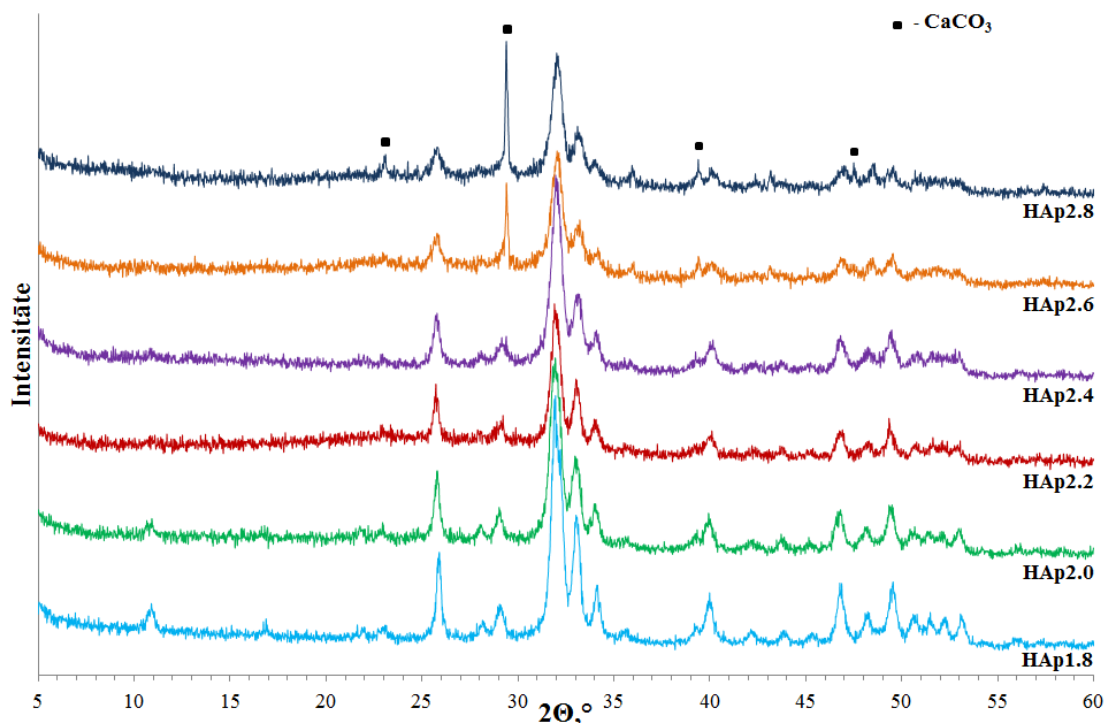
3.3. tabula

Rietveld analīzes dati HAp paraugiem,  
kas karsēti ūdenī 2 stundas 150°C temperatūrā

Paraugs	Fāzes daudzums, $w \pm \Delta w$ , %	
	HAp	CaCO <sub>3</sub>
HA <sub>p</sub> 1.8	99 ± 2	< 1
HA <sub>p</sub> 2.0	99 ± 2	< 1
HA <sub>p</sub> 2.2	98 ± 2	2 ± 1
HA <sub>p</sub> 2.4	95 ± 2	5 ± 2
HA <sub>p</sub> 2.6	85 ± 2	15 ± 2
HA <sub>p</sub> 2.8	76 ± 2	24 ± 2

Izvērtējot iepriekš apskatītās HAp rentgendifraktogrammas, paraugiem, kas karsēti gaisā paaugstinātā temperatūrā un ūdenī 150°C temperatūrā, mainīja karsēšanas apstākļus ar mērķi iegūt vienfāzes HAp ar augstāku Ca/P molāro attiecību. Kā tika minēts 2.2. apakšnodaļā, HAp paraugus karsēja ūdens tvaikos 2 stundas 150°C temperatūrā žāvēšanas skapī.

No iegūtajām rentgendifraktogrammām (skatīt 3.5. attēlu) var novērot, ka vienfāzes HAp ir iegūts līdz Ca/P molārajai attiecībai 2,4, augstāk nekā izmantojot iepriekš minētos karsēšanas veidus. Blakusfāze, CaCO<sub>3</sub>, parādās tikai pie Ca/P molārās attiecības 2,6.



3.5. att. Rentgendifraktogrammas HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot ūdens tvaikos 2 stundas 150°C temperatūrā

Analizējot rentgendifraktogrammas ar *Rietveld* analīzi, no 3.4. tabulā redzams, ka neliels CaCO<sub>3</sub> piemaisījums parādās jau pie Ca/P molārās attiecības 1,8. No tā izriet, ka rentgendifraktogrammās nevar novērot nelielus blakusfāžu piemaisījumus. Vistīrākā HAp fāze ir iegūta paraugiem ar Ca/P molāro attiecību no 1,8 līdz 2,2. Var secināt, ka mainot karsēšanas apstākļus, ir iespējams ietekmēt vienfāzes HAp veidošanos.

3.4. tabula

*Rietveld* analīzes dati HAp paraugiem,  
kas karsēti ūdens tvaikos 2 stundas 150°C temperatūrā

Paraugs	Fāzes daudzums, $w \pm \Delta w$ , %	
	HAp	CaCO <sub>3</sub>
HAp <sub>1.8</sub>	99 ± 2	< 1
HAp <sub>2.0</sub>	99 ± 2	< 1
HAp <sub>2.2</sub>	99 ± 2	< 1

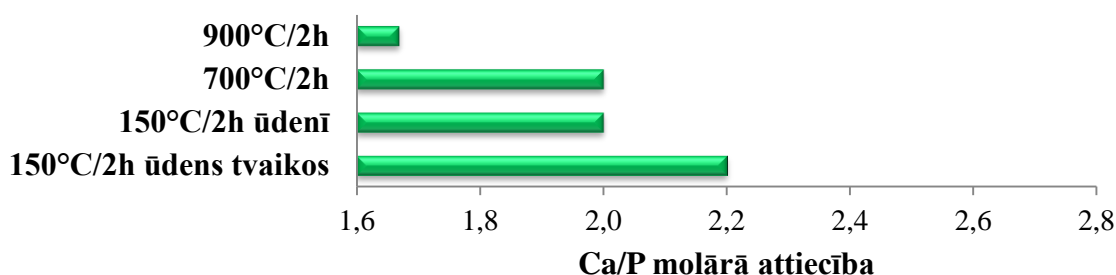
### 3.4. tabulas turpinājums

Paraugs	Fāzes daudzums, $w \pm \Delta w$ , %	
	HAp	CaCO <sub>3</sub>
HAp <sub>2.4</sub>	98 ± 2	2 ± 1
HAp <sub>2.6</sub>	92 ± 2	8 ± 2
HAp <sub>2.8</sub>	88 ± 2	12 ± 2

Literatūrā ir atrodami dati, kas minēti 1.1. apakšnodaļā, ka, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai (>1,67), kā blakusfāzes var parādīties TTCP, Ca(OH)<sub>2</sub> un CaO [9, 12, 28]. Sasniedzot Ca/P molāro attiecību 1,85, HAp kā blakusfāze var parādīties arī α-TCP [25]. Sintezētajos HAp pulveros nav novērojama α-TCP, TTCP un Ca(OH)<sub>2</sub> blakusfāžu veidošanās.

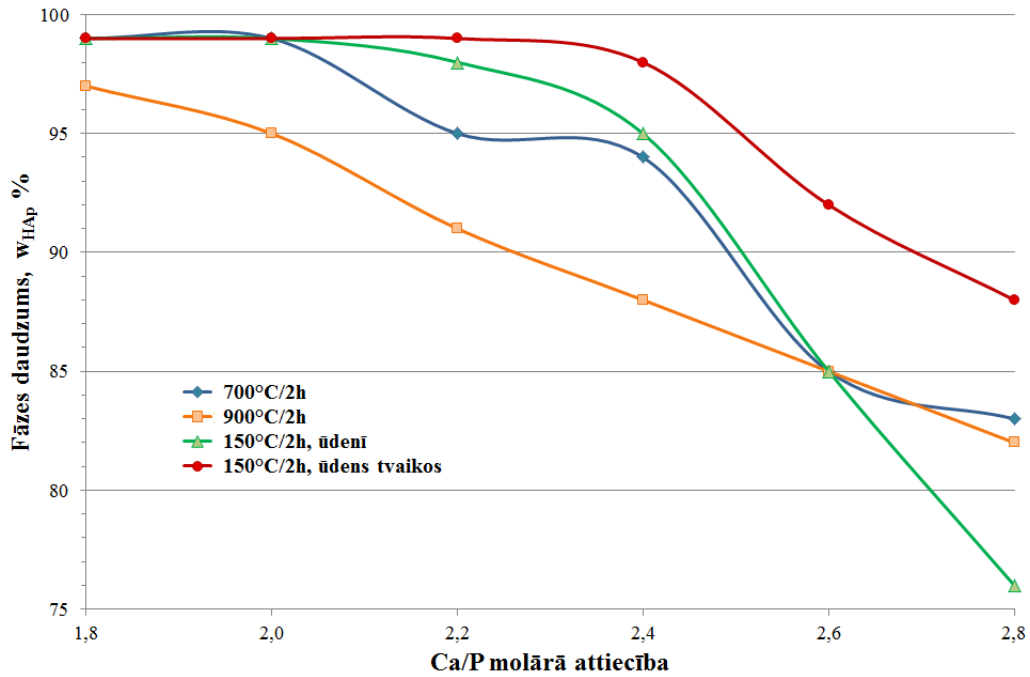
### 3.2 Paraugu karsēšanas veidu salīdzinājums

Karsējot paraugus dažādos veidos ir iespējams ietekmēt HAp veidošanos. No 3.6. attēla redzams, ka, karsējot paraugus ūdens tvaikos 2 stundas 150°C temperatūrā, ir iespējams iegūt vienfāzes HAp ar augstāko Ca/P molāro attiecību – 2,2. Amorfo fāzi kristalizējot ūdenī 150°C temperatūrā vai karsējot paaugstinātā temperatūrā (700°C), var iegūt HAp līdz Ca/P molārajai attiecībai 2,0. Savukārt, karsējot paraugus 2 stundas 900°C temperatūrā, vienfāzes HAp veidojas tikai līdz Ca/P molārajai attiecībai 1,67 [54]. No tā izriet, ka piemērotākais karsēšanas veids kristālisku HAp iegūšanai ir paraugu karsēšana ūdens tvaikos 150°C temperatūrā.



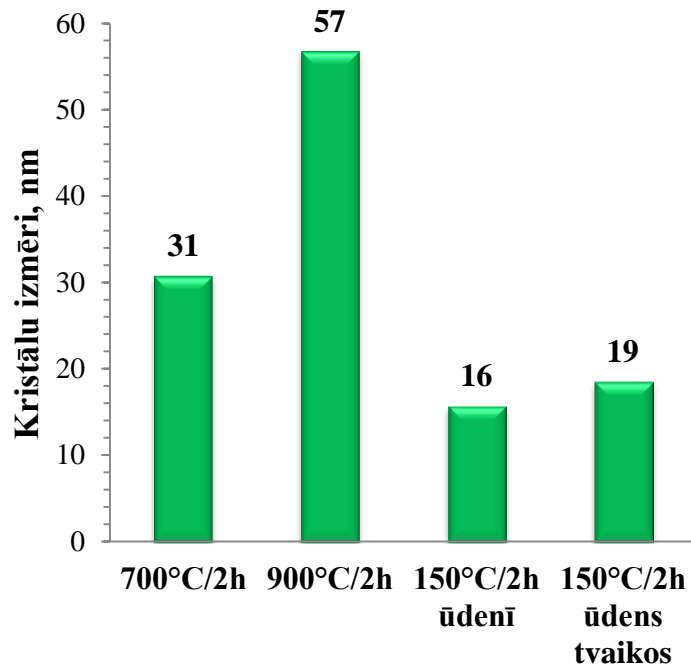
### 3.6. att. Vienfāzes HAp veidošanās atkarībā no karsēšanas veida un Ca/P molārās attiecības

Palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, sintezētajos paraugos palielinās blakusfāžu piemaisījumi, līdz ar to samazinās vienfāzes HAp veidošanās (skatīt 3.7. attēlu). Visaugstāko HAp fāzes daudzumu pulverī var iegūt karsējot paraugus ūdens tvaikos 2 stundas 150°C temperatūrā. Salīdzinot HAp karsēšanas metodes, visnepiemērotākā ir paraugu karsēšana 900°C temperatūrā, jo ir novērojama pakāpeniska HAp fāzes daudzuma samazināšanās.



3.7. att. HAp fāzes daudzums paraugos atkarībā no karsēšanas veida un Ca/P molārās attiecības

Paraugu karsēšanas veids ietekmē arī kristālu izmērus. Vidējie HAp kristālu lielumi aprēķināti pēc *Rietveld* analīzes datiem (skatīt 1. pielikumu). Karsējot paraugus paaugstinātā temperatūrā palielinās kristālu izmēri (skatīt 3.8. attēlu).



3.8. att. Vidējie kristālu izmēri atkarībā no karsēšanas veida

Salīdzinot 3.8. attēlā uzrādītos kristālu izmērus, redzams, ka paraugiem, kuri karsēti 900°C temperatūrā, kristālu lielumi ir par 25 nm lielāki nekā karsējot paraugus 700°C temperatūrā. Savukārt paraugiem, kuri karsēti ūdenī un ūdens tvaikos, HAp kristālu izmēri ir līdz 20 nm. Visi iegūtie paraugi ir nanoizmēru.

Kristālu izmēri ietekmē rentgendifraktogrammu signālu intensitātes. Ja kristāli ir lielāki, tad signālu intensitāte ir augstāka, savukārt ja tie ir smalkkristāliski – intensitātes nav tik izteiktas. Tas novērots arī maģistra darba ietvaros sintezēto pulveru rentgendifraktogrammās (skatīt 3.1. apakšnodaļu).

### 3.3 HAp paraugu raksturošana ar FT-IR spektroskopiju

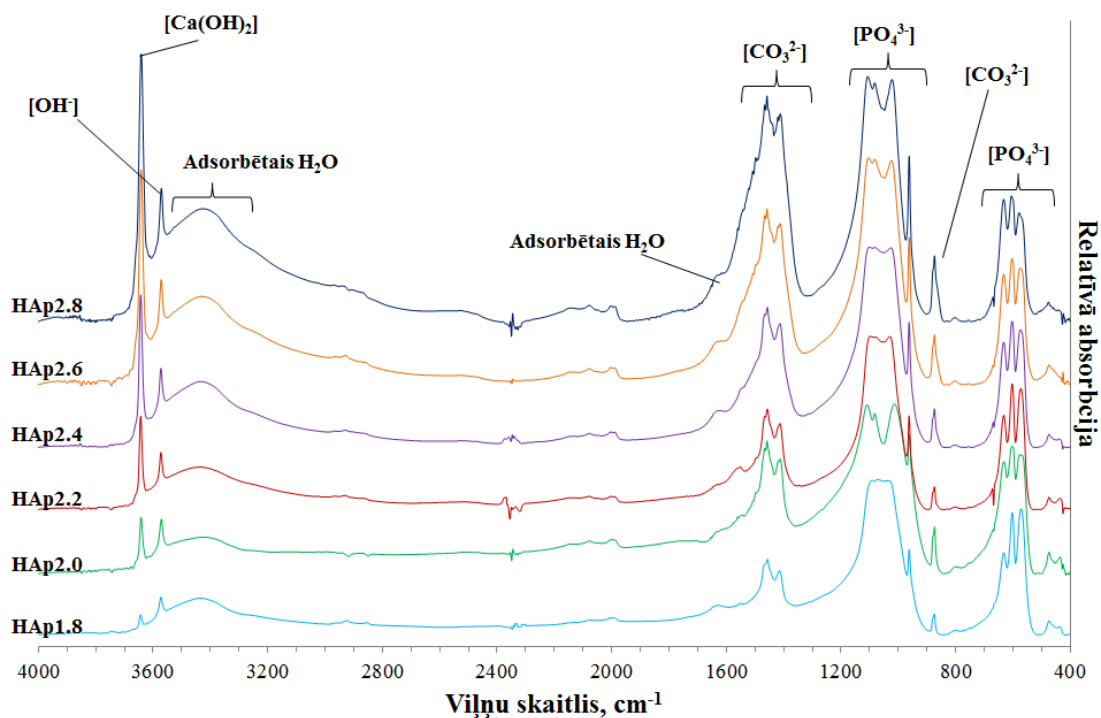
Paraugi analizēti ar FT-IR, lai precizētu paraugu sastāvā esošās funkcionālās grupas, kā arī paraugu tīrību. FT-IR spektri attēlo HAp fāzei raksturīgās ķīmisko funkcionālo grupu absorbcijas joslas – fosfātjonu un karbonātjonu grupas, adsorbēto ūdeni un hidroksīdgrupas (skatīt 2. pielikumu).

Absorbcijas maksimumi robežās 400 – 470  $\text{cm}^{-1}$ , 500 – 620  $\text{cm}^{-1}$  un 950 – 1150  $\text{cm}^{-1}$  liecina par fosfātjonu grupu klātbūtni analizējamajos paraugos. ACP infrasarkanajos spektros uzrādās platas neizteiksmīgas fosfātu absorbcijas joslas (skatīt 2. pielikuma 1. attēlu).

Karbonātjonu grupas FT-IR spektros uzrādās pie viļņu skaitļa 1400 – 1550  $\text{cm}^{-1}$ . Absorbcijas maksimums pie 820 – 900  $\text{cm}^{-1}$  var liecināt par  $\text{PO}_4^{3-}$  grupu aizvietošanu ar  $\text{CO}_3^{2-}$  grupām HAp kristālrežģī.

Platā josla, kas redzama visu paraugu IR spektros no 3000  $\text{cm}^{-1}$  līdz 3700  $\text{cm}^{-1}$  un ap viļņu skaitli 1640  $\text{cm}^{-1}$  norāda uz asociēto O-H saišu absorbciju – adsorbētajām ūdens molekulām, savukārt, absorbcijas maksimumu pie ~3575  $\text{cm}^{-1}$  rada ar ūdeņradi nesaistītās O-H valences svārstības [15].

Analizējot FT-IR spektrus HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot 2 stundas 900°C temperatūrā, novērojams, ka, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, palielinās  $\text{CO}_3^{2-}$  un  $\text{PO}_4^{3-}$  grupu joslu intensitāte, kas liecina par  $\text{CO}_3^{2-}$  un  $\text{PO}_4^{3-}$  daudzuma pieaugumu HAp paraugos (skatīt 3.9. attēlu). Salīdzinot IR spektrus, kas iegūti paraugus karsējot 900°C temperatūrā, ar IR spektriem, kas iegūti paraugus karsējot 700°C temperatūrā (skatīt 2. pielikuma 2. attēlu), secināts, ka absorbcijas joslu intensitāte palielinās, palielinoties kalcionēšanas temperatūrai, kas ir minēts arī literatūrā [9].



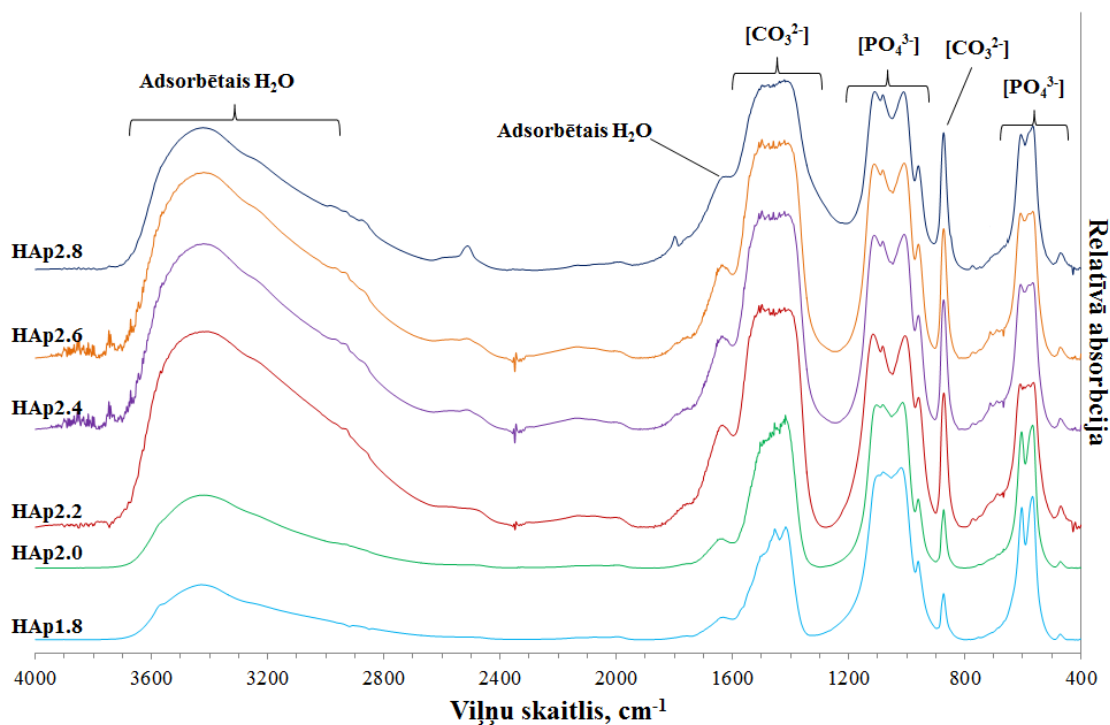
3.9. att. FT-IR spektri HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot 2 stundas 900°C temperatūrā

Neasociēto O-H saišu svārstībām raksturīgais absorbcijas signāls parādās pie viļņu skaitļa 3644  $\text{cm}^{-1}$ . Šis absorbcijas maksimums varētu liecināt par  $\text{Ca(OH)}_2$  klātbūtni. Līdzīga situācija novērojama arī paraugiem, kuri karsēti 700°C temperatūrā (skatīt 2. pielikuma 2. attēlu). Rentgendifraktogrammās ir redzami CaO raksturīgie signāli, tomēr nav novērojami  $\text{Ca(OH)}_2$  signāli (skatīt 3.3. attēlu). IR spektros  $\text{Ca(OH)}_2$  klātbūtne ir izskaidrojama ar CaO spēju saistīt ūdeni. Istabas temperatūrā CaO var veidot gan  $\text{CaCO}_3$ , absorbējot gaisā esošo  $\text{CO}_2$ , gan  $\text{Ca(OH)}_2$ , saistot gaisā esošo ūdeni [55, 56].

Paraugiem, kas ir karsēti 900°C temperatūrā, novērojama  $\text{Ca(OH)}_2$  smailes palielināšanās. Šāda tendence novērota arī 3.1. apakšnodaļā – sintezēto paraugu rentgendifraktogrammās. IR spektros, paraugiem, kas karsēti 700°C temperatūrā, nav novērojama šāda tendence. Nepilnīgā  $\text{CaCO}_3$  sadalīšanās 700°C temperatūrā apgrūtina IR spektru interpretāciju.

HAp paraugiem, kas karsēti ūdenī un ūdens tvaikos, neuzrādās O-H valences svārstībām raksturīgie absorbcijas maksimumi (skatīt 3.10. attēlu). FT-IR spektrus ūdens tvaikos karsētajiem paraugiem skatīt 2. pielikumā, 3. attēlā. Tas ir skaidrojams ar karsēšanas laikā adsorbēto ūdeni, kas pārklājas pāri neasociēto O-H valences svārstību raksturīgajiem absorbcijas maksimumiem. Sintezēto paraugu IR spektros novērojams, ka, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, palielinās  $\text{CO}_3^{2-}$  grupu joslu intensitāte, kas liecina par  $\text{CO}_3^{2-}$  pieaugumu HAp paraugos.

FT-IR spektros smaili absorbcijas maksimumi pie viļņu skaitļiem  $\sim 580\text{cm}^{-1}$  un  $\sim 600\text{cm}^{-1}$  liecina par paraugu kristāliskuma pakāpi [24]. Ūdenī un ūdens tvaikos karsētajiem paraugiem nav novērojami smaili absorbcijas maksimumi pie iepriekš minētajiem viļņu skaitļiem, kas liecina par to, ka iegūtie paraugi nav ar relatīvi augstu kristāliskuma pakāpi. Par to liecina arī paraugiem uzņemtās rentgendifraktogrammas.

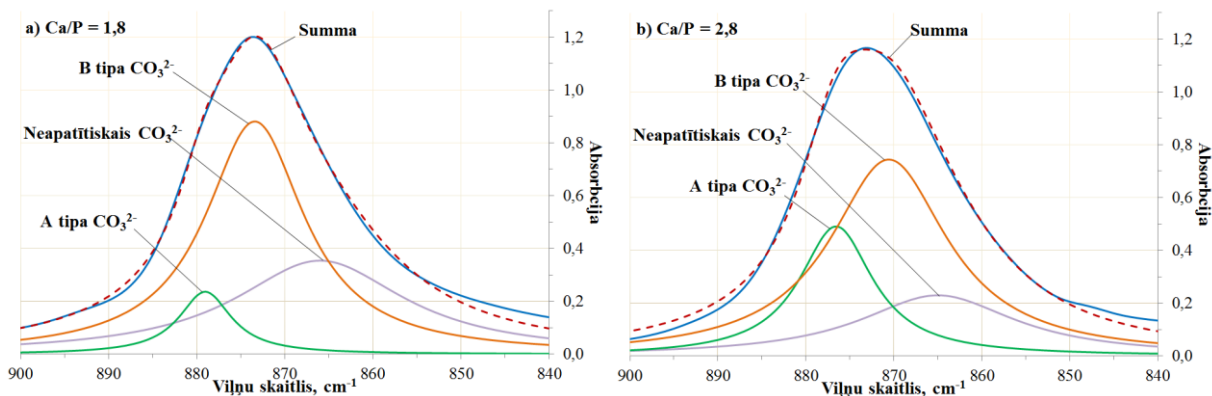


3.10. att. FT-IR spektri HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot ūdenī 2 stundas  $150^{\circ}\text{C}$  temperatūrā

### 3.4 FT-IR spektru dekonvolūcija

FT-IR spektroskopija kombinācijā ar dekonvolūciju piedāvā papildus priekšrocības kvalitatīvai analīzei - var iegūt detalizētāku informāciju par karbonātajiem, kas iekļāvušies HAp struktūrā. Ar citām metodēm, kā piemēram PXRD, to nav iespējams konstatēt. HAp ir iespējama divu veidu aizvietošana ar karbonātajiem, tie var iesaistīties  $\text{OH}^-$  grupas vietā (A tipa karbonāti) un/vai  $\text{PO}_4^{3-}$  grupas vietā (B tipa karbonāti) [12, 15, 16].

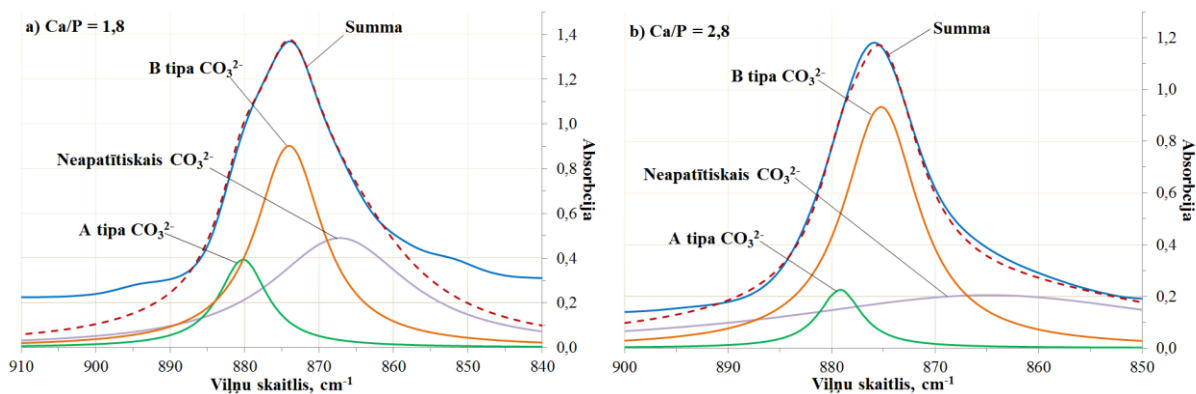
Literatūrā ir minēts, ka amorfa kalcija fosfāta, kas sintezēts izmantojot karbonātjonus saturošu izejvielu, IR spektra apgabalā no  $866 - 880\text{ cm}^{-1}$  netiek novērots ne A-tipa, ne B-tipa  $\text{CO}_3^{2-}$ . Kā dominējošais tiek minēts neapatītiskais  $\text{CO}_3^{2-}$ , kas liecina par to, ka  $\text{CO}_3^{2-}$  vēl nav saistījušies HAp struktūrā. Pēc karsēšanas paaugstinātā temperatūrā neapatītiskais  $\text{CO}_3^{2-}$  samazinās, savukārt B-tipa  $\text{CO}_3^{2-}$  palielinās [20]. Šādas pazīmes novērojamas arī paraugiem, kas karsēti ūdens tvaikos (skatīt 3.11. attēlu). Līdzīga situācija konstatēta arī paraugiem, kas karsēti ūdenī (skatīt 3. pielikuma 1. attēlu).



3.11. att. FT-IR spektru dekonvolūcija  $\text{CO}_3^{2-}$  grupai, HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot ūdens tvaikos 2 stundas  $150^\circ\text{C}$  temperatūrā

No 3.11. attēla redzams, ka samazinās neapatitiskais  $\text{CO}_3^{2-}$  signāls ( $866\text{ cm}^{-1}$ ) un parauga sastāvā ir gan A-tipa ( $880\text{ cm}^{-1}$ ), gan B-tipa ( $871\text{ cm}^{-1}$ ) karbonātijoni [16]. Palielinoties Ca/P molārajai attiecībai palielinās A-tipa aizvietošanās HAp paraugos.

Paraugiem, kas karsēti  $700^\circ\text{C}$  temperatūrā, novērojama gan A-tipa, gan B-tipa aizvietošanās (skatīt 3.12. attēlu). Līdzīga tendence novērojama arī paraugiem, kas karsēti  $900^\circ\text{C}$  temperatūrā (skatīt 3. pielikuma 2. attēlu). Palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, samazinās A-tipa aizvietošanās HAp, pretēji kā tas notiek ūdenī un ūdens tvaikos karsētajiem paraugiem (skatīt 3.11. attēlu).



3.12. att. FT-IR spektru dekonvolūcija  $\text{CO}_3^{2-}$  grupai, HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot 2 stundas  $700^\circ\text{C}$  temperatūrā

### 3.5 Spektrofotometriska fosfora jonu noteikšana paraugos

Fosfora daudzumu sintezētajos paraugos noteica spektrofotometriski. HAp sastāvā esošās fosfora moldaļas (skatīt 3.5. tabulu) aprēķināja izmantojot iegūtās fosfora absorbcijas vērtības no 2.3. tabulas. Fosfora moldaļu paraugā aprēķināja pēc 3.1. vienādojuma. Moldaļas rēķinātas uz 1 g vielas.

$$n_P = \frac{\frac{A + 0,0029}{14,01} \cdot \frac{v_{kolba}}{v_{pip.}} \cdot \frac{2 \cdot M_P}{M_{P_2O_5}} \cdot v_{HAp}}{M_P} \cdot x, \quad (3.1)$$

kur  $\frac{A+0,0029}{14,01}$  – vienādojums no kalibrēšanas grafika;

$v_{kolba}$  – mērkolbas tilpums, kurā atšķaidīts paraugs, 50 mL;

$v_{pip.}$  – analīzei ņemtais parauga tilpums, 2 mL;

$M_P$  – fosfora molmasa, 61,95 g·mol<sup>-1</sup>;

$M_{P_2O_5}$  – fosfora (V) oksīda molmasa, 141,94 g·mol<sup>-1</sup>;

$v_{HAp}$  – mērkolbas tilpums, kurā izšķīdināts HAp paraugs, 100 mL;

$x$  – daudzums pārrēķināts uz 1 g vielas, reizināts ar 10.

3.5. tabula

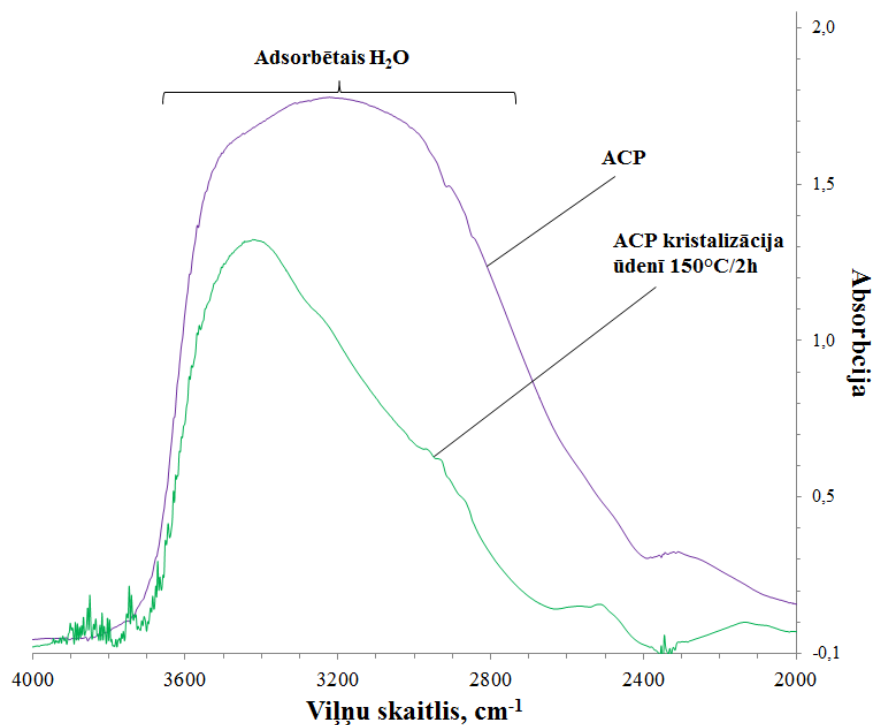
#### Spektrofotometriski noteiktās fosfora moldaļas

#### HAp paraugos ar drošības intervāliem (DI)

Apstrādes metode	Paraugi	$n_{P,vids} \pm \Delta n$ , mmol
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	4,4 ± 0,3
	HAp <sub>2.0</sub>	3,97 ± 0,12
	HAp <sub>2.2</sub>	3,53 ± 0,04
	HAp <sub>2.4</sub>	3,12 ± 0,06
	HAp <sub>2.6</sub>	3,04 ± 0,06
	HAp <sub>2.8</sub>	2,72 ± 0,10
ACP karsēti ūdenī 150°C/2h	HAp <sub>1.8</sub>	4,78 ± 0,13
	HAp <sub>2.0</sub>	4,34 ± 0,04
	HAp <sub>2.2</sub>	3,93 ± 0,10
	HAp <sub>2.4</sub>	3,66 ± 0,13
	HAp <sub>2.6</sub>	3,50 ± 0,10
	HAp <sub>2.8</sub>	3,11 ± 0,10

Spektrofotometriki noteiktās fosfora moldaļas sintezētajos paraugos ir zemākas nekā teorētiski aprēķinātās ( $n_{P, teor.} = 6,00$  mmol). Novērojams, ka, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, fosfora daudzums paraugos samazinās. Tas ir izskaidrojams ar to, ka HAp struktūrā iesaistās karbonātijoni, kas ietekmē fosfora jonu saistīšanos ar kalcija joniem. FT-IR spektros novērojams, ka palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, paraugos palielinās  $CO_3^{2-}$  daudzums. No tā izriet, ka uz vienādu parauga iesvaru fosfora daudzums samazinās, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai.

No 3.5. tabulas novērojams, ka karsējot ACP paraugu  $150^\circ C$  temperatūrā 2 stundas, palielinās fosfora moldaļas paraugos salīdzinājumā ar analizētajiem ACP paraugiem. Tas izskaidrojams ar karsēšanas procesā notiekošajiem desorbcijas procesiem. Paaugstinātā temperatūrā ACP fāzē atbrīvojas saistītās ūdens molekulas. Adsorbētā ūdens samazināšanos var novērot uzņemtajos IR spektros (skatīt 3.13. attēlu).



3.13. att. Adsorbētā ūdens FT-IR spektri ACP un HAp, kas iegūts ACP karsējot ūdenī 2 stundas  $150^\circ C$  temperatūrā

No iepriekš minētā var secināt, ka, uz vienādu parauga iesvaru, ACP ir vairāk saistītā ūdens molekulu nekā karsētajā paraugā, tāpēc karsētajos HAp paraugos fosfora moldaļa ir augstāka nekā amorfās fāzes paraugos.

### 3.6 Kompleksonometriskā kalcija jonu noteikšana HAp paraugos

Sintezētajos HAp paraugos kalcija daudzumu noteica kompleksometriski. Kalcija moldaļas HAp sastāvā noteica izmantojot iegūtos titrēšanas tilpumus no 2.5. tabulas. Tilpuma pārrēķinam uz moldaļām izmantoja 3.2. vienādojumu. Moldaļas rēķinātas uz 1 g vielas un aprēķinātie dati parādīti 3.6. tabulā.

$$n_{Ca} = c_{kompl} \cdot v_{kompl} \cdot \frac{z_{Ca}}{z_{kompl}} \cdot \frac{v_{HAp}}{v_{pip}} \cdot x \cdot 1000, \quad (3.2)$$

kur  $c_{kompl}$  – kompleksona III koncentrācija, 0,0252 M;

$v_{kompl}$  – analīzei izlietotais kompleksona III tilpums, L;

$\frac{z_{Ca}}{z_{kompl}}$  – kalcija un kompleksona III stehiometriskās attiecības;

$v_{HAp}$  – mērkolbas tilpums, kurā izšķīdināts HAp paraugs, 100 mL;

$v_{pip}$  – analīzei ņemtais parauga tilpums, 10 mL;

$x$  – daudzums pārrēķināts uz 1 g vielas, reizināts ar 10.

3.6. tabula

**Kompleksonometriski noteiktās un teorētiski aprēķinātās kalcija moldaļas HAp paraugos ar drošības intervāliem (DI)**

Apstrādes metode	Paraugi	Eksperimentāli noteiktās	Teorētiski aprēķinātās
		$n_{Ca,vid}, \pm \Delta n, \text{ mmol}$	$n_{Ca}, \text{ mmol}$
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	7,1 ± 0,2	10,8
	HAp <sub>2.0</sub>	7,3 ± 0,2	12,0
	HAp <sub>2.2</sub>	7,5 ± 0,2	13,2
	HAp <sub>2.4</sub>	7,9 ± 0,2	14,4
	HAp <sub>2.6</sub>	7,9 ± 0,3	15,6
	HAp <sub>2.8</sub>	8,2 ± 0,3	16,8
ACP karsēti ūdenī 150°C/2h	HAp <sub>1.8</sub>	8,1 ± 0,2	10,8
	HAp <sub>2.0</sub>	8,3 ± 0,3	12,0
	HAp <sub>2.2</sub>	8,6 ± 0,2	13,2
	HAp <sub>2.4</sub>	8,70 ± 0,13	14,4
	HAp <sub>2.6</sub>	9,0 ± 0,3	15,6
	HAp <sub>2.8</sub>	9,0 ± 0,2	16,8

Salīdzinot teorētiski aprēķinātās moldaļas ar eksperimentāli noteiktajām, ir redzams, ka ir samazināts kalcija jonu daudzums, kas varētu būt izskaidrojams ar to, ka sintēzes gaitā nav pievienots pietiekams daudzums kalciju saturošu izejvielu. Samazināts kalcija jonu daudzums varētu būt izskaidrojams arī ar to, ka kalcijš sintēzes gaitā var veidot šķīstošus savienojumus. Tomēr ir novērojama tendence kalcija daudzumam palielināties sintezētajos HAp paraugos, kas norāda uz to, ka ir iespējams sintezēt HAp ar paaugstinātu kalcija daudzumu, palielinot sākotnējo izejvielu daudzumu.

No 3.6. tabulas datiem redzams, ka, paraugiem, kas ir karsēti ūdenī 150°C temperatūrā 2 stundas, novērojama līdzīga tendence kā minēts 3.5. apakšnodaļā pie spektrofotometriskas fosfora noteikšanas - kalcija daudzums karsētajos paraugos ir augstāks nekā ACP paraugos. Tas ir izskaidrojams ar adsorbētā ūdens samazināšanos karsētajā paraugā, kā tika minēts 3.5. apakšnodaļā.

### 3.7 Kalcija daudzuma noteikšana ar FAAS

Kalcija daudzumu paraugos noteica ar FAAS, gaisa-acetilēna liesmā (FAAS(Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)) un slāpekļa(I) oksīda-acetilēna liesmā (FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)). Izmantojot iegūtās masas koncentrācijas no 2.6. un 2.7. tabulām, aprēķināja kalcija moldaļas HAp sastāvā. Masas koncentrāciju pārrēķinām uz moldaļām izmantoja 3.3. vienādojumu. Moldaļas rēķinātas uz 1 g vielas un aprēķinātie dati apkopoti 3.7. tabulā.

$$n_{Ca} = \frac{\gamma \cdot v_{HAp} \cdot k}{M_{Ca}} \cdot x, \quad (3.3)$$

kur  $\gamma$  – analizējamā parauga masas koncentrācija, mg·L<sup>-1</sup>;

$v_{HAp}$  – mērkolbas tilpums, kurā izšķīdināts HAp paraugs, 0,1 L;

$k$  – atšķaidījums (attiecīgi FAAS(Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) - 500; FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) – 50);

$x$  – daudzums pārrēķināts uz 1 g vielas, reizināts ar 10;

$M_{Ca}$  – kalcija molmasa, 40,08 g·mol<sup>-1</sup>.

3.7. tabula

Ar FAAS noteiktās kalcija moldaļas HAp paraugos ar drošības intervāliem (DI)

Apstrādes metode	Paraugi	Eksperimentāli noteiktās		Teorētiski aprēķinātās
		FAAS(N <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )	FAAS(Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )	
		$n_{Ca,vid}, \pm \Delta n, \text{ mmol}$		
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	7,68 ± 0,08	7,46 ± 0,13	10,8
	HAp <sub>2.0</sub>	7,85 ± 0,02	7,48 ± 0,05	12,0
	HAp <sub>2.2</sub>	7,95 ± 0,05	7,1 ± 0,2	13,2

Apstrādes metode	Paraugi	Eksperimentāli noteiktās		Teorētiski aprēķinātās
		FAAS(N <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )	FAAS(Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )	
		$n_{Ca,vid}, \pm \Delta n, \text{ mmol}$		
ACP	HAp <sub>2.4</sub>	7,90 ± 0,08	7,25 ± 0,11	14,4
	HAp <sub>2.6</sub>	8,00 ± 0,06	7,81 ± 0,14	15,6
	HAp <sub>2.8</sub>	8,014 ± 0,013	7,93 ± 0,14	16,8
ACP karsēti ūdenī 150°C/2h	HAp <sub>1.8</sub>	8,47 ± 0,03	9,5 ± 0,2	10,8
	HAp <sub>2.0</sub>	8,6 ± 0,2	10,0 ± 0,2	12,0
	HAp <sub>2.2</sub>	8,77 ± 0,09	11,85 ± 0,10	13,2
	HAp <sub>2.4</sub>	8,73 ± 0,03	10,1 ± 0,2	14,4
	HAp <sub>2.6</sub>	9,20 ± 0,03	9,4 ± 0,2	15,6
	HAp <sub>2.8</sub>	9,27 ± 0,02	9,44 ± 0,15	16,8

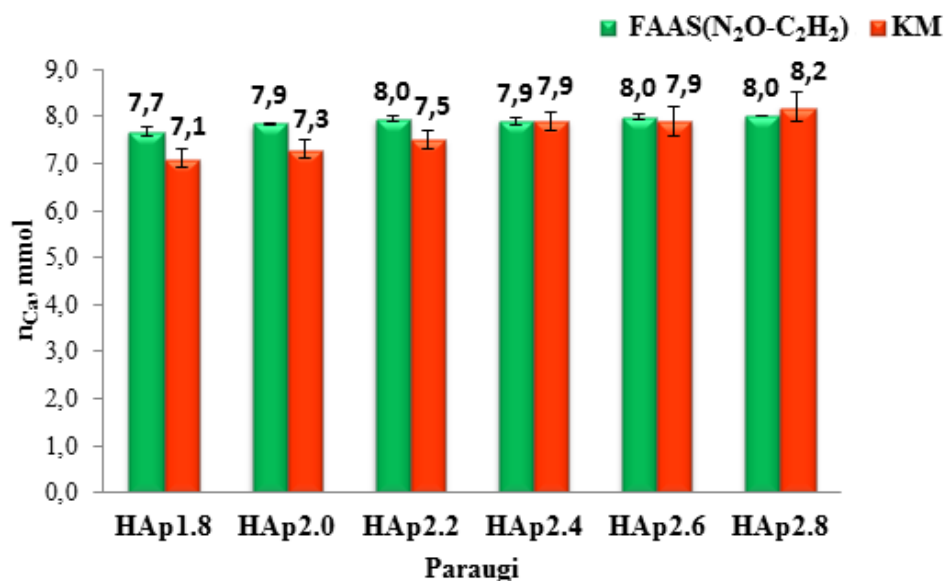
No iegūtajiem FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) rezultātiem (skatīt 3.7. tabulu) novērojams kalcija mola daļu pieaugums, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai. Šāda tendence aprakstīta arī 3.6. apakšnodaļā pie kompleksonometriskas kalcija jonu noteikšanas. Noteiktie rezultāti ar FAAS(Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) ir svārstīgi, kas varētu būt izskaidrojams ar to, ka atomizācijas process nav stabils un EDTA pilnīgi nesaistās ar kalcija joniem. Līdz ar to iegūtie rezultāti ar FAAS(Air-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) neatbilst precizitātes kritērijiem.

Salīdzinot iegūtos rezultātus (FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)) ar teorētiski aprēķinātajiem, novērojams, ka ir samazināts kalcija jonu daudzums HAp paraugos. Kā iepriekš tika minēts 3.6. apakšnodaļā, tas, iespējams, ir izskaidrojams ar to, ka sintēzes gaitā nav pievienots pietiekams daudzums kalciju saturošo izejvielu, kā arī sintēzes gaitā kalcijs var veidot šķīstošus savienojumus.

### 3.8 Kalcija noteikšanas metožu salīdzinājums

Šajā apakšnodaļā tiek salīdzinātas divas kvantitatīvās noteikšanas metodes - kompleksonometrija un FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>). Ar kompleksonometriju un FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) iegūtos datus skatīt 3.3. un 3.5. apakšnodaļās.

Izmantojot FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) metodi, kalcija mola daļas vidēji ir par 0,2 mola daļām augstākas nekā nosakot ar kompleksometriju metodi (skatīt 3.14. attēlu). Līdzīga tendence novērojama arī paraugiem, kas karsēti 150°C temperatūrā (skatīt 4. pielikumu). Iegūto datu starpība ir neliela un dati ir salīdzināmi. Ķīmiskā sastāva noteikšanai var izmantot abas šīs metodes. Ar FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) iegūtie dati uzskatāmi par precīzākiem, nekā kompleksometriki noteiktie, jo FAAS(N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) ir specifiskāka noteikšanas metode.



3.14. att. Ar FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) un kompleksometriju metodēm noteikto kalcija mola daļu ACP paraugos salīdzinājums

Kompleksometriki nosakot kalciju, var rasties kļūdas, ko varētu izraisīt citu katjonu kompleksveidošanās titrēšanās gaitā, tādējādi uzrādot neprecīzus rezultātus. Noteikšanas kļūdu var radīt arī krāsu pāreja no sarkani - rozā uz zilu, jo nav iespējams pilnīgi precīzi noteikt titrēšanas beigu punktu.

### 3.9 Iegūto kalcija/fosfora molāro attiecību izvērtējums

Ca/P molārās attiecības (skatīt 3.8. tabulu) aprēķinātas izmantojot iepriekš iegūtās kalcija un fosfora mola daļas sintezētajos HAp paraugos (skatīt 3.5., 3.6. un 3.7. apakšnodaļas).

Ar FAAS (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), KM un SP noteiktās Ca/P molārās attiecības HAp paraugos

Apstrādes metode	Noteikšanas metodes Paraugi	Ca/P		
		FAAS(N <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> )/SP	KM/SP	Teorētiski aprēķinātās
ACP	HAp <sub>1.8</sub>	1,74	1,63	1,80
	HAp <sub>2.0</sub>	1,98	1,85	2,00
	HAp <sub>2.2</sub>	2,25	2,13	2,20
	HAp <sub>2.4</sub>	2,53	2,53	2,40
	HAp <sub>2.6</sub>	2,63	2,60	2,60
	HAp <sub>2.8</sub>	2,95	3,04	2,80
ACP karsēti ūdenī 150°C/2h	HAp <sub>1.8</sub>	1,77	1,69	1,80
	HAp <sub>2.0</sub>	1,99	1,93	2,00
	HAp <sub>2.2</sub>	2,23	2,19	2,20
	HAp <sub>2.4</sub>	2,39	2,39	2,40
	HAp <sub>2.6</sub>	2,63	2,57	2,60
	HAp <sub>2.8</sub>	2,98	2,89	2,80

Izvērtējot iegūtos rezultātus, var secināt, ka sintezētajos HAp iegūtās Ca/P molārās attiecības ir tuvu plānotajām. Ir jāoptimizē sintēzes apstākļi, lai uzlabotu sintezēto pulveru kvantitatīvo sastāvu un iegūtu precīzas Ca/P molārās attiecības.

Salīdzinot iegūtās Ca/P molārās attiecības ACP un paraugiem, kas karsēti 2 stundas 150°C temperatūrā, var novērot, ka Ca/P molārās attiecības ir samērā tuvas.

## SECINĀJUMI

1. Izmantojot nogulsnešanas metodi, ir iespējams sintezēt amorfas fāzes hidroksilapatītus ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām. Izvērtējot hidroksilapatītu difraktogrammas, var secināt, ka amorfo fāzi var iegūt līdz Ca/P molārajai attiecībai 2,6. Pie lielākām Ca/P molārajām attiecībām veidojas kristāliskā fāze.
2. Ar pulvera rentgendifraktometriju un Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopiju novērots, ka, palielinoties Ca/P molārajai attiecībai, sintezētajos paraugos palielinās blakusfāžu piemaisījumi, līdz ar to samazinās vienfāzes hidroksilapatīta veidošanās. Galvenās novērotās blakusfāzes ir CaO un CaCO<sub>3</sub>.
3. Salīdzinot iegūtos datus ar liesmas atomabsorbciometrijas, spektrofotometrijas un kompleksonometrijas metodēm, secināts, ka sintezētajos hidroksilapatītos iegūtas Ca/P molārās attiecības ir tuvu teorētiskajām. Tomēr vēl ir jāoptimizē sintēzes apstākļi, lai iegūtu paraugus ar precīzākām Ca/P molārajām attiecībām.
4. Piemērotākais karsēšanas veids kristālisku HAp iegūšanai, ar dažādām Ca/P molārajām attiecībām, ir paraugu karsēšana ūdens tvaikos 150°C temperatūrā. Ar šo metodi ir iespējams iegūt vienfāzes hidroksilapatītu līdz pat Ca/P molārajai attiecībai 2,2. Salīdzinot hidroksilapatītu karsēšanas metodes, visnepiemērotākā ir paraugu karsēšana 900°C temperatūrā, jo ir novērojama pakāpeniska hidroksilapatīta fāzes daudzuma samazināšanās.

## IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Mežinskis, G.; Pavlovska, I.; Jastržemskis, J.; Lazdiņa, D. Hidroksilapaīta keramikas iegūšana un poru struktūras modifikācija, izmantojot hidrolizētu alkoksīdu šķīdumu. RTU Silikātu materiālu institūts, Rīga, 2011.
2. Par prioritārajiem virzieniem zinātnē 2014. - 2017. gadā. MK noteiktumi Nr. 551, 20.11.2013, Ministru kabinets, Rīga. <http://www.likumi.lv> [skatīts 19.01.2015.].
3. Dorozhkin, S.V. Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine. *Materials*. **2009**, 2, 399 – 498.
4. Šalma – Ancāne, K. Kalcija fosfātu sintēzes parametru ietekme uz biokeramikas īpašībām. Promocijas darbs. RTU Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte, Rīga, 2011.
5. Kim, S.; Ryu, H.S.; Shin, H.; Jung, H.S.; Hong, K.S. In situ observation of hydroxyapatite nanocrystal formation from amorphous calcium phosphate in calcium-rich solutions. *Mater. Chem. Phys.* **2005**, 91, 500 – 506.
6. Maciejewski, M.; Brunner, T.J.; Loher, S.F. Phase transitions in amorphous calcium phosphates with different Ca/P ratios. *Thermochim.Acta*. **2008**, 468, 75 -80.
7. Li; Y.; Li, Q.; Zhu, S.; Luo, E.; Li, J.; Feng, G.; Liao, Y.; Hu, J. The effect of strontium-substituted hydroxyapatite coating on implant fixation in ovariectomized rats. *Biomaterials*. **2010**, 31, 9006 – 9014.
8. Chen, B.H.; Chen, K.I.; Ho, M.L.; Chen, H.N.; Chen, W.C.; Wang, C.K. Synthesis of calcium phosphates and porous hydroxyapatite beads prepared by emulsion method. *Mater. Chem. Phys.* **2009**, 113, 365 – 371.
9. Pattanayak, D.K.; Dash, R.; Prasad, R.C.; Rao, B.T.; Rama Mohan, T.R. Synthesis and sintered properties evaluation of calcium phosphate ceramics. *Mater. Sci. Eng.* **2007**, 27, 684 – 690.
10. Greeves, N. *Hydroxyapatite* [tiešsaiste]. University of Liverpool, 2015. <http://www.chemtube3d.com/solidstate/SShydroxyapatite.htm> [skatīts 17.05.2015.].
11. Suetsugu, Y. *Implant and biomaterials (hydroxyapatite)*. Chapter 6 [tiešsaiste]. National Institute for Materials Science. <http://www.aqb.jp/english/file/TheBasicsPart3-6.pdf> [skatīts 27.05.2015.].
12. Best, S.M.; Porter, A.E.; Thian, E.S.; Huang, J. Bioceramics: Past, present and for the future. *J. Eur. Ceram. Soc.* **2008**, 28, 1319 – 1327.

13. LeGeros, R. Z. Formation and transformation of calcium phosphates: relevance to vascular calcification. *Z.Kardiol.* **2001**, *90*, 116 – 124.
14. Eliassi, M.D.; Zhao, W.; Tan, W.F. Effect of carbonate and phosphate ratios on the transformation of calcium orthophosphates. *Mater. Res. Bull.* **2014**, *55*, 114 – 120.
15. Rey, C.; Combes, C.; Drouet, C.; Grossin, D. *Bioactive Ceramics: Physical Chemistry. Comprehensive Biomaterials*; Elsevier: France 2011; pp. 221.
16. Eichert, D.; Drouet, C.; Sfihi, H.; Rey, C.; Combes, C. *Nanocrystalline Apatite-Based Biomaterials: synthesis, processing and characterization*; Biomaterials Research Advances, Nova Science Publishers: 2007; pp. 93 – 143.
17. Combes, C.; Rey, C. Amorphous calcium phosphates: Synthesis, properties and uses in biomateriāls. *Acta Biomater.* **2010**, *6*, 3362 – 3378.
18. Zyman, Z.Z.; Rokhmistrov, D.V.; Loza, K.I. Determination of the Ca/P ratio in calcium phosphates during the precipitation of hydroxyapatite using X-ray diffractometry. *Processing and Application of Ceramics* **2013**, *7*, 93 – 95.
19. Gross, K.A. Towards biotechnological processing of calcium phosphates. Riga Technical University, Riga.
20. Brangule, A.; Gross, K.A. Effect on Drying Conditions on Amorphous Calcium Phosphate. *Key. Eng. Mat.* **2014**, *631*, 99 – 103.
21. Destainville, A.; Champion, E.; Bernache-Assollant, D.; Laborde, E. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate. *Mater. Chem. Phys.* **2003**, *80*, 269 – 277.
22. Carayon, M.T.; Lacout, J.L. Study of the Ca/P atomic ratio of the amorphous phase in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings. *J.Solid State Chem.* **2003**, *172*, 339 – 350.
23. Zhang, H.; Zhang, M. Characterization and thermal behavior of calcium deficient hydroxyapatite whiskers with various Ca/P ratios. *Mater. Chem. Phys.* **2011**, *126*, 642 – 648.
24. Komarovska, L. Ar cinku aizvietotu hidroksilapatītu pētījumi. Bakalaura darbs. LU Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2013.
25. Xiaowei, L.; Xin, L.; Taihong, G.; Bo, G.; Weidong, H. Effect of the Mass Ratio of CaCO<sub>3</sub> to CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O on in Situ Synthesis of Hydroxyapatite Coating by Laser Cladding. *Rare Metal Mat. Eng.* **2011**, *40*, 22 – 27.
26. Wang, M.C.; Shih, W.J.; Hung, I.M.; Chen, H.T.; Hon, M.H.;Huang, H.H. Characterization of calcium phosphate apatite with variable Ca/P ratios sintered at low temperature. *Ceram. Int.* **2015**, *41*, 1223 – 1233.

27. Kim, S.; Ryu, H.S.; Jung, H.S.; Hong, K.S. Influence of Ca/P Ratios of Starting Solutions on the Crystallization of Amorphous Calcium Phosphate to Hydroxyapatite. *Met. Mater. Int.* **2004**, *10*, 171 – 175.
28. Raynaud, S.; Champion, E.; Bernache-Assollant, D.; Thomas, P. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders. *Biomaterials* **2002**, *23*, 1065 – 1072.
29. Boskey, A.L.; Posner, A.S. Kinetics of conversion of amorphous calcium phosphate to microcrystalline hydroxyapatite. *J. Phys. Chem.* **1973**, *77*, 2313 – 2317.
30. Lazic, S. Microcrystalline hydroxyapatite formation from alkaline solutions. *J. Cryst. Growth.* **1995**, *147*, 147-154.
31. Harries, J.E.; Hukins, D.W.L.; Holt, C.; Hasnain, S.S. Conversion of amorphous calcium phosphate into hydroxyapatite investigated by EXAFS spectroscopy. *J. Cryst. Growth.* **1987**, *84*, 563 – 570.
32. Abbona, F.; Baronnet, A.A. A XRD and TEM study on the transformation of amorphous calcium phosphate in the presence of magnesium. *J. Cryst. Growth.* **1996**, *165*, 98 – 105.
33. Onuma, K.; Ito, A. Cluster Growth Model for Hydroxyapatite. *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 3346 – 3351.
34. Actiņš, A. *Rentgenmetodes ķīmijā*. Lekciju konspekts [tiešsaiste]. Latvijas Universitāte. [www.estudijas.lu.lv](http://www.estudijas.lu.lv) [skatīts 19.01.2015.].
35. Research: Nanocharacterization. Nanoscale Devices and Materials Physics Laboratory, 2013. <http://nanoscience.skku.edu/> (skatīts 25.05.2015.).
36. Ortiz, A.L.; Cumbreira, F.L.; Bajo, F.S.; Guiberteau, F.; Caruso, R. Fundamental parameters approach in the Rietveld method: a study of the stability of results, versus the accuracy of the instrumental profile. *J. Eur. Ceram. Soc.* **2000**, *20*, 1845 – 1851.
37. Rodriguez-Carvajal, J. Structural Analysis from Powder Diffraction Data The Rietveld Method. CEA/Saclay, France, 1997.
38. Online Dictionary of Crystallography. International Union of Crystallography, 2015. [http://reference.iucr.org/dictionary/Rietveld\\_method](http://reference.iucr.org/dictionary/Rietveld_method) (skatīts 17.05.2015.).
39. Rietveld, H.M. A Profile Refinement Method for Nuclear and Magnetic Structures. *J. Appl. Cryst.* **1969**, *2*, 65 – 71.
40. Smith, B.C. *Fundamentals of Fourier transformation infrared spectroscopy*. Second edition; CRC Press: United States of America 2011; pp. 183.
41. Grigorjeva, L. *Infrasarkanā Furjē spektroskopija*. Laboratorijas darba apraksts. Latvijas Universitāte, Cietvielu un materiālu fizikas laboratorija, Rīga, 2005.

42. Aufnahme von IR-Spektren. Steffens's Wissensblog. <http://wissen.science-and-fun.de/kurse/grundlagen-der-ir-spektroskopie/aufnahme-von-ir-spektren/> (skatīts 17.05.2015.).
43. Brangule, A. FTIR spektru dekonvolūcija. Rīgas Tehniskā universitāte, Biomateriālu zinātniskās pētniecības laboratorija, Rīga, 2014.
44. Brangule, A.; Gross, K.A. Importance of FTIR Spectra Deconvolution for the Analysis of Amorphous Calcium Phosphates. *Mater. Sci. Eng.* **2015**, *77*, 12 – 27.
45. Tooke, P.B. Fourier self-deconvolution in IR spectroscopy. *Trends in Analytical Chemistry* **1988**, *7*, 130 – 136.
46. Rudoviča, V. Liesmas atomabsorbciometrijas metode (FAAS vai LAAS). Laboratorijas darbs. Latvijas Universitāte, Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2014.
47. Khopkar, S.M. *Basic concepts of analytical chemistry. Second edition*; New Age International Ltd: New Delhi 2004; pp. 471.
48. Atomic Absorption Spectroscopy for the Determination of Calcium in Food. <http://courses.chem.indiana.edu/a316/documents/AtomicAbsorptionSpectroscopy.pdf> (skatīts 17.05.2015.).
49. Rudoviča, V. Analītisko metožu izveide arheoloģisko izrakumu antropoloģiskā materiāla izpētē. Promocijas darbs. Latvijas Universitāte, Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2012.
50. Welch, M.W.; Hamar, D.W.; Fettman, M.J. Method Comparison for Calcium Determination by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry in the Presence of Phosphate. *Clin. Chem.* **1990**, *36*, 351 – 354.
51. Levinson, R. *More Modern Chemical Techniques*; The Education Department, The Royal Society of Chemistry, Burlington House, Piccadilly: London 2001; pp. 193.
52. Li-yun, C.; Chuan-bo, Z.; Jian-feng, H. Influence of temperature,  $[Ca^{2+}]$ , Ca/P ratio and ultrasonic power on the crystallinity and morphology of hydroxyapatite nanoparticles prepared with a novel ultrasonic precipitation method. *Mater. Lett.* **2005**, *59*, 1902 – 1906.
53. Dobelin, N. *Lesson 10. Publishing XRD Results* [tiešsaiste]. Bettlach, Switzerland, 2015. <http://profex.dobelin.org/wp-content/uploads/2015/01/Lesson-10-Publishing-XRD.pdf> [skatīts 30.05.2015.].
54. Gross, K.A.; Komarovska, L.; Viksna, A. Efficient zinc incorporation into hydroxyapatite through crystallization of an amorphous phase could extend the properties of zinc apatites. *Journal of Australian Ceramic Society* **2013**, *49*, 129 – 135.

55. Weiss, P.; Lapkowski, M.; LeGeros, R.Z.; Bouler, J.M.; Jean, A.; Daculsi, G. FTIR Spectroscopic study of an organic/mineral composite for bone and dental substitute materials. Faculty of Chemistry, Silesian Technical University, Poland.
56. Calcium hydroxide (1305-62-0) IR1, 2008.  
[http://www.chemicalbook.com/SpectrumEN\\_1305-62-0\\_IR1.htm](http://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_1305-62-0_IR1.htm) (skatīts 25.05.2015.)

# PIELIKUMI

1. pielikums

## Rietveld analīzes dati

1. tabula

Rietveld analīzes dati HAp paraugiem, kas karsēti 2 stundas 700°C temperatūrā

Paraugs	Fāze	Kristālu izmēri, nm
HAp <sub>1.8</sub>	HAp	28,7 - 32,0
HAp <sub>2.0</sub>	HAp	30,0 - 31,4
HAp <sub>2.2</sub>	CaO	42,4
	HAp	30,3 - 33,1
HAp <sub>2.4</sub>	CaCO <sub>3</sub>	42,4
	CaO	42,4
	HAp	32,7
HAp <sub>2.6</sub>	CaCO <sub>3</sub>	66,3
	CaO	42,4
	HAp	30,0
HAp <sub>2.8</sub>	CaCO <sub>3</sub>	42,4
	CaO	42,4
	HAp	29,4

2. tabula

**Rietveld analīzes dati HAp paraugiem, kas karsēti 2 stundas 900°C temperatūrā**

Paraugs	Fāze	Kristālu izmēri, nm
HAp <sub>1.8</sub>	CaO	49,3
	HAp	55,4 - 59,0
HAp <sub>2.0</sub>	CaO	49,4
	HAp	53,7 - 58,0
HAp <sub>2.2</sub>	CaO	58,4
	HAp	58,6 - 65,5
HAp <sub>2.4</sub>	CaO	57,8
	HAp	56,7 - 60,6
HAp <sub>2.6</sub>	β-TCP	42,4
	CaO	60,1
	HAp	52,7 - 54,8
HAp <sub>2.8</sub>	β-TCP	42,4
	CaO	58,1
	HAp	52,2 - 54,5

3. tabula

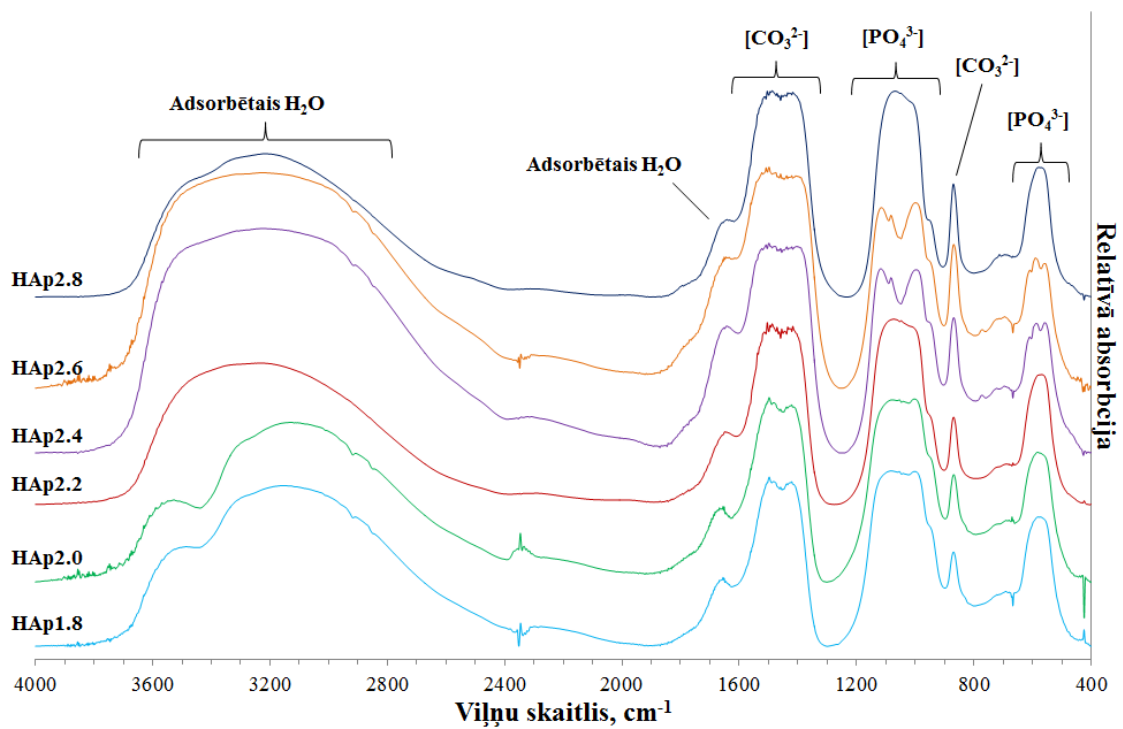
**Rietveld analīzes dati HAp paraugiem,  
kas karsēti ūdenī 2 stundas 150°C temperatūrā**

Paraugs	Fāze	Kristālu izmēri, nm
HAp <sub>1.8</sub>	HAp	15,4 - 21,3
HAp <sub>2.0</sub>	HAp	13,0 - 18,9
HAp <sub>2.2</sub>	CaCO <sub>3</sub>	174
	HAp	11,7 - 16,6
HAp <sub>2.4</sub>	CaCO <sub>3</sub>	164
	HAp	12,5 - 16,7
HAp <sub>2.6</sub>	CaCO <sub>3</sub>	162
	HAp	13,7 - 18,0
HAp <sub>2.8</sub>	CaCO <sub>3</sub>	123
	HAp	13,0 - 18,6

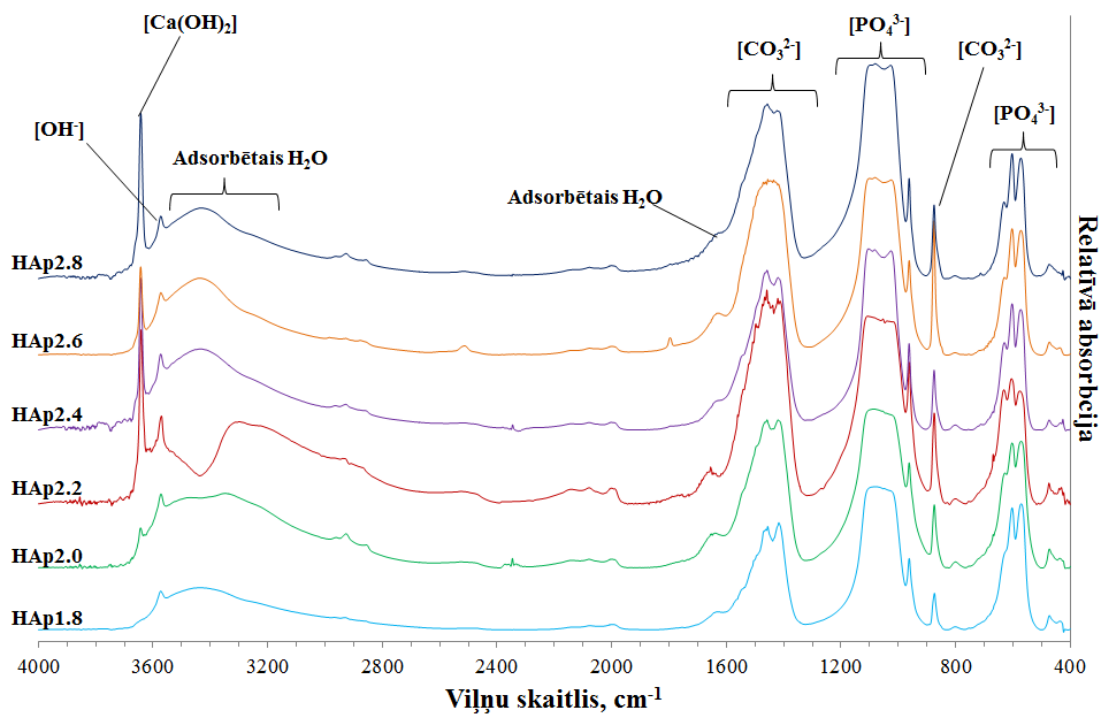
**Rietveld analīzes dati HAp paraugiem,  
kas karsēti ūdens tvaikos 2 stundas 150°C temperatūrā**

<b>Paraugs</b>	<b>Fāze</b>	<b>Kristālu izmēri, nm</b>
<b>HAp<sub>1.8</sub></b>	HAp	19,6 – 25,5
<b>HAp<sub>2.0</sub></b>	HAp	16,6 – 24,2
<b>HAp<sub>2.2</sub></b>	HAp	18,4 – 24,4
<b>HAp<sub>2.4</sub></b>	CaCO <sub>3</sub>	42,4
	HAp	14,6 – 18,7
<b>HAp<sub>2.6</sub></b>	CaCO <sub>3</sub>	82,5
	HAp	13,4 – 17,1
<b>HAp<sub>2.8</sub></b>	CaCO <sub>3</sub>	99,1
	HAp	13,7 – 16,7

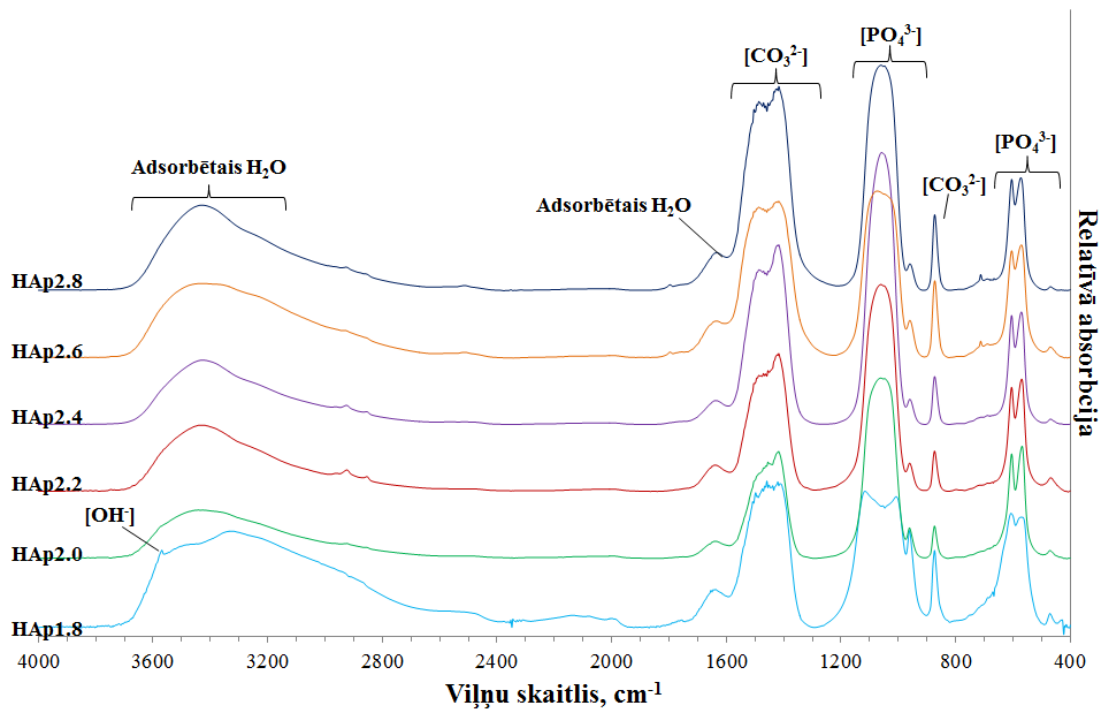
## Hidroksilapatītu FT-IR spektri



1. att. Amorfas fāzes FT-IR spektri

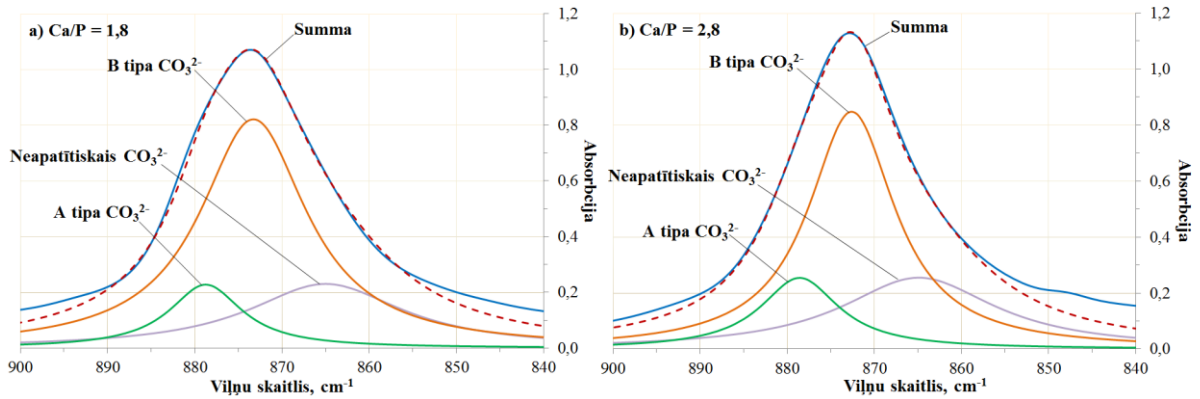


2. att. FT-IR spektri HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot 2 stundas 700°C temperatūrā

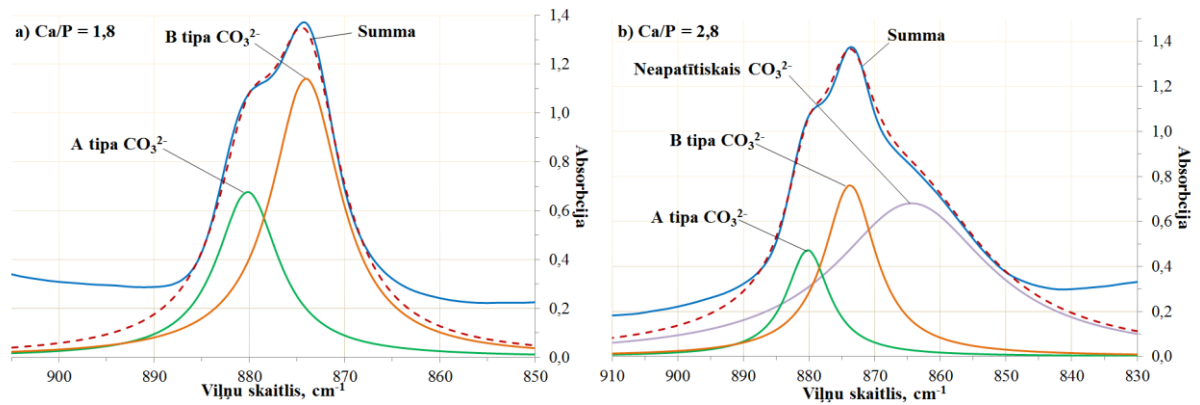


3. att. FT-IR spektri HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot ūdens tvaikos 2 stundas 150°C temperatūrā

## FT-IR spektru dekonvolūcija

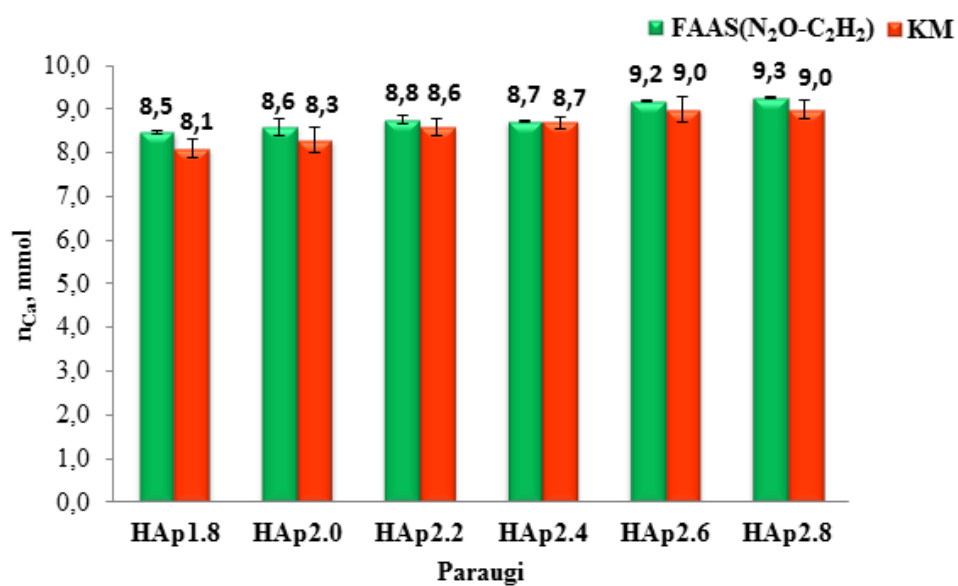


1. att. FT-IR spektru dekonvolūcija  $\text{CO}_3^{2-}$  grupai, HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot ūdenī 2 stundas  $150^\circ\text{C}$  temperatūrā



2. att. FT-IR spektru dekonvolūcija  $\text{CO}_3^{2-}$  grupai, HAp, kas iegūti amorfo fāzi karsējot 2 stundas  $900^\circ\text{C}$  temperatūrā

## Kalcija noteikšanas metožu salīdzinājums



1. att. Ar FAAS ( $N_2O-C_2H_2$ ) un kompleksometrijas metodēm noteikto kalcija moldaļu karsētajos paraugos salīdzinājums

## Konferences tēzes

European Cells and Materials Vol. NN, Suppl. N, 20xx (page ltu)

ISSN 1473-2262

## The crystallization route determines the range of Ca/P accommodated in apatite

L. Komarovska, K.A. Gross

*Biomaterials Research Laboratory, Riga Technical University, Latvia*

**INTRODUCTION:** Calcium phosphates are within the class of materials that can be precipitated as nanosized crystals or pass through an amorphous phase that later is crystallized. The latter pathway offers greater flexibility in the composition, and less restrictions that would otherwise be requested in extending a crystalline lattice during crystal formation. While forming an amorphous phase is easier, it is more difficult to preserve the apatite structure during crystallization. This work addresses the inclusion of excess calcium in an amorphous phase to see how much additional calcium is accommodated through crystallization of a monophasic apatite. A series of crystallization routes will be examined to see which production method maintains the apatite phase with increasing Ca/P ratio.

**METHODS:** Amorphous hydroxyapatites with an increasing Ca/P molar ratio (Ca/P ratio of 1.67, 2.0, 2.2, 2.4, 2.6 and 2.8) were synthesized, freeze-dried and then crystallized in three ways: at an elevated temperature and pressure in water or steam, and at an elevated temperature. This was achieved in a hydrothermal bomb and a cylindrical furnace.

For crystallization in hydrothermal conditions, powder was placed into a 18ml hydrothermal vessel (in water or in water vapor) and heated at 150 °C for 2 hours. Calcination at an elevated temperature was performed at 700°C for 2 hours in the furnace to remove absorbed species for characterization.

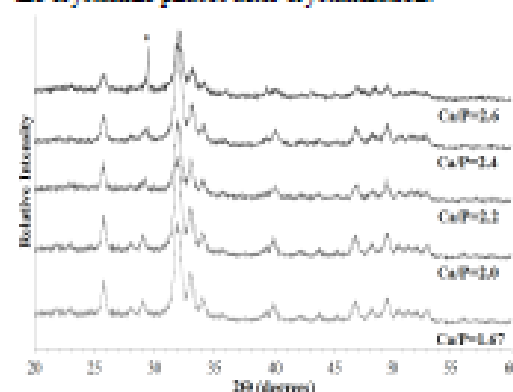
The crystallization temperature of synthesized powders was determined by differential thermal analysis (DTA) and qualitative phase analysis conducted on X-ray diffraction (XRD) patterns.

**RESULTS:** Crystallization occurred at a lower temperature for higher Ca/P ratio amorphous calcium phosphates, Table 1.

*Table 1. Thermal analysis shows crystallization at a lower temperature for higher Ca/P molar ratios.*

Ca/P ratio	Crystallization temperature, °C
1.67	560 - 597
2.0	530 - 575
2.2	520 - 560
2.4	490 - 555

Analysis by X-ray diffraction showed an amorphous phase was retained for Ca/P ratios of 1.67 to 2.60. Greater Ca/P ratios formed a crystalline phase. XRD was also used to identify the crystalline phases after crystallization.



*Fig. 1. Apatite with various Ca/P molar ratios after crystallization in water vapor at 150°C/ 2h.*

Monophasic HAp was gained over a wide range of Ca/P ratios from 1.67 to 2.40 when crystallized in steam, Fig 1. Greater Ca/P ratios of 2.6 and 2.8 showed a minor amount of unidentified peak<sup>4</sup>. Processing of the amorphous phase in water at elevated temperature and pressure, as well as crystallization in the cylindrical furnace only retained an apatite up to Ca/P of 2.2.

**DISCUSSION & CONCLUSIONS:** The amorphous phase maintained a single phase over a larger Ca/P ratio range than the crystallized apatite. The amorphous phase occurred for Ca/P from 1.67 to 2.6, however crystalline apatite was only kept for compositions up to Ca/P of 2.4. This reflected the greater flexibility of the amorphous phase to accommodate variations in chemistry. The processing method dictated the flexibility in the apatite that could be accommodated. Heating in steam maintained the apatite lattice, while in water or at a higher temperature in air, decomposition occurred more readily.

**REFERENCES:** <sup>1</sup> S. Kim, H.S. Ryu, et al (2004) *Mater Chem Phys* 91: 500-506 <sup>2</sup> L. Sun, L.L. Chow, et al (2010) *J Res Natl Standt Technol* 115: 243-255.