

سنتز و مشخصه‌یابی بتا- تری کلسیم فسفات با جایگزینی سدیم به روش هیدرولیز برای کاربردهای پزشکی

زهرا محمدی^۱ و عبدالرضا شیخ مهدی مسگر^{۱،۲*}

^۱آزمایشگاه بیوسرامیک و ایمپلنت، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران
^۲آزمایشگاه بیومتریال، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۶

تاریخ تصحیح: ۹۳/۱۲/۰۷

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۴

چکیده:

در این تحقیق، تلاش شده است به کمک هیدرولیز دی‌کلسیم فسفات دی‌هیدرات (DCPD) یا براشیت در محیط قلیایی سدیم هیدروکسید، بتا- تری کلسیم فسفات (β -TCP) با جایگزینی سدیم در ساختار بلوری به منظور کاربرد در پزشکی سنتز شود. هیدرولیز براشیت در نسبت‌های مختلف DCPD/NaOH صورت پذیرفت. شناسایی و مشخصه‌یابی توسط پراش پرتو ایکس (XRD)، طیف‌سنجی فرو سرخ تبدیل فوریه (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام شد. نتایج نشان داد محصول هیدرولیز، «آپاتیت با نقص کلسیم» است که پس از تکلیس در دمای بالا فقط در محدوده معینی از نسبت مولی DCPD/NaOH، منجر به تشکیل تک فاز β -TCP خواهد شد. در خارج از این محدوده، احتمال تشکیل هیدروکسی‌آپاتیت (HA) و یا عدم انجام واکنش کامل هیدرولیز و تشکیل فاز مونیتیت وجود دارد. نتایج آنالیز شیمیایی توسط طیف‌سنجی نشر پلاسما جفت‌شده القایی (ICP) نشان داد توسط روش هیدرولیز در محیط قلیایی می‌توان تا حدود ۱/۵ درصد وزنی سدیم در ساختار بلوری جایگزین نمود. نتایج آنالیز شیمیایی و فازی β -TCP سنتز شده با ۱/۵ درصد وزنی سدیم و اندازه‌گیری عناصر سمی با اهمیت نشان داد که محصول سنتز شده می‌تواند برای کاربردهای پزشکی استفاده شود.

واژگان کلیدی: بتا- تری کلسیم فسفات، جایگزینی سدیم، هیدرولیز، نوع پزشکی

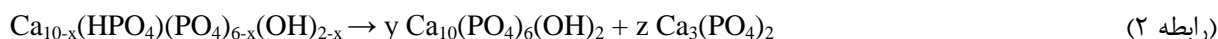
۱- مقدمه:

در بین انواع کلسیم فسفات‌ها، هیدروکسی‌آپاتیت، HA، $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ، بتا- تری کلسیم فسفات، β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ و مخلوط فازی این دو (معروف به دوفازی) در کاربردهای دندان‌پزشکی و ارتوپدی به عنوان پرکننده ضایعه استخوانی به شکل‌های مختلفی همچون گرانول یا قطعه سرامیکی متخلخل به‌طور گسترده استفاده می‌شوند [۲،۱]. نشان داده شده است که β -TCP با نسبت مولی Ca/P برابر ۱/۵ در شرایط درون‌تنی (*in vivo*) جذب شده و توسط بافت استخوان نو جایگزین می‌شود [۳]. بتا- تری کلسیم فسفات توسط روش‌های گوناگونی همچون واکنش حالت جامد [۴]، رسوب‌نشانی [۵]، هیدرولیز [۶] و سل-ژل [۷] تهیه می‌شود. مرسوم‌ترین روش سنتز این ترکیب، روش معروف به «شیمیایی تر» مبتنی بر فرآیند رسوب‌نشانی

و تشکیل «هیدروکسی‌آپاتیت با نقص کلسیم» (CDHA) است به طوری که با تکلیس در دماهای بالاتر از 700°C به β -TCP تبدیل خواهد شد [۵]. شایان توجه است تنها در صورتی محصول فرآیند تکلیس، تک فاز β -TCP خواهد بود که CDHA دارای نسبت مولی Ca/P برابر ۱/۵ باشد (رابطه ۱):



در غیر این صورت، علاوه بر β -TCP فاز HA نیز تشکیل شده و در واقع مخلوط دوفازی β -TCP و HA ایجاد می‌شود.



در ترکیب معدنی استخوان علاوه بر کلسیم و فسفر انواع یون‌های دیگر در مقادیر کم و ناچیز وجود دارد. محققین معمولاً با استناد بر وجود این یون‌ها در ترکیب معدنی استخوان تلاش کرده‌اند انواع کلسیم فسفات‌ها به ویژه آپاتیت را به صورت آپاتیت جایگزین شده با یون‌های فوق سنتز نمایند [۸]. این جایگزینی معمولاً به مدد ساختار بلوری باز CDHA صورت گرفته است. سدیم به عنوان یکی از عناصر موجود در ترکیب معدنی استخوان (به مقدار حدود ۰/۹ درصد وزنی) نقش قابل توجهی در چسبندگی سلولی، فرآیند جذب و متابولیسم استخوان ایفا می‌کند [۹]. تاکنون چندین مطالعه در خصوص وارد نمودن سدیم به درون ساختار آپاتیت توسط روش‌های مختلف سنتز همچون هیدرولیز یا رسوب‌نشانی صورت پذیرفته است. همه این بررسی‌ها متمرکز بر هیدروکسی‌آپاتیت یا مخلوط دو فازی HA و β -TCP بوده است [۹-۱۱]. وارد نمودن سدیم در ساختار β -TCP توسط واکنش حالت جامد بهبود خواص مکانیکی و پایداری گرمایی را به همراه داشته و تأثیری بر زنده‌مانی سلول‌ها نداشته است [۱۲،۴]. با اینکه روش هیدرولیز در محیط قلیایی برای سنتز کلسیم فسفات‌های دوفازی به کار رفته است [۱۳،۱۴] اما شرایط سنتز β -TCP به صورت تک‌فاز توسط این روش به طور کامل مشخص نشده است. در تنها مطالعه‌ای که از هیدرولیز برای سنتز β -TCP دارای منیزیم جایگزین شده بهره برده شده تلاش گردیده تا منیزیم به ترکیب برآشیت وارد شود به طوری که هیدرولیز برآشیت جایگزین شده با منیزیم باعث ایجاد CDHA و در نهایت β -TCP دارای منیزیم شود [۶]. مطالعات صورت گرفته در خصوص سنتز کلسیم فسفات‌های دوفازی توسط روش هیدرولیز حاکی از آن بوده است که با افزایش مقدار DCPD و کاهش NaOH درصد HA پس از تکلیس افزایش می‌یابد [۱۳،۱۴]. هدف از انجام این تحقیق تعیین شرایط لازم برای سنتز β -TCP دارای یون سدیم جایگزین شده در ساختار بلوری بدون حضور فاز ثانویه HA توسط روش هیدرولیز در محیط قلیایی است.

۲- مواد و روش‌ها:

۲-۱- سنتز:

به منظور سنتز CDHA از دی‌کلسیم فسفات دی‌هیدرات (DCPD) محصول شرکت سیگما (خلوص بالای ۹۸٪)، NaOH محصول شرکت مرک و آب دی‌یونیزه استفاده شد. به منظور انجام فرآیند هیدرولیز از یک راکتور رفلاکس (۲ لیتری) تحت گاز نیتروژن و همزدن مداوم در طول انجام فرآیند در دمای 95°C و به مدت ۶ ساعت استفاده شد. شرایط همزدن در هر آزمایش به صورتی بود که تمام سوسپانسیون همزده شده بدون آنکه در کف راکتور رسوب مشاهده شود. متغیر فرآیند سنتز (نسبت مولی DCPD/NaOH) طبق جدول ۱ انتخاب شد. در تمام آزمایش‌ها، از سدیم هیدروکسید 0.6 M استفاده شد. پس از سنتز، سوسپانسیون به کمک پمپ خلاء و تجهیزات وابسته فیلتر شد. سپس با افزودن مجدد آب، در دمای 60°C به مدت یک ساعت همزده شد و فیلتراسیون دوباره انجام گردید. این کار دو دفعه تکرار شد. در نهایت، در آون (محصول شرکت لابترون، بهداد) 95°C به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. تکلیس پودر در دمای 105°C به مدت چهار ساعت در کوره دما بالا (محصول شرکت آذر کوره مدل F21L-1320) انجام شد. نمونه‌های سنتز شده با کد T و تکلیس شده با کد TS نشان داده شده است.

جدول ۱- شرایط سنتز.

کد	T1	T2	T3	T4	T5	T6
DCPD/NaOH (نسبت مولی)	۱/۵۷	۱/۶۶	۱/۷۴	۱/۸۳	۱/۹۲	۲/۰۰

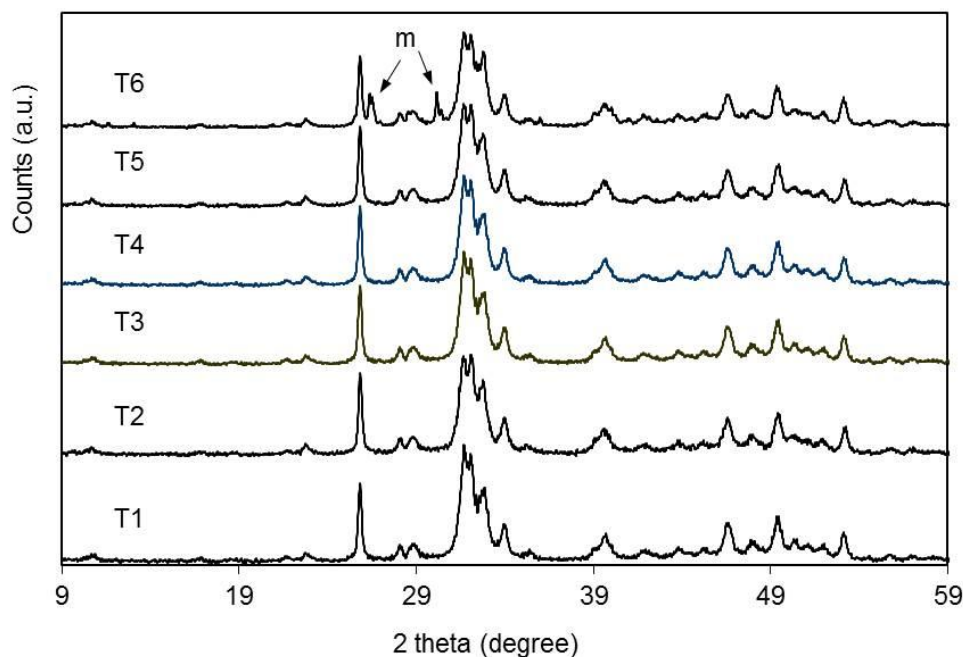
۲-۲- شناسایی و مشخصه‌یابی:

ارزیابی فازهای بلوری نمونه‌ها پس از سنتز و تکلیس توسط پراش پرتو ایکس (X'Pert Highscore, PANalytical, Philips) در شرایط 35 mA و 40 kV با سرعت $0.2^{\circ}/\text{s}$ انجام شد. شناسایی فازهای بلوری توسط نرم‌افزار دستگاه صورت پذیرفت. طیف جذبی پودرهای سنتز و تکلیس شده توسط طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR; VERTEX 70 Bruker, در محدوده عدد موج $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ با دقت 4 cm^{-1} به دست آمد. مقدار مشخصی از نمونه با پودر KBr مخلوط شد و پس از پرس کردن به صورت قرص مورد آزمایش قرار گرفت. به منظور اندازه‌گیری مقدار یون‌های کلسیم، فسفات و سدیم و همچنین عناصر ناچیز و بااهمیت از طیف‌سنجی نشر پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP; Varian, LIBERTY-RL) استفاده شد. بدین منظور پودر مورد نظر در محلول اسید نیتریک با غلظت معین حل شد. مورفولوژی پودرهای سنتز و تکلیس شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM; LEO, 1450 VP) به همراه EDXA مورد ارزیابی قرار گرفت. تعیین درصد وزنی فازهای β -TCP و HA در نمونه‌های دوفازی به کمک روش پیشنهاد شده توسط

Raynaud انجام گرفت [۱۵]. این روش بر مبنای ایجاد منحنی کالیبراسیون و ارزیابی صحت روش با نتایج آنالیز Rietveld استوار است.

۳- نتایج و بحث:

در شکل ۱ الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌های سنتز شده نشان داده شده است. ملاحظه می‌شود در تمام نمونه‌ها فاز هیدروکسی‌آپاتیت (HA) تشکیل شده است. پهن‌شدگی پیک‌ها نشانگر اندازه کوچک بلور HA است. شایان توجه است که الگوی XRD ترکیب‌های آپاتیتی با نسبت مولی Ca/P کمتر یا بیشتر از نسبت مولی استوکیومتری HA (برابر ۱/۶۷) مشابه هم است [۱۵]. در نمونه T6 علاوه بر فاز هیدروکسی‌آپاتیت، پیک‌های اصلی فاز مونیتیت (CaHPO_4) نیز دیده می‌شود. از آنجایی که در نمونه T6 نسبت مولی DCPD/NaOH در بین همه نمونه‌ها بالاترین مقدار است از این رو حضور فاز مونیتیت را می‌توان به عدم انجام کامل هیدرولیز DCPD در T6 نسبت داد.

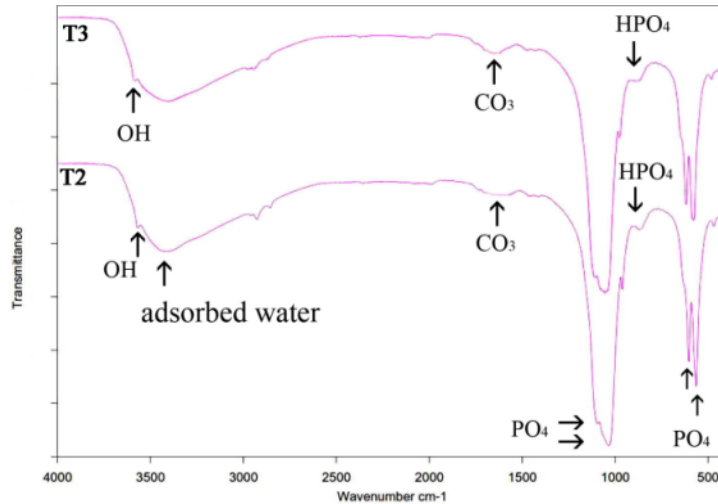


شکل ۱- الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌های سنتز شده.

همه پیک‌ها مربوط به هیدروکسی‌آپاتیت است. در نمونه T6 پیک‌های مربوط به فاز مونیتیت دیده می‌شود.

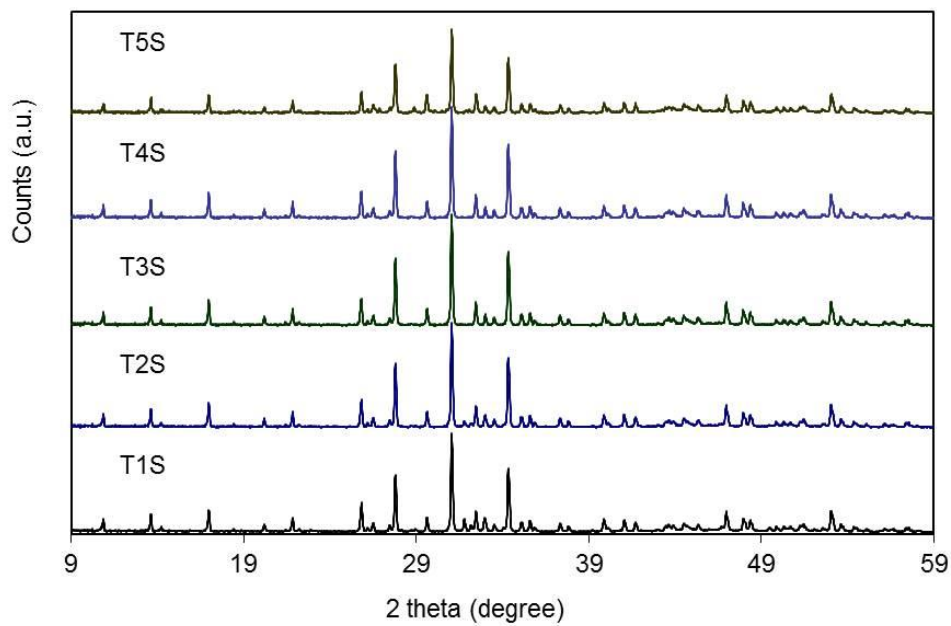
طیف‌های FTIR نمونه‌های T2 و T3 به دلیل وجود مدهای ارتعاشی اصلی گروه‌های فسفات در (cm^{-1}) ۱۰۳۵، ۵۹۶، ۵۶۰ و OH در 3572 cm^{-1} نشان‌دهنده تشکیل فاز آپاتیت هستند [۱۶]. از سوی دیگر وجود نوار مربوط به یون‌های هیدروژن فسفات (HPO_4^{2-}) تشکیل هیدروکسی‌آپاتیت با نقص کلسیم (CDHA) را اثبات می‌کند [۹]. در شکل ۲ نوار پهن در عدد موج 3410 cm^{-1} به وجود آب جذب شده نسبت داده می‌شود [۱۶]. نوار 1630 cm^{-1} به گروه کربنات تعلق دارد [۱۷].

بر این اساس CO_2 در خلال سنتز به CDHA جذب شده است. با اینکه سنتز تحت گاز نیتروژن به منظور عدم جذب CO_2 محیط به پودر صورت پذیرفته است اما بازهم نوار مربوط به کربنات دیده می‌شود. این را می‌توان به جذب CO_2 در هنگام شستشو پس از سنتز نسبت داد.

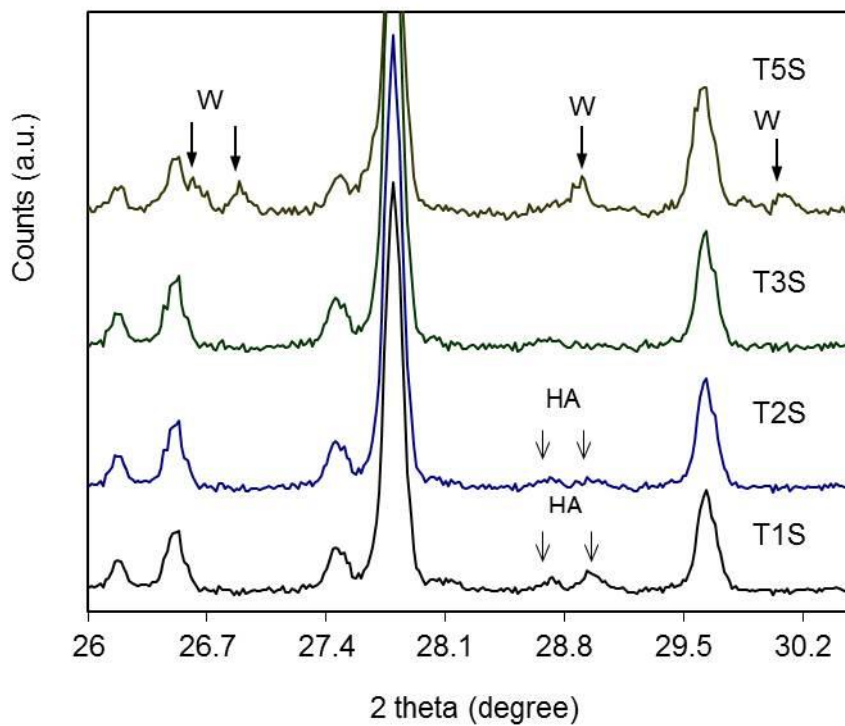


شکل ۲- طیف FTIR نمونه‌های T2 و T3.

الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌ها پس از تکلیس در شکل ۳ مشاهده می‌شود. ملاحظه می‌شود فقط در دو نمونه T3S و T4S تنها یک فاز β -TCP تشکیل شده است. در نمونه‌های T1S و T2S علاوه بر فاز β -TCP، حضور فاز HA نیز به چشم می‌خورد. به منظور مشخص شدن حضور فازها در شکل ۴ الگوی XRD نمونه‌های تکلیس شده در محدوده 2θ ، ۲۶-۳۰/۵ درجه نشان داده شده است. دو نمونه T1S و T2S با پایین‌ترین نسبت مولی DCPD/NaOH سنتز و سپس تکلیس شده بودند. حضور فاز HA در این دو نمونه حاکی از آن است که برای دستیابی به تک فاز β -TCP باید نسبت مولی DCPD/NaOH از مقدار مربوط به نمونه T2S بیشتر باشد. در شکل ۴ مشاهده می‌شود که در نسبت ۱/۹۲ DCPD/NaOH پس از تکلیس (نمونه T5S) علاوه بر فاز β -TCP فاز دیگری به نام ولاستونیت یا سیلیکات کلسیم (CaSiO_3) تشکیل شده است. از آنجایی که در این ترکیب از مقادیر بالایی DCPD استفاده شده است، احتمال خوردگی شیشه راکتور و ورود SiO_2 به ترکیب به دلیل سایش دیواره راکتور توسط ذرات پودر وجود خواهد داشت. محصول این واکنش در دمای بالای تکلیس 1050°C می‌تواند ترکیب سیلیکات کلسیم باشد. بنابر این برای دستیابی به تک فاز β -TCP نسبت مولی DCPD/NaOH باید از مقدار مربوط به نمونه T5S کمتر باشد. بر این اساس برای دستیابی به تک فاز β -TCP در روش هیدرولیز باید نسبت DCPD/NaOH در محدوده مشخصی قرار داشته باشد.



شکل ۳- الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌ها پس از تکلیس در دمای 1050°C به مدت چهار ساعت



شکل ۴- الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌ها پس از تکلیس در محدوده 2θ 26° - 30.5° . حضور فازهای ثانویه در نمونه‌های T1S، T2S و T5S مشهود است. بقیه پیکرها به β -TCP تعلق دارد.

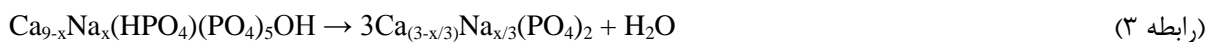
درصد وزنی فازهای HA و β -TCP در مورد نمونه‌های T1S، T2S، T3S و T4S توسط روش Raynaud تعیین شد [۱۵]. تنها دو نمونه T3S و T4S دارای تک فاز β -TCP بوده و درصد این فاز بالاتر از ۹۹ درصد وزنی تخمین زده شد. در دو نمونه T1S و T2S علاوه بر β -TCP فاز HA نیز شناسایی شد که به ترتیب دارای ۸/۲ و ۴/۳ درصد وزنی HA هستند (جدول ۲). درصد وزنی سدیم در نمونه‌های تکلیس شده در جدول ۲ نشان می‌دهد با کاهش نسبت مولی DCPD/NaOH، درصد وزنی سدیم افزایش یافته است. وجود مقادیر قابل توجهی سدیم در نمونه‌ها پس از تکلیس و همچنین حضور فقط فازهای بلوری کلسیم فسفات و عدم مشاهده فازهایی که مؤید حضور ترکیب‌های دارای Na₂O در الگوهای XRD باشند (شکل ۳) مؤید آن است که سدیم در ساختار بلوری جایگزین شده است. در تحقیقاتی که توسط روش‌های واکنش حالت جامد یا رسوب‌نشانی صورت پذیرفته جایگزینی سدیم در ساختار HA و β -TCP به اثبات رسیده است [۹،۴].

جدول ۲- نتایج آنالیز شیمیایی و فازی نمونه‌های تکلیس شده.

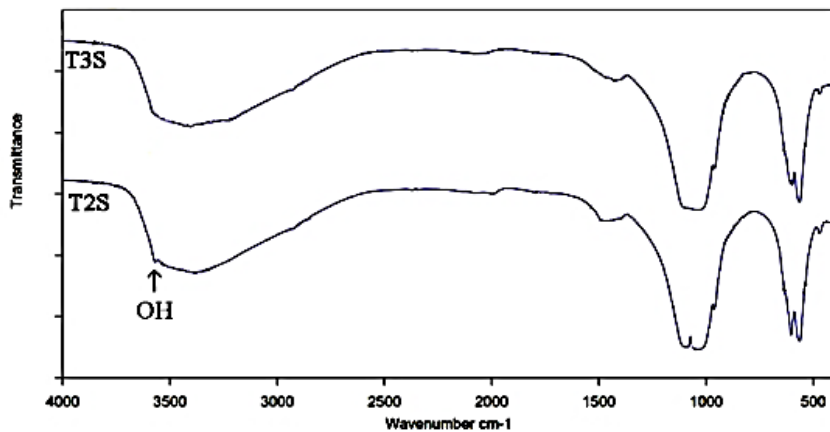
کد	T1S	T2S	T3S	T4S
Na (درصد وزنی)	۲/۰	۱/۶	۱/۵	۱/۰
β -TCP (درصد وزنی)	۹۱/۸ (HA, ۸/۲)	۹۵/۷ (HA, ۴/۳)	>۹۹	>۹۹

جایگزینی سدیم در ساختار β -TCP در نمونه‌هایی که به روش حالت جامد سنتز شده بودند باعث افزایش اندکی در فشردگی شبکه بلور شده است [۴]. در این تحقیق با افزایش سدیم (در نمونه‌های T3S و T4S از ۱ به ۱/۵ درصد وزنی) تغییری در بلورینگی و اندازه کریستالیت فاز β -TCP مشاهده نشد. شایان ذکر است شعاع یونی سدیم، ۱/۰۲ Å تا اندازه‌ای از کلسیم، ۰/۹۶ Å بیشتر است. به نظر می‌رسد در روش هیدرولیز، جایگزینی سدیم در ساختار به جای کلسیم تغییر قابل توجهی در آرایش مجدد شبکه به وجود نیاورده است.

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان حضور سدیم در ساختار β -TCP را به صورت زیر نشان داد (رابطه ۳):



حضور نوارهای مربوط به گروه PO₄ در طیف FTIR دو نمونه T2S و T3S در شکل ۵ نشان‌دهنده وجود ترکیب کلسیم فسفات است. از سوی دیگر نوار مربوط به گروه هیدروژن فسفات در نمونه‌های تکلیس شده به چشم نمی‌خورد. با مقایسه طیف FTIR دو نمونه T2S و T3S ملاحظه می‌شود که نوار مربوط به گروه OH فقط در نمونه T2S مشاهده می‌شود. این طیف با الگوی XRD نمونه T2S مطابقت دارد زیرا این نمونه علاوه بر β -TCP دارای فاز HA است در حالی که T3S فقط از تک فاز β -TCP تشکیل شده است. با مقایسه طیف‌های FTIR نمونه‌ها قبل و پس از تکلیس ملاحظه می‌شود در نمونه‌های سنتز شده نوار گروه CO₃ قابل مشاهده است در حالی که پس از تکلیس حذف شده است.



شکل ۵- طیف FTIR نمونه‌های T2S و T3S.

نتایج آنالیز شیمیایی نمونه T3S از لحاظ مقادیر سه عنصر اصلی و عناصری که معمولاً برای معرفی دقیق تر β -TCP گزارش می‌شود در جدول ۳ نشان داده شده است. طبق استاندارد ASTM F1088 پودر بتا-تری‌کلسیم فسفات نوع پزشکی (مدیکال گرید) که برای تولید گرانول‌ها و بیوسرامیک‌های یکپارچه از این فاز به کار می‌رود باید از لحاظ عناصر ناچیز بااهمیت و سمی (آرسنیک، سرب، کادمیم و جیوه) و همچنین درصد فاز β -TCP در محدوده مقادیر ارائه شده در جدول ۴ قرار داشته باشد [۱۸]. در ضمن باید عناصر دیگر موجود در پودر نیز گزارش شود. همان طور که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود نمونه T3S را می‌توان به عنوان بتا-تری‌کلسیم فسفات نوع پزشکی معرفی نمود.

جدول ۳- درصد وزنی عناصر اصلی و فرعی موجود در نمونه T3S اندازه‌گیری شده توسط ICP.

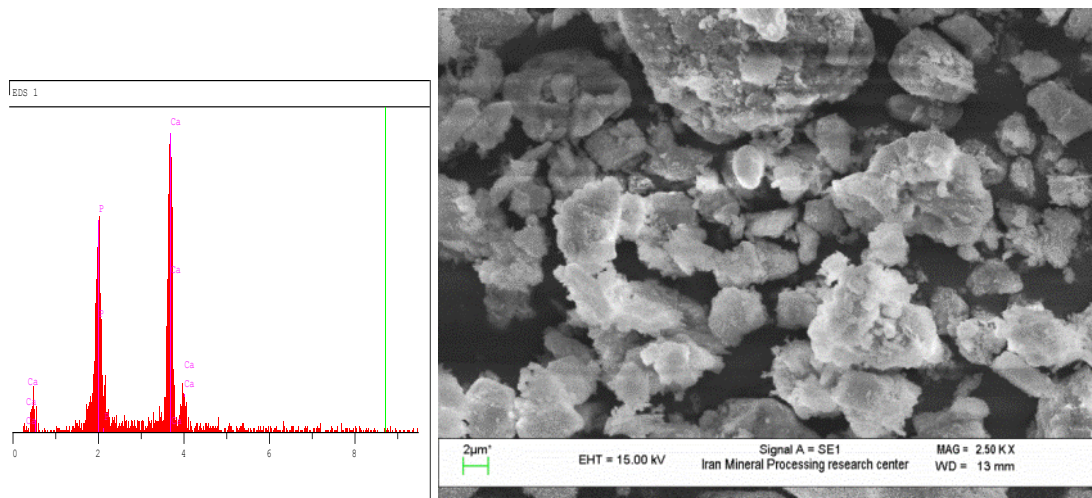
				P	Z	T	M
a	a	e	g	n	i	n	
	
۳	۴	/	۱	۰	۵	۰.۱	۰.۰۲
		۱	/	۳	/	۰/	<۰/
		.	/	.	.	<	<
	

جدول ۴- درصد وزنی عناصر ناچیز و قابل اهمیت از لحاظ سمیت.

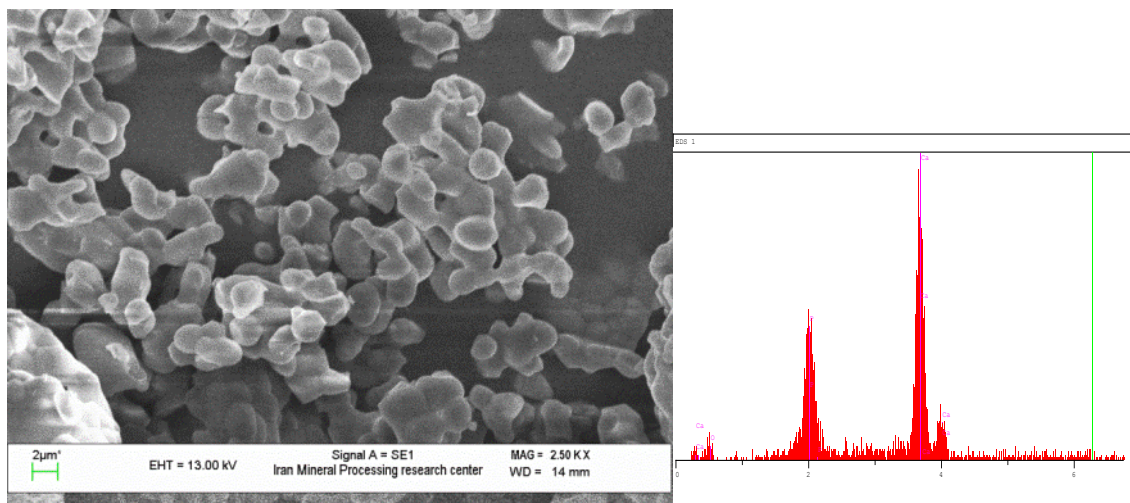
β -TCP (wt%)	Pb (ppm)	Hg (ppm)	Cd (ppm)	As (ppm)	
> ۹۹	< ۲	< ۵	< ۰/۵	< ۵	TS3
> ۹۵	< ۳۰	< ۵	< ۵	< ۳	استاندارد ASTM F1088

در شکل‌های ۶ و ۷ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه‌های T3 و T3S مشاهده می‌شود. شکل ۶ نشان می‌دهد که CDHA از آگلومره‌هایی متشکل از ذرات اولیه تشکیل شده است. پس از زینتر در دمای 1050°C ، آگلومره‌هایی متشکل از

ذرات حدود ۲ میکرومتر در شکل ۷ قابل مشاهده است. در شکل‌های ۶ و ۷ حضور کلسیم و فسفر در نتایج EDXA نشان داده شده است.



شکل ۶- میکروگراف SEM نمونه T3 (هیدروکسی آپاتیت با نقص کلسیم، CDHA).



شکل ۷- میکروگراف SEM نمونه T3S (بتا- تری کلسیم فسفات با ۱/۵ درصد وزنی سدیم، Na β -TCP).

۴- نتیجه گیری:

به کمک روش هیدرولیز در محیط قلیایی امکان سنتز تک‌فاز بتا- تری کلسیم فسفات با جایگزینی سدیم از تکلیس آپاتیت با نقص کلسیم وجود دارد. نتایج نشان داد که توسط روش هیدرولیز در محیط قلیایی فقط در محدوده معینی از نسبت مولی DCPD/NaOH می‌توان به تک فاز β -TCP دست یافت. در این تحقیق امکان ورود سدیم تا ۱/۵ درصد وزنی در ساختار بلوری β -TCP بدون حضور فاز ثانویه HA محقق شد. وجود مقادیر بالاتر از ۹۹ درصد وزنی فاز β -TCP به همراه مقادیر بسیار ناچیز (و زیر حد استاندارد) عناصر مضر، کاربرد بتا- تری کلسیم فسفات سنتز شده به روش هیدرولیز را برای کاربردهای پزشکی و به ویژه به عنوان ماده شروع‌کننده برای تهیه بیوسرامیک‌ها از این فاز امکان‌پذیر می‌سازد.

۵- مراجع:

- [1] M. Bohner, G. Laetiti, D Nicola, *Journal of the European Ceramic Society*, **32** (2012) 2663.
- [2] S. V. Dorozhkin, *Acta biomaterialia*, **8.3** (2012) 963.
- [3] A. M. Gatti, D. Zafte, G. P. Poli, *Biomaterials*, **11** (1990) 513.
- [4] L. Obadia, M. Julien, S.Quillard, T.Rouillon, P. Pilet, J.Guicheux, J. M. Bouler, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **22** (2011) 593.
- [5] C. Tas, A. S. B. Bhaduri, S. Jalota, *Materials Science and Engineering:C*, **27.3** (2007) 394.
- [6] L. Donghyun, C. Sfeir, P. N. Kumta, *Materials Science and Engineering:C* **29.1** (2009) 69.
- [7] K. P. Sanosh, M. C. Chu, A. Balakrishnan, T. N. Kim, S. J. Cho, *Current Applied Physics*, **10** (2010) 68.
- [8] A. S. Mesgar, Z. Mohammadi, F. Moztarzadeh, M. Ashrafi, Z. S. Mohammadi, *Iranian Journal of Biomedical Engineering*, **1** (1) 39.
- [9] S. Kannan, , M. G. V. Jofre, A. F. Lemos, A. Barba, J. M. F. Ferreira. *Ceramics International*, **34** (2008) 7.
- [10] H. Aoki, Science and Medical Applications of Hydroxyapatite, Japanese Association of Apatite Science, Tokyo, Japan, 1991.
- [11] H. El. Feki, J. M. Savariault, A. Ben Salah, *J. Alloys Compd.*, **287** (1999) 114.
- [12] S. Quillard, , M. Paris, P. Deniard, R. Gildenhaar, G. Berger, L. Obadia, J-M. Bouler, *Acta biomaterialia*, **7** (2011) 1844.
- [13] J-M Bouler, R. Z. LeGeros, G. Daculsi, *Journal of biomedical materials research*, **51** (2000) 680.
- [14] Z. Mohammadi, A. S. Mesgar, A. Allahbakhshi, *15 th Iranian Inorganic Chemistry Conference*, 2013.
- [15] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache-Assollant, J. P. Laval, *Journal of the American Ceramic Society* **84** (2001) 359.
- [16] J. Marchi, P. Greil, J. C. Bressiani, A. Bressiani, F. Müller, *International Journal of Applied Ceramic Technology*, **6** (2009) 60.
- [17] S.-H. Kwon, Y. Jun, S. Hong, H.-E. Kim, *Journal of the European Ceramic Society*, **23** (2003)1039.
- [18] ASTM F1088, Standard Specification for Beta-Tricalcium Phosphate for Surgical Implantation, 2010.