

Aus der Klinik und Polikliniken für Zahn- Mund – und Kieferkrankheiten
Der Universität Würzburg
Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde
Direktor: Professor Dr. R. Thull

Mechanische Aktivierung und Zementbildung von β -Tricalciumphosphat

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von
Oliver Grolms
aus Riedenberg

Würzburg, November 2005

Referent: Prof. Dr. R. Thull

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. Dr. K. Würzler

Dekan: Prof. Dr. G. Ertl

Tag der mündlichen Prüfung: 09.02.2007

Der Promovend ist Zahnarzt

Gewidmet meiner Familie und Lavinia

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Kenntnisstand	6
2.1 Einteilung der Calciumphosphate	6
2.1.1 Gefällte Calciumorthophosphate	6
2.1.2 Gesinterte Calciumphosphate	7
2.1.2.1 α -Tricalciumphosphat	7
2.1.2.2 β -Tricalciumphosphat	7
2.1.2.3 Hydroxylapatit	8
2.1.2.4 Biphases Calciumphosphat	8
2.2 Calciumphosphatzemente	9
2.2.1 Apatitbildende Zemente.....	10
2.2.2 Bruschnitbildende Zemente.....	11
2.3 Mechanische Eigenschaften von Calciumphosphatzementen.....	12
2.4 Calciumphosphate <i>in vivo</i> und <i>in vitro</i>	15
2.4.1 Hydroxylapatit-Keramiken	17
2.4.2 α -Tricalciumphosphat-Keramik.....	17
2.4.3 β -Tricalciumphosphat-Keramik.....	18
2.4.4 Hydroxylapatit-Zemente	19
2.4.5 Bruschnit-Zemente.....	20
3. Material und Methode	22
3.1 Herstellung von β -Tricalciumphosphat und Mahlung.....	22
3.2 Partikelgrößenbestimmung.....	23
3.3 Flüssige Phase: Ermittlung des Pulver-Lösungsmittel-Verhältnisses	23
3.4 Bestimmung der Abbindezeit nach Gilmore	24
3.5 Prüfung der Druck- und Zugfestigkeit	24
3.5.1 Herstellung der Prüfkörper	24
3.5.2 Durchführung der Messung.....	27
3.6 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)	28
3.7 Porositätsmessung und Berechnung der Dichte	29
3.8 Rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung	30

3.9 Bestimmung der Pulverlöslichkeit.....	31
3.10 Differenz-Thermo-Analyse (DTA) und Thermogravimetrische Analyse (TGA).....	31
4. Ergebnisse	32
4.1 Partikelgrößenbestimmung.....	32
4.2 Änderungen der Kristallinität durch den Mahlvorgang	32
4.3 Pulverlöslichkeit.....	34
4.4 Differenz-Thermo-Analyse (DTA) und Thermogravimetrische Analyse (TGA).....	35
4.5 Flüssige Phase und Pulver-Lösungsmittel-Verhältnis	38
4.6 Messung der Abbindezeit nach Gilmore.....	39
4.7 Mechanische Eigenschaften der Zementmatrix.....	39
4.8 Phasenzusammensetzung nach Aushärtung	41
4.9 Porositätsmessung und Berechnung der Dichte	45
4.10 Rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung	47
5. Diskussion	48
6. Zusammenfassung.....	53
7. Literaturverzeichnis	54
8. Anhang	60

Abkürzungsverzeichnis

BCP	biphasisches Calciumphosphat
CaP	Calcium-Orthophosphat
CC	Calciumcarbonat
CDHA	calciumarmer HA (engl.: calcium deficient HA)
CPC	Calcium-Phosphat-Zement
CS	Druckfestigkeit
DCPA	Calciumhydrogenphosphat; Monetit
DCPD	Calciumhydrogenphosphat Dihydrat; Bruschit
DTS	diametrale Zugfestigkeit
HA	Hydroxylapatit
HA _P	präzipitiertes Hydroxylapatit
MA β T	mechanisch aktiviertes β -TCP
MCPA	Monocalciumphosphat Anhydrat
MCPM	Monocalciumphosphat Monohydrat
REM	Rasterelektronenmikroskop
TCP	Tricalciumphosphat
TTCP	Tetracalciumphosphat
XRD	Röntgendiffraktometrie (engl.: X-Ray-Diffraction)

1. Einleitung und Problemstellung

Pathologische Prozesse und Traumata gehen mit der Destruktion knöcherner Strukturen einher. In der plastischen Chirurgie, Parodontologie und Implantologie liegt vielfach eine Indikation zur Applikation knochenauflauer Materialien zur Defektfüllung vor. Prinzipiell kann Knochen durch Transplantation bzw. Implantation autogenen, allogenen, xenogenen oder alloplastischen Materials ersetzt werden. Für autogenes, vom Patienten selbst stammendes Material spricht, dass die Einheilungschance durch die fehlende Antigen-Antikörper-vermittelte Abstoßungsreaktion groß ist und dass eine Infektion des Implantatempfänger durch das Transplantat selbst ausgeschlossen werden kann. Autogene Transplantate stellen einen „goldenen Standard“ in Bezug auf das Einwachsverhalten und die Wiederherstellung der biologischen Funktionalität dar [1]. Zur Gewebentnahme muss sich der Patient jedoch einer weiteren Operation unterziehen, welche zusätzliche Risiken und Belastung birgt [2, 3, 4]. Durch eine allogene Transplantation bleibt dem Transplantatempfänger die Operation zur Gewebentnahme erspart. Jedoch sind hierbei die An- und Einheilungsverhältnisse wegen einer möglichen Abstoßungsreaktion wesentlich komplizierter als bei der autogenen Transplantation [5]. Dies macht eine Aufbereitung des Transplantats (z. B. AAA-Bone) oder die medikamentöse Immunsuppression des Transplantatempfänger notwendig. Auch besteht das Risiko einer Infektionsübertragung vom Spender auf den Empfänger. Bei xenogenen Transplantaten verlaufen Abstoßungsreaktionen zumeist wesentlich heftiger ab, da sich die Immunsysteme verschiedener Spezies noch deutlicher unterscheiden. Eine Übertragung bakterieller und viraler Krankheitserreger kann nicht ausgeschlossen werden und führt häufig zur Kontraindikation dieser Werkstoffklasse [6].

Eine Alternative stellen alloplastische (synthetische) Materialien dar. Diese bestehen vor allem aus Metallen, Polymeren, Keramiken oder Verbundwerkstoffen dieser Materialklassen. Vorteile dieser Werkstoffe sind das

uneingeschränkte Angebot, Sterilisierbarkeit, Lagerstabilität und Wirtschaftlichkeit. An Knochenersatzwerkstoffe werden hohe Anforderungen gestellt. Unter *Biokompatibilität* versteht man die biologische Verträglichkeit, die Abwesenheit von Zytotoxizität und die knöchernen Integration, d. h. das Fehlen einer Abkapselung durch Granulationsgewebe. Dies bedeutet im weiteren Sinne, dass lokale oder systemische Toxizität, entzündliche Reaktionen und Kanzerogenität nicht auftreten [7]. Die Biokompatibilität ist Anwendungsort-bezogen; das Material muss den mechanischen Kräften, die im Implantationsgebiet auftreten, angepasst sein [8]. Im Bereich des Knochenersatzes werden aufgrund der chemischen Ähnlichkeit zur mineralischen Phase des Knochens Werkstoffe auf Calciumphosphat-Basis favorisiert [9]. Ist der Werkstoff eingebracht, wird oftmals auch in nicht funktionell kraftbelasteten Defekten mechanische Stabilität gefordert, um auch längerfristig gute Einheilchancen zu erzielen.

Biomaterialien können auf unterschiedliche Weise mit dem Knochengewebe reagieren. Dient die poröse Struktur des (keramischen) Implantats als Leitschiene einer Knocheneinsprossung, wird von einer *osteokonduktiven* Wirkung gesprochen. Bedeutender für die Restitutio ad integrum ist der *osteoinduktive* Effekt, d. h. die Anregung der Knochenneubildung durch das Biomaterial. Hierbei kommt die induzierende Wirkung von Wachstumsfaktoren, wie BMP, FGF β , TGF β , IGF-1 zum Tragen [7]. *Biodegradation* beschreibt den Abbau von in den Körper eingebrachten Implantaten, beispielsweise den hydrolytischen Abbau degradierbarer Kunststoffe auf Polylactid-/Polyglycolid-Basis [10, 11] oder im Falle von Calciumphosphatkeramiken durch chemische Lösung oder makrophagenvermittelte Phagozytose [12]. Degradation wird in der Traumatologie gefordert, ist in der plastisch-ästhetischen Chirurgie aber unerwünscht [13]. Die Resorptionsgeschwindigkeit sollte sich mit der Osteogenese im Gleichgewicht befinden, damit keine Hohlraumbildung erfolgt, welche zu einer bindegewebigen Organisation, einer Infektion oder einer erneuten Fraktur führen kann. Die Resorptionsgeschwindigkeit ist abhängig von der chemischen Zusammensetzung. Beispielsweise geht Tricalciumphosphat

(TCP) im allgemeinen schneller in Lösung als Hydroxylapatit (HA) [14], das im physiologischen Milieu weitgehend unlöslich ist. Die Resorptionsrate hängt proportional von der Oberfläche bzw. von der Mikro- und Makroporosität ab [15, 16].

Im Laufe der letzten 80 Jahre wurde die Eignung von Calciumphosphaten als Knochenersatzmaterial untersucht. Die erste Verwendung von TCP in vivo erfolgte 1920 durch Albee und Morrison [17]. Im Folgenden wurden verschiedene Calciumphosphatpartikel in Tiere injiziert, um deren Effekt auf die Heilung von Knochendefekten zu untersuchen [18]. 1951 implantierte Ray Hydroxylapatit in Ratten und Meerschweinchen [19]. Trotz dieser frühen Experimente wurde erst in den 70er Jahren CaP, zumeist HA, hergestellt, charakterisiert und als Biomaterial angewendet. Dieses wurde durch Sinterung in Form von Granulaten oder als Formkörper, porös oder dicht, hergestellt [20]. Die Verwendung von Calciumphosphaten als biokompatible Zement-Werkstoffe wurde erstmals 1982 von LeGeros et al. vorgeschlagen [21]. Im Jahre 1983 wurde durch Brown und Chow [22] der erste in situ abbindende Calcium-Phosphat-Zement (CPC) entwickelt. Ein wichtiger Vorteil von Zementen gegenüber gesinterten Formkörpern bzw. Granulaten ist die Möglichkeit der Anwendung in Pastenform und der guten Anpassung des Werkstoffs an die Knochendefektoberfläche mit anschließender Aushärtung zu einem strukturell stabilen Implantat. Eine direkte Anbindung des CPC an den Knochen reduziert die Bildung von Bindegewebe zwischen Implantat und Knochen, was den Umbau des Werkstoffes zu Hartgewebe erleichtert. CPC zeigt bei Rekonstruktion von Knochendefekten eine langsame Resorption des Werkstoffs mit Ersatz durch neu gebildeten Knochen unter Volumenerhalt. Keramisches (gesintertes) HA ist nicht resorbierbar, β -TCP wird oftmals resorbiert ohne vollständig durch Knochen ersetzt zu werden. Klinisch finden Calciumphosphatzemente (CPC) Anwendung in craniomaxillofacialen Defektbereichen mit geringer mechanischer Beanspruchung [23, 24, 25].

Die Chemie der Abbindereaktion von CPC beruht auf der unterschiedlichen Löslichkeit von Zementedukten und dem Reaktionsprodukt. Im aushärtenden Zement bildet die wässrige Phase eine in Bezug auf stöchiometrischen oder calciumarmen Hydroxylapatit übersättigte Lösung. Die *in situ* Präzipitation des Produkts HA erfolgt isotherm ohne makroskopische Veränderung von Form und Volumen. Wird in der Zementpaste während des Abbindevorgangs ein pH-Wert $< 4,2$ unterschritten, beispielsweise durch Zusatz von Phosphorsäure oder primären Calciumphosphaten, ist das Endprodukt der Abbindereaktion Bruschit, das im Gegensatz zu HA thermodynamisch im physiologischen Milieu resorbierbar ist. Beispiele von Zementformulierungen sind einkomponentige Zemente auf Basis von kristallinem α -Tricalciumphosphat (TCP) [26], sowie Mischungen von TCP mit Calciumcarbonat (CC) und primärem Calcium-bis-dihydrogenphosphat (MCPA) [27, 28]. Zemente auf Basis von Tetracalciumphosphat (TTCP) in Verbindung mit Calciumhydrogenphosphat (Monetit, DCPA) [29] bzw. Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (Bruschit, DCPD) [30] sind ebenfalls literaturbekannt. Andere HA-bildende CPC nutzen metastabiles amorphes Calciumphosphat, hergestellt durch Fällung aus übersättigter Lösung mit anschließender Gefriertrocknung, welches infolge der thermodynamischen Instabilität der amorphen Phase bezüglich HA eine stärker partikelgrößenunabhängige Abbindereaktion zeigt [31, 32].

Eine weitere Möglichkeit zur Herstellung amorpher Werkstoffe beruht auf der mechanisch induzierten Phasenumwandlung kristalliner Materialien in den amorphen Zustand, beispielsweise durch hochenergetische Kugelmahlung [33, 34]. Dieses Verfahren der mechanischen Aktivierung ist für die Herstellung einer Reihe keramischer oder metallischer Verbindungen literaturbekannt [35, 36], wurde aber vor dieser Arbeit für die Herstellung amorpher Calciumphosphate für die Anwendung in Knochenzementen noch nicht beschrieben. Im Rahmen vorliegender Dissertation erfolgte die Herstellung eines neuen, einkomponentigen Zementsystems auf Basis von β -Tricalciumphosphat, das durch langzeitige Mahlung in Ethanol mechanisch aktiviert wurde. Untersucht wurde die Auswirkung des Mahlvorgangs auf die

Kristallinität und Reaktivität sowie auf die Abbindereaktion mit einer neutralen Na_2HPO_4 -Lösung in Hinblick auf die klinisch relevanten Eigenschaften, etwa die Abbindezeit nach dem Gilmore-Verfahren oder die mechanischen Kennwerte Druckfestigkeit und diametrale Zugfestigkeit. Änderungen der Kristallinität wurden durch Röntgenpulver-diffraktometrie (XRD) sowie durch thermochemische Analytik (Thermogravimetrie, Differentielle Kalorimetrie) bestimmt.

2. Kenntnisstand

2.1 Einteilung der Calciumphosphate

In der anorganischen Chemie werden Orthophosphate (PO_4^{3-} -Gruppe) von Methaphosphaten (PO_3^{2-} -Gruppe) und Pyrophosphaten ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ -Gruppe), die sich alle von der Phosphorsäure (H_3PO_4) ableiten, unterschieden [21]. Calcium-Phosphat-Zemente (CPC) werden aus Calcium-Orthophosphaten (CaP) gewonnen. CaP kann durch Ausfällung aus einer wässrigen Lösung bei Raumtemperatur (*low-temperature* CaP) oder durch einen Sinterprozess (*high-temperature* CaP) gewonnen werden. Binden Calciumphosphat-Zemente ab, entsteht immer ein ausgefälltes CaP als Endprodukt der Abbindereaktion mit entsprechend geringen Kristallitgrößen im nm-Bereich [20].

2.1.1 Gefällte Calciumorthophosphate

Gefällte Calciumorthophosphate werden nicht direkt als Knochenersatzwerkstoffe verwendet, sondern sind Basis der Herstellung gesinterter Calciumphosphate [20]. Lösliches Monocalciumphosphat Monohydrat (MCPM, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) wird im stark sauren Milieu durch Reaktion von Phosphorsäure mit Calciumionen hergestellt. Aufgrund fehlender Biokompatibilität findet MCPM ausschließlich zusammen mit basischen Calciumphosphaten in bruschitbildenden Knochenzementen wie α -TCP [37] oder β -TCP [38] Verwendung.

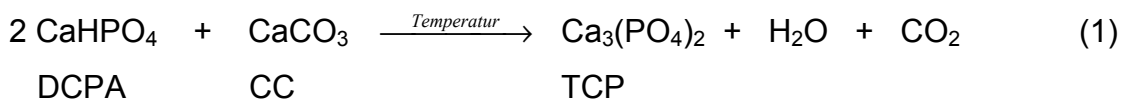
Calciumhydrogenphosphat (DCPA, Monetit, CaHPO_4) ist biokompatibel, biodegradierbar und ist im Frakturkallus und möglicherweise auch im Knochen enthalten [39, 40]. Das ebenfalls biokompatible, biodegradierbare und osteokonduktive Dicalciumhydrogenphosphat Didydrat (DCPD, Bruschit, $\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ist Bestandteil des Knochens [40] und des Frakturkallus [39]. Durch seine Metastabilität kann es durch Rekristallisationsvorgänge in DCPA ($\text{pH} < 6$), Octocalciumphosphat (OCP) ($\text{pH} \approx 6 - 7$) oder HA ($\text{pH} > 7$) umgewandelt werden. Unter physiologischen Bedingungen erfolgt entweder eine Umwandlung zu calciumarmem HA oder die Biodegradation und der

knöchernen Ersatz. Durch Präzipitation aus einer flüssigen Phase entsteht bei $\text{pH} > 7$ gefälltes Hydroxylapatit (HA_P). Das molare Ca/P-Verhältnis kann variieren und zwischen 1,50 und 1,67 liegen. Hydroxylapatit mit einem Ca/P-Verhältnis von 1,50 wird als calciumarmes HA (engl.: calcium deficient HA (CDHA)) bezeichnet. HA_P ähnelt dem Apatit des natürlichen Knochens, welches zusätzlich durch Carbonat und Magnesiumionen verursachte Verunreinigungen enthält [20].

2.1.2 Gesinterte Calciumphosphate

2.1.2.1 α -Tricalciumphosphat

Die Herstellung von Tricalciumphosphat (TCP) erfolgt durch Sinterung eines Pulvergemisches nach der Reaktion:



Durch Variation der Temperatur während des Sinterprozesses entsteht bei gleicher Summenformel entweder die Niedrigtemperaturmodifikation β -TCP oder die metastabile Hochtemperaturmodifikation α -TCP, die Umwandlungstemperatur beträgt 1125°C . Die Kristallstruktur wirkt sich auf die Löslichkeit aus. Die α -Variation ist leichter löslich als die β -Variante. In wässrigen Elektrolyten findet für α -TCP vornehmlich eine Phasenumwandlung zu calciumarmem HA statt, welches weniger löslich als TCP ist [41]. Diese Eigenschaft wird für die Herstellung von apatitbildenden Calciumphosphatzementen auf Basis von α -TCP genutzt [20].

2.1.2.2 β -Tricalciumphosphat

β -TCP, auch als Whitlockit bezeichnet, wird durch Sinterung bei Temperaturen über 650°C gewonnen. β -TCP kann durch einen erneuten Sinterprozess reversibel in α -TCP umgewandelt werden [20]. Eine Degradation erfolgt durch Osteoklasten, freigesetzte Keramikmikropartikel werden durch mehrkernige

Riesenzellen phagozytiert. Tierexperimentell wurde ein Abbau des β -TCP und α -TCP mit Ersatz durch Knochen innerhalb von 1,5 Jahren beobachtet [42]. Aufgrund der gegenüber α -TCP geringeren Löslichkeit und geringeren Übersättigung der wässrigen Phase findet für kristallines β -TCP keine nennenswerte Umwandlung in CDHA statt.

2.1.2.3 Hydroxylapatit

Hydroxylapatit (HA: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) wird durch Mischung verschiedener Calciumphosphate, z. B. Calciumoxid (CaO) und Calciumhydrogenphosphat (CaHPO_4), und anschließende Sinterung bei Temperaturen über 700°C hergestellt. Gesintertes HA unterscheidet sich von beim Abbinden eines Calciumphosphatzementes entstehendem HA_p durch die festere Kristallitverbindung nach dem Sinterprozess. Daher können prinzipiell bei einer Belastungsprüfung höhere mechanische Werte erreicht werden. HA zeigt eine höchst kristalline Struktur und ist das biokompatibelste Calciumphosphat. In wässrigen Lösungen ist es nur schwer löslich. Die Degradation gesinterten Hydroxylapatits wird in Dekaden und nicht in Jahren angegeben, daher gilt es als nicht degradierbar [20].

2.1.2.4 Biphasiges Calciumphosphat

Biphasisches Calciumphosphat (BCP) wird durch Calcinierung von gefällttem HA mit einem Ca/P-Verhältnis kleiner 1,67 bei Temperaturen über 700°C gewonnen. Das dabei entstehende Edukt enthält sowohl β -TCP als auch HA. Auf dem Markt angebotene Keramiken haben zumeist 60 % und 40 % β -TCP-Anteil. Die mechanischen Eigenschaften und die Biokompatibilität des biphasischen Werkstoffes nehmen im Vergleich zu den Eigenschaften von reinem HA oder β -TCP eine Zwischenstellung in Bezug auf das Resorptionsverhalten ein und können durch Variation der Anteile beeinflusst werden [43].

Prinzipiell steigt mit dem Grad der Phasenreinheit eines Ersatzwerkstoffes die Kontrollierbarkeit der klinischen Anwendung, da ein einheitlicher Grad der

Degradation des TCP und der ossären Umwandlung besser reproduzierbare Resultate erwarten lässt [44]. Wie bereits erwähnt, sollen die Knochenregeneration und die Degradation des Implantats möglichst im Gleichschritt erfolgen. Reine HA-Keramik ist *de facto* nicht resorbierbar. Die Verwendung reiner β -TCP-Keramik ist für die Versorgung größerer Defekte kontraindiziert da sie zu schnell abgebaut wird und der Knochenneubildung nicht lange genug ein stabiles Gerüst bieten würde. Durch Kombination von HA und β -TCP kann die Degradationsgeschwindigkeit klinischen Erfordernissen angepasst werden. Biphasische Keramiken werden bevorzugt für Korrekturen im Bereich der Wirbelsäule oder zur intervertebralen Versteifung herangezogen [45].

2.2 Calciumphosphatzemente

Alle CPC gehören dem ternären System $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ an. Basis der Calciumphosphatzemente (CPC) sind Mischungen feiner Pulver verschiedener Calciumorthophosphate (CaP) (Tabelle 1), die in situ, bei Anwesenheit einer flüssigen Phase, abbinden. Zementformulierungen können einkomponentig, etwa durch Hydrolyse von α -TCP zu calciumarmem Hydroxylapatit, sein [46], oder aus mehreren reaktiven Verbindungen, beispielsweise Mischungen aus basischem Tetracalciumphosphat (TTCP) und leicht sauren Bestandteilen wie Calciumhydrogenphosphat (DCPA) oder Dicalciumhydrogenphosphat Didydrat (DCPD), bestehen [22, 47]. Trotz der verschiedenen möglichen Formulierungen der CPC-Herstellung können vom chemischen Standpunkt aus gesehen nur zwei Arten von Zementen entstehen, solche, die Brushit (DCPD, $\text{Ca}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) entstehen lassen und solche, die das weniger lösliche Hydroxylapatit (HA) als Endprodukt der Abbindereaktion entstehen lassen.

Allen Zementen gemein ist der Reaktionsmechanismus durch eine Lösungs-/Präzipitationsreaktion; die treibende Kraft, die dem Abbindeverhalten von Calciumphosphaten zugrunde liegen, ist die pH-Wertabhängige, unterschiedliche Löslichkeit (Lösungsisothermen) von Zementreaktanden und

dem Abbindeprodukt [21, 48]. Aufgrund unterschiedlicher Lösungsraten wird eine Abbindereaktion nur dann stattfinden, wenn sich die kinetische Löslichkeit aller Komponenten, welche durch die Partikelgröße / spezifische Oberflächengröße bestimmt wird, gleich verhält [49, 47].

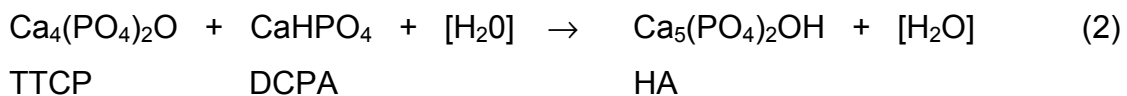
Tabelle 1: Summenformel, Calcium-Phosphat-Verhältnis und Löslichkeitsprodukt (LP) für die CPC-Herstellung wichtiger Calciumorthophosphate [21]

Verbindung	Summenformel	Ca/P	Log (LP) bei 37°C
Monocalciumphosphat Monohydrat; MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$	0,5	löslich
Dicalciumphosphat Dihydrat; Bruschit; DCPD	$\text{CaHPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	6,63 [50]
Dicalciumphosphat Anhydrid; Monetit; DCPA	CaHPO_4	1,0	7,04 [51]
α -Tricalciumphosphat; α -TCP	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	25,5
β -Tricalciumphosphat; β -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	29,5 [52]
Hydroxylapatit; HA	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1,67	58,6 [53]
Tetracalciumphosphat; TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	37,4 [54]

Ebenso kann das biologische Verhalten von CPC aus den Lösungsisothermen abgeleitet werden. Besitzt das Abbindeprodukt eine höhere Löslichkeit (Bruschit) als die mineralischen Bestandteile des Knochens, kann dieses resorbiert werden. Im Fall einer geringeren Löslichkeit (HA) kann, wenn überhaupt, nur eine sehr langsame Degradation durch einen säurekatalysierten, zellulären Mechanismus erfolgen [20].

2.2.1 Apatitbildende Zemente

Brown und Chow berichteten 1983 von einem selbsthärtenden Calciumphosphatzement (CPC), hergestellt aus equimolaren Anteilen fein gemahlener, relativ basischen Tetracalciumphosphats (TTCP) und relativ sauren Calciumhydrogenphosphat (DCPA) oder Calciumhydrogenphosphat Dihydrats (DCPD) als feste Phasen [22]. Mit Wasser als flüssige Phase bildete dieser Zement neutrales HA als Endprodukt:

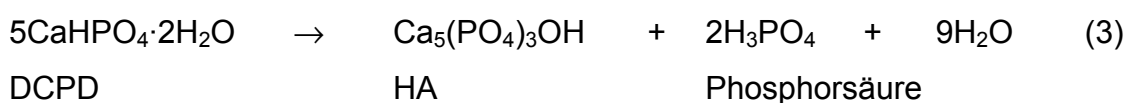


Wird Wasser als Lösungsmittel im TTCP + DCPA/DCPD-Zementsystem verwendet, härtet der Zement innerhalb von ca. 30 Minuten aus. Durch das Anmischen des gleichen Zementsystems in 0,2 mol⁻¹ Phosphatlösung konnte die Aushärtezeit von 30 auf 5 Minuten reduziert werden. Gleichzeitig stieg die Umsatzrate zu HA deutlich an [55]. Die Aushärtung eines Zementes hängt direkt mit der Umsetzung zu HA_P zusammen [56].

Seither beschäftigte sich eine Vielzahl von Autoren mit der Herstellung von CPC aus Mischungen verschiedener Calciumphosphate. So wurde von Brown und Chow vorgeschlagen, CPC auch durch Mischung von TTCP mit weniger löslichem Octocalciumphosphat (OCP, Ca₈H₂PO₄)₆ x 5H₂O) und Tricalciumphosphat herzustellen [28]. Andere HA-bildende CPC nutzen metastabiles amorphes Calciumphosphat, welches bezüglich des HA infolge der thermodynamischen Instabilität des Gemisches eine stärker partikelgrößenunabhängige Abbindereaktion zeigt [32]. Amorphe Calciumphosphate werden durch Präzipitation bei einem hohen Übersättigungsgrad und anschließender Gefriertrocknung des Produktes hergestellt [31].

2.2.2 Bruschitbildende Zemente

Bruschit entsteht durch Zusatz saurer Calciumphosphate oder Phosphorsäure bei pH-Werten ≤ 4,2 [28, 57]. Mögliche Kombinationen für die Herstellung eines bruschitbildenden Zementes sind, wie erstmals von Mirtchi und Lemaitre beschrieben, β-TCP + MCPM [28], TTCP + MCPM + CaO oder β-TCP + H₃PO₄ [58, 59]. Werden *in vivo* große Mengen DCPD zu HA_P umgewandelt, kann eine Entzündungsreaktion auftreten, da hierbei, der Reaktion



folgend, Phosphorsäure freigesetzt wird. Durch Zugabe von Magnesiumionen als Additiv in den pastösen Zement kann diese Reaktion inhibiert werden. Dann erfolgt allerdings keine Umwandlung des DCPD zu HA_p mehr. Ein Vorteil des Bruschits ist seine thermodynamische Resorbierbarkeit im physiologischen Milieu, er wird daher schneller degradiert als apatitbildender Zement, dessen Degradation nur über Osteoklastenaktivität erfolgen kann [20].

2.3 Mechanische Eigenschaften von Calciumphosphatzementen

Aufgrund unterschiedlicher Versuchsaufbauten und der Vielzahl der Herstellungsmöglichkeiten eines Calciumphosphatzementes ist ein Vergleich von Ergebnissen verschiedener Autoren nur unter Vorbehalt möglich. Mechanische Eigenschaften werden in Zusammenhang mit Veränderungen vielfältiger Parameter geprüft. Variiert werden können die Porosität, das Verhältnis Ca/P, das Pulver-Lösungsmittel-Verhältnis, das Lösungsmittel, die Aushärtezeit, auch in unterschiedlichen Medien, und die Kompressionskräfte bei der Prüfkörperherstellung sowie die Prüfkörperform. Tabelle 2 gibt die in der Literatur angegebenen Werte für Druck- und Zugfestigkeit verschiedener Zementformulierungen wieder. Die Druckfestigkeit von CPC ist höher als die Zugfestigkeit, was mit einem Verschluss von Mikrofrakturen unter Druck bzw. deren Öffnung unter Zugbelastung erklärt werden kann. CPC gilt als spröde, daher erreicht er nur, ähnlich wie Gips, eine DTS von ca. 10 MPa [61].

Chow et al. untersuchten, inwieweit Druckausübung auf die Prüfkörper während des Aushärtens die spätere mechanische Festigkeit beeinflusst [60]. Ein aus TTCP und DCPA hergestellter Zement wurde insgesamt 24 h gehärtet. Dabei wurde er zwischen 0,5 h und 24 h in den Formkörpern belassen und einem Druck von 0, 0,7 und 2,8 MPa ausgesetzt. Mit zunehmendem Druck stieg die diametrale Zugfestigkeit (DTS) von $7,83 \pm 0,99$ MPa auf $12,53 \pm 0,74$ MPa an. Bei gleichem Druck beeinflusste die Dauer der Druckausübung in der Prüfkörperform die Festigkeit nicht. Für die Bestimmung der Druckfestigkeit wurde eine auch in der klinischen Anwendung erreichbare

Kompressionskraft von 0,7 MPa gewählt. Nach 24 h betrug die Druckfestigkeit hierbei $66,1 \pm 5,0$ MPa [59]. Mit steigendem Druck, der auf die Prüfkörper ausgeübt wird, wird die Porosität, die als maßgeblicher Faktor zur Beeinflussung der Zug- und Druckfestigkeit identifiziert wurde, durch Auspressen von Zementflüssigkeit reduziert [61]. Ebenso hat das Verhältnis P/L Einfluss auf die Porosität des Prüfkörpers. Mit zunehmender Menge an Lösungsmittel erhöht sich die Porosität und verringert sich die Festigkeit der Zemente. In der Festigkeit unterscheidet sich Apatit deutlich von Bruschit. Für apatitbildenden Zement wurde beispielsweise eine Druckfestigkeit von 83 MPa, für bruschitbildenden Zement 60 MPa gemessen. Bedingt durch die thermodynamische Löslichkeit des Bruschits unterscheiden sich die Festigkeiten *in vivo* noch deutlicher [20].

Tabelle 2: Von verschiedenen Autoren gemessene Werte der Druckfestigkeit (CS), diametralen Zugfestigkeit (DTS) und Abbindezeit unterschiedlicher Zementformulierungen; in den Klammern ist der Produktname, unter dem der Zement kommerziell erhältlich ist, angeführt

Bestandteile	CS (MPa)	DTS (MPa)	Abbindezeit (min)
α -TCP + DCPD	64,3 [75]	-	-
α -TCP + TTCP (Cementec [®]) + Tetracyclin	11,5 [62]	0,9 [62]	-
α -TCP + TTCP (Cementec [®])	14 [62]	1,7 [62]	-
β -TCP + MCPM	1,3 [59]	10,7 [59]	-
TTCP + DCPA	66,1 [60]	12,53 [60]	-
TTCP + DCPA	-	13 [61]	-
DCPA + CC	75,0 [59]	3,5 [59]	-
DCPA + Calciumhydroxid + Na ₂ HPO ₄	-	3,3 [55]	5,0 [55]
DCPA + CC + Na ₂ HPO ₄	-	1,5 [55]	20,0 [55]
DCPD + Calciumhydroxid + Na ₂ HPO ₄	-	1,5 [55]	10,0 [55]
α -TCP + Calciumhydroxid + Na ₂ HPO ₄	-	1,3 [55]	20,0 [55]
α -TCP + CC + Na ₂ HPO ₄	-	7,5 [55]	20,0 [55]
α -TCP + CC + MCPM (Norian [®] SRS)	33,0 [20]	-	8,5 [20]
α -TCP + TTCP + Calciumhydroxid + H ₃ PO ₄ (Cementek [®]) [43]	8,0 [20]	-	17,0 [20]
α -TCP + DCPA + CC + PHA	83,0 [20]	-	6,5 [20]

Bestandteile	CS (MPa)	DTS (MPa)	Abbindezeit (min)
(Biocement [®] D) [43]			
amorphes Calciumphosphat + DCPD (α -BSM [®]) [43]	4,0 [20]	-	19,0 [20]

Die Partikelgröße beeinflusst die Festigkeit der Zemente dahin gehend, dass mit kleineren Partikelgrößen der Edukte die mechanische Festigkeit bis zu einem gewissen Punkt gesteigert werden kann, dann aber, bei weiterer Zerkleinerung der Partikel, wieder fällt [47]. Fukase sieht einen Zusammenhang zwischen Abbinden bzw. Umsetzung seines Zementes zu ausgefälltem HA und einer deutlichen Zunahme der Druckfestigkeit [63]. Je mehr die Partikel im Zuge der Abbindereaktion durch amorphe Kristalle verknüpft werden, desto höher ist die spätere Festigkeit. Furkase stellte einen Zement aus TTCP und DCPA her und untersuchte anschließend das Abbindeverhalten und die Druckfestigkeit. Die Proben wurden rasterelektronenmikroskopisch analysiert. Vor dem Anmischen des Zementpulvers reichte die Partikelgröße von weniger als 1 μm bis zu über 10 μm , die Form erschien, wahrscheinlich bedingt durch den Mahlprozess, unregelmäßig. 1 h nach dem Anmischen entsprach die Partikelform weitgehend der des Ausgangsmaterials, in den Zwischenräumen bildeten sich Kristallcluster aus. Diese stellen das Produkt der Abbindereaktion dar und sind für den stabileren Verbund der Partikel untereinander verantwortlich. Die 2 h lang ausgehärtete Probe wies eine Zunahme der jetzt stabartig erscheinenden Kristalle im Partikelzwischenraum auf. Nach 4 h zeigte sich die ursprüngliche Struktur des Ausgangsmaterials weniger deutlich, die im Zuge der Abbindereaktion entstandenen interpartikulären Kristalle wiesen ein ausgeprägtes Längenwachstum auf. 24 h nach dem Anmischen waren in Bereichen mit hoher Materialdichte kompakte, häufig parallel angeordnete Kristalle sichtbar. Im Gegensatz dazu wuchsen an Poren angrenzende Kristalle radial und waren deutlich voneinander getrennt [63].

2.4 Calciumphosphate *in vivo* und *in vitro*

Die Reaktion des periimplantären Gewebes auf den eingebrachten Fremdkörper wird unter anderem durch die chemische Oberflächenbeschaffenheit, Größe und Form des Implantats, den Implantationsort und den Zeitpunkt der Implantation beeinflusst. Hierbei ist die Auswirkung auf Zellaktivierung und Zellkommunikation von besonderem Interesse. Die Dynamik des Knochengewebes resultiert aus osteoblasten- und osteoklastenvermittelter Modellation bzw. Resorption. Auf devitalisierten Knochenscheiben wurde die charakteristische Funktionsweise von Osteoklasten untersucht. Diese ist gekennzeichnet durch abwechselnde Migrations- und Resorptionsphasen. Während der Migration findet keine Resorption statt. Für aus Kaninchen gewonnene Osteoklasten wurde eine Migrationsgeschwindigkeit zwischen 30 und 248 $\mu\text{m/h}$ gemessen [64].

In wässrigen Lösungen weisen Calciumphosphate nur geringe Löslichkeiten auf. Blut und extrazelluläre Flüssigkeit enthalten bereits Calcium- und Phosphationen. Daher hängt das Verhalten von Calciumphosphaten nach der Implantation zumindest teilweise davon ab, ob die Körperflüssigkeit mit diesen Ionen übersättigt, gesättigt oder untersättigt ist [65]. Bei einem durchschnittlichen pH-Wert des Körpers von 7,4 sind Körperflüssigkeiten an HA übersättigt, an calciumarmem Apatit (CDA) und Carbonatapatit (CA) gesättigt und untersättigt an Calciumcarbonat (CaCO_3) sowie Dicalciumphosphat Dihydrat (DCPD) [66]. Daher haben CaCO_3 , DCPA und DCPD die Tendenz, sich langsam in Körperflüssigkeit aufzulösen. Die Knochenneubildung scheint durch Resorption von Calciumphosphaten begünstigt zu werden [67, 68]. Das hierbei frei werdende Ca^{2+} kann als Ursprung der Bioaktivität betrachtet werden [69, 70]. Eine zu rasche Degradation des eingebrachten Implantats auf Calciumphosphatbasis könnte durch zu viel freigesetztes Ca^{2+} respektive PO_4^{3-} einen negative Einfluss auf das Gewebe zur Folge haben, da die Zellaktivität durch die schnelle Änderung des Milieus gestört wird [71, 72]. Zellvermittelte Degradation oder Resorption geschieht in saurem Milieu [73]. Lebende Körperzellen können den pH-Wert

ihrer direkten Umgebung verändern. In der Nähe von Osteoklasten kann der Wert auf 5 abfallen, wohingegen Osteoblasten ihn durch Ammoniakausscheidung auf bis zu 8,5 ansteigen lassen können [74]. Entsprechend ändert sich die Löslichkeit der Calciumphosphate.

Die Porosität stellt ein wichtiges Kriterium für das An- und Einwachsen des Knochens dar. Um einen Knocheneinwuchs zu erreichen, wurden für Knochenersatzwerkstoffe Poren zwischen 150 und 250 μm gefordert [7]. Experimentelle Studien zeigen, dass auch Spalten von 5 – 10 μm knöchern durchwachsen werden können [8].

In *vitro* können Calciumphosphatzemente höhere mechanische Festigkeiten erreichen als in *vivo*. Kommt es aufgrund ungünstiger Bedingungen *intra operationem* während der Applikation zu Körperflüssigkeits- oder Lufteinschlüssen, so wird die mechanische Qualität des Zementes reduziert [75]. Standardisierte Bedingungen können am Patienten nicht erreicht werden. Durch Verwendung rasch abbindender Zemente können negative Einflüsse auf die mechanische Festigkeit, z. B. durch Einblutung, verringert werden.

In *vivo* konnte ein negativer Einfluss von TCP-Partikeln $< 10 \mu\text{m}$ auf Makrophagen und mehrkernige Riesenzellen von Mäusen nachgewiesen werden. Die zur Degradation dieser Partikel befähigten Zellen reichert das frei werdende Calcium in den Mitochondrien an, was zur Lyse der Mitochondrien führte und den Zelltod zur Folge hatte [76]. Das Wachstum der Osteoblasten und die alkalische Phosphataseaktivität werden durch Hydroxylapatitpartikel $< 10 \mu\text{m}$ negativ beeinflusst [77]. Somit nimmt die Partikelgröße Einfluss auf die Degradationsgeschwindigkeit und Biokompatibilität eines auf Calciumphosphaten basierenden Werkstoffes. Die Knochenneubildung wird bis zum Zeitpunkt der kompletten Resorption der störenden Partikel verzögert [78]. Eine Zunahme der alkalischen Phosphataseaktivität, die in engem Zusammenhang mit Knochenneubildung

steht, spricht für eine erhöhte Osteokonduktivität bei Anwesenheit von CPC [84].

2.4.1 Hydroxylapatit-Keramiken

HA-Keramiken finden in Blockform oder als Granulat, mit poröser oder dichter Struktur klinische Verwendung. Sie werden im Bereich der spinalen Neurochirurgie, z. B. zur Segmentfixierung oder zur Korrektur von Wirbelsäulendeformationen, eingesetzt [79]. In der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde dienen Keramiken aus HA der Versorgung von knöchernen Defekten des Gehörganges [80]. Titanimplantate werden mit HA oberflächenbeschichtet, um eine bessere und schnellere Einheilung zu erreichen [81]. Makroskopisch bzw. lichtmikroskopisch betrachtet scheint sich HA-Keramik *in vivo* direkt mit dem umgebenden Knochen, ohne Beteiligung von Bindegewebe, zu verbinden. Eine Betrachtung der Schnittstelle zwischen menschlichem Knochen und HA-Keramik mittels Transmissions-Elektronen-Mikroskop zeigte neben einem direkten Kontakt zwischen Knochen und Keramikimplantat im selben Präparat auch die Möglichkeit der Interposition von Kollagenfasern. Diese waren entweder längs oder senkrecht zur Oberfläche des Implantats angeordnet [80]. Gesinterte HA-Keramiken sind aufgrund des mikrokristallinen Gefüges *in vivo* praktisch unlöslich.

2.4.2 α -Tricalciumphosphat-Keramik

Göttinger Miniaturschweinen wurden in einem rechts-links-Vergleich ca. 3,5 – 4,7 ml große Markraumdefekte in den Tibiaknochen präpariert. In die Kavität wurde α -TCP (Biobase[®] α Pore) eingebracht und mit einem Kortikalisdeckel verschlossen. Das verwendete Knochenersatzmaterial zeigte eine ausschließlich osteokonduktive Wirkung mit zentripetal angelegter Knochenneubildung. Eine multilokuläre Reossifikation konnte nicht beobachtet werden. Durch chemische Auflösung und zelluläre Phagozytose mehrkerniger Riesenzellen waren nach 5 Monaten ca. 40 % der Keramik abgebaut. Die verbliebene Keramik war überwiegend in den neu entstandenen Knochenbälkchen eingebettet. Mikropartikel wurden in den neu gebildeten,

hämatopoetisch aktiven Markräumen und in mehrkernigen Riesenzellen nachgewiesen. Im Vergleich zu β -Tricalciumphosphat-Keramik war die Degradation der applizierten α -Tricalciumphosphat-Keramik über den gesamten Beobachtungszeitraum von 68 Wochen hinweg von einer stärkeren zellulären Reaktion begleitet. Aus neu gebildeten Trabekeln herausgelöstes, mikropartikuläres α -TCP wurde direkt von mehrkernigen Riesenzellen phagozytiert. In unmittelbarer Nähe des degradativen Prozesses wurden vitale Osteozyten und Banden neu gebildeten Osteoids lokalisiert. Die Keramik wurde trabekulär integriert und im Gleichschritt mit der Knochenremodellation abgebaut.

Die im Verlauf der Heilung knöchern eingeschlossenen Keramikreste wurden demaskiert und abgebaut. Nach 68 Wochen waren ca. 90 % der eingebrachten Keramik degradiert. Reste wurden in den fein organisierten Spongiosabälkchen lokalisiert, eine entzündliche Reaktion auf das Implantat wurde nicht beobachtet. Bei 2 der 7 Tiere konnten nach 4 und 16 Wochen Mikropartikel in regionalen Lymphgefäßen nachgewiesen werden [42]. Von Yuan et al. aus Tierexperimenten gewonnene Ergebnisse zeigen eine knocheninduzierende Wirkung des α -TCP nicht vor 150 Tagen.

2.4.3 β -Tricalciumphosphat-Keramik

Im Rahmen des unter 2.4.2 beschriebenen Versuchsaufbaus des rechts-links-Vergleichs wurde in den kontralateralen Knochendefekt Cerasorb[®] appliziert. Dieser Knochenersatzwerkstoff zeigte ebenfalls eine ausschließlich osteokonduktive Wirkung. Die Neubildung des Knochens war ebenso zentripetal angelegt, eine multilokuläre Reossifikation war nicht zu beobachten. Die verglichenen keramischen α - und β -Varianten unterschieden sich hauptsächlich in der Geschwindigkeit ihrer Degeneration. Im gesamten Beobachtungszeitraum von 68 Wochen wurde die β -Tricalciumphosphat-Keramik durchwegs rascher abgebaut als die α -Tricalciumphosphat-Keramik. Nach 5 Monaten waren 70 % der β -TCP-Keramik (im Gegensatz zu 40 % im Falle der α -TCP-Keramik) degradiert. Die zelluläre Begleitreaktion war bei β -

TCP weniger ausgeprägt. In den regionalen Lymphbahnen konnten keine β -TCP-Partikel nachgewiesen werden [42]. Eine Knocheninduktion durch β -TCP wurde durch Yuan et al. bereits nach 45 Tagen festgestellt [82]. Dieses unterschiedliche Verhalten der beiden Tricalciumphosphat-Modifikationen ist durch die unterschiedliche Löslichkeit in wässriger Phase erklärbar. Obwohl α -TCP primär löslicher ist als die β -Modifikation, wandelt sich α -TCP in wässrigen Elektrolyten innerhalb weniger Tage durch einen Lösungs-/Präzipitations-Prozess in calciumarmen Hydroxylapatit um, der anschließend eine wesentlich geringere Löslichkeit aufweist. Demgegenüber ist kristallines β -TCP in Wasser oder neutraler Phosphatlösung unreaktiv, da die geringere Löslichkeit von β -TCP keine ausreichende Übersättigung der Reaktionsphase in Hinblick auf CDHA ermöglicht.

2.4.4 Hydroxylapatit-Zemente

Kurashina et al. stellten einen Zement aus 89 Gewichtsprozent α -TCP und 11 Gewichtsprozent DCPD her und implantierten den in *vitro* ausgehärteten Prüfkörper in die Mandibula von Kaninchen [83]. Der Zementzylinder wurde mittels Schrauben primär fixiert. Histologisch betrachtet zeigte sich nach einem Monat eine Knochenneubildung in Spalträumen zwischen Knochen und CPC. Diese erfolgte hauptsächlich auf der Zementoberfläche, welche sich dem Knochen am nächsten befand. An manchen Stellen bildete neu gebildeter Knochen über dünne Knochenbrücken eine Verbindung mit dem vorhandenen Knochen aus. Die Zementoberfläche war glatt, es waren keine Anzeichen einer entzündlichen Reaktion sichtbar. Der direkte Kontakt zwischen neu gebildetem Knochen und dem Zement konnte mikroradiographisch bestätigt werden. Weiterhin war eine weiße Zone in den äußeren Schichten des CPC erkennbar. Nach 3 Monaten war der größte Teil des Spaltraums mit unreifem Knochen bedeckt. Der Zement war fast vollständig mit neu gebildetem Knochen, welcher dunkler gefärbt war als der natürliche, überzogen. Der Mandibularknochen war nun direkt mit dem neuen Knochen verbunden. Die weiße Zone der äußeren Zementschicht war mikroradiographisch weiterhin erkennbar. Vereinzelt wurden kleine Resorptionszonen festgestellt.

Reifer Knochen überzog nach 6 Monaten die gesamte Zementoberfläche. An wenigen Stellen war Bindegewebe vorhanden. Neu gebildeter Knochen war schwer von vorhandenem Knochen zu differenzieren, alle Implantate zeigten nach 6 Monaten deutliche Zeichen der Resorption. Die Mikroradiographie zeigte die direkte, großflächige Bindung des in großer Menge gebildeten ausgereiften Knochens an die anresorbierte Zementoberfläche. Die weißliche Zone im Randbereich bestand weiterhin.

Aus equimolaren Mengen von TTCP und DCPA hergestellter Calciumphosphatzement wurde Hunden in einen zuvor präparierten Defekt im Bereich des Alveolarknochens appliziert. Die histologische Untersuchung einen Monat *post operationem* zeigte angrenzend zum Alveolarknochen die Bildung von neuem, noch nicht vollständig mineralisiertem Geflechtknochen, der zusammen mit fibrösem Bindegewebe zum großteiligen Ersatz des CPC-Blocks führte. An der Schnittfläche zum umgebenden Knochen fanden sich vereinzelt Entzündungszellen, auf vereinzelte Areale beschränkt wurde eine Vielzahl von Osteoklasten beobachtet, deren Aktivität zur Degradation des CPC führte. Nach 6 Monaten war der CPC-Block fast vollständig durch spongiösen und trabekulären Knochen ersetzt, Osteoklastenaktivität fand praktisch nicht mehr statt. Innerhalb des fibrösen Bindegewebes erfolgte die Knochenmarksbildung [84].

2.4.5 Brushit-Zemente

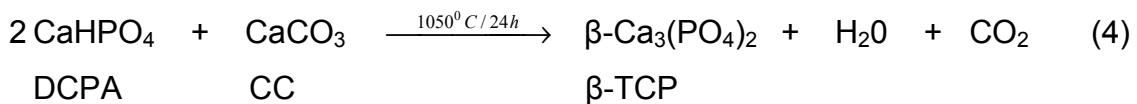
Der von Lemaître et al. auf Basis von β -TCP und MCPM entwickelte Calciumphosphatzement lässt Brushit als Endprodukt der Abbindereaktion entstehen [85]. Brushit kann *in vivo* innerhalb von 3 Monaten resorbiert und durch neu gebildeten Knochen ersetzt werden [86]. Da dem Zement ein geringer Überschuss an β -TCP beigefügt wird, um eine vollständige Reaktion von MCPM zu erreichen, besteht der ausgehärtete Zement aus einer Mischung von Brushit und β -TCP. *In vitro* wurde der Einfluss der Partikelgröße auf die Proliferation von Osteoblasten und Fibroblasten sowie auf die Überlebensfähigkeit der Osteoblasten am Beispiel von β -TCP, DCPD

und einem gemahlene Zement, bestehend aus β -TCP und DCPD, untersucht. Von jedem Pulver wurde durch Mahlung eine Charge mit hohem Anteil an Mikropartikeln $< 10 \mu\text{m}$ hergestellt. Es zeigte sich, dass sich mit steigender Konzentration der CPC-Partikel die Überlebensfähigkeit der Osteoblasten reduzierte. Die feiner gemahlene Pulver beeinflussten die Osteoblasten deutlich negativer als die großpartikelhaltigen Pulver, deren Zusammensetzung keine unterschiedliche Auswirkung erkennen lies. Unter den fein gemahlene Pulvern wirkte sich β -TCP am deutlichsten ungünstig auf die Lebensfähigkeit der Zellen aus. Mit steigender Partikelkonzentration verringerte sich bei allen Partikeln die Osteoblastenproliferation. Mit Ausnahme von DCPD wurde ein partikelgrößenabhängiger Effekt beobachtet. Die überwiegend mikropartikelhaltigen Pulver führten zu einer stärkeren Abnahme der Proliferation. Eine Steigerung der Mikropartikelkonzentration resultierte in der verstärkten Hemmung der Fibroblastenproliferation [78].

3. Material und Methode

3.1 Herstellung von β -Tricalciumphosphat und Mahlung

2,15 mol Dicalciumhydrogenphosphat (CaHPO_4 , Mallinckrodt-Baker, Griesheim) wurden in 200 ml Isopropanol unter Rühren in einer 1-l-Duranglasflasche suspendiert, 1,00 mol Calciumcarbonat (CaCO_3 , Merck, Darmstadt) wurde hinzugegeben und die Suspension eine weitere Stunde gerührt. Nach dem Abfiltern über einem Glasfilter mit einem Porendurchmesser von 4 μm und Trocknung des Pulvers bei 80° C im Vakuum erfolgte die Sinterung bei 1050° C für 24 h:



Der Sinterkuchen wurde nach seiner Abkühlung mit Mörser und Pistill auf eine Partikelgröße < 355 μm zerkleinert. Der leichte Überschuss von 0,15 mol CaHPO_4 sollte einer Reaktion der Edukte zu HA entgegenwirken. Über Röntgendiffraktometrie (XRD) wurde die Phasenreinheit nachgewiesen.

Zur mechanischen Aktivierung wurden 125 g β -TCP zusammen mit 125 ml Ethanol (99,9 %) und 200 Achatkugeln (Durchmesser 10 mm) in einen 500-ml-Achatmahlbecher gegeben. Die Mahlung erfolgte in eine Richtung bei 250 U/min in einer Kugelmühle (Fa. Retsch, Haan). Es wurden sechs Chargen mit 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h und 24 h Mahlzeit hergestellt. Das Mahlgut wurde anschließend bei 60° C im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend portionsweise mit einer Schlagkreuzmühle (CLATRONIC, Fa. CTC) für je 30 Sekunden aufgelockert. Die Lagerung des Pulvers erfolgte in feuchtigkeitsdicht verschließbaren PE-Gefäßen.

3.2 Partikelgrößenbestimmung

Die Messung der Partikelgröße erfolgte mittels Laser-Streulichtspektrometer LA-300 (Fa. Horiba, Sulzbach) mit einem Partikelgrößenmessbereich von 0,1 – 600 μm . In ein mit Isopropanol gefülltes Becherglas wurde eine Spatelspitze des zu untersuchenden Zementpulvers gegeben und für 10 Minuten ultrabeschallt, um Partikelagglomerate zu dispergieren. Die Suspension wurde anschließend in die Messkammer überführt, bei konstanter Beschallung durch Laserbeugung wurden Partikelgröße und Partikelverteilung gemessen. Durch systeminterne Software erfolgte die Bestimmung der mittleren Partikelgröße d_{50} .

3.3 Flüssige Phase: Ermittlung des Pulver-Lösungsmittel-Verhältnisses

Die Zemente wurden mit 2,5%- Na_2HPO_4 -Lösung angemischt. Die Herstellung erfolgte durch Auflösung von 25 g Na_2HPO_4 in destilliertem Wasser und Auffüllung auf 1 l Lösung. Versuchsweise wurden Zemente auch mit bidestilliertem Wasser angemischt.

Für jeden der verschieden lang gemahlene Zemente musste aufgrund der variierenden spezifischen Oberfläche ein individuelles P/L-Verhältnis bestimmt werden, um eine vergleichbare Konsistenz für die weitere Verarbeitung zu erhalten. Hierzu wurden 2 g β -Tricalciumphosphat mit einer Feinwaage (Fa. Sartorius, Göttingen) auf einer Glasplatte abgewogen. Mit einer Pipette (Fa. Eppendorf, Hamburg) wurde 2,5%ige Na_2HPO_4 -Lösung abgemessen, dem Zement zugegeben und mit einem Zementspatel angemischt. Dieser Vorgang wurde so lange mit Volumenerhöhung des Lösungsmittels wiederholt, bis die gewünschte Konsistenz erreicht war. Für die weitere Charakterisierung wurden die Zemente jeweils im ermittelten Verhältnis angemischt. Lediglich für die Bestimmung der Auswirkung des P/L-Verhältnisses auf Dichte und Porosität am Beispiel des 24 h gemahlene Zementes wurde hiervon abgewichen und Anmischverhältnisse zwischen 2,2 g/ml und 2,7 g/ml gewählt.

3.4 Bestimmung der Abbindezeit nach Gilmore

Per definitionem gilt als Abbindezeit eines Zementes die Zeitspanne zwischen Anmischen und Aushärtung. Die Abbindezeit wurde durch die Penetrationsmethode nach Gilmore bestimmt. Hierzu wurden 0,8 g des zu prüfenden Zementes mit dem im Handversuch ermittelten P/L-Verhältnis mit Na_2HPO_4 -Lösung angemischt und in die Probenform gegeben. Diese wurde anschließend auf den von außen drehbaren Formhalter in eine zuvor auf $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ temperierte Feuchtigkeitskammer fixiert. Die Luftfeuchtigkeit der Kammer betrug mindestens 90 %, um ein Verdampfen der flüssigen Phase des Zementes während der Abbindereaktion zu verhindern. Um die Entstehung von Kondenswasser an der Oberfläche der Gilmorenadel (Masse 113,398 g) zu vermeiden, wurde diese auf $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ aufgeheizt. Anschließend wurde die Nadel auf die Probe herabgelassen. Sobald die Nadel nicht mehr in die Oberfläche eindrang, galt der Zement als abgebunden. Eine Nachbeurteilung der Impressionen der Zementoberfläche erfolgte optisch bei 5–10facher Vergrößerung. Zur Verifizierung der Messergebnisse erfolgte mindestens eine Kontrollmessung.

3.5 Prüfung der Druck- und Zugfestigkeit

3.5.1 Herstellung der Prüfkörper

Für die Prüfkörperherstellung wurden 800 mg (Druckfestigkeit) bzw. 200 mg (Zugfestigkeit) des zu prüfenden Zementes in puderfreien Fingerlingen auf einer digitalen Laborwaage (Fa. Sartorius, Göttingen) unter Zuhilfenahme eines Plastiktrichters abgewogen. Mit einer Pipette (Fa. Eppendorf) wurde gemäß dem im Handversuch ermittelten P/L-Verhältnis Na_2HPO_4 -Lösung in einen Fingerling gegeben. Dieser wurde mittels Klammer mit Hartgummibügelgreifbacken (QUICK-GRIP, Fa. McMaster-Carr, Katalog # 30255-022) unter Minimierung des Luftvolumens verschlossen und für 15 s gegen die vibrierende Plattform eines Mixers (Maxi Mix II, Typ 37600 Fa. Thermolyne) gedrückt. Entsprechend dem Aufbau in Abbildung 1b wurde in eine Edelstahlprobenform (Edelstahlzylinder, Außendurchmesser ca. 19 mm,

Länge 37 mm, Innenbohrung 6,000 mm $+0,013$ mm $-0,000$ mm, obere 7 mm der Form konisch zulaufend) ein Zementdruckstempel (Edelstahl, Durchmesser 5,975 mm $+0,013$ mm $-0,000$ mm) eingesetzt und über eine Hülse fixiert. Mit einem Messingspatel wurde der Zement aus dem Fingerling entnommen und in die Probenform überführt.

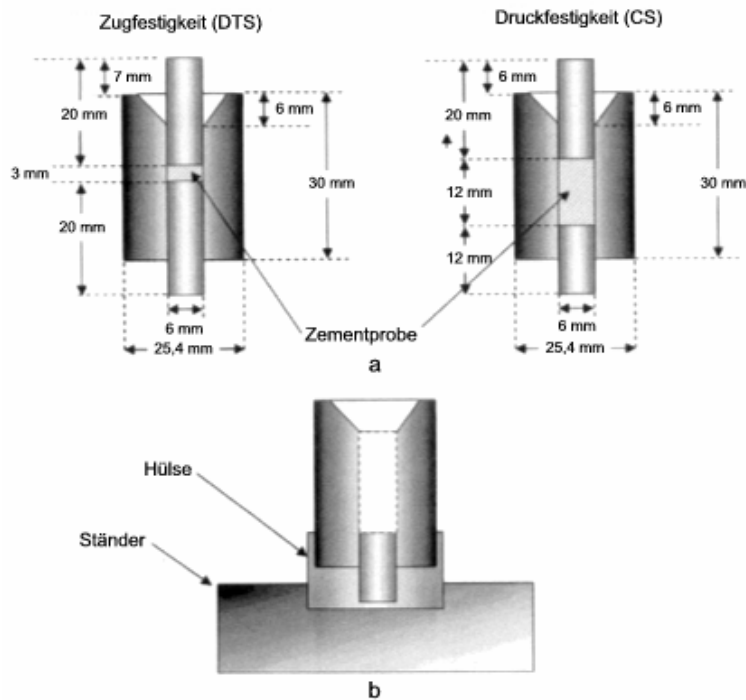


Abbildung 1: Schematische Zeichnung der Probenform (a) und der Haltevorrichtung zum Befüllen der Probenform mit zu untersuchendem Zement (b) [60]

Nach dem Befüllen wurde dem Zement ein zweiter Zementdruckstempel aufgesetzt. Durch Variation der Länge der Druckstempel konnte die Länge der Prüfkörper verändert werden. Für CS-Prüfkörper wurden zwei 16 mm lange Stempel, für DTS-Prüfkörper ein 16 mm langer Stempel und ein 25,4 mm langer Stempel verwendet (Abbildung 1a). Die Edelstahlprobenform wurde aus der Hülse genommen und in eine insgesamt sechs Probenformen aufnehmende Zementverdichtungsapparatur (Abbildung 2) überführt. Für 5 s wurden 9 MPa, für den Rest der Aushärtungszeit (2 h) 0,7 MPa Kompressionsdruck auf die Prüfkörper ausgeübt. Hierbei wurden alle sechs Hebelarme über die höhenverstellbare Basis horizontal ausgerichtet.

Für zwei Stunden wurde die Apparatur mit den eingespannten Proben in einer temperierten Feuchtigkeitskammer (Fa. GFL, Burgwedel) bei $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ und einer Luftfeuchtigkeit von mehr als 90 % belassen. Anschließend wurden die Prüfkörper aus der Form genommen und weitere 22 h in einem mit gesättigter CPC-Lösung gefüllten, offenen Präparatglas in der Feuchtigkeitskammer gelagert.

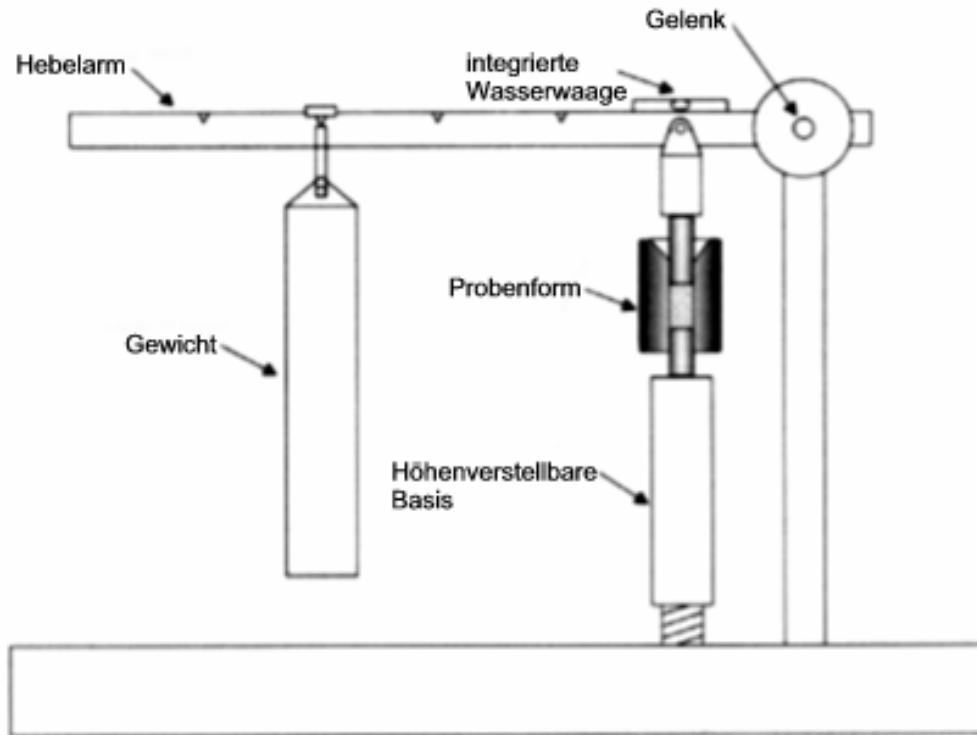


Abbildung 2: Schematische Zeichnung der Zementverdichtungsapparatur [60]

Für jede Druck- und Zugmessung wurden auf diese Weise jeweils sechs Prüfkörper hergestellt. Prüfkörper für den Langzeitversuch, bei dem am Beispiel der 1 h, 4 h und 24 h gemahlene Zemente die CS in Abhängigkeit von der Aushärtungszeit beobachtet werden sollte, wurden nach insgesamt 24 h Verbleib in der Feuchtigkeitskammer in einem verschlossenen Präparatglas im Inkubationsschrank (Fa. Memmert, Schwabach) bis zum Zeitpunkt der Prüfung in SBF-Lösung aufbewahrt.

3.5.2 Durchführung der Messung

Die Länge der Prüfkörper wurde mittels digitaler Schiebelehre auf $\pm 0,01$ mm bestimmt und im Prüfprotokoll festgehalten. Die Messung der DTS und CS erfolgte mit der statischen Universal-Prüfmaschine 1445 (Fa. Zwick, Ulm). Diese wurde mit planen Edelstahlstempeln auf der oberen und unteren Seite gerüstet.

Messung der DTS

Die Prüfkörper wurden auf der Mantelfläche liegend positioniert. Die Prüfung erfolgte mit 10 mm/min Vorschub, 5 N Vorlast und bis zum Bruch der Prüfkörper. Die diametrale Zugfestigkeit wurde berechnet nach:

$$\text{DTS[MPa]} = 2F_{\max} / (\pi dl) = F_{\max} / (\pi rl)$$

mit

F_{\max} = Bruchkraft (N)

d = Probenkörperdurchmesser

l = Probenkörperlänge

r = Probenkörperradius

Messung der CS

Die Prüfkörper wurden auf der Zylindergrundfläche mittig zwischen den Stempeln stehend positioniert. Die Prüfung erfolgte mit 1 mm/min Vorschub, 5 N Vorlast und bis zum Bruch der Prüfkörper. Die Druckfestigkeit wurde berechnet nach:

$$\text{CS[MPa]} = F_{\max} / r^2\pi$$

mit

F_{\max} = Bruchkraft (N)

r = Probenkörperradius

Aus den Werten der DTS und CS wurden der Mittelwert und die Standardabweichung errechnet.

3.6 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)

Die zu messenden Zementpulver wurden auf einen Probenträger gegeben, mittels eines Objektträgers komprimiert und glatt gestrichen, um eine homogene, matt glänzende Oberfläche mit einheitlichem Niveau zu erhalten. Der Träger wurde anschließend in der Einspannvorrichtung des Röntgendiffraktometers D5005 (Fa. Siemens, Karlsruhe) fixiert. Die Reinheits- und Identitätsprüfung erfolgte in Schritten von $0,02^\circ$ im Bereich $2\theta = 20\text{--}40^\circ$, in dem sich der Großteil der charakteristischen Beugungsreflexe der Calciumphosphate finden lässt. Für die Messung wurden die unter Tabelle 3 aufgeführten Messparameter eingestellt.

Tabelle 3: Messparameter für die Messung am XRD

Anregungswellenlänge	1,5405 nm = Cu K	Aperturblende	6 mm
Generatorstrom	40 mA	Streustrahlblende	2 mm
Röhrenspannung	50 kV	Filter	Ni 12 μm
Increment	0,01	Detektorblende	0,6 mm
Scanspeed	0,1 sec/stp.		
Messbereich	2 Theta = $20^\circ - 40^\circ$		
Mode	locked coupled		

Die relative Kristallinität der Zemente wurde durch den Vergleich der XRD-Muster gemahlener und rekristallisierter Zemente nach:

$$\text{Relative Kristallinität} = A_{\text{gemahlener Zement}} / A_{\text{rekristallisierter Zement}} \times 100 \%$$

berechnet. A steht für die Fläche der Beugungssignale bei $31,1^\circ$ nach Mahlung, $A_{\text{gemahlener Zement}}$, bzw. nach Rekristallisation, $A_{\text{rekristallisierter Zement}}$. Von jedem der verschieden lang durch Mahlung mechanisch aktivierten β -TCP-Zemente wurde ein für die Messung ausreichender Teil durch Sinterung im Ofen für 2 h bei 1050°C in seine kristalline Phase zurückversetzt. Somit wurde eine Beeinflussung der Messergebnisse durch die Partikelgröße ausgeschlossen. Die Phasenzusammensetzung wurde durch Vergleich der systeminternen

Referenzbeugungsmuster für β -TCP (PDF Ref. 09-0169) und HA (PDF Ref. 09-0432) ermittelt. Die Berechnung der Kristallgröße und die Berechnung der quantitativen Zusammensetzung der Zemente erfolgte durch Rietveld-Analyse mit der TOPAS Software (Bruker AXS, Karlsruhe, Germany). Als Referenz wurden die Fundamentaldatensätze der Kristallstrukturen von β -TCP und HA zusammen mit einem Chebychev Untergrund-Modell 4. Ordnung und dem charakteristischen Emissionsprofil einer Kupferkathode ($\text{Cu K}\alpha$) verwendet.

3.7 Porositätsmessung und Berechnung der Dichte

Zur Berechnung der Dichte der Zementmatrix wurden aus 1 h, 4 h und 24 h gemahlenem Zement je drei Prüfkörper der Maße 12 x 6 mm hergestellt. Am Beispiel des 24 h gemahlene Zementes sollte der Einfluss des gewählten P/L-Verhältnisses auf die Dichte untersucht werden. Hierzu wurden jeweils 3 Prüfkörper mit P/L-Verhältnissen zwischen 2,2:1 und 2,7:1 hergestellt. Nach 24 h Härungszeit wurden alle Prüfkörper einen Tag bei 60° C im Trockenschrank (Fa. Memmert, Schwabach) getrocknet und anschließend auf einer Analysewaage (Fa. Ohaus, USA) abgewogen. Zur Berechnung des Volumens wurde die Höhe des Prüfkörpers mittels digitaler Schiebelehre bestimmt. Aus

$$V_{\text{Prüfkörper}} = r^2 \cdot \pi \cdot h$$

mit

r = Radius des Prüfkörpers

h = Höhe des Prüfkörpers

wurde das Volumen berechnet. Der Durchmesser des Prüfkörpers änderte sich durch den Trocknungsprozess nur geringfügig, und wurde bei den Berechnungen nicht berücksichtigt. Da der Prüfkörper eine poröse Struktur aufweist, dessen Porenvolumen bei der Berechnung nicht berücksichtigt werden kann, wird durch diese Meßmethode lediglich die Dichte der Zementmatrix errechnet:

$$\delta_{\text{Zementmatrix}} = \frac{m_{\text{getrocknet}}}{V_{\text{Prüfkörper}}}$$

mit

$m_{\text{getrocknet}}$ = Masse des Prüfkörpers in g nach Trocknung

$V_{\text{Prüfkörper}}$ = mittels Schiebelehre bestimmtes Volumen des Prüfkörpers

Die Feststoffdichte der ausgehärteten Zemente wurde mittels Heliumpyknometrie (Accupyc 1330, Micromeritics, UK), die Porengrößenverteilung durch Quecksilber- porosimetrie (Micromeritics 9420, UK) zwischen 60 μm und 6 nm für 1 h, 4 h und 24 h gemahlene Zement bestimmt. Die relative, tatsächliche Porosität der Prüfkörper errechnet sich aus:

$$\text{Relative Porosität (\%)} = - \left(\frac{\delta_{\text{Zementmatrix}}}{\delta_{\text{Festkörper}}} \right) + 1$$

mit

$\delta_{\text{Zementmatrix}}$ = Dichte der Zementmatrix

$\delta_{\text{Festkörper}}$ = Festkörperdichte

3.8 Rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung

Für die optische Charakterisierung wurden durch Druckfestigkeitsmessung zerbrochene Prüfkörper verwendet. Die Proben wurden auf Trägern fixiert und zwecks Erlangung einer leitfähigen Oberfläche mit Gold bedampft. Mit einem Rasterelektronenmikroskop DSM 940 (Fa. Zeiss, Oberkochen) wurden die Proben bei einer Beschleunigungsspannung von 20 kV und einem Proben-Focusabstand von 15 cm mit dem SE-Detektor mit Vergrößerungen zwischen 1000x und 5000x betrachtet.

3.9 Bestimmung der Pulverlöslichkeit

Die Pulverlöslichkeit wurde durch ionenselektive Potentiometrie bei 37° C bestimmt. Eine ionensensitive Elektrode (Mettler-Toledo, Gießen) sowie eine Ag/AgCl-Referenzelektrode mit konstanter Ladung/Potential bildeten eine elektrochemische Zelle. 100 ml bidestilliertes Wasser wurden in das doppelwandige, temperierte Reaktionsgefäß gegeben und über einen geschlossenen Wasserkreislauf durch ein Kälte-Umwälzthermostat (F36, Fa. Julabo, Seelbach) auf 37° C erwärmt. 2 ml Ammoniumchlorid wurden hinzugegeben, um den Aktivitätskoeffizienten und die Ionenstärke zu kalibrieren. Unter permanentem Rühren durch einen Magnetrührer (Fa. Janke & Kunkel, Staufen) und einen Rührfisch wurden 300 mg des zu untersuchenden, mechanisch aktivierten β -TCP Pulvers schnellstmöglich in Lösung gegeben. Die Änderung der Ca^{2+} -Konzentration wurde für mindestens 30 Minuten mittels Plotter (PM 8271, Fa. Philips) aufgezeichnet. Bei allen Messungen wurden die Position des Bechers auf dem Magnetrührer, die Rührgeschwindigkeit sowie die Eindringtiefe der Elektroden in die Lösung genormt.

3.10 Differenz-Thermo-Analyse (DTA) und Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Die Untersuchung der temperaturabhängigen Energieumsätze und Zustandsänderungen wurde mittels eines Differenz-Thermogravimeters (Model STA 409, Fa. Netsch, Deutschland) durchgeführt. Das zu untersuchende Pulver wurde in einen Aluminiumoxidtiegel gegeben und in den entsprechenden Halter des Gerätes überführt. Die Referenz, ein leerer Aluminiumoxidtiegel, wurde ebenfalls in die dafür vorgesehene Messstelle positioniert. Als Parameter wurden eine Heizrate von 20° C/min und eine Maximaltemperatur von 1500° C gewählt. Die Veränderungen des Gewichts und der Enthalpie wurden über systemeigene Software gegen Koordinaten aus Zeit und Temperatur aufgetragen. Der Enthalpieumsatz ΔH wurde aus der Fläche zwischen Graph und tangential angelegter Gerade per Software bestimmt.

4. Ergebnisse

4.1 Partikelgrößenbestimmung

Die durchschnittlichen Partikelgrößen von ungemahlenem und gemahlenem mechanisch aktiviertem β -TCP sind in Tabelle 4 aufgeführt. Das Ausgangsprodukt weist eine für gesinterte und manuell zerkleinerte Calciumphosphate charakteristische durchschnittliche Partikelgröße von etwa 15 μm auf. Die Partikelgröße der mechanisch aktivierten β -Tricalciumphosphate nimmt mit Zunahme der Mahldauer ab. Einstündiges Mahlen in der Kugelmühle reduziert die Partikelgröße auf 70 % der Partikelgröße des ungemahlenden Ausgangsmaterials, nach 4 h wird als Endfeinheit bereits eine mittlere Partikelgröße d_{50} von ca. 3 μm erreicht, die sich im weiteren Verlauf nur noch unwesentlich verändert.

Tabelle 4: Einfluss der Mahldauer auf die durchschnittliche Partikelgröße d_{50} [μm]

Mahldauer [h]	Unge- mahlen	1	2	4	8	12	24
Durchschnittliche Partikelgröße d_{50} [μm]	15,30	4,57	3,98	2,96	2,62	2,79	2,80

4.2 Änderungen der Kristallinität durch den Mahlvorgang

Abbildung 3 zeigt Röntgendiffraktogramme der verschieden lang durch Mahlung in Ethanol mechanisch aktivierten β -TCP-Pulver. Nach einstündigem Mahlen kann, vergleichbar mit dem gesinterten Rohmaterial, noch ein für kristallines β -TCP typisches Beugungsmuster festgestellt werden. Im Zuge der weiteren Mahldauer kommt es sowohl zu einer Verbreiterung der Reflexe als auch zu einer starken Abnahme der Intensität, was auf eine Reduktion der mittleren Kristallitgröße in den Pulvern sowie die Bildung röntgenamorpher Domänen schließen lässt. Durch Rietveld-Analyse wurde auf Basis der Halbwertsbreite der Reflexe in den Röntgenbeugungsmustern die mittlere Kristallitgröße bestimmt. Für ungemahlenden Zement wurden hierbei 233 nm errechnet, nach 24 h Mahlung nimmt die Kristallitgröße sukzessive auf 25,5 nm ab (Tabelle 5). Auf Basis der Peakflächen wurde für jedes Pulver eine relative Kristallinität im Vergleich zum gesinterten Rohprodukt berechnet. Verglichen mit dem

ungemahlene Zement nahm die relative Kristallinität mit zunehmender Mahldauer kontinuierlich ab. Nach 24 h Mahlung betrug diese nur noch 26 % der Kristallinität des Ausgangsmaterials (Tabelle 5).

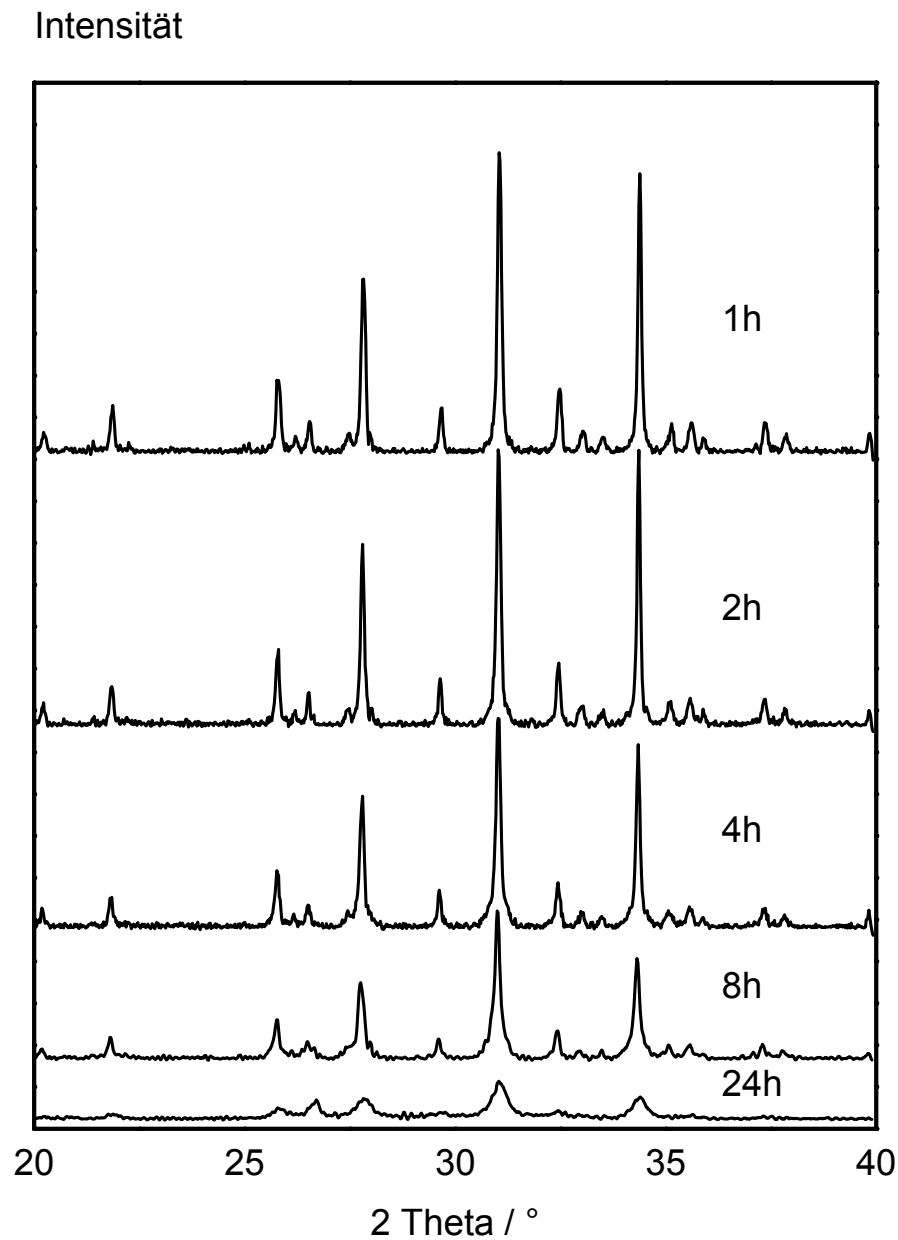


Abbildung 3: Röntgendiffraktogramme von β -TCP nach unterschiedlich langem Mahlen in Ethanol

Tabelle 5: Einfluss der Mahldauer auf die relative Kristallinität und die durchschnittliche Kristallgröße von mechanisch aktiviertem β -TCP

Mahldauer [h]	Relative Kristallinität [%]	Durchschnittliche Kristallgröße [nm]
Ungemahlen	99,8	233,0 \pm 7,9
1	85,8	154,8 \pm 4,2
2	81,7	136,1 \pm 4,3
4	72,9	89,3 \pm 2,6
8	61,3	57,7 \pm 1,5
12	53,2	41,8 \pm 1,0
24	26,3	25,5 \pm 1,0

4.3 Pulverlöslichkeit

Die Bildung amorpher Domänen sollte ein erhöhtes Löslichkeitsprodukt von β -Tricalciumphosphat zur Folge haben. Die Löslichkeit wurde zeitaufgelöst mit Hilfe einer calciumsensitiven Elektrode bestimmt. Die zeitabhängige Veränderung der Calciumkonzentration der Elektrolytlösung nach Zugabe verschiedener, durch Mahlung in Ethanol mechanisch aktivierter Zementpulver wird in Abbildung 4 gezeigt.

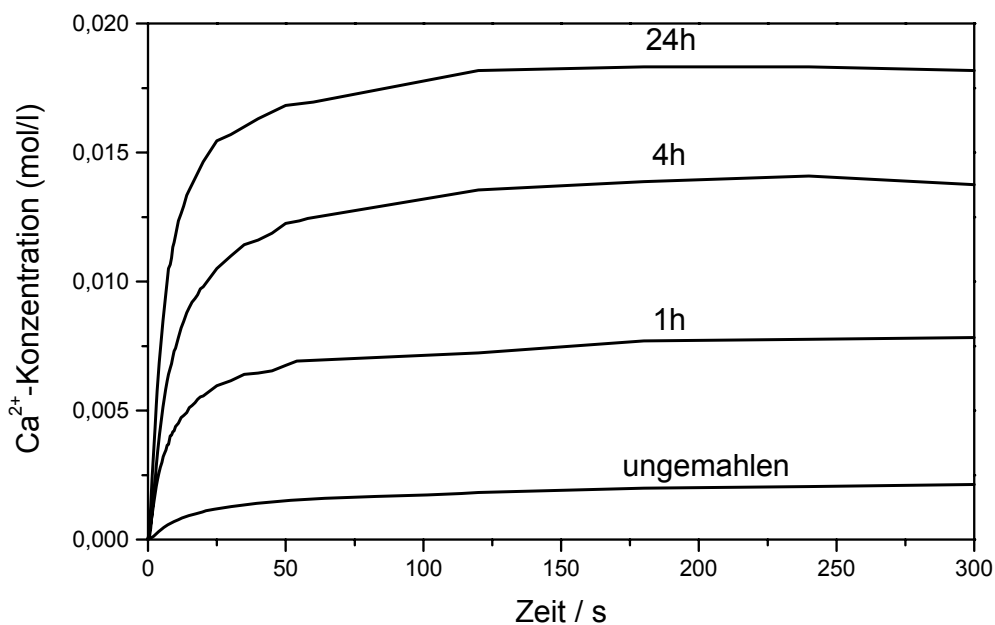


Abbildung 4: Löslichkeit von ungemahlenem und 1 h–24 h mechanisch in Ethanol aktiviertem β -TCP in Abhängigkeit von der Mahldauer

Ungemahlener β -TCP führt in der Elektrolytlösung zu einer maximalen Ca^{2+} -Konzentration von ca. 2 mmol/l nach etwa 200 s Messdauer. Mit zunehmender Mahldauer steigt die Calciumkonzentration auf Werte von 7 mmol/l (1 h Mahlung), 13 mmol/l (4 h Mahlung) und 18 mmol/l nach 24 h Mahlen in Ethanol an. Zudem erhöht sich die Lösungsrate der Pulver mit Zunahme der Mahldauer, was am stärkeren initialen Anstieg der Löslichkeitskurve (0 – 20 s) sichtbar ist.

4.4 Differenz-Thermo-Analyse (DTA) und Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Wie in Tabelle 5 aufgeführt, nimmt die Kristallinität von β -TCP mit Zunahme der Mahldauer ab. Der Verlust an Kristallinität sollte mit einer Erhöhung der Enthalpie der Verbindung einhergehen, welche durch kalorimetrische Messungen (DSC) bei Erwärmung der Pulver auf 1500°C bestimmt wurde. Typische DSC-Verläufe der mechanisch aktivierten β -TCP Pulver sind in Abbildung 5 dargestellt. Das kristalline Ausgangsmaterial zeigt hierbei nur Signale in den Bereichen um 1100°C und 1450°C, welche für die Phasenumwandlung in die Hochtemperaturmodifikation α -TCP und anschließend in die instabile α' -Modifikation typisch sind. Für die mechanisch aktivierten Pulver kann dagegen im Verlauf des Aufheizens im Bereich zwischen 440 – 620°C zunächst eine endotherme Reaktion mit einer Enthalpie von ca. 30 – 60 kJ/mol beobachtet werden. Es schließt sich eine stark exotherme Reaktion zwischen 620°C und 1100°C mit einer Reaktionsenthalpie von bis zu 420 kJ/mol (24 h Mahlung) an. Die erste Reaktion kann wahrscheinlich mit der Entstehung von nanokristallinem Apatit in Zusammenhang gebracht werden, die Reaktionsenthalpie erweist sich in diesem Fall als nahezu unabhängig von der Mahldauer und der relativen Kristallinität des Zementes. Die im Folgenden auftretende Reaktion wird bestimmt durch Rekristallisation der amorphen Domänen, das Wachstum der Kristallite sowie die Ausheilung von Defekten der kristallinen Struktur. In diesem Fall konnte ein linearer Zusammenhang zwischen Kristallinität und Enthalpie festgestellt werden (Abbildung 6).

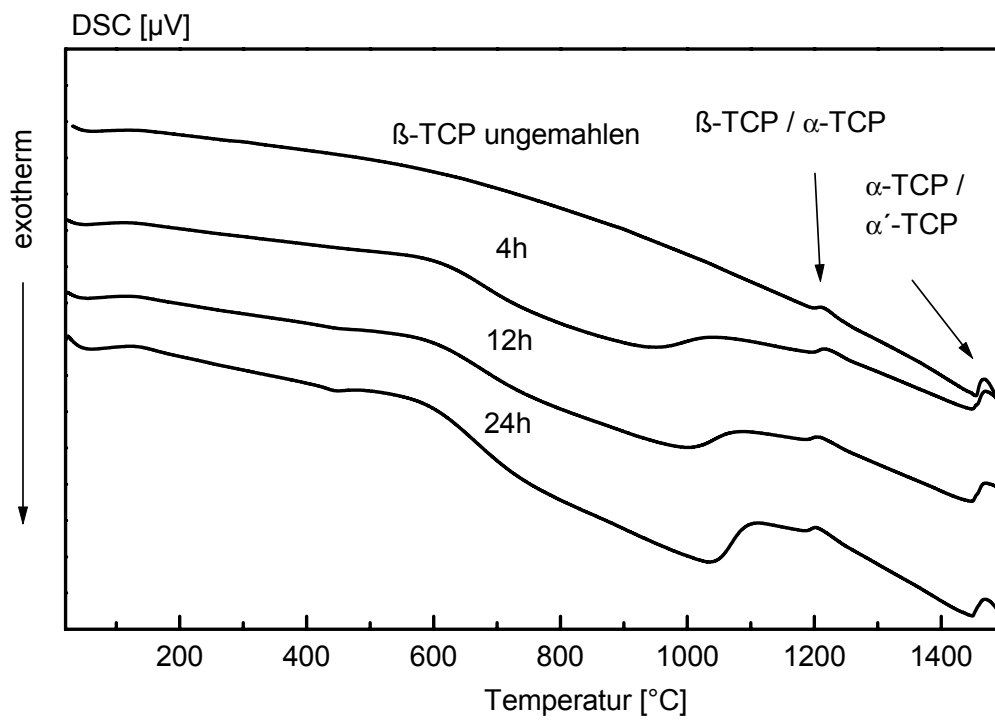


Abbildung 5: Charakteristische DSC-Kurven von β -TCP nach verschieden langer Aktivierung in Ethanol

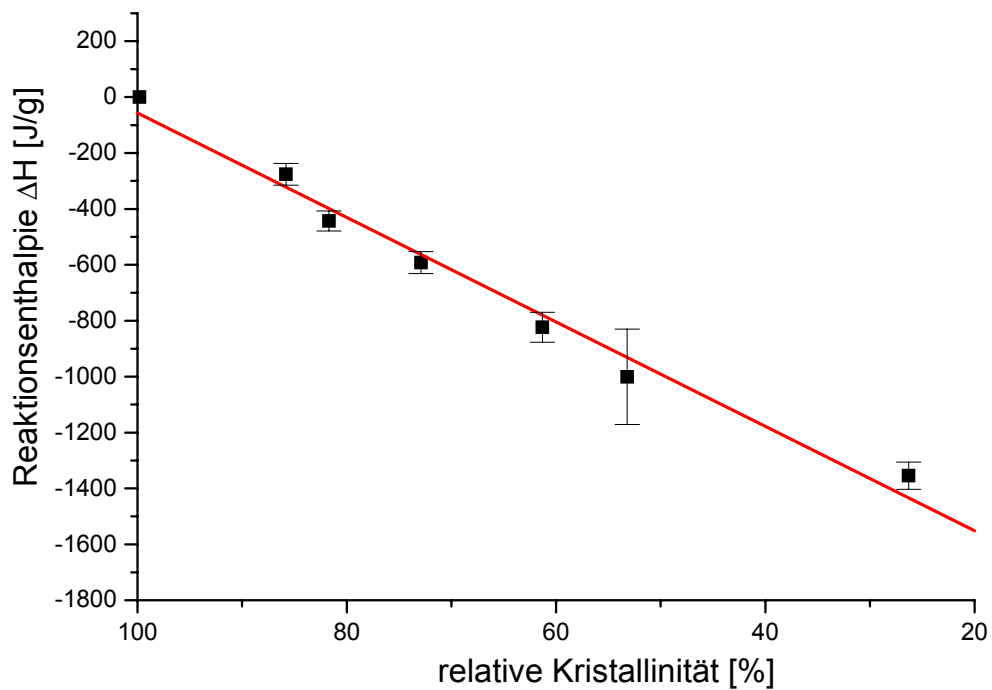


Abbildung 6: Zusammenhang zwischen relativer Kristallinität und Reaktionsenthalpie von β -TCP nach verschieden langer Aktivierung in Ethanol

Weiterhin trat mit längerer Mahldauer (Abbildung 7) beim Aufheizen auf 1500° C ein wachsender Gewichtsverlust auf. Der ungemahlene Zement verlor 0,6 %, der 24 h gemahlene Zement bis zu 2,5 % seines ursprünglichen Gewichtes. Der Gewichtsverlust verhält sich linear zur relativen Kristallinität der verschiedenen Zemente (Abbildung 8) und ist vermutlich auf den Verlust von adsorbierten Lösungsmittelmolekülen (Ethanol) zurückzuführen.

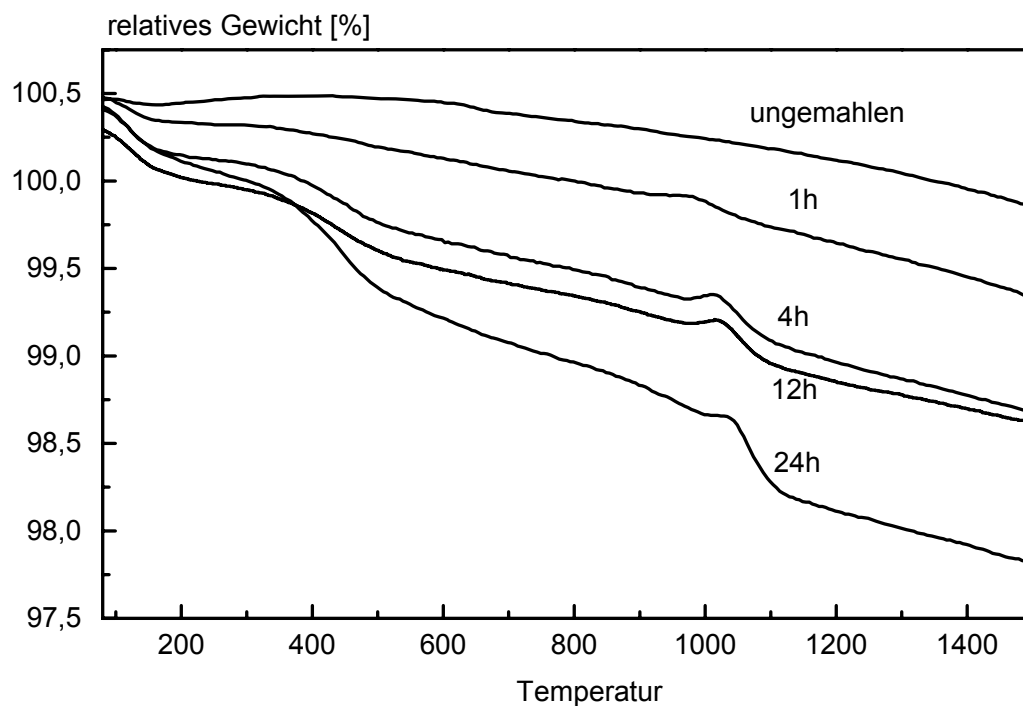


Abbildung 7: Charakteristische thermogravimetrische (TG) Kurven von β -TCP nach Aktivierung in Ethanol für unterschiedliche Dauer

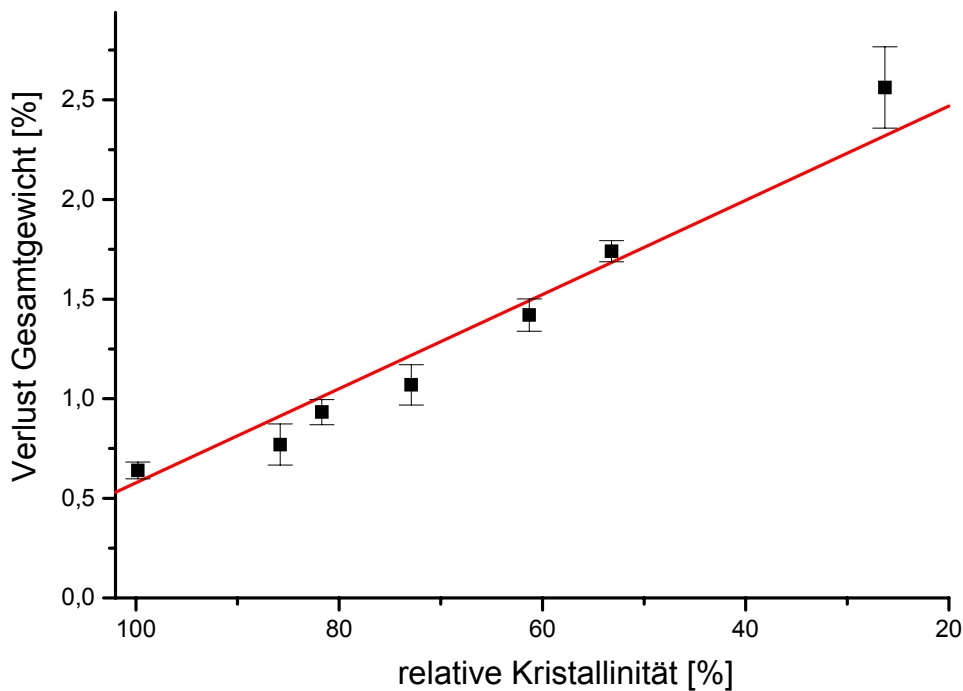


Abbildung 8: Zusammenhang zwischen relativer Kristallinität und Gewichtsverlust von β -TCP nach verschieden langer Aktivierung in Ethanol

4.5 Flüssige Phase und Pulver-Lösungsmittel-Verhältnis

Bei Verwendung von Wasser als flüssige Phase konnte nur eine sehr langsame Abbindereaktion und Aushärtung der mechanisch aktivierten β -TCP-Zemente (MA β T) beobachtet werden. Bei 37° C benötigte der 24 h gemahlene Zement etwa fünf Stunden zur Härtung. Durch vierstündiges Mahlen aktivierter Zement wies erst nach 8 h eine mechanisch stabile Zementstruktur auf. Der durch einständiges Mahlen aktivierte Zement behielt auch nach 24 h seinen pastösen Charakter. Der ungemahlene, nicht mechanisch aktivierte Ausgangszement blieb sowohl bei Verwendung von Wasser als auch bei Verwendung von Na_2HPO_4 als flüssige Phase pastös.

Durch die unterschiedliche Mahldauer der Zemente verändert sich deren Partikelgröße und damit verbunden die spezifische Oberfläche. Die Lösungsmittelmenge zur Pastenformung musste somit der unterschiedlichen Mahldauer angepasst werden. Das ermittelte, für die weitere Verarbeitung eingesetzte Pulver-Lösungsmittel-Verhältnis (P/L-Verhältnis) für die

verschiedenen Mahlzustände ist aus Tabelle 6 ersichtlich. Mit Erhöhung der Mahldauer sinkt das P/L-Verhältnis aufgrund der Oberflächenvergrößerung des Zementpulvers, d. h. die zur Benetzung der Partikeloberfläche nötige Flüssigkeitsmenge musste erhöht werden.

Tabelle 6: Im Handversuch ermitteltes Pulver(β -TCP)-Lösungsmittel(Na_2HPO_4)-Verhältnis in Abhängigkeit von der Mahldauer

Mahldauer/h	1	2	4	8	12	24
P/L-Verhältnis	2,7/1	2,7/1	2,6/1	2,6/1	2,4/1	2,4/1

4.6 Messung der Abbindezeit nach Gilmore

Durch diese Messung sollte festgestellt werden, wie stark der Mahlprozess die Abbindezeit beeinflusst. Es wurden alle sechs hergestellten Mahldauervariationen untersucht. Tabelle 7 zeigt eine deutliche Reduktion der Abbindezeit mit Verlängerung der Mahldauer aufgrund der Steigerung der Reaktivität durch den Mahlprozess. Durch Verlängerung der Mahldauer von einer auf vier Stunden konnte die Abbindezeit drastisch verkürzt werden. Für eine Mahldauer > 4 h fiel die Verkürzung der Abbindezeit weniger deutlich aus.

Tabelle 7: Initiale Abbindezeit nach Gilmore von β -TCP in Abhängigkeit von der Mahldauer

Mahldauer/h	1	2	4	8	12	24
Initiale Abbindezeit/min	16	9	7	7	5	5

4.7 Mechanische Eigenschaften der Zementmatrix

Ziel der Messung von Druckfestigkeit (CS) und Zugfestigkeit (DTS) war es, festzustellen, ob und inwieweit sich eine Variation der Mahldauer auf die mechanische Belastung durch Druck- und Zugkräfte auswirkt. Der eine Stunde gemahlene Zement zeigte nach 24 h Aushärtungszeit eine Belastbarkeit von 7,4 MPa auf Druck- und 1,4 MPa auf Zugbelastung. Tabelle 8 zeigt, dass mit steigender Mahldauer sowohl Druck- als auch Zugfestigkeitserhöhungen erreicht werden konnten. Durch zwölfstündiges Mahlen konnte die

Druckfestigkeit im Vergleich zum eine Stunde gemahlene Zement im Mittelwert um das 6,4fache, die Zugfestigkeit um das 4,1fache gesteigert werden. Durch weiteres Mahlen über insgesamt 24 Stunden konnte keine zusätzliche Steigerung der Festigkeiten erreicht werden.

Tabelle 8: Für β -TCP gemessene Druck- und Zugfestigkeit nach 24 h Aushärtungszeit bei 37°C

Mahldauer [h]	CS[MPa]	DTS[MPa]
1	7,4 ± 0,7	1,4 ± 0,1
2	12,4 ± 1,6	2,5 ± 0,3
4	21,4 ± 2,1	3,8 ± 0,6
8	33,4 ± 2,9	4,8 ± 0,8
12	47,0 ± 5,9	5,8 ± 1,3
24	51,0 ± 6,9	5,9 ± 2,3

Um festzustellen, ob die mechanischen Eigenschaften auch vom P/L-Verhältnis abhängig sind, wurde 24 h MAßT mit P/L-Verhältnissen zwischen 2,4 und 2,7 mg/ml angemischt und anschließend die Druckfestigkeit bestimmt (Tabelle 9). Bei den angewendeten Verhältnissen konnte bei Werten zwischen 47 und 53 MPa keine Korrelation zwischen Druckfestigkeit und verwendetem P/L-Verhältnis beobachtet werden.

Tabelle 9: Abhängigkeit der Druckfestigkeit (CS[MPa]) vom P/L-Verhältnis am Beispiel des durch 24 h Mahlung aktivierten Zementes

P/L-Verhältnis	2,2/1	2,4/1	2,6/1	2,7/1
CS[MPa]	58 ± 6,9	51,1 ± 6,9	46,7 ± 7,0	52,6 ± 9,0

Am Beispiel des 1 h, 4 h und 24 h gemahlene Zementes wurde das Abbindeverhalten in einem Zeitraum von 63 Tagen untersucht. Wie aus Tabelle 10 ersichtlich, ist der 24 h gemahlene Zement nach einem Tag bereits ausgehärtet, die CS steigt nicht weiter an. Der eine Stunde gemahlene Zement wies im Zeitraum der Untersuchung einen signifikanten Anstieg der CS um das 3,5fache auf. Auch der vier Stunden gemahlene Zement härtete in 63 Tagen weiter aus, der Anstieg der CS ist hier mit Faktor 1,9 weniger stark ausgeprägt als beim eine Stunde gemahlene Zement.

Tabelle 10: Mittlere Druckfestigkeit verschieden lang gemahlener Zemente nach unterschiedlicher Aushärtungszeit

CS[MPa] Mahldauer/h	1 d	3 d	7 d	14 d	28 d	63 d
1	7,4 ± 0,7	13,3 ± 2,3	16,2 ± 2,2	20,3 ± 1,9	22,2 ± 2,8	26,1 ± 3,3
4	21,4 ± 2,1	27,8 ± 3,3	33,2 ± 3,8	38,7 ± 1,7	42,4 ± 2,9	41,1 ± 4,5
24	51,0 ± 6,9	55,8 ± 6,5	50,4 ± 5,8	50,9 ± 5,2	51,5 ± 6,8	50,6 ± 7,1

4.8 Phasenzusammensetzung nach Aushärtung

Röntgendiffraktogramme der mechanisch aktivierten β -TCP-Pulver nach 24 h Aushärtung bei 37°C sind in Abbildung 9 dargestellt. Das Röntgendiffraktogramm des $\text{MA}\beta\text{T}_{1\text{h}}$ zeigt nach 24 h Aushärtungsphase nur schwache Beugungsreflexe für das Vorhandensein von HA bei ca. 2 Theta = 25,8° und im Bereich von 2 Theta = 32,0 – 35,0°, die jedoch bei Pulvern mit zunehmender Mahldauer in ihrer Intensität stark ansteigen. Der mittels Rietveld-Analyse bestimmte Gehalt an HA in $\text{MA}\beta\text{T}$ nach Anmischen mit Na_2HPO_4 und 24 h Aushärtung bei 37°C ist in Tabelle 11 aufgeführt. Für $\text{MA}\beta\text{T}_{1\text{h}}$ liegt der HA-Gehalt nach 24 h Abbindezeit bei 19 %. Dieser Wert steigt mit zunehmender Mahldauer rapide an und erreicht sein Maximum nach 24 h mechanischer Aktivierung mit einem Gehalt von annähernd 93 % HA.

Tabelle 11: Mittels Rietveld-Analyse bestimmter HA-Gehalt $\text{MA}\beta\text{T}_{1-24\text{h}}$ nach Abbinden mit 2,5%- Na_2HPO_4 für 24 h bei 37°C

Mahldauer [h]	1	2	4	8	12	24
HA-Gehalt [%]	19,2	25,0	41,4	59,7	85,8	92,7

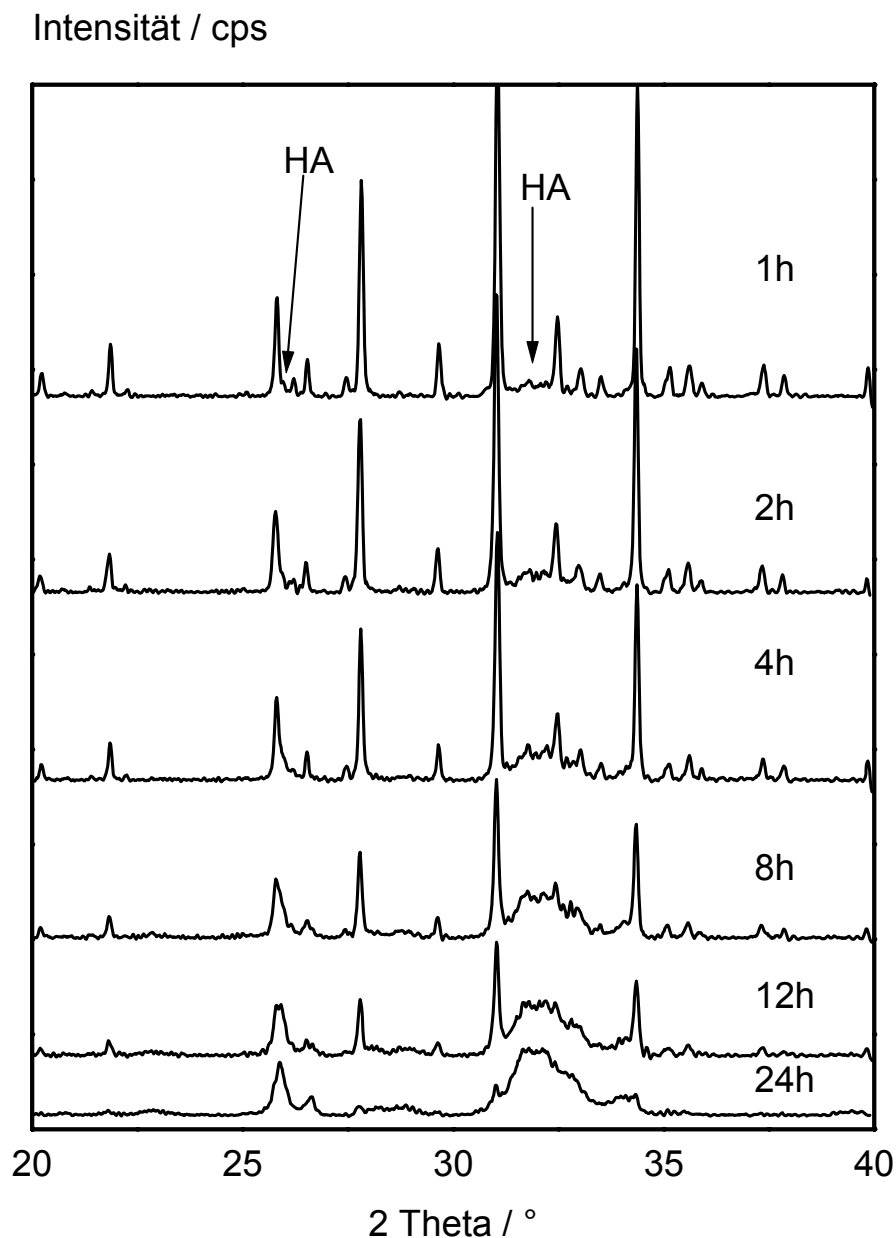


Abbildung 9: Röntgendiffraktogramme von verschieden lang in Ethanol gemahlenden, mit 2,5%- Na_2HPO_4 angemischten β -TCP nach 24 h Aushärtung bei 37° C

Am Beispiel des eine bzw. vier Stunden gemahlenden Zementes ($\text{Ma}\beta\text{T}_{1\text{h}}/\text{Ma}\beta\text{T}_{4\text{h}}$) wurde die Phasenzusammensetzung nach unterschiedlich langen Aushärtezeiten (zwischen 24 Stunden und 28 Tagen) röntgendiffraktometrisch analysiert (Abbildung 10 und 11). Die Beugungsmuster des 1 h mechanisch aktivierten Zementes weisen zwischen 1 d und 14 d, die des 4 h mechanisch aktivierten Zementes zwischen 1 d und 7 d einen kontinuierlichen Anstieg der Umsetzung des amorphen β -TCP-Anteils zu nanokristallinem HA auf. Der HA-Peak des 4 h in Ethanol gemahlenden

Zementes steigt im weiteren Verlauf weniger signifikant an. Im direkten Vergleich steigt die Umsatzrate der mechanisch aktivierten Zemente zu HA mit Zunahme der Mahldauer rascher an.

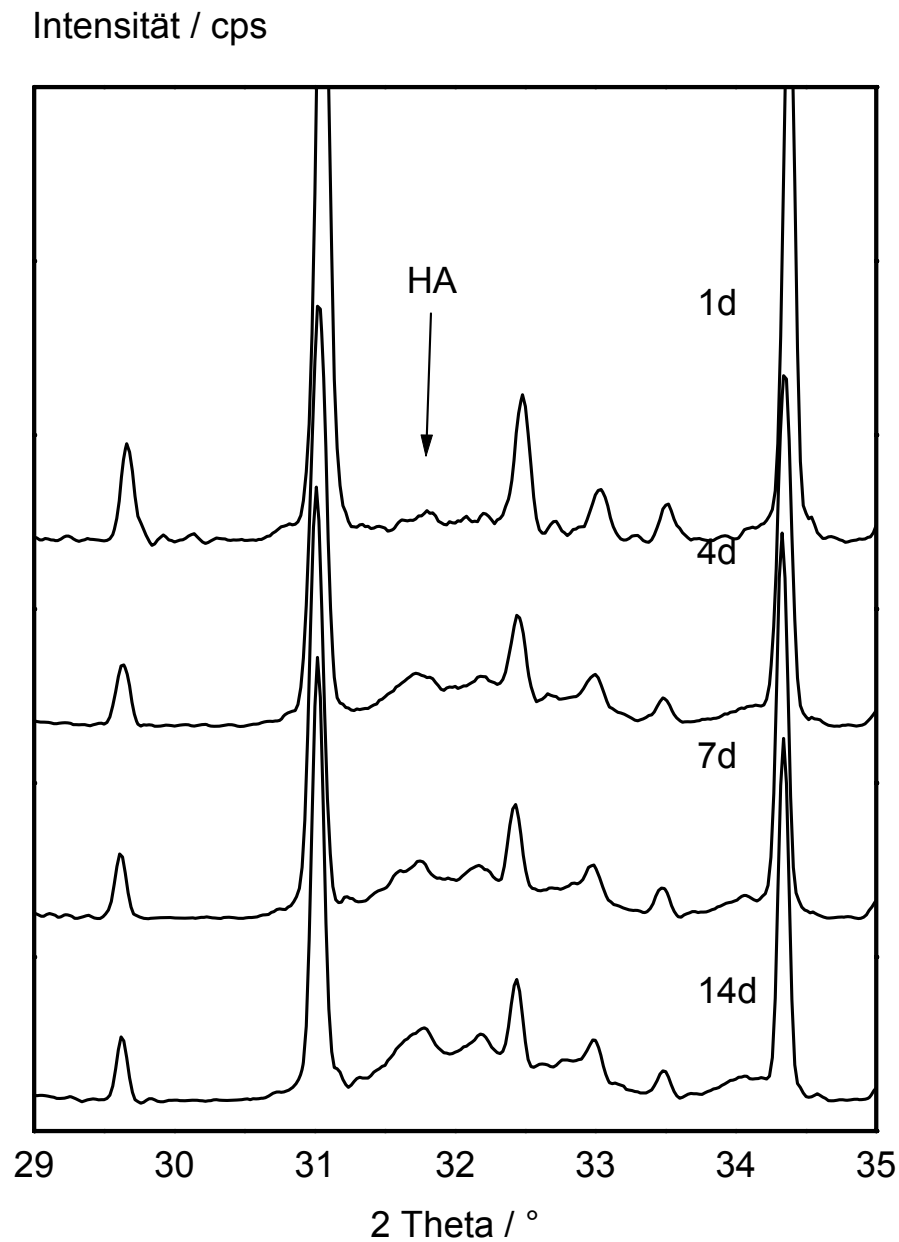


Abbildung 10: Röntgendiffraktogramme des 1 h in Ethanol gemahlene, mit 2,5%- Na_2HPO_4 angemischten β -TCP nach verschieden langer Aushärtungszeit bei 37 °C

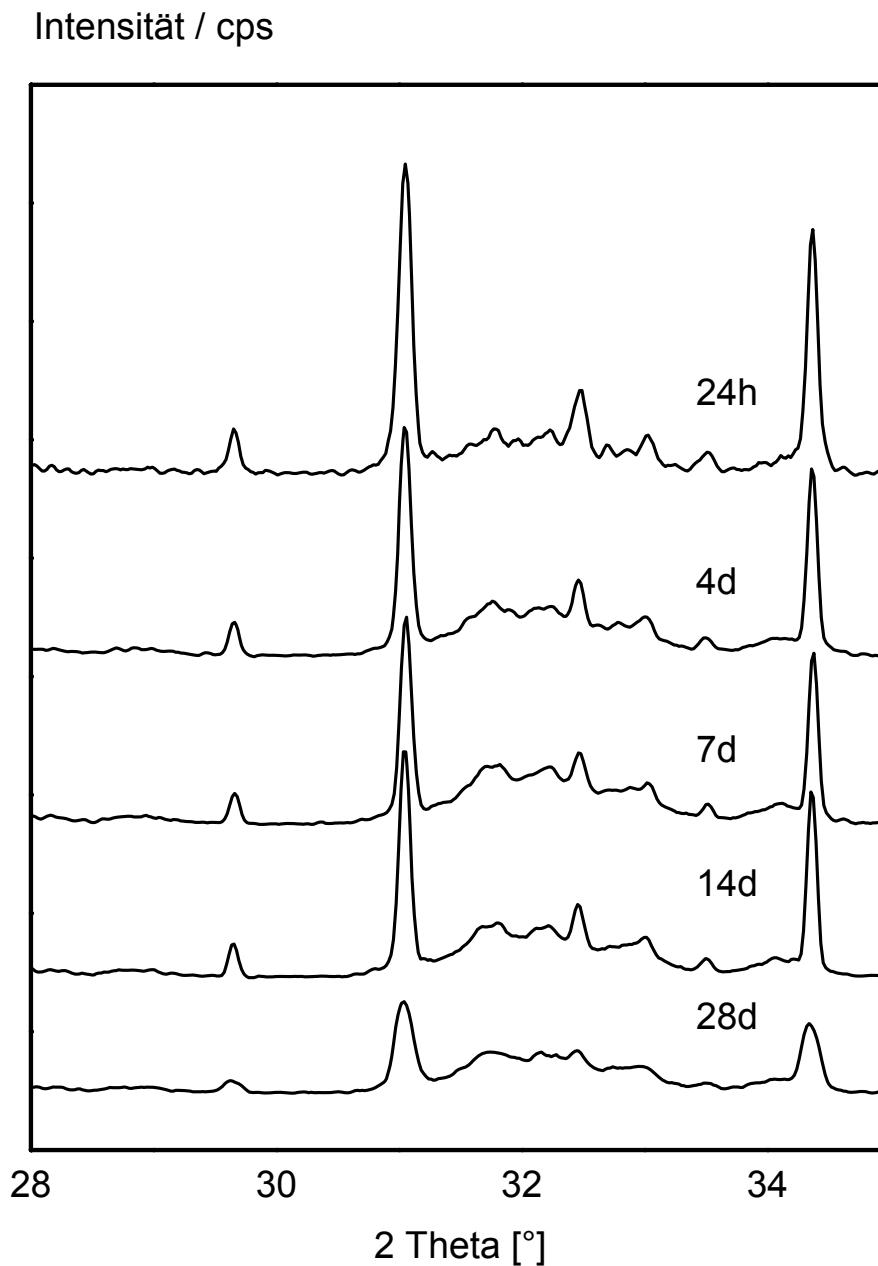


Abbildung 11: Röntgendiffraktogramme des 4 h in Ethanol gemahlener, mit 2,5%- Na_2HPO_4 angemischter β -TCP nach verschieden langer Aushärtungszeit bei 37°C

Mittels Rietveld-Analyse wurde der Gehalt an Hydroxylapatit (HA) unterschiedlich lang gemahlener Zemente nach Aushärtezeiten zwischen einem und 28 Tagen bestimmt (Tabelle 12). Eine Stunde gemahlener Zement zeigt nach einem Tag Aushärungszeit einen HA-Gehalt von annähernd 20 %. Dieser steigt nach 7 d weiter auf 37 % und zwischen 7 d und 28 d langsam auf 47 % an. 24 h gemahlener Zement hat nach 1 d bereits einen HA-Anteil von über 90 %. Nach 28 Tagen liegt der Zement fast vollständig als HA vor. In seinem

initialen HA-Gehalt und der weiteren Umsetzung zu HA liegt der 4 h gemahlene Zement zwischen dem 1 h und dem 24 h gemahlene Zement.

Tabelle 12: HA-Gehalt von 1 h, 4 h und 24 h in Ethanol gemahlenem und mit einer 2,5%-Na₂HPO₄-Lösung angemischtem Zement nach unterschiedlich langer Aushärtung

Mahldauer [h]	HA-Gehalt [%]			
	1 d	7 d	14 d	28 d
1	19,2	36,8	44,2	47,1
4	41,4	59,0	58,5	60,8
24	92,7	98,6	99,2	98,5

4.9 Porositätsmessung und Berechnung der Dichte

In Tabelle 13 sind die Dichte der Zementmatrix, die Festkörperdichte sowie die kalkulierte und relative Porosität von β -TCP nach unterschiedlich langer Mahlung und 24 h Aushärtung bei 37°C zusammengefasst. Eine Verlängerung der Mahldauer führt zur Verringerung der Festkörperdichte des Zementes von $3,17 \text{ g/cm}^3 \pm 0,06 \text{ g/cm}^3$ nach 1 h Mahlung auf $2,75 \text{ g/cm}^3 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ nach 24 h Mahlung. Die Verwendung feiner gemahlener Pulvers resultiert in Zementen niedrigerer Porosität. Durch eine Verlängerung der Mahldauer von 1 h auf 24 h wird die Porosität um 7 % reduziert. Die gemessene Porosität ist hierbei um ca. 5 – 10 % geringer als die berechnete Porosität.

Tabelle 13: Dichte der Zementmatrix, Festkörperdichte, berechnete und relative Porosität von Zementen, hergestellt aus 1, 4 und 24 h gemahlenem β -TCP

Mahldauer (h)	Dichte Zement-Matrix (g/cm^3)	Festkörperdichte (g/cm^3)	Berechnete Porosität (%)	Relative Porosität (%)
1	$1,73 \pm 0,06$	$3,17 \pm 0,06$	50	$47 \pm 0,9$
4	$1,65 \pm 0,02$	$2,98 \pm 0,07$	51	$45 \pm 1,0$
24	$1,64 \pm 0,02$	$2,75 \pm 0,02$	53	$40 \pm 0,8$

Abbildung 12 zeigt die mittels Quecksilber- porosimetrie bestimmte Porengröße. Die Größe der Poren liegt verteilt zwischen 60 μm und 6 nm. In dem aus 1 h gemahlenem β -TCP hergestellten Zement haben annähernd 50 % der vorhandenen Poren einen Durchmesser von 6 – 150 nm (Abbildung 12).

Eine Zunahme der Mahldauer führt zu einer Abnahme in der Verteilung der Porengröße. Nach 4 h und 24 h langer Mahlung haben ca. 50 % der Poren einen Durchmesser von 6 – 45 nm bzw. 6 – 11 nm.

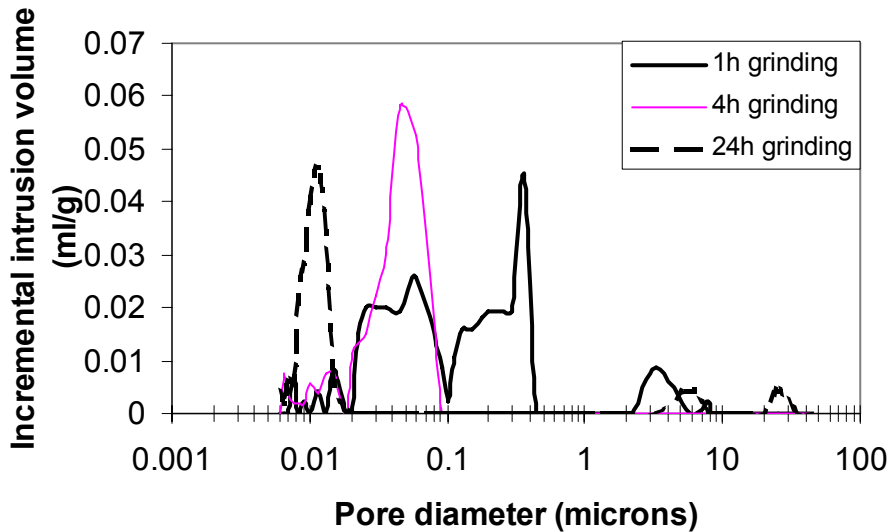


Abbildung 12: Porengrößenverteilung von Zementen hergestellt aus 1 h, 4 h und 24 h gemahlenem β -TCP (freundlichsten überlassen von Biomaterials Unit, School of Dentistry, University of Birmingham)

Der Einfluss des P/L-Verhältnisses auf die Dichte am Beispiel des 24 h gemahlene Zementes wird in Tabelle 14 aufgeführt. Die Porosität der Zemente wurde bei der Berechnung nicht berücksichtigt. Eine Abweichung der Dichte zwischen den Testgruppen konnte bei den gewählten Anmischverhältnissen bzw. der verwendeten Berechnungsmethode nicht festgestellt werden. Zusätzlich ist der Flüssigkeitsgehalt vor Trocknung angegeben. Dieser lag bei allen Gruppen um 22 Gewichtsprozent.

Tabelle 14: Dichte nach Trocknung und Flüssigkeitsgehalt vor Trocknung von β -TCP in Abhängigkeit vom Pulver-Lösungsmittel-Verhältnis am Beispiel des 24 h gemahlene Zementes

P/L-Verhältnis (g/ml)	2,2	2,4	2,6	2,7
Dichte Zementmatrix (g/cm)	1,55 ± 0,02	1,55 ± 0,03	1,61 ± 0,02	1,60 ± 0,03
Flüssigkeitsgehalt (vor Trocknung) in Gew. %	22,5 ± 0,5	22,2 ± 0,7	21,0 ± 0,5	22,6 ± 0,3

4.10 Rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung

Abbildung 13 zeigt rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der durch DTS-Messung entstandenen Bruchfläche von Zementprüfkörpern nach deren Aushärtung für 24 h bei 37° C. Die Struktur des 1 h gemahlene Zementes besteht hauptsächlich aus nicht reagierten β -TCP-Partikeln. Diese werden durch kleine, 50–200 nm große, nadelartige Kristalle verbunden. Die Struktur des 24 h gemahlene Zementes besteht größtenteils aus sphärischen Kristallen mit 100 – 200 nm Größe, welche größere Strukturen im μ m-Bereich ausbilden.

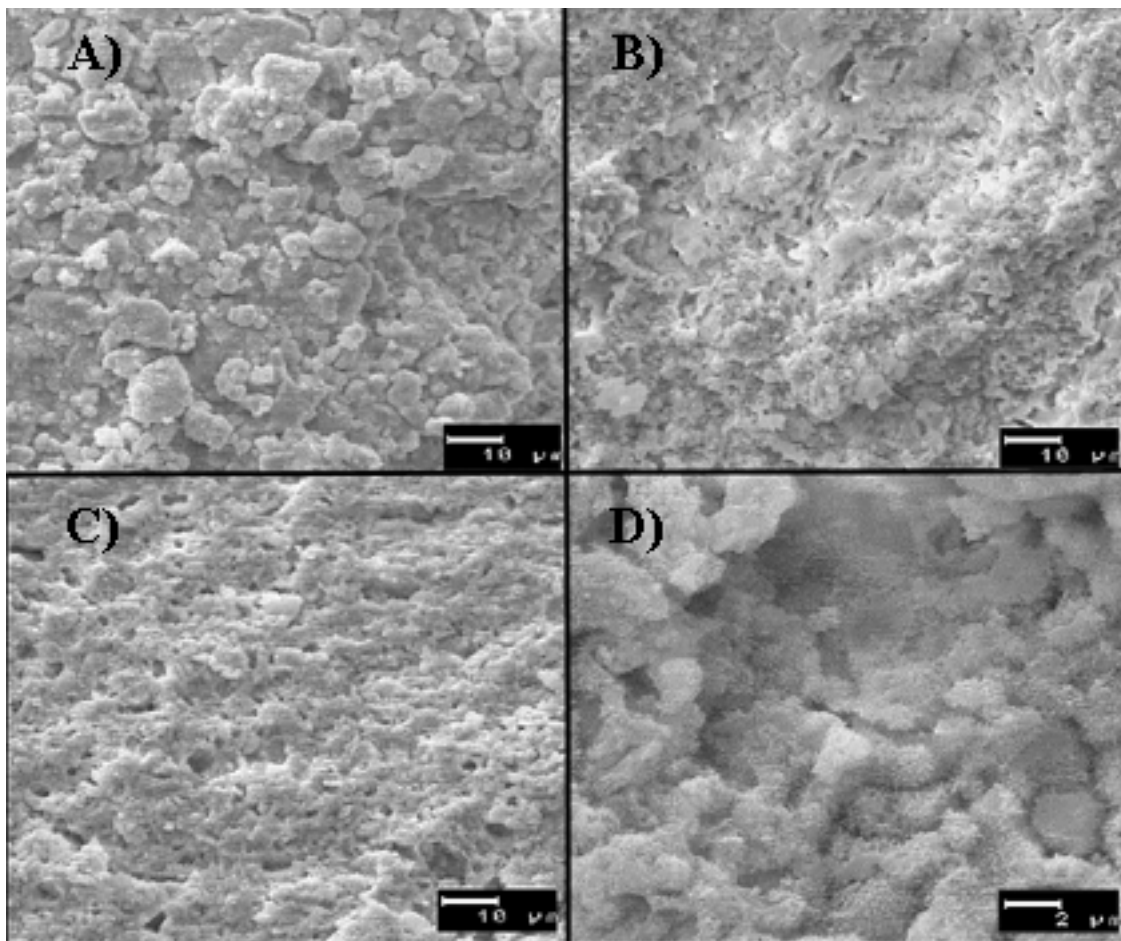
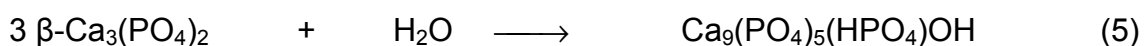


Abbildung 13: REM-Aufnahmen verschiedener in Ethanol gemahlener MaßT nach Abbinden mit einer 2,5%- Na_2HPO_4 -Lösung; A) 1 h, B) 4 h, C) 24 h und D) 1 h bei stärkerer Vergrößerung

5. Diskussion

Die Reaktivität von Calciumphosphatzementen wird durch die Löslichkeit der Zementreaktanden bestimmt. Nach Zugabe von Zementflüssigkeit gehen die Zementedukte in Lösung und bilden eine gegenüber dem Reaktionsprodukt übersättigte wässrige Phase. Bei genügend hoher Übersättigung fällt das Reaktionsprodukt aus und lässt die Zementpaste aushärten. Die Abbindegeschwindigkeit wird dabei bestimmt von der Lösungsrate der Zementkomponenten, dem Grad der Übersättigung der flüssigen Phase und der Kristallwachstumsrate des Reaktionsprodukts. Liegen die Verbindungen im hochkristallinen Zustand vor, dann entspricht die thermodynamische Löslichkeit dem Löslichkeitsprodukt der Werkstoffe, und die Lösungsrate kann als Funktion der spezifischen Oberfläche bzw. Partikelgröße beschrieben werden.

Die Reaktion von kristallinem β -TCP in wässriger Umgebung zu calciumarmem Hydroxylapatit nach Gleichung (5) verläuft im Gegensatz zur Hochtemperatur-Modifikation α -TCP nur sehr langsam [87], da die geringe Übersättigung der wässrigen Phase in Bezug auf HA ein schnelles Kristallwachstum verhindert. In dieser Arbeit wurde erstmals gezeigt, dass durch langzeitige Mahlung des reaktionsträgen Ausgangswerkstoffs eine mechanische Aktivierung von β -TCP eintritt, die durch Bildung amorpher Domänen im Pulver mit erhöhter Löslichkeit die Reaktion stark beschleunigt und abbindefähige Einkomponentenzemente aus β -TCP ermöglicht:



Der Effekt der mechanischen Aktivierung kann hierbei nicht alleine auf eine Verkleinerung der Partikelgröße zurückgeführt werden, sondern primär auf eine mechanisch induzierte Phasenumwandlung vom kristallinen in den amorphen Zustand. Mechanisch induzierte Phasenänderungen durch Mahlung sind für einer Reihe metallischer und keramischer Werkstoffe bekannt [33, 34]: Ab einer kritischen Partikelgröße im μm -Bereich ändern sich die mechanischen

Eigenschaften (E-Modul, Bruchzähigkeit) des Mahlguts derart, dass die eingebrachte Mahlenergie das kleine Partikel nicht mehr an einer Netzebene spaltet, vielmehr wird das Partikel nur mehr plastisch verformt, und im Kristallgitter bilden sich Punktdefekte und Versetzungen. Durch diesen Prozess entstehen innerhalb eines einzelnen Partikels Kristallite im Nanometerbereich, die bei hinreichend geringer Größe röntgenamorph erscheinen.

Der Vorgang der mechanischen Aktivierung wurde bisher beim Einstellen der Reaktivität von Calciumphosphaten in Zementen außer Acht gelassen. Der Effekt wurde nur in Zusammenhang mit dem Sinterverhalten [88, 89] von Calciumphosphaten diskutiert. Andere Untersuchungen konzentrierten sich auf die mechanochemische Reaktion zwischen sauren Calciumphosphaten (MCPM) und basischen Salzen wie Tetracalciumphosphat oder Calciumoxid in fester Phase durch Kugelmahlung [90, 91]. Die Autoren zeigten, dass durch Mahlung des Pulvergemisches ohne Beteiligung einer flüssigen Phase eine Festkörperreaktion mit der Bildung von Monetit auftritt. In Abhängigkeit von der Anzahl und dem Gewicht der Mahlkugeln und der Umdrehungsgeschwindigkeit der Kugelmühle folgte die Reaktion einer Kinetik erster Ordnung. Auf den Ergebnissen aufbauend wurde ein Reaktionsmechanismus über amorphe Zwischenprodukte postuliert, ohne anhand von Röntgendiffraktometrie Beweise hierfür zu erbringen. Matsuya et al. [92] beobachteten eine kontinuierliche Verkleinerung der Kristallgröße von Tetracalciumphosphat (TTCP) von 80 nm auf 60 nm während Trockenmahlung über einen Zeitraum von 5 h. Gleichzeitig nahm die Anzahl von Defekten im Kristallgitter zu. Zemente aus gemahlenem TTCP und (Poly-methylvinyl-ether)-Maleinsäure zeigten zwar nur geringe Änderungen der mechanischen Eigenschaften, die Reaktivität der Werkstoffe stieg aber deutlich an.

In vorliegender Arbeit konnte anhand röntgendiffraktometrischer Untersuchungen gezeigt werden, dass kristallines β -TCP durch langzeitige Mahlung amorphisiert wird. Nach 24 h Mahlung war nur eine Restkristallinität von etwa 26 % des Ausgangswertes nachweisbar. Gleichzeitig erhöht sich die

thermodynamische und kinetische Löslichkeit der Werkstoffe, was zu einer stärkeren Übersättigung der Zementflüssigkeit im Bezug auf das Reaktionsprodukt Hydroxylapatit führte. Die Mahlung über einen Zeitraum von 24 h resultierte in einem Anstieg des Löslichkeitsprodukts um nahezu eine Größenordnung, ebenso stieg die Lösungsrate mit der Verlängerung der Mahldauer stetig an. Letzteres ist nicht ausschließlich auf eine Verkleinerung der Partikelgröße zurückzuführen, da die Partikelgröße des 4 h gemahlten Zementes annähernd der des 24 h gemahlten entsprach (Abbildung 4), Letzterer aber eine um den Faktor 1,3 höhere Lösungsrate zeigte. Dies könnte erklären, warum die Abbindereaktion des β -TCP mit verlängerter Mahlzeit schneller verlief.

Durch Bildung von Versetzungen und amorpher Bereiche im Kristallgitter der Pulver sind diese in einem thermodynamisch instabilen Zustand, der mit einer Erhöhung der Bildungsenthalpie der Werkstoffe verbunden ist. Durch DSC-Untersuchung wurden stark exotherme Reaktionen im Bereich von 450–700°C festgestellt, wobei ein linearer Zusammenhang zwischen der Zunahme der Bildungsenthalpie und dem Verlust der Kristallinität besteht. Die für β -TCP nach 24 h Aktivierung bestimmte Änderung von ΔH erreicht hierbei mit ca. 420 kJ/mol etwa 10 % der Bildungsenthalpie der Verbindung aus den Elementen. Im Gegensatz zu den durch Fällung hergestellten amorphen CaP, die oftmals im Zuge des Trockenvorgangs einer spontanen Kristallisation unterliegen, scheint es sich hier aber um metastabile Phasen zu handeln. Eine Rückumwandlung bei Raumtemperatur und ein damit verbundener Verlust von Reaktivität konnte im Rahmen der Arbeit nicht festgestellt werden. Eine Erwärmung der mechanisch aktivierten Pulver dagegen führt zu einer stark exothermen Rekristallisation und Inaktivierung der Werkstoffe: Beispielsweise zeigte mechanisch aktiviertes β -TCP (24 h Mahlung) nach zweistündiger Erwärmung auf 500°C keine Abbindereaktion zu CDHA mehr. Die Partikelgröße betrug hierbei 2,7 μm vor und 4,06 μm nach der Rekristallisation. Dies zeigt, dass die beobachtete Reaktivität von mechanisch aktiviertem β -TCP die Folge einer kristallin/amorphen Phasenumwandlung und nicht der Effekt einer verringerten

Partikelgröße ist. Thermogravimetrisch wurde beim Aufheizen auf 1500° C mit zunehmender mechanischer Aktivierung des Zementes ein wachsender Gewichtsverlust festgestellt. Der ungemahlene Zement verlor hierbei 0,6 %, der 24 h gemahlene Zement ca. 2,5 % seines ursprünglichen Gewichtes. Ursächlich hierfür dürfte die Entstehung von Calciumpyrophosphat, wie es für kristallines β -TCP beschrieben ist [93], sowie der Verlust adsorbierten Mahlhilfsmittels (Ethanol) sein.

Die mechanische Aktivierung von β -TCP führt zu Werkstoffen, die aufgrund ihres Abbindeverhaltens und ihrer mechanischen Eigenschaften zur Herstellung von klinisch anwendbaren Zementen geeignet sind. Die ermittelten Abbindezeiten lagen bei Verwendung einer 2,5%- Na_2HPO_4 -Lösung als flüssige Phase zwischen 5 und 16 Minuten und könnten mit einer Veränderung des Natriumphosphatgehalts der Anmischflüssigkeit angepasst werden. Die Verwendung von Na_2HPO_4 als Lösungsmittel wirkt hierbei katalytisch: Die Kristallkeimbildung während der initialen Phase der Abbindereaktion wird beschleunigt, bei Verwendung von bidestilliertem Wasser konnte für mechanisch aktivierten Zement erst nach mehreren Stunden ein Abbinden beobachtet werden. Die initiale Abbindereaktion führt nur zu einer Umsetzung der amorphen Bestandteile zu calciumarmem Hydroxylapatit, während die kristalline β -TCP Phase weitgehend unreaktiv verbleibt. Der Anteil an gebildetem CDHA hängt direkt mit dem mechanischen Verhalten zusammen. Abbildung 14 zeigt den linearen Zusammenhang ($R = 0,99$) zwischen der Druckfestigkeit und dem durch Rietveld-Analyse bestimmten HA-Gehalt der unterschiedlichen Zemente zum Zeitpunkt ihrer Prüfung sowie der Dauer der mechanischen Aktivierung des Zementpulvers. Mit der Länge der Aushärtungszeit steigt der HA-Gehalt des Zementes, die Druckfestigkeit nimmt zu. Je länger das Zementpulver durch Mahlung mechanisch aktiviert wurde, desto schneller erfolgte die Umsetzung zu HA. Dies steht in Widerspruch zu Untersuchungen, die als maßgeblichen festigkeitsbeeinflussenden Faktor die Porosität der Zementmatrix identifizierten [94]. Ein entsprechender Einfluss

kann in vorliegender Arbeit ausgeschlossen werden, da alle Zemente eine vergleichbare Porosität im Bereich um 45 – 50 % aufwiesen.

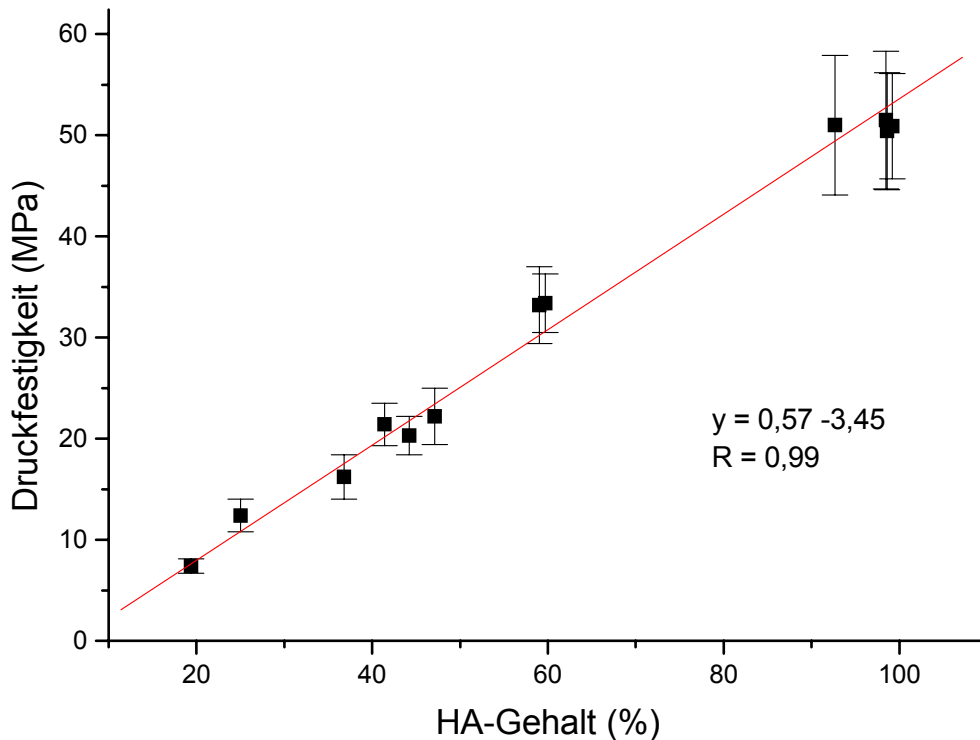


Abbildung 14: Druckfestigkeit der Zemente in Abhängigkeit des HA-Gehalts ($R = 0,99$)

Eine Erklärung für das Abweichen der tatsächlichen Porosität von der berechneten Porosität um 5 – 10 % könnte die während der Prüfkörperherstellung angewendete Kompression sein. Durch das Anlegen eines Verdichtungsdrucks an die Stempel der Probenform wird Flüssigkeit aus der Zementpaste ausgepresst und es steigt die Dichte des Zementes. Da die Reaktion von MAßT zu calciumarmem HA (CDHA) nach Gleichung (5) nur marginale Anteile an Wasser verbraucht, ist die Menge an zur Pastenformung notwendigem Wasser maßgeblich für die Porenbildung im Zement [95]. Die Erwartung, dass ein größeres P/L-Verhältnis mit einem Anstieg der Druckfestigkeit einhergeht [60], konnte nicht bestätigt werden. Es könnte sein, dass die verwendeten P/L-Verhältnisse zu nahe beieinander lagen, um messbare Unterschiede der mechanischen Kennwerte zwischen den Testgruppen herbeizuführen.

6. Zusammenfassung

Gegenstand vorliegender Arbeit war die mechanische Aktivierung von β -Tricalciumphosphat durch langzeitige Kugelmahlung. Der Prozess führt neben einer Partikelzerkleinerung zur partiellen Amorphisierung des kristallinen Ausgangspulvers. Röntgendiffraktometrische Untersuchungen zeigten, dass nach 24 h Mahldauer nur noch ca. 26 % des β -TCP im kristallinen Zustand vorliegen, verbunden mit einer Steigerung der thermodynamischen Löslichkeit um nahezu eine Größenordnung. Gleichzeitig erhöht sich die Bildungsenthalpie des Werkstoffs durch Einbringung von Defekten und Versetzungen in das Kristallgitter. Untersuchungen durch Differentielle Kalorimetrie ergaben einen Anstieg von ΔH um ca. 420 KJ/mol nach 24 h Mahlung. Mechanisch aktiviertes β -TCP zeigt im Gegensatz zur kristallinen Modifikation eine Abbindereaktion mit Na_2HPO_4 -Lösung als flüssige Phase; Reaktionsprodukt ist calciumarmer Hydroxylapatit. Bereits nach kurzer Mahldauer werden klinisch akzeptable Abbindezeiten im Bereich von 5 – 10 min erreicht. Die mechanischen Eigenschaften wurden anhand der Druckfestigkeit nach validiertem Verfahren untersucht. Mit zunehmender Mahldauer steigt die Festigkeit von ca. 7 MPa (1 h Mahldauer) auf über 50 MPa (24 h Mahldauer) an. Die Verbesserung der mechanischen Eigenschaften ist nicht, wie für andere Zementsysteme beschrieben, durch eine verringerte Porosität zu erklären. Vielmehr zeigte sich ein linearer Zusammenhang zwischen Umsetzungsgrad zu nanokristallinem Apatit und der Druckfestigkeit verantwortlich.

Das Verfahren der mechanischen Aktivierung von Calciumphosphaten eröffnet neue Möglichkeiten, die Reaktivität der Verbindungen den klinischen Anforderungen anzupassen und die Abbindereaktion von mineralischen Knochenzementen in einem breiteren Rahmen zu kontrollieren. Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass ein ähnliches Verhalten auch bei anderen Calciumphosphaten wie Tetracalciumphosphat, α -Tricalciumphosphat oder alkalidotierten CaP vorliegt [96, 97].

7. Literaturverzeichnis

- [1] Niedhart C., Maus U., Redmann E., Siebert C. H.: In vivo testing of a new in situ setting β -tricalcium phosphate cement for osseous reconstruction, *J Biomed Mater Res*, 2001, 55: 530-537
- [2] Siewert, J. R.: *Chirurgie. 7., komplett überarb. Aufl.*, Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Hongkong; London; Mailand; Paris; Singapur; Tokio: Springer Verlag, 2001: 77-111
- [3] Gerngross H., Burri C., Kinzl L., Merk J., Müller G. W.: Komplikationen an der Entnahmestelle autologer Spongiosatransplantate, *Aktuelle Traumatol*, 1982, 12: 146-152
- [4] Younger E. M., Chapman M. W.: Morbidity at bone graft donor sites, *J Ortho Trauma*, 1998, 3: 192-195
- [5] Schwenzer N., Ehrenfeld M.: *Zahn-Mund-Kieferheilkunde: Spezielle Chirurgie. 3. aktualisierte und erweiterte Aufl., Bd. 2.* Stuttgart; New York: Verlag Thieme, 2002: 380-381
- [6] Refior H. J., Hackenbroch M., Wirth C. J.: Knochenersatzstoffe, *Orthopäde*, 1998, 27: 71
- [7] Draenert K., Wiese F. G., Garde U., Draenert Y., Helber U., Börner M.: Synthetische Knochenersatzwerkstoffe auf HA- und TCP-Basis, *Trauma Berufskrankh*, 2001, 3: 293-300
- [8] Holmes R. E., Mooney V., Buchholz R.: A coralline hydroxyapatite bone graft substitute, *Clin Orthop*, 1984, 188: 252-62
- [9] Junqueira L. C., Carneiro J., Schiebler T. H.: *Histologie Lehrbuch der Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. 4. korrigierte und aktualisierte Auflage.* Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Budapest; Hongkong; London; Mailand; Paris; Santa Clara; Singapur; Tokio: Verlag Springer, 1996: 190-217
- [10] Kricheldorf H. R.: Syntheses and application of polylactides, *Chemosphere*, 2001, 43: 49-54
- [11] Klein A. M., Graham V. L., Gulleth Y., Laifreniere D.: Polyglycolic Acid/Poly-L-Lactic Acid Copolymer Use In Laryngotracheal Reconstruction: A Rabbit Model, *Laryngoscope*, 2005, 115: 583-587
- [12] Egli P., Müller W., Schenk R.: Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different poresize ranges implanted in the cancellous bone of rabbits, *Clin Orthop*, 1980, 232: 127-138
- [13] Rueger J. M.: Knochenersatzmittel: Heutiger Stand und Ausblick, *Orthopäde*, 1998, 27: 72-79
- [14] Klein C. P. T. A., Driessen A. A., deGroot K., Hoof A. van den: Biodegradation behaviour of various calcium phosphate materials in bone tissue, *J Biomed Mat Res*, 1982, 17: 769-784
- [15] De Groot K.: Bioceramics consisting of calcium phosphate salts, *Biomaterials*, 1982; 1: 47
- [16] Klawitter J. J., Hubert S. F.: Application of porous ceramics for the attachment of load bearing orthopedic applications, *J Biomed Mater Res Symp*, 2: 161
- [17] Albee F., Morrison H.: Studies in bone growths-triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis, *Ann Surg*, 1920, 71: 33-37

-
- [18] Haldeman K., Moore J.: Influence of a local excess of calcium and phosphorous on the healing of fractures, *Arch Surg*, 1934, 29: 385-396
- [19] Ray R., Degge J., Gloyd P., Mooney G.: Bone regeneration, *J Bone Joint Surg*, 1952, 34: 638-647
- [20] Bohner M.: Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements, *Injury, Int J Care Injured*, 2000, 31: 37-47
- [21] Chow L. C.: Calcium-Phosphat-Zemente: Eigenschaft und Verwendung, *Biomaterialien*, 2001, 2(1): 11-18
- [22] Brown W. E., Chow L. C.: A new calcium phosphate water-setting cement, in: *Cements Research Progress*, Brown P. W. (ed), The Am Ceram Soc, Westerville, Ohio, 1986: 352-379
- [23] Kamerer D. B., Friedman C. D., Costantino P. D., Snyderman C. H., Hirsch B. F.: Hydroxyapatite cement: A new method for achieving watertight closure in transtemporal surgery, *Am J Otol*, 1994, 15(1): 47
- [24] Kveton J. F., Friedman C. D., Piepmeier J. M., Constantino P. D.: Reconstruction Of Suboccipital Craniectomy Defects With Hydroxyapatite Cement: A Preliminary Report, *Laryngoscope*, 1995, 105(2): 156-159
- [25] Kveton J. F., Friedman C. D., Constantino P. D.: Indications For Hydroxyapatite Cement Reconstruction In Lateral Skull Base Surgery, *Am J Otol*, 1995, 16(4): 465-469
- [26] Gbureck U., Grolms O., Barralet J. E., Grover L. M., Thull R.: Mechanical activation and cement formation of β -tricalcium phosphate, *Biomaterials*, 2003, 24: 4123-4131
- [27] Fernandez E., Best S. M., Planell J. A., Bonfield W.: Synthesis of dahllite through a cement setting reaction, *J Mater Sci Mater Med*, 1998, 9: 789-792
- [28] Mirtchi A. A., Lemaitre J., Terao N.: Calcium phosphate cements: Study of the beta-tricalcium phosphate – monocalcium phosphate system, *Biomaterials*, 1989; 10(7): 475
- [29] Chow L. C., Markovic M., Takagi S.: Calcium phosphate cements, in: *Cements Research Progress*, Struble L. J. (ed), The Am Ceram Soc, Westerville, Ohio, 1997: 215-238
- [30] Xie L., Monroe E. A.: Calcium Phosphate Dental Cements, *Mater Res Soc Symp Proc*, 1991, 179: 25-39
- [31] Lee D. D., Rey C., Aiolo M.: Synthesis of reactive amorphous calcium phosphates. Etex-Corp. 1995, US-Patent 5,683,461
- [32] Lee D. D., Rey C., Aiolo M., Tofighi A.: Methods and Products Related to the Physical Conversion of Reactive Amorphous Calcium Phosphate, Etex-Corp. 1996, US-Patent 6,117,456
- [33] Gaffet E., Harmelin M.: Crystal-amorphous phase transition induced by ball milling in silicon, *J Less Common Met*, 1990, 157: 201-222
- [34] Weeber A. W., Bakker H.: Amorphisation by ball milling: a review, *Physica B*, 1988, 153: 93-122
- [35] Karagiannis G. N., Vaimakis T. C., Sdoukos A. T.: The effect of procedural variables and mechanical activation on the thermal-decomposition of calcite - an approach by experimental-design, *Thermochimica Acta*, 1995, 262: 129-144
- [36] Pan X. Y., Chen Y., Ma X. M., Zhu I. H.: Transformation of nanocrystalline anatase powders induced by mechanical activation, *J Am Ceram Soc*, 2004, 87 (6): 1164-1166
- [37] Constantz B., Ison I., Fulmer M. et al.: Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone, *Science*, 1995, 267: 1796-1799

- [38] Lemaitre J., Mirtchi A., Mortier A.: Calcium phosphate cements for medical use: state of the art and perspectives of development, *Silicates Industriels*, 1987, 9-10: 141-146
- [39] Lenárt G., Bibl G., Pintér J. : Some basic problems in the examination of the calcium hydrogen phosphates of bone, *Clin Orthop Rel*, 1972, 83: 263-272
- [40] Muenzberg K., Gebhardt M.: Brushite, octocalcium phosphate, and carbonate-containing apatite in bone, *Clin Orthop Rel*, 1973, 90: 271-273
- [41] Fallschlüssel G. K. H.: Kalzium-Phosphat-Keramiken in der Zahnmedizin, Quintessenzverlag GmbH Berlin, 1987
- [42] Merten H. A., Wiltfang J., Hönig J. F., Funke M., Luhr H. G.: Intraindividuelle Vergleich von α - und β -TCP-Keramik im Tierexperiment. *Mund Kiefer Gesichtschir*, 2000, 4 [Suppl 2]: 509-515
- [43] Bohrer M.: Physical and chemical aspects of calcium phosphates used in spinal surgery, *Eur Spine J*, 2001, 10: 114-121
- [44] Foitzik C., Stamm M.: Einsatz von phasenreinem β -Tricalciumphosphat zur Auffüllung von ossären Defekten – Biologische Materialvorteile und klinische Erfahrungen, *Quintessenz*, 1997, 48(10): 1365-1377
- [45] Guo L., Guo X., Leng Y., Cheng J. C. Y., Zhang X.: Nanoindentation study of interfaces between calcium phosphate and bone in animal spinal fusion model, *J Biomed Mater Res*, 2001, 54: 554-559
- [46] Fulmer M. T., Martin R. I., Brown P. W.: Formation of Calcium Deficient Hydroxyapatite at Near-Physiological temperature, *J Mater Sci: Mater Med*, 1992, 3: 299-305
- [47] Otsuka M., Matsuda Y., Suwa Y., Fox J. L., 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
- [48] Chow L. C., Takagi S., Ishikawa K.: Formation of hydroxyapatite in cement systems, in: *Hydroxyapatite and Related Materials*, CRC-Press, 1994, 127-137
- [49] Sanin N., Takagi S., Chow L. C., Matsuya S.: Particle Size Effects on pH and Strength of Calcium Phosphate Cement, *IADR 1991. Abstract No. 2411*
- [50] Gregory T. M., Moreno E. C., Brown W. E.: Solubility of $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in the system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ at 5, 15, 25, and $37,5^\circ\text{C}$, *J Res Nat Bur Stand*, 1968, 74(A): 773-782
- [51] McDowell H., Brown W. E., Sutter J. R.: Solubility Study of Calcium Hydrogen Phosphate: Ion Pair Formation, *Inorg Chem*, 1971, 10: 1638-1643
- [52] Gregory T. M., Moreno E. C., Patel J. M., Brown W. E.: Solubility of $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO})_4$ in the system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ at 5, 15, 25, and $37,5^\circ\text{C}$, *J Res Nat Bur Stand*, 1974, 78(A): 667-674
- [53] McDowell 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 $37,5^\circ\text{C}$, *J Res of Nat Bur Stand (Phys and Chem)*, 1977, 81A(2,3): 273-281
- [54] Matsuya S., Takagi S., Chow L. C.: Hydrolysis of Tetracalcium Phosphate in H_3PO_4 KH_2PO_4 , *J Mater Sci*, 1996, 31: 3263-3269
- [55] Takagi S., Chow L. C., Ishikawa K.: Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements, *Biomaterials*, 1998, 19: 1593-1599
- [56] Liu C., Shen W., Gu Y., Hu L.: Mechanism of the hardening process for a hydroxyapatite cement, *J Biomed Mat Res*, 1997, 35: 75-80

- [57] Mirtichi A. A., Lemaître J., Munting E.: Calcium phosphate cements : action of setting regulators on the properties of the beta-tricalcium phosphate – monocalcium phosphate cements, *Biomaterials*, 1989 , 10(9) : 634-638
- [58] Constantz B. R., Barr B. M., Ison I. C., Fulmer M. T., Baker J., McKinney L., Goodman S. B., Gunasekaran S., Delaney D. C., Ross J., Poser R. D.: Histological, chemical, and crystallographic analysis of four calcium phosphate cements in different rabbit osseous sites, *J Biomed Mater Res*, 1998, 43: 451-461
- [59] Charrière E., Terrazoni S., Pittel C., Mordasini Ph., Dutoit M., Lemaître J., Zysset Ph.: Mechanical characterisation of brushite and hydroxyapatite cements, *Biomaterials*, 2001, 22: 2937-2945
- [60] Chow L. C., Hirayama S., Takagi S., Parry E.: Diametral Tensile Strength and Compressive Strength of a Calcium Phosphate Cement: Effect of Applied Pressure, *J Biomed Mater Res*, 2000, 53: 511-517
- [61] Ishikawa K., Asaoka K.: Estimation of ideal mechanical strength and critical porosity of calcium phosphate cement, *J Biomed Mater Res*, 1995, 29: 1537-1543
- [62] Ratier A., Gibson I. R., Best S. M., Freche M., Lacout J. L., Rodriguez F.: Setting characteristics and mechanical behaviour of a calcium phosphate bone cement containing tetracycline, *Biomaterials*, 2001, 22: 897-901
- [63] 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
- [64] Monchau F., Levèvre A., Descamps M., Belquin-myrdycz A., Laffargue P., Hildebrand H. F.: In vitro studies of human and rat osteoclast activity on hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate, calcium carbonate, *Bio Eng*, 2002, 19: 143-152
- [65] Khairoun I., Magne D., Gauthier O., Bouler J. M., Aguado E., Daculsi G., Weiss P.: In vitro characterization and in vivo properties of carboated apatite bone cement, *J Biomed Mater Res*, 2002, 60(4):633-42
- [66] Honk Y. C., Wang J. T., Hong C. Y., Brown W. E., Chow L. C.: The Periapical Tissue Reactions to a Calcium Phosphate Cement in the Teeth of Monkeys, *J Biomed Mater Res*, 1991, 25: 485-98
- [67] Passuti N., Daculsi G., Rogez J. M., Martin S., Bainel J. V.: Macroporous calcium phosphate ceramics performance in human spine fusion, *Clin Orthop*, 1989, 248: 169-176
- [68] Ducheyne P., Cuckler J. M.: Bioactive ceramic prosthetic coatings, *Clin Orthop*, 1992, 276: 102–114.
- [69] Geesink R. G. T., De Groot K., Klein C. P. A. T.: Bonding of bone to apatite-coated implants, *J Bone Joint Surg*, 1988, 70B: 17-22
- [70] Hanawa T., Kamiura Y., Yamamoto S., Kohgo T., Ameniya A., Ukai H., Murakami K., Asaoka K.: Bone Formation around Calcium-Ion-Implanted Titanium Inserted into Rat Tibia, *J Biomed Mater Res*, 1996, 36: 131-136
- [71] Suzuki T., Yamamoto T., Toriyama M., Nishizawa K., Yokogawa Y., Mucalo M. R., Kawamoto Y., Nata F., Kamayama 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: 507-517
- [72] Yamada S., Heyman D., Bouler J. M., Daculsi G.: Osteoclastic resorption of calcium phosphate ceramics with various hydroxyapatite / β -TCP ratios, *Biomaterials*, 1997, 18: 1037-41

- [73] LeGeros R. Z.: Biodegradation and Resorption of Calcium Phosphate Ceramics, *Clinical Materials*, 1993, 14: 65-88
- [74] Driessens F. C. M., Planell J. A., Boltong M. G., Khairoun I., Ginebra M. P.: Osteotransduktive bone cements, *Proc Inst Mech Eng (H)*, 1998, 212: 427-435
- [75] Yamamoto H., Niwa S., Hori M., Hattori T., Sawai K., Aoki S., Hirano M., Takeuchi H.: Mechanical strength of calcium phosphate cement in vivo and in vitro, *Biomaterials*, 1998, 19: 1587-1591
- [76] Koerten H. K., Van der Meulen J.: Degradation of calcium phosphate ceramics, *J Biomed Mater Res*, 1999, 44: 78-86
- [77] Alliot-Licht B., Grgoire M., Orly I., Menanteau J.: Cellular activity of osteoblasts in presence of hydroxyapatite : an in vitro experiment, *Biomaterials*, 1991, 12: 752-756
- [78] Pioletti D. P., Takei H., Lin T., Van Landuyt P., Ma Q. J., Kwon S. Y., Sung K.-L. P.: The effects of calcium phosphate cement particles on osteoblast functions, *Biomaterials*, 2000, 21: 1103-1114
- [79] Spivak J. M., Hasharoni A.: Use of hydroxyapatite in spine surgery, *Eur Spine J*, 2001, 10: 197-204
- [80] Oguchi H., Ishikawa K., Mizoue K., Seto K., Eruchi G.: Long-term histological evaluation of hydroxyapatite ceramics in humans, *Biomaterials*, 1995, 16: 33-38
- [81] Darimont G. L., Cloots R., Heinen E., Seidel L., Legrand R.: In vivo behaviour of hydroxyapatite coatings on titanium implantats: a quantitative study in the rabbit, *Biomaterials*, 2002, 23: 2569-2575
- [82] Yuan H., Yang Z., de Bruijn J. D., de Groot K., Zhang X.: Material dependent bone induction by calciumphosphate ceramics: a 2.5-year study in dog, *Biomaterials*, 2001, 22: 2617-2623
- [83] Kurashina K., Ogiso A., Kotani A., Takeuchi H., Hirano M.: Histological and microradiographic evaloation of hydrated and hardened α -tricalcium phosphate/calcium phosphate dibasic mixtures, *Biomaterials*, 1994, 15(6): 429-432
- [84] Sugawara A., Fujikawa K., Kusama K., Nishiyama M., Murai S., Takagi S., Chow L. C.: Histopathologic reaction of calcium phosphate cement for alveolar ridge augmentation, *J Biomed Mater Res*, 2002, 61: 47-52
- [85] Bohner M., Merkle H. P., Lemaître J.: In vitro aging of calcium phosphate cement, *J Mat Sci: Mat in Med*, 2000, 11: 155-162
- [86] Ohura K., Bohner M., Hardouin P., Lematre J., Pasquier G., Flautre B.: resorption of, and bone formation from, new β -tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements: an in vivo study, *J Biomed Mat Res*, 1996, 30: 193-200
- [87] Elliott J. C.: Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates, Elsevier, Amsterdam – London – New York – Tokyo, 1994
- [88] Bignon A, Chevalier J, Fantozzi G.: Effect of ball milling on the processing of bone substitutes with calcium phosphate powders, *J Biomed Mater Res*, 2002, 63 (5): 619-626
- [89] Toriyama M, Ravaglioli A, Krajewski A, Celotti G, Piancastelli A.: Synthesis of hydroxyapatite-based powders by mechano-chemical method and their sintering, *J Europ Ceram Soc*, 1996, 16: 429-436
- [90] Boudeville P., Serraj S., Lleloup J. M., Margerit J., Pauvert B., Terol A.: Physical Properties and self-setting of calcium-phosphate cements from bis-dihydrogenophosphate monohydrate and calcium oxide, *J Mater Sci Mater Med*, 1999, 10: 99-109

-
- [91] Serraj S., Boudeville P., Pauvert B., Terol A.: Effect of dry mechanical grinding of calcium phosphate mixtures, *J Biomed Mater Res*, 2001, 55: 566-575
- [92] Matsuya Y., Matsuya S., Antonucci J. M., Takagi S., Chow L. C., Akamine A.: Effect of powder grinding on hydroxyapatite formation in a polymeric calcium phosphate cement prepared from tetracalcium phosphate and poly(methyl vinyl ether-maleic acid), *Biomaterials*, 1999, 20: 691-697
- [93] LeGeros R. Z., Daculsi G., Kijkowska R., Kerebel B. Itokawa Y., Durlach J., editors: *Magnesium in health disease*, John Libbey, 1989, 11-19
- [94] Gbureck U., Barralet J. E., Grover L. M., Hofmann M., Thull R.: Mechanische Eigenschaften und Porosität von Calciumphosphat-Zementen, *Biomaterialien*, 2003, 4(4): 258-264
- [95] Barralet J. E., Gaunt T., Wright A. J., Gibson I. R., Knowles J. C.: Effect of porosity reduction by compaction on compressive strength and microstructure of calcium phosphate cement, *J Biomed Mater Res*, 2002, 63: 1-9
- [96] Gbureck U., Barralet J. E., Radu L., Klinger H. G., Thull R.: Amorphous α -Tricalcium Phosphate: Preparation and Aqueous Setting Reaction, *J Am Ceram Soc*, 2004, 87(6): 1126-1132
- [97] Gbureck U., Knappe O., Grover L.M., Barralet J.E.: Antimicrobial properties of potassium and sodium substituted Calcium Phosphate Cements, *Biomaterials* 2005; 26: 6880-6886.

Tabelle 15: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 1 h in Ethanol gemahlenes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1404	1393,51	0,116	215,670	206,53
	1473	1457,83	0,111	213,934	201,78
	1398	1387,74	0,125	214,169	205,05
	1419	1405,35	0,117	210,502	198,76
	1356	1347,16	0,122	212,415	204,68
Mittelwert	1410 ± 42	1398,32 ± 40	0,118 $\pm 0,0056$	213,338 $\pm 1,961$	203,36 $\pm 3,09$

Tabelle 16: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 2 h in Ethanol gemahlenes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1280	1256,57	0,119	203,622	187,54
	1398	1372,05	0,110	212,227	192,69
	1334	1314,90	0,117	207,409	193,57
	1238	1216,28	0,123	205,682	188,75
	1232	1209,94	0,127	207,481	191,04
Mittelwert	1296 ± 70	1273,95 $\pm 68,97$	0,119 $\pm 0,006$	207,284 $\pm 3,181$	190,64 $\pm 2,94$

Tabelle 17: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 4 h in Ethanol gemahlenes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1031	1012,45	0,128	188,052	173,23
	1048	1025,26	0,125	190,150	172,19
	1028	1004,32	0,131	190,149	171,32
	1087	1060,44	0,122	189,772	168,45
	1087	1066,39	0,119	190,653	173,93
Mittelwert	1056 ± 19	1033,77 $\pm 28,15$	0,125 $\pm 0,005$	189,755 $\pm 1,002$	171,82 $\pm 2,13$

Tabelle 18: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 8 h in Ethanol gemahlenes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	634,3	616,982	0,171	159,532	142,67
	651,1	636,659	0,162	156,895	142,61
	657,1	643,112	0,155	156,970	143,39
	669,0	655,784	0,147	160,940	148,33
	693,0	682,318	0,154	161,188	150,66
Mittelwert	660,9 $\pm 21,9$	646,971 $\pm 24,226$	0,009 $\pm 0,158$	159,105 $\pm 2,082$	145,53 $\pm 3,72$

Tabelle 19: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 12 h in Ethanol gemahlenes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	509,6	501,684	0,164	136,109	129,10
	463,9	456,094	0,193	132,954	124,14
	466,9	461,100	0,195	134,987	128,52
	465,9	455,975	0,191	133,568	122,54
	477,8	467,442	0,182	134,991	123,22
Mittelwert	476,7 $\pm 19,2$	468,459 $\pm 19,156$	0,185 $\pm 0,013$	134,522 $\pm 1,257$	125,50 $\pm 3,08$

Tabelle 20: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 24 h in Ethanol gemahlenes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	169,1	158,254	0,367	76,019	62,797
	170,5	159,501	0,352	78,476	65,628
	159,6	151,608	0,389	75,535	65,844
	141,8	129,400	0,373	72,595	57,365
	151,7	144,689	0,397	67,643	58,872
Mittelwert	158,5 $\pm 12,1$	148,690 $\pm 12,298$	0,376 $\pm 0,018$	74,054 $\pm 4,148$	62,101 $\pm 3,866$

Tabelle 21: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für ungemahlenes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1674	1665,55	0,188	226,679	220,94
	1800	1791,40	0,107	230,770	224,46
	1776	1766,50	0,110	228,324	221,13
	1493	1481,33	0,131	225,283	217,50
	1733	1722,52	0,112	228,156	220,66
Mittelwert	1695 ± 123	1685,46 $\pm 123,72$	0,110 $\pm 0,064$	227,842 $\pm 2,050$	220,94 $\pm 2,47$

Tabelle 22: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 1 h in Ethanol gemahlenes und 2 h bei 1050 °C rekristallisiertes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	2047	2035,71	0,098	245,800	237,86
	2035	2026,88	0,098	247,797	241,55
	1965	1957,02	0,097	245,225	239,01
	1920	1911,27	0,102	239,194	232,45
	2111	2102,10	0,092	241,161	234,26
Mittelwert	2016 ± 74	2006,60 $\pm 74,04$	0,097 $\pm 0,004$	243,835 $\pm 3,542$	237,03 $\pm 3,66$

Tabelle 23: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 2 h in Ethanol gemahlenes und 2 h bei 1050 °C rekristallisiertes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1896	1889,08	0,103	240,529	235,03
	1606	1597,42	0,129	242,477	236,06
	1833	1825,42	0,105	243,611	237,47
	1718	1715,14	0,114	232,682	229,82
	1450	1441,74	0,137	230,455	224,18
Mittelwert	1701 ±179	1693,76 ±197,30	0,118 ±0,015	237,951 ±5,982	232,51 ±5,48

Tabelle 24: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 4 h in Ethanol gemahlenes und 2 h bei 1050 °C rekristallisiertes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1603	1595,47	0,123	235,121	228,68
	1773	1765,30	0,112	245,383	238,91
	1898	1890,20	0,108	242,796	236,76
	1815	1808,40	0,107	240,465	235,23
	1840	1831,78	0,104	245,375	238,82
Mittelwert	1786 ±112	1779,23 ±111,67	0,111 ±0,007	241,828 ±4,272	235,68 ±4,20

Tabelle 25: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 8 h in Ethanol gemahlenes und 2 h bei 1050 °C rekristallisiertes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1768	1757,83	0,111	247,177	238,46
	1852	1842,43	0,110	250,625	243,13
	1698	1685,29	0,117	245,452	235,29
	1724	1714,59	0,115	244,479	236,57
	1482	1467,92	0,138	243,791	232,88
Mittelwert	1705 ±138	1693,62 ±139,37	0,118 ±0,011	246,305 ±2,730	237,27 ±3,85

Tabelle 26: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 12 h in Ethanol gemahlenes und 2 h bei 1050 °C rekristallisiertes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1461	1451,38	0,138	241,790	234,63
	1548	1536,86	0,132	246,775	238,17
	1640	1631,64	0,126	247,401	240,74
	1409	1401,70	0,145	239,356	233,61
	1609	1600,03	0,126	239,602	232,86
Mittelwert	1533 ±97	1524,32 ±97,16	0,133 ±0,008	242,985 ±3,870	236,00 ±3,34

Tabelle 27: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für 24 h in Ethanol gemahlenes und 2 h bei 1050 °C rekristallisiertes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1452	1444,83	0,142	240,937	234,02
	1416	1411,49	0,146	238,902	234,68
	1391	1384,94	0,146	242,697	237,46
	1432	1426,82	0,147	242,798	238,46
Mittelwert	1423 ±26	1417,02 ±25,36	0,145 ±0,002	241,334 ±1,832	236,16 ±2,14

Tabelle 28: Messwerte der röntgendiffraktometrischen Analyse für ungemahlenes und 2 h bei 1050 °C rekristallisiertes β -TCP

	Max. Int. [cps]	Net. High [cps]	FWHM (Grad)	Raw Area [cps x deg]	Net. Area [cps x deg]
	1692	1676,01	0,118	229,694	219,48
	1703	1690,35	0,117	230,449	222,19
	1654	1639,57	0,120	232,961	223,53
	1635	1620,70	0,116	224,520	215,59
	1562	1551,98	0,129	232,679	226,08
Mittelwert	1649 ±56	1635,72 ±54,45	0,120 ±0,005	229,406 ±3,544	221,37 ±4,02

Danksagung

Herrn Prof. Thull danke ich für die Themenstellung und die Bereitstellung der benötigten Gerätschaften und Materialien.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. K. Würzler danke ich freundlichst für die Übernahme des Koreferates.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. Uwe Gbureck für die geleistete hervorragende Betreuung und Unterstützung bei der Erstellung der Dissertation.

Weiterer Dank gilt den Mitarbeitern der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde der Universität Würzburg. Besonderen Dank an Frau Isabel Biermann für die gewährte Unterstützung.

Lebenslauf

Name: Oliver Grolms

Geburtstag: 25.01.1975

Geburtsort: Bad Brückenau

Eltern: Werner Leopold Heinz Grolms
Jutta Barbara Rosemarie Grolms, geb. Hornung

Geschwister: David Christopher Grolms

Schulbildung:

1981 – 1985 Grundschohle Riedenberg

1985 – 1986 Hauptschohle Oberbach

1986 – 1995 Franz-Miltenberger-Gymnasium in Bad Brückenau
30.06.1995 Abitur

Wehrdienst:

1995 – 1996

Studium:

10/1996 – 09/2002 Studium der Zahnheilkunde an der Bayerischen
Julius- Maximilians-Universität in Würzburg
Naturwissenschaftliche Vorprüfung: 22.10.1997
Zahnärztliche Vorprüfung: 19.10.1999
Zahnärztliche Prüfung: 13.06.2002

10/2002 – 02/2003 Promotionssemester

Famulatur:

08/2001 – 10/2001 Zahnärztliche Tätigkeit im Emaus Swiss Memorial
Hospital, Palamaner/Indien

Berufliche Tätigkeit:

03/2003 – 02/2005

Seit 03/2005

Assistenz Zahnarzt bei Dr. Betz in Flieden

Planung der Niederlassung

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'O. Grolms', written in a cursive style.

Riedenberg, den 29. November 2005

Oliver Grolms

