

Univerzitet u Beogradu
Rudarsko-geološki fakultet

Ljiljana M. Veselinović

RENDGENSKA ANALIZA NANOSTRUKTURNIH
PRAHOVA KALCIJUM FOSFATA DOBIJENIH NOVIM
POSTUPCIMA SINTEZE

Magistarski rad

Beograd, 2010.

SADRŽAJ

IZVOD	1
ABSTRACT	2
1 UVOD	3
2 TEORIJSKI DEO	6
2.1 Struktura i karakteristike apatita i drugih kalcijum-fosfata	7
2.1.1 Kalcijum-fosfati sa apatitskim tipom strukture	8
2.1.1.1 Hidroksiapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, (HAp)	11
2.1.1.2 Fluorapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, (FAP)	12
2.1.1.3 Hlorapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$, (ClAp)	12
2.1.2 Kalcijum-fosfati sa strukturom sličnom apatitskoj	13
2.1.2.1 Oktakalcijum-bis(hidrogenfosfat)-tetrakis(fosfat)-pentahidrat, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, (OCP)	13
2.1.2.2 Tetrakalcijum-bis(fosfat)-oksid, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, (TTCP)	15
2.1.3 Jedinjenja koja sadrže Ca- PO_4 slojeve	16
2.1.3.1 Kalcijum-dihidrogenfosfat hidrat, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, (MCPM)	17
2.1.3.2 Kalcijum-dihidrogenfosfat, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, (MCPA)	18
2.1.3.3 Kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat (brušit), $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (DCPD)	19
2.1.3.4 Kalcijum-hidrogenfosfat (monetit), CaHPO_4 , (DCPA)	20
2.1.4 Kalcijum-fosfati sa glaseritskim tipom strukture	21
2.1.4.1 Trikalcijum-bis(fosfat), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, (TCP)	22
2.1.5 Amorfni kalcijum-fosfat, (ACP)	25
2.2 Supstituisani hidroksiapatit	25
2.3 Bifazni kalcijum-fosfat (BCP)	29
2.4 Rendgenska difrakciona analiza polikristalnog materijala	30

2.5 Ritveldova analiza.....	33
2.6 Mikrostrukturalna analiza Ritveldovom metodom.....	36
3 CILJ RADA.....	39
4 EKSPERIMENTALNI DEO.....	41
4.1 Postupci dobijanja nanostrukturnih prahova.....	42
4.1.1 Hidrotermalna sinteza.....	42
4.1.2 Sinteza precipitacionom metodom.....	43
4.1.2.1 Kalcinacija uzoraka.....	43
4.1.3 Dobijanje kompozitnih biomaterijala CP/(PLGA).....	43
4.2 Karakterizacija.....	44
4.2.1 Indukovano spregnuta plazma (ICP).....	44
4.2.2 Određivanje raspodele veličina čestica.....	44
4.2.3 Metode elektronske mikroskopije.....	44
4.2.3.1 Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM).....	44
4.2.3.2 Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM i HRTEM).....	45
4.2.4 Rendgenska difrakciona analiza na polikristalnom materijalu.....	45
4.2.5 Raman spektroskopija.....	46
5 REZULTATI I DISKUSIJA.....	47
5.1 Hidrotermalno sintetisani hidroksiapatiti dopirani kobaltom.....	48
5.1.1 Hemijski sastav.....	48
5.1.2 Raspodela veličina čestica.....	49
5.1.3 Mikroskopska ispitivanja.....	51
5.1.3.1 Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM).....	51
5.1.3.2 Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM i HRTEM).....	53
5.1.4 Fazni sastav.....	57
5.1.5 Ritveldova analiza i mikrostrukturni parametri.....	59
5.1.6 Spektroskopska ispitivanja.....	69

5.1.6.1 Raman spektroskopija.....	69
5.2 Uticaj temperature kalcinacije na fazni sastav i mikrostrukturne parametre hidroksiapatita sintetisanog metodom precipitacije.....	72
5.2.1 Fazni sastav.....	72
5.2.2 Ritveldova analiza i mikrostrukturni parametri.....	75
5.3 Nanokompozitni biomaterijali CP/polilaktid-ko-glikolid (PLGA).....	77
6 ZAKLJUČAK.....	80
7 LITERATURA.....	84

Mentor:

dr Ljiljana Karanović, redovni profesor Rudarsko-geološkog fakulteta,
Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

dr Aleksandar Kremenović,
vanredni profesor Rudarsko-geološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

dr Dragan Usković,
naučni savetnik Instituta tehničkih nauka SANU, Beograd

Datum odbrane:

Ova magistarska teza predstavlja rezultat dugogodišnjeg eksperimentalnog i teorijskog rada koji se neguje i razvija u okviru grupe za nove materijale i nanotehnologije Instituta tehničkih nauka Srpske akademije nauka i umetnosti. Rezultati su ostvareni kroz projekat 142006 pod nazivom „Sinteza funkcionalnih materijala sa kontrolisanom strukturom na molekularnom i nano nivou“ Ministarstva nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, kojim rukovodi prof. dr Dragan Uskoković. Profesoru Uskokoviću se najiskrenije zahvaljujem na ukazanom poverenju i odabranoj temi, a posebno na strpljenju i razumevanju koje je pokazao tokom izrade ovog rada.

Magistarska teza realizovana je pri Katedri za kristalografiju Rudarsko-geološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu pod rukovodstvom dr Ljiljane Karanović, redovnog profesora Rudarsko-geološkog fakulteta. Profesorki Karanović zahvaljujem se pre svega što je prihvatila da bude mentor ovog magistarskog rada. Njena stručna pomoć, sugestije i znanje koje mi je prenela dragoceni su za mene kao istraživača i od velikog značaja su za moj budući rad i usavršavanje.

Zahvaljujem se i prof. dr Aleksandru Kremenoviću na korisnim sugestijama vezanim pre svega za probleme mikrostrukturne analize.

Posebno se zahvaljujem dr Smilji Marković na konstruktivnim sugestijama i komentarima kao i na spremnosti da sasluša, saučestvuje i pomogne.

Dr Branki Hadžić zahvaljujem se na rezultatima Ramanske spektroskopije.

Za urađenu ICP analizu zahvaljujem se Dr Milovanu Stoilkoviću.

Dr Vladimiru Pavloviću zahvaljujem se na SEM analizi.

Zahvaljujem se dr Lidiji Mančić i Ines Bračko na urađenim TEM analizama i pomoći prilikom tumačenja ovih rezultata.

Dr Miodragu Mitriću zahvaljujem se na pomoći i korisnim savetima vezanim za rendgensku difrakcionu analizu i strukturno utačnjavanje.

Kristalni prahovi analizirani u ovom radu sintetisani su u laboratoriji Instituta tehničkih nauka Srpske akademije nauka i umetnosti na čemu sam posebno zahvalna kolegama dr Nenadu Ignjatoviću i mr Zoranu Stojanoviću.

Posebno mi je zadovoljstvo da se zahvalim svojim kolegamicama i kolegama iz grupe na pomoći, podršci i kolegijalnosti.

Na kraju, zahvaljujem se svojoj porodici na ogromnoj podršci i razumevanju.

RENDGENSKA ANALIZA NANOSTRUKTURNIH PRAHOVA KALCIJUM FOSFATA DOBIJENIH NOVIM POSTUPCIMA SINTEZE

Izvod

Strukturne, mikrostrukturne i morfološke promene kalcijum-fosfatnih kristalnih prahova, sintetisanih hidrotermalnim i precipitacionim postupkom, proučavane su metodom rendgenske difrakcione analize i Ritveldovog strukturnog utičnjavanja. Hidrotermalnim procesiranjem sintetisani su hidroksiapatiti (HAp) sa različitim sadržajem Co^{2+} jona u kristalnoj strukturi ($\text{Ca}_{10-x}\text{Co}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $x \sim 0,0-0,12$). Tokom sinteze CoHAp, sadržaj reagensa podešen je tako da se dobiju prahovi u kojima će Co^{2+} joni menjati Ca^{2+} jone sa 0, 5, 10, 15 i 20 at. %. Međutim, rezultati Ritveldovog utičnjavanja pokazuju da je sadržaj Co^{2+} jona, koji zamenjuju Ca^{2+} jone u strukturi HAp-a u oba kristalografska položaja (*M1* i *M2*) 0; 2,6; 7,3; 7,4 i 8,2 at.%, što se u okviru eksperimentalnih grešaka slaže sa rezultatima ICP analize (0; 4,3; 9,5; 11,7 i 11,5 at.%). ICP analiza pokazuje da je pri primenjenim uslovima hidrotermalnog procesiranja, maksimalni sadržaj jona Co^{2+} ugrađenih u strukturu hidroksiapatita oko 12 at.%. Izračunate vrednosti okupacionih faktora pokazuju da se joni kobalta lakše smeštaju u kristalografski položaj *M2*, nego *M1* što može da bude posledica veće elektronegativnosti i sklonosti ka građenju kovalentnih veza jona kobalta. Vrednosti jediničnih zapremina i parametara jediničnih ćelija *a* i *c* opadaju sa povećanjem sadržaja kobalta u kristalnoj strukturi CoHAp-a. Mikrostrukturna analiza pokazuje da srednje vrednosti veličina kristalita opadaju sa porastom sadržaja kobalta od 40,3 nm za čist hidroksiapatit do 13,5 nm za uzorak sa najvećim sadržajem kobalta, što je posledica ulaska katjona sa manjim radijusom u strukturu HAp-a. Povećanje procenta zamene kalcijuma kobaltom u strukturi, prouzrokuje opadanje anizotropije rasta kristalita, a samim tim i promenu morfologije. Morfologija kristalita se menja od štapićastih ka kapljičastim formama.

Kristalni prah kalcijum-fosfata sintetisan metodom precipitacije, kalcinisan je na 200, 400, 600, 700, 800, 900 i 1100 °C. Sa porastom temperature opada nivo bazne linije, a intenziteti refleksija rastu, što ukazuje na porast srednje veličine kristalita i uredenje kristalne strukture. Na temperaturi od 800 °C primećuje se fazna transformacija hidroksiapatita u β -trikalcijum-fosfat. Dva krajnja člana ispitivane serije (prah koji nije termički tretiran i prah kalcinisan na 1100 °C), oblagani su bioresorbilnim polimerom, polilaktid-ko-glikolidom (PLGA), čime je dobijen kompozitni biomaterijal. Rezultati rendgenske difrakcione analize i Ritveldovog utičnjavanja pokazali su da amorfni polimer, kojim su obložene čestice kalcijum-fosfata, nema uticaja na strukturne, mikrostrukturne, niti morfološke karakteristike kristalne faze.

Rezultati rendgenske difrakcione analize potvrđeni su Ramanskom spektroskopijom, ICP analizom, raspodelom veličina čestica, SEM, TEM i HRTEM mikroskopijom.

X-RAY ANALYSIS OF NANOSTRUCTURAL CALCIUM PHOSPHATE POWDERS OBTAINED BY NEW SYNTHESIS PROCEDURES

Abstract

Structural, microstructural and morphological transformation of the calciumphosphate crystal powders synthesized by hydrothermal and precipitation methods, were analyzed by X-ray diffraction technique and Rietveld refinement procedure. Hydroxyapatites (HAp) with different cobalt amount in the crystal structures $(Ca_{10-x}Co_x(PO_4)_6(OH)_2, x \sim 0,0-0,12)$ were synthesized by hydrothermal processing. During the preparation of CoHAp, the amount of reagents was adjusted to obtain powders in which cobalt would substitute calcium in 5, 10, 15 and 20 at.%, respectively. However, the results of Rietveld analysis showed that the content of cobalt ions incorporated in two calcium positions (*M1* and *M2*) in the HAp crystal structure was 0, 2.6, 7.3, 7.4 and 8.2 at.% which was confirmed by ICP analysis in the range of experimental errors (0, 4.3, 9.5, 11.7 and 11.5 at.%). ICP analysis indicates that, under the given conditions of hydrothermal processing, the maximal amount of incorporated cobalt ions in HAp was saturated approximately 12 at.%. The obtained data for occupancy factors clearly indicate the preference of cobalt ions for *M2* rather than *M1* site as a consequence of higher electronegativity and affinity to covalent bonding of cobalt ions. The values of unit cell volume and unit cell parameters *a* and *c* decrease with increases of cobalt amount. Microstructural analysis showed significant decrease of average crystallite size, from 40.3 nm for pure HAp to 13.5 nm for powder with maximum cobalt amount in the structure. The anisotropy of crystallites decreases with the increase of cobalt content in the CoHAp powder samples. That affects crystallite morphology transformation from rod-like for pure HAp to flake-like for the samples with highest degree of substitution.

The crystal powder of HAp synthesized by precipitation method was calcined at 200, 400, 600, 700, 800, 900 and 1100 °C. Increase of temperature causes decrease of background and increase of intensities of diffraction maxima, due to increase of both average crystallite size and crystallinity. Phase transformation of hydroxyapatite to β -tricalcium phosphate at 800 °C was noticed. The *as prepared* powder (without thermal treatment) and crystal powder calcined at 1100 °C were coated with bioresorbable polymer, poly-lactide-co-glycolide (PLGA). Obtained composite biomaterials were analyzed by X-ray diffraction technique and Rietveld method. The results show that amorphous polymer does not influence structural, microstructural and morphological characteristics of crystalline phases.

The results of Rietveld refinement were confirmed by Raman spectroscopy, ICP analysis, particle size distribution, SEM, TEM and HRTEM microscopies.

1. Uvod

Kosti su delovi skeletnog sistema sisara koji omogućavaju pokretljivost organizma i štite unutrašnje organe. Osim mehaničke funkcije, kosti imaju veoma važnu metaboličku ulogu u organizmu kao rezervoar minerala koji omogućava absorpciju i otpuštanje jona. Biološka i strukturna funkcija kostiju zavise pre svega od njihovog hemijskog sastava i kristalne strukture [1-10].

Koštano tkivo predstavlja kompozit organske matrice i neorganske mineralne faze. Organsku matricu čini protein (kolagen), dok kalcijum-fosfatna (CP) mineralna faza čini neorganski deo kosti. Mineral iz grupe kalcijum-fosfata, koji po hemijskim, strukturnim i morfološkim karakteristikama najviše odgovara prirodnom koštanom tkivu, jeste hidroksiapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, (HAp) [11-14]. Upravo zbog toga ovo jedinjenje je, tokom proteklih decada, intenzivno ispitivano.

Tokom šezdesetih godina prošlog veka struktura hidroksiapatita detaljno je analizirana i opisana [15-18]. S obzirom na značajne mogućnosti primene ovog minerala u medicini, stomatologiji, ekologiji i zaštiti životne sredine, katalizi i drugim oblastima, mnogi autori bavili su se proučavanjem strukture hidroksiapatita sa različitim aspektata [19-20]. U poslednje vreme dosta pažnje poklanja se projektovanju materijala sa hidroksiapatitskom strukturom koji poseduju magnetna svojstva [21-24]. Wu i saradnici predstavili su svoj rad na novim biomagnetnim nanočesticama baziranim na hidroksiapatitu [24]. Ove nanočestice pokazuju superparamagnetna svojstva i dobru biokompatibilnost što su glavni preduslovi za njihovu primenu u separaciji i obeležavanju ćelija organizma za visokorezolucionu magnetnu rezonancu, kontrolisanu dostavu lekova, hipertermijske tretmane kancera i sl. [22, 23]. Delimičnom zamenom kalcijumovih jona jonima magnetnih metala (Fe, Co, Ni i dr), bez narušavanja kristalne strukture, moguće je dobiti hidroksiapatit sa magnetnim osobinama [24]. Visoka stabilnost i fleksibilnost strukture HAp-a omogućava širok spektar jonskih zamena kako katjonskih tako i anjonskih. Kako je već naglašeno kalcijum može biti zamenjen različitim dvovalentnim ili trovalentnim katjonima uključujući Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Gd^{3+} , Nd^{3+} , Al^{3+} i dr. [25-30]. U kom odnosu će doći do katjonske izmene, zavisi od karakteristika samih elemenata (polarizabilnost, elektronegativnost, radijus jona) koji potencijalno zamenjuju kalcijum, kao i od uslova sinteze [31-33]. Katjoni sa radijusom većim od jonskog radijusa Ca^{2+} , kao što su Sr^{2+} , Ba^{2+} i Pb^{2+} , pokazuju afinitet ka većem, *M2* kristalografskom položaju, dok katjoni sa manjim jonskim radijusom najčešće zauzimaju kristalografski položaj *M1* [34, 35]. Osim jonskog radijusa i

elektronegativnost ima veliki uticaj na raspodelu katjona između dva kristalografska položaja. Veća elektronegativnost uslovljava veći afinitet ka kovalentnim interakcijama i povezivanju sa hidroksidnim grupama [31, 32, 36]. Različite katjonske izmene imaju takođe veliki uticaj na strukturu HAp-a, a posebno na parametre jedinične ćelije, stepen kristaliniteta, morfologiju kristalita, itd.

U ovom radu analizirani su kalcijum-fosfati sintetisani hidrotermalnom metodom i metodom precipitacije. Primenom metode rendgenske difrakcije na polikristalnim materijalima detaljno je izučavana struktura i promene mikrostrukturnih parametara kalcijum-fosfatne sintetske keramike, uticaj dopiranja jonima kobalta kalcijum-fosfata kao i nanokompozitnih biomaterijala CP/polilaktid-ko-glikolid (PLGA) sa različitim veličinama kristalita CP-a. Ispitivan je uticaj parametara termičkog tretmana na fazni sastav i mikrostrukturne parametre. Ramanska spektroskopija, kao metoda komplementarna rendgenskoj difrakcionoj analizi, korišćena je za analizu promena u PO_4 -tetraedrima kao i uticaja katjonske izmene na strukturu. Da bi se utvrdio stepen aglomeracije, kao i priroda aglomerata ispitivanih prahova, određena je veličina čestica i njihova raspodela. Hemijski sastav hidroksiapatita, koji sadrže određeni procenat kobalta, utvrđen je korišćenjem metode atomske spektroskopije bazirane na indukovano spregnutoj plazmi (ICP analiza). Ritveldovom analizom utvrđeni su parametri jediničnih ćelija, dužine međuatomskih rastojanja i vrednosti okupacionih faktora, čime je nedvosmisleno potvrđena zamena kalcijumovih jona jonima kobalta u strukturi hidroksiapatita. Ova metoda omogućila je i detaljnu analizu veličine i morfologije kristalita ispitivanih prahova. Morfologija kao i morfološke promene kristalita potvrđene su metodama elektronske mikroskopije (SEM, TEM, HRTEM).

2. Teorijski deo

2.1 Struktura i karakteristike apatita i drugih kalcijum-fosfata

Kalcijum-fosfati predstavljaju soli fosforne kiseline H_3PO_4 , što znači da mogu graditi jedinjenja koja sadrže H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} ili PO_4^{3-} jone. Oni sa H_2PO_4^- jonima nastaju uglavnom u kiselim sredinama i zbog toga nisu uobičajena pojava u biološkim sistemima. Međutim, HPO_4^{2-} i PO_4^{3-} joni pojavljuju se u mineralima kosti i zuba kao i u različitim patološkim kalcifikacijama. Pirofosfati (soli kojima je anjon $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) i polifosfati koji sadrže P–O–P veze imaju manji biološki značaj u poređenju sa ortofosfatima (soli kojima je anjon PO_4^{3-}), mada mogu da se jave u nekim patološkim kalcifikacijama. Pirofosfati predstavljaju ozbiljnu smetnju rastu kristala CP u vodenim sistemima.

Postoji mnogo načina dobijanja kalcijum-fosfata zavisno od molarnog odnosa kalcijuma i fosfora Ca/P i uslova sredine. Tako postoje kalcijum-fosfati sa odnosom Ca/P u intervalu od 0,5 do 2 (tabela 2.1).

Apatiti su minerali opšte hemijske formule $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$, (Ca/P=1,67), gde je X najčešće F^- , Cl^- ili OH^- , a ponekad i O^{2-} jon. Zavisno od jona koriste se i nazivi: fluorapatit, hidroksiapatit, hlorapatit i dr. Među pomenutim kalcijum-fosfatima, hidroksiapatiti imaju najveću primenu pre svega u oralnoj hirurgiji i ortopediji zbog njihove velike sličnosti sa neorganskim delom prirodnog koštanog tkiva i zuba.

Svi kalcijum-fosfati su bele boje i u čvrstom stanju. Većina njih je slabo rastvorna u vodi, ali se vrlo uspešno rastvaraju u kiselinama [19]. U osnovi svi kalcijum-fosfati mogu biti klasifikovani u pet glavnih strukturnih tipova:

1. *Kalcijum-fosfati sa apatitskim tipom strukture*, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$, koji uključuje hidroksiapatit ($\text{X}=\text{OH}^-$), fluorapatit ($\text{X}=\text{F}^-$), hlorapatit ($\text{X}=\text{Cl}^-$), itd.,

2. *Kalcijum-fosfati sa strukturom sličnom apatitskoj* gde spadaju oktakalcijum-bis(hidrogenfosfat)-tetrakis(fosfat)-pentahidrat $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (OCP) i tetrakalcijum-bis(fosfat)-oksid $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ (TTCP),

3. *Jedinjenja koja sadrže Ca- PO_4 slojeve*, koja uključuju kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat (DCPD) $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kalcijum-hidrogenfosfat (DCPA)

CaHPO_4 , kalcijum-dihidrogenfosfat hidrat (MCPM) $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ i kalcijum-hidrogenfosfat (MCPA) $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$,

4. *Kalcijum-fosfati sa glaseritskim tipom strukture* obuhvataju sve polimorfne modifikacije trikalcijum-bis(fosfat)-a (TCP), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$,

5. *Amorfni kalcijum-fosfat (ACP)*, koji može biti povezan sa jednim ili više napred pomenutih strukturnih tipova.

Radi bolje preglednosti ispitivani kalcijum-fosfati prikazani su tabelarno (tabela 2.1).

Tabela 2.1. Nazivi i hemijske formule kalcijum-fosfata sa različitim molarnim odnosom Ca/P

Skraćenica	Jedinjenje	Hemijska formula	Ca/P
HAp	Hidroksiapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1,667
FAp	Fluorapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$	1,667
ClAp	Hlorapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$	1,667
OCP	Oktakalcijum-bis(hidrogenfosfat)-tetrakis(fosfat)-pentahidrat	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,333
TTCP	Tetralcijum-bis (fosfat)-oksid	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0
MCPM	Kalcijum-dihidrogenfosfat hidrat	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
MCPA	Kalcijum-dihidrogenfosfat	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5
DCPD	Kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat (brušit)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
DCPA	Kalcijum-hidrogenfosfat (monetit)	CaHPO_4	1,0
TCP	Trikalcijum-bis(fosfat)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
ACP	Amorfni kalcijum-fosfat		1,667

2.1.1 Kalcijum-fosfati sa apatitskim tipom strukture

Struktura apatita je veoma pogodna za različite jonske zamene, tako da Ca^{2+} jon može biti delimično ili potpuno zamenjen jonima Ba^{2+} , Sr^{2+} , Pb^{2+} , itd. Takođe, PO_4^{3-} grupa može biti zamenjena drugim grupama, na primer AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} , MnO_4^{3-} , CrO_4^{3-} , SiO_4^{4-} i dr. [19, 36-49]. Ova pojava omogućava formiranje različitih minerala sa apatitskom strukturom kao što su $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ (piromorfit), $\text{Pb}_5(\text{VO}_4)_3\text{Cl}$ (vanadinit), $\text{Pb}(\text{AsO}_4)_3\text{Cl}$ (mimetit) i dr. [50-52]. Česta pojava kod apatita je tzv. spregnuta supstitucija. Kod ove supstitucije jedan jon je zamenjen drugim sa istim

predznakom, ali različitim naelektrisanjem, a neutralnost je očuvana putem zamene jona suprotnog naelektrisanja ili formiranjem vakancija.

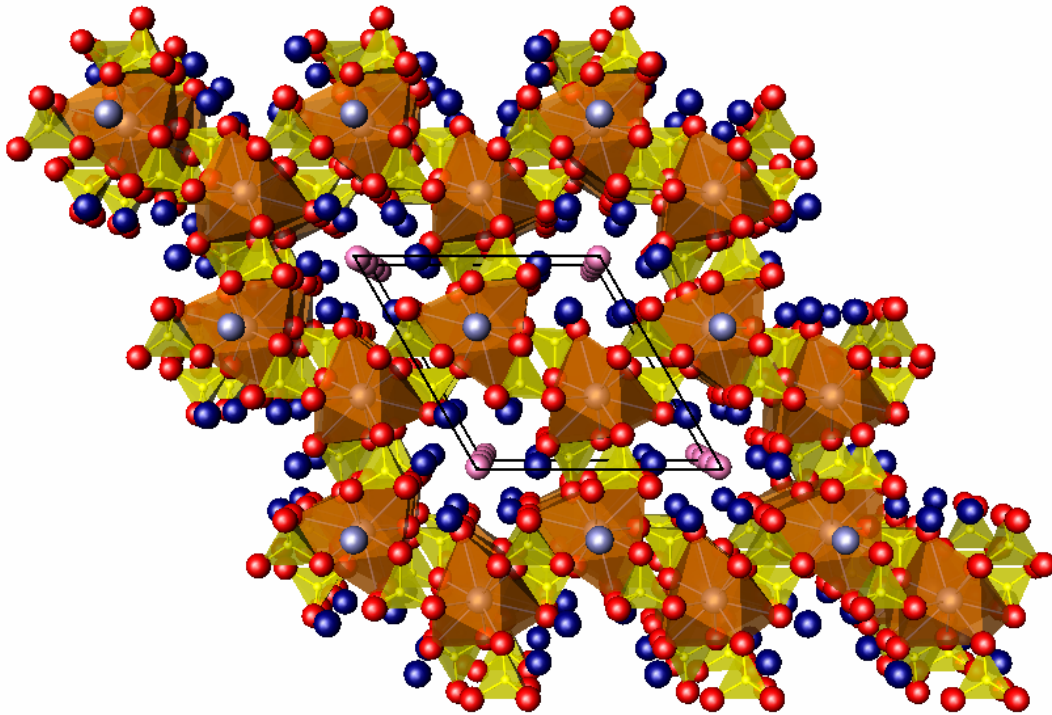
Nestehiometrija sa upražnjenim mestima u rešetci pojavljuje se kod bioloških apatita, a vrlo često i kod sintetičkih apatita bez obzira da li su sintetisani koristeći metodu precipitacije ili visokotemperaturnu metodu sinteze. Nestehiometrija se označava tako što se skraćenom obliku naziva doda prefiks *ns* (nestehiometrija) ili *s* (stehiometrija), na primer, Aps.

Karbonatapatiti, CO₃HAp, predstavljaju posebnu grupu jedinjenja. U ovu grupu spadaju minerali frankolit, dalit, kao i biološki apatiti. Mineral dalit odgovara karbonatnom hidroksiapatitu. Ovaj mineral izgrađuje zube i kosti sisara, a predstavlja i glavnu komponentu mnogih patoloških kalcifikacija [39].

Apatiti (pre svega FAp i CO₃Ap) pripadaju značajnoj grupi minerala. Oni se pojavljuju kao konstituenti mnogih magmatskih i metamorfnih stena. Slabije iskristalisale naslage promenljivog hemijskog sastava često nazivane fosfatne stene ili fosforiti, pojavljuju se u vidu velikih naslaga. Ove stene predstavljaju najveće svetske rezerve fosfora za hemijsku industriju i proizvodnju veštačkih đubriva.

Struktura apatita može da se opiše kao heksagonalna mreža PO₄ tetraedara sa kalcijumom u intersticijalnim položajima i kolonama X⁻ (OH⁻, F⁻, Cl⁻) jona orijentisanim duž kristalografske ose *c*. Vrsta i mesto koje zauzimaju ovi anjoni u rešetci određuje tip apatita (slika 2.1) [53, 54]. Na osnovu podataka dobijenih rendgenskom difrakcionom analizom utvrđeno je da osim heksagonalno (prostorne grupe $P6_3/m$, $P6_3$, $P\bar{6}$) apatiti mogu da kristališu i triklinično (prostorna grupa $P\bar{1}$), monoklinično (prostorne grupe $P2_1$, $P2_1/m$) kao i romboedarski (prostorna grupa $P\bar{3}$).

Smatra se da je monoklinična struktura nastala iz heksagonalne, dupliranjem *b* ose sa promenom uređenja anjonskih lanaca. Karakteristični parametri jedinične ćelije za različite vrste apatita prikazani su u tabeli 2.2.



Slika 2.1. Poliedarski prikaz kristalne strukture apatita normalno na kristalografsku osu c . PO_4 tetraedri su žuti, $Ca1O_9$ poliedri su svetlomrki. Crvene sfere proizvoljnog radijusa predstavljaju kiseonike, ružičaste X^- anjone u kanalima, a tamnoplave kalcijum u položaju $M2$.

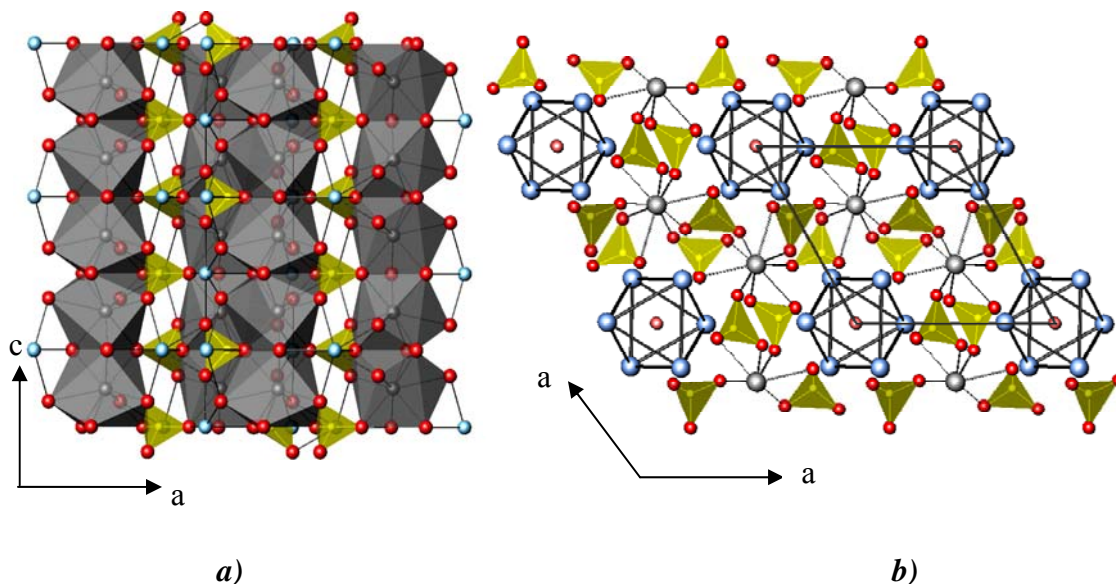
Tabela 2.2. Karakteristični parametri jediničnih ćelija nekih vrsta apatita [17].

Apatit	a (Å)	c (Å)	Gustina (g/cm ³)
FAp	9,367(1)	6,884(1)	3,202
ClAp	9,628(5)	6,764(5)	3,185
HAp	9,418(5)	6,881(1)	3,156

Vrednosti parametara jedinične ćelije mogu da zavise od načina sinteze. Jonska zamena unutar kristalne strukture može da prouzrokuje snižavanje simetrije i promenu vrednosti parametara jedinične ćelije. Kod hidroksiapatita i hlorapatita, heksagonalna struktura je najčešće povezana sa nestehiometrijom što stvara poteškoće pri sintezi stehiometrijskih apatita, a posebno zbog mogućnosti jonske izmene.

2.1.1.1 Hidroksiapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, (HAp)

Poznato je da je hidroksiapatit (HAp), $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, mineral koji po svom hemijskom sastavu i strukturnim karakteristikama najviše odgovara glavnoj mineralnoj komponenti zubne gleđi i kostiju.



Slika 2.2. Kristalna struktura hidroksiapatita. (a) Prikaz kolona koje grade koordinacioni poliedri (sivo) katjona u Ca_1 položaju, a koje povezuju PO_4 tetraedri (žuto) i (b) katjonski položaji Ca_2 (svetloplavo) na $z = 1/4$ i $z = 3/4$ povezani u jednakostranične trouglove oko ose 6_3 . Crvene sfere proizvoljnog radijusa predstavljaju kiseonike, a ružičaste X^- anjone u kanalima.

Hidroksiapatit kristališe heksagonalno u prostornoj grupi $P6_3/m$ (broj 176). Parametri jedinične ćelije su $a = 9,418(5)$, $c = 6,739(1)$ Å, $Z = 2$ [39]. U strukturi hidroksiapatita nalazi se deset atoma kalcijuma smeštenih u dva simetrijski različita kristalografska položaja, $\text{Ca}_1(4f)$ i $\text{Ca}_2(6h)$. Atomi Ca u položaju Ca_1 povezani su u kolone paralelne kristalografskoj c -osi (slika 2.2a). Svaki atom u ovom položaju okružen je sa devet atoma kiseonika koji pripadaju PO_4 grupama. Preostalih šest atoma kalcijuma koji zauzimaju položaj Ca_2 grade jednakostranične trouglove oko ose 6_3 na $z = 1/4$ i $z = 3/4$ u okviru ogledalskih ravni. Atomi kalcijuma u ovom položaju okruženi su sa ukupno sedam atoma kiseonika od kojih šest pripadaju PO_4^{3-} grupama, a jedan potiče od OH^- grupe smeštene u kanalu (slika 2.2b) [18, 52, 55, 56].

Uzimajući u obzir ogledalsku ravan simetrije, može se reći da svaki OH^- jon zauzima statistički neuređene položaje ($4e$) kako iznad tako i ispod ogledalske ravni

koja se nalazi na $z = 1/4$ i $z = 3/4$. Pomeranja OH^- anjona su približno $0,35 \text{ \AA}$ iznad ili ispod ogledalske ravni [57-60].

Pod određenim termodinamičkim uslovima može nastati i monoklinična forma HAp sa prostornom grupom $P2_1/b$ (broj 14) i parametrima jedinične ćelije $a = 9,426$, $b = 18,856$, $c = 6,887(1) \text{ \AA}$, i $\gamma = 119,97^\circ$ [29]. Ova struktura HAp je tesno povezana sa heksagonalnim oblikom, ali bez ograničenja koje nameće ogledalska ravan simetrije. Ca^{2+} i PO_4^{3-} joni zauzimaju slične položaje kao kod heksagonalne strukture. Međutim, OH^- joni smešteni su u dve različite kolone bez vidljivog pomeranja za razliku od heksagonalnog strukturnog tipa.

2.1.1.2 Fluorapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, (FAp)

Fluorapatit (FAp), $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, predstavlja najstabilniju fazu od svih apatitskih struktura. Kristališe heksagonalno u prostornoj grupi $P6_3/m$ (broj 176) sa parametrima jedinične ćelije $a = 9,367(1)$, $c = 6,884(1) \text{ \AA}$, $Z = 2$ [17, 60-62]. Struktura fluorapatita je skoro identična strukturi hidroksiapatita. Međutim, za razliku od OH^- , F^- -joni smešteni su u centru Ca_2 trougla ($6h$ položaj) u ogledalskim ravnima na $z = 1/4$ i $z = 3/4$ [59, 60]. Tačka topljenja FAp je 1644°C . Termički je stabilan, međutim, ako se krupnozrni FAp zagreva na 1360°C u prisustvu vodene pare za oko 48 sati prelazi u HAp. FAp definiše petu tačku Mosove skale tvrdoće.

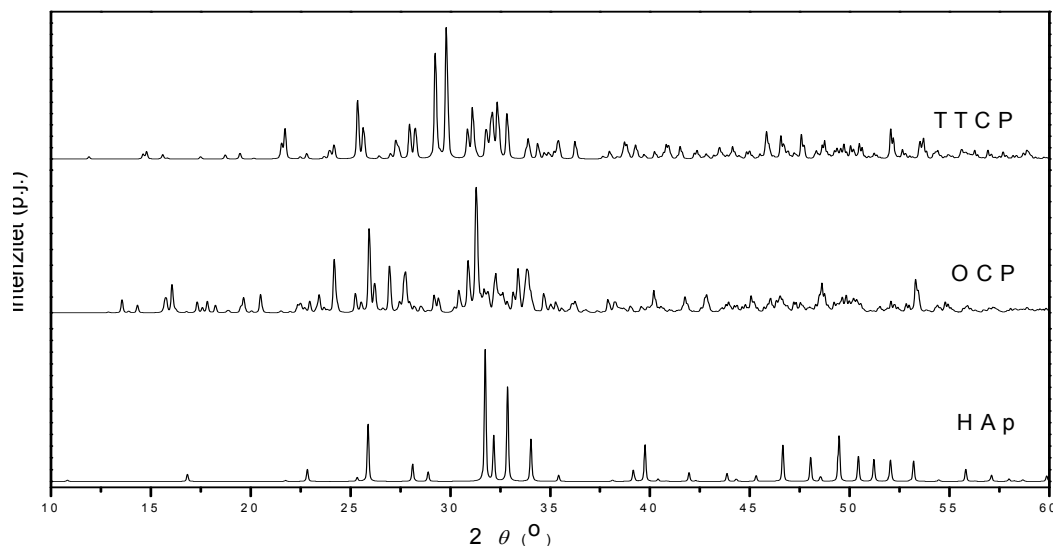
2.1.1.3 Hlorapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$, (ClAp)

Hlorapatit (ClAp), $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$, kristališe heksagonalno u prostornoj grupi $P6_3/m$ (broj 176) sa parametrima jedinične ćelije $a = 9,628(5)$, $c = 6,764(5) \text{ \AA}$, $Z = 2$ [8]. Jon hlora je u $2b$ (000) kristalografskom položaju okružen sa šest atoma kalcijuma, gradeći pravilan oktaedar. Međutim, hlor može biti i pomeren iznad ili ispod ogledalske ravni u zavisnosti od jonske izmene i kristalnog uređenja [51, 52, 59, 60].

Monoklinični ClAp kristališe u prostornoj grupi $P2_1/b$ (broj 14). Parametri jedinične ćelije su $a = 9,628 \text{ \AA}$, $b = 2a$, $c = 6,776 \text{ \AA}$, $\gamma = 120^\circ$, $Z = 4$ [39]. Struktura je veoma slična heksagonalnoj, samo što je Cl^- jon smešten unutar dve kolone na pseudoheksagonalnim osama kao u slučaju monokliničnog HAp-a.

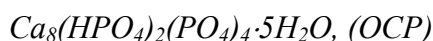
2.1.2 Kalcijum-fosfati sa strukturom sličnom apatitskoj

Slika 2.3 predstavlja poređenje dijagrama praha kalcijum-fosfata sa apatitskom strukturom (HAp) i dijagrama praha kalcijum-fosfata, čija je struktura slična apatitskom tipu strukture (TTCP i OCP).

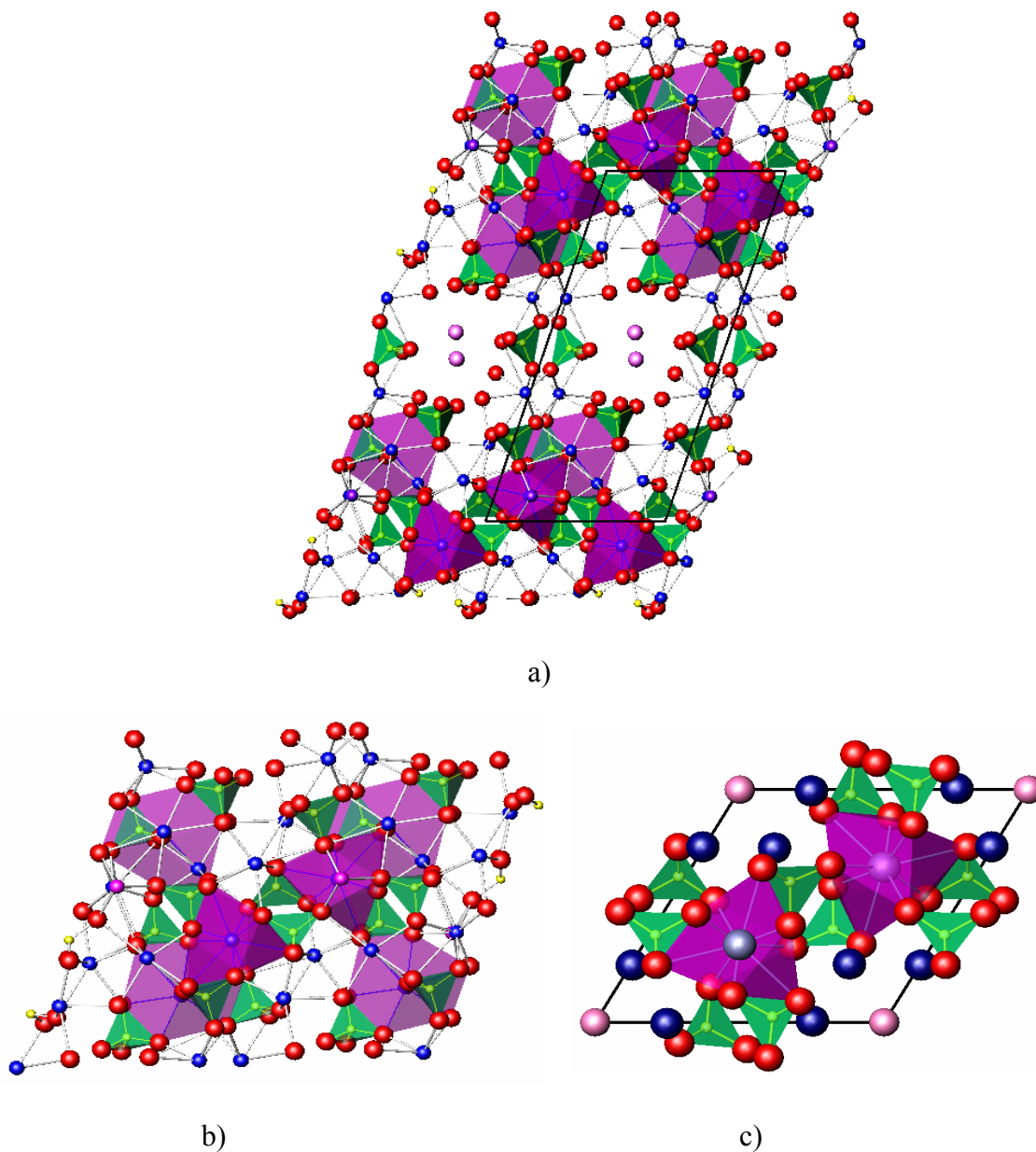


Slika 2.3. Rendgenski difraktogrami praha uzoraka kalcijum-fosfata sa apatitskom strukturom (HAp) i kalcijum-fosfata sa strukturom sličnoj apatitskoj (OCP i TTCP).

2.1.2.1 Oktakalcijum-bis(hidrogenfosfat)-tetrakis(fosfat)-pentahidrat,



OCP se često pojavljuje kao međuproizvod prilikom precipitacione sinteze stabilnijeg HAp i bioloških apatita zbog toga što su nukleacija i rast kristala OCP znatno sporiji od rasta kristala HAp [18]. Zbog toga je razumevanje rasta kristala OCP i njegove hidrolize veoma značajno da bi se shvatili procesi mineralizacije u kostima i zubima kao i remineralizacija u okviru karijesnih promena. Osnovna struktura OCP je triklinična, prostorna grupa $P\bar{1}$ (broj 2) sa sledećim parametrima jedinične ćelije: $a = 19,692(4)$, $b = 9,523(2)$, $c = 6,835(2)$ Å, $\alpha = 90,15(2)$, $\beta = 92,54(2)$, $\gamma = 108,65(1)$ ° [61, 62]. Položaji svih atoma u oblasti od $x = 0$ do $x \approx 1/4$ u OCP veoma su slični onima kod HAp strukture (slika 2.4).



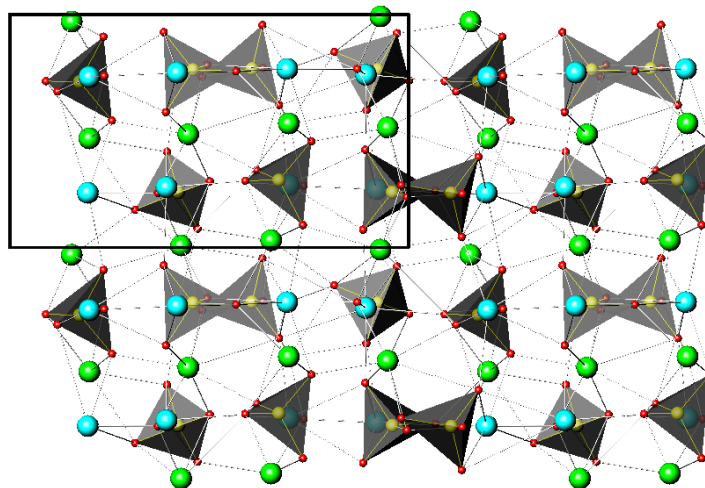
Slika 2.4. Prikaz strukture OCP-a: (a) projekcija na (001) ravan, (b) deo strukture OCP-a u kome su Ca_{10}O_9 (ljubičasto) i PO_4 (zeleno) poliedri raspoređeni slično kao u strukturi apatita i (c) raspored Ca_{10}O_9 (ljubičasto) i PO_4 (zeleno) poliedara u jediničnoj ćeliji apatita. Crvene sfere proizvoljnog radijusa predstavljaju kiseonike, a ružičaste X^- anjone u kanalima apatita, odnosno H_2O u kanalima OCP-a.

Centar inverzije u $0, 1/2, 0$ proširuje ovu oblast do $x \approx -1/4$ tako da se oblast OCP-a između $x \approx -1/4$ i $x \approx 1/4$ može označiti kao „apatitski sloj“. Između $x \approx 1/4$ i $x \approx 3/4$, sastav i položaji atoma kod OCP strukture dosta se razlikuju od onih kod HAp strukture. Ovaj deo strukture sadrži deset molekula vode unutar jedinične ćelije, tako da se može nazvati „hidratirani sloj“. Struktura OCP-a može se opisati naizmeničnim postavljanjem „apatitskih“ i „hidratiranih“ slojeva paralelno ravni (100).

Sa porastom temperature OCP postepeno gubi vodu i prelazi u DCPA, koji se na još višim temperaturama transformiše u HAp, zatim β - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ i na kraju tripolifosfat. Koji će se proizvodi nagraditi zavisi i od vremena zadržavanja na pojedinim temperaturama. Zagrevanjem samo do 100 °C, OCP polako gubi vodu, ali bez vidljivih promena na rendgenskom difraktogramu. Voda koja odlazi iz strukture pri ovim uslovima, pre može da se okarakteriše kao nekoordinovana, nego kao koordinovana. Sa daljim zagrevanjem, d_{100} rastojanje se smanjuje, a na 180 °C gubi se oko 2/3 vode i prelazi u slabo iskristalisao apatit, što može da se utvrdi na osnovu rendgenske difrakcije praha [18].

2.1.2.2 Tetrakalcijum-bis (fosfat)-oksid, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, (TTCP)

Struktura tetrakalcijum-bis (fosfat)-oksida (TTCP) prikazana je na slici 2.5.



Slika 2.5. Prikaz slojeva koji čine strukturu tetrakalcijum-bis (fosfat)-oksida (projekcija na (001) ravan). Plavom bojom predstavljeni su atomi Ca koji grade Ca-PO_4 kolone. Zelene sfere predstavljaju atome Ca koji grade Ca-Ca kolone.

Tetrakalcijum-bis (fosfat)-oksid (TTCP) ima hemijsku formulu $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$. Naziv *hilgenstokit* dobio je po istraživaču G. Hilgenstock-u koji ga je otkrio 1883. godine.

TTCP, mešan sa DCPD ili DCPA koristi se kao koštani cement koji gradi HAp u prisustvu vode prema reakciji (1):



Sušтина ove reakcije jeste to što je rastvorljivost HAp-a manja od rastvorljivosti reaktanata pri fiziološkoj pH vrednosti (pH = 7,4).

TTCP kristališe monoklinično, prostorna grupa $P2_1$ (broj 4), a parametri jedinične ćelije su $a = 7,023(1)$, $b = 11,986(4)$, $c = 9,473(2)$ Å, $\beta = 90,90(1)$ ° na 25 °C [39]. U jediničnoj ćeliji nalaze se četiri formulske jedinice. Parametri jedinične ćelije i intenziteti difrakcionih maksimuma pokazuju da je struktura pseudorombična. Takođe, postoji sličnost između parametara rešetke TTCP-a i HAp [18] (tabela 2.3) što može da ukazuje na strukturnu povezanost ova dva jedinjenja.

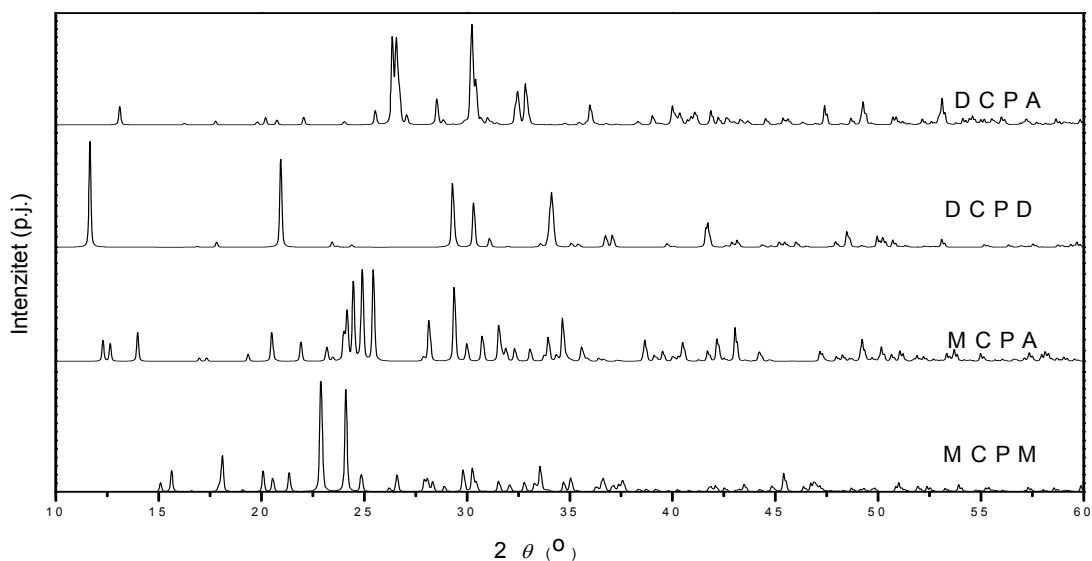
Tabela 2.3. Parametri jediničnih ćelija TTCP i HAp.

Parametri jedinične ćelije	TTCP	HAp
a (Å)	7,023(1)	6,881(5)
b (Å)	11,986(4)	-
c (Å)	9,473(2)	9,417(1)
β / γ (°)	90,90(1)	120,00

Ca^{2+} i PO_4^{3-} joni smešteni su u slojevima normalnim na kristalografsku b -osu. Svaki sloj sadrži dve Ca- PO_4 kolone i jednu Ca-Ca kolonu (atomi kalcijuma obojeni zeleno na slici 2.5). Razmeštaj ovih kolona poklapa se sa onim u glaseritskoj strukturi. Međutim, dva susedna sloja u TTCP grade sloj veoma sličan apatitskom.

2.1.3 Jedinjenja koja sadrže Ca- PO_4 slojeve

Na slici 2.6 prikazani su dijagrami praha kalcijum-dihidrogenfosfat-hidrata (MCPM), kalcijum-dihidrogenfosfata (MCPA), kalcijum-hidrogenfosfat-dihidrata (brušita) (DCPD) i kalcijum-hidrogenfosfata (monetita) (DCPA).

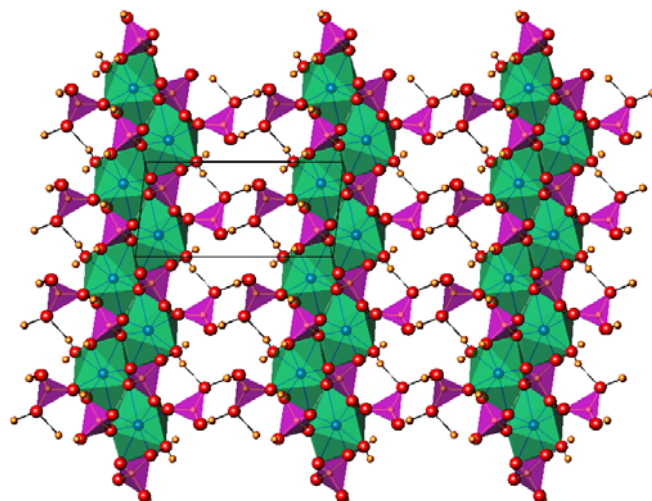


Slika 2.6. Rendgenski difraktogrami kalcijum-fosfata koji sadrže Ca-PO_4 slojeve.

2.1.3.1 Kalcijum-dihidrogenfosfat hidrat, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, (MCPM)

MCPM predstavlja kalcijum-fosfat nastao dejstvom kiselina H_2SO_4 , H_3PO_4 ili HNO_3 na fosfatne stene, dok se anhidrovane forme pojavljuju kao posledica dejstva koncentrovane H_3PO_4 na fosfatne stene pri povišenim temperaturama.

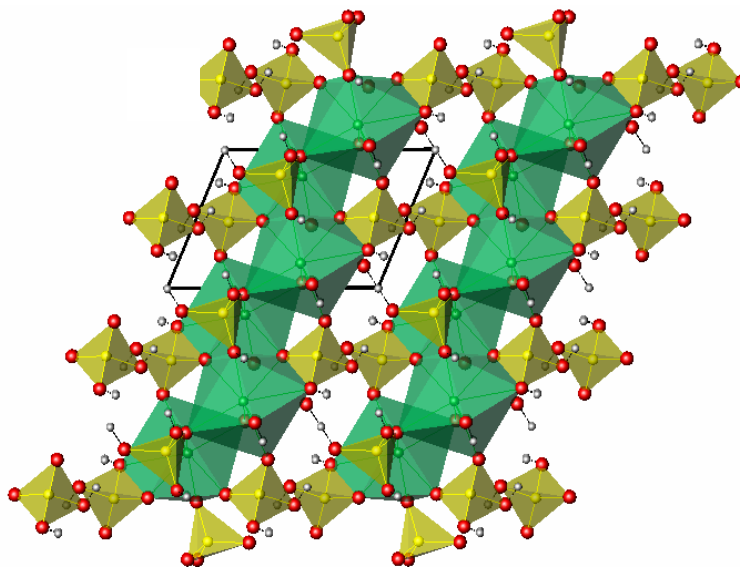
Struktura MCPM je triklinična, prostorna grupa $P\bar{1}$ (broj 2) sa parametrima jedinične ćelije $a = 5,6261(5)$, $b = 11,889(2)$, $c = 6,4731(8)$ Å, $\alpha = 98,633(6)$, $\beta = 118,262(6)$, $\gamma = 83,344(6)$ ° (slika 2.7) [18]. Strukturna analiza pokazala je prisustvo $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)^+$ lanaca paralelnih kristalografskoj osi c koji formiraju slojeve u (010) ravni [63, 64] što je karakteristično za strukturu DCPD gde CaHPO_4 kolone formiraju slične strukturne motive. Slojevi H_2PO_4^- -jona i molekula vode leže između slojeva $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)^+$ [18].



Slika 2.7. Prikaz strukture MCPM (projekcija na (010) ravan), b -osa je horizontalna. Ljubičasto su prikazani PO_4 -tetraedri, a koordinacioni poliedri oko Ca su zelene boje. Narandžaste sfere predstavljaju atome vodonika.

2.1.3.2 Kalcijum-dihidrogenfosfat, $Ca(H_2PO_4)_2$, (MCPA)

MCPA kristališe triklinično u prostornoj grupi $P\bar{1}$ (broj 2). Parametri jedinične ćelije su $a = 7,5577(5)$, $b = 8,2531(6)$, $c = 5,5504(3)$ Å, $\alpha = 109,87(1)$, $\beta = 93,68(1)$, $\gamma = 109,15(1)^\circ$ na 25 °C (slika 2.8) [65, 66].



Slika 2.8. Prikaz strukture MCPA (projekcija na (001) ravan), b -osa je horizontalna. Žuto su prikazani PO_4 -tetraedri, zeleno su predstavljani koordinacioni poliedri oko Ca.

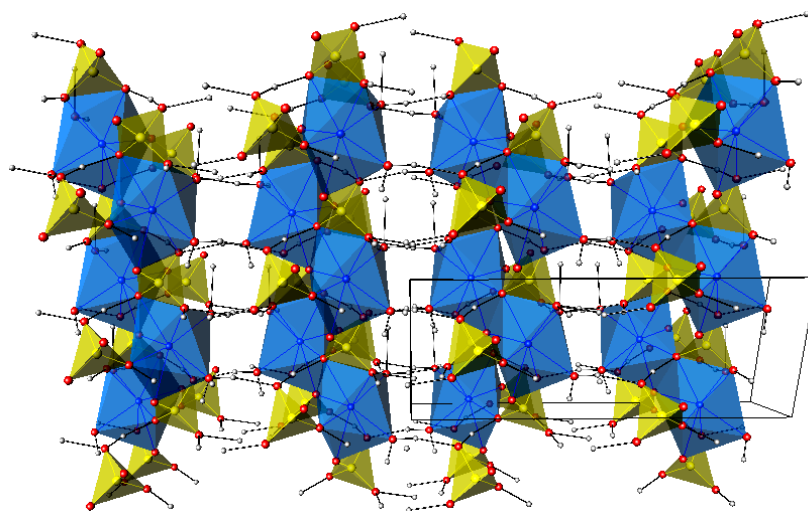
PO_4 -grupe formiraju slojeve normalne na b -osu. Ovi slojevi međusobno su povezani vodoničnim vezama i Ca^{2+} jonima. Specifičnost ove strukture jeste pojava

H_2PO_4^- jona koji grade beskonačne lance, međusobno povezane vodoničnim vezama [39].

MCPM je stabilan na vazduhu, ali na 108 °C gubi vodu i prelazi u MCPA. MCPA prelazi u $\text{CaH}_2\text{P}_2\text{O}_7$ i pirofosfat iznad 186 °C. U vlažnoj atmosferi, MCPA postepeno prelazi u kristale MCPM. MCPA u svoju rešetku lako prima NH^+ , K^+ , Cl^+ i Br^+ jone pri čemu mu se menjaju parametri jedinične ćelije i optička svojstva [18].

2.1.3.3 Kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat (brušit), $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (DCPD)

Hemijska formula kalcijum-fosfata dihidrata (DCPD), tj. minerala brušita jeste $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Brušit se pojavljuje u malim količinama u okviru ostrvskih i kontinentalnih fosfatnih stena u kostima i zubima fosila i patološkim kalcifikacijama. DCPD se pojavljuje i kao međuproizvod pri sintezi HAp-a metodom precipitacije [67, 68]. DCPD je monokliničan, prostorna grupa je Cc (broj 9) sa parametrima jedinične ćelije $a = 6,41(2)$, $b = 15,180(3)$, $c = 5,86(2)$ Å, $\beta = 119,25(2)$ ° [39].



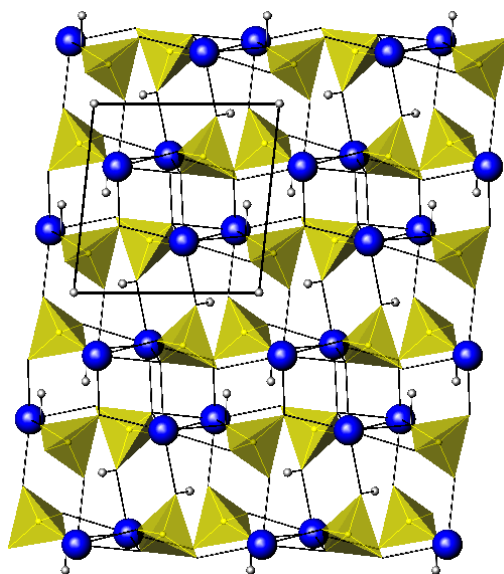
Slika 2.9. Prikaz Ca-PO_4 slojeva koji grade strukturu brušita (projekcija na (001) ravan), b -osa je horizontalna. Plavom bojom prikazani su koordinacioni poliedri oko Ca^{2+} jona, a žutom bojom označeni su PO_4 tetraedri. Crvene sfere proizvoljnog radijusa predstavljaju kiseonike, dok je sivom bojom prikazan vodonik.

Jedinična ćelija sadrži četiri formulske jedinice. Kristalna struktura je izgrađena od kompaktnih slojeva koje sačinjavaju paralelni Ca-PO_4 lanci. Katjon Ca^{2+} okružen je sa osam O^{2-} jona od kojih šest pripada PO_4 grupama, a ostala dva pripadaju molekulima vode (slika 2.9) [18]. DCPD lagano gubi vodu čak i na sobnoj

temperaturi, ali dinamika dehidracije zavisi od stepena neuređenosti kristala. Kada se DCPD zagreje na 180 °C on prelazi u DCPA. Daljim zagrevanjem između 320 i 340 °C nastaje γ -Ca₂P₂O₇. Na 700 °C nastaje β forma ovog jedinjenja koja na 1200 °C prelazi u α -Ca₂P₂O₇ [18].

2.1.3.4 Kalcijum-hidrogenfosfat (monetit), CaHPO₄, (DCPA)

Kalcijum-hidrogenfosfat (DCPA), tj. mineral monetit ima hemijsku formulu CaHPO₄. Ovaj mineral je pronađen na ostrvu Moneta i Mona u Zapadnoj Indiji po čemu je i dobio ime. DCPA nije registrovan u zubnom kamencu, niti u okviru drugih patoloških kalcifikacija. Međutim, moguće je njegovo prisustvo u kostima. S obzirom na manju rastvorljivost u poređenju sa DCPD može se očekivati veća rasprostranjenost ovog minerala. Međutim, mala brzina rasta kristala DCPA objašnjava zašto je ovaj mineral znatno manje zastupljen u poređenju sa DCPD.



Slika 2.10. Prikaz Ca-PO₄ lanaca koji grade strukturu monetita (projekcija na (100) ravan), b-osa je horizontalna. Žutom bojom prikazani su PO₄ tetraedri. Plave sfere proizvoljnog radijusa predstavljaju kalcijume, dok je sivom bojom prikazan vodonik.

Na sobnoj temperaturi (25 °C), monetit kristališe triklinično, prostorna grupa $P\bar{1}$ (broj 2), parametri jedinične ćelije su $a = 6,910(1)$, $b = 6,627(2)$, $c = 6,998(2)$ Å, $\alpha = 96,34(2)$, $\beta = 103,82(2)$, $\gamma = 88,33(2)$ ° [67]. Niskotemperaturna modifikacija monetita kristališe takođe triklinično (prostorna grupa $P1$, broj 1), a parametri

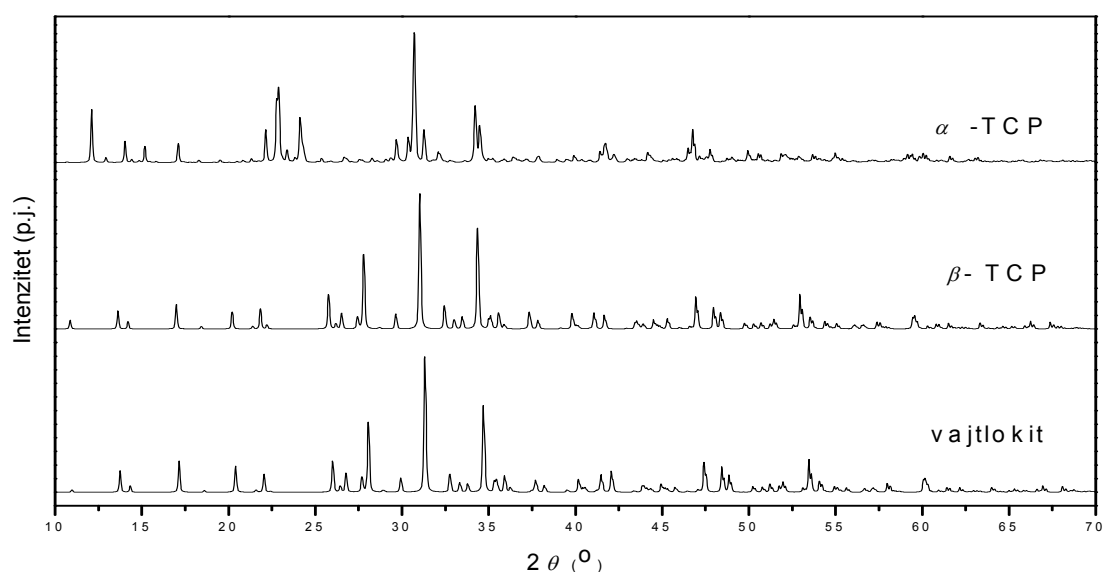
jedinične ćelije su $a = 6,916(2)$, $b = 6,619(2)$, $c = 6,946(3)$ Å, $\alpha = 96,18(3)$, $\beta = 103,82(3)$, $\gamma = 88,34(3)$ ° [67]. U oba slučaja $Z = 4$.

Struktura se sastoji od CaHPO_4 -slojeva paralelnih kristalografskoj osi b . Ovi slojevi međusobno su povezani Ca—O i vodoničnim vezama. Na osnovu strukturnog utajnjavanja baziranog na podacima rendgenske i neutronske difrakcije, utvrđeno je da se u monetitu dešava reverzibilni fazni prelaz uređeno/neuređeno (engl. order/disorder) koji uključuje samo atome vodonika, u temperaturnom intervalu od -3 do 17 °C, što zavisi od prisustva nečistoća (slika 2.10) [18].

2.1.4 Kalcijum-fosfati sa glaseritskim tipom strukture

Glaserit je naziv koji se ranije koristio za mineral romboedarske simetrije, prostorna grupa $P\bar{3}m1$ (broj 164), čija je hemijska formula, $\text{K}_3\text{Na}(\text{SO}_4)_2$. U novije vreme ovaj mineral se naziva aftitalit [69].

Slika 2.11 predstavlja difraktograme praha kalcijum-fosfata sa glaseritskim tipom strukture. To su α -trikalcijum-bis(fosfat), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, (α -TCP); β -trikalcijum-bis(fosfat), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, (β -TCP) i vajtlokit, $\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2\text{H}_2(\text{PO}_4)_{14}$. Vajtlokit i β -TCP su izostrukturalni i zbog toga rendgenska difrakcija praha daje identične dijagrame praha što otežava jednoznačnu identifikaciju ova dva jedinjenja. Za precizniju analizu neophodna je detaljnija strukturna analiza.



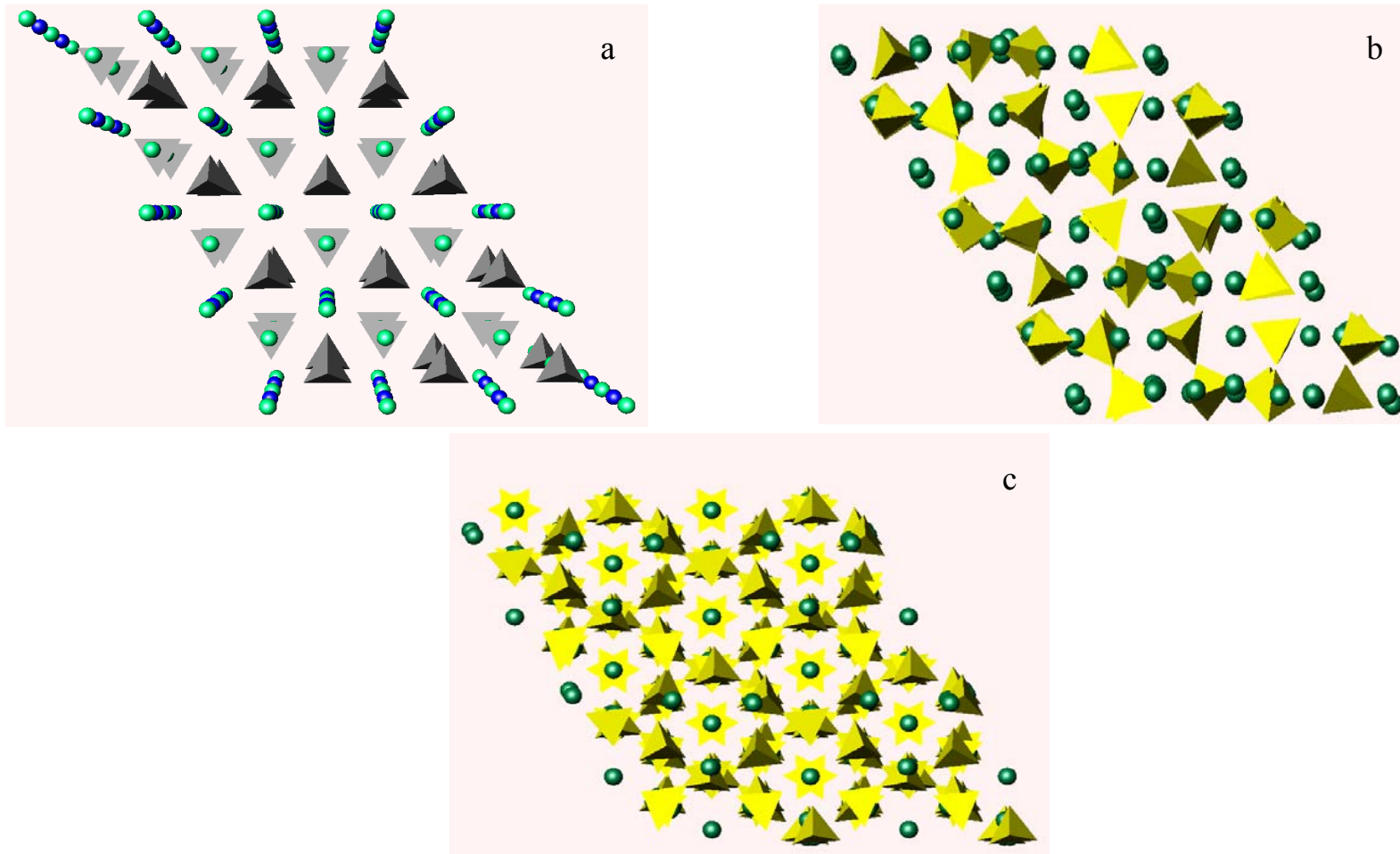
Slika 2.11. Difraktogrami praha kalcijum-fosfata sa glaseritskim tipom structure.

2.1.4.1 Trikalcijum-bis(fosfat), $Ca_3(PO_4)_2$, (TCP)

Postoji četiri modifikacije trikalcijum-bis(fosfat)-a, $Ca_3(PO_4)_2$, (TCP): α -TCP predstavlja fazu stabilnu između 1120 i 1470 °C, dok je α' -TCP faza stabilna iznad 1470 °C; β -TCP faza stabilna je ispod 1120 °C, a faza β' -TCP stabilna je pri povišenim pritiscima [18].

Termin vajtlokit i β -TCP ranije su korišćeni kao sinonimi. Međutim, danas se termin vajtlokit koristi za mineral čija je struktura ista kao i struktura β -TCP-a, ali sadrži i jone Mg^{2+} kao i HPO_4^{2-} jone ($Ca_{18}Mg_2H_2(PO_4)_{14}$). Vajtlokit je sastavni deo mnogih bioloških mineralizacija, a pojavljuje se i u različitim patološkim kalcifikacijama i kao glavni konstituent zubnog kamenca kod čoveka [70-73].

Strukture α - i β -TCP mogu se opisati kao veoma deformisani glaseritski tip strukture (mineral aftitalit ranije glaserit, $K_3Na(SO_4)_2$) (slika 2.12).

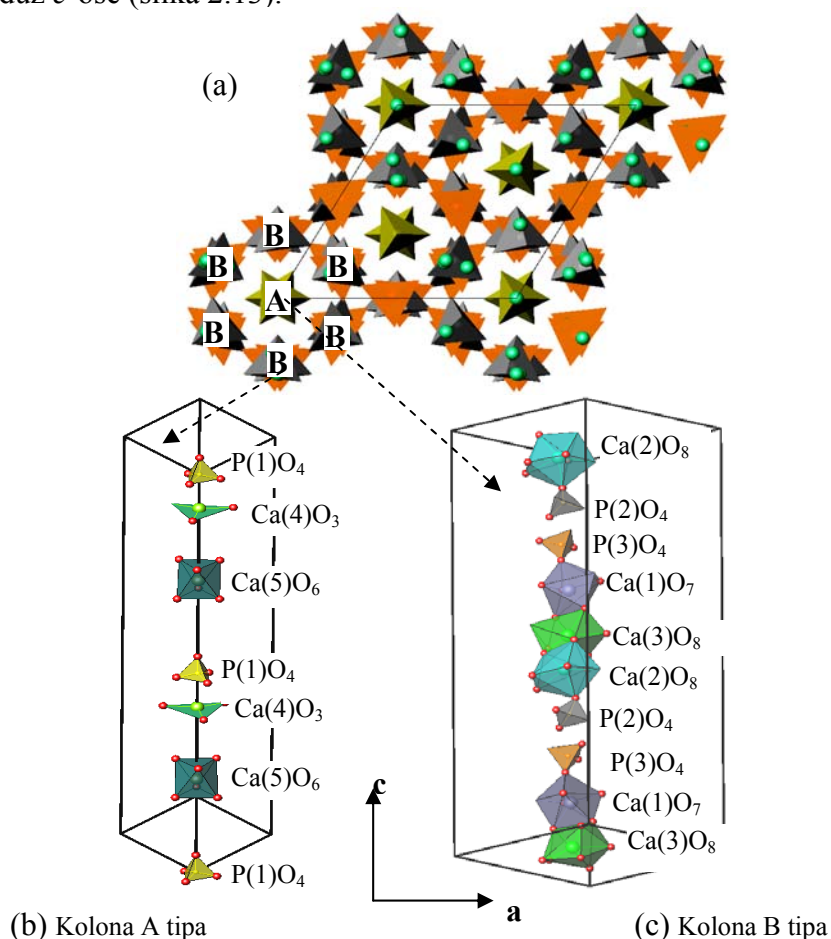


Slika 2.12. Prikaz strukture kalcijum-fosfata sa glaseritskim tipom strukture: a) struktura glaserita, projekcija na (001) ravan. Sivom bojom predstavljeni su SiO_4 tetraedri. Svetlo zelene sfere predstavljaju jone kalijuma, a plave jone natrijuma, (b) Raspored PO_4 tetraedara u strukturi α -TCP-a i (d) struktura β -TCP-a. PO_4 tetraedri prikazani su žutom bojom, dok tamno zelene sfere predstavljaju kalcijum.

Struktura glaserita je romboedarska tipska struktura, prostorna grupa $P\bar{3}m1$ (broj 164). Katjoni i anjoni razmešteni su u dva tipa kolona. Jedan tip kolone sadrži samo katjone Na^+ i K^+ (tip I), a drugi sadrži i katjone i anjone, K^+ i SO_4^{2-} (tip II). Svaka kolona tipa I okružena je sa šest kolona tipa II (slika 2.12 a i b). Odnos katjon/anjon u strukturi glaserita je 2:1 [74-76].

α -TCP kristališe monoklinično, prostorna grupa $P2_1/a$ (broj 14) sa parametrima jedinične ćelije $a = 12,887(2)$, $b = 27,280(4)$, $c = 15,219(2)$ Å, $\beta = 126,20(1)^\circ$ i 24 formulske jedinice po jediničnoj ćeliji. Struktura se sastoji od kolona Ca^{2+} i PO_4^{3-} -jona, paralelnih c -osi [18].

β -TCP kristališe romboedarski, prostorna grupa $R3c$ (broj 161), a parametri jedinične ćelije su $a = 10,439(1)$, $c = 37,375(6)$ Å, $Z = 21$ [18]. Strukturni tip vajtlokita. Kristalnu strukturu β -TCP-a sačinjavaju dve vrste kolona, A i B, koje se pružaju duž c -ose (slika 2.13).



Slika 2.13. (a) Projekcija kristalne strukture β -TCP-a na (001) ravan sa prikazom položaja kolona A i B tipa i njihovog međusobnog odnosa, (b) Raspored koordinacionih poliedara Ca i P u koloni A tipa, (c) Međusobni odnos koordinacionih poliedara Ca i P u koloni B tipa.

Kolone A tipa predstavljaju niz poliedara $\cdots\text{P}(1)\text{O}_4 \text{Ca}(4)\text{O}_3 \text{Ca}(5)\text{O}_6 \text{P}(1)\text{O}_4\cdots$, dok B tip predstavlja niz $\cdots\text{P}(3)\text{O}_4 \text{Ca}(1)\text{O}_7 \text{Ca}(3)\text{O}_8 \text{Ca}(2)\text{O}_8 \text{P}(2)\text{O}_4 \text{P}(3)\text{O}_4\cdots$. Svaka A kolona okružena je sa šest B kolona, dok je svaka B okružena sa dve A i četiri B kolone. U okviru A kolone, sve x i y koordinate atoma Ca(4), Ca(5) i P(1) imaju vrednost nula ukazujući na to da su svi ovi atomi smešteni na pravoj liniji sa $x=y=0$. U okviru B kolone x i y koordinate atoma Ca(1), Ca(2), Ca(3), P(2) i P(3) imaju međusobno različite vrednosti, mada bi njihove idealne vrednosti trebalo da budu $x = -\frac{1}{3}$, a $y = -\frac{1}{6}$. Ova odstupanja od idealne vrednosti ukazuju na distorziju kolona B tipa [71].

2.1.5 Amorfni kalcijum-fosfat (ACP)

Amorfni kalcijum-fosfat (ACP) ima opštu hemijsku formulu $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Dokazano je da kosti sisara sadrže ACP kao posebnu fazu, čiji je sadržaj veći kod mlađih jedinki, nego kod starijih.

U vodenim rastvorima ACP brzo biva preveden u stabilnu kristalnu fazu kao što je OCP ili neku apatitsku strukturu, najčešće HAp [18]. Detaljnija ispitivanja hidrolize ovih sistema pokazuju da transformacija ACP-a u HAp prolazi kroz dva stadijuma. Najpre se ACP transformiše u OCP kao prelaznu fazu, a zatim, OCP prelazi u OHAp.

Elektronska mikroskopija ACP-a najčešće pokazuje sferične čestice sa prečnicima od 200-1200 Å bez vidljivog strukturnog uređenja. [77].

2.2 Supstituisani hidroksiapatit

Struktura hidroksiapatita izuzetno je stabilna i fleksibilna što omogućava širok spektar jonskih izmena, kako katjonskih tako i anjonskih. Neke značajnije promene unutar strukture hidroksiapatita izazvane jonskim izmenama, opisane su dalje u tekstu.

Istraživanja Vincenta i dr. [78] pokazala su da Cd u strukturi kalcijum hidroksiapatita (CaHAp) zamenjuje jon kalcijuma i najčešće zauzima kristalografski

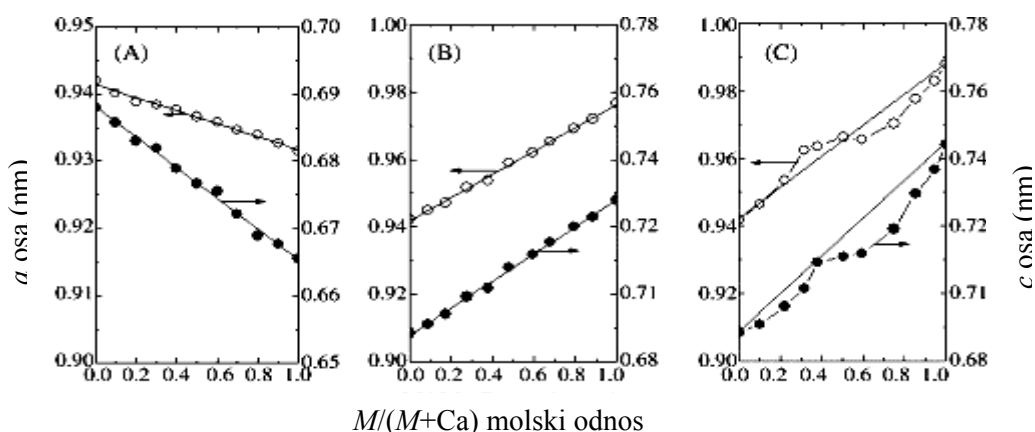
položaj *M2* (6*h*). Rezultati ovih istraživanja pokazuju da se vrednosti parametara jedinične ćelije linearno smanjuju sa povećanjem sadržaja kadmijuma u strukturi.

Kandori i dr. [79] sintetisali su Sr-Ca HAp „starenjem” precipitata (48 h na oko 100 °C), dobijenog mešanjem Ca(OH)_2 i Sr(OH)_2 sa H_3PO_4 . Kikuchi i dr. [80] sintetisali su monokristal Sr-Ca HAp-a hidrotermalnom metodom. Ova istraživanja pokazuju da Sr zamenjuje Ca u ovim strukturama, a položaj koji zauzima je *M1* (4*f*) kristalografski položaj.

Sugiyama i dr. [81] analizirali su seriju čvrstih rastvora Pb-Ca HAp dobijenih reakcijom u vodenom rastvoru između $\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca(CH}_3\text{COO)}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ i $\text{Pb(CH}_3\text{COO)}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ i kalcinacijom na oko 500 °C 3h. Bigi i dr. [46] takođe su ispitivali seriju čvrstih rastvora Pb-Ca HAp. Rezultati ovih istraživanja ukazuju na statističku raspodelu Pb^{2+} između dva kristalografski različita katjonska položaja, *M1* i *M2* uslovljavajući oscilacije vrednosti parametra *c* jedinične ćelije.

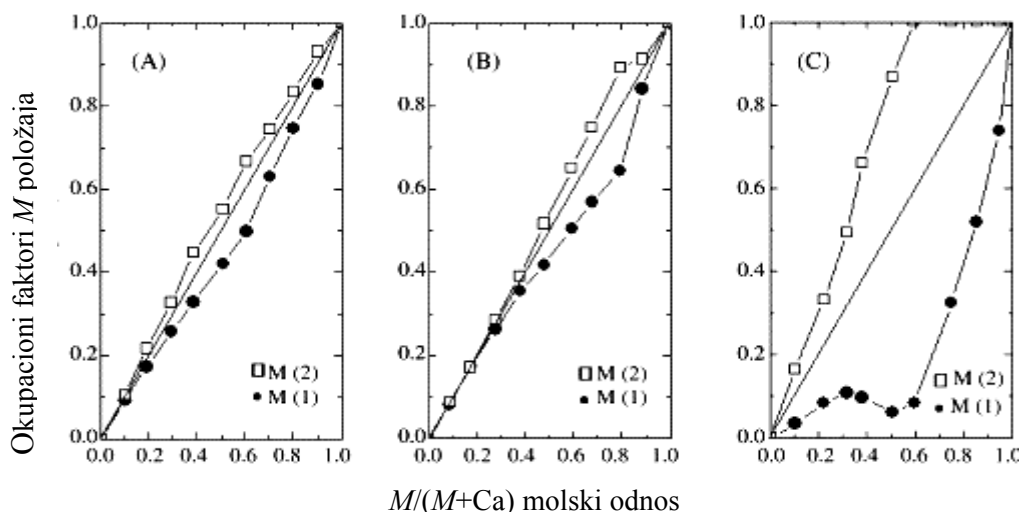
Čvrsti rastvori supstituisanih hidroksiapatita mogu biti sintetisani reakcijama u čvrstim rastvorima ili reakcijama u vodenim rastvorima. Reakcije u čvrstom rastvoru daju produkte visoke kristaliničnosti, ali sa izraženim hidroksilnim defektom, koji se javlja tokom termičkog tretmana. Sa druge strane, reakcijama u vodenom rastvoru dobijaju se produkti niskog stepena kristaliniteta bez neuređenosti hidroksilnih grupa u strukturi. Nizak stepen kristaliniteta kao i neuređenost hidroksilnih grupa može prouzrokovati poteškoće pri analizi strukture Ritveldovom metodom. Hidrotermalna metoda sinteze predstavlja sintezu iz rastvora pri čemu nastaju produkti visokog stepena kristaliniteta bez neuređenosti hidroksilnih grupa.

Zhu i dr. [31] sintetisali su seriju čvrstih rastvora Ca-CdHAp, Ca-SrHAp, Ca-PbHAp hidrotermalnom metodom. Visok stepen kristaliniteta sintetisanih prahova omogućio je analizu položaja metalnih jona kadmijuma, stroncijuma i olova u strukturi HAp-a koristeći Ritveldovu analizu. Promena parametara jediničnih ćelija *a* i *c* sa povećanjem sadržaja različitih metalnih jona u strukturi hidroksiapatita prikazana je na slici 2.14.



Slika 2.14. Promena parametara jediničnih ćelija ispitivanih čvrstih rastvora. (A) Ca-Cd HAp, (B) Ca-Sr HAp, i (C) Ca-Pb HAp u zavisnosti od promene molskog odnosa [37].

U sistemu Ca-Cd HAp (slika 2.14A) vrednosti parametara jedinične ćelije pokazuju linearnu zavisnost u odnosu na sadržaj Cd u strukturi hidroksiapatita. Zamena Ca^{2+} jona jonima Cd^{2+} u strukturi hidroksiapatita uslovljava opadanje parametara jedinične ćelije što je i očekivano s obzirom da je jon kadmijuma manji od jona kalcijuma. Međutim, razlike u jonskim radijusima ovih jona (0,99 Å za jon Ca^{2+} u koordinaciji 6; 0,97 Å za jon Cd^{2+} u koordinaciji 6) su toliko male da bi na osnovu toga mogle da se objasne promene vrednosti parametara jedinične ćelije. Sa druge strane, primećuje se da skraćenje katjon-kiseonik veza u CdHAp je veće nego što bi se očekivalo na osnovu razlika u jonskim radijusima. Srednja vrednost međuatomskog rastojanja Cd—O u CdHAp je 2,382 Å za Cd1—O i 2,391 Å za Cd2—O, dok je za CaHAp 2,430 Å za Ca1—O i 2,451 Å za Ca2—O [82]. U sistemu Ca-Sr HAp (slika 2.14B) vrednosti parametara jedinične ćelije a i c linearno se menjaju sa sadržajem Sr u strukturi HAp-a što ukazuje na to da Ca-Sr HAp grade neprekidnu seriju čvrstih rastvora. Zamena kalcijuma stroncijumom u strukturi hidroksiapatita prouzrokuje porast vrednosti parametara jedinične ćelije u skladu sa većim jonskim radijusom Sr^{2+} (1,13 Å za jon Sr^{2+} u koordinaciji 6) u poređenju sa radijusom Ca^{2+} jona (0,99 Å za jon Ca^{2+} u koordinaciji 6). U sistemu Ca-Pb HAp (slika 2.14C) vrednosti parametara jediničnih ćelija a i c ne pokazuju linearnu zavisnost od sadržaja olova u strukturi. Ovi parametri rastu sa porastom sadržaja olova u strukturi HAp-a od 0 do 0,4 i od 0,6 do 1, ali se ne menjaju od 0,4 do 0,6. Ovakve promene parametara jedinične ćelije mogu se objasniti na osnovu vrednosti okupacionih faktora olova u strukturi hidroksiapatita.



Slika 2.15. Promena vrednosti okupacionih faktora (A) Ca-Cd HAp, (B) Ca-Sr HAp, i (C) Ca-Pb HAp u zavisnosti od sadržaja metalnih jona u ispitivanim prahovima[37].

Promene vrednosti okupacionih faktora u zavisnosti od sadržaja metalnih jona u strukturi hidroksiapatita prikazane su na slici 2.15. Prava linija bez oznaka pokazuje ravnomernu raspodelu jona metala između katjonskih položaja $M1$ i $M2$ bez preferentnog položaja. U sistemu Ca-Cd HAp (slika 2.15A), Cd^{2+} jon pokazuje blagu tendenciju da zauzima katjonski položaj $M2$. U sistemu Ca-Sr HAp (slika 2.15B) jon Sr^{2+} radije zauzima katjonski položaj $M2$. Ova tendencija je izraženija što je veći sadržaj ovog jona u kristalnoj strukturi hidroksiapatita.

U sistemu Ca-Pb HAp (slika 2.15C) očigledno je da Pb^{2+} -jon radije zauzima katjonski položaj $M2$ u HAp strukturi. Kada olovo zamenjuje kalcijum u odnosu $Pb/(Pb+Ca)$ od 0,6 većina jona Pb^{2+} u strukturi HAp-a smešteno je u položaju $M2$.

Osim katjonskih, struktura hidroksiapatita omogućava i širok spektar anjonskih zamena. Poznato je da biološki apatiti predstavljaju slabo iskristalisale hidroksiapatite sa određenim sadržajem CO_3^{2-} -jona u strukturi ili tzv. karbonatne hidroksiapatite. Zbog toga je ova vrsta anjonske zamene detaljno ispitivana sa različitih aspekata [5-7, 18]. Istraživanja pokazuju da se mogu razlikovati dva tipa karbonatnih hidroksiapatita, A- i B-tip. A-tip je određen povećanjem vrednosti parametra jedinične ćelije a kao posledica ulaska CO_3^{2-} -jona na mesto OH^- -grupa u kanalima. Karbonatne hidroksiapatite tipa B karakteriše opadanje vrednosti parametra jedinične ćelije a usled delimične zamene PO_4^{3-} -jona manjim CO_3^{2-} -jonima. Međutim, ponekad je moguće da i CHAp B-tipa pokazuju povećanje parametra jedinične ćelije a najčešće usled zamene vakancija u kanalu ili tetraedarskih kiseonika molekulima vode.

Vakancije neutrališu manjak negativnog naelektrisanja koji nastaje zamenom PO_4^{3-} CO_3^{2-} -grupama. Takođe, postoje i karbonatni hidroksiapatiti A-B tipa kod kojih se CO_3 -grupa nalazi i u kanalima i u PO_4 položajima [83-85].

Zamena fosfora (tj. PO_4^{3-} -jona) silicijumom (tj. SiO_4^{4-} -jona) u strukturi hidroksiapatita, zahteva kompenzaciju negativnog naelektrisanja. Ova kompenzacija se najčešće vrši formiranjem anjonskih vakancija. Mehanizam formiranja vakancija može se prikazati sledećom reakcijom:



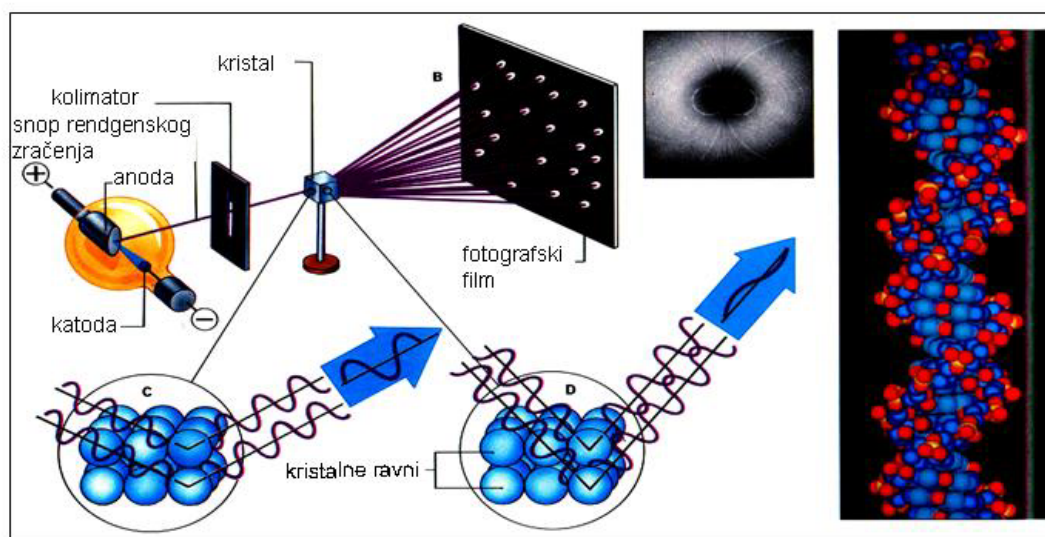
Na ovaj način, dolazi se do opšte hemijske formule hidroksiapatita u čijoj je strukturi deo PO_4^{3-} -jona zamenjen jonima SiO_4^{4-} , $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}\square_x$. Sa povećanjem sadržaja SiO_4^{4-} -jona vrednosti parametra jedinične ćelije a opadaju, dok vrednosti parametra c rastu [42].

2.3 Bifazni kalcijum-fosfat

Bifazni kalcijum-fosfati (BCP), a posebno sa hidroksiapatitom (HAp) i trikalcijum –fosfatom (TCP) privlače sve veću pažnju kao materijali pogodni za rekonstrukciju koštanog tkiva. HAp i TCP imaju sličan hemijski sastav, međutim, razlikuju se u bioresorbilnom kapacitetu [86]. Hidroksiapatit je kompaktan i kada se koristi kao koštani implant najčešće je neresorbilan i bioinertan. Dok porozni β -TCP pokazuje tendenciju ka brzom biološkoj degradaciji tako da je izuzetno bioaktivan i bioresorbilan materijal. Osnovna prednost bioaktivnih materijala koji se koriste kao koštani imlanti, kao što je BCP, jeste u njihovoj sposobnosti da grade jake veze sa postojećim čvrstim koštanim tkivom . Dobra bioaktivnost ovih materijala uslovljena je njihovim fizičkim i hemijskim osobinama. Bifazne kalcijum-fosfate ovog tipa moguće je sintetisati različitim metodama. Međutim, Gautier i dr. [87] smatraju da je sinteza BCP keramike kalcinacijom hidroksiapatita, čiji je odnos $\text{Ca/P} < 1,67$, dobijenog metom precipitacije, izuzetno efikasan proces. Ovaj način sinteze čuva bioaktivnost i biodegradabilnost ovih materijala i povećava njihovu čistoću [88, 89].

2.4 Rendgenska difrakciona analiza polikristalnog materijala

Rendgenska difrakcija na polikristalnom materijalu je nedestruktivna metoda koja ima široku primenu za karakterizaciju kristalnih materijala (slika 2.16). Ova metoda tradicionalno se koristi za identifikaciju faza, kvantitativnu analizu kao i analizu strukturnih nesavršenosti. Danas je primena ove metode proširena i na nove oblasti, kao što su određivanje kristalne strukture i analiza mikrostrukturnih parametara.



Slika 2.16. Princip rada rendgenskog difraktometra za prah. Snop rendgenskog zračenja sa anode pada na kristal pri čemu dolazi do difrakcije na kristalnim ravnima. Difraktovano zračenje detektuje se na fotografskom filmu ili pomoću detektora pri čemu se dobijaju podaci o strukturi uzorka koji se ispituje.

Difrakcioni podaci najčešće se prikupljaju pod ambijentalnim uslovima. Međutim, *in situ* difrakcija u funkciji spoljnih uslova (temperatura, pritisak, električno polje, atmosfera, itd.), značajna je za interpretaciju transformacija u čvrstom stanju kao i ponašanja materijala uopšte. Različite vrste mikro i nanokristalnih materijala kao što su neorganski i organski materijali, lekovi, minerali, metali, keramika i kompoziti mogu se analizirati rendgenskom difrakcijom. Osim toga mogu se analizirati masivni materijali, tanki filmovi, polikristalni materijali i sl. Količina podataka koji se mogu dobiti iz nekog materijala ovom metodom zavisi od pripreme i karakteristika uzoraka (mlevenje, presovanje, kristaliničnost, strukturne nesavršenosti,

veličina kristalita), kompleksnosti same strukture (broj atoma u asimetričnoj jedinici, zapremina jedinične ćelije, simetrija), kao i kvaliteta eksperimentalnih podataka (karakteristike uređaja i uslovi prikupljanja podataka).

Rendgensko zračenje je elektromagnetno zračenje čija energija fotona pripada opsegu od 100 eV do 100 KeV. U difrakcionoj analizi koristi se rendgensko zračenje sa malim talasnim dužinama u opsegu od nekoliko do 0,1 Å što odgovara energijama fotona od 1 KeV do 120 KeV. S obzirom da je talasna dužina rendgenskog zračenja približna veličini atoma, ovo zračenje je pogodno za određivanje strukturnog uređenja atoma i molekula različitih materijala [90, 91].

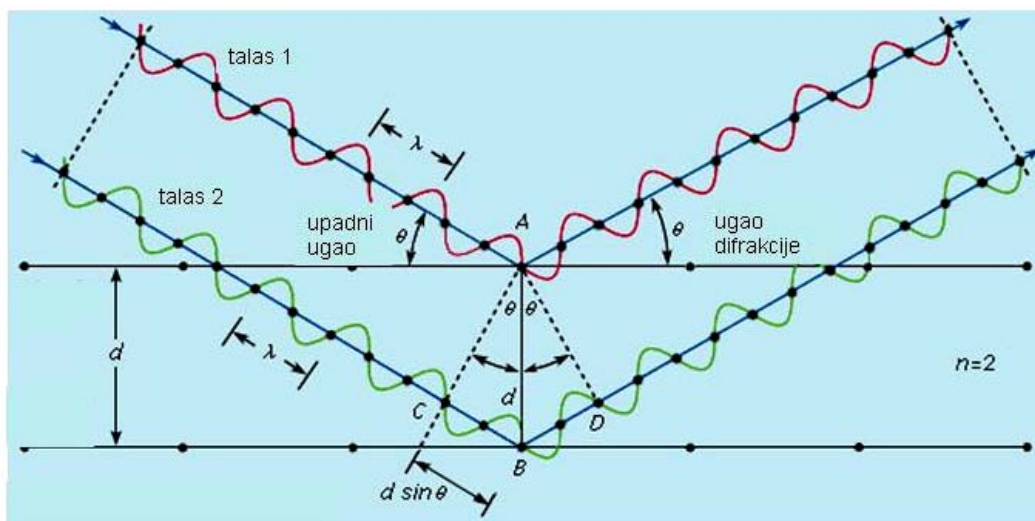
Rendgenski zraci mogu biti proizvedeni uz pomoć rendgenske cevi ili sinhrotrona. U rendgenskoj cevi, koja se najčešće koristi kod laboratorijskih instrumenata, rendgenski zraci nastaju kada usmereni snop elektrona, ubrzan prolaskom kroz polje visokog napona, udari u stacionarnu ili rotirajuću anodu. Prilikom interakcije elektrona koji padaju na anodu i atoma anode, emituje se kontinuirani spektar rendgenskog zračenja, koji se naziva belo zračenje. Kad napon na rendgenskoj cevi dostigne određenu kritičnu vrednost karakterističnu za metal od koga je napravljena anoda (eksitacioni potencijal), elektroni koji padaju na anodu poseduju dovoljno energije da izbace elektron iz omotača atoma koji grade anodu. Upraznjeno mesto popuniće elektron sa višeg energetskog nivoa. Razlika energije koja se oslobađa na ovaj način, predstavlja karakteristično rendgensko zračenje. Anoda rendgenskih cevi najčešće je izgrađena od Cu i Mo, koji emituju energiju rendgenskog zračenja od 8 KeV (za Cu) i 14 KeV (za Mo) sa odgovarajućim talasnim dužinama od 1,54178 (Cu) i 0,71069 Å (Mo).

U novije vreme, sinhrotron se sve češće koristi kao izvor rendgenskog zračenja. Sinhrotronsko zračenje nastaje tako što elektroni ili pozitroni brzinom bliskoj brzini svetlosti kruže unutar prstena (eng. storage ring). Ovaj moćni izvor, čiji je intenzitet zračenja od hiljadu do milion puta veći od zračenja laboratorijskih rendgenskih cevi, postaje nezamenljiv za širok spektar strukturnih ispitivanja i omogućava značajan napredak nauke i tehnologije.

Osnovni princip difrakcije, koji je ustanovio W. L. Bragg, predstavlja najopštiji princip u okviru teorije o difrakciji. Svaki kristal može da se posmatra kao niz ekvidistantnih ravni, koje se međusobno nalaze na rastojanju d .

Ako kroz kristal prolazi snop monohromatskih rendgenskih zraka talasne dužine λ , najveći deo zraka proći će kroz kristal, dok će se samo manji deo odbijati od

kristalnih ravni u kojima su raspoređeni atomi (slika 2.17). Odbijeni zraci interferiraju međusobno, usled čega dolazi do slabljenja ili pojačanja njihovog intenziteta.



Slika 2.17. Bragov zakon difrakcije.

Do konstruktivne interferencije, tj. do pojačavanja intenziteta, doći će samo ukoliko su reflektovani zraci u fazi, odnosno ukoliko je zadovoljena Bragova jednačina (3):

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (3)$$

gde je:

n - ceo broj,

λ - talasna dužina upadnog zračenja,

d - rastojanje između dve susedne ravni u kristalu,

θ - ugao pod kojim upadni snop pada na kristal.

Ako upadni snop pada na kristal pod uglom različitim od Bragovog ugla θ , dolazi do destruktivne interferencije, tj. do opadanja intenziteta [90].

2.5 Ritveldova analiza

Većina kristalnih struktura, koje su danas dostupne u različitim kristalografskim bazama rezultat su analize podataka rendgenske ili neutronske difrakcije na monokristalu i mnogo manje na polikristalnom materijalu. Problem je u tome što je za većinu materijala, veoma teško naći ili sintetisati monokristal pogodan za difrakciona proučavanja. Upravo zato, strukture mnogih značajnih minerala, kao što su gline, oksidi mangana i gvožđa, zeoliti i zeolitima slični minerali, ostale su dugi niz godina nedovoljno definisane. U mnogim od ovih slučajeva, gde nije moguće obezbediti kvalitetan uzorak monokristala, rendgenska ili neutronska difrakcija na polikristalnim uzorcima, omogućavaju prevazilaženje ovog problema. Nekada je rendgenska difrakciona analiza polikristalnog materijala korišćena samo kao efikasan metod za identifikaciju faza, a ne i za ispitivanja strukture materijala, pre svega zbog preklapanja difrakcionih maksimuma, kao i nemogućnosti preciznog određivanja položaja refleksija. Razvoj Ritveldove metode [92-94] doprineo je da se prevaziđe ovaj problem. Za razliku od klasičnih metoda, koje posmatraju samo integrisani intenzitet tj. refleksiju kao eksperimentalni podatak, ovom metodom analizira se celokupni difraktogram. Ritveldova analiza omogućava poređenje intenziteta izmerenog i izračunatog difraktograma u svakoj tački. Njihove razlike se koriste za utačnjavanje strukturnog modela. Veličina koja se minimizira definisana je jednačinom (4):

$$S_y = \sum_i w_i (y_{oi} - y_{ci})^2 \quad (4)$$

gde je:

$w_i = 1/y_{oi}$ - težinska funkcija

y_{oi} - izmereni intenzitet na i -tom koraku difraktograma,

y_{ci} - izračunati intenzitet na i -tom koraku difraktograma.

Na vrednost izračunatog intenziteta (y_{ci}), na i - tom koraku, osim kvadrata strukturne amplitude koja se izračunava na osnovu pretpostavljenog strukturnog modela, znatno utiču izabrana profilna funkcija i intenzitet bazne linije. Ova konstatacija proizilazi iz činjenice da pik na realnom difraktogramu nije prava,

vertikalna linija, već je njegov intenzitet raspoređen u nekom opsegu ugla 2θ oko izračunatog položaja refleksije. Izračunati intenzitet u tački i , y_{ci} , dat je izrazom (5).

$$y_{ci} = S \sum L_p M |F_{hkl}|^2 \Omega(2\theta_i - 2\theta_k) P_{hkl} A + y_{bi} \quad (5)$$

gde je

S - faktor skale,

L_p - Lorenc-polarizacioni faktor,

F_{hkl} – strukturni faktor Bragg-ove refleksije hkl ,

A – korekcija za asimetriju,

P_{hkl} – korekcija za preferentnu orijentaciju,

$\Omega(2\theta_i - 2\theta_k)$ – izabrana profilna funkcija,

y_{bi} – intenzitet bazne linije ili šuma u tački i .

Da bi se postiglo dobro slaganje izmerenog i izračunatog strukturnog modela potrebno je imati kvalitetne ulazne podatke, kako difrakcione tako i strukturne. Kvalitet utičnjavanja izražava se broјčano preko tzv. faktora slaganja, odnosno R - faktora. Najčešće korišćeni faktor slaganja je težinski profilni faktor, R_{wp} , definisan preko sledeće jednačine (6):

$$R_{wp} = 100 \cdot \left[\frac{\sum_i w_i (y_{oi} - y_{ci})^2}{\sum_i w_i y_{oi}^2} \right]^{1/2} \quad (6)$$

Ukoliko je proces utičnjavanja vođen korektno, krajnja vrednost R_{wp} faktora trebalo bi da bude slična vrednosti očekivanog faktora, R_{exp} :

$$R_{exp} = 100 \cdot \left[\frac{N - P + C}{\sum_i w_i y_{oi}^2} \right]^{1/2} \quad (7)$$

gde je:

w_i - težinska funkcija,

$N-P+C$ - broj stepeni slobode,

N - broj izmerenih intenziteta,

P - broj parametara koji se utičnjavaju,

C - broj ograničenja koja se koriste u metodi najmanjih kvadrata.

Kada je u pitanju neutronska difrakcija, vrednosti R_{wp} faktora, koje pokazuju dobro slaganje eksperimentalnog i izračunatog strukturnog modela, kreću se u intervalu od 15-30 %. Kod rendgenskih difrakcionih podataka, vrednosti ovog faktora zavise od broja prikupljenih impulsa na svakoj mernoj tački, preferentne orijentacije, broja parametara koji se utičnjavaju. [89-91].

Postoji još niz konvencionalnih faktora koji pokazuju kvalitet utičnjavanja:

- Profilni faktor slaganja $R_p = 100 \cdot \frac{\sum_i |y_{oi} - y_{ci}|}{\sum_i y_{oi}}$ (8)

- Bragov faktor slaganja $R_B = 100 \cdot \frac{\sum_k |I_k - I_{ck}|}{\sum_k I_k}$ (9)

- Strukturni faktor slaganja $R_F = \frac{\sum_k |\sqrt{I_k} - \sqrt{I_{ck}}|}{\sum_k \sqrt{I_k}}$ (10)

Osim R faktora kao pokazatelj valjanosti utičnjavanja koristi se i $GofF$ – faktor (goodness of fit):

$$GofF = \sqrt{\frac{R_{wp}}{R_{exp}}} \quad (11)$$

U idealnom slučaju vrednost svih R -faktora je nula, a vrednost $GofF$ -a je jedan. Preciznost merenja intenziteta može da se poboljša povećanjem broja prikupljenih impulsa na svakoj tački ili povećanjem broja mernih tačaka.

2.6 Mikrostruktorna analiza Ritveldovom metodom

Mikrostruktorna karakterizacija je veoma značajna za nauku o materijalima jer od mikrostrukture zavise fizičke i hemijske osobine materijala. Mikrostruktura ili odstupanje od idealne strukture, utiče na širinu i oblik difrakcionih linija na difraktogramu. Širenje difrakcionih linija usled uticaja mikrostrukture potiče od malih kristalita i mikronaprezanja unutar zrna. Pri analizi širenja difrakcionih linija, potrebno je iz eksperimentalnih linija $h(\varepsilon)$ ukloniti uticaj instrumentalne linije $g(\varepsilon)$ i izdvojiti čiste difrakcione linije $f(\varepsilon)$, koje su posledica mikrostrukturnog stanja uzorka. Prema tome, eksperimentalna funkcija difrakcionog profila, predstavlja konvoluciju instrumentalne i strukturne funkcije:

$$h(\varepsilon) = \int_{-\infty}^{+\infty} g(t)f(\varepsilon - t)dt \quad (12)$$

Instrumentalna funkcija opisuje nesavršenost instrumenta, dok struktorna funkcija nosi podatke o mikronaprezanju i veličini kristalita.

Ritveldova metoda razvijena je 1969. godine za utičnjavanje strukture polikristalnih uzoraka iz podataka neutronske difrakcije. U to vreme, instrumenti za neutronske difrakcije imali su veoma lošu rezoluciju. Zbog toga za većinu uzoraka, instrumentalno širenje imalo je dominantan doprinos u ukupnom širenju refleksija, tako da je u većini slučajeva širenje koje potiče od mikrostrukturnih karakteristika uzorka bilo preklapljeno ovim širenjem. Kao rezultat toga, ukupni Gausov profil refleksija poticao je od instrumentalnog širenja. Sa razvojem modernih laboratorijskih rendgenskih difraktometara, a posebno sinhrotronog zračenja, dobijena je znatno bolja rezolucija, čime je smanjen uticaj instrumentalnog širenja. Usled toga, izmereni profili linija nisu više mogli uspešno da se aproksimiraju samo Gausovom funkcijom, već je bilo neophodno kombinovati Gausov i Lorencov model. Danas se koriste različite kombinacije ove dve funkcije tako da su razvijene tzv. Fojktova funkcija (konvolucija Gausove i Lorencove funkcije), pseudo-Fojktova (težinska suma Gausove i Lorencove funkcije) i funkcija Pirson VII (uopštena Lorencova funkcija sa promenljivim eksponentom).

Kombinovanje Ritveldove metode sa modelovanjem oblika refleksija može da bude veoma korisno, posebno kada se analiziraju materijali koji su loše iskristalisali. Prisustvo strukturnih defekata kao što su dislokacije, mali kristaliti i mikronapreznja rešetke na difraktogramu praha manifestuje se kao širenje Bragovih refleksija. U najvećem broju slučajeva, Fojktova funkcija je dovoljna za aproksimaciju oblika pikova [94-99].

Prilikom određivanja mikrostrukturnih parametara u kristalografskim programima za Ritveldovo utičnjavanje koristi se uopšteni Tompson-Cox-Hastings pseudo-Fojktov (THC-pV) model za profile difrakcionih linija:

$$TCH - pV = \eta L + (1 - \eta)G \quad (13)$$

gde je η – udeo Lorencove funkcije u ukupnoj širini na poluvisini:

Udeli Gausove i Lorencevo funkcije u THC-pV funkciji izračunavaju se iz izraza:

$$\Gamma_G^2 = (U + D_{ST}^2) \lg^2 + V \lg \theta + W + I_G / \cos^2 \theta \quad (14)$$

$$\Gamma_L = X \lg \theta + [Y + F(S_Z)] / \cos \theta \quad (15)$$

gde je:

Γ_G^2 – Gausova komponenta širine na poluvisini pika,

Γ_L – Lorencova komponenta širine na poluvisini pika.

Obe širine Γ_G^2 i Γ_L date su u stepenima 2θ . Sa L i G označavaju se Lorencov (L) i Gausov (G) profil.

Širina na poluvisini pika Γ , često se označava i kao FWHM od engleskog „full width at half maximum”. Parametri U , V , W , X i Y su promenljive koje se utičnjavaju. Parametri I_G i X opisuju doprinose Gausove i Lorencove komponente u širenju difrakcionih maksimuma usled veličine kristalita. Parametri U i Y opisuju udeo Gausove i Lorencove komponente u širenju refleksija usled mikronapreznja. D_{ST} daje doprinos Gausove komponente širenju refleksija usled anizotropnog mikronapreznja, dok $F(S_Z)$ opisuje doprinos Lorencove komponente širenju refleksija kao posledica anizotropne veličine kristalita.

Ovako izračunati udeli u širini koriste se za izračunavanje srednje veličine kristalita D_{hkl} (u Å) pomoću Šererove formule.

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (16)$$

gde je:

D_{hkl} - veličina kristalita, odnosno prosečna dimenzija kristalita u pravcu normalnom na niz ravni sa kojih dolazi do difrakcije (Å),

λ - talasna dužina upotrebljenog rendgenskog zračenja (Å),

K - faktor oblika čija je vrednost približno 1, a zavisi od oblika kristalita, ravni hkl sa kojih dolazi do difrakcije, načina na koji se definiše širina (širina na poluisini ili integralna širina), načina na koji se definiše D ,

β – širina difrakcione linije nastala samo usled mikrostrukturnih faktora,

θ – Bragov ugao.

Veličina mikronaprezanja e_{hkl} , može se definisati izrazom:

$$e_{hkl} = \frac{\beta}{4\text{tg}\theta} \quad (17)$$

Da bi se odredio fizički doprinos širenja nastalog usled mikrostrukturnih parametara (Γ_{ef}) u ukupnom širenju difrakcione linije (Γ_{sum}), dovoljno je odrediti četiri parametra u jednačinama 14 i 15 (X , I_G , U i Y). Ove utučnjene vrednosti moraju da se koriguju za efekte instrumentalnog širenja, koji se određuju utučnjavanjem profila linija uzorka standarda (Γ_{st}). Može se napisati da je:

$$\Gamma_{ef} = \Gamma_{sum} - \Gamma_{st} \quad (18)$$

Nijedno matematičko modeliranje pa ni ovo zasnovano na pseudo-Fojktovom modelu nije savršeno i ne može uspešno da opiše sve efekte širenja difrakcionih linija povezanih sa veličinom kristalita i naprezanjem. Ipak, model zasnovan na Fojktovoj funkciji, koji je trenutno sastavni deo većine kristalografskih programa za utučnjavanje strukture, omogućava dobijanje rezultata koji se uz odgovarajuće tumačenje mogu povezati sa ispravnim fizičkim modelom.

Kompjuterski program koji je u ovom radu korišćen za Ritveldovu analizu (utačnjavanje kristalne strukture) jeste FullProf [100]. Ovaj program je pokazao mnogobrojne prednosti u odnosu na druge nekomercijalne programe koji se koriste u ovu svrhu [95].

3. Cilj rada

U cilju detaljne rendgenske strukturne analize čistih i kompozitnih biomaterijala baziranih na sintetskoj kalcijum-fosfatnoj (CP) keramici, korišćena su tri seta uzoraka koji su sintetisani različitim postupcima sinteze:

1. Hidrotermalno sintetisani hidroksiapatit sa i bez dodatka kobalta, kao jona koji u strukturi HAp-a zamenjuje jone kalcijuma.
2. Hidroksiapatiti sintetisani metodom precipitacije i kalcinirani na različitim temperaturama.
3. Nanokompozitni biomaterijali CP/polilaktid-ko-glikolid (PLGA).

Dobijeni rezultati treba da doprinesu boljem razumevanju:

- ❖ procesa koji se dešavaju na nivou kristalne strukture kalcijum-fosfata pri različitim uslovima sinteze;
- ❖ uticaja različitog procenta zamene jona kalcijuma jonima kobalta u strukturi hidroksiapatita na strukturne i mikrostrukturne karakteristike;
- ❖ distribucije jona kobalta u strukturi hidroksiapatita između dva katjonska položaja ($M1$ i $M2$);
- ❖ uticaja temperature kalcinacije na mikrostrukturne karakteristike i fazni sastav;
- ❖ uticaja bioresorbilnog polimera polilaktid-ko-glikolida (PLGA) na strukturne karakteristike kalcijum-fosfata u okviru biokompozitnog materijala kalcijum-fosfat/polilaktid-ko-glikolid.

Osnovna metoda korišćena za karakterizaciju sintetisanih nanoprahova jeste metoda difrakcije rendgenskih zraka na polikristalnom materijalu pomoću koje su identifikovane prisutne kristalne faze, a nakon toga korišćenjem Ritveldove metode, određene su strukturne i mikrostrukturne karakteristike.

Morfologija je potvrđena TEM i SEM mikrografijom. Na osnovu ICP analize utvrđen je hemijski sastav kristalnih prahova. Za dodatna strukturna ispitivanja poslužila je Raman spektroskopija. Takođe, urađena je raspodela veličina čestica.

4. Eksperimentalni delo

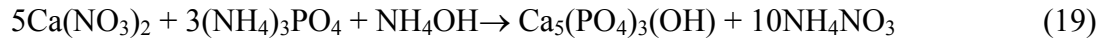
4.1 Postupci dobijanja nanostrukturnih prahova

4.1.1 Hidrotermalna sinteza

Prahovi hidroksiapatita (HAp) kao i kobaltom dopiranog hidroksiapatita (CoHAp) sintetisani su hidrotermalnim tretmanom precipitata. Najpre je nedopirani hidroksiapatit sintetisan na različitim temperaturama kako bi se utvrdili optimalni uslovi sinteze čiste faze hidroksiapatita bez prisustva substituenta kobalta. HAp precipitat je dobijen ukapavanjem filtriranog koncentrovanog baznog rastvora $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ u smešu H_3PO_4 i 25 % NH_4OH na $50\text{ }^\circ\text{C}$ i pri konstantnom mešanju od 700 obrtaja u minuti. Približno 1 l ovako dobijene suspenzije hidrotermalno je tretiran u hidrotermalnom reaktoru od nerđajućeg čelika pri neravnotežnim uslovima: pri različitim temperaturama, konstantnom stepenu zagrevanja od $2\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ i pri konstantnom mešanju od 400 obrtaja u minuti. Uzorkovanje je vršeno na 100, 150, 200 i $250\text{ }^\circ\text{C}$. Detaljna ispitivanja ovih uzoraka (rendgenska difrakcija na prahu, Raman spektroskopija) pokazala su da porast temperature preko $200\text{ }^\circ\text{C}$ prouzrokuje delimičnu transformaciju dela HAp-a u β -trikalcijum-fosfat (β -TCP). Zbog toga je hidrotermalni tretman na temperaturi od $200\text{ }^\circ\text{C}$ odabran za dalju sintezu prahova hidroksiapatita sa promenljivim sadržajem kobalta u strukturi. Tokom sinteze CoHAp-a, količina reaktanata podešena je tako da se dobiju prahovi $\text{Ca}_{10-x}\text{Co}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ sastava gde je $x = 0; 0,5; 1,0; 1,5$ i $2,0$. Koncentrovani bazni rastvor $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i vodeni rastvor $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ukapavani su istovremeno u smešu rastvora H_3PO_4 i NH_4OH pod sličnim uslovima kao i prethodna sinteza. Odnos $(\text{Ca}+\text{Co})/\text{P}$ u polaznim rastvorima fiksiran je na 1,67. Dobijena suspenzija (zapremine oko 1 l) tretirana je u autoklavu na temperaturi od $200\text{ }^\circ\text{C}$ 8 h i autogenom pritisku od 2 MPa pri konstantnom mešanju od 400 obrtaja u minuti. Nakon hidrotermalnog tretmana autoklav je naglo ohlađen do sobne temperature. Precipitat je zatim ispiran destilovanom vodom da bi se otklonili NH_4^+ joni kao i Co^{2+} eventualno adsorbovani po površini čestica. Isprani uzorci sušeni su na temperaturi od $90\text{ }^\circ\text{C}$ u vazduhu 24 h [101].

4.1.2 Sinteza precipitacionom metodom

Gel hidroksiapatita HAp dobijen je metodom precipitacije u reakciji $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ sa $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ u kiseloj sredini prema jednačini:



Dobijena suspenzija je zagrevana do ključanja, a zatim je ostavljena da odleži 18 h na sobnoj temperaturi. Talog koji se izdvojio na ovaj način, profiltriran je i osušen na sobnoj temperaturi. Jedan deo sintetisanih granula HAp-a kalcinisan je na $1150\text{ }^\circ\text{C}$ [102-103].

4.1.2.1 Kalcinacija uzoraka

Uzorak hidroksiapatita sintetisan metodom precipitacije na sobnoj temperaturi kalcinisan je na temperaturama od 200, 400, 600, 700, 800, 900 i $1100\text{ }^\circ\text{C}$. Svaki od uzoraka držan je na pojedinoj temperaturi po 5 minuta pri brzini zagrevanja od $10\text{ }^\circ/\text{min}$.

4.1.3 Dobijanje kompozitnog biomaterijala CP/(PLGA)

Hidroksiapatit sintetisan metodom precipitacije, kako je to opisano u predhodnom poglavlju, poslužio je kao konstitutivna komponenta kompozitnog biomaterijala HAp/PLGA. Granule HAp-a sintetisanog na sobnoj temperaturi, kao i one dobijene kalcinacijom na $1150\text{ }^\circ\text{C}$ uronjene su u rastvor PLGA, nakon čega je smeša podvrgnuta uparavanju u vakuumu.

Detaljni opisi sinteza ovih prahova mogu se naći u literaturi [101, 102]. U daljem tekstu dat je kratak prikaz tri pomenuta postupka sinteze ispitivanih prahova

4.2 Karakterizacija

Sintetisani prahovi analizirani su sledećim metodama: metoda emisione spektroskopije bazirana na indukovano spregnutoj plazmi (ICP), određivanje raspodele veličina čestica, rendgenska difrakcija na polikristalnom uzorku i Ritveldova metoda, metode elektronske mikroskopije (SEM i TEM) i Ramanska spektroskopija. Uslovi pri kojima su korišćene pomenute metode za karakterizaciju uzoraka u ovom radu, dati su dalje u tekstu.

4.2.1 Indukovano spregnuta plazma (ICP)

Hemijska analiza hidrotermalno sintetisanih hidroksiapatita urađena je korišćenjem emisionog spektrofotometra (iCAP Thermo Scientific 6300) baziranog na indukovano spregnutoj plazmi. Pre analize svi uzorci su rastvoreni u koncentrovanj HCl.

4.2.2 Određivanje raspodele veličina čestica

Srednja veličina čestica kao i raspodela veličina čestica ispitivanih uzoraka određena je uz pomoć uređaja za analizu veličine čestica (PSA). Korišćeni instrument (*Mastersizer2000* firme *Malvern Instruments*) zasnovan je na laserskoj difrakciji, koja pokriva opseg veličina čestica od 0,02-2000 μm . Za PSA merenja prahovi su dispergovani u destilovanoj vodi, u ultrazvučnom kupatilu (ultrazvuk niskog intenziteta sa frekvencijom od 40 kHz i snagom od 50 W), 3 minuta.

4.2.3 Metode elektronske mikroskopije

4.2.3.1 Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Skenirajuća elektronska mikroskopija (uređaj marke JEOL-JSM-6460OLV Japan, sa energijom elektrona od 10 do 50 KeV) korišćena je za analizu morfologije čestica ispitivanih uzoraka. Da bi se unutar mikroskopa održao visoki vakuum, neophodno je da uzorci koji se analiziraju budu neisparljivi. Još jedan uslov koji mora

biti ispunjen jeste elektroprovodnost uzoraka. Da bi se obezbedila elektroprovodnost, uzorci su naparavani zlatom pomoću uređaja za naparavanje 3AL-TEC SCD005, strujom od 30 mA sa udaljenosti od 50 nm tokom 180 s.

4.2.3.2 Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM i HRTEM)

Mikrostruktura i morfologija sintetisanih prahova ispitivana je transmisionom elektronskom mikroskopijom (JEOL 2100, na 200 kV). Uzorci su pripremani metodom postepenog ukapavanja disperzije na polikarbonatnu membranu sa bakarnom mrežicom od 300 mesh-a.

4.2.4 Rendgenska difrakciona analiza na polikristalnom materijalu

Rendgenska difrakcija na polikristalnim uzorcima poslužila je za određivanje kvalitativnog sastava ispitivanih prahova kao i strukturnih i mikrostrukturnih parametara. Podaci su prikupljeni na sobnoj temperaturi na automatskom difraktometru za prah Philips PW 1050 sa $\text{CuK}\alpha_{1,2}$ ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$) sa Ni filterom. Intenziteti difrakcionih maksimuma prikupljeni su u intervalu od 8 do $110^\circ 2\theta$ sa korakom od $0,02^\circ$ i vremenom zadržavanja od 12 s po koraku.

Ritveldova analiza ispitivanih uzoraka urađena je korišćenjem kompjuterskog programa FullProf u WinPLOTR okruženju [104, 105]. Kao početni parametri utalnjanja uzete su vrednosti jediničnih ćelija izračunate pomoću LSUCRI kompjuterskog programa [106] kao i literaturne vrednosti položaja atoma i prostorne grupe ($P6_3/m$, broj 176) za strukturu hidroksiapatita [107]. Bazna linija određena je interpolacijom kroz različiti broj tačaka (od 12 do 23) zavisno od uzorka koji se ispituje, dok je za opisivanje profila refleksija korišćena pseudo-Fojktova funkcija. Prilikom utalnjanja korišćeni su atomski faktori rasipanja za neutralne atome. Vrednosti izotropnih parametara pomeranja atoma fiksirane su na $1,5 \text{ \AA}$ zato što se njihovim utalnjanjem dobijaju nerealno visoke vrednosti. Na kraju su varirani okupacioni faktori katjonskih položaja $M1$ i $M2$ kako bi se utvrdio sadržaj kalcijuma odnosno kobalta u ovim položajima. Okupacioni faktori O i P držani su konstantnim tokom utalnjanja u skladu sa HAp stehiometrijom. Osim toga, dužine P—O veza

blago su ograničene na vrednost od $1,53 \pm 2 \text{ \AA}$ kako bi se očuvala geometrija PO_4 tetraedara.

Analizom refleksija na difraktogramu praha primećeno je anizotropno širenje (00 l) refleksija. Daljim utičnjavanjem uz korišćenje TCH-pseudo-Fojktove funkcije [108, 109] utvrđeno je da je pomenuto širenje refleksija posledica uticaja mikrostrukturnih parametara pre svega veličine kristalita [108]. Da bi se anulirao udeo instrumentalnog širenja, prilikom utičnjavanja korišćena je rezoluciona funkcija. Ova funkcija dobijena je utičnjavanjem podataka standarda CeO_2 , dobijenih rendgenskom difrakcijom na istom difraktometru na kome su prikupljeni podaci za ispitivane uzorke i pod istim eksperimentalnim uslovima. Dobijene vrednosti za rezolucionu funkciju su: $U = 0,027100$, $V = -0,010800$, $W = 0,020700$, $X = 0,008000$, $Y = 0,025706$.

4.2.5 Raman spektroskopija

Raman spektri dobijeni su u geometriji povratnog zračenja, koristeći μ -Raman sistem sa Jobin Yvon T64000 trostrukim monohromatorom i CCD detektorom koji se hladi tečnim azotom. Kao izvor za pobuđivanje korišćen je Ar laser na 514,5 nm. Merenja su urađena pri snazi lasera od 80 mW. Raman spektri prikupljeni su u intervalu frekvencija od 100-1500 cm^{-1} , sa rezolucijom od 4 cm^{-1} .

5. Rezultati i diskusija

5.1 Hidrotermalno sintetisani hidroksiapatiti dopirani kobaltom

5.1.1 Hemijska analiza

Sadržaj (u mas.%) kalcijuma i kobalta u ispitivanim prahovima određen je na osnovu ICP emisione spektroskopije, sa greškom od ± 1 % za kalcijum i $\pm 0,1$ % za kobalt. Na osnovu dobijenih rezultata izračunat je broj atoma Ca i Co (u at.%, preračunat na 10 atoma kalcijuma unutar jedinične ćelije hidroksiapatita) u jediničnoj ćeliji uzoraka na osnovu čega su određene stehiometrije analiziranih prahova (tabela 5.1).

Tabela 5.1. Oznake, nominalni sastav i sadržaj jediničnih ćelija dobijenih ICP i Ritveldovom analizom

Oznake	Nominalni sastav	ICP analiza	Ritveldova analiza
HAp	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Co5HAp	$\text{Ca}_{9,5}\text{Co}_{0,5}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{9,57}\text{Co}_{0,43}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{9,74}\text{Co}_{0,26}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Co10HAp	$\text{Ca}_9\text{Co}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{9,05}\text{Co}_{0,95}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{9,27}\text{Co}_{0,73}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Co15HAp	$\text{Ca}_{8,5}\text{Co}_{1,5}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{8,85}\text{Co}_{1,17}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{9,26}\text{Co}_{0,74}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Co20HAp	$\text{Ca}_8\text{Co}_2(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{8,85}\text{Co}_{1,15}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{9,18}\text{Co}_{0,82}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

Tokom sinteze CoHAp uzoraka količina reaktanata podešena je tako da bi se dobili prahovi u kojima će kobalt zameniti kalcijum sa 5, 10, 15 i 20 at.%. Međutim, ICP analiza pokazuje da hidrotermalnim procesiranjem precipitata na 200 °C, tokom 8 h, sadržaj kobaltovih jona koji zamenjuju kalcijum u oba katjonska položaja u CoHAp kristalnoj strukturi je redom 4,3; 9,5; 11,7 i 11,5 at.%. Na osnovu toga može se zaključiti da pri datim uslovima hidrotermalnog procesiranja, maksimalni sadržaj jona kobalta koji zamenjuju kalcijum u strukturi HAp-a saturira na oko 12 at.% i dalji porast koncentracije kobaltovih jona u početnoj suspenziji ne dovodi do porasta Co^{2+} jona u sintetisanim kristalnim strukturama. U tabeli 5.1 dat je i prikaz stehiometrija, sintetisanih prahova, izračunatih na osnovu vrednosti okupacionih faktora dobijenih Ritveldovom analizom (detaljnije u poglavlju 5.1.5).

5.1.2 Raspodela veličina čestica

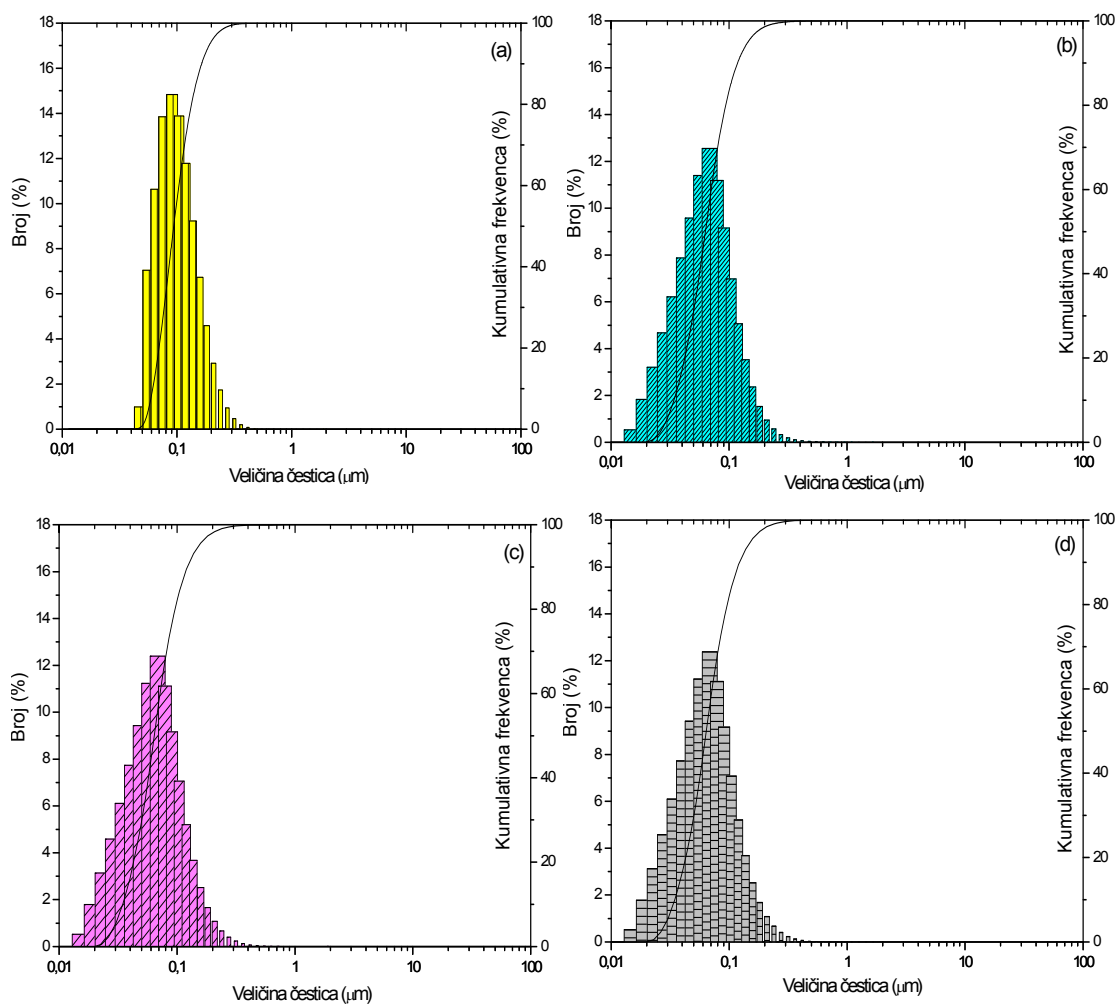
Dok je veličina kristalita procenjena na osnovu rendgenske difrakcione analize (XRD), raspodela veličina čestica određena je pomoću laserskog uređaja za analizu veličine čestica. Osim toga, ovaj uređaj korišćen je i za ispitivanje prirode i stepena aglomeracije u hidrotermalno sintetisanim prahovima. Pouzdanost ove metode zavisi od disperzije prahova [109]. Ukoliko ispitivani prahovi predstavljaju aglomerate čestica čije se dimenzije nalaze na nanoskali, biće ih veoma teško dispergovati do individualnih čestica i rezultati će pokazivati veličinu i distribuciju aglomerata. Da bi se tačno utvrdila priroda i stepen aglomeracije, distribucija veličina čestica sintetisanih prahova meri se pre i posle ultrazvučnog tretmana. Pre ultrazvučnog tretmana, svi prahovi se uglavnom sastoje od aglomerata čija se veličina nalazi između 1 i 4 μm . Nakon tri minuta ultrazvučnog deaglomerisanja, veličina aglomerata opada sa mikro- na nanonivo. Prema tome, može se zaključiti da su ovi aglomerati u suštini „meki”, odnosno da su čestice međusobno povezane slabim Van der Valsovim silama koje mogu biti lako raskinute primenom ultrazvuka niskog intenziteta.

Raspodela veličina čestica čistog (slika 5.1) HAp-a, sintetisanog hidrotermalnim procesiranjem na 200 °C veoma je uska ($span = 1,075$), sa srednjom veličinom čestica od 94 nm, dok je preko 90 % čestica manje od 163 nm. Ulaskom Co^{2+} jona u strukturu HAp-a srednja veličina čestica opada od 94 (za čist HAp) na 63 nm (za Co_5HAp), dok se opseg raspodela veličina čestica širi ($span = 1,338$). Daljim povećanjem sadržaja kobalta (Co_{10}HAp) ne menjaju se ni vrednosti veličina čestica, kao ni vrednosti raspodela veličina čestica. Srednja veličina čestica za ovaj prah jeste 64 nm, a $span = 1,387$. Povećanjem sadržaja Co^{2+} u strukturi (Co_{20}HAp) dobijaju se prahovi sa česticama čije je $d_{50} = 71$ nm i uskim opsegom raspodele veličina čestica sa $span = 1,356$ (tabela 5.2).

Posmatrane vrednosti srednje veličine čestica (d_{50} u tabeli 5.2) veće su od odgovarajućih vrednosti srednjih veličina kristalita određenih na osnovu rendgenske difrakcije na prahu. Ovo odstupanje može da se objasni prisustvom aglomerata čestica koji se sastoje od nekoliko kristalita. Vrednosti veličina čestica na 10, 50 i 90 % kumulativne težine, prikazane su u tabeli 5.2.

Tabela 5.2. Srednja veličina kristalita i veličina čestica CoHAp prahova.

Uzorak	Srednja veličina kristalita [nm]	Veličina čestica [nm]		
		d_{10}	d_{50}	d_{90}
HAp	40,3(7)	62	94	163
Co5HAp	25,6(5)	34	63	117
Co10HAp	19,1(14)	35	64	124
Co15HAp	14,8(14)	-	-	-
Co20HAp	13,5(16)	31	71	136



Slika 5.1. Raspodela veličina čestica hidrotermalno sintetisanih prahova: (a) HAp, (b) Co5HAp, (c) Co10HAp i (d) Co20HAp.

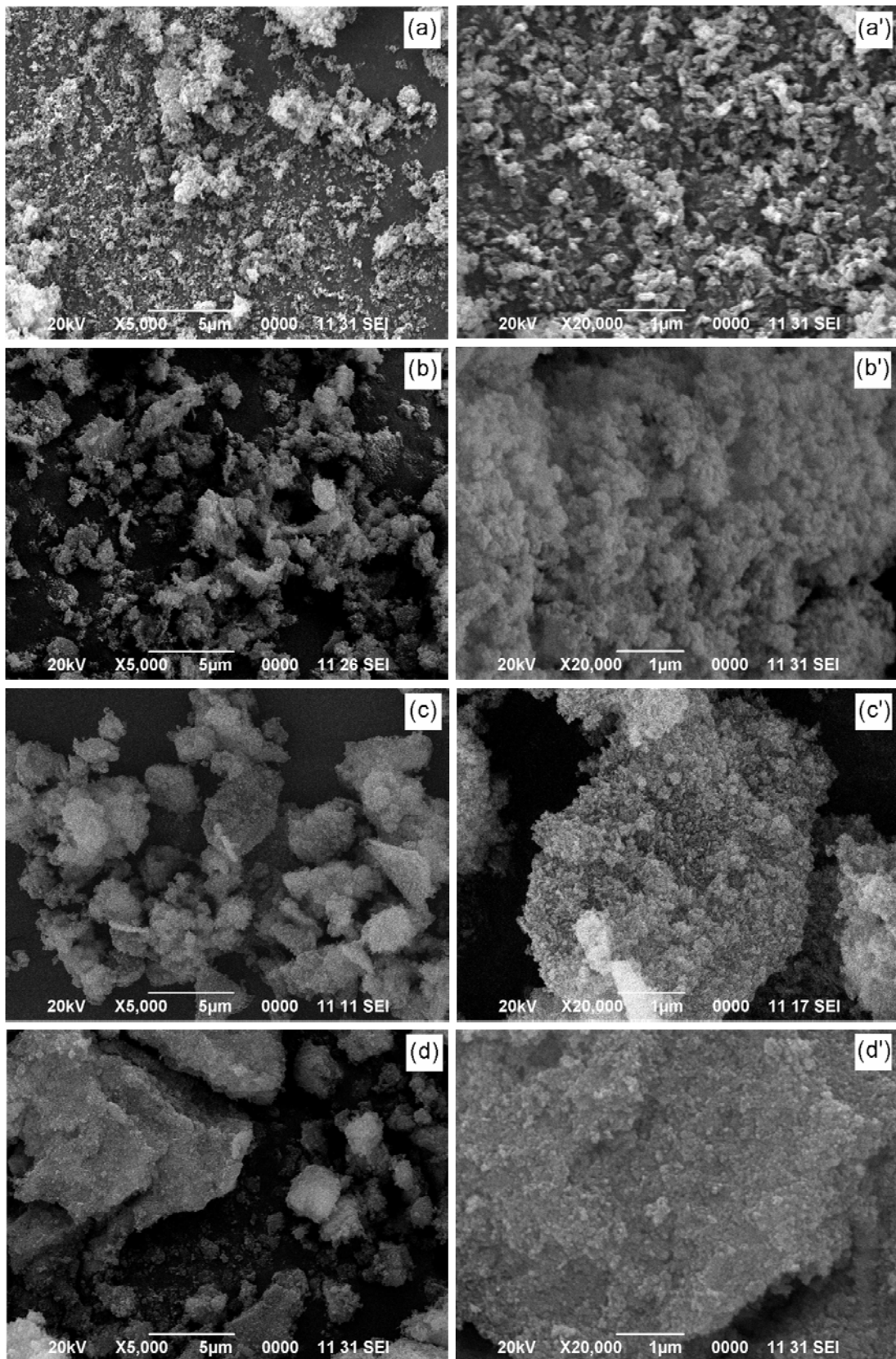
5.1.3 Mikroskopska ispitivanja

5.1.3.1 Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Skenirajuća elektronska mikroskopija CoHAp prahova pokazuje strukturu neuniformno raspoređenih aglomerata sa različitim srednjim veličinama čestica (slika 5.2). Očigledno je da prisustvo Co^{2+} katjona unutar strukture HAp-a menja njihovu morfologiju. Čist hidroksiapatit sa prosečnom veličinom čestica od 94 nm (na osnovu PSA) javlja se u vidu „mekih“ aglomerata, čija je veličina oko 2 μm (slika 5.2a). Za uzorak Co5HAp, čija je prosečna veličina čestica 63 nm, karakteristični su rastresiti „meki“ aglomerati prosečne veličine od nekoliko stotina nanometara do 4 μm (slika 5.2b). Dalje povećanje sadržaja kobalta u strukturi HAp-a prouzrokuje porast aglomeracije.

Kristalni prah Co10HAp-a, koji se sastoji od čestica čija je prosečna veličina 64 nm, sačinjen je od aglomerata čija prosečna veličina ide i preko 6 μm (slika 5.2c). Na kraju, uzorak Co20HAp sa prosečnom veličinom čestica između 40-140 nm, konsolidovan je u velike aglomerate, čija veličina prevazilazi 14 μm (slika 5.2d). Uzimajući u obzir rezultate rendgenske difrakcione analize PSA i SEM analize, može se zaključiti da povećanje sadržaja Co^{2+} u kristalnoj strukturi HAp-a prouzrokuje smanjenje veličine kristalita. Takođe, sa povećanjem sadržaja Co^{2+} , raste tendencija kristalita ka aglomeraciji što prouzrokuje formiranje većih čestica, odnosno aglomerata.

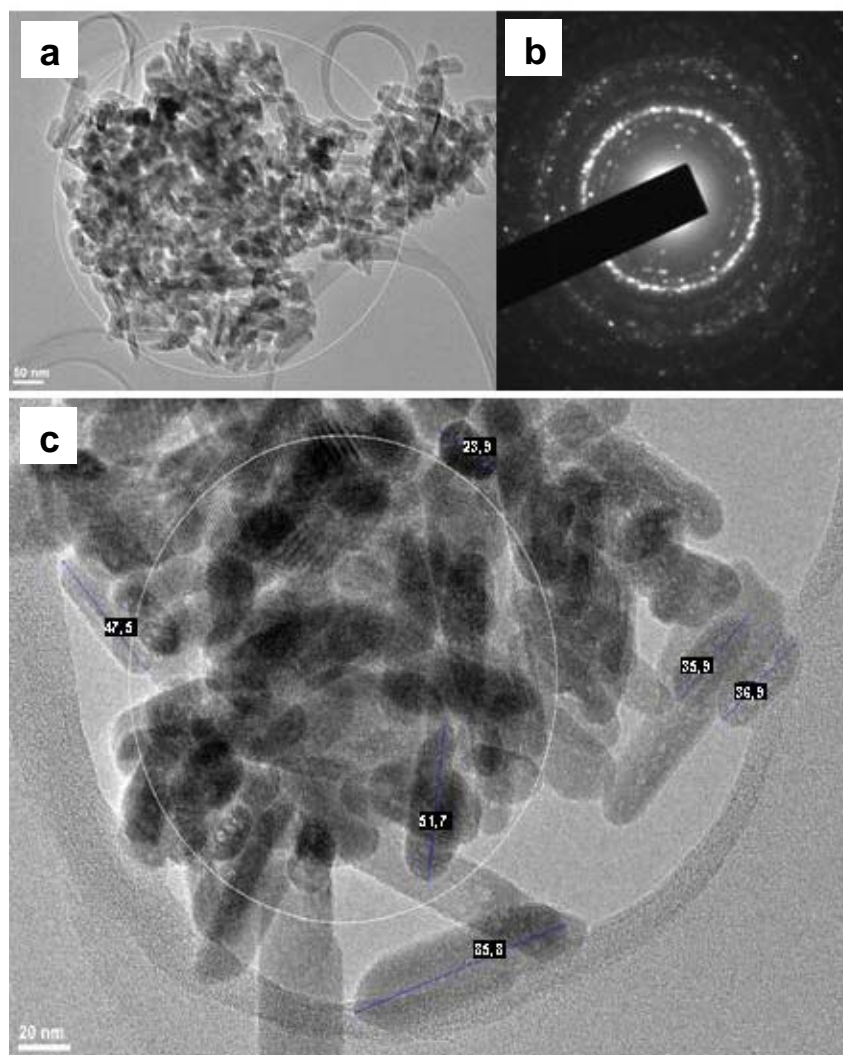
Veličina aglomerata raste sa porastom sadržaja Co^{2+} jona u strukturi i zbog toga što kobalt podstiče aglomeraciju nanočestica u rastvoru prilikom sinteze. Međutim, iako se morfologija aglomerata menja zavisno od sadržaja kobalta u strukturi, oni i dalje ostaju „meki“ kako je i primećeno na početku.



Slika 5.2. Morfologija CoHAp prahova sintetisanih hidrotermalnom metodom na 200 °C: (a-a') HAp, (b-b') Co5HAp, (c-c') Co10HAp i (d-d') Co20HAp. Leva strana: (a-d) 5000 x uvećanje i desna strana: (a'-d') 20000 x uvećanje.

5.1.3.2 Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM i HRTEM)

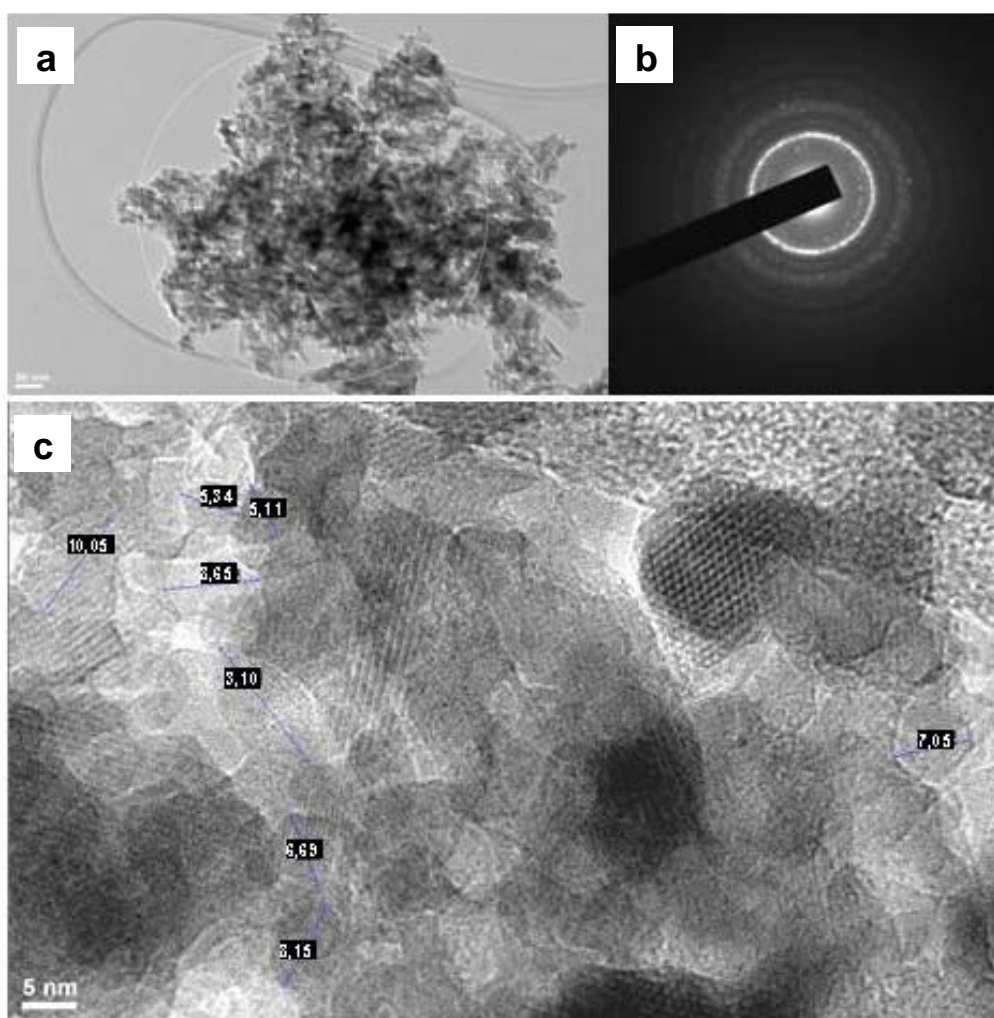
Promena morfologije i veličine kristalita sa porastom sadržaja kobalta u CoHAp prahovima dodatno je potvrđena TEM i HRTEM analizom. Očigledno je da su morfologija i oblik kristalita uslovljeni prisustvom kobalta u strukturi uzoraka. Kristalni prah čistog hidroksiapatita čine slučajno orijentisani, izduženi pritkasti kristaliti (slika 5.3 a i c). Njihova veličina je neujednačena i kreće se u intervalu od 20 do 90 nm. Metoda elektronske difrakcije u izabranoj tački (SAED) daje pravilne koncentrične krugove što predstavlja još jedan dokaz polikristalnog karaktera uzorka (slika 5.3 b).



Slika 5.3. TEM mikrografija čistog hidroksiapatita (a), SAED analiza (b), HRTEM mikrografija i veličina kristalita (c).

TEM mikrografija uzoraka sa najvećim sadržajem kobalta u strukturi, Co15HAp, pokazuje da se morfologija kao i veličina kristalita znatno menjaju (slika

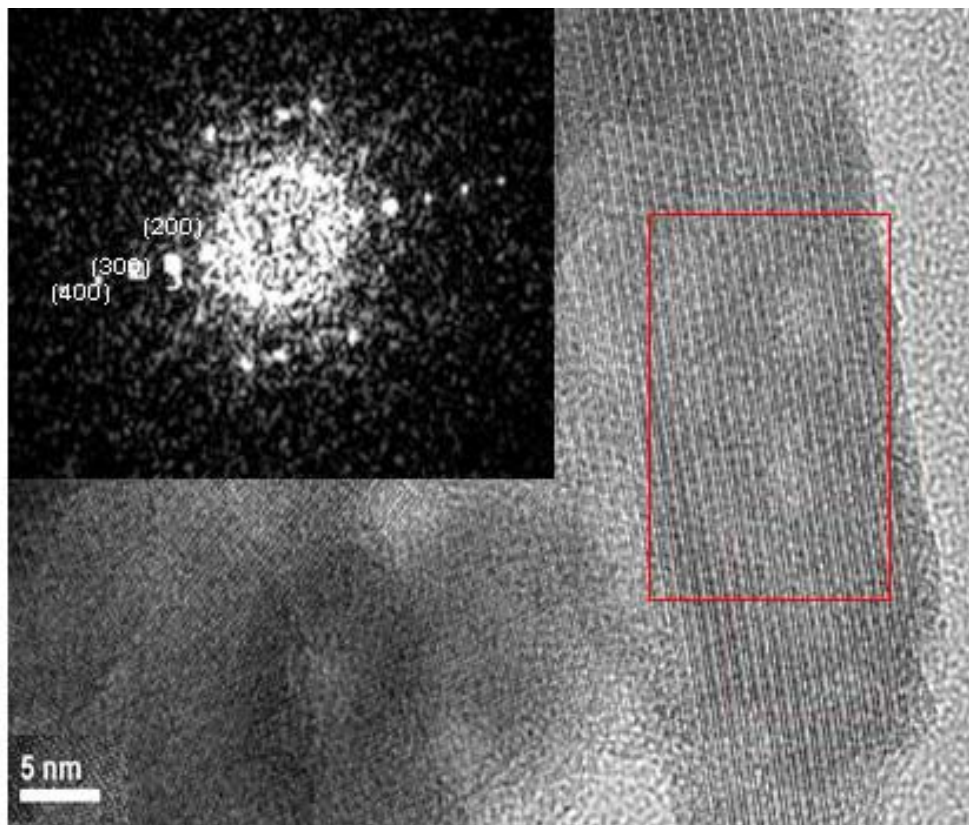
5.4 a i c). Očigledna je promena morfologije čestica. Jasno se vidi da ulazak Co^{2+} jona u strukturu HAp-a prouzrokuje smanjenje anizotropije rasta kristalita. Naime, izduženi, štapićasti oblik transformiše se u zdepaste, zaobljene forme bez vidljivog preferentnog rasta kristalita. Takođe, jasno se uočava i smanjenje veličine kristalita. U uzorku sa maksimalnim sadržajem kobalta veličina čestica izmerena na osnovu TEM slika kreće se u intervalu od 5 do 20 nm što je znatno manje nego kod HAp-a bez prisustva kobalta u strukturi. Slika elektronske difrakcije u izabranoj tački (SAED) i u ovom slučaju ukazuje na to da je ispitivani uzorak polikristalan (slika 5.4 b).



Slika 5.4. TEM mikrografija Co_{15}HAp uzorka (a), SAED analiza (b), HRTEM analiza sa veličinom kristalita (c).

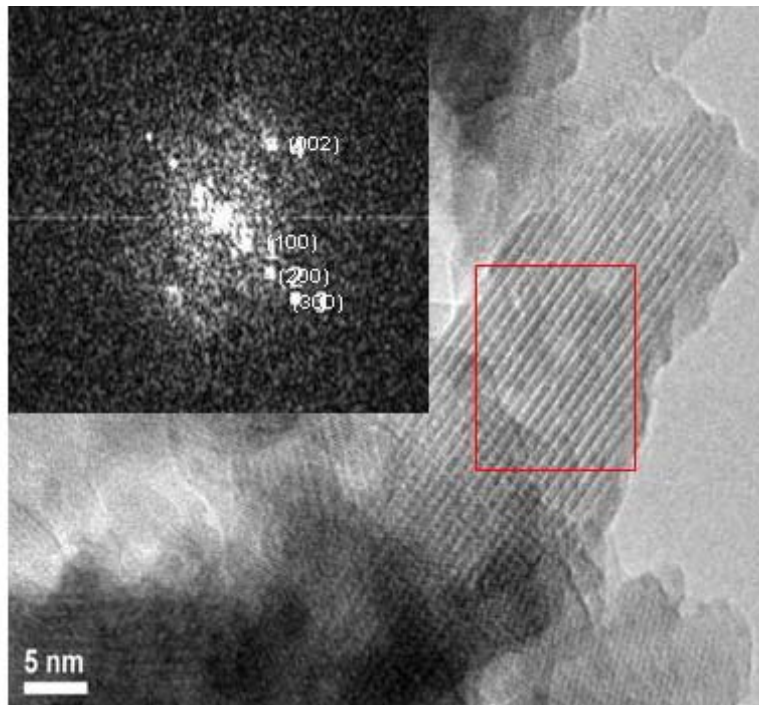
Visoko rezoluciona transmisiona elektronska mikroskopija (HRTEM) pruža dodatni uvid u morfologiju i strukturne karakteristike ispitivanih hidroksiapatita. Na osnovu HRTEM mikrografije i odgovarajuće Furieove transformacije (FFT), potvrđena je heksagonalna simetrija dva krajnja člana ispitivane serije uzoraka, čist

HAp (slika 5.5) i uzorak sa najvećim sadržajem Co^{2+} jona u strukturi Co_{15}HAp (slika 5.6). Podaci za HAp (slika 5.5) pokazuju dva niza kristalografskih ravni, koja odgovaraju (200) i (300) sa međupljosnim rastojanjima d od 4,12 i 2,74 Å, što je u skladu sa literaturnim podacima datim za HAp sa sličnim hemijskim sastavom.

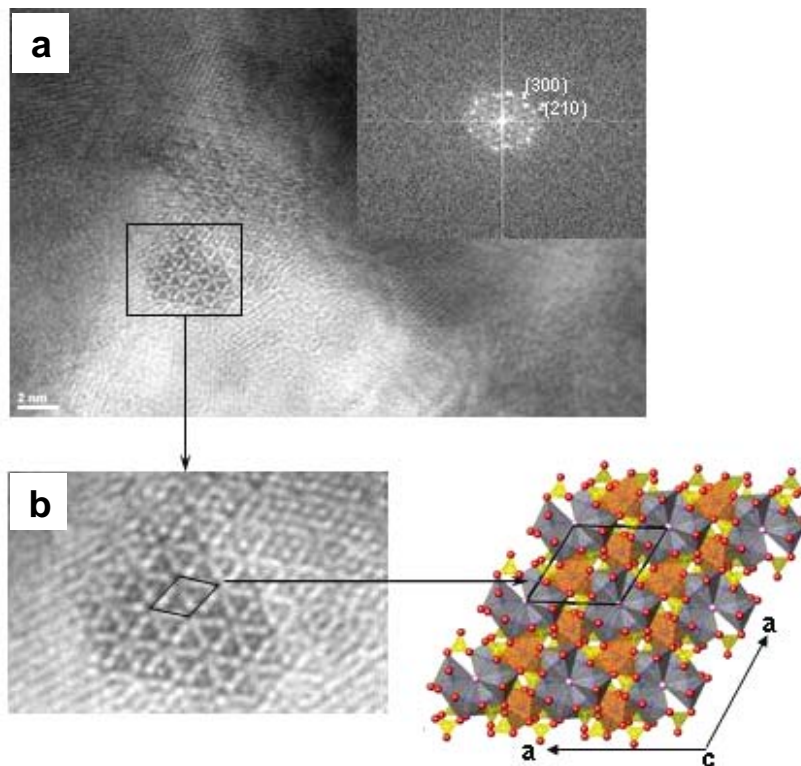


Slika 5.5. Furijeova transformacija uzorka čistog hidroksiapatita.

Izračunata FFT za uzorak Co_{15}HAp pokazuje četiri niza kristalografskih ravni (isečak na slici 5.6). Tri od njih seku kristalografsku osu a i odgovaraju (100), (200) i (300) kristalografskim ravnima sa d vrednostima 7,99; 3,99; 2,66 Å što je slično vrednostima dobijenim za čist HAp (8,17; 4,12; 2,74 Å). Četvrti izračunati niz kristalografskih ravni, odgovara [002] pravcu, a d vrednost je 3,44 Å. Slika 5.7 takođe daje prikaz HRTEM i Furijeove transformacije (isečak na slici) uzorka Co_{15}HAp . Međutim, na ovoj slici su prikazani kristaliti orjentisani normalno na kristalografsku osu c . Dobijeni podaci pokazuju dva niza kristalografskih ravni (300) i (210) sa odgovarajućim d vrednostima od 2,71 i 2,96 Å. Na ovoj slici prikazana je i struktura HAp-a normalno na kristalografsku c -osu.



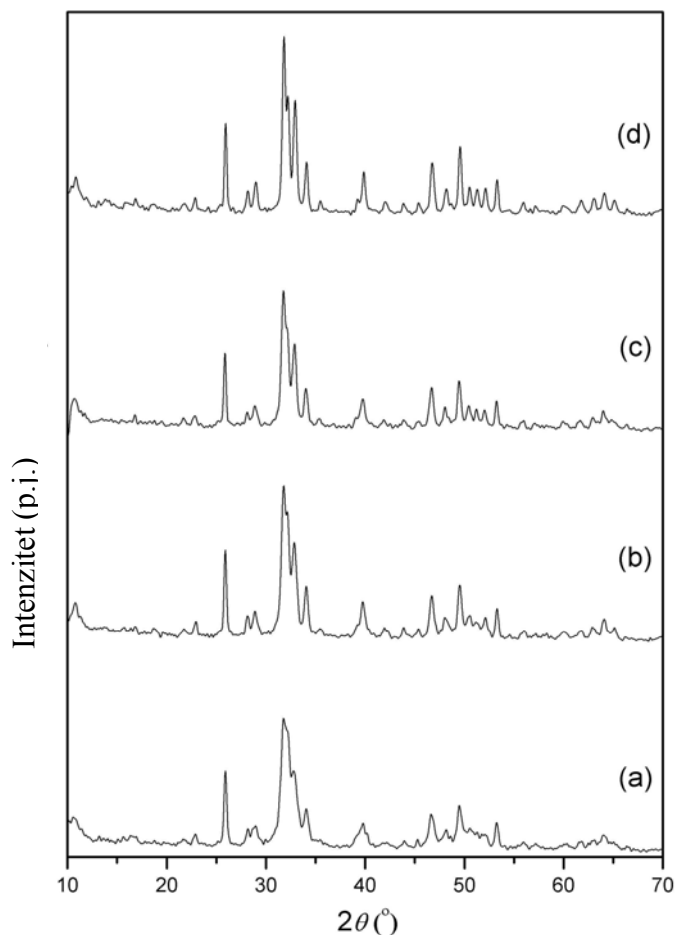
Slika 5.6. Furijeova transformacija uzorka sa maksimalnim sadržajem kobalta Co15HAp.



Slika 5.7. Furijeova transformacija uzorka sa maksimalnim sadržajem kobalta Co15HAp. Prikaz strukture normalno na c-osu.

5.1.4 Fazni sastav

Rendgenski difraktogrami kristalnih prahova sintetisanih hidrotermalnim procesiranjem na različitim temperaturama prikazani su na slici 5.8. Sve refleksije na prikazanim dijagramima praha odgovaraju refleksijama hidroksiapatita u skladu sa JCPDS karticom broj 09-0432 [110]. Široki pikovi, malih intenziteta ukazuju na nizak stepen kristaliničnosti kao i malu veličinu kristalita.

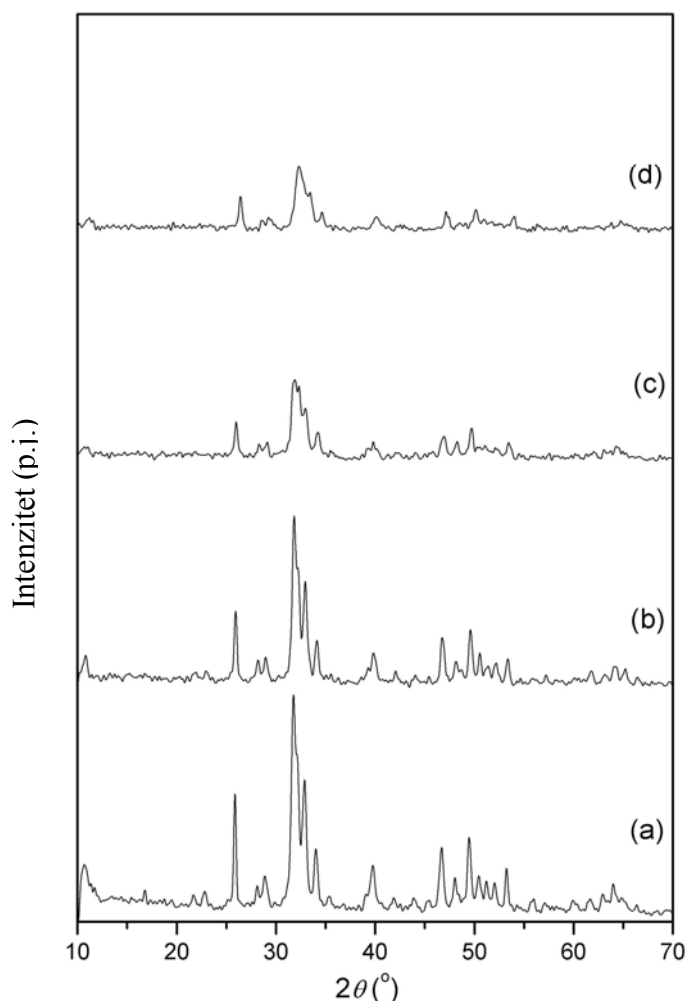


Slika 5.8. Prikaz rendgenskih dijagrama praha hidrotermalno sintetisanih uzoraka HAp-a na (a) 100, (b) 150, (c) 200 i (d) 250 °C. Intenziteti refleksija prikazanih difraktograma normirani su na istu skalu.

Sa porastom temperature hidrotermalne sinteze od 100 do 250 °C difrakcioni maksimumi se sužavaju, a intenziteti postepeno rastu što ukazuje na uređenje kristalne strukture i porast veličine kristalita.

S obzirom da Ramanski spektri ukazuju na delimičnu transformaciju HAp-a u β -TCP tokom hidrotermalnog tretmana na 250 °C (poglavlje 5.1.6), kristalni prah sintetisan na 200 °C odabran je kao najpogodniji za ispitivanje mogućnosti zamene

kalcijumovih jona jonima kobalta u strukturi hidroksiapatita. Na ovaj način sintetisani su kristalni prahovi sa nominalnim sadržajem kobalta od 0; 5; 10; 15 i 20 % (tabela 5.1). Rendgenski dijagrami praha za ove uzorke prikazani su na slici 5.9.



Slika 5.9 Rendgenski dijagrami CoHAp prahova sintetisanih hidrotermalnom metodom na 200 °C: (a) HAp, (b) Co5HAp, (c) Co10HAp i (d) Co20HAp. Intenziteti refleksija prikazanih difraktograma normirani su na istu skalu.

Sa porastom sadržaja kobaltovih jona u strukturi hidroksiapatita, opada veličina kristalita kao i stepen iskristalisanosti ispitivanih prahova na šta ukazuje znatno širenje refleksija i smanjenje njihovog intenziteta.

Za ove uzorke urađena je detaljna analiza kako bi se utvrdio uticaj zamene kalcijumovih jona jonima kobalta na strukturne, mikrostrukturne i morfološke karakteristike sintetisanih prahova. Rezultati ovih istraživanja dati su dalje u tekstu.

5.1.5 Ritveldova analiza i mikrostrukturni parametri

Prikazani Ritveldovi dijagrami (slika 5.10a-e) pokazuju dobro slaganje izračunatog i izmerenog strukturnog modela ispitivanih uzoraka. Analiza difraktograma kao i strukturno utajnjavanje pokazali su da ispitivani prahovi predstavljaju monofazne sisteme HAp-a (slika 5.10a) i CoHAp-a bez obzira na sadržaj kobalta u strukturi (slika 5.10b-e). Intenziteti refleksija na prikazanim dijagramima praha normirani su na istu vrednost. Međutim, uzimajući u obzir činjenicu da su intenziteti za ispitivane uzorke prikupljeni na dva različita difraktometra, nije moguće njihovo direktno poređenje.

Utačnjene vrednosti parametara jediničnih ćelija, i vrednosti uglova distorzije prikazane su u tabeli 5.10. Očigledno je da vrednosti zapremine i parametara a i c opadaju sa povećanjem procenta zamene jona kalcijuma jonima kobalta u kristalnoj strukturi CoHAp-a.

Tabela 5.3. Parametri jediničnih ćelija i zapremine.

Uzorak	$a(\text{Å})$	$c(\text{Å})$	$V(\text{Å}^3)$	Zavrtanjski ugao distorzije φ (°)
Mostafa <i>et al.</i> ¹¹¹	9,412*	6,853*	525,75*	24,8
Stork <i>et al.</i> ¹¹²	9,438*	6,887*	531,28*	23,5
Hughes <i>et al.</i> ⁵⁸	9,417*	6,874*	527,91*	23,1
HAp	9,4239(1)	6,8779(1)	529,00(1)	23,8
Co5HAp	9,4152(3)	6,8671(2)	527,19(3)	23,6
Co10HAp	9,4066(4)	6,8509(4)	524,98(4)	23,4
Co15HAp	9,4117(5)	6,8433(4)	524,97(5)	22,3
Co20HAp	9,4089(5)	6,8396(2)	524,37(5)	22,3

*standardne devijacije nisu date u citiranim člancima

U tabeli 5.3 prikazane su i literaturne vrednosti parametara jediničnih ćelija nedopiranih, sintetičkih hidroksiapatita [58, 111, 112].

5.1.5 Ritveldova analiza i mikrostrukturni parametri

b

Prikazani Ritveldovi dijagrami (slika 5.10a-e) pokazuju dobro slaganje izračunatog i izmerenog strukturnog modela ispitivanih uzoraka. Analiza difraktograma kao i strukturno utačnjavanje pokazali su da ispitivani prahovi predstavljaju monofazne sisteme HAp-a (slika 5.10a) i CoHAp-a bez obzira na sadržaj kobalta u strukturi (slika 5.10b-e). Intenziteti refleksija na prikazanim dijagramima praha normirani su na istu vrednost. Međutim, uzimajući u obzir činjenicu da su intenziteti za ispitivane uzorke prikupljeni na dva različita difraktometra, nije moguće njihovo direktno poređenje.

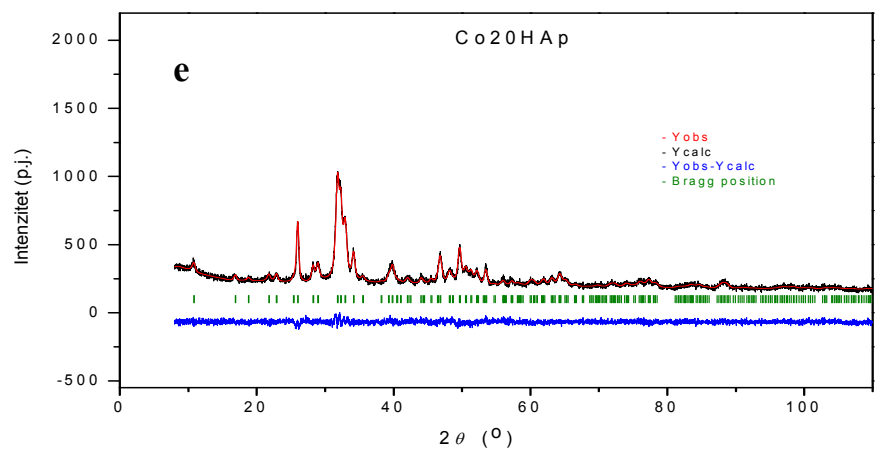
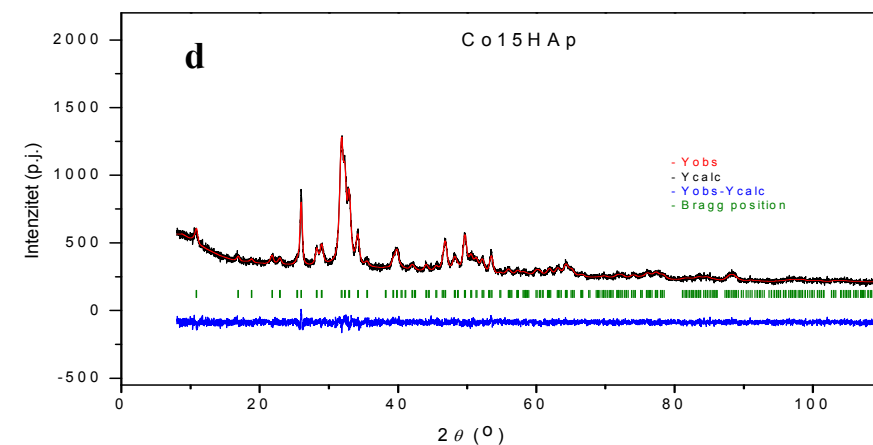
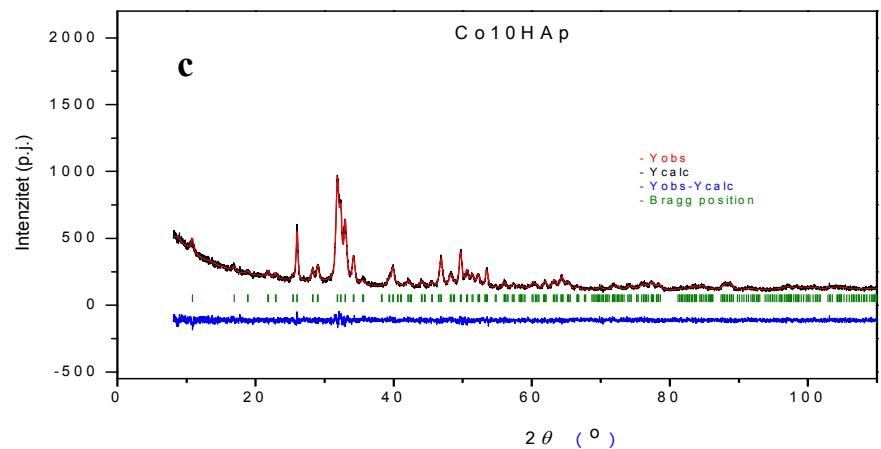
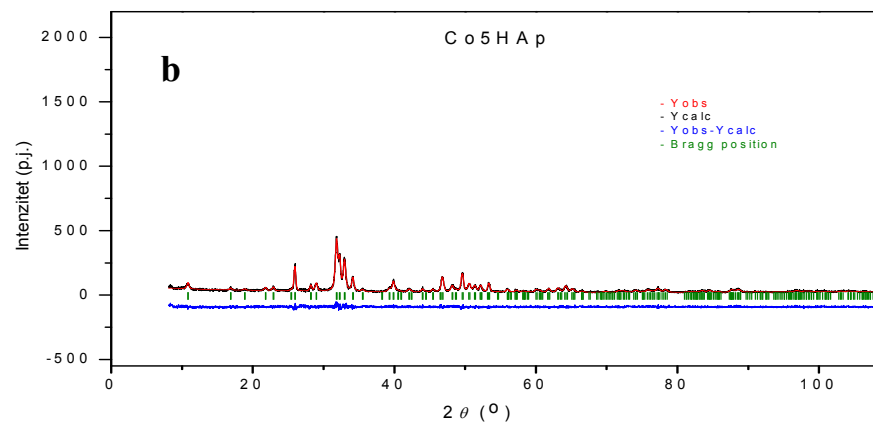
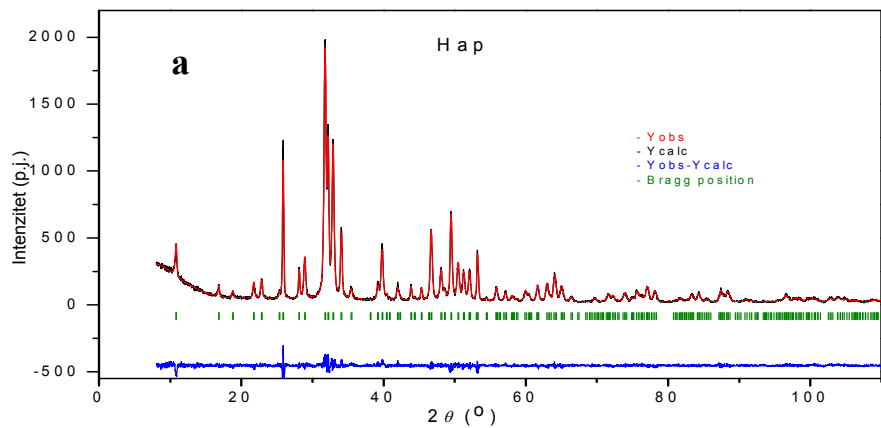
Utačnjene vrednosti parametara jediničnih ćelija, i vrednosti uglova distorzije prikazane su u tabeli 5.10. Očigledno je da vrednosti zapremina i parametara a i c opadaju sa povećanjem procenta zamene jona kalcijuma jonima kobalta u kristalnoj strukturi CoHAp-a.

Tabela 5.3. Parametri jediničnih ćelija i zapremine.

Uzorak	$a(\text{Å})$	$c(\text{Å})$	$V(\text{Å}^3)$	Zavrtanjski ugao distorzije φ ($^\circ$)
Mostafa <i>et al.</i> ¹¹⁰	9,412*	6,853*	525,75*	24,8
Stork <i>et al.</i> ¹¹¹	9,438*	6,887*	531,28*	23,5
Hughes <i>et al.</i> ⁵⁹	9,417*	6,874*	527,91*	23,1
HAp	9,4239(1)	6,8779(1)	529,00(1)	23,8
Co5HAp	9,4152(3)	6,8671(2)	527,19(3)	23,6
Co10HAp	9,4066(4)	6,8509(4)	524,98(4)	23,4
Co15HAp	9,4117(5)	6,8433(4)	524,97(5)	22,3
Co20HAp	9,4089(5)	6,8396(2)	524,37(5)	22,3

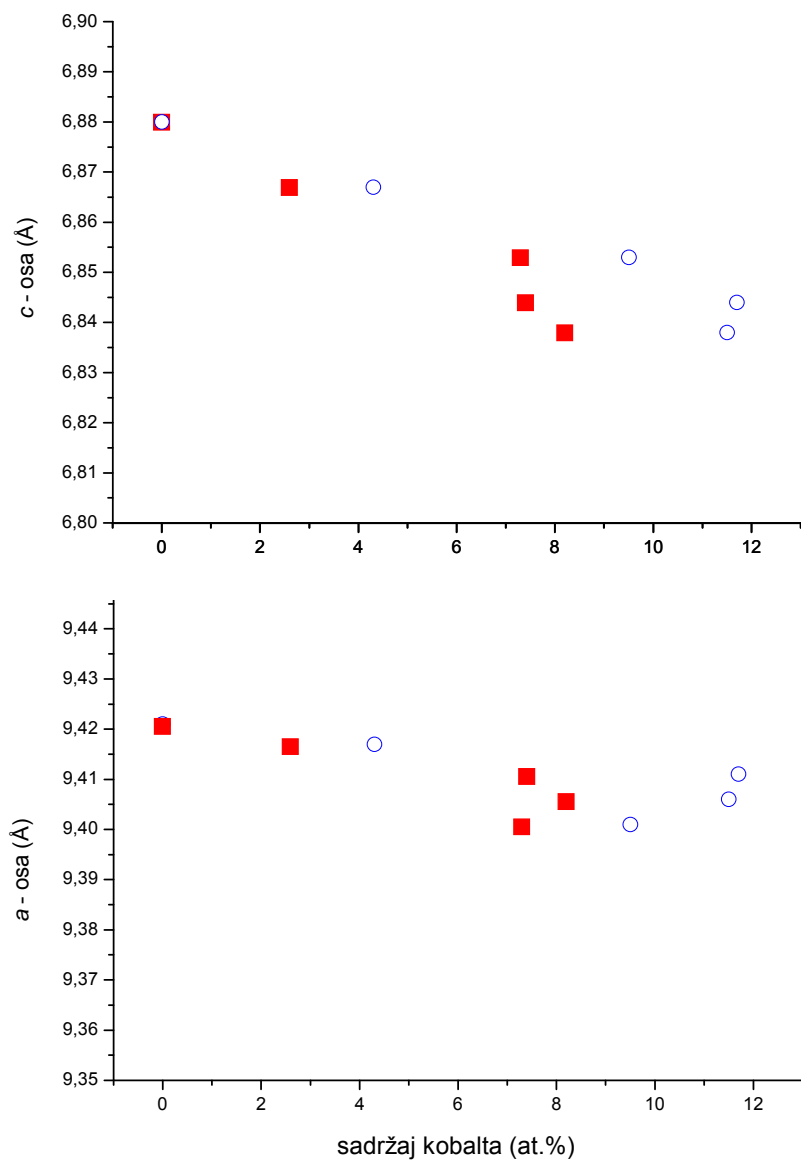
*standardne devijacije nisu date u citiranim člancima

U tabeli 5.3 prikazane su i literaturne vrednosti parametara jediničnih ćelija nedopiranih, sintetičkih hidroksiapatita [59, 110, 111].



Slika 5.10. Utačnjeni dijagrami uzoraka (a) HAp-a, (b) Co5HAp-a, (c) Co10HAp-a, (d) Co15HAp-a, (e) Co20HAp-a.

Ova pojava je i očekivana s obzirom da je jonski radijus Co^{2+} jona manji od radijusa Ca^{2+} jona [113, 114]. Na slici 5.11 prikazana je promena parametara jediničnih ćelija uzoraka HAp-a i CoHAp-a u zavisnosti od saržaja Co^{2+} jona dobijenog na osnovu ICP analize (plavi krugovi) i na osnovu izračunatih vrednosti okupacionih faktora (crveni kvadratići).



Slika 5.11. Zavisnost parametara jediničnih ćelija od sadržaja kobalta u HAp i CoHAp fazama.

I jedne i druge vrednosti ukazuju na bržu promenu duž c -ose, što dalje ukazuje na znatne promene u $M2$ katjonskom položaju.

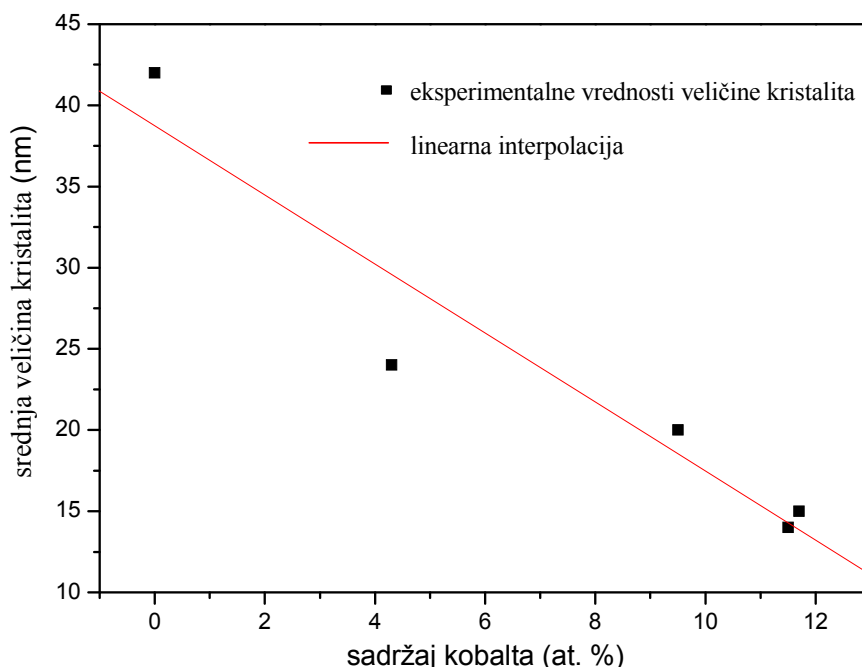
Tabela 5.4. Utačnjene vrednosti položaja atoma i okupacionih faktora.

	M1	M2	P	O1	O2	O3	O4
HAp							
<i>x</i>	1/3	0,2454(3)	0,3981(1)	0,3273(7)	0,5861(1)	0,3414 (5)	0
<i>y</i>	2/3	0,9936(3)	0,3696(1)	0,4850(6)	0,4648(7)	0,2559(4)	0
<i>z</i>	0,0014(5)	1/4	1/4	1/4	1/4	0,0725(4)	0,187(2)
Occ	1/3	1/2	1/2	1/2	1/2	1	0,1666
$R_F = 3,86$							
$R_B = 4,83$							
Co5HAp							
<i>x</i>	1/3	0,2450(6)	0,3967(1)	0,329(1)	0,5848(2)	0,3441(9)	0
<i>y</i>	2/3	0,9934(7)	0,3697(2)	0,488(1)	0,464(1)	0,2602(8)	0
<i>z</i>	0,002(1)	1/4	1/4	1/4	1/4	0,0685(7)	0,178(3)
Occ (Ca)	0,332(3)	0,479(6)	1/2	1/2	1/2	1	0,1666
Occ (Co)	0,001(3)	0,021(6)					
$R_F = 3,00$							
$R_B = 4,23$							
Co10HAp							
<i>x</i>	1/3	0,2467(5)	0,3961(1)	0,331(1)	0,5844(2)	0,3446(8)	0
<i>y</i>	2/3	0,9960(7)	0,3675(2)	0,488(1)	0,465(1)	0,2577(7)	0
<i>z</i>	0,003(1)	1/4	1/4	1/4	1/4	0,0682(6)	0,183(3)
Occ (Ca)	0,317(3)	0,455(6)	1/2	1/2	1/2	1	0,1666
Occ (Co)	0,016(3)	0,045(6)					
$R_F = 2,52$							
$R_B = 4,32$							
Co15HAp							
<i>x</i>	1/3	0,2475(5)	0,3959(1)	0,3349(1)	0,5841(2)	0,3457(1)	0
<i>y</i>	2/3	0,9983(7)	0,3678(1)	0,491(1)	0,467(1)	0,2558(8)	0
<i>z</i>	0,005(1)	1/4	1/4	1/4	1/4	0,0702(7)	0,179(3)
Occ (Ca)	0,315(3)	0,456(6)	1/2	1/2	1/2	1	0,1666
Occ (Co)	0,018(3)	0,044(6)					
$R_F = 2,62$							
$R_B = 3,29$							
Co20HAp							
<i>x</i>	1/3	0,2467(5)	0,3963(1)	0,333(1)	0,5846(2)	0,3434(1)	0
<i>y</i>	2/3	0,9977(5)	0,3678(1)	0,489(1)	0,466(1)	0,2577(7)	0
<i>z</i>	0,003(1)	1/4	1/4	1/4	1/4	0,0682(6)	0,175(3)
Occ (Ca)	0,324(3)	0,441(6)	1/2	1/2	1/2	1	0,1666
Occ (Co)	0,009(3)	0,059(6)					
$R_F = 2,70$							
$R_B = 3,64$							

Ovakva zapažanja u skladu su sa rezultatima strukturnog utičnjavanja kao i sa literaturnim podacima. Naime, Mercier i dr. [50] pokazili su da je parametar jedinične ćelije *a* vezan za $M1O_6-PO_4$ poliedarsko uređenje, dok $-M2-O3-P-O3-M2-$ kanali, smešteni duž zavrtnajnske ose šestog reda 6₃, kontrolišu promene parametra jedinične ćelije *c*. Utačnjene vrednosti položaja atoma i okupacionih faktora prikazani su u tabeli 5.4.

Sa porastom sadržaja Co^{2+} jona, jasno se uočava širenje refleksija kao i opadanje njihovog intenziteta što ukazuje na smanjenje veličine kristalita i opadanje stepena kristaliničnosti. Detaljna mikrostrukturna analiza ispitivanih kristalnih

prahova pokazuje smanjenje veličine kristalita i promenu morfologije sa povećanjem sadržaja kobalta. Srednje vrednosti veličine kristalita opadaju od 40,3; 25,6; 19,1; 14,8; i 13,5 nm za prahove redom HAp, Co5HAp, Co10HAp, Co15HAp i Co20HAp (slika 5.12).

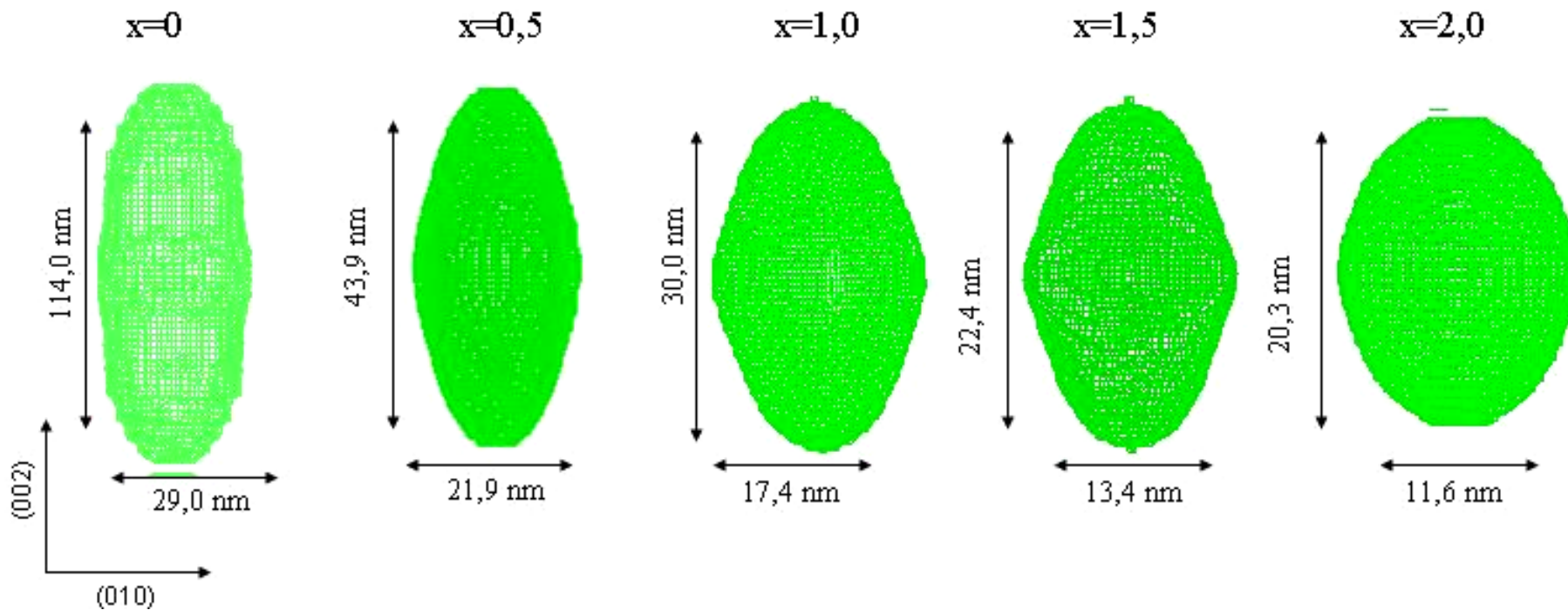


Slika 5.12. Srednja veličina kristalita CoHAp prahova u zavisnosti od sadržaja kobalta.

Ako se uporede rezultati određivanja srednje veličine čestica (94; 63; 64; i 71 nm za uzorke redom HAp, Co5HAp, Co10HAp, Co15HAp i Co20HAp, tabela 5.2) i vrednosti srednje veličine kristalita dobijene na osnovu rendgenske strukturne analize (40,3; 25,6; 19,1; 14,8 i 13,5 tabela 5.2) za iste uzorke može da se zaključi da je srednja veličina čestica veća od srednje veličine kristalita. Ova razlika može da se objasni prisustvom aglomerata u ispitivanim prahovima.

Strukturno utačnjavanje jasno ukazuje na anizotropno širenje difrakcionih maksimuma kao posledica anizotropnog rasta kristalita. S obzirom da se anizotropija menja zavisno od jonskog radijusa [43, 108], delimična zamena kalcijumovih jona jonima kobalta u strukturi HAp-a, prouzrokuje kako smanjenje anizotropije tako i srednje veličine kristalita. S obzirom da strukturno utačnjavanje uz pomoć kompjuterskog programa FullProf omogućava određivanje veličine kristalita u različitim $[hkl]$ pravcima, utvrđen je preferentni rast kao i morfologija kristalita ispitivanih sistema. Dobijene vrednosti ukazuju na znatno izduženje kristalita duž c -ose što uslovljava njihovu štapičastu morfologiju. Primećeno je da se anizotropija

rasta kristalita smanjuje sa porastom sadržaja kobalta u strukturi, što uslovljava promenu morfologije od štapićastih ka kapljičastim formama kristalita. Promena morfologije kristalita sa povećanjem katjonske izmene unutar ispitivanih struktura prikazana je na slici 5.13. Sličnu pojavu primetili su i drugi autori [96, 98, 108].



Slika 5.13. Prikaz promene morfologije i veličine kristalita sa porastom sadržaja kobalta.

Tabela 5.5. Vrednosti dužina veza (\AA) u CoHAp.

HAp	Co5HAp	Co10HAp	Co15HAp	Co20HAp
$M1-O1 : 2.400(5) \times 3$	$M1-O1 : 2.378(9) \times 3$	$M1-O1 : 2.380(9) \times 3$	$M1-O1 : 2.358(9) \times 3$	$M1-O1 : 2.372(8) \times 3$
$M1-O2 : 2.458(4) \times 3$	$M1-O2 : 2.459(8) \times 3$	$M1-O2 : 2.467(7) \times 3$	$M1-O2 : 2.490(6) \times 3$	$M1-O2 : 2.470(8) \times 3$
$M1-O3 : 2.819(5) \times 3$	$M1-O3 : 2.801(8) \times 3$	$M1-O3 : 2.786(7) \times 3$	$M1-O3 : 2.777(8) \times 3$	$M1-O3 : 2.798(6) \times 3$
$\langle M1-O \rangle 2.559$	$\langle M1-O \rangle 2.546$	$\langle M1-O \rangle 2.544$	$\langle M1-O \rangle 2.542$	$\langle M1-O \rangle 2.546$
$M2-O1 : 2.706(6)$	$M2-O1 : 2.73(1)$	$M2-O1 : 2.75(1)$	$M2-O1 : 2.81(1)$	$M2-O1 : 2.79(1)$
$M2-O2 : 2.370(3)$	$M2-O2 : 2.382(5)$	$M2-O2 : 2.356(5)$	$M2-O2 : 2.339(5)$	$M2-O2 : 2.352(5)$
$M2-O3 : 2.486(4) \times 2$	$M2-O3 : 2.528(9) \times 2$	$M2-O3 : 2.488(8) \times 2$	$M2-O3 : 2.449(8) \times 2$	$M2-O3 : 2.476(8) \times 2$
$M2-O3 : 2.358(3) \times 2$	$M2-O3 : 2.332(6) \times 2$	$M2-O3 : 2.335(5) \times 2$	$M2-O3 : 2.360(6) \times 2$	$M2-O3 : 2.333(6) \times 2$
$M2-O4 : 2.383(4)$	$M2-O4 : 2.391(8)$	$M2-O4 : 2.384(7)$	$M2-O4 : 2.387(7)$	$M2-O4 : 2.387(7)$
$\langle M2-O \rangle 2.450$	$\langle M2-O \rangle 2.460$	$\langle M2-O \rangle 2.448$	$\langle M2-O \rangle 2.450$	$\langle M2-O \rangle 2.449$
$P-O1 : 1.534(7)$	$P-O1 : 1.53(1)$	$P-O1 : 1.53(1)$	$P-O1 : 1.53(1)$	$P-O1 : 1.53(1)$
$P-O2 : 1.534(1)$	$P-O2 : 1.534(2)$	$P-O2 : 1.534(2)$	$P-O2 : 1.53(2)$	$P-O2 : 1.534(2)$
$P-O3 : 1.533(3) \times 2$	$P-O3 : 1.533(6) \times 2$	$P-O3 : 1.534(5) \times 2$	$P-O3 : 1.533(6) \times 2$	$P-O3 : 1.533(5) \times 2$
$\langle P-O \rangle 1.533$	$\langle P-O \rangle 1.533$	$\langle P-O \rangle 1.533$	$\langle P-O \rangle 1.532$	$\langle P-O \rangle 1.532$

U tabeli 5.5 prikazane su dužine veza metal-kiseonik ($M-O$) kao i njihove srednje vrednosti preračunate na osnovu podataka dobijenih Ritveldovom analizom za čist HAp kao i za hidroksiapatite u kojima je kalcijum delimično zamenjen kobaltom (CoHAp). Teorijske dužine veza mogu da se izračunaju na osnovu tabelarnih vrednosti radijusa jona [115]. Radijus Ca^{2+} jona u koordinaciji devet je 1,18 Å, dok je radijus Ca^{2+} jona u koordinaciji sedam 1,06 Å. S obzirom da je radijus O^{2-} jona 1,40 Å, lako je izračunati da su teorijske dužine $Ca1-O$ veze 2,58 Å i $Ca2-O$ veza 2,46. Rezultati prikazani u tabeli 5.5 pokazuju da su srednje vrednosti dužine $\langle Ca1/Co1-O \rangle$ veza u intervalu od 2,559-2,546, dok su dužine $\langle Ca2/Co2-O \rangle$ veza od 2,450-2,449. Očigledno je da se srednje vrednosti dužina $\langle Ca1/Co1-O \rangle$ veza smanjuju sa porastom sadržaja kobalta u strukturi ispitivanih kristalnih prahova. Sa druge strane, primećuje se da srednja vrednost $\langle Ca2/Co2-O \rangle$ veza ostaje gotovo nepromenjena. Međutim, ako se pogledaju pojedinačne veze u okviru koordinacionog poliedra koji gradi $Ca2$ katjon, očigledno je da se sa povećanjem sadržaja kobalta u strukturi, duže veze još više produžavaju, a kraće skraćuju, težeći koordinaciji 6 što je karakteristično za kobalt.

Smanjenje vrednosti dužina $M-O$ veza kao posledica ulaska jona sa manjim radijusom u strukturi HAp-a, prouzrokuje odstupanja od pravilne anjonske mreže. Ova pojava može da se objasni uzimajući u obzir promene vrednosti zavrtnajskog ugla distorzije φ ($O1-M1-O2$) $M1O_6$ prizme. Utvrđeno je da vrednost ovog ugla linerno raste sa smanjenjem radijusa jona, odnosno zapremine jedinične ćelije [51]. Vrednost ovog ugla izračunava se iz frakcionih koordinata $M1$, $O1$ i $O2$ na osnovu izraza (20):

$$\cos \varphi = \frac{|(G_3 - G_1)^2 + (H_3 - H_1)^2 + (G_1 - G_2)^2 + (H_1 - H_2)^2 - (G_2 - G_3)^2 - (H_2 - H_3)^2|}{2\sqrt{|(G_3 - G_1)^2 + (H_3 - H_1)^2| \times |(G_1 - G_2)^2 + (H_1 - H_2)^2|}} \quad (20)$$

gde je:

$$G_1 = 0,866x_{M1}, \quad H_1 = y_{M1} - 0,5x_{M1}$$

$$G_2 = 0,866x_{O1}, \quad H_2 = y_{O1} - 0,5x_{O1}$$

$$G_3 = 0,866x_{O2}, \quad H_3 = y_{O2} - 0,5x_{O2}$$

Za uzorke HAp-a u čijoj strukturi je deo Ca^{2+} jona zamenjen Co^{2+} jonima, vrednost zavrtnajskog ugla distorzije φ menja se od 23,81 do 23,57; 23,38; 22,31 i 22,35 za uzorke redom HAp, Co5HAp, Co10HAp, Co15HAp i Co20HAp (tabela 5.3). Male promene u izračunatim vrednostima ugla φ ukazuju na prisustvo jona kobalta u strukturi apatita, ali da je njegov sadržaj nizak. Međutim, Henderson i dr. ukazuju na činjenicu da je Ca^{2+} katjon suviše mali za $M1O_6$ poliedar tako da slabe veze sa kiseonicima koji ga okružuju što pruzrokuje smanjene vrednosti φ uglova [116].

Izračunate srednje vrednosti P—O dužina veza od 1,533; 1,533; 1,533; 1,532 i 1,532 za ispitivane kristalne prahove redom HAp; Co5HAp; Co10HAp; Co15HAp; Co20HAp prikazane su u tabeli 5.5.

Sadržaj kobalta u CoHAp prahovima, izračunat na osnovu utaćnjenih vrednosti okupacionih faktora atoma, je 0; 2,6; 7,3; 7,4 i 8,2 at.% za uzorke redom HAp, Co5HAp, Co10HAp, Co15HAp i Co20HAp. Uzimajući u obzir da je sadržaj kobalta relativno mali (posebno u uzorku Co5HAp), a stepen kristaliniteta ispitivanih prahova nizak, može se reći da se dobijene vrednosti slažu u okviru eksperimentalnih grešaka sa rezultatima dobijenim hemijskom analizom (0; 4,3; 9,5; 11,7 i 11,5). Utaćnjavanjem okupacionih faktora utvrđeno je da joni kobalta nisu ravnomerno raspoređeni između dva katjonska položaja ($M1$ i $M2$) u strukturi hidroksiapatita. Izračunate vrednosti okupacionih faktora za uzorak Co5HAp ukazuju da je položaj $M1$ popunjen sa 99,7% Ca^{2+} jona i 0,3% Co^{2+} jona. U istom uzorku položaj $M2$ zauzima 95,8% Ca^{2+} jona i 4,2% Co^{2+} jona. Takođe, analiza vrednosti okupacionih faktora izračunatih za ostala tri uzorka (tabela 5.4), pokazuje jasnu tendenciju Co^{2+} jona ka $M2$ položaju unutar HAp strukture. Vrednosti su u intervalu od 0,3 do 2,7% za $M1$, dok su za $M2$ od 4,2 do 11,8%. S obzirom da kristalografski položaj $M1$ ima kraće metal-metal veze u poređenju sa dužinama veza istog tipa u okviru položaja $M2$, moglo bi se očekivati da se manji jon Co^{2+} radije smešta u položaj $M1$. Međutim vrednosti okupacionih faktora dobijeni utaćnjavanjem strukture, pokazuju obrnuto (tabele 5.4 i 5.6).

Tabela 5.6. Zastupljenost atoma kobalta u pojedinim kristalografskim položajima (%).

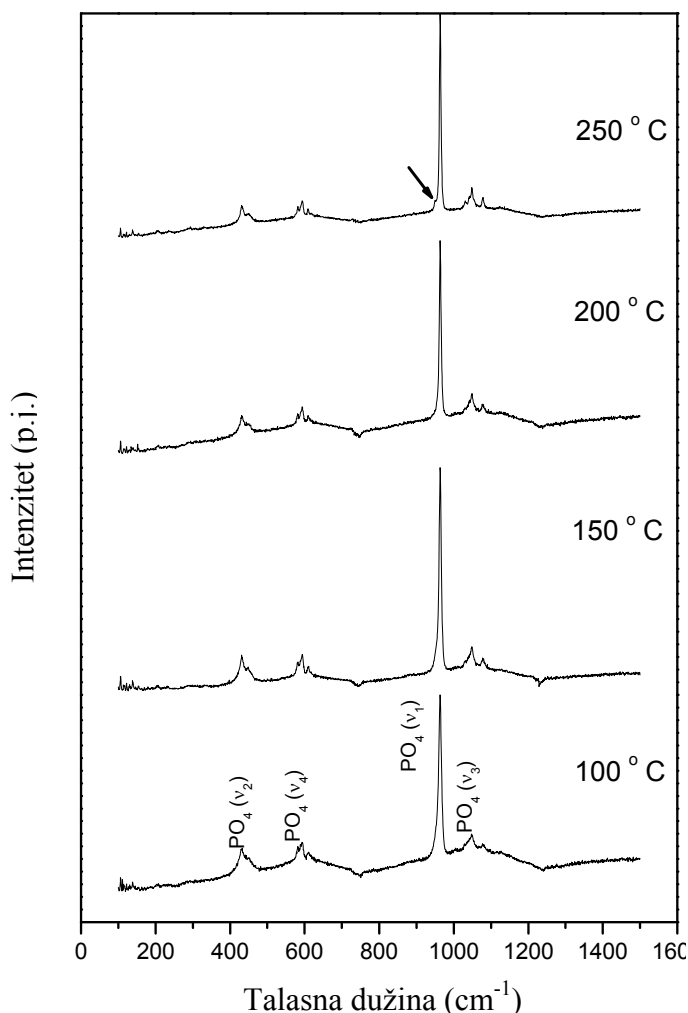
Uzorak	Popunjenost katjonskih položaja Co ²⁺ jona (at. %)		Ukupan sadržaj Co ²⁺ jona u jediničnoj ćeliji (at. %)
	M1 (4f)	M2 (6h)	
HAp	0	0	0
Co5HAp	0,3	4,2	2,6
Co10HAp	4,8	9,1	7,3
Co15HAp	5,4	9,0	7,4
Co20HAp	2,7	11,8	8,2

5.1.6 Spektroskopska ispitivanja

5.1.6.1 Raman spektroskopija

Na slici 5.14 prikazani su Raman spektri čistog HAp-a sintetisanog hidrotermalnom metodom na različitim temperaturama. U ovom radu analiziran je jedino vibracioni mod fosfata (PO₄³⁻) zbog njegovog značaja za analizu strukture. Spektri su skoro identični za sve ispitivane HAp prahove. U svim slučajevima uočene su trake: 430, 448 (O—P—O dvostruko degenerisani savijajući mod - ν_2); 582, 594, 609 (O—P—O trostruko degenerisani savijajući mod - ν_4); 960 (P—O nedegenerisani simetrično istežući mod ν_1); i 1031, 1048 i 1080 cm⁻¹ (P—O trostruko degenerisani antisimetrično istežući mod ν_3) [117-119]. Jedina razlika između spektara HAp prahova sintetisanih na različitim temperaturama jeste u širini i relativnom intenzitetu njihovih traka. Tačnije, uočeno je da se sa povećanjem temperature hidrotermalne sinteze, od 100 do 250 °C, trake sužavaju kao i da raste odnos intenziteta $\nu_1/\nu_2, \nu_3, \nu_4$ što ukazuje na uređenje kristalne strukture. Štaviše, uočeno je da se u Ramanskom spektru praha HAp sintetisanog na 250 °C najintenzivnija traka, na 960 cm⁻¹ širi na niskofrekventnoj strani (malo rame na 950 cm⁻¹ označeno strelicom na slici 5.14). Formiranje ovakve trake ukazuje na prisustvo još jedne kalcijum-fosfatne faze osim hidroksiapatita. Prema podacima iz literature, ova traka indicira istovremeno

postojanje faza HAp-a i β -trikalcijum-fosfata [120, 121]. Pojava β -TCP faze primećena je i pri proučavanju uticaja temperature kalcinacije na fazni sastav HAp uzoraka sintetisanih metodom precipitacije (poglavlje 5.2).

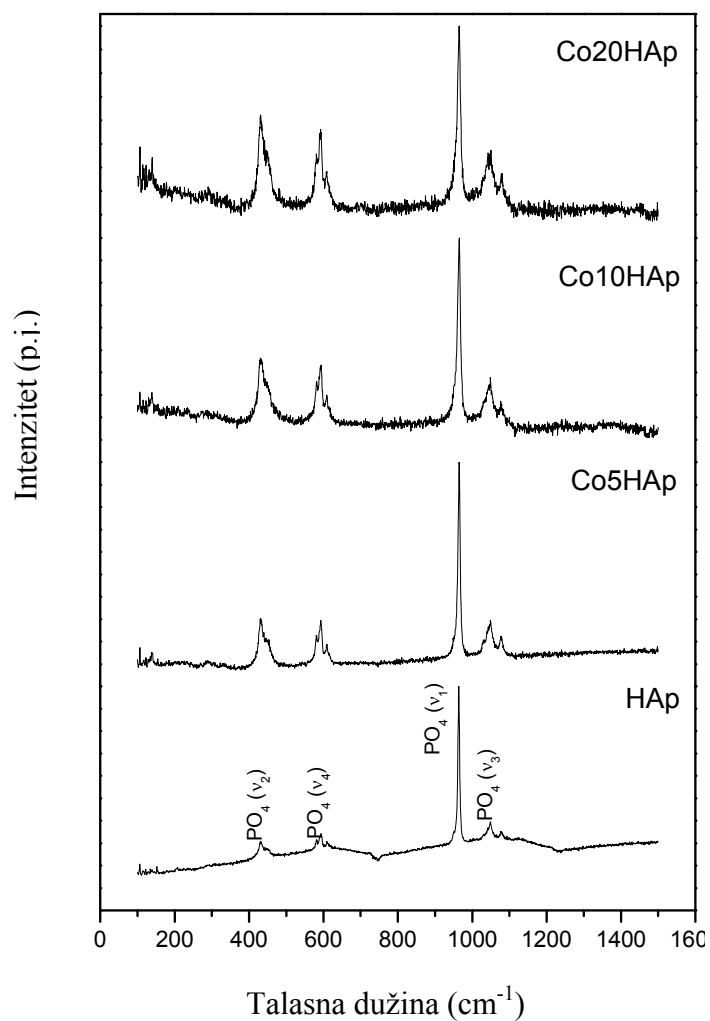


Slika 5.14. Ramanski spektri čistog HAp-a sintetisanog hidrotermalnom metodom na različitim temperaturama. Strelica označava pojavu β -TCP-a kao posledica fazne transformacije.

Širenje ν_1 vibracionog moda u Ramanskom spektru hidroksiapatita ukazuje na delimičnu transformaciju HAp-a u β -TCP tokom hidrotermalnog tretmana na 250 °C. Iz tog razloga je, u daljim eksperimentima, temperatura od 200 °C izabrana kao optimalna za sintezu monofaznih HAp i CoHAp prahova [122, 123].

Na slici 5.15 prikazani su Ramanski spektri prahova CoHAp sintetisanih hidrotermalnim procesiranjem na 200 °C. Kao i u slučaju nedopiranog HAp-a, mogu se uočiti četiri vibraciona moda PO_4^{3-} tetraedara. Spektri CoHAp-ova su podudarni sa spektrom nedopiranog HAp-a tj. ne menjaju se u smislu broja traka i njihovih

položaja. Znatno širenje traka i smanjenje odnosa intenziteta $\nu_1/\nu_2, \nu_3, \nu_4$ koje se uočava upoređivanjem spektara od HAp-a do Co20HAp-a može da se objasni ugradnjom jona Co^{2+} u kristalografske položaje Ca^{2+} u strukturi hidroksiapatita. Širenje traka i smanjenje odnosa intenziteta, potvrđuju neuređenost kristalne strukture hidroksiapatita.

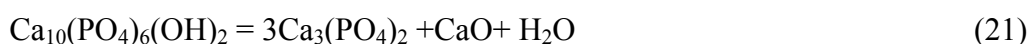


Slika 5.15. Ramanski spektri prahova CoHAp sintetisanih hidrotermalnim procesiranjem na 200 °C. Svi inteziteti su na istoj skali.

5.2 Uticaj temperature kalcinacije na fazni sastav i mikrostrukturne parametre hidroksiapatita sintetisanog metodom precipitacije

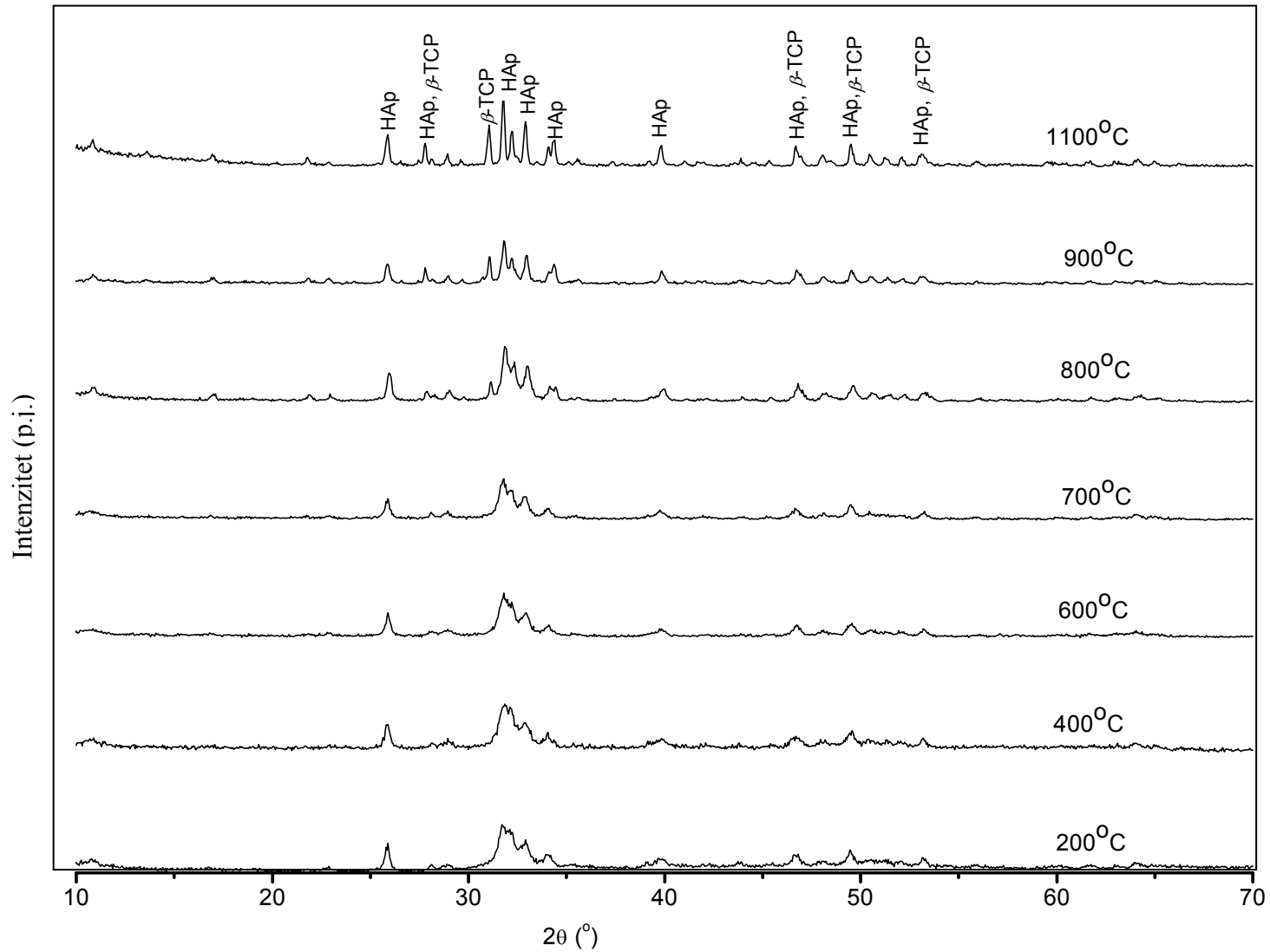
5.2.1 Fazni sastav

Rendgenski difraktogrami nedopiranog hidroksiapatita kalcinisanog na temperaturama 200, 400, 600, 700, 800, 900 i 1100 °C prikazani su na slici 5.16. Uže refleksije, porast intenziteta, kao i opadanje nivoa šuma, jasno ukazuju na porast stepena kristaliničnosti i veličine kristalita sa porastom temperature. Izračunate vrednosti veličina kristalita rastu od 15,9; 16,7; 17,4; 18,6; 23,2; 35,8 i 54,6 nm za uzorke kalcinisanog na različitim temperaturama, redom 200, 400, 600, 700, 800, 900 i 1100 °C (slika 5.17). Svi difrakcioni maksimumi uzoraka kalciniranih na 200, 400, 600, 700 °C odgovaraju refleksijama hidroksiapatita (ICSD-99358) [109]. Međutim, na 800 °C i višim temperaturama, uočava se pojava refleksija (0,2,10) na 31,4° i (220) na 34,4° 2θ koje odgovaraju β -trikalcijum-fosfatu β -Ca₃(PO₄)₂, (ICSD-97500) [71]. Pojava ove faze posledica je transformacije dela hidroksiapatita Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ u β -trikalcijum fosfat prema jednačini [124, 125]:



Reakcija 21 pokazuje da faznu transformaciju hidroksiapatita u β -TCP prati i nastanak CaO. Međutim, na osnovu dijagrama praha, uzoraka analiziranih u ovom radu, nisu detektovane refleksije CaO. Moguće je da je sadržaj ove faze mali, odnosno na granici detekcije za eksperimentalne uslove korišćene u ovom radu.

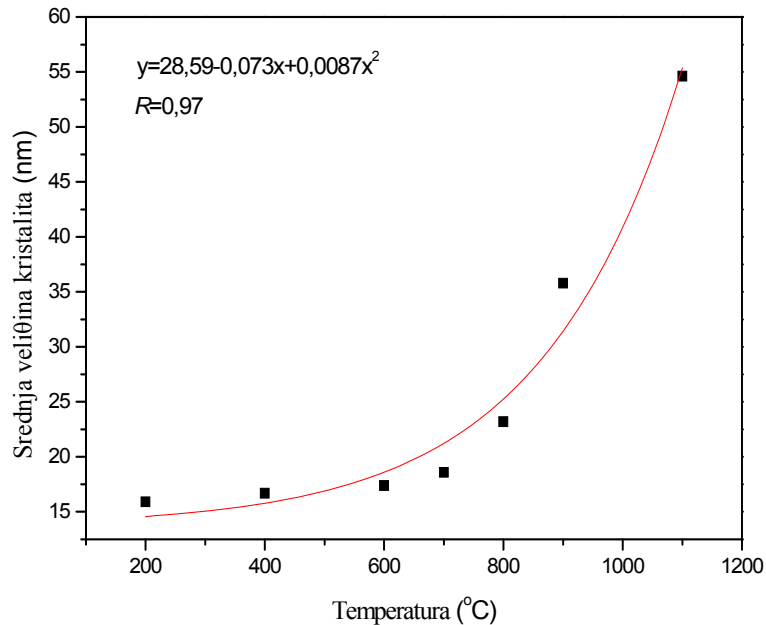
Na osnovu odnosa relativnih intenziteta (R_i) najjačih refleksija HAp-a (002) i β -TCP-a (0 2 10), procenjen je relativni sadržaj ovih faza u uzorcima kalciniranim na 800, 900 i 1100 °C, a prema jednačini 22.



Slika 5.16. Promena intenziteta i širine refleksija sa porastom temperature kalcinacije.

$$R_i = \frac{I_{HAP}}{I_{HAP} + I_{\beta-TCP}} \quad (22)$$

U tabeli 5.7 prikazane su vrednosti procentualnog sadržaja HAp-a i β -TCP kao i srednja veličina kristalita D izračunata na osnovu Šererove formule za (002) refleksiju.



Slika 5.17. Zavisnost srednje veličine kristalita HAp-a od temperature kalcinacije u ispitivanim kristalnim prahovima.

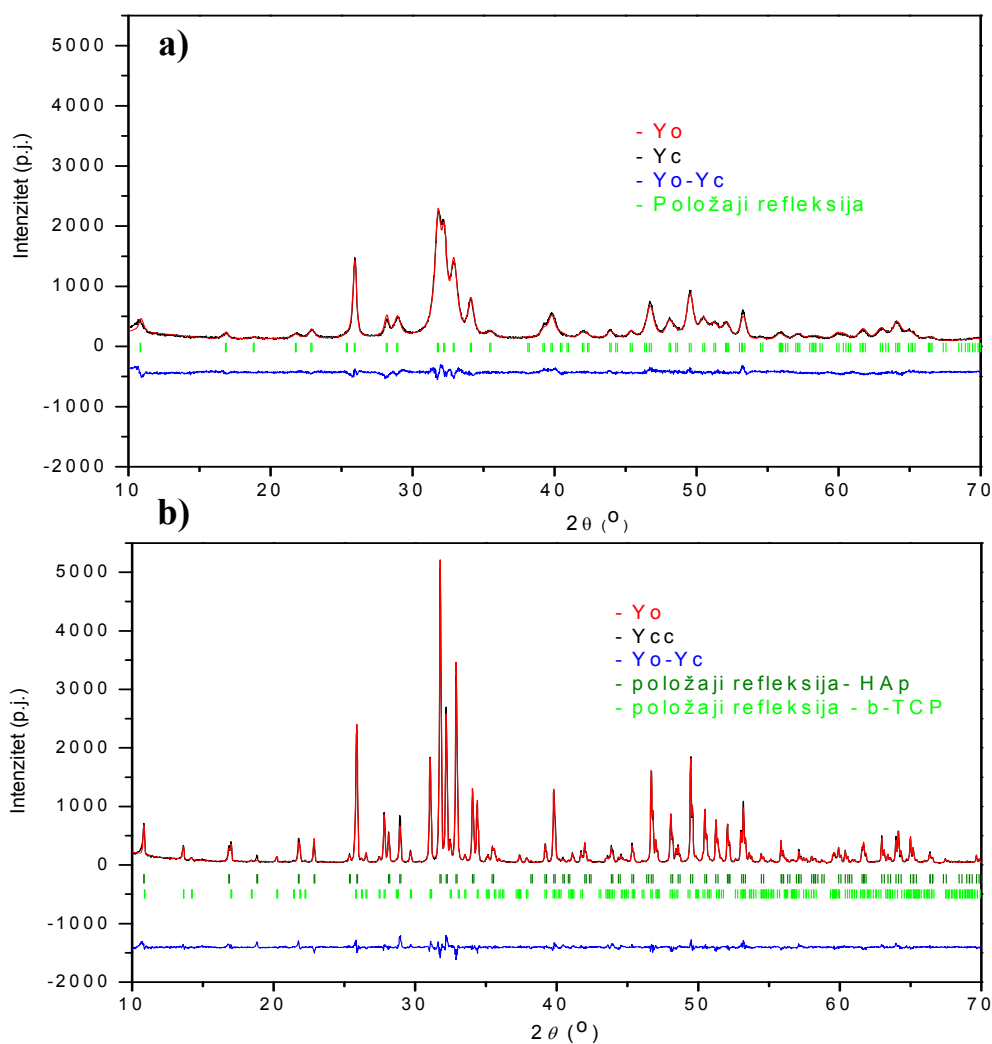
Tabela 5.7. Sadržaj HAp-a i β -TCP i srednja veličina kristalita.

Temperatura kalcinacije (°C)	Srednja veličina kristalita (nm)		Sadržaj HAp-a (%)	Sadržaj β -TCP-a (%)
	HAp	β -TCP		
	Bez termičkog tretmana	14,7		
200	15,9		100	0
400	16,7		100	0
600	17,4		100	0
700	18,6		100	0
800	23,2	34,0	72,5	27,3
900	35,8	38,2	62,2	37,8
1100	54,6	45,9	61,0	38,9

5.2.2 Ritveldova analiza i mikrostrukturni parametri

Detaljnija analiza promena strukturnih i mikrostrukturnih parametara sa porastom temperature kalcinacije, dobijena je Ritveldovim utačnjavanjem strukture početnog uzorka, sintetisanog na sobnoj temperaturi, i krajnjeg, tj. kalcinisanog na temperaturi od 1100 °C.

Slika 5.18 prikazuje Ritveldove dijagrame analiziranih prahova. Dijagram praha sintetisanog na sobnoj temperaturi (slika 5.18a) odgovara monofaznom hidroksiapatitu, dok je strukturnim utačnjavanjem uzorka kalcinisanog na 1100 °C (slika 5.18b), potvrđeno prisustvo β -TCP-a. Kao što je već pomenuto β -TCP predstavlja produkt fazne transformacije HAp-a na temperaturi iznad 800 °C. Struktura prvog praha utačnjavana je u prostornoj grupi $P6_3/m$ (broj 176) sa početnim strukturnim modelom hidroksiapatita [107].



Slika 5.18. Ritveldovi dijagrami analiziranih uzoraka (a) polazni uzorak, (b) uzorak kalcinisan na 1100 °C.

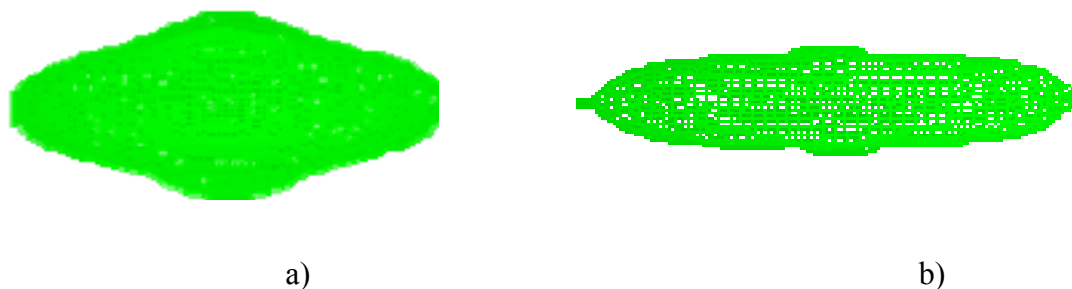
Dobijeni Ritveldovi dijagrami i odgovarajuće diferencijalne krive ukazuju na dobro slaganje izmerenog i izračunatog strukturnog modela analiziranih uzoraka, što potvrđuju i dobijene vrednosti faktora slaganja prikazane u tabeli 5.8.

Vrednosti parametara jediničnih ćelija i faktori prikazani u tabeli 5.8 u saglasnosti su sa literaturnim podacima [51, 71].

Tabela 5.8. Vrednost profilnih i strukturnih parametara ispitivanih uzoraka.

		Polazni uzorak	Uzorak kalcinisan na 1100 °C	
			HAp	β -TCP
Prostorna grupa		$P6_3/m$	$P6_3/m$	$R3c$
Parametri jedinične ćelije (Å)	a	9,4324(7)	9,4252(1)	10,4250(5)
	c	6,8785(6)	6,8822(1)	37,3572(1)
Faktori slaganja	R_{wp}	10,50		10,00
	R_p	14,40		7,37
	R_B	4,43	4,80	5,40

Mikrostrukturna analiza ispitivanih uzoraka potvrđuje rast srednje veličine kristalita, kao i promenu njihove morfologije sa porastom temperature kalcinacije. Uočava se znatno izduženje kristalita duž c -ose što uslovljava promenu oblika od kapljicašnih ka štapićastim formama (slika 5.19).



Slika 5.19. Morfologija kristalita: (a) polaznog uzorka, i (b) uzorka kalcinisanog na 1100 °C.

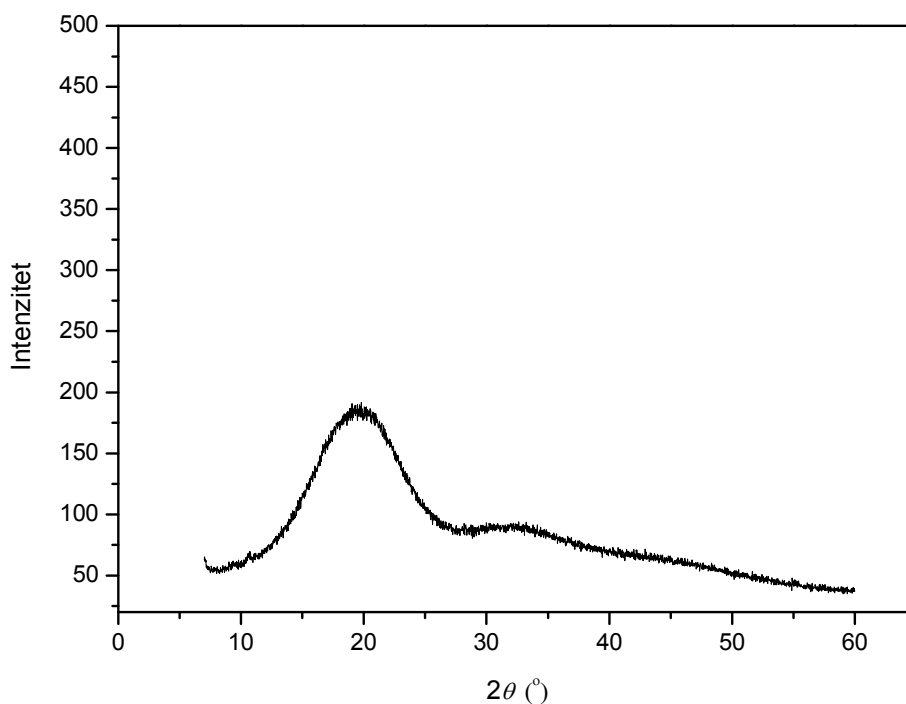
Drugi uzorak utaćnjavan je kao dvofazni sistem, odnosno, profilni i strukturni parametri obe faze (HAp i β -TCP) utaćnjavani su istovremeno. Strukturni model za β -TCP preuzet je iz literature [71], a utaćnjavan je u prostornoj grupi $R3c$ (broj 161).

Tokom strukturnog utaćnjavanja, i kod ovih uzoraka, primećeno je anizotropno širenje difrakcionih maksimuma kao posledica anizotropnog rasta kristalita. Ova

pojava je karakteristična za kristalite malih dimenzija, odnosno za slabije iskristalisale prahove. Porast temperature kalcinacije uslovljava uređenje kristalne strukture i rast srednje veličine kristalita što smanjuje efekat mikrostrukturnih parametara.

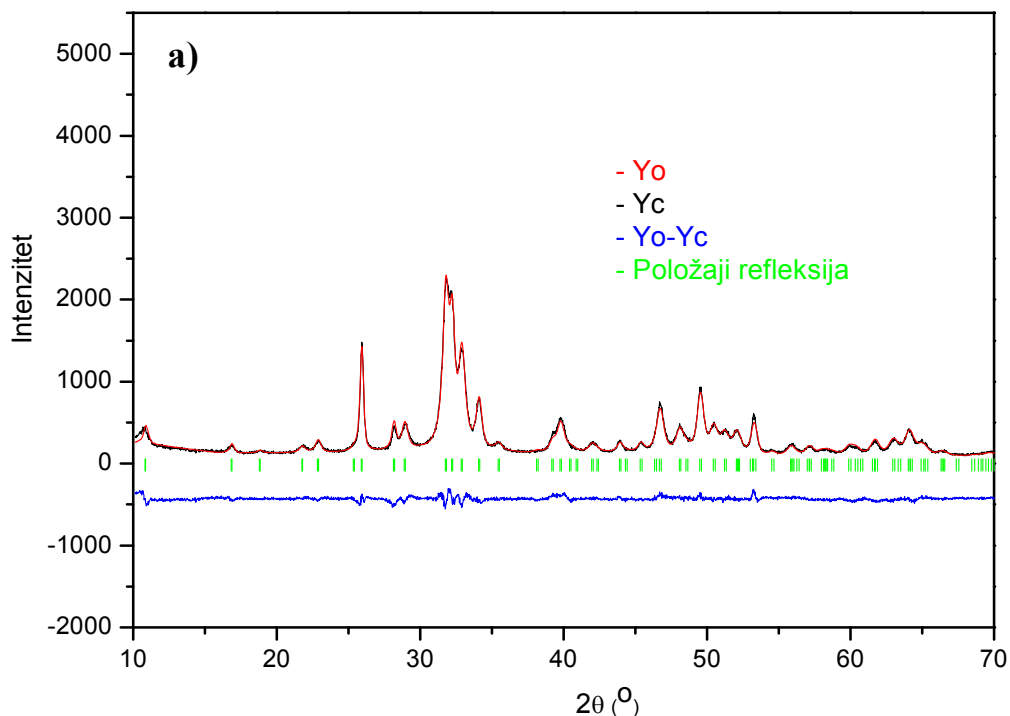
5.3 Nanokompozitni biomaterijali CP/polilaktid-ko-glikolid (PLGA)

Primenljivost kalcijum-fosfatne keramike kao materijala za rekonstrukciju koštanog tkiva ograničena je usled loših mehaničkih karakteristika [126-128]. Ovaj nedostatak prevazilazi se kombinovanjem kalcijum-fosfata sa bioresorbilnim polimerima, čime se dobijaju tzv. kompozitni biomaterijali. U ovom radu analiziran je uticaj polimera na strukturne i mikrostrukturne karakteristike kalcijum-fosfata. Razmatrana su dva uzorka sintetisana metodom precipitacije. Jedan od njih dobijen je na sobnoj temperaturi, a drugi kalcinisan na 1100 °C. Oba uzorka obložena su bioresorbilnim polimerom polilaktid-ko-glikolidom (PLGA).

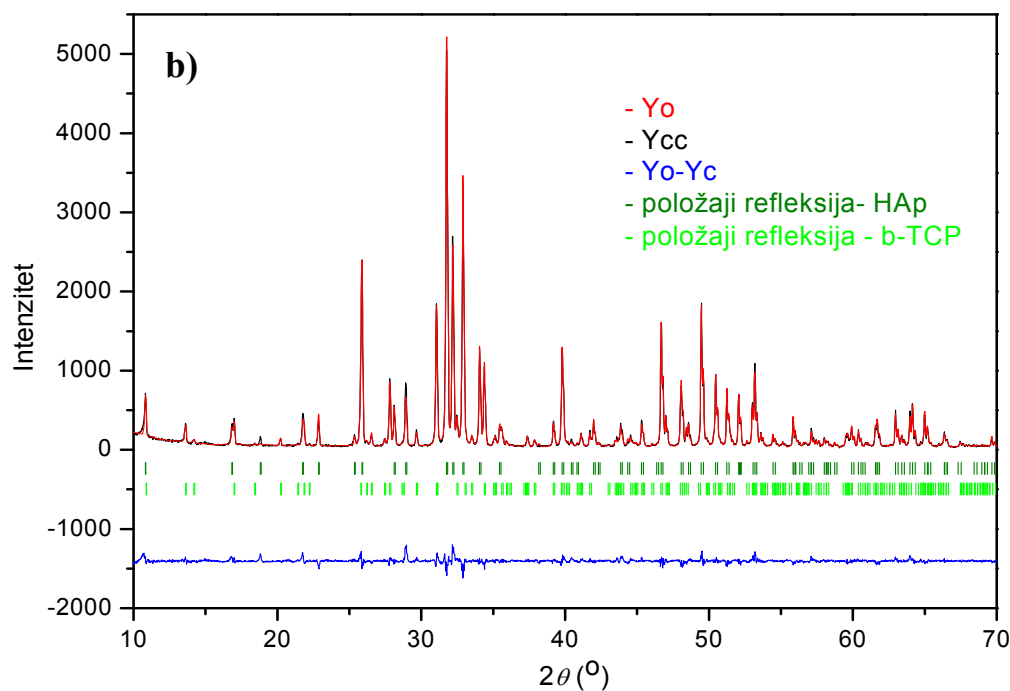


Slika 5.20. Rendgenski difraktogram praha čistog PLGA.

Difraktogram praha polilaktid-ko-glikolida (slika 5.20) ne pokazuje jasno definisane refleksije što znači da ovaj materijal ne poseduje uređenu kristalnu strukturu, odnosno da je amorfan. Rendgenski difraktogrami kompozitnih biomaterijala CP/polilaktid-ko-glikolid (PLGA) prikazani su na slici 5.21.



Slika 5.21a. Ritveldov dijagram uzorka kompozitnog biomaterijala CP/polilaktid-ko-glikolid (PLGA), koji kao neorgansku fazu sadrži nekalcinirani kalcijum-fosfat.



Slika 5.21b. Ritveldov dijagram uzorka kompozitnog biomaterijala CP/polilaktid-ko-glikolid (PLGA), koji kao neorgansku fazu sadrži kalcijum-fosfat kalcinisan na 1100 °C.

Na prikazanim dijagramima praha kompozitnog biomaterijala amorfna faza polimera gotovo da se i ne primećuje. Međutim, nešto viši nivo bazne linije potvrđuje prisustvo amorfne faze u uzorcima. Ovaj efekat je izraženiji kod uzorka koji kao neorgansku fazu, sadrži nekalcinirani kalcijum-fosfat, jer su usled nižeg stepena kristaliniteta, slabiji intenziteti refleksija (slika 5.21a).

Kod biokompozitnog materijala čiji je neorganski deo kalcinirani kalcijum-fosfat, razlika intenziteta refleksija kalcijum-fosfata i „brega“, koji daje polimer, je velika tako da je teško identifikovati neorgansku fazu u uzorku (slika 5.21b). Ritveldovim utičnjavanjem potvrđen je sastav kalcijum-fosfata, koji čine sastavni deo kompozitnih biomaterijala ispitivanih u ovom radu (slika 5.21). Utvrđeno je da se fazni sastav kalcijum-fosfata nije promenio prilikom oblaganja polimerom, što je i bilo očekivano. Može da se zaključi da oblaganje kalcijum-fosfata bioresorbilnim polimerom polilaktid-ko-glikolidom (PLGA), nema uticaja na fazni sastav, niti na strukturu kristalne faze.

6. *Zaključak*

U ovom radu ispitivane su strukturne, mikrostrukturne i morfološke karakteristike, kalcijum-fosfata sintetisanih hidrotermalnom metodom i metodom precipitacije. Ispitivana je i mogućnost zamene kalcijumovih jona u strukturi hidroksiapatita sintetisanih hidrotermalnim procesiranjem, jonima kobalta. Na ovaj način sintetisani su kristalni prahovi sa nominalnim sadržajem kobalta od 0; 5; 10; 15 i 20% (uzorci HAp; Co5HAp; Co10HAp, Co15HAp i Co20HAp). Hemijska analiza (ICP) potvrdila je prisustvo kobalta u uzorcima i to maksimalno 11,7 % za uzorak sa nominalno 15 % Co^{2+} jona u strukturi. Dalje povećanje količine kobalta pri sintezi ne dovodi do povećanja sadržaja kobalta u uzorcima pri datim uslovima sinteze.

Strukturna i mikrostrukturna karakterizacija ovih uzoraka urađena je Ritveldovom analizom. Kao polazni model za utučnjavanje strukture HAp i CoHAp kristalnih prahova, korišćeni su literaturni podaci za strukturu hidroksiapatita, prostorna grupa ($P6_3/m$, broj 176) [109]. Dobijeni Ritveldovi dijagrami kao i rezultati strukturnog utučnjavanja pokazuju da ispitivani prahovi predstavljaju monofazne sisteme bez obzira na sadržaj kobalta u strukturi. Izračunate vrednosti zapremina i parametara jediničnih ćelija opadaju sa povećanjem procenta zamene jona kalcijuma jonima kobalta u kristalnoj strukturi CoHAp-a. Ova pojava je i očekivana uzimajući u obzir da je jonski radijus kobalta manji od jonskog radijusa kalcijuma.

Srednje vrednosti dužina veza ($M-O$) preračunate na osnovu podataka dobijenih Ritveldovom analizom potvrđuju katjonsku izmenu u strukturi hidroksiapatita. Naime, rezultati pokazuju da se srednje vrednosti dužina $\langle \text{Ca1/Co1}-O \rangle$ veza smanjuje od 2,559 Å za hidroksiapatit bez prisustva kobalta do 2,546 Å za prah sa najvećim sadržajem kobalta u strukturi. Kada je u pitanju položaj $M2$ tu je situacija nešto drugačija. Srednje vrednosti dužina $\langle \text{Ca2/Co2}-O \rangle$ veza su u intervalu od 2,450 do 2,449 Å, to jest, ostaju nepromenjene bez obzira na sadržaj kobaltovih jona u strukturi. Međutim, ako se pogledaju pojedinačne dužine veza oko Ca2 atoma, vidi se da se duže veze produžavaju, dok se kraće veze još više skraćuju težeći koordinacionom poliedru sa koordinacionim brojem 6, što je karakteristično za kobalt. Sve ovo potvrđuje zamenu dela kalcijumovih jona jonima kobalta u oba katjonska položaja u strukturi ispitivanih hidroksiapatita.

Utačnjavanjem strukture dobijene su i vrednosti okupacionih faktora, čime je dodatno potvrđeno prisustvo jona Co^{2+} u strukturi HAp-a. Sadržaj kobalta u CoHAp prahovima, izračunat na osnovu utučnjenih vrednosti okupacionih faktora atoma, je 0; 2,6; 7,3; 7,4 i 8,2 at.% za uzorke redom HAp, Co5HAp, Co10HAp, Co15HAp i

Co20HAp. Uzimajući u obzir da je sadržaj kobalta relativno mali (posebno u uzorku Co5HAp), a stepen kristaliniteta ispitivanih prahova nizak, može se reći da se dobijene vrednosti slažu u okviru eksperimentalnih grešaka sa rezultatima dobijenim hemijskom analizom (0; 4,3; 9,5; 11,7 i 11,5).

Mikrostruktorna analiza pokazala je da su veličine kristalita ispitivanih prahova nanodimenzija. Dobijene srednje vrednosti veličina kristalita opadaju sa porastom sadržaja kobalta od 40,3 nm za čist hidroksiapatit do 13,5 nm za uzorak sa najvećim sadržajem kobalta. Takođe, primećeno je da povećanje procenta zamene kalcijuma kobaltom u strukturi, prouzrokuje opadanje anizotropije rasta kristalita, a samim tim i promenu morfologije. Morfologija kristalita se menja od štapićastih ka kapljičastim formama. Promena morfologije kristalita potvrđena je i TEM analizom. Vrednosti raspodele veličina čestica pokazuju da srednja veličina čestica opada od 94 nm za čist HAp do 70 nm za uzorak sa maksimalnim sadržajem kobalta u strukturi što je u skladu sa rezultatima mikrostrukturne analize dobijenim na osnovu Ritveldovog utaćnjavanja. Nešto veće čestice u odnosu na veličine kristalita potvrđuju prisustvo aglomerata u uzorku, koje je primećeno na SEM mikrofijama.

Analiziran je uticaj termičkog tretmana na fazni sastav, strukturne i mikrostrukturne karakteristike uzoraka kalcijum-fosfata sintetisanih metodom precipitacije. Kristalni prah dobijen na ovaj način kalcinisan je na temperaturama 200, 400, 600, 700, 800, 900 i 1100 °C. Na osnovu rendgenske difrakcione analize može se zaključiti da sa porastom temperature kalcinacije raste stepen iskristalisanosti kao i veličina kristalita ispitivanih uzoraka. Takođe, primećuje se i pojava druge faze u uzorcima kalciniranim iznad 800 °C. Ova faza javlja se kao posledica fazne transformacije hidroksiapatita, a odgovara β -trikalcijum-fosfatu. Sa porastom temperature kalcinacije menja se i odnos HAp/ β -TCP od 72/27 na temperaturi od 800 °C do 61/39 na temperaturi od 1100 °C.

Dva krajnja člana ovog niza uzoraka (polazni uzorak bez termičkog tretmana i uzorak kalcinisan na 1100 °C) upotrebljeni su za dobijanje kompozitnih sistema CP/polilaktid-ko-glikolid. Da bi se utvrdila relacija između organske i neorganske faze unutar ovih kompozita urađena je rendgenska difrakciona analiza ovih sistema. Takođe, urađena je i rendgenska difrakcija na prahu čistog uzorka polimera PLGA. Dobijeni rendgenski dijagrami pokazali su da je analizirani polimer amorfan tako da njegovo prisustvo u uzorku samo delimično podiže nivo šuma, dok oblik, širine i intenziteti refleksija kristalne faze ostaju nepromenjeni.

Na osnovu dobijenih rezultata može da se zaključi da i hidrotermalna i precipitaciona metoda sinteze uspešno mogu da se koriste za dobijanje kalcijum-fosfata, a pre svega hidroksiapatita. Zamenom jona kalcijuma, manjim jonima kobalta smanjuje se veličina kristalita i menja njihova morfologija što ovom materijalu daje strukturne karakteristike, koje više odgovaraju karakteristikama prirodnog koštanog tkiva. Na ovaj način ispitivani materijal postaje pogodniji za eventualnu primenu u medicini.

7. *Literatura*

- (1) Pasteris, J. D.; Wopenka, B.; Valsami-Jones, E. "Bone and tooth mineralization: Why apatite?" *Elements*, **4** (2008) 97-104.
- (2) Meneghini, C.; Dalconi, M. C.; Nuzzo, S.; Mobilio, S.; Wenk, R. H. "Rietveld refinement on X-ray diffraction patterns of bioapatite in human fetal bones", *Biophysical Journal* **84** (2003) 2021-2029.
- (3) de Carneiane, O.; Morris, M. D.; Davis, M. K.; Stixrude, L.; Tecklenburg, M.; Rajachar, R. M.; Kohn, D. H. "Bone chemical structure response to mechanical stress studied by high pressure raman spectroscopy" *Calcified Tissue International* **76** (2005) 207-213.
- (4) Sarkar, D.; Chu, M. C.; Cho, S. J. "Ceramic-polymer nanocomposite: Alternate choice of bone" *Journal of the Korean Ceramic Society* **45** (2008) 309-319.
- (5) Wilson, R. M.; Elliott, J. C.; Dowker, S. E. P.; Rodriguez-Lorenzo, L. M. "Rietveld refinement and spectroscopic studies of the structure of Ca-deficient apatite" *Biomaterials* **26** (2005) 1317-1327.
- (6) Chakraborty, S.; Bag, S.; Pal, S.; Mukherjee, A. K. "Structural and microstructural characterization of bioapatites and synthetic hydroxyapatite using X-ray powder diffraction and Fourier transform infrared techniques" *Journal of Applied Crystallography* **39** (2006) 385-390.
- (7) Willson, R. M.; Elliott, J. C.; Dowker, S. E. P. "Rietveld refinement of crystallographic structure of human dental enamel apatites" *American Mineralogist* **84** (1999) 1406-1414.
- (8) Veselinović, Lj.; Karanović Lj.; Stojanović, Z.; Bračko, I.; Marković, S.; Ignjatović, N.; Uskoković, D. "Crystal structure of cobalt-substituted calcium hydroxyapatite nanopowders prepared by hydrothermal processing" *Journal of Applied Crystallography*. **43** (2010) 320-327.
- (9) Kandić, Lj., Mitrić, M., Ignjatović, N. "XRD analysis of calcium phosphate and biocomposite calcium phosphate/bioresorbable polymer" *Materials Science Forum* **518** (2006) 507-512.
- (10) Dorozhkin, S. V., Epple, M. "Biological and medical significance of calcium phosphates" *Angewandte Chemie International Edition* **41** (2002) 3130-3146.
- (11) Raynaud, S.; Champion, E.; Bernache-Assollant, D.; Laval, J.-P. "Determination of calcium/phosphorus atomic ratio of calcium phosphate apatite using X-ray diffractometry" *Journal of American Ceramic Society* **84** (2001) 359-366.

- (12) Ignjatović, N. L.; Liu, C. Z.; Czernuszka, J. T.; Uskoković, D. P. "Micro- and nano-injectable biomaterials containing calcium phosphate coated with poly(DL-lactide-co glycolide)" *Acta Biomaterialia* **3** (2007) 927-935.
- (13) Blalock, T.; Bai, X.; Rabiei, A. "A study of microstructure and properties of calcium phosphate coatings processed using ion beam assisted deposition on heated substrates" *Surface & Coatings Technology* **201** (2007) 5850-5858.
- (14) Vallet - Regí, M. "Ceramics for medical applications" *Journal of Chemical Society, Dalton Transactions* **2** (2001) 97-108.
- (15) Kay, M. I.; Young, R. A.; Posner, A. S. "The crystal structure of hydroxyapatite" *Nature* **204** (1964) 1050-1052.
- (16) Sudarsanan, K.; Young, R, A. "Significant precision in crystal structural details: holly springs hydroxyapatite" *Acta Crystallographica B* **25** (1969) 1534-1543.
- (17) Posner, A. S.; Perloff, A.; Diorio, A. F. "Refinement of the hydroxyapatite structure" *Acta Crystallographica B* **11** (1958) 308-309.
- (18) Elliott, J. C. "Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates"; Elsevier: Amsterdam, 1994.
- (19) Jevtić, M.; Mitrić, M.; Škapin, S.; Jančar, B.; Ignjatović, N.; Uskoković, D. "Crystal structure of hydroxyapatite nanorods synthesized by sonochemical homogeneous precipitation" *Crystal Growth and Design* **8** (2008) 2217-2222.
- (20) Dorozhkin, S. V.; "Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine" *Materials* **2** (2009) 399-498.
- (21) Motskin M.; Wright, D. M.; Muller, K.; Kyle, N.; Gard, T. G.; Porter, A. E.; Skepper, J. N. "Hydroxyapatite nano and microparticles: Correlation of particle properties with cytotoxicity and biostability" *Biomaterials* **30** (2009) 3307-3317.
- (22) Astete, C. E.; Kumar, C. S. S. R.; Sabliov, C. M. "Size control of poly(D,L-lactide-co-glycolide) and poly(D,L-lactide-co-glycolide)-magnetite nanoparticles synthesized by emulsion evaporation technique" *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **299** (2007) 209-216.
- (23) Lübbe, A.S.; Alexiou, C.; Bergemann, C. "Clinical applications of magnetic drug targeting" *Journal of Surgical Research* **95** (2001) 200-226.

- (24) Wu, H. –Ch.; Wang, T. –W.; Sun, J. –Sh.; Wang, W. –H.; Lin, F. –H. "A novel biomagnetic nanoparticle based on hydroxyapatite" *Nanotechnology* **18** (2007) 165601 (9pp).
- (25) DeBoer, B. G. "Determination of the antimony substitution site in calcium fluorapatite from powder X-ray diffraction data" *Acta Crystallographica B* **47** (1991) 683-692.
- (26) Wakamura, M.; Kandori, K.; Ishikawa, T. "Surface composition of calcium hydroxyapatite modified with metal ions" *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **142** (1998) 107-116.
- (27) Tang, Y.; Chappell, H. F.; Dove, M. T.; Reeder, R. J.; Lee, Y. J. "Zinc incorporation into hydroxyapatite" *Biomaterials* **30** (2009) 2864-2872.
- (28) O'Donnell, M. D.; Fredholm, Y.; de Rouffignac, A.; Hill, R. G. "Structural analysis of a series of strontium-substituted apatites" *Acta Biomaterialia* **4** (2008) 1455-1464.
- (29) Elkabouss, K.; Kacimi, M.; Ziyad, M.; Ammar, S.; Bozon-Verduraz, F. "Cobalt-exchanged hydroxyapatite catalysts: Magnetic studies, spectroscopic investigations, performance in 2-butanol and ethane oxidative dehydrogenations" *Journal of Catalysis* **226** (2004) 16-24.
- (30) Li, Y.; Ooi, C. P.; Cheang, P. H. N.; Khor, K. A. "Synthesis and characterization of neodymium(III) and gadolinium(III)-substituted hydroxyapatite as biomaterials" *International Journal of Applied Ceramics Technology* **6** (2009) 501–512.
- (31) Zhu, K.; Yanagisawa, K.; Shimanouchi, R.; Onda, A.; Kajiyoshi, K. "Preferential occupancy of metal ions in the hydroxyapatite solid solutions synthesized by hydrothermal method" *Journal of the European Ceramic Society* **26** (2006) 509–513.
- (32) Badraoui, B.; Aissa, A.; Debbabi, M. "Structure refinement of cadmium substituted lead fluoroapatites by powder X-ray pattern fitting" *Journal of Physics and Chemistry of Solids* **68** (2007) 211-216.
- (33) Badraoui, B.; Aissa, A.; Bigi, A.; Debbabi, M.; Gazzano, M. "Synthesis and characterization of $\text{Sr}_{(10-x)}\text{Cd}_x(\text{PO}_4)_6\text{Y}_2$ (Y = OH and F): A comparison of apatites containing two divalent cations" *Materials Research Bulletin* **44** (2009) 522–530.

- (34) Badraoui, B.; Aissa, A.; Debbabi M. "Structure refinements of cadmium substituted lead fluoroapatites by powder X-ray pattern fitting" *Journal of Physics and Chemistry of Solids* **68** (2007) 211–216.
- (35) Jeanjean, J.; Vincent U.; Fedoroff M. "Structural modification of calcium hydroxyapatite induced by sorption of cadmium ions" *Journal of Solid State Chemistry* **108** (1994) 68-72.
- (36) Pearson, R. G. "Absolute electronegativity and hardness: Application to inorganic chemistry" *Inorganic Chemistry* **27** (1988) 734-740.
- (37) Haverty, D.; Tofail, S. A. M.; Stanton, K. T.; McMonagle, J. B. "Structure and stability of hydroxyapatite: Density functional calculation and Rietveld analysis" *Physical Review B*, **71** (2005) 094103.
- (38) Calderin, L.; Stott, M. J. "Electronic and crystallographic structure of apatites" *Physical Review B*, **67** (2003) 134106.
- (39) Mathew, M.; Takagi, S. "Structures of biological minerals in dental research" *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology* **106** (2001) 1035–1044.
- (40) Wang, J.; Nonami, T.; Yubata, K. "Syntheses, structures and photophysical properties of iron containing hydroxyapatite prepared by a modified pseudo-body solution" *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **19** (2008) 2663-2667.
- (41) Kazin, P. E.; Gazizova, O. R.; Karpov, A. S.; Jansen, M.; Tretyakov, Y. D. "Incorporation of 3d-metal ions in the hexagonal channels of the $\text{Sr}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ apatite" *Solid State Sciences* **9** (2007) 82-87.
- (42) Vallet-Regi, M.; Arcos, D. "Silicon substituted hydroxyapatites. A method to upgrade calcium phosphate based implants" *Journal of Materials Chemistry* **15** (2005) 1509-1516.
- (43) Li, M.; Xiao, X.; Liu, R.; Chen, C.; Huang, L. "Structural characterization of zinc-substituted hydroxyapatite prepared by hydrothermal method" *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **19** (2008) 797-803.
- (44) Yao, F.; LeGeros, J. P.; LeGeros, R. Z. "Simultaneous incorporation of carbonate and fluoride in synthetic apatites: Effect on crystallographic and physico-chemical properties" *Acta Biomaterialia* **5** (2009) 2169-2177.
- (45) Karpov, A. S.; Nuss, J.; Jansen, M.; Kazin, P. E.; Tretyakov, Y. D. "Synthesis, crystal structure and properties of calcium and barium hydroxyapatites

- containing copper ions in hexagonal channels" *Solid State Sciences* **5** (2003) 1277-1283.
- (46) Bigi, A.; Ripamonti, A.; Brückner, S.; Gazzano, M.; Roveri, N.; Thomas, S. A. "Structure refinements of lead-substituted calcium hydroxyapatite by X-ray powder fitting" *Acta Crystallographica B* **45** (1989) 247-251.
- (47) Sugiyama, S.; Matsumoto, H.; Hayashi, H.; Moffat, J. B. "Sorption and ion-exchange properties of barium hydroxyapatite with divalent cations" *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **169** (2000) 17-26.
- (48) Wakamura, M.; Kandori, K.; Ishikawa, T. "Surface structure and composition of calcium hydroxyapatites substituted with Al(III), La(III) and Fe(III) ions" *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **164** (2000) 297-305.
- (49) Pon-On, W.; Meejoo, S.; Tang, I. –M. "Substitution of manganese and iron into hydroxyapatite: Core/shell nanoparticles" *Materials Research Bulletin* **43** (2008) 2137-2144.
- (50) Mercier, P. H. J.; Le Page, Y.; Whitfield, P. S.; Mitchell, L. D.; Davidson I. J.; White, T. J. "Geometrical parameterization of the crystal chemistry of $P6_3/m$ apatites: comparison with experimental data and *ab initio* results" *Acta Crystallographica B* **61** (2005) 635-655.
- (51) White, T. J.; Dong, Z. "Structural derivation and crystal chemistry of apatites" *Acta Crystallographica B* **59** (2003) 1-16.
- (52) Đorđević, T.; Šutović, S.; Stojanović, J.; Karanović, Lj. "Sr, Ba and Cd arsenates with the apatite-type structure" *Acta Crystallographica C*, **64** (2008) 82-86.
- (53) Ergun, C. "Effect of Ti ion substitution on the structure of hydroxylapatite" *Journal of the European Ceramic Society* **28** (2008) 2137-2149.
- (54) Badraoui, B.; Bigi, A.; Debbabi, M.; Gazzano, M.; Roveri, N.; Thouvenot R. "X-ray powder diffraction and solid-state NMR investigations in cadmium-lead hydroxyapatites" *European Journal of Inorganic Chemistry* (2001) 1261-1267.
- (55) Feki, H. E.; Savariault, J. M.; Salah, A. B. "Structure refinements by the Rietveld method of partially substituted hydroxyapatite: $\text{Ca}_9\text{Na}_{0.5}(\text{PO}_4)_{4.5}(\text{CO}_3)_{1.5}(\text{OH})_2$ " *Journal of Alloys and Compounds* **287** (1999) 114-120.

- (56) Leeuw, N. H. "Local ordering of hydroxyl groups in hydroxyapatite" *Chemical Communications* (2001) 1646-1647.
- (57) Wilson, R. M.; Elliott, J. C.; Dowker, S. E. P. "Formate incorporation in the structure of Ca-deficient apatite: Rietveld structure refinement" *Journal of Solid State Chemistry* **174** (2003) 132-140.
- (58) Hughes, J. M.; Cameron, M.; Crowley, K. D. "Crystal structure of ternary apatites: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{X}$ ($\text{X} = \text{F}, \text{OH}, \text{Cl}$) system" *American Mineralogist* **75** (1990) 295-304.
- (59) Hughes, J. M.; Cameron, M.; Crowley, K. D. "Structural variations in natural F, OH and Cl apatites" *American Mineralogist* **74** (1989) 870-876.
- (60) Rakovan, J. F.; Hughes, J. M. "Strontium in the apatite structure: strontian fluorapatite and belovite-(Ce)" *The Canadian Mineralogist* **38** (2000) 839-845.
- (61) Le Meins, J. -M.; Courbion, G. "Hydrothermal synthesis and crystal structure of $\text{SrAl}_2(\text{PO}_4)_2\text{F}_2$: a new three-dimensional framework with channels delimited by a helical anionic border" *European Journal of Solid State and Inorganic Chemistry* **35** (1998) 639-653.
- (62) Johnsson, M. S. -A.; Nancollas G. H. "The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation" *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* **3** (1992) 61-82.
- (63) Xin, R.; Leng, Y.; Wang, N. "In situ TEM examinations of octacalcium phosphate to hydroxyapatite transformation" *Journal of Crystal Growth* **289** (2006) 339-344.
- (64) Dickens, B.; Prince, E.; Schroeder, L. W.; Brown, W. E. " $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, a crystal structure containing unusual hydrogen bonding" *Acta Crystallographica B* **29** (1973) 2057-2070.
- (65) Dickens, B.; Bowen, J. S. "Refinement of the crystal structure of $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ " *Acta Crystallographica B* **27** (1971) 2247-225.
- (66) Dickens, B.; Prince, E.; Schroeder, L. W.; Brown, W. E. " $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ a crystal structure containing unusual hydrogen bonding" *Acta Crystallographica B* **29** (1973) 2057-2070.
- (67) Tortet, L.; Gavarri, J. R.; Nihoul, G.; Dianoux, A. J. "Study of protonic mobility in a $\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Brushite) and CaHPO_4 (Monetite) by infrared spectroscopy and neutron scattering" *Journal of Solid State Chemistry* **132** (1997) 6-16.

- (68) Sainz-Diaz, C. I.; Villacampa, A.; Otalora, F. "Crystallographic properties of the calcium phosphate mineral, brushite, by means of first principles calculations" *American Mineralogist* **89** (2004) 307-313.
- (69) Okada, K.; Oosaka, J. "Structures of potassium sodium sulphate and tripotassium sodium disulphate" *Acta Crystallographica B* **36**, (1980) 919-921.
- (70) Belik, A. A.; Morozov, V. A.; Khasanov, S. S.; Lazoryak, B. I. "Crystal structures of new double calcium and cobalt phosphates" *Materials Research Bulletin* **33** (1998) 987-995.
- (71) Yashima, M.; Sakai, A.; Kamiyama, T.; Hoshikawa, A. "Crystal structure analysis of β -tricalcium phosphate $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ by neutron powder diffraction" *Journal of Solid State Chemistry* **175** (2003) 272-277.
- (72) Galea L. G.; Bohnert, M.; Lemaitre, J.; Kohler, T.; Müller, R. "Bone substitute: Transforming β -tricalcium phosphate porous scaffolds into monetite" *Biomaterials* **29** (2008) 3400-3407.
- (73) Mayer, I.; Cuisinier, F. J. G.; Gdalya, S.; Popov, I. "TEM study of the morphology of Mn^{2+} -doped calcium hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate" *Journal of Inorganic Biochemistry* **102** (2008) 311-317.
- (74) Gibson, I. R.; Rehman, I.; Best, S. M.; Bonfield, W. "Characterization of the transformation from calcium-deficient apatite to β -tricalcium phosphate" *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **11** (2000) 533-539.
- (75) Kannan, S.; Goetz-Neunhoeffler, F.; Neubauer, J.; Ferreira, J. M. F. "Ionic substitutions in biphasic hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate mixture: Structural analysis by Rietveld refinement" *Journal of the American Ceramic Society* **91** (2008) 1-12.
- (76) Mayer, I.; Cuisinier, F. J. G.; Popov, I.; Yechezkel S.; Gdalya, S.; Burghaus, O.; Reinen, D. "Phase relations between β -tricalcium phosphate and hydroxyapatite with manganese(II): structural and spectroscopic properties" *European Journal of Organic Chemistry* (2006) 1460-1465.
- (77) Li, Y.; Wiliana, T.; Tam, K. C. "Synthesis of amorphous calcium phosphate using various types of cyclodextrins" *Materials Research Bulletin* **42** (2007) 820-827.
- (78) Vincent, U., Jeanjean, J. and Fedoroff, M. "Structural modification of calcium hydroxyapatite induced by sorption of cadmium ions" *Journal of Solid State Chemistry* **108** (1994) 68-72.

- (79) Kandori, K., Saito, M., Saito, H., Yasukawa, A. and Ishikawa, T. “Adsorption of protein on non-stoichiometric calcium–strontium hydroxyapatite” *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **94** (1995) 225–230.
- (80) Kikuchi, M., Yamazaki, A., Otsuka, R., Akao M., Aoki, H. “Crystal structure of Sr-substituted hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method” *Journal of Solid State Chemistry* **113** (1991) 373–378.
- (81) Sugiyama, S., Minami, T., Moriga, T., Hayashi, H. and Moffat, J. B., “Calcium–lead hydroxyapatites: thermal and structural properties and the oxidation of methane” *Journal of Solid State Chemistry* **135** (1998) 86–95.
- (82) Hata, M., Okada, K., Iwai, S., Akao, M. and Akoki, H., “Cadmium hydroxyapatite” *Acta Crystallographica B* **34** (1978) 3062–3064.
- (83) Fleet, M. E., Lui, X. “Local structure of channel ions in carbonate apatite” *Journal of Solid State Chemistry* **177** (2004) 3174-3182.
- (84) Leventouri, T. “Synthetic and biological hydroxyapatites: Crystal structure questions” *Biomaterials* **27** (2006) 3339–3342.
- (85) Suetsugu, Y., Takahashi, Y., Okamura, F. P., Tanaka, J. “Structure analysis of A-type carbonate apatite by a single-crystal X-ray diffraction method” *Journal of Solid State Chemistry* **155** (2000) 292-297.
- (86) Victoria, E. C.; Gnanam, F. D. “Synthesis and characterization of biphasic calcium phosphate” *Trends Biomaterials Artif. Organs.* **16(1)** (2002) 12-14.
- (87) Dorozhkina, E. I., Dorozhkin, S. V. “Mechanism of the solid-state transformation of a calciumdeficient hydroxyapatite (CDHA) into biphasic calcium phosphate (BCP) at elevated temperatures” *Chemistry of Materials* **14** (2002) 4267-4272.
- (88) Dorozhkin, S. V. “Mechanism of solid-state conversion of non-stoichiometric hydroxyapatite to diphasic calcium phosphate” *Russian Chemical Bulletin. International Edition* **52** (2003) 2369-2375.
- (89) Gautier, O.; Bowler, J. M. “Elaboration conditions influence physico-chemical properties and in-vivo bioactivity of macroporous biphasic calcium phosphate ceramics” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **10** (1999) 199-204.
- (90) Bish, D. L.; Post, J.E. “Modern powder diffraction” The Mineralogical Society of America, *Review in Mineralogy* **20** (1989).

- (91) Karanović, Lj.; Poleti, D. “Rendgenska strukturna analiza” Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 2003.
- (92) Young, R. A. “Rietveld refinement” Oxford University Press: U.K, 1993
- (93) McCusker, L. B.; Von Dreele, R. B.; Cox, D. E.; Louër, D.; Scardi, P. “Rietveld refinement guidelines” *Journal of Applied Crystallography* **32** (1999) 36-50.
- (94) Louër, D.; Mittemeijer, E. J. “Powder diffraction in materials science” The Role of Europe. *Materials Science Forum* **378-381**, (2001).
- (95) Karanović, Lj.; Petrović-Prelević, I.; Poleti, D. “A practical approach to Rietveld analysis. Comparison of some programs running on personal computers” *Powder Diffraction* **14** (1999) 171-180.
- (96) Stephens, P. “Phenomenological model of anisotropic peak broadening in powder diffraction” *Journal of Applied Crystallography* **23** (1999) 281-289.
- (97) Balzar, D.; Popa N. C. “Analyzing Microstructure by Rietveld Refinement” *The Rigaku Journal* **22** (2005) 16-25.
- (98) Antić, B.; Kremenović, A.; Nikolić, A. S.; Stoiljković, M. “Cation distribution and size-strain microstructure analysis in ultrafine Zn-Mn ferrites obtained from acetylacetonato complexes” *Journal of the Physical Chemistry B*, **108** (2004) 12646-12651.
- (99) Järvinen, M. “Application of symmetrized harmonics expansion to correction of the preferred orientation effect” *Journal of Applied Crystallography* **26** (1993) 525-531.
- (100) Rodriguez-Carvajal, J. “FullProf.2k”, Computer program, Version 2.40-May 2005-LLB JRC.
- (101) Stojanović, Z.; Veselinović, Lj.; Marković, S.; Ignjatović, N.; Uskoković, D. “Hydrothermal synthesis of nanosized pure and cobalt-exchanged hydroxyapatite” *Materials and Manufacturing Processes* **24** (2009) 1096–1103.
- (102) Ignjatović, N.; Tomić, S.; Dakić, M.; Miljković, M.; Plavšić, M.; Uskoković, D. “Synthesis and properties of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials” *Biomaterials* **20** (1999) 809-816.
- (103) Pankhurst, Q. A.; Connolly, J.; Jones, S. K.; Dobson, J. “Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine” *Journal of Physics D: Applied Physics* **36** (2003) 167–181.

- (104) Rodrigez-Carvajal, J. *FULLPROF: A Program for Rietveld Refinement and Pattern Matching Analysis*, Abstracts of the Satellite Meeting on Powder Diffraction of the XV Congress of the IUCr, Toulouse, France, 1990, p. 127.
- (105) Roisnel, T.; Rodríguez-Carvajal, J. “WinPLOTR: a windows tool for powder diffraction pattern analysis” *Material Science Forum* **378–381** (2001) 118–123.
- (106) Garvey, R. G. “LSUCRI least squares unit cell refinement for the personal computer” *Powder Diffraction B* **1**[1] (1986) 114-116.
- (107) Rodriguez-Lorenzo, L. M.; Hart, J. N.; Gross, K. A. “Structural and chemical analysis of well-crystallized hydroxyapatites” *Journal of Physical Chemistry B*. **107** (2003) 8316-8320.
- (108) Cvejic, Z.; Rakic, S.; Kremenovic, A.; Antic, B.; Jovalekic, C.; Colombari, P. “Nanosize ferrites obtained by ball milling: Crystal structure, cation distribution, size-strain analysis and Raman investigations” *Solid State Sciences* **8** (2006) 908-915.
- (109) Wang, J.; Nonami, T.; Yubata, K. “Syntheses, structures and photophysical properties of iron containing hydroxyapatite prepared by a modified pseudo-body solution” *Journal of Materials Science Materials in Medicine* **19** (2008) 2663-2667.
- (110) JCPDS File No. 09-0432 (HAp), International Center for Diffraction Data.
- (111) Mostafa, N. Y.; Brown, P. W. “Computer simulation of stoichiometric hydroxyapatite: structure and substitutions” *Journal of Physics and Chemistry of Solids* **68** (2007) 431-437.
- (112) Stork, L.; Mueller, P.; Dronskowski, R.; Ortlepp, J. R. “Chemical analyses and X-ray diffraction investigations of human hydroxyapatite minerals from aortic valve stenoses” *Zeitschrift fuer Kristallographie*. **220** (2005) 201-205.
- (113) Kuo, Y. -K.; Liou, B. -T.; Yen, S. -H.; Chu, H. -Y. “Vegard’s law deviation in lattice constant and band gap bowing parameter of zincblende $\text{In}_x\text{Ga}_{1-x}\text{N}$ ” *Optics Communications* **237** (2004) 363–369.
- (114) Denton, A. R.; Ashcroft, N. W. “Vegard’s law” *Physical Review A* **43** (1990) 3161-3664.
- (115) Shannon, R. D. “Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides” *Acta Crystallographica A* **32** (1976) 751–767.

- (116) Henderson, C. M. B., Bell, A. M. T., Charnock, J. M., Knight, K. S., Wendlant, R. F., Plant, D. A., Harrison, W. J. "Synchrotron X-ray absorption spectroscopy and X-ray powder diffraction studies of the structure of johnbaumite [Ca₁₀(AsO₄)₆(OH,F)₂] and synthetic Pb-, Sr- and Ba-arsenate apatites and some comments on the crystal chemistry of the apatite structure type in general" *Mineralogical Magazine* **73**(3) (2009), 433-455.
- (117) Zhang, Z.; Zhang, Y.; Muhammed, M. "The reduction of cobalt doped ammonium paratungstate to nanostructured W-Co powder" *International Journal of Refractory Metals & Hard Materials* **20** (2002) 227-233.
- (118) Li, H.; Ng, B. S.; Khor, K. A.; Cheang, P.; Clyne, T. W. "Raman spectroscopy determination of phases within thermal sprayed hydroxyapatite splats and subsequent in vitro dissolution examination" *Acta Materialia* **52** (2004) 445-453.
- (119) Smith, R.; Rehman, I. "Fourier transform Raman spectroscopic studies of human bone" *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **5** (1995) 775-778.
- (120) Vani, R.; Girija, E. K.; Elayaraja, K.; Prakash Parthiban, S.; Kesavamoorthy, R.; Narayana Kalkura, S. "Hydrothermal synthesis of porous triphasic hydroxyapatite/(α and β) tricalcium phosphate" *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* DOI 10.1007/s10856-008-3480-8.
- (121) Bertoluzza, A.; Bottura, G.; Taddei, P.; Tinti, A.; Morelli, M. A. "Vibrational spectra of controlled-structure hydroxyapatite coatings obtained by the polymeric route" *Journal of Raman Spectroscopy* **27** (1996) 759-764.
- (122) Darimont, G. L.; Gilbert, B.; Cloots, R. "Non-destructive evaluation of crystallinity and chemical composition by Raman spectroscopy in hydroxyapatite-coated implants" *Materials Letters* **58** (2003) 71-73.
- (123) Aminzadeh, A.; Shahabi, S.; Walsh, L. J. "Raman spectroscopic studies of CO₂ laser-irradiated human dental enamel" *Spectrochimica Acta A* **55** (1999) 1303-1308.
- (124) Liao, C., -J.; Lin, F., -H; Chen, K., -S.; Sun, J., -S. "Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere" *Biomaterials* **20** (1999) 1807-1813.

- (125) Landi, E.; Tampieri A.; Celotti, G.; Sprio, S. "Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites" *Journal of the European Ceramic Society* **20** (2000) 2377-2387.
- (126) Ivanova, T., I.; Frank-Kamenetskaya, O., V.; Kol'tsov, A., B.; Ugolkov, V., L. "Crystal structure of Calcium-Deficient Carbonated Hydroxyapatite. Thermal Decomposition" *Journal of Solid State Chemistry* **160** (2001) 340-349.
- (127) Ignjatović, N. "Sinteza i dizajniranje strukture i osobina hidroksiapatit-polilaktid kompozitnih biomaterijala" Doktorska disertacija. Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd 2002.
- (128) Rusu, V. M.; Ng, C.-H.; Wilke, M.; Tiersch, B.; Fratzl, P.; Peter, M. G. "Size-controlled hydroxyapatite nanoparticles as self-organized organic-inorganic composite materials" *Biomaterials* **26**, (2005) 5414-5426.