

**Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten  
der Universität Würzburg**

**Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde**

**Vorstand: Prof. Dr.-Ing. R. Thull**

# **Herstellung und Charakterisierung von Calciumorthophosphaten für die Anwendung als Knochenersatzwerkstoffe**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg**

**vorgelegt von**

**Kerstin Bangert**

**aus Lohr am Main**

**Würzburg, Juli 2005**

**Referent:** Prof. Dr.-Ing.Dr.rer.nat.habil. R. Thull

**Koreferent:** Dr. med. dent. Dr. med. K. Würzler

**Dekan:** Prof. Dr.med. G. Ertl

**Tag der mündlichen Prüfung:** 02. Juni 2006

**Die Promovendin ist Zahnärztin**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung und Problemstellung.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Kenntnisstand.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.</b>	<b>Calciumorthophosphate.....</b>	<b>3</b>
2.1.1.	Calciumhydrogenphosphat (DCPA, Monetit).....	3
2.1.2.	Dicalciumphosphatdihydrat (Bruschit).....	4
2.1.3.	Tricalciumphosphate.....	5
2.1.4.	Tetracalciumphosphat.....	6
2.1.5.	Octacalciumphosphat.....	7
2.1.6.	Hydroxylapatit.....	8
<b>2.2.</b>	<b>Löslichkeitsprodukte.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.</b>	<b>Calciumphosphat – Zemente (CPC).....</b>	<b>12</b>
2.3.1.	Hydroxylapatit – bildende Zemente.....	13
2.3.2.	Bruschit – bildende Zemente.....	15
<b>3.</b>	<b>Material und Methode.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Chemikalien.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Geräte.....</b>	<b>17</b>
<b>3.3</b>	<b>Synthese und Mahlung von Calciumphosphaten.....</b>	<b>18</b>
3.3.1	Nassmahlung von Calciumhydrogenphosphat (DCPA) .....	18
3.3.2	Herstellung von Tetracalciumphosphat (TTCP).....	19
3.3.3	Herstellung von $\beta$ -Tricalciumphosphat.....	22
3.3.4	Herstellung von $\alpha$ - Tricalciumphosphat.....	23
<b>3.4</b>	<b>Herstellung und Charakterisierung von.....</b>	<b>23</b>
	<b>Calciumphosphatzementen(CPC)</b>	
3.4.1	Mischung von DCPA und TTCP.....	23

3.4.2	Bestimmung der Abbindezeit.....	24
3.4.3	pH-Wert-Einstellung.....	26
3.4.4	Röntgendiffraktometrische Untersuchung im XRD.....	26
	(X-Ray Powder Diffraktometer)	
<b>3.5.</b>	<b>Partikelgrößenanalyse.....</b>	<b>27</b>
3.5.1	Optische Charakterisierung über Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	27
3.5.2.	Partikelgrößenbestimmung durch "Cell Counter".....	27
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Untersuchung der Edukte.....</b>	<b>29</b>
4.1.1.	Calciumhydrogenphosphat (DCPA).....	29
4.1.2	Calciumcarbonat (CC).....	31
<b>4.2</b>	<b>Mahlung von Calciumhydrogenphosphat (DCPA).....</b>	<b>33</b>
4.2.1	Mahlung mit Achat / Zirkonoxid und Variation der Mahldauer.....	33
4.2.2	Mahlung in unterschiedlichen Lösungsmitteln.....	36
<b>4.3</b>	<b>Synthese und Mahlung von Tetracalciumphosphat.....</b>	<b>37</b>
4.3.1	Mischung von DCPA und CC.....	37
4.3.2.	Sinterung.....	38
4.3.3	Mahlung.....	42
<b>4.4</b>	<b>Synthese und Mahlung von Tricalciumphosphat.....</b>	<b>44</b>
4.4.1	Herstellung von $\beta$ - Tricalciumphosphat.....	44
4.4.1	Herstellung von $\alpha$ - Tricalciumphosphat.....	46
<b>4.5</b>	<b>Beurteilung des synthetisierten Calciumphosphatzementes (CPC).....</b>	<b>48</b>
4.5.1	Abbindezeit.....	48
4.5.2	pH - Wert Verlauf.....	50
4.5.3	Röntgendiffraktometrische Untersuchung.....	51
<b>5.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>55</b>

<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>61</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>63</b>

## Abkürzungen

CC	Calciumcarbonat
CPC	Calciumphosphat Zement
DCPA	Dicalciumphosphat Anhydrid (Monetit)
DCPD	Dicalciumphosphat Dihydrat (Bruschit)
EtOH	Ethanol
FAP	Fluorapatit
HA	Hydroxylapatit
H <sub>2</sub> O dest.	Destilliertes Wasser
LP	Löslichkeitsprodukt
MCPM	Monocalciumphosphat Monohydrat
OCP	Octacalciumphosphat
REM	Rasterelektronenmikroskop
$\alpha / \beta$ -TCP	$\alpha / \beta$ - Tricalciumphosphat
TTCP	Tetracalciumphosphat
XRD	X - Ray Diffraction, Röntgendiffraktometrie

## 1. Einleitung und Problemstellung

Der klinische Einsatz von Calciumphosphaten als Knochenersatzmaterial erfolgt aufgrund der chemischen Ähnlichkeit der Werkstoffe zur mineralischen Phase von Knochen. Klinisch angewandt werden Hydroxylapatit (HA) und  $\beta$ -Tricalciumphosphat ( $\beta$ -TCP) in Form von Pulver, Granulat und gesinterten Formkörpern. Vorteil der Werkstoffe ist das rasche Anwachsen von Knochengewebe ohne Bildung von fibrillärem Bindegewebe. Aufgrund der geringen mechanischen Festigkeit wird es vorwiegend in nicht lasttragenden Bereichen bei der Rekonstruktion der Gehörknöchelchenkette in der Hals- Nasen- Ohrenchirurgie [1] oder zum Auffüllen von Knochendefekten in der regenerativen Paradontalchirurgie [2] eingesetzt. Während TCP resorbierbar ist und durch neue Hartsubstanz ersetzt wird, sind gesinterte HA Werkstoffe wegen ihres mikrokristallinen Gefüges nur schwer löslich und verbleiben als relatives Dauerimplantat am Anwendungsort. Beiden Werkstoffen gemeinsam ist die schwierige Anpassung an irregulär geformte Defekte.

Frei formbare Knochenersatzmaterialien aus Calciumphosphat mit mechanischer Stabilität und Stützfunktion stellen in situ härtende Calciumphosphat-Zemente (CPC) dar. Seit der Entwicklung des ersten in situ abbindenden Calciumphosphatzementes im Jahr 1987 durch Brown und Chow [3,4], bestehend aus einer äquimolaren Mischung von Tetracalciumphosphat (TTCP) und wasserfreiem Calciumhydrogenphosphat Monetit (DCPA) bzw. dem Dihydrat Bruschit (DCPD), wurde eine Reihe verschiedener Mischungen auf ihre Eignung als Knochenersatz untersucht [5]. Die Biokompatibilität konnte für zahlreiche Anwendungsorte im Tierversuch [6-9] bestätigt werden. Neben der guten Gewebeverträglichkeit und der mikroskopisch guten Anpassung an Knochendefekte zeigten Calciumphosphatzemente eine langsame Resorption des Werkstoffes und Ersatz durch Knochen - Neubildung ohne Verlust an Volumen. Ausgehärtete Calciumphosphatzemente bestehen aus nanokristallinem Hydroxylapatit bzw. Bruschit mit großer spezifischer Oberfläche. Der gebildete Hydroxylapatit weist - ähnlich dem biologischen Apatit - eine verhältnismäßig geringe Kristallinität auf [10], und kann durch säureproduzierende Zellen (Osteoklasten) von der Oberfläche her resorbiert werden. Bruschit ist unter physiologischen Bedingungen thermodynamisch instabil und somit volumenresorbierbar.

Die Zusammensetzung von CPC variiert über einen weiten Bereich, wobei als feste Bestandteile vorwiegend Calciumorthophosphate zum Einsatz kommen und die flüssige Phase aus wässrigen Lösungen neutraler Alkaliphosphate als Abbindebeschleuniger für HA-bildende Zemente oder Phosphorsäure für die Bildung einer Brushit-Matrix bei pH-Werten  $< 4.2$  besteht. Anwendungsbezogene Anforderungen an Bestandteile von Calciumphosphat-Knochenersatzwerkstoffen sind neben Phasenreinheit definierte Korngrößen und -verteilungen der Pulver. Die in der Regel mangelnde kommerzielle Verfügbarkeit der Verbindungen macht die Synthese und Mahlung derselben nötig. Literaturbekannte Untersuchungen zeigen hierbei in der Regel den Weg zu phasenreinen Calciumphosphaten, wobei die Einstellung definierter Korngrößen in den Syntheserouten in der Regel nicht beschrieben ist. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Darstellung und Charakterisierung einer Reihe von Calciumorthophosphaten für die Anwendung in Knochenersatzwerkstoffen. Die Untersuchungen beschränkten sich hierbei auf Calciumhydrogenphosphat (DCPA), Tetracalciumphosphat (TTCP),  $\alpha$ -Tricalciumphosphat ( $\alpha$ -TCP) und  $\beta$ -Tricalciumphosphat ( $\beta$ -TCP), die allein bzw. in Mischung Bestandteile experimenteller und kommerzieller Knochenersatzwerkstoffe sind. Neben der phasenreinen Darstellung der Verbindungen war der Einfluß von Edukteigenschaften (Größenverteilung) sowie von Sinter- bzw. Mahlparametern auf Korngröße und Verteilung der resultierenden Produkte Gegenstand der Arbeit.



## 2. Kenntnisstand

### 2.1 Calciumorthophosphate

Für die Herstellung von Knochenzement kommen die unterschiedlichsten Calciumphosphate zur Anwendung. Die wichtigsten Calciumphosphat-Verbindungen werden in Tabelle 1 in der Reihenfolge ihres zunehmenden molaren Ca/P-Verhältnisses und basischen Charakters aufgeführt. Alle Verbindungen leiten sich von Orthophosphorsäure  $H_3PO_4$  als dreibasiger, mittelstarker Säure ab. Es werden primäre- (Dihydrogenphosphat), sekundäre- (Hydrogenphosphat) und tertiäre Ionen (Phosphat) gebildet. Die  $pK_s$ -Werte haben bei 18°C die Werte  $pK_1 = 1.96$ ,  $pK_2 = 6.92$  und  $pK_3 = 11.74$ . Während bei  $pH = -0.5$  nahezu reine Phosphorsäure  $H_3PO_4$  vorliegt, ist bei  $pH = 2$  eine äquimolare Mischung an Phosphorsäure und Dihydrogenphosphat vorhanden.

**Tab. 1:** Löslichkeitsprodukte (LP) verschiedener Calciumphosphate [11]

Verbindung	Summenformel	Ca/P	log (LP) bei 25 °C	log (LP) bei 37 °C
Monocalciumphosphatanhydrid	$Ca(H_2PO_4)_2$	0.5	löslich	löslich
Dicalciumphosphatdihydrat (DCPD)	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	1.0	6.59	6.63
Dicalciumphosphatanhydrid (DCPA)	$CaHPO_4$	1.0	6.90	7.04
Octacalciumphosphat (OCP)	$Ca_8H_2(PO_4)_6$	1.33	96.6	95.9
$\alpha$ - Tricalciumphosphat	$\alpha-Ca_3(PO_4)_2$	1.5	25.5	25.5*
$\beta$ - Tricalciumphosphat	$\beta-Ca_3(PO_4)_2$	1.5	28.9	29.5
Hydroxylapatit (OHAp)	$Ca_5(PO_4)_3OH$	1.67	58.4	58.6
Fluorapatit (FAp)	$Ca_5(PO_4)_3F$	1.67	60.5	--
Tetracalciumphosphat (TTCP)	$Ca_4(PO_4)_2O$	2.0	--	37.4

\* log (LP)-Wert bei 37 °C nicht erhältlich

#### 2.1.1 Calciumhydrogenphosphat (DCPA, Monetit)

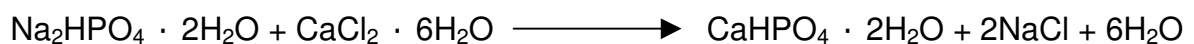
Calciumhydrogenphosphat (Monetit) mit der Formel  $CaHPO_4$  wurde in geringer Menge in XRD-Studien im Callus [12] und im Knochen [13] nachgewiesen. Bedeutung erlangte DCPA vor allem als Ausgangsstoff zur Synthese von Calciumphosphat - Zement in Verbindung mit basischen Bestandteilen wie

Tetracalciumphosphat. Die Herstellung von DCPA beruht auf der gleichzeitigen Zugabe von Dinatriumhydrogen-/Kaliumdihydrogenphosphatlösung und Calciumchlorid- / Kaliumdihydrogenphosphatlösung zu einer Kaliumdihydrogenphosphatlösung bei 100°C über einen Zeitraum von 3h in einem pH-Bereich von 4-5 [14]. Die Synthese von DCPA aus dem Dihydrat Bruschit (DCPD) erfolgt über thermische Dehydratation durch Erhitzen über 72 h auf 180°C in verdünnter Orthophosphorsäure. Die Feststoffdichte von DCPA beträgt 2,89g / cm<sup>3</sup> [114]. DCPA hydrolysiert bei einem Überschuss an Wasser über mehrere Zwischenprodukte zu Hydroxylapatit geringer Kristallinität. Aufgrund des langsamen Kristallwachstums und der geringen Löslichkeit im Vergleich zu DCPD [15] bildet sich trotz der höheren thermodynamischen Stabilität in sauren Zementformulierungen bevorzugt DCPD. Die Löslichkeit von DCPA vermindert sich bei einem Anstieg der Temperatur.

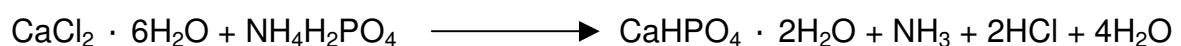
### 2.1.2 Dicalciumphosphatdihydrat (Bruschit)

Bruschit kristallisiert als Dihydrat des Calciumhydrogenphosphats mit der Formel CaHPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O in einem monoklinen Kristallgitter, beispielsweise durch Hydrolyse von DCPA. Dicalciumphosphatdihydrat (DCPD) konnte in Zahnstein [16], Knochen [13] und während lokaler Fluoridbehandlung von Zähnen [17] nachgewiesen werden. Außerdem stellt es ein Zwischenprodukt bei Mineralisations- und Auflösungsprozessen von Apatiten dar [18].

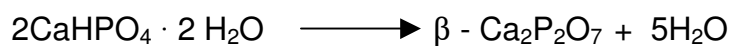
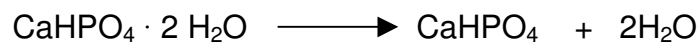
Die Synthese von DCPD erfolgt analog zur Herstellung von DCPA durch simultane Zugabe zweier wässriger Lösungen von Dinatriumhydrogen- / Kaliumdihydrogenphosphat sowie Calciumchlorid / Kaliumdihydrogenphosphat zu einer Kaliumdihydrogenphosphatlösung bei 25°C und einem pH von 4-5 über einen Zeitraum von 2-3 Stunden unter ständigem Rühren [14].



Alternativ wird DCPD durch Reaktion einer CaCl<sub>2</sub>-Lösung (3.0 mol/l, erhöht auf pH 10 mit NH<sub>4</sub>OH) und einer NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung (1mol/l, reguliert durch H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> oder NH<sub>4</sub>OH<sub>4</sub>OH zu einem pH von 2-5) bei 30 °C erhalten [19].



Bei Temperaturen zwischen 25°C - 37°C und einem pH von 6,2 - 7,4 führt die Hydrolyse von DCPD zu Octacalciumphosphat (OCP), wohingegen sich bei höheren Temperaturen und pH-Werten apatitische Verbindungen bilden [20]. Das Löslichkeitsprodukt von DCPD beträgt  $2,386 \times 10^{-7} \text{ mol}^2/\text{l}^2$  bei 37°C. Die thermische Umwandlung von DCPD zu  $\beta$ -Calciumpyrophosphat beginnt zwischen 320-340°C; weiteres Erhitzen liefert die  $\beta$ -Form (ca. 700°C), bei 1200°C entsteht  $\alpha$ -Calciumpyrophosphat [21].



### 2.1.3 Tricalciumphosphate

Tricalciumphosphate werden durch ein Ca/P-Verhältnis von 1.5 charakterisiert und umfassen  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP und Whitlockit [22]. Die Bezeichnung Whitlockit steht für Mineralien, in denen  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ionen eine strukturelle Rolle spielen und ein ähnliches röntgendiffraktometrisches Spektrum wie  $\beta$ -TCP aufweisen [22]. Es können hierbei bis zu 15% Magnesiumionen in das Kristallgitter ohne wesentliche Änderung der  $\beta$ -TCP Struktur eingelagert werden [23-25]. Die Löslichkeit von Whitlockit ist deutlich geringer aufgrund der wachsenden Gitterstabilität durch den Ersatz von Calciumionen durch kleinere Kationen. Whitlockit kommt in verschiedenen pathologischen Calcifikationen [23] vor und ist ein Hauptbestandteil von Zahnstein [26]. In elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden im kariösen Dentin rhomboedrisches Whitlockit als sogenannte „Karieskristalle“ gefunden [27,28]. Die Hydrolyse von DCPD [23,27,29] und DCPA [27] in Anwesenheit von Magnesiumionen führt zur Bildung von Whitlockit. Die Dichte von synthetischem Whitlockit,  $\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2\text{H}_2(\text{PO}_4)_{14}$ , beträgt  $3,033 \text{ g/cm}^3$  [30].

$\beta$ -TCP ist der Niedrigtemperaturpolymorph von  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  und bildet sich nicht in wässrigen Systemen. Die Herstellung erfolgt thermisch durch Sinterung von DCPA und  $\text{CaCO}_3$  im Verhältnis 2:1 [31] im Temperaturbereich von ca. 1000 - 1100 C°.

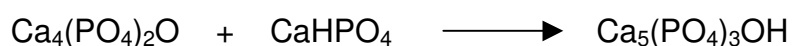


$\beta$ -TCP hat ein Löslichkeitsprodukt bei 25 C° von  $1,2 \times 10^{-29} \text{ mol}^5 / \text{l}^5$  [31]. Es ist löslicher als Hydroxylapatit, bei einem pH-Wert von 6 allerdings weniger löslich als andere Calciumphosphate, wie  $\alpha$ -TCP oder TTCP. Seine Löslichkeit nimmt mit steigender Temperatur ab. Die Dichte von  $\beta$ -TCP beträgt  $3,07 \text{ g/cm}^3$  [32].

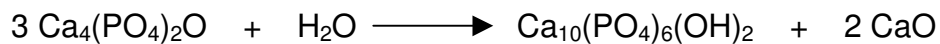
$\alpha$ -TCP ist die Hochtemperaturmodifikation von  $\beta$ -TCP, die Umwandlungstemperatur beträgt 1125 C° [33]. Die Herstellung aus  $\beta$ -TCP erfolgt durch Erhitzen auf 1200 C° [34] -1400 C°. Um eine Zersetzung der metastabilen Phase zu  $\beta$ -TCP im Bereich 800-1100°C zu vermeiden, ist die rasche Abkühlung des Sinterprodukts notwendig. Eine weitere Hochtemperaturphase, das sogenannte Super  $\alpha$ -TCP, wird über 1430 C° gebildet und ist bei Abkühlung auf Raumtemperatur nicht stabil [35].  $\alpha$ -TCP weist eine weniger dicht gepackte Struktur als  $\beta$ -TCP und eine höhere innere Energie auf, was im Einklang steht mit der Eigenschaft von  $\alpha$ -TCP als Hochtemperaturmodifikation [36]. Die Dichte von  $\alpha$ -TCP beträgt zwischen  $2,814 \pm 0,01$  [37] und  $2,863 \text{ g/cm}^3$  [36].  $\alpha$ -TCP ist gering reaktiv in wässrigen Systemen und kann langsam zu Mischungen von DCPA, DCPD, OCP und calciumarmem Hydroxylapatit hydrolysiert werden. In Natriumacetatlösung hydrolysiert  $\alpha$ -TCP zu OCP [38,39], wohingegen die Verwendung von Ammonium- oder Natriumsalzen von Dicarbonsäuren zum Ersatz von  $\text{HPO}_4^{2-}$  Ionen durch das Dicarboxylat-Anion im OCP-Gitter führt.

#### 2.1.4 Tetracalciumphosphat

Tetracalciumphosphat (Hilgenstockit, TTCP) mit der Formel  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$  weist als einziges CaP ein höheres Calcium / Phosphat Verhältnis auf als Hydroxylapatit. Es wird gebildet bei der Herstellung von Eisen, wobei es eine entscheidende Rolle spielt bei der Kontrolle der Eigenschaften des Materials [40]. TTCP wird in Verbindung mit DCPD oder DCPA zur Herstellung von Knochenzementen angewandt. Beim Anmischen mit Wasser bildet sich nanokristalliner Hydroxylapatit, der bei physiologischen pH-Werten weniger löslich ist als die Reaktanden [41-43].



Es besteht kristallographisch eine strukturelle Ähnlichkeit zwischen TTCP und Hydroxylapatit [40]. TTCP wird synthetisiert durch Erhitzen äquimolarer Mengen von DCPA und  $\text{CaCO}_3$  an Luft, im Vakuum oder in Stickstoff [44-48] bei  $1300^\circ - 1500^\circ\text{C}$ . Die Reaktion muss in trockener Atmosphäre durchgeführt werden, um die Aufnahme von Wasser und die Bildung von Hydroxylapatit zu verhindern. Analog zur Herstellung von  $\alpha$ -TCP muss der Sinterkuchen abgeschreckt werden, um eine Zersetzung der metastabilen TTCP Phase zu TCP und CaO im Temperaturbereich von  $800-1200^\circ\text{C}$  zu vermeiden.

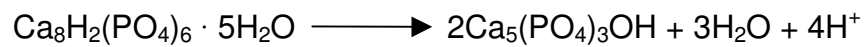


### 2.1.5 Octacalciumphosphat

Octacalciumphosphat hat die Formel  $\text{Ca}_8 (\text{HPO}_4)_2 (\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , mit variablem Wassergehalt. OCP wird oft als Zwischenprodukt bei der Bildung des thermodynamisch stabileren Hydroxylapatits in wässriger Phase beobachtet, da OCP leichter kristallisiert als Apatit. OCP wurde als Bestandteil von Zahnstein [16,49] und anderen pathologischen Verkalkungen gefunden [13]. Reines OCP wird gebildet bei der tropfenweisen Zugabe von  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$ -Lösung zu einem gleichen Volumen an Natriumphosphatlösung bei pH5 und  $60^\circ\text{C}$  bzw. bei pH 4 und  $70-80^\circ\text{C}$  [50]. Ebenso führt die Hydrolyse von  $\alpha$ -TCP in einer  $\text{CH}_3\text{COONa}$ -Lösung über ca. 3 Stunden bei  $50^\circ\text{C}$  und pH  $5,4 \pm 0,1$  zu OCP [38,39]. In einem pH-Bereich von 6,2-6,8 hat die Umsetzung von DCPD mit Wasser die Bildung von OCP zur Folge [51].

Die Anwesenheit von  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{F}^-$ -Ionen unterdrückt das Wachstum von OCP [52-54]. In Lösung verhindern Pyrophosphate die OCP-Bildung und verursachen statt dessen die Entstehung amorpher Calciumphosphate (ACP), während  $\text{CO}_3^{2-}$  oder Citrationen die Bildung von apatitischen Verbindungen begünstigen [55]. Die Löslichkeit von OCP bei  $37^\circ\text{C}$  beträgt  $48,7 \pm 0,2 \text{ pK}_{\text{sp}}$ , wobei bei steigender Temperatur auch ein geringer Anstieg der Löslichkeit zu beobachten ist [56].

OCP hydrolysiert in Wasser zu Hydroxylapatit, abhängig von der Verfügbarkeit von  $\text{Ca}^{2+}$  Ionen [57].

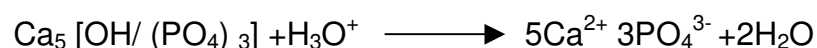


Der pH-Wert der Lösung, die Ionenkonzentration und die Kristallgröße von OCP beeinflussen hierbei die Umsetzungsrate und -geschwindigkeit. Mit Hilfe von IR-Spektroskopie und Transmissionselektronenmikroskopie [58] konnte der hemmende Effekt von  $\text{Mg}^{2+}$ , Citrat- und Pyrophosphationen und der beschleunigende Effekt durch  $\text{F}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  und  $\text{Ca}^{2+}$  - Ionen nachgewiesen werden. Eine Erhöhung der Temperatur zeigt ebenfalls einen beschleunigenden Effekt auf die Reaktion [59]. Bei der thermischen Zersetzung von OCP werden DCPA, Hydroxylapatit, Pyrophosphate und Tripolyphosphate in unterschiedlichen Mengen gebildet, abhängig von der Temperatur und der Dauer des Erhitzens.

### 2.1.6 Hydroxylapatit

Hydroxylapatit hat die Formel  $\text{Ca}_5 [\text{OH}/(\text{PO}_4)_3]$  und ist Hauptbestandteil der Zähne (98%) und der mineralischen Phase des Knochens (60-70%) [60,61]. Im Körper wird HA durch die Osteoblasten aus Calcium- und Phosphationen mit Kollagen als Kristallisationskeim erzeugt. Im Gegensatz zu stöchiometrischem HA mit einem molaren Ca/P- Verhältnis von 1,67 kristallisiert biologischer Apatit mit einem niedrigeren Ca/P- Verhältnis (zwischen 1,5-1,67). Grund hierfür ist die Einlagerung von Fremdionen, wie  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{F}^-$  und  $\text{Cl}^-$  in die monokline Kristallstruktur im Austausch gegen  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  Ionen [61]. Im physiologischen pH-Wert-Bereich 7,4 stellt Hydroxylapatit das schwerlöslichste Calciumphosphat dar.

Die nanokristallinen HA-Kristalle besitzen eine große spezifische Oberfläche von 60-100  $\text{m}^2/\text{g}$  bei Knochensubstanz und 1-10  $\text{m}^2/\text{g}$  bei Zahnschmelz. Dies führt zu einer erhöhten Löslichkeit bei niedrigen pH-Werten, d.h. nanokristalliner HA ist im Gegensatz zu gesintertem, mikrokristallinem HA durch säureproduzierende Zellen resorbierbar:



Durch Einbau von Fluoridionen kann die Löslichkeit im sauren Milieu verringert werden, diese Fluoridierung von HA durch Austausch der Hydroxyl- gegen Fluoridionen ist ein wichtiger Bestandteil der Kariesprophylaxe.

Die Gewinnung von HA ist durch Fällungsreaktion, durch thermische Behandlung natürlicher Rohstoffe wie Knochen oder Korallen und aus synthetischen Pulvermischungen von Calcium und Phosphaten möglich. Ausgangsprodukte bei der Herstellung können z.B. äquimolare Mischungen von Tetracalciumphosphat und wasserfreiem Calciumhydrogenphosphat *Monetit* (DCPA) bzw. *Brusshit* (DCPD) sein, die in einer wässrigen Phase zu HA abbinden. Bei der Zusammensetzung muß kontrolliert werden, daß die Lösung in Bezug auf HA übersättigt ist und HA die stabilste Phase in der Lösung darstellt, d.h. der pH-Wert darf nicht unter 4,3 fallen.

Nachfolgend wird die Herstellung von HA durch die Reaktion zwischen  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  und  $\text{H}_3\text{PO}_4$  beschrieben [11]. 194g CaO, hergestellt durch Kalzinieren von  $\text{CaCO}_3$  bei  $1000^\circ\text{C}$  für 24h, wurde zu 7 l kochendem destillierten Wasser hinzugefügt. Die Suspension wurde mit  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (0,5 mol/l) titriert [62] und zur Reaktion gebracht. Diese erfolgte in einem 15l Gefäß mit Rückflußkondensator, Rührwerk und Öffnungen für den Einlaß von  $\text{N}_2$  und der Säure, welche bei Fließgeschwindigkeit von 1ml/min hinzugefügt wurde bis zu einem Ca/P Verhältnis von 1,7. Danach wurde die Mischung für 2 Tage unter ständigem Rühren gekocht. Nachdem die Feststoffe sich abgesetzt hatten, wurde das Übrige abgesaugt und durch 5l kochendes, destilliertes Wasser ergänzt. Der Prozeß wurde viermal wiederholt, um den Überschuß an  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  zu entfernen. Zuletzt wurde verdünnte  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (0,001mol/l) verwendet. Das Produkt wurde bei  $110^\circ\text{C}$  in einem Stickstoffstrom getrocknet. Die Auswertung ergab ein molares Ca/P Verhältnis von 1,67 (Ca 39,25 wt % und P 18,13 wt %).

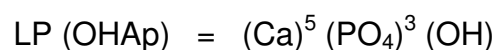
Eine weitere Methode zur Herstellung von HA [63] stellte die Zugabe von gleichem Volumen an  $\text{CO}_2$  freiem  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  zur Lösung von Calcium-bis-dihydrogenphosphat (MCPA) bei  $100^\circ\text{C}$  dar. Der Niederschlag wurde unter Stickstoff gefiltert, mit Aceton ausgewaschen und bei  $105^\circ\text{C}$  getrocknet (Ca 39,4 wt %, P18,2 wt %).

HA kann durch ähnliche Maßnahmen wie oben beschrieben gewonnen werden, bei denen die Ausfällung in Gegenwart von Ionen, ergänzend zu denen im  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  –

$\text{H}_3\text{PO}_4 - \text{H}_2\text{O}$  System stattfindet [64,65]. Beispielsweise wurden 2,5l  $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$  Lösung ( $7,25 \times 10^{-2}$  mol/l) und 2,5l von  $\text{Ca} (\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ( $13,33 \times 10^{-2}$  mol/l) bei einem pH von 8,5-9 (reguliert mit  $\text{NH}_3$ -Gas) in einen 22l Kolben mit 100 ml/h gegeben, welcher 9l  $\text{CH}_3\text{OONH}_4$  (1 mol/l) enthält [64]. Die Reaktionsmischung wurde während der Zugabe noch weitere 3h gekocht bei konstantem pH-Wert von 8,5-9. Nach Absetzen der Feststoffe, wurde der Niederschlag abgesaugt und mit 9l kochendem destilliertem Wasser gewaschen. Die Suspension wurde weitere 2h gekocht. Der Prozeß wurde mehrfach wiederholt, um lösliche Salze zu entfernen. Der Niederschlag wurde gefiltert und bei  $150^\circ\text{C}$  für 48h getrocknet, anschließend bei  $1000^\circ\text{C}$  in Luft calciniert. Die chemische Analyse zeigte 39,63 wt % Ca, 18,22 wt % P und 0,04 wt %  $\text{CO}_2$ . Daneben wurde die Herstellung von HA bei  $70^\circ\text{C}$  durch Zugabe von 2,9l Kaliumphosphatpuffer (0,0805 mol/l  $\text{K}_2 \text{HPO}_4$ ; 0,0195 mol/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; pH 7,4) über einen Zeitraum von 30 min zu 11,6l einer Lösung aus 0,477 mol Ca  $(\text{NO}_3)_2$  und 0,318 mol KOH beschrieben. [66]. Das molare Ca/P-Verhältnis betrug 1,631 – 1,659. Die naßchemische Analyse zeigte einen Mangel von 10%  $\text{OH}^-$  Ionen.

## 2.2 Löslichkeitsprodukte

Die unterschiedliche Löslichkeit der Calciumphosphate im wässrigen System ist entscheidend für die Richtung stattfindender Reaktionen. Für Calciumphosphate variiert die Löslichkeit in Abhängigkeit verschiedener Parameter, wie z.B. dem pH-Wert der Lösung oder der Umgebungstemperatur um mehrere Größenordnungen. Ein wesentliches Kriterium für die thermodynamische Beschreibung der Löslichkeit von Calciumphosphaten ist das Löslichkeitsprodukt LP, das in Zusammenhang mit der freien Energie nach Gibbs des Feststoffes steht.



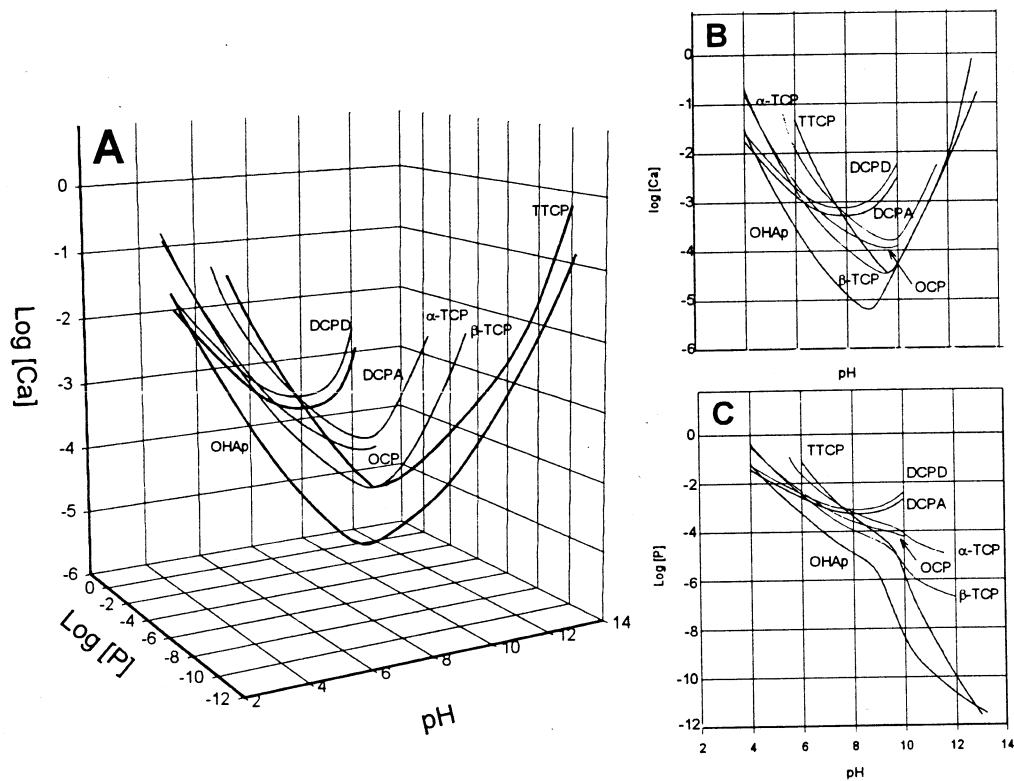
Die in Tabelle 1 aufgeführten Löslichkeitsprodukte verschiedener Calciumphosphate bei  $25^\circ\text{C}$  und  $37^\circ\text{C}$  geben einen Überblick zur Berechnung von Löslichkeitsphasendiagrammen. Nach der Gibbsschen Phasen-Regel [67] wird bei festgelegter Temperatur und Druck in einem Dreistoff-System, bei dem zwei Phasen (eine Lösung und ein Feststoff) miteinander im Gleichgewicht stehen, nur ein Freiheitsgrad erhalten. Demnach werden die Zusammensetzungen aller Lösungen,



die in Hinsicht auf das Salz gesättigt sind, durch eine Löslichkeitsisotherme bestimmt.

Die Löslichkeitsisotherme eines Calciumphosphats kann auf Basis des Löslichkeitsprodukts, der Dissoziationskonstanten von Phosphorsäure und Calciumhydroxid, sowie den Stabilitätskonstanten der Ionen-Paare und einem Modell für die Berechnung der Aktivitätskoeffizienten der verschiedenen involvierten Ionen berechnet werden [64]. In Abb. 1 sind die berechneten Isothermen verschiedener Calciumphosphate bei 37°C wiedergegeben. Es ist zu erkennen, daß die Isothermen im neutralen und sauren Bereich der Phasendiagramme ( $\text{pH} \leq 7$ ) negative Steigungen aufweisen. Das bedeutet, daß die Löslichkeit der Verbindungen mit abnehmendem pH-Wert steigt. Im basischen Bereich des Phasendiagramms nimmt die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration mit steigendem pH-Wert zu; mit Ausnahme von DCPA und DCPD nimmt die  $\text{PO}_4^{3-}$ -Konzentration mit zunehmendem pH-Wert ab. Die Abhängigkeit von  $\log [\text{PO}_4^{3-}]$  von dem pH-Wert ist in der Basizität der Verbindungen begründet [68].

Die treibende Kraft der Abbindereaktion bei Calciumphosphat-Zementen ist die unterschiedliche Löslichkeit der Reaktionspartner und des Reaktionsproduktes. Nach dem Mischen des Zementpulvers mit einer wässrigen Phase beginnen die Reaktionspartner sich aufzulösen bis ihr Löslichkeitsprodukt erreicht ist. Dies führt zu einer Übersättigung der Zementemulsion in Hinblick auf das Reaktionsprodukt, welches ausfällt und zu einer Verhärtung der Zementpaste führt. Das Reaktionsprodukt und dessen Bildungsrate wird durch den pH-Wert, die Umgebungstemperatur und die thermodynamische und kinetische Löslichkeit der Ausgangssubstanzen bestimmt. Zemente mit einem pH-Wert unter 4,2 bilden Bruschit (DCPD) als Endprodukt aufgrund der Stabilität der Verbindung unter Säurebedingungen. Bei höheren pH-Werten ist Hydroxylapatit die am wenigsten lösliche Calciumphosphatverbindung, so daß neutrale oder basische Zementformulierungen, Hydroxylapatit oder calciumarmer Hydroxylapatit entstehen. Unter neutralen Bedingungen kann Octacalciumphosphat hergestellt werden durch Zusatz von Carbonsäuren zur Zementpaste [69].



**Abb. 1:** Löslichkeits-Phasendiagramme für das Dreistoff-System,  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}_1$  bei  $37^\circ\text{C}$  (A); die Löslichkeitsisothermen zeigen  $\text{log}(\text{Ca}^{2+})$  und  $\text{pH}$ -Wert (B), bzw.  $\text{log}(\text{PO}_4^{3-})$  und  $\text{pH}$ -Wert (C) der Lösung im Gleichgewicht mit verschiedenen Calciumphosphaten

### 2. 3 Calciumphosphat-Zemente (CPC)

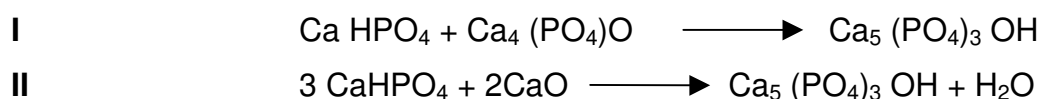
Calciumphosphatzemente stellen eine Materialklasse dar, welche die Vorteile der freien Formbarkeit und Anpassungsfähigkeit an unterschiedliche Defekte mit der exzellenten Gewebeverträglichkeit von Calciumphosphatverbindungen vereint. Aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Zusammensetzung mit der anorganischen Komponente des Knochens werden Calciumphosphate vielfältig als Knochenersatzmaterialien eingesetzt. Sie besitzen eine hohe Osteokonduktivität und ermöglichen so die Knochenbildung an der Oberfläche [70]. Durch die nanokristalline Struktur kann der Zement resorbiert und das Einwachsen von natürlichem Knochen gewährleistet werden.

CPC bestehen aus ein- oder mehrkomponentigen Pulvermischungen von Calciumorthophosphaten, die mit einer wässrigen Phase eine formbare Paste bilden.

Als Zementkomponenten werden beispielsweise wasserfreies Calciumhydrogenphosphat Monetit (DCPA), das entsprechende Dihydrat Bruschit (DCPD), Octacalciumphosphat (OCP), Monocalciumphosphat Monohydrat (MCPM) Tricalciumphosphat (TCP) und Tetracalciumphosphat (TTCP) beschrieben [71]. Die treibende Kraft der Reaktion ist die pH-Wert abhängige Stabilität und die Löslichkeit der verschiedenen Verbindungen [72]. Das Reaktionsprodukt richtet sich nach der Art des eingesetzten Ausgangswerkstoffs und dem entsprechenden pH-Wert der Zementpaste. Unterhalb eines pH-Wertes von 4.2 wird Bruschit gebildet, darüber entsteht vornehmlich Hydroxylapatit [73]. Grundsätzlich können daher *Hydroxylapatit – bildende* und *Bruschit – bildende* Zemente unterschieden werden. Im folgendem werden Eigenschaften, wie mechanische Stabilität, und Darstellungsmöglichkeiten der verschiedenen Zementtypen beschrieben.

### 2.3.1 Hydroxylapatit- bildende Zemente

Zementformulierungen sind Pulvermischungen von  $\alpha$  /- $\beta$  TCP [74] oder TTCP [6,10,41,75-79] bzw. Calciumoxid [80,81] kombiniert mit schwach sauren Verbindungen wie DCPA, DCPD oder OCP [82]. Die Abbindereaktion ergibt sich durch eine Lösungs- / Fällungsreaktion nach Zugabe einer wässrigen Phase. Als flüssige Phase können Wasser, Salzlösungen oder physiologische Flüssigkeiten verwendet werden.



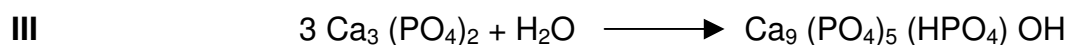
Die Bildung von HA aus einer äquimolaren Mischung von TTCP und DCPA in wässriger Umgebung verläuft ohne saure oder basische Nebenprodukte. Untersuchungen zur Abbindereaktion zeigen, daß die Umsetzung zu HA nahezu isotherm ohne makroskopische Änderungen von Form und Volumen abläuft [74] und bei 37°C in vier Stunden fast abgeschlossen ist [10].

Die Präzipitation erfolgt im physiologischen Milieu bei einem pH von 7,5-8, was zur hohen Biokompatibilität des Werkstoffes beiträgt [68,72]. Voraussetzung für die Herstellung von qualitativ hochwertigem Zement besteht in der Vermeidung von Verunreinigungen des Pulvers durch Mahlhilfsmittel oder atmosphärischen

Adsorbaten, die zu einer Herabsetzung der Reaktivität führen können. Ebenso wichtig ist die Einstellung der Partikelgröße der Edukte und die homogene Durchmischung der Reaktanden [83]. Bei Untersuchungen der Zementbildung in Hinblick auf die Partikelgrößenverteilung der Reaktionspartner [84,85] und das Mischungsverhältnis von TTCP / DCPA (variiert zwischen 0,25-2) [86-88], zeigten sich die höchsten mechanischen Festigkeiten (diametrale Zugfestigkeit von 13 MPa) bei äquimolaren Mischungen mit Partikelgrößen im Verhältnis TTCP : DCPA von 10:1.

Für Anwendungen, die eine verlängerte Arbeitszeit erfordern, können mit Wasser mischbare organische Lösungsmittel z.B. Glycerin [21] oder Polyethylenglycol [18] verwendet werden. Der Zement bleibt langzeit form- und injizierbar, da eine Aushärtung erst durch diffundierendes Wasser in die Paste erfolgt.

Daneben sind einkomponentige HA-bildende Zemente auf  $\alpha$  /  $\beta$ -TCP oder TTCP Basis bekannt [73,89]. HA-bildende Zemente auf  $\alpha$ -TCP Basis mit klinisch akzeptablen Abbindezeiten wurden erstmals von Driessens et al. und Ginebra beschrieben [90,91]. Die Hydrolyse von  $\alpha$  - TCP in einer wässrigen Phase führt zur Bildung von calciumarmem Hydroxylapatit [90-94].



Die Reaktion ist abhängig von der Temperatur und der Kristallinität des Werkstoffes. Bei 37°C unter physiologischen Bedingungen ist die Umsetzung zu calciumarmem HA in ca. 18h abgeschlossen. Durch Phasenumwandlung der Calciumphosphate in den amorphen Zustand durch mechanische Aktivierung der kristallinen Verbindungen während des Mahlvorgangs [73,74,95-97] kann eine Steigerung der Reaktivität erreicht werden. Die vollständige Hydrolyse zu HA kann somit auf 4-6h verkürzt werden [74].

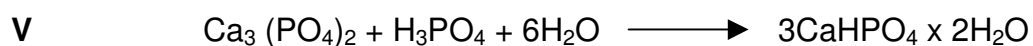
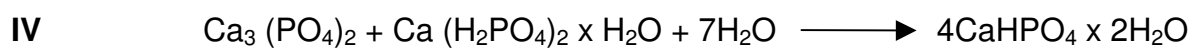
HA-bildende CPC weisen Druckfestigkeit nach 24h Aushärtung ohne Trocknung der Prüfkörper zwischen 40-100 MPa auf. Die diametrale Zugfestigkeit beträgt zwischen 8-13 MPa [10, 74, 78, 98, 99]. Die mechanischen Eigenschaften sind mit dem

kortikalen Knochen vergleichbar [100] und somit sollten HA-bildende CPC für mäßig kraftbelastete Defekte geeignet sein.

Ergebnisse aus in vitro Studien [101,102] und in vivo zeigen den Einsatz als Knochenersatzwerkstoff im craniofacialen bzw. maxillofacialen Bereich und der Orbitaregion [103,104]. In vivo sind HA-bildende Zemente unter normalen physiologischen Bedingungen unlöslich, da physiologische Flüssigkeiten (Speichel, Blut etc.) in Hinsicht auf HA übersättigt sind. Im sauren Milieu, wie es von Osteoklasten oder säureproduzierenden Zellen gebildet wird, findet eine Resorption des Werkstoffes von der Oberfläche her statt. Durch Einfluß von  $\text{NaHCO}_3$  [105] kann die Apatitstruktur durch Carbonationen modifiziert und die Löslichkeit verstärkt werden, was zu einer vermehrten Resorption durch die Osteoklasten führt.

### 2.3.2 *Bruschit-bildende Zemente*

Ausgangswerkstoffe für die Bildung von DCPD sind  $\beta$ - Tricalciumphosphat, Monocalciumphosphat Monohydrat (MCPM) [106] bzw. Phosphorsäure [107] bei einem pH-Wert der Zementpaste unter 4,2.



Gleichung V zeigt die Synthese von Bruschnit durch Reaktion von  $\beta$ -TCP mit Phosphorsäure in wässriger Umgebung. Vorteile der Reaktion sind die besseren chemischen und physikalischen Eigenschaften, die einfache Herstellung und die leichte Kontrolle der Reaktivität der Zementformulierung. Allerdings beeinflusst der niedrige pH-Wert während der Abbindereaktion negativ die Biokompatibilität des Zements. Aufgrund der geringeren Umsetzungsrate und höheren Porosität der Zementmatrix führt dies zu weniger stabilen Zementen.

Die Umsetzung von  $\beta$ -TCP und saurem Monocalciumphosphat Monohydrat (MCPM) im Verhältnis 1:1 führt ebenso zu Bruschnit (Gleichung IV). Die Säure-Base Reaktion verläuft leicht exotherm [108] bei einem pH-Wert zwischen 3,0-3,5 aufgrund der Freisetzung von  $\text{H}^+$ -Ionen während der Produktbildung [107]. Röntgendiffraktometrische Untersuchungen zeigten, daß überschüssiges  $\beta$ -TCP im

abgebundenen Zement unverändert vorliegt [100] und durch tafelförmige DCPD Kristalle verbrückt wird.

Im Vergleich zu Hydroxylapatit besitzt Brushit eine hohe Kristallwachstumsrate, so daß die Abbindereaktion innerhalb weniger Sekunden abläuft [100,106]. Der Einsatz von Abbindeverzögerern wie Pyrophosphaten, Sulfaten oder Citraten ermöglicht die Herstellung von Zementen mit Abbindezeiten zwischen 3-8 min. [109,110]. Pyrophosphationen und Sulfationen setzen sich am Zentrum der Kristallkeimbildung fest und hemmen das Kristallwachstum von Brushit. Citrationen blockieren die Dissoziation der Ausgangsverbindung durch Ladungsänderung an der Partikeloberfläche und die Zementpaste bleibt länger flüssig [111]. Von besonderem Interesse sind Pyrophosphat und Zitrat als Reaktionsinhibitoren, da sie in physiologischen Flüssigkeiten vorkommen. Nachteil der Brushit - bildenden Zementformulierungen sind die geringeren mechanischen Festigkeiten als bei Apatit-Zementen. In der Literatur werden für  $\beta$ -TCP / MCPM-Zement Druckfestigkeiten von 1-24 MPa [100,112,113] und Zugfestigkeiten von 0,7-4,5 MPa [109,110] beschrieben.

Im Gegensatz zu Hydroxylapatit – bildenden Zementen sind Brushit - bildende Zemente besser resorbierbar unter physiologischen Bedingungen [133], da Brushit eine wesentlich höhere Löslichkeit hat bei pH 7,4 als Hydroxylapatit. Das Löslichkeits- und Resorptionsverhalten von Brushitzementen wurde in verschiedenen in vitro und in vivo Studien untersucht [9,134,135]. Sie liegen bis zu 10-15 mal höher als bei Hydroxylapatit [134]. Die Umwandlung der Brushit-Matrix in schwerlösliches Hydroxylapatit in wässriger Lösung wird durch den hohen Proteingehalt des Extrazellulärraums unterdrückt und die Auflösung des Zements gleichzeitig beschleunigt. Die Zersetzung des Zements erfolgt thermodynamisch aufgrund der Instabilität von Brushit im physiologischen Milieu sowie säurekatalysiert durch die Osteoklasten in der Regel zeitgleich mit der Knochenneubildung. In vivo Studien zeigten schon nach vier Wochen ein Knochenwachstum an der Grenzfläche zwischen Zement und Knochen. Nach 16 Wochen wurde eine vollständiger Ersatz des Werkstoffes durch neugebildeten Knochen festgestellt [9,135].

### 3. Material und Methode

#### 3.1 Chemikalien

Die zur Herstellung der Calciumphosphat-Zemente verwendeten Calciumhydrogenphosphate, DCPA, wurden von den Firmen *Alfa Aesar*, Karlsruhe, *Baker*, Phillipsburg/USA, *Merck*, Darmstadt, und *Sigma-Aldrich*, Deisenhofen, in Analysenreinheit bezogen. Das verwendete Calciumcarbonat, CC, Chargen-Nr. 1464, stammt von der Firma *Baker*, Phillipsburg/USA und von *Merck*, Darmstadt Chargen-Nr. 1.0269, 1.12120, 2069. Firmeninterne Materialbezeichnungen und Herkunft der wasserfreien Calciumhydrogenphosphate sind in Tabelle 2 aufgeführt. Alle Lösungsmittel besaßen Analysequalität und wiesen einen maximalen Wassergehalt von 0.2% auf.

**Tab. 2:** Herkunft verschiedener Calciumphosphat-Edukte

DCPA	Firma	Chargennummer
1a	Aldrich	15789-126
1b	Alfa Aesar	F10126
1c	Baker	1430-01/I46650
1d	Merck	K91108044 834
1e	Sigma	77H0484
1f	Eigenproduktion	-

**Tab. 3:** Herkunft verschiedener Calciumcarbonat-Edukte

CC	Firma	Chargennummer
2a	Merck	2069 K20898469 428
2b	Merck	112120 A968520 825
2c	Merck	102069 K22496469 604
2d	Baker	

#### 3.2 Geräte

Die zur Synthese von Calciumphosphat-Zementen eingesetzten Tetracalciumphosphate wurden über Sinterverfahren in einem Laborofen OTV System Vecstar der Fa. *Oyten*, Oyten, hergestellt. Als Hilfsmittel wurden Alsint-Tiegel mit Deckel der Fa. *Friatec* verwendet. Maschinelle Siebungen erfolgten mittels einer Vibrations-

siebmaschine Analysette 3 der Fa. *Fritsch*, Idar-Oberstein. Zur Mahlung der Calciumphosphate stand eine Planetenschnellmühle PM400 der Fa. *Retsch*, Haan, mit Mahlbechern aus Achat (250 ml + 500 ml), sowie Kugeln ( $\varnothing$  10 mm und 30 mm) der Fa. *Retsch* des gleichen Werkstoffs zur Verfügung. Außerdem wurden 500 ml Mahlbecher und Kugeln ( $\varnothing$  10 mm und 30 mm) aus Zirkonoxid der Fa. *Retsch* verwendet. Bei der Trocknung der verschiedenen Pulver fanden folgende Geräte Verwendung: Vakuumpumpe der Fa. *Leybold*, Köln, Rotationsverdampfer der Fa. *Heidolph*, Schwabach, Trockenschrank der Fa. *Memmert*, Schwabach.

Für rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von Pulvern wurde ein DSM 940 der Fa. *Zeiss*, Oberkochen, mit integriertem SE- und BSE-Detektor verwendet. Die Bedampfung der Prüfkörper mit einer leitfähigen Goldschicht erfolgte im Vakuum mit einem Gerät des Typs K250 der Fa. *Emitech*. Die Partikelgrößen wurden an einem CASY<sup>®</sup> 1 TTC-„Cell Counter“ and Analyser System der Fa. *Schärfe* System, Reutlingen, bestimmt. Als Suspensionsmittel diente eine sterile isotonische Kochsalzlösung CASYTON<sup>®</sup>, als Reinigungsmittel eine CASYTON<sup>®</sup>-Lösung der Fa. *Schärfe* System. Die Kapillarabschirmung für die Messung feinkörniger Fraktionen bestand aus zwei Edelstahlblechen der Fa. *Schärfe* System. Zur Ermittlung des Protolysegrads stand eine pH-Elektrode Delta 345 der Fa. *Mettler-Toledo*, Gießen, zur Verfügung. Die Kalibrierung des Geräts erfolgte mit Hilfe standardisierter Pufferlösungen der Fa. *Merck*, Darmstadt. Mechanische Prüfungen wurden an einer Universal-Materialprüfmaschine 1445, Fa. *Zwick*, Ulm, ausgeführt. Phasenanalysen wurden mit einem Röntgendiffraktometer D5005 der Fa. *Siemens*, Karlsruhe, bei einer Kathodenspannung von 40 kV und einer Stromstärke von 40 mA durchgeführt. Messung und Auswertung der Spektren erfolgte mit Hilfe der Software DIFFRAC<sup>plus</sup> der Fa. *Siemens*, Karlsruhe.

### 3.3 Synthese und Mahlung von Calciumphosphaten

#### 3.3.1 Nassmahlung von Calciumhydrogenphosphat (DCPA)

Bei der Mahlung wurden die verschiedenen wasserfreien Calciumhydrogenphosphate **1a** - **e** ohne weitere Aufbereitung eingesetzt. Es wurde sowohl mit Achatmahlbechern (250ml-500ml), als auch mit Zirkonoxidbechern (500ml) und den dazugehörigen Kugeln ( $\varnothing$  10mm) gemahlen. Die 250ml-Achatbecher wurden mit



jeweils 50g DCPA, 50ml Ethanol und 50 Achatkugeln ( $\varnothing$  10mm) gefüllt. Die 500ml-Becher dagegen wurden mit 125g DCPA, 125 ml Lösungsmittel und 100 Kugeln ( $\varnothing$  10mm) gefüllt. Als Lösungsmittel fanden Ethanol, Isopropanol, Methanol, Ethylenglycol und Aceton Verwendung. Die Mahldauer variierte zwischen 24 h und 36 h. Die Mahlparameter von 250 U/min und minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung blieben konstant. Das Entfernen des Lösungsmittels erfolgte bei 80°C für 7h im Trockenschrank, mit Ausnahme von Methanol und Ethylenglykol, welches im Rotationsverdampfer unter Vakuum im Wasserbad (ca. 100°C) 3,5h getrocknet wurde. Zur Beurteilung der Korngröße wurde das DCPA sowohl mit dem CASY® 1 TTC- Cell-Counter, als auch mit dem Rasterelektronenmikroskop untersucht.

### 3.3.2 Herstellung von Tetracalciumphosphat (TTCP)

#### Mischung von DCPA und CC

Kommerziell erhältliches Calciumcarbonat (350,315g; 3,54mol) von Merck und DCPA (476, 210g; 3,5mol) von Merck wurden im Pflug-Schar-Mischer trocken gemischt. Dabei wurden die Parameter Mahldauer (1-2h), Mahlmenge (1-2l Volumen) und die Umgebungsbedingungen variiert. Danach wurde das Produkt unter Feuchtigkeitsausschluß aufbewahrt.

**Tab. 4:** Mischparameter von TTCP (Merck)

Mischung	Dauer	Umgebungsbed.	Mahlmenge
A	1h	Luft	2l Volumen
B	1h	1Hz; 2mbar; 22,3°C	1l Volumen
C	2h	Luft	2l Volumen
D	1h	Luft	1l Volumen

Beim Nass-Mischverfahren wurde das Calciumcarbonat (107,6g; 1,08mol) in 300ml Lösungsmittel suspensiert und nach halbstündigem Aufschlännen im Ultraschallbad 24h auf einem Magnetrührer gemischt. Anschließend erfolgte die Abtrennung grober Teile, die sonst beim Sintern zu Calciumoxid verbrennen würden, durch ein Analysesieb der Porengröße 160 $\mu$ m. Nach spatelweiser Zugabe von wasserfreiem Calciumhydrogenphosphat, DCPA, (153, 9g; 1,13mol) wurde die Mischung 48h bei

Raumtemperatur unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Das Produkt wurde mit einem Glastrichter (G4) unter Vakuum schnell abfiltriert und ca 2h im Trockenschrank bei 80 °C getrocknet.

**Tab. 5:** Zusammensetzung unterschiedlicher Tetracalciumphosphate

<b>TTCP</b>	<b>CC</b>	<b>DCPA</b>
3 (Alfa)	2b (Merck)	1b (Alfa)
4 (Aldrich)	2b (Merck)	1a (Aldrich)
5 (Baker)	2b (Merck)	1c (Baker)
6 (Merck)	2b (Merck)	1d (Merck)
7 (Sigma)	2b (Merck)	1e (Sigma)

### *Sinterung*

Die so gewonnenen Pulvergemische wurde einem Sinterprozess unterworfen, wobei Aufheizphase (15 °C pro Minute) und Sintertemperatur (1500 °C) als konstant galten. Die Dauer des Sinterprozesses sowie die Abkühlung des Sinterkuchens wurden variiert. Anschließend wurde der Sinterkuchen grob zerschlagen und unter Feuchtigkeitsausschluß in einer Glovebox aufbewahrt. Die qualitative Beurteilung des Produkts erfolgte mittels Röntgendiffraktometrie in einem Messbereich von 20°-40° bei einer Geschwindigkeit von 2 deg/min und einer Schrittweite von 0,01°.

### *Mahlung*

Die Sinterkuchen wurden im Mörser per Hand grob zerkleinert. Zur Mahlung wurden 500ml Zikonoxidbecher mit Tetracalciumphosphat (125g; 0,341mol) und je 4-7 Mahlkugeln (Ø 30mm) befüllt. Die Mahldauer variierte zwischen 20 und 60 Minuten bei 200 U/min und minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung.

**Tab. 6:** Mahlparameter von TTCP (Merck), 6 h gesintert

<b>TTCP</b>	<b>U / min</b>	<b>Mahldauer</b>	<b>Kugeln (Ø 30mm)</b>
6a	200	20 min	4
6b	200	30min	4
6c	200	30 min	7
6d	200	60 min	4

*Mahlung von TTCP nach verbesserter Methode*

Nachdem die Sinterkuchen in einem Mörser grob zerschlagen worden waren, wurden jeweils 50g in einer Kaffeemühle ca. 10 Sekunden geschreddert. Anschließend wurde das Pulver in einer Vibrationssiebmaschine Analysette 3 der Fa. *Fritsch*, Idar-Oberstein, von Partikeln größer als 160µm getrennt. Der Rest wurde erneut geschreddert und gesiebt. Das gesiebte Material wurde in zwei 250ml Achatmahlbecher zu je 50g und 4 Mahlkugeln (Ø 30mm) trocken gemahlen. Als Mahlparameter wurden unterschiedliche Umdrehungszahlen und Mahlzeiten gewählt bei minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung. Die unter staub- und feuchtigkeitsreduzierten Bedingungen erhaltenen Pulver wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt.

**Tab. 7:** Mahlparameter von TTCP

<b>TTCP</b>	<b>Sinterdauer</b>	<b>U / min</b>	<b>Mahldauer</b>	<b>Kugeln (Ø 30mm)</b>
5a (Baker)	4h	175	5 min	4
5b (Baker)	4h	200	5 min	4
5c (Baker)	4h	200	10 min	4
5d(Baker)	6h	175	5 min	4
5e (Baker)	6h	200	5 min	4
5f (Baker)	6h	200	10 min	4
6e (Merck)	4h	175	5 min	4
7a (Sigma)	4h	175	5 min	4
3a (Alfa)	4h	175	5 min	4
4a (Aldrich)	4h	175	5 min	4

### 3.3.3 Herstellung von $\beta$ -Tricalciumphosphat

#### Mischung von DCPA und CC

Bei der Herstellung von  $\beta$  - TCP wurden die verschiedenen Calciumhydrogenphosphate (**1a-e**) und Calciumcarbonat (**2b**) im Verhältnis 2:1 nass gemischt. Dabei wurde das Calciumcarbonat (**2b**) in 300 ml Ethanol suspensiert. Nach 5 minütigem Aufschlännen wurde das DCPA spatelweise zugegeben und anschließend 24 h auf dem Magnetrührer vermengt. Das gewonnene Gemisch wurde mit einem Glasrichter (G4) unter Vakuum schnell abfiltriert und ca 1-3 h im Trockenschrank bei 80 °C getrocknet.

**Tab. 8:** Zusammensetzung unterschiedlicher  $\beta$  - Tricalciumphosphate

$\beta$ - TCP	CC	DCPA
8	2b (Merck)	1b (Alfa)
9	2b (Merck)	1c (Baker)
10	2b (Merck)	1d (Merck)
11	2b (Merck)	1e (Sigma)

#### Sinterung

Der Sinterprozeß erfolgte bei einer Aufheizphase von 15 °C pro Minute und einer Sintertemperatur von 1000 °C über einen Zeitraum von 24 h. Die Abkühlung des Sinterkuchens wurde durch Herunterfahren der Sinterbecher aus dem Ofen bei ca. 1200 °C beschleunigt. Abschließend wurden die Sinterkuchen bei einer Resttemperatur von 400 °C in einen Exsikkator gestellt. Nach vollständiger Abkühlung wurde das  $\beta$  - TCP im Mörser grob zerkleinert und mittels Röntgendiffraktometrie auf Phasenreinheit überprüft. Um die vollständige Umsetzung zu  $\beta$  -TCP zu erhalten, mußten 2% DCPA (9,45mmol / 1,29g) hinzugegeben werden. Die Durchmischung des gesinterten Pulvers und des DCPA`s erfolgten wie angegeben. Danach wurde das Pulver erneut über 24 h bei 1000 °C gesintert. Zur weiteren Verwendung wurde das  $\beta$ -TCP nach Abkühlung unter Feuchtigkeitsausschluß aufbewahrt.

#### Mahlung

In einem Porzellanmörser wurde das  $\beta$  -TCP zunächst von Hand grob zerkleinert. Zur Trockenmahlung wurden zwei 250 ml Achatmahlbecher mit 30g  $\beta$  - TCP und vier

Mahlkugeln ( $\varnothing$  30mm) befüllt. Als Mahlparameter wurden 200 Umdrehungen pro Minute mit minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung, sowie einer Mahldauer von 10 Minuten gewählt. Die unter staub- und feuchtigkeitsreduzierten Bedingungen erhaltenen Pulver wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt.

### 3.3.4 Herstellung von $\alpha$ - Tricalciumphosphat

Die Herstellung von  $\alpha$  -TCP erfolgte durch Erhitzen des synthetisierten  $\beta$  - TCP`s im Sinterofen auf 1400°C über einen Zeitraum von 3h bei einer Aufheizphase von 15°C pro Minute. Bei der Abkühlung des Sinterkuchens wurde wie bei  $\beta$  - TCP verfahren. Das  $\alpha$  - TCP wurde mittels Röntgendiffraktometrie untersucht und unter Feuchtigkeitsausschluß aufbewahrt.

**Tab. 9:** Zusammensetzung unterschiedlicher  $\alpha$  - Tricalciumphosphate

$\alpha$ - TCP	CC	DCPA
12	2b (Merck)	1b (Alfa)
13	2b (Merck)	1c (Baker)
14	2b (Merck)	1d (Merck)
15	2b (Merck)	1e (Sigma)

## 3.4 Herstellung und Charakterisierung von Calciumphosphat-Zementen(CPC)

### 3.4.1 Mischung von DCPA und TTCP

Die Mischung der Einzelkomponenten erfolgte durch Nassmischung. Das gemahlene DCPA (3,41g; 25mmol) wurde 45 min in 20 ml Ethanol im Ultraschallbad aufgeschlämmt. Nach spatelweiser Zugabe von TTCP (8,75g; 24 mmol) wurde die Suspension 1h unter Feuchtigkeitsausschluß bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer unter Vakuum abgezogen und das Pulver ca. 2h im Trockenschrank bei 80°C getrocknet.

**Tab. 10:** Zusammensetzung der unterschiedlichen Zementpulver

CPC	TTCP	DCPA
<b>175 U, 5min / 6h gesintert</b>		
①	5d (Baker)	1a (Aldrich)
②	5d (Baker)	1b (Alfa)
③	5d (Baker)	1c (Baker)
④	5d (Baker)	1d (Merck)
⑤	5d (Baker)	1e (Sigma)
<b>200U, 10 min / 6h gesintert</b>		
⑥	5f (Baker)	1a (Aldrich)
⑦	5f (Baker)	1b (Alfa)
⑧	5f (Baker)	1c (Baker)
⑨	5f (Baker)	1d (Merck)
⑩	5f (Baker)	1e (Sigma)

#### 3.4.2 Bestimmung der Abbindezeit

Die Abbindezeit der Zemente wurde mit Hilfe des Gilmore-Nadeltests in einer erwärmten Feuchtigkeitskammer bestimmt. Das doppelwandige Gehäuse aus Edelstahl hatte die Form eines Quaders. Die Innenwand war nach oben offen und die Vorderseite des Gehäuses wurde durch eine PMMA-Türe verschlossen, die beidseitig abgedichtet war. In der Außenwand der doppelwandigen Bodenplatte war ein Zu- und Abfluß. Die Probenform war auf einem drehbaren Teller in der Mitte der Bodenplatte justiert. Sie bestand aus zwei Teilen: a) dem runden Unterteil mit zylindrischem Zapfen an der Oberseite und Mitnehmernut für die Drehvorrichtung an der Unterseite und b) dem Oberteil, einem angefasten Kreisring mit 60° Skalierung. Die zentrische Vertiefung (Ø 12 x 3 mm) zwischen Ober- und Unterteil diente zur Aufnahme der Zementpaste. Die Gilmore-Nadel war zentrisch an einem Stempel mit Gewicht angebracht, der oberhalb der Deckplatte mit einer Klemmschraube in der gewünschten Position fixiert werden konnte. An der Unterseite der Abdeckplatte waren 2 Ventilatoren zur Umwälzung der Innenluft befestigt. Um in der "Klimakammer" eine Innentemperatur von 37°C ± 1°C und eine Luftfeuchtigkeit >90% zu erzeugen, wurden ein an der Bodenplatte fixiertes Thermostat auf eine Temperatur von ca. 38-39°C und ein zweites, an der seitlichen Außenwand angebrachte Thermostat ,auf ca. 43-44°C geregelt. Die Ventilatoren zur Luftumwälzung wurden an eine Gleichstromquelle (Typ Digi 35 der Firma Conrad

Elektronics) angeschlossen und mit einer Spannung von 12V und einer Stromstärke von 16 mA versorgt. Temperatur und Luftfeuchtigkeit in der Kammer wurden durch einen Thermohygrometer überwacht. Zur Gewährleistung einer vollständigen Durchwärmung der Apparatur waren die beschriebenen Maßnahmen mindestens 1 Stunde vor Beginn der ersten Messung auszuführen.

Das Anmischen der Zementpasten wurde in Latex-Fingerlingen (Suzuki Latex USA`s Edel-C) durchgeführt, um das Verdunsten von Wasser aus der Zementpaste während des Mischvorgangs zu verhindern. Für eine Standardmessung wurden jeweils 1,0 g Zement in einen Plastikfingerling eingewogen. Zur Gewährleistung des Ausschlusses von Feuchtigkeit bis zum Beginn der Prüfung wurden die Fingerlinge anschließend gekürzt. Für das Anmischen von Calciumphosphatzementen war ein Pulver / Lösung-Verhältnis von 3,3:1 vorgegeben, die flüssige Phase bestand aus aqua ad injectabilia bzw. 0,25 m Natriumhydrogenphosphat - Lösung. Damit möglichst wenig Luft im Inneren verblieb, wurde nach Zugabe von 303 µl Lösung der Fingerling mit einer Klemme am oberen Ende verschlossen. Für die gleichmäßige Vermischung beider Komponenten sorgte das ca. 15 sec. lange Kneten des Fingerlings auf der vibrierenden Auflage eines Mixers (Thermolyne vibratory mixer Maxi mix II, Typ37600, Fa. *Barnstead*, Iowa / USA). Mit Hilfe einer Walzenapparatur und eines Messingspatels wurde die entstandene Zementpaste in die vorgewärmte Probenform gefüllt und die Oberfläche mit einem Objektträger glatt gestrichen. Anschließend wurde die befüllte Probenform in die Klimakammer gegeben und die Skalierung der Probenform mit der Skalierung der Bodenplatte des Gehäuses in Übereinstimmung gebracht. Die Zeitspanne zwischen Beginn des Anmischens und des Einspannens der Probenform in die Klimakammer durfte nicht länger als 1 Minute sein und die Probenform mußte vor jeder Befüllung unter fließendem heißem Wasser vorgewärmt werden (max 1min).

Durch Absenkung einer Nadel der Größe G1 auf die Oberfläche der Probe in festgelegten Zeitabständen wurde die Abbindezeit gemessen. Die Probenform wurde über die Drehvorrichtung um 60° gedreht; so wurden pro angemischtem Zementpulver 6 Messungen durchgeführt. Sobald die Nadel keinen Abdruck auf der Oberfläche hinterließ, galt die Zementmischung als abgebunden. Danach wurde

jeder Probenkörper mit Hilfe eines Auflichtmikroskops bei zehnfacher Vergrößerung beurteilt.

#### *3.4.3 pH-Wert-Einstellung*

Die verschiedenen Zementpulver (siehe Tab. 10) wurden wie unter 3.4.1 beschrieben nass gemischt. Zur pH-Wert-Einstellung wurde zunächst CPC (2,70g TTCP / 1,0g DCPA) in 30 ml aqua ad injectabilia suspendiert und nach 1 min Rühren der Ausgangs pH-Wert bestimmt. Unter ständigem Rühren auf dem Magnetrührer wurde portionsweise DCPA zugegeben bis ein physiologischer pH-Wert von 8 erreicht war. Der Versuch wurde unter Feuchtigkeitsausschluß und bei Raumtemperatur durchgeführt. Nach 7 Tagen wurde erneut der pH-Wert bestimmt. Die Lösung wurde im Trockenschrank bei 120°C getrocknet und röntgendiffraktometrisch untersucht. In einem weiteren Versuch wurde CPC und mit einem leichten Überschuß an DCPA (2,70g TTCP / 1,60g DCPA), um den pH-Wert zu senken in 30 ml aqua ad injectabilia bzw. 0,25 m Natriumhydrogenphosphatlösung suspendiert und der pH-Wert bestimmt. Anschließend wurde die Mischung 24h lang auf dem Magnetrührer bei Raumtemperatur unter ständigem Rückfluß gerührt. Nachdem das Pulver im Trockenschrank getrocknet war, wurde es röntgendiffraktometrisch untersucht.

#### *3.4.4 Röntgendiffraktometrische Untersuchung im XRD*

Das trockene Pulver wurde im Achat-Mörser fein zerrieben. Anschließend wurde eine geringe Probenmenge Pulver auf dem Probenträger mit Exsikkatorfett fixiert. Mit einem Objektträger wurde die Probe glatt gestrichen um eine homogene, matt glänzende Oberfläche zu erreichen. Proben- und Probenträgeroberfläche mußten ein Niveau bilden, Erhebungen und Vertiefungen in der Probe sind zu vermeiden um Meßfehler auszuschließen.

Die Reinheits- und Identitätsprüfung erfolgte über charakteristische Röntgen-Beugungsreflexe der verschiedenen Calciumphosphate. Der Großteil dieser Reflexe findet sich im Winkelbereich zwischen 20°-40°. Daher wurde die qualitative Beurteilung der Proben in einem Messbereich von 20°-40° bei einer Geschwindigkeit von 2 deg/min und einer Schrittweite von 0,01° vorgenommen. Da sich viele Beugungslinien von Calciumphosphaten überlagern, sind Aussagen über



Substanzgemische bisweilen schwierig zu treffen. Verunreinigungen oder anteilige Komponenten können durch veränderte relative Intensitätsverhältnisse erkannt und identifiziert werden. Eine quantitative Analyse z.B. über die Umsetzung von Hydroxylapatit bei der Abbindereaktion ist nur bedingt möglich. Aus diesem Grund erfolgte die Beurteilung der CPC - Röntgendiffrakrogramme semi-quantitativ in folgenden Schritten:

- keine Umsetzungsrate: Kein HA im Diffraktogramm nachweisbar
- geringe Umsetzungsrate: HA nachweisbar; Intensität des Peaks bei  $26^\circ$  wesentlich kleiner als die von DCPA bei  $26,4^\circ$  und  $26,9^\circ$ .
- mittlere Umsetzungsrate: HA nachweisbar; Intensität des Peaks bei  $26^\circ$  in der selben Größenordnung der Peaks von DCPA bei  $26,4^\circ$  und  $26,9^\circ$ .
- hohe Umsetzungsrate: Intensitäten des HA-Peaks bei  $26^\circ$  und der TTCP-Peaks bei  $29,2^\circ$  und  $29,9^\circ$  sind etwa gleich hoch; DCPA ist nicht mehr nachweisbar.
- vollständige Umsetzung: kein DCPA oder TTCP nachweisbar.

### 3.5. Partikelgrößenanalyse

#### 3.5.1 Optische Charakterisierung über Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Im Ultraschallbad wurde von jeder Probe eine Spatelspitze (max. 1,00 mg) in 1,50 ml wasserfreiem Iso-Propanol aufgelöst. Die Mischung wurde auf einen Objektträger aus Aluminium aufgebacht und an der Luft getrocknet zur Entfernung des Suspensionsmittels. Zur Erzielung einer leitfähigen Oberfläche wurden die Pulverpartikel mit Gold bedampft. Bei einer Beschleunigungsspannung von 5 - 15 kV wurden die Präparate optisch beurteilt. Die rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung erfolgte bei gemahlener Calciumhydrogen- und Tetracalciumphosphaten anhand zufällig ausgewählter Oberflächenbereiche.

#### 3.5.2. Partikelgrößenbestimmung durch "Cell Counter"

Für die Partikelgrößenbestimmung standen je nach Pulvergröße zwei auswechselbare Kapillaren mit 60  $\mu\text{m}$  und 150  $\mu\text{m}$  Durchmesser zur Verfügung. Um zu erreichen, daß die Leermessung mit CASYTON<sup>®</sup> - Lösung die maximale Anzahl von 25 counts nicht übersteigt, wurde das Kapillarsystem vorher mit der Lösung gereinigt. Im Ultraschallbad wurde von jeder zu untersuchenden Probe eine kleine

Spatelspitze in 10 ml steriler isotonischer CASYTON<sup>®</sup> - Messlösung suspensiert und anschließend vermessen. Die Kapillaren wurden nach jeder Messung zweimal mit CASYTON<sup>®</sup> - Reinigungslösung gespült und nach 20 min nochmal mit destilliertem Wasser und steriler isotonischer CASYTON<sup>®</sup> - Lösung gereinigt. Alle Messungen wurden dreimal durchgeführt und daraus die mittlere Partikelgröße errechnet.

#### *Calciumhydrogenphosphat (DCPA)*

Die Suspension von gemahlene und synthetisierten Calciumhydrogenphosphat (1,00 mg,  $7,30 \cdot 10^{-3}$  mmol) in steriler isotonischer CASYTON<sup>®</sup> - Lösung wurde 5 min im Ultraschallbad aufgeschlämmt. Danach wurden die Proben mit einer 60 µm - Kapillare in einem Bereich von 0-20 µm vermessen, wobei der Kapillarbereich durch zwei entsprechend geformte Edelstahlbleche abgeschirmt wurde.

#### *Tetracalciumphosphat (TTCP)*

Es wurden 5,90 mg ( $1,61 \cdot 10^{-2}$  mmol) gemahlene oder ungemahlene Tetracalciumphosphat abgewogen und in steriler isotonischer CASYTON<sup>®</sup> - Lösung aufgelöst. Die Suspensionen wurden 2 min mit Ultraschall behandelt. Für die Messung wurden 150µm - Kapillare verwendet mit einem Messbereich zwischen 2,56µm und 60µm.

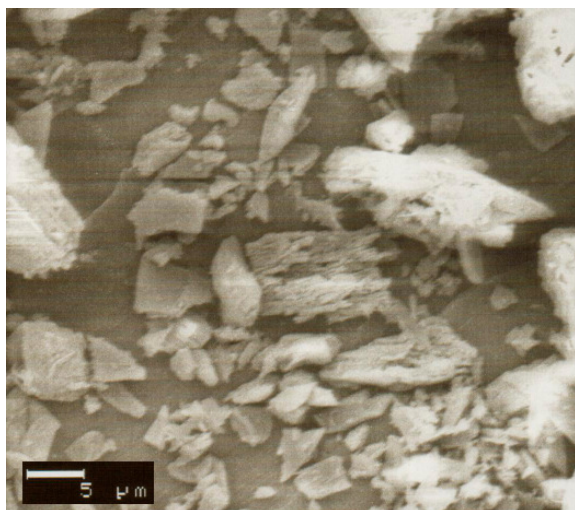
## 4. Ergebnisse

### 4.1 Untersuchung der Edukte

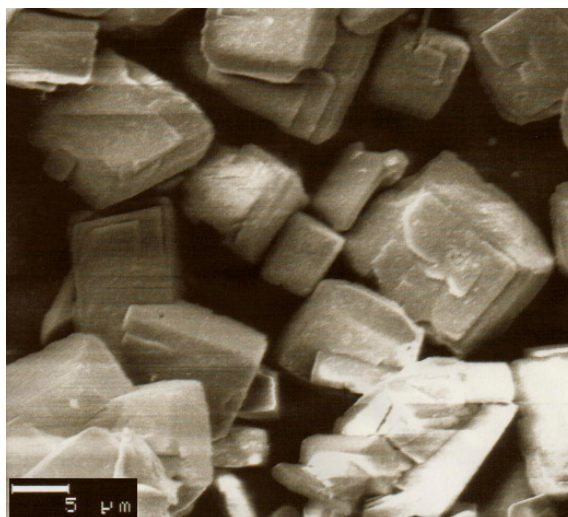
#### 4.1.1. Calciumhydrogenphosphat (DCPA)

Bei der Charakterisierung des Calciumhydrogenphosphatanhydrids (DCPA) wurden Chargen der Firmen *Alfa Aesar*, Karlsruhe, *Baker*, Philippsburg (USA), *Merck*, Darmstadt und *Sigma Aldrich*, Deisenhofen (siehe Tabelle 2) herangezogen und ohne weitere Aufbereitung mittels rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen und Korngrößenanalyse im „Cell Counter“ verglichen. Die Phasenreinheit der Calciumhydrogenphosphate konnte mittels Röntgendiffraktometrie nachgewiesen werden.

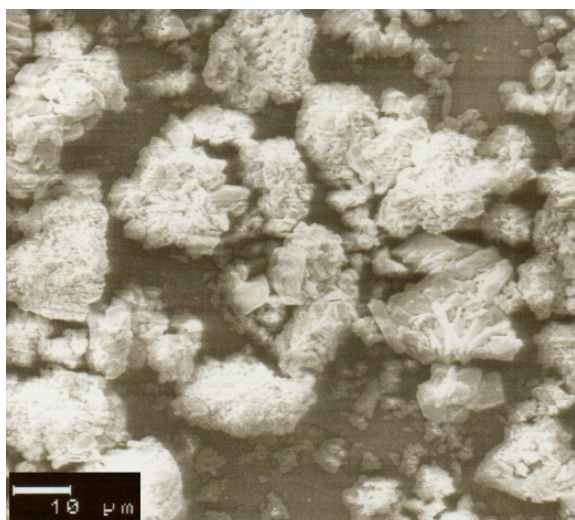
Bei der optischen Beurteilung der Bildausschnitte sind bei **1b** (Alfa) einzelne splitterartige Strukturen zwischen 2-5 µm und Agglomerate aus schieferartigen Kristallen erkennbar, die sich in dünnen Platten in der Größenordnung zwischen 15 – 37 µm abgliedern. Die Calciumhydrogenphosphate **1a** (Aldrich) und **1d** (Merck) zeigten fast ausschließlich Agglomerate zwischen 7 – 17 µm bzw. 5 – 28 µm, die sich aus unregelmäßig strukturierten Einzelpartikeln zwischen 1 - 2 µm zusammensetzten. Im Vergleich zu den anderen untersuchten Calciumhydrogenphosphaten war **1c** (Baker) gekennzeichnet durch größere, einzelne monokline Kristalle von gleichmäßiger Struktur zwischen 7 – 15 µm. Es fanden sich keine Agglomerate. Neben wenigen großen Partikelverbänden zwischen 25 – 50 µm überwiegt bei **1e** (Sigma) der Feinkornanteil, bestehend aus unregelmäßig geformten Einzelteilchen der Größe 1 – 5 µm. Das synthetisierte Calciumhydrogenphosphat **1f** (Eigenproduktion) wies hauptsächlich größere Agglomerate in der Größenordnung zwischen 30 - 80 µm auf, welche aus Einzelpartikeln unterschiedlichster Struktur bestehen zwischen 1 - 15 µm. In den Partikelverbänden fallen besonders vereinzelt monokline Kristalle auf, zwischen 10-15 µm, die an die Struktur von **1c** (Baker) erinnern.



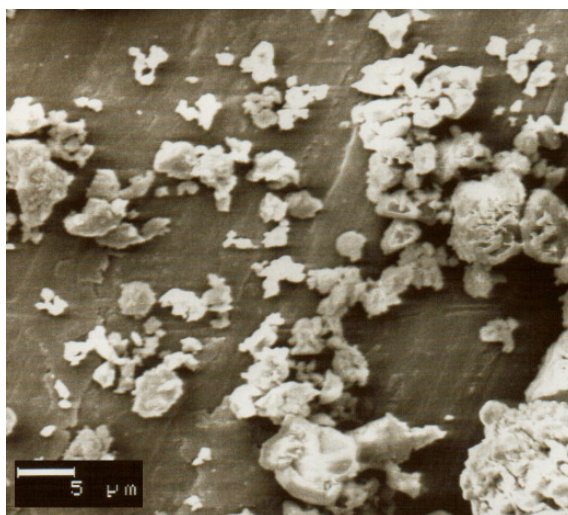
**Abb. 2:** REM-Aufnahme DCPA 1b (Alfa)  
ungemahlen



**Abb. 3:** REM-Aufnahme DCPA 1c (Baker)  
ungemahlen



**Abb. 4:** REM-Aufnahme DCPA 1d (Merck)  
ungemahlen



**Abb. 5:** REM-Aufnahme DCPA 1e (Sigma)  
ungemahlen



**Abb. 6:** REM-Aufnahme DCPA 1f  
(Eigenproduktion) ungemahlen

Bei der Partikelgrößenanalyse mit Hilfe eines „Cell Counters“ konnten vergleichbare Werte ermittelt werden. Die durchschnittliche Korngröße lag bei 3,99  $\mu\text{m}$  (**1a**) - 5,86  $\mu\text{m}$  (**1c**). Die Korngrößenverteilungsfunktion enthielt meist nur ein Maximum, das sich im Bereich von 1,81  $\mu\text{m}$  (**1a**) und 2,83  $\mu\text{m}$  (**1c**) bewegte. Auffällig war die relativ breit gefächerte Korngrößenverteilung bei Calciumhydrogenphosphat **1c**, welches auch den höchsten Grobkornanteil mit 52% aufwies. Partikelverbände von über 20  $\mu\text{m}$  konnten kaum nachgewiesen werden, da diese durch eine Vorbehandlung im Ultraschallbad zerschlagen werden konnten. Der Hauptanteil der vermessenen Partikel lag unter 5  $\mu\text{m}$ . Der höchste Feinkornanteil mit 76,2 % konnte bei Calciumhydrogenphosphat **1a** gemessen werden.

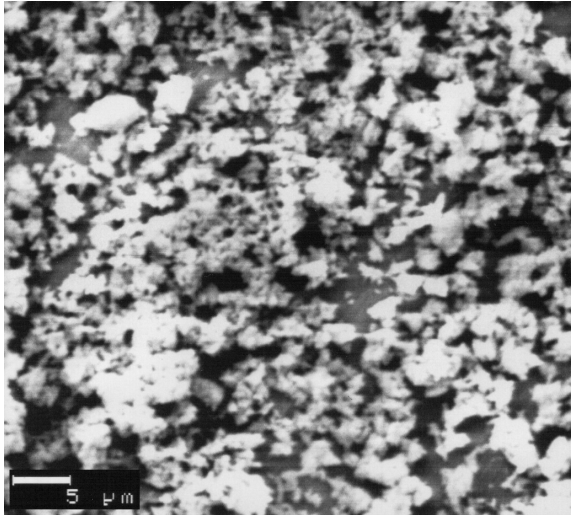
**Tab. 11:** Korngrößen Calciumhydrogenphosphat ungemahlen

<b>DCPA</b>	<b>MAX in mm</b>	<b>Mean Dia Ø in mm</b>	<b>Feinkornanteil ≤5 mm in %</b>	<b>Grobkornanteil &gt; 5 mm in %</b>
1a (Aldrich)	1,81	3,99	76,2	23,80
1b (Alfa)	1,94	4,44	68,40	31,60
1c (Baker)	2,83	5,86	47,50	52,50
1d (Merck)	2,43	4,14	73,10	26,90
1e (Sigma)	2,48	4,51	68,00	32

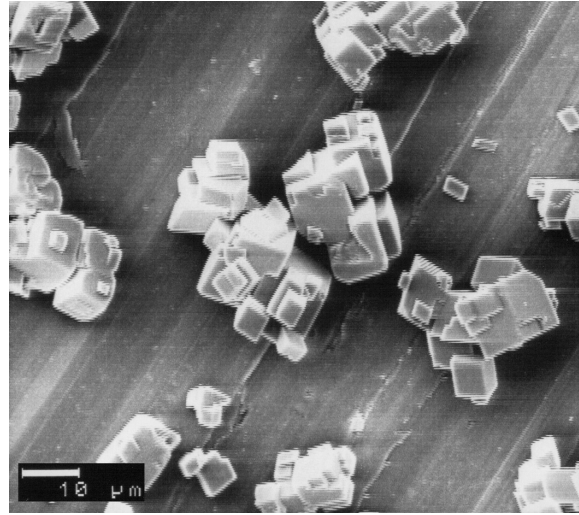
#### 4.1.2 Calciumcarbonat (CC)

Bei Calciumcarbonat wurden drei verschiedene Chargen der Firma *Merck*, Darmstadt und eine Charge der Firma *Baker*, Phillipsburg (USA) ebenfalls mittels rasterelektronenmikroskopischer Analyse und Korngrößenbestimmung im „Cell Counter“ untersucht. Bei Calciumcarbonat **2a** und **2c** fanden sich kleine unregelmäßig strukturierte Partikel zwischen 0,7 - 2,5  $\mu\text{m}$ , die aber meist zu vielen kleineren Agglomeraten von 4 - 5  $\mu\text{m}$  zusammengelagert waren.

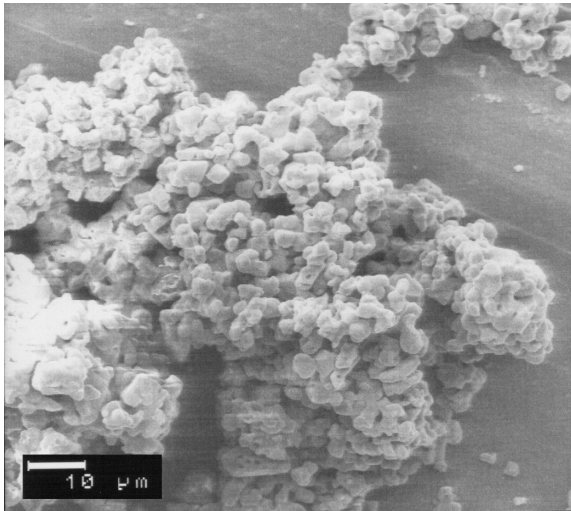
In den Bildausschnitten von Calciumcarbonat **2b** dagegen waren regelmäßige, fast rechteckige Kristallformationen von 2 - 10  $\mu\text{m}$  Größe sichtbar. Die Partikelansammlungen bewegten sich in der Größenordnung zwischen 15 - 35  $\mu\text{m}$ . Das Calciumcarbonat **2d** enthielt korallenförmige Formationen ( $\varnothing$  85  $\mu\text{m}$ ), die aus relativ gleichmäßig geformten Partikeln von 1,5 - 4  $\mu\text{m}$  Größe bestanden. Die Größenunterschiede der einzelnen Partikel waren gering.



**Abb. 7:** REM - Aufnahme CC **2a** (Merck)



**Abb. 8:** REM - Aufnahme CC **2b** (Merck)



**Abb. 9:** REM - Aufnahme CC **2d** (Baker)

Die über die Korngrößenanalyse mittels „Cell-Counter“ erhaltenen Verteilungsfunktionen wiesen ein Maximum zwischen 3,55 (**2a**) und 5,38 μm (**2c**) auf. Im Falle des Calciumcarbonats **2d** wurde ein zweites Maximum mit höherer Intensität bei 8,8 μm verzeichnet. Die mittlere Partikelgröße variierte zwischen 4,56 μm und 9,7 μm. Den höchsten Feinkornanteil von 66,58% enthielt **2a**.

**Tab. 12:** Korngrößen Calciumcarbonat unbehandelt

<b>CC</b>	<b>MAX 1 in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>MAX 2 in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Mean Dia <math>\emptyset</math> in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Feinkornanteil <math>\leq 5 \mu\text{m}</math> in %</b>	<b>Grobkornanteil <math>&gt; 20 \mu\text{m}</math> in %</b>
2a (Merck)	3,55	/	4,56	66,58	0,12
2b (Merck)	3,55	/	8,92	26,6	9,12
2c (Merck)	5,38	/	7,4	23,4	1,44
2d (Baker)	8,86	5,69	9,7	7,1	8

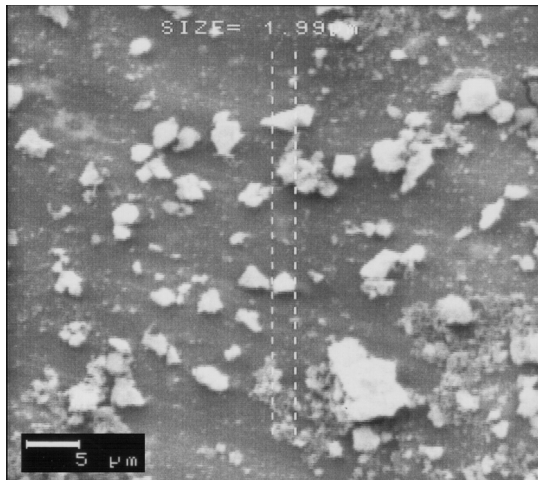
## 4.2 Mahlung von Calciumhydrogenphosphat (DCPA)

Die unter 4.1.1 untersuchten kommerziell erhältlichen Calciumhydrogenphosphate entsprachen nicht den von Chow et al. [115] verlangten Partikelgrößen von 0,7 - 2  $\mu\text{m}$  für die Calciumphosphat-Zement-Synthese. Um geeignete Korngrößen zu erhalten wurden die Calciumhydrogenphosphate erneut gemahlen. Das Mahlen erfolgte sowohl mit aus Zirkonoxid gefertigtem Mahlwerkzeug, als auch mit Mahlzubehör aus Achat. Variiert wurde die Mahldauer und das flüssige Mahlhilfsmittel. Das so erhaltene Mahlgut wurde im Rasterelektronenmikroskop und mittels Partikelgrößenanalyse im „Cell-Counter“ untersucht und verglichen. Außerdem wurde das Zetapotential in verschiedenen Lösungsmitteln bestimmt.

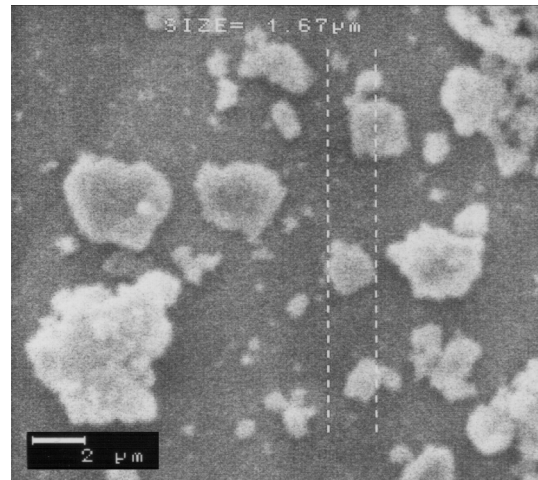
### 4.2.1 Mahlung mit Achat / Zirkonoxid und Variation der Mahldauer

Die Mahldauer variierte zwischen 24h und 36h. Bei den Chargen **1a** - **e** konnten ähnliche Beobachtungen gemacht werden. So lagen bei 36h deutlich mehr gemessene Partikel über 20  $\mu\text{m}$  Größe, besonders bei **1c** (54 Counts bei **1c** (36h) und 14 Counts bei **1c** (24h)). Die durchschnittliche Korngröße und die Maxima von **1b** (Alfa), **c** (Baker), **e** (Sigma) zeigten größere Werte bei 36h. **1a** (Aldrich) und **1d** (Merck) erzielten nach 36h Mahlung etwas bessere Ergebnisse als nach 24h. Es ist anzunehmen, daß durch längeres Mahlen zwar ein großer Feinkornanteil entsteht, aber die Partikel Agglomerate bilden. Diese Vermutung wird durch die Beobachtungen bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen unterstützt. **1a** (36h) und **1b** (36h) wiesen viele sehr kleine Partikel von 0,7 - 1  $\mu\text{m}$  auf; dazwischen zeigten sich vereinzelt größere Teilchen von 4 - 5  $\mu\text{m}$  Größe. Bei **1e** (36h) lag der Hauptanteil in der Größenordnung von 1,99 - 3,9  $\mu\text{m}$ . Es fanden sich aber auch

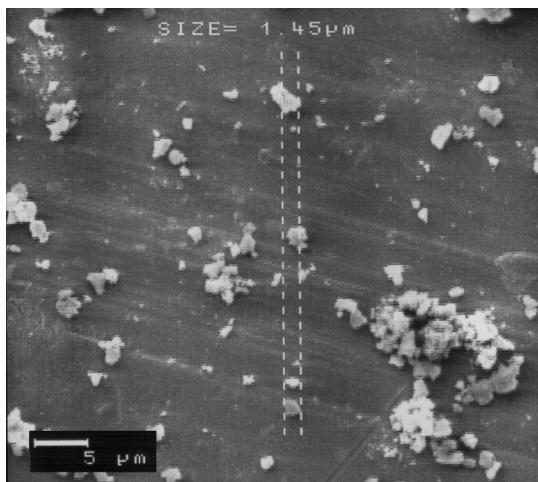
Agglomerate von  $12,5\ \mu\text{m}$ . Der Feinkornanteil von **1c** (36h) lag unter  $2\ \mu\text{m}$ . Zwischen den Agglomeraten waren kaum klar abgegrenzte Einzelpartikel zu unterscheiden.



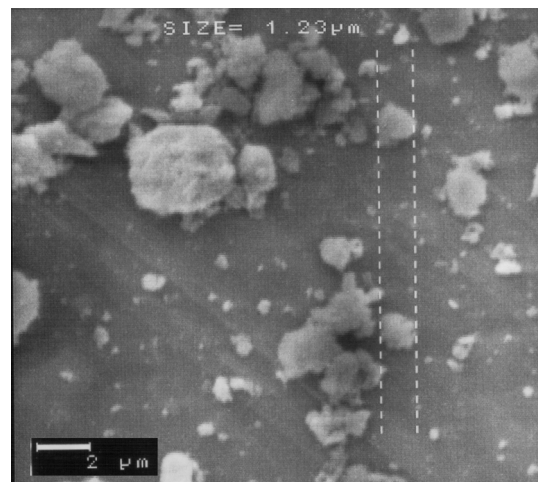
**Abb. 10:** REM - Aufnahme DCPA **1a** (Aldrich)  
24 h gemahlen



**Abb. 11:** REM - Aufnahme DCPA **1a** (Aldrich)  
24 h gemahlen



**Abb. 12:** REM - Aufnahme DCPA **1a** (Aldrich)  
36 h gemahlen



**Abb. 13:** REM - Aufnahme DCPA **1a** (Aldrich)  
36 h gemahlen

Um den Einfluß des Werkstoffes der Kugeln und Mahlbecher zu untersuchen, wurde sowohl mit Achat, als auch mit Zirkonoxid gemahlen. Zirkonoxid ist härter ( $8,5\ \text{Mohs}$ ) als Achat ( $7,0\ \text{Mohs}$ ) und weist eine wesentlich höhere Dichte auf, die bei gleichen Mahlparametern zu einem höheren Energieeintrag in das Mahlgut führt. Allerdings besteht Zirkonoxid nur zu  $97,0\%$  aus  $\text{ZrO}_2$  [116] welches mit  $1\%$   $\text{MgO}$  dotiert. Magnesiumionen inhibieren die Hydroxylapatitkristallisation. Da beim Zerkleinern Abrieb nicht zu vermeiden ist, besteht evtl. die Gefahr der Verunreinigung des Mahlguts.



Die Ergebnisse der Partikelgrößenanalyse des Mahlguts sind in Tabelle 13 wiedergegeben. Dabei ergab sich bei Achat und Zirkonoxid eine ähnliche Korngrößenabstufung der unterschiedlichen Calciumhydrogenphosphate untereinander. Beim Mahlen mit Zirkonoxid konnte allerdings bei **1a** - **e** ein höherer Feinkornanteil von 71% (**1c**) - 95% (**1b**) erreicht werden. Außerdem wurden bei Zirkonoxid insgesamt geringere Korngrößen gemessen. Dies hängt vermutlich mit der wesentlich höheren Dichte von Zirkonoxid ( $5700 \text{ kg/m}^3$ ) im Gegensatz zu Achat ( $2600 \text{ kg/m}^3$ ) zusammen und der damit verbundenen höheren Zerkleinerungsenergie. Das gemahlene Calciumhydrogenphosphat **1b** (Alfa) lag jedoch sowohl bei Zirkonoxid (Max bei  $1,81 \mu\text{m}$ ), als auch bei Achat (Max bei  $1,90 \mu\text{m}$ ) an der Spitze der untersuchten Calciumhydrogenphosphate.

**Tab. 13:** Korngrößen Calciumhydrogenphosphat 24 h in Ethanol mit Zirkonoxid gemahlen

<b>DCPA</b>	<b>MAX 1 in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Mean Dia <math>\varnothing</math> in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Feinkornanteil <math>\leq 5 \mu\text{m}</math> in %</b>	<b>Grobkornanteil &gt; 5 <math>\mu\text{m}</math> in %</b>
1a (Aldrich)	1,94	3,62	79,50	20,50
1b (Alfa)	1,81	2,59	95,00	5,00
1c (Baker)	2,03	4,03	71,00	29,00
1d (Merck)	1,81	2,98	87,20	12,80
1e (Sigma)	1,94	3,35	84,30	15,70

**Tab. 14:** Korngrößen Calciumhydrogenphosphat 24 h in Ethanol mit Achat gemahlen

<b>DCPA</b>	<b>MAX 1 in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Mean Dia <math>\varnothing</math> in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Feinkornanteil <math>\leq 5 \mu\text{m}</math> in %</b>	<b>Grobkornanteil &gt; 5 <math>\mu\text{m}</math> in %</b>
1a (Aldrich)	2,25	3,83	77,3	22,7
1b (Alfa)	1,90	3,31	84,90	15,10
1c (Baker)	2,43	4,28	70,00	30,00
1d (Merck)	2,30	3,97	75,00	25,00
1e (Sigma)	2,12	3,68	79,70	20,30

#### 4.2.2 Mahlung in unterschiedlichen Lösungsmitteln

Bei der Untersuchung des Mahlguts **1c** in verschiedenen Lösungsmitteln zeigten die Korngrößenverteilungen ein Maximum zwischen 1,83  $\mu\text{m}$  (Methanol) - 2,45 (Aceton)  $\mu\text{m}$ . Der höchste Feinkornanteil von 90,5% war in Methanol nachweisbar. Die mittlere Korngröße erstreckte sich von Werten um 2,86  $\mu\text{m}$  in Methanol bis 4,64  $\mu\text{m}$  in Aceton. Auffällig war die Verteilungsfunktion in Methanol, die ein Maximum von relativ hoher Intensität bei 1,83  $\mu\text{m}$  aufwies und danach rasch abflachte im Vergleich zu den anderen, die ein zweites Maximum zwischen 3 - 4  $\mu\text{m}$  andeuteten.

**Tab. 15:** Korngrößen Calciumhydrogenphosphat **1c** (Baker) in verschiedenen Lösungsmitteln mit Zirkonoxid gemahlen

Lösungsmittel	MAX in $\mu\text{m}$	Mean Dia $\varnothing$ in $\mu\text{m}$	Feinkornanteil $\leq 5 \mu\text{m}$ in %	Grobkornanteil $> 5 \mu\text{m}$ in %
Ethanol	2,03	4,03	71,00	29,00
Ethylenglycol	2,21	4,13	72,30	27,70
Methanol	1,83	2,86	90,50	9,50
Isopropanol	2,12	3,81	77,40	22,60
Aceton	2,45	4,64	64,50	35,50

Die optische Beurteilung der REM - Aufnahmen bestätigte die Ergebnisse der Korngrößenanalyse. Während sich bei Methanol und Ethanol eine gleichmäßige Verteilung der Partikel auf dem Probesteller zeigte, fand sich bei Aceton und Ethylenglycol eine unregelmäßige Streuung mit vielen Agglomeraten von 20  $\mu\text{m}$ . Bei Ethanol wurden Partikelgrößen zwischen 0,7 - 3  $\mu\text{m}$ , bei Methanol sogar zwischen 0,5 - 2  $\mu\text{m}$  beobachtet. Das Pulver **1c** in Isopropanol hatte einen hohen Feinkornanteil und tendierte ebenfalls zur Agglomeratbildung.

Zusätzlich wurde noch das Zetapotential der DCPA's in unterschiedlichen Lösungsmitteln bestimmt. Das Zetapotential ist ein Phasengrenzpotential, das sich durch die Oberflächenladung der Partikel in flüssiger Phase bildet. Gleichartige, hohe Oberflächenladungen führen zur Abstoßung der Pulverteilchen untereinander und somit zur Vermeidung von Agglomerationen. Außerdem hat es eine gleichmäßige Verteilung der Partikel zur Folge, was ein wichtiges Kriterium bei der Wahl des Lösungsmittels darstellt.

**Tab. 16:** Zetapotential Calciumhydrogenphosphat Baker **1c** in verschiedenen Lösungsmitteln

	Aceton	Ethanol	Ethylenglycol	Isopropanol	Methanol
DCPA (Baker)	-0,9	-0,9	-8,4	-17,7	19,8
DCPA gemahlen (Baker)	-16,8	-30,1	-22,9	-10,1	31,4

Bei Methanol war als einziges ein positives Zetapotential zu beobachten. Es ließ sich sowohl für gemahlene als auch für ungemahlene DCPA ein Potential mit hoher Intensität nachweisen. Das negativste Potential wies Ethanol auf mit -30,1 mV. Dies zeichnet Ethanol als geeignetes Lösungsmittel zum Mahlen aus. Isopropanol hat ein geringes Zetapotential bei gemahlenem DCPA von - 10,1 mV und eignet sich daher eher zum Mischen von Pulvern. Nach diesen Untersuchungen weist Methanol die besten Ergebnisse als Suspensionsmittel zum Mahlen auf. Allerdings ist die Verwendung von Methanol mit Vorsicht zu beurteilen, da es leicht flüchtig und stark gesundheitsschädlich ist. Ethylenglycol und Aceton konnten als ungeeignet eingestuft werden. Aceton verflüchtigte sich beim Mahlen sehr stark und mußte öfter nachgefüllt werden. Ethylenglycol ließ sich schwer abziehen, auch bei hohen Temperaturen im Rotationsverdampfer und führte zum Verkleben des Pulvers.

### 4.3 Synthese und Mahlung von Tetracalciumphosphat

#### 4.3.1 Mischung von DCPA und CC

Die Chargen von DCPA **1d** (Merck) und CC **2b** (Merck) bzw. DCPA **1c** (Baker) und CC **2b** (Merck) wurden mit Hilfe eines Pflug-Schar-Mischers trocken gemischt (Tab. 4) Die makroskopische Analyse zeigte besonders bei Mischung **B** eine gleichmäßige Durchmischung. Nach Sinterung der Mischungen wurde eine Phasenanalyse am XRD durchgeführt. Dabei waren keine durch unterschiedliche Mischverfahren verursachten Verunreinigungen zu erkennen, da bei Mischung **A** - **D** keine Unterschiede in der Röntgendiffraktometrischen Untersuchung festgestellt werden konnten.

Das Standardmischverfahren von DCPA und CC erfolgte in einem Suspensionsmittel, im vorliegenden Fall in Isopropanol bzw. Ethanol. Vor dem anschließenden Trockenvorgang wurde ein Großteil des Lösungsmittels mit einer Riesen-Fritte (Glastrichter Größe 4) im Ölpumpenvakuum abfiltriert. Bei der

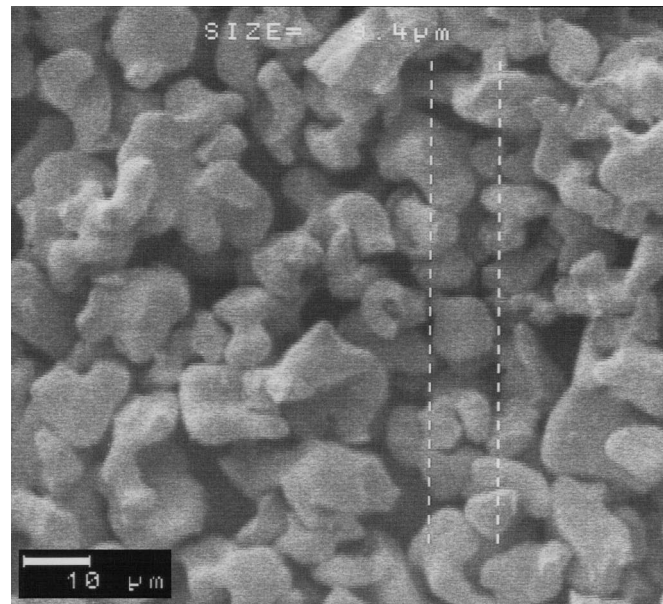
Verwendung unterschiedlicher Calciumcarbonate **2a** - **c** der Firma Merck konnte Mischung **1c** (Baker) / **2b** deutlich schneller innerhalb von ca. 2 Minuten abfiltriert werden unter Erhalt eines relativ trockenen Pulvers. Der Filtriergang der Mischungen **1c** / **2a** und **1c** / **2c** dauerte mindestens 15-20 Minuten und mußte in Etappen durchgeführt werden, da der Filter sonst verstopfte. Das Pulver hatte eine hohe Restfeuchtigkeit.

#### 4.3.2. Sinterung

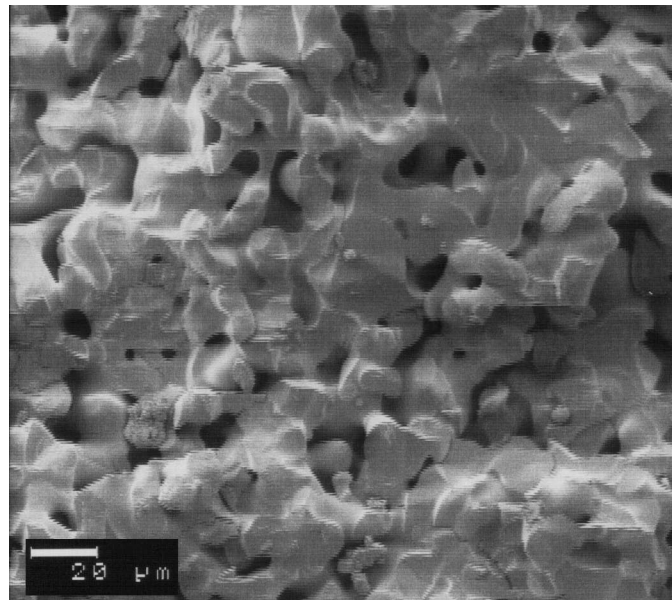
Das getrocknete Pulver wurde einem Sinterprozeß unterworfen, bei dem Sinterdauer (6, 12, 24h) und Abkühlphase variierten. Anschließend wurde das gesinterte Tetracalciumphosphat durch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen im gemahlenden und ungemahlenden Zustand untersucht. Mittels röntgendiffraktometrischen Messungen wurde die Phasenreinheit überprüft. Die Feinkornanalyse im „Cell-Counter“ erfolgte erst nach Mahlung der gesinterten Tetracalciumphosphate.

Der Sinterkuchen von TTCP **5** (Baker) zeigte eine rein weiße Farbe, während TTCP **6** (Merck) aus einem relativ homogenen hellblauen Sinterkuchen mit weißen Einschlüssen bestand. Das Sintergut von TTCP **3** (Alfa), **4** (Aldrich) und **7** (Sigma) war eher inhomogen; TTCP **3** war von graubrauner Farbe mit braunen Einschlüssen; **4** und **7** waren blau gefärbt mit plattenförmigen grauen Splintern. Unterschiede sind ebenfalls in der Härte der einzelnen Tetracalciumphosphate feststellbar. Im Gegensatz zu **5** (Baker) und **6** (Merck) ließ sich **3** (Alfa) wesentlich schwerer mörsern. Die Sinterkuchen von **4** (Aldrich) und **7** (Sigma) waren vergleichsweise sehr weich. Mit steigender Sinterdauer nahm auch die Härte zu. Während 4 h oder 6 h gesintertes Tetracalciumphosphat relativ leicht im Mörser zerkleinert werden konnte, erforderte die Zermahlung von 24 h gesintertem Tetracalciumphosphat einen erheblich größeren Kraftaufwand.

Die optische Beurteilung im REM zeigte bei 6 h eine insgesamt gleichmäßige Struktur und Partikel von weniger als 10 µm, die durch dünne Sinterhalse verbunden waren. Bei 12 h schienen die Partikel größer ( 10-15 µm ) und stärker verbacken. Nach 24 h wies der Sinterkuchen vollständig verschmolzene Areale auf.



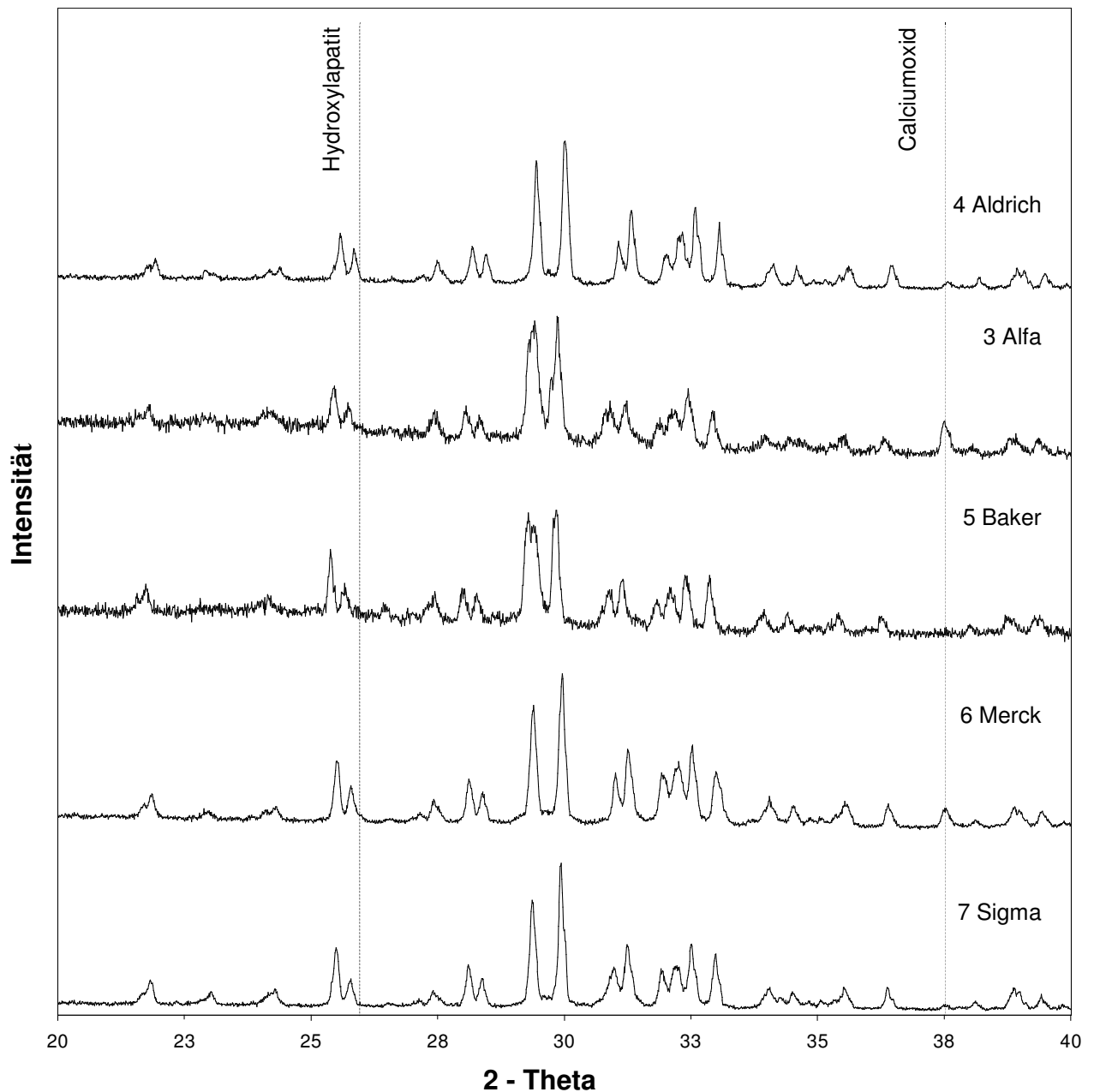
**Abb. 14:** TTCP (Baker) 6h gesintert



**Abb. 15:** TTCP (Baker) 24h gesintert

Die im XRD untersuchten Tertacalciumphosphate (6h, 12h und 24h gesintert) wiesen keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf ihre Phasenreinheit auf, in jedem Fall wurde eine quantitative Umsetzung zu TTCP erhalten. Dies zeigt, daß eine Sinterzeit zwischen 4-6 Stunden ausreichend ist, zumal die einzelnen Partikel dann nicht so stark verschmolzen sind und durch Mahlung leichter getrennt werden können.

**Abb. 16:** TTCP 4h, 1500 °C gesintert, bei 1400 °C in den Exsikkator gestellt.

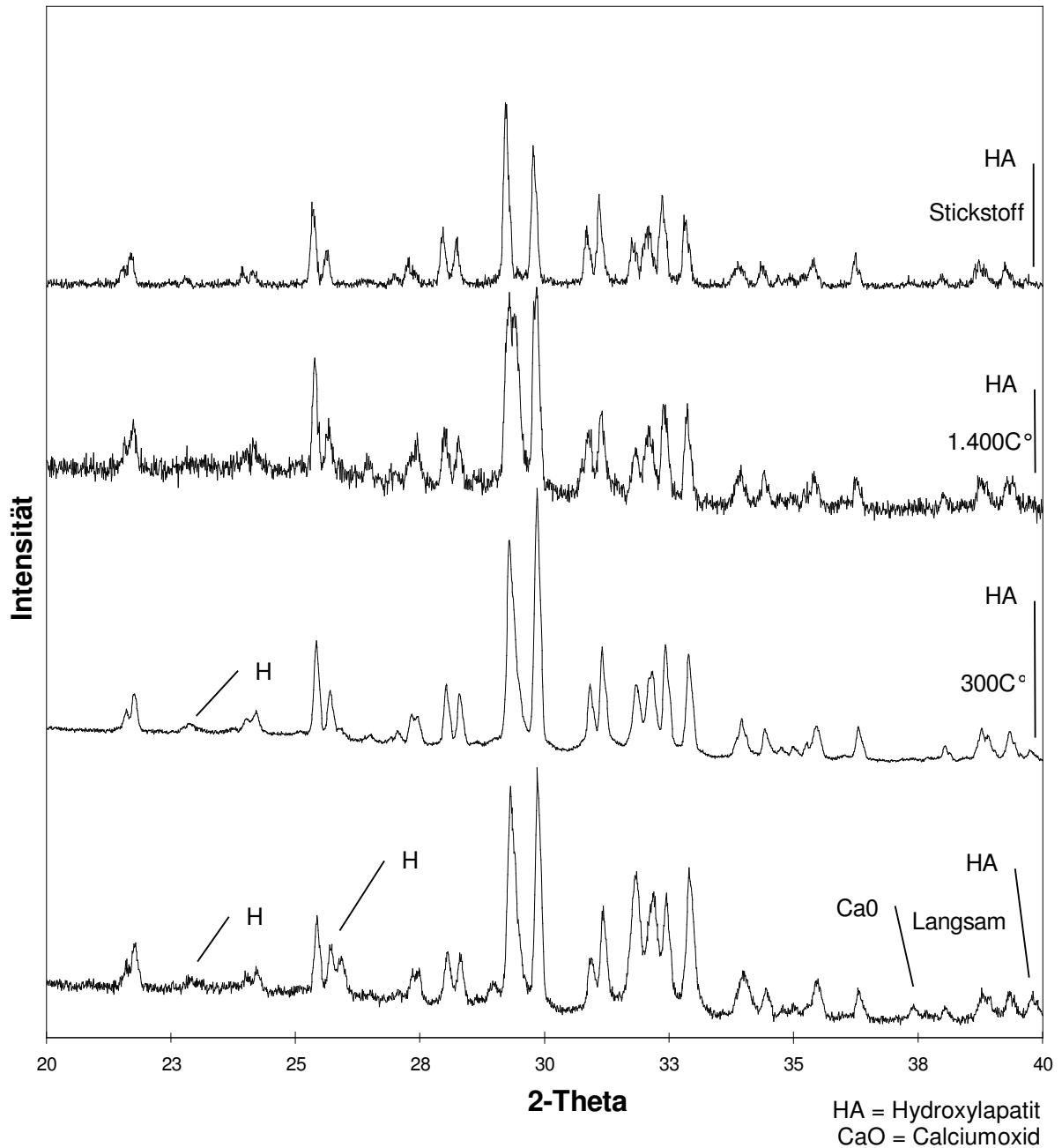


Beim Vergleich der hergestellten Tetracalciumphosphate **3-7** im XRD konnten allerdings folgende Unterschiede festgestellt werden. Nach 4h Sinterzeit bei 1500 °C wurden alle Proben bei 1400 °C in einen Exsikkator gestellt und anschließend durch Röntgendiffraktometrie auf Calciumoxid und Hydroxylapatit überprüft. TTCP **3** (Alfa) zeigte die höchste Verunreinigung durch Calciumoxid, danach folgte TTCP **6** (Merck). Aldrich **4** und Sigma **7** hatten nur einen geringen Peak bei 38° (Calciumoxid) von annähernd gleicher Höhe. Bei Sigma **7** und Aldrich **4** ließ sich eine geringe

Bildung von Hydroxylapatit nachweisen, ebenso bei Merck **6**. Das Spektrum von **5** (Baker) wies keine Verunreinigung von Calciumoxid oder Hydroxylapatit auf.

Da die Verunreinigung unterschiedlicher Tetracalciumphosphate mit dem Vorgang der Abkühlung der Sinterkuchen zusammenhängen könnte, wurden die Parameter der Abkühlphase variiert und im XRD überprüft. Bei den vier untersuchten Abkühlverfahren zeigte sich deutlich, daß bei langsamer Abkühlung unter Einwirkung von Luftfeuchtigkeit Hydroxylapatit und Calciumoxid gebildet wird. Ließ man den Sinterkuchen auf 300° C abkühlen und stellte ihn dann in den Exsikkator, ließ sich weniger Hydroxylapatit nachweisen. Bei Abkühlung des Tetracalciumphosphates unter ständiger Stickstoffspülung ließ sich eine vollständige Phasenreinheit erreichen. Es fanden sich hier keine Verunreinigungen durch Hydroxylapatit und Calciumoxid.

**Abb. 17:** TTCP(Baker) 6h gesintert und unter unterschiedlichen Bedingungen abgekühlt.



#### 4.3.3 Mahlung

Die Mahlung der verwendeten Tetracalciumphosphate erfolgte trocken in der Planetenschnellmühle PM 400 der Fa. *Retsch*. Bei Versuchen mit TTCP 6 (Merck) wurden unter konstanter Umdrehungszahl die Mahldauer bzw. Anzahl der Mahlkugeln variiert. Anschließend wurde TTCP 3-7 bei konstanter Anzahl der Mahlkugeln mit unterschiedlicher Umdrehungszahl und Mahldauer in Abhängigkeit von der Sinterdauer untersucht.



**Tab. 17:** Korngrößen Tetracalciumphosphat (Merck) 6h gesintert mit unterschiedlichen Mahlparametern

TTCP	MAX 1	Mean Dia	Feinkornanteil	Grobkornanteil
	in $\mu\text{m}$	$\varnothing$ in $\mu\text{m}$	$\leq 5 \mu\text{m}$ in %	$> 20 \mu\text{m}$ in %
6a (200 U / 20 min / 4 K)	5,24	8,74	17	6,9
6b (200 U / 30 min / 4 K)	4,22	8,27	24	6,0
6c (200 U / 30 min / 7 K)	5,24	8,17	19,7	3,9
6d (200 U / 60 min / 4 K)	5,24	8,81	15,8	6,0

Allgemein konnten bei der Feinkornanalyse im "Cell-Counter" zwei Maxima im Bereich von 4,22 - 9,31  $\mu\text{m}$  festgestellt werden. Die TTCP's **6a** - **6d** zeigten das höhere Maximum zwischen 4,22 - 5,24  $\mu\text{m}$ . Außerdem wiesen die gemahlene Chargen **6a** - **6d** einen höheren Feinkornanteil auf als die übrigen und nur wenig Korngrößen über 20  $\mu\text{m}$  auf. Dies läßt sich einerseits durch die verlängerte Mahldauer bei **6a** - **6d** und andererseits durch die höhere Mahlenergie mit Zirkonoxidkugeln erklären (vgl. Kapitel 4.2.1).

**Tab. 18:** Korngrößen Tetracalciumphosphat mit unterschiedlichen Mahlparametern

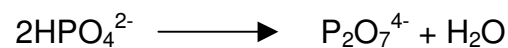
TTCP	MAX 1	Mean Dia	Feinkornanteil	Grobkorn-	
	in $\mu\text{m}$	$\varnothing$ in $\mu\text{m}$	$\leq 5\mu\text{m}$ in %	anteil $> 20 \mu\text{m}$ in %	
Baker	5a (175 U / 5 min / 4 h)	8,86	9,82	8,6	8,5
	5b (200 U / 5 min / 4 h)	9,13	9,4	10,9	6,9
	5c (200 U / 10 min / 4 h)	8,95	10,26	5,7	10,8
	5d (175 U / 5 min / 6 h)	8,99	9,84	9,8	8,3
	5e (200 U / 5 min / 6 h)	9,04	10,64	5,01	14,7
	5f (200 U / 10 min / 6 h)	9,04	9,31	12,2	5,5
Merck	6e (175 U / 5 min / 4 h)	9,04	8,97	14,6	7,8
Alfa	3a (175 U / 5 min / 4 h)	9,04	9,19	12,4	9,2
Aldrich	4a (175 U / 5 min / 4 h)	9,13	10,14	9,1	10,8
Sigma	7a (175 U / 5 min / 4 h)	9,17	10,48	7,8	17,3

Die durchschnittlichen Korngrößen bei Tab. 18 lagen zwischen 9,31 - 10,64  $\mu\text{m}$ . Der Hauptanteil der Pulver war zwischen 8,86 - 9,17  $\mu\text{m}$  nachweisbar. Die Lage der Maxima und mittleren Partikelgrößen waren somit innerhalb der TTCP-Chargen von Tab. 18 weitestgehend kongruent.

#### 4.4 Synthese und Mahlung von Tricalciumphosphat

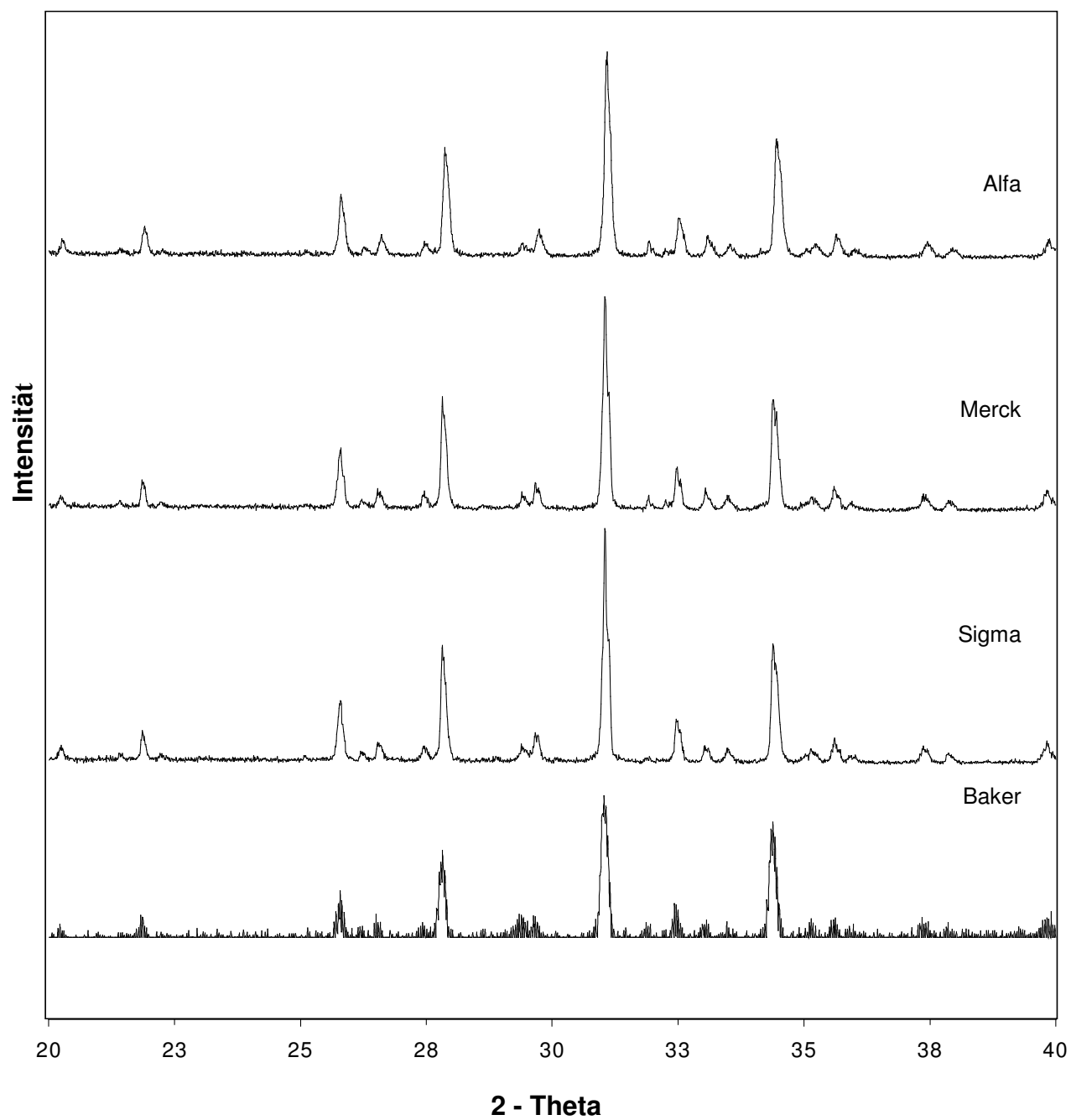
##### 4.4.1 Herstellung von $\beta$ - Tricalciumphosphat

$\beta$  - Tricalciumphosphat wurde durch Sintern einer Mischung aus wasserfreiem Calciumhydrogenphosphat (DCPA) und Calciumcarbonat (CC) im Verhältnis 2:1 hergestellt [31]. Das anfangs gesinterte  $\beta$  - TCP enthielt noch Verunreinigungen mit  $\beta$  - Calciumpyrophosphat. Unter Abspaltung von Wasser kann überschüssiges sekundäres Orthophosphat bei Temperaturen über 320 °C in Pyrophosphat übergehen [21, 117].



Mit sinkendem Ca/P –Verhältnis nimmt der Gehalt an Pyrophosphat zu. Nach Zugabe von weiteren 2% DCPA und anschließendem Nachsintern bei 1000 °C über 24h konnte phasenreines  $\beta$  - TCP im XRD nachgewiesen werden (siehe Abb. 18). Die Sinterkuchen der dargestellten Tricalciumphosphate (**8-11**) zeigten eine rein weiße Farbe. Es wurde kein makroskopischer Unterschied in der Härte der einzelnen Sinterkuchen festgestellt. Das per Hand im Mörser grob zerkleinerte Sintergut der synthetisierten  $\beta$  - Tricalciumphosphate zeigte schon einen hohen Feinkornanteil und Korngrößen im Bereich zwischen 6 – 8  $\mu\text{m}$ , so daß eine kurze Mahldauer ausreichend erschien, um geeignete Korngrößen zu erhalten. Die gemahlene Pulver enthielten nur einen geringen Anteil über 20  $\mu\text{m}$  von 1,5 - 3,5 %. Die  $\beta$  - Tricalciumphosphate **8**, **10** und **11** hatten ein Maximum im Bereich von 4,17 – 5,4  $\mu\text{m}$ , wohingegen  $\beta$  - TCP **9** (Baker) sein Maximum bei 9,13  $\mu\text{m}$  hatte. Die Sinterkuchen ließen sich im allgemeinen leicht und mit wenig Energieeintrag zermahlen.

**Abb. 18:**  $\beta$ -TCP hergestellt aus Calciumcarbonat von Merck (**2b**) und unterschiedlichen DCPA's im Verhältnis 2:1.



**Tab. 19:** Korngrößen  $\beta$  - TCP ungemahlen

$\beta$ - TCP (DCPA)	MAX 1 in $\mu\text{m}$	Mean Dia $\varnothing$ in $\mu\text{m}$	Feinkornanteil $\leq 5 \mu\text{m}$ in %	Grobkornanteil $> 20 \mu\text{m}$ in %
8 (Alfa)	3,59	6,56	40,5	1,03
9 (Baker)	3,59	7,53	27,6	1,45
10 (Merck)	4,22	6,61	38,6	1,82
11 (Sigma)	3,55	7,76	27,8	5,8

**Tab. 20:** Korngrößen von  $\beta$  - TCP gemahlen (200 U / 10 min, Achat, 4 Kugeln)

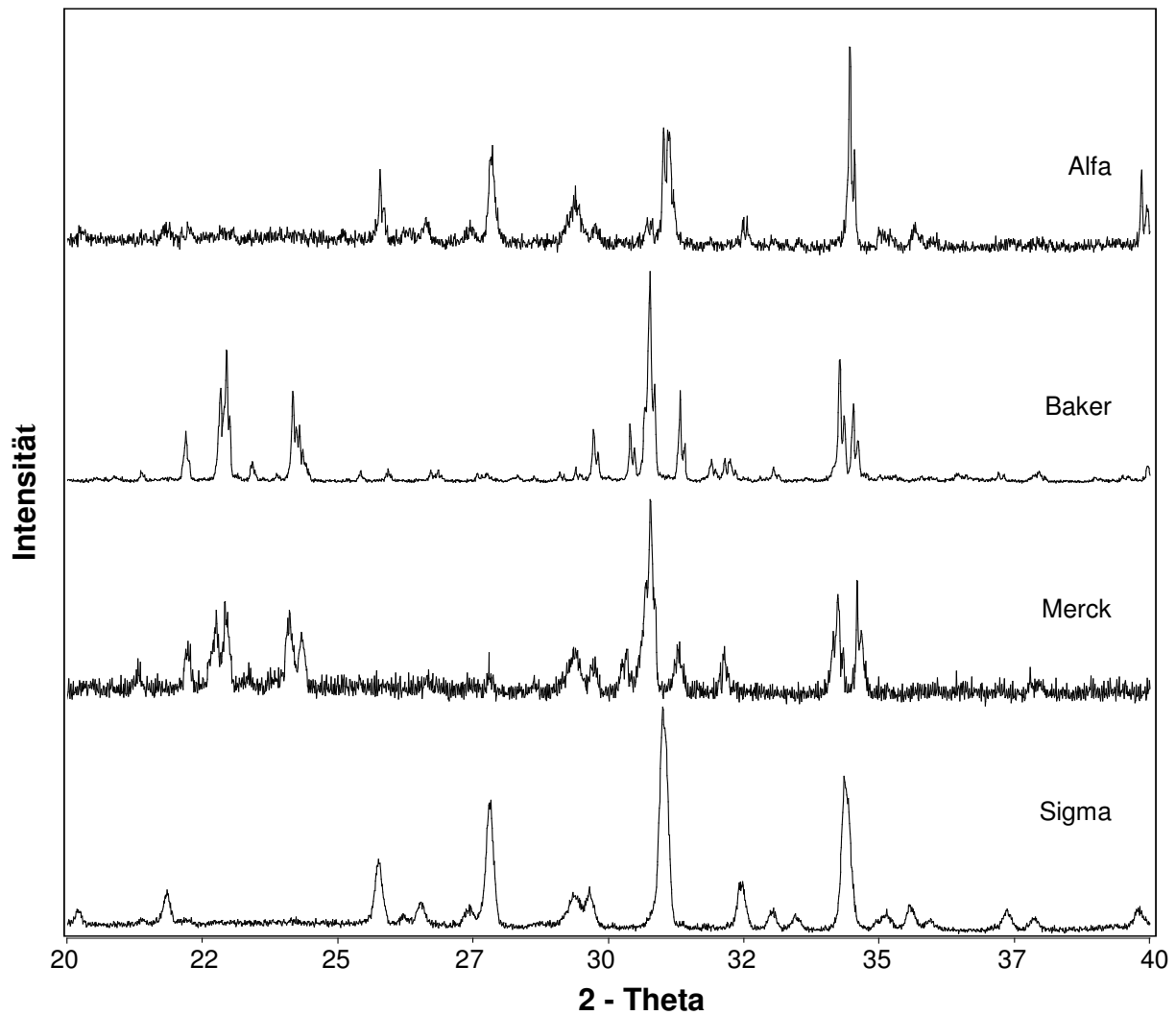
$\beta$ - TCP (DCPA / CC)	MAX 1 in $\mu\text{m}$	Mean Dia $\varnothing$ in $\mu\text{m}$	Feinkornanteil $\leq 5 \mu\text{m}$ in %	Grobkornanteil $> 20 \mu\text{m}$ in %
8 (Alfa/Merck)	5,4	8,67	12,1	3,5
9 (Baker/Merck)	9,13	8,37	18,2	2,22
10 (Merck/Merck)	4,31	5,9	43,5	1,5
11 (Sigma/Merck)	4,17	6,8	36,4	2,1

#### 4.4.1 Herstellung von $\alpha$ - Tricalciumphosphat

Die optische Beurteilung der Sinterkuchen zeigte bei TCP **13** (Baker) ein reines weißes homogenes Sintergut, das sich relativ leicht zerkleinern ließ. Der gelbliche Sinterkuchen von TCP **14** (Merck) war ebenfalls farblich homogen und konnte leicht zerkleinert werden. Das Sintergut von TCP **12** und **15** war sehr hart und konnte kaum zerschlagen werden. Die Oberfläche von TCP **12** und **15** wirkte optisch inhomogen. Der grünlich schimmernde Sinterkuchen von TCP **12** wies sogar einzelne unregelmäßig hoch stehende Zapfen auf.

Die röntgendiffraktometrische Analyse zeigte, daß nur bei TCP **13** (Baker) und **14** (Merck) eine Umsetzung zu  $\alpha$ -TCP stattgefunden hat.  $\alpha$ -TCP **13** (Baker) ist phasenrein, es lassen sich keine Verunreinigungen feststellen. TCP **14** (Merck) zeigte nur einen minimalen Anteil von  $\beta$ -TCP (bei  $28,8^\circ$ ). Bei den Pulvermischungen **12** (Alfa) und **15** (Sigma) wurde kein  $\alpha$ -TCP gebildet. Das XRD – Spektrum von Abbildung 19 zeigt nach wie vor  $\beta$  - TCP.

**Abb. 19:**  $\alpha$ -TCP hergestellt durch Sinterung des synthetisierten  $\beta$ -TCP's bei 1400 °C für 3 h.



Die nach anschließender Mahlung durchgeführte Korngrößenanalyse im Cell-Counter bestätigte die erste Beurteilung der Sinterkuchen. Sowohl die durchschnittliche Korngröße als auch das Maximum der Verteilung lagen bei TCP **13** und **14** zwischen 8,95-11  $\mu\text{m}$ . Beide hatten einen geringen Grobkorn- und Feinkornanteil. Die erhaltenen Korngrößen lagen somit im gewünschten Bereich (9-10  $\mu\text{m}$ ).

**Tab. 21:** Korngrößen  $\alpha$  - TCP

$\alpha$ - TCP (DCPA / CC)	MAX 1 in $\mu\text{m}$	Mean Dia $\varnothing$ in $\mu\text{m}$	Feinkornanteil $\leq 5 \mu\text{m}$ in %	Grobkornanteil $> 20 \mu\text{m}$ in %
12 (Alfa/Merck)	4,31	8,17	21,9	15,2
13 (Baker/Merck)	9	11	3,3	5,8
14( Merck/Merck)	8,95	9,23	13,15	7,7
15 (Sigma/Merck)	4,17	8,75	21	10,2

## 4.5 Beurteilung des synthetisierten Calciumphosphatzementes (CPC)

### 4.5.1 Abbindezeit

Die initiale Abbindezeit (setting time, ST) eines Zementes entspricht der Zeitspanne zwischen Anmischen und Aushärtung und wird durch die Penetrationsmethode nach Gilmore bestimmt. Die eingesetzten Gilmore-Nadeln sind durch folgende Größen definiert.

**Tab. 22:** gebräuchliche Gilmore - Nadeln

Nadel	Gewicht	Durchmesser
G1	113,398g (1/4 pound)	2,117 mm (1/12 inch)
G2	453,592g (1 pound)	1,106 mm (1/24 inch)

Die Messung der Abbindezeit wird in einer auf  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  temperierten Feuchtigkeitskammer bei 90% Luftfeuchtigkeit durchgeführt, um ein Verdunsten der flüssigen Phase des Zements zu vermeiden. Das Anmischverhältnis zwischen Flüssigkeit und Pulver betrug 3,3:1. Als flüssige Phase fanden sowohl aqua ad injectabilia als auch 0,25 molare Natriumhydrogenphosphatlösung Verwendung.

**Tab. 23:** initiale Abbindezeiten der CPC-Formulierungen ① - ⑩ in Gegenwart von aqua ad injectabilia oder 0,25 m Natriumhydrogenphosphat-Lösung in Abhängigkeit der Mahlparameter des TTCP's.

CPC (TTCP / DCPA)	Abbindezeit in min	
	Aqua ad injectabilia	0,25 m Natriumhydrogen- phosphat - Lösung
<b>TTCP 6h gesintert / 175 U / 5 min gemahlen</b>		
① (Baker/Aldrich)	29	11
② (Baker/Alfa)	32	24
③ (Baker/Baker)	30	8
④ (Baker/Merck)	37	14
⑤ (Baker/Sigma)	48	35
<b>TTCP 6h gesintert / 200 U / 10 min gemahlen</b>		
⑥ (Baker/Aldrich)	24	6
⑦ (Baker/Alfa)	28	18
⑧ (Baker/Baker)	27	11
⑨ (Baker/Merck)	30	12
⑩ (Baker/Sigma)	40	22

In Anbetracht der Abbindezeiten von ① - ③ und ⑥ - ⑧ konnten ähnliche Werte erzielt werden wie die geprüften "Bone-Source" Zemente [98]. Die initialen Abbindezeiten in Gegenwart von aqua ad injectabilia lagen dabei zwischen 20 und 30 min. Die Zementformulierungen ④,⑤,⑨,⑩ zeigten etwas schlechtere Werte. Unter Verwendung von Natriumhydrogenphosphatlösung konnte die Abbindezeit um bis zu 22 min. (CPC ③) vermindert werden. Der Vergleich der Ergebnisse von CPC ① - ⑤ und ⑥ - ⑩ zeigte eine deutliche Abnahme der Aushärtungszeit, im Schnitt von bis zu 7 min Unterschied bei aqua ad injectabilia. Dies könnte im Zusammenhang mit den unterschiedlichen Mahlparametern des synthetisierten Tetracalciumphosphats liegen. Mit steigender Umdrehungszahl und Mahldauer sank die durchschnittliche Abbindezeit.

Für den Einsatz von Natriumhydrogenphosphat-Lösung verkürzten sich die gemessenen Werte im Mittel von 18 min auf 14 min. Die makroskopisch beobachtete Aushärtung garantiert allerdings nicht die vollständige Umsetzung des Zements zu Hydroxylapatit. Um die Umsetzungsrate der CPC-Formulierungen ① - ⑩ zu beurteilen, wurden sie unter 4.5.3 röntgendiffraktometrisch untersucht.

#### 4.5.2 pH - Wert Verlauf

Das Abbindeverhalten eines Calciumphosphatzements ist abhängig von der Löslichkeit der Bestandteile in einem vorgegebenen Medium und im Zusammenhang damit vom pH-Wert der Umgebung. Die pH-Werte der Ausgangsstoffe TTCP und DCPA in Lösung sind literaturbekannt. Calciumhydrogenphosphat zeigte pH-Werte zwischen 4,61 - 6,52 [98], während die gemessenen pH-Werte von TTCP in einem stark basischen Bereich (10,79 - 11,99) lagen. Die synthetisierten CPC's ① - ⑩ ergaben ebenfalls sehr hohe Ausgangs- pH-Werte (Tab. 21). Aufgrund der Löslichkeitsisotherme der Calciumphosphate kann im basischen Bereich >10 kein Hydroxylapatit ausfallen. Daher erfolgte nach dem Mischen der CPC - Komponenten (TTCP / DCPA) im molaren Verhältnis 1:1 in aqua ad injectabilia eine pH - Wert Einstellung auf ca. 8 Einheiten durch Zugabe von DCPA. Nach einer Woche Rühren konnte allgemein ein leichter Abfall des pH-Wertes festgestellt werden mit Ausnahme von CPC ① (Baker / Aldrich) und ③ (Baker / Baker). Dies könnte durch einen Überschuß an gelöstem TTCP verursacht worden sein.

**Tab. 24:** 3,7g CPC im Verhältnis 1:1 molar in 30ml aqua ad injectabilia aufgelöst.

CPC (TTCP / DCPA)	Zugabe von DCPA in g	Ausgangs pH	pH - Einstellung auf ca. 8,00	pH - Wert nach einer Woche rühren
<b>TTCP 6h gesintert / 175 U / 5 min gemahlen</b>				
① (Baker/Aldrich)	1	11,75	8	8,17
② (Baker/Alfa)	0,6	11,4	8	7,15
③ (Baker/Baker)	1,6	11,8	7,85	7
④ (Baker/Merck)	0,72	11,48	8	8,34
⑤ (Baker/Sigma)	2,25	12	8,01	7
<b>TTCP 6h gesintert / 200 U / 10 min gemahlen</b>				
⑥ (Baker/Aldrich)	1,02	11,57	8	7,63
⑦ (Baker/Alfa)	0,92	10,84	7,99	7,21
⑧ (Baker/Baker)	2,1	11,51	7,72	7,04
⑨ (Baker/Merck)	1	11,49	7,94	7,5
⑩ (Baker/Sigma)	1,97	11,87	8,02	7,04

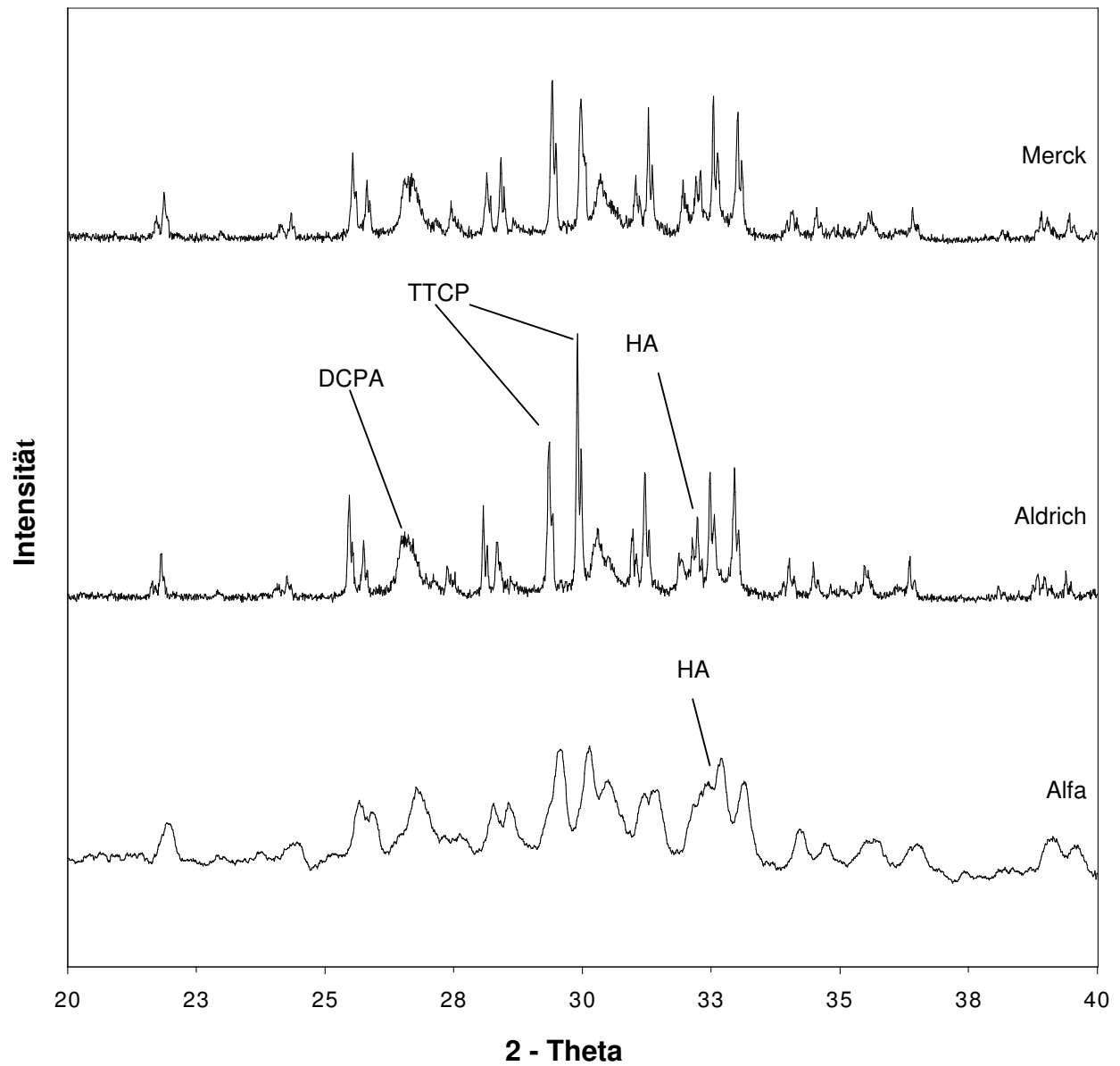


Der Verlauf der Abbindereaktion läßt sich wie folgt erklären. TTCP hat in neutraler wässriger Lösung zunächst das höchste Löslichkeitsprodukt [42]. Die Hydrolyse von TTCP bewirkt die Bildung von Hydroxylapatit und Calciumoxid, das sich zu Calciumhydroxid umsetzt. Durch die Erhöhung der Hydroxylionen-Konzentration steigt der pH-Wert an. Mit einem Anstieg des pH-Wertes nimmt die Löslichkeit von DCPA zu und somit die Umsetzung mit TTCP zu Hydroxylapatit, sowie die Hydrolyse zu OCP [20]. Diese Verbindung reagiert unter Abspaltung von Protonen oder Phosphorsäure und Wasser zu Hydroxylapatit [57]. Die Phosphorsäure setzt sich mit Calciumdihydroxid zu Wasser und DCPA um. Die Reaktion befindet sich bei kongruenter Löslichkeit beider Zementkomponenten im Gleichgewicht. Bei Abnahme der TTCP-Konzentration fällt der pH-Wert ab mit einer Erhöhung der Phosphorsäure-Konzentration [57].

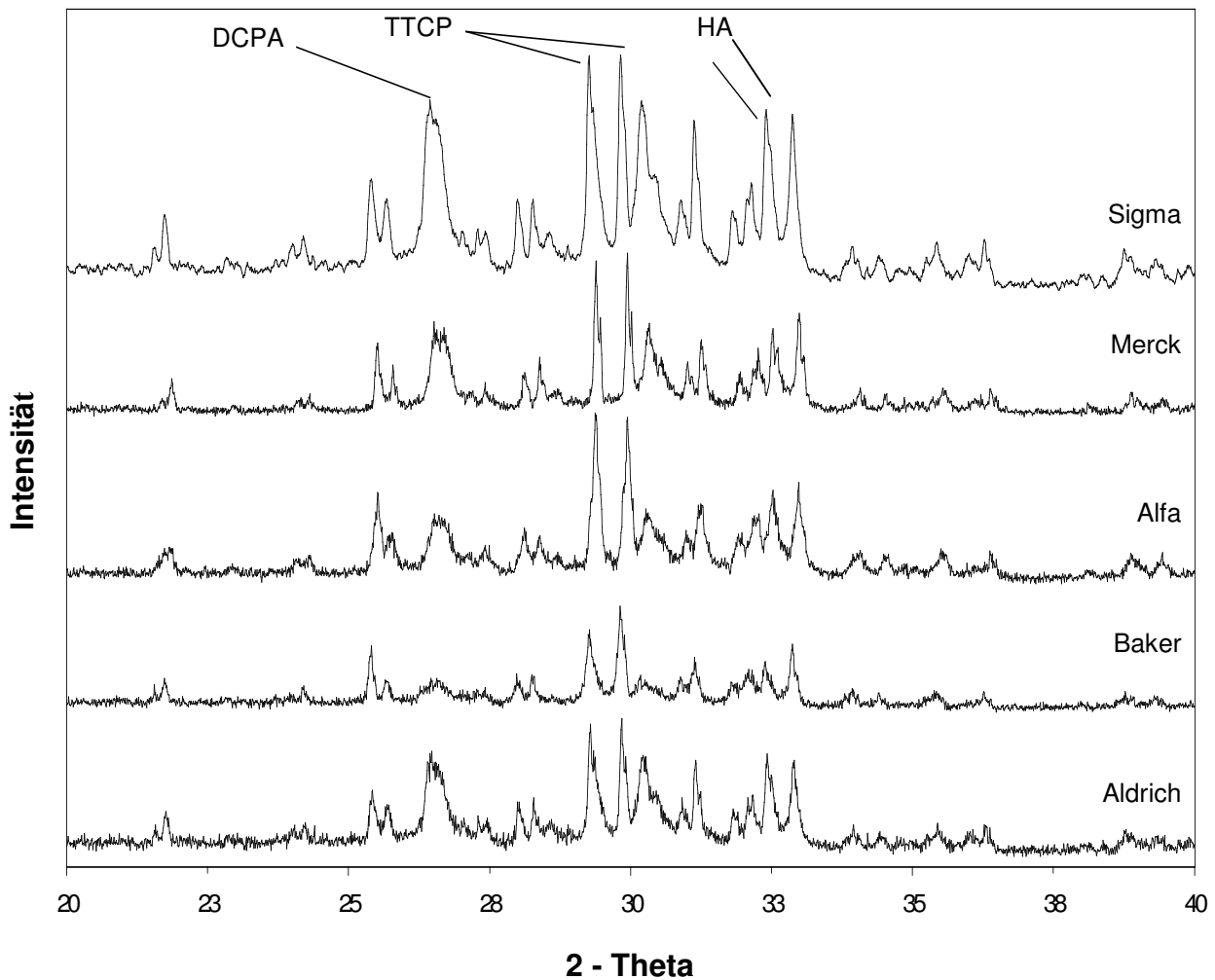
#### *4.5.3 Röntgendiffraktometrische Untersuchung*

Die qualitative Beurteilung der Umsetzung der CPC - Formulierungen wurde mittels Röntgendiffraktometrie im XRD durchgeführt. Dabei wurden besonders Verunreinigungen mit Calciumoxid bzw. anteilige Komponenten von DCPA und TTCP überprüft. Quantitative Analysen über die Umsetzungsrate waren nur bedingt möglich durch Vergleich der unterschiedlichen Peak-Intensitäten (siehe Einteilung 3.4.4). Die CPC Proben ① - ⑩, in Wasser gerührt, wiesen alle nur eine geringe Umsetzungsrate auf. Es zeigte sich nur vereinzelt Hydroxylapatit anhand der charakteristischen Beugungsreflexe bei  $25.8^\circ$  und im Bereich  $32-35^\circ$ . Tetracalciumphosphat und DCPA war noch deutlich nachweisbar. Beim Vergleich der Diffraktogramme aus Abb. 20 und Abb. 21 konnte kein wesentlicher Unterschied in Bezug auf die Umsetzungsrate festgestellt werden.

**Abb. 20:** CPC (hergestellt aus TTCP Baker, gemahlen 200U / 10 min, und unterschiedlichen DCPA's) 7 Tage in aqua ad injectabilia gerührt.

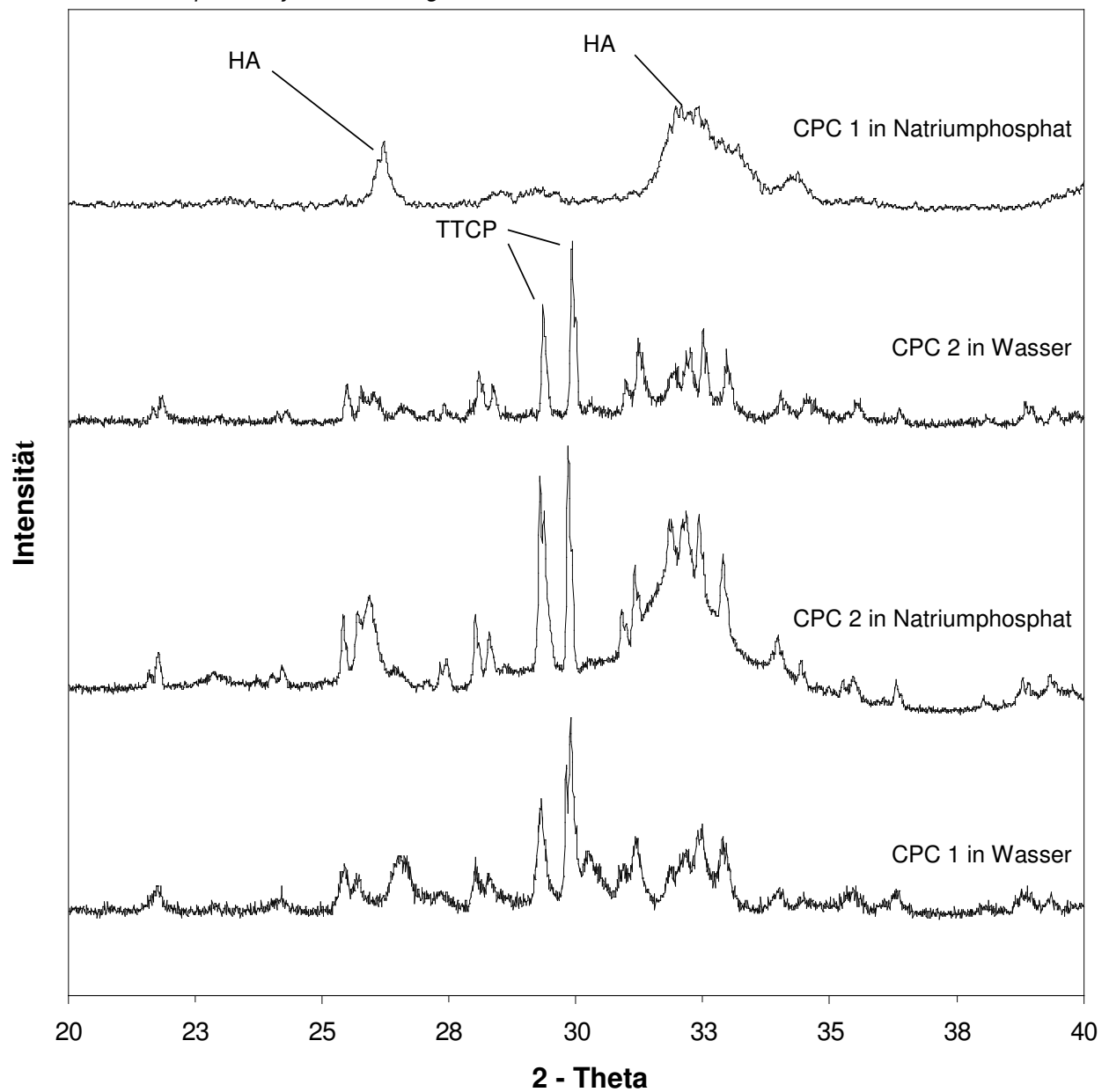


**Abb. 21:** CPC (hergestellt aus TTCP Baker, 175U / 5 min gemahlen, und unterschiedlichen DCPA's) 7 Tage in aqua ad injectabilia gerührt.



Die Versuche mit CPC ① (Baker/Aldrich) und ② (Baker/Alfa) zeigten interessantere Ergebnisse (Abb. 22). Die Zementmischungen wurden mit einem leichten Überschuss an DCPA zur pH-Wert-Senkung 24h unter Rückfluß in aqua ad injectabilia und 0,25m Natriumhydrogenphosphatlösung gerührt. Eine Analyse der in Wasser gerührten Zemente ließ zwar die Bildung von Hydroxylapatit erkennen, zeigte aber trotzdem einen Restgehalt an DCPA und TTCP in vergleichbarer Höhe. Die Verwendung von 0,25m Natriumphosphatlösung als Medium ergab eine wesentlich größere Umsetzungsrate zu Hydroxylapatit. In CPC ① (Baker/Aldrich) konnte eine vollständige Umsetzung beobachtet werden, es konnte kein DCPA oder TTCP nachgewiesen werden. CPC ② (Baker/Alfa) enthielt lediglich geringe Mengen TTCP.

**Abb. 22:** CPC ① (Baker/Aldrich) und ② (Baker/Alfa) in 0,25m Natriumphosphat-Lösung oder aqua ad injectabilia 24h gerührt.



## 5. Diskussion

Die Regeneration von größeren Knochendefekten erfordert die Anwendung von Transplantaten oder Implantaten, um die verlorengegangene Funktionalität wiederherzustellen und das Einwachsen von Bindegewebe in den Defekt zu verhindern [118]. Calciumphosphat-Zemente als Ersatz von Knochen stellen hierbei aufgrund der nanokristallinen Textur, der freien Formbarkeit und strukturellen Stabilität nach Aushärtung eine interessante Werkstoffklasse dar. Seit der Entwicklung des ersten abbindefähigen Zementsystems durch Brown und Chow 1983 [3] wurden eine ganze Reihe verschiedener Zementsysteme in der Literatur beschrieben. Die Herstellung eines Zements mit reproduzierbaren Abbindeigenschaften und geeigneten mechanischen Festigkeiten hängt von unterschiedlichen Faktoren ab. Bestandteil dieser Arbeit war die Darstellung und Charakterisierung verschiedener Calciumorthophosphate für die Anwendung in Knochenersatzmaterialien.

Die Untersuchungen beschränkten sich auf die Zementreaktanden Calciumhydrogenphosphat (DCPA), Calciumcarbonat (CC), Tetracalciumphosphat (TTCP),  $\alpha$  - Tricalciumphosphat ( $\alpha$ - TCP) und  $\beta$  - Tricalciumphosphat ( $\beta$  - TCP). Bei den Ausgangsedukten DCPA und CC verschiedener Hersteller konnte bei allen Phasenreinheit nachgewiesen werden. Allerdings zeigten sich erhebliche Unterschiede in der Korngrößenverteilung und Morphologie der Partikel. Im Vergleich zu anderen untersuchten Calciumhydrogenphosphaten zeigten sich nur bei DCPA **1c** (Baker) trikline Kristalle von gleichmäßiger Struktur und Größe (vgl. Abb. 3). Ebenso regelmäßige, fast rechteckige Kristallformationen zeigten sich bei Calciumcarbonat **2b** von Merck, welches bei der Verarbeitung unter anderem bei Mischversuchen (Kap. 4.3.1) mit DCPA **1c** von Baker die besten Ergebnisse erzielte. Beide Pulver stellen im Gegensatz zu den anderen Werkstoffen damit weitestgehend einkristalline Pulver dar, das heißt, daß jedes Partikel aus einem Einkristall besteht und damit anisotrope Eigenschaften aufweist. Es bleibt anzunehmen, daß die Oberflächenbeschaffenheit und Struktur der Einzelkomponenten sowie der kristalline Aufbau entscheidend die Qualität des Sinterprodukts bzw. Zements beeinflussen.

Um qualitativ hochwertige Zemente herzustellen, muß außerdem die spezifische Oberfläche und die Lösungsrate der einzelnen Feststoffkomponenten durch

Einstellung der Partikelgröße bzw. der spezifischen Oberfläche aufeinander abgestimmt werden. Das Verhalten von Zementformulierungen wird durch deren thermodynamische und kinetische Löslichkeit bestimmt. Nach Zugabe einer wässrigen Phase gehen die Ausgangsstoffe in Lösung und bilden eine gegenüber dem Reaktionsprodukt übersättigte Phase. Bei entsprechender Übersättigung fällt dieses aus und führt zur Aushärtung der Zementpaste. Die Bildung und das Wachstum von Kristallkeimen wird nur indiziert, wenn die Übersättigung ein Mehrfaches des Löslichkeitsprodukts von Hydroxylapatit erreicht. Geschwindigkeitsbestimmende Schritte des Abbindevorgangs sind die Lösungsraten der einzelnen Zementkomponenten, die Übersättigung der flüssigen Phase und die Kristallwachstumsrate des Reaktionsprodukts. Bei hochkristallinen Verbindungen entspricht die thermodynamische Löslichkeit dem Löslichkeitsprodukt der Werkstoffe. Die Lösungsrate kann als Funktion der spezifischen Oberfläche bzw. Partikelgröße beschrieben werden.

Mehrkomponentige Zementsysteme erfordern eine Anpassung der spezifischen Oberfläche jeder Einzelkomponente, um kongruente Lösungsraten aufrecht zu erhalten. Chow und Brown fanden Korngrößen im Bereich von 10  $\mu\text{m}$  für TTCP und ca. 1-2  $\mu\text{m}$  für DCPA als geeignet (Aspektverhältnis 10 : 1), um bei einer äquimolaren Mischung der Komponenten abbindefähige Zementpasten zu erhalten [5,10,76]. Da die kommerziell erhältlichen Calciumhydrogenphosphate (**1a – e**) nicht den nach Chow et. al. [115] verlangten Partikelgrößen für die CPC Synthese entsprachen, wurden diese gemahlen. Die Einstellung der Partikelgröße erfolgte in der Regel durch Nassmahlung in der Planetenschnellmühle in unterschiedlichen Lösungsmitteln. Ziel der Mahlung in flüssiger Phase ist es, die Bildung von Partikelagglomeraten zu unterbinden, sodaß die Mahlenergie zur Spaltung von Partikeln und nicht zu Agglomeraten führt. Die Korngrößenbestimmungen der gemahlenden Calciumhydrogenphosphate nach unterschiedlicher Mahldauer zeigten nach 24 h Mahldauer schon geeignete Korngrößen. Nach längerer Mahlung ist der Feinkornanteil zu groß und die Teilchen tendieren zur Agglomeratbildung, hierbei besteht die Gefahr von Inhomogenitäten bei der Mischung mit TTCP für die Zementsynthese.

Problematisch bei der Korngrößeneinstellung sind unter anderem die möglichen Kontaminationen der Partikeloberfläche durch Mahlwerkzeug oder entsprechende Lösungsmittel, welche die Reaktivität herabsetzen können [83]. Zum Vergleich wurde sowohl mit Mahlwerkzeug aus Achat, als auch aus Zirkonoxid gemahlen. Die verwendeten Mahlkugeln aus Zirkonoxid zeigten zwar eine höhere Mahlleistung als die Achatkugeln, aber durch Abrieb beim Zerkleinern könnte das Pulver verunreinigt werden. Da Zirkonoxid mit etwa 1 % Magnesiumionen dotiert ist, könnte durch die enthaltenen  $Mg^{2+}$  Ionen die Kristallisation von Hydroxylapatit gehemmt werden. Bei neueren Überlegungen wurde auch eine Verunreinigung durch Achat diskutiert und bei Langzeitmahlung von  $\beta$ -TCP beobachtet [73], allerdings ohne einen Einfluss auf die Abbindereaktion des Zements.

Die Mahlung in unterschiedlichen Lösungsmitteln zeigte unter Verwendung von Methanol und Ethanol sowohl durch Korngrößenanalyse als auch durch optische Beurteilung mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops eine gleichmäßige Verteilung der Pulver und einen hohen Feinkornanteil bzw. Maxima im gewünschten Größenbereich von 0,5 – 2  $\mu m$ . Dies hängt mit dem Zetapotential der Partikel in den verschiedenen Lösungsmitteln zusammen. Die elektrostatische Aufladung der Partikel führt zu einer gegenseitigen Abstoßung der Pulverteilchen, sodaß Partikelagglomerate vermieden werden. Durch ein höheres Zetapotential werden allgemein Wechselwirkungskräfte der festen Zementbestandteile minimiert [123,124] und die Suspendierung speziell der feinkörnigen DCPA Partikel verbessert. Ausgehend von den pH-Werten der Ausgangsedukte hatte die Mahlung generell einen Abfall des pH-Wertes zur Folge [98]. Grund hierfür könnte eine partielle Zersetzung des Calciumhydrogenphosphats zu Hydroxylapatit durch geringfügige Wasseranteile im Lösungsmittel sein. Der Eintritt von Hydrogenphosphat – Dianionen,  $HPO_4^{2-}$ , in die Lösung bewirkt die Erhöhung der Protonenkonzentration durch Protolyse des Dianions. Das Protolysegleichgewicht liegt auf der Seite des Dianions aufgrund des  $pK_a$  – Wertes des Dianions von 12,36 [122]. Die Mahlung in Ethanol hatte keinen Einfluss auf die Phasenreinheit der Pulver. Mit abnehmender Korngröße steigt die Partikeloberfläche im Vergleich zum Substanzvolumen stark an und somit bestimmen die Oberflächenparameter verstärkt die Zementeigenschaften.

Das mehrkomponentige TTCP/DCPA Zementssystem wurde schon von mehreren Autoren in Hinblick auf die Partikelgrößenverteilung [84,85] oder dem Mischungsverhältnis der Komponenten untersucht [86 - 88]. Ein weiterer Ansatz war der Einfluss der Partikelgröße auf die Reaktivität und das mechanische Verhalten der Zemente [84, 85, 125 - 128]. Die höchsten mechanischen Festigkeiten werden bei äquimolaren Mischungen der Reaktanden und einem Partikelgrößenverhältnis von TTCP : DCPA von 10 : 1 erhalten. Neuere Untersuchungen zeigen [132], daß der maßgebliche Faktor hierbei die Porosität der Zementmatrix ist, die durch bimodale Verteilung der Partikelgrößen minimiert werden kann.

Hinsichtlich der Synthese von TTCP durch Sinterung wurden Calciumhydrogenphosphate verschiedener Hersteller unter Variation der Sinterbedingungen getestet. Obwohl einzelne Sinterkuchen optisch deutliche Qualitätsunterschiede vermuten ließen, konnte ausnahmslos Phasenreinheit nachgewiesen werden. Die Sinterdauer von 4 – 6 h erscheint ausreichend aufgrund der vollständigen Umsetzung zu TTCP. Mit steigender Sinterdauer nimmt die Härte der Sinterkuchen derart zu, daß eine Zerkleinerung des Sinterguts erheblichen Krafteintrag erfordert. Die Partikel, die anfangs nur durch dünne Sinterhalse verbunden sind, erscheinen im Rasterelektronenmikroskop vollständig verbacken. Die optimale Einstellung der Partikelgröße sowie die zielgerichtete Trennung der Partikel wird hierdurch erschwert bzw. unmöglich.

Die Reaktivität und die Abbindeigenschaften von CPC werden ebenfalls stark von Veränderungen an der Partikeloberfläche beeinflusst. Literaturbekannt ist beispielsweise die Kontamination von TTCP Partikeln mit Luftfeuchtigkeit, die zur Ausbildung einer oberflächlichen, schwer löslichen Hydroxylapatitschicht führt [119]. Eine besondere Gefahr besteht hier beim Abkühlen der Sinterkuchen. Um den Einfluss durch atmosphärische Adsorbate zu beurteilen, wurden verschiedene Abkühlverfahren getestet. Schon durch geringe Einwirkung von Luftfeuchtigkeit lässt sich in unterschiedlicher Abstufung im Hinblick auf das hergestellte TTCP eine Verunreinigung mit Calciumoxid und Hydroxylapatit nachweisen. Unter der Annahme, daß die Zersetzung von TTCP zu CaO und HA bevorzugt an der Partikeloberfläche stattfindet, kommt es hierbei zu einer schwerlöslichen und diffusionsinhibierenden HA Schicht um die Partikel, die die Lösungsrate und damit die Reaktivität des TTCP in



Zementformulierungen stark herabsetzt. Vollständige Phasenreinheit konnte beim Abkühlen unter ständiger Stickstoffspülung erreicht werden.

Desweiteren wurde  $\beta$  - TCP bzw. seine Hochtemperaturmodifikation  $\alpha$  -TCP hergestellt. Bei der Synthese von  $\beta$ - TCP konnten keine signifikanten Unterschiede in der Qualität der unterschiedlichen  $\beta$  - Tricalciumphosphate festgestellt werden. Allerdings war die phasenreine Umsetzung zu  $\alpha$  -TCP nur bei  $\beta$  - TCP 13 (Baker) und 14 (Merck) möglich. Für die Ausgangsstoffe von Alfa und Sigma wurde trotz Abschrecken des Sinterkuchens nur die  $\beta$ -TCP Modifikation erhalten. Es bleibt zu vermuten, daß eventuell im Ausgangsstoff vorhandene Verunreinigungen, wie zweiwertige Metallionen, die thermische Zersetzung der instabilen  $\alpha$ -TCP Phase im Bereich 800-1100 °C katalysieren.

$\alpha$  -TCP ist vor allem für die Herstellung apatitischer Zemente verwendbar, da es in wässriger Lösung einer Hydrolyse zu calciumarmen Hydroxylapatit unterliegt [90-94, 120,129-131]. Ginebra et al. konnten auch unter Verwendung von nicht phasenreinem  $\alpha$  -TCP (Anteil von ca. 17 %  $\beta$ - TCP) und einer 2,5 %igen Lösung von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  als flüssige Phase den Ablauf einer Abbindereaktion nachweisen, wobei nach 24 h ca. 80 % des Edukts umgesetzt waren [120]. Interessant bei früheren Untersuchungen von einkomponentigen Zementformulierungen auf  $\alpha$  -TCP Basis ist der Zusammenhang zwischen Partikelgröße des Ausgangsmaterials und der Abbindereaktion, die durchschnittlich um 6,3  $\mu\text{m}$  lag [121]. Kristallines  $\beta$ -TCP zeigte im Gegensatz hierzu keine nennenswerte Abbindereaktion mit neutralen Phosphatlösungen, der Werkstoff wurde in der Vergangenheit vor allem in sauren, Bruschit-bildenden Zementen nach Zusatz von Phosphorsäure oder primären Calciumphosphaten beschrieben [106,107,109]. Neben einer Reduktion der Partikelgröße wurde für TCP ebenfalls eine Amorphisierung durch den Mahlvorgang (mechanische Aktivierung) beschrieben [73,74,95]. Der Mahlvorgang führt unter bestimmten Voraussetzungen durch mechanisch induzierte Phasenumwandlung zur Bildung amorpher Bestandteile im Pulver, die durch eine höhere thermodynamische und kinetische Löslichkeit eine beschleunigte Abbindereaktion zeigen. Durch mechanische Aktivierung sind ebenfalls einkomponentige Zemente aus  $\beta$  -TCP zugänglich, die mit neutraler Phosphatlösung zu calciumarmen Apatit abbinden.

Für das mehrkomponentige Zementssystem auf TTCP/DCPA Basis wurden zur Beurteilung des Abbindeverhaltens die Abbindezeit und Umsetzungsraten der CPC – Formulierungen verglichen. Im Rahmen der gemessenen Abbindezeiten konnten ähnliche Werte erzielt werden wie schon in früheren Arbeiten [98]. Die Verwendung von Natriumhydrogenphosphatlösung als flüssige Phase konnte die Abbindezeit um bis zu 22 min verringern. Die relativ langen Abbindezeiten könnten mit Inhomogenitäten der Zementmischungen zusammenhängen, die zu längeren Diffusionsstrecken der gelösten Ionen führen. Zudem wäre es denkbar, daß die Löslichkeit der Partikel durch Kontamination der Partikeloberfläche beeinträchtigt ist [83,119]. Die stark differierenden Abbindezeiten und der mangelnde Umsatz könnten außerdem auch auf die Reaktion von Calciumhydrogenphosphat zu Octacalciumphosphat zurückzuführen sein. Bei physiologischem pH hat die Umsetzung von DCPA mit Wasser unter anderem die Bildung von OCP zur Folge aufgrund der niedrigen Kristallbildungsrate von Hydroxylapatit. Durch Einwirkung von physiologischen Puffermedien über einen längeren Zeitraum ist eine vollständige Umsetzung zu Hydroxylapatit möglich.

## 6. Zusammenfassung

Im Rahmen der Arbeit wurden anwendungsbezogene Anforderungen an Bestandteile von Calciumphosphatzementen für den Einsatz als Knochenersatzwerkstoff untersucht. Gegenstand der Untersuchung waren hierbei Calciumhydrogenphosphat (DCPA), Calciumcarbonat (CC), Tetracalciumphosphat (TTCP),  $\alpha$ -Tricalciumphosphat ( $\alpha$  - TCP) und  $\beta$  -Tricalciumphosphat ( $\beta$  - TCP) bzw. äquimolare Mischungen von DCPA und TTCP, die in wässriger Umgebung zu Hydroxylapatit abbinden.

Nach röntgendiffraktometrischer Analyse der Phasenreinheit von Calciumcarbonat (CC) und Calciumhydrogenphosphat (DCPA) verschiedener Hersteller erfolgte die Charakterisierung der Edukte durch Partikelgrößenanalyse und rasterelektronenmikroskopischer Betrachtung der Einzelpartikel. Anschließend wurden verschiedene Mahlversuche von DCPA unter Variation der Mahldauer, des Mahlwerkzeugs und des Suspensionsmediums durchgeführt zur Einstellung geeigneter Korngrößen für die Zementsynthese. Ein hohes Zetapotential während der Mahlung durch entsprechende Lösungsmittel verhindert die Bildung von Agglomeraten und begünstigt so die gleichmäßige Mahlung der Partikel und die Einstellung der geforderten, hohen Endfeinheiten. Die Synthese von Tetracalciumphosphat erfolgte nach Trocken- bzw. Nassmischung verschiedener Calciumhydrogenphosphate mit Calciumcarbonat durch Sinterung der Pulver bei 1500 °C unter Variation der Sinterdauer. Um Verunreinigungen durch atmosphärische Adsorbate zu umgehen, wurde das Abkühlverfahren der Sinterkuchen mehrfach modifiziert. Die verwendeten Tetracalciumphosphate wurden trocken gemahlen mit Variation der Mahlparameter und partikelanalytisch begutachtet bis zu einer Partikelgrößeneinstellung von 10  $\mu\text{m}$ . Phasenreines TTCP war durch Abkühlung des Sinterkuchens unter Stickstoffspülung zugänglich. Die Kombination des gemahlene Tetracalciumphosphats mit verschiedenen Calciumhydrogenphosphaten ergab mehrkomponentige Zementformulierungen, deren Abbindezeit hinsichtlich Abbindezeit und Umsetzungsrate zu Hydroxylapatit bewertet wurden. Als flüssige Phase wurden aqua ad injectabilia bzw. 0,25 molare Natriumhydrogenphosphatlösung verwendet. Die initialen Abbindezeiten mit aqua ad injectabilia lagen zwischen 24 – 48 min, wohingegen die Verwendung eines Puffersystems die Verringerung der initialen Abbindezeiten auf 6 – 35 min zur Folge hatte. Röntgendiffraktometrische

Untersuchungen belegten die geringe bis keine Umsetzung einzelner Zementpasten zu Hydroxylapatit in Gegenwart von aqua ad injectabilia. Durch Einsatz einer 0,25 molaren Natriumhydrogenphosphatlösung als flüssige Phase konnte die Umsetzungsrate gesteigert werden.

Parallel wurde  $\beta$  - TCP aus Calciumhydrogenphosphaten verschiedener Firmen und Calciumcarbonat durch Sinterung hergestellt und modifiziert bis Phasenreinheit nachgewiesen werden konnte. Die Pulver wurden vor und nach Nassmahlung durch Korngrößenanalyse beurteilt. Im Anschluss daran wurde  $\alpha$  - TCP durch erneutes Sintern bei 1400 °C der hergestellten  $\beta$  - Tricalciumphosphate synthetisiert. Hier wurde allerdings nur partiell eine Umsetzung zu  $\alpha$  - TCP erhalten, verschiedene Edukte lieferten trotz rascher Abkühlung des Sinterkuchens nur die  $\beta$ -Modifikation, eventuell durch das Vorhandensein katalytisch wirksamer Verunreinigungen begründet.

Weiterführende Untersuchungen müssen sich speziell mit einer Verbesserung der Synthese und Mahlung der Zementkomponenten beschäftigen. Die Bildung des Zementgefüges ist eng mit der Lösungsrate der einzelnen Komponenten und somit auch mit der spezifischen Oberfläche verknüpft, damit bestimmen Partikelgröße und – form, sowie kinetische und thermodynamische Löslichkeit der Reaktanden die Eigenschaften des abbindenden Zements. Die partikelanalytische Charakterisierung der Pulveredukte stellt damit eine Voraussetzung für die gezielte Weiterentwicklung bestehender sowie neuer Formulierungen zu klinisch einsetzbaren Werkstoffen dar.

## 7. Literaturverzeichnis

- [1] Grote J J . Reconstruction of the ossicular chain with hydroxyapatite implants, *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986; 123:10-12.
- [2] Flemmig T F. *Parodontologie - Ein Kompendium*, Thieme, Stuttgart 1993; 91.
- [3] Brown W E, Chow L C. A new calcium phosphate, water setting cement, Brown PW (ed), *Cements Research Progress* 1986 Westerville OH 1986; *Am Ceram Soc* 1987; 352-379.
- [4] Takagi S, Chow L C, Ishikawa K. Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements, *Biomaterials* 1998; 19:1593-1599.
- [5] Chow L C, Markovic M, Takagi S. "Calcium Phosphate Cements", *Cements Research Progress*, Struble L J (Hrsg.) Westerville OH 1997; *The Am Ceram Soc* 1998; 215-238.
- [6] Chow L C. Development of self-setting calcium phosphate cements, *J Ceramic Soc Japan* 1991; 99:954-964.
- [7] Costantino P D, Friedman C D, Jones K, Chow L C, Sisson G A. Experimental hydroxyapatite cement cranioplasty, *Plast Reconstr Surg* 1992; 90(2):174-191.
- [8] Friedman C D, Costantino P D, Jones K, Chow L C, Pelzer H J, Sisson G A. Hydroxyapatite cement- Obliteration and reconstruction of the cat frontal sinus, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117: 385-389.
- [9] Ohura K, Bohner M, Hardouin P, Lemaître J, Pasquier G, Flautre B. Resorption of, and bone formation from, new beta-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements: an in vivo study, *J Biomed Mater Res* 1996; 30(2): 193-200.
- [10] Fukase Y, Eanes E D, Takagi S , Chow L C, Brown W E. Setting reactions and compressive strength of calcium phosphate cements, *J Dent Res* 1990 ; 69 (12) :1852-1856.
- [11] Elliot J C. *Structure and Chemistry of the Apatites and other Calcium Orthophosphates*, Elsevier Amsterdam 1994.
- [12] Lenart G, Bidlo G, Pinter J. Some basic problems in the examination of calciumhydrogen phosphates of bone, *Clin Orthop Rel Res* 1972; 83:263-272.
- [13] Muenzenberg KJ, Gebhardt M. Brushite, octacalcium phosphate, and carbonate – containing apatite in bone, *Clin Orthop Rel Res* 1973; 90: 271-273.
- [14] Tovborg A J, Rathlev J. Calcium hydrogen orthophosphate 2- hydrate and calcium hydrogen orthophosphate, *Inorganic Syntheses* 1953; 4:19-22.
- [15] Young R A, Brown W E. *Structures of biological minerals, Biological Mineralization and Demineralization*, 1981; Berlin Springer Verlag 1982; pp 101-141.

- [16] Schroeder H E. Formation and Inhibition of Dental Calculus, Berne, Hans Huber, 1969.
- [17] Chow L C, Brown W E. Reaction of dicalcium phosphate dihydrate with fluoride, *J Dent Res* 1973; 52:1220-1227.
- [18] Neuman W F, Neuman M W. The chemical Dynamics of Bone Mineral, Chicago, University of Chicago Press, 1958.
- [19] Aia M A, Goldsmith, Mooney. Precipitating stoichiometric  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , *Ind Eng Chem* 1961; 53:55-57.
- [20] Tung, Chow, Brown. hydrolysis of dicalcium phosphate dihydrate in the presence or absence of calcium fluorid, *J Dent Res* 1985; 64:2-5.
- [21] Mc Intosh A O, Jablonski W L. X-ray powder patterns of the calcium phosphates, *Analytical Chem*, 1956; 28:1424-1427.
- [22] Frondel C. Whitlockite: a new calcium phosphate,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , *Am Miner* 1941; 26:145-152.
- [23] Rowles S L. The precipitation of whitlockite from aqueous solutions, *Bull Soc Chim Fr* 1968; 1797-1802.
- [24] Terpstra R A, Driessens, Schaeken, Verbeeck. The whitlockite phase in the system  $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{MgO}$  at 1000 °C, *Z Anorg Allg Chem* 1983; 507:206-212.
- [25] Clement D, Tristan, Hamad, Roux, Heughebaert. Étude de la substitution  $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$  dans l'orthophosphate tricalcique  $\beta$ , *J Solid State Chem* 1989; 78:271-280.
- [26] Tovborg Jensen A, Rowles. Magnesian whitlockite, a major constituent of human dental calculus, *Acta Odont Scand* 1957; 15:121-139.
- [27] Le Geros R Z, Daculs, Kijkowska, Kerebel. The effect of magnesium on the formation of apatites and whitlockites, Itokawa, Durlach: Magnesium in Health and Disease 1989; pp 11-19.
- [28] Vahl J von, Höhling, Frank. Elektronenstrahlbeugung an rhomboedrisch aussehenden Mineralbildungen in kariösem Dentin, *Arch Oral Biol* 1964; 9:315-320.
- [29] Chickerur N S, Nayak, Lenka, Mahapatra. Hydrolysis of dicalcium phosphate dihydrate in presence of magnesium & fluorid ions in aqueous media, *Indian J Biochem Biophys* 1983; 20:315-317.
- [30] Gopal R, Calvo, Jto, Sabine. Crystal structure of synthetic Mg-whitlockite  $\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2\text{H}_2(\text{PO}_4)_{14}$ , *Can J Chem* 1974; 52:1155-1164.
- [31] Gregory T M, Moreno, Patel, Brown. Solubility of  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  in the system  $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4 - \text{H}_2\text{O}$  at 5, 15, 25m and 37 °C, *J Res Natn Bur Stands* 1974, 78A:667-674.
- [32] Dickens B, Schroeder L W, Brown W E. Crystallographic studies of the role of Mg as a stabilizing impurity in  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . I. The crystal structure of pure  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , *J Solid State Chem* 1974; 10:232- 248.
- [33] Welch J H, Gutt W. High-temperature studies of the system calcium oxidephosphorus pentoxide, *J Chem Soc* 1961; 4442-4444.

- [34] Lehr J R, Brown E H, Frazier A W, Smith J P, Thrasher R D. Crystallographic Properties of Fertilizer Compounds, Chemical Engineering Bulletin No 6 Muscle Shoals, Tennessee Valley Authority 1967.
- [35] Nurse R W, Welch J H, Gutt W. High-temperature equilibria in the system dicalcium silicate-tricalcium phosphate, J Chem Soc 1959; 1077-1083.
- [36] Mathew M, Schroeder L W, Dickens B, Brown W E. The crystal structure of  $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, Acta Cryst 1977; B33:1325-1333.
- [37] Mackay A L. A preliminary examination of the structure of  $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, Acta Cryst 1953; 6:743 – 744.
- [38] Monma H. Preparation of octacalcium phosphate by the hydrolysis of  $\alpha$ -tricalcium phosphate, J Mater Sci 1980; 15:2428–2434.
- [39] Monma H, Goto M. Succinate-complexed octacalcium phosphate, Chem Soc Jpn 1983; 56:3843–3844.
- [40] Brown W E, Epstein E F. Crystallography of tetracalcium phosphate, J Res Natn Bur Stand 1965; 69A:547–551.
- [41] Brown W E, Chow L C. A new calcium phosphate, water-setting cement, American Ceramic Society 1986; pp 351-379.
- [42] Brown W E, Chow L C. Combinations of sparingly soluble calcium phosphates in slurries and pastes as remineralizers and cements, US Patent 1986; 4,612, 053.
- [43] Xie L, Monroe E A. The hydrolysis of tetracalcium phosphate and other calcium orthophosphates, in Yamamuro I, Hench L L, Wilson J (eds) CRC Handbook of Bioactive Ceramics Vol. II, Boca Raton, CRC Press 1990; pp 29-37.
- [44] Ciesla K, Rudnicki R. Synthesis and transformation of tetracalcium phosphate in solid state Part I, Synthesis of roentgenographically pure tetracalcium phosphate from calcium dibasic phosphate and calcite, Pol J Chem 1987; 61:719-727.
- [45] Monma H, Nagai M. Calcium orthophosphates, in Kanazawa T(ed) Inorganic Phosphate Materials, Materials Science Monograph 52 1989; Ch 4:pp 79-103.
- [46] Bauer H, Balz W. Über Erdalkaliphosphate, -arsenate und -vanadate vom Typus 4MeO X<sub>2</sub> O<sub>5</sub>, Z Anorg Allg Chem 1965; 340:225–231.
- [47] Monma H, Goto M, Nakajima H, Hashimoto H. Preparation of tetracalcium phosphate, Gypsum & Lime 1986; 202:17-21.
- [48] Ciesla K, Rudnicki R. Synthesis and transformation of tetracalcium phosphate in Solid State, Part II Studies on synthesis of tetracalcium phosphate by the thermal analysis method, Pol J Chem 1988; 62:31-39.
- [49] Tovborg Jensen A, Gebhard Hansen K. Tetracalcium hydrogen triphosphate trihydrate, a constituent of dental calculus, Experientia 1957; 13:311.

- [50] Le Geros R Z. Preparation of octacalcium, phosphate (OCP): a direct fast method, *Calcit Tissue Int* 1985; 37:194-197.
- [51] Chickerur N S, Tung M S, Brown W E. A mechanism for incorporation of carbonate into apatite, *Calcit Tissue Int* 1980; 32:55-62.
- [52] Salimi M H, Heughebaert J C, Nancollas G H. Crystal growth of calcium phosphates in the presence of magnesium ions, *Langmuir* 1985; 1:119-122.
- [53] Moriwaki Y, Doi Y, Kani T, Aoba T, Takohashi J, Okazaki M. Synthesis of enamel-like apatite at physiological temperature and pH using ion – selective membranes, in Suga S(ed): *Mechanism of Tooth Enamel Formation*, Tokyo, Quintessence Publishing Co 1983; pp 239-256.
- [54] Iijima M, Moriwaki Y. Effects of inorganic ions on morphology of octacalcium phosphate grown on cation selective membrane at physiological temperature and pH in relation to enamel formation, *J Cryst Growth* 1989; 96:59-64.
- [55] Le Geros R Z, Kijkowska R, Le Geros J P. Formation and transformation of octacalcium phosphate, OCP: a preliminary report. *Scanning Elektron Microscopy* 1984; 4:1771–1777.
- [56] Tung M S, Eidelman N, Sieck B, Brown W E. Octacalcium phosphate solubility product from 4 to 37 °C, *J Res Natn Bur Stands* 1988; 93:613-624.
- [57] Brown W E, Mathew M, Tung M S. Crystal chemistry of octacalcium phosphate, *Prog Crystal growth Charact* 1981; 4:59-87.
- [58] Le Geros R Z, Daculsi G, Orly I, Abergas T, Torres W. Solution-mediated transformation of octacalcium phosphate (OCP) to apatite, *Scanning Microscopy* 1989; 3:129-138.
- [59] Newesely H. Darstellung von „Octacalciumphosphat“ (Tetracalciumhydrogentriphosphat) durch homogene Kristallisation, *Monatsh Chem* 1960; 91:1020 – 1023.
- [60] Schumacher G H, Schmidt H, Böring H, Richter W. *Anatomie und Biochemie der Zähne*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1990.
- [61] Wintermantel E, Ha S W. *Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen*, Springer Berlin 1996; 216.
- [62] Mc Dowell H, Gregory T M, Brown W E. Solubility of  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  in the system  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  at 5, 15, 25 and 37 °C, *J Res Natn Bur Stands A Phys Sci* 1977; 81A:273-281.
- [63] Bell L C, Posner A M, Quirk J P. The point of zero charge of hydroxyapatite and fluorapatite in aqueous solutions, *J Coll Interface Sci* 1973; 42:250-261.
- [64] Gregory T M, Moreno E C, Brown W E. Preparation and solubility of hydroxyapatite, *J Res Natn Bur Stand* 1968; 72(A):773-782.
- [65] Aoba T, Moreno E C. Preparation of hydroxyapatite crystals and their behavior as seeds for crystal growth, *J Dent Res* 1984; 63:874-880.



- [66] Arends J, Christoffersen J, M R, Eckert H, Fowler B O, Heughebaert JC, Nancollas GH, Yesinowski JP, Zawacki SJ. A calcium hydroxyapatite precipitated from an aqueous solution, An international multimethod analysis, *J Cryst Growth* 1987; 84:515-532 .
- [67] Atkins P W. *Physikalische Chemie 1 Auflage* VCH, Weinheim 1990; 200.
- [68] Chow L C, Takagi S, Costantino P D, Friedman C D. Self – setting calcium phosphate cements, *Mat Res Soc Symp Proc* 1991; 179:3-24.
- [69] Bermudez O, Boltong M G, Driessens F C M, Planell J A. Development of an octacalcium phosphate cement, *J Mater Sci Mater Med* 1994; 5:144-146.
- [70] Le Geros R Z. Properties of osteoconductive biomaterials calcium phosphates, *Clin Orthop* 2002;39:81-98.
- [71] Driessens F C M, Boltong M G, Bermudez O, Planell J A. Formulation and setting time of some calcium orthophosphate cements: a pilot study, *J Mater Sci Mater Med* 1993; 4:503-508.
- [72] Chow L C. Calcium-Phosphat Zemente, Eigenschaften und Verwendung Biomaterialien 2001; 2:11-18.
- [73] Gbureck U, Grolms O, Barralet J E, Grover L M, Thull R. Mechanical activation and cement formation of  $\beta$ -tricalcium phosphate, *Biomaterials* 2003; 24:4123-4131.
- [74] Gbureck U, Radu L, Klinger H G, Thull R. Mechanische Aktivierung von  $\alpha$ -Tricalciumphosphat, *Biomaterialien* 2003; 4:19-25.
- [75] Brown W E, Chow L C. Dental restorative cement pastes, *US Pat* 4518430, 1985.
- [76] Chow L C, Takagi S. "Calcium phosphate cements", *Cements Research Progress*, Struble L J (Hrsg.) Westerville OH 1994; 189-201; *The Am Ceram Soc* 1996.
- [77] Ishkawa K, Takagi S, Chow L C, Ishkawa Y. Properties and mechanisms of fast – setting calcium phosphate cements, *J Mat Sci Mat Med* 1995; 6:528-533.
- [78] Lui C, Shen W, Gu Y, Hu L. Mechanism of hardening process for a hydroxyapatite cement, *J Biomed Mater Res* 1997; 35:75-80.
- [79] Posset U, Löcklin E, Thull R, Kiefer W. Vibrational Spectroscopic study of tetracalcium phosphate in pure polycrystalline form and as a constituent of a self-setting bone cement, *J Biomed Mater Res* 1998; 40:640-645.
- [80] Kouassi M, Michalesco P, Lacoste – Armynot A, Bondeville P. Antibacterial effect of a hydraulic calcium phosphat cement for dental applications, *J Endodont* 2003; 29:100-103.
- [81] El Briak H, Durand D, Nurit J, Munier S, Pauvert B, Boudeville P. Study of a hydraulic dicalcium phosphate dihydrate / calciumoxide – based cement for dental applications, *J Biomed Mater Res* 2002; 63:447-453.

- [82] De Maeyer E A P, Verbeek R M H, Vercruyse C W J. Conversion of octacalcium phosphate in calcium phosphate cements, *J Biomed Mater Res* 2000; 52:95-106.
- [83] Hofmann M. Physikalische Charakterisierung von Calciumphosphatpulver zur Einstellung von Prozessparametern für die Herstellung von Knochenzement, Diss Uni Würzburg 2003.
- [84] Sanin N, Takagi S, Chow LC, Matsuya S. Particle size effects on pH and strength of calcium phosphate cement, *JADR* 1991; Abstract No 2411.
- [85] Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y, Fox J I, Higuchi W I. Effect of particle size of metastable calcium phosphates on mechanical strength of a novel self – setting bioactive calcium phosphate cement, *J Biomed Mater Res* 1995; 29:25-32.
- [86] Matsuya S, Takagi S, Chow L C. Effect of mixing ratio and pH on the reaction between  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$  and  $\text{CaHPO}_4$ , *J Mater Sci Mater Med* 2000; 11:305-311.
- [87] Jshikawa K, Takagi S, Chow L C, Suzuki K. Reaction of calcium phosphate cements with different amounts of tetracalcium phosphate and dicalcium phosphate anhydrous, *J Biomed Mater Res* 1999; 46:504-510.
- [88] Liu C S, Shao H F, Chen F Y, Zheng H Y. Effects of the granularity of raw materials on the hydration and hardening process of calcium phosphate cement, *Biomaterials* 2003; 24:4103-4113.
- [89] Matsuya Y, Matsuya S, Antonucci J M, Takagi S, Chow L C, Akamine A. Effekt of powder grinding an hydroxyapatite formation in a polymeric calcium phosphate cement prepared from tetracalcium phosphate and poly (methylvinylether – maleicacid), *Biomaterials* 1999; 20:691-697.
- [90] Driessens F C M, Boltong M G, Planell J A, Bermudez O, Ginebra M P, Fernandez E. New apatitic calcium phosphate bone cement: preliminary results, *Bioceramics* 1993; 6:469-472.
- [91] Ginebra M P, Fernandez E, Boltong M G, Driessens F C M, Planell C M. Intfluence of the particle size of the powder phase in the setting and hardening behavior of a calcium phosphate cement, *Bioceramics* 1997; 10:481-484.
- [92] Monma H, Kanazawa T. The Hydration of  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate, *J Ceram Soc Jpn* 1976; 84:209-13.
- [93] Li Y, Zhang X, de Groot K. Hydrolysis and Phase Transition of Alpha – Tricalcium Phosphate, *Biomaterials* 1997; 18:737-41.
- [94] Ten Huisen K S, Brown P W. Formation of calcium-deficient hydroxyapatite from  $\alpha$ -tricalcium phosphate, *Biomaterials* 1998; 19:2209-17.
- [95] Gbureck U, Barralet J E, Hofmann M, Thull R. Mechanical activation of tetracalcium phosphate, *J Am Ceram Soc* 2004; 87:311-13.

- [96] Gbureck U, Barralet JE, Radu L, Klinger H J, Thull R. Amorphous  $\alpha$ -tricalcium phosphate, Preparation and aqueous setting, *J Am Ceram Soc* 2004; 87(6): 1126-1132.
- [97] Gbureck U, Barralet J E, Hofmann M, Thull R. Nanocrystalline TTCP Cement, *J Dent Res* 2004; 83(5): 425-428.
- [98] K Spatz. Kinetik der Abbindereaktion von Calciumphosphat-Zement, Diplomarbeit Uni Würzburg 2000.
- [99] Fernandez E, Gil F J, Best S M, Ginebra M P, Driessens F C M, Planell J A. Improvement of the mechanical properties of new calcium phosphate bone cement in the  $\text{CaHPO}_4$ - $\alpha$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  system, *J Biomed Mater Res* 1998, 41:560-567.
- [100] Charrière E, Terrazoni S, Pittet C, Mordasini P, Dutoit M, Lemaître J, Zysset Ph. Mechanical characterization of brushite and hydroxyapatite cements, *Biomaterials* 2001; 22:2937-2945.
- [101] Kveton J F. Obliteration of the eustachian tube using hydroxyapatite cement: a permanent technique, *Laryngoskope* 1996; 106(10):1241-1243.
- [102] Krell K F, Wefel J S. A calcium phosphate cement root canal sealer—scanning electron microscopic analysis, *J- Endod* 1984; 10(12):571-576.
- [103] Krüger E, Krumholz K. Knochenersatz bei Konturdefekten und Asymmetrien des Gesichtsschädels durch Hydroxylapatit- Keramik, *Niederhagen B. Fortschr Kiefer-Gesichtschir*, 1994; 39:181-183.
- [104] Pistner H, Reuther J, Reinhart E, Kübler N, Prissnitz B. Neuer Hydroxylapatitzement für die Kraniofaciale Chirurgie, *MKG* 1998; 2:37-40.
- [105] Miyamoto Y, Toh T, Jsikawa K, Yuasa T, Nagayama M, Suzuki K. Effect of added  $\text{NaHCO}_3$  on the basic properties of apatit cement, *J Biomed Mater Res* 2001; 54:311-319.
- [106] Mirtchi A A, Lemaître J, Munting E. Calcium phosphate cements: action of setting regulation, *Biomaterials* 1989; 10:634-638.
- [107] Bohner M, van Landuyt P, Merkle H P, Lemaître J. Composition effects of the pH of a hydraulic calcium phosphate cement, *J Mater Sci Mater Med* 1997; 8:675-681.
- [108] van Landuyt P, Peter B, Beluze L, Lemaître J. Reinforcement of osteosynthesis screws with brushite cement, *Bone* 1999; 25:95-98.
- [109] Bohner M, Lemaître J, Ring T. Effects of sulfate, pyrophosphab teand citrate ions on the physicochemical properties of cements made of  $\beta$ -TCP-phosphoric acid – water mixture., *J Am Ceram Soc* 1996; 79:1427-1434.
- [110] Bohner M, Merkle H P, van Ladnuyt P, Trophardy G, Lemaître J. Effect of serveral additives and their admixtures on the physico – chemical properties of a CPC, *J Mater Sci Mater Med* 2000; 11:111-116.

- [111] Sarda S, Fernandez E, Nilsson M, Balcells M, Planell J A. Kinetic study of citric acid influence on calcium phosphate bone cement as water reducing agent, *J Biomed Mater Res* 2002; 61:653-659.
- [112] Pittet C, Lemaître J. Mechanical characterisation of brushite cements: a Mohr circles approach, *Biomed Mater Res Appl Biomat* 2000; 53:769-780.
- [113] Mirtchi A, Lemaître J, Munting E. CPC effect of fluorides on setting and hardening of  $\beta$ -TCP-dicalcium phosphate – calcite cements, *Biomaterials* 1991; 12:506–510.
- [114] Smith J P, Lehr J R, Brown W E. Crystallography of monocalcium and dicalcium phosphates, *Am Miner* 1955; 40:893-899.
- [115] Cherng A, Takagi S, Chow L C. Effects of hydroxypropyl methylcellulose and other gelling agents on the handling properties of calcium phosphate cement, *J Biomed Mater Res* 1997; 35(3):273-7.
- [116] Fa. Retsch. Produktinformation zu Kugelmühle PM 400 Stand 6/96.
- [117] Hollemann A F, Wilberg E. *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 101 Auflage Walter de Gruyter Berlin, New York 1995.
- [118] Aaboe M, Pinholt EM, Hjortinghansen E. Healing of experimentally created defects – a review, *Brit J oral Maxillofac Surg* 1995; 33 (5): 312-318.
- [119] Chow LC, Takagi S. Calcium phosphate hydroxyapatite precursors and methods for making and using the same, US Patent, No. 30,709; 1996.
- [120] Ginebra MP, Fernandez E, De Maeyer EAP, Verbeeck RMH, Boltong MG, Driessens FCM, Ginebra J, Planell JA. Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement, *J Dent Res* 1997; 76:905-912.
- [121] Ginebra MP, Fernandez E, Driessens FCM, Planell JA. Modeling of the Hydrolysis of  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate, *J Am Ceram soc* 1999; 82 (10): 2808-12.
- [122] Dehnert K, Jäckel M, Oehr H, Rehbein U, Seitz H. *Allgemeine Chemie*, Schroedel Hannover 1979; 192.
- [123] Suzuki T, Yamamoto T, Toriyama M, Nishizawa K, Yokogawa Y, Mucalo MR, Kawamoto Y, Nagata F, Kameyama T. Surface instability of calcium phosphate ceramics in tissue culture medium and the effect on adhesion and growth of anchorage dependent animal cells. *J Biomed Mater Res* 1997; 34(4):507-517.
- [124] Ducheyne P, Kim CS, Pollack SR. The effect of phase differences on the time-dependent variation of the zeta-potential of hydroxyapatite, *J Biomed Mater Res* 1992;26(2):147-168.
- [125] Ginebra MP, Driessens FCM, Planell JA. Effect of the particle size on the micro and nanostructural features of phosphate cement: a kinetic analysis, *Biomaterials* 2004; 25 (17): 3453-3462.

- [126] Cho SH, Hwang IS, Lee JK, Oh KS, Kim SR, Chung YC. Effects of TCP particle size distribution on TCP-TTCP-DCPD bone cement system, *Key Engin Mater* 2004; 254-2: 217-220.
- [127] Carmire CL, Saint-Jean SJ, McCarthy I, Hansen S, Lidgren L. Study of particle size dependant reactivity in an alpha-TCP orthophosphate cement, *Key Engin Mater* 2004; 254-2: 269-272.
- [128] Markovic M, Takagi S, Kim D, Chow LC. Effects of particle size and cement liquid composition on calcium phosphate cement properties, *J Dent Res* 1997; 76: 2942-2942.
- [129] Ginebra MP, Fernandez E, Driessens FCM, Boltong MG, Muntasell J, Font J, Planell JA. The effects of temperature on the behaviour of an apatitic calcium phosphate cement, *J Mater Sci: Mater Med* 1995;6: 857-860.
- [130] Fulmer MT, Martin RI, Brown PW. Formation of calcium deficient hydroxyapatite at near-physiological temperature, *J Mater Sci: Mater Med* 1992;3:299-305.
- [131] Durucan C, Brown PW. Alpha-tricalcium phosphate hydrolysis of hydroxyapatite at and near physiological temperature, *J Mater Sci: Mater Med* 2000; 11(6): 365-371.
- [132] Gbureck U, Barralet JE, Grover LM, Hofmann M, Thull R. Mechanische Eigenschaften und Porosität von Calcium-Phosphat-Zementen, *Biomaterialien* 2003; 4(4):258-264.
- [133] Frayssinet P, Gineste L, Conte P, Fages J, Rouquet N. Short-term implantation effects of DCPD-based calcium phosphate cement, *Biomaterials* 1998;19: 971-977.
- [134] Grover LM, Knowles JC, Fleming GJP, Barralet JE. In vitro dissolution of Brushite cement, *Biomaterials* 2003; 24(23): 4133-4141.
- [135] Munting E, Mirtchi AA, Lemaître J. Bone repair of defects filled with a phosphocalcic hydraulic cement: an in vivo study, *J Mater Sci: Mater Med* 1993; 35: 337-344.

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Ich danke Herrn Prof. Dr.-Ing. R. Thull für die Möglichkeit, an seinem Lehrstuhl für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde eine sehr interessante, wissenschaftliche und anwendungsorientierte Arbeit durchzuführen.

Ich danke Herrn Dr. rer. nat. Uwe Gbureck für die wertvollen Anregungen und die intensive Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ferner danke ich allen Kolleginnen und Kollegen der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnheilkunde für das freundschaftliche Klima und ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

Ganz besonders danke ich an dieser Stelle meiner Familie für Ihre volle Unterstützung.

## Lebenslauf

Vorname: Kerstin Ursula  
Nachname: Bangert  
Geburtsdatum: 31. August 1974  
Geburtsort: 97828 Marktheidenfeld  
Konfession: römisch katholisch  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig  
Vater: Hans-Peter  
Mutter: Birgit  
Ausbildung: 1981-85 Grundschule Lohr am Main  
1985-1994 Franz Ludwig von Erthal Gymnasium Lohr am Main  
1994 Abitur  
November 1994 Medizinertest  
siebenmonatiges Praktikum im zahntechnischen Labor Walter, Rieneck  
Sommersemester 1995 – Wintersemester 1999 / 2000  
Studium der Zahnmedizin an der Universität Würzburg  
Juni 2000 erfolgreicher Abschluß des Studiums mit der  
zahnärztlichen Prüfung  
Assistenzzeit: November 2000 – Ende Oktober 2001  
Vorbereitungsassistentin in der Praxis Dr. Straßen (Kist)  
November 2001 – Anfang September 2004  
Vorbereitungsassistentin in der Praxis Dr. Nolte  
(Frammersbach)  
seit 6. September 2004 Vorbereitungsassistentin in der Praxis  
Dr. Wolfgang Beier (Lohr am Main)

Lohr a. Main, 8.07.2005

*Kerstin Bangert*

---