

**Charakterisierung von borathaltigen
Calciumphosphaten
mit Hilfe der Festkörper-NMR-Spektroskopie**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors der
Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Sabrina Barheine
aus Neindorf

2010

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Christian Jäger im Zeitraum von August 2007 bis Juli 2010 in der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) in Berlin-Adlershof angefertigt. Die Themenstellung erfolgte in Kooperation mit Herrn Prof. Hayakawa von der Okayama Universität in Japan.

1. Gutachter: Prof. Dr. Christian Jäger
2. Gutachter: Prof. Dr. Hartmut Oschkinat

Disputation am 8. Dezember 2010

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Mitwirkenden bedanken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen und mich dabei tatkräftig unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Christian Jäger, dem Betreuer dieser Arbeit. Ihm danke ich für die Möglichkeit zur Anfertigung meiner Dissertation an der BAM in der Arbeitsgruppe I.36. Ich danke Ihm für das mir entgegengebrachte Vertrauen und für die gewährten Freiräume, die zahlreichen Gespräche, die mit vielen Anregungen und kritischem Hinterfragen der Ergebnisse verbunden waren. Die Möglichkeit der Teilnahme an Konferenzen, als auch die Aufenthalte an der Okayama Universität in Japan waren für mich eine interessante Erfahrung.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. Akiyoshi Osaka, Prof. Dr. Satoshi Hayakawa und deren Arbeitsgruppe für die gute Zusammenarbeit. An dieser Stelle möchte ich meinen Dank für die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe und die gute Betreuung während meines Aufenthaltes an der Okayama Universität in Japan ausdrücken.

Herrn Prof. Dr. Oschkinat von der Freien Universität Berlin danke ich recht herzlich für die Durchführung des Promotionsverfahrens.

Dr. Alf Pawlik danke ich in vielerlei Hinsicht, dass ich nicht weiß, wo ich beginnen soll. Zunächst einmal danke ich ihm für seine uneingeschränkte Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und seine Anregungen und Ideen rund um mein Dissertationsthema. Ich danke Ihm für seine unendliche Geduld bei der Beantwortung von Fragen zur NMR-Theorie und für das Lesen/ Korrigieren meiner Dissertation. Außerdem danke ich Ihm für sein offenes Ohr, das mir entgegenbrachte Vertrauen, seine unzähligen inspirierenden Gespräche und die angenehme Gesellschaft während unserer Dienstreisen/ Urlaube.

Andrea Karrasch danke ich für das Lesen und Korrigieren meiner gesamten englischen Werke, für die überaus nette Begleitung während meiner Japanreise, für das regelmäßige Versorgen mit Kohlenhydraten (Die Nimm2-Stunde wird mir fehlen) und für die Teilnahme am Gewinnspiel "Wer hat sein Sammelheft am schnellsten voll".

Alexandra Huber danke ich für ihre gute Zusammenarbeit und für die angenehme Atmosphäre in unserem Frauenruheraum und für das Korrekturlesen meiner Werke in Deutsch und Englisch.

Dr. Thoralf Krahl danke ich für überaus erfrischende Zusammenarbeit, für seine Hilfsbereitschaft und für die Teilnahme am Projekt "Schönster Garten an der BAM".

Vielen Dank auch an Dr. Dietmar Pfeifer für seine Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und für das regelmäßige Versorgen mit Pfannkuchen am 11.11. des Jahres.

Ich danke Herrn Chemie-Ing. Wolfgang Altenburg für die gute Zusammenarbeit in den letzten drei Jahren und für das Erreichen eines "Sabrins" nach langer Zeit.

Frau Dr. Franziska Emmerling und Moritz-Caspar Schlegel danke ich für die Aufnahme der Röntgenpulverdiffraktogramme und für die anschließende Diskussionsbereitschaft.

Frau Sabine Tietz danke ich für ihre Hilfe bei allen "BAM-internen und -externen" Angelegenheiten.

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung des JSPS-DFG-Projektes (Ja 552/25-1).

Bei meinen Mädels Manuela, Diana, Inika und Elke bedanke ich mich ganz herzlich für ihre seelische und moralische Unterstützung und für die immer wieder aufmunternden Worte.

Das letzte Dankeschön gilt meiner Familie, insbesondere meiner Mutter für ihre uneingeschränkte Unterstützung und ihr Verständnis, die mich während des Studiums und in der anschließenden Promotion begleitet hat.

Kurzzusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden borathaltige Calciumphosphate mittels Festphasensynthese hergestellt und mit der Festkörper-NMR-Spektroskopie untersucht.

Im ersten Teil wurde exemplarisch an der Probe BHAp (Ausgangsstoffe: CaCO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ und H_3BO_3) eine ausführliche, strukturelle Charakterisierung durchgeführt. Aus den Ergebnissen der Festkörper-NMR-Spektren konnte ein Modell zum Aufbau der Partikel der Probe BHAp aufgestellt werden. Dabei bildet kristalliner HAp den Kern der Partikel, der von einer dünnen Grenzschicht mit HAp-ähnlicher Struktur umschlossen und anschließend von einer borathaltigen Calciumphosphat-Phase (BCaP-Phase) bedeckt wird. Die Phosphatbestände der jeweiligen Strukturen wurde mit 30mol% (kristalline HAp-Phase), 8 mol% (Grenzschicht) und 62mol% (BCaP-Phase) abgeschätzt. Mithilfe weiterführender Festkörper-NMR-Experimente konnte ein Modell zum Aufbau der BCaP-Phase vorgeschlagen werden. Als Grundstruktur wird ein kubisches Gitter angenommen, wobei die Elementarzelle aus acht Teilkuben besteht. Die Ecken werden von den Phosphatgruppen besetzt und in der Mitte eines Kubus wird eine Boratgruppe (BO_3^{3-}) platziert.

Im zweiten Teil wurde die Probenserie 1 durch Variation der eingesetzten Mengen an CaCO_3 , $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ und B_2O_3 hergestellt. Mithilfe der Festkörper-NMR-Spektren konnte gezeigt werden, dass die gleichen ^1H -, ^{31}P - und ^{11}B -Resonanzen in den borathaltigen Proben (BHAp1, BHAp2 und BHAp3) wie in der Probe BHAp vorhanden sind. Daher wurde das gleiche Modell zum Aufbau der BHAp-Partikel vorgeschlagen. Da kleinere HAp-Anteile in der Probenserie 1 als in der Probe BHAp bestimmt wurden, wird eine Volumenvariation der einzelnen Phasen im Partikel angenommen.

Bei der Untersuchung der Bioaktivität und Degradation an der Probenserie 1 hat sich gezeigt, dass die größte Bioaktivität die Probe HAp1 (ohne Boranteil) liefert (erwünscht), aber die schlechteste Degradation (unerwünscht) zeigt. Als Kompromiss zwischen Bioaktivität und Degradation zeigten sich die borathaltigen Calciumphosphate der Probenserie 1. Dabei wurde eine geringere, aber ausreichende Bioaktivität als in Probe HAp1 beobachtet. Die Degradationen befanden sich auf dem gewünschten Niveau zwischen α -TCP und β -TCP.

Zuletzt wurde die Probenserie 2 durch Variation der eingesetzten Mengen an kommerziell erhältlichen HAp (cHAp) und selbst synthetisiertes Calciumborat (Takedait) hergestellt. Die

Ergebnisse der Festkörper-NMR-Spektren bestätigen eine Reaktion zwischen den Ausgangsstoffen; damit gibt es eine weitere Möglichkeit zur Herstellung von borathaltigen Calciumphosphaten. Zudem konnte gezeigt werden, dass das B/P-Verhältnis, welches den umgesetzten Boranteil zum vorhandenen Phosphoranteil (HAp-Anteil) in den Proben betrachtet, zunächst zunimmt und dann bei 1:3 konstant bleibt.

Das erlangte Wissen kann nun für zukünftige Arbeiten angewendet, um beispielweise die Adsorption von Proteinen bzw. den Proteinadsorptionsmechanismus an diesen Partikeln zu untersuchen bzw. aufzuklären.

Summary

Within the scope of this thesis borate-containing calcium phosphates were prepared by solid-state reaction and investigated by solid-state NMR spectroscopy.

Firstly, a detailed structural characterization of the sample BHAp was exemplarily carried out. The sample BHAp was prepared using calcium carbonate, diammonium hydrogen phosphate and boric acid. Solid-state NMR results were used for the development of a model for BHAp particles. Crystalline HAp forms the core of the particle covered by an interface with a HAp-like structure. The interface is covered by a borate-containing calcium phosphate phase (BCaP-phase). The phosphorus content of the crystalline HAp-phase, the interface and BCaP-phase were estimated as 30mol%, 8 mol% and 62mol%, respectively.

A second model for the construction of the BCaP-phase was proposed using the results of advanced solid-state experiments. As a basic structure a cubic lattice with an unit cell of eight cubes was taken. The corners of the cubes are occupied by phosphate groups and body-centered in one of the cubes one borate group (BO_3^{3-}) is accommodated.

Secondly, sample series 1 was prepared using the starting materials calcium carbonate, calcium diphosphate and boron oxide. The solid-state NMR spectra of the borate-containing samples (BHAp1, BHAp2 and BHAp3) show the same ^1H -, ^{31}P - and ^{11}B -signals as the sample BHAp. Therefore, the same model for the construction of the BHAp particles was suggested. Smaller HAp-parts in sample series 1 than in sample BHAp were ascertained so variations of volume of the several phases in the particles were suspected. In addition, the bioactivity and the degradation of the sample series 1 were investigated. The highest bioactivity is observed for the sample with no boron content (desirable) but the worst degradation showed (undesirable). As a compromise between bioactivity and degradation the borate-containing calcium phosphate of sample series 1 was found. A lower but sufficient bioactivity than in the sample with no boron content was observed. The degradations are of the desired rate between α -TCP and β -TCP.

Finally, sample series 2 was prepared using the starting materials commercial HAp and calcium borate (Takedaite). The results of solid-state NMR spectra confirmed a reaction between the starting materials so another possibility for preparing borate-containing calcium phosphates was found. Furthermore, it was shown that the B/P-ratio, which is determined by

the used boron content and existing phosphorus content (HAp-content) in the samples, increased first and then remained constant at 1:3.

The acquired knowledge can be used to study the adsorption of proteins on BHAp particles.

Inhaltsverzeichnis

1	<i>Einleitung und Zielstellung der Arbeit</i>	4
2	<i>Theoretische Grundlagen</i>	7
2.1	Hydroxylapatit (HAp)	7
2.2	Festkörper- NMR- Spektroskopie	10
2.2.1	Allgemeine Grundlagen.....	10
2.2.1.1	<i>Kerndrehimpuls und Zeeman-Wechselwirkung</i>	10
2.2.1.2	<i>Relaxation</i>	12
2.2.1.3	<i>Chemische Verschiebung</i>	13
2.2.2	Wechselwirkungen im Festkörper	14
2.2.2.1	<i>Anisotropie der chemischen Verschiebung (CSA)</i>	14
2.2.2.2	<i>Dipol-Dipol-Wechselwirkung</i>	16
2.2.2.3	<i>Quadrupolwechselwirkung</i>	16
2.2.3	Festkörper-NMR-Experimente	18
2.2.3.1	<i>Probenrotation um den Magischen Winkel</i>	18
2.2.3.2	<i>Einzelimpulsexperiment</i>	19
2.2.3.3	<i>Probenrotationssynchrones Echo-MAS-NMR-Experiment</i>	20
2.2.3.4	<i>Kreuzpolarisationsexperiment</i>	21
2.2.3.5	<i>Heteronukleares Korrelationsexperiment</i>	23
2.2.3.6	<i>REDOR-MAS-NMR Experiment</i>	24
2.2.3.7	<i>TRAPDOR-MAS-NMR-Experiment</i>	28
2.2.3.8	<i>3Q-MAS-NMR-Experiment mit z-Filter (I = 3/2)</i>	29
2.3	Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)	30
2.4	Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FTIR-Spektroskopie)	31
3	<i>Probenpräparation</i>	33
3.1	Probe BHAp (10CaO•5,5PO_{2,5}•0,5BO_{1,5})	33
3.2	Probenserie 1 (Ca₂P₂O₇+B₂O₃+CaCO₃)	34
3.3	Probenserie 2 (kommerziell erhältlicher HAp + Ca₃(BO₃)₂)	35

3.4	Referenzsubstanzen	36
3.4.1	Tetracalciumphosphat $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	36
3.4.2	α -Tricalciumphosphat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	36
3.4.3	β -Tricalciumphosphat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	37
3.5	Probenpräparation für die Untersuchung der Bioaktivität und der Degradation der Probenserie 1	37
4	<i>Ergebnisse und Diskussion</i>	39
4.1	Strukturelle Charakterisierung der Probe BHAp ($10\text{CaO}\cdot 5,5\text{PO}_{2,5}\cdot 0,5\text{BO}_{1,5}$)	39
4.1.1	FTIR-Spektroskopie, XRD	39
4.1.2	Festkörper-NMR-Spektroskopie	41
4.1.2.1	<i>Grundcharakterisierung ^1H, ^{31}P, ^{11}B</i>	41
4.1.2.2	<i>Bestimmung des HAp-Anteils</i>	45
4.1.2.3	<i>Berechnung der stöchiometrischen Zusammensetzung der BCaP-Phase</i>	49
4.1.2.4	<i>Nachweis der HAp-ähnlichen Grenzfläche</i>	50
4.1.2.5	<i>Kern-Schale-Modell</i>	56
4.1.2.6	<i>Modell zum Aufbau der BCaP-Phase</i>	58
4.1.2.7	<i>Abstandsbestimmung der Protonen zu den Boratgruppen in der BCaP-Phase</i>	65
4.2	Strukturelle Charakterisierung der Probenserie 1 ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7+\text{B}_2\text{O}_3+\text{CaCO}_3$) ..	68
4.2.1	FTIR-Spektroskopie, XRD.....	68
4.2.2	Festkörper-NMR-Spektroskopie	70
4.2.2.1	<i>Grundcharakterisierung ^1H, ^{31}P, ^{11}B</i>	70
4.2.2.2	<i>Bestimmung des HAp-Anteils der Probenserie 1</i>	74
4.2.2.3	<i>$^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$-REDOR an der Probe BHAp3</i>	81
4.2.3	Untersuchung der Bioaktivität mit der Methode "Simulated Body Fluid" (SBF) und Untersuchung der Degradation	85
4.2.3.1	<i>Untersuchung der Bioaktivität mit SBF</i>	85
4.2.3.2	<i>Untersuchung des Degradationsverhaltens der Probenserie 1</i>	89

4.3	Strukturelle Charakterisierung der Probenserie 2 (kommerziell erhältlicher HAp+Ca₃(BO₃)₂)	92
4.3.1	FTIR-Spektroskopie, XRD	92
4.3.2	Festkörper-NMR-Spektroskopie	94
4.3.2.1	Grundcharakterisierung ¹ H, ³¹ P, ¹¹ B	94
4.3.2.2	¹¹ B{ ³¹ P}-REDOR-MAS-NMR-Verfahren an den Proben HAp90, HAp80 und HAp75	100
4.3.2.3	Quantitative Analyse der Probenserie 2	105
5	Zusammenfassung und Ausblick	110
6	Literaturverzeichnis	114
7	Abkürzungen und Symbole	122
8	Anhang	124
8.1	Experimentelle Bedingungen zur Festkörper-NMR-Spektroskopie	124
8.2	Experimentelle Bedingungen zur FTIR-Spektroskopie, Röntgenpulverdiffraktometrie	136
8.3	Darstellung der SBF-Lösung	138
8.4	Berechnung der Anteile der Grenzfläche und BCaP-Phase	139
8.5	Publikationsverzeichnis	140

1 Einleitung und Zielstellung der Arbeit

Die anorganische Komponente der Hartgewebe¹⁻³ (Zähne und Knochen) von Säugetieren besteht aus Calciumphosphat, wobei die Hauptkomponente Hydroxylapatit ist.

Osteoporose ist eine der häufigsten Knochenkrankheiten im höheren Lebensalter². Eine Folge dieser Erkrankung sind Knochenbrüche². Ebenso können Knochendefekte auftreten, die durch Tumorextraktion, Entzündung im Knochen oder nach Implantation einer Prothese verursacht werden⁴. Als Behandlung ist der Einsatz von synthetischen Knochenersatzmaterialien möglich. Als Knochenersatzmaterialien werden bereits eine Reihe von Calciumphosphaten^{5, 6} wie Dicalciumphosphat-Dihydrat (DCPD) ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Octacalciumphosphat (OCP) ($\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), α - und β -Tricalciumphosphat (α - und β -TCP) ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), Tetracalciumphosphat (TTCP) ($\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$) und Hydroxylapatit HAp ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) verwendet. Diese bieten eine hohe Biokompatibilität, was die Knochenregeneration fördert und somit die mechanische Stabilität der Knochen schnell wieder erhöht⁵.

Das optimale synthetische Knochenersatzmaterial⁴ wurde allerdings noch nicht entwickelt. Grundlegende Anforderungen sind im Allgemeinen eine ausreichende mechanische Stabilität, eine gute Gewebeverträglichkeit (Biokompatibilität), eine hohe Porosität, um das Einwachsen von Knochengewebe zu ermöglichen und eine optimale Löslichkeit (Degradation), damit sich das Knochenersatzmaterial so schnell auflöst wie neuer Knochen gebildet wird.

Kristalliner stöchiometrischer Hydroxylapatit ist das am wenigsten lösliche und somit stabilste Calciumphosphat. Er besitzt eine sehr langsame und daher unerwünschte Resorptionskinetik^{5, 7}. Allerdings weist Hydroxylapatit aufgrund der chemischen Ähnlichkeit zum Knochenmineral generell eine hohe Biokompatibilität auf⁸ und ist deshalb in der Medizin als Knochenersatzmaterial und als biokompatible Beschichtung⁹ auf metallischen Implantaten geeignet.

Durch die Herstellung¹⁰ von nanokristallinen Hydroxylapatit, d.h. durch die Verringerung der Kristallitgröße, wurde die Löslichkeit und damit die Degradation dieses Materials erhöht, die aber nicht ausreichend ist^{8, 11}.

Des Weiteren kann die Degradation auch durch den Einbau von Fremdionen^{4, 12-17} wie Natrium, Kalium, Magnesium und Strontium für Calcium, Carbonat für Phosphat und Fluorid und Chlorid für Hydroxid in das HAp-Kristallgitter gesteigert werden. Dadurch ist es möglich den Nachteil der geringen Degradation auszugleichen und gleichzeitig den vollen Vorteil des HAp als ideales Knochenersatzmaterial auszunutzen, so dass biologisch vorteilhafte HAp-Derivate verwendet werden können.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit, die innerhalb eines DFG-JSPS-Projektes (Ja 552/24-1) in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. S. Hayakawa von der Universität Okayama/ Japan entstanden ist, sollen die Eigenschaften (Degradation, Biokompatibilität) von HAp durch Einbau von Boraten¹⁸ (BO_3^{3-} und BO_2^-) als Fremdionen in das Kristallgitter als potenziellen Knochenersatzstoff optimiert werden. Der Vorteil dieser Partikel besteht u. a. in den guten Adsorptionseigenschaften von Proteinen, so dass sie als Trägermaterial geeignet sind^{19, 20}. Damit soll zusätzlich die Knochenregeneration durch kontrollierte Freisetzung der Proteine gefördert werden²¹.

Allerdings ist wenig über die Struktur, im Speziellen über die Oberfläche dieser Partikel bzw. über den Proteinbindungsmechanismus an diesen Oberflächen bekannt, um sie für spätere Anwendung nutzen zu können. Deshalb liegt der Schwerpunkt dieser Arbeit auf der strukturellen Charakterisierung dieser borathaltigen Calciumphosphate, um die Eigenschaften, die für die Verwendung als Knochenersatz von Bedeutung sind, besser optimieren und den Proteinbindungsmechanismus zwischen Partikel und Protein in zukünftigen Arbeiten verstehen zu können.

Gegenwärtige Untersuchungen^{18, 22-25} gehen davon aus, dass beim Einbau von Boratgruppen ein Austausch von Phosphatgruppen (BO_3^{3-}) und Hydroxidgruppen (BO_3^{3-} oder BO_2^-) stattfindet (AB-Typ)¹⁷. Allerdings muss es bei einem Austausch, aufgrund der unterschiedlichen Geometrien und Ladungen der Gruppen, zu Netzwerkverzerrungen kommen, die im Endeffekt zu gestörten Strukturen führen.

Mithilfe der Festkörper-NMR-Spektroskopie können sowohl die kristallinen als auch die amorphen Strukturen erfasst werden, und sie ist daher für eine strukturelle Charakterisierung der borathaltigen Calciumphosphat-Partikel in dieser Arbeit die Methode der Wahl^{26, 27}. Ergänzende Untersuchungen wurden mit der XRD und FTIR-Spektroskopie durchgeführt.

Die borathaltigen Calciumphosphate wurden mittels Festphasensynthese hergestellt, um die chemische Zusammensetzung leichter kontrollieren zu können.

Unter Verwendung von Calciumcarbonat, Diammoniumhydrogenphosphat und Borsäure wird die Probe BHAp hergestellt. Anhand dieser Probe wird exemplarisch eine ausführliche strukturelle Charakterisierung dieser Partikel durchgeführt. Konventionelle NMR-Techniken wie Einzelimpulsanregung und Kreuzpolarisationsexperimente sowie 2D-Festkörper-NMR-Methoden wie HETCOR, 3QMAS, REDOR und TRAPDOR werden genutzt um folgende Fragestellungen zu klären:

- Wie groß sind die kristallinen und amorphen Anteile?
- Wo befinden sich die Boratgruppen in diesen Partikeln? Wie liegt die Nahordnung in dem Bereich der Boratgruppen vor?
- Sind die Partikel homogen aufgebaut oder bestehen sie aus mehreren Phasen? Wie ist die Oberflächenstruktur dieser Partikel?

Des Weiteren werden borathaltige Calciumphosphate unter Verwendung von Calciumcarbonat, Calciumdiphosphat und Boroxid mit unterschiedlichen Zusammensetzungen hergestellt (Probenserie 1). Im Vordergrund der Charakterisierung dieser Probenserie steht der quantitative und qualitative Vergleich mit der Probe BHAp.

Zusätzlich werden Untersuchungen zur Bioaktivität und Degradation an diesen Proben durchgeführt.

Zuletzt werden die borathaltigen Calciumphosphate untersucht, die aus kommerziell erhältlichen HAp und selbstsynthetisiertes Calciumborat (Takedait) unter Variation der Zusammensetzungen hergestellt werden (Probenserie 2). Bei den Untersuchungen an dieser Probenserie soll geklärt werden, ob eine Reaktion zwischen den Ausgangsstoffen stattfand. Und wenn, ob eine Abhängigkeit zwischen den eingesetzten Ausgangsstoffen und den Zusammensetzungen der gebildeten borathaltigen Calciumphosphate vorliegt.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Hydroxylapatit (HAp)

Im folgenden Kapitel soll kurz auf für die Arbeit notwendigen theoretischen Grundlagen zu kristallinem und nanokristallinem HAp eingegangen werden.

Kristalliner Hydroxylapatit kristallisiert sowohl im hexagonalen Kristallsystem^{15, 28} (Abbildung 2.1-1) mit der Raumgruppe $P6_3/m$ und den Elementarzellparametern $a = 941,8\text{pm}$, $c = 688,4\text{pm}$ und $\gamma = 120^\circ$, als auch im monoklinen Kristallsystem^{29, 30} mit der Raumgruppe $P2_1/b$ und den Elementarzellparametern $a = 942,1\text{pm}$, $b = 1884,3\text{pm}$, $c = 688,1\text{pm}$ und $\gamma = 120^\circ$.

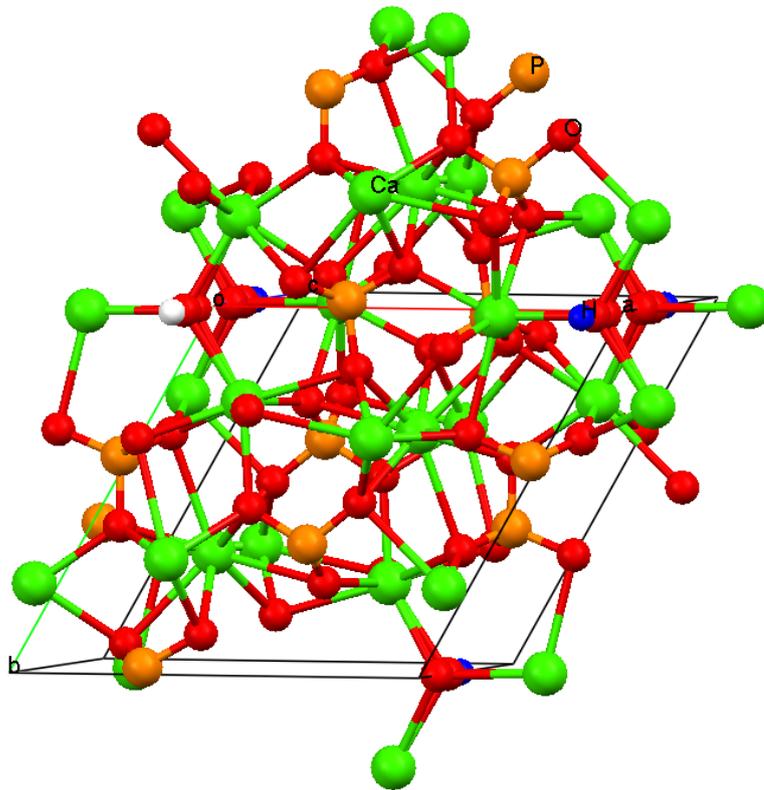


Abbildung 2.1-1: Hexagonale Kristallstruktur von Hydroxylapatit

Wie bereits erwähnt, sollte der ideale Knochenersatzstoff sich so schnell auflösen, wie neues Knochengewebe gebildet wird, d.h. nach der Heilung sollte der Defekt vollständig mit dem gesunden Knochengewebe aufgefüllt sein. Daher ist neben der Löslichkeit in Wasser, wie sich zudem gezeigt hat, auch das Calcium-Phosphor-Verhältnis von großer Bedeutung

(Tabelle 2-1). Allgemein gilt, dass ein kleineres Ca/P-Verhältnis zu einem Calciumphosphat mit höherer Löslichkeit führt⁴.

Es ist leicht zu sehen, dass kristalliner stöchiometrischer HAp das am wenigsten lösliche Calciumphosphat und somit am stabilsten ist.

Tabelle 2-1: Löslichkeitsprodukte der wichtigsten Calciumphosphate¹⁵

Verbindung	Formel	molares Ca/P- Verhältnis	K_L bei 25°C
DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	$1,83 \cdot 10^{-7} (\text{mol l}^{-1})^2$
OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	$5,0 \cdot 10^{-50} (\text{mol l}^{-1})^7$
α -TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	$8,46 \cdot 10^{-32} (\text{mol l}^{-1})^5$
β -TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	$2,07 \cdot 10^{-33} (\text{mol l}^{-1})^5$
HAp	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	$6,62 \cdot 10^{-126} (\text{mol l}^{-1})^{18}$
TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	$1 \cdot 10^{-40} (\text{mol l}^{-1})^7$

Im nanokristallinen Hydroxylapatit^{3, 27, 31, 32} wird ein Ca-Defizit^{15, 33-35} beobachtet. Das Ca/P-Verhältnis^{27, 34, 36, 37} liegt bei 1,51 statt bei 1,67 (kristalliner HAp). Um das Ca-Defizit von nanokristallinen Hydroxylapatit-Partikeln zu erklären, muss die Struktur und die chemische Zusammensetzung näher betrachtet werden. Die Partikel³⁸ sind nadelförmig mit einer Größe von 10 x 10 x 40nm (Abbildung 2.1-2, links). Aufgrund dieser Partikelgröße bestehen sie nur aus wenigen Elementarzellen, was zur Verbreiterung der Reflexe im Röntgenpulverdiffraktogramm führt (Abbildung 2.1-2, rechts).

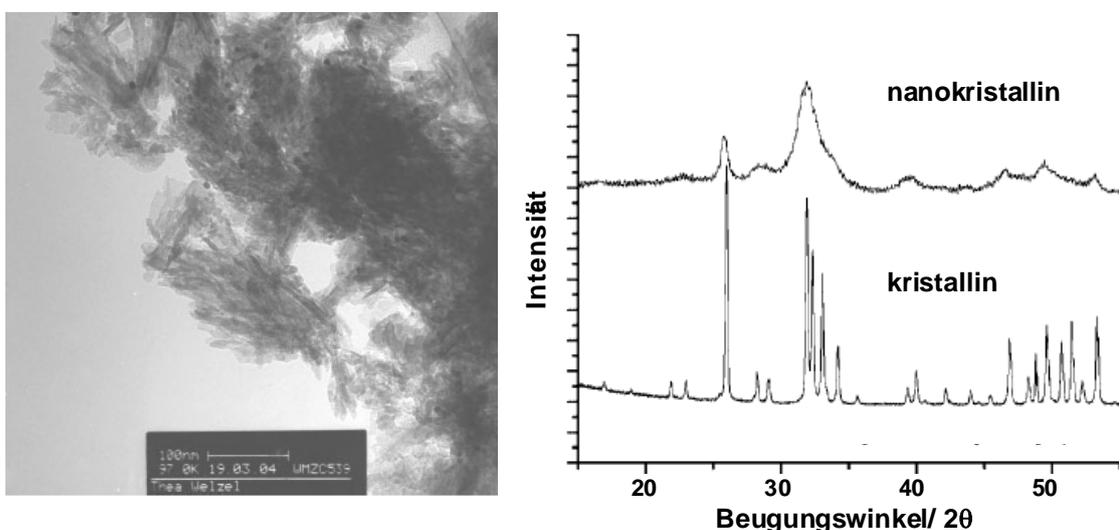


Abbildung 2.1-2: TEM-Aufnahmen von nanokristallinen HAp-Partikeln (links); Röntgenpulverdiffraktogramme von nanokristallinen und kristallinen HAp-Partikeln (rechts)²⁷

In der Publikation Jäger *et al.*²⁷ konnte mithilfe der Festkörper-NMR-Spektroskopie gezeigt werden, dass nur etwa 50mol% des Phosphatbestandes als kristalliner Hydroxylapatit vorliegt. Dieser bildet den kristallinen Kern, der von einer gestörten Oberflächenschicht bedeckt wird, die aus den verbleibenden 50mol% des Phosphatbestandes besteht (Abbildung 2.1-3). Die gestörte Oberflächenschicht wurde als Octacalciumphosphatphase (Ca/P = 1,33) identifiziert, wodurch das Ca-Defizit im nanokristallinen HAp erklärt werden konnte.

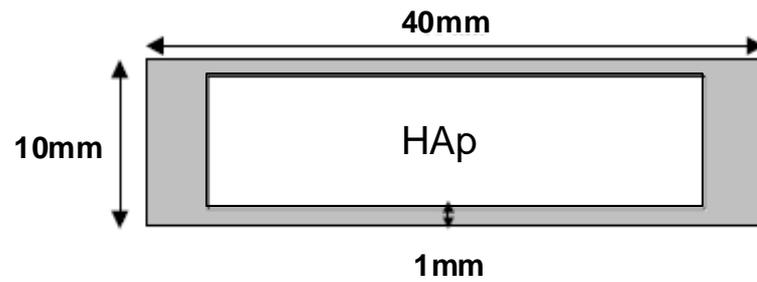


Abbildung 2.1-3: Strukturelles Schema von nanokristallinen HAp-Partikeln²⁷

2.2 Festkörper- NMR- Spektroskopie

In den vergangenen Jahrzehnten hat sich die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie), insbesondere die Festkörper-NMR-Spektroskopie, zu eine der wichtigsten Methoden zur Strukturaufklärung, der chemischen Analyse und Untersuchung dynamischer Prozesse in organischen, anorganischen und biologischen Systemen entwickelt. Insbesondere die Entwicklung der neuen Konzepte und Methoden für die Festkörper-NMR-Spektroskopie machten erst die Strukturaufklärung von kristallinen, teilkristallinen und röntgenamorphen Substanzen möglich.

In den folgenden Kapiteln werden die allgemeinen Grundlagen der Festkörper-NMR-Spektroskopie vereinfacht behandelt. Des Weiteren werden die wichtigsten Wechselwirkungen im Festkörper und die Grundlagen der verwendeten Festkörper-NMR-Experimente beschrieben. Für eine ausführliche Beschreibung der theoretischen Grundlagen wird an dieser Stelle auf die einschlägige Literatur verwiesen³⁹⁻⁴³.

2.2.1 Allgemeine Grundlagen

Die NMR-Spektroskopie kann bei allen Kernen mit einem Kernspin $I \neq 0$, z.B. ^1H ($I = 1/2$), ^{31}P ($I = 1/2$) oder ^{11}B ($I = 3/2$), angewendet werden. Unter Einfluss eines äußeren homogenen Magnetfeldes wird eine Aufspaltung in $2I+1$ -Kernenergieniveaus induziert. Die entsprechenden Energieübergänge können durch elektromagnetische Strahlung im MHz-Bereich (Radiofrequenzbereich) angeregt werden.

2.2.1.1 Kerndrehimpuls und Zeeman-Wechselwirkung

Atomkerne mit einer Kombination an geradzahligem (g) und ungeradzahligem (u) Protonen und Neutronen (gu, ug und uu) zeigen einen von null verschiedenen Kernspin ($I \neq 0$) und bilden ein sogenanntes magnetische Moment μ aus. Das magnetische Moment μ ist über das gyromagnetische Verhältnis γ (eine kernspezifische Konstante) und dem Planck'schen Wirkungsquantum h mit dem Kernspin I verknüpft (Gleichung 2-1).

$$\mu = \gamma \cdot \sqrt{I(I+1)} \cdot \frac{h}{2\pi} \quad \text{Gleichung 2-1}$$

Damit nimmt das magnetische Moment μ und der Kernspin nur diskrete Werte an. Durch Anlegen eines homogenen statischen Magnetfeldes B_0 kommt es zur Wechselwirkung zwischen einem Kernspin und dem Magnetfeld B_0 , die als Zeeman-Wechselwirkung bezeichnet wird. Dabei spalten die entarteten Kernenergieniveaus in $2I+1$ äquidistante Energieniveaus auf. Die Zahl der Kernenergieniveaus und somit der Kernspinzustände wird über die magnetische Quantenzahl m definiert, wobei m die Werte von $I, I-1, \dots, -I$ annehmen kann.

Für diese gilt:
$$E_m = -\gamma \cdot m \cdot \hbar \cdot B_0 \quad \text{Gleichung 2-2}$$

$$\left(\text{mit } \hbar = \frac{h}{2\pi}\right)$$

Für Kernsorten mit einem Kernspin $I = 1/2$ existieren zwei Kern-Zeeman-Energieniveaus E_α und E_β ($m = \pm 1/2$) (Abbildung 2.2-1). Der energetisch günstigere Zustand wird als α -Zustand beschrieben und die Ausrichtung des Kernspins findet parallel zum angelegten Magnetfeld B_0 statt (bei positiven γ). Der β -Zustand erfährt eine antiparallele Ausrichtung zum Magnetfeld B_0 (bei positiven γ).

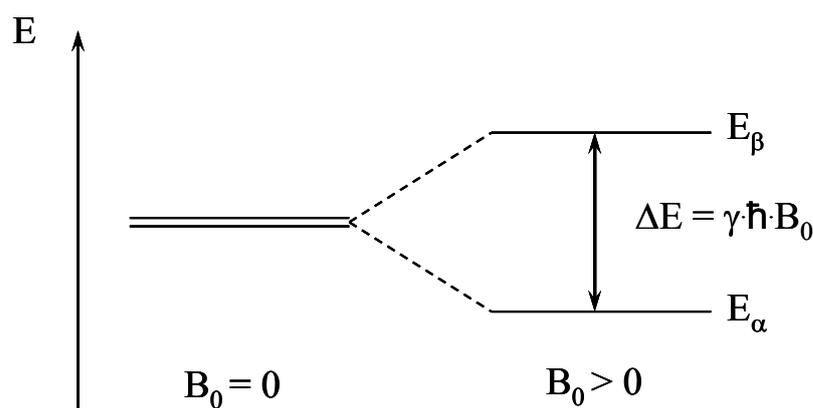


Abbildung 2.2-1: Aufspaltung der Kern-Zeeman-Energieniveaus für $I=1/2$

Aufgrund der bevorzugten Besetzung des energetisch günstigeren Zustandes, kommt es zu einem Besetzungsunterschied der Kernenergieniveaus, der durch die Boltzmann-Verteilung (Gleichung 2-3) beschrieben wird. Dieser führt zu einer makroskopisch messbaren Magnetisierung entlang des B_0 -Feldes.

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right) = \exp\left(-\frac{\gamma \hbar B_0}{k_B T}\right) \quad \text{Gleichung 2-3}$$

(N_β/N_α - Besetzungsunterschied zwischen den Energieniveaus, k_B - Boltzmann-Konstante, T - absolute Temperatur)

Um die Zeeman-Wechselwirkung zu untersuchen, wird ein oszillierendes Radiofrequenzfeld (RF-Feld, B_1 -Feld) nahe der Larmorfrequenz ω_0 (Kreisfrequenz des Kernspins einer spezifischen Kernsorte: für Protonen beträgt die Larmorfrequenz $\omega_0 = 600\text{MHz}$ bei einem Magnetfeld von $B_0 = 14,1\text{T}$) senkrecht zum B_0 -Feld eingestrahlt um den Besetzungsunterschied auszugleichen.

Diese wird auch Resonanzbedingung genannt:
$$\omega_0 = \left|\frac{\gamma}{2\pi}\right| \cdot B_0 \quad \text{Gleichung 2-4}$$

Dabei gilt die Auswahlregel $\Delta m = \pm 1$, sodass nur Übergänge zwischen direkt benachbarten Kern-Zeeman-Energieniveaus erfolgen.

2.2.1.2 Relaxation

Bei Erfüllung der Resonanzbedingung wird der Besetzungsunterschied der beiden Kern-Zeeman-Energieniveaus aufgehoben. Die Umkehrung dieses Prozesses (Wiederherstellung des thermischen Gleichgewichts) wird als longitudinale Relaxation, auch als Spin-Gitter-Relaxation bekannt, bezeichnet. Diese Spin-Gitter-Relaxation wird durch eine Energieübertragung von fluktuierenden Magnetfeldern des Kernspinsystems an die Umgebung (Gittersystem) verursacht.

Die zeitliche Änderung der Magnetisierung in z-Richtung (M_z) wird durch die Bloch'sche Gleichung beschrieben (Gleichung 2-5).

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1} \quad \text{Gleichung 2-5}$$

(M_0 - Gleichgewichtsmagnetisierung)

Der zweite Relaxationsprozess ist die transversale Relaxation, auch Spin-Spin-Relaxation genannt. Sie wird durch Feldinhomogenitäten und hetero- und homonuklearen Wechselwirkungen zwischen den Kernen verursacht. Diese Relaxation bewirkt, dass die Kerne unterschiedlich schnell um die z-Achse präzedieren. Die Phasenkohärenz geht verloren und die effektive Magnetisierung nimmt in der x,y-Ebene ab. Deren zeitliche Änderung wird durch die folgende Bloch'sche Gleichung beschrieben (Gleichung 2-6).

$$\frac{dM_{x,y}}{dt} = -\frac{M_{x,y}}{T_2} \quad \text{Gleichung 2-6}$$

Die zeitliche Spin-Spin-Relaxation führt zudem zur Abnahme des detektierten Signals, sodass die T_2 -Konstante den zeitlichen Verlauf des freien Induktionsabfalls (*engl.*: Free Induction Decay, FID) angibt, und umgekehrt proportional zur Halbwertsbreite $\Delta\nu_{1/2}$ des detektierten NMR-Signals ist (Gleichung 2-7).

$$\Delta\nu_{1/2} = \frac{1}{\pi \cdot T_2} \quad \text{Gleichung 2-7}$$

Im Festkörper gilt hauptsächlich $T_1 \geq T_2$, wobei T_1 im Bereich von Sekunden, für Heterokerne häufig im Bereich von Minuten oder Stunden, und T_2 üblicherweise im Bereich von Millisekunden liegt.

2.2.1.3 Chemische Verschiebung

Das äußere Magnetfeld B_0 wird am Kernort durch die chemische Umgebung beeinflusst, sodass ein effektives Magnetfeld B_{eff} gebildet wird. Die Ursache liegt in der magnetischen Suszeptibilität der Elektronen um den jeweiligen Atomkern, wodurch es teilweise zur Abschirmung oder Entschirmung des äußeren Magnetfeldes B_0 in der Probe kommt. Das effektive Magnetfeld wird durch die Gleichung 2-8 beschrieben:

$$B_{\text{eff}} = B_0 (1 - \sigma) \quad \text{Gleichung 2-8}$$

Damit geht auch die chemische Umgebung und somit die Abschirmungskonstante σ in die Resonanzbedingung ein.

Es gilt:

$$\omega_0 = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0 \cdot (1 - \sigma) \quad \text{Gleichung 2-9}$$

Um die nun charakteristische Resonanzfrequenz für die Kerne gleicher Sorte auch bei unterschiedlichen Magnetfeldern vergleichen zu können, wird diese in Bezug zu einer Resonanzfrequenz eines willkürlich gewählten Standards gesetzt. Die auf die Larmorfrequenz normierte Differenz wird chemische Verschiebung δ [ppm] genannt (Gleichung 2-10).

$$\delta \text{ [ppm]} = \frac{\omega_{\text{Substanz}} - \omega_{\text{Referenz}}}{\omega_{\text{Referenz}}} \cdot 10^6 \quad \text{Gleichung 2-10}$$

2.2.2 Wechselwirkungen im Festkörper

2.2.2.1 Anisotropie der chemischen Verschiebung (CSA)

In Flüssigkeiten liegt in Molekülen in Folge der Brown'schen Molekularbewegung eine sphärische elektronische Umgebung der jeweiligen Atome vor. Die Vorzugsorientierungen werden zeitlich zu null gemittelt (isotrop). Im Festkörper ist die elektronische Umgebung eines Atoms, aufgrund der fehlenden Brown'schen Molekularbewegung, anisotrop. Die Beschreibung der Elektronenwolke erfolgt in Form eines symmetrischen Tensors σ_{LKS} (Abschirmungstensor) (Gleichung 2-11).

$$\sigma_{LKS} = \begin{pmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & \sigma_{xz} \\ \sigma_{xy} & \sigma_{yy} & \sigma_{yz} \\ \sigma_{xz} & \sigma_{yz} & \sigma_{zz} \end{pmatrix} \quad \text{Gleichung 2-11}$$

Die chemische Verschiebung ist damit orientierungsabhängig (anisotrop) und kann für verschiedene Raumrichtungen unterschiedliche Werte annehmen. Durch die Transformation des Abschirmungstensors vom Laborkoordinationsystem (LKS) (Gleichung 2-11) in das Hauptachsensystem (PAS) (Gleichung 2-12) wird eine Diagonalmatrix σ_{PAS} mit den drei Hauptwerten σ_{11} , σ_{22} und σ_{33} erzeugt, wobei gilt: $\sigma_{11} \leq \sigma_{22} \leq \sigma_{33}$.

$$\sigma_{PAS} = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & 0 & 0 \\ 0 & \sigma_{22} & 0 \\ 0 & 0 & \sigma_{33} \end{pmatrix} \quad \text{Gleichung 2-12}$$

Die Kombination der drei Hauptwerte mit der Orientierung des Ellipsoids (beschrieben durch die Euler-Winkeln (α, β, γ)) liefert alle notwendigen Informationen zur Beschreibung der CSA eines Kernspins.

Die CSA ist damit eine der Hauptursachen für die auftretende Linienverbreiterung in den Festkörper-NMR-Spektren (Abbildung 2.2-2).

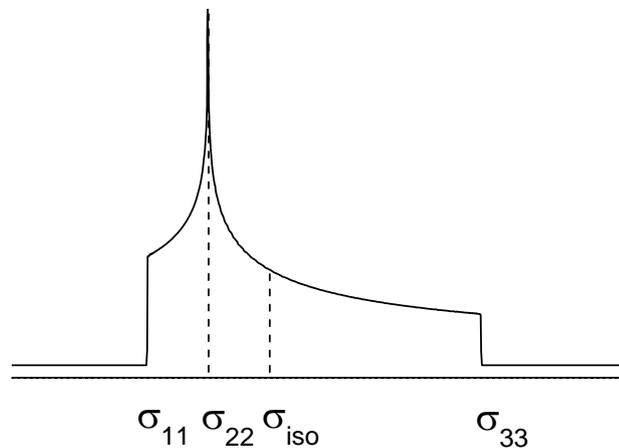


Abbildung 2.2-2: Darstellung eines statischen NMR-Spektrums für einen unsymmetrischen Tensor mit $\sigma_{11} \neq \sigma_{22} \neq \sigma_{33}$

Aus dem Abschirmungstensor σ_{PAS} ergibt sich dann:

die isotrope chemische Verschiebung :

$$\delta_{iso} = \frac{1}{3}(\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33}) \quad \text{Gleichung 2-13}$$

die Anisotropie:

$$\delta_{aniso} = \sigma_{11} + \delta_{iso} \quad \text{Gleichung 2-14}$$

und der Asymmetrieparameter:

$$\eta = \frac{\sigma_{22} - \sigma_{11}}{\sigma_{33} - \delta_{iso}} \quad \text{Gleichung 2-15}$$

2.2.2.2 Dipol-Dipol-Wechselwirkung

Neben der isotropen, chemischen Verschiebung gibt es noch weitere Ursachen für die Linienverbreiterung in den Festkörper-NMR-Spektren, beispielsweise die homo- oder heteronukleare Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Diese tritt auf, wenn die magnetischen Momente zweier Kernspins (I, I oder I, S) sich in räumliche Nähe befinden. Dabei wird das lokale Magnetfeld des beobachteten Spins I durch das Magnetfeld des benachbarten Spins I oder S beeinflusst. Die Stärke der Dipol-Dipol-Kopplung ist dabei vom Abstand r abhängig. Sie wird über die dipolare Kopplungskonstante D beschrieben und ist im heteronuklearen Fall (Kernspins I und S) wie folgt definiert:

$$D_{I,S} = \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right) \cdot \frac{\hbar \gamma_I \gamma_S}{r_{IS}^3} \quad \text{Gleichung 2-16}$$

(μ_0 - Permeabilität des Vakuums, γ_I, γ_S - gyromagnetische Verhältnisse der Kerne I und S, r_{IS} - Abstand zwischen den Kernen I und S)

Die Dipol-Dipol-Wechselwirkung ist im Festkörper dominierend, so dass die J -Kopplung, die über Bindungselektronen verläuft, in der Regel nicht beobachtet wird.

2.2.2.3 Quadrupolwechselwirkung

Kerne mit einem Kernspin $I > 1/2$ besitzen eine nicht-sphärische Ladungsverteilung, und damit ein elektrisches Quadrupolmoment eQ , die mit dem elektrischen Feldgradienten wechselwirkt. Die Stärke dieser Quadrupolwechselwirkung ist von der Orientierung des Moleküls in Bezug zum äußeren Magnetfeld B_0 abhängig und damit anisotrop. Daher wird diese Wechselwirkung wieder als Tensor mit den Hauptachsenwerten (im PAS) V_{xx} , V_{yy} und V_{zz} beschrieben. Die größte Komponente des Tensors wird mit $V_{zz} = eq$ definiert. Daraus ergibt sich dann die Stärke der Quadrupolkopplungskonstanten C_Q .

$$C_Q = \frac{e^2 q Q}{\hbar} \quad \text{Gleichung 2-17}$$

(e - Elementarladung, Q, q - elektrische Ladung)

Weitere wichtige Parameter, die neben der Quadrupolkonstante zu betrachten sind, wären der Asymmetrieparameter η_Q , das Quadrupolprodukt P_Q und die Quadrupolfrequenz ω_Q . Sie sind wie folgt definiert:

der Asymmetrieparameter:
$$\eta_Q = \frac{V_{xx} - V_{yy}}{V_{zz}}$$
 Gleichung 2-18

das Quadrupolprodukt:
$$P_Q = C_Q \sqrt{1 + \frac{\eta_Q^2}{3}}$$
 Gleichung 2-19

und die Quadrupolfrequenz:
$$\omega_Q = \frac{3C_Q}{2I(2I-1)}$$
 Gleichung 2-20

Kerne mit $I = 3/2$ weisen aufgrund der Zeeman-Aufspaltung vier Kernspinzustände ($m = -3/2, -1/2, +1/2$ und $+3/2$) auf. Damit existieren $2I$ direkt detektierbare Übergänge. Der wichtigste Energieübergang ist der zentrale Übergang ($m = \pm 1/2 \rightarrow m = \mp 1/2$), während die weiteren Übergänge als Satellitenübergänge ($m = \pm 1/2 \rightarrow m = \pm 3/2$) bezeichnet werden (Abbildung 2.2-3).

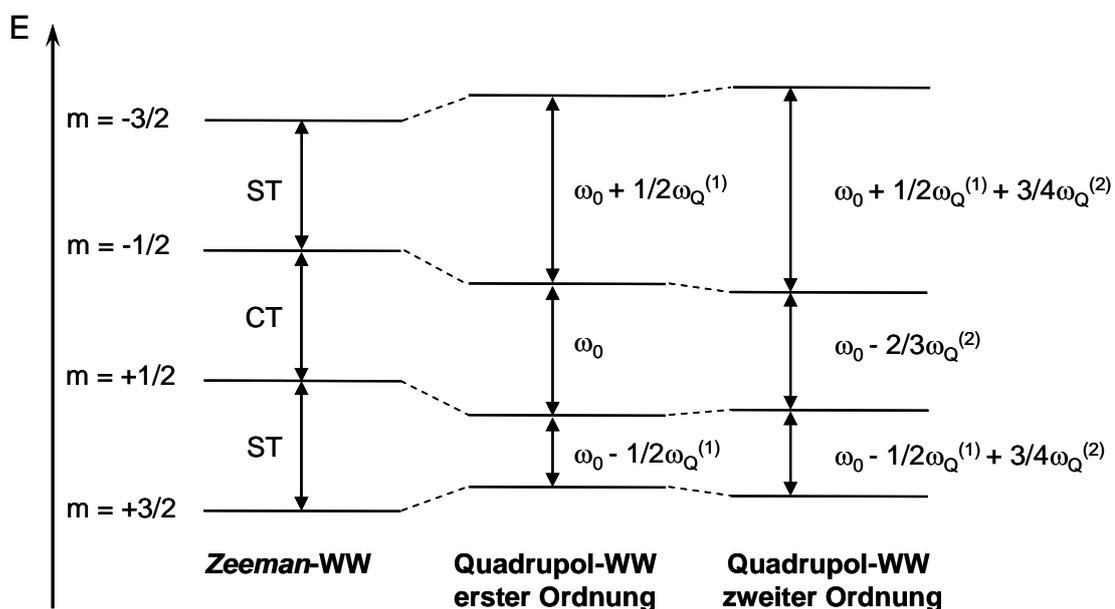


Abbildung 2.2-3: Schematische Darstellung des Energieniveaudiagramms für einen Kernspin $I = 3/2$ mit der Zeeman-WW, Quadrupol-WW erster Ordnung und zweiter Ordnung (CT - Zentralübergang, ST - Satellitenübergang)

Der Einfluss der Quadrupolwechselwirkung auf die Zeeman-Aufspaltung kann nicht vernachlässigt werden und wird, wenn sie deutlich geringer als die Zeeman-Wechselwirkung

ist, störungstheoretisch in erster Ordnung und zweiter Ordnung behandelt (Abbildung 2.2-3). Die störungstheoretische Betrachtung erster Ordnung ist für den zentralen Übergang orientierungsunabhängig bzgl. B_0 , sodass der Energieübergang gleich groß verbleibt. Die Satellitenübergänge zeigen dagegen eine Orientierungsabhängigkeit bzgl. B_0 , wodurch in Pulverproben eine Verteilung der Resonanzfrequenzen auftritt, die zu breiten Signalen führt. Die störungstheoretische Betrachtung zweiter Ordnung ist sowohl für den zentralen Übergang als auch für die Satellitenübergänge orientierungsabhängig bzgl. B_0 , sodass eine Verteilung aller Resonanzfrequenzen auftritt und somit auch ein verbreitertes Signal für den zentralen Übergang in Pulverproben detektiert wird. Diese Resonanz spaltet daher in ein charakteristische Quadrupolmuster auf, wobei die Signallinienform u. a. von der Asymmetrie η_Q abhängig ist (Abbildung 2.2-4).

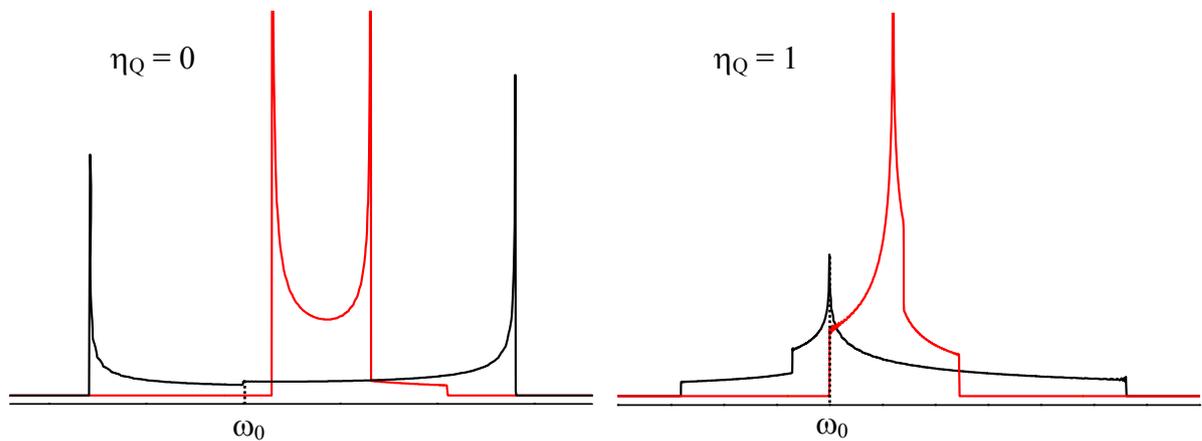


Abbildung 2.2-4: Auswirkung der Quadrupolwechselwirkung zweiter Ordnung auf den Zentralübergang für die Asymmetrie $\eta_Q = 0$ (links) und $\eta_Q = 1$ (rechts). Liniensimulationen erfolgten unter statische (schwarz) und MAS-Bedingungen ($\omega_{\text{rot}} = 12,5\text{kHz}$) (rot) für einen Kernspin $I = 3/2$

2.2.3 Festkörper-NMR-Experimente

2.2.3.1 Probenrotation um den Magischen Winkel (Magic Angle sample Spinning MAS)

In Flüssigkeiten liegen die Moleküle aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung in allen möglichen Orientierungen vor, so dass sämtliche anisotropen Wechselwirkungen ausgemittelt und schmale, aufgelöste Signale beobachtet werden. Im Festkörper führen die bereits beschriebenen anisotropen Wechselwirkungen zu großen Linienbreiten der Signale, die ein Interpretieren der Festkörper-NMR-Spektren erschweren. Durch die entwickelte Technik⁴⁴⁻⁴⁶

"Probenrotation um den Magischen Winkel" (*engl.*: Magic Angle sample Spinning MAS) kann die Anisotropie der chemischen Verschiebung und die Dipol-Dipol-Wechselwirkung relativ zu B_0 vollständig ausgemittelt werden.

Bei der MAS-Technik wird ein Rotor mit der zu untersuchenden Substanz gefüllt und in einem Winkel von $\theta = 54,74^\circ$, auch magischer Winkel genannt, relativ zum äußeren Magnetfeld B_0 mit einer Geschwindigkeit im kHz-Bereich rotiert, sodass alle winkelabhängigen Terme der Form $(3\cos^2\theta - 1)$ zu null gemittelt werden. Liegt für die Ausmittlung der CSA ($I = 1/2$) keine ausreichend hohe Probenrotationsgeschwindigkeit vor, treten Rotationsseitenbänder im Abstand der Probenrotationsfrequenz zur isotropen chemischen Verschiebung des detektierten Signals auf.

2.2.3.2 Einzelimpulsexperiment

Das Einzelimpulsexperiment ist das einfachste und zugleich mit das wichtigste NMR-Experiment. Es wird ein RF-Feld B_1 , senkrecht zum äußeren Magnetfeld B_0 eingestrahlt, welches mit den Kernspins in Wechselwirkung tritt. Dadurch wird die makroskopische Magnetisierung aus dem Gleichgewicht gebracht, indem der Magnetisierungsvektors aus der z-Richtung in die x,y-Ebene ausgelenkt wird. Diese vollständige Auslenkung wird als 90° -Impuls bezeichnet. Die Auslenkung bzw. die Länge des Impulswinkels α ist von der Impulsdauer τ_p abhängig und wird wie folgt definiert:

$$\alpha = \gamma B_1 \tau_p \qquad \text{Gleichung 2-21}$$

Die Magnetisierung in der x,y-Ebene erzeugt eine Wechselspannung in der Empfängerspule, welches das eigentliche NMR-Signal darstellt. Dieses Signal besitzt die Form einer gedämpften Schwingung (*engl.*: Free Induction Decay FID). Der freie Induktionsabfall verläuft exponentiell mit der Zeitkonstante T_2^* (effektive transversale Relaxationszeit). Das zeitabhängige Signal wird nachfolgend fouriertransformiert, um das eigentliche Spektrum zu erhalten.

2.2.3.3 Probenrotationssynchrones Echo-MAS-NMR-Experiment (RSE-MAS-NMR-Experiment)

Die Linienbreite ist mit der transversalen Relaxationszeit (Gleichung 2-7) verknüpft. Aus messtechnischen Gründen kann nach Einstrahlen des Impulses keine direkte Detektion des Messsignals erfolgen. Durch die sogenannte Totzeit (Zeit zwischen dem Impulsende und dem Beginn der Detektion) wird bei sehr schnell abfallenden FIDs ein Großteil des Signals nicht detektiert, sodass Intensitätsverlust und/ oder verzerrte Linienformen auftreten. Um dies zu umgehen, wird das probenrotationssynchrone Echo-NMR-Experiment unter MAS-Bedingungen genutzt (Abbildung 2.2-5).

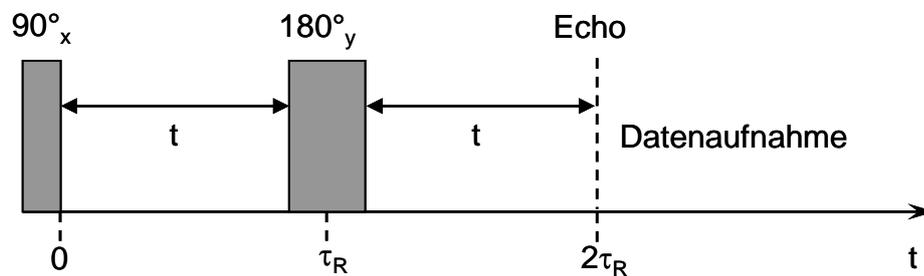


Abbildung 2.2-5: Impulsschema des probenrotationssynchronen Echo-MAS-NMR-Experimentes

Die makroskopische Magnetisierung wird mit einem 90°_x -Impuls in die x,y -Ebene ausgelenkt. Entsprechend der B_0 -Inhomogenitäten und der transversalen Relaxation, beginnen die Kernspins unterschiedlich schnell um die z -Achse zu präzedieren, so dass die Phasenkohärenz verloren geht.

Nach einer bestimmten Zeit wird ein 180°_y -Impuls eingestrahlt. Eine Umkehr der Magnetisierungsvektoren der einzelnen Komponenten wird erzeugt. Durch die gleiche Wartezeit wie vor dem 180°_y -Impuls wird die Refokussierung der Kernspins erreicht. Für den probenrotationssynchronen Fall ist die Dauer vor und nach dem 180°_y -Impuls ein ganzzahliges Vielfaches der Probenrotationsperiode τ_R (Zeit einer Umdrehung des Rotors), da dann das Intensitätsmaximum (Echomaximum) erreicht wird. Anschließend erfolgt die Datenaufnahme.

2.2.3.4 Kreuzpolarisationsexperiment (engl: Cross Polarization CP)

Beim Kreuzpolarisationsexperiment⁴⁷ wird ausgenutzt, dass Kernspins mit geringer natürlicher Häufigkeit und Empfindlichkeit wie ^{13}C (~1,1%) detektiert werden können. Dabei wird die Kreuzpolarisation von einem häufigen empfindlichen Kern auf einen beliebigen anderen Kern übertragen, wobei es zu einer Signalverstärkung kommt. Ein weiterer Vorteil der Kreuzpolarisation ist die enorme Zeitersparnis, da beispielsweise die langen T_1 -Zeiten der ^{13}C -Kerne durch die kürzeren T_1 -Zeiten der ^1H -Kerne ersetzt werden.

Die Technik kann auch genutzt werden, um Aussagen über die räumliche Umgebung der X-Kerne zu den häufigen Kernen zu gewinnen. Am Beispiel des ^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Experimentes soll das Wesen des Kreuzpolarisationsexperiments erklärt werden (Abbildung 2.2-6).

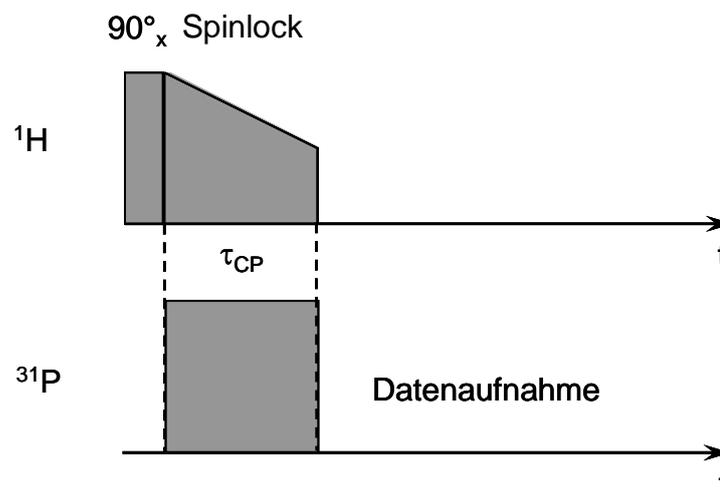


Abbildung 2.2-6: Impulsschema des ^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Experimentes

Die ^1H -Spins werden mittels 90°_x -Impuls in die x,y -Ebene ausgelenkt. Anschließend werden zwei Radiofrequenzfelder $B_{^1\text{H}}$ und $B_{^{31}\text{P}}$ eingestrahlt und die Spins beider Kerne in der y -Richtung während dieser Zeit (Kontaktzeit τ_{CP}) fixiert (Spinlock). Wenn die Stärke der Radiofrequenzfelder die Hartmann-Hahn-Bedingung erfüllt (Gleichung 2-22), findet ein Polarisationstransfer von den Protonen zum Phosphor statt^{43, 47-49}.

$$\omega_{^1\text{H}} = \gamma_{^1\text{H}} B_{^1\text{H}} = \gamma_{^{31}\text{P}} B_{^{31}\text{P}} = \omega_{^{31}\text{P}} \quad \text{Gleichung 2-22}$$

Zusätzlich wird während der Kontaktzeit das ^1H -Spinlockfeld von 100% auf 50% reduziert (100:50-Rampe)⁵⁰, da in realen Proben die unterschiedlichen ^1H -Spezies verschiedene

Resonanzfrequenzen aufweisen. Damit soll eine möglichst gleichmäßige Anregung von allen Protonenspezies erzielt werden, um eine maximale Signalintensität zu gewinnen.

Die Gleichung 2-23 gilt für die Hartmann-Hahn-Bedingung bei geringen Probenrotationsgeschwindigkeiten. Bei mittleren Probenrotationsfrequenzen ω_{rot} wird die heteronukleare Dipol-Dipol-Wechselwirkung zeitlich stärker ausgemittelt, wodurch der Polarisationstransfer ineffizient wird. Es gilt unter Modifizierung der Bedingungen bzgl. der Probenrotationsfrequenz die Gleichung 2-23⁴³:

$$\omega_{1_H} - m \cdot \omega_{31_P} = n \cdot \omega_{rot} \quad \text{Gleichung 2-23}$$

wobei $n = 0, \pm 1$ oder ± 2 ; $m = \pm 1$ gilt

Wird das Kreuzpolarisationsexperiment von einem Quadrupolkern S auf einen Kern I ($I = 1/2$) durchgeführt, sind zusätzlich die Quadrupolfrequenz und der Kernspin zu betrachten. Wenn die Quadrupolfrequenz ω_Q deutlich kleiner als das eingestrahlte Feld ω_S für den Quadrupolkern ist ($\omega_Q \ll \omega_S$), dann gilt die Hartmann-Hahn-Bedingung und deren MAS-Erweiterung (Gleichung 2-23). Wenn die Quadrupolfrequenz ω_Q sehr dominierend ist, sodass $\omega_Q \gg \omega_S$ gilt, so ändern sich die Hartmann-Hahn-Bedingungen unter Probenrotation zu^{51, 52}:

$$\omega_I - m \cdot \left(S + \frac{1}{2} \right) \omega_S = n \cdot \omega_{rot} \quad \text{Gleichung 2-24}$$

wobei $n = 0, \pm 1$ oder ± 2 ; $m = \pm 1$ gilt

Die Effizienz der Kreuzpolarisation wird durch die Adiabaticität α_{ad} bestimmt⁵¹ (Gleichung 2-25), wobei vor allem $\alpha_{ad} \ll 1$ oder $\alpha_{ad} \gg 1$ erreicht werden sollte:

$$\alpha_{ad} = \frac{\omega_S^2}{\omega_Q \cdot \omega_{rot}} \quad \text{Gleichung 2-25}$$

Aus messtechnischen Gründen ist es einfacher eine Adiabaticität von $\alpha_{ad} \ll 1$ zu erreichen, so dass eine hohe Probenrotationsfrequenz ω_{rot} notwendig ist. Da allerdings die heteronukleare Dipol-Dipol-Wechselwirkung bei hohen Probenrotationsfrequenzen zeitlich ausgemittelt wird, muss ein Optimum zwischen der Effizienz der Kreuzpolarisation (Adiabaticität) und vorhandener heteronuklearer Dipol-Dipol-Wechselwirkung gefunden werden.

2.2.3.5 Heteronukleares Korrelationsexperiment (engl.: HETeronuclear CORrelation (HETCOR))

Das heteronukleare Korrelationsexperiment⁵³ ist das einfachste 2D-NMR-Experiment an Festkörpern auf der Basis des Kreuzpolarisationstransfers. Es ist so möglich die chemische Umgebung von X-Kernen näher untersuchen. Am Beispiel der ^1H - und ^{31}P -Kerne soll das HETCOR-NMR-Experiment näher erklärt werden (Abbildung 2.2-7).

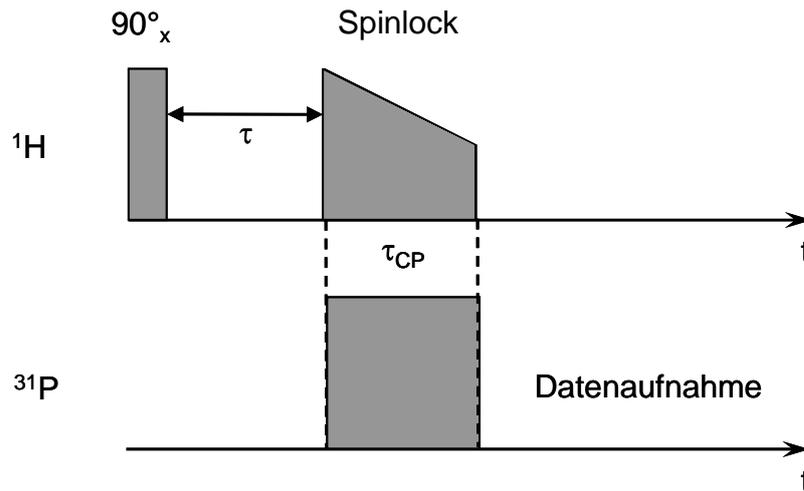


Abbildung 2.2-7: Impulsschema des ^1H - ^{31}P -CPMAS-HETCOR-NMR-Experimentes

Zunächst wird die Protonenmagnetisierung durch einen 90°_x -Impuls in die x,y-Ebene ausgelenkt. Anschließend wird zwischen dem Spinlockimpuls auf dem ^1H -Kanal eine Evolutionszeit τ eingefügt, die für das 2D-Experiment inkrementiert wird. Während dieser Evolutionszeit entwickelt sich in Abhängigkeit von der homo- und heteronuklearen Dipol-Dipol-Wechselwirkung die Magnetisierung der ^1H -Spins, welche mittels CP-Schritt auf die ^{31}P -Kerne übertragen wird. Anschließend wird das ^{31}P -Spektrum detektiert, wobei die Inkrementierung eine zeitliche Abhängigkeit der ^{31}P -Spektren ergibt. Nach einer 2D-Fouriertransformation erhält man das 2D-NMR-Spektrum. Die direkte Dimension (F1-Achse, y-Achse) gibt die chemische Verschiebung der ^1H -Kerne an und die indirekte Dimension (F2-Achse, x-Achse) die chemische Verschiebung der ^{31}P -Kerne. Durch auftretende Signale werden die Korrelationen zwischen ^1H - und ^{31}P -Spezies nachgewiesen.

2.2.3.6 REDOR-MAS-NMR Experiment (engl.: Rotational Echo DOuble Resonance)

Das REDOR-MAS-NMR-Verfahren^{54, 55} dient zur experimentellen Bestimmung der heteronuklearen Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Über die dipolare Kopplungskonstante D kann dann nach Gleichung 2-16 der Abstand zwischen den Kernen I und S berechnet werden. Durch die MAS-Technik wird die heteronukleare Dipol-Dipol-Wechselwirkung verringert bzw. unterdrückt, die mit diesem Experiment selektiv wieder eingekoppelt wird. Am Beispiel von ^{11}B und ^{31}P soll das Impulsschema des REDOR-MAS-NMR-Experimentes erklärt werden (Abbildung 2.2-8).

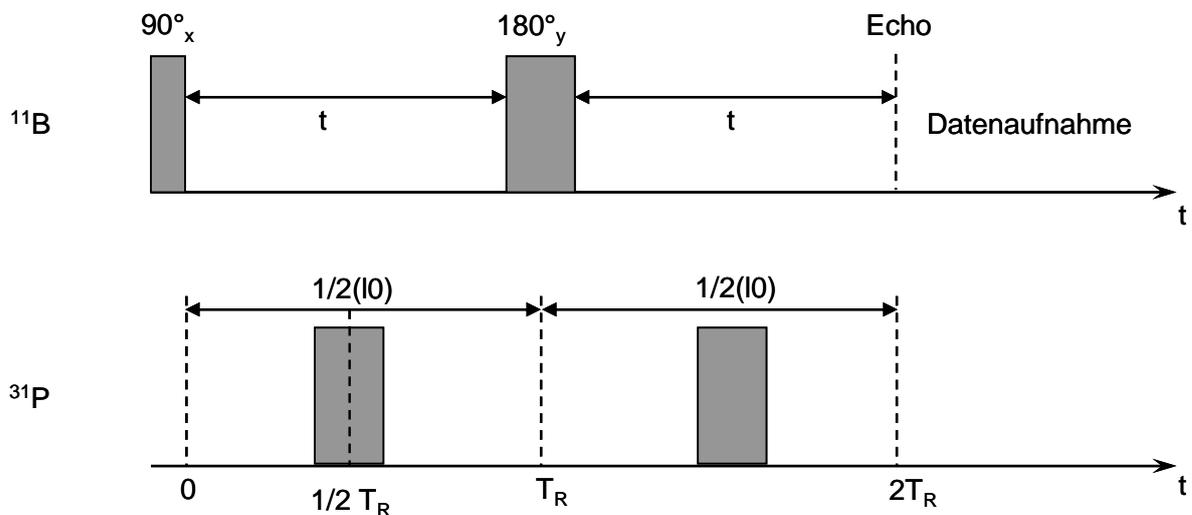


Abbildung 2.2-8: Impulsschema des $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Experimentes. Für den Fall, dass die Echozeit $2T_R$ ist, ergibt sie sich aus $2T_R = (I_0 + 1)T_R$, wenn $I_0 = 1$ und T_R die Probenrotationsperiode, ist.

Mit den ^{11}B -Kernen wird ein RSE-MAS-NMR-Experiment durchgeführt. Währenddessen werden auf dem ^{31}P -Kanal 180° -Impulse vor und nach dem 180° -Impuls auf ^{11}B -Kanal eingestrahlt. Dadurch wird die heteronukleare ^{11}B - ^{31}P -Dipol-Dipol-Wechselwirkung wieder eingekoppelt, wodurch die Phasenkohärenz der ^{11}B -Kernspins beeinflusst wird und somit ein Teil der ^{11}B -Magnetisierung nicht mehr refokussiert werden kann. Im resultierenden ^{11}B -NMR-Spektrum tritt dann eine Intensitätsverminderung der Signale auf. Die 180° -Impulse auf dem ^{31}P -Kanal werden im Abstand $1/2 T_R$ eingestrahlt (T_R - Probenrotationsperiode).

Um die heteronukleare Dipol-Dipol-Wechselwirkung bestimmen zu können, werden zwei Einzelerperimente bei gleicher Evolutionszeit aufgenommen. Bei dem ersten Experiment wird nur das RSE-MAS-NMR-Experiment auf dem ^{11}B -Kanal durchgeführt (Referenzexperiment). Das erhaltene Spektrum wird als S_0 bezeichnet. Als zweites Experiment werden zusätzlich die 180° -Impulse auf dem ^{31}P -Kanal eingestrahlt. Das

erhaltene Spektrum wird S genannt. Das normierte REDOR-Differenzsignal wird durch die Gleichung 2-26 bestimmt:

$$\frac{(S_0 - S)}{S_0} = \frac{\Delta S}{S_0} \quad \text{Gleichung 2-26}$$

Die unterschiedlichen Intensitätsverminderungen resultieren aus der Anzahl der Impulse auf dem ^{31}P -Kanal während der Echozeit t . Bei der Auftragung von $\Delta S/S_0$ gegen die Evolutionszeit ($NT_R = 10+1$) erhält man für jedes Spinsystem eine charakteristische REDOR-Kurve.

Für ein Zweispinsystem kann der Kurzzeitverlauf der REDOR-Kurve aufgrund der Geometrieunabhängigkeit über die Näherung 1. Ordnung (Gleichung 2-27) bzw. Näherung 2. Ordnung (Gleichung 2-28) wie folgt beschrieben werden⁵⁶:

Näherung 1. Ordnung:

$$\frac{\Delta S}{S_0} = \frac{16}{15} (NT_r)^2 D^2, \text{ wobei gilt } \left(0 \leq \frac{\Delta S}{S_0} \leq 0,2 \dots 0,3 \right) \quad \text{Gleichung 2-27}$$

Näherung 2. Ordnung:

$$\frac{\Delta S}{S_0} = \frac{16}{15} (NT_r)^2 D^2 - \frac{128}{315} (NT_r)^4 D^4, \text{ wobei gilt } \left(0 \leq \frac{\Delta S}{S_0} \leq 0,6 \right) \quad \text{Gleichung 2-28}$$

Bei einem Mehrspinsystem spielen für die REDOR-Kurve zusätzlich winkelabhängige Terme eine Rolle. Der Bereich $0 \leq \frac{\Delta S}{S_0} \leq 0,2 \dots 0,3$ verbleibt geometrieunabhängig, sodass die

Näherung 1. Ordnung ebenfalls verwendet werden kann:

$$\frac{\Delta S}{S_0} = \frac{16}{15} (NT_r)^2 \sum_i D_i^2, \text{ wobei gilt } \left(0 \leq \frac{\Delta S}{S_0} \leq 0,2 \dots 0,3 \right) \quad \text{Gleichung 2-29}$$

Im Rahmen dieser Arbeit werden die heteronuklearen dipolaren Kopplungskonstanten und damit die minimal-möglichen Abstände wie folgt bestimmt. Aufgrund der Überlagerung der Signale in den Spektren S_0 und S können die Intensitäten für die jeweiligen Spezies nur durch eine durchgeführte Liniensimulation und anschließende Integration erhalten werden. Die REDOR-Kurven werden durch das Auftragen von $\Delta S/S_0$ gegen die Evolutionszeit ($NT_R = 10+1$) erhalten. Bisherige Ergebnisse^{56, 57} haben gezeigt, dass mit dem REDOR-Verfahren Mehrspinsysteme untersucht werden, sodass nur die effektive, heteronukleare dipolare Kopplungskonstante D_{eff} (Gleichung 2-30) beziehungsweise das effektive, heteronukleare zweite Moment $M'_{2,eff}$ (Gleichung 2-31) bestimmt werden können.

$$D_{eff} = \sqrt{\sum_{i=1}^n D_i^2} \quad \text{Gleichung 2-30}$$

$$M'_{2,eff} = \sum_{i=1}^n M_{2,i} \quad \text{Gleichung 2-31}$$

Nach dem Erhalt der REDOR-Kurve für das jeweilige Mehrspinsystem wurde mit den Näherungen 1. Ordnung (Gleichung 2-32) und 2. Ordnung (Gleichung 2-33) eine Kurvenanpassung mit Origin 7.5 vorgenommen. Aus den beiden Näherungen wird der Mittelwert für die effektive, heteronukleare dipolare Kopplungskonstante bzw. das effektive, heteronukleare zweite Moment $M'_{2,eff}$ gebildet.

Näherung 1. Ordnung:

$$\frac{\Delta S}{S_0} = \frac{16}{15} (NT_r)^2 D_{eff}^2, \text{ wobei gilt } \left(0 \leq \frac{\Delta S}{S_0} \leq 0,2 \dots 0,3 \right) \quad \text{Gleichung 2-32}$$

Näherung 2. Ordnung:

$$\frac{\Delta S}{S_0} = \frac{16}{15} (NT_r)^2 D_{eff}^2 - \frac{128}{315} (NT_r)^4 D_{eff}^4, \text{ wobei gilt } \left(0 \leq \frac{\Delta S}{S_0} \leq 0,6 \right) \quad \text{Gleichung 2-33}$$

Das zu untersuchende Mehrspinsystem kann auf ein Pseudo-Zweispinsystem vereinfacht werden, wodurch die Verwendung der Näherung 2. Ordnung möglich ist. Die Vereinfachung des Mehrspinsystems zu einem Pseudo-Zweispinsystem ist möglich, da in den Kurzzeitsverläufen der REDOR-Kurven für höhere Spinsysteme SI_n ($n \geq 2$) nur geringe Abweichungen vorliegen⁵⁶. Diese Abweichungen sind kleiner, als die Messunsicherheiten, die

durch das REDOR-Verfahren gegeben sind, sodass keine Aussagen, zum vorliegenden Mehrspinsystem getroffen werden können. Daher wird als einfachster Fall ein Pseudo-Zweispinsystem angenommen.

Zudem liegt eine Gauss-Verteilung der Bindungslängen zwischen den betrachteten Kernen vor, wodurch bei Anwendung dieser Gauss-Verteilung⁵⁸ auf die REDOR-Kurve ebenfalls nicht zwischen einem Zweispinsystem und höheren Spinsystemen unterschieden werden kann. Aufgrund der Messunsicherheit und der Gauss-Verteilung der Bindungslängen, wurde zur Vereinfachung ein Pseudo-Zweispinsystem angenommen mit dem Hintergrund, dass nur der minimal-mögliche Abstand zwischen den betrachteten Kerne I und S berechnet werden kann. Der wahre Abstand im SI_n -System ist damit definitiv größer, als der ermittelte, aber niemals kleiner. Über die Kurvenanpassungen nach der Näherung 1. Ordnung und 2. Ordnung mit Origin 7.5 für den Kurzzeitverlauf wurde ein mittleres effektives zweites Momentes $M'_{2,eff}$ bestimmt. Dieses wird mit der Gleichung 2-34 in $M_{2,eff}$ umgerechnet.

$$M_{2,eff} = \frac{12\pi^2}{15} M'_{2,eff} \quad \text{Gleichung 2-34}$$

Zur Bestimmung der mittleren Mindestabstände für das jeweilige Spinsystem gilt die Gleichung 2-35⁵⁹.

$$M_{2,eff} = \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \frac{4}{15} I(I+1) \hbar^2 \gamma_S^2 \gamma_I^2 \sum_I r_{IS}^{-6} \quad \text{Gleichung 2-35}$$

(I - Kernspin des eingekoppelten Kernes, r_{IS} - Abstand zwischen den Kernen I und S)

2.2.3.7 TRAPDOR-MAS-NMR-Experiment (engl.: TRANSfer of Population in DOuble Resonance)

Das TRAPDOR-NMR-Experiment^{60, 61} wird zur selektiven Wiedereinkopplung der heteronuklearen Dipol-Dipol-Wechselwirkung zweier Kerne verwendet, wobei der nicht-beobachtete Kern ein Quadrupolkern ist. Am Beispiel des $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Experiments wird das verwendete Impulsschema erklärt (Abbildung 2.2-9).

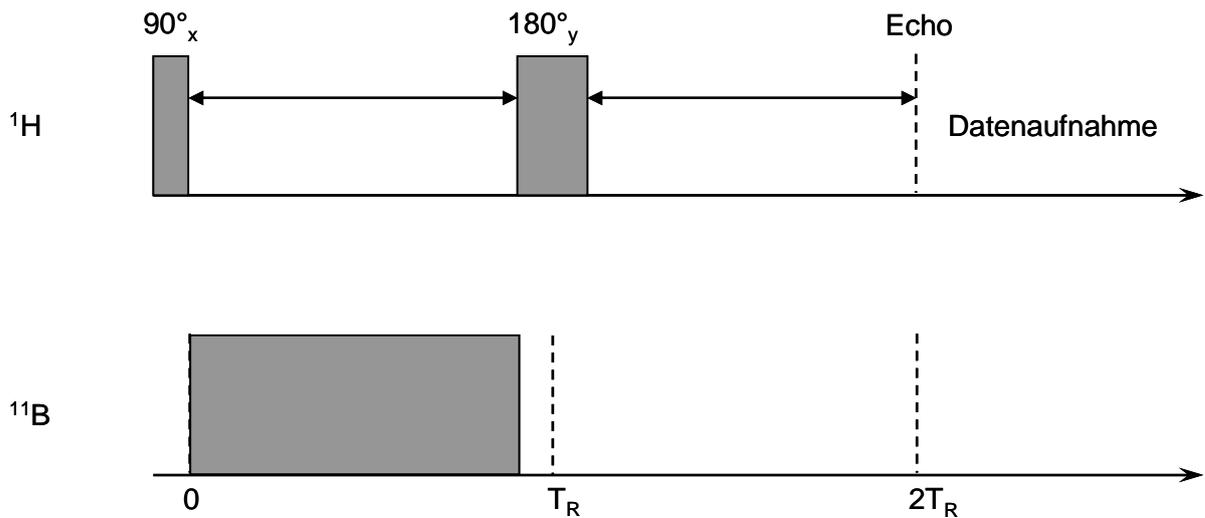


Abbildung 2.2-9: Impulsschema des $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Experimentes

Die Basis bildet ein RSE-MAS-NMR-Experiment auf dem ^1H -Kanal. Auf den ^{11}B -Kanal (Quadrupolkern) wird ein kontinuierlicher RF-Impuls eingestrahlt, wodurch die Wiedereinkopplung der dipolaren ^1H - ^{11}B -Kopplung erreicht wird. Die Einstrahlung des kontinuierlichen RF-Impulses erfolgt während der Zeit bis zum 180° -Impuls auf dem ^1H -Kanal. Durch den RF-Impuls wird eine Veränderung der Besetzungszahlen der Spinzustände des Quadrupolkerns (Populationstransfer) bewirkt, womit eine Änderung der Dipol-Dipol-Wechselwirkung verbunden ist, die zu einer Intensitätsverminderung der Signale im resultierenden ^1H -NMR-Spektrum führt. In Analogie zum REDOR-NMR-Experiment werden zwei Spektren aufgenommen. Das erste Spektrum S_0 erhält man durch die Durchführung des RSE-MAS-NMR-Experimentes auf dem ^1H -Kanal. Das zweite Spektrum S erhält man durch die zusätzliche Einstrahlung des RF-Impulses auf dem ^{11}B -Kanal. Das normierte TRAPDOR-Differenzsignal wird wie nach Gleichung 2-26 bestimmt. Analog zum REDOR-MAS-NMR-Experiment führt die Auftragung von $\Delta S/S_0$ gegen die Evolutionszeit zu ebenfalls charakteristischen TRAPDOR-Kurven. Mithilfe des Experimentes werden in dieser

Arbeit nur qualitative Aussagen gemacht; daher wird auf weitere Erklärung zur Abstandbestimmung verzichtet und auf die weiterführende Literatur^{61, 62} verwiesen.

2.2.3.8 3Q-MAS-NMR-Experiment mit z-Filter ($I = 3/2$)

In den MAS-Spektren von Quadrupolkernen liegen aufgrund der meist ausreichend großen Quadrupolfrequenz komplexe Linienformen vor. Neben Signallinienverbreiterungen und Überlagerung mehrerer Resonanzen, treten auch Signalverschiebungen auf, so dass die beobachtete chemischen Verschiebungen nicht isotrop ist. Damit ist keine eindeutige Zuordnung von Struktureinheiten möglich.

Um eine bessere Auflösung der Signale von Quadrupolkernen und somit Aussagen zur isotropen chemischen Verschiebung zu erzielen, wurde das 3QMAS-NMR-Experiment⁶²⁻⁶⁴ entwickelt. Dieses Experiment basiert auf der Anregung des Tripelquanten-Überganges ($p = +3, m = -3/2 \leftrightarrow m = +3/2$). Um phasenreine Spektren zu erhalten, wird der spiegelsymmetrischen Kohärenztransferwege ($p = \pm 3$) genutzt. Zusätzlich wird zur Verbesserung des S/N-Verhältnisses ein z-Filter⁶⁵ genutzt, bei dem die symmetrische Refokussierung von der Kohärenz ± 3 zur Kohärenz 0 ausgenutzt wird (Abbildung 2.2-10).

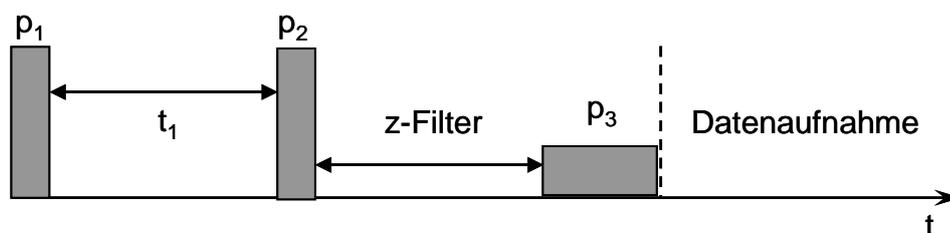


Abbildung 2.2-10: Impulsschema des 3Q-MAS-NMR-Experimentes mit z-Filter

Zunächst wird durch einen sehr kurzen Impuls (p_1) mit einer möglichst hohen Feldstärke der symmetrische Tripelquantenübergang (Kohärenz $p = \pm 3$) angeregt. Die Magnetisierung entwickelt sich entsprechend der Orientierungsabhängigkeit des Quadrupoltensors zum äußeren Magnetfeld in der nachfolgenden Zeit t_1 , die für das 2D-Experiment inkrementiert wird. Diese entwickelte Magnetisierung wird anschließend zur Nullquantenkohärenz (Kohärenz $p = 0$, Impuls p_2) refokussiert.

Nach einer Wartezeit (auch z-Filterzeit τ_z ($\tau_z \sim 30\mu s$)) wird nach einem selektiven 90° -Impuls (p_3) das Spektrum detektiert (Kohärenz = -1). Das erhaltene 2D-fouriertransformierte

Spektrum zeigt in der direkten Dimension die δ_{MAS} -Verschiebungen und in der indirekten Dimension die δ_{MQMAS} -Verschiebungen an. Nachfolgend wurde mithilfe der BRUKER Software Topspin® (Version 2.1) das 2D-Spektrum so geschert, dass die isotrope chemische Verschiebung aus den Linienschwerpunkten wie folgt bestimmt wird⁶⁶⁻⁶⁸:

$$\delta_{iso} = \frac{10}{27} \delta_{MAS} + \frac{17}{27} \delta_{MQMAS} \quad \text{Gleichung 2-36}$$

2.3 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)

Die Röntgenpulverdiffraktometrie⁶⁹⁻⁷¹ dient zur Untersuchung von Feststoffpulvern und liefert Informationen über die in der Probe enthaltenen kristallinen Verbindungen. Dabei wird ausgenutzt, dass die Beugung von Strahlung im Röntgenbereich für kristalline Substanzen charakteristisch ist (Röntgendiffraktionsmuster).

Zur Analyse wird die Substanz pulverisiert, wodurch die Kristallite in alle Richtungen orientiert werden. Bei Eindringen des Röntgenstrahls (monochromatischer Strahlung in Form der $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung) in das Pulver liegt somit immer eine ausreichende Anzahl von Teilchen orientiert vor, sodass die Bragg'sche Gleichung (Gleichung 2-37) in Bezug auf die Reflexion an den verschiedenen möglichen Netzebenenabständen erfüllt ist.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Gleichung 2-37}$$

($n\lambda$ - Vielfaches der Wellenlänge des monochromatischen Röntgenstrahles, d - Netzebenenabstand und θ - Winkel zur Netzebene/ Glanzwinkel)

Die durch konstruktive Interferenz entstandene Strahlung wird vom Detektor registriert und das Diffraktogramm erhalten. Die intensiven Linien, deren Position als 2θ -Winkel dargestellt werden, bezeichnet man als Reflex. Die relativen Intensitäten dieser Linien werden mit bestehenden Referenzdatensätzen aus Datenbanken (wie zum Beispiel der Datenbank des „Joint Committee on Powder Diffraction Standards“, JCPDS) verglichen, um die kristalline Substanz zu identifizieren.

2.4 Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FTIR-Spektroskopie)

Die Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie^{69, 70} ist eine Variante der Infrarotspektroskopie. Sie dient zur Strukturaufklärung von Molekülen, die über die Anregung von Schwingungen unter Verwendung von elektromagnetischer Strahlung im Infrarot-Bereich (4000 - 400cm⁻¹) verläuft.

Im Molekül existieren Translations-, Rotations- und Schwingungsbewegungen. Damit ergibt sich für ein Molekül aus N Atomen 3N-Freiheitsgrade der Bewegung. Für lineare Moleküle existieren (3N-5)- und für nicht-lineare Moleküle (3N-6)-Freiheitsgrade.

Die wichtigsten Schwingungen eines Moleküls sind die Normalschwingungen (Valenzschwingungen, Deformationsschwingungen). Diese sind symmetrische Schwingungen, bei denen sich alle Atome mit gleicher Phase und gleicher Frequenz bewegen.

Die notwendige Bedingung für eine Anregung der Eigenschwingungen eines Moleküls durch infrarote Strahlung ist die Änderung des Dipolmomentes μ :

$$\frac{\partial \mu}{\partial r} \neq 0 \quad \text{Gleichung 2-38}$$

Trifft ein Lichtstrahl der Intensität I_0 auf die zu untersuchende Probe, wird infolge von Absorption I_A , Reflexions I_R und Streuung I_S der Lichtstrahl geschwächt. Bei der FTIR-Spektroskopie handelt es sich um eine Absorptionsmethode. Die Reflexion und Streuung werden durch Vergleichsmessungen ausgeschaltet. Die Schwächung des Lichtstrahles beim Durchgang durch das Probenmedium wird durch das Lambert-Beer'sche Gesetz beschrieben (Gleichung 2-39).

$$E = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon(\lambda) \cdot d \cdot c \quad \text{Gleichung 2-39}$$

(E - Extinktion, I_0 - Intensität des eingestrahnten Lichtes, I - Intensität des transmittierten Lichtes; ε - molarer dekadischer Extinktionskoeffizient, d - Schichtdicke der durchstrahlten Probe, c - Konzentration des absorbierenden Teilchen)

Um die gesamte Information zu erhalten, werden mithilfe eines FT-Spektrometer Interferogramme aufgenommen und durch eine anschließend durchgeführte Fourier-Transformation die FTIR-Spektren berechnet. Die Interferogramme werden mit einem Michaelson-Interferometer erzeugt. Bei der Verwendung von monochromatischem

Licht wird der Lichtstrahl beim Auftreffen auf einen Strahlungsteiler zu gleichen Teilen reflektiert und durchgelassen. Dadurch entstehen zwei kohärente Teilstrahlen mit gleicher Amplitude. Der eine Teilstrahl reflektiert an einen feststehenden und der andere an einem beweglichen Spiegel und gelangen dann zum Strahlungsteiler zurück, wo sie rekombinieren. Wenn die optischen Wege beider Strahlen gleich lang sind oder ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge λ betragen, kommt es zur konstruktiven Interferenz und ein Maximum wird erreicht. Wird der Spiegel mit einer kontinuierlichen Geschwindigkeit bewegt, wird die Weglänge eines der Teilstrahlen variiert, wodurch ein Messsignal mit oszillierender Intensität entsteht.

Bei der Verwendung von polychromatischem Licht, ergibt sich ein Maximum, wenn die Wegdifferenz der beiden Strahlen Null ist.

Das erhaltene Interferogramm wird zum FTIR-Spektrum fouriertransformiert. Die Frequenz der Schwingungen wird üblicherweise in Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] angegeben.

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

Gleichung 2-40

3 Probenpräparation

Die Probenpräparation erfolgte an der Universität Okayama in der Arbeitsgruppe Biomaterialien von Prof. Osaka / Prof. Hayakawa.

Verwendete Chemikalien

Tabelle 3-1: Auflistung der verwendeten Chemikalien mit Angabe des Herstellers

Name	Summenformel	Firma
Diammoniumhydrogenphosphat	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	Nacalai Tesque Inc. Japan
Borsäure	H_3BO_3	Nacalai Tesque Inc. Japan
Calciumcarbonat	CaCO_3	Nacalai Tesque Inc. Japan
Calciumhydrogenphosphat	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Nacalai Tesque Inc. Japan
α -Tricalciumphosphat	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Synthese aus $\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$
β -Tricalciumphosphat	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Nacalai Tesque Inc. Japan
Tetracalciumphosphat	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	Synthese aus $\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$
Hydroxylapatit	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Taihei Chemical Inc. Co. Ltd.
Calciumdiphosphat	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	Synthese aus $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Boroxid	B_2O_3	Nacalai Tesque Inc. Japan
Calciumborat (Takedait)	$\text{Ca}_3(\text{BO}_3)_2$	Synthese aus $\text{CaCO}_3 + \text{B}_2\text{O}_3$
Borphosphat	BPO_4	Sigma Aldrich

3.1 Probe BHAp ($10\text{CaO} \cdot 5,5\text{PO}_{2,5} \cdot 0,5\text{BO}_{1,5}$)

Es werden Calciumcarbonat CaCO_3 , Diammoniumhydrogenphosphat $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ und Borsäure H_3BO_3 entsprechend der nominellen Zusammensetzung: $10\text{CaO} \cdot 5,5\text{PO}_{2,5} \cdot 0,5\text{BO}_{1,5}$ ⁷² (Ansatzgröße: 10 g) eingewogen und in einem Aluminiumoxidmörser 60 Minuten verrieben, um ein homogenes Gemisch zu erhalten.

Aus diesem Pulver werden Pellets ($d = 1 \text{ cm}$, $h = 1 \text{ cm}$) bei $p = 20\text{MPa}$ für vier Minuten gepresst. Diese Pellets werden in einem Platintiegel, der in einem Aluminiumoxidtiegel steht, mit einer Heizrate von 5 K/min in einem Elektroofen auf 1400°C erhitzt, wobei die Endtemperatur sechs Stunden gehalten wird. Danach erfolgt das Abkühlen durch das Aufpressen von Stahlplatten auf die Pellets, sodass innerhalb von fünf Minuten

Raumtemperatur erreicht wird. Nach dem Aufmahlen der Pellets im Mörser wird das erhaltene Pulver bei einem Druck von $p = 20\text{MPa}$ für vier Minuten erneut gepresst und die thermische Behandlung wird wiederholt. Es wurde mittels ICP eine Zusammensetzung von $10,46\text{CaO} \cdot 5,72\text{PO}_{2,5} \cdot 0,47\text{BO}_{1,5}$ bestimmt.

3.2 Probenserie 1 ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{B}_2\text{O}_3 + \text{CaCO}_3$)

3.2.1 Darstellung der Probe HAp1

Es werden Calciumdiphosphat $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (dargestellt aus $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, bei 1000°C für 10 h im Elektroofen) und Calciumcarbonat CaCO_3 entsprechend der nominellen Zusammensetzung (vgl. Reaktionsgleichung) in einem Aluminiumoxidmörser 30min gemischt (Ansatzgröße: 10 g). Aus diesem Pulver werden Pellets ($d = 1\text{ cm}$, $h = 1\text{ cm}$) bei einem Druck von $p = 20\text{MPa}$ für vier Minuten gepresst. Anschließend werden diese Pellets in einem Platintiegel, der in einem Aluminiumoxidtiegel steht, mit einer Heizrate von 5 K/min in einem Elektroofen auf 1200°C erhitzt, wobei die Endtemperatur sechs Stunden gehalten wird. Danach erfolgt das Abkühlen durch das Aufpressen von Stahlplatten auf die Pellets, sodass innerhalb von fünf Minuten Raumtemperatur erreicht wird. Nach dem Aufmahlen der Pellets im Mörser wird das erhaltene Pulver ($d = 1\text{ cm}$, $h = 1\text{ mm}$) erneut gepresst. Die thermische Behandlung wird wiederholt, wobei die Endtemperatur nur drei Stunden gehalten wird.



3.2.2 Darstellung der Proben BHAp1, BHAp2 und BHAp3

Für die Darstellung der Proben BHAp1, BHAp2 und BHAp3 werden Boroxid B_2O_3 Calciumdiphosphat $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (dargestellt aus $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, bei 1000°C für 10h im Elektroofen) und Calciumcarbonat CaCO_3 entsprechend der nominellen Zusammensetzungen

(Tabelle 3-2) verwendet (Ansatzgröße: 10 g). Die weitere Präparation erfolgt entsprechend der Probe HAp1.

Tabelle 3-2: Auflistung der Ausgangsstoffe und der Zusammensetzung für Probenserie 1

Probenbezeichnung	Ausgangsstoffe	Zusammensetzung
HAp 1	CaCO ₃ , Ca ₂ P ₂ O ₇	10CaO·6PO _{2,5}
BHAp 1	CaCO ₃ , Ca ₂ P ₂ O ₇ , B ₂ O ₃	10CaO·5,5PO _{2,5} ·0,5BO _{1,5}
BHAp 2	CaCO ₃ , Ca ₂ P ₂ O ₇ , B ₂ O ₃	10CaO·5,5PO _{2,5} ·BO _{1,5}
BHAp 3	CaCO ₃ , Ca ₂ P ₂ O ₇ , B ₂ O ₃	9CaO·5,5PO _{2,5} ·0,5BO _{1,5}

3.3 Probenserie 2 (kommerziell erhältlicher HAp + Ca₃(BO₃)₂)

Es werden entsprechende Mengen kommerziell erhältlicher Hydroxylapatit und Calciumborat (Takedait) in einem Aluminiumoxidmörser 30min verrieben (Ansatzgröße: 10 g). Aus diesem Pulver werden Pellets (d = 1 cm, h = 1 cm) bei einem Druck von p = 20MPa für vier Minuten gepresst. Anschließend werden diese Pellets in einem Platintiegel, der in einem Aluminiumoxidtiegel steht, mit einer Heizrate von 5 K/min in einem Elektroofen auf 1200°C erhitzt, wobei die Endtemperatur sechs Stunden gehalten wird. Danach erfolgt das Abkühlen durch das Aufpressen von Stahlplatten, sodass innerhalb von fünf Minuten Raumtemperatur erreicht wird. Nach dem Aufmahlen der Pellets im Mörser wird das erhaltene Pulver erneut gepresst und die thermische Behandlung wiederholt sich. Damit ergeben sich für die zweite Probenserie (Probenserie 2) folgende Zusammensetzungen (Tabelle 3-3).

Tabelle 3-3: Auflistung der Ausgangsstoffe und der Zusammensetzung für Probenserie 2

Probenbezeichnung	Ausgangsstoffe	Zusammensetzung (Gew.-%)
HAp 100	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ [HAp]	100% HAp (kommerziell erhältlicher HAp)
HAp 90	Ca ₃ (BO ₃) ₂ , Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	90% HAp, 10% Takedait
HAp 80	Ca ₃ (BO ₃) ₂ , Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	80% HAp, 20% Takedait
HAp 75	Ca ₃ (BO ₃) ₂ , Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	75% HAp, 25% Takedait
HAp 50	Ca ₃ (BO ₃) ₂ , Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	50% HAp, 50% Takedait
HAp 25	Ca ₃ (BO ₃) ₂ , Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	25% HAp, 75% Takedait
HAp 0	Ca ₃ (BO ₃) ₂	100% Takedait

3.4 Referenzsubstanzen

3.4.1 Tetracalciumphosphat $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$

Es werden entsprechende Mengen Calciumdiphosphat $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (dargestellt aus $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, bei 1000°C für 10 h im Elektroofen) und Calciumcarbonat CaCO_3 in einem Aluminiumoxidmörser eine Stunde verrieben (Ansatzgröße: 10 g). Aus diesem Pulver werden Pellets ($d = 1 \text{ cm}$, $h = 1 \text{ cm}$) bei einem Druck von $p = 20 \text{ MPa}$ für vier Minuten gepresst. Anschließend werden diese Pellets in einem Platintiegel, der in einem Aluminiumoxidtiegel steht, mit einer Heizrate von 5 K/min in einem Elektroofen auf 1300°C erhitzt, wobei die Endtemperatur 22 Stunden gehalten wird. Danach erfolgt das Abkühlen durch das Aufpressen von Stahlplatten auf die Pellets, sodass innerhalb von fünf Minuten Raumtemperatur erreicht wird. Nach dem Abkühlen erfolgt das Aufmahlen der Pellets im Mörser.

3.4.2 α -Tricalciumphosphat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Es werden entsprechende Mengen Calciumdiphosphat $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (dargestellt aus $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, bei 1000°C für 10 h im Elektroofen) und Calciumcarbonat CaCO_3 in einem Aluminiumoxidmörser eine Stunde verrieben (Ansatzgröße: 10 g). Aus diesem Pulver werden Pellets ($d = 1 \text{ cm}$, $h = 1 \text{ cm}$) bei einem Druck von $p = 20 \text{ MPa}$ für vier Minuten gepresst. Anschließend werden diese Pellets in einem Platintiegel, der in einem Aluminiumoxidtiegel steht, mit einer Heizrate von 5 K/min in einem Elektroofen auf 1400°C erhitzt, wobei die Endtemperatur sechs Stunden gehalten wird. Danach erfolgt das Abkühlen durch das Aufpressen von Stahlplatten auf die Pellets, sodass innerhalb von fünf Minuten Raumtemperatur erreicht wird. Nach dem Aufmahlen der Pellets im Mörser wird das erhaltene Pulver bei einem Druck von $p = 20 \text{ MPa}$ für vier Minuten erneut gepresst und die thermische Behandlung wird wiederholt. Danach wird wie bereits genannt abgekühlt.

3.4.3 β -Tricalciumphosphat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Es wird eine entsprechende Menge an kommerziell erhältlichen β -TCP in Pellets ($d = 1 \text{ cm}$, $h = 1 \text{ cm}$) bei einem Druck von $p = 20 \text{ MPa}$ für vier Minuten gepresst. Anschließend werden diese Pellets in einem Platintiegel, der in einem Aluminiumoxidtiegel steht, mit einer Heizrate von 5 K/min in einem Elektroofen auf 1100°C erhitzt, wobei die Endtemperatur sechs Stunden gehalten wird. Danach erfolgt das Abkühlen durch das Aufpressen von Stahlplatten auf die Pellets, sodass innerhalb von fünf Minuten Raumtemperatur erreicht wird. Nach dem Abkühlen erfolgt das Aufmahlen der Pellets im Mörser.

3.5 *Probenpräparation für die Untersuchung der Bioaktivität und der Degradation der Probenserie 1*

3.5.1 Probenpräparation zur Untersuchung der Bioaktivität

Um die Bioaktivität (Apatitbildung auf einer Oberfläche) zu untersuchen, wird die Standardmethode^{73, 74} "Simulierte Körperflüssigkeit" angewendet. Dazu wird eine Lösung, auch simulierte Körperflüssigkeit (simulated body fluid-Lösung, SBF-Lösung) genannt, verwendet, die dem menschlichen Blutplasma ähnelt. Die Darstellung⁷⁵ der verwendeten SBF-Lösung ist im Anhang (Kapitel 8.3) beschrieben. Die Angabe der Ionenkonzentrationen der SBF-Lösung ist in Tabelle 3-4 aufgelistet.

Tabelle 3-4: Angabe der Ionenkonzentrationen der SBF-Lösung und des Blutplasmas⁷⁵

Ion	SBF-Lösung [mM]	Blutplasma [mM]
Na^+	142,0	142,0
K^+	5,0	5,0
Mg^{2+}	1,5	1,5
Ca^{2+}	2,5	2,5
Cl^-	147,8	103,0
HCO_3^-	4,2	27,0
HPO_4^{2-}	1,0	1,0
SO_4^{2-}	0,5	0,5

Die hergestellten Pellets der Probenserie 1 ($d = 1 \text{ cm}$, $h = 1 \text{ mm}$) werden jeweils separat in die SBF-Lösung mit einem entsprechenden Volumen gegeben (Pelletoberfläche von 10mm^2 entspricht 1ml SBF-Lösung). Anschließend bleiben die Pellets entsprechende Tage (0 d, 1 d, 3 d, 7 d, 10 d und 14 d) in der SBF-Lösung bei einer Temperatur von $36,5^\circ\text{C}$, welche der menschlichen Körpertemperatur entspricht. Danach wird die Pelletoberfläche mittels SEM und TF-XRD auf Apatitbildung untersucht.

3.5.2 Probenpräparation für die Untersuchung der Degradation

Um den Abbau bzw. die Resorption der Knochensubstanz in den Osteoklasten ($\text{pH} = 5,5$) zu simulieren⁷⁶, werden die Proben in eine Essigsäure/Acetat-Pufferlösung ($\text{pH} = 5,5$) gegeben und das Auflösungsverhalten mittels Messung der Calciumionenkonzentrationen über einen Zeitraum von fünf Stunden beobachtet⁷⁷.

Zur Kalibrierung der pH-Elektrode wurden Standardpufferlösungen ($\text{pH} = 6,86$ bzw. $\text{pH} = 4,01$) verwendet.

Zur Kalibrierung der Ca-Elektrode werden Standardlösungen von 1 mg/l, 10mg/l und 100mg/l verwendet, die in Tabelle 3-5 aufgelistet sind. .

Tabelle 3-5: Zusammensetzung der Ca-Standardlösungen

	CaCO_3 in 0,1M HNO_3	$\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ($c = 0,8\text{M}$)	Millipore H_2O
1mg/l	0,1ml	10ml	89,9ml
10mg/l	1ml	10ml	89,0ml
100mg/l	10ml	10ml	80,0ml

Um die Degradationskurven zu erhalten, werden in einem Becherglas 100ml $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{CH}_3\text{COOH}$ -Lösung ($c = 0,08 \text{ M}$) gegeben. Es wird ein pH-Wert von $5,5 \pm 0,02$ (pH-Elektrode: F-53, Horiba, Kyoto, Japan) eingestellt. Anschließend wird eine Probenmenge von 10mg (Partikelgröße: $300\mu\text{m}$ - $600\mu\text{m}$) in die Lösung gegeben. Die Messung der Calciumionenkonzentration (Ca-Elektrode: 6583-10C) erfolgt über einen Zeitraum von fünf Stunden mit einer Schrittweite von 90 s. Die Rührgeschwindigkeit lag bei $\text{rpm} = 430 \pm 15$ und die Temperatur bei $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Strukturelle Charakterisierung der Probe BHAp (10CaO•5,5PO_{2,5}•0,5BO_{1,5})

In vorherigen Untersuchungen⁷⁸ wurde nanokristalliner Hydroxylapatit mit borathaltiger Phase über nasschemische Reaktionen hergestellt. Dabei hat sich gezeigt, dass es schwierig ist die chemische Zusammensetzung der apatitischen Phase zu kontrollieren. Über die Festphasensynthese ist dies deutlich leichter zu kontrollieren. Daher wurde zunächst mit der Präparation der Probe BHAp (vgl. Kapitel 3.1), wie bereits in der Literatur beschrieben^{18, 72}, begonnen. Anschließend wurde an der Probe BHAp eine ausführliche Strukturaufklärung mittels der FTIR-Spektroskopie, XRD (Kapitel 4.1.1) und Festkörper-NMR-Spektroskopie (Kapitel 4.1.2) durchgeführt, wobei der Schwerpunkt auf der Festkörper-NMR-Spektroskopie lag. In Kapitel 4.1.2 wird der detaillierte Aufbau der Probe beschrieben und die Ergebnisse werden letztendlich zu zwei aufeinander aufbauenden Modellen zusammengefasst.

4.1.1 FTIR-Spektroskopie, XRD

Das FTIR-Spektrum der Probe BHAp (Abbildung 4.1-1) zeigt die typischen Schwingungsbanden des Hydroxylapatits (HAp). Dabei werden die Banden bei $\nu = 569\text{cm}^{-1}$, $\nu = 602\text{cm}^{-1}$, $\nu = 961\text{cm}^{-1}$, $\nu = 1050\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 1092\text{cm}^{-1}$ den Schwingungen der Phosphationen im Hydroxylapatit zugeordnet^{15, 18}. Die schwache Librationsschwingung der OH⁻-Ionen liegt bei einer Wellenzahl von $\nu = 631\text{cm}^{-1}$ ¹⁵. Die Streckschwingung der OH⁻-Ionen wird im Hydroxylapatit bei einer Wellenzahl von $\nu = 3572\text{cm}^{-1}$ detektiert¹⁵. Des Weiteren werden die Schwingungsbanden im Bereich bei $\nu = 1206\text{-}1312\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 743\text{-}782\text{cm}^{-1}$ den BO₃³⁻-Gruppen¹⁸ zugeordnet, während die Banden bei $\nu = 1933\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 2003\text{cm}^{-1}$ den linearen BO₂⁻-Gruppen¹⁸ zugeordnet werden können.

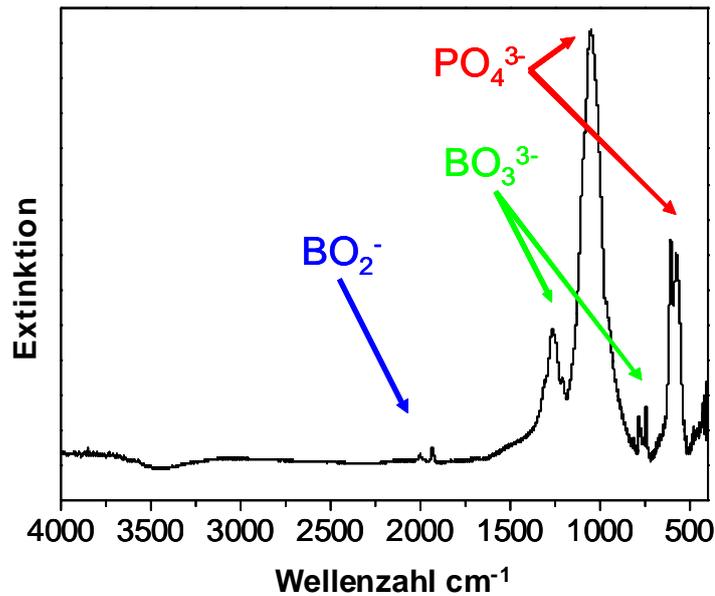


Abbildung 4.1-1: FTIR-Spektrum der Probe BHAp

Das FTIR-Spektrum liefert keine Informationen darüber, ob die Boratgruppen in die HAp-Struktur eingebaut wurden oder als separate Boratphase vorliegen.

Das Röntgenpulverdiffraktogramm der Probe BHAp zeigt Reflexe, die Hydroxylapatit zugeordnet werden (JCPDS#09-0432)⁷⁹. Des Weiteren sind Spuren von Tetracalciumphosphat nachweisbar (Abbildung 4.1-2: mit Pfeilen gekennzeichnet).

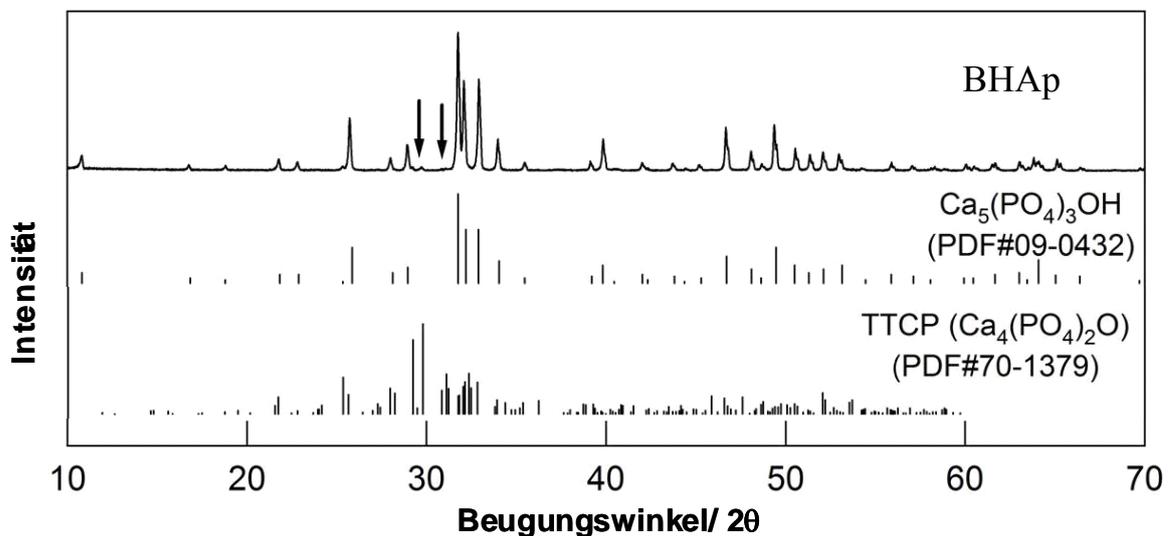


Abbildung 4.1-2: Röntgenpulverdiffraktogramm der Probe BHAp (oben) mit der Darstellung der Reflexpositionen von Hydroxylapatit (Mitte) und Tetracalciumphosphat (TTCP, unten)

4.1.2 Festkörper-NMR-Spektroskopie

Da der Einbau der Boratgruppen nicht mit der XRD erfasst werden kann, wurde die Festkörper-NMR-Spektroskopie zur Charakterisierung verwendet.

4.1.2.1 Grundcharakterisierung ^1H , ^{31}P , ^{11}B

Mithilfe der ^1H -NMR-Spektroskopie lassen sich die verschiedenen Protonenspezies nachweisen. Das ^1H -MAS-NMR Spektrum der Probe BHAp (Abbildung 4.1-3) zeigt ein sehr intensives Signal bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm, das den OH^- -Protonen der kristallinen Phase des Hydroxylapatits (HAp) zuzuordnen ist²⁷. Im Hochfeld vom Hauptsignal ist eine Schulter bei $\delta_{(^1\text{H})} = -0,6$ ppm erkennbar. Dabei könnte es sich um OH^- -Protonen handeln, die sich in einer amorphen Phase befinden, da eine vergleichbare isotrope chemische Verschiebung, allerdings mit einer größeren Linienbreite, vorliegt.

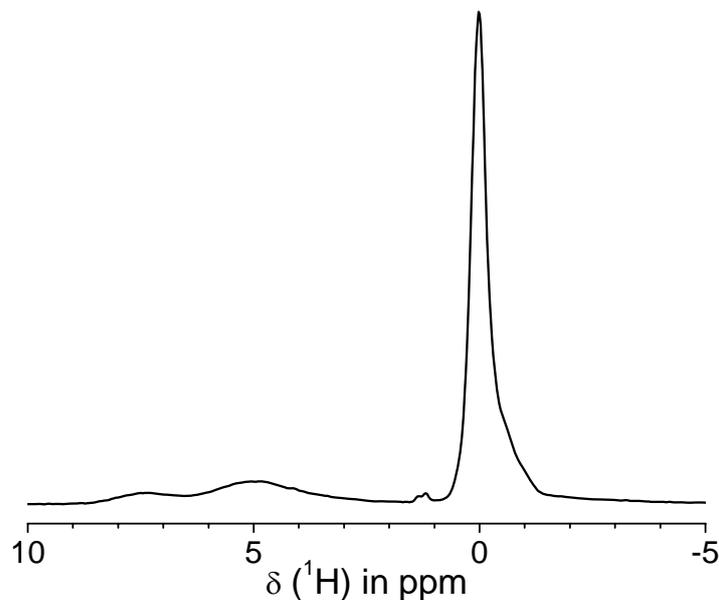


Abbildung 4.1-3: ^1H -MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp

Des Weiteren sind zwei weitere schwache Signale bei $\delta_{(^1\text{H})} = 5$ ppm und $\delta_{(^1\text{H})} = 7,5$ ppm zu beobachten, die Kristallwasser- bzw. Hydrogenphosphatprotonen zugeordnet werden²⁷.

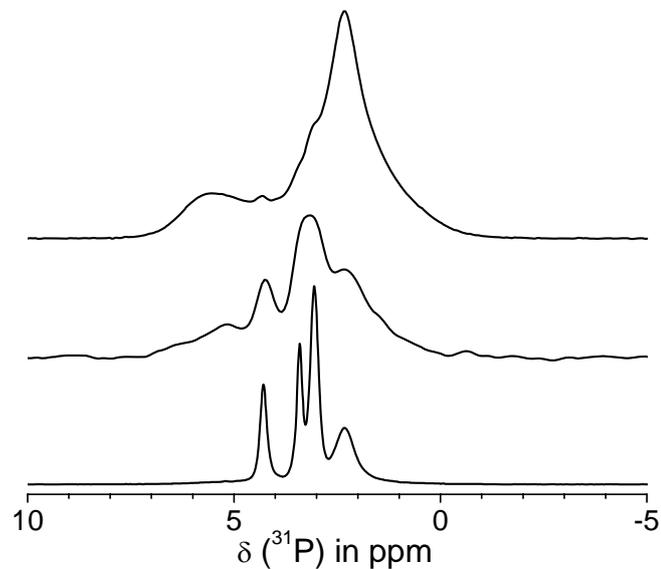


Abbildung 4.1-4: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp (oben), ^{31}P -RSE-MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 80\text{ms}$ (Mitte) und ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum von TTCP (unten)

Das ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (Abbildung 4.1-4) zeigt Hauptresonanzen bei $\delta_{(31\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ und $\delta_{(31\text{P})} = 5,5\text{ppm}$. Das Signal bei $\delta_{(31\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ setzt sich aus einer schmalen und einer breiten Resonanz zusammen. Die schmale Komponente wird den Phosphatgruppen des kristallinen HAp zugeordnet, während die breite zzgl. dem $\delta_{(31\text{P})} = 5,5\text{ppm}$ -Signal den amorphen Anteil widerspiegelt. Zusätzlich zeigen sich im ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum wenig intensive, schmale Signale bei $\delta_{(31\text{P})} = 3,2\text{ppm}$ und $\delta_{(31\text{P})} = 4,4\text{ppm}$, die bei der Aufnahme von ^{31}P -RSE-MAS-NMR-Spektren mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 80\text{ms}$ besser aufgelöst werden. Diese Signale werden Tetracalciumphosphat (TTCP) zugeordnet.

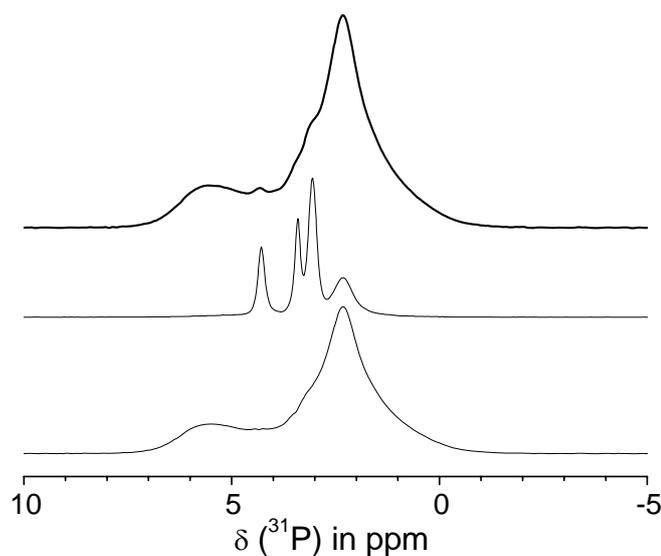


Abbildung 4.1-5: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp (oben), ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum von TTCP (Mitte), Differenzspektrum aus dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum und dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum von TTCP (unten)

Da sowohl das ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum des Tetracalciumphosphat als auch das ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp zur quantitativen Auswertung geeignet sind, wurde der Anteil an TTCP, der durch das Subtrahieren des ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum des TTCP (Abbildung 4.1-5, unten) vom ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp (Abbildung 4.1-5, oben) entsteht, bestimmt. Das ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum des TTCP wurde so skaliert, dass die Signale bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 3,2\text{ppm}$ und $\delta_{(^{31}\text{P})} = 4,4\text{ppm}$ nicht mehr im Differenzspektrum (Abbildung 4.1-5, Mitte) auftreten. Anschließend wurden die Spektren integriert und der Anteil an TTCP mit ca. $(1,7\pm 1)\text{mol}\%$ bestimmt.

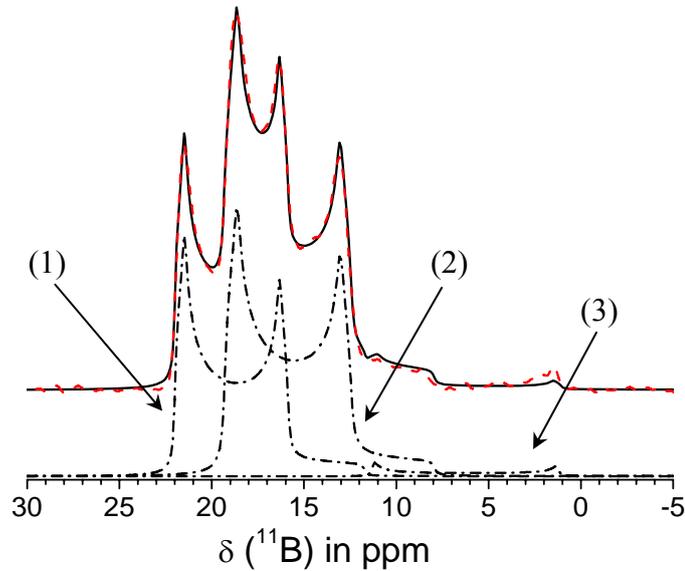


Abbildung 4.1-6: ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp mit der Darstellung der Linienformanalyse

Von der Probe BHAp wurde ein ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum (Abbildung 4.1-6) aufgenommen, sodass nur das Signal der Probe und nicht das intensive Untergrundsignal, das durch den Bornitrid-Stator verursacht wird, detektiert wird. Das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum zeigt Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 1,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 21,2\text{ppm}$. Diese deuten auf Überlagerungen von mindestens drei Signalen hin. Alle Resonanzen weisen die typische Pulverlinienform der Quadrupolwechselwirkung zweiter Ordnung auf. Diese Resonanzen konnten mithilfe des ^{11}B -3Q-MAS-Experimentes aufgelöst werden. Das gescherte ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum (Abbildung 4.1-7) zeigt zwei Resonanzen bei $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 23,5\text{ppm}$ und $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 26\text{ppm}$.

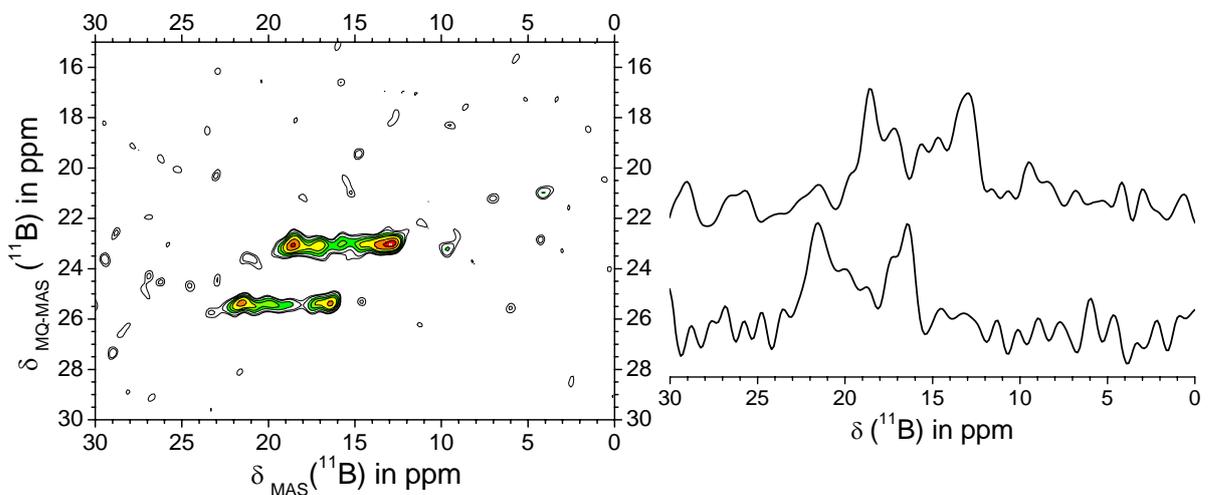


Abbildung 4.1-7: 3Q-MAS-NMR-Spektrum (links) mit den entsprechenden Summenprojektionen für die Resonanzen bei $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 23,5\text{ppm}$ (rechts, oben) und $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 26\text{ppm}$ (rechts, unten)

Die dritte Komponente mit den Polstellen $\delta_{(11B)} = 1,3\text{ppm}$ und $\delta_{(11B)} = 11,5\text{ppm}$ zeigt eine ähnliche Aufspaltung wie die beiden anderen Resonanzen bei $\delta_{\text{MQ-MAS}(11B)} = 23,5\text{ppm}$ und $\delta_{\text{MQ-MAS}(11B)} = 26\text{ppm}$ und damit auch eine ähnliche Quadrupolwechselwirkung. Man müsste bei diesen Anregungsbedingungen dafür auch ein Signal im ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum erhalten, aber aufgrund des geringen Signal/Rausch-Verhältnisses (Abbildung 4.1-7, rechts) wird sie nicht beobachtet.

Durch die anschließend durchgeführte Linienformanalyse mit DMFit⁸⁰ (Abbildung 4.1-6) konnten die Quadrupolparameter der drei Resonanzen ermittelt werden und sind in Tabelle 4-1 zusammengefasst. Durch den Vergleich mit Literaturwerten^{18, 22, 81} konnten den Resonanzen bei $\delta_{\text{iso}(11B)} = 23,3\text{ppm}$ und $\delta_{\text{iso}(11B)} = 20,6\text{ppm}$ trigonale BO_3^{3-} -Gruppen und der Resonanz bei $\delta_{\text{iso}(11B)} = 14,5\text{ppm}$ eine lineare BO_2^- -Gruppe zugeordnet werden.

Tabelle 4-1: Liniensimulationsparameter für die drei Borresonanzen¹⁸

	$\delta_{\text{iso}(11B)}$ (ppm)	C_Q (MHz)	η_Q	Spezies
(1)	23,3	2,63	0,1	BO_3^{3-}
(2)	20,6	2,75	0,1	BO_3^{3-}
(3)	14,5	3,57	0	BO_2^-

4.1.2.2 Bestimmung des HAp-Anteils

Zur ausschließlichen Detektion von Phosphorspezies, die Protonen in ihrer räumlichen Umgebung aufweisen, wurde ein Kreuzpolarisationsexperiment durchgeführt. Das ^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrum zeigt die typische Resonanzlinie bei $\delta_{(31P)} = 2,3\text{ppm}$ für Hydroxylapatit²⁷, die aber deutlich breiter ist (HWB = 1 ppm), als die Resonanzlinie des kristallinen Hydroxylapatit, welche eine typische Linienbreiten von HWB = 0,5ppm besitzt (Abbildung 4.1-8). Daher kann das Signal bei $\delta_{(31P)} = 2,3\text{ppm}$ eher nanokristallinem HAp zugeordnet werden. Zudem wird eine breite, noch unbekannte Resonanz bei $\delta_{(31P)} = 5,5\text{ppm}$ beobachtet.

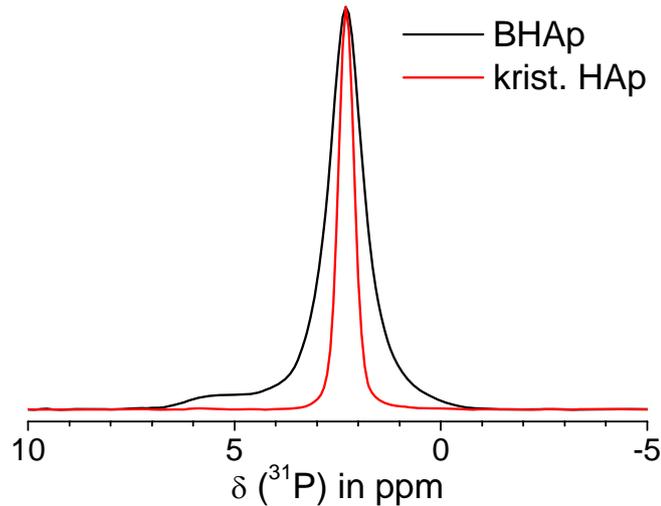


Abbildung 4.1-8: ^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp (schwarze Linie) und von kristallinem HAp (rote Linie) bei einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms

Zur Korrelation der Phosphorsignale mit den dazugehörigen Protonenresonanzen wurde ein ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum aufgenommen (Abbildung 4.1-9, links). Es zeigt das typische Kreuzsignal für Hydroxylapatit bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm/ $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3$ ppm. Das Kreuzsignal bei $\delta_{(^1\text{H})} = 5$ ppm/ $\delta_{(^{31}\text{P})} = 1,8$ ppm wird Phosphatgruppen mit Wasserspezies und das Kreuzsignal bei $\delta_{(^1\text{H})} = 7,5$ ppm/ $\delta_{(^{31}\text{P})} = 1,8$ ppm Hydrogenphosphatgruppen bzw. dem P-OH-Strukturmotiv zugeordnet²⁷.

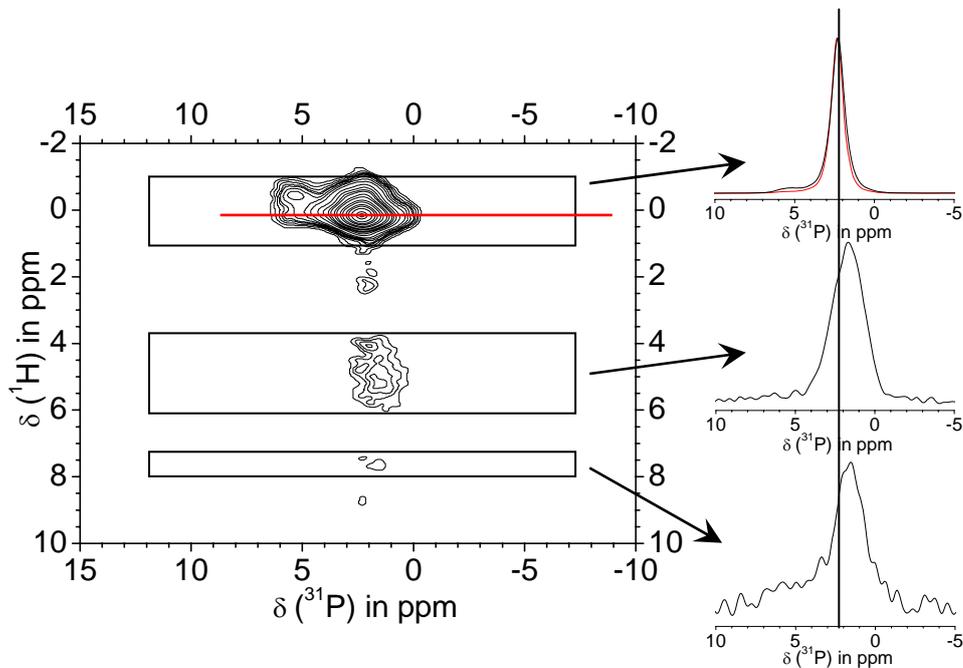


Abbildung 4.1-9: ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum (links) mit einem Schnitt bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm (rechts, oben; rote Linie), den Summenprojektionen von $\delta_{(^1\text{H})} = -1,5$ ppm bis $\delta_{(^1\text{H})} = 1,4$ ppm (rechts, oben; schwarze Linie), $\delta_{(^1\text{H})} = 3,5$ ppm bis $\delta_{(^1\text{H})} = 6$ ppm (rechts, Mitte) und $\delta_{(^1\text{H})} = 7$ ppm bis $\delta_{(^1\text{H})} = 8$ ppm (rechts, unten) in der direkten Dimension bei einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms

Zudem ist ein Kreuzsignal bei $\delta_{(1H)} = -0,6\text{ppm}$ / $\delta_{(31P)} = 5,5\text{ppm}$ (vgl. Kapitel 4.1.2.5) zu beobachten. Ein Linienbreitenvergleich der Summenprojektion in der direkten Dimension von $\delta_{(1H)} = -1,5\text{ppm}$ bis $\delta_{(1H)} = 1,4\text{ppm}$ und eines Schnittes in der direkten Dimension bei $\delta_{(1H)} = 0\text{ ppm}$ zeigt, dass die Linienbreite des Schnittes schmäler ist, als die der Summenprojektion (Abbildung 4.1-10). Aufgrund der geringen Signalintensität, wird die Phosphorresonanz bei $\delta_{(31P)} = 5,5\text{ppm}$ im Schnitt vernachlässigt. Damit wird im Schnitt nur die Resonanz des Hydroxylapatits erfasst. Dadurch ist eine Abschätzung des HAp-Anteils in der Probe möglich.

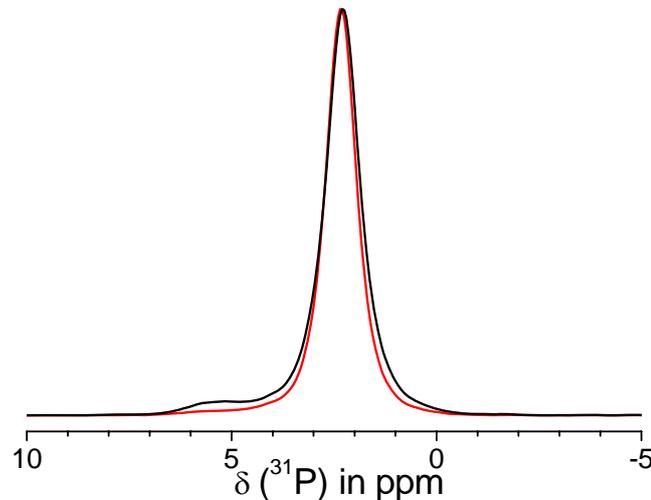


Abbildung 4.1-10: Schnitt bei $\delta_{(1H)} = 0\text{ ppm}$ (rote Linie) und der Summenprojektionen von $\delta_{(1H)} = -1,5\text{ppm}$ bis $\delta_{(1H)} = 1,4\text{ppm}$ (schwarze Linie) aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{CP} = 2\text{ ms}$

Von dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe (ohne den Resonanzen des TTCP) wird der skalierte Schnitt der direkten Dimension ($\delta_{(1H)} = 0\text{ ppm}$) subtrahiert (Abbildung 4.1-11, links oben und Mitte). Die Differenz zwischen dem Integral des gesamten Phosphorspektrums und dem des Differenzspektrums ergibt den Anteil des kristallinen HAp. Der wahrscheinlichste Anteil des kristallinen HAp liegt bei 30mol% (Abbildung 4.1-11, rechts Mitte).

Durch Änderung der Skalierung des Schnittes erhält man eine Abschätzung der Grenzen zur Bestimmung des HAp-Anteils. Die Differenzspektren (Abbildung 4.1-11, rechts oben und unten) zeigen jeweils einen kristallinen HAp-Anteil von 35mol% bzw. 25mol%. Aufgrund der nicht-sinnvollen Linienform dieser Differenzspektren bewegt sich der HAp-Anteil in diesen Grenzen (vgl. Abbildung 4.1-11, ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrum).

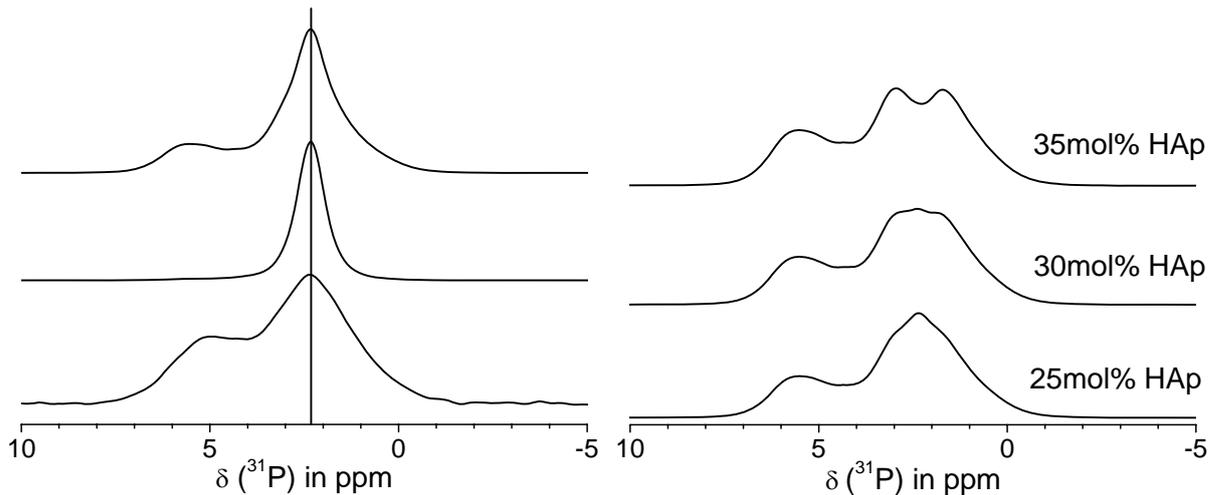


Abbildung 4.1-11: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum ohne die Resonanzen des TTCP (links, oben) (vgl. Abbildung 4.1-5), Schnitt bei $\delta_{(1\text{H})} = 0$ ppm aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms (links Mitte), ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 8$ ms (links, unten); Differenzspektren mit den jeweiligen kristallinen HAp-Anteilen von 35mol% (rechts, oben), 30mol% (rechts, Mitte) und 25mol% (rechts, unten)

Es wurde ein ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrum aufgenommen, da vermutet wird, dass aus dem verbleibenden Phosphatbestand von 70mol% sich eine borathaltige Calciumphosphatphase gebildet hat. Das ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrum (Abbildung 4.1-11, links unten) zeigt zwei breite Resonanzen bei $\delta_{(31\text{P})} = 2,3$ ppm und $\delta_{(31\text{P})} = 5$ ppm. Aufgrund der erhaltenen Phosphorsignale konnte nachgewiesen werden, dass sich Bor in der räumlichen Umgebung von Phosphor befindet. Die Signale des Phosphorspektrums konnten weder dem kristallinen HAp noch dem TTCP zugeordnet werden. Es haben sich zwei neue Phosphatspezies gebildet, die in ihrer räumlichen Umgebung Boratgruppen besitzen. Diese Phase wird deswegen BCaP-Phase genannt.

Vergleicht man nun die Linienform des ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrums (Abbildung 4.1-11, links unten) mit der Linienform des 30mol%-HAp-Differenzspektrums (Abbildung 4.1-11, rechts Mitte), stellt man fest, dass beide Linienformen gut übereinstimmen. Damit bildet der restliche Phosphatanteil von ca. 70mol% die BCaP-Phase.

Um die Korrelation zwischen Bor und Phosphor näher zu untersuchen wurde ein ^{11}B - ^{31}P -HETCOR-NMR-MAS-Spektrum aufgenommen (Abbildung 4.1-12). Es zeigt ein breites Korrelationssignal im Bereich von $\delta_{(11\text{B})} = 12$ ppm bis $\delta_{(11\text{B})} = 23$ ppm und von $\delta_{(31\text{P})} = 0$ ppm bis $\delta_{(31\text{P})} = 6$ ppm, sodass die Phosphate, die den Resonanzen bei $\delta_{(31\text{P})} = 2,3$ ppm

und $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5$ ppm zuordnet werden, keine räumliche Bevorzugung zu einer bestimmten Boratgruppe aufweisen.

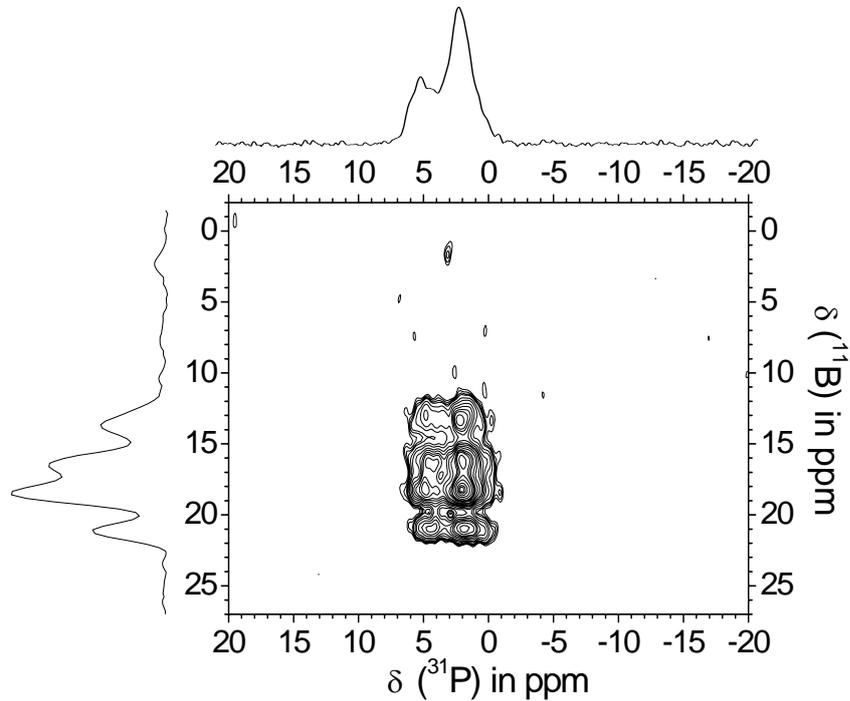


Abbildung 4.1-12: ^{11}B - ^{31}P -HETCOR-NMR-MAS-Spektrum (Mitte) mit den Summenprojektionen von $\delta_{(^{11}\text{B})} = 12\text{ppm}$ bis $\delta_{(^{11}\text{B})} = 23\text{ppm}$ (oben) und von $\delta_{(^{31}\text{P})} = 0$ ppm bis $\delta_{(^{31}\text{P})} = 6$ ppm (links) bei einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 8$ ms

4.1.2.3 Berechnung der stöchiometrischen Zusammensetzung der BCaP-Phase

Wie im vorherigen Kapitel gezeigt, besteht die Probe BHAp aus zwei Phasen. Zur Abschätzung der stöchiometrischen Zusammensetzung der BCaP-Phase wird der wahrscheinlichste Wert der relativen Phosphatanteile in der Probe verwendet. Des Weiteren ist die Zusammensetzung der Probe BHAp, mittels ICP bestimmt, mit $10,46\text{CaO} \cdot 5,72\text{PO}_{2,5} \cdot 0,47\text{BO}_{1,5} \cdot (x\text{H}_2\text{O})$ bekannt. Mithilfe der Zusammensetzung von kristallinem Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) kann nun die stöchiometrische Zusammensetzung der BCaP-Phase erhalten werden. Die sehr geringen Anteile an BO_2^- -, HPO_4^{2-} - Gruppen und Wasser in der Probe werden bei der Berechnung vernachlässigt.

Zuerst wird vom Gesamtphosphatbestand der Phosphatanteil des kristallinen HAp, ausgehend von einem Anteil von 30mol%, subtrahiert. Damit verbleiben für die BCaP-Phase 3,92mol Phosphatgruppen $((\text{PO}_4)_{3,92})^1$.

¹ $5,72 - (0,3 \cdot 6) = 3,92$

Es wurde das Verhältnis von OH⁻-Protonen der HAp-Phase zu den OH⁻-Protonen der BCaP-Phase durch Liniensimulation des ¹H-MAS-NMR-Spektrums im Bereich von $\delta_{(1H)} = -2$ ppm bis $\delta_{(1H)} = 2$ ppm und anschließende Integration bestimmt. Aus diesem Verhältnis ($\text{OH}_{\text{HAp}} : \text{OH}_{\text{BCaP}} = 72 : 28$) wurde der OH⁻-Protonen-Anteil in der BCaP-Phase erhalten. Der stöchiometrische Anteil für die Calciumionen in der BCaP-Phase wird durch die Elektroneutralität vorgegeben. Zum Schluss wird die stöchiometrische Zusammensetzung der BCaP-Phase auf sechs Phosphatgruppen normiert. Damit erhält man eine Zusammensetzung von $\text{Ca}_{10,26}(\text{PO}_4)_6(\text{BO}_3)_{0,72}(\text{OH})_{0,36}$. Die ermittelte Zusammensetzung ist literaturbekannten Zusammensetzungen²² ähnlich.

Die gleiche Verfahrensweise wird für die Berechnung der Fehlergrenzen angewendet. Damit ergibt sich die folgende Tabelle 4-2.

Tabelle 4-2: Zusammenstellung der stöchiometrischen Zusammensetzung der BCaP-Phase unter Einbeziehung des relativen Phosphatanteils in HAp unter Betrachtung der Fehlergrenzen

relativer Phosphatanteil in HAp ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)	Stöchiometrische Zusammensetzung der BCaP-Phase
30% HAp	$\text{Ca}_{10,26}(\text{PO}_4)_6(\text{BO}_3)_{0,72}(\text{OH})_{0,36}$
35% HAp	$\text{Ca}_{10,40}(\text{PO}_4)_6(\text{BO}_3)_{0,78}(\text{OH})_{0,46}$
25% HAp	$\text{Ca}_{10,16}(\text{PO}_4)_6(\text{BO}_3)_{0,67}(\text{OH})_{0,28}$

4.1.2.4 Nachweis der HAp-ähnlichen Grenzfläche

Die Zusammensetzung der BCaP-Phase ergab ein OH⁻-Anteil von 28mol%, wobei noch nicht geklärt worden ist, ob alle Phosphate ($\delta_{(31P)} = 2,3$ ppm und $\delta_{(31P)} = 5$ ppm) Protonen in der räumlichen Nähe aufweisen. Daher bietet sich das ³¹P{¹H}-REDOR-NMR-Verfahren an, welches zur Selektion der Phosphate in der BCaP-Phase um einen ¹¹B-³¹P-Kreuzpolarisationsschritt erweitert wurde. Das ¹¹B-³¹P-CPMAS-³¹P{¹H}-REDOR-NMR-Verfahren zeigt somit an, welche der in der BCaP-Phase enthaltenen Phosphate Protonen in ihrer räumlichen Umgebung aufweisen. So ist es möglich Abstände zwischen Phosphatgruppen und Protonen in der BCaP-Phase zu bestimmen.

In Abbildung 4.1-13 sind die Spektren der ¹¹B-³¹P-CPMAS-³¹P{¹H}-REDOR-Experimente mit kurzer und langer Evolutionszeit ($\tau_{\text{Deph},1} = 0,48$ ms; $\tau_{\text{Deph},2} = 1,76$ ms) zu sehen. Die ¹¹B-³¹P-CPMAS-³¹P-RSE-MAS-NMR-Spektren (S₀, schwarze Linie) zeigen die bekannten

Signale bei $\delta_{(31P)} = 2,3\text{ppm}$ und $\delta_{(31P)} = 5\text{ppm}$. Durch Wiedereinschalten der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung kommt es zu einem Rückgang der Signalintensität bei den Resonanzen $\delta_{(31P)} = 2,3\text{ppm}$ und $\delta_{(31P)} = 5\text{ppm}$ (S, blaue Linie). Somit besitzen die zugehörigen Phosphate Protonen in ihrer räumlichen Umgebung. Allerdings zeigen die Differenzspektren (ΔS , rote Linie) bei kurzer ($\tau_{\text{Deph},1} = 0,48\text{ms}$) und langer ($\tau_{\text{Deph},2} = 1,76\text{ms}$) Evolutionszeit eine Verschiebung des Maximums um $\Delta\delta_{(31P)} = 0,5\text{ppm}$ im Bereich des $\delta_{(31P)} = 2,3\text{ppm}$ -Signals. Somit besteht die Resonanz aus zwei Komponenten, deren zugehörige Phosphate unterschiedliche Dephasierungszeiten aufweisen.

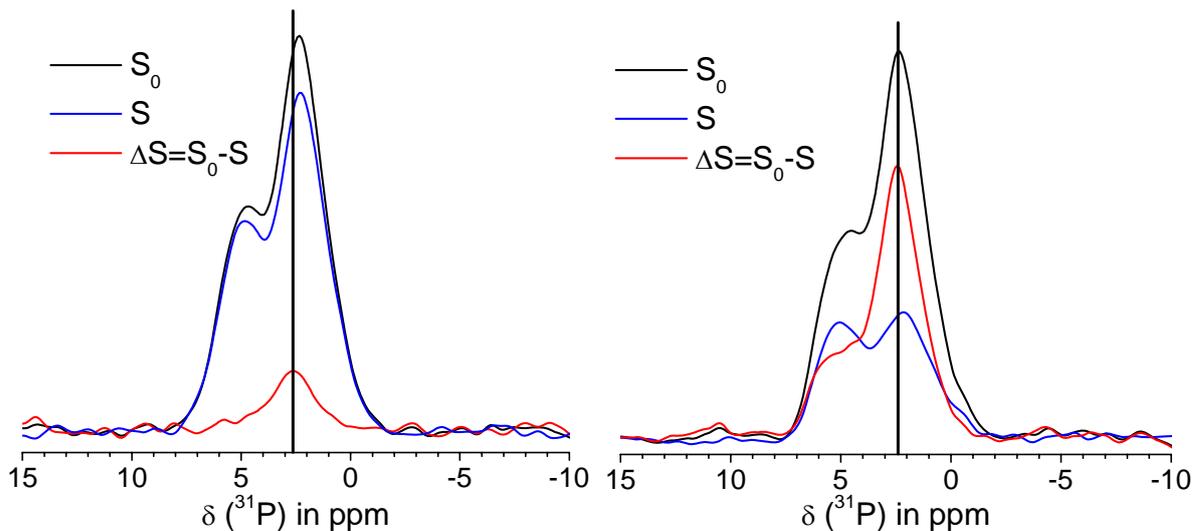


Abbildung 4.1-13: ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Verfahren mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph},1} = 0,48\text{ms}$ (links) und $\tau_{\text{Deph},2} = 1,76\text{ms}$ (rechts) mit den jeweiligen Spektren S_0 (schwarze Linie), S (blaue Linie) und ΔS (rote Linie)

Der Vergleich der Linienform des Differenzspektrums bei einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph},1} = 0,48\text{ms}$ mit dem Schnitt in der direkten Dimension bei $\delta_{(1H)} = 0\text{ppm}$ aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum (vgl. Abbildung 4.1-9) ergibt eine isotrope chemische Verschiebung ähnlich zu der des kristallinen HAp, wobei allerdings die doppelte Linienbreite vorliegt. (Abbildung 4.1-14). Daher kann geschlussfolgert werden, dass nicht nur zwei (wie in Kapitel 4.1.2.2 gezeigt), sondern drei Phosphatspezies beobachtet werden.

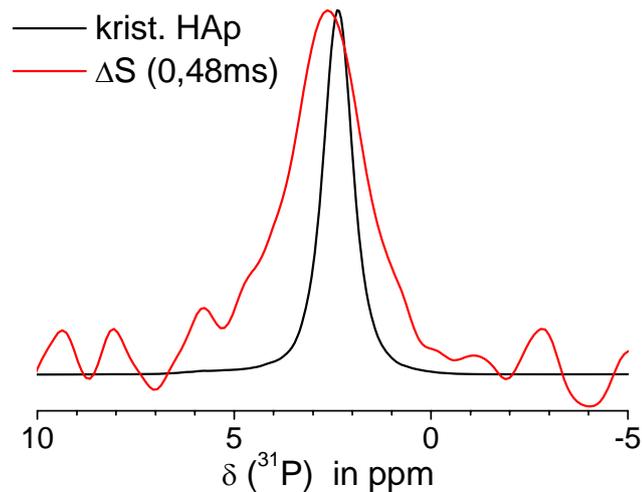


Abbildung 4.1-14: Vergleich der Linienform des von kristallinen HAp (Schnitt bei $\delta_{(1H)} = 0$ ppm aus dem 1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{CP} = 2$ ms) und des Differenzspektrums ΔS bei einer Evolutionszeit von $\tau_{Deph,1} = 0,48$ ms

Zudem kann geschlussfolgert werden, dass die Phosphatgruppe, die der Resonanz bei $\delta_{(31P)} = 5$ ppm zugeordnet wird, Protonen in räumlicher Umgebung hat, und somit dem Kreuzsignal $\delta_{(1H)} = -0,6$ ppm/ $\delta_{(31P)} = 5,5$ ppm im 1H - ^{31}P -HETCOR-NMR-Spektrum entspricht.

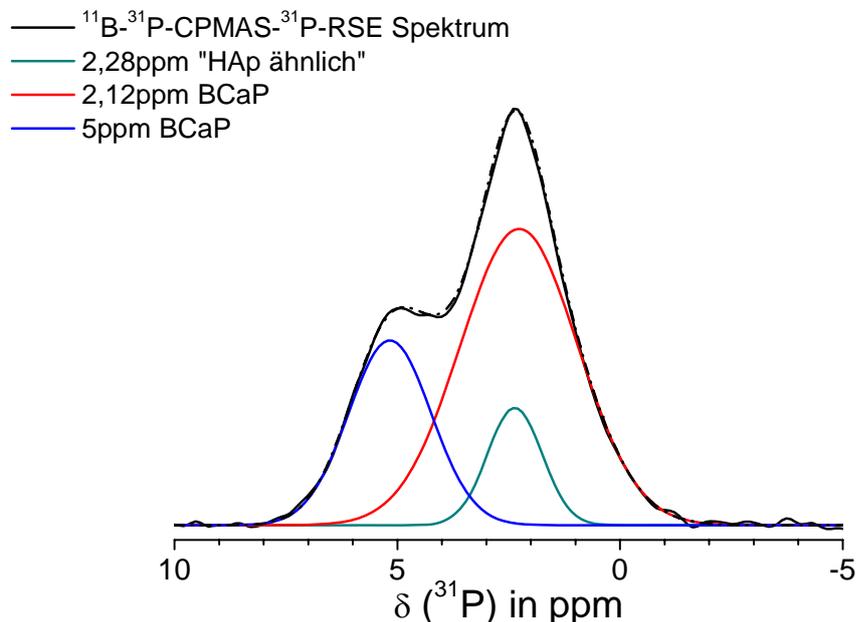


Abbildung 4.1-15 Liniensimulation des ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- ^{31}P -RSE-MAS-NMR-Spektrum S_0 mit den drei Resonanzen $\delta_{(31P)} = 2,12$ ppm, $\delta_{(31P)} = 5$ ppm und $\delta_{(31P)} = 2,28$ ppm bei einer Evolutionszeit von $\tau_{Deph} = 0,16$ ms

Bei der anschließend durchgeführten Linienformanalyse der ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}P\{^1H\}$ -REDOR-MAS-NMR-Spektren mit DMFit⁸⁰ konnten drei Resonanzen bei $\delta_{(31P)} = 2,12$ ppm,

$\delta_{(31P)} = 5 \text{ ppm}$ und $\delta_{(31P)} = 2,28 \text{ ppm}$ (Abbildung 4.1-15) und deren REDOR-Kurven (Abbildung 4.1-16) ermittelt werden. Die Messunsicherheiten der REDOR-Kurven wurden über die Bestimmung der S/N-Verhältnisse in den ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Spektren abgeschätzt.

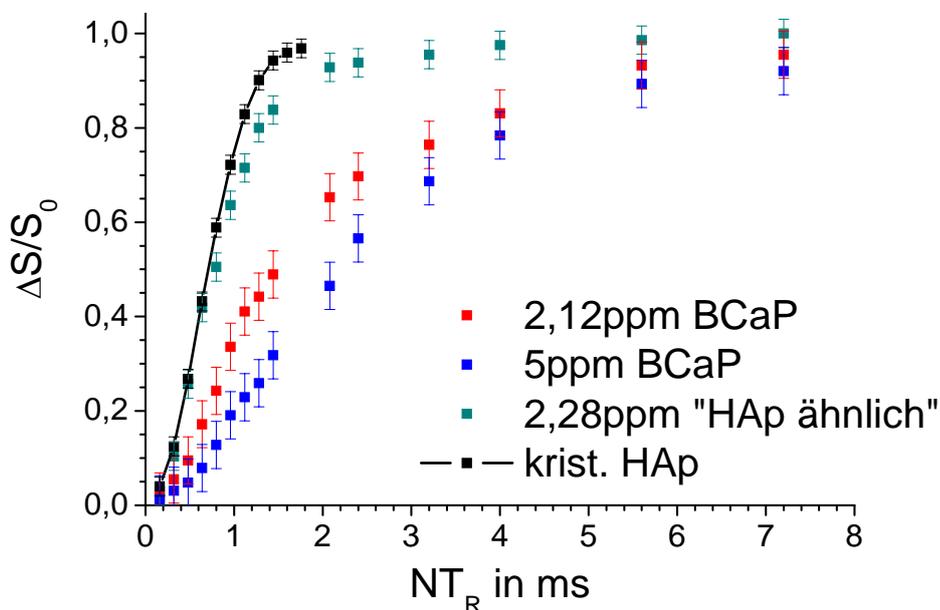


Abbildung 4.1-16: ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Kurven für die Resonanzen $\delta_{(31P)} = 2,12 \text{ ppm}$, $\delta_{(31P)} = 5 \text{ ppm}$ und $\delta_{(31P)} = 2,28 \text{ ppm}$ mit der $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Kurve für den kristallinen HAp

Die zur $\delta_{(31P)} = 2,28 \text{ ppm}$ -Resonanz zugehörige REDOR-Kurve verläuft ähnlich einer $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Kurve des $\delta_{(31P)} = 2,3 \text{ ppm}$ -Signals von kristallinem HAp (Abbildung 4.1-16; schwarze Linie). Somit kann das $\delta_{(31P)} = 2,28 \text{ ppm}$ -Signal einem HAp-ähnlichen Phosphat zugeordnet werden. Allerdings weist die deutlich größere Linienbreite (HWB = 1,5 ppm) verglichen zum HAp auf einen nicht-kristallinen Charakter dieses Phosphates hin. Es wird vermutet, dass diese Phosphatspezies Bestandteil einer Grenzschicht zwischen BCaP-Phase und HAp-Phase ist. Diese Vermutung wird auch durch das später gezeigte $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Verfahren gestützt.

Die REDOR-Kurven der beiden anderen Resonanzen zeigen einen deutlich geringeren Anstieg, als die des $\delta_{(31P)} = 2,28 \text{ ppm}$ -Signals. Daher ist die effektive, heteronukleare dipolare Kopplung zwischen Phosphor und Protonen gering und somit der Abstand größer.

Aus den REDOR-Kurven kann nun die effektive, heteronukleare dipolare Kopplung D_{eff} bzw. das effektive zweite Momente $M_{2, \text{eff}}$ berechnet werden (vgl. Kapitel 2.2.3.6). Die möglichen

minimalen Abstände zwischen Phosphatspezies und Protonen sind in Tabelle 4-3 zusammengefasst.

Tabelle 4-3: Auflistung der minimalen Abstände zwischen Phosphatspezies zu einem Proton (2-Spin-System) oder zu zwei Protonen (3-Spin-System) unter Betrachtung der effektiven, heteronuklearen dipolaren Kopplung D_{eff}

$\delta_{(31\text{P})}$	effektive dipolare Kopplung D_{eff}	minimaler Abstand zwischen Phosphatspezies und Proton(en)	
		zu einem Proton	zu zwei Protonen
2,28ppm	$(1019 \pm 114)\text{Hz}$	$(360 \pm 10)\text{pm}$	$(410 \pm 10)\text{pm}$
2,12ppm	$(576 \pm 65)\text{Hz}$	$(440 \pm 20)\text{pm}$	$(490 \pm 20)\text{pm}$
5 ppm	$(375 \pm 56)\text{Hz}$	$(510 \pm 30)\text{pm}$	$(570 \pm 30)\text{pm}$

Um zu klären, welche der in der Probe vorliegenden Protonen (OH^- , H_2O und HPO_4^{2-}) sich in der Nähe der Boratgruppen befinden, wurde das $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Verfahren durchgeführt.

In Abbildung 4.1-17 (links) ist das ^1H -RSE-MAS-NMR-Spektrum (S_0 , schwarze Linie), ^1H -RSE-MAS-NMR-Spektrum mit 180° - ^{11}B -Impulsen vor dem 180° - ^1H -Echoimpuls (S, blaue Linie) und das Differenzspektrum (ΔS , rote Linie) bei einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 5,76\text{ms}$ dargestellt.

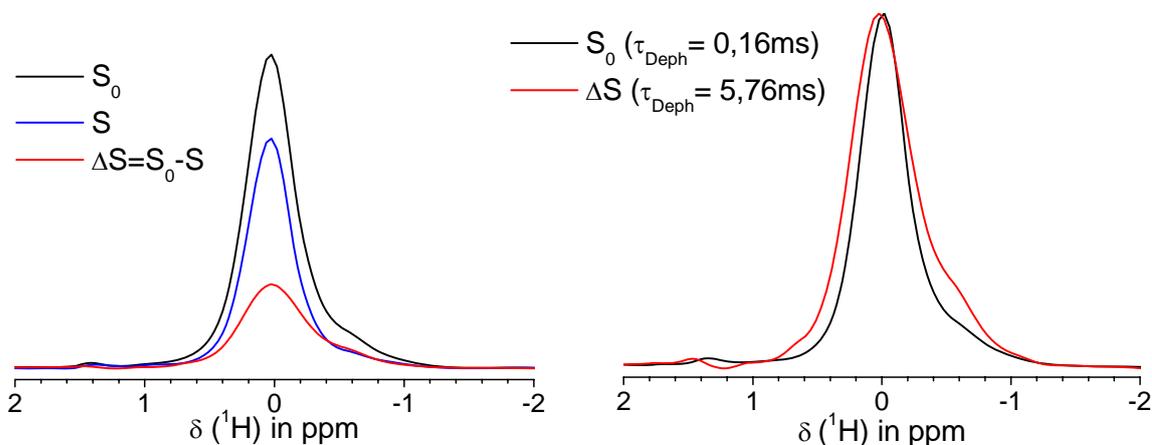


Abbildung 4.1-17: $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Verfahren mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 5,76\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (schwarze Linie), dem Spektrum S (blaue Linie) und dem Differenzspektrum ΔS (rote Linie) im Bereich von $\delta_{(1\text{H})} = -2\text{ ppm}$ bis $\delta_{(1\text{H})} = 2\text{ ppm}$ (links); Vergleich der Linienform des Differenzspektrums $\Delta S = 5,76\text{ms}$ mit dem ^1H -RSE-MAS-NMR-Spektrum bei einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 0,16\text{ms}$

Das $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Differenzspektrum besteht im Bereich von $\delta_{(1\text{H})} = -2$ ppm bis $\delta_{(1\text{H})} = 2$ ppm aus zwei Komponenten. Zum einen aus dem erwarteten Signal bei $\delta_{(1\text{H})} = -0,6$ ppm, da diese Resonanz bereits den Protonen (OH^-) der BCaP-Phase zugeordnet wurde (vgl. ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Verfahren), und zum anderen aus einem Signal bei $\delta_{(1\text{H})} = 0$ ppm, welches aufgrund der isotropen chemischen Verschiebung den OH^- -Protonen des HAp zugeordnet wird.

Das ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektrum zeigte, dass keine Boratgruppen im kristallinen HAp vorhanden sind. Einen Linienbreitenvergleich der Resonanz $\delta_{(1\text{H})} = 0$ ppm zwischen dem ^1H -RSE-MAS-NMR-Spektrum bei einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 0,16$ ms und dem $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Differenzspektrum bei einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 5,76$ ms ergab eine deutliche Zunahme der Linienbreite (Abbildung 4.1-17, rechts). Dementsprechend kann es sich nicht um die Resonanz handeln, die dem kristallinen Hydroxylapatit zugeordnet wurde. Viel mehr liegt die Vermutung nahe, dass es sich um eine Protonenspezies handelt, die, wie schon am Beispiel der Phosphoresonanz bei $\delta_{31\text{P}} = 2,28$ ppm gezeigt wurde, in einer HAp-ähnlichen Struktur vorhanden ist, und somit sich in der Grenzfläche befindet (vgl. ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Verfahren).

Vergleicht man nun die Stärke des Intensitätsrückgangs der Signale bei $\delta_{(1\text{H})} = -0,6$ ppm und $\delta_{(1\text{H})} = 0$ ppm, stellt man fest, dass der Signalrückgang beim ersten Signal größer ist ($\Delta S/S_0 \sim 0,5$ ($\tau_{\text{Deph}} = 5,76$ ms)) als beim zweiten Signal ($\Delta S/S_0 \sim 0,3$ ($\tau_{\text{Deph}} = 5,76$ ms)). Ausgehend von einer ähnlichen Anzahl der OH^- -Protonen in räumlichen Umgebung zu Boratgruppen, kann vermutet werden, dass die OH^- -Protonen in der BCaP-Phase einen kleineren Abstand zu Boratgruppen besitzen, als die OH^- -Protonen in der Grenzfläche.

Der Bereich von $\delta_{(1\text{H})} = 3$ ppm bis $\delta_{(1\text{H})} = 10$ ppm zeigt dagegen ein anderes Verhalten. Der Signalintensitätsrückgang bei den Resonanzen $\delta_{(1\text{H})} = 5$ ppm und $\delta_{(1\text{H})} = 7,5$ ppm ist auch bei langen Evolutionszeiten nur sehr gering (Abbildung 4.1-18), sodass sich die Boratgruppen nur in einem größeren Abstand zu diesen Protonen (Wasser- bzw. HPO_4^{2-} -Protonen) befinden. Es kann vermutet werden, dass sich die Wasserspezies bzw. die HPO_4^{2-} -Gruppen außerhalb der BCaP-Phase befinden und daher der Oberfläche zugeordnet werden können.

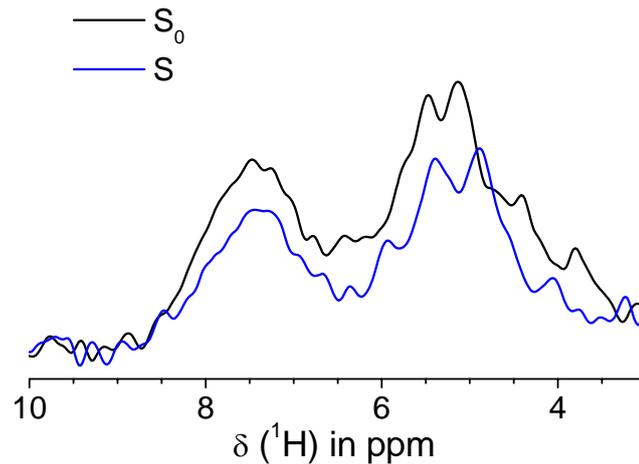


Abbildung 4.1-18: $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Verfahren mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 5,76\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (schwarze Linie) und dem Spektrum S (blaue Linie) im Bereich von $\delta_{(^1\text{H})} = 3\text{ppm}$ bis $\delta_{(^1\text{H})} = 10\text{ppm}$ (links)

4.1.2.5 Kern-Schale-Modell

Die Probe BHAp besteht aus drei Phasen (HAp-, BCaP-Phase und HAp-ähnliche Grenzfläche). Die nanokristalline HAp-Phase konnte sowohl anhand der Reflexe im Diffraktogramm, als auch über das Kreuzsignal $\delta_{(^1\text{H})} = 0\text{ppm} / \delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ im ^1H - ^{31}P -HETCOR-NMR-Spektrum nachgewiesen werden, wobei sich die Nanokristallinität durch die größere Linienbreite verglichen zu kristallinem HAp zeigte. Die Detektion von ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektren und das Kreuzsignal bei $\delta_{(^1\text{H})} = -0,6\text{ppm} / \delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$ im ^1H - ^{31}P -HETCOR-NMR-Spektrum führte zur Schlussfolgerung, dass eine BCaP-Phase vorhanden ist. Des Weiteren konnte aus dem ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Verfahren das Vorhandensein einer neuen Phosphatspezies nachgewiesen werden. Da diese einen HAp-ähnlichen Charakter besitzt, wurde vermutet, dass sie einer Grenzschicht zugeordnet werden kann, die sich zwischen der HAp- und der BCaP-Phase ausgebildet hat. Diese Vermutung wird durch das $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-NMR-Verfahren gestützt.

Vergleicht man das ^1H - ^{31}P -HETCOR-NMR-Spektrum bei einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2\text{ms}$ mit einem bei $\tau_{\text{CP}} = 8\text{ms}$ stellt man fest, dass auch der Bereich $\delta_{(^1\text{H})} = 3\text{ppm} \dots 10\text{ppm}$, der Wasser- bzw. HPO_4^{2-} Protonen zugeordnet wird, mit der Resonanz $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$, die Phosphat zugeordnet wird, bei der längeren Kontaktzeit korreliert. Dann korreliert auch die Protonenresonanz bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0\text{ppm}$ (OH⁻ Protonen des HAp bzw. HAp-ähnliche Grenzfläche) mit dem Phosphorsignal $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$ (Phosphat).

Aus der Literatur ist bekannt²⁷, dass nanokristalliner HAp aus einem Kern mit stöchiometrischen kristallinen HAp besteht, der von einer dünnen, röntgenamorphen Oberfläche, in der sowohl Wasserspezies als auch Hydrogenphosphatgruppen nachgewiesen werden konnten, umgeben ist.

Die Festkörper-NMR-Spektren der Probe BHAp zeigen ebenso nanokristallinen HAp und eine röntgenamorphe Schicht. Allerdings wurde durch das Anbieten von Borat während der Synthese eine borathaltige Phosphatphase gebildet, die als BCaP-Phase identifiziert wurde.

Es kann folgendes Modell aufgestellt werden. Die kristalline HAp-Phase bildet den Kern der Partikel, der von der Grenzfläche mit HAp-ähnlicher Struktur umschlossen und anschließend von der BCaP-Phase bedeckt wird (Abbildung 4.1-19).

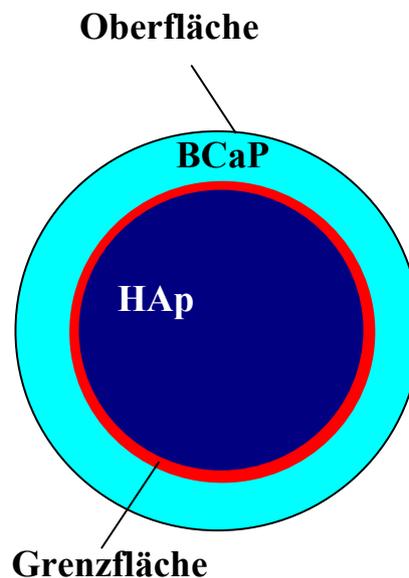


Abbildung 4.1-19: Modell zum Aufbau der BHAp-Partikel

Es konnte ein Phosphatbestand von 30mol% in der kristallinen HAp-Phase, 8 mol% in der Grenzfläche und 62mol% in der BCaP-Phase bestimmt werden. Eine detaillierte Beschreibung zur Berechnung der Phosphatbestandteile für die Grenzfläche und BCaP-Phase ist im Anhang (Kapitel 8.4) näher erklärt.

Aus SEM-Aufnahmen (vgl. Abbildung 4.2-22, links und Abbildung 4.2-24, links) ist ersichtlich, dass die Partikel eine annähernd kugelförmige Gestalt besitzen. Über die XRD wurde die durchschnittliche Größe des kristallinen HAp mit einem Volumen von $4,2 \cdot 10^6 \text{ nm}^3$ bestimmt. Daraus wird ein Radius von $r \sim 100 \text{ nm}$ für den kristallinen Kern erhalten, der einem Phosphatbestand von 30mol% entspricht. Die Einbeziehung der Grenzfläche mit 8 mol% Phosphat führt zu einer Schichtdicke von 8 nm. Für die BCaP-Phase erhält man eine

Schichtdicke von 42nm. Somit beträgt der Gesamtradius eines BHAp-Partikels $r \sim 150\text{nm}$, welcher um den Faktor 3 größer ist, als der eines typischen nanokristallinen HAp-Partikels²⁷.

4.1.2.6 Modell zum Aufbau der BCaP-Phase

Der Einbau der Boratgruppe in das Phosphatnetzwerk konnte durch Signal in ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektren nachgewiesen werden. Um eine bessere Vorstellung über die exakte Position der Boratgruppe im Phosphatnetzwerk zu bekommen, wurde das $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren durchgeführt. Dabei wird die heteronukleare Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Bor und Phosphor bestimmt, woraus der internukleare Abstand berechnet wird und Schlussfolgerungen zum Aufbau der BCaP-Phase gezogen werden.

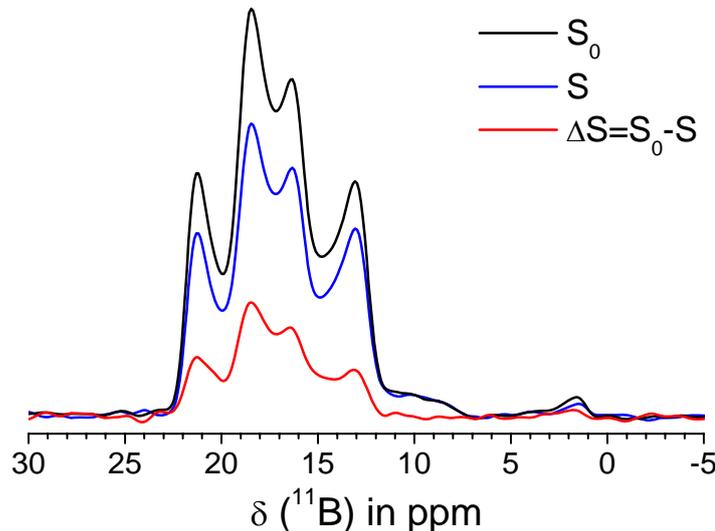


Abbildung 4.1-20: ^{11}B - ^{31}P -REDOR-Verfahren mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 1,12\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (schwarze Linie), dem Spektrum S (blaue Linie) und dem Differenzspektrum ΔS (rote Linie)

Die Abbildung 4.1-20 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum (schwarze Linie) mit den schon erwähnten Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 1,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 21,2\text{ppm}$. Eine Zuordnung der Resonanzen erfolgte bereits im Kapitel 4.1.2.1.

Die blaue Linie in Abbildung 4.1-20 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum S nach dem Wiedereinschalten der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Bor und Phosphor. Es kommt zum Rückgang der Signalintensität für alle Signale. Somit befinden sich sowohl die BO_3^{3-} -Gruppen als auch die BO_2^- -Gruppen in räumlicher Nähe zu Phosphatgruppen.

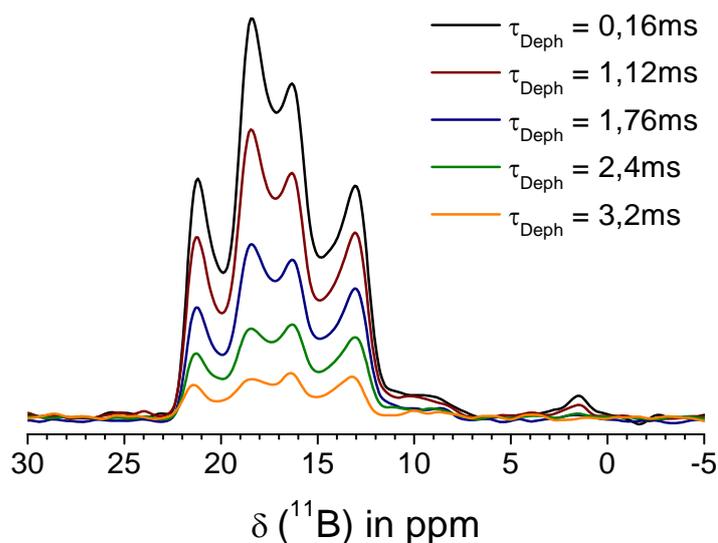


Abbildung 4.1-21: Spektren S bei Evolutionszeiten von $\tau_{\text{Deph}} = 0,16\text{ms}$ bis $\tau_{\text{Deph}} = 3,2\text{ms}$

Betrachtet man die Spektren S bei den Evolutionszeiten von $\tau_{\text{Deph}} = 0,16\text{ms}$ bis $\tau_{\text{Deph}} = 3,2\text{ms}$, zeigt sich ein stärkerer Rückgang der Signalintensität der Polstelle bei $\delta_{(11\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ verglichen zu den Polstellen $\delta_{(11\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(11\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, und $\delta_{(11\text{B})} = 21,2\text{ppm}$ (Abbildung 4.1-21). Daraus lässt sich schließen, dass eine Linienformveränderung der Borresonanz bei $\delta_{\text{iso}(11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (2)) vorliegen muss. Dieser Effekt tritt nur in den Spektren S auf, wurde bereits in Zeyer *et al.*⁸¹ beschrieben und wird auf die Abhängigkeit der relativen Orientierung des Quadrupoltensors zum Dipoltensor zurückgeführt. Damit liegt eine bestimmte Orientierung des Quadrupoltensor des Bors bezüglich des Dipoltensors zwischen Bor und Phosphor vor. Die Parallelität des Quadrupoltensors und Dipoltensors ist nicht vorhanden. Das kann durch oberflächennahes Bor und damit oberflächennahe Boratspezies erklärt werden.

Des Weiteren konnte in der Arbeit von Zeyer *et al.*⁸¹ gezeigt werden, dass die Orientierung des Quadrupoltensors zum Tensor der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung nur für die Linienform eine Rolle spielt und nicht für die REDOR-Kurve. Daher kann die REDOR-Kurve für die jeweilige Spezies, wie im nächsten Abschnitt beschrieben, ermittelt werden.

Die Ermittlung der REDOR-Kurve erfolgte nur für die beiden BO_3^{3-} -Gruppen $\delta_{\text{iso}(11\text{B})} = 23,3\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (1)) und $\delta_{\text{iso}(11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (2)), da für die BO_2^- -Gruppe die Signalintensität zu gering ist.

Um die REDOR-Kurven für die beide Resonanzen separat zu erhalten, wurde zunächst eine Liniensimulation für die Resonanz der BO_3^{3-} (1)- und BO_3^{3-} (2)-Gruppe mit DMFit⁸⁰ in den

Spektren S_0 durchgeführt. Da die ^{11}B -NMR-Spektren hauptsächlich nur aus diesen beiden Resonanzen bestehen, konnte die ^{11}B -NMR-Signallinienform im ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum durch die Linienformsimulation vollständig wiedergegeben werden (Abbildung 4.1-22, oben). Da sich die Linienform der BO_3^{3-} (2)-Gruppe mit zunehmender Evolutionszeit ändert, wurde diese durch Differenzbildung zwischen dem REDOR-Spektrum mit wiedereingekoppelter heteronuklearer dipolarer Kopplung und der Linienformsimulation der BO_3^{3-} (1)-Gruppe erhalten (Abbildung 4.1-22, unten strichpunktierte Linie).

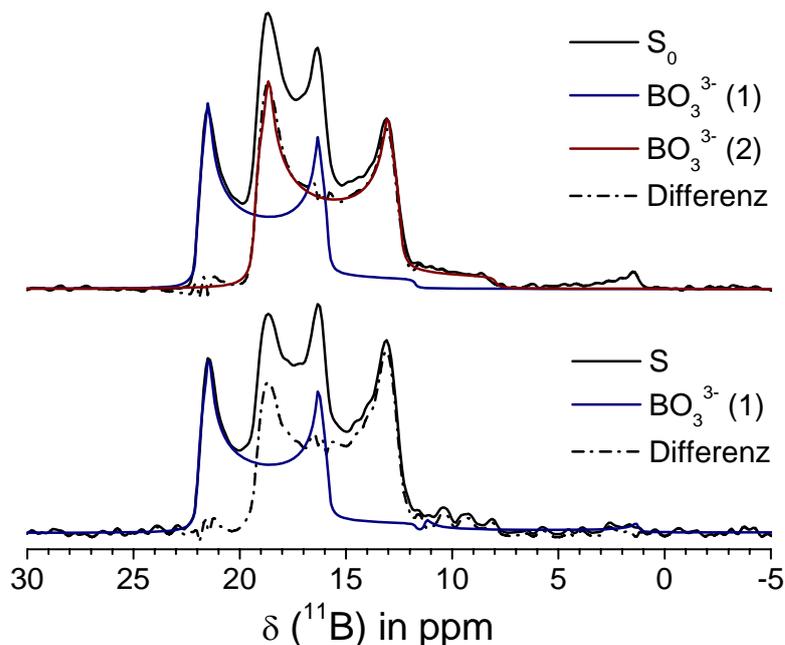


Abbildung 4.1-22: Spektrum S_0 mit entsprechender Liniensimulation für die Resonanz der BO_3^{3-} (1)- (blaue Linie) und BO_3^{3-} (2)-Gruppe und das Differenzspektrum (Differenzbildung zwischen dem Spektrum S_0 und der Liniensimulation der BO_3^{3-} (1)-Gruppe, strichpunktierte Linie) (oben); Spektrum S mit entsprechender Liniensimulation für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe (blaue Linie) und das Differenzspektrum (Differenzbildung zwischen dem Spektrum und der Liniensimulation der BO_3^{3-} (1)-Gruppe, strichpunktierte Linie) (unten) bei einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 2,08\text{ms}$

Dadurch konnten die Spektren S_0 und S für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe und BO_3^{3-} (2)-Gruppe bei verschiedenen Zeiten ermittelt und die jeweiligen REDOR-Kurven bestimmt werden. In Abbildung 4.1-23 ist deutlich zu erkennen, dass eine Linienformveränderung für die BO_3^{3-} (2)-Gruppe und keine Linienformveränderung für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe in den Spektren S vorliegt.

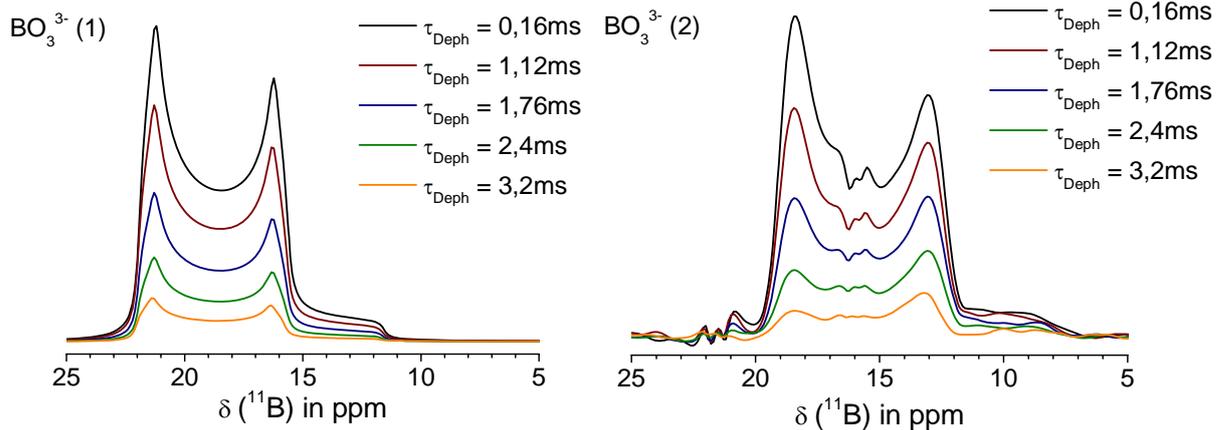


Abbildung 4.1-23: Liniensimulation der BO_3^{3-} (1)-Gruppe und die Differenzspektren der BO_3^{3-} (2)-Gruppe für die Spektren S bei Evolutionszeiten von $\tau_{\text{Deph}} = 0,16\text{ms}$ bis $\tau_{\text{Deph}} = 3,2\text{ms}$

Die REDOR-Kurven für BO_3^{3-} (1)- und BO_3^{3-} (2)-Gruppen sind in Abbildung 4.1-24 dargestellt. Die Messunsicherheiten für die beiden REDOR-Kurven wurden über die Bestimmung der S/N-Verhältnisse in den $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Spektren abgeschätzt. Der Verlauf der REDOR-Kurve für beide Spezies ist identisch. Als Referenz wurde eine REDOR-Kurve für die Substanz Borphosphat BPO_4 aufgenommen. In Borphosphat liegen vier B-O-P-Bindungen mit einem Abstand von $d = 273\text{pm}^{59}$ vor, die tetraedisch angeordnet sind. Da die REDOR-Kurve für die Substanz BPO_4 beziehungsweise die simulierte REDOR-Kurve für eine B-O-P-Bindung (Abbildung 4.1-24, rote Linie) viel steiler verläuft, als die REDOR-Kurve für beide BO_3^{3-} -Gruppen, kann diese Art der Bindung ausgeschlossen werden.

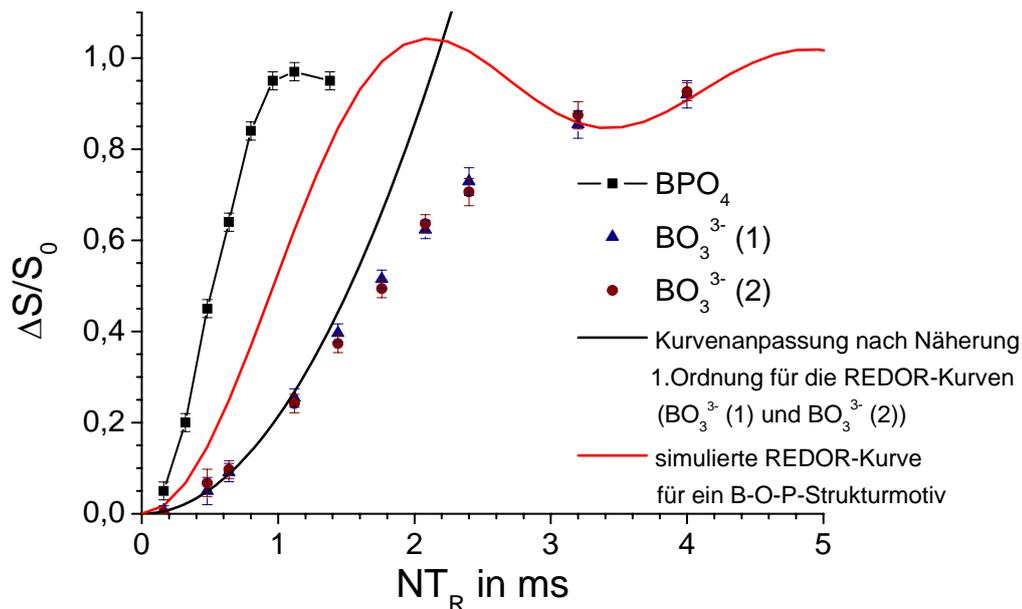


Abbildung 4.1-24: ^{11}B - ^{31}P -REDOR-Kurve für die Resonanzen $\delta_{\text{iso}}(^{11}\text{B}) = 23,3\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (1)) und $\delta_{\text{iso}}(^{11}\text{B}) = 20,6\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (2)) mit der Kurvenanpassung nach der Näherung 1. Ordnung für den Kurzzeitverlauf (schwarze Linie), der $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-Kurve für das Referenzmaterial BPO_4 und der simulierten REDOR-Kurve bei dem Vorliegen von nur einem B-O-P-Strukturmotiv (rote Linie)

Aus den beiden REDOR-Kurven kann nun das experimentelle effektive zweite Moment $M_{2, \text{eff}}$ bzw. die effektive, heteronukleare dipolare Kopplung D_{eff} berechnet werden (vgl. Kapitel 2.2.3.6.). Aus den beiden REDOR-Kurven erhält man nach einer Kurvenanpassung⁵⁶ durch die Näherung 1. Ordnung (Abbildung 4.1-24, schwarze Linie; Gleichung 2-32) und 2. Ordnung (Gleichung 2-33) des Kurzzeitverlaufs für beide BO_3^{3-} -Gruppen ein experimentelles zweites Moment von $(1,58 \cdot 10^6 \pm 3,1 \cdot 10^5) \text{s}^{-2}$.

Die gegenwärtige Literatur^{18, 22, 23} berichtet, dass beim Einbau der Boratgruppen in das HAp-Kristallgitter ein Austausch einer Phosphatgruppe durch eine Boratgruppe erfolgt (B-Platz). Bei der Annahme des Erhalts des HAp-Kristallgitters beim Austausch einer einzelnen Phosphatgruppe durch eine Boratgruppe (BO_3^{3-}) liegen 18 Phosphatgruppen in Nachbarschaft zur Boratgruppe vor. Die hypothetischen B-P-Abstände wurden aus der Kristallstruktur für Hydroxylapatit⁸² mit der Software Mercury 1.4.2 bestimmt und sind in Tabelle 4-4 angegeben.

Tabelle 4-4: Auflistung der B-P-Abstände

Anzahl der gleichen Bindungslängen	B-P-Abstände
2	410,9pm
2	468,7pm
4	499,6pm
2	547,9pm
2	627,6pm
4	675,5pm
2	687,9pm

Nach Gleichung 2-35 im Kapitel 2.2.3.6 wurde nun das theoretische zweite Moment berechnet, welche sich ergeben würde, wenn ein Austausch von einer Phosphatgruppe durch eine Boratgruppe vorliege. Es ergibt sich ein theoretisches zweites Moment⁵⁹ von $M_2 = 1,98 \cdot 10^6 \text{s}^{-2}$. Dieses stimmt nicht mit dem experimentellen effektiven zweiten Moment M_2 überein. Daher kann ein Austausch der Phosphatgruppe durch eine Boratgruppe unter Erhalt des HAp-Kristallgitters ausgeschlossen werden. Es wird viel mehr vermutet, dass eine Neuordnung des Phosphatnetzwerkes vorliegt.

Um eine Vorstellung zum möglichen Aufbau der BCaP-Phase zu bekommen, wurde ein Beispielmodell entwickelt, welches nur die Anordnung der Boratgruppen und der Phosphatgruppen berücksichtigt. Die Calciumionen und OH-Gruppen werden vernachlässigt. Aus der bereits ermittelten Zusammensetzung der BCaP-Phase ($\text{Ca}_{10,26}(\text{PO}_4)_6(\text{BO}_3)_{0,72}(\text{OH})_{0,36}$) ergibt sich ein P/B-Verhältnis von 8,3:1. Unter Berücksichtigung des P/B-Verhältnisses wurden zur Entwicklung der Modellvorstellung die einfachsten Kristallsysteme^{71, 83, 84} herangezogen.

Eine Bestimmung der exakten Anzahl der Phosphatgruppen in Nachbarschaft zu den Boratgruppen und der exakten Abstände zwischen Borat- und Phosphatgruppen ist aufgrund der Grenzen des REDOR-Verfahrens nicht möglich. Da keine Kenntnisse zu den Winkeln der Kernspins im gegebenen Mehrspinsystem vorliegen, kann nur der Kurzzeitverlauf der REDOR-Kurve, der geometrieunabhängig ist, betrachtet werden. Es ist nur eine Berechnung von mittleren Abständen möglich. Daher können andere Möglichkeiten der Anordnung wie beispielsweise eine monokline, trikline oder hexagonale prinzipiell nicht ausgeschlossen werden.

Um das einfachst-mögliche Modell definieren zu können, wird für die analytische Auswertung angenommen, dass die Phosphatgruppen in gleichen Abständen zur Boratgruppe vorliegen. Nimmt man ein kubisches Gitter mit jeweils einer Phosphatgruppen an der Ecke und der Boratgruppe in der Mitte eines Kubus an, läge zunächst ein P/B-Verhältnis von 1:1 vor, da die Phosphatgruppen an den Ecken zu je 1/8 je Elementarzelle gezählt werden. Wenn dieses Gitter um weitere Kuben mit Phosphatgruppen an den Ecken und keiner Boratgruppe in der Mitte erweitert wird, dann wird ein P/B-Verhältnis von 8,3:1 erhalten (Abbildung 4.1-25).

Aus dem bereits bestimmten experimentellen effektiven zweiten Moment M_2 kann nun der minimale Abstand zwischen einer Boratgruppe und den acht relevanten Phosphatgruppen in Nachbarschaft berechnet werden (vgl. Gleichung 2-35). Damit ergibt sich ein minimaler Abstand zwischen Bor und Phosphor von $d = (460 \pm 20)\text{pm}$.

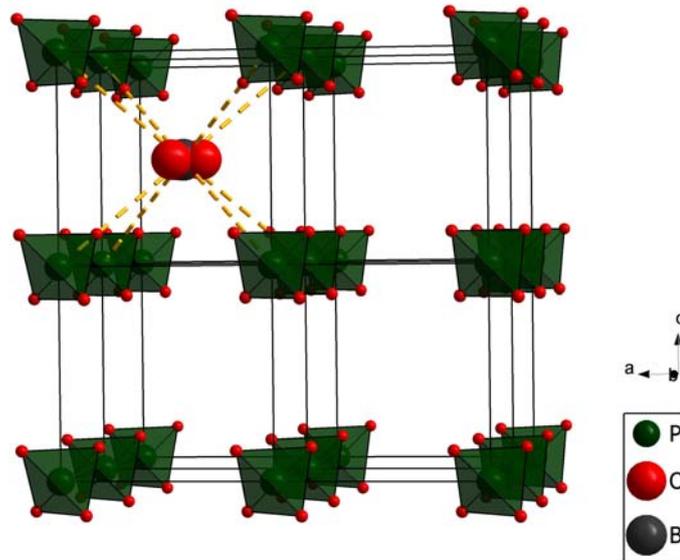


Abbildung 4.1-25: Modell zum Aufbau der BCaP-Phase

Unter der Annahme der oben genannten Bedingungen (gleiche P/B-Abstände und dem P/B-Verhältnis von 8,3:1) ist ebenso eine Anordnung eines tetragonalen oder orthorhombischen Gitters vorstellbar. Dabei ist der Aufbau der Elementarzelle die gleiche wie bei dem kubischen Gitter (Abbildung 4.1-25). Allerdings wären zusätzlich die Kantenlängen entsprechend der Bedingungen für ein tetragonales ($a = b \neq c$, $\alpha, \beta, \gamma = 90^\circ$) und orthorhombisches Gitters ($a \neq b \neq c$, $\alpha, \beta, \gamma = 90^\circ$) zu erfüllen.

4.1.2.7 Abstandsbestimmung der Protonen zu den Boratgruppen in der BCaP-Phase

Durch das $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-Verfahren konnte bereits bewiesen werden, dass nur die Protonen der OH-Gruppe, die sich in der BCaP-Phase befinden, einen kleineren Abstand zu den Boratgruppen aufweisen als die Protonen der OH⁻-Gruppe, die der Grenzfläche zugeordnet wurden. Zur Bestimmung des Abstands zwischen den Boratgruppen und Protonen der OH⁻-Gruppe (BCaP-Phase) wurde das $^{11}\text{B}\{-^1\text{H}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren durchgeführt.

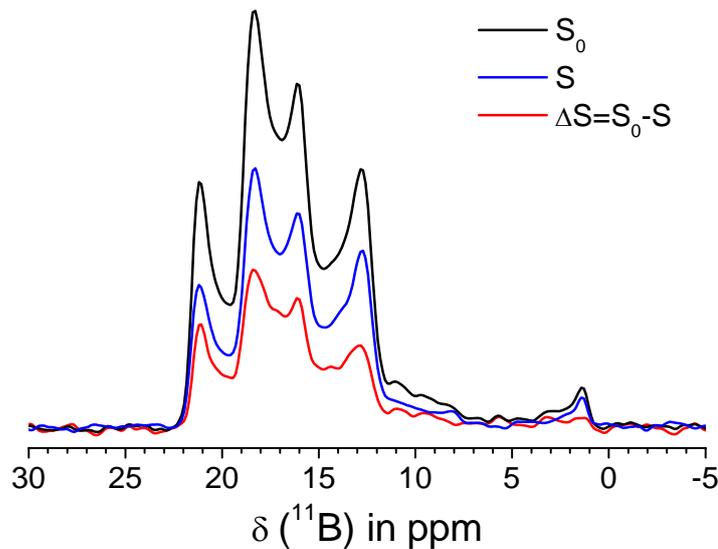


Abbildung 4.1-26: $^{11}\text{B}\{-^1\text{H}\}$ -REDOR-Verfahren mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 3,36\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (schwarze Linie), dem Spektrum S (blaue Linie) und dem Differenzspektrum ΔS (rote Linie)

Die Abbildung 4.1-26 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum (schwarze Linie) zeigt das mit den schon erwähnten Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 1,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 16,4\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 21,6\text{ppm}$. Eine Zuordnung der Resonanzen erfolgte bereits im Kapitel 4.1.2.1.

Die blaue Linie in Abbildung 4.1-26 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum nach dem Wiedereinschalten der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Bor und Protonen. Es kommt zum Rückgang der Signalintensität aller Signale. Damit befinden sich sowohl die BO_3^{3-} Gruppen als auch die BO_2^- -Gruppen in räumlicher Nähe zu den Protonen der OH-Gruppe.

Aufgrund der geringen Signalintensität für die BO_2^- -Gruppe wurde die REDOR-Kurve nur für die beiden BO_3^{3-} -Resonanzen ermittelt. Es wurde eine Liniensimulation der Spektren S_0 und S durchgeführt. Wie bereits im $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren beobachtet, zeigen

beide BO_3^{3-} -Signale den gleichen REDOR-Kurvenverlauf zueinander. Daher wird für beide BO_3^{3-} -Signale nur eine REDOR-Kurve dargestellt (Abbildung 4.1-27). Die Messunsicherheiten für die beiden REDOR-Kurven wurden über die Bestimmung der S/N-Verhältnisse in den ^{11}B - ^1H -REDOR-MAS-NMR-Spektren abgeschätzt.

Das experimentelle effektive zweite Moment wurde wie in Kapitel 2.2.3.6 beschrieben bestimmt und ergab einen Wert von $M_{2,\text{eff}} = (1 \cdot 10^6 \pm 1 \cdot 10^5) \text{s}^{-2}$. Damit liegt für ein 2-Spin-System ein minimaler ^{11}B - ^1H -Abstand von $d = (480 \pm 10) \text{pm}$ vor (vgl. Gleichung 2-35). Daher kann eine B-O-H-Bindung⁸⁵ ($d = 190 \text{pm}$) ausgeschlossen werden.

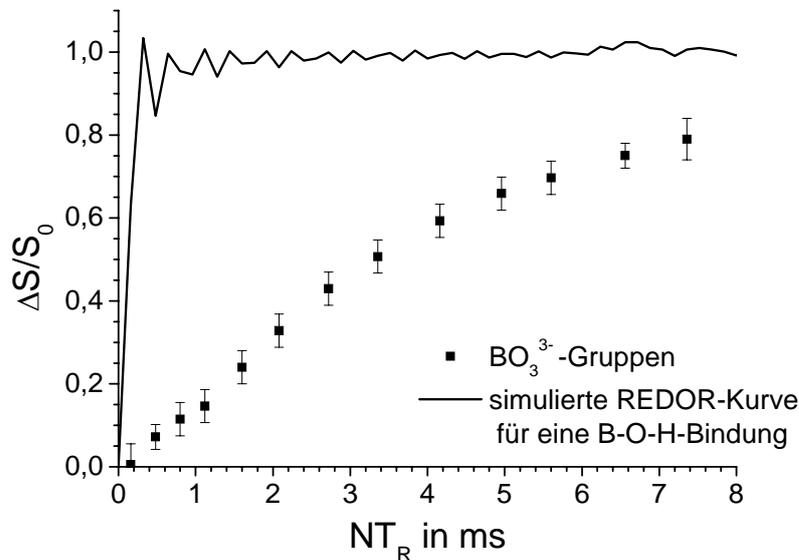


Abbildung 4.1-27: ^{11}B - $\{^1\text{H}\}$ -REDOR-Kurve für die beiden Resonanzen der BO_3^{3-} -Gruppen (schwarze Punkte) und der simulierten REDOR-Kurve eine B-O-H-Bindung ($d=190 \text{pm}$)

Da der Verlauf der REDOR-Kurve für ein Multispinsystem⁵⁶ spricht, sind die möglichen minimalen Abstände für ein 3-, 4- und 5-Spin-System in Tabelle 4-5 zusammengefasst.

Tabelle 4-5: Auflistung der minimalen Abstände zwischen einer Boratspezies zu Protonen unter Betrachtung des experimentell bestimmten effektiven zweiten Momentes von $M_{2,\text{eff}} = (1 \cdot 10^6 \pm 1 \cdot 10^5) \text{s}^{-2}$

Anzahl der Protonen	minimaler Abstand zwischen Boratspezies und Proton
zu zwei Protonen	$(540 \pm 10) \text{pm}$
zu drei Protonen	$(570 \pm 10) \text{pm}$
zu vier Protonen	$(600 \pm 10) \text{pm}$

Wendet man die möglichen minimalen Abstände zwischen einer Boratgruppe und den OH^- -Protonen ($\delta_{(^1\text{H})} = -0,6 \text{ppm}$) auf das einfachste Modell der BCaP-Phase (vgl. Abbildung

4.1-25) an, kann vermutet werden, dass sich die OH^- -Protonen in der Mitte der leeren Kuben aufhalten.

4.2 Strukturelle Charakterisierung der Probenserie 1



In der Probenserie 1 wurde zur Präparation von Hydroxylapatit bzw. borathaltigen Calciumphosphaten als Ausgangsstoffe Dicalciumdiphosphat $Ca_2P_2O_7$, Calciumcarbonat $CaCO_3$ und Boroxid B_2O_3 verwendet (vgl. Synthese Kapitel 3.2). Um den idealen Knochenersatzstoff zu finden, wurde die Zusammensetzung variiert. Die Probenserie 1 wurde mittels XRD, FTIR- (Kapitel 4.2.1) und Festkörper-NMR-Spektroskopie (Kapitel 4.2.2) charakterisiert. Zur Untersuchung der Bioaktivität der Probenserie 1 wurde als Methode^{73, 74} die "Simulated Body Fluid" genutzt. Schlussendlich wurde die Degradation⁷⁷ der Probenserie 1 untersucht (Kapitel 4.2.3).

4.2.1 FTIR-Spektroskopie, XRD

Die FTIR-Spektren (Abbildung 4.2-1) der Probenserie 1 zeigen die typischen Schwingungsbanden des Hydroxylapatits (HAp). Dabei werden die Banden bei $\nu = 569\text{cm}^{-1}$, $\nu = 602\text{cm}^{-1}$, $\nu = 961\text{cm}^{-1}$, $\nu = 1050\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 1092\text{cm}^{-1}$ den Phosphationen im Hydroxylapatit zugeordnet^{15, 18}. Des Weiteren werden in den Proben BHAp1, BHAp2 und BHAp3 die Schwingungsbanden im Bereich bei $\nu = 1206\text{-}1312\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 743\text{-}782\text{cm}^{-1}$ den BO_3^{3-} -Gruppen zugeordnet¹⁸, während die Banden bei $\nu = 1933\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 2003\text{cm}^{-1}$ den linearen BO_2^- -Gruppen entsprechen¹⁸.

Es fällt auf, dass die schwache Librationsschwingung der OH^- -Ionen bei einer Wellenzahl von $\nu = 631\text{cm}^{-1}$ und die Streckschwingung der OH^- -Ionen bei einer Wellenzahl von $\nu = 3572\text{cm}^{-1}$, die jeweils dem Hydroxylapatit zugeordnet¹⁵ wird, nur in den Proben HAp1 und BHAp1 detektiert werden. Zudem wird eine Bande in diesen Proben bei $\nu = 3643\text{cm}^{-1}$ beobachtet, die Calciumhydroxid¹⁸ zugeordnet werden kann.

In den Proben BHAp2 und BHAp3 werden Banden im Bereich von $\nu = 3400$ bis 3500cm^{-1} detektiert, welche Wassermolekülen, die auf der Oberfläche absorbieren, zugeordnet werden.

Weiterhin ist deutlich zu erkennen, dass ein Anstieg der Intensität der Banden bei 1933cm^{-1} und 2003cm^{-1} , die den linearen BO_2^- -Gruppen entsprechen, in der Reihenfolge $\text{BHAp1} < \text{BHAp2} < \text{BHAp3}$ beobachtet wird.

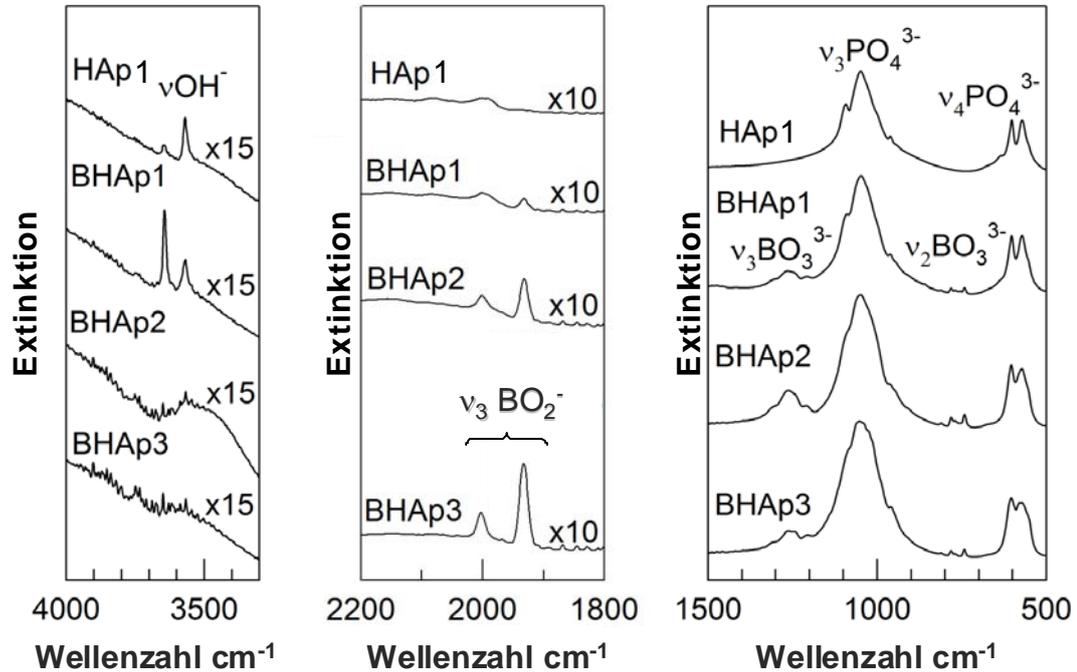


Abbildung 4.2-1: FTIR-Spektren der Probenserie 1

Die Röntgenpulverdiffraktogramme der Probenserie 1 zeigen Reflexe, die dem Hydroxylapatit zugeordnet werden können (JCPDS#09-0432)⁷⁹, wie im Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen Hydroxylapatiten (cHAp) zu sehen ist.

In der Probe BHAp1 ist in Spuren Calciumoxid (JCPDS#48-1467)⁷⁹ und in der Probe BHAp3 als Nebenprodukt α -Tricalciumphosphat (α -TCP, JCPDS#09-0348)⁷⁹ nachweisbar (Abbildung 4.2-2). Das Calciumoxid ist vermutlich bei der Zersetzung des Calciumcarbonats entstanden und blieb als unverbrauchtes Intermediat in der Probe zurück. Bei der Synthese der Probe BHAp3 wurde der Anteil an Calciumcarbonat reduziert, was die Bildung von α -Tricalciumphosphat begünstigt hat.

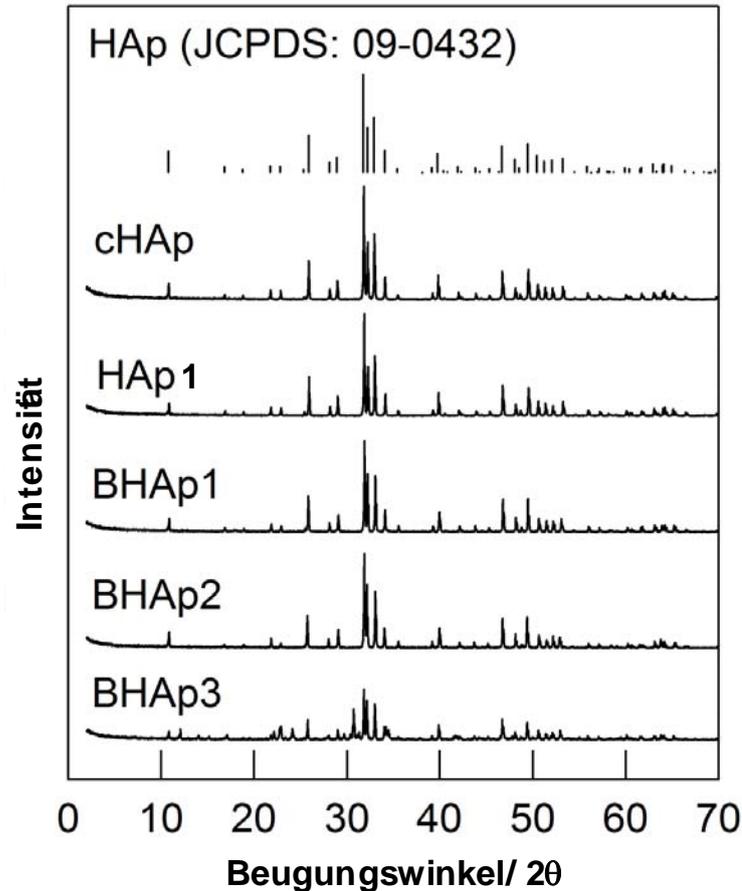


Abbildung 4.2-2: Röntgenpulverdiffraktogramme der Probenserie 1, des Referenzröntgenpulverdiffraktogramms der Probe cHAp und die Darstellung der Reflexpositionen von Hydroxylapatit (oben)

4.2.2 Festkörper-NMR-Spektroskopie

4.2.2.1 Grundcharakterisierung ^1H , ^{31}P , ^{11}B

Die Abbildung 4.2-3 zeigt die ^1H -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 1. Zum Vergleich wurde ein ^1H -MAS-NMR-Spektrum eines kommerziell erhältlichen Hydroxylapatits aufgenommen. Alle Spektren zeigen ein sehr intensives Signal bei $\delta(^1\text{H}) = 0$ ppm, das den OH^- -Protonen der kristallinen Phase des Hydroxylapatits HAp zuzuordnen²⁷ ist. Im Hochfeld vom Hauptsignal ist wiederum die Schulter bei $\delta(^1\text{H}) = -0,6$ ppm (vgl. Kapitel 4.1.2.1) erkennbar. Diese Resonanz wird den OH^- -Protonen, die sich in einer gestörten Oberflächenschicht (Probe cHAp und HAp1) beziehungsweise in der borathaltigen Calciumphosphatphase (Probe BHAp1, BHAp2 und BHAp3) befinden, zugeordnet. Die

Intensität dieser Resonanz nimmt mit Erhöhung des Boranteils zu. Daher wird vermutet, dass der HAp-Anteil abnimmt und sich der Anteil der BCaP-Phase erhöht.

Weiterhin tritt in allen Spektren ein gering intensives Signal bei $\delta(^1\text{H}) = 5 \text{ ppm}$ auf, das Kristallwasserprotonen zugeordnet wird²⁷. Im Gegensatz zum ^1H -MAS-NMR-Spektrum der Probe cHAp wird in den ^1H -MAS-NMR-Spektren der Proben der Probenserie 1 noch ein zusätzliches Signal bei $\delta(^1\text{H}) = 7,5 \text{ ppm}$ beobachtet, welches Hydrogenphosphatprotonen entspricht.

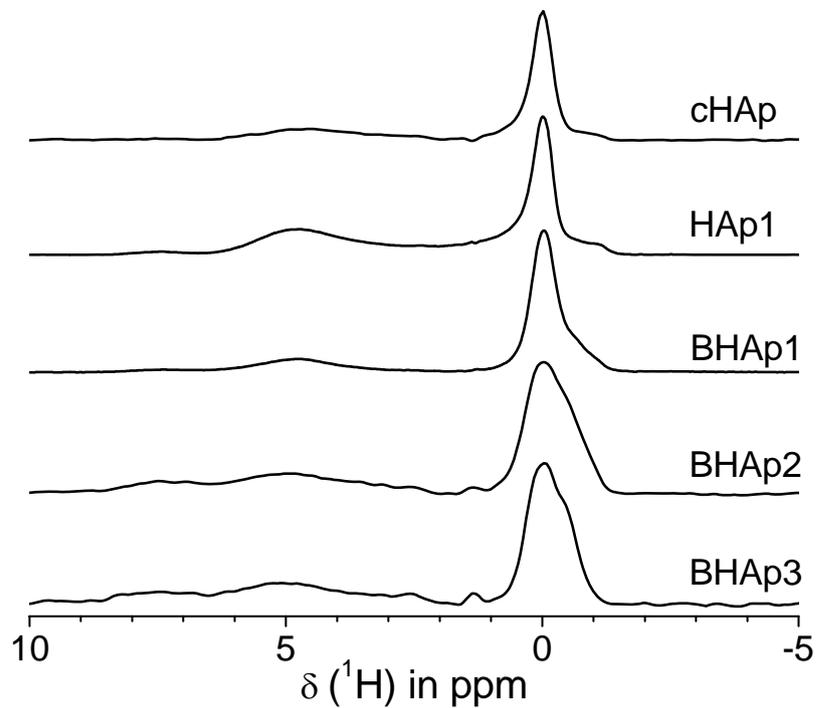


Abbildung 4.2-3: ^1H -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 1 und das ^1H -MAS-NMR-Referenzspektrum der Probe cHAp (oben)

Die ^{31}P -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 1 sind in Abbildung 4.2-4 dargestellt. Alle Spektren zeigen die Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$, die sich wieder aus einer schmalen und einer breiten Komponente zusammensetzt und deren Intensität sich erhöht, je höher der Boranteil ist. Das schmale Signal bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ kann der typischen Resonanz des Hydroxylapatits zugeordnet werden.

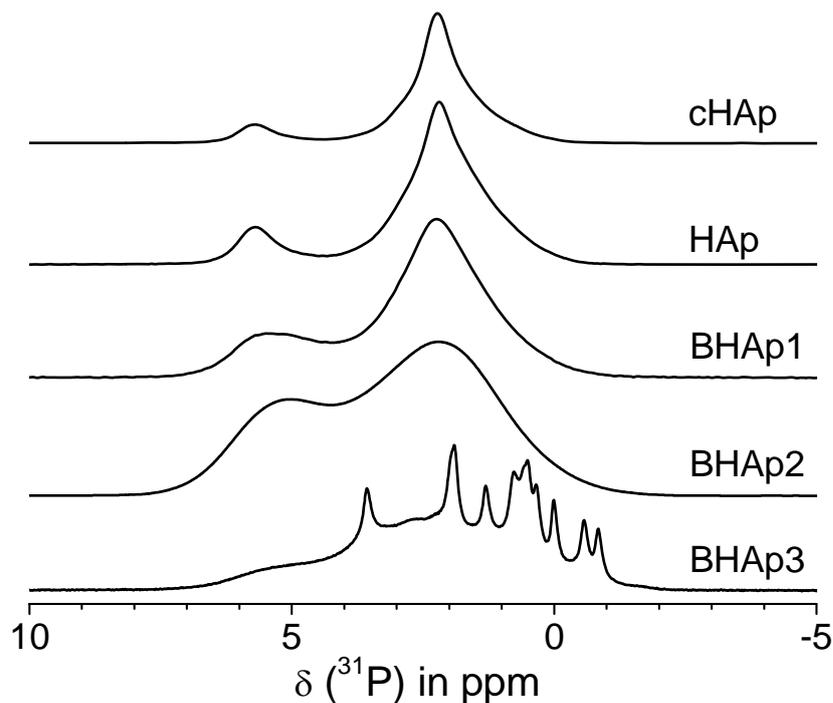


Abbildung 4.2-4: ^{31}P -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 1 und das ^{31}P -MAS-NMR-Referenzspektrum der Probe cHAp

Zum Vergleich wurde ein ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum des kommerziell erhältlichen HAp aufgenommen. Dabei fällt auf, dass neben der typischen $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ -HAp-Resonanz weitere Resonanzen, die nicht typisch für einen kristallinen HAp sind, in dem Spektrum dieser Probe beobachtet werden (Abbildung 4.2-5). Daher wurde auch für diese Probe der HAp-Anteil bestimmt.

Im ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp3 werden zudem noch Resonanzen des α -TCP beobachtet.

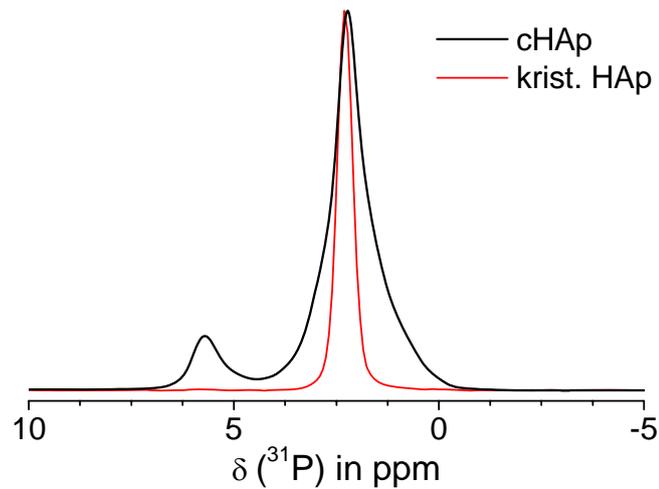


Abbildung 4.2-5: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe cHAp und vom kristallinen HAp

Die ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektren der Proben BHAp1, BHAp2 und BHAp3 zeigen wieder die Überlagerung von mindestens drei Signalen durch die Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 1,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 11\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 21,2\text{ppm}$ (vgl. Kapitel 4.1.2.1). Alle Resonanzen der drei ^{11}B -MAS-NMR-Spektren weisen die typische Pulverlinienform der Quadrupolwechselwirkung zweiter Ordnung auf. Bei Betrachten aller drei ^{11}B -MAS-NMR-Spektren fällt zudem die Zunahme der Intensität der Resonanz $\delta_{\text{iso}}(^{11}\text{B}) = 20\text{ppm}$, die BO_2^- zugeordnet wird, in der Reihenfolge BHAp1 < BHAp2 < BHAp3 auf.

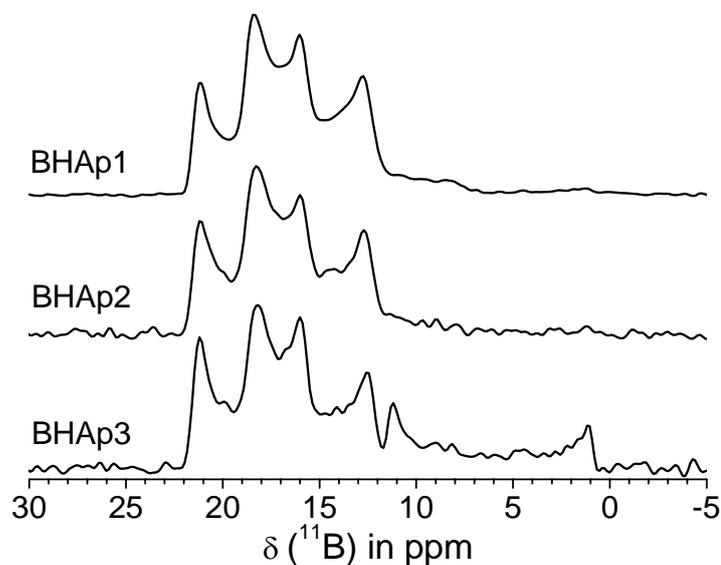


Abbildung 4.2-6: ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum der Proben BHAp1, BHAp2 und BHAp3

Die Resonanzen konnten mithilfe des ^{11}B -3Q-MAS-Experimentes aufgelöst werden. Am Beispiel der Probe BHAp3 ist das gescherte ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum (Abbildung 4.2-7) gezeigt, dass die drei Resonanzen bei $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 23,3\text{ppm}$ und $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 25,8\text{ppm}$ und $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 19,2\text{ppm}$ aufweist, die bereits in der Probe BHAp (vgl. Kapitel 4.1.2.1) beobachtet werden konnten.

Dementsprechend erfolgt die Zuordnung wie in Probe BHAp ($\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 23,3\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (1)), $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (2)) und $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 14,5\text{ppm}$ (BO_2^- (3)).

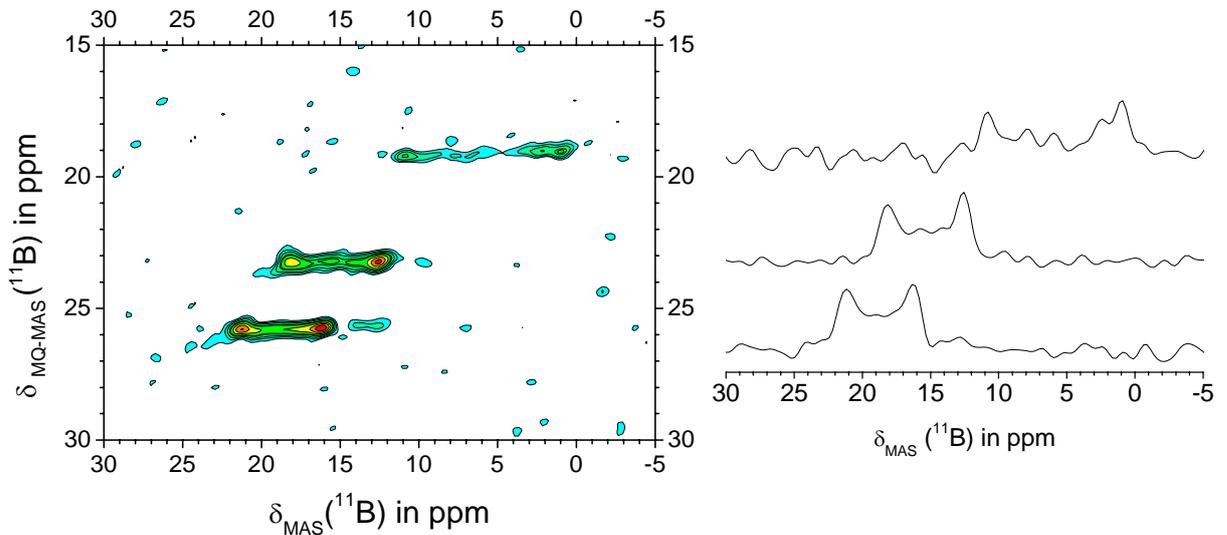


Abbildung 4.2-7: 3Q-MAS-NMR-Spektrum (links) mit den entsprechenden Summenprojektionen für die Resonanzen bei $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 19,5\text{ppm}$ bei $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 23,3\text{ppm}$ (rechts, Mitte) und $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 25,8\text{ppm}$ (rechts, unten)

4.2.2.2 Bestimmung des HAp-Anteils der Probenserie 1

Aufgrund dessen dass das ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe cHAp neben der Resonanz des HAp bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ noch eine breite Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ und eine Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$ zeigt (Abbildung 4.2-5), wurde zunächst der HAp-Anteil der Probe cHAp bestimmt (vgl. Kapitel 4.1.2.2).

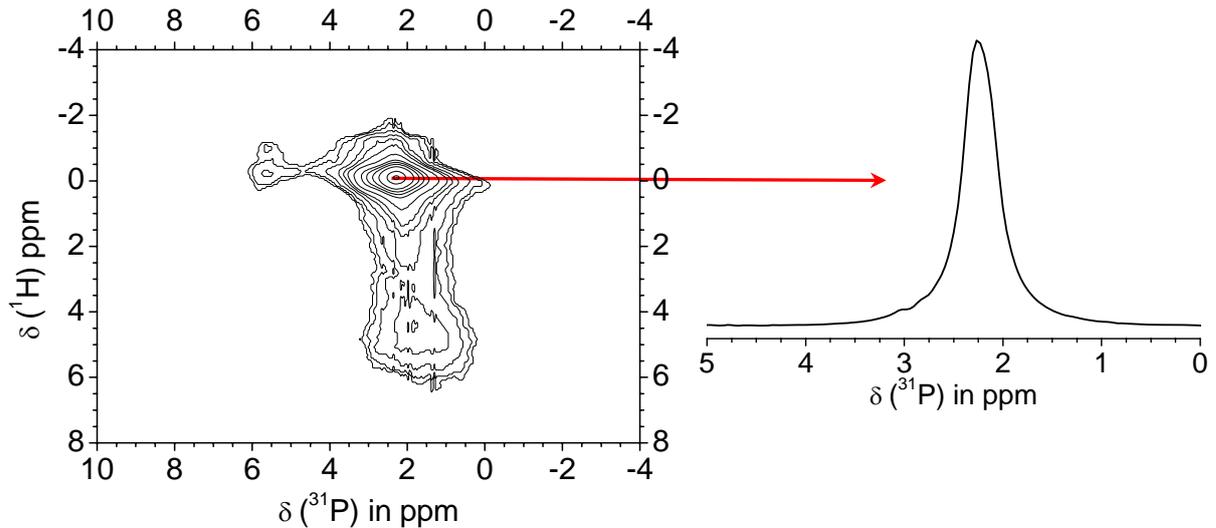


Abbildung 4.2-8: ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum (links) mit einem Schnitt bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm (rechts), in der direkten Dimension bei einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms

Das ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum zeigt (vgl. Kapitel 4.1.2.2) das typische Kreuzsignal für Hydroxylapatit bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm/ $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}^{27}$ und das Kreuzsignal bei $\delta_{(^1\text{H})} = 5$ ppm/ $\delta_{(^{31}\text{P})} = 1,8\text{ppm}$, das Phosphatgruppen mit Wasserspezies zugeordnet wird (Abbildung 4.2-8). Ebenso tritt das Kreuzsignal $\delta_{(^1\text{H})} = -0,6\text{ppm}$ / $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$ auf, das Phosphatgruppen, die in räumlicher Umgebung zu OH^- -Gruppen sind, entspricht und somit zur strukturell gestörten Oberflächenschicht gehört.

Zur Bestimmung des HAp-Anteils wird aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum der Schnitt in der direkten Dimension bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm extrahiert (Abbildung 4.2-8, rechts), da der Schnitt nur die Resonanz des Hydroxylapatits zeigt (vgl. Kapitel 4.1.2.2). Von dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum der Probe wird dann der skalierte Schnitt der direkten Dimension ($\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm) (Abbildung 4.2-9, links) subtrahiert. Die Differenz zwischen dem Integral des gesamten Phosphorspektrums und dem des Differenzspektrums ergibt den Anteil des kristallinen HAp. Der wahrscheinlichste Wert für die Probe cHAp liegt bei 14mol% (Abbildung 4.2-9, rechts Mitte).

Durch Änderung der Skalierung des Schnittes erhält man eine Abschätzung der Grenzen zur Bestimmung des HAp-Anteils. Die Differenzspektren zeigen beispielhaft einen kristallinen HAp-Anteil von jeweils 11mol% bzw. 16mol% (Abbildung 4.2-9, oben und unten). Aufgrund

der nicht-sinnvollen Linienform dieser Differenzspektren bewegt sich der HAp-Anteil in diesen Grenzen.

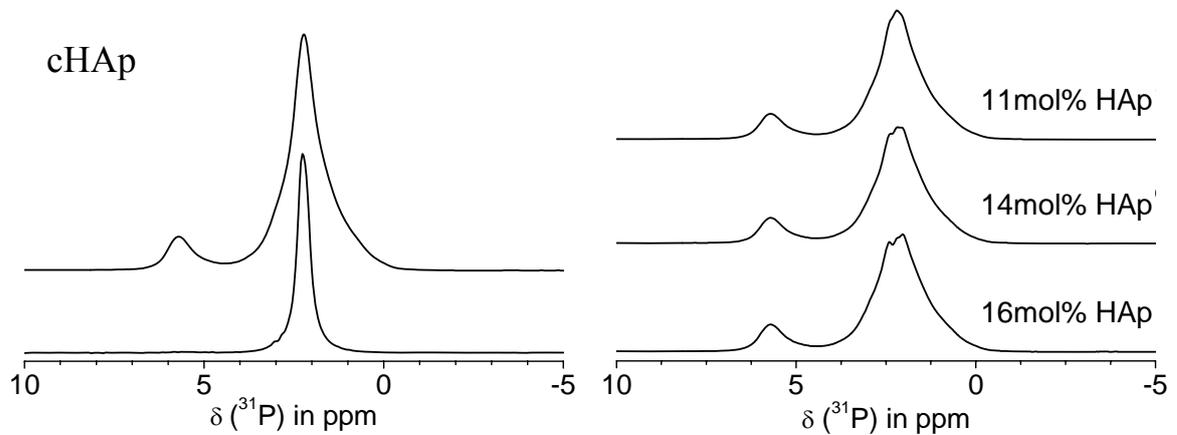


Abbildung 4.2-9: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (links, oben), Schnitt bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms (links, unten); Differenzspektren mit den jeweiligen kristallinen HAp-Anteilen von 11mol% (rechts, oben), 14mol% (rechts, Mitte) und 16mol% (rechts, unten)

Damit konnte nachgewiesen werden, dass der kommerziell erhältliche HAp zum großen Teil kein kristallinen HAp enthält, sondern aus einer röntgenamorphen Hydroxylapatitschicht, welche die vorhandene Linienbreite und die chemische Verschiebung bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ zeigt, und zu einem kleineren Teil aus einer strukturell gestörten Oberflächenschicht besteht ($\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$) (vgl. Kapitel 4.1.2.5).

Zur Bestimmung der kristallinen HAp-Anteile in den Proben HAp1, BHAp1 und BHAp2 konnte in gleicher Weise verfahren werden wie in Kapitel 4.1.2.2, da die Schnitte der ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektren in der direkten Dimension bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm der Proben HAp1, BHAp1 und BHAp2 wieder nur die Resonanz des Hydroxylapatits zeigen. Dabei war es schwierig für die Proben BHAp1 und BHAp2 sinnvolle Linienformen für die Differenzspektren zu finden. Daher wurde schließlich ein Mittelwert für die jeweilige Probe aus vielen sinnvollen Linienformen und den oberen und unteren Grenzen gebildet, um den wahrscheinlichsten HAp-Anteil für die jeweilige Probe zu ermitteln. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.2-10, Abbildung 4.2-11 und 4 mol% HAp Abbildung 4.2-12 dargestellt.

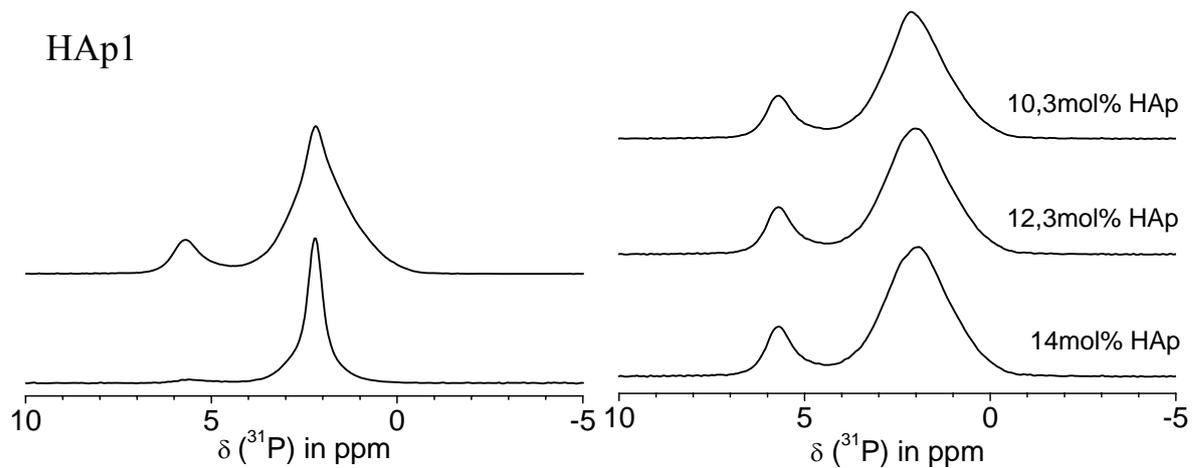


Abbildung 4.2-10: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (links, oben), Schnitt bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms (links, unten); Differenzspektren mit den jeweiligen kristallinen HAp-Anteilen von 10,3mol% (rechts, oben), 12,3mol% (rechts, Mitte) und 14mol% (rechts, unten)

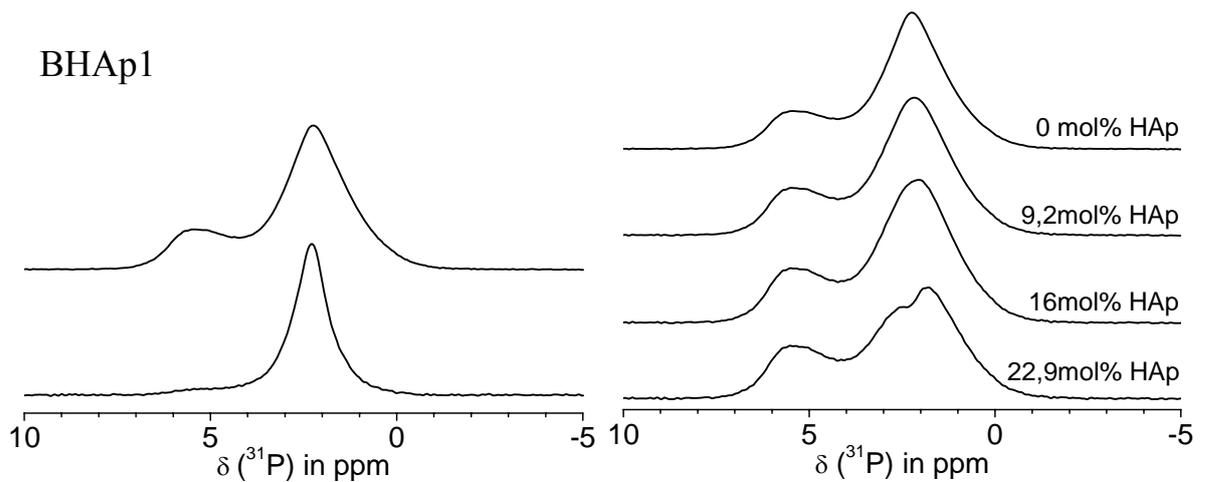
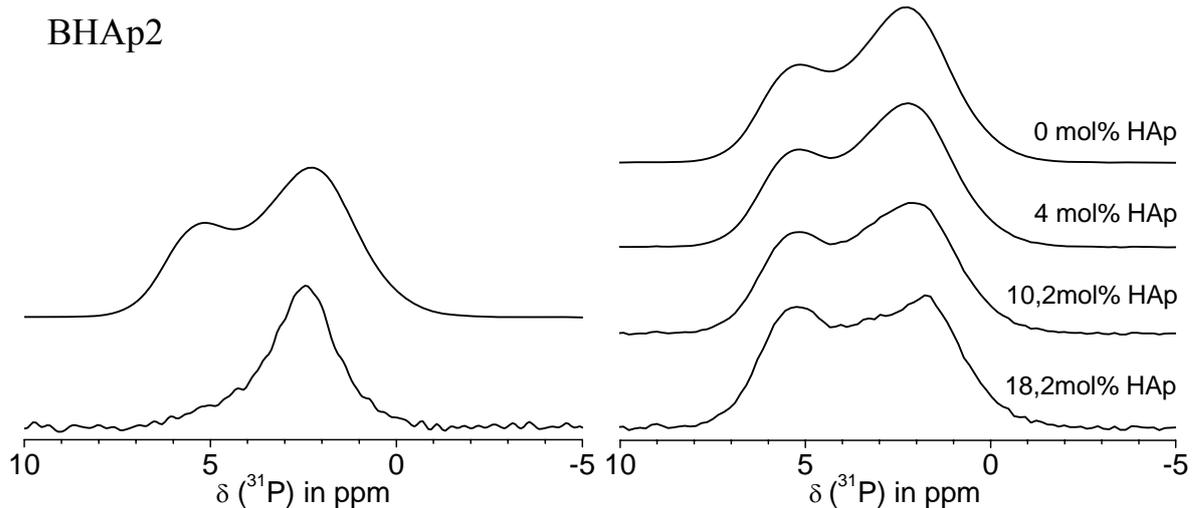


Abbildung 4.2-11: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (links, oben), Schnitt bei $\delta_{(^1\text{H})} = 0$ ppm aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms (links, unten); Differenzspektren mit den jeweiligen kristallinen HAp-Anteilen von 0 mol% (rechts, oben), 9,2mol% (rechts, zweite von oben), 16mol% (rechts, zweite von unten) und 22,9mol% (rechts, unten)



4 mol% HAp Abbildung 4.2-12: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (links, oben), Schnitt bei $\delta_{(1\text{H})} = 0$ ppm aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms (links, unten); Differenzspektren mit den jeweiligen kristallinen HAp-Anteilen von 0 mol% (rechts oben), 4 mol% (rechts, zweite von oben), 10,2 mol% (rechts, zweite von unten) und 18,2 mol% (rechts, unten)

Um den HAp-Anteil in Probe BHAp3 zu bestimmen, müssen zunächst die Resonanzen des α -TCP aus dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (Abbildung 4.2-13, oben, schwarze Linie) entfernt werden. Um das Spektrum für das α -TCP zu erhalten (Abbildung 4.2-13, oben, rote Linie) wurde die Differenz zwischen dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum ($D1 = 3600$ s) und einem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum mit einer kurzen Wiederholzeit ($D1 = 60$ s) gebildet. Der wahrscheinlichste Wert für das α -TCP liegt bei 36,4 mol%. Anschließend wird die Differenz zwischen dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum und dem erhaltenden Spektrum, das dem α -TCP entspricht, so gebildet, dass das ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum ohne die störenden Resonanzen des α -TCP vorliegt (Abbildung 4.2-13, unten).

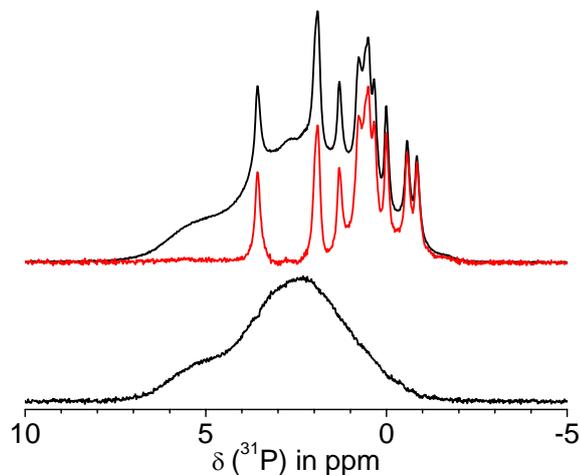


Abbildung 4.2-13: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (oben, schwarze Linie), Differenzspektrum zwischen dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum und dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum mit einer kurzen Wiederholzeit ($D1 = 60$ s) (oben, rote Linie); Differenzspektrum (unten) zwischen dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum und dem Differenzspektrum (oben, rote Linie)

Die Vorgehensweise zur Bestimmung des HAp-Anteils erfolgt nun auch wie in den Proben cHAp, HAp1, BHAp1 und BHAp2. Dabei traten die gleichen Schwierigkeiten wie bei den Proben BHAp1 und BHAp2 auf. Das Ergebnis ist in Abbildung 4.2-14 dargestellt.

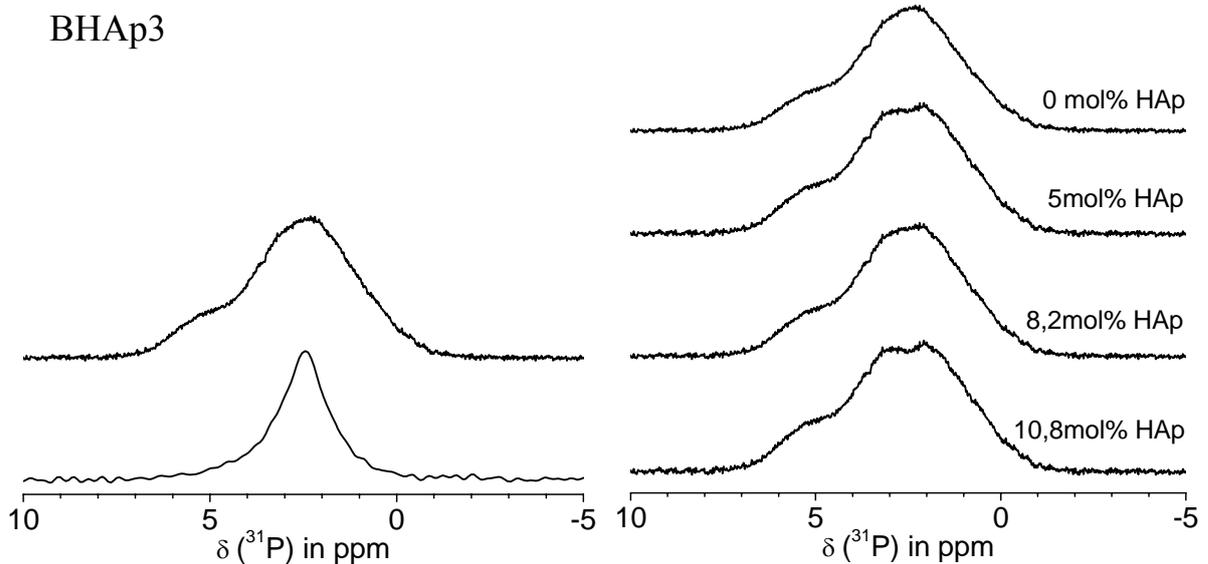


Abbildung 4.2-14: ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum (links, oben), Schnitt bei $\delta_{(1\text{H})} = 0\text{ppm}$ aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum mit einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2\text{ ms}$ (links, unten); Differenzspektren mit den jeweiligen kristallinen HAp-Anteilen von 0 mol% (rechts oben), 5 mol% (rechts, zweite von oben), 8,2mol% (rechts, zweite von unten) und 10,8mol% (rechts, unten)

Zum besseren Überblick wurden die wahrscheinlichsten HAp-Anteile der Probenreihe 1 in der Tabelle 4-6 zusammengefasst.

Tabelle 4-6: Auflistung der HAp-Anteile der Probenreihe 1

Proben	HAp-Anteil
cHAp	$(14 \pm 2,1)\text{mol}\%$
HAp1	$(12,2 \pm 2)\text{mol}\%$
BHAp1	$(13,5 \pm 5)\text{mol}\%$
BHAp2	$(9,3 \pm 5)\text{mol}\%$
BHAp3	$(6 \pm 4)\text{mol}\%$

Um die Ergebnisse zu bestätigen, wurde eine quantitative Analyse mithilfe der Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) durchgeführt. Allerdings konnten keine HAp-Anteile für die Probenserie 1 ermittelt werden, da bei der Auswertung der Röntgenpulverdiffraktogramme je nach Wahl des Reflexes sehr unterschiedliche kristalline HAp-Anteile für die Probenserie 1 bestimmt wurden. Ein Grund für die starken Schwankungen konnte noch nicht gefunden werden. Deshalb ist für diesen Fall die Methode ungeeignet und die HAp-Anteile konnten nur mit Festkörper-NMR-Spektroskopie ermittelt werden.

Beim Vergleich der HAp-Anteile der Probenserie 1 stellt man fest, dass diese mit zunehmendem Boranteil abnehmen. Schlussfolgernd erhöht sich der Anteil der borathaltigen Calciumphosphatphase, was auch an der Linienverbreiterung der Resonanz bei $\delta_{(31P)} = 2,3\text{ppm}$ und an der Intensitätserhöhung der Resonanz bei $\delta_{(31P)} = 5,5\text{ppm}$ in der ^{31}P -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 1 erkennbar ist (Abbildung 4.2-4).

Vergleicht man die Schnitte aus den ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektren der Probenserie 1 (Abbildung 4.2-15) untereinander, stellt man fest, dass ebenfalls eine Linienverbreiterung in der Reihenfolge $\text{cHAp} \leq \text{HAp1} < \text{BHAp1} < \text{BHAp2} \leq \text{BHAp3}$ auftritt, der amorphe HAp-Anteil sich erhöht und damit sich der des kristallinen verringert, je mehr Boroxid bei der Synthese zur Verfügung gestellt wurde. Eine Linienverbreiterung tritt ebenfalls auf, wenn der Anteil an Calciumcarbonat reduziert wird (Abbildung 4.2-15, Probe BHAp3).

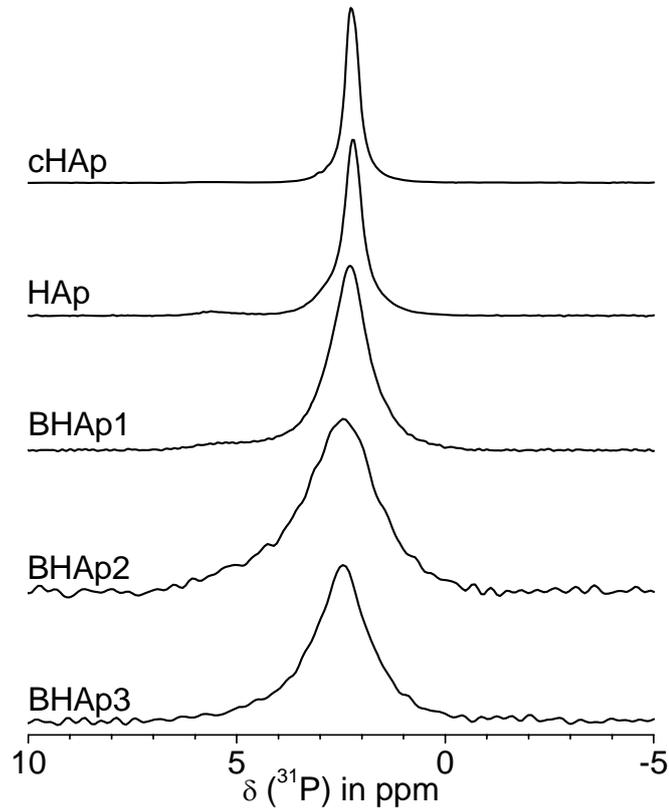


Abbildung 4.2-15: Schnitte bei $\delta_{(1H)} = 0$ ppm aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektren mit einer Kontaktzeit von $\tau_{CP} = 2$ ms der Probenserie 1 und der Probe cHAp

4.2.2.3 $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR an der Probe BHAp3

Bereits in Kapitel 4.2.1.6 wurde an der Probe BHAp das $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren gezeigt, um eine Vorstellung über den Einbau der Boratgruppe in das Phosphatnetzwerk zu bekommen. Anhand der Probe BHAp3 soll nun überprüft werden, ob der Einbau der Boratgruppen in das Phosphatnetzwerk ähnlich ist, wie in der Probe BHAp.

Die Abbildung 4.2-16 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum (schwarze Linie, links) mit den bekannten Polstellen bei $\delta_{(11\text{B})} = 1,3\text{ppm}$, $\delta_{(11\text{B})} = 11\text{ppm}$, $\delta_{(11\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(11\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, $\delta_{(11\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ und $\delta_{(11\text{B})} = 21,2\text{ppm}$ (vgl. Abbildung 4.2-6). Aus dem ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum konnten bereits die drei Resonanzen bei $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 23,3\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (1)), $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (2)) und $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 14,5\text{ppm}$ (BO_2^- (3)) ermittelt werden, deren Zuordnung ebenfalls wie in Kapitel 4.2.2.1 gezeigt stattfand.

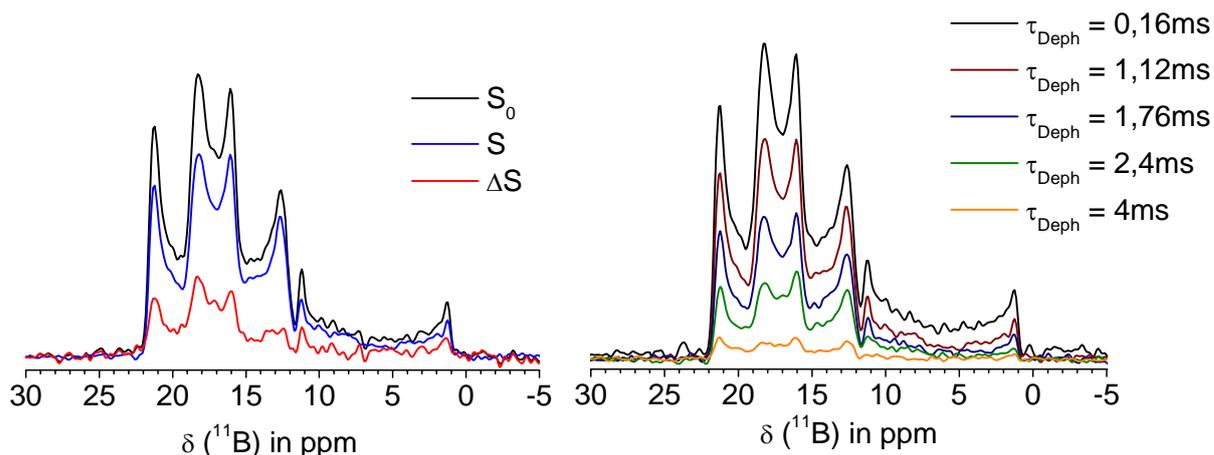


Abbildung 4.2-16: $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-Verfahren mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 1,12\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (links, schwarze Linie), dem Spektrum S (links, blaue Linie) und dem Differenzspektrum ΔS (links, rote Linie); Spektren S bei Evolutionszeiten von $\tau_{\text{Deph}} = 0,16\text{ms}$ bis $\tau_{\text{Deph}} = 4\text{ms}$

Die blaue Linie in Abbildung 4.2-16 (links) zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum S nach dem Wiedereinschalten der heteronuklearen Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen Bor und Phosphor. Es kommt zum Rückgang der Signalintensität für alle Signale. Somit befinden sich sowohl die BO_3^{3-} -Gruppen als auch die BO_2^- -Gruppen in räumlicher Nähe zu Phosphatgruppen.

Es tritt ebenfalls eine Linienformveränderung in den Spektren S für die Polstelle $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ auf, die bereits beim ^{11}B - ^{31}P -REDOR-MAS-NMR-Verfahren an der Probe BHAp (vgl. Kapitel 4.1.2.6) beobachtet werden konnte. Daher wurde die REDOR-Kurve für die Probe BHAp3 in gleicher Weise bestimmt, wie es bei der Probe BHAp der Fall war (vgl. Kapitel 4.1.2.6). Es wurde eine Liniensimulation für die Resonanz der BO_3^{3-} (1)-Gruppe und der BO_2^- (3)-Gruppe mit DMFit⁸⁰ in den Spektren S_0 und S durchgeführt. Anschließend wurde aus der Differenz zwischen den Spektren S_0 und S und den jeweiligen Liniensimulationen die Linienform der BO_3^{3-} (2)-Gruppe erhalten. Damit ist es nun möglich die REDOR-Kurven für alle drei Spezies zu ermitteln. Die Messunsicherheiten für alle REDOR-Kurven wurden über die Bestimmung der S/N-Verhältnisse in den ^{11}B - ^{31}P -REDOR-MAS-NMR-Spektren abgeschätzt.

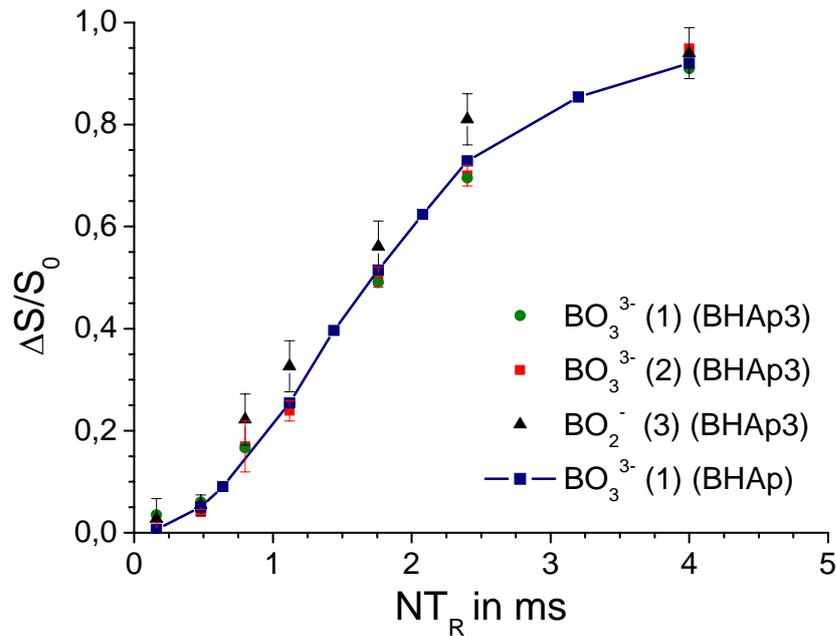


Abbildung 4.2-17: ^{11}B - ^{31}P -REDOR-Kurve für die Probe BHAp3 mit den Resonanzen $\delta_{\text{iso}}(^{11}\text{B}) = 14,5\text{ppm}$ (BO_2^- (3)), $\delta_{\text{iso}}(^{11}\text{B}) = 20,6\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (2)), $\delta_{\text{iso}}(^{11}\text{B}) = 23,3\text{ppm}$ (BO_3^{3-} (1)) und die $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-Kurve für die Probe BHAp (BO_3^{3-} (1))

Die REDOR-Kurven für die BO_3^{3-} (1)-, BO_3^{3-} (2) und BO_2^- (3)-Gruppe der Probe BHAp3 sind in Abbildung 4.2-17 dargestellt. Der Verlauf der REDOR-Kurven für die BO_3^{3-} (1) und BO_3^{3-} (2)-Gruppe ist identisch. Der Anstieg der REDOR-Kurve für die BO_2^- (3)-Gruppe verläuft im Rahmen des Fehlers ein wenig steiler. Zum Vergleich wurde die REDOR-Kurve der Probe BHAp für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe gezeigt. Es fällt auf, dass der Verlauf der REDOR-Kurven für die BO_3^{3-} (1)- und BO_3^{3-} (2)-Gruppe der Probe BHAp3 ebenfalls identisch mit dem Verlauf der REDOR-Kurve für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe der Probe BHAp ist. Daher werden ähnliche Abstände zwischen den Borat- und den Phosphatgruppen wie in der Probe BHAp vorliegen und somit der gleiche Aufbau der BCaP-Phase vorhanden sein.

Wie in Kapitel 4.1.2.6 gezeigt, konnte für die BO_2^- (3)-Gruppe aufgrund der geringeren Signalintensität keine REDOR-Kurve erhalten werden. Die Probe BHAp3 weist einen höheren Anteil der BO_2^- (3)-Gruppe auf, sodass aus den Spektren S_0 und S , eine REDOR-Kurve bestimmt werden kann. Durch die Kurvenanpassung nach Näherung 1. Ordnung (Gleichung 2-32) und 2. Ordnung (Gleichung 2-33) für den Kurzzeitverlauf der REDOR-Kurve kann ein experimentelles effektives zweites Moment bestimmt werden, um so Informationen über den Abstand zwischen der BO_2^- (3)-Gruppe und den Phosphatgruppen zu erhalten. Diese Kurvenanpassung des Kurzzeitverlaufs der REDOR-Kurve ergab ein experimentelles effektive zweites Moment von $M_{2,\text{eff}} = (2,4 \cdot 10^6 \pm 3 \cdot 10^5)\text{s}^{-2}$.

Die gegenwärtige Literatur^{22, 24} berichtet vom einem Austausch der OH⁻-Gruppe durch die Boratgruppe (BO₂⁻(3)). Zieht man die Kristallstruktur²⁴, welche die BO₂⁻(3)-Gruppe auf den Platz der OH⁻-Gruppe zeigt, zu Rate, so liegen in der Nachbarschaft zur BO₂⁻(3)-Gruppe 18 Phosphatgruppen vor. Es liegen dabei jeweils sechs Phosphatgruppen im Abstand von $d = 401,5\text{pm}$, $d = 608,3\text{pm}$ und $d = 633,7\text{pm}$ vor. Mithilfe der Gleichung 2-35 (vgl. Kapitel 2.2.3.6) wird ein theoretisches zweites Moment von $M_2 = 3,24 \cdot 10^6 \text{s}^{-2}$ berechnet. Vergleicht man das theoretische zweite Moment M_2 mit dem experimentellen effektiven zweiten Moment M_2 , stellt man fest, dass keine Übereinstimmung vorliegt. Daher kann ein Austausch der Hydroxylgruppe durch eine Boratgruppe (BO₂⁻(3)) ausgeschlossen werden. Damit befinden sich die BO₂⁻-Gruppen nicht in den Kanälen des HAp. Es kann eher vermuten, dass ein Mehrspinsystem vorliegt. Die möglichen minimalen Abstände für ein 3- bis 9-Spin-System, die nach Gleichung 2-35 berechnet wurden, sind in Tabelle 4-7 aufgelistet.

Tabelle 4-7: Auflistung der minimalen Abstände zwischen einer Boratspezies zu Phosphatgruppe unter Betrachtung des experimentell bestimmten effektiven zweiten Momentes von $M_{2,\text{eff}} = (2,4 \cdot 10^6 \pm 3 \cdot 10^5) \text{s}^{-2}$

Anzahl der Phosphatgruppen	minimaler Abstand zwischen Borat- spezies und Phosphatgruppen
zu zwei Phosphatgruppen	$(340 \pm 10)\text{pm}$
zu drei Phosphatgruppen	$(370 \pm 10)\text{pm}$
zu vier Phosphatgruppen	$(390 \pm 10)\text{pm}$
zu sechs Phosphatgruppen	$(410 \pm 10)\text{pm}$
zu acht Phosphatgruppen	$(430 \pm 10)\text{pm}$

4.2.3 Untersuchung der Bioaktivität mit der Methode "Simulated Body Fluid" (SBF) und Untersuchung der Degradation

4.2.3.1 Untersuchung der Bioaktivität mit SBF

Die Untersuchung der Bioaktivität der Probenserie 1 wurde an der Okayama Universität durchgeführt. Die SBF-Lösung wurde wie in Kapitel 9.3 im Anhang beschrieben hergestellt. Die Proben wurden in SBF-Lösung für 0, 1, 3, 5, 7, 10 und 14 Tagen bei 36,5°C eingetaucht. Der Nachweis der Bioaktivität wurde mit der SEM und Thin-Film-XRD (TF-XRD) untersucht.

Abbildung 4.2-18 zeigt SEM-Aufnahmen der Probe HAp1 nach verschiedenen Eintauchtagen. In Abbildung 4.2-18 (links) ist die Oberfläche der Pellets am Tag 0 zu sehen. Sie zeigt ineinander verschmolzenen HAp-Partikel mit einer Partikelgröße von $d = 1 \mu\text{m}$ bis $5 \mu\text{m}$. Nach dem ersten Tag (Abbildung 4.2-18, Mitte) hat sich bereits die Oberfläche der Pellets vollständig verändert. Es konnte ein Wachstum von kugelförmigen Partikel mit einer Partikelgröße etwa $d \sim 3 \mu\text{m}$ auf der Pelletoberfläche beobachtet werden. Bis zum Tag 14 (Abbildung 4.2-18, rechts) zeigte sich keine weitere Veränderung der Oberfläche mehr.

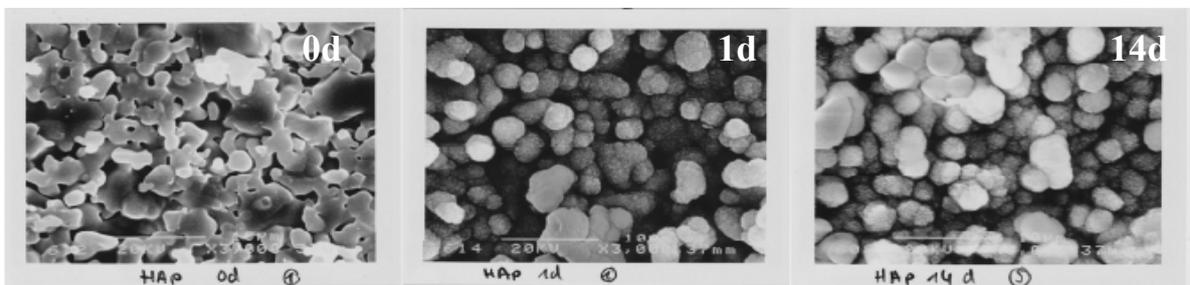


Abbildung 4.2-18: SEM-Aufnahmen der Oberfläche der Probe HAp1 nach dem Eintauchen in SBF für die Tage 0, 1 und 14

Zur Identifizierung der kugelförmigen Partikel auf der Pelletoberfläche wurden Röntgendiffraktogramme mit der TF-XRD der Probe HAp1 bei Tag 0 und Tag 14 (Abbildung 4.2-19) aufgenommen. Das Röntgendiffraktogramm dieser Probe bei Tag 0 zeigt die typischen Reflexe des kristallinen HAp. Das Röntgendiffraktogramm bei Tag 14 zeigt die Reflexe des HAp mit einer deutlicheren Linienverbreiterung. Somit kam es zu einem Wachstum von nanokristallinem HAp auf der Pelletoberfläche. Die nanokristallinen HAp-Partikel bilden dann die kugelförmigen Partikel aus, die in den SEM-Aufnahmen beobachtet werden.

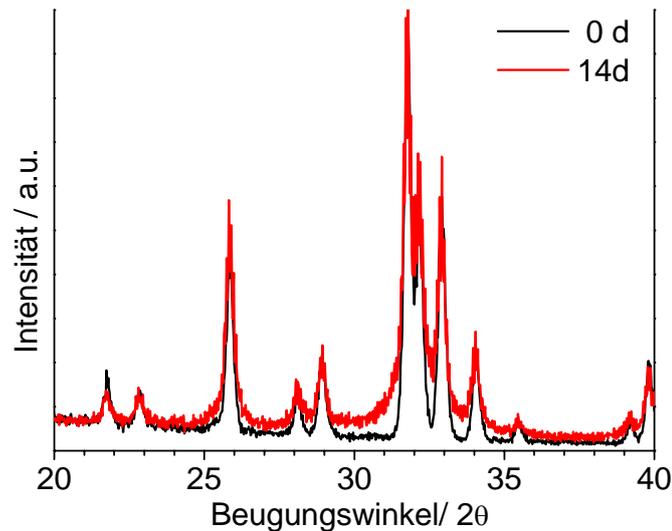


Abbildung 4.2-19: Röntgendiffraktogramme der Oberfläche der Probe HAp1 nach dem Eintauchen in SBF für den Tag 0 und 14

Die Abbildung 4.2-20 (links) zeigt die SEM-Aufnahme der Oberfläche des Pellets der Probe BHAp1 an Tag 0, wobei wie bei der Probe HAp1 ineinander verschmolzene HAp-Partikel vorliegen. Bereits nach dem ersten Eintauchtag (Abbildung 4.2-20, Mitte) zeigen sich Veränderungen auf der Oberfläche, allerdings andere als bei der Probe HAp1. Es werden kugelförmige Partikel unterschiedlicher Partikelgröße auf der Oberfläche beobachtet.

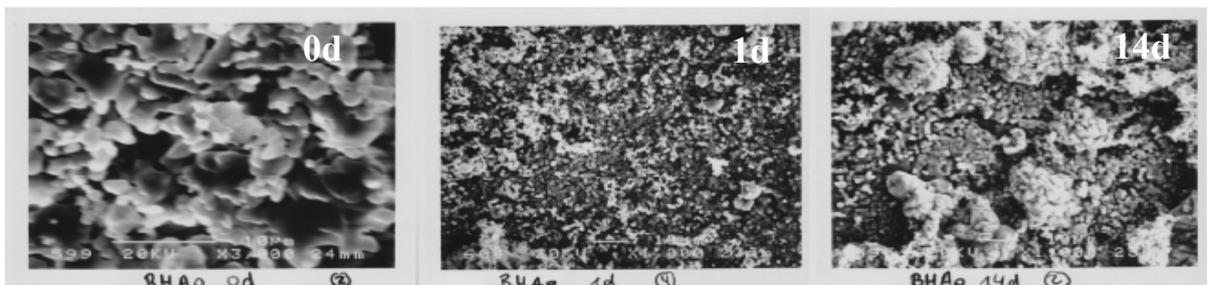


Abbildung 4.2-20: SEM-Aufnahmen der Oberfläche der Probe BHAp1 nach dem Eintauchen in SBF für die Tage 0, 1 und 14

Das Röntgendiffraktogramm der Probe BHAp1 nach Tag 14 zeigt neben den Reflexen des kristallinen HAp auch die Reflexe des Calciumcarbonats (Abbildung 4.2-21). Somit konnte das Wachstum von Calciumcarbonat auf der Oberfläche nachgewiesen werden, welches vermutlich durch das vorhandene Calciumoxid verursacht wurde. Daher wird vermutet, dass die größeren Partikel Calciumcarbonat entsprechen, da ein Wachstum dieser Partikel über einen Zeitraum von 14 Tagen beobachtet wird. Eine Apatitbildung wurde nicht eindeutig nachgewiesen, da keine eindeutige Linienverbreiterung der Reflexe des kristallinen HAp beobachtet werden konnte. Eventuell gebildetes Hydroxylapatit wird vermutlich von der

Calciumcarbonatschicht auf der Oberfläche überdeckt. Damit können keine Aussagen über die Bioaktivität getroffen werden.

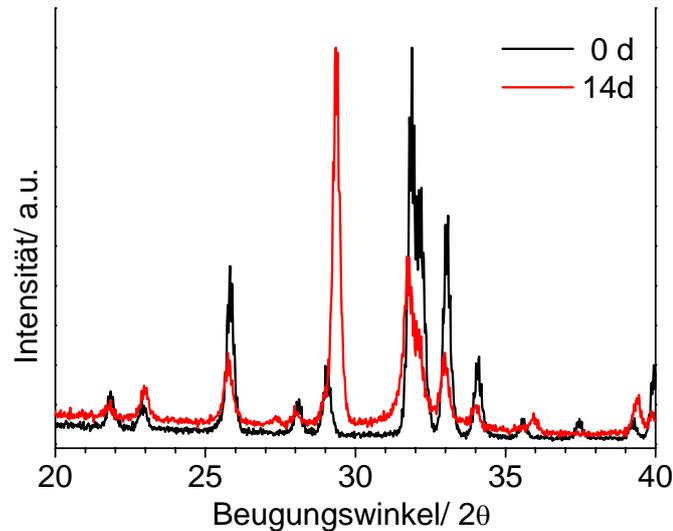


Abbildung 4.2-21: Röntgendiffraktogramme der Oberfläche der Probe BHAp1 nach dem Eintauchen in SBF für den Tag 0 und 14

In Abbildung 4.2-22 sind die SEM-Aufnahmen der Probe BHAp2 nach Eintauchtag null (links), eins (Mitte) und sieben (rechts) dargestellt. Der Tag 0 zeigt die bekannte Pelletoberfläche, wie in der SEM-Aufnahme (Tag 0) der Probe HAp1. Am Tag 1 ist bereits ein Wachstum von nanokristallinen Partikeln auf der Oberfläche zu beobachten. Allerdings ist die Oberfläche nur teilweise bedeckt. Dieses Wachstum setzt sich die nächsten Tage fort. Am Tag 7 ist die Pelletoberfläche vollständig bedeckt. Der Vergleich der Röntgendiffraktogramme nach Tag 0 und Tag 7 zeigt eine Linienverbreiterung der Reflexe (Abbildung 4.2-23). Damit bestätigt sich ein Wachstum von nanokristallinem HAp auf der Oberfläche.



Abbildung 4.2-22: SEM-Aufnahmen der Oberfläche der Probe BHAp2 nach dem Eintauchen in SBF für die Tage 0, 1 und 7

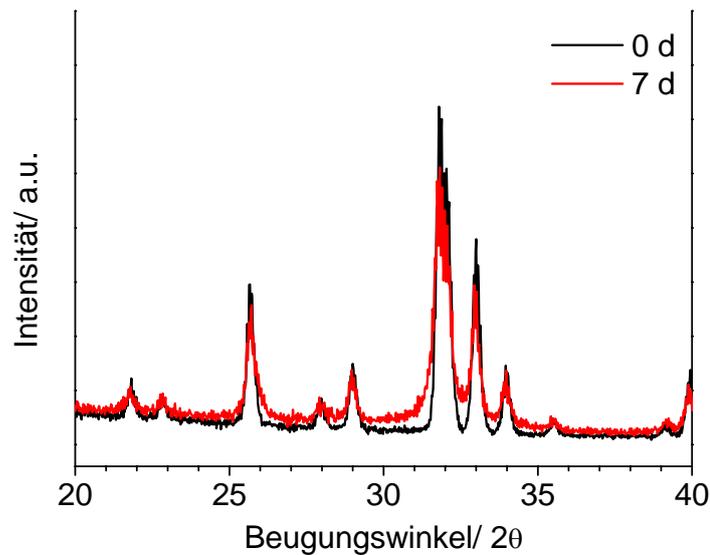


Abbildung 4.2-23: Röntgendiffraktogramme der Oberfläche der Probe BHAp2 nach dem Eintauchen in SBF für den Tag 0 und 7

Die Probe BHAp3 zeigt ein geringeres Wachstum von nanokristallinen Partikeln auf der Pelletoberfläche. Nach dem ersten Eintauchtag (Abbildung 4.2-24, Mitte) ist die Oberfläche nur teilweise bedeckt. Die Pelletoberfläche ist noch deutlich zu erkennen. Am Tag 3 (nicht gezeigt) konnte ein Wachstum beobachtet werden, es lag aber noch keine vollständige Bedeckung der Pelletoberfläche vor. Die vollständige Bedeckung konnte erst am Tag 7 beobachtet werden. Das Röntgendiffraktogramm von Tag 7 (Abbildung 4.2-25) im Vergleich zum Tag 0 zeigt wiederum eine Linienverbreiterung der HAp-Reflexe. Dieses bestätigt wiederum ein Wachstum von nanokristallinem HAp auf der Pelletoberfläche.

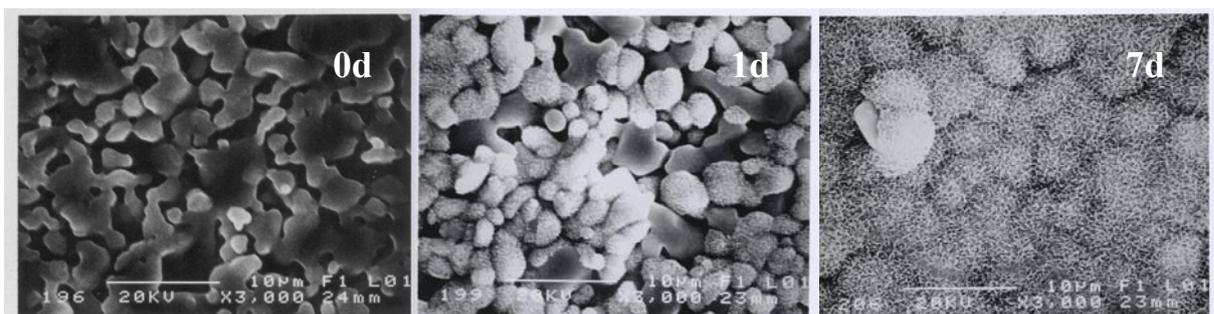


Abbildung 4.2-24: SEM-Aufnahmen der Oberfläche der Probe BHAp3 nach dem Eintauchen in SBF für die Tage 0, 1 und 7

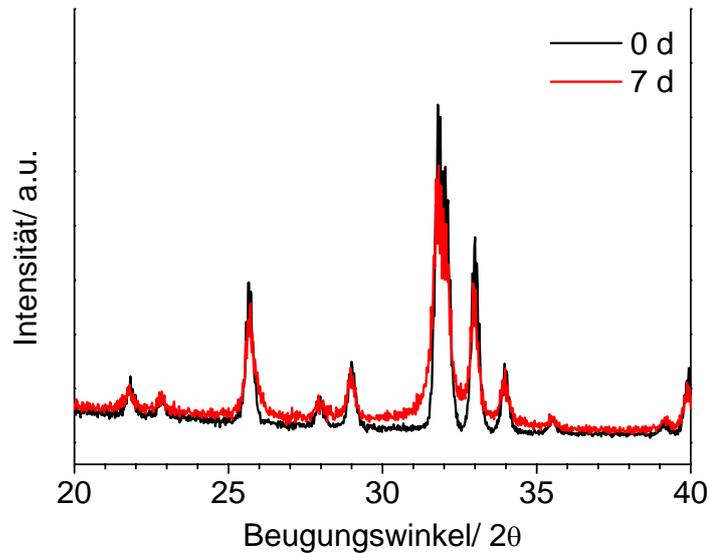


Abbildung 4.2-25: Röntgendiffraktogramme der Oberfläche der Probe BHAp2 nach dem Eintauchen in SBF für den Tag 0 und 7

In den Proben HAp1, BHAp2 und BHAp3 wurde ein Wachstum von nanokristallinem HAp auf der Pelletoberfläche nachgewiesen. Es konnte mithilfe der SEM-Aufnahme das Wachstum der nanokristallinen HAp-Partikel zeitlich verfolgt. Dabei zeigte die Probe HAp1 ein deutlich schnelleres Wachstum und besitzt damit die größte Bioaktivität dieser Probenserie. Das geringste Wachstum zeigte sich in der Probe BHAp3, sodass diese Probe die niedrigste Bioaktivität ausbildet. Somit nimmt die Bioaktivität in der Reihenfolge BHAp3 < BHAp2 < HAp1 zu. Die borathaltigen Calciumphosphate (Probe BHAp2 und BHAp3) zeigen zwar eine geringere Bioaktivität als die Probe HAp1, die keine Boratgruppen enthält, aber immer noch eine ausreichende um sie als Knochenersatzstoff einsetzen zu können. Zudem müssen noch andere wichtige Faktoren berücksichtigt werden, wie die Degradation und die Adsorptionseigenschaften von Proteinen, die für den späteren Anwendungsbereich ebenfalls entscheidend sind.

4.2.3.2 Untersuchung des Degradationsverhaltens der Probenserie 1

Es wird das Degradationsverhalten der Proben der Probenserie 1 bestimmt. Es soll dabei der Abbau der Partikel in den Osteoklasten simuliert werden. Die Partikel werden dazu in eine Essigsäure/Acetatpufferlösung bei pH = 5,5 gegeben und die Konzentration der Ca^{2+} - Ionen wird über die Zeit gemessen (Abbildung 4.2-26). Zusätzlich wurden Degradationskurven von

α -TCP und β -TCP aufgenommen, da α -TCP und β -TCP bereits als synthetische Knochenersatzstoffe eingesetzt werden und somit als Maße für das Degradationsverhalten dieser Probenserie genutzt werden kann.

Die Abbildung 4.2-26 zeigt den Verlauf der Degradationskurven der Proben der Probenserie 1. Bei der Degradationskurve der Probe HAp1 liegt der flachste Anstieg vor. Die Degradationskurven der Proben BHAp1, BHAp2 und BHAp3 verlaufen in den Grenzen der Degradationskurven von α -TCP und β -TCP. Dabei verläuft die Degradationskurve der Probe BHAp3 am ähnlichsten zu der des α -TCP, was auf den hohen Anteil an α -TCP in der Probe zurückzuführen ist. Die Degradation nimmt in der Reihenfolge HAp < β -TCP < BHAp2 < BHAp1 < BHAp3 < α -TCP zu.

Ziehen wir das Modell des Partikels in Betracht (Kapitel 4.1.2.5), so muss dieses mit dem Degradationsverhalten der Probenserie 1 korrelieren. Es wird eine Erhöhung der Degradation in den Proben BHAp1, BHAp2 und BHAp3 beobachtet, die eine BCaP-Phase ausgebildet haben. Allerdings können keine Aussagen zur Degradation in Abhängigkeit des Boranteils (BHAp1 < BHAp3 < BHAp2) getroffen werden, da in der Probe BHAp1 geringe Anteile Calciumoxid und in der Probe BHAp 2 große Anteile α -TCP vorliegen, die die Degradation ebenfalls beeinflussen.

Die Degradation wird durch den Borgehalt, d.h. durch die Ausbildung einer BCaP-Phase, beeinflusst und kontrolliert, so dass diese auf das Niveau des α -TCP beziehungsweise β -TCP eingestellt werden kann, was erreicht werden sollte.

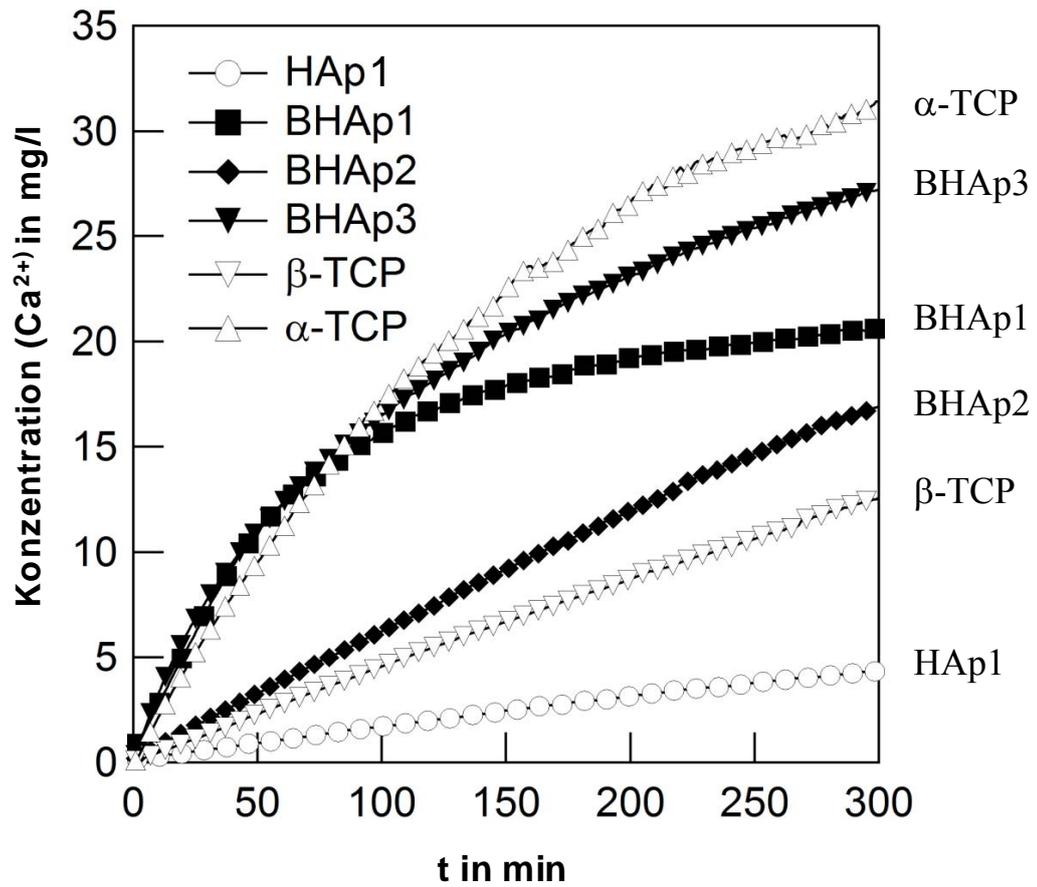


Abbildung 4.2-26: Degradationskurven für die Probenserie 1 und von α -TCP und β -TCP

4.3 Strukturelle Charakterisierung der Probenserie 2 (kommerziell erhältlicher HAp+Ca₃(BO₃)₂)

In der Probenserie 2 wurde zur Präparation von Hydroxylapatit bzw. borathaltigen Calciumphosphaten als Ausgangsstoffe kommerziell erhältlicher Hydroxylapatit und selbst synthetisiertes Calciumborat (Takedait) verwendet (vgl. Kapitel 3.2). Es soll mittels FTIR-Spektroskopie, XRD (Kapitel 4.3.1) und Festkörper-NMR-Spektroskopie (Kapitel 4.3.2) nachgewiesen werden, ob eine Reaktion zwischen kommerziell erhältlichen HAp (cHAp) und dem Takedait stattgefunden hat, und somit die Boratgruppen des Takedaits in das HAp-Netzwerk eingebaut wurden.

4.3.1 FTIR-Spektroskopie, XRD

Das FTIR-Spektrum (Abbildung 4.3-1, links) der Probenserie 2 der Probe HAp100 zeigt die typischen Schwingungsbanden des Hydroxylapatits (HAp). Dabei werden die Banden bei $\nu = 569\text{cm}^{-1}$, $\nu = 602\text{cm}^{-1}$, $\nu = 961\text{cm}^{-1}$, $\nu = 1050\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 1092\text{cm}^{-1}$ den Phosphationen im Hydroxylapatit zugeordnet^{15, 18}. In dem FTIR-Spektrum der Probe HAp0 sind nur die Schwingungsbanden im Bereich bei $\nu = 1206\text{-}1312\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 743\text{-}782\text{cm}^{-1}$ zu sehen, die den BO_3^{3-} -Gruppen¹⁸ zugeordnet werden. Es sind keine Banden bei $\nu = 1933\text{cm}^{-1}$ und $\nu = 2003\text{cm}^{-1}$, die den linearen BO_2^- -Gruppen¹⁸ entsprechen, zu beobachten (vgl. Kapitel 4.1.1 und 4.2.1).

Des Weiteren fällt auf, dass in den FTIR-Spektren der Proben HAp90 bis HAp25 sowohl die typischen Schwingungsbanden des Hydroxylapatits als auch die Schwingungsbanden der BO_3^{3-} -Gruppen zu sehen sind. Damit kann nicht geklärt werden, ob eine Reaktion zwischen dem kommerziell erhältlichen HAp und dem Takedait stattgefunden hat.

Zudem nimmt wie erwartet die Intensität der Schwingungsbanden, die den Phosphationen im HAp zugeordnet werden, mit abnehmendem HAp-Anteil ab und die Intensitäten der Schwingungsbanden der BO_3^{3-} -Gruppen zu.

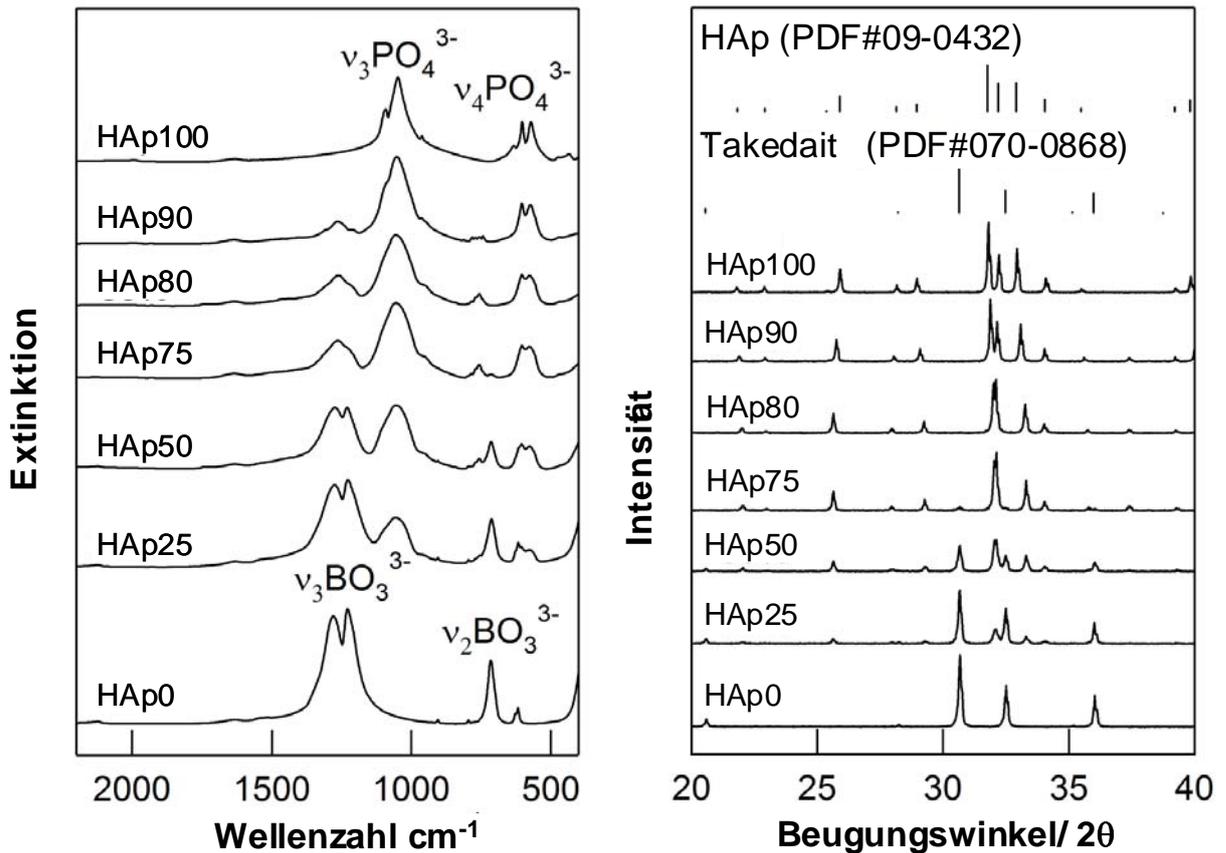


Abbildung 4.3-1: FTIR-Spektren der Probenserie 2 (links); Röntgenpulverdiffraktogramme der Probenserie 2 (rechts), die Darstellung der Reflexpositionen von Hydroxylapatit (rechts, oben) und Takedait (rechts, zweite von oben)

Die Röntgenpulverdiffraktogramme der Probenserie 2 (Abbildung 4.3-1, rechts) in den Proben HAp100, HAp90 und HAp80 zeigen nur die Reflexe, die Hydroxylapatit zugeordnet werden können (JCPDS#09-0432)⁷⁹. Die Probe HAp0 zeigt nur die Reflexe des Takedaits (JCPDS#070-0868)⁷⁹. In den Röntgenpulverdiffraktogrammen der Proben HAp75, HAp50 und HAp25 sind sowohl die Reflexe des Hydroxylapatits als auch die Reflexe des Takedaits zu sehen. Da in den Proben HAp75, HAp50 und HAp25 die Reflexe des HAp und des Takedaits im Röntgenpulverdiffraktogramm nebeneinander vorliegen, kann nicht geklärt werden, ob eine Reaktion zwischen dem kommerziell erhältlichen HAp und dem Takedait stattgefunden hat. Eine wichtige Frage, die sich weiterhin stellt, ist, was mit dem Takedait in den Proben HAp90 und HAp80 passierte, da die Reflexe desselben nicht in den Röntgenpulverdiffraktogrammen beobachtet werden. Allerdings wurden BO_3^{3-} -Gruppen, bereits in den FTIR-Spektren nachgewiesen. Dieser Frage soll nun im folgenden Kapitel mit der Festkörper-NMR-Spektroskopie nachgegangen werden

4.3.2 Festkörper-NMR-Spektroskopie

4.3.2.1 Grundcharakterisierung ^1H , ^{31}P , ^{11}B

Die Abbildung 4.3-2 zeigt die ^1H -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 2. In den ^1H -MAS-NMR-Spektren der Proben HAp100 und HAp90 zeigt sich ein sehr intensives Signal bei $\delta(^1\text{H}) = 0$ ppm, das den OH^- -Protonen der kristallinen Phase des Hydroxylapatits zuzuordnen²⁷ ist. Im Hochfeld vom Hauptsignal ist wieder die Schulter bei $\delta(^1\text{H}) = -0,6$ ppm (vgl. Kapitel 4.1.2.1) erkennbar. Diese Resonanz wird den OH^- -Protonen, die sich in einer gestörten Oberflächenschicht (Probe HAp100) beziehungsweise in der borathaltigen Calciumphosphatphase (Probe HAp90) befinden, zugeordnet. Damit hat eine Reaktion in der Probe HAp90 zwischen dem kommerziell erhältlichen HAp und dem Takedait stattgefunden.

In den ^1H -MAS-NMR-Spektren der Proben HAp80, HAp75, HAp50 und HAp25 wird ein intensives Signal bei $\delta(^1\text{H}) = -0,4$ ppm beobachtet, was auf die Verringerung der Intensität der Resonanz $\delta(^1\text{H}) = 0$ ppm und auf die Erhöhung der Intensität der Resonanz $\delta(^1\text{H}) = -0,6$ ppm hindeutet.

In den ^1H -MAS-NMR-Spektren der Proben HAp75, HAp50 und HAp25 wird eine zum ^1H -MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp80 vergleichbare die Linienform beobachtet. Es ist nur eine Abnahme der Intensität der Resonanz bei $\delta(^1\text{H}) = -0,4$ ppm zu sehen, was auf die Verringerung des eingesetzten HAp-Anteils bei der Synthese zurückzuführen ist.

Somit kann geschlossen werden, dass sich der Anteil der borathaltigen Calciumphosphatphase in den Proben in der Reihenfolge HAp100 < HAp90 < HAp80 erhöht und dann in den verbleibenden Proben HAp75, HAp50 und HAp0 konstant bleibt.

Des Weiteren tritt in allen Spektren ein schwaches Signal bei $\delta(^1\text{H}) = 5$ ppm auf, das Wasserprotonen zugeordnet wird²⁷. Im Gegensatz zum ^1H -MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp100 wird in den ^1H -MAS-NMR-Spektren der Proben der Probenserie 2 noch ein zusätzliches Signal bei $\delta(^1\text{H}) = 7,5$ ppm beobachtet, das Hydrogenphosphatprotonen entspricht²⁷.

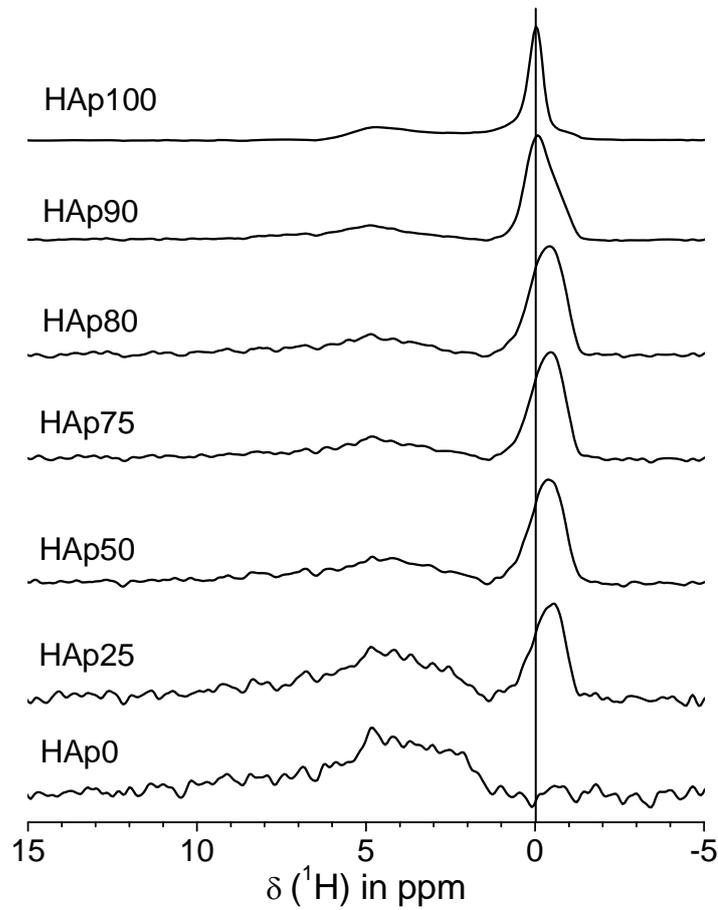


Abbildung 4.3-2: ^1H -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 2

Die ^{31}P -MAS-NMR-Spektren (schwarze Linie) der Probenserie 2 sind in Abbildung 4.3-3 dargestellt. Das Spektrum der Probe HAp100 zeigt die Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$, die sich wiederum aus einer schmalen und einer breiten Komponente zusammensetzt, und eine Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$. Das schmale Signal bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ kann der typischen isotropen chemische Verschiebung des Hydroxylapatits zugeordnet werden. Die breite Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ kann Phosphatgruppen einer röntgenamorphen Hydroxylapatitschicht und das Signal bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$ Phosphatgruppen der strukturell gestörten Oberflächenschicht zugeordnet werden (vgl. Kapitel 4.2.2.1).

Die ^{31}P -MAS-NMR-Spektren der Proben HAp90 bis HAp25 (Abbildung 4.3-3, schwarze Linie) zeigen ein breites Signal bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ und $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5\text{ppm}$. Bei Erhöhung des Takedait-Anteils auf 10Gew.-% von der Probe HAp100 zur Probe HAp90 nimmt die Linienbreite für die Resonanz $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ von $\text{HWB} = 0,9\text{ppm}$ auf $\text{HWB} = 2,6\text{ppm}$ zu. Bei einer weiteren Erhöhung des Takedait-Anteils um 10Gew.-% (Probe HAp80) nimmt die

Linienbreite der Resonanz weiter zu (HWB ~ 3 ppm). Bei einer weiteren Erhöhung des Takedait-Anteils und damit auch Verringerung des Anteils des kommerziell erhältlichen HAp, bleibt sowohl die Linienbreite als auch die Intensität der Resonanz $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3$ ppm konstant. Die schmale Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3$ ppm verschwindet nahezu vollständig.

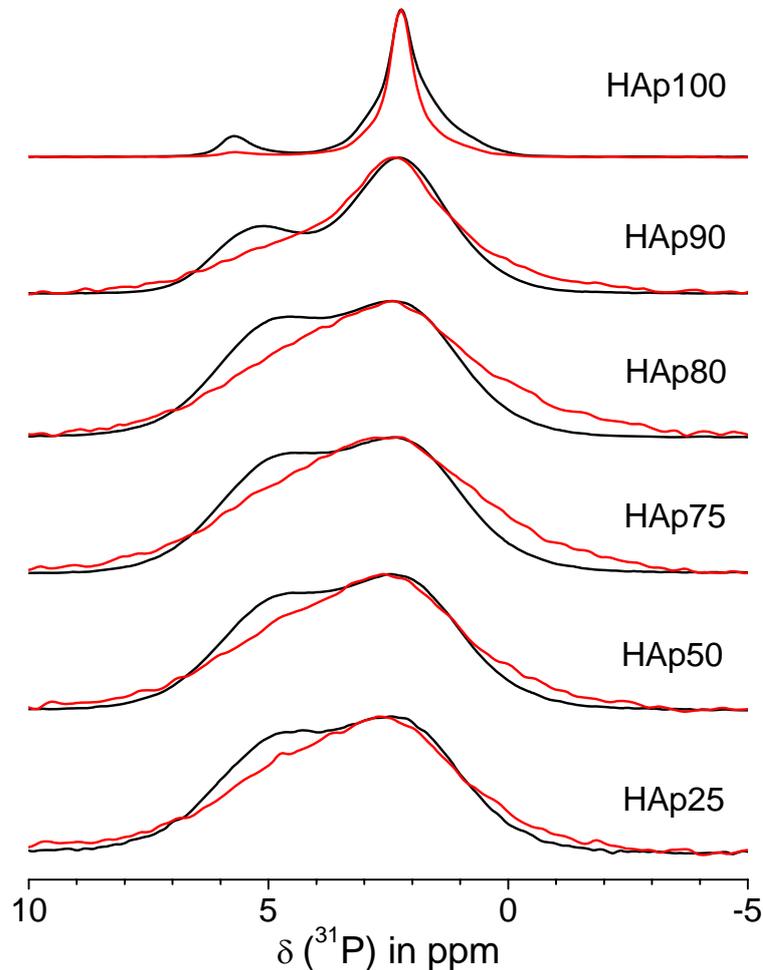


Abbildung 4.3-3: ^{31}P -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 2 (schwarze Linie) und die ^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektren der Probenserie 2 bei einer Kontaktzeit von $\tau_{\text{CP}} = 2$ ms (rote Linie)

Zudem ist eine Erhöhung der Intensität der Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5$ ppm mit zunehmenden Takedait-Anteils in der Reihenfolge HAp100 < HAp90 < HAp80 zu beobachten. In den verbleibenden Proben (HAp75, HAp50 und HAp25) bleibt wie in Probe HAp80 sowohl die Linienform als auch die Intensität dieser Resonanz konstant. Die gleichen Beobachtungen werden auch in den ^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Spektren (Abbildung 4.3-3) gemacht. Die Linienbreite der schmalen Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 2,3$ ppm wird mit zunehmenden Takedait-Anteil größer in der Reihenfolge HAp100 < HAp90 < HAp80, und die Resonanz bleibt dann in ihrer Linienform und Intensität konstant. Für die Resonanz bei $\delta_{(^{31}\text{P})} = 5,5$ ppm

ist eine Erhöhung der Intensität von der Probe HAp100 zur Probe HAp80 zu beobachten. Danach bleibt die Intensität ebenfalls konstant.

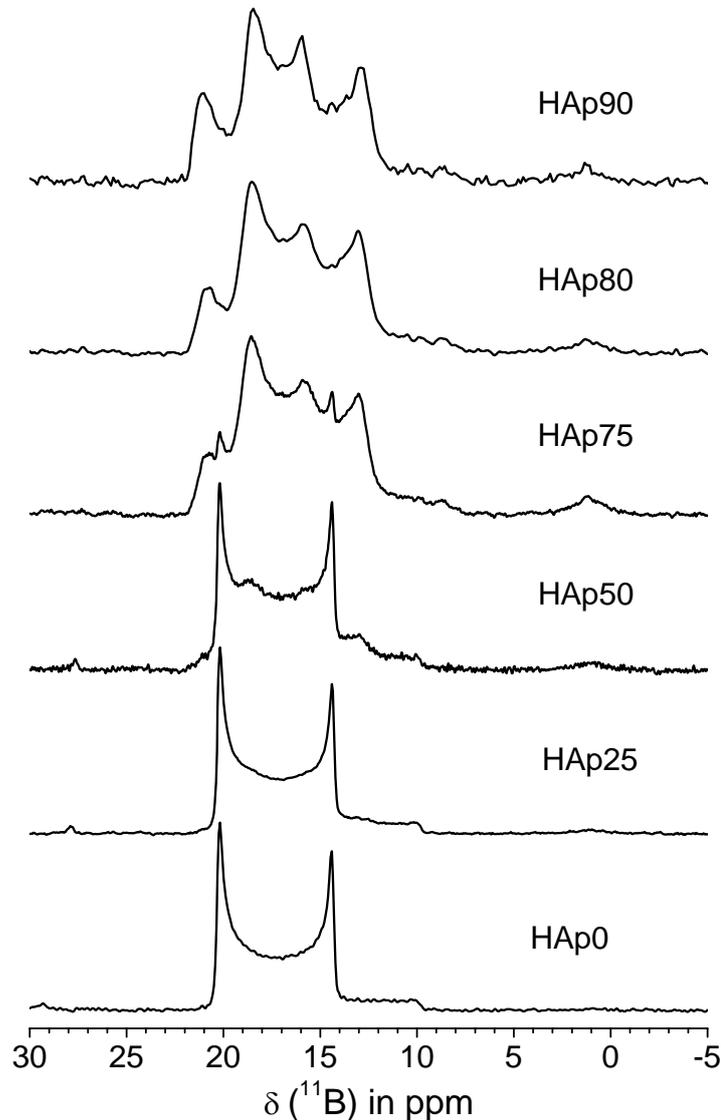


Abbildung 4.3-4: ^{11}B -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 2

Es lässt sich vermuten, dass bis zu einem 20Gew.-%-Anteil Takedait der amorphe Charakter in den Proben zunächst zunimmt und dann konstant bleibt. Während der Synthese der Proben HAp90 und HAp80 reagiert das Takedait vollständig mit dem kommerziell erhältlichen HAp zur BCaP-Phase. In den restlichen Proben hat nur ein Teil des eingesetzten Takedaits zur BCaP-Phase reagiert. Dementsprechend müssten größere, unverbrauchte Mengen in den Proben HAp75, HAp50 und HAp25 vorhanden sein. Dieses deuteten bereits die Röntgenpulverdiffraktogramme dieser Proben an. Es konnten neben den Reflexen des HAp auch die Reflexe des Takedaits beobachtet werden.

Diese Vermutung kann mit der Aufnahme von ^{11}B -MAS-NMR-Spektren untermauert werden (Abbildung 4.3-4).

In allen ^{11}B -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 2 wird keine Resonanz, die sich der BO_2^- -Gruppe zuordnen lässt, beobachtet (vgl. Kapitel 4.1.2.1). In dem ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp90 ist nur eine Überlagerung von mindestens zwei Signalen durch die Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 16\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,5\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 21,2\text{ppm}$ zu sehen. Die Linienform der BO_3^{3-} -Resonanzen ist zwischen dem ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp (vgl. Kapitel 4.1.2.1) und dem der Probe HAp90 exakt gleich (nicht gezeigt). Demzufolge kann eine Zuordnung der Resonanzen wie im Kapitel 4.1.2.1 erfolgen. Damit werden die beiden BO_3^{3-} -Gruppen ähnlich in das Calciumphosphatnetzwerk eingebaut sein, wie in der Probe BHAp. Das ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp80 zeigt dagegen eine Intensitätserhöhung der Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13\text{ppm}$ und bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,5\text{ppm}$, was vermuten lässt, dass das Spektrum von einer weiteren Resonanz überlagert wird, die BO_3^{3-} -Gruppen zugeordnet werden kann. Zur Aufklärung dieser Vermutung wurde ein ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Experiment durchgeführt (Abbildung 4.3-5).

Bei Erhöhung des Anteils an Takedait (Probe HAp75, HAp50 und HAp25) sind in den ^{11}B -MAS-NMR-Spektren zwei neue Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 14,4\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 20,2\text{ppm}$ zu beobachten. Zieht man das ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp0 (reines Takedait) heran, stimmen diese Polstellen mit den Polstellen im ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp75 überein. Diese Resonanz kann den BO_3^{3-} -Gruppen des Takedaits zugeordnet werden. Weiterhin ist zu beobachten, dass die Intensität von Takedait mit zunehmenden Takedait-Anteil zunimmt und die Intensitäten der Resonanzen der BO_3^{3-} -Gruppen in der BCaP-Phase abnimmt, so dass diese kaum noch in den ^{11}B -MAS-NMR-Spektren der Probe HAp50 und HAp25 zu sehen sind.

Das gescherte ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp90 (Abbildung 4.3-5, links oben) zeigt zwei Resonanzen bei $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 23,5\text{ppm}$ und $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 26\text{ppm}$ wie sie bereits im gescherten ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp (vgl. Kapitel 4.1.2.1) zu sehen sind.

Im gescherte ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp80 (Abbildung 4.3-5, rechts oben) können zwei Resonanzen bei $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 23,6\text{ppm}$ und $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 26\text{ppm}$ beobachtet werden. Wird die Resonanz bei $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 23,6\text{ppm}$ genauer betrachtet, stellt man fest, dass die Polstellen unterschiedliche $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})}$ -Werte besitzen ($\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 23,53\text{ppm}$ und $\delta_{\text{MQ-MAS}(^{11}\text{B})} = 23,65\text{ppm}$). Zudem liegt eine deutlich größere Linienbreite

($\text{HWB}_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 0,75\text{ppm}$) als bei der Resonanz $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 23,6\text{ppm}$ ($\text{HWB}_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 0,5\text{ppm}$) in der Probe HAp90 vor. Damit konnte gezeigt werden, dass eine dritte Resonanz, die BO_3^{3-} -Gruppen zugeordnet werden kann, in der Probe HAp80 existiert.

In der Probe HAp75 im gescherten ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum (Abbildung 4.3-5, links unten) wird eine vierte Resonanz bei $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 24,9\text{ppm}$ beobachtet. Die Resonanz bei $\delta_{\text{MQ-MAS}}(^{11}\text{B}) = 24,9\text{ppm}$ kann den BO_3^{3-} -Gruppen des Takedaits zugeordnet werden (vgl. Abbildung 4.3-5, rechts unten).

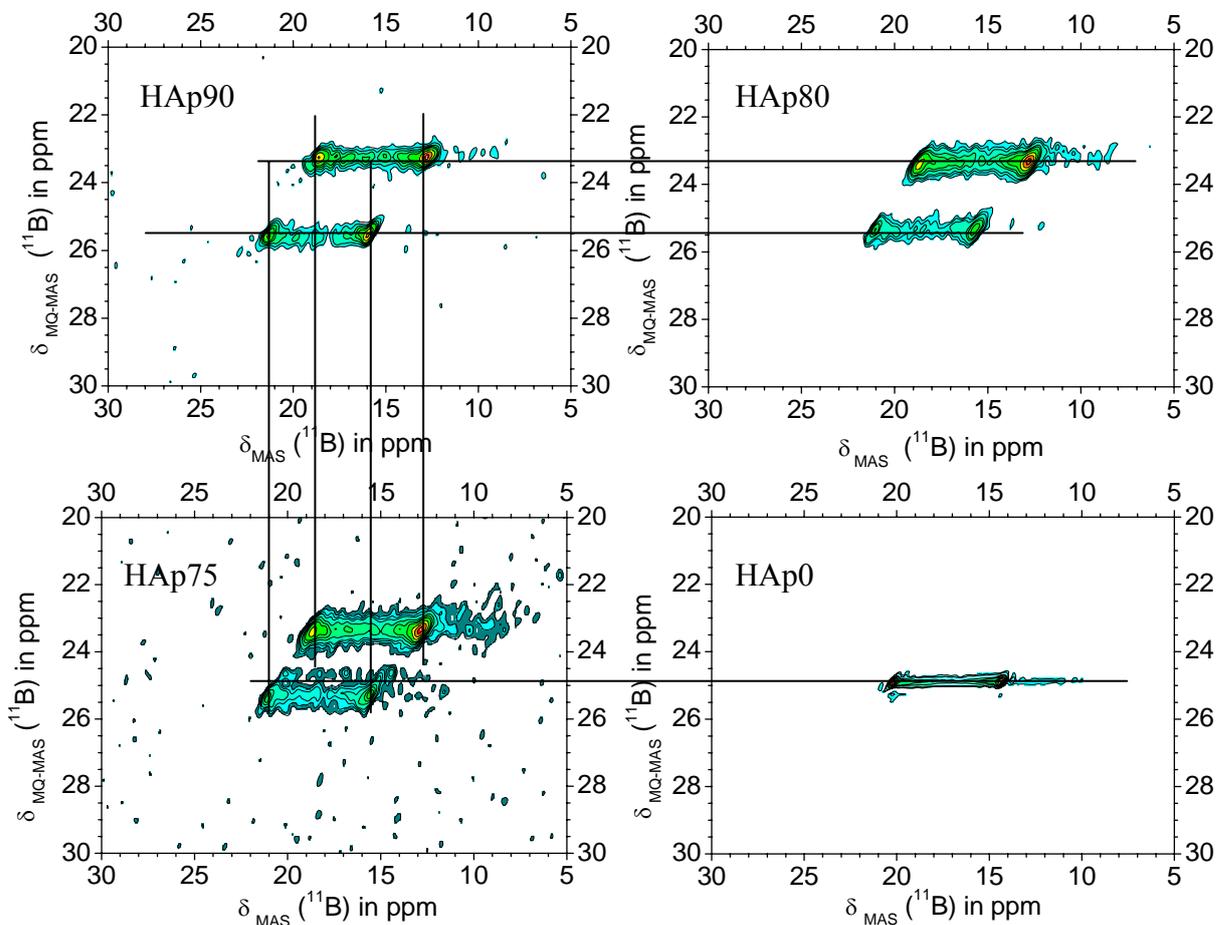


Abbildung 4.3-5: ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektren der Proben HAp90 (links oben), HAp80 (rechts oben), HAp75 (links unten) und HAp0 (Takedait, rechts unten)

4.3.2.2 $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren an den Proben HAp90, HAp80 und HAp75

Um eindeutig zu klären, ob alle BO_3^{3-} -Gruppen in das Calciumphosphatnetzwerk eingebaut sind, wurde das $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -MAS-NMR-REDOR-Verfahren an den Proben HAp90, HAp80 und HAp75 durchgeführt. Aufgrund der unterschiedlichen Linienform der Resonanz des Takedaits und den Resonanzen der verbleibenden BO_3^{3-} -Gruppen, lässt sich vermuten, dass sich zunächst der komplett eingesetzte Anteil des Takedaits mit dem kommerziell erhältlichen HAp bei der Synthese der Proben HAp90 und HAp80 umgesetzt hat. In den restlichen Proben hat nur ein Teil des eingesetzten Takedaits mit dem kommerziell erhältlichen HAp reagiert und die unverbrauchte Mengen blieb als kristallines Takedait in den Proben HAp75, HAp50 und HAp25 zurück.

Bereits in Kapitel 4.1.2.6 wurde an der Probe BHAp das $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren gezeigt, um eine Vorstellung über den Einbau der Boratgruppe in das Phosphatnetzwerk zu bekommen. Anhand der Proben HAp90, HAp80 und HAp75 soll nun der schrittweise Einbau der Boratgruppen in das Phosphatnetzwerk mit zunehmendem Takedait-Anteil verfolgt werden.

Die Abbildung 4.3-6 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp90 (schwarze Linie, links) mit den bekannten Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,5\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 21,2\text{ppm}$. Aus dem ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum konnte bereits die Resonanzen bei $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 23,3\text{ppm}$ und $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ ermittelt werden, deren Zuordnung wie in Kapitel 4.1.2.1 beschrieben, erfolgt.

Die blaue Linie in Abbildung 4.3-6 (links) zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum S nach dem Wiedereinschalten der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Bor und Phosphor. Es kommt zum Rückgang der Signalintensität für alle Signale. Damit befinden sich die BO_3^{3-} -Gruppen in räumlicher Nähe zu Phosphatgruppen.

Es tritt ebenfalls eine Linienformveränderung in den Spektren S für die Polstelle $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,4\text{ppm}$ auf, die bereits beim $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren an der Probe BHAp (Kapitel 4.1.2.6) beobachtet werden konnte. Daher wurde die REDOR-Kurve für die Probe HAp90 in gleicher Weise bestimmt. Es wurde eine Linienformsimulation für die Resonanz bei $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 23,3\text{ppm}$ mit DMFit⁸⁰ in den Spektren S_0 und S durchgeführt.

Anschließend wurde aus der Differenz zwischen den Spektren S_0 und S und den jeweiligen Linienformsimulationen die Linienform der Resonanz bei $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ erhalten. Damit ist es nun möglich die REDOR-Kurven für beide Spezies zu ermitteln.

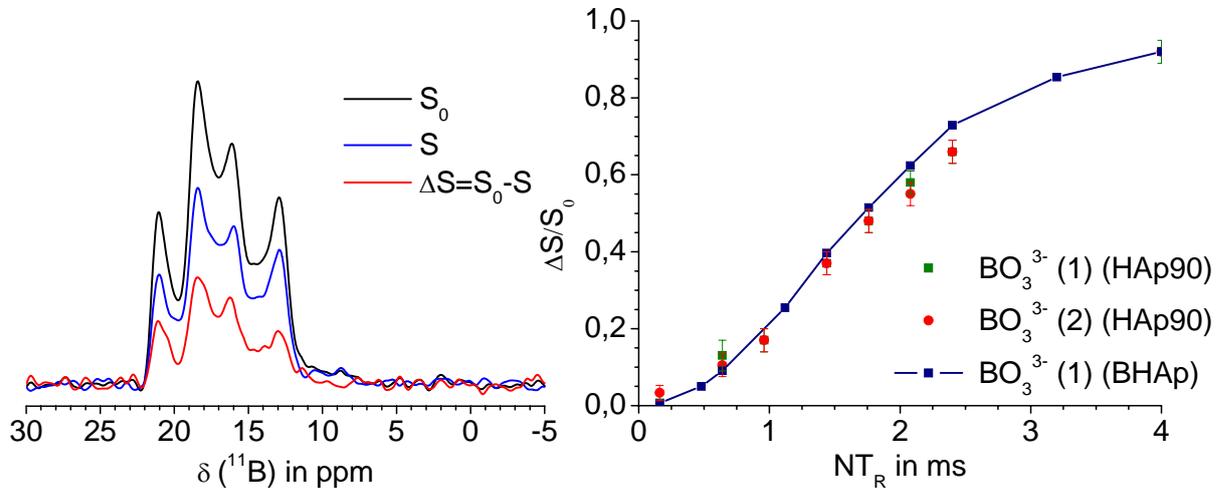


Abbildung 4.3-6: $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren an der Probe HAp90 mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Depth}} = 1,44\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (links, schwarze Linie), dem Spektrum S (links, blaue Linie) und dem Differenzspektrum ΔS (links, rote Linie); $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-Kurve für die Probe HAp90 der BO_3^{3-} (1)- ($\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$) und BO_3^{3-} (2)- Gruppe ($\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 23,3\text{ppm}$) und die $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-Kurve für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe der Probe BHAp (rechts)

Die REDOR-Kurven für die Resonanzen $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 23,3\text{ppm}$ und $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ der Probe HAp90 sind in Abbildung 4.3-6 (rechts) dargestellt. Zum Vergleich wurde die REDOR-Kurve der Probe BHAp für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe hinzugefügt. Es fällt auf, dass der Verlauf der REDOR-Kurven für die Resonanzen bei $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 23,3\text{ppm}$ und $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ identisch ist mit dem Verlauf der REDOR-Kurve für die BO_3^{3-} (1)-Gruppe der Probe BHAp. Es kann vermutet werden, dass ähnliche Abstände zwischen den Boratgruppen und den Phosphatgruppen wie in der Probe BHAp vorliegen und somit der gleiche Aufbau der BCaP-Phase vorhanden sind.

In Abbildung 4.3-7 wird das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp80 (schwarze Linie) mit den bekannten Polstellen bei $\delta_{(11\text{B})} = 13\text{ppm}$, $\delta_{(11\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, $\delta_{(11\text{B})} = 18,5\text{ppm}$ und $\delta_{(11\text{B})} = 21,2\text{ppm}$ gezeigt. Aus dem ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum konnten bereits die drei Resonanzen bei $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 23,3\text{ppm}$, $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 20,9\text{ppm}$ und $\delta_{\text{iso}, (11\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ ermittelt und zugeordnet werden.

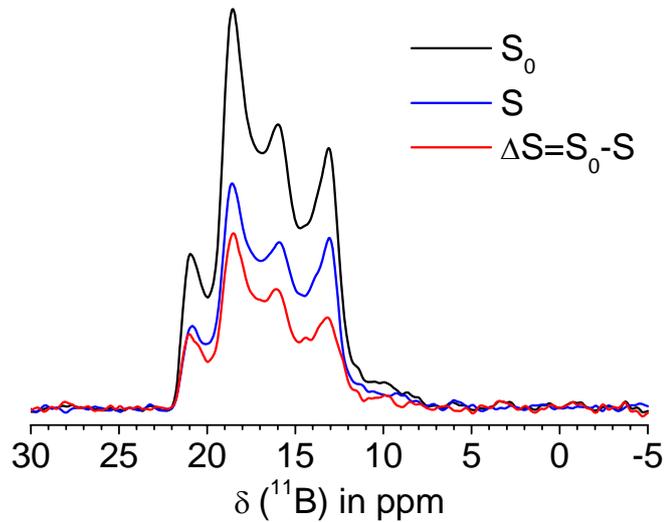


Abbildung 4.3-7: $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren an der Probe HAp80 mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 1,76\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (schwarze Linie), dem Spektrum S (blaue Linie) und dem Differenzspektrum ΔS (rote Linie)

Die blaue Linie in Abbildung 4.3-7 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum S nach dem Wiedereinschalten der heteronuklearen Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Bor und Phosphor. Es kommt zum Rückgang der Signalintensität für alle drei Signale. Damit befinden sich alle drei BO_3^{3-} -Gruppen in räumlicher Nähe zu Phosphatgruppen.

In Abbildung 4.3-8 wird das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp75 (schwarze Linie) mit den bekannten Polstellen bei $\delta_{(^{11}\text{B})} = 13,1\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 14,4\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 16,3\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 18,5\text{ppm}$, $\delta_{(^{11}\text{B})} = 20,2\text{ppm}$ und $\delta_{(^{11}\text{B})} = 21,2\text{ppm}$ gezeigt. Aus dem ^{11}B -3Q-MAS-NMR-Spektrum konnten bereits die vier Resonanzen bei $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 23,3\text{ppm}$, $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 22\text{ppm}$, $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 20,9\text{ppm}$ und $\delta_{\text{iso}, (^{11}\text{B})} = 20,6\text{ppm}$ ermittelt und zugeordnet werden.

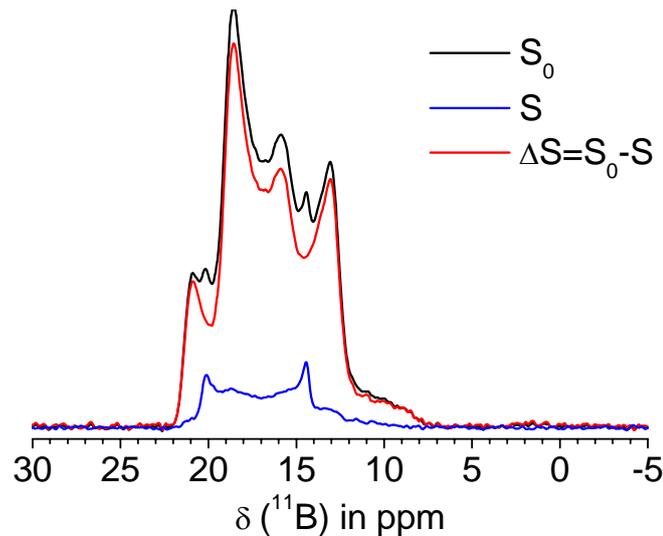


Abbildung 4.3-8: $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren an der Probe HAp75 mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 5,6\text{ms}$ mit dem Spektrum S_0 (schwarze Linie), dem Spektrum S (blaue Linie) und dem Differenzspektrum ΔS (rote Linie)

Die blaue Linie in Abbildung 4.3-8 zeigt das ^{11}B -RSE-MAS-NMR-Spektrum S nach dem Wiedereinschalten der heteronuklearen Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen Bor und Phosphor. Es kommt nur zum Rückgang der Signalintensität für drei Signale. Das Differenzspektrum entspricht dem der Probe HAp80 (Abbildung 4.3-9, links).

Die Linienform des Spektrums S der Probe HAp75 zeigt die Resonanzen des Takedaits (Abbildung 4.3-9, rechts).

Damit befinden sich nur drei BO_3^{3-} -Gruppen in räumlicher Nähe zu Phosphatgruppen. Damit ist eindeutig bewiesen, dass mit zunehmendem Anteil an Takedait auch nur noch ein Teil des Takedaits bei der Synthese mit dem kommerziell erhältlichen HAp reagiert.

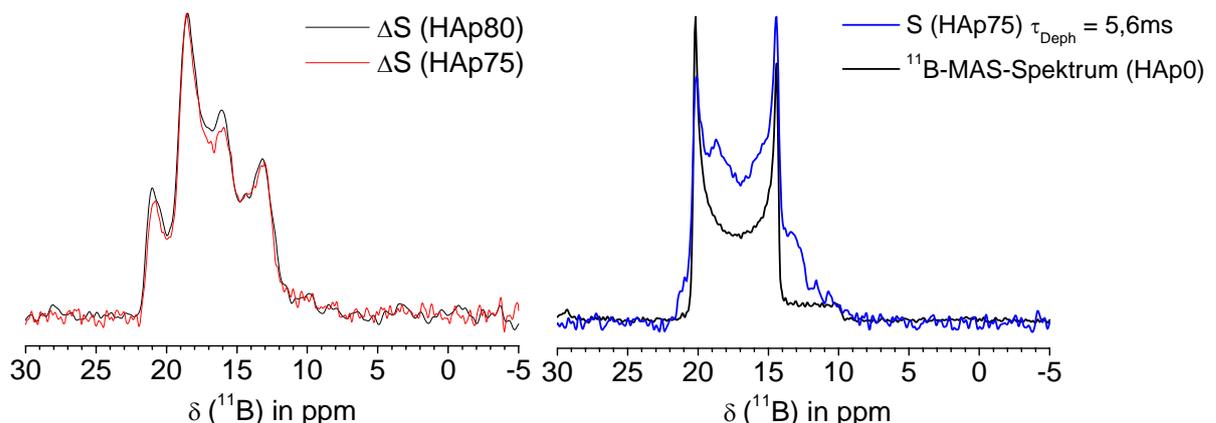


Abbildung 4.3-9: Differenzspektren ΔS der Probe HAp80 (schwarze Linie, links) und HAp75 (rote Linie, links) mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 1,76\text{ms}$; Spektrum S der Probe HAp75 (blaue Linie, rechts) mit einer Evolutionszeit von $\tau_{\text{Deph}} = 5,6\text{ms}$ und ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum der Probe HAp0 (schwarze Linie, rechts)

Aufgrund der Überlagerung der vier Signale und der nicht abzuschätzenden Linienformveränderung in den Spektren S, liefert die Ermittlung der REDOR-Kurven keine sinnvollen Informationen. Damit können auch keine weiteren Informationen über Bor-Phosphor-Abstände getroffen werden.

4.3.2.3 *Quantitative Analyse der Probenserie 2*

In den vorherigen Kapiteln konnte bereits gezeigt werden, dass ein Einbau der Boratgruppen in das Calciumphosphatnetzwerk stattgefunden hat. Allerdings konnte nicht geklärt werden, wie viel Takedait mit dem Anteil des kommerziell erhältlichen HAp reagiert hat. Dazu werden die ^{31}P - und ^{11}B -MAS-NMR-Spektren einer quantitativen Analyse unterzogen.

Zur quantitativen Analyse der Phosphoranteile wurden ^{31}P -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 2 aufgenommen. Um eine Veränderung der Phosphoranteile, die während der Synthese stattgefunden hat (vgl. Abbildung 4.3-3) festzustellen, wurde jedes ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum über den gesamten spektralen Bereich integriert. Die massenormierten Integrale der Proben HAp90 bis HAp25 wurden in Bezug zum massenormierten Integral des ^{31}P -MAS-NMR-Spektrums der Probe HAp100 gesetzt. Die relativen Phosphoranteile sind in Tabelle 4-8 dargestellt.

Tabelle 4-8: Vergleich der eingesetzten und nach der Synthese vorhandenen ^{31}P -Anteile eingesetzter

Probenname	^{31}P -Anteil (HAp)	exp. ^{31}P -Anteil
HAp100	100%	100%
HAp90	90%	87,6%
HAp80	80%	84%
HAp75	75%	71,5%
HAp50	50%	47%
HAp25	25%	22%
HAp0	0%	0%

Korreliert man den experimentellen relativen Phosphoranteil mit dem eingesetzten Phosphoranteil, stellt man fest, dass ein linearer Zusammenhang vorliegt (Abbildung 4.3-10). Das heißt, dass die gesamten eingesetzten Phosphoranteile des HAp noch vorhanden sind.

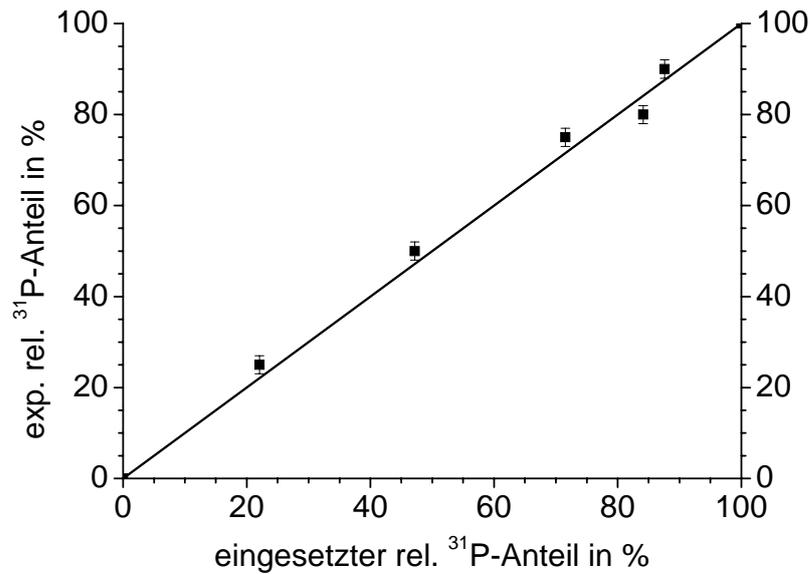


Abbildung 4.3-10: Korrelation zwischen dem eingesetzten relativen ^{31}P -Anteils und dem nach der Synthese experimentell bestimmten relativen ^{31}P -Anteils der Probenserie 2

Zur quantitativen Analyse der Boranteile wurden ^{11}B -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 2 aufgenommen. Um eine Veränderung der Boranteile (vgl. Abbildung 4.3-4) zu ermitteln, wurde jedes ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum über den gesamten spektralen Bereich integriert. Die massenormierten Integrale der Proben HAp90 bis HAp25 wurden in Bezug zum massenormierten Integral des ^{11}B -MAS-NMR-Spektrums der Probe HAp0 (Takedait) gesetzt. Die relativen Boranteile sind in Tabelle 4-9 dargestellt.

Tabelle 4-9: Vergleich der eingesetzten und nach der Synthese vorhandenen ^{11}B -Anteile

Probenname	eingesetzter ^{11}B - Anteil (Takedait)	exp. ^{11}B -Anteil
HAp100	0%	0%
HAp90	10%	10%
HAp80	20%	20%
HAp75	25%	20%
HAp50	50%	47%
HAp25	75%	75%
HAp0	100%	100%

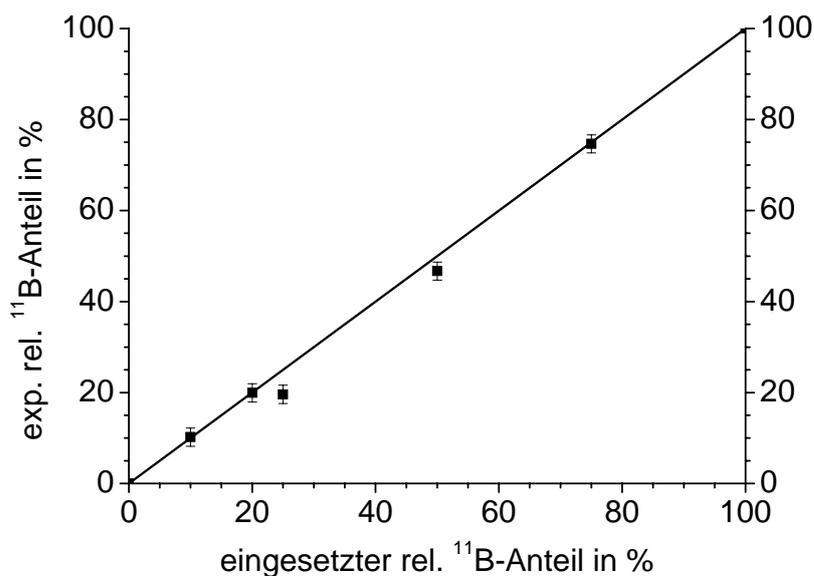


Abbildung 4.3-11: Korrelation zwischen dem eingesetzten ^{11}B -Anteil und dem nach der Synthese experimentellen bestimmten ^{11}B -Anteil der Probenserie 2

Korreliert man den experimentellen relativen Boranteil mit dem eingesetzten Boranteil, stellt man fest, dass ein linearer Zusammenhang vorliegt (Abbildung 4.3-11). Das heißt, dass die gesamte eingesetzte Bormenge des Takedaits noch vorhanden ist. Aus den ^{11}B -MAS-NMR-Spektren war bereits ersichtlich, dass zwischen zwei Boranteilen unterschieden werden muss: zum einen aus dem Boranteil der in Form von Boratgruppen im Calciumphosphatnetzwerk eingebaut ist und zum anderen aus dem Boranteil der in Form von Boratgruppen im nicht-umgesetzten Takedait vorliegt. Die beiden Boranteile können durch Differenzbildung aus dem jeweiligen ^{11}B -MAS-NMR-Spektrums (Probe HAp75, HAp50 und HAp25) und dem ^{11}B -MAS-NMR-Spektrums des Takedaits und durch anschließende Integration der Spektren erhalten werden. Die einzelnen Boranteile sind in Tabelle 4-10 zusammengefasst.

Tabelle 4-10: Vergleich der eingesetzten ^{11}B -Anteile mit den eingebauten und nicht-bei-der-Synthese-umgesetzten Takedait der Probenserie 2

Probenname	eingesetzter ^{11}B -Anteil	eingebauter ^{11}B -Anteil	nicht-umgesetzter Takedait-Anteil
HAp100	0%	0%	0%
HAp90	10%	100%	0%
HAp80	20%	100%	0%
HAp75	25%	88%	12%
HAp50	50%	30%	70%
HAp25	75%	10%	90%
HAp0	100%	-	100%

Betrachtet man die eingebauten ^{11}B -Anteile, stellt man fest, dass zunächst der vollständig angebotene Boranteil umgesetzt wird (Probe HAp90 und HAp80). Mit zunehmend angebotenem Takedait-Anteil nimmt der eingebaute Boranteil ab. Um die umgesetzten Boranteile in Abhängigkeit zum vorhandenen Phosphoranteil zu betrachten, wird das Verhältnis zwischen dem in der Probe tatsächlich eingebauten Boranteil und dem vorhandenen Phosphoranteile gebildet. Die Werte sind Tabelle 4-11 zusammengefasst.

Tabelle 4-11: Auflistung der tatsächlichen eingebauten ^{11}B -Anteile bezogen auf den eingesetzten ^{11}B -Anteil, experimentell bestimmte ^{31}P -Anteile und das B/P-Verhältnis aus beiden Werten der Probenserie 2

Probenname	eingebaute ^{11}B -Anteil bezogen auf den eingesetzten ^{11}B -Anteil	exp. ^{31}P -Anteil	B/P-Verhältnis
HAp100	0%	100%	0
HAp90	10%	87,6%	0,11
HAp80	20%	84%	0,24
HAp75	22%	71,5%	0,31
HAp50	15%	47%	0,32
HAp25	7,5%	22%	0,34
HAp0	-	0%	-

Die Korrelation zwischen diesen B/P-Verhältnissen und den vorhandenen Phosphoranteilen (HAp-Anteil) ist in Abbildung 4.3-12 dargestellt. Es zeigt, dass das B/P-Verhältnis mit zunehmenden Takedait zuerst zunimmt, so dass mehr Bor in das Calciumphosphatnetzwerk eingebaut wird, um dann mit 1:3 konstant zu bleiben (Proben HAp75, HAp50 und HAp25). Die eingesetzte Phosphormenge hat dann vollständig mit dem vorhandenen Takedait reagiert, sodass schlussendlich eine Sättigung vorliegt.

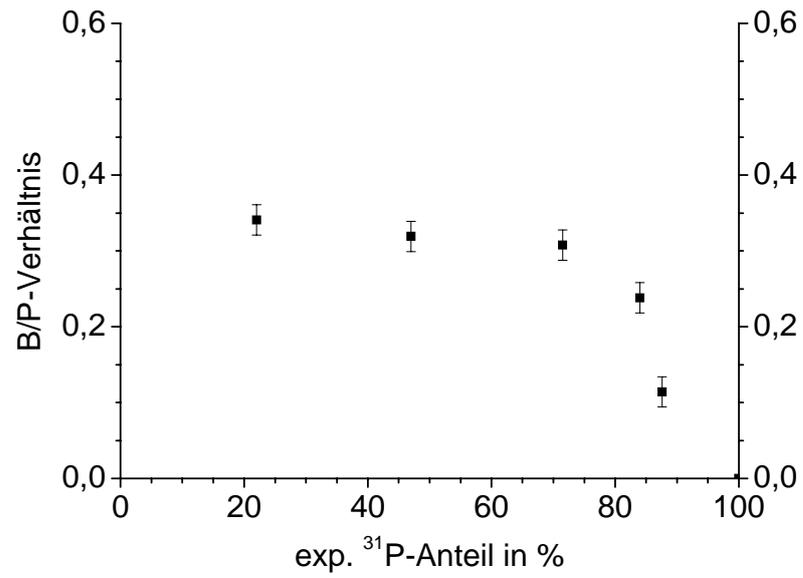


Abbildung 4.3-12: Korrelation zwischen dem B/P-Verhältnis und den vorhandenen ^{31}P -Anteilen in den Proben der Probenserie 2

5 Zusammenfassung und Ausblick

Osteoporose ist immer noch eine der häufigsten Knochenkrankheiten im höheren Lebensalter. Eine Folge dieser Erkrankung sind Knochenbrüche, die unter Verwendung von synthetischen Knochenersatzmaterialien behandelt werden können. Hydroxylapatit (HAp) weist eine chemische Ähnlichkeit zum Knochenmineral auf und besitzt somit auch eine hohe Biokompatibilität. Allerdings verfügt HAp auch über eine sehr langsame und damit unerwünschte Resorptionskinetik. Durch den Einbau von Boratgruppen (BO_3^{3-} und BO_2^-) als Fremdionen in das HAp-Gitter, d.h. durch die Präparation von borathaltigen Calciumphosphaten, die im Rahmen dieser Arbeit stattfand, wird die Reaktionskinetik positiv beeinflusst, sodass die hohe Biokompatibilität ausgenutzt und die erwünschte Resorptionskinetik erreicht werden kann.

Um diese Materialien für spätere Anwendungen nutzen zu können, ist eine ausführliche, strukturelle Charakterisierung notwendig. Die Festkörper-NMR-Spektroskopie stellte dabei die Hauptmethode dar.

Im ersten Schritt erfolgte eine detaillierte Untersuchung der Probe BHAp, die unter Verwendung der Ausgangsstoffe Calciumcarbonat, Diammoniumhydrogenphosphat und Borsäure präpariert wurde. Die FTIR-Spektren zeigten Schwingungsbanden, die Hydroxylapatit und trigonalen und linearen Boratgruppen (BO_3^{3-} und BO_2^-) zugeordnet werden. Ebenso konnten die Reflexe des Röntgenpulverdiffraktogrammes der Probe BHAp konnten nur Hydroxylapatit und Tetracalciumphosphat (Spuren) zugeordnet werden. Es gab keine Hinweise auf den Einbau der Boratgruppen. Allerdings konnte durch die Aufnahme eines ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum gezeigt werden, dass neben den Phosphatgruppen des HAp ($\delta_{(31\text{P})} = 2,3\text{ppm}$, schmales Signal) noch weitere Phosphatgruppen ($\delta_{(31\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ und $\delta_{(31\text{P})} = 5,5\text{ppm}$ (jeweils breite Signale)) in dieser Probe enthalten sind.

Um eine wichtige Fragestellung, die die kristallinen und amorphen Anteile betrifft, zu klären, wurde zusätzlich ein ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum der Probe BHAp aufgenommen. Durch Bildung des Schnittes in der direkten Dimension bei $\delta_{(1\text{H})} = 0\text{ppm}$ des ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum konnte die Linienform der HAp-Resonanz separiert werden. Eine modifizierte Differenzbildung zwischen dem ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum und dem Schnitt in der direkten Dimension bei $\delta_{(1\text{H})} = 0\text{ppm}$ ergab erstmals für diese Probe eine Abschätzung des kristallinen HAp-Anteil von 30mol%. Der verbleibende Phosphatbestand von 70mol% wurde einer amorphen Phase zugeordnet, deren Zusammensetzung mit

$\text{Ca}_{10,26}(\text{PO}_4)_6(\text{BO}_3)_{0,72}(\text{OH})_{0,36}$ bestimmt wurde. Genauere strukturelle Informationen dieser Phase wurden durch die Aufnahme eines ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-Spektrums erhalten. Es konnten zwei Resonanzen bei $\delta_{(31\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ und $\delta_{(31\text{P})} = 5\text{ppm}$ beobachtet werden. Diese Resonanzen wurden einer borathaltigen Calciumphosphat-Phase zugeordnet, die als BCaP-Phase definiert wurde.

Zusätzliche strukturelle Informationen über die BCaP-Phase wurden mit der Durchführung des ^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-NMR-Verfahren gewonnen. Neben der Bestimmung der mittleren Abständen der Phosphatgruppen der BCaP-Phase ($\delta_{(31\text{P})} = 2,3\text{ppm}$ und $\delta_{(31\text{P})} = 5\text{ppm}$) zu den Protonen der OH⁻-Gruppe der BCaP-Phase ($\delta_{(1\text{H})} = -0,6\text{ppm}$), konnte eine weitere Phosphorresonanz ($\delta_{(31\text{P})} = 2,3\text{ppm}$) detektiert werden, die Phosphatgruppen einer HAp-ähnlichen Grenzfläche zugeordnet wurden. Mithilfe des $^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Verfahrens konnte die Existenz dieser HAp-ähnlichen Grenzfläche bestätigt werden.

Diese Ergebnisse wurden erstmalig zum Aufbau eines Modells dieser BHAp-Partikel genutzt. Dabei bildet kristalliner HAp den Kern der Partikel, der von einer dünnen Grenzschicht mit HAp-ähnlicher Struktur umschlossen und anschließend von einer borathaltigen Calciumphosphat-Phase (BCaP-Phase) bedeckt wird. Die Phosphatbestände der jeweiligen Strukturen wurde mit 30mol% (kristalline HAp-Phase), 8 mol% (Grenzschicht) und 62mol% (BCaP-Phase) über eine Liniensimulation des ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum abgeschätzt.

Das $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren wurde durchgeführt, um über die heteronukleare Dipol-Dipol-Kopplung zwischen Bor und Phosphor internukleare Abstände zu berechnen und Schlussfolgerungen zum Aufbau der BCaP-Phase ziehen zu können. Allerdings ist aufgrund des vorliegenden Mehrspinsystems nur eine Berechnung von mittleren Mindestabständen möglich. Um trotzdem zu einer Vorstellung zum Aufbau der BCaP-Phase zu bekommen, wurde unter Annahme der gleichen Abstände zwischen Phosphatgruppen und Boratgruppen und einem P/B-Verhältnis von 8,3:1 ein Modell vorgeschlagen. Als Grundstruktur wird ein kubisches Gitter angenommen, wobei die Elementarzelle aus acht Teilkuben besteht. Die Ecken werden von den Phosphatgruppen besetzt und in der Mitte eines Kubus wird eine Boratgruppe (BO_3^{3-}) platziert. Die Bestimmung der Abstände zwischen OH⁻-Protonen der BCaP-Phase und der BO_3^{3-} -Gruppen, die mit der Durchführung des $^{11}\text{B}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-NMR-MAS-Verfahren möglich war, lässt vermuten, dass sich die OH⁻-Protonen in der Mitte der leeren Kuben aufhalten. Im Anschluss der umfassenden strukturellen Charakterisierung der Probe BHAp, wurde mit der Präparation und Charakterisierung der Probenserie 1 begonnen. Dabei wurden zur Präparation andere Ausgangsstoffe (Calciumcarbonat, Calciumdiphosphat und Boroxid), als bei der Präparation

der Probe BHAp verwendet. Dementsprechend lag ein qualitativer Vergleich mit den ^1H -, ^{31}P -, ^{11}B -MAS-NMR-Spektrum und ^1H - ^{31}P -HETCOR-NMR-MAS-Spektrum der Probe BHAp nahe. In allen borathaltigen Proben (BHAp1, BHAp2 und BHAp3) konnten alle Signale vergleichbar zur Probe BHAp detektiert werden. Damit kann diese Variante der Präparation als Möglichkeit gesehen werden, borathaltige Calciumphosphate herzustellen.

Aufgrund der gleichen detektierten Signale wie in der Probe BHAp wurde das gleiche Modell zum Aufbau der BHAp-Partikel vorgeschlagen. Allerdings geht aus den ^{31}P -MAS-NMR-Spektren der Probenserie 1 hervor, dass die Partikelphasen der jeweiligen Probe in unterschiedlichen Volumina vorliegen. Die HAp-Anteile für die Probenserie 1 lagen zwischen 6 mol% und 14mol%. Eine Bestätigung dieser Ergebnisse sollte mit der quantitativen Röntgenpulverdiffraktometrie erfolgen. Allerdings konnten keine HAp-Anteile mit dieser Methode bestimmt werden, da bei der Auswertung je nach Wahl des Reflexes im Röntgenpulverdiffraktogramm unterschiedliche HAp-Anteile für die Probenserie 1 bestimmt werden konnten. Eine Lösung für dieses Problem konnte noch nicht gefunden werden und soll in zukünftigen Arbeiten nachgegangen werden.

Zudem fanden an der Probenserie 1 Untersuchungen zur Bioaktivität und zum Degradationsverhalten statt, die als wichtige Kriterien verwendet werden, um die Eignung als Knochenersatzstoff bewerten zu können.

Bei der Untersuchung der Bioaktivität wurden Pellets der Probenserie 1 in SBF-Lösung eingetaucht und das Wachstum von nanokristallinem HAp auf der Pelletoberfläche mit SEM und TF-XRD zeitlich verfolgt. Dabei zeigte die Probe HAp1, die keine Boratgruppen enthält, ein deutlich schnelleres Wachstum und besitzt damit die größte Bioaktivität dieser Probenserie. Das geringste Wachstum zeigte sich in der Probe BHAp3, sodass diese Probe die niedrigste Bioaktivität ausbildet und somit die Bioaktivität in der Reihenfolge BHAp3 < BHAp2 < HAp1 zunimmt. Die borathaltigen Calciumphosphate (Probe BHAp2 und BHAp3) zeigen zwar eine geringere Bioaktivität als die Probe HAp1, die keine Boratgruppen enthält, aber immer noch eine ausreichende, um sie als Knochenersatzstoff einsetzen zu können. Das Degradationsverhalten der Probenserie 1 wurden bestimmt, indem die Partikel in eine Essigsäure/Acetatpufferlösung bei $\text{pH} = 5,5$ gegeben und die Konzentration der Ca^{2+} -Ionen über die Zeit gemessen wurde. Die langsamste Degradation konnte bei der Probe HAp1, die keine Boratgruppen enthält, beobachtet werden. Die Degradation der borathaltigen Proben (BHAp1, BHAp2 und BHAp3) konnte auf das gewünschte Niveau des α -TCP beziehungsweise β -TCP eingestellt und somit durch den Borgehalt kontrolliert werden.

Im letzten Teil dieser Arbeit wurde die Probenserie 2 mit der Festkörper-NMR-Spektroskopie charakterisiert. Diese wurde unter Verwendung der Ausgangsstoffe kommerziell erhältlichem HAp und selbst synthetisiertes Calciumborat (Takedait) als Konzentrationsreihe präpariert. Mit den Ergebnissen der ^1H -, ^{31}P - ^{11}B -MAS-NMR-Spektren und dem ^{11}B - ^{31}P -REDOR-Verfahren konnte der Einbau der Boratgruppen verfolgt und damit eine Reaktion zwischen den Ausgangsstoffen bestätigt werden. Zudem wurde eine quantitative Analyse der ^{31}P - und ^{11}B -MAS-NMR-Spektren durchgeführt. Diese konnte zeigen, dass bei ausreichend eingesetzter Menge an kommerziell erhältlichem HAp zunächst alle Boratgruppen, die durch die eingesetzte Menge an Takedait gegeben waren, eingebaut wurden (HAp90 und HAp80). Erhöht man die eingesetzte Menge an Takedait, kann nur eine begrenzte Menge davon mit dem kommerziell erhältlichen HAp reagieren, sodass es zu einer Sättigung kam. Durch die Korrelation des umgesetzten Boranteils zum vorhandenen Phosphoranteil (HAp-Anteil) konnte ein B/P-Verhältnis von 1:3 in den Proben (HAp75, HAp50 und HAp25) ermittelt werden. Es lag eine Sättigung vor.

Diese borathaltigen Calciumphosphat-Partikel sollen als Trägermaterial genutzt werden, um Proteine zu adsorbieren. Zusätzlich kann durch das kontrollierte Freisetzen der Proteine die Knochenregeneration gefördert werden. Die wertvollen Informationen über den strukturellen Aufbau der borathaltigen Calciumphosphate können somit das Verständnis über die Adsorption von Proteinen (Cytochrome C, Lysozyme und Albumine) an diesen Partikeln bzw. deren Mechanismus erweitern. Dieser Proteinadsorptionsmechanismus kann u. a. mit dem $^{13}\text{C}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Verfahren näher charakterisiert werden.

Zusätzlich wären weitere Möglichkeiten zur Präparation von borathaltigen Calciumphosphaten denkbar, um sich Schritt für Schritt dem idealen Knochenersatzstoff bzgl. Bioaktivität und Degradation zu nähern.

6 Literaturverzeichnis

1. Felsenberg, D., Struktur und Funktion des Knochens: Stützwerk aus Kollagen und Hydroxylapatit. In 2001; Vol. 30, pp 488-494.
2. Minne, H. W., Bisphosphonate zur Behandlung der Osteoporose: Spätschäden vorbeugen! In 2001; Vol. 30, pp 512-517.
3. Cai, Y. R.; Tang, R. K., Calcium phosphate nanoparticles in biomineralization and biomaterials. *Journal of Materials Chemistry* **2008**, 18, (32), 3775-3787.
4. Epple, M., *Biomaterialien und Biomineralisation* Teubner Studienbücher: Stuttgart, Leipzig, Wiesbaden, 2003; p 88.
5. LeGeros, R. Z., Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials. *Chemical Reviews* **2008**, 108, (11), 4742-4753.
6. Daculsi, G., Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials* **1998**, 19, (16), 1473-1478.
7. LeGeros, R. Z.; Lin, S.; Rohanizadeh, R.; Mijares, D.; LeGeros, J. P., Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **2003**, 14, (3), 201-209.
8. Aoki, H., *Medical Applications of Hydroxyapatite*. Ishiyaku Euro America, Inc.: Tokyo, 1994.
9. Li, T.; Lee, J.; Kobayashi, T.; Aoki, H., Hydroxyapatite coating by dipping method, and bone bonding strength. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **1996**, 7, (6), 355-357.
10. Welzel, T.; Meyer-Zaika, W.; Epple, M., Continuous preparation of functionalised calcium phosphate nanoparticles with adjustable crystallinity. *Chemical Communications Articles* **2004**, (10), 1204-1205.
11. Fathi, M. H.; Hanifi, A.; Mortazavi, V., Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder. *Journal of Materials Processing Technology* **2008**, 202, (1-3), 536-542.
12. Fujii, E.; Ohkubo, M.; Tsuru, K.; Hayakawa, S.; Osaka, A.; Kawabata, K.; Bonhomme, C.; Babonneau, F., Selective protein adsorption property and characterization of nanocrystalline zinc-containing hydroxyapatite. *Acta Biomaterialia* **2006**, 2, (1), 69-74.

13. Hayakawa, S.; Ohnishi, K.; Tsuru, K.; Osaka, A.; Fujii, E.; Kawabata, K.; Babonneau, F.; Bonhomme, C., Selective protein adsorption property and structure of nanocrystalline hydroxy-carbonate apatite. *Bioceramics 18, Pts 1 and 2* **2006**, 309-311, 503-506.
14. Gasqueres, G.; Bonhomme, C.; Maquet, J.; Babonneau, F.; Hayakawa, S.; Kanaya, T.; Osaka, A., Revisiting silicate substituted hydroxyapatite by solid-state NMR. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2008**, 46, (4), 342-346.
15. Elliott, J. C., *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*. Elsevier: Amsterdam, 1994.
16. Bertinetti, L.; Drouet, C.; Combes, C.; Rey, C.; Tampieri, A.; Coluccia, S.; Martra, G., Surface Characteristics of Nanocrystalline Apatites: Effect of Mg Surface Enrichment on Morphology, Surface Hydration Species, and Cationic Environments. *Langmuir* **2009**, 25, (10), 5647-5654.
17. Wopenka, B.; Pasteris, J. D., A mineralogical perspective on the apatite in bone. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems* **2005**, 25, (2), 131-143.
18. Ternane, R.; Cohen-Adad, M. T.; Panczer, G.; Goutaudier, C.; Kbir-Ariguib, N.; Trabelsi-Ayedi, M.; Florian, P.; Massiot, D., Introduction of boron in hydroxyapatite: synthesis and structural characterization. *Journal of Alloys and Compounds* **2002**, 333, (1-2), 62-71.
19. Takemoto, S.; Kusudo, Y.; Tsuru, K.; Hayakawa, S.; Osaka, A.; Takashima, S., Selective protein adsorption and blood compatibility of hydroxy-carbonate apatites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2004**, 69A, (3), 544-551.
20. Takashima, S.; Kusudo, Y.; Takemoto, S.; Tsuru, K.; Hayakawa, S.; Osaka, A., Synthesis of carbonate-hydroxy apatite and selective adsorption activity against specific pathogenic substances. *Bioceramics 14* **2002**, 218-2, 175-178.
21. Matsumoto, T.; Okazaki, M.; Inoue, M.; Yamaguchi, S.; Kusunose, T.; Toyonaga, T.; Hamada, Y.; Takahashi, J., Hydroxyapatite particles as a controlled release carrier of protein. *Biomaterials* **2004**, 25, (17), 3807-3812.
22. Ternane, R.; Cohen-Adad, M. T.; Boulon, G.; Florian, P.; Massiot, D.; Trabelsi-Ayedi, M.; Kbir-Ariguib, N., Synthesis and characterization of new oxyborapatite. Investigation of the ternary system CaO-P₂O₅-B₂O₃. *Solid State Ionics* **2003**, 160, (1-2), 183-195.

23. Ito, A.; Aoki, H.; Akao, M.; Miura, N.; Otsuka, R.; Tsutsumi, S., Structure of Borate Groups in Boron-Containing Apatite. *Nippon Seramikkusu Kyokai Gakujutsu Ronbunshi-Journal of the Ceramic Society of Japan* **1988**, 96, (6), 707-709.
24. Ito, A.; Aoki, H.; Akao, M.; Miura, N.; Otsuka, R.; Tsutsumi, S., Flux Growth and Crystal Structure of Boron-Containing Apatite. In *The Ceramic Society of Japan: 1988; Vol. 96*, pp 305-309.
25. Calvo, C.; Faggiani, R., Linear Metaborate Anions, Bo_2^- , in Apatitic Phosphates. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1974**, (17), 714-715.
26. Jäger, C., NMR Investigation of the Structure of Glasses: Conventional MAS NMR Experiments. In *Analysis of the Composition and Structure of Glass and Glass Ceramics*, Bach, H.; Krause, D., Eds. Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1999; pp 197-206.
27. Jäger, C.; Welzel, T.; Meyer-Zaika, W.; Epple, M., A solid-state NMR investigation of the structure of nanocrystalline hydroxyapatite. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2006**, 44, 573-580.
28. Posner, A. S.; Perloff, A.; Diorio, A. F., Refinement of the Hydroxyapatite Structure. *Acta Crystallographica* **1958**, 11, (4), 308-309.
29. Elliott, J. C., Monoclinic Space Group of Hydroxyapatite. *Nature-Physical Science* **1971**, 230, (11), 72-&.
30. Elliott, J. C.; Mackie, P. E.; Young, R. A., Monoclinic Hydroxyapatite. *Science* **1973**, 180, (4090), 1055-1057.
31. Li, Z. M.; He, W.; Wang, Y. J.; Zhang, X. D.; Zhao, H. S.; Yan, S. P.; Zhou, W. J., A Simple Method to Synthesize Nanocrystalline Hydroxyapatite. *Journal of Advanced Materials* **2009**, 41, (3), 28-32.
32. Mobasherpour, I.; Heshajin, M. S.; Kazemzadeh, A.; Zakeri, M., Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. *Journal of Alloys and Compounds* **2007**, 430, (1-2), 330-333.
33. Mavropoulos, E.; Rossi, A. M.; da Rocha, N. C. C.; Soares, G. A.; Moreira, J. C.; Moure, G. T., Dissolution of calcium-deficient hydroxyapatite synthesized at different conditions. *Materials Characterization* **2003**, 50, (2-3), 203-207.
34. Tenhuisen, K. S.; Brown, P. W., The kinetics of calcium deficient and stoichiometric hydroxyapatite formation from $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ and $Ca_4(PO_4)_2O$. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* **1996**, 7, (6), 309-316.

35. Tadic, D.; Veresov, A.; Putlayev, V. I.; Epple, M., In-vitro preparation of nanocrystalline calcium phosphates as bone substitution materials in surgery. *Materialwissenschaft Und Werkstofftechnik* **2003**, 34, (12), 1048-1051.
36. Siddharthan, A.; Kumar, T. S. S.; Seshadri, S. K., Synthesis and characterization of nanocrystalline apatites from eggshells at different Ca/P ratios. *Biomedical Materials* **2009**, 4, (4), -.
37. Jaeger, C.; Maltsev, S.; Karrasch, A., Progress of structural elucidation of amorphous calcium phosphate (ACP) and hydroxyapatite (HAp): Disorder and surfaces as seen by solid state NMR. *Bioceramics 18, Pts 1 and 2* **2006**, 309-311, 69-72.
38. Kalita, S. J.; Verma, S., Nanocrystalline hydroxyapatite bioceramic using microwave radiation: Synthesis and characterization. *Materials Science & Engineering C- Materials for Biological Applications* **2010**, 30, (2), 295-303.
39. Günther, H., *NMR-Spektroskopie: Eine Einführung in die Protonenresonanz-Spektroskopie und ihre Anwendungen in der Chemie* Thieme: Stuttgart, New York, 1983.
40. Friebolin, H., *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*. VCH: Weinheim, 1999.
41. Levitt, M. H., *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*. John Wiley & Sons, Ltd: Southampton, UK, 2001.
42. Canet, D., *NMR-Konzepte und Methoden*. Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York, 1994.
43. Duer, M. J., *Introduction to Solid-State NMR Spectroscopy*. Blackwell Publishing, Ltd: Cambridge, 2004.
44. Andrew, E. R.; Bradbury, A.; Eades, R. G., Nuclear magnetic resonance spectra from a crystal rotated at high speed. *Nature* **1958**, 182, 1659.
45. Andrew, E. R.; Bradbury, A.; Eades, R. G., Removal of dipolar broadening of nuclear magnetic resonance spectra of solids by specimen rotation. *Nature* **1959**, 183, 1802-1803.
46. Lowe, I. J., Free Induction Decays of Rotating Solids. *Phys. Rev. Lett.* **1959**, 2, 285-287.
47. Hartmann, S. R.; Hahn, E. L., Nuclear Double Resonance in the Rotating Frame. *Phys. Rev.* **1962**, 128, (5), 2042-2053.

48. Pines, A.; Gibby, M. G.; Waugh, J. S., Proton-Enhanced Nuclear Induction Spectroscopy. A Method for High Resolution NMR of Dilute Spins in Solids. *J. Chem. Phys.* **1972**, 56, (4), 1776-1777.
49. Pines, A.; Gibby, M. G.; Waugh, J. S., Proton-enhanced NMR of dilute spins in solids. *J. Chem. Phys.* **1973**, 59, (2), 569-590.
50. Metz, G.; Wu, X. L.; Smith, S. O., Ramped-Amplitude Cross-Polarization in Magic-Angle-Spinning Nmr. *Journal of Magnetic Resonance Series A* **1994**, 110, (2), 219-227.
51. Trebosc, J.; Hu, B.; Amoureux, J. P.; Gan, Z., Through-space R-3-HETCOR experiments between spin-1/2 and half-integer quadrupolar nuclei in solid-state NMR. *Journal of Magnetic Resonance* **2007**, 186, (2), 220-227.
52. Vega, A. J., CP/MAS of quadrupolar $S = 3/2$ nuclei. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **1992**, 1, (1), 17-32.
53. Ernst, R. R., *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. The Universities Press: Belfast, 1986.
54. Gullion, T.; Schaefer, J., Rotational-echo double-resonance NMR. *J. Magn. Res.* **1989**, 81, (1), 196-200.
55. Gullion, T., Introduction to Rotational-Echo Double-Resonance NMR. *Concepts Magn. Reson.* **1998**, 10, (5), 277-289.
56. Bertmer, M.; Eckert, H., Dephasing of spin echoes by multiple heteronuclear dipolar interactions in rotational echo double resonance NMR experiments. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **1999**, 15, (3), 139-152.
57. Strojek, W.; Kalwei, M.; Eckert, H., Dipolar NMR strategies for multispin systems involving quadrupolar nuclei: P-31{Na-23} rotational echo double resonance (REDOR) of crystalline sodium phosphates and phosphate glasses. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, (22), 7061-7073.
58. Hirschinger, J., Analytical solutions to several magic-angle spinning NMR experiments. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **2008**, 34, (4), 210-223.
59. Elbers, S.; Strojek, W.; Koudelka, L.; Eckert, H., Site connectivities in silver borophosphate glasses: new results from B-11{P-31} and P-31{B-11} rotational echo double resonance NMR spectroscopy. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **2005**, 27, (1-2), 65-76.

60. van Eck, E. R. H.; Janssen, R.; Maas, W. E. J. R.; Veeman, W. S., A novel application of nuclear spin-echo double-resonance to aluminophosphates and aluminosilicates. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, 174, (5), 428-432.
61. Grey, C. P.; Veeman, W. S.; Vega, A. J., Rotational echo $^{14}\text{N}/^{13}\text{C}/^1\text{H}$ triple resonance solid-state nuclear magnetic resonance: A probe of ^{13}C - ^{14}N internuclear distances. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, (10), 7711-7724.
62. Ashbrook, S. E.; Duer, M. J., Structural information from quadrupolar nuclei in solid state NMR. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* **2006**, 28A, (3), 183-248.
63. Medek, A.; Harwood, J. S.; Frydman, L., Multiple-quantum magic-angle spinning NMR: A new method for the study of quadrupolar nuclei in solids. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, (51), 12779-12787.
64. Frydman, L.; Harwood, J. S., Isotropic Spectra of Half-Integer Quadrupolar Spins from Bidimensional Magic-Angle-Spinning Nmr. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, (19), 5367-5368.
65. Amoureux, J. P.; Fernandez, C.; Steuernagel, S., Z filtering in MQMAS NMR. *Journal of Magnetic Resonance Series A* **1996**, 123, (1), 116-118.
66. Amoureux, J. P.; Fernandez, C., Triple, quintuple and higher order multiple quantum MAS NMR of quadrupolar nuclei. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **1998**, 10, (4), 211-223.
67. Smith, M. E.; van Eck, E. R. H., Recent advances in experimental solid state NMR methodology for half-integer spin quadrupolar nuclei. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **1999**, 34, (2), 159-201.
68. Zeyer-Düsterer, M.; Montagne, L.; Palavit, G.; Jäger, C., Combined ^{17}O NMR and ^{11}B - ^{31}P double resonance NMR studies of sodium borophosphate glasses. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **2005**, 27, (1-2), 50-64.
69. Otto, M., *Analytische Chemie*. VCH Verlagsgesellschaft: Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, 1995.
70. M. Hesse, H. M., B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie* Thieme Verlag: Stuttgart, New York, 1991.
71. Riedel, E., *Anorganische Chemie*. de Gruyter: Berlin, New York, 1994.
72. Barheine, S.; Hayakawa, S.; Osaka, A.; Jaeger, C., Surface, Interface, and Bulk Structure of Borate Containing Apatitic Biomaterials. *Chemistry of Materials* **2009**, 21, (14), 3102-3109.

73. Kokubo, T.; Kushitani, H.; Sakka, S.; Kitsugi, T.; Yamamuro, T., Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic 1990; Vol. 24, pp 721-734.
74. Filgueiras, M. R.; Guy La, T.; Larry, L. H., Solution effects on the surface reactions of a bioactive glass. In 1993; Vol. 27, pp 445-453.
75. Kokubo, T.; Takadama, H., How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* **2006**, 27, (15), 2907-2915.
76. Egli, P. S.; Muller, W.; Schenk, R. K., Porous Hydroxyapatite and Tricalcium Phosphate Cylinders with 2 Different Pore-Size Ranges Implanted in the Cancellous Bone of Rabbits - a Comparative Histomorphometric and Histologic-Study of Bony Ingrowth and Implant Substitution. *Clinical Orthopaedics and Related Research* **1988**, (232), 127-138.
77. Ito, A.; Senda, K.; Sogo, Y.; Oyane, A.; Yamazaki, A.; LeGeros, R. Z., Dissolution rate of zinc-containing beta-tricalcium phosphate ceramics. *Biomedical Materials* **2006**, 1, (3), 134-139.
78. S. Hayakawa, A. S., K. Tsuru, A. Osaka, E. Fujii, K. Kawabata, C. Jäger Preparation and characterization of boron-containing hydroxyapatite. *Key Engineering Materials* **2008**, 361-363, 191-194.
79. *JCPDS-ICDD-International Centre for Diffraction Data: PDF-2 Database (Set 1-5 plus 70-89)*, PCPDF-Win Version 2.2; 2001.
80. Massiot, D.; Fayon, F.; Capron, M.; King, I.; Le Calve, S.; Alonso, B.; Durand, J. O.; Bujoli, B.; Gan, Z. H.; Hoatson, G., Modelling one- and two-dimensional solid-state NMR spectra. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2002**, 40, (1), 70-76.
81. Zeyer, M. Untersuchungen zur Netzwerkstruktur phosphathaltiger Gläser mittels Festkörper-Kernresonanzspektroskopie. Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena, 2003.
82. Sudarsan.K; Young, R. A., Significant Precision in Crystal Structural Details - Holly Springs Hydroxyapatite. *Acta Crystallographica Section B-Structural Crystallography and Crystal Chemistry* **1969**, B 25, 1534-&.
83. Steinborn, D., *Symmetrie und Struktur in der Chemie*. VCH Verlagsgesellschaft: Weinheim, 1993.
84. Müller, U., *Anorganische Strukturchemie*. Teubner Studienbücher: Stuttgart, 1996.

85. Attina, M.; Cacace, F.; Grandinetti, F.; Occhiucci, G.; Ricci, A., Positive-Ion Chemistry of Gaseous Boric and Polyboric Acids. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1992**, 117, (1-3), 47-63.
86. Trontelj, Z.; Schmidt, V. H., Spin-Lattice Relaxation of Al-27 in Thulium Aluminum Garnet. *Physical Review B* **1973**, 7, (9), 4145-4153.

7 Abkürzungen und Symbole

Abkürzung	Bedeutung
α	Impulswinkel
α_{ad}	Adiabatizität
α -TCP	α -Tricalciumphosphat
B_0	homogenes, statisches Magnetfeld
B_1	Induktion des Hochfrequenz-Wechselfeldes
β -TCP	β -Tricalciumphosphat
BCaP-Phase	borathaltige Calciumphosphat-Phase
B/P-Verhältnis	Bor zu Phosphor-Verhältnis
BO_2^-	lineare Boratgruppe
BO_3^{3-}	trigonal-planare Boratgruppe
Ca/P-Verhältnis	Calcium zu Phosphor-Verhältnis
CP	Kreuzpolarisation
C_Q	Quadrupolkopplungskonstante
CSA	Anisotropie der chemischen Verschiebung
CT	Zentralübergang
D	heteronukleare dipolare Kopplungskonstante
D_{eff}	effektive, heteronukleare dipolare Kopplungskonstante
DCPD	Dicalciumphosphat-Dihydrat
η_Q	Asymmetrieparameter
3Q	Tripelquanten
FID	Freier Induktionsabfall
FTIR-Spektroskopie	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma (<i>engl.</i> : Inductively Coupled Plasma)
γ	gyromagnetisches Verhältnis
h	Planck'sche Wirkungsquantum
HAp	Hydroxylapatit
HETCOR	Heteronukleares Korrelationsexperiment
I	Kernspin

K_L	Löslichkeitsprodukt
l0	loop-counter
LKS	Laborkoordinatensystem
m	Magnetquantenzahl
$M_{2, \text{eff}}$	effektives, heteronukleares zweites Moment
MAS	Magic Angle Sample Spinning
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
OCP	Octacalciumphosphat
PAS	Hauptachsensystem (<i>engl.</i> : Principle Axis System)
P_Q	Quadrupolprodukt
REDOR	Rotational echo double resonance
RF	Radiofrequenz
RSE	Probenrotationssynchrones Echo
SBF	simulierte Körperflüssigkeit (<i>engl.</i> : simulated body fluid)
SEM	Rasterelektronenmikroskopie (<i>engl.</i> : Scanning Electron Microscope)
SI_n	höheres Spinsystem
S/N-Verhältnis	Signal zu Rausch-Verhältnis
ST	Satellitenübergang
T_1	Spin-Gitter-Relaxationszeit
T_2	Spin-Spin-Relaxationszeit
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
τ_{CP}	Kontaktzeit
τ_{Deph}	Evolutionszeit
τ_P	Impulsdauer
T_R, τ_R	Probenrotationsperiode
TRAPDOR	Transfer of population in double resonance
TF	Thin film
TTCP	Tetracalciumphosphat
WW	Wechselwirkung
ω_Q	Quadrupolfrequenz
XRD	Röntgenpulverdiffraktometrie

8 Anhang

8.1 Experimentelle Bedingungen zur Festkörper-NMR-Spektroskopie

8.1.1 Allgemeine Vorbemerkungen

Die NMR-Experimente erfolgten an einem DMX 400 und einem Avance 600 Spektrometer der Firma Bruker (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Deutschland). Die Magnetfeldstärken im homogenen Bereich des Kryomagneten betragen 9,4 T (DMX 400) und 14,1T (Avance 600). Zur Erfassung der Messdaten wurde die Software Topspin 2.0 und Topspin 2.1 verwendet und anschließend mit Origin 7.5TM weiterverarbeitet und dargestellt.

Für alle NMR-Experimente wurden kommerziell erhältliche Probenköpfe der Firma Bruker eingesetzt. Bei einer Magnetfeldstärke von 9,4 T wurde ein 4mm H/X/Y-Probenkopf und bei einer Magnetfeldstärke von 14,1 T wurde ein 4mm H/X/Y-Probenkopf und ein 2,5mm H/X-Probenkopf verwendet. Die verwendeten Lamorfrequenzen waren bei 9,4 T: $^1\text{H} = 400,14\text{MHz}$ und $^{31}\text{P} = 161,90\text{MHz}$. Die verwendeten Lamorfrequenzen waren bei 14,1 T: $^1\text{H} = 600,1\text{MHz}$, $^{31}\text{P} = 242,97\text{MHz}$ und $^{11}\text{B} = 192,57\text{MHz}$.

Für die Festkörper-NMR-Experimente wurden die Proben in kommerziell erhältliche MAS-Rotoren der Firma Rototech gefüllt und manuell verdichtet. Die Rotoren hatten einen Außendurchmesser von 2,5mm bzw. 4 mm. Die Probenrotationsfrequenz betrug bei dem 4 mm-Rotor 12,5kHz und bei dem 2,5mm-Rotor 27,5kHz. Mit der Technik der Probenrotation im magischen Winkel wurden alle Festkörper-NMR-Experimente durchgeführt. Der magische Winkel wurde an Kaliumbromid eingestellt.

Alle NMR-Experimente wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Die reflektierten Impulsleistungen wurden bei allen Festkörper-NMR-Experimenten mit dem Oszilloskop (Digital Phosphor Oszilloscope, 500MHz, 5GS/s, TektronixTM) minimiert und überwacht. Ein Entkopplungsschema wurde bei keinem der Festkörper-NMR-Experimente genutzt, da bei einer Überprüfung in den Spektren kein Unterschied festzustellen war.

Die chemische Verschiebung der NMR-Signale wurde gegen sekundäre Standardsubstanzen auf anerkannte Flüssigkeitsstandards referenziert, die in Tabelle 8-1 angegeben sind. Die sekundären Standardsubstanzen wurden zur Impulswinkelbestimmung während des Aufsetzens der unterschiedlichen NMR-Experimente verwendet.

Tabelle 8-1: Chemische Verschiebung der verwendeten NMR-Standards

Isotop	Sekundärer Standard	$\delta_{\text{sekundärer Standard}}$	Flüssigkeitsstandard
^1H	Hydroxylapatit	0 ppm	Tetramethylsilan
^{11}B	Borphosphat	-4,1ppm	$\text{BF}_3(\text{OEt})_2$
^{31}P	Hydroxylapatit	2,3ppm	85Gew.% H_3PO_4

In den folgenden Kapiteln werden die Festkörper-NMR-Experimente mit den entsprechenden Parameter an den untersuchten Proben aufgelistet. Unterschiedlich verwendete Parameter werden bei denselben Festkörper-NMR-Experimenten durch einen Schrägstrich abgetrennt.

8.1.2 Einzelimpulseexperimente

Die Einzelimpulseexperimente können zur quantitativen Bestimmung einzelnen Spezies der betrachteten Kerne (^1H , ^{31}P und ^{11}B) genutzt werden, wenn zwei wichtige Bedingungen erfüllt sind. Die Wiederholzeit D_1 muss während der Einzelimpulseexperimente so gewählt werden, dass $D_1 = 5T_1$ gilt, um die komplette Signalintensität zu detektieren. Soweit nichts anderes erwähnt wurden alle ^1H -, ^{31}P -, ^{11}B -MAS-NMR-Spektren unter dieser Bedingung aufgenommen.

Der Drehwinkel α des Impulses muss so gewählt werden, dass die größte Amplitude eines NMR-Signals erhalten wird. Für Kernsorten mit einem Kernspin $I = 1/2$ liegt der Drehwinkel bei $\alpha = 90^\circ$. Eine 90° -Impulslänge wurde in der Regel zwischen $2 \mu\text{s}$ und $5 \mu\text{s}$ gewählt.

Die Bestimmung der 90° -Impulslänge des ^{31}P -Isotops erfolgte über ein modifiziertes ^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Experiment (sogenanntes cp90-Experiment). Der Vorteil dieses Experimentes ist die enorme Zeitersparnis, da die langen T_1 -Zeiten der ^{31}P -Kerne durch die kürzeren T_1 -Zeiten der ^1H -Kerne ersetzt werden.

Die Bestimmung des 90°-Drehwinkels für das ^{11}B -Isotop ($I = 3/2$) erfolgte zunächst mit dem ^{11}B -MAS-NMR-Experiment, wobei mit BPO_4 eine Substanz gewählt wurde, die eine kleine Quadrupolkonstante besitzt. Aufgrund der kleinen Quadrupolkonstante wird die maximale Amplitude bei einem Drehwinkel von $\alpha = 90^\circ$ erreicht. Da die ^{11}B -Isotope in den untersuchten Proben eine große Quadrupolkonstante besitzen, wird die experimentelle Impulslänge τ_p nach folgender Berechnung gewählt⁸⁶:

$$\tau_p = \frac{t_{90^\circ}}{2} \quad \text{Gleichung 8-1}$$

Damit wird gewährleistet, dass eine gleichmäßige lineare Anregung aller ^{11}B -Spezies erreicht wird. Da der verwendete Probenkopf mit einem Bornitrid-Stator ausgestattet ist, wird bei allen ^{11}B -MAS-NMR-Experimenten ein Untergrundsignal detektiert. Durch die Aufnahme eines ^{11}B -MAS-NMR-Spektrums des leeren Rotors unter identischen Bedingungen, ist es möglich nur das Untergrundsignal zu detektieren und durch Differenzbildung zwischen beiden Spektren nur die Resonanzen der Probe zu erhalten.

^1H -MAS-NMR-Experimente an der Probe BHAp, Probenserie 1 und Probenserie 2

Magnetfeldstärke	9,4 T/ 14,1 T
^{31}P -Anregungsfrequenz	400,14MHz/ 600,10MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
Wiederholzeit	600 s

Wenn nicht anderes erwähnt, wurde ein 90°-Impulslänge von 2,5 μs bis 4,5 μs verwendet. Die Anzahl der Akkumulationen wurde je nach S/N-Verhältnisse gewählt. Da auch bei den ^1H -MAS-NMR-Spektren ein Untergrundsignal detektiert wird, wurde auch hier ein ^1H -MAS-NMR-Spektrum eines leeren Rotors unter identischen Bedingungen aufgenommen. Durch Differenzbildung zwischen beiden Spektren, werden nur die ^1H -Resonanzen der Proben erhalten.

³¹P-MAS-NMR-Experimente an der Probe BHAp, Probenserie 1 und Probenserie 2

Magnetfeldstärke	9,4 T
³¹ P-Anregungsfrequenz	161,90MHz
Probenkopf	Tripelresonanz
Rotor	4 mm

Die 90°-Impulslänge lag zwischen 3,7 μ s und 7,5 μ s, die Wiederholzeiten bei 1800 s, 3600 s bzw. 7200 s und die Anzahl der Akkumulationen bei 2, 4 oder 8.

¹¹B-MAS-NMR-Experimente der Probenserie 2

Magnetfeldstärke	14,1 T
¹¹ B-Anregungsfrequenz	192,57MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
Selektive ¹¹ B-Impulslänge	2 μ s
Wiederholzeit	120 s/ 300 s/ 900 s
Anzahl der Akkumulationen	je nach S/N-Verhältnis

8.1.3 Probenrotationssynchrone Echo-MAS-NMR-Experimente**³¹P-RSE-MAS-NMR-Experiment an der Probe BHAp**

Magnetfeldstärke	14,1 T
³¹ P-Anregungsfrequenz	242,97MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
90°-Impulslänge	4,1 μ s
Wiederholzeit	240 s
Echozeit	80ms
Anzahl der Akkumulationen	32

¹¹B-RSE-MAS-NMR-Experimente an der Probe BHAp und Probenserie 1

Magnetfeldstärke	14,1 T
¹¹ B-Anregungsfrequenz	192,47MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
selektive ¹¹ B-Impulslänge	1,5µs bis 2 µs
Wiederholzeit	30 s
Echozeit	0,16ms
Anzahl der Akkumulationen	64

Für die ¹¹B-RSE-MAS-NMR-Experimenten wurde für den ersten Impuls eine Impulslänge von $\tau_p = \frac{t_{90^\circ}}{2}$, für den Refokussierungsimpuls eine Länge von $\tau_{p,180^\circ} = \frac{t_{180^\circ}}{2}$ gewählt. Der Bornitrid-Stator erzeugt auch hier ein Untergrundsignal, welches durch die Aufnahme eines ¹¹B-RSE-MAS-NMR-Spektrum eines leeren Rotors und die anschließende Differenzbildung aus den Spektren eliminiert wird.

8.1.4 Kreuzpolarisationsexperimente**¹H-³¹P-CPMAS-NMR-Experimente an der Probe BHAp**

Magnetfeldstärke	14,1 T
¹ H-Anregungsfrequenz	600,10MHz
³¹ P-Anregungsfrequenz	242,97MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
90° ¹ H-Impulslänge	3,5µs
¹ H-B ₁ -Feld (CP)	71,4kHz
³¹ P-B ₁ -Feld (CP)	33,8kHz
Kontaktimpulslänge	2 ms, 8 ms
Wiederholzeit	30 s
Anzahl der Akkumulationen	128

^1H - ^{31}P -CPMAS-NMR-Experimente an der Probenreihe 1 und Probenreihe 2

Magnetfeldstärke	9,4 T
^1H -Anregungsfrequenz	400,14MHz
^{31}P -Anregungsfrequenz	161,90MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
90° ^1H -Impulslänge	3 μs
^1H - B_1 -Feld (CP)	62,5kHz
^{31}P - B_1 -Feld (CP)	55,6kHz
Kontaktimpulslänge	2 ms, 8 ms
Wiederholzeit	5 s/ 30 s
Anzahl der Akkumulationen	32/ 64

 ^{11}B - ^{31}P -CPMAS-NMR-Experimente an der Probe BHAp

Magnetfeldstärke	14,1 T
^{31}P -Anregungsfrequenz	242,97MHz
^{11}B -Anregungsfrequenz	192,57MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
90° ^{11}B -Impulslänge	3,6 μs
^{11}B - B_1 -Feld (90°)	34,5kHz
^{11}B - B_1 -Feld (CP)	2,5kHz
^{31}P - B_1 -Feld (CP)	16,8kHz
Kontaktimpulslänge	8 ms
Wiederholzeit	8 s
Anzahl der Akkumulationen	2368

8.1.5 REDOR-MAS-NMR-Experimente

Um ein homogenes B_1 -Feld über die Probe zu gewährleisten, werden die Rotoren nur zu einem Drittel gefüllt, wobei die Probe in der Mitte des Rotors platziert wird.

$^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Experimente an den Proben BHAp

Magnetfeldstärke	14,1 T
^{31}P -Anregungsfrequenz	242,97MHz
^{11}B -Anregungsfrequenz	192,57MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
Selektive ^{11}B 90° -Impulslänge	3 μs
^{11}B - B_1 -Feld	41,7kHz
180° ^{31}P -Impulslänge	8,25 μs
^{31}P - B_1 -Feld	53,2kHz
Wiederholzeit	30 s
Anzahl der Akkumulationen	512, 1024, 2048
Echozeiten in Rotorperioden	1, 5, 7, 13, 17, 21, 25, 29, 39, 49
Echozeiten in ms	0,16; 0,48; 0,64; 1,12; 1,44; 1,76; 2,08; 2,4; 3,2; 4

$^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Experimente an der Probe BHAp3

Magnetfeldstärke	14,1 T
^{31}P -Anregungsfrequenz	242,97MHz
^{11}B -Anregungsfrequenz	192,57MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
Selektive ^{11}B 90° -Impulslänge	4 μs
^{11}B - B_1 -Feld	35,7kHz
180° ^{31}P -Impulslänge	8,5 μs
^{31}P - B_1 -Feld	50kHz
Wiederholzeit	60 s

Anzahl der Akkumulationen	256, 512, 1024
Echozeiten in Rotorperioden	1, 5, 9, 13, 17, 21, 29, 49
Echozeiten in ms	0,16; 0,48; 0,8; 1,12; 1,44; 1,76; 2,4; 3,2; 4

$^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-MAS-NMR-Experimente an der Probe HAp75

Magnetfeldstärke	14,1 T
^{31}P -Anregungsfrequenz	242,97MHz
^{11}B -Anregungsfrequenz	192,57MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
Selektive ^{11}B 90°-Impulslänge	3,5 μs
^{11}B -B ₁ -Feld	35,7kHz
180° ^{31}P -Impulslänge	10,5 μs
^{31}P -B ₁ -Feld	47,6kHz
Wiederholzeit	120 s
Anzahl der Akkumulationen	64
Echozeiten in Rotorperioden	1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 39, 49
Echozeiten in ms	0,16; 0,48; 0,8; 1,12; 1,44; 1,76; 2,08; 2,4; 3,2; 4

$^{11}\text{B}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-NMR-Experimente an der Probe BHAp

Magnetfeldstärke	14,1 T
^1H -Anregungsfrequenz	600,10MHz
^{11}B -Anregungsfrequenz	192,57MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
Selektive ^{11}B 90°-Impulslänge	2 μs
Selektive ^{11}B 180°-Impulslänge	4 μs
^{11}B -B ₁ -Feld	54,3kHz
180° ^1H -Impulslänge	5,25 μs
^1H -B ₁ -Feld	90kHz

Wiederholzeit	10 s
Anzahl der Akkumulationen	1024
Echozeiten in Rotorperioden	1, 5, 9, 13, 19, 25, 33, 41, 51, 61, 81, 91
Echozeiten in ms	0,16; 0,48; 0,8; 1,12; 1,6; 2,08; 2,72; 3,36; 4,16; 4,96; 6,56; 7,36

^{11}B - ^{31}P -CPMAS- $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -REDOR-NMR-Experimente an der Probe BHAp

Magnetfeldstärke	14,1 T
^1H -Anregungsfrequenz	600,10MHz
^{31}P -Anregungsfrequenz	242,97MHz
^{11}B -Anregungsfrequenz	192,5MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
Kontaktimpulslänge	8 ms
180° ^1H -Impulslänge	6,6 μs
^1H - B_1 -Feld	65,8kHz
90° ^{11}B -Impulslänge	3,6 μs
^{11}B - B_1 -Feld (90°)	34,5kHz
^{11}B - B_1 -Feld (CP)	2,5kHz
^{31}P - B_1 -Feld (CP)	16,8kHz
90° ^{31}P -Impulslänge	4,7 μs
^{31}P - B_1 -Feld (90°)	53,2kHz
Wiederholzeit	10 s
Anzahl der Akkumulationen	bis zu 1024
Echozeiten in Rotorperioden	1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 21, 25, 29, 39, 49, 69, 89
Echozeiten in ms	0,16; 0,32; 0,48; 0,64; 0,8; 0,96; 1,12; 1,28; 1,44; 1,76; 2,08; 2,4; 3,2; 4; 5,6; 7,2

8.1.6 TRAPDOR-NMR-Experimente

Im TRAPDOR-Experiment wurde nur bis zum Echoimpuls auf dem S-Spin-Kanal ein kontinuierlicher RF-Impuls auf den I-Spin-Kanal eingestrahlt.

$^1\text{H}\{^{11}\text{B}\}$ -TRAPDOR-MAS-NMR-Experiment an der Probe BHAp

Magnetfeldstärke	14,1 T
^1H -Anregungsfrequenz	600,10MHz
^{31}P -Anregungsfrequenz	242,97MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
90° ^1H -Impulslänge	3,8 μs
^1H - B_1 -Feld	65,8kHz
^{11}B - B_1 -Feld	90,9kHz
Wiederholzeit	16 s
Anzahl der Akkumulationen	96
Echozeiten in Rotorperioden	1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71
Echozeiten in ms	0,16; 0,96; 1,76; 2,56; 3,36; 4,16; 4,96; 5,76

8.1.7 3Q-MAS-Experiment

Alle 3Q-MAS-Experimente wurden mit einer 3-Impuls-Sequenz mit z-Filter aufgenommen. Die ersten zwei Impulse wurden immer mit der höchsten möglichen Leistung durchgeführt, der dritte Impuls verwendete eine selektive Leistung. Alle Impulse wurden an den BO_3^{3-} -Gruppen des Zinkborats optimiert.

¹¹B-3Q-MAS-NMR-Experimente an den Proben BHAp, BHAp3, Hap75, Hap80 und HAp90

Magnetfeldstärke	14,1 T
¹¹ B-Anregungsfrequenz	192,47MHz
Probenkopf	Doppelresonanz (H/X)
Rotor	2,5mm
Impulslänge 1. Puls	2,5µs/ 4 µs
Impulslänge 2. Puls	0,9µs
Impulslänge 3. Puls	12 µs/ 16 µs
Wiederholzeit	5 s/ 10 s
Anzahl der Akkumulationen	24/ 72/ 96

8.1.8 Heteronukleare Korrelationsexperimente

¹H-³¹P-CPMAS-HETCOR-NMR-Experimente an der Probe BHAp, Probeserie 1 und Probenserie 2

Magnetfeldstärke	14,1 T
¹ H-Anregungsfrequenz	600,10MHz
³¹ P-Anregungsfrequenz	242,47MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
90° ¹ H-Impulslänge	3,3µs
¹ H-B ₁ -Feld (CP)	75,8kHz
³¹ P-B ₁ -Feld (CP)	50kHz
Kontaktimpulslänge	2 ms/ 8 ms
Wiederholzeit	5 s, 30 s, 80 s
Inkrementierung	80µs, synchron zur Probenrotationsgeschwindigkeit
Anzahl der Inkremente	156
Anzahl der Akkumulationen	24 pro Inkrement

^{11}B - ^{31}P -CPMAS-HETCOR-MAS-Experimente an der Probe BHAp

Magnetfeldstärke	14,1 T
^{31}P -Anregungsfrequenz	242,97MHz
^{11}B -Anregungsfrequenz	192,57MHz
Probenkopf	Tripelresonanz (H/X/Y)
Rotor	4 mm
90° ^{11}B -Impulslänge	3,6 μs
Kontaktimpulslänge	8 ms
Wiederholzeit	8 s
Inkrementierung	80 μs , synchron zur Probenrotations- geschwindigkeit
Anzahl der Inkremente	64
Anzahl der Akkumulationen	448 pro Inkrement

8.2 Experimentelle Bedingungen zur FTIR-Spektroskopie, Röntgenpulverdiffraktometrie

8.2.1 FTIR-Spektroskopie

Die molekulare Struktur der Probe BHAp, der Probenserie 1 und der Probenserie 2 wurde mit der FT-IR-Spektroskopie (JASCO FT/IR-300, JASCO Co., Tokyo, Japan) untersucht. Die Spektren wurden im Bereich von 400cm^{-1} bis 4000cm^{-1} , mit 300 Akkumulationen und einer Auflösung von 4cm^{-1} aufgenommen. Die Proben wurden auf Kaliumbromidscheiben gemessen.

8.2.2 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD und TF-XRD)

XRD an der Probe BHAp

Die Röntgendiffraktogramme wurden am Röntgendiffraktometer "RINT2500, RIGAKU, Tokyo, Japan" (40 kV, 200mA) mit der Bragg-Brentano-Geometrie aufgenommen. Der Messbereich wurde von $2\theta = 2^\circ$ bis 70° gewählt. Es wurde die $\text{CuK}\alpha_1$ -Strahlung ($\lambda = 0,15406\text{nm}$) verwendet. Die Messung erfolgte mit einer Schrittweite von $0,02^\circ$ pro Sekunde. Die erhaltenen Röntgendiffraktogramme wurden mit der Datenbank verglichen.

XRD an der Probenserie 1 und Probenserie 2

Die Röntgendiffraktogramme wurden am Diffraktometer "X'Pert-ProMPD, PANalytical, Almelo, Netherlands" aufgenommen. Der Messbereich wurde von $2\theta = 2^\circ$ bis 70° gewählt. Es wurde die $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung ($\lambda = 0,15418\text{ nm}$) verwendet. Die Messung erfolgte mit einer Schrittweite von $0,02^\circ$ pro Sekunde.

TF-XRD an der Probenserie 1

Die Röntgendiffraktogramme wurden am Röntgendiffraktometer "RINT2500, RIGAKU, Tokyo, Japan" (40 kV, 200mA) mit der Bragg-Brentano-Geometrie aufgenommen. Der Messbereich wurde von $2\theta = 2^\circ$ bis 40° gewählt. Es wurde die $\text{CuK}\alpha_1$ -Strahlung ($\lambda = 0,15406$ nm) verwendet. Die Messung erfolgte mit einer Schrittweite von $0,02^\circ$ pro Sekunde. Die erhaltenen Röntgendiffraktogramme wurden mit der Datenbank verglichen.

8.3 *Darstellung der SBF-Lösung*

1. Alle Instrumente werden gründlich gereinigt, d.h. alle Instrumente werden mit einer Seifenlösung für 10min im Ultraschallbad behandelt. Danach wird noch mal alles gründlich gewaschen und mit Millipore®-Wasser nachgespült. Löffel sowie Bechergläschen werden mit einem Haartrockner getrocknet. Der Plastikbehälter für das Ansetzen der Lösung wird mit 800ml Millipore®-Wasser gefüllt und im Wasserbad (37°C) 10min erwärmt (Reinigungsprozess). Nach dem Ausspülen werden dann 700ml Millipore®-Wasser hineingegeben und das ganze Gefäß mit Kunststoffolie abgedeckt.
2. Das Volumen des Millipore®-Wassers wird auf etwa 37°C temperiert. Die weiteren Reagenzien NaCl (m = 7,996g), NaHCO₃ (m = 0,350g) und KCl (m = 0,224g) werden auf Wägebapier eingewogen und nacheinander hinzugegeben.
3. Die Reagenzien K₂HPO₄·3H₂O (m = 0,228g); MgCl₂·6H₂O (m = 0,305g) werden im Becherglas eingewogen. Nach der Hinzugabe der Salze in die Lösung, werden die Bechergläser noch mit Millipore®-Wasser nachgespült.
4. Anschließend werden 35ml 1 N HCl langsam dazugegeben.
5. CaCl₂ (m = 0,278g) (Aufbewahrung im Trockenofen) wird im Becherglas abgewogen und durch vorherige Zugabe von Millipore®-Wasser teilweise aufgelöst.
6. Na₂SO₄ (m = 0,071g) wird im Becherglas abgewogen, zur Lösung gegeben und mit Millipore®-Wasser nachspült.
7. Das NH₂C(CH₂OH)₃ (m = 6,057g) wird mit Wägebapier abgewogen und in sehr kleinen Portionen zu gegeben, um die Ausfällung von Apatit zu verhindern.
8. Der pH-Wert wird bei einer Temperatur von 36,5°C auf pH = 7,4 eingestellt. (Der Startwert liegt bei etwa 7,6 und wird mit 1 N HCl eingestellt.)
9. Die Lösung wird in einen 1l Maßkolben umgefüllt und mit Millipore®-Wasser auf 1 l aufgefüllt.
10. Die Lösung wird dann eine Stunde im Wasserbad auf Raumtemperatur abgekühlt. Wenn keine Niederschlagbildung auftritt, wird aufgrund von Volumenkontraktion nochmals mit Millipore®-Wasser aufgefüllt, geschüttelt und in eine Polystyrolflasche umgefüllt.
11. Die Lagerung erfolgt im Kühlschrank bei 5 – 10°C.

8.4 Berechnung der Anteile der Grenzfläche und BCaP-Phase

Zur Bestimmung der Anteile der HAp-Phase, Grenzfläche und der BCaP-Phase wurde eine Liniensimulation des ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum ohne die Signale des TTCPs durchgeführt (Abbildung 8.4-1).

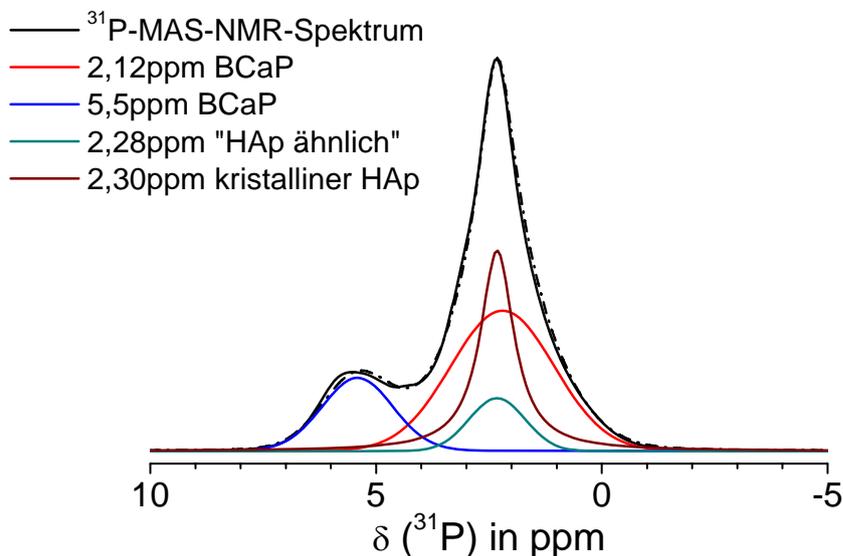


Abbildung 8.4-1: Liniensimulation des ^{31}P -MAS-NMR-Spektrums mit den vier Resonanzen $\delta_{(31\text{P})} = 2,12\text{ppm}$, $\delta_{(31\text{P})} = 5\text{ppm}$, $\delta_{(31\text{P})} = 2,28\text{ppm}$ und $\delta_{(31\text{P})} = 2,30\text{ppm}$

Die Parameter für die Liniensimulation des ^{31}P -MAS-NMR-Spektrum ohne die Signale des TTCPs wurden aus den Liniensimulationen der $^{11}\text{B}\{^{31}\text{P}\}$ -REDOR-NMR-MAS-Spektren und der Liniensimulation des Schnittes aus dem ^1H - ^{31}P -HETCOR-MAS-NMR-Spektrum entnommen. Durch Integration wurde der relative Anteil des Phosphates bestimmt. Die Parameter zur Liniensimulation und die relativen Anteile sind in Tabelle 8-2 aufgelistet.

Tabelle 8-2: Auflistung der Parameter und der relativen Phosphatanteile der Phosphatspezies in der Probe BHAp

$\delta_{(31\text{P})}$	Linienbreite	Amplitude	relative Phosphatanteile	Phasenzuordnung
2,12ppm	2,7ppm	266	46mol%	BCaP-Phase
2,28ppm	1,5ppm	100	8mol%	HAp-ähnliche Grenzfläche
2,3ppm	0,9ppm	380	30mol%	kristalliner HAp-Kern
5,5ppm	1,9ppm	139	16mol%	BCaP-Phase

8.5 Publikationensverzeichnis

8.5.1 Publikationen

Sabrina Barheine, Satoshi Hayakawa, Akiyoshi Osaka, Christian Jäger, *A NMR Investigation of Borate Incorporation in Apatitic Biomaterials*, Trans Tech Publications: Key Engineering Materials vol. 396-398, pp. 205-208 (2009)

Sabrina Barheine, Satoshi Hayakawa, Akiyoshi Osaka, Christian Jäger, *Surface, Interface, and Bulk Structure of Borate Containing Apatitic Biomaterials*, Chemistry of Material vol. 21, pp. 3102-3109 (2009)

Sabrina Barheine, H. Kimura, Satoshi Hayakawa, Christian Jäger, Yuki Shirotsaki, Akiyoshi Osaka, *Effect of disordered structure of boron-containing calcium phosphates on their in vitro biodegradability*, eingereicht

8.5.2 Tagungsbeiträge, Poster

S. Barheine, S. Hayakawa, A. Osaka, C. Jäger, *A NMR Investigation of Borate Incorporation in Apatitic Biomaterials*, GDCh-Fachgruppentagung, Magnetic Resonance Division, Regensburg 2008

S. Barheine, S. Hayakawa, A. Osaka, C. Jäger, *Surface, Interface, and Bulk Structure of Borate Containing Apatitic Biomaterials*, 6th Alpine Conference on Solid- State NMR, Chamonix- Mont Blanc, France, September 2009

S. Barheine, S. Hayakawa, A. Osaka, C. Jäger, *Surface, Interface, and Bulk Structure of Borate Containing Apatitic Biomaterials*, GDCh-Fachgruppentagung, Magnetic Resonance Division, Dresden, September 2009