



**VILNIAUS UNIVERSITETAS  
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS  
CHEMIJOS INSTITUTAS  
NEORGANINĖS CHEMIJOS KATEDRA**

**Visata Vėgelytė**

Magistro studijų programa Chemija – 2 kursas  
Magistro baigiamasis darbas

**KALCIO DEFICITINIO HIDROKSIAPATITO  
GRANULIŲ SINTEZĖ IR APIBŪDINIMAS**

Darbo vadovė  
dr. Inga Grigoravičiūtė-Purionienė

---

*(leidimas ginti, data, parašas)*

Darbo įteikimo data \_\_\_\_\_  
Registracijos Nr. \_\_\_\_\_

Vilnius 2020

## TURINYS

NAUDOTOS SANTRUMPOS .....	3
ĮVADAS .....	4
1. LITERATŪROS APŽVALGA .....	5
1.1. Kalcio deficitinio hidroksiapatito kristalinė struktūra .....	5
1.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatito savybės ir panaudojimas .....	6
1.2.1. Fizikinės savybės .....	6
1.2.2. Cheminės savybės .....	7
1.2.3. Panaudojimas .....	9
1.3. Kalcio deficitinio hidroksiapatito sintezės būdai .....	11
1.3.1. Nusodinimo metodas .....	11
1.3.2. Tirpinimo-nusodinimo metodas .....	12
1.3.3. Hidroterminis metodas .....	14
1.3.4. Zolių-gelių metodas .....	15
2. EKSPERIMENTO METODIKA .....	17
2.1. Reagentai .....	17
2.2. Sintezės metodas .....	17
2.3. Naudota aparatūra .....	18
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....	20
3.1. Žematemperatūre kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių sintezė ir apibūdinimas .....	20
3.1.1. Termogravimetrinė analizė .....	20
3.1.2. Rentgeno spindulių difrakcinė analizė .....	21
3.1.3. Infraraudonoji spektroskopija .....	23
3.1.4. Skenuojanti elektroninė mikroskopija .....	24
IŠVADOS .....	27
LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	28
SANTRAUKA .....	35
SUMMARY .....	36
PRIEDAS 1 .....	37

## NAUDOTOS SANTRUMPOS

ACP – amorfinis kalcio fosfatas ( $\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$ )

BCP – bifaziniai kalcio fosfatai

CaP – kalcio fosfatai

Ca/P – kalcio ir fosforo molinis santykis

CDHA – kalcio deficitinis hidroksiapatitas

DTG – diferencinė termogravimetrinė analizė

FTIR – Furje transformacinė infraraudonųjų spindulių spektroskopija

HA – kalcio hidroksiapatitas ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )

OCP – oktakalcio fosfatas ( $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )

SEM – skenuojanti elektroninė mikroskopija

$\alpha$ -TCP –  $\alpha$ -trikalčio fosfatas ( $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ )

TEM – peršviečiamoji elektroninė mikroskopija

$\beta$ -TCP –  $\beta$ -trikalčio fosfatas ( $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ )

TG – termogravimetrinė analizė

XRD – rentgeno spindulių difrakcinė analizė

$v_v$  – valentiniai virpesiai

$v_d$  – deformaciniai virpesiai

## IVADAS

Medžiagos, naudojamos pakeisti susidėvėjusius žmogaus kietuosius organizmo audinius, yra svarbios šiuolaikinei ir ateities medicinai. Biokeraminiai kalcio fosfatai (CaP) yra itin plačiai naudojamos medžiagos žinduolių pažeistų arba ligotų kaulinių audinių atstatyme, todėl šios medžiagos sulaukia itin didelio mokslininkų susidomėjimo [1]–[4]. Dėl savo cheminio panašumo į neorganinį kaulinio audinio komponentą, sintetiniai CaP fiziologinėje aplinkoje pasižymi puikiomis biologinėmis savybėmis, tokiomis kaip biosuderinamumas, bioaktyvumas ir osteokondukcija [5]. Dėl šių unikalių savybių minėtosios medžiagos dažniausiai naudojamos pažeistų kietųjų organizmo audinių atstatyme ortopedijoje ir odontologijoje [6], [7]. Šiuo metu sintetinės kaulų pakeitimo medžiagos yra gaminamos miltelių, granulių, tankių arba porėtų blokų ir bioaktyvių dangų ant metalinių protezų pavidalu [8]–[14].

Sintetinis kalcio deficitinis hidroksiapatitas (CDHA, cheminė formulė  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ , Ca/P molinis santykis 1,50) yra medžiaga savo chemine sudėtimi artima apatitui, randamam žmogaus kauliniame audinyje [15]. Be to, Ca/P santykis šiame junginyje atitinka šių elementų santykį kaule (kaulinio audinio mineralinės dalies Ca/P elementų santykis  $\sim 1,5$ ) [16], [17].

Dažniausiai sintetinės CaP medžiagos gaminamos aukštosiose temperatūrose (750–1000 °C) [18]. Tačiau tokiose sąlygose gauta keramika pasižymi aukštu kristališkumu, nebūdingu natūraliam kauliniam audiniui, o implantavus tokias biomedžiagas, jos išlieka savo pradinėje formoje labai ilgą laiką [8], [19]. Vykstant kaulo regeneracijos procesams žemo kristališkumo medžiaga yra lengviau įterpiama į kietuosius organizmo audinius. Akivaizdu, kad norint pagaminti žemo kristališkumo biomedžiagas reikalingi žematemperatūriniai sintezės metodai [20], [21].

Šio darbo tikslas – sukurti nesudėtingą žematemperatūrį žemo kristališkumo kalcio deficitinio hidroksiapatito (CDHA,  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$ , kur Ca/P santykis lygus 1,50) sintezės metodą, naudojant pirmtako granules. Šiam tikslui įgyvendinti iškelti uždaviniai:

1. Naudojant kalcio sulfato hemihidratą ir fosfatinę druską susintetinti pirmtako granules.
2. Remiantis tirpinimo-nusodinimo reakcijomis susintetinti žemo kristališkumo kalcio deficitinio hidroksiapatito granules.
3. Termogravimetrinės analizės, rentgeno spindulių difrakcinės analizės, infraraudonosios spektroskopijos bei skenuojančios elektroninės mikroskopijos metodais ištirti gautų granulių savybes.

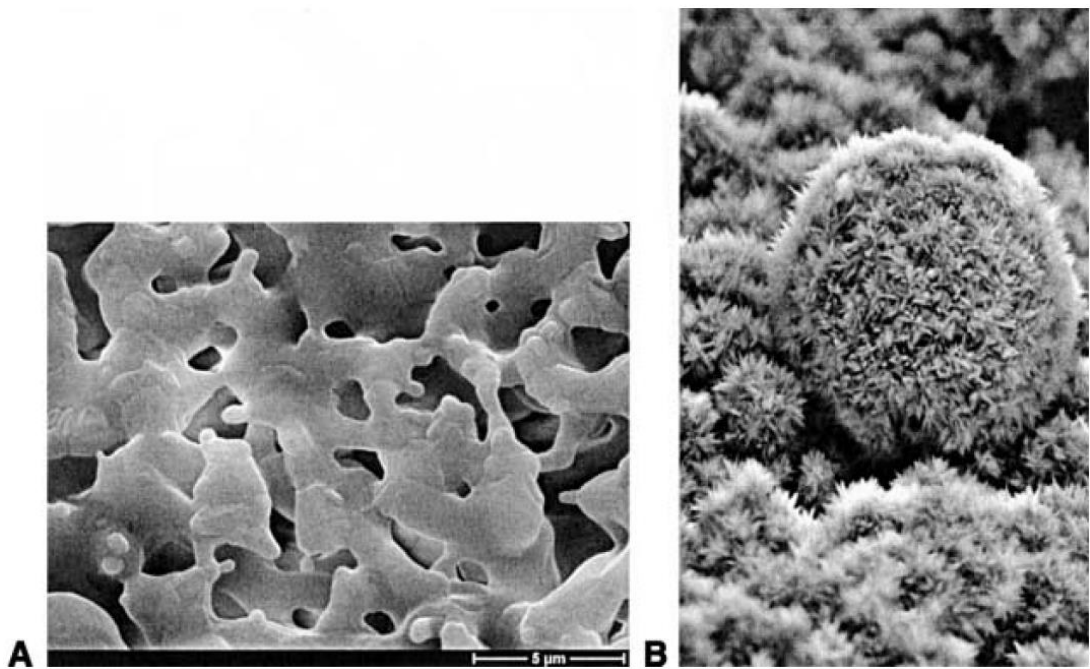
## 1. LITERATŪROS APŽVALGA

### 1.1. Kalcio deficitinio hidroksiapatito kristalinė struktūra

Kalcio fosfatai yra junginiai sulaukiantys nemažo susidomėjimo tokiose mokslo srityse kaip chemija, biologija, medicina bei geologija [22]. Apatitais yra vadinami mineralai, turintys atitinkamą cheminę struktūrą:  $M_{10}Z_6X_2$ , kur M gali būti  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ , arba  $Na^+$ ; Z gali būti  $PO_4^{3-}$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $SO_4^{2-}$ , arba  $SiO_4^{2-}$ ; o X gali būti  $OH^-$ ,  $F^-$ ,  $Cl^-$ , arba  $CO_3^{2-}$ . Kaip matome, į apatito struktūrą galima įterpti (arba gali įsiterpti) daugybę elementų. Kaulinis apatitas yra kalcio fosfatinis apatitas turintis tam tikrą kiekį karbonato ir nežymų kiekį daugybės kitų cheminių elementų. Kaulinio apatito cheminė formulė yra užrašoma šia formule –  $Ca_{10-a}Mg_bNa_cK_d(PO_4)_{6-e}(CO_3)_f(OH)_{2-g}Cl_hF_i$ , bet jei elementai, kurių kiekis yra mažesnis nei 1 masės procentas yra eliminuojami, sutrumpintai gali būti išreikšta ir taip –  $Ca_{10-a}(PO_4)_{6-b}(CO_3)_c(OH)_{2-d}$  [23].

Kalcio deficitinis hidroksiapatitas yra cheminis junginys, kurio pagrindinė formulė yra  $Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$  (x reikšmė gali varijuoti nuo 0 iki 1). Kitos galimos šios medžiagos cheminės formulės, kaip pavyzdžiui  $Ca_{10-x}(HPO_4)_{2x}(PO_4)_{6-2x}(OH)_2$  ( $0 < x < 2$ ),  $Ca_{10-x-y}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x-2y}$  ( $0 < x < 2$ ) ir ( $y < x/2$ ),  $Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}(H_2O)_x$  ( $0 < x < 1$ ), apibrėžia įvairią šios medžiagos cheminę sudėtį [24]. Iš šių formulių matome, kad kalcio deficitą junginyje lydi OH grupės deficitas bei  $PO_4^{3-}$  grupės protonizacija, tuo pat metu vykstant joninių vakansijų susidarymui kristalinėje struktūroje [25]. Kuo didesnis kalcio deficitas, tuo daugiau struktūrinių deformacijų bei vakansijų yra šios medžiagos struktūroje [24].

Taip pat vertėtų paminėti, jog šio apatito struktūroje dažnai aptinkama tvirtai sukibusių vandens molekulių, kurios savo ruožtu gali užimti kai kurias vakansijas. Hidroksi grupės trūkumą kalcio deficitiniame hidroksiapatite galima paaiškinti taip: siekiant kompensuoti trūkstamus  $Ca^{2+}$  jonus, dalis  $OH^-$  anijonų yra pakeičiami neutraliomis vandens molekulėmis [26]. Šis vanduo dažniausiai yra pašalinamas kaitinant aukštos temperatūros vakuume. Tačiau kol kas yra mažai žinoma apie ortofosfato jonų vakansijų aptikimą CDHA struktūroje. Yra laikoma, kad dalis  $PO_4^{3-}$  jonų yra protonizuoti ( $HPO_4^{2-}$  pavidalu) arba pakeisti kitais jonais kaip, pavyzdžiui,  $CO_3^{2-}$ . Kadangi CDHA neturi tikslios stechiometrinės molekulinės formulės, IUPAC nomenklatura šiam junginiui netaiko konkretaus pavadinimo [27]. 1 paveiksle pateikta įprastinė aukštoje temperatūroje susintetinto kalcio fosfato ir žemoje temperatūroje susintetinto kalcio deficitinio hidroksiapatito mikrostruktūra. CDHA kristalinė struktūra yra analogiška stechiometriniui kalcio hidroksiapatitui, priklausančiam heksagoninei  $P6_3/m$  erdvinei grupei. CDHA gardelės parametrai yra nustatyti tik apytiksliai:  $a = b = (9.4157-9.4490) \text{ \AA}$ ,  $c = (6.8777-6.8865) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 120^\circ$  [29]. Tačiau yra tiksliai nustatyti kalcio deficitinio hidroksiapatito, kuriame Ca/P molinis santykis lygus 1,5, gardelės parametrai:  $a = b = 9,4418(20) \text{ \AA}$  ir  $c = 6,8754(17) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = \beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 120^\circ$  [27].



**1 pav.** Įprastinė mikrostruktūra A – aukštoje temperatūroje susintetinto kalcio fosfato (savitasis paviršiaus plotas  $\sim 1 \text{ m}^2/\text{g}$ ) ir B – žemoje temperatūroje susintetinto kalcio deficitinio hidroksiapatito (savitasis CDHA paviršiaus plotas  $\sim 22 \text{ m}^2/\text{g}$ , nuotraukos plotis –  $8 \mu\text{m}$ ) [28].

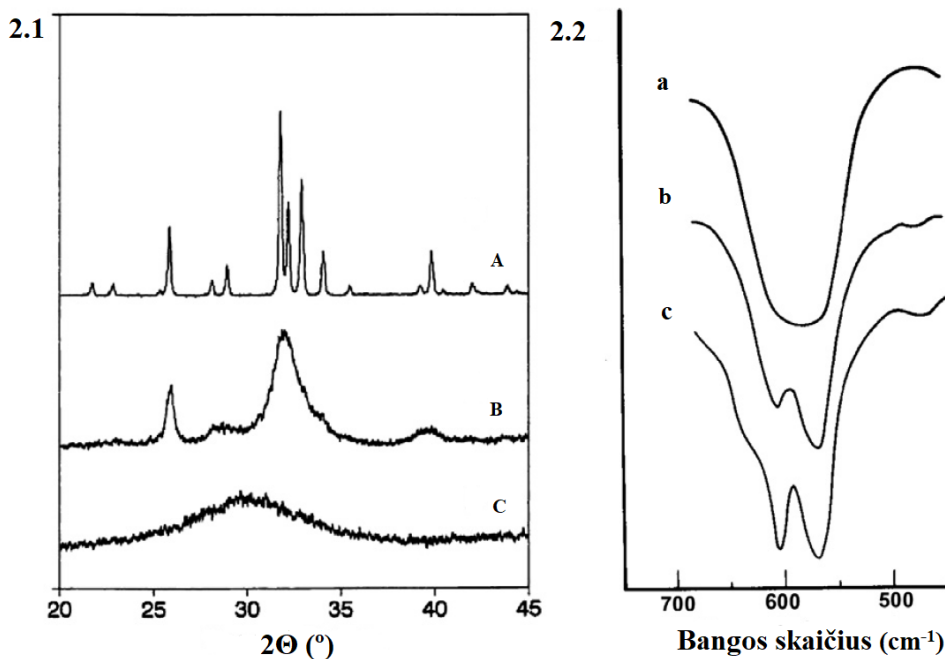
## 1.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatito savybės ir panaudojimas

### 1.2.1. Fizikinės savybės

Kalcio deficitinis hidroksiapatitas yra balta, porėta, trapi, netoksiška bei nebrangi medžiaga, kuri dėl lengvai suderinamų fizikinių ir cheminių savybių yra plačiai panaudojama ortopedijoje bei odontologijoje. CDHA biokeramika gali būti įvairių fizinių formų ir pavidalų (gaminama tokia priklausomai nuo to, kur šią medžiagą žadama naudoti): milteliai, dalelės, granulės, geliai, injekcinės pastos [30], [31].

CDHA yra žemo kristališkumo junginys, savo chemine sudėtimi labai panašus į mineralinę kaulo dalį, o jo kristalai pasižymi labai dideliu paviršiaus plotu, tipiška  $25\text{--}100 \text{ m}^2/\text{g}$  (palyginimui sintetinio hidroksiapatito – tik apie  $1 \text{ m}^2/\text{g}$  paviršiaus plotu) [32]. Mažuose kristaluose didžioji dalis medžiagos atomų yra ant jo paviršiaus, dėl to medžiaga su dideliu paviršiaus plotu geba absorbuoti jonus, dujas bei tirpias medžiagas [33]. Tipinis CDHA kristalų dydis yra itin mažas, paprastai arti  $10\text{--}20 \text{ nm}$ . Dėl šios ypatybės CDHA yra biologiškai gerokai labiau (re)aktyvus, negu kalcio hidroksiapatitas [32].

2 paveiksle vaizduojamos aukšto kristališkumo kalcio hidroksiapatito bei žemo kristališkumo kalcio fosfatų (CDHA ir ACP) rentgeno spindulių difraktogramos bei FTIR spektrai. Žvelgiant į šiuos pavyzdžius yra nesunku įžiūrėti skirtumus tarp aukšto kristališkumo ir žemo kristališkumo medžiagų.

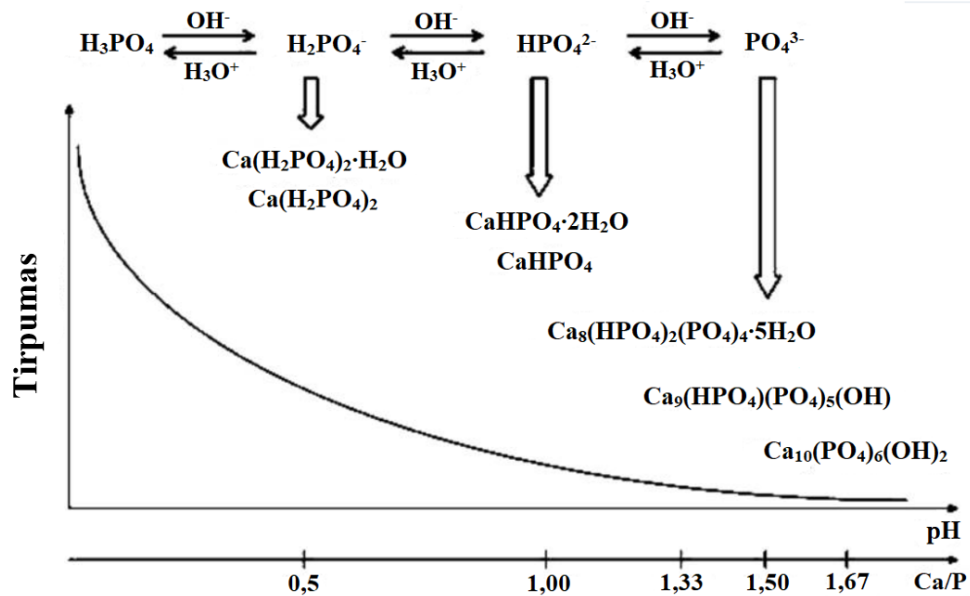


**2 pav.** (2.1 dalis) aukšto kristališkumo kalcio hidroksiapatito (A), žemo kristališkumo CDHA (B), sintetinio amorfinio kalcio fosfato (C) rentgeno spindulių difraktogramos; (2.2 dalis) ACP (a), CDHA (b) ir HA (c) infraraudonųjų spindulių spektrai [34].

CDHA savybes galima koreguoti ir modifikuojant jo gardelės sudėtį daugybe galimų joninių pakaitų Ca katijonui (tokių kaip Ba, Mg, Cd, Sr).  $\text{PO}_4^{3-}$  anijonų galimi keitimai –  $\text{VO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4$  arba  $\text{CO}_3^{2-}$ , o  $\text{OH}^-$  gali būti pakeisti  $\text{CO}_3^{2-}$  arba  $\text{F}^-$ . Šie pakaitai veikia CDHA terminį stabilumą, kristalografines savybes (kristalų dydį, gardelės parametrus), fizikines bei chemines savybes (pvz. tirpumą) bei dalelių ir audinių atsaką į įterptą joną [35].

### 1.2.2. Cheminės savybės

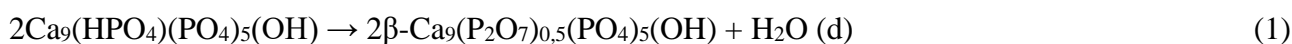
Svarbūs biologiniam pritaikymui skirtų kalcio fosfatų parametrai yra kalcio ir fosforo elementų molinis santykis (žymima Ca/P), rūgštingumas bei tirpumas. Visos šios savybės yra susijusios su tirpalo pH, kuriame yra sintetinamas kalcio ortofosfatas. Kuo mažesnis Ca/P santykis, tuo labiau rūgštiniai ir tirpūs vandenyje yra šie junginiai [23]. Jei CDHA šių elementų molinis santykis yra tarp 1,50 ir 1,67, tuomet ši medžiaga gali turėti ir rūgštinių ir bazinių savybių. Taip pat buvo nustatyta, jog cheminiai procesai kaip jonų mainai bei disociacija tirpaluose, hidroksiapatitams priklauso nuo Ca/P elementų santykio [36]. Taigi, šių elementų santykis yra naudojamas kaip pagrindinis skiriamasis bruožas kalcio fosfatams nustatyti bei klasifikuoti (lentelė, 1 priedas). Šio darbo pirmame priede pateiktoje lentelėje matome, kad tirpumo reikšmės kinta nuo aukštų verčių rūgštiniais junginiais, tokiems kaip monokalcio fosfato monohidratas (MCPM,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), iki žemų verčių, tokiems junginiais, kaip apatitai.



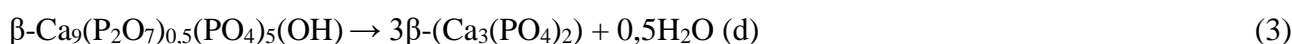
**3 pav.** Įvairūs kalcio fosfatai gauti neutralizuojant ortofosforo rūgštį kalcio hidroksidu. Paveiksle vaizduojamos žinomų kalcio fosfatų Ca/P molinio santykio reikšmės. Kalcio ortofosfatų tirpumas vandenyje reikšmingai mažėja iš kairės į dešinę, HA yra labiausiai netirpi ir stabili fazė [27].

Dėl cheminės pusiausvyros, kuri egzistuoja kalcio ortofosfatų tirpaluose, pH pokytis keičia kalcio ortofosfatų cheminę sudėtį bei kiekį, gautą tiesioginio nusodinimo būdu (3 paveikslas) [24]. CDHA yra labai mažai tirpus vandenyje junginys, jo tirpumas vandenyje, 25 °C temperatūroje siekia tik ~0,0094 g/L. Remiantis cheminiu modeliu, pagrindiniai CDHA tirpumo vandenyje etapai aprašomi kalcio atsiskyrimu nuo kristalito paviršiaus. Kai atsiskiria visi (arba beveik visi) kaimyniniai kalcio katijonai, tuomet nuo kristalito paviršiaus atsiskiria ir fosfatinės grupės. Taip pat tyrimų rezultatai rodo, jog kristalų dydis menkai veikia CDHA tirpumą. Daugiausiai įtakos tirpumui daro Ca/P molinis santykis. Tirpumas vandenyje šiuo atveju gali būti padidinamas mažinant Ca/P santykį [37].

Kadangi keramikų gamybai dažniausiai naudojamas kaitinimas aukštose temperatūrose, tokiu atveju yra gaunamos aukšto kristališkumo medžiagos su mažesniu paviršiaus plotu. Žemo kristališkumo ir pasižyminčios dideliu paviršiaus plotu biokeraminės medžiagos yra labiau suderinamos su biologiniais audiniais ir geriau atlieka kitas biologines funkcijas. Kai kurios biokeraminės medžiagos yra nestabilios aukštose temperatūrose. Vienas iš tokių pavyzdžių yra kalcio deficitinis hidroksiapatitas. Kaitinant CDHA aukštose temperatūrose ~600–700 °C intervale vyksta  $\text{HPO}_4^{2-}$  jonų kondensacija ir pradeda formuotis  $\beta\text{-Ca}_9(\text{P}_2\text{O}_7)_{0,5}(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ :



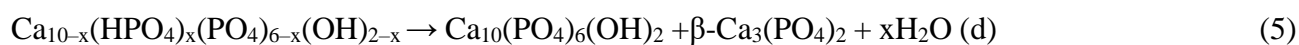
Toliau kaitinant virš ~700 °C,  $\beta\text{-Ca}_9(\text{P}_2\text{O}_7)(\text{PO}_4)_4(\text{OH})_2$  transformuojasi į  $\beta\text{-TCP}$  [38], [39]:



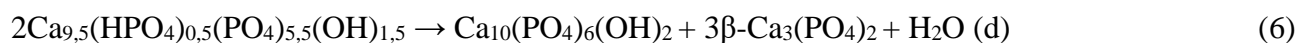




Kalcio deficitinis hidroksiapatitas, kurio Ca/P molinis santykis yra tarp 1,5 ir 1,67 ( $1,5 < \text{Ca/P} < 1,67$ ), kaitinant skylą į dvifazį  $\beta$ -TCP ir HA kompozitą.



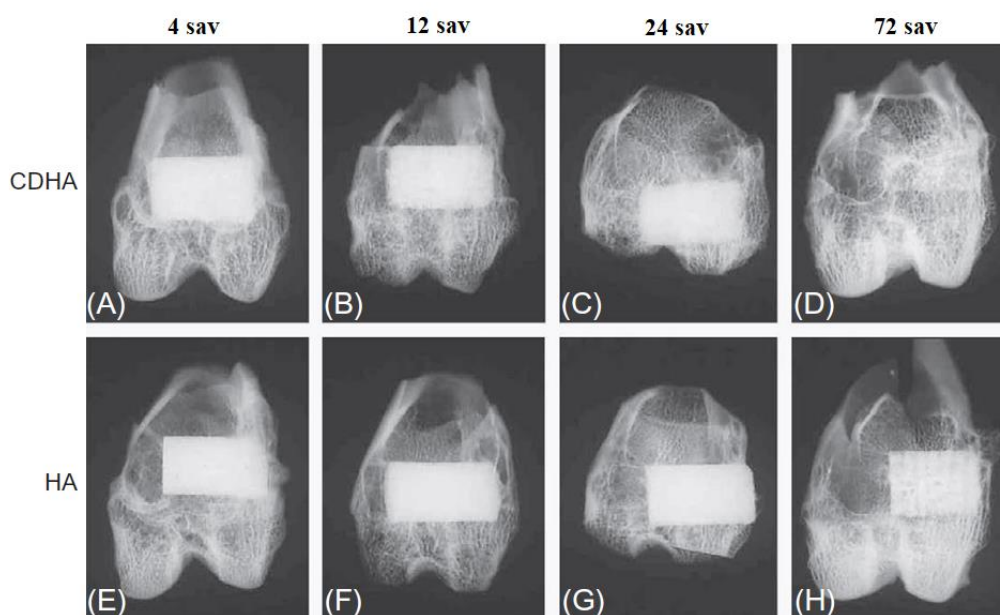
Pavyzdžiui, terminės dekompozicijos reakcijos lygtis  $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$  (CDHA), kai  $x = 0,5$ :



Tokios sudėties CDHA skilimo procesas yra vienas iš labiausiai naudojamų metodų siekiant gauti bifazinių kalcio fosfatų (BCP) biokeramines medžiagas [40].

### 1.2.3. Panaudojimas

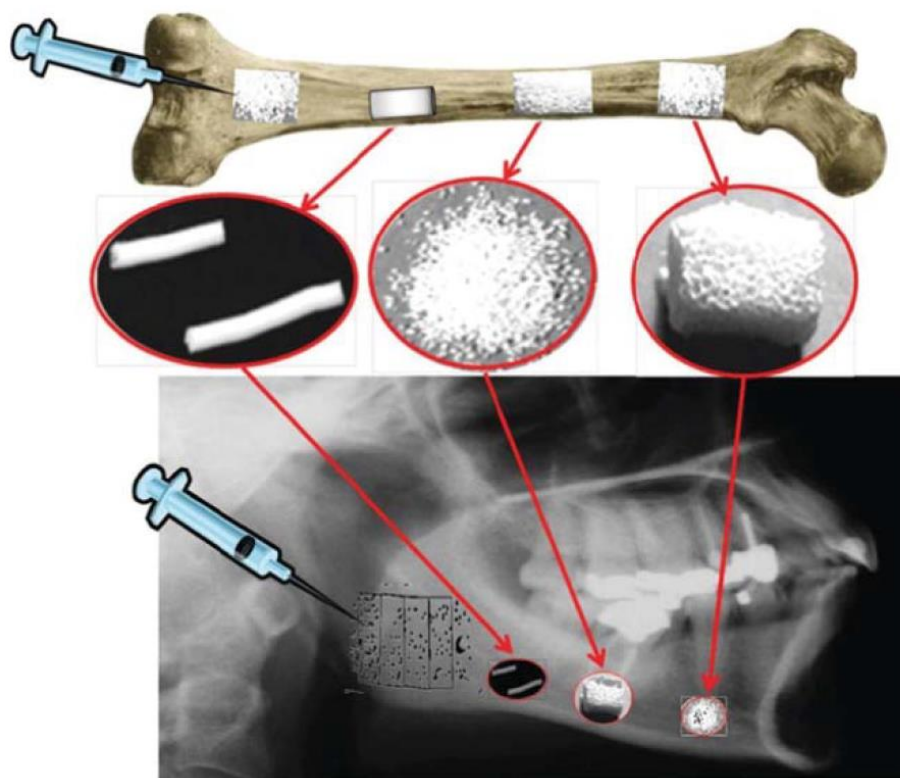
Bioaktyvios keraminės medžiagos, tokios kaip kalcio hidroksiapatitas ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , HA) jau kelis dešimtmečius yra plačiai naudojamos kaip kaulus pakeičiantys junginiai. Tačiau, kalcio deficitinis hidroksiapatitas ( $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ ) susilaukia didesnio susidomėjimo, nei stochiometriniai kalcio hidroksiapatitai, kadangi Ca/P santykis šiame junginyje labiau atitinka šių elementų santykį kaule (kaulinio audinio mineralinės dalies Ca/P elementų santykis  $\sim 1,5$ ) [16]. 4 paveiksle vaizduojamos kiškio šlaunikaulio operuotų dalių rentgeno nuotraukos po aukšto kristališkumo HA ir žemo kristališkumo kalcio deficitinio hidroksiapatito implantacijos.



**4 pav.** Kiškio šlaunikaulio operuotų dalių rentgeno nuotraukos. 4 savaitės (A), 12 savaičių (B), 24 savaitės (C) bei 72 savaitės (D) po CDHA implantacijos; 4 savaitės (E), 12 savaičių (F), 24 savaitės (G) bei 72 savaitės (H) po aukštoje temperatūroje iškaitinto HA implantacijos [6].

Akivaizdu, kad po įsodinimo CDHA implantas ištirpo, jo vietoje susidarant naujam kauliniam audiniui. HA implantas kauliniame audinyje liko nepakitęs, todėl atsiranda jo atmetimo galimybė. CDHA yra svarbi medžiaga naudojama kaulų formavimui bei rekonstrukcijai [41]. Šiuo metu kelios kalcio deficitinio hidroksiapatito formos bei kompozicijos yra panaudojamos ortopedijoje ir odontologijoje. Žinomi prekiniai ženklai, tokie kaip „Calcibon“ (Biomet, IN, JAV), „Cementek“ (Teknimed, Prancūzija), „Osteogen“ (Impladent, NY, JAV). Pavyzdžiui, birios medžiagos, prieinamos tankiomis ir porėtomis formomis, yra naudojamos pakeisti dantų dalis ir rekonstruoti žandikauliui [42].

CDHA pasižymi tokiomis biologinių medžiagų savybėmis, kaip biosuderinamumas, bioaktyvumas, osteolaidumas, todėl gali būti taikomas ortopedijoje kaulinių lūžių ir defektų gydymui, kaulų priauginimui, kaukolės žandikaulių rekonstrukcijoje (5 paveikslas), stuburo chirurgijoje, otolaringologijoje, oftalmologijoje [43], [44].



**5 pav.** Biomedicininės kalcio fosfatų biokeramikų pritaikymo galimybės [6].

Sintetinis CDHA yra panašios struktūros medžiaga kaip ir natūralus dentino hidroksiapatitas arba emalio apatitas, todėl šį junginį galima naudoti dantų implantų dengimui, periodontinių defektų atstatymui, endodontiniams gydymams, dantų balinimui, bei dantų ėduonies pažeidimų gydyme [45]. Eksperimentiniai rezultatai parodė, kad nanodydžio kalcio deficitinis hidroksiapatitas gali būti naudojamas atstatant emalinį audinį. Dėl šios priežasties CDHA būna įtraukiamas į dantų pastų bei burnos skalavimo skysčių gamybą [45]. Pastaraisiais metais plinta nanohidroksiapatito ir jo darinių panaudojimas gydant vėžinius susirgimus [46]. Dėl savo porėtos mikrostruktūros kalcio deficitinis

hidroksiapatitas gali būti naudojamas ir kaip priešnuodis sunkiųjų metalų intoksikacijai organizme [47]. Taigi, CDHA yra daug žadantis junginys industrinei dirbtinių kaulo pakaitalų gamybai, įskaitant vaistų gamybos procesus [24].

CDHA pritaikomas ir ne medicininėms reikmėms. Dėl savo adsorbicinių bei jonų mainų savybių yra naudojamas kaip adsorbentas sunkiųjų metalų jonams, tokiems kaip  $Sr^{2+}$  ir  $Pb^{2+}$ , pašalinti iš užterštų vandens rezervuarų bei dirvožemio [48]–[50]. Paviršiaus joniniu laidumu pasižyminčios porėtos ir tankios CDHA keramikos buvo tiriamos kaip galimos medžiagos dujų jutiklių gamyboje [51]. Pastaruoju metu CDHA panaudojamas katalizuojant oksidacijos ir redukcijos reakcijas, anglies C–C viengubų ryšių formavime (pvz. Michaelio prisijungimas, Dielso-Alderio reakcijos, aldolių susidarymo reakcijos). Įdomu yra tai, kad CDHA veikia kaip katalizatorius biobenzino gamyboje [52]. Vertėtų paminėti, jog dėl cheminio panašumo į žinduolių kaulinių audinių neorganinę dalį, kalcio hidroksiapatitų milteliai gali būti naudojami kaip geri kietieji nešikliai biologinių medžiagų chromatografijoje. Būtent tokių aukštos vertės biologinių medžiagų, kaip rekombinantiniai baltymai, antikūnai ir nukleorūgštys, išgryninimo bei skaidymo procesuose. Šie tyrimai atskleidė daug kalcio deficitinio hidroksiapatito inovatyvių galimų panaudojimų ateityje [53], [54].

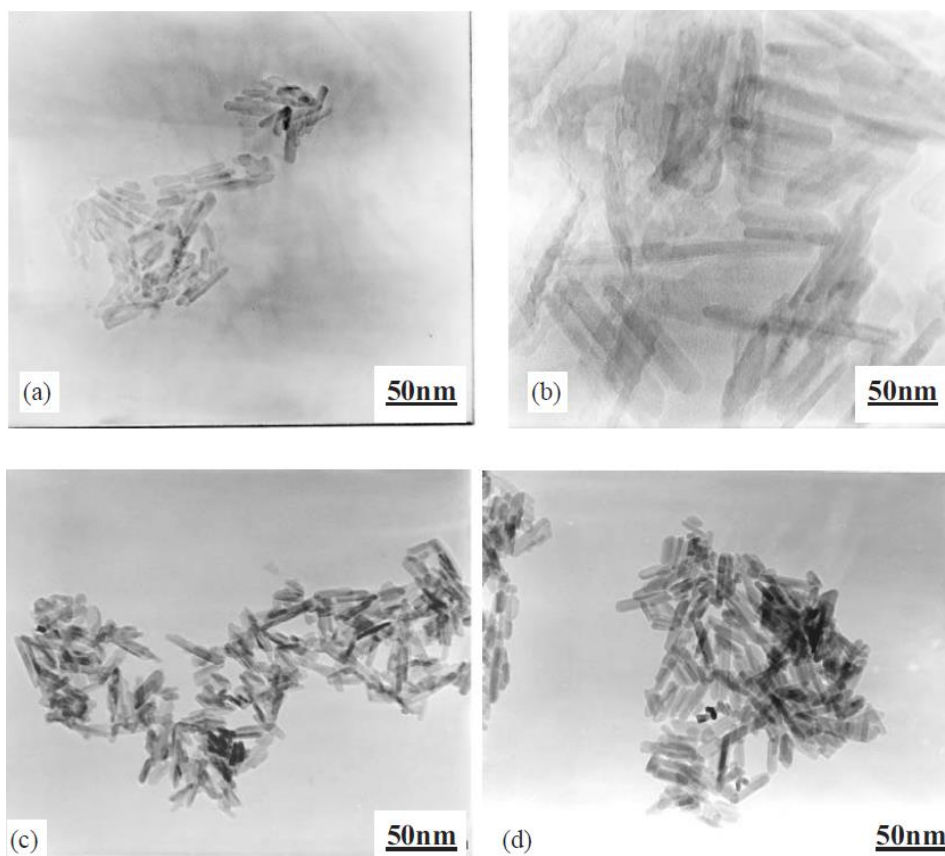
### 1.3. Kalcio deficitinio hidroksiapatito sintezės būdai

CDHA galima susintetinti paprasčiausiai sumaišant kalcio ir fosfato jonų turinčius tirpalus verdančiame vandenyje tam tikromis proporcijomis (Ca/P molinis santykis tirpale turėtų atitikti 1,50–1,67) ir virinant šią suspensiją keletą valandų [24]. Žinomi ir kiti šio junginio paruošimo būdai. CDHA gali būti susintetintas, pavyzdžiui, hidroterminiu, nusodinimo, kietafazių reakcijų, biomimetiniu, zolių-gelių, tirpinimo-nusodinimo metodais bei hidrolizuojant kitus kalcio fosfatus [27], [55]–[58]. Pastaruoju metu populiarėja ir mikrobangomis aktyvinta CDHA sintezė [59]. Deja, mažiausiai yra iširta sintezės būdų gauti porėtą kalcio deficitinį hidroksiapatitą [60], [61]. Ypač pageidautina susintetinti tokias porėtas fosfatines medžiagas, kurių porų dydis būtų mažesnis arba lygus 10  $\mu\text{m}$ . Tokie porėti kalcio ortofosfatai pasižymi puikiomis savybėmis: stipriai susijungia su kaulu (osteointegracija) ir jį atkuria (regeneracija). CDHA porėtumas yra itin svarbus fizikinis parametras kuriant sintetinius kaulo pakaitalus [62]. Šio poskyrio skyreliuose bus aptarti keli CDHA sintezės būdų pavyzdžiai.

#### 1.3.1. Nusodinimo metodas

Vienfaziai adatos formos CDHA nanokristalai gali būti susintetinti paprastu nusodinimo metodu, Ca ir P pirmtakais pasirenkant analitinio grynumo kalcio acetato hidratą  $((\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}\cdot x\text{H}_2\text{O})$  ir  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Šios medžiagos ištirpinamos vandenyje atitinkamais Ca/P santykiais (Ca/P = 1,5; 1,55; 1,6 bei 1,67) ir maišomos 2 val. kambario temperatūroje. Sintetinant

CDHA šiuo būdu būtina sąlyga yra aukšta tirpalo pH vertė (pH vertė arti 10). 6 paveiksle vaizduojamas nusodinimo būdu gautų CDHA miltelių su skirtingais Ca/P moliniais santykiais TEM nuotraukos. Šie pavyzdžiai pasižymi mažas adatas primenančios formos dalelių morfologija, o šios dalelės susiformuoja iš agregatų, maišant atitinkamos koncentracijos tirpalą intensyviu greičiu. Šių skirtingų Ca/P molinių santykių CDHA kristalų diametras svyruoja nuo 5 iki 10 nm, o ilgis – 40–50 nm [63].



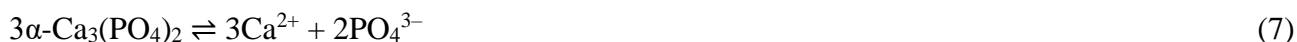
**6 pav.** CDHA pasižyminčių skirtingais Ca/P moliniais santykiais TEM nuotraukos:

(a) Ca/P = 1,5 ; (b) Ca/P = 1,55 ; (c) Ca/P = 1,6 ; (d) Ca/P = 1,67 [63].

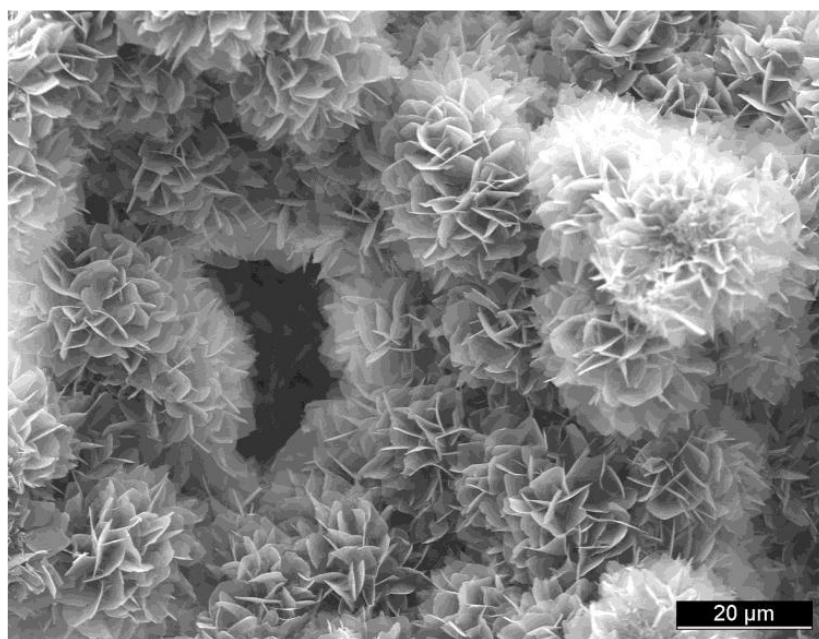
### 1.3.2. Tirpinimo-nusodinimo metodas

Šiuo metodu galima paruošti daugelį kalcio ortofosfatų. Vienas iš būdų susintetinti kalcio deficitinį hidroksiapatitą yra fazinių kitimų metu tirpinimo-nusodinimo reakcijų metodu, naudojant kalcio ir fosforo elementų turinčias pradines medžiagas bei vandenį. Daugumos apatitų formavimosi procesuose tirpinimo-nusodinimo reakcijų metu, vanduo yra ne reagentas, o tik terpė reakcijai prasidėti. Taigi, šiems procesams reikalingo vandens kiekis yra itin mažas [64]. Tipinis tirpinimo-nusodinimo reakcijos pavyzdys yra  $\alpha$ -TCP ( $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) hidrolizė į CDHA kontakto su vandeniu metu. Naudojant  $\alpha$ -TCP galima susintetinti kalcio deficitinį hidroksiapatitą, kurio Ca/P molinis santykis yra lygus 1,5.  $\alpha$ -TCP hidrolizuojamas vandenyje 60–100 °C temperatūroje, išlaikant tirpalo

pH tarp 8,1 ir 11,4. Šiomis sąlygomis  $\alpha$ -TCP disocijuoja į  $\text{Ca}^{2+}$  ir  $\text{PO}_4^{3-}$  jonus (7), galiausiai tirpalas persisotina kalcio deficitiniu hidroksiapatitu, todėl nusėda CDHA kristalai, kurie šiuo atveju yra reakcijos produktas ((9) suminė lygtis) [57].



Tirpinimo-nusodinimo reakcijos kalcio ortofosfatams yra tęstinis procesas, kuris visuomet prasideda pradinių medžiagų tirpimu vandeniniame tirpale. Tokiu būdu tirpalas prisisotina kalcio ir fosfato jonais, kurie pradeda chemiškai sąveikauti ir galiausiai nusėda bei sustingsta galutinio produkto arba pradinių fazių pavidalu. Šių procesų metu kartu su CDHA gali susiformuoti ir tarpinės pirmtakų fazės (pavyzdžiui, ACP arba OCP). Nusėdimo metu naujai susiformavę kristalai augdami ir susimaišydami tarpusavyje suformuoja CDHA mikroatatelių arba mikroplokštelių tinklus. Galima tvirtinti, kad naujai susiformavusių kristalų susimaišymas yra pagrindinė jų nusėdimo priežastis (7 paveikslas).



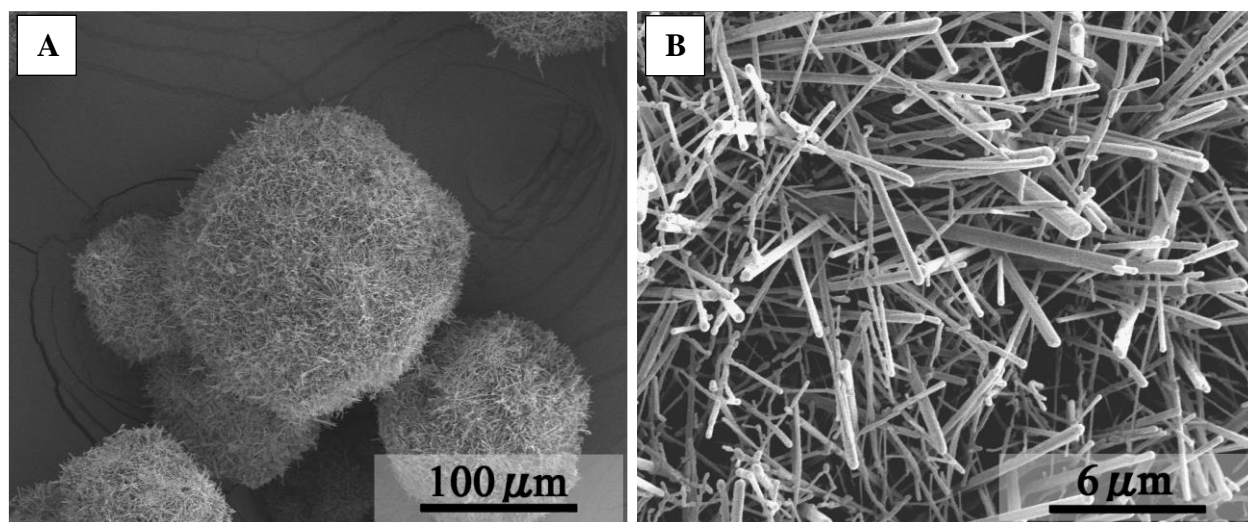
**7 pav.** Būdinga tirpinimo-nusodinimo būdu gauto kalcio ortofosfato mikrostruktūra po sustingimo.

Šių kristalų susipynimas suteikia junginiui mechaninį stabilumą [64].

Šių reakcijų rezultatas – CDHA kristalai sukimba tarpusavyje ir gaunama sustingusi masė. Pagrindinis CDHA sintezės iš  $\alpha$ -TCP šiuo metodu trūkumas yra ilga stingimo trukmė. Norint susintetinti kalcio deficitinį hidroksiapatitą iš  $\alpha$ -TCP šiuo būdu, iš viso reikalingos 24 val. reakcijos produktui sustingti [65], [57].

### 1.3.3. Hidroterminis metodas

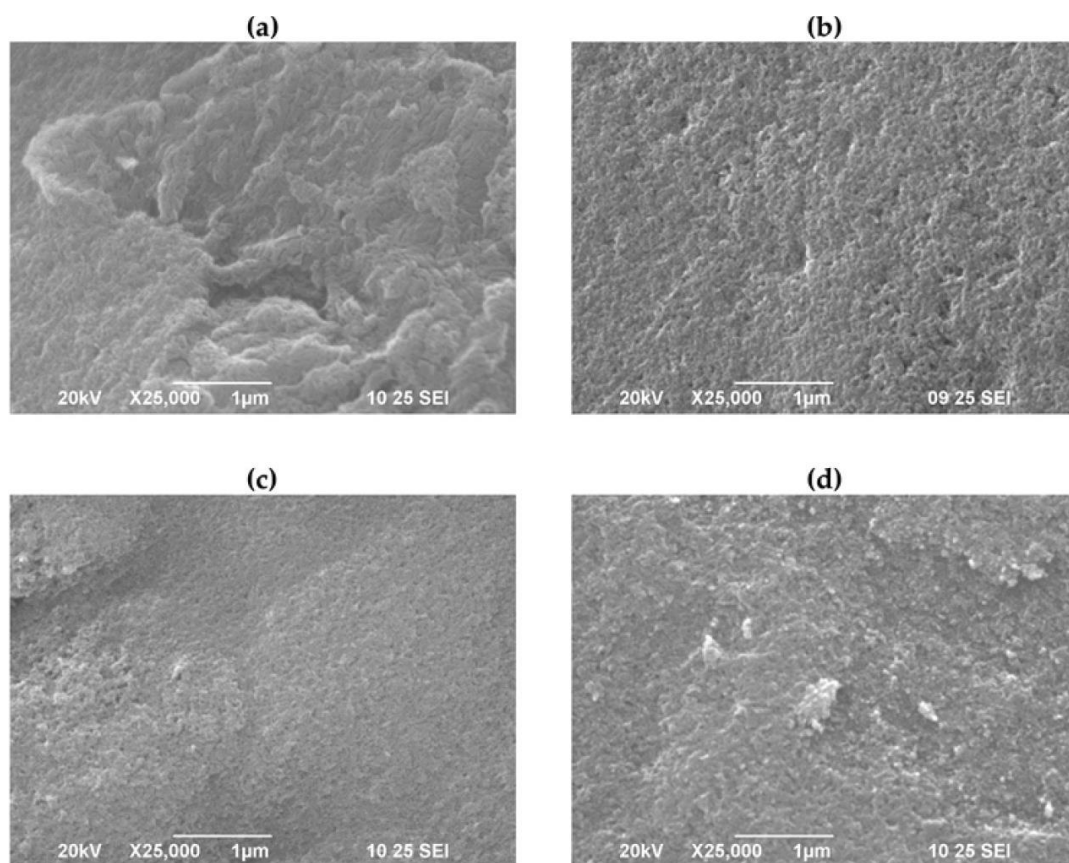
2006 metais aprašytas hidroterminis metodas CDHA granulių sintezei. Iš pradžių paruošiamos  $\alpha$ -TCP granulės: Pradinėmis medžiagomis pasirenkami  $\alpha$ -trikalčio fosfatas ( $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>,  $\alpha$ -TCP) ir želatina. Iš šių medžiagų paruošiama vandeninė suspensija. Gauta suspensija supilama į 80 °C temperatūroje besimaišantį alyvuogių aliejų, šis mišinys toliau maišomas atvėsindamas iki 4 °C temperatūros. Susidariusios granulės filtruojamos, praplaunamos etanoliu ir išdžiovinamos ore kambario temperatūroje. Siekiant pašalinti želatiną ir išsaugoti  $\alpha$ -TCP kristalinę fazę, granulės iškaitintos 1200 °C temperatūroje 5 minutes, o vėliau sudėtos į autoklavą su 10 cm<sup>3</sup> vandens. Šie bandiniai buvo veikiami vandens garais temperatūrose nuo 40 °C iki 160 °C ir sočiųjų garų slėgyje 10 valandų. Eksperimento rezultatai atskleidė, jog po  $\alpha$ -TCP mėginių iškaitinimo 1200 °C temperatūroje susidarė porėtos sferinės  $\alpha$ -TCP granulės, o jų dydis priklausė nuo aliejaus maišymo greičio ir nuo gautos suspensijos klampumo. Po hidroterminio apdorojimo,  $\alpha$ -TCP granulės pavirto į CDHA, sudarytą iš strypelių pavidalo kristalų [66]. XRD analizės rezultatai patvirtino, jog kaitinant susiformavo kalcio deficitinis hidroksiapatitas be priemaišinių fazių. Vėliau šie pavyzdžiai iškaitinti 900 °C temperatūroje 3 valandas oro atmosferoje. Gautos  $\beta$ -TCP granulės vaizduojamos 8 paveiksle. Granulės sudarytos iš apie 10–20  $\mu$ m ilgio strypelių pavidalo dalelių, o jų porėtumas siekia apie 40–60 %. Bandymų metu prieita prie išvados, jog šios mikroporos gali būti užpildomos baltymais, o porėtos granulės gali būti panaudojamos kaulų persodinimui arba kaulo karkasų gaminimui [55].



**8 pav.** 900 °C temperatūroje iškaitintų CDHA granulių SEM nuotraukos (A ir B). Paveikslo B dalyje matoma granulių paviršiaus mikrostruktūra [55].

### 1.3.4. Zolių-gelių metodas

Populiarus biokeraminių medžiagų sintezės būdas yra zolių-gelių metodas. Literatūroje 2018 metais pasiūlytas metodas, kai CDHA sintezei naudojami kalcio nitrato tetrahidrato ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), natrio fosfato ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) ir NaOH 1 M vandeniniai tirpalai, paruošti kambario temperatūroje (25 °C). NaOH (aq) įmaišomas į  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  tirpalą ir šis maišomas 30 min siekiant gauti heterogeninį mišinį – kalcio pirmtaką. Tada šis mišinys pridedamas lašinant po lašą į vandeninį  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  tirpalą nuolat maišant 25 °C temperatūroje, 600 apsisukimų per minutę greičiu. Šiame sintezės žingsnyje vyksta zolio dalelių kondensacija ir geliacija. Siekiant pašalinti tirpiklį (šiuo atveju distiliuotą vandenį), gautas gelis filtruojamas ir džiovinamas 80 °C temperatūroje 24 valandas. Gaunamas kserogelis su smulkiais trapiais kristalais. Šie kristalai mechaniškai susmulkinami, kol gaunami susintetintų junginių milteliai. Šiam eksperimentui buvo naudoti keturi skirtingi lašinimo greičiai (atitinkamai 5, 8, 10 ir 17  $\mu\text{L}/\text{s}$ ) CDHA sintezei. Gautų CDHA\_A, CDHA\_B, CDHA\_C, CDHA\_D mėginių SEM nuotraukos vaizduojamos 9 paveiksle.



**9 pav.** Zolių-gelių metodu susintetintų CDHA pavyzdžių SEM nuotraukos: (a) CDHA\_A, CDHA\_B, (c) CDHA\_C, (d) CDHA\_D [67].

Šiose nuotraukose matome, kad didinant lašinimo greitį pastebimai kinta ir gautų bandinių paviršiaus morfologija. Pavyzdyje CDHA\_A matomas paviršius yra labiausiai netaisyklingas (9 pav. (a) dalis), šiame bandinyje taip pat galima įžiūrėti mažas poras. CDHA\_B galima įžiūrėti labiau

porėtą, plokščią paviršių (9 pav. (b) dalis). Kita vertus, pavyzdyje CDHA\_C matome mažiau plokštuminį, lygesnį paviršių, kuriame matome homogenišką porų pasiskirstymą (9 pav. (c) dalis). CDHA\_D atveju matome tankų granuliuotą paviršių (9 pav. (d) dalis), vis tik ir šiame pavyzdyje yra išvelgiamos smulkios poros. Šios sintezės rezultatai parodė, kad porų diametras ir bendras porų tūris pavyzdžiuose mažėja, mažinant lašinimo greitį, o kristalitų dydis mažėja didinant lašėjimo greitį. Taipogi lašėjimo greitis šios sintezės metu nulemia ir tirpalo pH, todėl turi nemenką poveikį CDHA fizikinėms ir cheminėms savybėms [67].



## 2. EKSPERIMENTO METODIKA

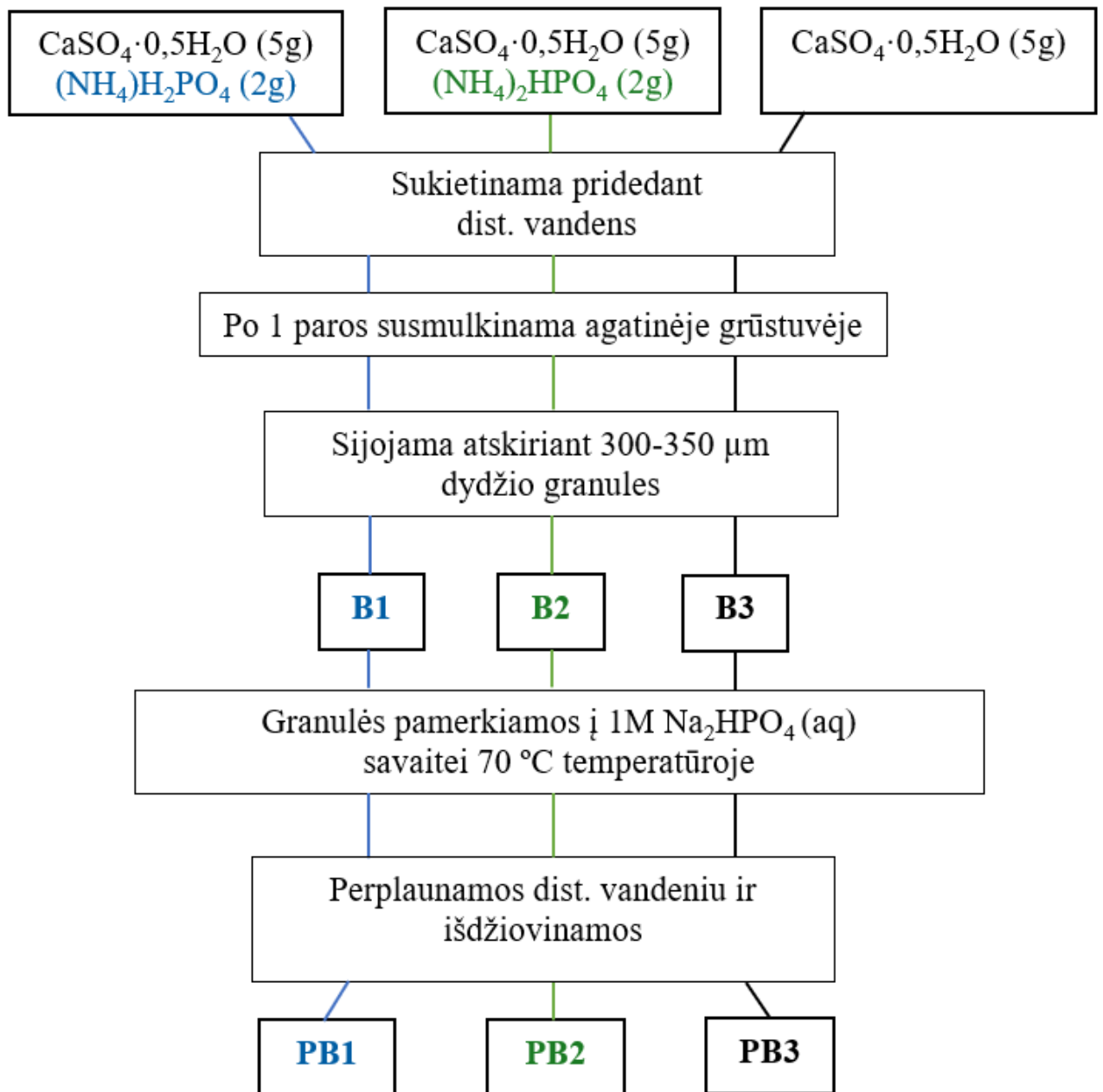
### 2.1. Reagentai

Sintetinant CDHA granules buvo naudotos šios cheminės medžiagos: kalcio sulfato dihidratas  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 99,0%, Sigma-Aldrich), amonio dihidrofosfatas ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ; 99,0%, „Euro Chemicals“), amonio hidrofosfatas ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ; 99,0%, „Euro Chemicals“), dinatrio vandenilio fosfato dihidratas ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 99,0%, „Chempur“). Tirpalų ruošimui bei granulių praplovimui buvo naudotas distiliuotas vanduo.

### 2.2. Sintezės metodas

Buvo susintetintos trijų skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granulės. Pirmais dviem atvejais, 5 g kalcio sulfato hemihidrato ( $\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ ), gauto iškaitinus kalcio sulfato dihidratą 180 °C temperatūroje 24 valandas, kruopščiai homogenizuojami su 2 g ( $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ ) arba su 2 g  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  agatinėje grūstuvėje. Gauti mėginiai darbe atitinkamai pažymėti sutrumpinimais B1 ir B2. Vėliau, siekiant sukietinti gautus mišinius, į kiekvieną iš jų pridedami 3 mL distiliuoto vandens, o gauta tiršta masė gerai išmaišoma plastikine mentele. Vienfazis pavyzdys (darbe jis pažymėtas B3) pagamintas sumaišant 5 g kalcio sulfato hemihidrato, gauto iškaitinus kalcio sulfato dihidratą 180 °C temperatūroje 24 valandas, su 4 mL distiliuoto vandens. Susintetinti B1–B3 pavyzdžiai buvo laikomi kambario temperatūroje 24 valandas. Vėliau bandiniai susmulkinami agatinėje grūstuvėje ir siojami, norint atskirti reikiamo dydžio granules (~300–350 μm) [14].

Sintetinant kalcio deficitinio hidroksiapatito granules, B1–B3 bandiniai buvo laikomi 1 M dinatrio vandenilio fosfato dihidrato tirpale, 70 °C temperatūroje vieną savaitę. Mėginiai, gauti po mirkimo  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  tirpale, šiame darbe atitinkamai vadinami PB1–PB3. Praėjus savaitei, pagamintos granulės PB1–PB3 kelis kartus gerai praplaunamos distiliuotu vandeniu ir džiovinamos džiovinimo krosnyje 50 °C temperatūroje 24 valandas. Išdžiovinti mėginiai dar kartą nusiojami sietu, siekiant atskirti reikiamo (~300–350 μm) dydžio granules [14]. 10 pav. schematiškai vaizduojama CDHA granulių sintezė.



**10 pav.** Žemo kristališkumo laipsnio CDHA granulių sintezės schema

### 2.3. Naudota aparatūra

Gautų mėginių fazinė sudėtis buvo tiriama atliekant susintetintų susmulktų granulių miltelių XRD analizę naudojant Rigaku, MiniFlex II prietaisą Cu  $K\alpha_1$  spinduliuotėje. Difrakcinė analizė buvo atliekama skenuojant nuo 20 iki 50  $2\theta$  laipsnių,  $2^\circ/\text{min}$  skenavimo greičiu. Susintetintų medžiagų kristalinės fazės identifikuotos gautas difraktogramas lyginant su jungtinių miltelių difrakcijos standarto kortele, JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) komiteto duomenų bazėje. PB1–PB3 mėginių kristalitų dydis buvo apskaičiuotas iš (0 0 2) difrakcijos smailės išplatėjimo rentgeno difraktogramoje pasitelkiant Šerrerio formulę [I] (darant prielaidą, jog kristalitai yra sferiniai):

$$D_{hkl} = \frac{k\lambda}{B_{hkl} \cos \theta} \quad [I]$$

čia:  $D_{hkl}$  – kristalitų dydis;

$\lambda$  – Cu  $K\alpha_1$  spinduliuotės bangos ilgis (0,1542 nm);

$k$  – konstanta (0,9);

$B_{hkl}$  – smailės plotis radianais jos intensyvumo viduryje;

$\theta$  – difrakcijos kampas [68].

Medžiagoje esančios funkcinės grupės identifikuotos FTIR spektroskopija (Brucker-Alpha spektrometras). Mėginiai buvo tiriami transmisijos režimu, 4000–400  $\text{cm}^{-1}$  bangos skaičiaus ruože esant 4  $\text{cm}^{-1}$  spektrinei rezoliucijai, atliekant 25 skenavimus.

Mėginių morfologija ištirta Hitachi SU-70 FE-SEM prietaisu. Bandiniai laikiklyje buvo tvirtinami elektrai laidžios lipnios juostos, kurios pagrindą sudaro anglis, pagalba.

Gautų junginių termogravimetrinė (TG) bei diferencinė terminė (DTG) analizės atliktos Perkin Elmer STA 600 prietaisu. Tyrimai buvo atliekami atmosferos dujose, oro sraute (oro srauto greitis 20 mL/min), keliant temperatūrą 2  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  greičiu, nuo kambario temperatūros iki 900  $^{\circ}\text{C}$ . 20 mg miltelių mėginys buvo tiriamas korundiniame tiglyje, kuris, prieš pradedant analizę, buvo iškaitinamas ore, siekiant pašalinti galimus trikdžius, kurie galėjo iškreipti tyrimo rezultatus. Mėginio masės pokytis buvo užrašomas kaip funkcija nuo temperatūros.

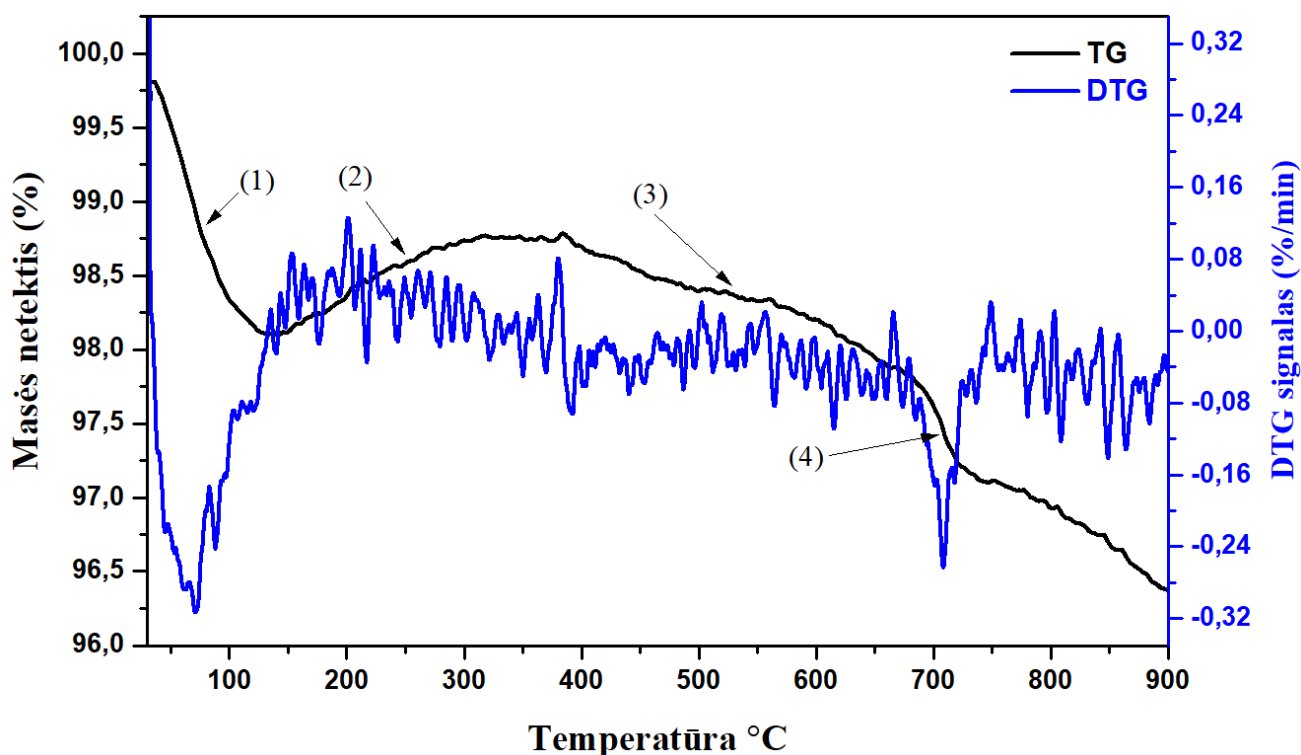
### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. Žematemperatūre kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių sintezė ir apibūdinimas

Šioje darbo dalyje pateikiami CDHA mėginių, gautų tirpinimo-nusodinimo sintezės metodu, rezultatai. Gautos granulės tirtos terminės analizės (TG/DTG), Rentgeno spindulių difrakcinės analizės (XRD), Furje transformacinės infraraudonosios spektroskopijos (FTIR) ir skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) metodais. Šiame skyriuje bus aptarti ir išanalizuoti susintetintų junginių eksperimentinių tyrimų rezultatai (TG/DTG analizės kreivės, XRD difraktogramos, FTIR spektrai ir SEM nuotraukos).

##### 3.1.1. Termogravimetrinė analizė

Kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių terminio skilimo mechanizmas buvo tiriamas atliekant TG/DTG matavimus nuo kambario iki 900 °C temperatūrų intervale. Šiame skyrelyje pateikiami tik PB1 granulių tyrimo duomenys, nes tiek PB2, tiek PB3 tyrimų rezultatai buvo identiški. Susintetintų CDHA granulių TG/DTG kreivės pavaizduotos 11 paveiksle.



11 pav. PB1 granulių TG/DTG kreivės

Iš TG analizės duomenų matome, kad iškaitinus bandinius, išryškėja trys pagrindiniai masės sumažėjimai (pažymėti (1), (3), ir (4)) ir vienas (pažymėtas (2)) masės didėjimas. Pirmame etape, pažymėtame (1), vykstančiame 30–135 °C temperatūroje netenkama 1,7% bandinio masės,

(2) 135–318 °C masė padidėja 0,66%; (3) 385–687 °C netenkama 1,0% masės; (4) 687–800 °C netenkama 0,84% pradinės bandinio masės. Visos termogravimetrinės analizės metu prarandama ~3,54% bandinio masės, panašiai kaip [69]. Tirpinimo-nusodinimo metodu gautas CDHA gali turėti dviejų tipų vandens molekules – paviršiuje adsorbuotas ir esančias kristalinėje gardelėje. Apibendrinant TG analizės duomenis galima tvirtinti, kad 30–135 °C temperatūroje ((1) etapas), bandinio masė mažėja dėl analizuojamų miltelių paviršiuje adsorbuoto vandens išsiskyrimo. Masės padidėjimą antrame etape galima lemti oro sraute esančių dujų adsorbicija ant tiriamo mėginio paviršiaus. Kaitinant toliau, 385–687 °C temperatūros intervale ((3) etapas) – kondensuojantis  $\text{HPO}_4^{2-}$  jonams ir išsiskiriant vandeniui formuojasi  $\beta\text{-Ca}_9(\text{P}_2\text{O}_7)_{0,5}(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ :  $2\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH}) \rightarrow 2\beta\text{-Ca}_9(\text{P}_2\text{O}_7)_{0,5}(\text{PO}_4)_5(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}$  (d) [38]. Toliau keliant temperatūrą nuo ~720 °C iki 800 °C vyksta (4) masės netekties etapas, kuomet  $\beta\text{-Ca}_9(\text{P}_2\text{O}_7)_{0,5}(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$  transformuojasi į  $\beta$ -polimorfinį trikalcio fosfatą ( $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\beta\text{-TCP}$ ), išsiskiriant vandeniui:  $\beta\text{-Ca}_9(\text{P}_2\text{O}_7)_{0,5}(\text{PO}_4)_5(\text{OH}) \rightarrow 3\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 0,5\text{H}_2\text{O}$  (d) [39].

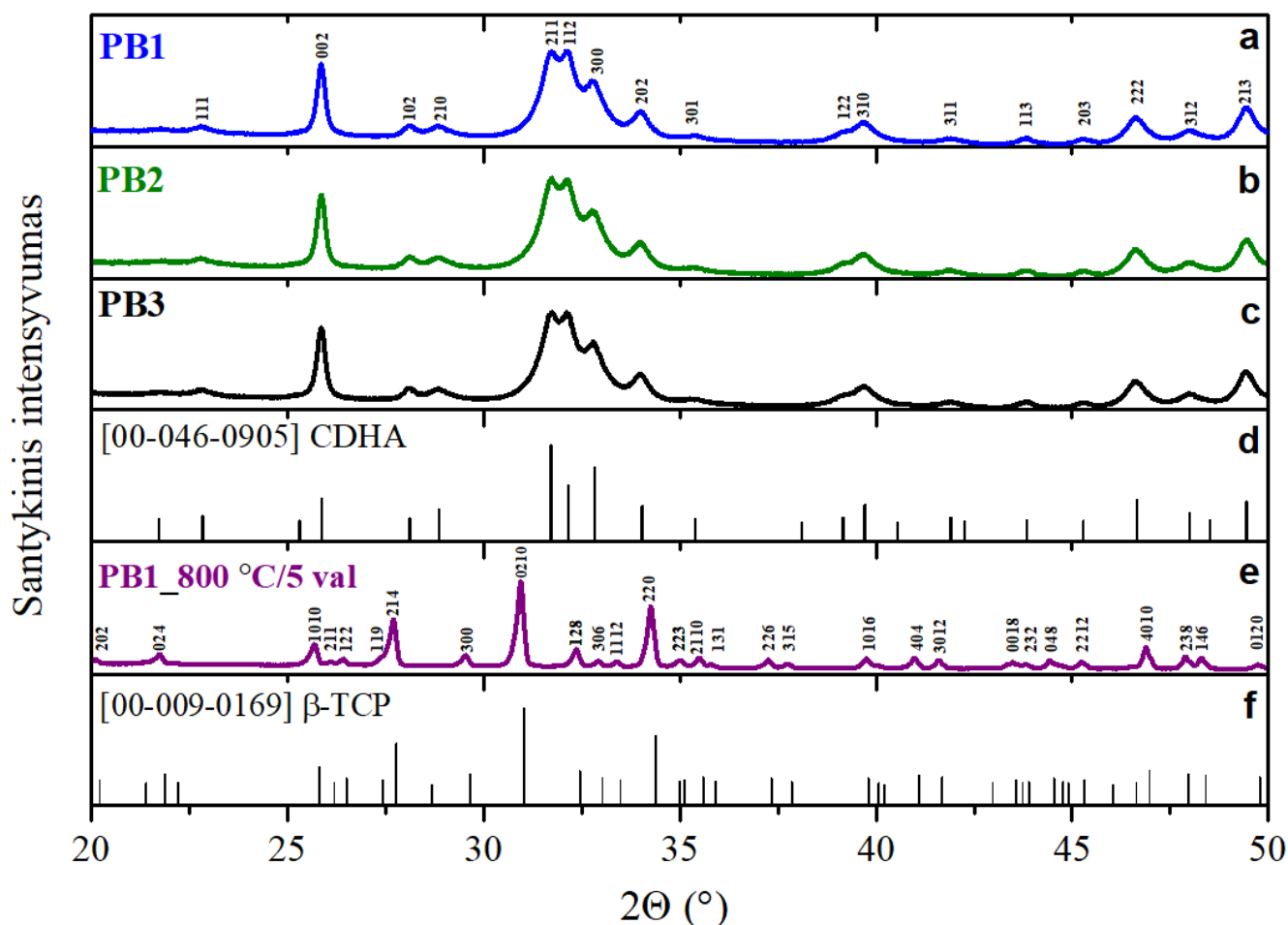
TG analizės rezultatus papildo DTG rezultatai. DTG kreivėje išryškėja dvi didesnio intensyvumo smailės. Intensyviausia DTG signalo smailė, kurią stebime intervale tarp 30–135 °C temperatūros, rodo, kad kaitinimo metu netenkama daugiausiai bandinio masės, kaip jau minėta, dėl adsorbuoto vandens išsiskyrimo. Taip pat matoma dar viena ryški mažesnio intensyvumo DTG smailė, žyminti mažesnius masės pakitimus 687–724 °C temperatūros intervale, dėl vykstančių struktūrinių bei cheminių pokyčių gardelėje.

### 3.1.2. Rentgeno spindulių difrakcinė analizė

Rentgeno spindulių difrakcinės analizės rezultatai pateikiami 12 paveiksle. PB1–PB3 bandinių difraktogramose matomos plačios smailės, tai reiškia, kad mėginiai yra sudaryti iš nanodalelių [25]. Paveikslo a) – c) dalyse pateiktas difraktogramas palyginę su standartine CDHA difraktograma (paveikslo d) dalyje pateikiamos vertikalios linijos yra CDHA standartas iš JCPDS duomenų bazės, rinkmenos numeris 00-046-0905) matome, kad PB1–PB3 pavyzdžiai pasižymi apatitine struktūra: rentgenogramose esančios smailės ties  $2\theta = 25,85^\circ, 31,79^\circ, 32,11^\circ, 32,78^\circ, \text{ ir } 33,95^\circ$  puikiai atitinka kalcio deficitinio hidroksiapatito *hkl* standartines plokštumas (002), (211), (112), (300), ir (202). Gautuose mėginiuose neidentifikuota jokių priemaišinių kristalinių fazių, todėl galima teigti, jog pradinės B1–B3 granulės virto į CDHA PB1–PB3 granules. Vertėtų paminėti, kad (002) ir (112) plokštumas atitinkančios smailės ir CDHA standarte minėtosios smailės yra skirtingų intensyvumų [70], [71]. Šis intensyvumų skirtumas yra siejamas su pasirinktu sintezės būdu [71].

Mėginius PB1–PB3 sudarančių kristalitų dydis buvo apskaičiuotas iš (002) smailės išplatėjimo, naudojant Šerrerio lygtį [68]. Apskaičiuota, jog kristalitų dydis PB1 ir PB2 mėginių atveju yra 22 nm, o PB3 mėginiui tik 6 nm. Taigi, PB1 bei PB2 bandinių, suformuotų iš dvikomponenčių granulių (B1

ir B2), kristalantai yra didesni, nei kuomet buvo naudotas vienfazis B3 pirmtakas. Galima daryti išvadą, kad amonio divandenilio fosfatas bei diamonio vandenilio fosfatas pagreitina CDHA granules sudarančių kristalitų augimo procesus. Šio tyrimo rezultatai atskleidė, kad pridamos druskos pasirinkimas nedaro įtakos gauto sintezės produkto kristalitų dydžiui. Tačiau, pats druskos pridėjimas daro įtaką gauto produkto kristalitų dydžiui.



**12 pav.** CDHA susintetinto 70 °C temperatūroje, naudojant skirtingos sudėties pradines granules, rentgeno spindulių difraktogramos pateikiamos paveikslo a) PB1, b) PB2, c) PB3 dalyse.

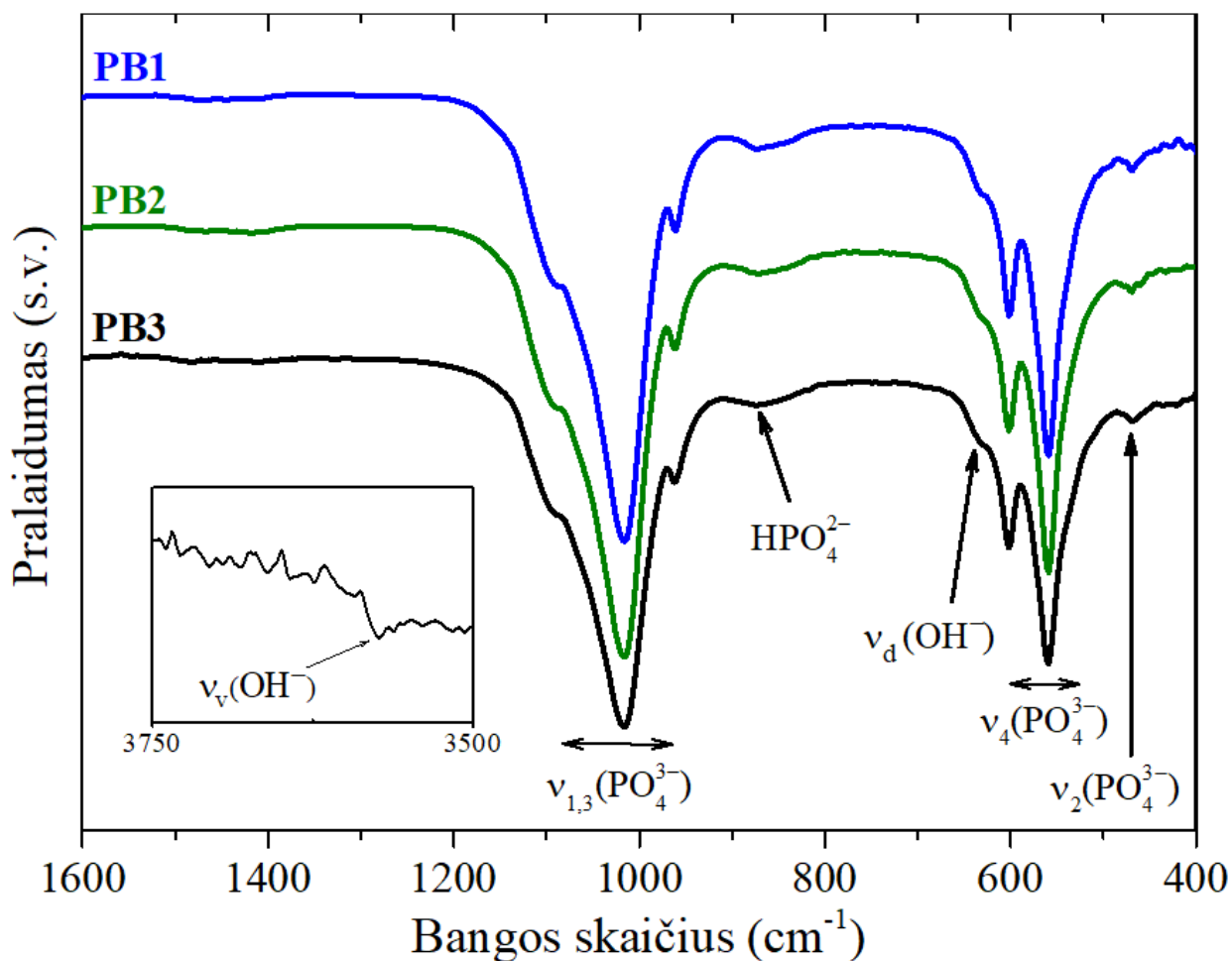
Paveikslėlio e) dalyje pateikiama PB1 granulių, iškaitintų 800 °C temperatūroje (5 val.), difraktograma. Vertikaliomis linijomis paveikslo d) ir f) dalyse, atitinkamai, yra pavaizduotos standartinės CDHA (JCPDS rinkmenos numeris 00-046-0905) ir β-TCP (JCPDS rinkmenos numeris 00-009-0169) difraktogramos.

Siekiant eliminuoti galimą amorfiųjų arba priemaišinių fazių, esančių žemiau rentgeno spindulių difraktometro aptikimo ribų, susidarymą, susintetintos granulės buvo sutrintos agatinėje grūstuvėje ir iškaitintos 5 valandas 800 °C temperatūroje. 12 paveikslo e) dalyje matoma difraktograma vaizduoja aukštoje temperatūroje iškaitinto PB1 bandinio tyrimo rezultatus (čia vaizduojama tik PB1 difraktograma, nes gauti PB2 ir PB3 mėginių rezultatai yra identiškai PB1). Iš

literatūros šaltinių yra žinoma, kad kaitinant kalcio deficitinį hidroksiapatitą aukštesnėse nei 650 °C temperatūrose šis skyla į  $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> ir vandenį [72], [73]. Šios reakcijos lygtis:  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH}) \rightarrow 3\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{H}_2\text{O}$ . Kad 800 °C temperatūroje iškaitintas mėginys yra būtent  $\beta$ -TCP, įrodo jam būdingos smailės esančios ties  $2\theta = 27,07^\circ$ ,  $30,96^\circ$  ir  $34,30^\circ$  (žiūrėti 12 pav. e) difraktogramoje, o palyginimui to paties paveikslo f) dalyje vaizduojamos vertikalios linijos yra  $\beta$ -TCP standartinė difraktograma iš JCPDS duomenų bazės, rinkmenos numeris 00-009-0169) [74]. Šiuo atveju analizuojamame mėginyje nebuvo identifikuota jokių papildomų kristalinių fazių, todėl galima teigti, kad nanokristalinis CDHA pilnai pavirto  $\beta$ -TCP [73]. Akivaizdu, kad 10 paveikslo e) dalyje pateiktos difraktogramos smailės yra gerokai siauresnės palyginus su smailėmis, matomomis PB1–PB3 granulių difraktogramose (12 paveikslo a) – c) dalys). Bandinių PB1–PB3, kaitintų aukštoje temperatūroje, kristalitų dydžiai apskaičiuoti iš (10 10), (02 10) ir (220) smailių išplatėjimo, naudojant Šerrerio formulę. Kristalitų dydžiai PB1, PB2 ir PB3 mėginiuose yra atitinkamai lygūs: 35 nm, 37 nm ir 19 nm.

### 3.1.3. Infraraudonoji spektroskopija

Šioje darbo dalyje, siekiant nustatyti susintetintuose granulėse esančias funkcines grupes, buvo panaudotas Furjė transformacinės infraraudonųjų spindulių spektroskopijos (FTIR) tyrimo metodas. 13 paveiksle pateikiami susintetintų PB1–PB3 pavyzdžių FTIR spektrai. Kaip matome, visi trys FTIR spektrai yra identiški, o tai reiškia, kad naudojant skirtingus B1–B3 pirmtakus tirpinimo-nusodinimo sintezės procese susiformavo analogiškos struktūros junginiai. Gautuose spektruose matomos keturios charakteringosios PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> jonų virpesių juostos:  $\nu_1$  ties 963 cm<sup>-1</sup>,  $\nu_2$  ties 430–470 cm<sup>-1</sup>,  $\nu_3$  ties 1020–1090 cm<sup>-1</sup>, ir  $\nu_4$  ties 560–600 cm<sup>-1</sup> [75], [76]. Virpesių juostos ties 963 cm<sup>-1</sup> ir 1020–1090 cm<sup>-1</sup> atitinka simetrinius ir asimetrinius fosfatinių P–O ryšių virpesius, o žemesnių bangos skaičių ( $\nu_2$  ties 430–470 cm<sup>-1</sup> ir  $\nu_4$  ties 560–600 cm<sup>-1</sup>) srityje esančios smailės priskiriamos O–P–O fosfatinių ryšių virpesiams. FTIR spektruose matomos mažo intensyvumo smailės, ties 3571 cm<sup>-1</sup> (priskiriama  $\nu_v$  virpesių tipui) bei ties 630 cm<sup>-1</sup> (priskiriama  $\nu_d$  virpesių tipui) yra būdingi O–H grupei [77]. Gan plati juosta ties 869 cm<sup>-1</sup> priskiriama P–O(H) ryšių virpesiams vandenilio fosfato (HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) grupėje, esančioje kalcio deficitiniame hidroksiapatite [78], [79].

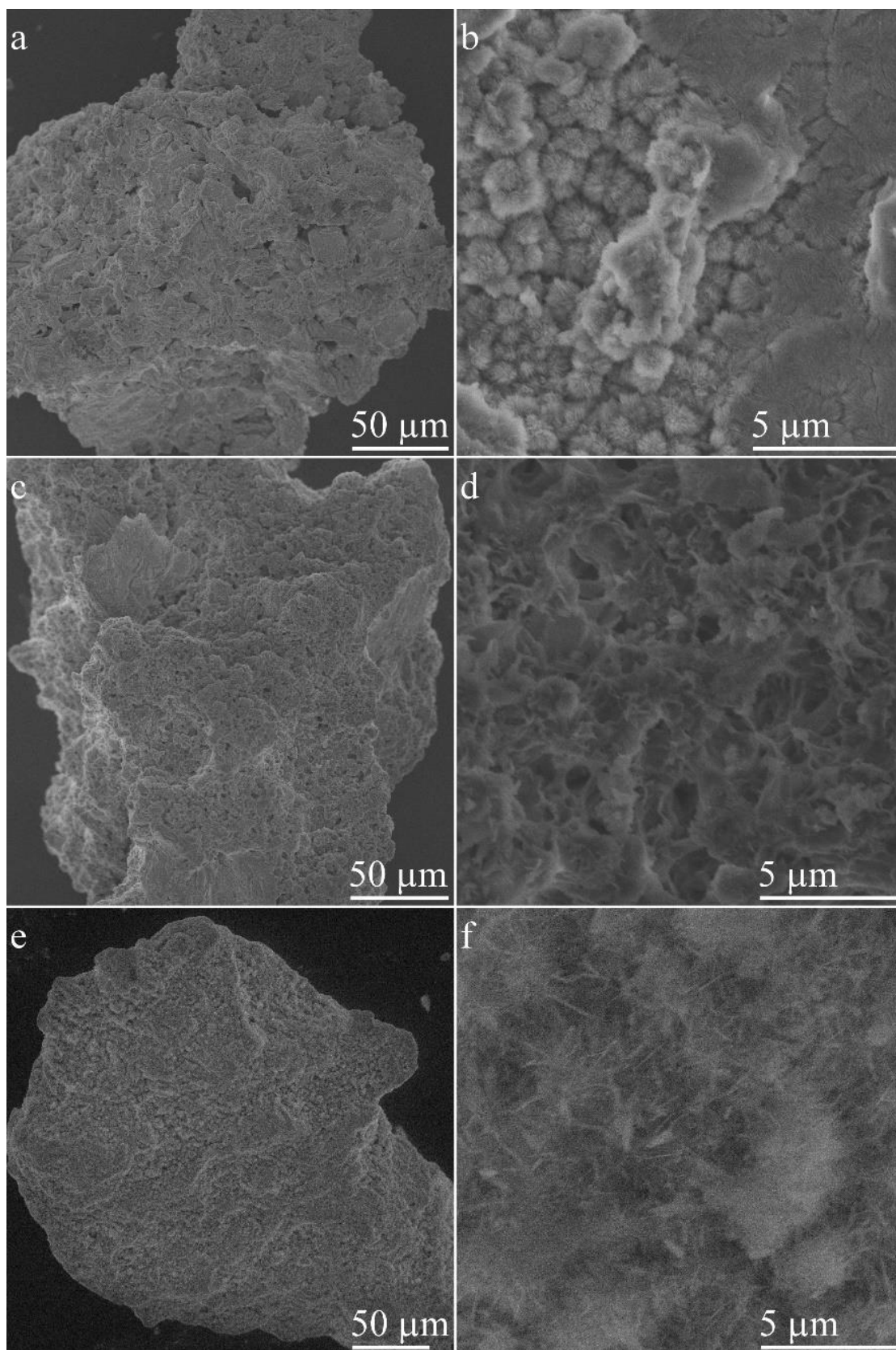


13 pav. Susintetintų PB1–PB3 granulių FTIR spektrai.

#### 3.1.4. Skenuojanti elektroninė mikroskopija

Gautų kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių morfologija tirta skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) pagalba. PB1–PB3 bandinių, susintetintų tirpinimo-nusodinimo metodu, SEM nuotraukos vaizduojamos 14 pav. Šiame paveiksle aiškiai matome, kad PB1–PB3 mikrostruktūrą nulemia pirmtako granulių cheminė sudėtis [80]. PB1 bandinio SEM nuotraukoje vaizduojamoje 14 pav. a ir b dalyse, matome, kad gautos granulės yra sudarytos iš sferinių dalelių aglomeratų sankaupų, kurių dydis siekia 0,5–2  $\mu\text{m}$ . Šių sferinių dalelių paviršius yra padengtas tolygiai suaugusiomis adatos formos nanodalelėmis, dėl kurių išsidėstymo sferinės dalelės įgauna panašią formą į snaiges [81]. PB2 granulės (14 pav. c ir d dalys) sudarytos iš daugybės nanometrinių dydžio klasterių su mikroporėta struktūra. PB3 granulių, sintetintų be pridėtinės amonio druskos, morfologija (14 pav. e ir f dalys) gerokai skiriasi nuo PB1 ir PB2 bandinių. 14 paveikslo f dalyje matomos dalelės susideda iš plokštelių, kurių dydis kinta nuo ~100–300 nm pločio ir 0,5–1  $\mu\text{m}$  ilgio [82], o matomi aglomeratai yra susiformavę būtent iš šių nanodalelių. Apibendrinant šiuos SEM analizės rezultatus, galima teigti, kad papildomos druskos, dedamos į pradines granules pasirinkimas daro didelę įtaką gautų CDHA granulių morfologijai ir mikrostruktūrai.

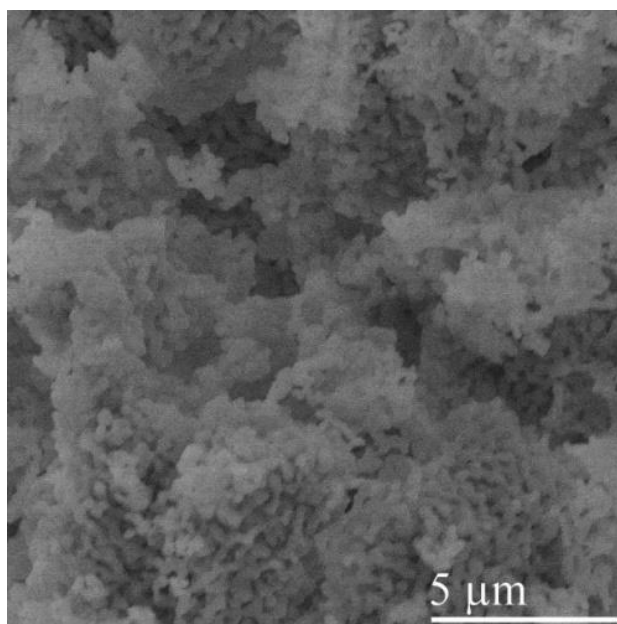




**14 pav.** CDHA granulių, susintetintų tirpinimo-nusodinimo metodu, naudojant skirtingus pirmtakus, SEM nuotraukos (pateiktos mažesnio ir didesnio didinimo nuotraukos). Nuotraukose atitinkamai vaizduojami PB1 – a) ir b), PB2 – c) ir d), PB3 – e) ir f).

SEM metodu buvo tiriama ir kaitinimo įtaka miltelių morfologijai. 15 paveiksle matome nuotrauką, darytą iškaitinus PB1 mėginį 800 °C temperatūroje.

Nagrinėjant SEM nuotrauką nustatyta, jog iškaitintas junginys yra sudarytas iš tarpusavyje kakleliais suaugusių sferinių dalelių. Dalelės sukimba viena su kita dėl itin aukštos terminio apdorojimo temperatūros. XRD metodu nustatyta, kad iškaitintas junginys yra  $\beta$ -TCP, o 15 pav. matomos dalelės yra santykinai vienodo dydžio – apie 180 nm.



**15 pav.** Kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių, iškaitintų 800 °C temperatūroje, SEM nuotrauka

## IŠVADOS

1. Naudojant kalcio sulfato hemihidratą ir fosfatinę druską susintetintos pirmtako granulės kalcio deficitiniam hidroksiapatitui (CDHA) gauti.
2. Sukurtas paprastas žematemperatūris sintezės metodas sintetinti žemo kristališkumo CDHA 300–350  $\mu\text{m}$  dydžio granules.
3. TG/DTG analizės metodu nustatytas susintetintų CDHA granulių terminio skilimo mechanizmas ir aptarti skilimo metu vykstantys procesai. Nustatyta CDHA skilimo ( $\beta$ -TCP kristalinės fazės formavimosi) temperatūra  $\sim 700$   $^{\circ}\text{C}$ .
4. XRD rezultatai patvirtino vienfazio CDHA susiformavimą iš skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granulių. Nustatyta, pirmtako sudėtyje esanti fosfatinė druska ( $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$  arba  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) pagreitina CDHA granules sudarančių kristalitų augimo procesus, tačiau pridedamos druskos pasirinkimas nedaro įtakos gauto sintezės produkto kristalitų dydžiui.
5. Parodyta, kad tiriamų medžiagų FTIR spektruose matomos  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$  struktūroje esančių  $\text{OH}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  bei  $\text{PO}_4^{3-}$  funkcinių grupių virpesių juostos.
6. SEM tyrimai parodė, jog CDHA granulių mikrostruktūrą nulemia pirmtako granulių cheminė sudėtis: CDHA granulės gali būti sudarytos iš sferinių dalelių aglomeratų, mikroporėtos struktūros dalelių sancaupų arba iš skirtingų dydžių plokštelių.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

- [1] J. Kolmas, S. Krukowski, A. Laskus, M. Jurkitewicz, “Synthetic hydroxyapatite in pharmaceutical applications,” *Ceramics International*, 42, 2, p. 2472–2487, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.10.048>.
- [2] N. Eliaz, N. Metoki, “Calcium phosphate bioceramics: A review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications,” *Materials*, 10, 4, 2017, doi: 10.3390/ma10040334.
- [3] F. H. Aibee, H. F. Morrison, Studies in bone growth: triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis, *Ann. Surg.* 71 (1920) p. 32–39.
- [4] M. Winter, P. Griss, K. de Groat, G. Heirneke, K. Sawai, Comparative histocompatibility testing of seven calcium phosphate ceramics, *Biomaterials* 2, (1981) p. 159–160.
- [5] S. v. Dorozhkin, “Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates,” *Acta Biomaterialia*, 8, 3. p. 963–977, 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2011.09.003.
- [6] S. v Dorozhkin, “13 - Calcium-orthophosphate-based bioactive ceramics,” in *Fundamental Biomaterials: Ceramics*, S. Thomas, P. Balakrishnan, M. S. Sreekala, Eds. Woodhead Publishing, 2018, p. 297–405.
- [7] R. Z. LeGeros, “Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials,” *Chemical Reviews*, 108, 11, p. 4742–4753, 2008, doi: 10.1021/cr800427g.
- [8] K. Ishikawa, Y. Miyamoto, A. Tsuchiya, K. Hayashi, K. Tsuru, G. Ohe, “Physical and histological comparison of hydroxyapatite, carbonate apatite, and  $\beta$ -tricalcium phosphate bone substitutes,” *Materials*, 11, 10, 2018, doi: 10.3390/ma11101993.
- [9] A. Khandan, E. Karamian, M. Bonakdarchian, “Mechanochemical synthesis evaluation of nanocrystalline bone-derived bioceramic powder using for bone tissue engineering,” *Dental Hypotheses*, 5, 4, p. 155–161, 2014, doi: 10.4103/2155-8213.140606.
- [10] S. v Dorozhkin, “Bioceramics of calcium orthophosphates,” *Biomaterials*, 31, 7, p. 1465–1485, 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.050>.
- [11] A. Najafinezhad, M. Abdellahi, S. Saber-Samandari, H. Ghayour, A. Khandan, “Hydroxyapatite- M-type strontium hexaferrite: A new composite for hyperthermia applications,” *Journal of Alloys and Compounds*, 734, p. 290–300, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.10.138>.
- [12] A. Khandan, M. Abdellahi, N. Ozada, H. Ghayour, “Study of the bioactivity, wettability and hardness behaviour of the bovine hydroxyapatite-diopside bio-nanocomposite coating,” *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 60, p. 538–546, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.10.004>.

- [13] S. v Dorozhkin, "Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO<sub>4</sub>) bioceramics and their biomedical applications," *Ceramics International*, 42, 6, p. 6529–6554, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.01.062>.
- [14] M. Bohner, "Resorbable biomaterials as bone graft substitutes," *Materials Today*, 13, 1, p. 24–30, 2010, doi: [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(10\)70014-6](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(10)70014-6).
- [15] B. Bourgeois *et al.*, "Calcium-deficient apatite: A first in vivo study concerning bone ingrowth," *Journal of Biomedical Materials Research - A*, 65, 3, p. 402–408, 2003, doi: 10.1002/jbm.a.10518.
- [16] D.-M. Liu, T. Troczynski, W. J. Tseng, "Water-based sol–gel synthesis of hydroxyapatite: process development," *Biomaterials*, 22, 13, p. 1721–1730, 2001, doi: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00332-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00332-X).
- [17] I. Grigoraviciute-Puroniene, Y. Tanaka, V. Vegelyte, Y. Nishimoto, K. Ishikawa, A. Kareiva, "A novel synthetic approach to low-crystallinity calcium deficient hydroxyapatite," *Ceramics International*, 45, 12, p. 15620–15623, 2019, doi: 10.1016/j.ceramint.2019.05.072.
- [18] K. Ishikawa, "Bone substitute fabrication based on dissolution-precipitation reactions," *Materials*, 3, 2, p. 1138–1155, 2010, doi: 10.3390/ma3021138.
- [19] M. H. Fathi, A. Hanifi, V. Mortazavi, "Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder," *Journal of Materials Processing Technology*, 202, 1, p. 536–542, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2007.10.004>.
- [20] T. Matsumoto, K. Tamine, R. Kagawa, Y. Hamada, M. Okazaki, J. Takahashi, "Different Behavior of Implanted Hydroxyapatite Depending on Morphology, Size and Crystallinity," *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 114, 1333, p. 760–762, 2006, doi: 10.2109/jcersj.114.760.
- [21] H. Nagai *et al.*, "Effect of low crystalline carbonate apatite on proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow cells," *Journal of materials science. Materials in medicine*, 26, p. 5431, 2015, doi: 10.1007/s10856-015-5431-5.
- [22] D. Stošić *et al.*, "Glycerol dehydration over calcium phosphate catalysts: Effect of acidic-basic features on catalytic performance," *Applied Catalysis A: General*, 447–448, p. 124–134, 2012, doi: 10.1016/j.apcata.2012.09.029.
- [23] J. C. Elliott, *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*. Oxford, Elsevier Science & Technology, 1994.
- [24] S. v. Dorozhkin, "Les orthophosphates de calcium (CaPO<sub>4</sub>): occurrence et propriétés," *Morphologie*, 101, 334. Elsevier Masson SAS, p. 125–142, 2017, doi: 10.1016/j.morpho.2017.03.007.

- [25] R. M. Wilson, J. C. Elliott, S. E. P. Dowker, L. M. Rodriguez-Lorenzo, "Rietveld refinements and spectroscopic studies of the structure of Ca-deficient apatite," *Biomaterials*, 26, 11, p. 1317–1327, 2005, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.04.038>.
- [26] D. Zahn O. Hochrein, "On the composition and atomic arrangement of calcium-deficient hydroxyapatite: An ab-initio analysis," *Journal of Solid State Chemistry*, 181, 8, p. 1712–1716, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2008.03.035>.
- [27] S. v. Dorozhkin, "Calcium orthophosphates (CaPO<sub>4</sub>): occurrence and properties," *Progress in Biomaterials*, 5, 1, p. 9–70, 2016, doi: 10.1007/s40204-015-0045-z.
- [28] M. Bohner, "Physical and chemical aspects of calcium phosphates used in spinal surgery," *European Spine Journal*, 10, 2, 2001, doi: 10.1007/s005860100276.
- [29] N. Eliaz N. Metoki, "Calcium phosphate bioceramics: A review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications," *Materials*, 10, 4, 2017, doi: 10.3390/ma10040334.
- [30] Biomet Deutschland GmbH, „Bone Substitute Materials.“ Overview, p. 1–16.
- [31] K. L. Low, S. H. Tan, S. H. S. Zein, J. A. Roether, V. Mouriño, A. R. Boccaccini, "Calcium phosphate-based composites as injectable bone substitute materials," *Journal of Biomedical Materials Research - B Applied Biomaterials*, 94, 1. p. 273–286, 2010, doi: 10.1002/jbm.b.31619.
- [32] S. v Dorozhkin, "Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO<sub>4</sub>) bioceramics and their biomedical applications," *Ceramics International*, 42, 6, p. 6529–6554, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.01.062>.
- [33] M. Vallet-Regí J. M. González-Calbet, "Calcium phosphates as substitution of bone tissues," *Progress in Solid State Chemistry*, 32, 1, p. 1–31, 2004, doi: <https://doi.org/10.1016/j.progsolidstchem.2004.07.001>.
- [34] S. v. Dorozhkin, "Amorphous calcium (ortho)phosphates," *Acta Biomaterialia*, 6, 12. p. 4457–4475, 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2010.06.031.
- [35] I. Cacciotti, "Cationic and anionic substitutions in hydroxyapatite," in *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*, Springer International Publishing, 2016, p. 145–211.
- [36] J. L. Meyer, Lattice defects in nonstoichiometric calcium hydroxylapatites. A chemical approach, *Inorg. Chem*, 21, p. 3029–3035, 1982.
- [37] E. Mavropoulos, A. M. Rossi, N. C. C. da Rocha, G. A. Soares, J. C. Moreira, G. T. Moure, "Dissolution of calcium-deficient hydroxyapatite synthesized at different conditions," in *Materials Characterization*, 2003, 50, 2–3, p. 203–207, doi: 10.1016/S1044-5803(03)00093-7.

- [38] F. Abida *et al.*, “Tricalcium phosphate powder: Preparation, characterization and compaction abilities,” *Mediterranean Journal of Chemistry*, 6, 3, p. 71–76, 2017, doi: 10.13171/mjc63/01702031740-abida.
- [39] Ducheyne, *Metal and Ceramic Biomaterials : Volume I: Structure*. Milton, CRC Press LLC, 1984.
- [40] E. I. Dorozhkina, S. v. Dorozhkin, “Mechanism of the solid-state transformation of a calcium-deficient hydroxyapatite (CDHA) into biphasic calcium phosphate (BCP) at elevated temperatures,” *Chemistry of Materials*, 14, 10, p. 4267–4272, 2002, doi: 10.1021/cm0203060.
- [41] S.-C. Liou, S.-Y. Chen, H.-Y. Lee, J.-S. Bow, “Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders,” *Biomaterials*, 25, 2, p. 189–196, 2004, doi: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00479-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00479-4).
- [42] S. v. Dorozhkin, “Calcium orthophosphates in dentistry,” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24, 6, p. 1335–1363, 2013, doi: 10.1007/s10856-013-4898-1.
- [43] B. D. Ratner, “Society for Biomaterials 1992 Presidential Address New ideas in biomaterials science-a path to engineered biomaterials THE PROBLEM AND PREMISE.”
- [44] M. Vallet-Regí, “Ceramics for medical applications,” *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 2, p. 97–108, 2001, doi: 10.1039/b007852m.
- [45] L. Li *et al.*, “Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks,” *Journal of Materials Chemistry*, 18, 34, p. 4079–4084, 2008, doi: 10.1039/b806090h.
- [46] D. S. Gomes, A. M. C. Santos, G. A. Neves, R. R. Menezes, “A brief review on hydroxyapatite production and use in biomedicine,” *Ceramica*, 65, 374. Associacao Brasileira de Ceramica, p. 282–302, 2019, doi: 10.1590/0366-69132019653742706.
- [47] S. Sánchez-Salcedo, M. Vila, I. Izquierdo-Barba, M. Cicuéndez, M. Vallet-Regí, “Biopolymer-coated hydroxyapatite foams: A new antidote for heavy metal intoxication,” *Journal of Materials Chemistry*, 20, 33, p. 6956–6961, 2010, doi: 10.1039/c0jm01260b.
- [48] A. Anwer, M. Kazmi, Z. A. Khan, K. Shahzad, S. Hussain, “Synthesis and characterization of calcium deficient hydroxyapatite nanocrystals 1 2 3 4.”
- [49] V. T. Le, D. van Dat, P. C. Nguyen, M. A. Trubitsyn, “Synthesis of Calcium-Deficient Carbonated Hydroxyapatite as Promising Sorbent for Removal of Lead Ions,” *Journal of Nano Research*, 45, p. 124–133, 2017, doi: 10.4028/www.scientific.net/JNanoR.45.124.
- [50] Y. Sekine *et al.*, “Calcium-deficient hydroxyapatite as a potential sorbent for strontium,” *Scientific Reports*, 7, 1, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-02269-z.
- [51] A. Siddharthan, S. K. Seshadri, T. S. Sampath Kumar, “Rapid Synthesis of Calcium Deficient Hydroxyapatite Nanoparticles by Microwave Irradiation,” 2005.

- [52] T. Tsuchida, T. Yoshioka, S. Sakuma, T. Takeguchi, W. Ueda, "Synthesis of biogasoline from ethanol over hydroxyapatite catalyst," *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 47, 5, p. 1443–1452, 2008, doi: 10.1021/ie0711731.
- [53] L. J. Cummings, "CHT™ Ceramic Hydroxyapatite Instruction Manual." U.S. patent, p. 1–14.
- [54] D. Stošić *et al.*, "Glycerol dehydration over calcium phosphate catalysts: Effect of acidic-basic features on catalytic performance," *Applied Catalysis A: General*, 447–448, p. 124–134, 2012, doi: 10.1016/j.apcata.2012.09.029.
- [55] K. Ioku *et al.*, "Porous granules of  $\beta$ -tricalcium phosphate composed of rod-shaped particles," in *Key Engineering Materials*, 2006, 309-311 II, p. 1059–1062, doi: 10.4028/www.scientific.net/kem.309-311.1059.
- [56] E. Cuzmar, R. A. Perez, M. C. Manzanares, M. P. Ginebra, J. Franch, "In vivo osteogenic potential of biomimetic hydroxyapatite/collagen microspheres: Comparison with injectable cement pastes," 10, 7, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0131188.
- [57] K. Ishikawa, "Bone substitute fabrication based on dissolution-precipitation reactions," *Materials*, 3, 2, p. 1138–1155, 2010, doi: 10.3390/ma3021138.
- [58] J. B. R. Trigos, Y. Jiménez-Flores, V. Suárez, M. Suárez-Quezada, U. Nogal, "Sol-Gel Synthesis of Calcium-Deficient Hydroxyapatite: Influence of the pH Behavior during Synthesis on the Structural, Chemical Composition and Physical Properties," in *Powder Technology*, InTech, 2018.
- [59] Z. Zyman, A. Goncharenko, D. Rokhmistrov, M. Epple, "Nanocrystalline calcium-deficient hydroxyapatite prepared by a microwave-assisted solvent-free reaction," *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, 42, 2, p. 154–157, 2011, doi: 10.1002/mawe.201100749.
- [60] G. Amador *et al.*, "In vivo assessment of the antimicrobial activity of a calcium-deficient apatite vancomycin drug delivery system in a methicillin-resistant staphylococcus aureus rabbit osteomyelitis experimental model," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, 2, p. 950–952, 2010, doi: 10.1128/AAC.00434-09.
- [61] L. Obadia, G. Amador, G. Daculsi, J.-M. Bouler, "Calcium-deficient apatite: influence of granule size and consolidation mode on release and in vitro activity of vancomycin," *Biomaterials*, 24, 7, p. 1265–1270, 2003, doi: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00446-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00446-5).
- [62] M. Mir *et al.*, "Synthesis and characterization of calcium deficient apatite granules for drug eluting bone graft applications," *Ceramics International*, 40, 7 p. 10719–10725, 2014, doi: 10.1016/j.ceramint.2014.03.059.



- [63] S. C. Liou, S. Y. Chen, H. Y. Lee, J. S. Bow, “Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders,” *Biomaterials*, 25, 2, p. 189–196, 2004, doi: 10.1016/S0142-9612(03)00479-4.
- [64] S. Dorozhkin, “Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations,” *Journal of Functional Biomaterials*, 4, 4, p. 209–311, 2013, doi: 10.3390/jfb4040209.
- [65] K. Ishikawa, “Bone substitute fabrication based on dissolution-precipitation reactions,” *Materials*, 3, 2, p. 1138–1155, 2010, doi: 10.3390/ma3021138.
- [66] K. Ioku, G. Kawachi, N. Yamasaki, M. Toda, H. Fujimori, S. Goto, “Hydrothermal preparation of porous hydroxyapatite with tailored crystal surface,” in *Key Engineering Materials*, 2005, 288–289, p. 521–524, doi: 10.4028/www.scientific.net/kem.288-289.521.
- [67] J. B. R. Trigos, Y. Jiménez-Flores, V. Suárez, M. Suárez-Quezada, U. Nogal, “Sol-Gel Synthesis of Calcium-Deficient Hydroxyapatite: Influence of the pH Behavior during Synthesis on the Structural, Chemical Composition and Physical Properties,” in *Powder Technology*, InTech, 2018.
- [68] R. Jenkins, R. Snyder, *Introduction to X-Ray Powder Diffractometry*. Somerset, John Wiley & Sons, 1996.
- [69] H. Zhang, M. Zhang, “Characterization and thermal behavior of calcium deficient hydroxyapatite whiskers with various Ca/P ratios,” *Materials Chemistry and Physics*, 126, 3, p. 642–648, 2011, doi: 10.1016/j.matchemphys.2010.12.067.
- [70] J. A. Rincón-López *et al.*, “Preferred Growth Orientation of Apatite Crystals on Biological Hydroxyapatite Enriched with Bioactive Glass: A Biomimetic Behavior,” *Crystal Growth and Design*, 19, 9, p. 5005–5018, 2019, doi: 10.1021/acs.cgd.9b00268.
- [71] R. Sun, K. Chen, Z. Liao, N. Meng, “Controlled synthesis and thermal stability of hydroxyapatite hierarchical microstructures,” *Materials Research Bulletin*, 48, 3, p. 1143–1147, 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2012.12.013>.
- [72] R. Emadi, S. I. Roohani Esfahani, F. Tavangarian, “A novel, low temperature method for the preparation of  $\beta$ -TCP/HAP biphasic nanostructured ceramic scaffold from natural cancellous bone,” *Materials Letters*, 64, 8, p. 993–996, 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.01.085>.
- [73] I. Grigoraviciute-Puroniene *et al.*, “A novel wet polymeric precipitation synthesis method for monophasic  $\beta$ -TCP,” *Advanced Powder Technology*, 28, 9, p. 2325–2331, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.appt.2017.06.014>.
- [74] M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, A. Hoshikawa, “Crystal structure analysis of  $\beta$ -tricalcium phosphate  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  by neutron powder diffraction,” *Journal of Solid State Chemistry*, 175, 2, p. 272–277, 2003, doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-4596\(03\)00279-2](https://doi.org/10.1016/S0022-4596(03)00279-2).

- [75] W. I. Abdel-Fattah, F. M. Reicha, T. A. Elkhooly, “Nano-beta-tricalcium phosphates synthesis and biodegradation: 1. Effect of microwave and  $\text{SO}_4^{2-}$  ions on  $\beta$ -TCP synthesis and its characterization,” *Biomedical Materials*, 3, 3, 2008, doi: 10.1088/1748-6041/3/3/034121.
- [76] L. Sinusaite, I. Grigoraviciute-Puroniene, A. Popov, K. Ishikawa, A. Kareiva, A. Zarkov, “Controllable synthesis of tricalcium phosphate (TCP) polymorphs by wet precipitation: Effect of washing procedure,” *Ceramics International*, 45, 9, p. 12423–12428, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.03.174>.
- [77] E. Garskaite, K. A. Gross, S. W. Yang, T. C. K. Yang, J. C. Yang, A. Kareiva, “Effect of processing conditions on the crystallinity and structure of carbonated calcium hydroxyapatite (CHAp),” *CrystEngComm*, 16, 19, p. 3950–3959, 2014, doi: 10.1039/c4ce00119b.
- [78] C. J. S. Ibsen, D. Chernyshov, H. Birkedal, “Apatite Formation from Amorphous Calcium Phosphate and Mixed Amorphous Calcium Phosphate/Amorphous Calcium Carbonate,” *Chemistry - A European Journal*, 22, 35, p. 12347–12357, 2016, doi: 10.1002/chem.201601280.
- [79] L. Sinusaite *et al.*, “Effect of Mn doping on the low-temperature synthesis of tricalcium phosphate (TCP) polymorphs,” *Journal of the European Ceramic Society*, 39, 10, p. 3257–3263, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.03.057>.
- [80] X. Li, Y. Deng, M. Wang, X. Chen, Y. Xiao, X. Zhang, “Stabilization of Ca-deficient hydroxyapatite in biphasic calcium phosphate ceramics by adding alginate to enhance their biological performances,” *Journal of Materials Chemistry B*, 6, 1, p. 84–97, 2017, doi: 10.1039/c7tb02620j.
- [81] R. Lowmunkong, T. Sohmura, Y. Suzuki, S. Matsuya, K. Ishikawa, “Fabrication of freeform bone-filling calcium phosphate ceramics by gypsum 3D printing method,” *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 90 B, 2, p. 531–539, 2009, doi: 10.1002/jbm.b.31314.
- [82] A. Tsuchiya, M. Sato, I. Takahashi, K. Ishikawa, “Fabrication of apatite-coated gypsum granules and histological evaluation using rabbits,” *Ceramics International*, 44, 16, p. 20330–20336, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.08.021>.
- [83] S. v. Dorozhkin, “Calcium orthophosphate ( $\text{CaPO}_4$ ) – based bone-graft substitutes and the special roles of octacalcium phosphate materials,” in *Octacalcium Phosphate Biomaterials*, Elsevier, 2020, p. 213–288.

**SANTRAUKA**  
**VILNIAUS UNIVERSITETAS**  
**CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS**

VISATA VĖGELYTĖ

**Kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių sintezė ir apibūdinimas**

Sintetinis kalcio deficitinis hidroksiapatitas (sutrumpintai CDHA, cheminė formulė  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ ) yra perspektyvi bei plačiai panaudojama medžiaga šiuolaikinėje biomedicinoje. Šio darbo tikslas – sukurti paprastą ir taupų sintezės metodą žemo kristališkumo CDHA granulių gamybai. Šiam tikslui įgyvendinti buvo panaudotas tirpinimo-nusodinimo reakcijų metodas. Pradine medžiaga produkto sintezei pasirinktas kalcio sulfato hemihidratas. Buvo susintetintos trijų skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granulės. Sintezės metu  $70\text{ }^\circ\text{C}$  temperatūroje gautos  $\sim 300\text{--}350\text{ }\mu\text{m}$  granulės, nepriklausomai nuo pradinių granulių sudėties, buvo sudarytos iš žemo kristališkumo kalcio deficitinio hidroksiapatito. Sintezės produktai tirti terminės analizės (TG/DTG), infraraudonosios spektroskopijos (FTIR), rentgeno spindulių difrakcinės analizės (XRD) bei skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) metodais.

CDHA granulėse XRD tyrimo metu nebuvo identifikuotos pašalinės kristalinės fazės, o tai patvirtina, kad pirmtako granulės tirpinimo-nusodinimo sintezės metu pavirto į CDHA. Išplatėjusios difrakcijos smailės patvirtina prielaidą, kad susintetintos granulės yra žemo kristališkumo laipsnio nanjunginys. FTIR duomenys papildė XRD rezultatus, tiriamų medžiagų IR spektruose matomos  $\text{OH}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  bei  $\text{PO}_4^{3-}$  funkcinėms grupėms būdingos virpesių juostos. SEM nuotraukose matoma, kad susintetintos CDHA granulės pasižymi skirtingomis morfologinėmis ypatybėmis, priklausomai nuo pradinės granulių sudėties.

**SUMMARY**  
**VILNIUS UNIVERSITY**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES**

VISATA VĖGELYTĖ

**Synthesis and characterization of calcium deficient hydroxyapatite granules**

Synthetic calcium deficient hydroxyapatite (CDHA, with the formula  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ ) is a promising material which could be potentially used in biomedicine. The aim of this study was to develop a simple and cost-effective synthesis route for the preparation of low crystalline CDHA granules. A method based on an incessant dissolution-precipitation reaction eventually resulting in a solid and shaped material consisting of the desired phase was utilized. Calcium sulphate hemihydrate was selected as the starting material. The obtained synthesis products were characterized by thermal analysis (TG/DTG), Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction analysis (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). The monophasic calcium deficient hydroxyapatite granules of about 300–350  $\mu\text{m}$  in diameter were synthesized by three slightly different preparative approaches at 70 °C temperature and compared. Independently of the composition of the raw granules, synthesized ones were composed of low crystalline apatitic phase. The granules were calcium deficient as contained  $\text{HPO}_4^{2-}$  group in their structure. It was demonstrated that the addition of  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$  or  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  into the raw granules could promote the growth of the CDHA crystallites. SEM revealed that the microstructure of synthesized materials was influenced by the chemical composition of the raw granules. Chemical composition and presence of an X-ray amorphous phase in obtained samples was confirmed by reheating the obtained granules at 800 °C to get monophasic  $\beta$ -TCP. Our work provides a novel and simple approach to produce CDHA granules for various applications.

## EGZISTUOJANTYS KALCIO ORTOFOSFATAI IR JŲ PAGRINDINĖS SAVYBĖS [83]

Ca/P molinis santykis	Junginys	Formulė	Tirpumas 25 °C temp, - log(K <sub>s</sub> )	Tirpumas 25 °C temp, g/L	pH stabilumo intervalas vandeniniame tirpale 25 °C temp.
0,5	Kalcio-divandenilio bis(tetraoksofosfatas) monohidratas (MCPM)	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	1,14	~ 18	0,0–2,0
0,5	Kalcio-divandenilio bis(tetraoksofosfatas) (MCPA arba MCP)	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,14	~ 17	[c]
1,0	Kalcio-vandenilio tetraoksofosfatas dihidratas (DCPD)	CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	6,59	~ 0,088	2,0–6,0
1,0	Kalcio- vandenilio tetraoksofosfatas (DCPA or DCP)	CaHPO <sub>4</sub>	6,90	~ 0,048	[c]
1,33	Oktakalcio tetraoksofosfatas-vandenilio tetraokso-fosfatas pentahidratas (OCP)	Ca <sub>8</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	96,6	~ 0,0081	5,5–7,0
1,5	α-Trikalcio tetraoksofo-sfatas (α-TCP)	α-Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	25,5	~ 0,0025	[a]
1,5	β- Trikalcio tetraoksofosfatas (β-TCP)	β-Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	28,9	~ 0,0005	[a]
1,2–2,2	Amorfinis kalcio fosfatas (ACP)	Ca <sub>x</sub> H <sub>y</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>z</sub> ·nH <sub>2</sub> O, n = 3–4,5; 15–20% H <sub>2</sub> O	[b]	[b]	~ 5–12 [d]
1,5–1,67	Kalcio deficitinis hidroksiapatitas (CDHA) [e]	Ca <sub>10-x</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (OH) <sub>2-x</sub> (0<x<1)	~ 85	~ 0,0094	6,5–9,5
1,67	Hidroksiapatitas (HA, HAp or OHAp)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	116,8	~ 0,0003	4,2–12
1,67	Fluorapatitas (FA arba FAp)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	120,0	~ 0,0002	7–12
1,67	Oksoapatitas (OA, OAp arba OXA) [f]	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> O	~ 69	~ 0,087	[a]
2,0	Tetrakalcio fosfatas (TTCP arba TetCP)	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	38–44	~ 0,0007	[a]

[a] Šie junginiai negali būti paruošti iš vandeninių tirpalų, [b] Negali būti išmatuoti tiksliai, nors tam tikros reikšmės yra žinomos: 25,7±0,1 (pH = 7,40), 29,9±0,1 (pH = 6,00), 32,7±0,1 (pH = 5,28), [c] Stabilūs iki 100°C temperatūros, [d] Visada metastabilūs, [e] Kartais vadinamas „nusodinamuoju HA (PHA)“, [f] OA egzistavimas yra abejotinas.