



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Mikrobanginė karbonizuotų apatitų sintezė ir jų savybės

Baigiamasis magistro projektas

Lidija Turilinitė

Projekto autorė

Doc. dr. Tadas Dambrauskas

Vadovas

Kaunas, 2026



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Mikrobanginė karbonizuotų apatitų sintezė ir jų savybės

Baigiamasis magistro projektas

Taikomoji chemija (6211CX014)

Lidija Turilinaitė

Projekto autorė

Doc. dr. Tadas Dambrauskas

Vadovas

Asist. dr. Raimonda Kubiliūtė

Recenzentė

Kaunas, 2026



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Lidija Turilinaitė

Mikrobanginė karbonizuotų apatitų sintezė ir jų savybės

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs (–usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Lidija Turilinaitė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Turilinitė, Lidija. Mikrobanginė karbonizuotų apatitų sintezė ir jų savybės. Magistro baigiamasis projektas / vadovas doc. dr. Tadas Dambrauskas; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: hidroksiapatitas, fluorapatitas, mikrobanginė sintezė, antibakterinis aktyvumas, 3D karkasai.

Kaunas, 2026. 53 p.

Santrauka

Karbonizuoti kalcio fosfatai yra perspektyvios kalcio fosfatų medžiagos, pasižyminčios cheminiu panašumu į biologinius apatitus ir plačiu pritaikomumu biomedicinoje. Nepaisant gausių hidroksiapatito ir fluorapatito sintezės bei savybių tyrimų, jų karbonizuoti analogai vis dar yra nepakankamai ištirti. Šio magistrinio projekto tikslas – mikrobanginės sintezės metodu susintetinti karbonizuotus hidroksiapatitą (CHA) ir fluorapatitą (CFA) bei nustatyti pagrindines jų savybes.

Kalcio fosfatai sintetinti kalcio karbonato bei fosforo rūgšties arba kalcio karbonato, fosforo rūgšties bei amonio fluorida vandeninėse suspensijose. Pradiniai komponentai sumaišyti taip, kad atitiktų hidroksiapatito ($\text{Ca:P} = 10:6$) ir fluorapatito stechiometrinę ($\text{Ca:P:F} = 10:6:1$) sudėtį. Mikrobanginė sintezė vykdyta 30 mL borosilikatiniuose mėgintuvėliuose, patalpintuose į mikrobangų reaktorių „Monowave 300“, 100–200 °C temperatūros aplinkoje 2 valandas.

Nustatyta, kad 100 °C temperatūros aplinkoje CHA susidaro kartu su oktakalcio fosfato pentahidratu ir lieka nesureagavusio kalcio karbonato. Didinant sintezės temperatūrą, sintezės produktuose vyrauja CHA su nedideliu kalcio karbonato priemaišų kiekiu. CFA sintezės metu 100–160 °C temperatūrų intervale sintezės produktuose vyrauja tikslinis produktas su nesureagavusiu kalcio karbonatu, kurio kiekis, didinant temperatūrą, mažėja. Palankiausios sintezės sąlygos nustatytos esant 160 °C temperatūrai, kai CHA ir CFA išeigos siekė atitinkamai 92,40 % ir 92,42 %, o kristalitų dydžiai 59 nm ir 76 nm.

Ištirta, kad CHA dalelės pasižymi šešiakampių lazdelių bei netaisyklingų plokštelių forma, o jų dydis pasiskirsto plačiame intervale (0,47–104,71 μm). Tuo tarpu CFA būdingos smulkesnės (0,47–69,18 μm), pailgos ir apvalios formos dalelės. Nustatyta, kad sintetinių karbonizuotų apatitų dalelės yra linkusios sudaryti aglomeratus. Terminės analizės rezultatai parodė, kad CFA pasižymi didesniu higroskopiskumu, nes adsorbuoto vandens masės nuostoliai siekia 4,63 %, kai CHA atveju 1,81 %. Antibakterinio aktyvumo tyrimų metu nustatyta, kad CHA nepasižymi antibakteriniu poveikiu tirtiems mikroorganizmams, o štai CFA efektyviai slopina *S. aureus* ir *E. coli* bakterijų augimą.

Sintetiniai produktai pritaikyti formuojant PLA ir 20 % apatitų (CHA/CFA) kompozitinius giroidinės struktūros 3D karkasus. Nustatyta, kad užpildas tolygiai pasiskirstė polimero matricoje, o suformuoti PLA–CHA ir PLA–CFA karkasai atitinkamai pasižymėjo $111,46 \pm 8,97$ MPa ir $106,20 \pm 7,35$ MPa Jungo moduliu, todėl yra perspektyvūs kaulinio audinio regeneracijos taikymams.

Turilinaite, Lidija. Microwave–Assisted Synthesis and Properties of Carbonated Apatites. Master's Final Degree Project / Supervisor Assoc. Prof. Dr. Tadas Dambrauskas; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: hydroxyapatite, fluorapatite, microwave–assisted synthesis, antibacterial activity, 3D scaffolds.

Kaunas, 2026. 53.

Summary

Carbonated calcium phosphates are promising materials due to their chemical similarity to biological apatites and potential for biomedical applications. However, their carbonated analogues remain insufficiently investigated. The aim of this master's thesis was to synthesize carbonated hydroxyapatite (CHA) and carbonated fluorapatite (CFA) using the microwave–assisted synthesis and to determine their main properties.

Calcium phosphates were synthesized in aqueous suspensions containing calcium carbonate and phosphoric acid or calcium carbonate, phosphoric acid, and ammonium fluoride. The initial components were mixed to correspond to the stoichiometric composition of hydroxyapatite (Ca:P = 10:6) and fluorapatite (Ca:P:F = 10:6:1). Microwave–assisted synthesis was carried out in 30 mL borosilicate vials placed in a “*Monowave 300*” microwave reactor at temperatures ranging from 100 to 200 °C for 2 hours.

It was determined that at 100 °C, CHA formed together with octacalcium phosphate pentahydrate, while unreacted calcium carbonate remained in the synthesis products. With increasing synthesis temperature, CHA became the predominant phase with only minor calcium carbonate impurities. During CFA synthesis in the temperature range of 100–160 °C, the target product predominated in the synthesis products, while the amount of unreacted calcium carbonate decreased with increasing temperature. The most favorable synthesis conditions were established at 160 °C, where the yields of CHA and CFA reached 92.40% and 92.42%, respectively, while the crystallite sizes were 59 nm and 76 nm.

It was observed that CHA particles exhibit a hexagonal rod–like and irregular plate–like morphology, with particle sizes distributed over a wide range (0.47–104.71 µm). In contrast, CFA particles were characterized by smaller sizes (0.47–69.18 µm) with elongated and rounded morphology. It was determined that synthetic carbonized apatite particles tend to form agglomerates. Thermal analysis results showed that CFA exhibited higher hygroscopicity, as the mass loss of adsorbed water reached 4.63%, compared to 1.81% for CHA. Antibacterial activity tests revealed that CHA did not exhibit antibacterial effects against the investigated microorganisms, whereas CFA effectively inhibited the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria.

Synthetic products were used for the fabrication of PLA and 20 wt.% apatite (CHA/CFA) composite 3D scaffolds with a gyroid structure. The results showed that the fillers were uniformly distributed within the polymer matrix, while the fabricated PLA–CHA and PLA–CFA scaffolds exhibited Young's modulus values of 111.46 ± 8.97 MPa and 106.20 ± 7.35 MPa, respectively, indicating their potential for bone tissue regeneration applications.

Turinys

Lentelių sąrašas.....	7
Paveikslų sąrašas	8
Santrumpų sąrašas	9
Įvadas	10
1. Literatūros apžvalga	11
1.1. Demografiniai pokyčiai ir su jais susijusios sveikatos problemos	11
1.2. Biomedžiagų klasifikacija ir jų vaidmuo implantologijoje	12
1.3. Hidroksiapatitas	15
1.3.1. Įsiterpusių jonų svarba hidroksiapatito savybėms ir taikymui	17
1.4. Kalcio fosfatų sintezė	19
1.4.1. Sausieji sintezės metodai	20
1.4.2. Šlapieji sintezės metodai	20
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	24
2.1. Naudotos žaliavos.....	24
2.2. Tyrimų metodai	24
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	28
3.1. Karbonizuoto hidroksiapatito mikrobanginė sintezė ir savybės.....	28
3.2. Karbonizuoto fluorapatito mikrobanginė sintezė ir savybės	34
3.3. Karbonizuotų hidroksiapatito ir fluorapatito antibakterinės savybės	40
3.4. Kompozitinių karkasų su kalcio fosfatais gamyba	42
Išvados	45
Rekomendacijos.....	46
Literatūros sąrašas	47
Publikacijų sąrašas	54

Lentelių sąrašas

1.1 lentelė. Pagrindiniai kalcio fosfatai naudojami biologinėse sistemose	14
1.2 lentelė. Kalcio fosfatų sintezės metodų palyginimas	22
2.1 lentelė. Sintzei naudotos žaliavos.....	24
2.2 lentelė. Antibakterinio aktyvumo tyrimams naudotos žaliavos ir bakterijų kultūros	24
2.3 lentelė. Gijų formavimui ir 3D spausdinimui naudotos žaliavos.....	24
3.1 lentelė. Karbonizuoto hidroksiapatito savitojo paviršiaus ploto apskaičiuoti parametrai.....	34
3.2 lentelė. Karbonizuoto fluorapatito savitojo paviršiaus ploto apskaičiuoti parametrai	39
3.3 lentelė. Teigiamos kontrolės preparatų slopinimo zonos ir MSK vertės	40

Paveikslų sąrašas

1.1 pav. Lietuvos gyventojų senėjimo tendencija	11
1.2 pav. Heksagoninės singonijos hidroksiapatito elementarioji kristalinė gardelė	16
1.3 pav. Jonų pakeitimo tipai hidroksiapatito kristalinėje gardelėje	17
1.4 pav. Kalcio fosfatų sintezės metodų klasifikacija	19
1.5 pav. Cheminių reakcijų kaitinimo mechanizmo skirtumai tarp konvekcinio ir mikrobanginio šildymo metodų	22
3.1 pav. Sintezės produktų RSDA kreivės esant skirtingai izoterminio apdorojimo temperatūrai... 28	28
3.2 pav. Sintezės produktuose susidariusių fazių koncentracijos (a) ir karbonizuoto hidroksiapatito kristalinių dydžiai (b).....	29
3.3 pav. Skystosios terpės pH vertės gautos karbonizuoto hidroksiapatito sintezės metu.....	29
3.4 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito FT–IR spektras	30
3.5 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito disperguoto ultragarsu granulimetrinė sudėtis (a) ir termogravimetrinės analizės kreivės (b).....	32
3.6 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito SEM nuotraukos	33
3.7 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito TEM nuotraukos.....	33
3.8 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito azoto adsorbcijos (1) – desorbcijos (2) izotermės	34
3.9 pav. Sintezės produktų RSDA kreivės, esant skirtingai izoterminio apdorojimo temperatūrai.. 35	35
3.10 pav. Sintezės produktuose susidariusių fazių koncentracijos (a) ir karbonizuoto fluorapatito kristalinių dydžiai (b).....	35
3.11 pav. Skystosios terpės gautos karbonizuoto fluorapatito sintezės metu pH vertės	36
3.12 pav. Karbonizuoto fluorapatito FT–IR spektras.....	37
3.13 pav. Karbonizuoto fluorapatito disperguoto ultragarsu granulimetrinė sudėtis (a) ir termogravimetrinės analizės kreivės (b).....	38
3.14 pav. Karbonizuoto fluorapatito SEM nuotraukos	38
3.15 pav. Karbonizuoto fluorapatito TEM nuotraukos	39
3.16 pav. Karbonizuoto fluorapatito azoto dujų adsorbcijos (1) – desorbcijos (2) izotermos	39
3.17 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito antibakterinis aktyvumas prieš <i>S. aureus</i> (a), <i>B. cereus</i> (b) ir <i>E. coli</i> (c) bakterijų kultūras	41
3.18 pav. Karbonizuoto fluorapatito antibakterinis aktyvumas	41
3.19 pav. Kompozitinio karkaso su giroidine struktūra 3D modelis.....	42
3.20 pav. Kompozitinių gijų RSDA kreivės	43
3.21 pav. Gryno PLA (a) ir kompozitinių PLA–CFA (b) bei PLA–CHA (c) gijų paviršiaus SEM nuotraukos	43
3.22 pav. Kompozitinio karkaso vidinės giroidinės struktūros SEM nuotrauka.....	44

Santrumpų sąrašas

Santrumpos:

ACP – amorfinis kalcio fosfatas,

AMB – amfotericinas B,

AMP – ampicilinas,

BET – Brunauerio, Emmeto ir Tellerio lygtis,

Ca/P – molinis kalcio ir fosforo santykis,

CFA – karbonizuotas fluorapatitas,

CHA – karbonizuotas hidroksiapatitas

CIP – ciprofloksacinas,

DTG – diferencinė termogravimetrija,

FA – fluorapatitas,

HA – hidroksiapatitas,

MSK – minimali slopinamoji koncentracija,

PLA – polipieno rūgštis,

PLA–CFA – polipieno rūgšties ir karbonizuoto fluorapatito mišinys,

PLA–CHA – polipieno rūgšties ir karbonizuoto hidroksiapatito mišinys,

RSDA – rentgeno spinduliuotės difrakcinė analizė,

SEM – skenuojančioji elektroninė mikroskopija,

TEM – peršviečiamoji elektroninė mikroskopija.

Ivadas

Sveikata yra vienas svarbiausių visuomenės gerovę lemiančių veiksnių, o jos sutrikimai daro neigiamą poveikį tiek individualiai gyvenimo kokybei, tiek sveikatos priežiūros sistemų tvarumui. Vienas pagrindinių ligų rizikos veiksnių yra senėjimas, pasižymintis progresyviu organizmo funkcinių gebėjimų mažėjimu ir padidėjusiu jautrumu patologiniams procesams [1]. Skeleto sistemoje šie pokyčiai pasireiškia kaulų masės bei mineralinio tankio mažėjimu, didinančiu osteoporozės, lūžių ir kitų trauminių pažeidimų riziką [2]. Lietuvoje stebima spartėjanti visuomenės senėjimo tendencija kelia papildomų iššūkių sveikatos priežiūros sistemai, todėl naujų medicininių sprendimų poreikis tampa itin aktualus [3]. Atsižvelgiant į tai, viena perspektyviausių kryptių yra pažangių biomedžiagų, skirtų kaulinio audinio regeneracijai ir implantologijai, kūrimas.

Ypatingas dėmesys skiriamas biologiškai skaidžioms keraminėms medžiagoms, kalcio fosfatams, dėl jų cheminio ir struktūrinio panašumo į natūralų kaulinį audinį [4]. Natūralų kaulą sudaro organinė matrica ir neorganinė mineralinė fazė, kurios pagrindinis komponentas yra karbonizuotas hidroksiapatitas. Mokslinėje literatūroje hidroksiapatitas plačiai tiriamas dėl puikaus biologinio suderinamumo ir osteokonduktyvumo [5]. Jis priskiriamas biokeraminių medžiagų grupei, kuri itin taikoma odontologijoje, ortopedijoje bei audinių inžinerijoje. Svarbi hidroksiapatito savybė yra jo kristalinės struktūros lankstumas, leidžiantis hidroksilo grupes pakeisti įvairiais anijonais, tokiais kaip fluoridas ar karbonatas [6]. Tokie struktūriniai pokyčiai kryptingai modifikuoja medžiagos tirpumą, mechanines savybes ir biologinį aktyvumą. Karbonatų jonų įterpimas yra svarbus, nes suteikia galimybę tiksliau imituoti biologinio apatito sudėtį. Tuo tarpu fluorida įterpimas lemia fluorapatito susidarymą, kuriam būdingas didesnis medžiagos cheminis ir terminis stabilumas bei mažesnis tirpumas, o tai aktualu tais atvejais, kai reikalingas lėtesnis implanto degradacijos greitis [7].

Nepaisant gausių kalcio fosfatų tyrimų, jų karbonizuotų analogų sintezės mechanizmai, ypač taikant kaitinimą mikrobangomis, išlieka nepakankamai ištirti. Vis dar sudėtinga tiksliai atkurti natūralaus kaulo struktūrą sintetiniais metodais, todėl trūksta tyrimų, kuriuose būtų analizuojama karbonizuotų hidroksiapatito ir fluorapatito sintezė bei savybės. Mikrobanginė sintezė, pasižyminti greitu ir tolygiu kaitinimu, leidžia gauti aukšto grynumo produktus per trumpą laiką, tačiau galutinės savybės, tokios kaip fazinė sudėtis, morfologija ir kristališkumas, priklauso nuo sintezės parametrų, įskaitant temperatūrą, pH bei pirmtakų kilmę ir koncentraciją [6, 8].

Darbo tikslas – mikrobanginės sintezės būdu susintetinti karbonizuotus hidroksiapatitą ir fluorapatitą bei nustatyti pagrindines jų savybes.

Darbo uždaviniai:

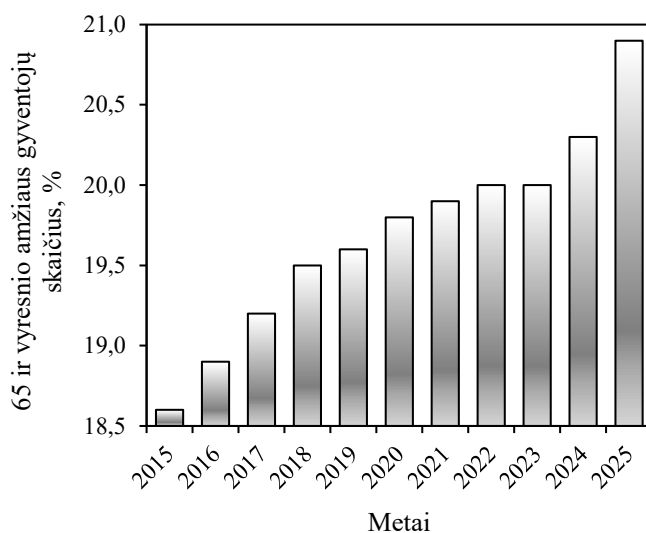
1. nustatyti mikrobanginės sintezės temperatūros įtaką karbonizuotų kalcio fosfatų susidarymui,
2. nustatyti pagrindines fizikines ir chemines sintezės produktų savybes,
3. įvertinti susintetintų karbonizuotų kalcio fosfatų antibakterinį aktyvumą prieš gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas,
4. sintetinius karbonizuotus kalcio fosfatus panaudoti 3D kompozitų gamybai bei ištirti jų savybes.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Demografiniai pokyčiai ir su jais susijusios sveikatos problemos

Sveikata – tai fundamentalus veiksnys, tiesiogiai lemiantis asmens gyvenimo kokybę, darbingumą ir socialinį aktyvumą. Taikomos prevencinės priemonės, subalansuota mityba ir fizinis aktyvumas yra esminiai sveikos visuomenės formavimo elementai. Makroekonominio požiūriu populiacijos sveikatos būklė yra neatsiejama nuo valstybės ekonominio stabilumo, nes ji tiesiogiai siejasi su darbo rinkos tvarumu bei socialinės apsaugos sistemų efektyvumu [9]. Dėl šių priežasčių investicijos į visuomenės sveikatos gerinimą ir medicinos technologijų plėtrą išlieka prioritetingu mokslinių tyrimų objektu [9].

Pastaraisiais dešimtmečiais Lietuvoje, kaip ir daugelyje Europos Sąjungos šalių, stebima ryški populiacijos struktūros kaita. Visuomenės senėjimas – tai ilgalaikė tendencija, pasireiškianti vyresnio amžiaus gyventojų dalies augimu ir darbingo amžiaus populiacijos mažėjimu. Statistiniai duomenys rodo, kad 2025 m. 65 metų ir vyresnių asmenų skaičius Lietuvoje sudarė apie 20,9 % visos populiacijos, kai 2015 m. šis rodiklis siekė 18,6 % (žr. 1.1 pav.) [10]. Be to, šalyje išlieka žemas gimstamumo lygis, kurio 2024 m. bendras gimstamumo rodiklis siekė tik 1,11 vaiko moteriai, o tai yra viena žemiausių verčių Europos Sąjungoje [3, 10].



1.1 pav. Lietuvos gyventojų senėjimo tendencija [10]

Dėl šių priežasčių nuolatinė gimstamumo regresija neužtikrina natūralios kartų kaitos, todėl sparčiai didėja senyvo amžiaus priklausomybės rodiklis, apibrėžiantis 65 metų ir vyresnių gyventojų santykį su darbingo amžiaus (20–64 m.) populiacija. Remiantis Europos Sąjungos statistikos tarnybos prognozėmis, ši vertė Lietuvoje nuolat auga ir iki 2050 m. gali pasiekti 45 % [3]. Tokia demografinė kaita itin didina spaudimą valstybės biudžetui dėl augančių išlaidų pensijoms, sveikatos priežiūrai ir socialinėms paslaugoms [9]. Atsižvelgiant į tai, kritiškai svarbu užtikrinti sveikatos apsaugos ir ilgalaikės priežiūros sistemų tvarumą bei efektyvų išteklių paskirstymą.

Kita vertus, demografinis senėjimas tiesiogiai koreliuoja su specifinių sveikatos priežiūros paslaugų poreikiu, kur viena kritiškiausių problemų yra su amžiumi susijusi kaulinio audinio degeneracija [2, 9]. Šis procesas apima kaulų mineralinio audinio tankio mažėjimą bei sutrikusią remodeliaciją. Žmogaus organizmui senstant silpnėja osteogeninių ląstelių funkcijos bei kinta vietinis uždegiminis

atsakas, o tai ne tik skatina osteoporozės vystymąsi, bet ir lėtina kaulinių defektų bei operacinių žaizdų gijimą [2]. Susilpnėjusios mechaninės ir homeostazinės kaulinio audinio funkcijos mažina organizmo atsparumą traumoms bei lemia prastesnę atsistatymą po chirurginių procedūrų. Dėl šios priežasties vyresnio amžiaus pacientams dažniau diagnozuojamos lėtinės ligos, didėja medicininių intervencijų poreikis bei ilgėja reabilitacijos trukmė, o tai lemia augančias sveikatos ir ilgalaikės priežiūros išlaidas [2, 9].

Kaulinio audinio biologiniai pokyčiai yra itin svarbūs ortopedijos ir odontologijos srityse, kuriose plačiai taikomi kauliniai implantai bei kaulo pakaitinės medžiagos. Klinikinių tyrimų duomenys rodo, kad 66–80 metų pacientų grupėje ankstyvųjų osteointegracijos nesėkmių dažnis siekia 14,56 %, kai tuo metu 20–35 metų grupėje šis rodiklis yra tik 4,99 % [11]. Nors bendrieji implantų išgyvenamumo, t. y. ilgalaikio implantų išlikimo ir funkcionalumo, rodikliai skirtingose amžiaus grupėse tam tikrais atvejais gali būti panašūs, tačiau amžiaus sukelti fiziologiniai procesai išlieka kritiniu rizikos veiksniu, galinčiu neigiamai paveikti osteointegracijos eigą [2, 11].

Be sisteminių biologinių veiksnių, sėkmingą osteointegraciją lemia ir mikrobiologiniai aspektai. Implantologijoje kaulų pakaitinių implantų paviršius yra palanki terpė mikroorganizmų kolonizacijai bei bioplėvelių formavimuisi, o vyresnio amžiaus pacientams būdingas imuninės sistemos silpnėjimas (imunosenescencija) dar labiau padidina pooperacinių infekcijų riziką [12]. Atsižvelgiant į tai, kad vyresnis amžius kartu su gretutinėmis ligomis ar mažu kaulo tankiu yra nesėkmingos implantacijos rizikos veiksnys, šiuolaikinėje biomedicinoje tampa kritiškai svarbu ieškoti medžiagų, pasižyminčių prigimtinu antibakteriniu aktyvumu [11]. Tai leistų ne tik sumažinti priklausomybę nuo tradicinių antibiotikų, kurių efektyvumas mažėja dėl augančio mikrobo atsparumo, bet ir užtikrintų lokalią apsaugą osteointegracijos periodu.

Apibendrinant galima teigti, kad globalūs demografiniai pokyčiai bei su amžiumi susijusi kaulinio audinio degeneracija išryškina poreikį ieškoti efektyvių technologinių sprendimų šioms iššūkiams spręsti. Siekiant užtikrinti sėkmingą vyresnio amžiaus pacientų gydymą, atsiranda poreikis kurti inovatyvias biomedžiagas, kurios ne tik pagerintų osteointegraciją, bet ir antibakterinėmis savybėmis sumažintų komplikacijų rizikos dažnį.

1.2. Biomedžiagų klasifikacija ir jų vaidmuo implantologijoje

Šiuolaikinėje medicinoje implantų gamybai naudojamos įvairios kilmės medžiagos, t. y. tiek natūralios tiek sintetinės. Pagrindinės šių medžiagų grupės klasifikuojamos į polimerus, metalus ir keramiką, o jų pasirinkimą lemia specifiniai mechaniniai, cheminiai bei biologiniai reikalavimai [13, 14].

Polimerai ir jų kompozitų taikymas bei trūkumai

Kaulinio audinio inžinerijoje plačiai taikomi polimeriniai karkasai, skirti pažeistiems kaulams atkurti, imituojant tarpląstelinę matricą [15]. Šios struktūros suteikia mechaninę atramą ir perduoda biologinius signalus, būtinus ląstelėms prisitvirtinti, proliferacijai bei diferenciacijai. Į jų sudėtį dažnai įtraukiamos biologiškai suderinamos ir skaidžios medžiagos, nanodalelės bei augimo faktoriai, kurie gerina ląstelių infiltraciją, maistinių medžiagų difuziją ir bioaktyvių molekulių tiekimą, taip skatindami efektyvesnę kaulinio audinio gijimą [15].

Polimeriniai karkasai turi pranašumų, palyginti su tradiciniais metodais, tokiais kaip autotransplantatai ar alograftai [15]. Jie leidžia tiksliai reguliuoti mechanines savybes, poringumą ir bioaktyvumą, todėl gali būti pritaikomi sudėtingiems kaulų defektams gydyti. Dažniausiai naudojami sintetiniai polimerai, tokie kaip polilaktinė rūgštis ar polikaprolaktonas, taip pat natūralūs polimerai, įskaitant kolageną, chitozaną, želatiną ir alginatą [15]. Dėl biologinio suderinamumo, kontroliuojamo biodegradacijos greičio ir galimybės modifikuoti paviršių šie polimerai užtikrina integraciją su aplinkiniais audiniais. Be to, laipsniškas jų skaidymasis gali būti priderintas prie naujo audinio formavimosi, taip išvengiant pakartotinės chirurginės intervencijos karkasui pašalinti [15].

Nepaisant šių privalumų, polimerinių karkasų klinikinį pritaikymą riboja tam tikri iššūkiai. Vienas kritinių veiksnių yra polimero skaidymosi greitis, kuris priklauso nuo jo cheminės sudėties, struktūros ir biologinės aplinkos. Per greitas skaidymasis gali lemti ankstyvą struktūrinės atramos praradimą, o per lėtas – trukdyti natūraliam audinių persitvarkymui [15]. Itin svarbus aspektas yra skaidymosi metu susidarantys šalutiniai produktai, kurie gali sukelti uždegimines reakcijas ir neigiamai paveikti kaulų gijimą [15]. Be to, daugeliui polimerų būdingas nepakankamas mechaninis standumas ir mažas osteokonduktyvumas. Siekiant spręsti šias problemas, polimerai dažnai derinami su bioaktyviomis keraminėmis medžiagomis, pavyzdžiui, hidroksiapatitu [15]. Tokie kompozitai ne tik pagerina karkaso mechanines savybes ir osteokonduktyvumą, bet ir efektyviai neutralizuoja rūgštinius polimerų skaidymosi produktus, užtikrindami palankią terpę kaulo regeneracijai.

Metallų ir jų lydalų taikymas ir trūkumai

Metalai ir jų lydiniai išlieka dominuojančia medžiaga ortopedinių implantų gamyboje, sudarydami daugiau nei du trečdalius visų naudojamų konstrukcijų [13]. Siekiant parinkti tinkamiausią metalą, būtina kompleksiskai įvertinti jo mechanines, fizikines, chemines bei biologines savybes.

Titanas ir jo lydiniai yra vienos dažniausiai pasirenkamų metalinių medžiagų dėl puikaus biologinio suderinamumo, kuris paprastai nesukelia neigiamų vietinių ar sisteminių organizmo reakcijų [13, 16]. Šį suderinamumą lemia medžiagai būdingas inertiškumas, palankus stiprumo ir masės santykis bei efektyvi baltymų adsorbcija [13]. Lyginant su nerūdijančiu plieniu ar kobalto–chromo lydiniais, titano implantai pasižymi didesniu ilgaamžiškumu ir atsparumu korozijai [13, 14]. Tačiau, nepaisant nuolatinio lydinių tobulinimo, tradiciniai metaliniai implantai susiduria su rimtais iššūkiais.

Vidutinis ortopedinių metalinių implantų tarnavimo laikas siekia apie 12–15 metų, po kurių neretai pasireiškia konstrukcijos gedimai ar nusidėvėjimas [13]. Šie neigiami pokyčiai pacientui sukelia diskomfortą, dėl kurio prireikia sudėtingų revizinių operacijų [13, 16]. Metallų funkcinės savybės yra ribojamos dėl nepakankamo atsparumo dilimui ar per didelio tampros (Jungo) modulio. Be to, pastaroji savybė sukelia įtempių ekranavimo efektą, kurio metu metalinis implantas perima pagrindinę mechaninę apkrovą, todėl natūralus kaulas patiria stimuliacijos stoką. Dėl šios priežasties prasideda kaulo rezorbcija ir atrofija, o tai ypač aktualu vyresnio amžiaus pacientams, kurių kaulinis audinys jau yra paveiktas senėjimo procesų ar osteoporozės [13, 16].

Metalinių implantų osteointegracijai gerinti plačiai taikoma paviršių modifikacija keramikinėmis dangomis [17, 18]. Taikant šį metodą, padidinamas bioinertiško metalo paviršiaus bioaktyvumas ir osteokonduktyvumas, imituojant natūralaus kaulo mineralinę struktūrą [17]. Specifinė paviršiaus stimuliacija skatina palankų ląstelių atsaką bei padidina senėjimo ar osteoporozės paveiktų ląstelių osteogeninės diferenciacijos potencialą, taip užtikrinant sėkmingą osteointegraciją [18]. Vis dėlto, esminis šios modifikacijos trūkumas yra nepakankamas dangos sukibimas su metaliniu pagrindu dėl

skirtingos medžiagų fizikinės ir cheminės prigimtys [17]. Silpnas adhezinis ryšys tarp chemiškai svetimų medžiagų lemia ankstyvą implanto nestabilumą bei galimą dangos delaminaciją [17]. Siekiant išvengti šių neigiamų pasekmių ir užtikrinti optimalų biologinį suderinamumą, mokslinėje literatūroje vis dažniau siūloma, kaip pagrindinę implantų žaliavą, naudoti kalcio fosfatų grupės junginius.

Kalcio fosfatai ir jų biologinė reikšmė

Kalcio fosfatai – viena perspektyviausių neorganinių biomedžiagų grupių, taikomų kaulinio audinio inžinerijoje [4]. Šie junginiai medicinos praktikoje vertinami tiek kaip potencialios metalinių implantų dangos, tiek kaip savarankiškos biomedžiagos kaulinių defektų regeneracijai [4]. Kalcio fosfatų grupę sudaro plati junginių šeima, kuriai priklauso skirtingos kristalinės fazės, besiskiriančios stochiometrinio kalcio ir fosforo (Ca/P) santykiu ir tirpumu (žr. 1.1 lent.) [19, 20]. Šie rodikliai yra esminiai kriterijai, nulemiantys specifines junginių chemines savybes ir jų biologinę elgseną organizme.

1.1 lentelė. Pagrindiniai kalcio fosfatai naudojami biologinėse sistemose [20]

Junginio pavadinimas	Cheminė formulė	Ca/P santykis	Tirpumas 37 °C temperatūroje, $-\log(K_s)$
Dikalcio fosfato dihidratas (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	6,63
Bevandenis dikalcio fosfatas (DCPA)	CaHPO_4	1,00	7,02
Amorfinis kalcio fosfatas (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$, čia: $n=3-4,5$; 15–20 % H_2O	1,20–2,20	$25,70 \pm 0,1$
β -trikalčio fosfatas (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	29,50
Oktakalcio fosfatas (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	95,90
Hidroksiapatitas (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	117,20
Fluorapatitas (FA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	1,67	119,20

Išskirtinis kalcio fosfatų pranašumas, lyginant su kitomis biomedžiagomis, yra jų biomimetinės savybės, nulemtos specifinės cheminės sudėties. Sudėtyje esantys kalcio (Ca^{2+}) katijonai ir fosfato (PO_4^{3-}) anijonai yra giminingi natūraliam žmogaus kietajam audiniui, pavyzdžiui, kaulų ir dantų emalio mineralinei fazei [4, 19]. Natūralų kaulinį audinį sudaro apie 69 % neorganinės mineralinės dalies ir 22 % organinės matricos, kurioje esančios I tipo kolageno skaidulos yra sustiprintos kalcio fosfatų kristalų sancaupomis [21]. Žmogaus skelete vyrauja dviejų tipų kalcio fosfatai: subrendusiame kaule dominuoja karbonizuotas hidroksiapatitas, o aktyvios osteogenezės srityse randamas amorfinis kalcio fosfatas [21, 22]. Pastarasis junginys, praėjęs kelis tarpinius etapus, galiausiai virsta kristaliniu hidroksiapatitu. Ši hierarchinė struktūra, susidedanti iš tvarkingo kolageno skaidulų tinklo ir mineralų, suteikia skeletui mechaninį tvirtumą, standumą bei būtiną struktūrinį vientisumą [21].

Be to, Ca^{2+} ir PO_4^{3-} jonai atlieka kritinį vaidmenį palaikant sisteminę organizmo homeostazę bei užtikrinant kaulinio audinio regeneraciją. Didžioji dalis šių mineralų, apie 99 % viso organizmo kalcio ir 85 % fosforo, yra aptinkama skelete bei dantyse kalcio fosfatų pavidalu [21]. Kaulinis audinys tarnauja kaip pagrindinė mineralų saugykla, iš kurios jonai gali būti išskiriami siekiant palaikyti vienodą jų koncentraciją kraujyje. Paminėtina, kad ši metabolinė funkcija yra kritinė struktūrinio vientisumo atžvilgiu, nes esant sisteminiams mineralų trūkumui, organizmas rezorbuoja kaulinį audinį homeostazei atstatyti, net jei dėl to mažėja mechaninis skeleto tvirtumas [21].

Ca^{2+} jonai yra svarbus komponentas ne tik mineralizacijos procese, bet ir osteoblastų brendimo bei ląstelių signalizacijos būdų reguliavime [19]. Be struktūrinio vaidmens, Ca^{2+} jonai yra būtini kitiems, gyvybiškai svarbiems fiziologiniams procesams, pavyzdžiui, kraujo krešėjimui ar fermentų aktyvavimui [21]. Kita vertus, PO_4^{3-} jonai, išsiskiriantys dideliais kiekiais skaidantis kalcio fosfatui, yra svarbūs osteoblastų diferenciacijai ir augimui kontroliuoti, taip pat nukleorūgščių bei adenzintrifosfato sintezei [19, 21]. Nors didžioji PO_4^{3-} jonų dalis skelete randama karbonizuoto hidroksiapatito pavidalu, apie 15 % fosforo organizme pasiskirsto ne skeleto struktūrose (audiniuose), įskaitant fosfolipidus ir fosfoproteinus, o tai patvirtina platų šio elemento biologinį funkcionalumą [21].

Tikslinių jonų (Ca^{2+} , PO_4^{3-}) homeostazę organizme užtikrina griežtai reguliuojami hormoniniai mechanizmai dalyvaujant parathormonui, vitaminui D, fibroblastų augimo faktoriui bei kalcitoninui [21, 23]. Šių veiksmų sąveika vyksta tikslinėse ląstelėse, kurios randamos kauluose, inkstuose bei virškinamajame trakte, o šios pusiausvyros sutrikimai gali lemti kaulinio audinio metabolizmo pokyčius ir tokias patologijas kaip osteopenija ar osteoporozė [21]. Mineralų pernaša tarp minėtų organų ir kraujotakos sistemos vyksta transląsteliniais (per ląsteles) bei paraląsteliniais (per tarpus tarp ląstelių) mechanizmais [21]. Efektyvus šių pernašos mechanizmų veikimas yra kritinis veiksnys siekiant išlaikyti kaulinio audinio struktūrinį vientisumą bei užtikrinti tinkamą raumenų ir skeleto sistemos funkciją, ypač vyresnio amžiaus asmenims.

Dėl cheminio panašumo į natūralų kaulinį audinį kalcio fosfatų junginiai pasižymi puikiu biosuderinamumu, osteokonduktyvumu ir bioaktyvumu. Šių medžiagų biologinis atsakas yra glaudžiai susijęs su jų tirpumu bei kristalinės gardelės defektais, pavyzdžiui, *in vitro* ir *in vivo* sąlygomis išsiskiriantis Ca^{2+} ir PO_4^{3-} jonų kiekis modifikuoja vietinę mikroaplinką ir pH vertę, tiesiogiai veikiant osteoblastų bei osteoklastų aktyvumą [19, 20]. Padidėjusi lokali jonų koncentracija ne tik skatina mineralizaciją, bet ir reguliuoja osteogeninės diferenciacijos genų raišką. Termodinaminiu požiūriu kūno skysčiai, pavyzdžiui, kraujo plazma, yra persotinti Ca^{2+} ir PO_4^{3-} jonų, todėl kalcio fosfatų kristalizacija organizme vyksta spontaniškai, kurią veikia biologiniai reguliatoriai [22]. Priešingai, esant vietiniam pH sumažėjimui, pavyzdžiui, dėl uždegiminės reakcijos po implantacijos, kalcio fosfatų tirpumas padidėja, todėl suintensyvėja jonų atpalaidavimas į aplinkinius audinius [20]. Dėl jautrumo terpės rūgštingumui, implantologijoje pirmenybė teikiama kalcio fosfato fazėms, pasižyminčioms didžiausiu struktūriniu stabilumu. Viena stabiliausių fazių fiziologinėmis sąlygomis yra hidroksiapatitas, todėl jis plačiai taikomas kaip pagrindinis komponentas kuriant ilgalaikius ir biologiškai patikimus implantus bei jų paviršius.

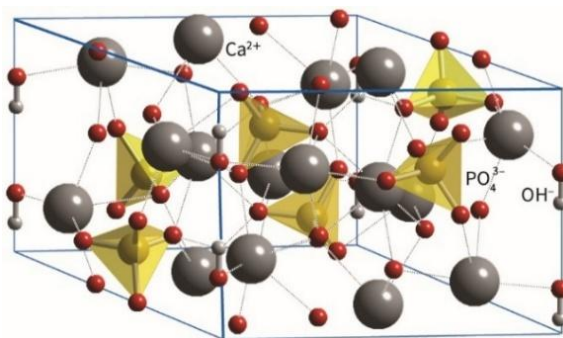
1.3. Hidroksiapatitas

Hidroksiapatitas (HA) – tai biokeramikinei klasifikacijai priskiriama medžiaga, kuri pastaruoju metu sulaukė didelio dėmesio medžiagų inžinerijos srityje dėl savo unikalių savybių [6, 22]. Šis junginys yra plačiai taikomas įvairiose srityse, sprendžiant aktualius technologinius iššūkius. Tiksliai modifikuodami medžiagos sudėtį, morfologiją ir paviršiaus savybes, mokslininkai sėkmingai išvystė HA pritaikomumą pramonės šakose, tokiose kaip medicina, odontologija, energetika ar aplinkos inžinerija [6].

HA gali būti sintetinės kilmės arba natūraliai aptinkamas stuburinių gyvūnų kietuosiuose audiniuose bei kai kurių bestuburių kriauklėse ar uolienose [6, 22]. Svarbu paminėti, kad gyvūnų kaulai, dantys bei elnių ragai yra sudaryti iš nestechiometrinio karbonizuoto hidroksiapatito, kuriame ne tik stebimas

kalcio trūkumas, bet ir gausu papildomų jonų, tokių kaip natriis, kalis ar magnis [20, 22]. Grynas stechiometrinis HA biologiškai nesusidaro dėl žinduolių biologiniuose skysčiuose esančių jonų, kurie yra absorbuojami kristalizacijos metu [22]. Įdomu tai, kad HA savybėms lemiamą įtaką daro jo cheminė sudėtis, o ypač Ca/P santykis, kuris stechiometriniam HA lygus 1,67 [19]. Paminėtina, kad net ir mažiausi šio santykio pokyčiai, gardelės pakeitimai ar vakansijos daro didelę įtaką medžiagos mechaniniam, cheminiam ir biologiniam elgesiui [19, 24].

Kristalografiniu požiūriu HA gali būti aptinkamas dviejose kristalinėse singonijose: monoklininėje ir heksagoninėje [19, 22, 24]. Nors egzistuoja monoklininė singonija, tačiau, esant 250 °C ar aukštesnei temperatūrai, ji persikristalيزuoja į heksagoninę ir yra vienintelė fazė vyraujanti biologinėse sistemose [24]. Ši HA struktūra yra priskiriama $P6_3/m$ erdvinės grupės simetrijai, esant šiems gardelės parametrams: $a = b \approx 9,43 \text{ \AA}$ ir $c \approx 6,88 \text{ \AA}$ (žr. 1.2 pav.) [24, 25].



1.2 pav. Heksagoninės singonijos hidroksiapatito elementarioji kristalinė gardelė [26]

Elementarioje HA kristalinėje gardelėje išskiriamos trys pagrindinės kristalografinės pozicijos: kalcio vietos (Ca1 ir Ca2), tetraedrinės vietos, kurias užima PO_4^{3-} grupės, ir kanalų vietos, kuriose išsidėstę hidroksilo (OH^-) anijonai [24, 27]. Ca1 grandinės, susiformuojančios iš kalcio ir deguonies atomų, kartu su PO_4^{3-} grupėmis sudaro stabilų heksagoninį karkasą, kuris erdvėje išsidėsto kaip tuščiaviduriai heksagoniniai stulpeliai, besitęsiantys išilgai kristalografinės c ašies [24]. Ši struktūra užtikrina pagrindinį HA stabilumą, nes fosfatų tetraedrinėse vietose vakansijų, kurios stipriai destabilizuoja visą kristalo sandarą, beveik nepasitaiko [24]. Priešingai, Ca2 atomai yra išsidėstę pagal sraigto ašį aplink centre esantį kanalą, kuriame du OH^- anijonai kartu su Ca2 atomais suformuoja dviejų trikampių konfigūraciją [24, 28]. Šiose kanalo vietose lengvai susidaro vakansijos, todėl kalcio trūkumas dažniausiai stebimas būtent Ca2 pozicijose [24]. Tuo tarpu Ca1 vietų pakeitimai aptinkami retai, nes jie gali lemti erdvinės grupės simetrijos sumažėjimą.

Nors HA apibūdinamas kaip stabiliausia kalcio fosfatų fazė, terminiu atžvilgiu kaitinamas aukštesnėse temperatūrose jis linkęs skilti ir suformuoti kitus junginius. Esant aukštai temperatūrai, vyksta HA dehidratacija, kurios metu OH^- jonai palaipsniui pakeičiami deguonimi [29]. Kristalinėje gardelėje atsiradus vakansijoms ir iškreipiant gardelės simetriją, HA virsta oksihidroksiapatitu [29]. Pastarasis procesas vyksta nuosekliai ir skirstomas į tris etapus: žemoje temperatūroje (< 800 °C) dehidratacija yra grįžtamojo pobūdžio ir lėta, tačiau tarpinėje (800–1350 °C) HA pradeda skilti į α - ir β -trikalcio fosfatus bei kalcio oksidą [5, 29]. Aukštesnėje nei 1400 °C temperatūros aplinkoje stebima itin stipri struktūros deformacija, dėl kurios mažėja medžiagos tankis ir kietumas [29].

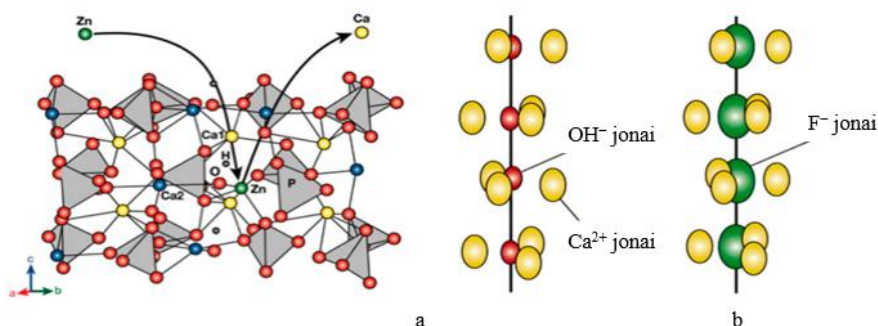
Biologiniu požiūriu HA fiziologinėmis sąlygomis (37 °C, 1 atm, pH 7–7,5) išlieka stabilus, todėl pasižymi puikiu biosuderinamumu ir osteokonduktyvumu [5, 22]. Sudėtyje esantys Ca^{2+} ir PO_4^{3-} jonai tiesiogiai inicijuoja osteoblastų diferenciaciją į kaulo ląsteles, o specifinis HA paviršius veikia

kaip biomineralizacijos centras, skatinantis kolageno matricos remineralizaciją [6, 19]. Be regeneracinių savybių, nanodalelių formos HA būdingas stiprus afinitetas nukleorūgštims bei terapiniams vaistams, todėl yra plačiai taikomas tikslinėje vėžio terapijoje, hipertermijai gydyti bei genų pernašos sistemose [22]. Svarbu paminėti, kad HA pasižymi angiogeninėmis savybėmis, skatindamas kraujagyslių tinklo susidarymą ir užtikrindamas geresnę integraciją su recipiento kaulu [19]. Dėl lėtos degradacijos ir porėtos struktūros, palaikančios ląstelių infiltraciją bei medžiagų apykaitą, HA yra viena tinkamiausių medžiagų ilgalaikių implantų gamybai [5, 6, 19]. Nors HA pasižymi palankiomis biologinėmis savybėmis, jo mechaninis stiprumas ir osteoindukcinis potencialas yra riboti [19, 24]. Kadangi osteoindukcija kritiškai svarbi kaulų gijimo procesams, HA funkcinės savybės dažnai modifikuojamos tiek katijoniniais, tiek anijoniniais mainais [19, 24].

1.3.1. Įsiterpusių jonų svarba hidroksiapatito savybėms ir taikymui

Siekiant sukurti naujos kartos kalcio fosfato junginius su kontroliuojamomis savybėmis, plačiai naudojamas HA modifikavimas įvairiais jonais [6, 27, 30]. Dėl unikalios kristalinės sandaros HA yra itin tinkamas formuoti izomorfinius junginius. Šis lankstumas lemia HA gebėjimą savo kristalinėje gardelėje katijonus arba anijonus pakeisti beveik visais cheminiais elementais [27].

Dalinis arba visiškas jonų pakeitimas HA struktūroje gali vykti trijose pagrindinėse kristalografinėse vietose: katijonų (Ca^{2+}) pozicijose, anijonų (PO_4^{3-}) grupėse bei OH^- kanale (žr. 1.3 pav.). Katijoniniai mainai dažniausiai vyksta keičiant Ca^{2+} tiek divalenčiais (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}), tiek monovalenčiais (Na^+ , K^+ , Ag^+) katijonais [27, 28, 30]. Šių pakaitų buvimą Ca1 ar Ca2 pozicijose lemia joninis spindulys, pavyzdžiui, didesnio spindulio katijonai prioritetiškai užima Ca2 pozicijas dėl didesnio jų tūrio, palyginti su Ca1. Tuo tarpu anijoninis modifikavimas apima halogenų (Cl^- , F^-) įterpimą į OH^- kanalą arba sudėtingesnius PO_4^{3-} grupės mainus su karbonato (CO_3^{2-}), silikato (SiO_4^{4-}) ar kitomis kompleksinėmis grupėmis [27, 28]. Paminėtina, kad visų pakaitų pasiskirstymas gardelėje priklauso nuo įterpiamų jonų krūvio. Izovalentinių pakaitų metu struktūrinis krūvio disbalansas nesusidaro, tačiau heterovalentinių pakaitų atveju būtini papildomi krūvio kompensavimo mechanizmai, užtikrinantys kristalinės HA struktūros elektroneutralumą [27, 28].



1.3 pav. Jonų pakeitimo tipai hidroksiapatito kristalinėje gardelėje. Čia: a – katijoniniai mainai, b – anijoniniai mainai [28]

Tikslingas HA modifikavimas jonais leidžia pakeisti junginio struktūrines bei funkcines charakteristikas, net kai jų koncentracija neviršija 1–5 % [31]. Šių pokyčių pobūdis priklauso nuo įterpiamo elemento prigimties, todėl šiuolaikinėje medicinoje kaip pagrindiniai katijonų pakaitai dažniausiai naudojami magnis (Mg^{2+}), stroncis (Sr^{2+}), cinkas (Zn^{2+}) ir sidabras (Ag^+) [32, 33].

Mg^{2+} yra vienas svarbiausių elementų, gausiai paplitusių žmogaus organizme ir atliekantis esminį vaidmenį kaulo mineralizacijos bei ląstelių membranų stabilizavimo procesuose [32]. Jo trūkumas siejamas su osteoporozės progresavimu, todėl HA modifikavimas šiais jonais ne tik pagerina medžiagos osteointegraciją, bet ir padidina jos tirpumą bei biologinį skaidumą fiziologiniuose skysčiuose [34, 35]. Panašiu poveikiu pasižymi ir Sr^{2+} , kuris net mažomis koncentracijomis skatina osteoblastų proliferaciją bei diferenciaciją, kartu slopindamas osteoklastų rezorbcinį aktyvumą [32]. Be to, Sr^{2+} jonai sustiprina šarminės fosfatazės aktyvumą ir kolageno sintezę, o jų gebėjimas malšinti kaulų skausmą yra plačiai taikomas onkologinių ligų atvejais [27, 36].

Siekiant HA suteikti antibakterinį aktyvumą, kristalinė gardelė dažniausiai papildoma Zn^{2+} ar Ag^+ jonais [33, 37]. Nors Zn^{2+} prisideda prie fermentų aktyvumo ir deoksiribonukleorūgšties (DNR) sintezės, tyrimais nustatyta, kad jis taip pat efektyviai slopina gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų padermių bei grybelių augimą [33, 38]. Ag^+ pasižymi dar platesniu antibakteriniu ir antivirusiniu aktyvumu, o jo efektyvumas gali būti lyginamas su gydymu antibiotikais [37]. Tačiau kritiškai svarbu parinkti saugią Ag^+ koncentraciją, nes viršijus optimalią ribą gali pasireikšti citotoksiškumas ar ląstelių žūtis [37].

Anijonų mainuose HA dažniausiai modifikuojamas karbonato (CO_3^{2-}) ir fluorida (F^-) jonais, kurie priartina sintetinio junginio cheminę sudėtį prie natūralaus kaulinio audinio. Įdomu tai, kad priklausomai nuo užimamos padėties gardelėje, formuojasi A arba B tipo karbonizuoti hidroksiapatitai [39]. B tipo HA, kuriame CO_3^{2-} pakeičia PO_4^{3-} grupes, būdingas jaunam kauliniam audiniui ir pasižymi mažesniu kristališkumu bei didesniu tirpumu, o tai skatina biomineralizaciją [39, 40]. Tuo tarpu A tipo karbonizuotas hidroksiapatitas susidaro OH^- grupių pakaitos metu, dažniau aptinkamas senesnėse kaulo struktūrose ir pasižymi prastesne ląstelių adhezija [39, 40]. Priešingai nei karbonato, F^- jonai stabilizuoja HA struktūrą formuodami fluorapatitą (FA), kuriam būdingas mažas tirpumas rūgštinėje aplinkoje bei aukštas terminis stabilumas [41].

Dėl šio struktūrinio stabilumo FA mokslinėje literatūroje vertinamas kaip perspektyvi medžiaga odontologijos praktikoje [42]. Fluoro turinčios medžiagos, pavyzdžiui, FA stiklo keramika, pasižymi dideliu panašumu į natūralų dantų emalį, todėl plačiai taikomos restauracinėje odontologijoje, siekiant atkurti tiek pažeisto danties funkciją, tiek estetinę išvaizdą [43]. FA ne tik skatina dantų remineralizaciją ir mažina emalio bei dentino tirpumą, bet ir gerina restauracinių medžiagų mechanines savybes. Tai leidžia efektyviau kovoti su ėduonimi bei sumažinti pooperacinių komplikacijų ar implanto gedimų, susijusių su bakterinėmis infekcijomis, riziką [42, 43].

FA, kaip ir HA, natūraliuose audiniuose dažniausiai yra nestechiometrinis, tačiau F^- jonų buvimas efektyviai slopina medžiagos terminį skilimą aukštos temperatūros [27]. Dėl glaudesnio jonų išsidėstymo kristalinėje gardelėje FA būdingas didesnis kietumas, todėl ši medžiaga yra atsparesnė mechaninę apkrovą patiriantiems ortopediniams implantams [44]. Be to, padidėjęs kristališkumas tiesiogiai lemia mažesnę medžiagos tirpumą rūgštinėse terpėse, pavyzdžiui, uždegiminės aplinkos paveiktuose kūno skysčiuose, o tai padidina implantų ir dantų restauracinių medžiagų ilgaamžiškumą bei atsparumą korozijai [43].

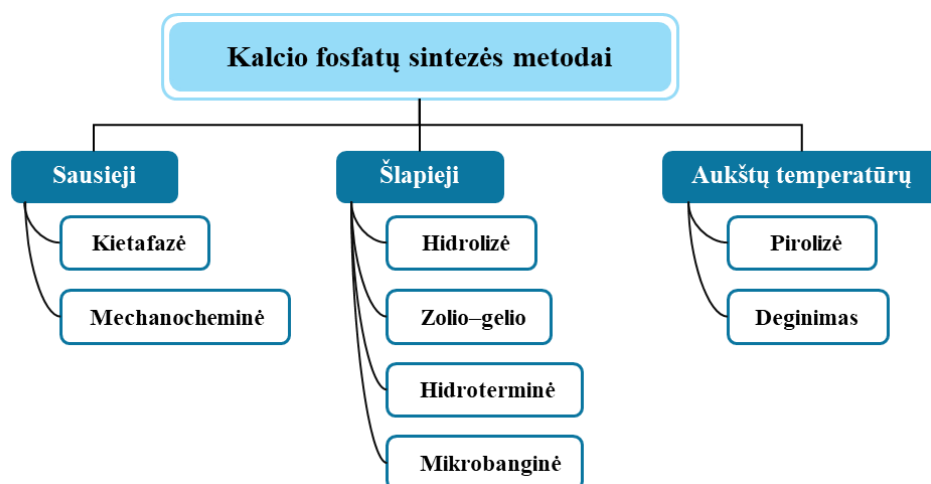
Nors biologiniu požiūriu FA stimuliuoja kaulų ląstelių adheziją bei proliferaciją, jis taip pat pasižymi antibakteriniu poveikiu, pasireiškiančiu dviem mechanizmais [43]. Pirma, FA biologinėje aplinkoje gali išskirti Ca^{2+} jonus, kurie sutrikdo bakterijų viduląstelinę jonų pusiausvyrą ir pažeidžia ląstelių membranų vientisumą, taip slopindami bakterijų gyvybingumą [43, 44]. Antra, esant žemam pH, FA

išskiria F^- jonus, kurie tiesiogiai slopina patogeninių mikroorganizmų, tokių kaip *Staphylococcus aureus* ir *Escherichia coli*, augimą [27, 41, 43]. Svarbu pabrėžti, kad laisvieji F^- jonai geba prasiskverbti pro bakterijų ląstelių sienelės ir slopinti gyvybiškai svarbius metabolinius fermentus, tokius kaip enolazė ir F -ATPazė [45, 46]. Toks fermentinis slopinimas sutrikdo bakterijų metabolizmą, todėl mažėja jų dauginimasis ir bioplėvelių formavimasis ant implanto paviršiaus.

Siekiant dar labiau priartinti medžiagos sudėtį prie natūralaus kaulinio audinio, FA struktūra gali būti papildomai modifikuojama CO_3^{2-} jonais, taip formuojant karbonizuotą fluorapatitą. Vis dėlto didžiausią įtaką galutinei medžiagos sudėčiai ir savybėms turi pasirinktas sintezės metodas, kurio optimizavimas yra būtinas norint gauti aukšto kristališkumo ir pageidaujamos morfologijos produktus.

1.4. Kalcio fosfatų sintezė

Mokslinėje literatūroje aprašoma plati kalcio fosfatų sintezės metodų įvairovė, kurių kiekvienas pasižymi specifiniais technologiniais privalumais bei apribojimais. Atsižvelgiant į reakcijos terpę, proceso eigą ir taikomus fizikinius parametrus, kalcio fosfatų sintezės metodai gali būti klasifikuojami į tris pagrindines grupes: sausuosius ir šlapiuosius metodus bei aukštos temperatūros procesus (žr. 1.4 pav.) [47, 48].



1.4 pav. Kalcio fosfatų sintezės metodų klasifikacija

Sintezės metodo parinkimas yra vienas svarbiausių veiksnių, lemiančių galutinio produkto fizikines ir chemines savybes, tokias kaip fazinis grynumas, kristališkumo laipsnis, dalelių morfologija, savitasis paviršiaus plotas bei stochiometrinis santykis. Skirtingi sintezės metodai sudaro nevienodas termodinamines ir kinetines kristalizacijos sąlygas, darančias įtaką kristalų formavimosi ir augimo mechanizmams [47]. Dėl šios priežasties sintetinių medžiagų bioaktyvumas, biologinis suderinamumas ir mechaninės savybės gali skirtis, o tai lemia jų pritaikymo galimybes biomedicinos srityje.

Nors gamtinės kilmės HA randamas įvairiose mineralinėse struktūrose, tokios medžiagos dažnai pasižymi priemaišų bei nekontroliuojamos sudėties buvimu, todėl klinikinėje praktikoje ir biomedžiagų inžinerijoje prioritetas teikiamas sintetiniam arba didelio grynumo HA. Be to, sintetiniai metodai leidžia tiksliai reguliuoti medžiagos cheminę sudėtį, kristalinę struktūrą ir morfologines savybes, kartu išnaudojant HA kristalinės gardelės gebėjimą priimti įvairius joninius pakaitus [48]. Šis struktūrinis modifikavimas sudaro galimybes kurti funkcionalizuotas biokeramikines medžiagas,

todėl šiuolaikiniuose tyrimuose ypatingas dėmesys skiriamas karbonizuotų hidroksiapatito ir fluorapatito sintezei bei jų savybių optimizavimui biomedicininiais taikymams [7, 49].

1.4.1. Sausieji sintezės metodai

Sausieji sintezės metodai pasižymi tuo, kad reakcijos vykdomos nenaudojant tirpiklių, o tiesiogiai homogenizuojant kietosios agregatinės būsenos reagentus. Šiai metodų grupei priskiriama kietafazė bei mechanocheminė sintezės [48].

Kietafazė sintezė pagrįsta pirmtakų terminiu apdorojimu aukštoje temperatūroje. Šio proceso metu aktyvuojama jonų difuzija per fazių sąlyčio ribas, o jos metu formuojasi naujos kristalinės struktūros. Kadangi reakcijos mechanizmas grindžiamas santykinai lėta jonų migracija kietojoje būsenoje, efektyviam cheminiam virsmui užtikrinti paprastai reikalinga aukšta temperatūra bei ilga proceso trukmė [47].

HA sintezei kietojoje fazėje dažniausiai naudojami kalcio šaltiniai yra CaO , Ca(OH)_2 arba CaCO_3 , o fosforo pirmtakais pasirenkami P_2O_5 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ arba kiti kalcio fosfatai, tokie kaip $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ar CaHPO_4 [47]. Taikant šį metodą galima susintetinti didelio grynumo HA bei jo modifikuotus darinius, pavyzdžiui, A tipo karbonizuotą hidroksiapatitą CO_2 atmosferoje arba FA, naudojant NH_4F ar CaF_2 kaip fluoro šaltinius [48, 50]. Deja, kietafazė sintezė pasižymi ribotu energiniu efektyvumu. Literatūroje nurodoma, kad stabiliai fazei susidaryti dažnai reikalingas ilgalaikis terminis apdorojimas, trunkantis nuo kelių valandų iki kelių parų, o aukšta temperatūra skatina nekontroliuojamą kristalų augimą [47]. Dėl šių priežasčių galutinis produktas pasižymi ryškia dalelių aglomeracija ir netaisyklinga morfologija, o tai riboja metodo pritaikomumą nanostruktūrinių biomedžiagų sintezėje [47].

Mechanocheminė sintezė yra alternatyvus sausasis sintezės metodas, kurio metu cheminės reakcijos inicijuojamos mechanine energija, perduodama reagentams intensyvaus malimo metu. Didelės energijos planetariniuose arba rutuliniuose malūnuose dėl smūginio poveikio ir lokalaus temperatūros padidėjimo aktyvuojama jonų difuzija bei spartinami cheminiai virsmai. Metodo efektyvumas tiesiogiai priklauso nuo malimo trukmės, greičio bei rutulių ir reagentų masės santykio [48].

Šiuo metodu sėkmingai sintetunami tiek fluorinti, tiek karbonizuoti apatitai. Mechaninio aktyvinimo metu, naudojant CaCO_3 , $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ir karbamidą kaip pirmtakus, po ilgesnio malimo stebimas karbonizuoto hidroksiapatito susidarymas [47]. Jis taip pat leidžia gauti nanostruktūrines medžiagas, pavyzdžiui, 35–65 nm dydžio FA daleles, nenaudojant tirpiklių ir išvengiant sudėtingos pH kontrolės [48]. Vis dėlto ilgalaikis mechaninis aktyvinimas gali sukelti nepageidaujamus reiškinius: dalelių aglomeraciją, netaisyklingą morfologiją bei galimo produkto užterštumo malimo kūrų dilimo produktais. Be to, siekiant padidinti produkto kristališkumą, po mechaninio aktyvinimo dažnai taikomas papildomas terminis apdorojimas, pavyzdžiui, 1100 °C temperatūros aplinkoje, tačiau tai padidina bendras energijos sąnaudas ir gali skatinti nepageidaujamų šalutinių fazių, tokių kaip β -trikalcio fosfato, susidarymą [47].

1.4.2. Šlapieji sintezės metodai

Šlapieji sintezės metodai vykdomi skystoje terpėje, todėl užtikrinamas geresnis reagentų homogeniškumas bei efektyvesnė reakcijos parametrų kontrolė. Šiai metodų grupei priskiriami

cheminio nusodinimo, hidrolizės, zolio–gelio, hidroterminės bei mikrobanginės sintezės metodai [47, 51].

Cheminis nusodinimas yra vienas plačiausiai taikomų metodų nanostruktūrinio HA sintezei dideliais kiekiais. Šis metodas pagrįstas tirpių kalcio pirmtakų, tokių kaip $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ar $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, ir fosfatinių reagentų, pavyzdžiui, H_3PO_4 arba $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, sąveika šarminėje vandeninėje terpėje kambario temperatūroje [48].

Kontroliuojant temperatūrą, reagentų koncentraciją bei pH vertę, galima susintetinti įvairios morfologijos darinius – nuo sferinių nanodalelių (8–20 nm) iki pailgų nanolazdelių, kurių ilgis siekia apie 200 nm [48]. Be to, šis metodas ypač tinkamas B tipo karbonizuoto hidroksiapatito sintezei, kai į reakcijos terpę įvedami tirpūs karbonatai, tokie kaip $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, NaHCO_3 arba CO_2 dujos [50]. Siekiant užtikrinti didesnę produkto grynumą ir kontroliuoti karbonato jonų kiekį, sintezė dažnai vykdoma inertinių dujų atmosferoje [49]. Nepaisant technologinio lankstumo, cheminio nusodinimo metodas pasižymi ir tam tikrais ribojimais. Vienas pagrindinių trūkumų yra būtinybė užtikrinti itin tikslią ir stabilią pH vertę, nes net nedideli svyravimai gali lemti fazinį nevienalytiškumą [48]. Be to, proceso metu susidaro dideli kiekiai šalutinių druskų tirpalų, o lėta nuosėdų kristalizacija reikalauja ilgo brandinimo laiko. Dėl šių priežasčių ne visada pavyksta išlaikyti vienodą dalelių dydžio pasiskirstymą bei aukštą kristališkumo laipsnį.

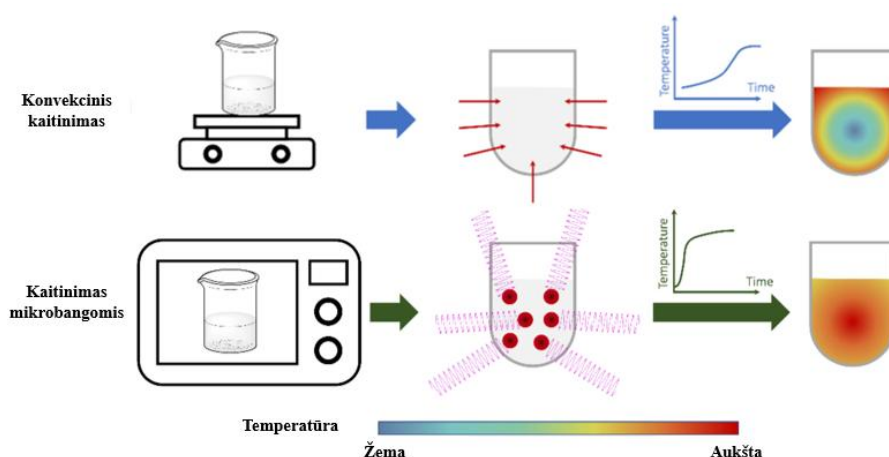
Hidroterminė sintezė apibūdinama kaip cheminė reakcija sočiųjų vandens garų aplinkoje, esant aukštesnei nei aplinkos temperatūrai (dažniausiai 100–400 °C) ir padidintam slėgiui [51]. Procesas atliekamas sandariuose induose (autoklavuose), kuriuose sinergetinis temperatūros ir slėgio poveikis padidina reagentų reaktyvumą bei skatina kristalizacijos procesus. Šio metodo privalumas – galimybė sintetinti aukšto kristališkumo ir stochiometrinės sudėties HA be papildomo kalcinavimo, kuris dažnai būtinas taikant kitus šlapiuosius sintezės metodus [6, 51].

Naudojant tirpias kalcio druskas kaip kalcio šaltinius, galima išgauti įvairios morfologijos produktus, priklausomai nuo pH vertės bei proceso sąlygų (trukmės ir temperatūros). Pavyzdžiui, vykdant sintezę 100 °C temperatūros aplinkoje iš CaCl_2 ir H_3PO_4 , po 10 valandų susiformuoja itin grynas lazdelių formos HA [48]. Tuo tarpu pakeitus reagentus į $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ir $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ bei padidinus temperatūrą iki 200 °C, po 24 valandų susidaro netaisyklingos morfologijos karbonizuotas hidroksiapatitas [48]. Svarbu paminėti, kad šiuo metodu galima susintetinti tiek A, tiek AB tipo karbonizuotus apatitus [50].

Nors hidroterminė sintezė leidžia tiksliai kontroliuoti dalelių formą ir užtikrinti mažą jų aglomeraciją, ji pasižymi ir tam tikrais trūkumais: specializuotos aukšto slėgio įrangos poreikiu, ilga trukme (5–48 val.) bei didelėmis energijos sąnaudomis. Be to, dėl proceso uždarojo autoklave nėra galimybės realiuoju laiku stebėti ar koreguoti vykstančios kristalizacijos.

Mikrobanginė sintezė. Siekiant įveikti tradicinių kalcio fosfatų sintezės metodų apribojimus, moksliniuose tyrimuose vis dažniau taikoma mikrobanginė sintezė. Dėl aplinkai palankių charakteristikų šis metodas laikomas viena perspektyviausių žaliosios ir tvariosios chemijos technologijų [8]. Mikrobangų spinduliuotė, kaip alternatyvus energijos šaltinis, leidžia vykdyti reakcijas tiek vandeninėje terpėje, tiek be tirpiklių, taip sumažinant cheminių atliekų kiekį. Esminis skirtumas tarp mikrobanginio ir tradicinio konvekcinio kaitinimo yra energijos perdavimo būdas. Taikant įprastus kaitinimo metodus, šiluma perduodama laidumo ir konvekcijos būdu nuo indo sienelių į reakcijos terpę, tuo tarpu mikrobangų laukas tiesiogiai veikia visą reakcijos tūrį, sukeldamas

dipolinių molekulių rotaciją bei joninį laidumą (žr. 1.5 pav.) [8]. Dėl šios priežasties užtikrinamas greitas, selektyvus ir homogeniškas tūrinis kaitinimas.



1.5 pav. Cheminių reakcijų kaitinimo mechanizmo skirtumai tarp konvekcinio ir mikrobanginio šildymo metodų [8]

Nors reakcijos mechanizmas iš esmės išlieka artimas cheminio nusodinimo procesui, kaitinimas mikrobangomis veikia kaip reakciją intensyvinantis veiksnys. Dėl šios priežasties pagerėja reakcijos kinetika, sutrumpėja sintezės trukmė, sumažėja energijos sąnaudos bei slopinamas nepageidaujamų metastabilių fazių susidarymas [51, 52]. Be to, šis metodas leidžia tiksliai kontroliuoti branduolių formavimosi ir kristalitų augimo procesus, todėl gaunamos nanodydžio, didelio fazinio grynumo HA dalelės, pasižyminčios siauru dydžio pasiskirstymu bei dideliu savituoju paviršiaus plotu.

Lyginant su kietafaze, mechanochemine bei hidroterminė sinteze, mikrobanginė sintezė išsiskiria trumpa reakcijos trukme, efektyvesne kristalizacijos kontrole ir geresne produkto išeiga (žr. 1.2 lent.).

1.2 lentelė. Kalcio fosfatų sintezės metodų palyginimas [6, 48]

Sintezės metodas	Naudojamos žaliavos	Sintezės sąlygos	Morfologija	Dalelių dydis	Grynumas
Kietafazė	CaO ir P ₂ O ₅ Ca(OH) ₂ ir P ₂ O ₅ Ca(OH) ₂ ir β-Ca ₃ (PO ₄) ₂ CaCO ₃ ir CaHPO ₄ CaCO ₃ ir NH ₂ H ₂ PO ₄	> 1000 °C, > 24 h		5 nm–200 μm	Mažas
Mechanocheminė	Ca(OH) ₂ , P ₂ O ₅ ir CaF ₂ CaO ir H ₃ PO ₄ CaCO ₃ , CaHPO ₄ ·4H ₂ O ir CH ₄ N ₂ O CaCO ₃ ir Ca ₂ P ₂ O ₉	Intensyvus malimas, > 24 h		10 nm–1000 μm	Kintamas
Cheminis nusodinimas	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O ir (NH ₄) ₂ HPO ₄ Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O ir Na ₃ PO ₄ Ca(OH) ₂ ir H ₃ PO ₄	Aplinkos temperatūra, brandinimas, pH kontrolė		10 nm–60 μm	Kintamas

1.2 lentelės tęsinys

Sintezės metodas	Naudojamos žaliavos	Sintezės sąlygos	Morfologija	Dalelių dydis	Grynumas
Hidroterminė	CaCO ₃ ir (NH ₄) ₂ HPO ₄ CaCl ₂ ir H ₃ PO ₄ Ca(OH) ₂ ir (NH ₄) ₃ PO ₄ CaCl ₂ ir K ₂ HPO ₄	100–400 °C, > 24 h, aukštas slėgis		20 nm–50 μm	Didelis
Mikrobanginė	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O, NH ₄ F ir (NH ₄) ₂ HPO ₄ Ca(OH) ₂ ir H ₃ PO ₄ Ca(CH ₃ COO) ₂ ir Na ₂ HPO ₄	Mikrobangų spinduliuotė, trumpa trukmė, vidutinė temperatūra		< 100 nm	Labai didelis

Svarbus mikrobanginės sintezės pranašumas taip pat siejamas su galimybe naudoti paprastesnes, mažiau toksiškas ir biologinės kilmės žaliavas [52]. Vienas iš galimų reagentų yra kalcio karbonatas (CaCO₃), kuris pasižymi ekonomišku, biologiniu suderinamumu ir gali būti gaunamas ne tik iš cheminių reagentų, bet ir iš natūralių biogeninių žaliavų [52]. Fosforo rūgštis (H₃PO₄) užtikrina efektyvų fosfatinių grupių įterpimą bei leidžia tiksliau kontroliuoti Ca/P santykį reakcijos metu. Tuo tarpu amonio fluoridas (NH₄F) dėl gero tirpumo vandeninėje terpėje sudaro sąlygas homogeniškam F⁻ jonų pasiskirstymui apatito kristalinėje gardelėje [7]. Šių reagentų derinimas su mikrobanginiu kaitinimu leidžia sumažinti sintezės etapų skaičių, apriboti papildomo terminio apdorojimo poreikį bei gauti kontroliuojamos sudėties, aukšto bioaktyvumo hidroksiapatito ir fluorapatito produktus, tinkamus biomedicininiais taikymams.

Apibendrinant mokslinės literatūros duomenų analizę, galima teigti, kad globalūs demografiniai pokyčiai ir su amžiumi susijusi kaulinio audinio degeneracija formuoja augantį poreikį kurti efektyvias, ilgaamžes ir bioaktyvias medžiagas kaulo regeneracijai. Sintetiniai kalcio fosfatai, ypač hidroksiapatitas ir fluorapatitas, dėl savo cheminio ir struktūrinio giminingumo natūraliai kaulo mineralinei fazei išlieka vienomis perspektyviausių medžiagų regeneracinėje medicinoje. Tikslingas šių junginių modifikavimas joniniais pakaitais leidžia optimizuoti jų osteointegracines, mechanines bei biologines savybes, taip pat suteikti papildomų funkcinų savybių, įskaitant antibakterinį aktyvumą. Literatūros duomenys rodo, kad galutinės kalcio fosfatų savybės priklauso nuo pasirinkto sintezės metodo. Lyginant su tradiciniais metodais, mikrobanginė sintezė išsiskiria trumpesne reakcijos trukme, mažesnėmis energijos sąnaudomis, homogenišku tūriniu kaitinimo mechanizmu bei galimybe formuoti didelio grynumo nanostruktūrines medžiagas. Nepaisant gausių mokslinių tyrimų, literatūroje vis dar trūksta duomenų apie karbonizuotų hidroksiapatito ir fluorapatito mikrobanginę sintezę, naudojant netirpius kalcio pirmtakus, tokius kaip kalcio karbonatas. Daugumoje publikacijų dominuoja tirpios kalcio druskos, kurios dažnai reikalauja sudėtingesnių gryninimo etapų ir sudaro didesnius cheminių atliekų kiekius. Netirpių kalcio šaltinių taikymas kartu su mikrobanginiu kaitinimu leidžia supaprastinti tikslinių produktų sintezės procesą, sumažinti jo poveikį aplinkai bei gauti produktus, kurių cheminė sudėtis ir struktūrinės savybės yra artimesnės natūraliam kaulo mineralui.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Naudotos žaliavos

2.1 lentelė. Sintzei naudotos žaliavos

Paskirtis	Medžiagos pavadinimas	Charakteristika	Gamintojas
Sintezės reagentai	Kalcio karbonatas (CaCO_3 , Prod. Nr. 795445)	Grynumas $\geq 99\%$ Tankis $2,93 \text{ g/cm}^3$	Sigma–Aldrich, Vokietija
	Ortofosforo rūgštis (H_3PO_4 , CAS Nr. 7664–38–2)	Grynumas 85% Tankis $1,71 \text{ g/mL}$	REACHEM s.r.o, Slovakija
	Amonio fluoridas (NH_4F , Prod. Nr. 111381400)	Grynumas 96%	Chempur, Lenkija

2.2 lentelė. Antibakterinio aktyvumo tyrimams naudotos žaliavos ir bakterijų kultūros

Paskirtis	Medžiagos pavadinimas	Charakteristika	Gamintojas
Kultivavimo terpė	Mitybinis agaras (REF Nr. 610040)	Ruoštas pagal gamintojo instrukcijas	Biolife, Italija
Testavimo kultūros	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Gramteigiama bakterijų kultūra	American Type Culture Collection, Jungtinės Amerikos Valstijos
	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	Sporas formuojanti gramteigiama bakterijų kultūra	
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	Gramneigiama bakterijų kultūra	
Teigiamos kontrolės	Ampicilinas (REF Nr. 92003)	Koncentracijų ribos: $0,016\text{--}256 \text{ mg/L}$	Liofilchem, Italija
	Amfotericinas B (REF Nr. 92153)	Koncentracijų ribos: $0,002\text{--}32 \text{ mg/L}$	
	Ciprofloksacinas (REF Nr. 92045)	Koncentracijų ribos: $0,002\text{--}32 \text{ mg/L}$	

2.3 lentelė. Gijų formavimui ir 3D spausdinimui naudotos žaliavos

Paskirtis	Medžiagos pavadinimas	Charakteristika	Gamintojas
Polimerinė matrica	Medicininės paskirties polipieno rūgšties granulės „MedEco XCB“ (PLA, CAS Nr. 26100–51–6)	Molekulinė masė $163\,000 \text{ g/mol}$ Tankis $1,23 \text{ g/cm}^3$	BIOVOX, Vokietija
Tirpikliai	Chloroformas (CHCl_3 , CAS Nr. 67–66–3)	Grynumas $\geq 99,8\%$	Sigma–Aldrich Chemie GmbH, Vokietija
	Etilo alkoholis ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, CAS Nr. 64–17–5)	Grynumas 96%	UAB Vilniaus Degtinė, Lietuva

2.2. Tyrimų metodai

Mikrobanginė sintezė. Ruošiant pradinius mišinius sintzei, žaliavų kiekiai apskaičiuoti pagal stochiometrinį hidroksiapatito Ca/P santykį, lygų 1,67. Prieš sintezę kalcio karbonatas maltas planetariniame diskiniame malūne „Pulverisette 9“ (Fritsch GmbH, Vokietija) 800 aps./min greičiu 5 minutes. CHA sintzei 1 g kalcio karbonato sumaišyta su 0,4 mL orto–fosforo rūgšties ir 10 mL distiliuoto vandens. Sintetinant CFA, į tą patį pradinį mišinį papildomai įdėta 0,08 g amonio fluorida.

Paruošti reagentų mišiniai patalpinti į 30 mL talpos borosilikatinio stiklo mėgintuvėlius su magnetiniais maišikliais. Reakcijos indai sandariai uždaryti dangteliais su PTFE dengtomis silikoninėmis pertvaromis ir įstatyti į mikrobangų reaktorių „Monowave 300” (Anton Paar, Austrija).

Sintezė vykdyta pasirinktose tikslinėse temperatūrose (100; 120; 140, 160, 180, 200 °C), kurios pasiektos per 2 minutes, o izoterminio išlaikymo trukmė visais atvejais siekė 2 valandas. Reakcijos metu mišiniai maišyti 600 aps./min greičiu. Po sintezės gauti produktai atvėsinti iki 55 °C temperatūros, praplauti nedideliu distiliuoto vandens kiekiu ir nufiltruoti vakuuminiu būdu naudojant Biuchnerio piltuvą. Sintezės produktai džiovinti 50 °C temperatūros aplinkoje 24 valandas, o išdžiūvę susmulkinti grūstuvu ir persijoti per sieta, kurio akučių dydis 100 μm.

Rentgeno spinduliuotės difrakcinė analizė (RSDA). Sintezės produktų fazinei sudėčiai nustatyti naudota rentgeno spinduliuotės difrakcinė analizė. Analizė vykdyta naudojant difraktometrą „Bruker AXS D8 Advance” (Bruker AXS GmbH, Vokietija). Rentgeno spinduliuotės šaltinis – CuKα, o filtras – Ni. Analizės parametrai: anodo įtampa (U_a) – 40 kV, srovės stipris (I) – 40 mA, detektoriaus judėjimo žingsnis – 0,02 °, intensyvumo matavimo trukmė žingsnyje – 0,2 s. Rentgeno difrakcinės analizės matavimų tikslumas $2\theta = 0,01$ °.

Rietveld analizė. Sintezės produktų kristalinių fazių kiekybinė sudėtis nustatyta taikant Rietveld analizės metodą ir programinę įrangą „TOPAS 4.2” (Bruker AXS GmbH, Vokietija). Siekiant užtikrinti izotropinį kristalitų pasiskirstymą, mėginiai prieš analizę buvo papildomai rankiniu būdu susmulkinti ir persijoti per 40 μm akučių dydžio sieta. Duomenų registravimo metu mėginio laikiklis buvo sukamas aplink savo ašį, užtikrinant vienos dalelių pasiskirstymą ir patikimesnius rezultatus. Kristalinių struktūrų duomenys fazių identifikavimui ir parametrų patikslinimui paimti iš PDF 2025 duomenų bazės. Kiekvieno mėginio kiekybinė analizė atlikta tris kartus, apskaičiuojant rezultatų vidurkį. Gautų rezultatų santykinė paklaida neviršijo 5 %. Vidutinis kristalitų dydis (D) apskaičiuotas vertinant visą difrakcinį vaizdą pagal Šererio lygtį:

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta} \quad (1)$$

čia: K – Šererio konstanta (0,94); λ – CuKα bangos ilgis (0,154 nm); β – smailių plotis pusaukštyje; θ – difrakcijos kampas.

Skystosios terpės pH matavimas. Skystosios terpės pH vertės išmatuotos naudojant pH–metrą „PT–380” (BOECO Germany, Vokietija) su stiklo elektrodu, kurio pH matavimo ribos yra 1–14, o tikslumas $\pm 0,01$. Matavimai atlikti kambario temperatūroje 22 ± 2 °C.

Dalelių dispergavimas ultragarsu. Siekiant suardyti dalelių aglomeratus ir užtikrinti vienodą jų pasiskirstymą suspensijoje, susintetinti produktai buvo disperguojami ultragarsu, naudojant procesorių „Hielscher UP50H” (Hielscher Ultrasonics, Vokietija). Dispergavimo procesas vykdytas 60 minučių, nustačius 80 % amplitudę ir nuolatinį veikimo ciklą. Milteliai disperguoti distiliuotame vandenyje, išlaikant 1:1 (m/V) santykį. Procesu metu suspensija buvo aušinama ledo vonelėje, siekiant išvengti temperatūrinio poveikio bandinių savybėms.

Dalelių dydžio ir pasiskirstymo analizė. Sintezės produktų dalelių dydžiui ir jų pasiskirstymui įvertinti taikyta lazerinė šviesos sklaidos analizė prietaisu „Malvern Mastersizer 2000” (Malvern Instruments, Jungtinė Karalystė). Analizei naudoti šie parametrai: dalelių lūžio rodiklis – 1,45,

vandens lūžio rodiklis – 1,33, absorbcija – 0,01. Rezultatai pateikti kaip vidutinio svertinio tūrio dalelių dydžio ($d_{4,3}$) vidurkis, o kiekvienas matavimas kartotas po tris kartus.

Vienalaikė terminė analizė (VTA). Sintezės produktų terminiam stabilumui įvertinti atlikta vienalaikė terminė analizė. Tyrimas vykdytas naudojant terminį analizatorių „Linseis STA PT-1000” (Linseis Messgeräte GmbH, Vokietija). Tyrimo eigoje vienu metu buvo registruojamos diferencinės skenuojančios kalorimetrijos (DSK) ir termogravimetrinės analizės (TGA) kreivės. Taikyti analizės parametrai: temperatūros kėlimo greitis – 10 °C/min, temperatūros diapazonas – 30–1000 °C, etalonas – tuščias Pt tiglis, krosnies atmosfera – azotas (N₂). Temperatūros matavimų tikslumas siekė ± 3 °C.

Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija (FT-IR). Funkcinėms grupėms nustatyti ir sintezės produktų cheminei struktūrai patvirtinti naudota Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija. Analizė atlikta spektrometru „Perkin Elmer Frontier” (PerkinElmer, JAV), naudojant universalųjį susilpninto pilnutinio vidaus atspindžio (ATR) priedą su deimanto kristalo plokšte. Infraraudonųjų spindulių spektrai registruoti 4000–560 cm⁻¹ bangų skaičiaus intervale, nustačius 4 cm⁻¹ skiriamąją gebą ir atliekant po 6 skenavimus kiekvienam bandiniui. Gautų spektrų duomenys apdoroti „Spectrum“ programine įranga.

Skenuojančioji elektroninė mikroskopija (SEM). Sintezės produktų dalelių morfologijai tirti naudotas skenuojantis elektroninis mikroskopas „Helios Nanolab 650” (FEI, Nyderlandai). Tyrimas vykdytas naudojant 10 kV pagreitinimo įtampą. Dalelių dydžiui matuoti naudota programinė įranga „ImageJ.JS”.

Peršviečiamoji elektroninė mikroskopija (TEM). Sintezės produktų kristalitų formai ir vidinei struktūrai tirti naudotas peršviečiamasis elektroninis mikroskopas „Tecnai G2 F20 X-TWIN” (FEI, Nyderlandai), veikiantis 200 kV įtampa. Vaizdai užregistruoti naudojant „11 MPix ORIUS SC1000” (Gatan, JAV) CCD kamerą, dirbančią šviesaus lauko režimu. Kontrastui sustiprinti taikyta objektyvo diafragma. Kristalitų dydžiui matuoti naudota programinė įranga „ImageJ.JS”.

Savitojo paviršiaus ploto analizė. Sintetinių produktų savitasis paviršiaus plotas nustatytas azoto adsorbcijos porosimetru „Nova 1200 E-Series” (Quantachrome Instruments, JAV). Prieš analizę bandiniai buvo degazuojami vakuume 100 °C temperatūroje. Savitasis paviršiaus plotas apskaičiuotas taikant Brunauerio, Emmeto ir Tellerio (BET) lygtį, remiantis adsorbcijos izotermos dalimi santykinio slėgio intervale ($0,05 < p/p_0 < 0,35$):

$$\frac{1}{X \left(\frac{p_0}{p} - 1 \right)} = \frac{1}{X_m C} + \frac{C - 1}{X_m C} \left(\frac{p}{p_0} \right) \quad (2)$$

čia: X – adsorbuotų dujų masė esant santykiniam slėgiui p/p_0 ; X_m – dujų masė, reikalinga monomolekuliniame sluoksnyje sudaryti; C – BET konstanta, susijusi su adsorbcijos ir kondensacijos šiluma.

Antibakterinio aktyvumo įvertinimas. Sintetintų produktų antibakteriniam aktyvumui nustatyti naudotos grynos bakterijų kultūros: gramteigiamos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ir *Bacillus cereus* (ATCC 10876) bei gramneigiama *Escherichia coli* (ATCC 25922). Iki tyrimų pradžios bakterijų kultūros buvo palaikomos ant nuožulnaus agarų + 1 °C temperatūroje. Prieš pradedant antibakterinius tyrimus, kultūros persėtos ant šviežios nuožulnaus agarų terpės, kultivuotos 16–18

valandų ir augintos 37 °C temperatūroje. Po kultivavimo, laikantis aseptinių sąlygų, paruoštos bakterijų kultūrų suspensijos steriliame fiziologiniame (0,85 % NaCl) tirpale. Jų koncentracija suvienodinta praskiedžiant pagal Mc Farlando standartą Nr. 0,5, siekiant gauti 10⁸ kolonijas sudarančių vienetų (CFU)/mL koncentraciją. 1 mL paruoštos suspensijos įmaišyta į 100 mL ištirpintos ir iki 47 °C temperatūros atvėsintos agarizuotos terpės bendram bakterijų skaičiui nustatyti. Gautas mišinys homogenizuotas iki tolygaus ląstelių pasiskirstymo ir išpilstytas po 15 mL į 90 mm skersmens Petri lėkšteles.

Terpei sustingus, ant jos paviršiaus uždėta po 0,06 g CHA [50 % (m/V)] arba 0,03 g CFA [100 % (m/V)] tiriamosios medžiagos. Paruošti bandiniai ir kontrolinės antibiotikų juostelės inkubuoti 24 valandas 37 °C temperatūros aplinkoje. Po inkubacijos sintetinių produktų antibakterinis poveikis įvertintas matuojant susidariusias skaidrias bakterijų augimo slopinimo zonas skaitmeniniu slankmačiu (0,01 mm tikslumu). Antibiotikų juostelių slopinimo zonos matuotos analogiškai, o jų minimali slopinamoji koncentracija (MSK) nustatyta pagal ant juostelių esančią gradavimo skalę. Rezultatai apskaičiuoti ir pateikti kaip trijų pakartotinių bandymų vidurkis.

Gijų formavimas ir karkasų 3D spausdinimas. Kompozitinėms gijoms gaminti PLA granulės iš pradžių ištirpintos chloroforme. Į gautą tirpalą įmaišyta 20 % sintetinio CHA arba CFA miltelių. Mišinys nusodintas etanoliu, o susidariusios nuosėdos surinktos, sumaltos ir išdžiovinotos 60 °C temperatūros aplinkoje iki pastovios masės. Paruošti PLA–CHA arba PLA–CFA mišiniai formuoti į gijas naudojant dviejų sraigčių ekstruderį „ExTTruder ZE 12“ (Three–Tec GmbH, Šveicarija), sraigto sukimosi greitį nustačius 50 aps./min. Ekstruderyje nustatytas šešių zonų kaitinimo profilis: Z1 – 160 °C, Z2 – 210 °C, Z3 – 210 °C, Z4 – 210 °C, Z5 – 200 °C ir Z6 – 190 °C. Gijų skersmuo dešimtyje skirtingų vietų išmatuotas mikrometru, o rezultatai pateikti kaip matavimų vidurkis ± standartinis nuokrypis.

Karkasai modeliuoti atvirojo kodo programine įranga „FreeCAD“ (Open–source software). Sugeneruoti STL formato failai importuoti į sluoksniavimo programą „Z–SUITE“ (Zortrax S.A., Lenkija). Karkasai iš PLA–CHA ir PLA–CFA gijų atspausdinti 3D spausdintuvu „Zortrax M200 Plus“ (Zortrax S.A., Lenkija), pasirinkus šiuos parametrus: viršutinio ir apatinio kietojo sluoksnio užpildymas – 60 %, pagrindo temperatūra – 30 °C, purkštuko temperatūra – 210 °C, apatinių sluoksnių skaičius – 1, išorinių sienelių skaičius – 1, purkštuko skersmuo – 0,4 mm, sluoksnio aukštis – 0,15 mm. Pasirinktas giroidinis užpildo raštas, kurio tankis sudarė 90 %.

Mechaniniai tyrimai gniuždant. 3D spausdinimo būdu suformuotų karkasų mechaninėms savybėms įvertinti atlikti gniuždymo bandymai. Tyrimai vykdyti remiantis ISO 604 standarto principais, naudojant universalų prietaisą „M500–50CT“ (Testometric, Jungtinė Karalystė). Bandymo metu suspaudimo plokštelių judėjimo greitis buvo 1 mm/min. Tyrimui naudoti porėti kubo formos karkasai, kurių matmenys 10×10×10 mm. Siekiant įvertinti kompozitinių medžiagų mechaninį elgesį ir elastines savybes gniuždant, nustatytas Jungo (tamprumo) modulis. Matavimai atlikti tris kartus, o rezultatai pateikti kaip matavimų vidurkis ± standartinis nuokrypis.

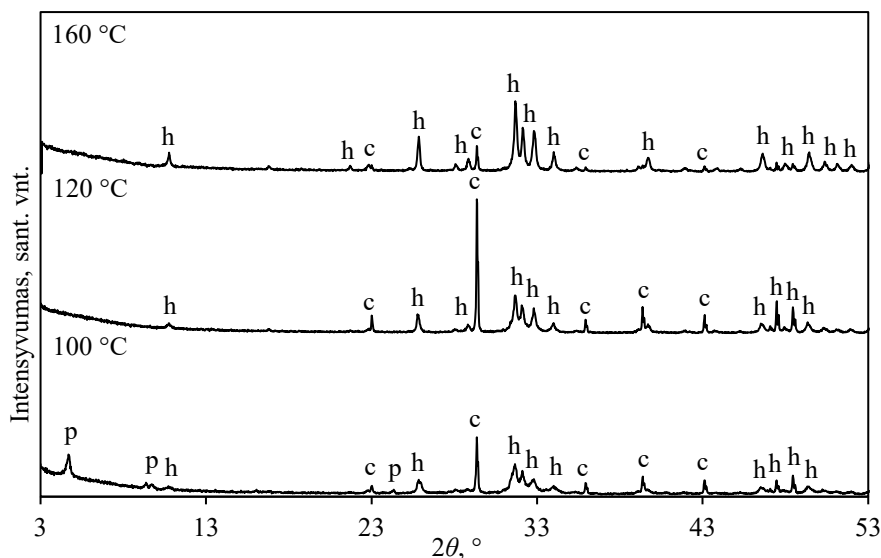
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Karbonizuoto hidroksiapatito mikrobanginė sintezė ir savybės

Sintezės produktų fazinė sudėtis

Siekiant susintetinti karbonizuotą hidroksiapatitą (CHA), naudotas kalcio karbonato, ortofosforo rūgšties ir distiliuoto vandens mišinys, kuriame Ca/P molinis santykis sudarė 1,67. Šis molinis santykis atitinka stechiometrinę hidroksiapatito sudėtį.

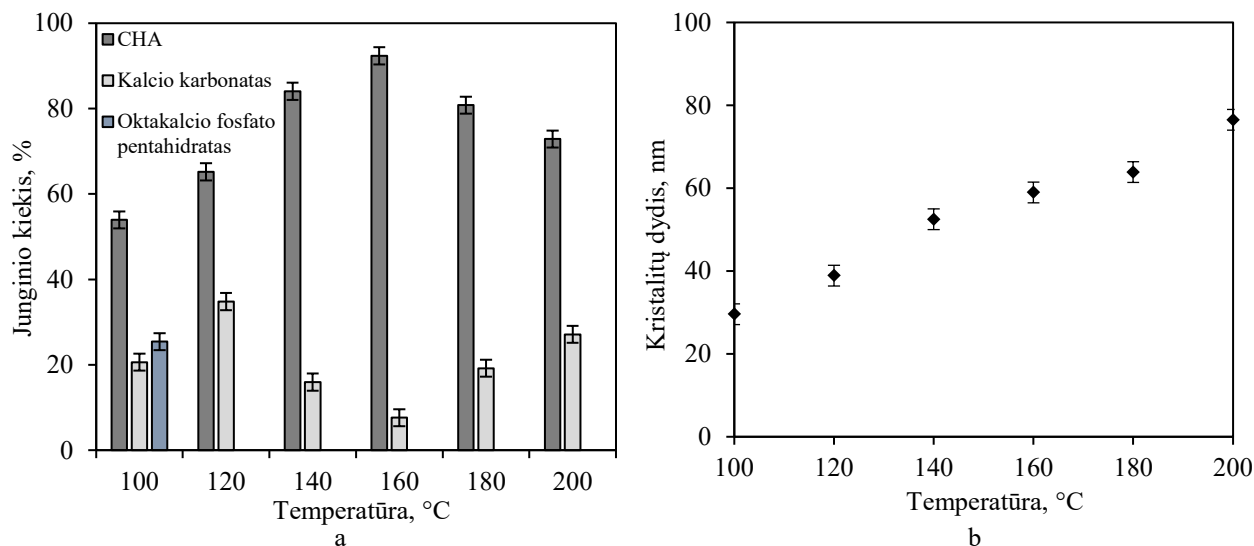
Nustatyta, kad po 2 valandų mikrobanginės sintezės apdorojimo 100 °C temperatūros aplinkoje susidarė tikslinis sintezės produktas – karbonizuotas hidroksiapatitas ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$, PDF Nr. 01–075–3728) (žr. 3.1 pav.). Kartu su pastaruoju junginiu identifikuotas ir kitas kalcio fosfatas – oktakalcio fosfato pentahidratas ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, PDF Nr. 00–026–1056), bei nesureagavęs kalcio karbonatas (CaCO_3 , PDF Nr. 04–023–8700). Paminėtina, kad oktakalcio fosfato pentahidratas yra tarpinis hidroksiapatito kristalizacijos produktas, susidarantis esant žemesnėms pH ir temperatūros reikšmėms [20]. Tolimesnis sintezės temperatūros didinimas iki 120 °C turi teigiamos įtakos CHA susidarymui, nes sintezės produktuose nebeidentifikuojamas oktakalcio fosfato pentahidratas. Šios temperatūros aplinkoje gautų produktų sudėtyje vyrauja CHA ir kalcio karbonatas, kurie išlieka iki 200 °C.



3.1 pav. Sintezės produktų RSDA kreivės esant skirtingai izoterminio apdorojimo temperatūrai. Čia: p – oktakalcio fosfato pentahidratas, h – karbonizuotas hidroksiapatitas, c – kalcio karbonatas

Siekiant įvertinti gautų produktų sudėtį, buvo atlikta kiekybinė rentgeno spindulių difrakcinė analizė. Svarbu paminėti, kad skaičiavimo rezultatų paklaida neviršija 2 %. Nustatyta, kad tikslinio sintezės produkto ir nesureagavusio kalcio karbonato koncentracija priklauso nuo sintezės temperatūros (žr. 3.2 pav., a). Apskaičiuota, kad 100 °C temperatūros aplinkoje gautų produktų sudėtyje vyrauja CHA (54,0 %). Tuo tarpu, oktakalcio fosfato pentahidrato ir kalcio karbonato koncentracija atitinkamai siekia 25,4 % ir 20,6 %. Įdomu tai, kad 120 °C temperatūroje, vykstant oktakalcio fosfato pentahidrato persikristalizavimui, padidėja tiek CHA, tiek kalcio karbonato koncentracija. Mikrobanginės sintezės temperatūros didinimas iki 160 °C turi teigiamos įtakos kalcio karbonato sureagavimui ir CHA susidarymui, nes kalcio karbonato kiekis sumažėjo iki 7,6 %, o CHA – padidėjo iki 92,4 %. Tolimesnis sintezės temperatūros didinimas iki 180–200 °C turi

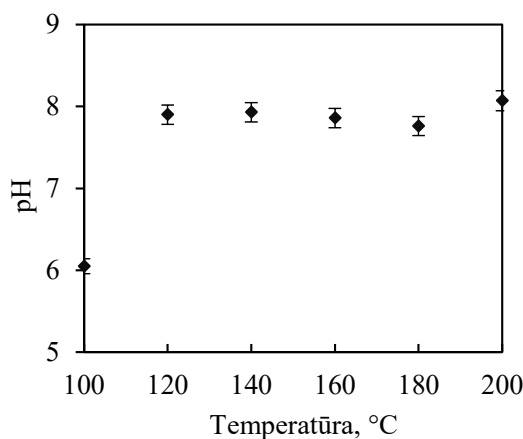
neigiamos įtakos CHA susidarymui, nes jo kiekis sumažėjo iki 72,9 %, tuo tarpu kalcio karbonato kiekis padidėjo iki 27,1 %. Toks koncentracijų pokytis gali būti susijęs su CHA nestabilumu aukštesnėje temperatūroje arba su persikristalizavimo į kitus kalcio fosfatus pradžia.



3.2 pav. Sintezės produktuose susidariusių fazių koncentracijos (a) ir karbonizuoto hidroksiapatito kristalų dydžiai (b)

Svarbu paminėti, kad kalcio fosfatų panaudojimo galimybes lemia ne tik jų fazinė sudėtis, bet ir kristalų dydis, todėl buvo įvertinta CHA kristalų dydžio priklausomybė nuo temperatūros (žr. 3.2 pav., b). Apskaičiuota, kad didinant sintezės temperatūrą nuo 100 °C iki 200 °C, CHA kristalų dydis nuosekliai didėja nuo 29,6 nm iki 76,5 nm.

Remiantis literatūros duomenimis, sintezės metu esanti skystosios terpės pH vertė turi įtakos susidarančių kalcio fosfatų dalelių morfologijai ir kristalizacijai [6], todėl buvo išmatuotos po sintezės gautos skystosios terpės pH vertės. Pastebėta, kad, priklausomai nuo temperatūros sintezės produktuose susidarant skirtingoms fazėms, kinta ir po sintezės gautos terpės pH vertė (žr. 3.3 pav.).



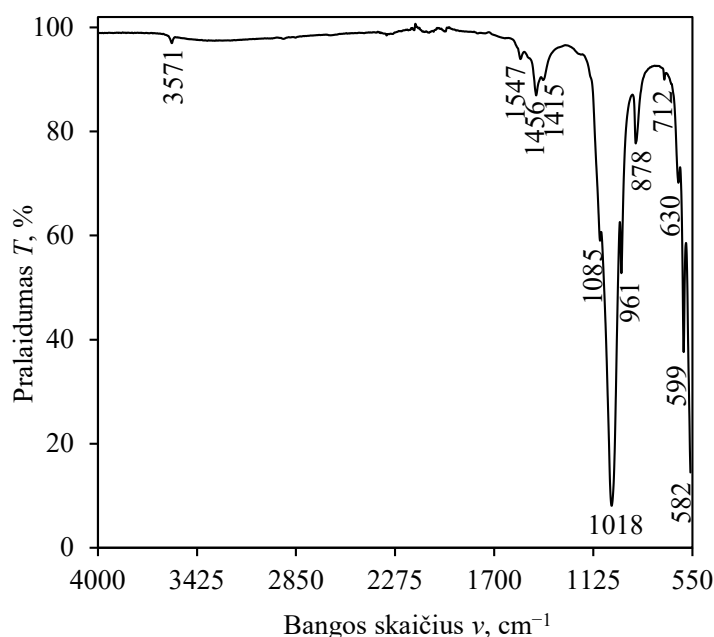
3.3 pav. Skystosios terpės pH vertės gautos karbonizuoto hidroksiapatito sintezės metu

Išmatuota, kad žemesnėje temperatūroje (100 °C), kai sintezės produktuose vyrauja CHA, oktakalcio fosfato pentahidratas ir nesureagavęs kalcio karbonatas, skystosios terpės pH vertė siekia apie 6,1. Svarbu paminėti, kad oktakalcio fosfato pentahidratas yra rūgštinės prigimties ir įprastai susidaro, kai skystosios terpės pH vertė yra 5,5–6,5 [20]. Tuo tarpu didesnės skystosios terpės pH vertės (~ 7,9)

gautos po sintezių 120–180 °C temperatūroje. Paminėtina, kad šiame temperatūros intervale vyrauja CHA kartu su nesureagavusiu kalcio karbonatu, kuris yra bazinės prigimties. Aukštesnės temperatūros aplinkoje (200 °C) pH vertė neženkiai padidėja iki 8,1. Nežymus pH pokytis gali būti susijęs su sintezės produktuose esančiu didesniu nesureagavusio kalcio karbonato kiekiu.

Apibendrinant gautus RSDA rezultatus, galima teigti, kad palankiausia eksperimentinė sąlyga CHA susidarymui yra 160 °C temperatūros aplinka, nes šiomis sąlygomis gauto produkto išeiga siekia 92 %, o kristalitų dydis yra 59 nm.

Sintetinio CHA funkcinėms grupėms ir cheminės struktūros tipui patvirtinti atlikta FT–IR analizė. Gautame spektre identifikuotos visos absorbcijos juostos, būdingos CHA funkcinėms grupėms virpesiams (žr. 3.4 pav.). Žemų dažnių srityje (3700–3000 cm^{-1}) stebima absorbcijos juosta, būdinga paviršiuje adsorbuoto vandens hidroksilo grupių virpesiams. Nedidelio intensyvumo smailė dažniui 3571 cm^{-1} priskiriama struktūrinių OH^- grupių valentiniams virpesiams, o štai aukšto dažnio srityje smailė ties 630 cm^{-1} dažniu priskiriama OH^- grupių deformaciniams svyruokliniams virpesiams. Svarbu paminėti, kad šios juostos yra būdingos hidroksiapatito struktūrai [53].



3.4 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito FT–IR spektras

Vidutinio dažnio srityje (1550–1400 cm^{-1}) identifikuotos trys karbonatų $\nu(\text{CO}_3^{2-})$ grupėms būdingos absorbcijos juostos. Asimetrinių valentinių virpesių srityje stebima absorbcijos juosta (1547 cm^{-1}), būdinga $\nu(\text{CO}_3^{2-})$ grupės virpesiams, ir patvirtinanti A tipo CHA struktūrą. Tuo tarpu dupletas, esantis 1456 cm^{-1} ir 1415 cm^{-1} dažnių srityje, priskiriamas asimetriniams $\nu(\text{CO}_3^{2-})$ valentiniams virpesiams, būdingiems B tipo CHA struktūrai ir kalcio karbonatui. Šių juostų buvimas rodo, kad tikslinio produkto struktūroje yra įsiterpę CO_3^{2-} jonai, taip susidarant AB tipo CHA. Be to, aukšto dažnio srityje stebimi du kalcio karbonato junginiams būdingi singletai: absorbcijos juosta ties 878 cm^{-1} dažniu priskiriama deformaciniams svyruokliniams $\rho(\text{CO}_3^{2-})$ virpesiams, o nedidelio intensyvumo smailė 712 cm^{-1} dažnių srityje priskiriama deformaciniams žirkliniams $\delta(\text{CO}_3^{2-})$ virpesiams. Taip pat spektre identifikuotos visos hidroksiapatito fosfato (PO_4^{3-}) grupėms būdingos absorbcijos juostos. Intensyviausios smailės ties 1085 cm^{-1} ir 1018 cm^{-1} dažniais priskiriamos asimetriniams $\nu_3(\text{P}-\text{O})$ valentiniams virpesiams, o štai ties 961 cm^{-1} dažniu – simetriniams $\nu_1(\text{P}-\text{O})$ valentiniams virpesiams.

Be to, aukšto dažnio srityje, ties 599 cm^{-1} ir 582 cm^{-1} dažniais, stebimi deformaciniai žirkliniai virpesiai, būdingi $\nu_4(\text{P-O})$ grupei. Apibendrinant gautus FT-IR rezultatus, galima teigti, kad sintezės metu $160\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūros aplinkoje buvo sėkmingai gautas AB tipo CHA.

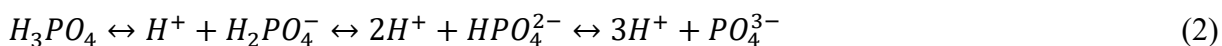
Eksperimentiškai nustatyta produkto fazinė sudėtis ir funkcinės grupės leidžia daryti prielaidą apie sudėtingą, daugiapakopį CHA sintezės procesą. Literatūroje HA susidarymo mechanizmai vandeninėse sistemose yra plačiai nagrinėjami, o priklausomai nuo sintezės sąlygų, pradinių žaliavų bei tarpinių fazių susidarymo, siūlomi keli galimi reakcijos keliai. Remiantis gautais rezultatais ir literatūros duomenimis, pateikiama tikėtina reakcijų seka, apibūdinanti CHA susiformavimą iš kalcio karbonato ir ortofosforo rūgšties per tarpines fazes. Šis modelis pagrįstas eksperimentiniais rezultatais bei literatūroje aprašomais mechanizmais [54].

CHA susidarymą mikrobangų sintezės metu lemia nuosekli tirpimo–nusodinimo reakcijų seka, kurią lydi tarpinių kalcio fosfatų fazių susidarymas ir vėlesni joniniai pakaitai. Konversijos procesą, naudojant kalcio karbonato žaliavą, galima suskirstyti į kelis etapus:

Pradinis žaliavų tirpimas ir transformacija. Veikiant mikrobangų spinduliuotei, kalcio karbonatas gali iš dalies tirpti, išskirdamas kalcio katijonus ir karbonato anijonus [54]:



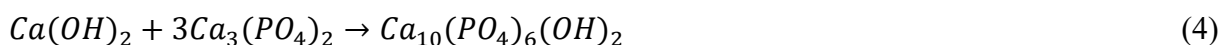
Tuo pačiu metu vandeniniame tirpale vyksta fosforo rūgšties disociacija:



Susidarę Ca^{2+} ir PO_4^{3-} jonai tirpale sąveikauja tarpusavyje ir dėl elektrostatinės sąveikos bei krūvio neutralizavimo sudaro hidratuotus koloidinius agregatus. Šie agregatai atitinka amorfinį kalcio fosfatą (ACP) – tarpinę fazę. ACP sudaro nanodydžio koordinaciniai kompleksai, t. y. jis nėra griežtai stochiometrinis junginys, todėl apatito kristalizacijos metu jis veikia kaip metastabilus tarpinis produktas. Reakcija tarp CaCO_3 ir H_3PO_4 , kurios metu susidaro ACP ir išsiskiria anglies dioksidas, gali būti užrašyta sekančiai [55]:



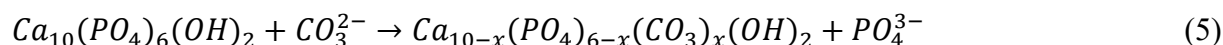
ACP virsmas į kristalinį apatitą. Hidroterminėmis sąlygomis ACP persitvarko ir dehidratuoja, todėl padidėja sistemos tvarkumas ir susidaro trikalčio fosfatui būdinga aplinka. Nuolatinė Ca^{2+} ir PO_4^{3-} jonų terpmasis skatina HA – termodinamiškai stabiliausios kalcio fosfato fazės vandeninėse sistemose – susidarymą ir dalelių augimą. Supaprastintai HA susidarymą galima išreikšti šia lygtimi [55]:



Šarminėje aplinkoje ($\text{pH} \approx 9\text{--}12$) sudaromos palankios sąlygos apatito kristalizacijai, nors, priklausomai nuo persotinimo laipsnio ir pH vertės, gali susidaryti kitos tarpinės fazės, pavyzdžiui, oktakalcio fosfatas arba dikalcio fosfatai.

Karbonatų įsiterpimas ir CHA susidarymas. Kadangi kalcio karbonatas naudojamas kaip pagrindinis žaliavos komponentas, sintezės metu, tiek tirpimo, tiek rūgšties ir karbonato sąveikos metu, nuolat susidaro karbonato anijonai. Dalis išsiskyrusio CO_2 ištirpsta reakcijos terpėje, sudarydama karbonatų

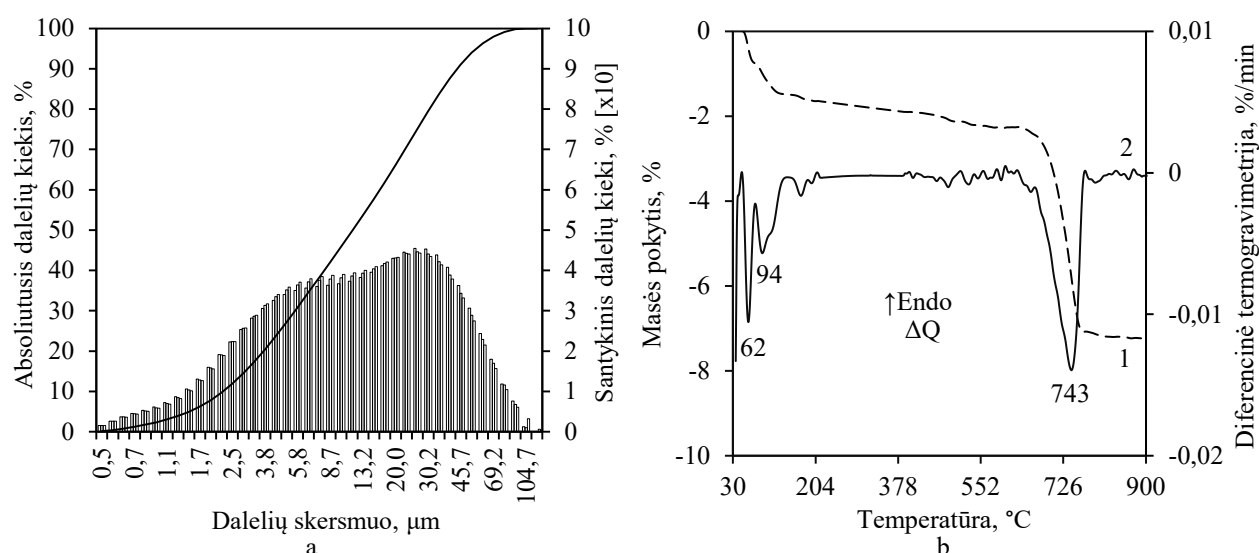
jonų pusiausvyrą ($\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$). Šie anijonai įsiterpia į augančią apatito gardelę, taip suformuodami CHA:



Tokie pakaitai būdingi nestechiometriniam arba kalcio deficitiniam HA, susidarančiam hidroterminės sintezės sąlygomis, kai anijonų įsiterpimą palengvina kristalinės gardelės defektai ir vakansijos.

Pagrindinės karbonizuoto hidroksiapatito savybės

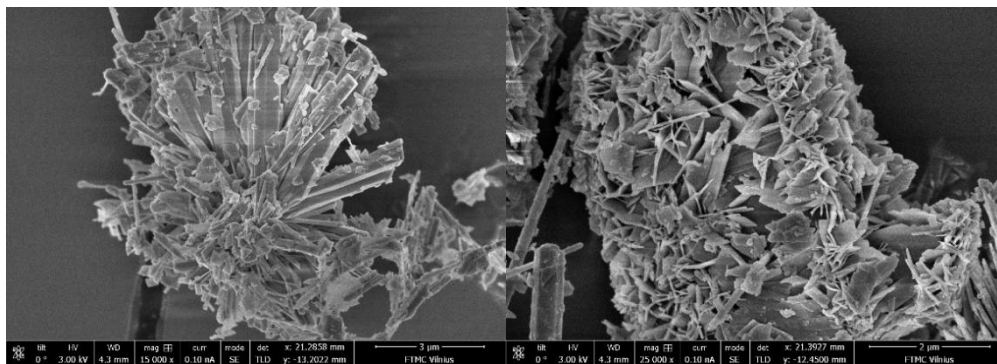
CHA praktinį pritaikymą lemia jo granulimetrinė sudėtis, todėl produktas, susintetintas 160 °C temperatūroje, buvo disperguotas ultragarsu (30 kHz, 60 min). Nustatyta, kad šis apdorojimas neturi įtakos CHA stabilumui, nes bandinio fazinė sudėtis išliko nepakitusi. Nors dispergavimas ultragarsu leido sumažinti dalelių dydį suardant aglomeratus, tačiau granulimetrinės analizės rezultatai parodė, kad produktuose esančių dalelių skersmenys vis tiek yra labai įvairūs ir kinta plačiame intervale – nuo 0,47 μm iki 104,71 μm (žr. 3.5 pav., a). Išmatuota, kad 50 % dalelių yra mažesnės nei 12 μm, o 90 % – mažesnės nei 45 μm. Remiantis moksline literatūra [56], granulimetrinė sintetinio produkto sudėtis atitinka hidroksiapatito naudojamo medicinoje dalelių pasiskirstymą, o tai svarbu tolimesniems eksperimentams bei bandinio pritaikomumui.



3.5 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito disperguoto ultragarsu granulimetrinė sudėtis (a) ir termogravimetrinės analizės kreivės (b). Čia: 1 – TG kreivė, 2 – DTG kreivė

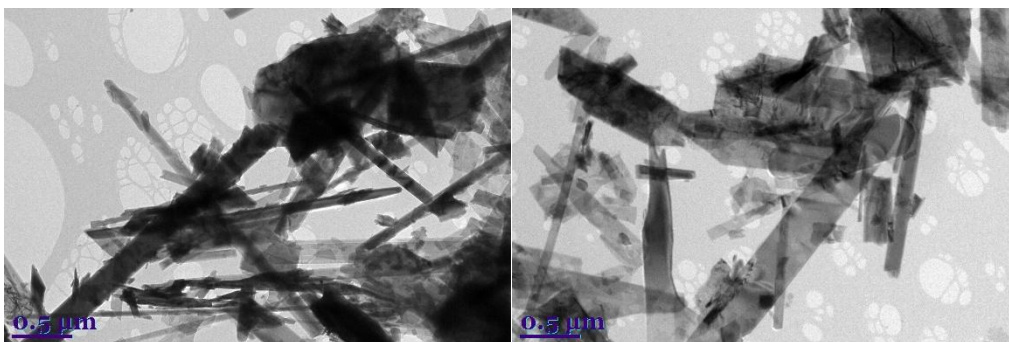
Siekiant įvertinti CHA terminį stabilumą, buvo atlikta termogravimetrinė analizė 30–900 °C temperatūros intervale. Sintetinio produkto DTG kreivėje (žr. 3.5 pav., b) stebimi trys masės pokyčio intervalai. Žemesnės temperatūros intervale (30–150 °C) esantys masės nuostoliai gali būti siejami su skirtingų formų vandens pašalinimu iš CHA. Pirmasis efektas (62 °C) būdingas adsorbcinės drėgmės pašalinimui, o antrasis (94 °C) – silpniau surišto vandens, esančio ant sintetinės medžiagos dalelių paviršiaus arba porose, pašalinimui. Apskaičiuota, kad šiame etape masės nuostoliai siekia 1,81 %, o tai rodo nedidelį bendrą vandens kiekį bandinyje. Aukštesnės temperatūros intervale (743 °C) vyksta nesureagavusio kalcio karbonato skilimas į kalcio oksidą ir anglies dioksidą ($\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$) bei karboksi grupės pašalinimas iš CHA struktūros. Apskaičiuota, kad šio proceso metu bandinys netenka 4,67 % masės. Paminėtina, kad CHA dehidratuoja palaipsniui, todėl DTG kreivėje nestebimas šiam procesui būdingas virsmas [57].

Norint išsamiau įvertinti CHA dalelių morfologiją ir dydį, buvo atlikta SEM analizė (žr. 3.6 pav.). Nustatyta, kad sintetinio CHA dalelės yra dviejų formų: pailgos šešiakampės lazdelės ir netaisyklingos formos plokštelės. Šios dalelės, susijungusios tarpusavyje, sudaro skirtingo dydžio aglomeratus. Išmatuota, kad CHA šešiakampių lazdelių dydis kinta plačiame intervale: ilgis svyruoja nuo 1,08 μm iki 7,92 μm , o plotis – nuo 110 nm iki 723 nm. Tuo tarpu susidariusių plokštelių dydis svyruoja nuo 0,2 μm iki 1 μm , o plotis siekia tik keletą nanometrų. Remiantis mokslinės literatūros duomenimis, kalcio fosfatų morfologinės savybės priklauso nuo daugelio veiksnių (pH, temperatūra, slėgis, sintezės metodas ir kt.) [6].



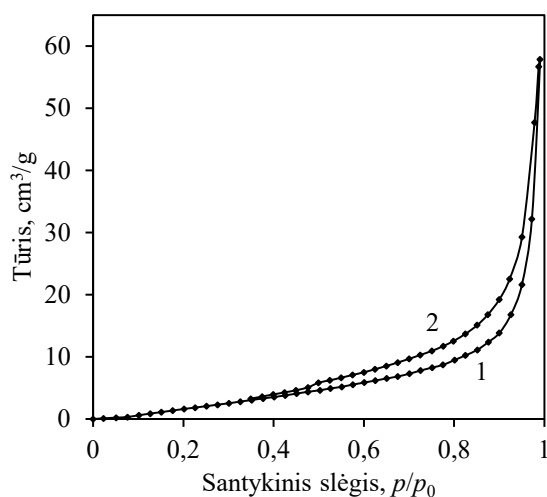
3.6 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito SEM nuotraukos

Peršviečiamosios elektroninės mikroskopijos nuotraukose stebimi plokštelių ir pailgos formos CHA kristalitai (žr. 3.7 pav.). Išmatuota, kad pailgos formos kristalitų ilgis svyruoja nuo 0,50 μm iki 2,73 μm , o plotis – nuo 50 nm iki 270 nm. Plokštelių formos kristalitų dydis kinta nuo keliasdešimt nanometrų iki $\sim 1 \mu\text{m}$.



3.7 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito TEM nuotraukos

Siekiant įvertinti CHA savitąjį paviršiaus plotą ir porų dominuojančią formą, buvo atlikti N_2 dujų adsorbcijos ir desorbcijos matavimai 77 K temperatūroje (žr. 3.8 pav.). CHA azoto adsorbcijos izotermė gali būti priskirta II arba III tipui. Žinoma, kad II tipo izotermės būdingos beporėms arba makroporėms medžiagoms. Tuo tarpu III tipo izotermės būdingos medžiagoms, kai sąveika tarp adsorbento ir adsorbato yra santykinai silpna, o adsorbuotos molekulės susitelkusios aplink aktyvius centrus ant neporėtos arba makroporės medžiagos [58]. Histerezės kilpos buvimas, t. y. adsorbcijos ir desorbcijos izotermių nesutapimas, rodo, kad bandinyje yra mezoporų, kurių skersmuo svyruoja nuo 2 iki 50 nm. CHA histerezės kilpa gali būti klasifikuojama kaip H3 tipo, kuri yra būdinga plyšio formos mezoporoms, susidariusioms tarp lygiagrečių plokštelių [58]. Paminėtina, kad tokios struktūros galėjo susidaryti tarp plokštelės formos CHA dalelių (žr. 3.6 pav.).



3.8 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito azoto adsorbcijos (1) – desorbcijos (2) izotermės

BET lygtis gali būti naudojama savitojo paviršiaus ploto skaičiavimams tik II arba IV tipo izotermėms. Skaičiavimams naudotos vertės iš adsorbcijos izotermės intervale $0,05 < p/p_0 < 0,35$ (žr. 2 lygtis). BET lygtis gali būti naudojama tada, kai determinacijos koeficiento R^2 vertė yra artima vienetui, o C_{BET} konstantos vertė idealiu atveju yra nuo 50 iki 300. Remiantis IUPAC klasifikacija [58], C_{BET} turėtų būti didesnė nei 2, nes tai parodo, kad azoto monosluoksnis susiformavo ant adsorbento paviršiaus. Tačiau jeigu C_{BET} vertė yra mažesnė nei 50, apskaičiuotos savitojo paviršiaus ploto vertės gali būti su paklaidomis.

Analizės metu nustatyta, kad CHA adsorbcijos izotermė BET koordinatėse yra tiesinė priklausomybė, nes R^2 vertė yra artima vienetui (žr. 3.1 lent.). Tačiau apskaičiuota BET konstanta C_{BET} yra lygi tik 2,21, o tai rodo labai silpną sąveiką tarp adsorbento ir adsorbato (žr. 3.1 lent.). Tai sutampa su adsorbcijos izotermės II arba III tipo klasifikacija (žr. 3.8 pav.). Kadangi C_{BET} vertė yra didesnė nei 2, BET lygtis gali būti taikoma savitojo paviršiaus ploto nustatymui. Apskaičiuota, kad sintetinio CHA mėginio savitasis paviršiaus plotas yra $15,85 \text{ m}^2/\text{g}$ (žr. 3.1 lent.).

3.1 lentelė. Karbonizuoto hidroksiapatito savitojo paviršiaus ploto apskaičiuoti parametrai

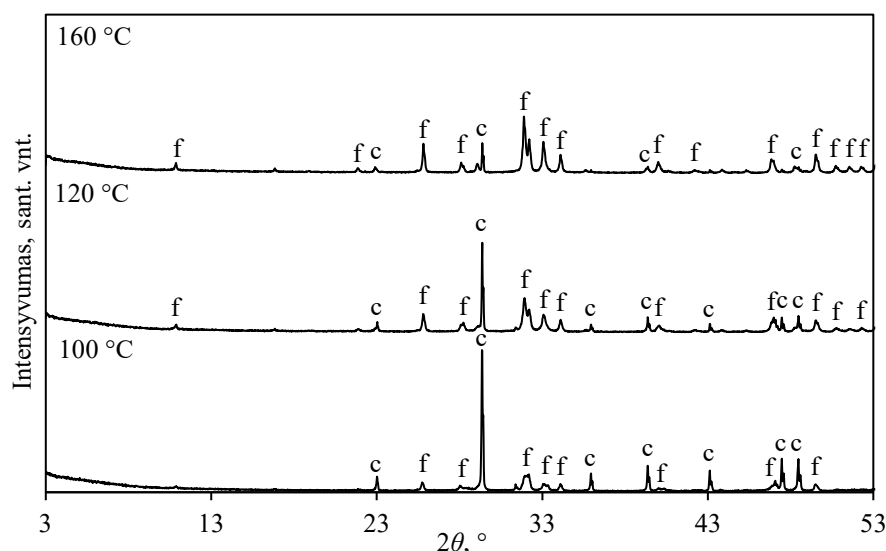
BET lygties konstantos		Monosluoksnių adsorbcijos talpa	Savitojo paviršiaus plotas $S_{BET}, \text{m}^2/\text{g}$	Konstanta C_{BET}	Determinacijos koeficientas R^2
Nuolydis, $S=ta$	Atkarpa, I				
120,22	99,60	0,0045	15,85	2,21	0,999

Apibendrinant gauta savitojo paviršiaus ploto vertė yra artima literatūroje pateikiamoms reikšmėms ir rodo, kad sintetinis CHA pasižymi vidutiniu poringumu, būdingu aukšto kristališkumo HA [59].

3.2. Karbonizuoto fluorapatito mikrobanginė sintezė ir savybės

Sintezės produktų fazinė sudėtis

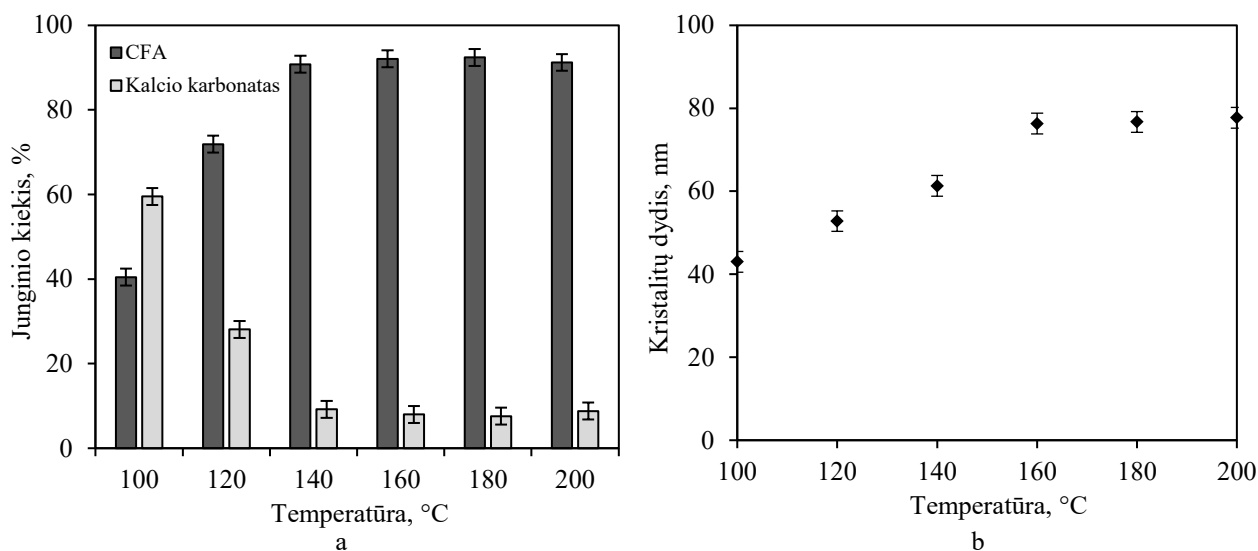
Karbonizuoto fluorapatito (CFA) mikrobanginė sintezė vykdyta analogiškais sąlygomis kaip ir CHA, tačiau į mišinį papildomai pridedant amonio fluorida druskos. Sintezės produktų RSDA kreivės pateiktos 3.9 paveiksle.



3.9 pav. Sintezės produktų RSDA kreivės, esant skirtingai izoterminio apdorojimo temperatūrai. Čia:
f – karbonizuotas fluorapatitas, c – kalcio karbonatas

Nustatyta, kad mikrobanginės sintezės metu, esant 100 °C temperatūrai ir 2 valandų trukmei, susidaro tikslinis produktas – karbonizuotas fluorapatitas ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4, \text{CO}_3)_3\text{F}$, PDF Nr. 04–026–3410). Kartu su CFA identifikuotas ir nesureagavęs kalcio karbonatas. Sintezės temperatūros didinimas 120–160 °C intervale neturi ženklios įtakos sintezės produktų fazinei sudėčiai, tačiau turi teigiamos įtakos kalcio karbonato sureagavimo laipsniui. Nustatyta, kad kalcio karbonatui būdingų difrakcinių maksimumų intensyvumai sumažėja 4,7 karto, o štai CFA – padidėja. Tolimesnis sintezės temperatūros didinimas (200 °C) neturi ženklios įtakos RSDA kreivių profiliui. Paminėtina, kad RSDA metodas nėra tinkamas susidariusio kalcio fosfato cheminės sudėties nustatymui, nes fluorapatitas gali turėti struktūrinio vandens ir kintamą karbonato grupių skaičių.

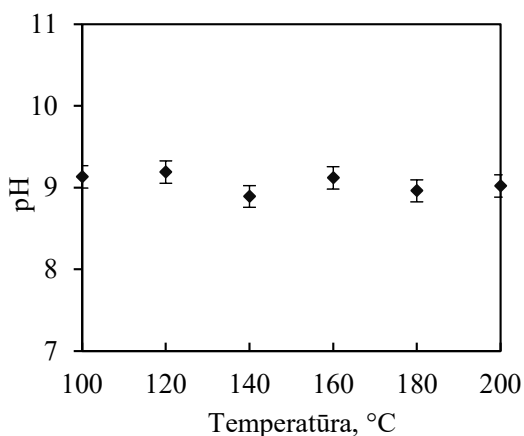
Kiekybinė analizė parodė, kad CFA ir nesureagavusio kalcio karbonato koncentracijos priklauso nuo mikrobanginės sintezės temperatūros (žr. 3.10 pav., a). Apskaičiuota, kad esant 100 °C temperatūroje sintezės produktuose susidarė 40,47 % CFA ir 59,53 % kalcio karbonato.



3.10 pav. Sintezės produktuose susidariusių fazių koncentracijos (a) ir karbonizuoto fluorapatito kristalinių dydis (b)

Kaip ir tikėtasi, didinant sintezės temperatūrą iki 180 °C, CFA kiekis didėja iki 92,42 %, o kalcio karbonato kiekis sumažėja iki 7,58 %. Pastebėta, kad tolimesnis sintezės temperatūros didinimas (200 °C) neturi ženklios įtakos CFA susidarymui, nors stebimas nežymus jo kiekio sumažėjimas iki 91,22 %. Tuo tarpu kalcio karbonato kiekis neženkliai padidėjo iki 8,78 %. Panaši temperatūros įtaka pastebėta ir kristalitų dydžiui. Apskaičiuota, kad, didėjant sintezės temperatūrai nuo 100 °C iki 160 °C, CFA kristalitų dydis padidėjo nuo 43,0 nm iki 76,3 nm (žr. 3.10 pav., b). Tuo tarpu 160–200 °C temperatūros intervale susintetinto CFA kristalitų dydžio augimas sulėtėja – jis padidėja neženkliai, iki 77,7 nm.

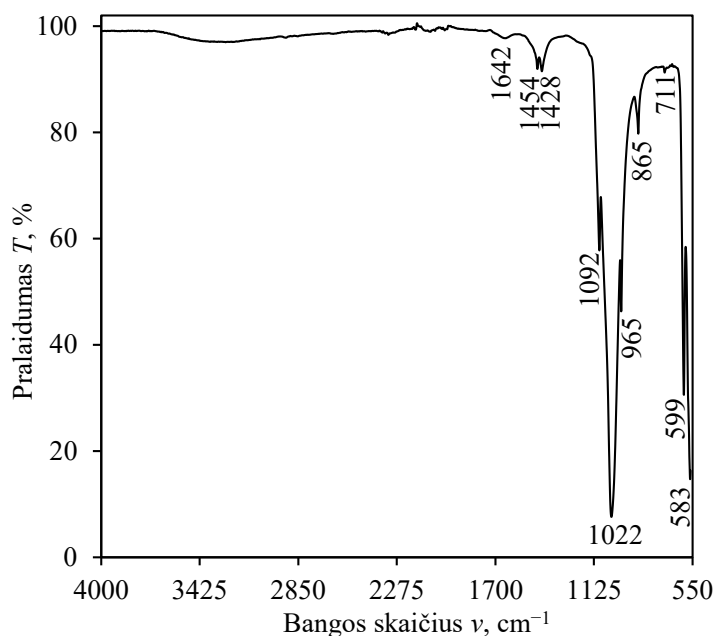
Priešingai nei kristalitų dydžio atveju, pastebėta, kad, kintant sintezės temperatūrai, pH vertės skystojoje terpėje išlieka stabilios ir svyruoja nuo 8,9 iki 9,2 (žr. 3.11 pav.). Šie nedideli pH svyravimai gali būti susiję su karbonatų kiekio pokyčiais sintezės produktuose. Svarbu paminėti, kad fluorapatitas formuojasi 5,0–7,4 pH intervale, tačiau šiuo atveju šarminę terpę (~ 9,0) gali lemti iš pradinių žaliavų į skystąją terpę atpalaiduoti amonio jonai.



3.11 pav. Skystosios terpės gautos karbonizuoto fluorapatito sintezės metu pH vertės

Apibendrinant gautus rezultatus, galima teigti, kad didžiausia CFA išeiga gaunama esant 160 °C temperatūrai. Be to, šiomis sąlygomis gauto CFA vidutinis kristalitų dydis yra 76 nm.

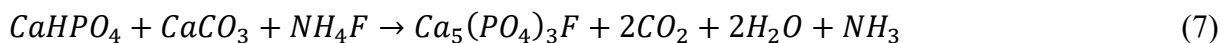
Sintetinio CFA FT–IR spektre identifikuotos pagrindinės absorbcijos juostos, būdingos karbonato (CO_3^{2-}) ir fosfato (PO_4^{3-}) grupėms, kurios stebimos panašiuose dažnių intervaluose kaip ir CHA atveju (žr. 3.4 ir 3.12 pav.). Priešingai, CFA spektre neidentifikuotos 3571 cm^{-1} ir 630 cm^{-1} dažnių srityse absorbcijos juostos, būdingos OH^- grupėms, o tai patvirtina sėkmingą CFA susidarymą. Paminėtina, kad šios absorbcijos juostos išnyksta, kai OH^- grupės hidroksiapatito struktūroje yra pakeičiamos fluoro jonais [53]. Be to, deformacinių svyruoklinių $\rho(\text{CO}_3^{2-})$ virpesių poslinkis iš 878 cm^{-1} į 865 cm^{-1} dažnį taip pat gali būti siejamas su F^- jonų įsiterpimu į hidroksiapatito struktūrą (žr. 3.5 ir 3.14 pav.). Įdomu tai, kad vidutinio dažnio srityje (1642 cm^{-1}) stebima absorbcijos juosta, būdinga vandens molekulių $\delta(\text{H}-\text{OH})$ deformaciniams žirkliniams virpesiams. Šios smailės atsiradimas gali būti susijęs su adsorbuoto vandens prisijungimu arba struktūrinių vandens molekulių buvimu produkto struktūroje. Tuo tarpu karbonato grupės buvimą CFA struktūroje patvirtina dupletas, esantis $1350\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ dažnių srityje.



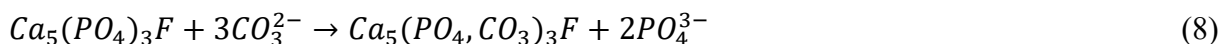
3.12 pav. Karbonizuoto fluorapatito FT–IR spektras

FT–IR analizės duomenys, rodantys specifinių OH^- grupių juostų išnykimą ir CO_3^{2-} signalų poslinkius, leidžia daryti prielaidą, kad fluoro jonų dalyvavimas sistemoje iš esmės pakeičia produkto kristalizacijos eigą. Nors bendra sintezės eiga išlieka gimininga CHA atvejui, galutinę CFA struktūrą lemia konkurencinė anijonų sąveika. Fluoro jonai, pasižymintys mažesniu spinduliu nei hidroksilo jonai ir dideliu elektroneigiamumu, lengviau užpildo gardelės vakansijas nei OH^- grupės, todėl sintezės metu vyksta prioritetas F^- jonų įsiterpimas į susidarantį kalcio fosfato karkasą [27].

FA susidarymas hidroterminėmis sąlygomis, esant F^- jonams, gali vykti per reakcijas, kuriose dalyvauja tarpiniai kalcio fosfato junginiai:

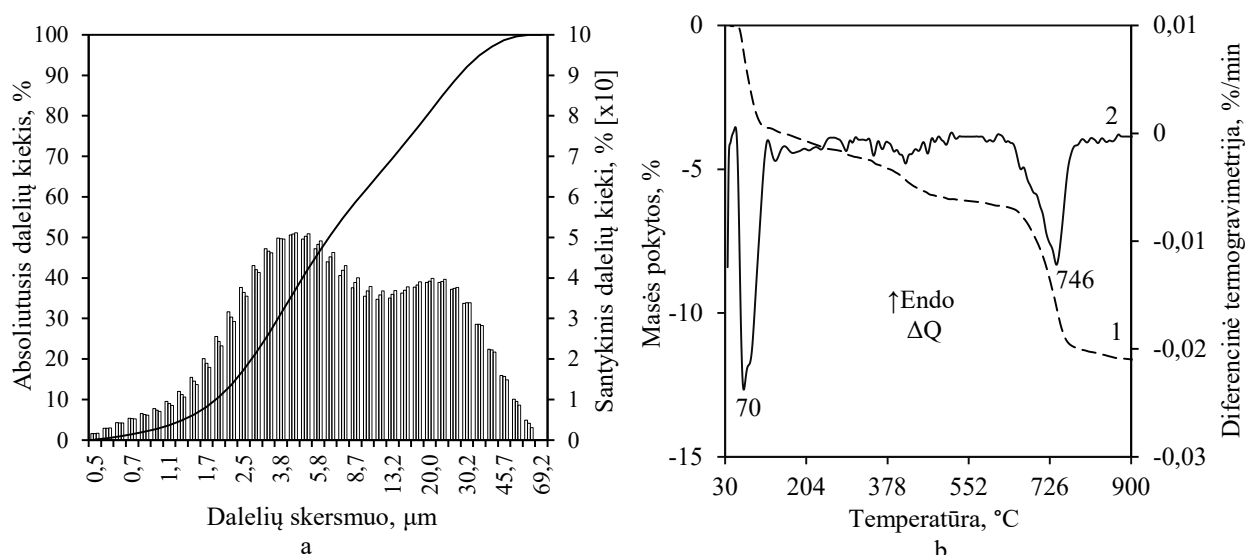


Šiame procese F^- jonai pirmiausia pakeičia OH^- grupes apatito kanalų struktūroje, taip stabilizuodami kristalinę gardelę. Vėlesnis CO_3^{2-} jonų įterpimas lemia CFA susidarymą:



Pagrindinės karbonizuoto fluorapatito savybės

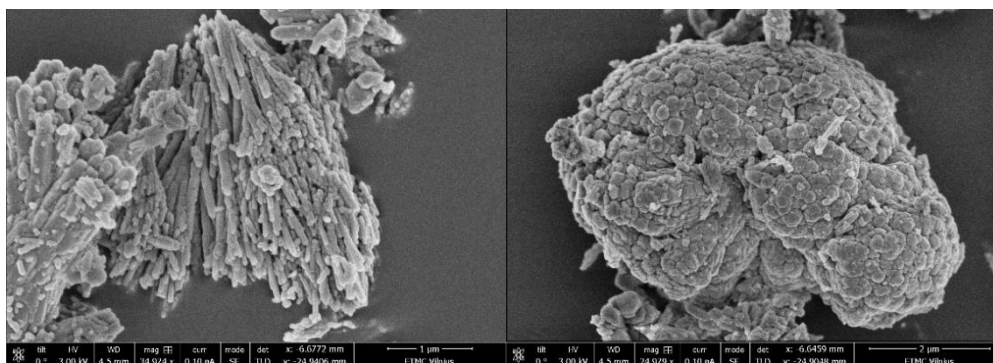
Siekiant suardyti sintezės metu susidarantčius aglomeratus, CFA (160 °C, 2 h) buvo disperguotas ultragarsu (30 kHz, 60 min). Nustatyta, kad šis apdorojimas, kaip ir CHA atveju, neturi įtakos CFA stabilumui, nes fazinė sudėtis išliko nepakitusi. Dispergavimas ultragarsu leido efektyviai suardyti dalelių aglomeratus. Granulimetrinės analizės duomenys parodė, kad disperguotų CFA dalelių skersmenys kinta nuo 0,47 μm iki 69,18 μm (žr. 3.13 pav., a). Apskaičiuota, kad 50 % dalelių yra mažesnės nei 5,8 μm , o 90 % – mažesnės nei 30,0 μm . Lyginant su CHA, karbonizuoto fluorapatito bandinyje vyrauja mažesnės dalelės.



3.13 pav. Karbonizuoto fluorapatito disperguoto ultragarsu granulimetrinė sudėtis (a) ir termogravimetrinės analizės kreivės (b). Čia: 1 – TG kreivė, 2 – DTG kreivė

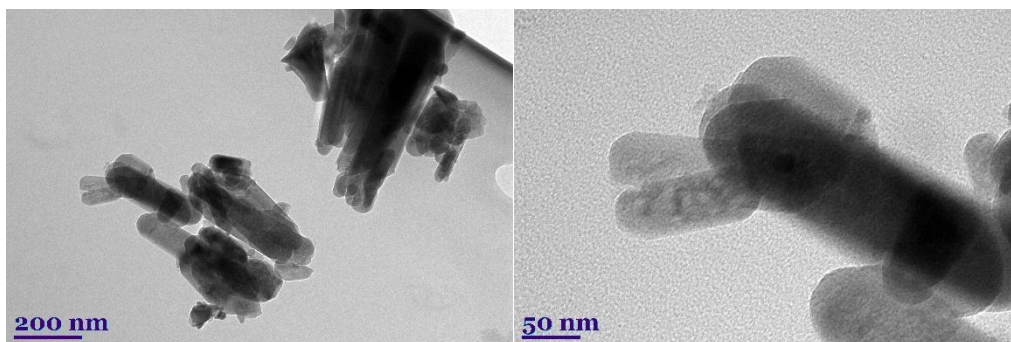
Sintetinio karbonizuoto fluorapatito termogravimetrinės analizės kreivės pateiktos 3.13 paveikslo b dalyje. DTG kreivėje stebimi du intensyvūs masės netekimo intervalai: pirmasis būdingas adsorbcinio vandens pašalinimui, o antrasis – kalcio karbonato skilimui ir karbonato grupių pašalinimui iš CFA struktūros. Apskaičiuota, kad adsorbcinio vandens pašalinimo metu, vykstančiame 50–130 °C temperatūros intervale, masės nuostoliai sudaro 4,63 %. Svarbu paminėti, kad ši vertė yra du kartus didesnė nei CHA atveju, o tai rodo, kad CFA pasižymi didesniu higroskopiškumu (žr. 3.5 pav., b). Kalcio karbonato skilimo ir CO_3^{2-} grupės pašalinimo iš CFA struktūros metu (645–767 °C) bandinys netenka 4,76 % masės. Taip pat 380–500 °C temperatūros intervale stebimas neženklaus masės pokytis (~ 1,10 %), susijęs su struktūrinio vandens pašalinimu, o tai rodo, kad CFA gali turėti struktūrinių OH^- grupių.

SEM analizės metu pastebėta, kad CFA dalelių forma skiriasi nuo CHA (žr. 3.6 pav. ir 3.14 pav.). CFA bandinyje vyrauja pailgos formos dalelės, kurių ilgis svyruoja plačiame intervale – nuo 0,38 μm iki 2,22 μm, o plotis – nuo 70 nm iki 170 nm. Be to, dalelės aglomeruojasi, sudarydamos pluoštinės struktūros sanaukas. Paminėtina, kad CHA bandinyje identifiikuotos pailgos dalelės yra šešiakampės, o CFA dalelės apvalios. Taip pat CFA bandinyje stebimos mažų (100–300 nm skersmens ir < 100 nm storio) plokštelių sanaukos. Išmatuota, kad dalelių sanaukų skersmenys kinta nuo kelių mikrometrų iki ~ 50 μm, o tai sutampa su granulimetrijos duomenimis (žr. 3.13 pav., a).



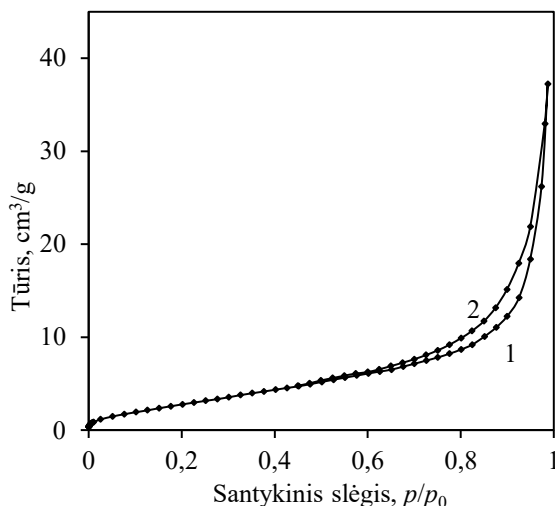
3.14 pav. Karbonizuoto fluorapatito SEM nuotraukos

Nustatyta, kad CFA kristalitai pasižymi pailga, lazdelių su suapvalintais galais forma (žr. 3.15 pav.). TEM analizės metu išmatuota, kad kristalitų ilgis svyruoja nuo 0,1 μm iki $\sim 1 \mu\text{m}$, o plotis – nuo 27 nm iki 80 nm. Svarbu paminėti, kad sintetinio CFA kristalitų dydis, lyginant su CHA, yra keletą kartų mažesnis (žr. 3.7 pav.).



3.15 pav. Karbonizuoto fluorapatito TEM nuotraukos

Atlikus CFA azoto dujų adsorbciją ir desorbciją 77 K temperatūroje, gauta II tipo izotermė su H1 tipo histerezės kilpa (žr. 3.16 pav.). Šio tipo izotermės yra būdingos medžiagoms, turinčioms tiek mezo–, tiek makroporų [58]. Histerezės kilpa gali būti klasifikuojama kaip H1 tipo, nes ji užsidaro esant $p/p_0 > 0,60$, ir yra būdinga cilindrinės formos poroms ir (arba) atvejams, kai bandinyje vyrauja panašaus diametro mezoporos [58]. Siaura histerezės kilpa rodo, kad bandinyje bendras mezoporų kiekis yra nedidelis [58].



3.16 pav. Karbonizuoto fluorapatito azoto dujų adsorbcijos (1) – desorbcijos (2) izotermos

Atsižvelgiant į tai, kad buvo nustatyta II tipo adsorbcijos izotermė, savitojo paviršiaus ploto skaičiavimams taikyta BET lygtis. Svarbu paminėti, kad skaičiavimo sąlygos analogiškos kaip ir CHA atveju. Nustatyta, kad CFA bandinio izotermė BET koordinatėse pasižymi tiesine priklausomybe, nes gauta R^2 vertė yra artima vienetui (žr. 3.2 lent.).

3.2 lentelė. Karbonizuoto fluorapatito savitojo paviršiaus ploto apskaičiuoti parametrai

BET lygties konstantos		Monosluoksniu adsorbcijos talpa	Savitojo paviršiaus plotas S_{BET} , m^2/g	Konstanta C_{BET}	Determinacijos koeficientas R^2
Nuolydis $S=nga$	Atkarpa I				
261,26	18,81	0,0036	12,44	14,89	0,996

CFA bandiniui apskaičiuota C_{BET} vertė yra 14,89, o tai rodo silpną adsorbento ir adsorbato sąveiką (žr. 3.2 lent.). Verta paminėti, kad ši vertė yra beveik 7 kartus didesnė, lyginant su CHA, o tai indikuoja patikimesnius S_{BET} skaičiavimų rezultatus. Be to, C_{BET} konstantos vertė būdinga mezoporinėms medžiagoms, todėl patvirtina II tipo izotermės klasifikaciją. Apskaičiuota, kad CFA savitasis paviršiaus plotas yra neženkiai mažesnis už CHA ir sudaro 12,87 m²/g (žr. 3.1 ir 3.2 lent.). Šis rezultatas sutampa su literatūros duomenimis, rodančiais, kad CFA pasižymi mažesniu savituoju paviršiaus plotu nei CHA. Šis skirtumas gal būti susijęs su didesniu kristališkumu ir struktūriniu stabilumu, kurį lemia F⁻ jonų buvimas kristalinėje gardelėje [41].

3.3. Karbonizuotų hidroksiapatito ir fluorapatito antibakterinės savybės

Vertinant sintetinių CHA ir CFA medžiagų pritaikymo galimybes kaulų audinių inžinerijoje, svarbu nustatyti jų antibakterines savybes. Tiriamųjų medžiagų aktyvumas vertintas prieš gramteigiamų (*S. aureus* ir *B. cereus*) bei gramneigiamų (*E. coli*) bakterijų kultūras, taikant standartizuotą agaro difuzijos metodą. Antibakterinis poveikis vertintas pagal susidariusių bakterijų augimo slopinimo zonų dydį aplink bandinius.

Tyrimo patikimumui užtikrinti naudotos teigiamos ir neigiamos kontrolės. Teigiamajai kontrolei pasirinktos ampicilino (AMP), ciprofloksacino (CIP) ir amfotericino B (AMB) gradientinės juostelės, leidžiančios nustatyti bakterijų augimo slopinimo zonas bei minimalią slopinamąją koncentraciją (MSK). Nustatyta, kad AMP ir CIP pasižymėjo ryškiu slopinamuoju poveikiu visų tirtų bakterijų kultūrų atžvilgiu, tačiau inhibicijos zonų dydžiai ir MSK vertės priklausė nuo bakterijų padermės jautrumo bei preparato veikimo mechanizmo (žr. 3.3 lent.). Literatūros duomenimis, AMP veikia slopindamas bakterijų ląstelės sienelės peptidoglikano sintezę, o CIP – slopina bakterijų DNR girazę, taip sutrikdydamas DNR replikaciją [60, 61].

3.3 lentelė. Teigiamos kontrolės preparatų slopinimo zonos ir MSK vertės

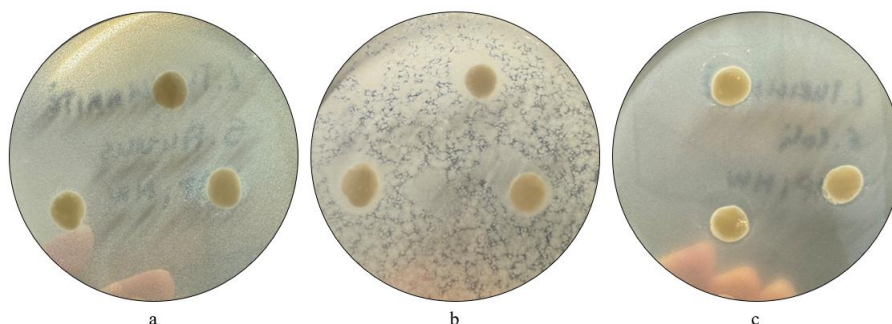
Bakterijų kultūra	Slopinimo zona, mm			MSK, µg/mL		
	AMP	CIP	AMB	AMP	CIP	AMB
<i>E. coli</i>	36,33 ± 0,42	34,19 ± 0,55	–	1,500	0,006	–
<i>S. aureus</i>	39,36 ± 0,38	29,47 ± 0,61	10,58 ± 0,25	0,230	0,190	0,002
<i>B. cereus</i>	–	30,39 ± 0,47	14,82 ± 0,31	–	0,125	0,002

AMB, klasifikuojamas kaip priešgrybelinis preparatas, tirtų bakterijų kultūrų atžvilgiu pasižymėjo minimaliu slopinamuoju poveikiu tik gramteigiamoms padermėms. Šis efektas tikėtina nėra susijęs su specifiniu antibakteriniu veikimu ir gali būti aiškinamas nespecifinėmis preparato sąveikomis arba skirtingomis difuzijos savybėmis agaro terpėje [62]. Tuo tarpu neigiamajai kontrolei naudotas sterilus distiliuotas vanduo nesukėlė jokio bakterijų augimo slopinimo, o tai rodo, kad stebėtas tiriamųjų medžiagų slopinamasis poveikis yra susijęs su pačių bandinių savybėmis.

CHA antibakterinis aktyvumas

Eksperimento metu nustatyta, kad sintetinio CHA bandiniai tirtomis sąlygomis nepasižymėjo antibakteriniu aktyvumu prieš gramneigiamas (*E. coli*), gramteigiamas (*S. aureus*) ir sporas formuojančias (*B. cereus*) bakterijų kultūras, kadangi aplink mėginius Petri lėkštelėse nesusidarė bakterijų augimo slopinimo zonos (žr. 3.17 pav.). Šie rezultatai rodo, kad mikrobanginės sintezės būdu susintetintas CHA neturi reikšmingo slopinančio poveikio tirtoms bakterijų kultūroms. Svarbu

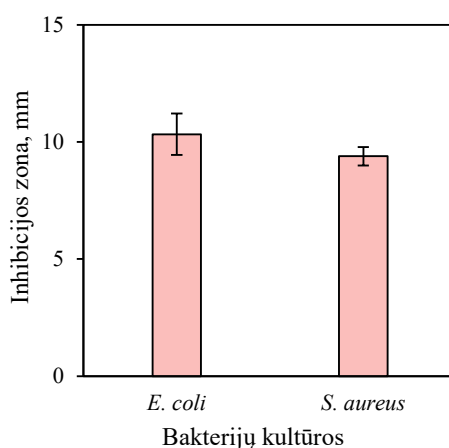
paminėti, kad gauti rezultatai sutampa su literatūroje pateikiamais duomenimis, kuriuose nurodoma, kad grynos, nelegiruotos hidroksiapatito pagrindu sudarytos medžiagos paprastai nepasižymi specifiniu antibakteriniu aktyvumu [63].



3.17 pav. Karbonizuoto hidroksiapatito antibakterinis aktyvumas prieš *S. aureus* (a), *B. cereus* (b) ir *E. coli* (c) bakterijų kultūras

CFA antibakterinis aktyvumas

Skirtingai nei CHA atveju, nustatyta, kad CFA pasižymi selektyviu antibakteriniu poveikiu tik daliai tirtų bakterijų kultūrų. Sporas formuojančios *B. cereus* bakterijos nebuvo jautrios tiriamajai medžiagai, nes aplink bandinius bakterijų augimo slopinimo zonos nesusidarė. Toks atsparumas gali būti siejamas su šios bakterijos gebėjimu prisitaikyti prie nepalankių aplinkos sąlygų, t. y. *B. cereus* formuoja apsaugines sporas ir gali gaminti įvairius fermentus bei toksinus, mažinančius išorinių veiksnių poveikį [64]. Tuo tarpu sporų nesudarančių bakterijų kultūrose nustatytas aiškus augimo slopinimas. *S. aureus* atveju inhibicijos zonos skersmuo siekė ~ 9,39 mm, o *E. coli* atveju jis buvo šiek tiek didesnis (~ 10,33 mm) (žr. 3.18 pav.). Paminėtina, kad šie išmatuoti dydžiai yra panašūs arba didesni nei literatūroje pateikiamos fluorapatito medžiagų antibakterinio aktyvumo vertės [65].



3.18 pav. Karbonizuoto fluorapatito antibakterinis aktyvumas

Remiantis literatūros duomenimis, CFA antibakterinis poveikis siejamas su fluorido jonų gebėjimu trikdyti bakterijų metabolinius procesus. Nors šis mechanizmas skiriasi nuo ampicilino, veikiančio bakterijų ląstelės sienelės sintezę, CFA poveikis yra labiau susijęs su viduląstelių procesų slopinimu. Tam tikrais aspektais šis veikimo pobūdis yra artimesnis ciprofloksacino poveikiui, nes F^- jonai gali slopinti pagrindinius metabolinius fermentus, pavyzdžiui, enolazę ir F tipo ATP sintazę, taip trikdydami glikolizę, protonų pernašą ir ATP sintezę [45, 46]. Manoma, kad CFA slopinamasis

poveikis gali būti papildomai sustiprinamas laipsnišku F^- jonų išsiskyrimu iš apatito struktūros vandeninėje terpėje, užtikrinančiu ilgalaikę sąveiką su bakterijų ląstelėmis [66]. Tai galėtų paaiškinti stebėtą didesnį aktyvumą prieš gramneigiamas *E. coli* bakterijas, kurioms mažos molekulinės masės jonai gali lengviau prasiskverbti pro išorinę membraną ir paveikti viduląstelinius procesus.

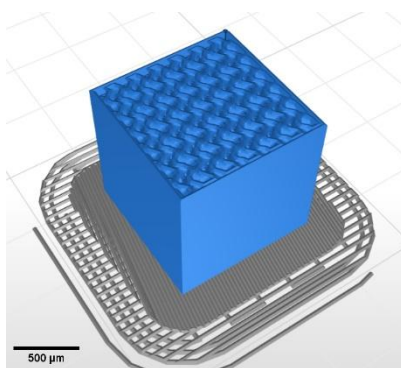
CHA ir CFA antibakterinio aktyvumo palyginimas

Lyginant abiejų tirtų medžiagų antibakterines savybes, nustatyta, kad CHA nepasižymėjo slopinamuoju poveikiu nė vienos tirtos bakterijų kultūros atžvilgiu, tuo tarpu CFA suformavo aiškias bakterijų augimo inhibicijos zonas *E. coli* ir *S. aureus* padermėse. Gauti rezultatai rodo, kad fluorida jonų įterpimas į apatito kristalinę gardelę gali padidinti medžiagos antibakterinį potencialą. Literatūros duomenimis, grynas arba karbonizuotas hidroksiapatitas be papildomų metalo ar halogenų jonų pasižymi biologiniu inertiškumu mikroorganizmų atžvilgiu, todėl jo sukiamas slopinamasis poveikis dažniausiai yra minimalus arba artimas nuliui [67, 68]. CHA daugiausia išskiria Ca^{2+} , PO_4^{3-} ir CO_3^{2-} jonus, kurie nėra toksiški bakterijoms ir gali prisidėti prie paviršiaus sąveikos procesų, tokių kaip baltymų adsorbcija ar ląstelių adhezija [67]. CFA atveju stebėtas antibakterinis aktyvumas siejamas su fluorida jonų išsiskyrimu iš apatito struktūros vandeninėje terpėje, kuris gali prisidėti prie bakterijų metabolinių procesų slopinimo. Tai paaiškina CFA gebėjimą formuoti matomas bakterijų augimo inhibicijos zonas, skirtingai nei CHA. Nustatytas selektyvus CFA poveikis tiek gramteigiamoms, tiek gramneigiamoms bakterijoms rodo šios medžiagos potencialą taikymui kurti biomedicines medžiagas su pagerintomis antimikrobinėmis savybėmis.

3.4. Kompozitinių karkasų su kalcio fosfatais gamyba

Siekiant įvertinti susintetintų CHA ir CFA pritaikomumą kaulo audinio inžinerijoje, suformuoti jų pagrindu 3D kompozitiniai karkasai. Polimerinei matricai pasirinkta polipieno rūgštis (PLA), plačiai taikoma biomediciniuose 3D spausdinimo procesuose dėl savo biologinio suderinamumo ir kontroliuojamo skaidymosi [69]. Papildžius PLA matricą 20 % masės neorganiniu užpildu (CHA arba CFA), siekta suformuoti kompozitines struktūras su potencialiai pagerintomis biologinėmis ir mechaninėmis savybėmis.

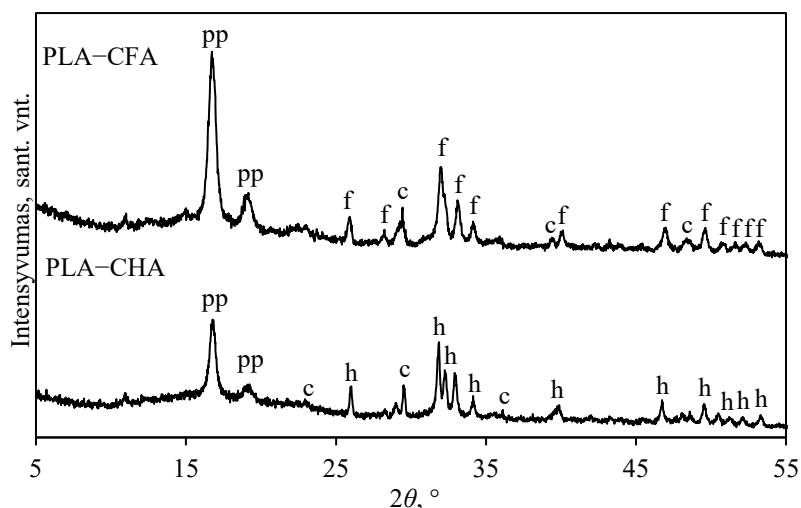
Modeliuojant karkaso struktūrą, pasirinkta kubo forma su giroidiniu užpildo raštu, siekiant užtikrinti kontroliuojamą poringumą ir tinkamą architektūrą kaulo audinio inžinerijos taikymams (žr. 3.19 pav.). Giroidinė struktūra priskiriama trimačiams periodiniams minimalaus paviršiaus tinklams, pasižymintiems tolygiu mechaninių apkrovų pasiskirstymu bei tarpusavyje susijusių porų sistema. Tokia architektūra sudaro palankias sąlygas skysčių difuzijai, ląstelių migracijai ir audinių infiltracijai visame karkaso tūryje, kartu sumažindama stagnacinių zonų susidarymo tikimybę [70].



3.19 pav. Kompozitinio karkaso su giroidine struktūra 3D modelis

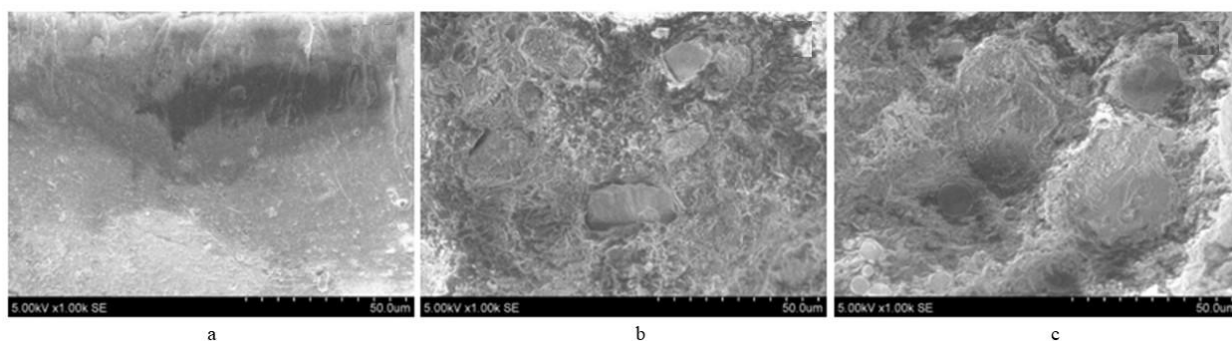
Kompozitinės gijos (PLA-CHA ir PLA-CFA) suformuotos ekstruzijos būdu, užtikrinant tolygų 20 % masės neorganinio užpildo pasiskirstymą polimerinėje matricoje. Gauti filamentai pasižymėjo pakankamu lankstumu, tinkamu tolimesniam 3D spausdinimo procesui.

Siekiant įvertinti ekstruzijos proceso įtaką medžiagos fazinei sudėčiai, atlikta RSDA analizė (žr. 3.20 pav.). Difraktogramų duomenys patvirtina, kad ekstruzijos metu fazinių pokyčių neįvyko, t. y. stebima PLA būdinga amorfinė sritis bei visi pradinėms medžiagoms būdingi difrakciniai maksimumai. Tai rodo, kad terminis apdorojimas nesudarė sąlygų naujų pašalinių fazių susidarymui ar medžiagų degradacijai.



3.20 pav. Kompozitinių gijų RSDA kreivės. Čia: h – karbonizuotas hidroksiapatitas, c – kalcio karbonatas, f – karbonizuotas fluorapatitas, pp – polipieno rūgštis

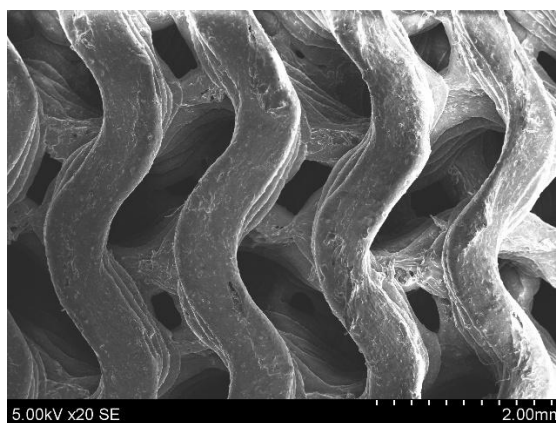
Gijų mikrostruktūrai ir užpildo pasiskirstymui įvertinti atlikta SEM analizė (žr. 3.21 pav.). Nustatyta, kad gryno PLA paviršius pasižymi homogeniška, lygia struktūra be matomų defektų. Tuo tarpu kompozitinėse gijose stebimi morfologiniai skirtumai: PLA-CFA atveju CFA dalelės pasiskirsčiusios tolygiai, išlaikant matricos vientisumą, o mikroįtrūkimų ar ryškių susidariusių aglomeratų nepastebėta. Priešingai, PLA-CHA gijų paviršius pasižymi didesniu reljefiškumu. Nepaisant to, kad CHA dalelės linkusios formuoti aglomeratus, toks padidėjęs paviršiaus šiurkštumas gali būti palankus ląstelių adhezijai ir biologiniam atsakui.



3.21 pav. Gryno PLA (a) ir kompozitinių PLA-CFA (b) bei PLA-CHA (c) gijų paviršiaus SEM nuotraukos

3D konstrukto spausdinimas ir mechaninės savybės

Eksperimentinis galutinių karkasų formavimas parodė, kad neorganiniai užpildai (CHA ir CFA) prisideda prie kompozitinės masės stabilizavimo ekstruzijos ir aušinimo metu, taip gerinant sluoksnių sukibimą bei konstrukcijos geometrijos išlaikymą. Atspausdinti 3D karkasai pasižymi aukštu matmenų tikslumu ir geru atitikimu sumodeliuotai giroidinei struktūrai, užtikrinant visiškai atvirą ir tarpusavyje susietą porų sistemą. Detali karkasų vidinė morfologija įvertinta SEM analize (žr. 3.22 pav.). Rezultatai parodė tolygią, vientisai išlietą giroidinę viją be ryškių struktūrinių defektų ar sluoksnių atsisluoksniavimo požymių. Tai patvirtina, kad parinkti 3D spausdinimo parametrai ($210\text{ }^{\circ}\text{C}$ ir $0,15\text{ mm}$ sluoksnio aukštis) yra tinkami kompozitinių PLA pagrindo medžiagų ekstruzijai, užtikrinant struktūrinį vientisumą.



3.22 pav. Kompozitinio karkaso vidinės giroidinės struktūros SEM nuotrauka

Galutinių karkasų mechaninės savybės įvertintos gniuždymo bandymų metu, nustatant Jungo modulį kaip pagrindinį standumo rodiklį. Nustatyta, kad gryno PLA karkasų Jungo modulis siekia $79,85 \pm 5,25\text{ MPa}$. Įtraukus neorganinius užpildus, pastebėtas standumo padidėjimas: PLA–CHA karkasų modulis padidėjo iki $111,46 \pm 8,97\text{ MPa}$, o PLA–CFA – iki $106,20 \pm 7,35\text{ MPa}$. Šis standumo pokytis gali būti siejamas su neorganinių dalelių įtaka polimerinės matricos deformacijai, kai užpildas apriboja makromolekulių grandinių judrumą, todėl padidėja bendras kompozitinės struktūros atsparumas gniuždymo apkrovai.

Literatūros duomenimis, žmogaus trabekulinio kaulo mechaninės savybės priklauso nuo jo tankio ir mikrostruktūros. Remiantis empiriniais modeliais, siejančiais kaulo tankį su Jungo moduliu, trabekulinio kaulo standumas gali kisti nuo 1 iki $22,3\text{ GPa}$, priklausomai nuo anatominės vietos ir taikomo modelio tipo [71, 72]. Eksperimento metu gautos karkasų Jungo modulio reikšmės yra žemesnės nei vidutinės stambųjų trabekulinių kaulų literatūrinės vertės, tačiau patenka į mažo tankio akytojo kaulo, pavyzdžiui, apatinio žandikaulio, mechaninių savybių intervalą [71]. Šį skirtumą iš esmės lemia didelis suformuotų karkasų poringumas bei giroidinė architektūra, kuri sumažina efektyvų apkrovos nešimo skerspjūvį.

Lyginant kompozitus tarpusavyje, PLA–CHA karkasai pasižymėjo didžiausiu Jungo moduliu, tačiau skirtumas tarp PLA–CHA ir PLA–CFA yra nedidelis. Gauti rezultatai rodo, kad neorganinių užpildų įterpimas pagerina PLA karkasų standumą, o tokios suformuotos struktūros yra perspektyvios tolesniems audinių inžinerijos tyrimams, siekiant optimizuoti mechanines savybes.

Išvados

1. Mikrobanginės sintezės būdu sėkmingai susintetinti karbonizuotas hidroksiapatitas ir karbonizuotas fluorapatitas. Nustatyta, kad sintezės temperatūra turi esminę įtaką susidarančių produktų fazinei sudėčiai ir grynumui. Palankiausia temperatūra CHA susidarymui yra 160 °C, kurioje gaunama 92 % tikslinės fazės išeiga, o vidutinis kristalitų dydis yra lygus 59 nm. CHA būdinga heterogeninė AB tipo karbonizuoto apatito struktūra, sudaryta iš įvairaus dydžio (0,47–104,71 μm) dalelių: pailgų šešiakampių lazdelių ir netaisyklingos formos plokštelių, formuojančių aglomeratus. CHA savitasis paviršiaus plotas siekė 15,85 m²/g.
2. Nustatyta, kad CFA fazės susidarymas mikrobanginės sintezės metu prasideda esant 100 °C temperatūrai. Didinant temperatūrą iki 160 °C, sumažėja nesureagavusio kalcio karbonato kiekis, o CFA išeiga pasiekia 92 %. Vidutinis CFA kristalitų dydis yra lygus 79 nm. Ištirta, kad CFA struktūroje hidroksilo grupės pakeistos karbonato ir fluoro jonais. CFA dalelės yra pailgos formos, sudarančios pluoštinės struktūros sankaupas. Dalelių matmenys svyruoja plačiame intervale (0,47–69,18 μm), o savitasis paviršiaus plotas yra lygus 12,44 m²/g.
3. CHA pasižymi silpnu antibakteriniu poveikiu tirtoms gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms. Tuo tarpu CFA būdingas antibakterinis aktyvumas prieš sporų neformuojančias bakterijas *E. coli* ir *S. aureus*, o inhibicijos zonos atitinkamai sudarė 10,33 mm ir 9,39 mm. Sporas formuojanti bakterija *B. cereus* išliko atspari CFA poveikiui.
4. Sintetiniai CHA ir CFA produktai sėkmingai panaudoti polipieno rūgšties pagrindo kompozitinių karkasų 3D spausdinimui. Nustatyta, kad 20 % masės neorganinio užpildo įterpimas leidžia suformuoti homogeniškas, spausdinimui tinkamas kompozitines gijas. Atspausdinti giroidinės struktūros karkasai pasižymi geru geometriniu tikslumu bei vientisa vidine morfologija. Mechaninio gniuždymo metu nustatyta, kad CHA ir CFA priedai padidino karkasų standumą: PLA–CHA ir PLA–CFA Jungo moduliai atitinkamai siekė 111,46 ± 8,97 MPa ir 106,20 ± 7,35 MPa. Gauti rezultatai rodo, kad karbonizuoti kalcio fosfatai efektyviai sustiprina polimerinę matricą ir pagerina kompozitinių karkasų mechanines savybes.

Rekomendacijos

Apibendrinant atliktų eksperimentinių tyrimų rezultatus, galima teigti, kad mikrobanginės sintezės metodu sėkmingai gauti karbonizuotas hidroksiapatitas ir karbonizuotas fluorapatitas su nedidelėmis nesureagavusio kalcio karbonato priemaišomis. Fizikinių ir cheminių savybių analizė parodė, kad šie junginiai pasižymi aukštu kristališkumo laipsniu (vidutiniai kristalitų dydžiai siekė atitinkamai 59 nm ir 79 nm). Be to, sintetintiems produktams būdinga apatito morfologija, terminis stabilumas bei galimybė formuoti trimates struktūras. Remiantis mokslinės literatūros duomenimis, karbonatais modifikuoti kalcio fosfatai yra artimesni natūraliai kaulo mineralinei fazei nei stochiometrinis hidroksiapatitas, todėl pasižymi geresniu biologiniu aktyvumu ir didesniu potencialu biomedicininiam taikymui [50].

Kadangi hidroksiapatitas ir fluorapatitas yra biosuderinami junginiai, plačiai naudojami kaulinio audinio regeneracijos, implantologijos bei odontologijos srityse, ateityje tikslinga išsamiau įvertinti jų biologinį atsaką [6]. Būtų naudinga atlikti *in vitro* bandymus su osteoblastinėmis ląstelėmis, pavyzdžiui, MG-63 linija, siekiant nustatyti gautų struktūrų citotoksiškumą, bioaktyvumą bei poveikį ląstelių proliferacijai ir diferenciacijai. Taip pat svarbu ištirti ląstelių DNR kiekį, šarminės fosfatazės aktyvumą bei kitus osteogenezės žymenis, leidžiančius įvertinti medžiagų gebėjimą skatinti kaulinio audinio formavimąsi. Literatūros šaltiniuose nurodoma, kad hidroksiapatitas gali pasižymėti angiogenezę stimuliuojančiu poveikiu, todėl perspektyvu tirti šių junginių įtaką kraujagyslių tinklo formavimuisi [6]. Šiam tikslui galėtų būti pasitelkiamas HET-CAM metodas, leidžiantis įvertinti dirginamąjį poveikį bei sąveiką su kraujagyslėmis. Be to, siekiant visapusiškai įvertinti karbonizuotų apatitų potencialą, tikslinga atlikti histologinę analizę su viščiukų embrionų šlaunikaulio modeliu, stebint kaulo mineralizacijos eigą.

Antibakterinių savybių vertinimas parodė, kad karbonizuotas hidroksiapatitas pasižymi tik ribotu antibakteriniu aktyvumu, todėl tolimesniame etape būtų tikslinga modifikuoti CHA įvairiais metalų jonais, tokiais kaip Zn^{2+} , Cu^{2+} ar Co^{2+} . Literatūros duomenimis, Zn^{2+} jonai pagerina biosuderinamumą bei slopina demineralizaciją, Co^{2+} gali skatinti angiogenezę bei gerinti antibakterines ir priešūždegimines savybes, o Cu^{2+} pasižymi stipriu bakteriostatinio poveikiu bei gali veikti kristalizacijos procesus [27]. Metalų jonų įterpimas galėtų būti vykdomas tiek tiesiogiai mikrobanginės sintezės metu, tiek taikant adsorbcijos metodą, pasinaudojant geromis hidroksiapatito adsorbcinėmis savybėmis [6].

Siekiant platesnio mikrobanginės sintezės metodo pritaikymo kalcio fosfatų bei jonais modifikuotų junginių gavimui, būtina optimizuoti proceso parametrus. Tolimesniuose tyrimuose rekomenduojama įvertinti reakcijos trukmės, mikrobangų galios, reagentų koncentracijos, terpės pH bei pradinių žaliavų dispersiškumo įtaką galutinių produktų savybėms. Taip pat svarbu nustatyti optimalią metalų jonų koncentraciją ir tinkamiausią jų įvedimo formą, kadangi modifikacijai gali būti naudojami tiek metalų oksidai, tiek įvairios jų druskos. Tokie tyrimai leistų tiksliau kontroliuoti susidarančių medžiagų struktūrą ir funkcines savybes, taip išplečiant jų taikymo galimybes regeneracinėje medicinoje ir biomedžiagų inžinerijoje.

Literatūros sąrašas

1. KIM, M. E. ir J. S. LEE. Immune Diseases Associated with Aging: Molecular Mechanisms and Treatment Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 2023, 21. ISSN 14220067. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/ijms242115584>. [žiūrėta 2026–03–23].
2. WANG, J.; Y. XIN; Z. DONG; S. LI ir G. YANG. The interplay between the immune microenvironment and bone aging: From molecular mechanisms to therapeutic interventions. *Experimental Gerontology*, 212, 2025, 3, 112974. ISSN 18736815. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2025.112974>. [žiūrėta 2026–03–06].
3. EUROSTAT. Statistics Explained. *Population structure and ageing*. Svetainė. Prieiga per internetą: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Population_structure_and_ageing. [žiūrėta 2026–03–22].
4. SADLIK, J.; E. KOSINSKA; K. NIZIOLEK; M. M. URBANIAK; A. SOBCZAK–KUPIEC ir kt. Calcium Phosphates for Bone Tissue Regeneration–Influence of Synthesis Method on Physicochemical and Biological Properties. *Materials*, 18, 2025, 21. ISSN 19961944. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/ma18214945>. [žiūrėta 2026–03–07].
5. REDHWI, I.; A. FALLATAH ir F. ALSHABONA. Hydroxyapatite: A Comprehensive Review of Its Properties, Applications, and Future Trends. *International Journal of Biomedical Materials Research*, 12, 2024, 1, 1–6. ISSN 2330–7560. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.11648/j.ijbmr.20241201.11>. [žiūrėta 2026–03–10].
6. MONDAL, S.; S. PARK; J. CHOI; T. VU; V. DOAN ir kt. Hydroxyapatite: A journey from biomaterials to advanced functional materials. *Advances in Colloid and Interface Science*, 321, 2023, 11, 103013. ISSN 00018686. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.103013>. [žiūrėta 2026–03–10].
7. BENBOUDA, M.; D. BOUDEMAGH; D. CHEBLI ir H. OUNOUGH. Fluorapatite: A Comprehensive Review of Synthesis, Biological Properties, and Environmental Applications. *ChemistrySelect*, 10, 2025, 45, e01978. ISSN 23656549. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1002/SLCT.202501978>. [žiūrėta 2026–05–12].
8. GABANO, E. ir M. RAVERA. Microwave–Assisted Synthesis: Can Transition Metal Complexes Take Advantage of This “Green” Method?. *Molecules*, 27, 2022, 13. ISSN 14203049. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/molecules27134249>. [žiūrėta 2026–03–27].
9. SOLE-AURO, A.; P. INAKI ir M. LUY. *Promoting healthy ageing in the EU: Unravelling the interplay between health and socio–demographic factors*. PDF. European Parliamentary Research Service, Scientific Foresight Unit (STOA), 2025. PE 765.798. ISBN 978–92–848–2708–4. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.2861/0128820>. [žiūrėta 2026–03–06].
10. Oficialiosios statistikos portalas. *Rodiklių duomenų bazė*. Svetainė. Prieiga per internetą: https://osp.stat.gov.lt/statistiniu-rodikliu-analize#. [žiūrėta 2026–03–06].
11. GONG, T.; L. Q. WANG; X. TONG; Y. ZHANG ir L. J. SHU. Impact of Age–Related Bone Density Variations on Dental Implant Stability and Success Rates: A Retrospective Analysis. *International Dental Journal*, 75, 2025, 6, 103942. ISSN 1875595X. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2025.103942>. [žiūrėta 2026–03–06].
12. GAO, D.; Y. YANG; P. LI; P. SHA; C. JIANG ir kt. Corrosion resistance and bacteriostatic properties of HA/PCL/CHI coating deposited on additively manufactured NiTi for bone implant applications. *Ceramics International*, 52, 2026, 7, 8492–8504. ISSN 02728842. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2026.01.048>. [žiūrėta 2026–03–06].

13. ABD-ELAZIEM, W.; M. A. DARWISH; A. HAMADA ir W. M. DAOUSH. Titanium-Based alloys and composites for orthopedic implants Applications: A comprehensive review. *Materials & Design*, 241, 2024, 112850. ISSN 18785905. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.012>. [žiūrėta 2026-03-07].
14. KILINA, P.; A. G. KUCHUMOV; L. SIROTENKO; V. VASSILOUK; A. DROZDOV ir kt. Influence of porous titanium-based jaw implant structure on osseointegration mechanisms. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 160, 2024, 1, 106724. ISSN 18780180. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2024.106724>. [žiūrėta 2026-03-07].
15. FARJAMINEJAD, S; R. FARJAMINEJAD; M. HASANI; F. GARCIA-GODOY; M. ABDOUSS ir kt. Advances and Challenges in Polymer-Based Scaffolds for Bone Tissue Engineering: A Path Towards Personalized Regenerative Medicine. *Polymers*, 16, 2024, 23. ISSN 20734360. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/polym16233303>. [žiūrėta 2026-03-19].
16. XING, M.; W. QIAN; K. YE; H. ZHANG; J. FENG ir kt. All-in-one design of titanium-based dental implant systems for enhanced soft and hard tissue integration. *Biomaterials*, 320, 2025, 123251. ISSN 20901232. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.07.016>. [žiūrėta 2026-03-07].
17. ALIPAL, J.; S. SAIDIN; A. Z. KAI LO; P. KOSHY; H. Z. ABDULLAH ir kt. In vitro surface efficacy of CaP-based anodised titanium for bone implants. *Surfaces and Interfaces*, 39, 2023, 102872. ISSN 24680230. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2023.102872>. [žiūrėta 2026-03-07].
18. STICH, T.; F. ALAGBOSO; T. KRENEK; T. KOVARIK; V. ALT ir kt. Implant-bone-interface: Reviewing the impact of titanium surface modifications on osteogenic processes in vitro and in vivo. *Bioengineering & Translational Medicine*, 7, 2021, 1, e10239. ISSN 23806761. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1002/btm2.10239>. [žiūrėta 2026-03-07].
19. HOU, X.; L. ZHANG; Z. ZHOU; X. LUO; T. WANG ir kt. Calcium Phosphate-Based Biomaterials for Bone Repair. *Journal of Functional Biomaterials*, 13, 2022, 4, 187. ISSN 20794983. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/jfb13040187>. [žiūrėta 2026-03-07].
20. DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphates (CaPO₄): Occurrence and properties. *Morphologie*, 101, 2017, 334, 125–142. ISSN 12860115. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.morpho.2017.03.007>. [žiūrėta 2026-03-21].
21. SHAKER, J. L. ir L. DEFTOS. Calcium and Phosphate Homeostasis. Iš: *Endocrine and Reproductive Physiology*, p. 77–e1. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2023. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-08704-9.00004-x>. [žiūrėta 2026-03-07].
22. KHARISSOVA, O. V.; Y. P. MENDEZ; B. I. KHARISOV; A. L. NIKOLAEV; S. V. DOROZHKIN ir kt. Biomineralization of calcium phosphates in nature. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 41, 2025, 101425. ISSN 2352507X. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2024.101425>. [žiūrėta 2026-03-07].
23. HOAG, L. D. ir T. S. DHARMARAJAN. Calcium and Phosphorus. Iš: *Geriatric Gastroenterology, Second Edition*, p. 735–763. Cham: Springer, 2021. Prieiga per internetą: https://doi.org/10.1007/978-3-030-30192-7_26. [žiūrėta 2026-03-07].
24. WANG, B.; Z. ZHANG ir H. PAN. Bone Apatite Nanocrystal: Crystalline Structure, Chemical Composition, and Architecture. *Biomimetics*, 8, 2023, 1. ISSN 23137673. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/biomimetics8010090>. [žiūrėta 2026-03-10].
25. SUN, Y.; Y. WANG; C. JI; J. MA ir B. HE. The impact of hydroxyapatite crystal structures and protein interactions on bone's mechanical properties. *Scientific Reports*, 14, 2024, 1, 9786. ISSN

20452322. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60701-7>. [žiūrėta 2026-03-10].
26. KUMAR, R. ir S. MOHANTY. Hydroxyapatite: A Versatile Bioceramic for Tissue Engineering Application. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 32, 2022, 12, 4461–4477. ISSN 15741451. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s10904-022-02454-2>. [žiūrėta 2026-03-10].
 27. CACCIOTTI, I. Cationic and anionic substitutions in hydroxyapatite. Iš: *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*, p. 145–211. Cham: Springer, 2016. Prieiga per internetą: https://doi.org/10.1007/978-3-319-12460-5_7. [žiūrėta 2026-03-11].
 28. IMRAN, E.; M. L. MEI; K. C. LI; J. RATNAYAKE; M. EKAMBARAM ir kt. Dental Applications of Ion-Substituted Hydroxyapatite: A Review of the Literature. *Dentistry Journal*, 12, 2024, 10. ISSN 23046767. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/dj12100304>. [žiūrėta 2026-03-11].
 29. OU, S. F.; S. Y. CHIOU ir K. L. OU. Phase transformation on hydroxyapatite decomposition. *Ceramics International*, 39, 2013, 4, 3809–3816. ISSN 02728842. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.10.221>. [žiūrėta 2026-03-10].
 30. LASOTA, A.; M. GORZELAK; E. BIS; P. BILINSKI; K. GIEBUROWSKI ir kt. Implications of Isomorphism in the Family of Apatite Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 26, 2025, 9. ISSN 14220067. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/ijms26094397>. [žiūrėta 2026-03-11].
 31. KARBIVSKYY, V.; N. KURGAN; M. HANTUSCH; A. ROMASKY; I. SUKHENKO ir kt. Design of the electronic structure and properties of calcium apatites via isomorphic modification of the cation sublattice, and prospects of their application. *Journal of Applied Physics*, 135, 2024, 6. ISSN 10897550. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1063/5.0179754>. [žiūrėta 2026-03-11].
 32. RAN, L.; L. LIU; J. GAO; Y. PAN; M. RAMALINGAM ir kt. Strontium-doped hydroxyapatite and its role in osteogenesis and angiogenesis. *The International Journal of Developmental Biology*, 67, 2023, 4, 137–146. ISSN 16963547. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1387/ijdb.2300911c>. [žiūrėta 2026-03-12].
 33. GUERRA-LOPEZ, J. R.; A. E. BIANCHI; M. A. RAMOS; M. UBERTINO; V. FERRARESI-CUROTTO ir kt. Preparation of Zinc-Doped Hydroxyapatite Ceramics and Evaluation of Biocompatibility and Antibacterial Activity. *Journal of Functional Biomaterials*, 16, 2025, 3, 88. ISSN 20794983. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/jfb16030088>. [žiūrėta 2026-03-12].
 34. MONATANRI, M.; J. T. KORKEAMAKI; E. CAMPODONI; S. MOHAMED-AHMED; K. MUSTAFA ir kt. Effects of Magnesium-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles on Bioink Formulation for Bone Tissue Engineering. *ACS Applied Bio Materials*, 8, 2025, 1, 535. ISSN 25766422. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1021/acsabm.4c01418>. [žiūrėta 2026-03-12].
 35. ALANIS-GOMEZ, R. P.; F. HERNANDEZ-ROSAS; J. D. OLIVARES-HERNANDEZ; E. M. RIVERA-MUNOZ; A. ZAPATERO-GUTIERREZ ir kt. Magnesium-Doped Hydroxyapatite Nanofibers for Medicine Applications: Characterization, Antimicrobial Activity, and Cytotoxicity Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 2024, 22. ISSN 14220067. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/ijms252212418>. [žiūrėta 2026-03-12].
 36. REN, W. H.; S. XIN; K. YANG; Y. B. YU; S. M. LI ir kt. Strontium-Doped Hydroxyapatite Promotes Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Osteoporotic Rats through the CaSR-JAK2/STAT3 Signaling Pathway. *Advanced NanoBiomed Research*, 2,

- 2022, 9, 2200018. ISSN 26999307. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1002/anbr.202200018>. [žiūrėta 2026–03–12].
37. YILDIZ, T.; S. DURDU; K. OZCAN ir M. USTA. Characterization and investigation of biological properties of silver nanoparticle–doped hydroxyapatite–based surfaces on zirconium. *Scientific Reports*, 13, 2023, 1, 6773. ISSN 20452322. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33992-5>. [žiūrėta 2026–03–12].
 38. UYSAL, I.; B. YILMAZ ir Z. EVIS. Zn–doped hydroxyapatite in biomedical applications. *Journal of the Australian Ceramic Society*, 57, 2021, 3, 869–897. ISSN 25101579. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s41779-021-00583-4>. [žiūrėta 2026–03–12].
 39. ADEKANMI, D. G.; C. R. GARCIA ir C. M. LOPEZ–BADILLO. Carbonate Hydroxyapatite – A Multifunctional Bioceramics with Non–Medical Applications. *Engineering Chemistry*, 7, 2024, 1–24. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.4028/p-518pjs>. [žiūrėta 2026–03–14].
 40. KONO, T.; T. SAKAE; H. NAKADA; T. KANEDA ir H. OKADA. Confusion between Carbonate Apatite and Biological Apatite (Carbonated Hydroxyapatite) in Bone and Teeth. *Minerals*, 12, 2022, 2. ISSN 2075163X. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/min12020170>. [žiūrėta 2026–03–14].
 41. BORKOWSKI, L.; A. PRZEKORA; A. BELCARZ; K. PALKA; G. JOZEFACIUK ir kt. Fluorapatite ceramics for bone tissue regeneration: Synthesis, characterization and assessment of biomedical potential. *Materials Science and Engineering: C*, 116, 2020, 7, 111211. ISSN 18730191. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111211>. [žiūrėta 2026–03–14].
 42. WIGLUSZ, K.; M. DOBRZYNSKI; M. GUTBIER ir R. J. WIGLUSZ. Nanofluorapatite Hydrogels in the Treatment of Dentin Hypersensitivity: A Study of Physiochemical Properties and Fluoride Release. *Gels*, 9, 2023, 4, 271. ISSN 23102861. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/gels9040271>. [žiūrėta 2026–03–15].
 43. LI, C.; G. WANG; S. WANG; W. SHEN; Y. ZHANG ir kt. Fluorapatite Glass–Ceramics in Dentistry: Synthesis, Properties, Forming Technology, Applications, Challenges, and Future Perspectives. *Materials*, 18, 2025, 4. ISSN 19961944. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/ma18040804>. [žiūrėta 2026–03–15].
 44. LI, Y.; I. S. LEE; F. Z. CUI ir S. H. CHOI. Preparation of fluorapatite–containing flower–like structure coatings by micro–arc oxidation combined with ion–exchange technology. *Surface and Coatings Technology*, 516, 2025, 13, 132688. ISSN 01429612. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.01.009>. [žiūrėta 2026–03–15].
 45. LIU, J.; Q. WENG; D. DA; S. YAO; Y. ZHANG ir kt. Enhancement of Fluoride’s Antibacterial and Antibiofilm Effects against Oral Staphylococcus aureus by the Urea Derivative BPU. *Antibiotics*, 13, 2024, 10, 930. ISSN 20796382. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS13100930>. [žiūrėta 2026–05–12].
 46. YASUDA, K.; T. HSU; C. A. GALLINI; L. J. MCLVER; E. SCHWAGER ir kt. Fluoride Depletes Acidogenic Taxa in Oral but Not Gut Microbial Communities in Mice. *mSystems*, 2, 2017, 4. ISSN 23795077. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.00047-17>. [žiūrėta 2026–05–12].
 47. KAWSAR, M.; M. SAHADAT HOSSAIN; M. K. ALAM; N. M. BAHADUR; M. A. A. SHAIKH ir kt. Synthesis of pure and doped nano–calcium phosphates using different conventional methods for biomedical applications: a review. *Journal of Materials Chemistry B*, 12, 2024, 12, 3376–3391. ISSN 2050–7518. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1039/D3TB02846A>. [žiūrėta 2026–05–11].

48. MOHD PU'AD, N. A. S.; R. H. ABDUL HAQ; H. MOHD NOH; H. Z. ABDULLAH; M. I. IDRIS ir kt. Synthesis method of hydroxyapatite: A review. *Materials Today: Proceedings*, 29, 2020, 233–239. ISSN 2214–78538. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2020.05.536>. [žiūrėta 2026–05–11].
49. PARUSHEV, I. Ir T. GEROVA–VATSOVA. Methods for Obtaining Synthetic Carbonate Apatite for Bone Regeneration: A Review. *Scripta Scientifi ca Medicinae Dentalis*, 11, 2025, 1, 7–17. ISSN 2367–7244. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.14748/ssmd.v11i1.9879>. [žiūrėta 2026–05–11].
50. SHLYKOV, M. A.; V. I. PUTLAYEV; E. S. KLIMASHINA ir Z. XIA. Carbonated hydroxyapatite: Mechanisms, properties, and therapeutic applications. *Biomater Transl.*, 2026. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.12336/bmt.25.00175>. [žiūrėta 2026–05–11].
51. CASTRO, M. A. M.; T. O. PORTELA; G. S. CORREA; M. M. OLIVEIRA; J. H. G. RANGEL ir kt. Synthesis of hydroxyapatite by hydrothermal and microwave irradiation methods from biogenic calcium source varying pH and synthesis time. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 61, 2022, 1, 35–41. ISSN 0366–3175. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/J.BSECV.2020.06.003>. [žiūrėta 2026–05–12].
52. IRFA'J, M. A.; S. MURYANTO; A. PRIHANTO; Y. M. PUSPARIZKITA; R. ISMAIL ir kt. Microwave-assisted hydrothermal synthesis of carbonated apatite with calcium and phosphate resources derived from green mussel shell and bovine bone wastes. *Environmental Advances*, 17, 2024, 100582. ISSN 2666–7657. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/J.ENVADV.2024.100582>. [žiūrėta 2026–05–12].
53. ZAKRZEWSKI, W.; Z. RYBAK; M. PAJACZKOWSKA; J. NOWICKA; M. SZYMONOWICZ ir kt. Antimicrobial Properties and Cytotoxic Effect Evaluation of Nanosized Hydroxyapatite and Fluorapatite Dedicated for Alveolar Bone Regeneration. *Applied Sciences*, 14, 2024, 17. ISSN 20763417. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app14177845>. [žiūrėta 2026–03–21].
54. IRFA'I, M. A.; W. W. SCHMAHL; Y. M. PUSPARIZKITA; S. MURYANTO; A. PRIHANTO ir kt. Hydrothermally synthesized–nanoscale carbonated hydroxyapatite with calcium carbonates derived from green mussel shell wastes. *Journal of Molecular Structure*, 1306, 2024, 137837. ISSN 0022–2860. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2024.137837>. [žiūrėta 2026–05–06].
55. COMBES, C. ir C. REY. Amorphous calcium phosphates: Synthesis, properties and uses in biomaterials. *Acta Biomaterialia*, 6, 2010, 9, 3362–3378. ISSN 1742–7061. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2010.02.017>. [žiūrėta 2026–05–06].
56. VEIGA, A.; S. MADUREIRA; J. B. COSTA; F. CASTRO; F. ROCHA ir kt. Tackling current production of HAp and HAp–driven biomaterials. *Materials Advances*, 4, 2023, 22, 5453–5478. ISSN 26335409. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1039/d3ma00363a>. [žiūrėta 2026–03–21].
57. VENKATESAN, J. Ir S. K. KIM. Synthesis and characterization of B–type carbonated hydroxyapatite materials: Effect of carbonate content on mechanical strength and in vitro degradation. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 63, 2024, 4, 255–267. ISSN 0366–3175. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1533/9780857099037.3.244>. [žiūrėta 2026–03–21].
58. THOMMES, M.; K. KANEKO; A. V. NEIMARK; J. P. OLIVIER; F. RODRIGUEZ–REINOSO ir kt. IUPAC Technical Report Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure Applied Chemistry*, 87,

- 2015, 9–10, 1051–1069. ISSN 1051–1069. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>. [žiūrėta 2026–03–21].
59. SZALAJ, U.; A. CHODARA; S. GIRLOTKA; J. WOJNAROWICZ ir W. LOJKOWSKI. Enhanced Release of Calcium Ions from Hydroxyapatite Nanoparticles with an Increase in Their Specific Surface Area. *Materials*, 16, 2023, 19. ISSN 1996–1944. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/MA16196397>. [žiūrėta 2026–05–13].
 60. Drug Bank. *Ampicillin: Uses, Interactions, Mechanism of Action*. Svetainė. Prieiga per internetą: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00415>. [žiūrėta 2026–05–07].
 61. Drug Bank. *Ciprofloxacin: Uses, Interactions, Mechanism of Action*. Svetainė. Prieiga per internetą: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00537>. [žiūrėta 2026–05–07].
 62. FARID, N.; K. BUX; K. ALI; A. BISHIR ir R. TAHIR. Repurposing Amphotericin B: anti-microbial, molecular docking and molecular dynamics simulation studies suggest inhibition potential of Amphotericin B against MRSA. *BMC Chemistry*, 17, 2023, 1, 67. ISSN 2661801X. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1186/S13065-023-00980-9>. [žiūrėta 2026–05–13].
 63. HUANG, S. M.; S. M. LIU; W. C. CHEN; C. L. KO; C. J. SHIH ir kt. Morphological Changes, Antibacterial Activity, and Cytotoxicity Characterization of Hydrothermally Synthesized Metal Ions-Incorporated Nanoapatites for Biomedical Application. *Pharmaceuticals*, 15, 2022, 7, 885. ISSN 14248247. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/PH15070885>. [žiūrėta 2026–04–14].
 64. GHOSH, B.; J. DHAR; M. MUKHOPADHYAY ir D. BHATTACHARYA. Bacillus cereus biofilm: Implications for food and diseases. *The Microbe*, 4, 2024, 100129. ISSN 14248247. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/PH15070885>. [žiūrėta 2026–04–14].
 65. HASSANAIN, M.; H. M. ABDEL-GHAFAR; H. I. HAMOUDA; F. I. EL-HOSINY ir E. M. M. EWAIS. Enhanced antimicrobial efficacy of hydroxyapatite-based composites for healthcare applications. *Scientific Reports*, 14, 2024, 1, 26426. ISSN 2045–2322. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76088-4>. [žiūrėta 2026–04–15].
 66. ERLANGGA, M.; C. CHARLENA ir I. H. SUPARTO. Synthesis and Characterization of Fluorapatite-Copper(II) Oxide with Sol-Gel Method as an Antibacterial Biomaterial. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 27, 2024, 4, 174–181. ISSN 1410–8917. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.14710/JKSA.27.4.174-181>. [žiūrėta 2026–05–07].
 67. KYEREMEH, S. P.; B. O. ASIMENG; L. PAEMKA; M. A. KOJO; E. ANNAN ir kt. Antibacterial activity of microwave-hydroxyapatite and cellulose blend. *Oxford Open Materials Science*, 4, 2024, 1. ISSN 26336979. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1093/OXFMAT/ITAE010>. [žiūrėta 2026–05–07].
 68. ABBASI, M.; M. RASHNAVADI; M. GHOLAMI ir S. MOLAEI. Antibacterial property of hydroxyapatite extracted from biological sources and doped with Cu²⁺ and Ag⁺ by Sol-gels method. *Scientific Reports*, 15, 2025, 1, 12101. ISSN 2045–2322. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89886-1>. [žiūrėta 2026–05–07].
 69. ZHANG, X.; J. L. CHEN; F. XING ir X. DUAN. Three-dimensional printed polylactic acid and hydroxyapatite composite scaffold with urine-derived stem cells as a treatment for bone defects. *Journal of Materials Science*, 33, 2022, 10, 71. ISSN 15734838. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/S10856-022-06686-Z>. [žiūrėta 2026–05–18].
 70. VERISQA, F.; J. H. PARK; N. MANDAKHBAYAR; J. R. CHA; L. NGUYEN ir kt. In Vivo Osteogenic and Angiogenic Properties of a 3D-Printed Isosorbide-Based Gyroid Scaffold Manufactured via Digital Light Processing. *Biomedicines*, 12, 2024, 3. ISSN 2227–9059. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES12030609>. [žiūrėta 2026–05–18].

71. SOODMAND, I.; A. K. BECKER; J. O. SASS; C. JABS; M. KEBBACH ir kt. Heterogeneous material models for finite element analysis of the human mandible bone – A systematic review. *Heliyon*, 10, 2024, 24, e40668. ISSN 24058440. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2024.E40668>. [žiūrėta 2026-05-24].
72. WU, D.; P. ISAKSSON; S. J. FERGUSON ir C. PERSSON. Young's modulus of trabecular bone at the tissue level: A review. *Acta Biomaterialia*, 78, 2018, 1–12. ISSN 1742–7061. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2018.08.001>. [žiūrėta 2026-05-24].

Publikacijų sąrašas

STRAIPSNIAI RECENZUOJAMUOSE MOKSLO LEIDINIUOSE

Web of Science duomenų bazėje indeksuotuose Q1–Q3 kvartilių žurnaluose (JCR SCIE)

Užsienio šalių leidyklose

1. Turilinaite, Lidija; Matijunas, Mindaugas; Veiveryte, Evelina; Barauskas, Irmantas; Dambrauskas, Tadas. Atypical adsorption of Co(II) and Mn(II) on microwave synthesized AB-type carbonated hydroxyapatite // *Ceramics international*. London: Elsevier. Įteikta spaudai.
2. Turilinaite, Lidija; Dargyte, Kamile; Lukosiunas, Jokubas; Baniukaitienė, Odeta; Šipailienė, Ausra; Dambrauskas, Tadas; Sarapajevaite, Gabriele. Microwave-assisted synthesis and characterization of carbonated apatite: comparison study of hydroxyapatite and fluorapatite // *Ceramics international*. London: Elsevier. ISSN 0272–8842. eISSN 1873–3956. 2026, Early access, p. 1–11. DOI: 10.1016/j.ceramint.2026.04.028.
3. Sarapajevaite, Gabriele; Veiveryte, Evelina; Turilinaite, Lidija; Dambrauskas, Tadas. Atypical adsorption of trivalent chromium on synthetic carbonated hydroxyapatite // *Ceramics international*. London: Elsevier. ISSN 0272–8842. eISSN 1873–3956. 2026, vol. 52, iss. 10, pt. B, p. 15163–15171. DOI: 10.1016/j.ceramint.2025.07.125.

Kituose recenzuojamuose mokslinių konferencijų darbų leidiniuose

Lietuvos leidyklose

1. Lukošius, Jokūbas; Šarapajevaitė, Gabrielė; Turilinaite, Lidija; Dargytė, Kamilė; Baniukaitienė, Odeta. Development of highly porous bioactive 3D-Printed polylactic acid/hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering // *Industrial engineering 2025: 12th international young researchers' conference: conference proceedings*. Kaunas: Technologija. ISSN 2783-6363. 2025, p. 117-119.

MOKSLINIŲ TYRIMŲ REZULTATŲ SKELBIMAS KONFERENCIJOSE

Konferencijų pranešimų tezės tarptautinėse duomenų bazėse referuojamuose leidiniuose

1. Dargyte, Kamile; Sarapajevaite, Gabriele; Turilinaite, Lidija; Lukosiunas, Jokubas; Baniukaitiene, Odeta; Dambrauskas, Tadas. Microwave-assisted synthesis of iron-doped carbonated hydroxyapatite // *Advanced materials and technologies: book of abstracts of 27th international conference-school, 25–29 August 2025, Palanga, Lithuania*. Kaunas: Kaunas University of Technology. ISSN 2669–1930. 2025, P69, p. 111.
2. Turilinaite, Lidija; Dambrauskas, Tadas. Application of synthetic monetite for zinc ion adsorption // *2nd Central and Eastern European conference on physical chemistry & material science (CEEC-PCMS2): 16–19 September 2024, Kaunas, Lithuania: book of abstracts*. Kaunas: Kaunas University of Technology, 2024, PP1.22. ISBN 9786090218709. eISBN 9786090218693. p. 93.

Kitos konferencijų pranešimų tezės ir straipsniai nerecenzuojamuose mokslinių konferencijų darbų leidiniuose

1. Turilinaite, Lidija; Šarapajevaitė, Gabrielė; Šipailienė, Aušra; Lukošius, Jokūbas; Baniukaitienė, Odeta; Dambrauskas, Tadas. Microwave-assisted synthesis of fluorapatite and its antimicrobial properties // *8th Central and Eastern European conference on thermal analysis and calorimetry (CEEC-TAC8), 16–19 September 2025, Mostar, Bosnia and Herzegovina: book of abstracts*. 2025, OP2.18, p. 92.

2. Turilinaite, L.; Baltakys, K. Geležies jonų įtaka karbonizuoto hidroksiapatito sintezei hidroterminėmis sąlygomis // Vasara su LMT, 2025 metai: studentų vasaros mokslinės praktikos rezultatai. Vilnius: Lietuvos mokslo taryba. ISSN 3030–2706. 2025, p. 300.
3. Turilinaite, Lidiija; Šarapajevaitė, Gabrielė; Dambrauskas, Tadas. Formation of carbonated hydroxyapatite under hydrothermal conditions // Open readings 2025: 68th international conference for students of physics and natural sciences: [13–16 May 2025]: book of abstracts Vilnius: Vilnius University Press. ISSN 3030–2463. 2025, P4–87, p. 498.