

سنتر و بررسی تأثیر جایگزینی آهن بر پایداری حرارتی و خصوصیات فیزیکی نانوذرات هیدروکسی آپاتیت

سید محمد میر کاظمی، جعفر جوادپور، مهرانوش قاسمی

دانشکده مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه علم و صنعت ایران

mirkazemi@iust.ac.ir

چکیده:

در این پژوهش پودرهای هیدروکسی آپاتیت در مقیاس نانومتری با جایگزینی آهن (سه ظرفیتی) به روش هم رسوبی سنتز گردید. فازهای تشکیل شده، پایداری حرارتی و مورفولوژی ذرات سنتز شده به کمک روش‌های آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD)، طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM)، طیف‌سنجی رامان و خواص مغناطیسی توسط آنالیز مغناطیس‌سنج نمونه مرتعش (VSM) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با وارد شدن آهن در شبکه هیدروکسی آپاتیت، بلورینگی و پایداری حرارتی ساختار هیدروکسی آپاتیت کاهش می‌یابد. به طوری که در حضور ۹ درصد وزنی آهن ساختار هیدروکسی آپاتیت تا دمای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد پایدار است در حالی که بدون حضور آهن تا دمای ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد پایدار می‌باشد. نتایج VSM خاصیت پارامغناطیس را در پودرهای حاوی آهن تأیید نمود.

اطلاعات مقاله:

دریافت: ۱۸ اسفند ۱۳۹۳

پذیرش: ۲۵ تیر ۱۳۹۴

کلید واژه:

هیدروکسی آپاتیت، نانوذرات، آهن، هم رسوبی، پایداری حرارتی، پارامغناطیس.

۱- مقدمه و مروری بر منابع

هیدروکسی آپاتیت (HA^1) بخش معدنی استخوان را تشکیل می‌دهد و دارای خواص مطلوبی همچون پایداری، خنثی بودن شیمیایی و سازگاری زیستی است. این بیو سرامیک زیست فعال است، بدین معنی که پس از کاشت آن در بدن، بافت استخوان جدیدی بر روی آن رشد کرده و اتصال محکمی میان این نوع کاشتنی با بدن برقرار می‌شود. [1]

¹ Hydroxyapatite

هیدروکسی آپاتیت دارای ساختار هگزاگونال بوده و فرمول شیمیایی آن به صورت $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ نوشته می‌شود. [2-3] ترکیبات مختلفی از آپاتیت به دلیل جایگزینی‌های مختلف به وجود می‌آید. این جایگزینی‌ها می‌تواند در موقعیت کاتیون‌های کلسیم، گروه فسفات و یا گروه‌های هیدروکسیل صورت پذیرد. در این پژوهش یون آهن وارد ساختار هیدروکسی آپاتیت می‌شود. آهن جایگزین شده در ساختار آپاتیت با خواص مغناطیسی می‌تواند در رهایش دارو، تصویربرداری پزشکی و درمان سرطان مورد استفاده واقع شود. یکی از روش‌های از بین بردن سلول‌های سرطانی



جایگزینی آهن بر خصوصیات فیزیکی، پایداری حرارتی و رفتار مغناطیسی این پودرها بود.

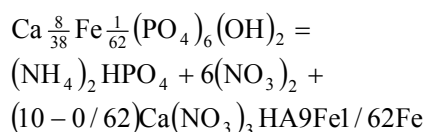
۱-۱- مواد و روش تحقیق

در این تحقیق منابع تأمین کننده یون‌های کلسیم، فسفر و آهن به ترتیب نیترات کلسیم چهارآبه $(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، دی آمونیوم هیدروژن فسفات $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ و نیترات آهن نه آبه $(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ بودند که همه مواد محصول شرکت مرک، با خلوص بالای ۹۹٪ می‌باشند. مقادیر مورد نیاز از مواد اولیه برای سنتز ۱۰ گرم نانوپودرهای هیدروکسی آپاتیت محاسبه شد (جدول ۲). ابتدا محلول‌های ۲۵٪ مولار از نیترات کلسیم چهار آبه، دی آمونیوم هیدروژن فسفات و نیترات آهن نه آبه به‌طور جداگانه تهیه و روی همزن مغناطیسی با دور ۱۲۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه کاملاً مخلوط شد. در ادامه محلول ۲۵٪ مولار نیترات آهن به محلول ۲۵٪ مولار نیترات کلسیم اضافه گردید و محلول حاصله به مدت یک ساعت روی همزن مغناطیسی هم زده شد. pH محلول دی آمونیوم هیدروژن فسفات، با افزودن قطره‌قطره هیدروکسید آمونیوم به ۱۱ رسانده شد و این محلول به‌صورت خیلی آهسته و با سرعت ۱ قطره بر ثانیه به محلول قبل که حاوی نیترات کلسیم و نیترات آهن بود، تحت سرعت بالای همزن مغناطیسی ۱۲۰۰ rpm اضافه گردید. pH محلول نهایی به ۱۱ رسانده شد و به مدت دو ساعت روی همزن مغناطیسی با دور بالا کاملاً هم خورد. بعد از گذشت دو ساعت به محلول نهایی به‌منظور پیرسازی ۲۴ ساعت زمان داده شد. سپس رسوب نهایی ساترifiوژ شد و برای حذف یون‌های اضافی سه بار با آب مقطر شست‌وشو داده شد. کیک

بدون آسیب رساندن به سلول‌های سالم، روش هایپرترمیا است. در این روش با استفاده از نانو ذرات و گرمای حاصله از ایجاد میدان مغناطیسی قوی و هدفمند، باعث از بین بردن سلول‌های سرطانی در بدن افراد می‌شوند. نانو ذرات فلزی که دارای خواص مغناطیسی هستند مثل نانوذرات آهن، برای این امر مورد استفاده قرار می‌گیرند. مشکل استفاده از این مواد در درصدهای بالا سمی بودن آن‌ها می‌باشد. [۴] در این پژوهش سعی شد با وارد کردن آهن در ساختار هیدروکسی آپاتیت خواص مغناطیسی و پتانسیل کاربرد آن برای روش هایپرترمیا بررسی شود. علاوه بر موارد فوق، به علت وجود عنصر آهن در استخوان و دندان، این عنصر به‌عنوان یکی از کاتیون‌های جایگزین مورد توجه است [5]. لی^۱ و همکارانش نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت جایگزین شده با آهن (Fe^{3+}) را در درصدهای مختلف تهیه کردند و آزمون سمیت (MTT) را بر روی آن‌ها انجام دادند. تمامی نمونه‌های سنتز شده با درصدهای صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۱ آهن فاقد سمیت سلولی بودند. [6] در پژوهش که توسط کرامر^۲ و همکارانش در سال ۲۰۱۳ انجام شد، یون‌های آهن توسط روش غوطه‌وری وارد ساختار آپاتیت شدند. به این صورت که نمونه‌ها در دو محلول فریک کلرید و فروس کلرید برای مدت‌زمان‌های معینی خیسانده شدند. نتایج EDX نشان داد نمونه‌های خیسانده شده در محلول فریک کلرید حاوی یون‌های بیشتری آهن هستند و نتایج VSM رفتار پارامغناطیسی پودرها را تأیید نمود. [7] هدف از انجام این تحقیق سنتز پودرهای هیدروکسی آپاتیت در مقیاس نانومتری با درصدهای مختلف آهن و بررسی تأثیر

¹ LiYan

² Erika R. Kramer



جدول ۲- مقادیر محاسبه شده برای سنتز نانوپودرهای

هیدروکسی آپاتیت

نمونه‌ها	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O (gr)	(NH ₄) ₂ HPO ₄ (gr)	Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (gf)
HA	۱۶/۲۸	۷/۸۶	-
HA1Fe	۱۵/۹۹	۷/۸۶	۰/۴۳
HA3Fe	۱۵/۳۲	۷/۸۶	۱/۲۹
HA6Fe	۱۴/۳۳	۷/۸۶	۲/۵۸
HA9Fe	۱۳/۳۵	۷/۸۶	۳/۸۷

۱-۲- آزمون‌ها

شناسایی فازهای موجود، میزان بلورینگی، حجم سلول واحد و تخمین اندازه بلورکها (ویلیامسون هال) توسط روش پراش پرتوایکس (XRD)، دستگاه مدل (Rigaku ساخت کشور ژاپن) انجام شد. (2θ=10-80). آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR، دستگاه Shimadzu, 8400s) در محدوده 400-4000 cm⁻¹ به منظور شناسایی گروه‌های شیمیایی موجود در ساختار بکار برده شد. بررسی ریزساختار و مورفولوژی ذرات توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی-گسیل میدانی (FESEM Tescan model mira) انجام شد و در نهایت رفتار مغناطیسی نمونه‌ها توسط دستگاه مغناطیس‌سنج نمونه مرتعش (VSM)، دستگاه مدل MDK6 ساخت شرکت مغناطیس دقیق کویر) بررسی شد.

۲- نتایج و بحث

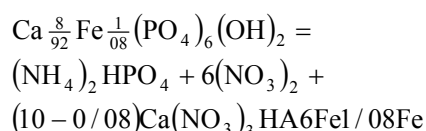
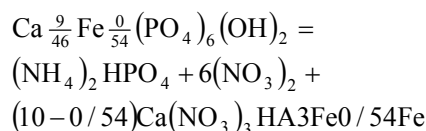
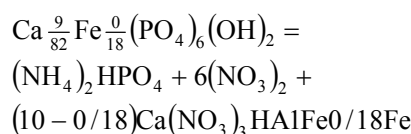
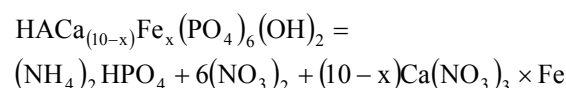
با بررسی پیک‌های موجود در شکل ۱، در هیچ‌کدام از

به‌دست‌آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰°C خشک شد و با هاون کاملاً به پودر تبدیل شد. از آنجا که آپاتیت‌های تهیه‌شده از محلول‌های کاملاً قلیایی حاوی CO₂ بوده و در دماهای بالای ۹۰°C مستعد به تشکیل اکسید کلسیم (CaO) هستند [8] دماهای کلسیناسیون کم‌تر از این مقدار انتخاب شد. در ۸۰°C نیز فازهای جانبی به علت ساختار به‌هم‌ریخته‌ی هیدروکسی آپاتیت پدید آمدند. لذا در انتها به‌منظور کلسینه کردن و بررسی پایداری حرارتی، نمونه‌ها در دماهای ۵۵۰، ۶۵۰ و ۷۰۰°C به مدت ۲ ساعت با نرخ گرمایش ۱۰°C/min در کوره قرار گرفتند.

جدول ۱- کدگذاری نمونه‌ها

درصد وزنی آهن	0	1	3	6	9
کد اختصاری نمونه‌ها	HA	HA1Fe	HA3Fe	HA6Fe	HA9Fe

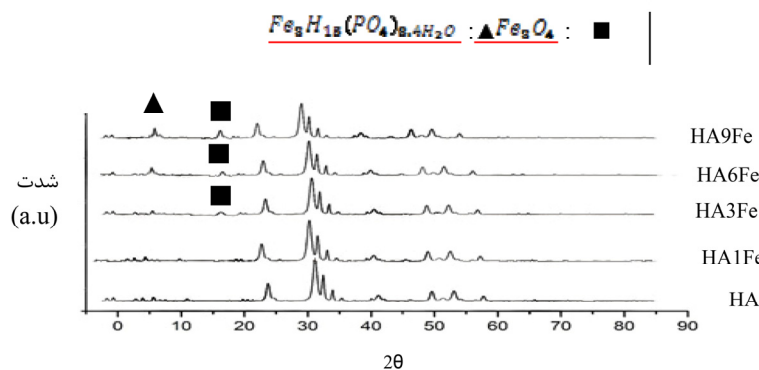
در جدول ۱ اعداد نشان‌دهنده درصد وزنی آهن در ساختار هستند. در معادلات زیر x نشان‌دهنده درصد اتمی است.





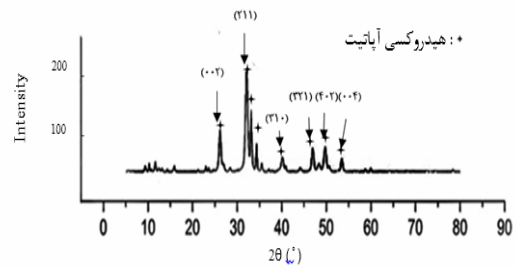
با بررسی الگوهای پراش در شکل ۲ ملاحظه می‌شود که با افزایش درصد آهن در نمونه‌ها شدت پیک‌ها کم شده، پیک‌ها پهن‌تر شده و موقعیت آن‌ها به سمت چپ انتقال پیدا کرده است. با افزایش آهن و وارد شدن آن به درون شبکه هیدروکسی آپاتیت تعداد اتم‌های کلسیم کمتر می‌شود، ساختار نظم ایده آل خود را از دست داده و از درجه بلورینگی آن کاسته می‌شود. نظم آن به هم می‌ریزد و میزان اعوجاج در آن افزایش می‌یابد. علت این بی‌نظمی شعاع کوچک یون آهن (۶۴ آنگستروم) نسبت به یون کلسیم (۹۹ آنگستروم) است که سبب کرنش و انقباض در ساختار می‌شود. بلورینگی نمونه‌ها کم است و با افزایش مقدار آهن کاهش می‌یابد که این می‌تواند ناشی از به هم ریختگی ساختار در اثر حضور آهن باشد در نتیجه ساختار منقبض می‌شود. از طرف دیگر یون آهن سه بار مثبت دارد در حالی که یون کلسیم دو ظرفیتی می‌باشد که سبب می‌شود ساختار با عدم تعادل بار مواجه باشد که منجر به تشکیل عیوب در شبکه می‌شود

به‌منظور بررسی تأثیر حرارت بر پایداری هیدروکسی آپاتیت حرارت‌دهی در دماهای ۶۵۰ و ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. نتایج پراش اشعه ایکس در شکل‌های ۳ و ۴ آورده شده است.

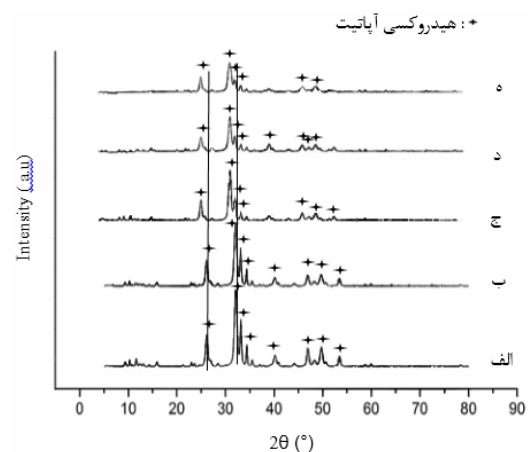


شکل ۳- الگوی XRD از نمونه‌های HA, HA1Fe, HA3Fe, HA6Fe, HA9Fe کلسینه شده در ۶۵۰ درجه سانتی‌گراد

نمونه‌هانشانی از حضور فاز ثانویه نبود و تنها فاز هیدروکسی آپاتیت مشاهده گردید. (JCPDS file no.09-0432)



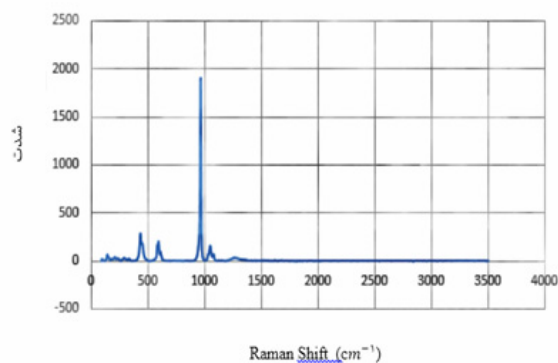
شکل ۱- طیف پراش پرتو ایکس از نمونه هیدروکسی آپاتیت خالص (HA)



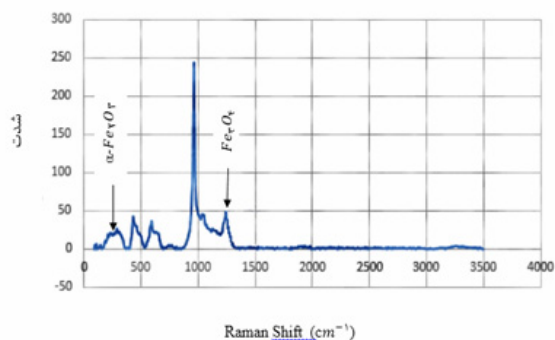
شکل ۲- الگوهای XRD از نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت سنتز شده با جایگزینی آهن پس از کلسینه شدن در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد (الف) HA خالص (ب) HA1Fe (ج) HA3Fe (د) HA6Fe (ه) HA9Fe



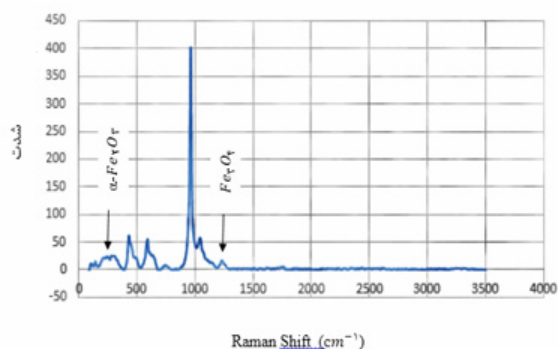
خالص را نشان می‌دهد



شکل ۵- نمودار رامان برای نمونه HA



الف



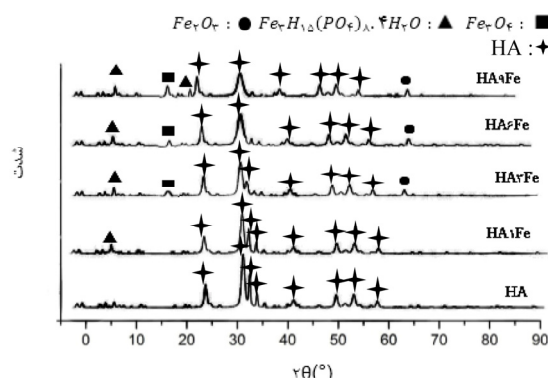
ب

شکل ۶- طیف رامان برای نمونه‌های

HA9Fe (ب) HA6Fe (الف)

نمونه‌های HA1Fe و HA3Fe نیز طیف‌هایی مشابه HA

در نمونه HA9Fe فاز $\text{Fe}_3\text{H}_{15}(\text{PO}_4)_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ مشاهده گردید. این ترکیب جدید نشان‌دهنده تمایل آهن برای واکنش با گروه فسفات و هیدروژن است. در نمونه HA3Fe مقداری Fe_3O_4 دیده می‌شود. در نمونه‌های HA6Fe و HA9Fe نیز این فاز ملاحظه شده و مقدارش به تدریج افزایش یافته است. وجود این فاز به علت تمایل بیشتر اتم‌های آهن برای ترکیب با اکسیژن در محیط اکتیوی می‌باشد. این فاز به ماده‌ی ما خاصیت مغناطیسی می‌بخشد.



شکل ۴- الگوی XRD از نمونه‌های HA، HA1Fe،

HA3Fe، HA6Fe و HA9Fe کلسینه شده در ۷۰۰ درجه

سانتی‌گراد

پس از کلسیناسیون در ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد فاز هماتیت در دو نمونه HA6Fe و HA9Fe به وجود می‌آید. فاز Fe_3O_4 در هر چهار نمونه و فاز $\text{Fe}_3\text{H}_{15}(\text{PO}_4)_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ در نمونه‌های HA3Fe، HA6Fe و HA9Fe حاوی آهن ملاحظه گردید. در این دما تمایز هیدروکسی آپاتیت و کلسیم فسفات $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ مشکل است زیرا پیک‌ها با هر دو فاز همخوانی دارند اما به علت کمبود گروه‌های هیدروکسیل و فسفات تصور می‌شود فاز موجود نوعی کلسیم فسفات باشد. شکل ۵ طیف رامان برای نمونه هیدروکسی آپاتیت

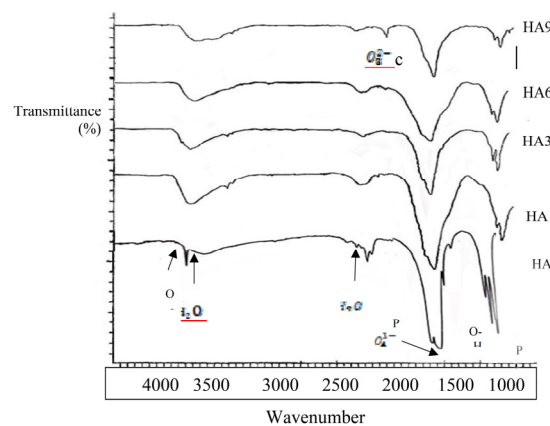


نمونه HA6Fe پیک 962cm^{-1} و در نمونه HA9Fe پیک‌های 962cm^{-1} و 904cm^{-1} ظاهر می‌شوند که این پیک‌ها نیز مربوط به گروه فسفات می‌باشند. در نمونه HA9Fe یک پیک در 873cm^{-1} ظاهر می‌شود که می‌تواند مربوط به گروه کربنات جایگزین شده به جای PO_4^{3-} باشد که در این صورت کربنات از نوع β است. وجود پیکی که نشان‌دهنده HPO_4^{2-} باشد، مشاهده نگردید. پیک‌های به‌دست‌آمده در محدوده 1645cm^{-1} تا 1384cm^{-1} مربوط به گروه‌های کربنات است. یک پیک پهن در محدوده 300cm^{-1} تا 3568cm^{-1} وجود دارد که در نمونه‌های مختلف محدوده‌ی آن متفاوت است و هر چه غلظت Fe افزایش می‌یابد این قسمت پهن‌تر شده و پیک‌های ظاهر شده در آن افزایش می‌یابد. این پیک پهن مربوط به گروه‌های آب موجود در نمونه‌ها می‌باشد که می‌توان علت آن را روش سنتز نمونه‌ها دانست و همین‌طور ممکن است نمونه‌ها از محیط اطراف آب جذب کرده باشند. [9-10] با افزایش غلظت آهن بلورینگی به‌طور کلی کاهش می‌یابد که مطابق با نتایج XRD است.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه HA، HA3Fe و HA9Fe در شکل ۸ و ۹ نشان داده شده است. با افزایش آهن اندازه بلورک‌ها تا حدودی کوچک‌تر شده است. از آنجا که شعاع یونی Fe^{3+} کوچک‌تر از شعاع یونی Ca^{2+} است، این جایگزینی سبب کاهش اندازه پارامتر شبکه می‌شود، شبکه دچار انقباض می‌شود و بلورک‌ها کوچک‌تر می‌شوند. این نتیجه در تطابق کامل با نتایج XRD است. محدوده اندازه بلورک‌ها زیر ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. در همه نمونه‌ها توزیعی گسترده‌ای در محدوده ۳۰ تا ۱۰۰ نانومتر ملاحظه گردید. در همه نمونه‌ها آگلومراسیون شدید ملاحظه می‌شود.

خالص دارند. در شکل ۶ الف و ب برای دو نمونه‌ی HA6Fe و HA9Fe پیک‌های جدیدی پدید آمد که به‌صورت پیوسته در شکل مشخص می‌باشند. با بررسی‌های بیشتر مشخص شد این پیک‌ها در 224 ، 295cm^{-1} شدت بیشتری دارند که مطابق با پیک‌های هماتیت است. در این دو نمونه شدت پیک‌های هیدروکسی آپاتیت کم شده است. در دو نمونه HA9Fe و HA6Fe در نواحی 1330cm^{-1} تا 1348cm^{-1} پیک‌هایی پدید آمده است که در 1336cm^{-1} شدت بیشتری دارند. این پیک‌ها نشان‌دهنده Fe_3O_4 می‌باشند.

نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز در شکل ۷ نشان داده شده است.

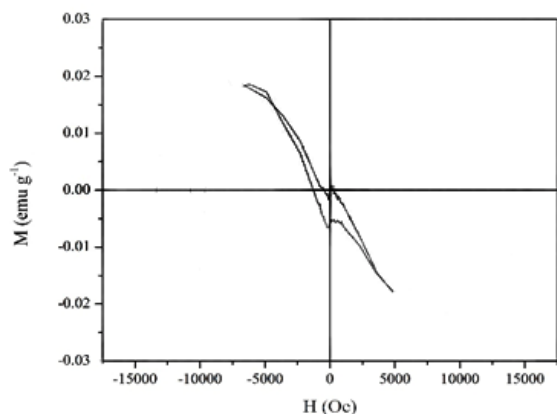


شکل ۷- طیف FTIR پودرهای سنتز شده در 550 درجه سانتی‌گراد

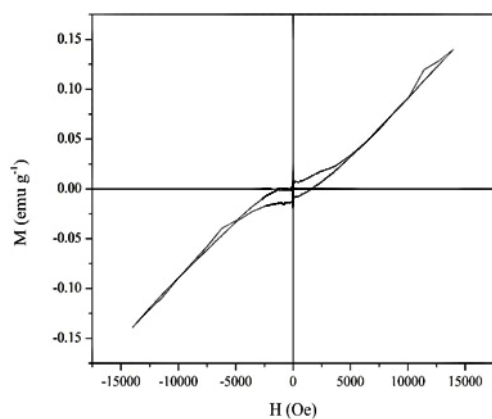
پیک‌های 563cm^{-1} و 601cm^{-1} که در همه‌ی نمونه‌ها ظاهر شده‌اند، مربوط به حرکات خمشی پیوندها در گروه فسفات هستند و پیک‌های موجود در 1033 ، 1035 و 1037cm^{-1} مربوط به حرکات کششی گروه فسفات‌ها هستند. در نمونه HA1Fe پیک جدیدی ظاهر نشده است فقط از شدت پیک‌های قبلی کاسته شده است و پیک‌ها پهن‌تر شده‌اند. در نمونه HA3Fe نسبت به نمونه HA1Fe از شدت پیک‌ها کاسته شده و پهنای آن اندکی افزایش یافته است. در غلظت‌های بالاتر Fe یعنی



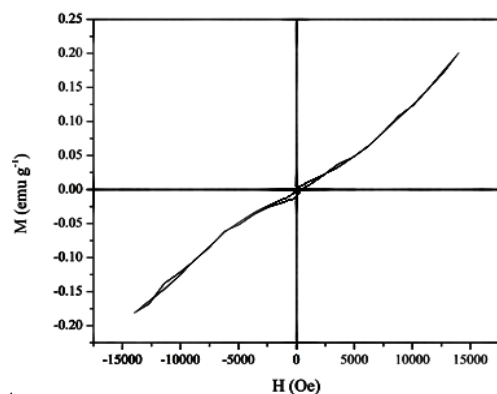
در تحقیق حاضر دستگاه VSM برای اندازه‌گیری خاصیت مغناطیسی نمونه‌ی خالص HA و نمونه‌های HA6Fe و HA9Fe استفاده شد.



شکل ۱۰ - VSM از نمونه HA

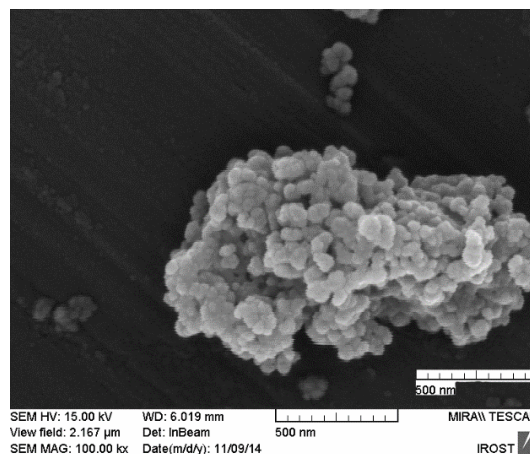


الف

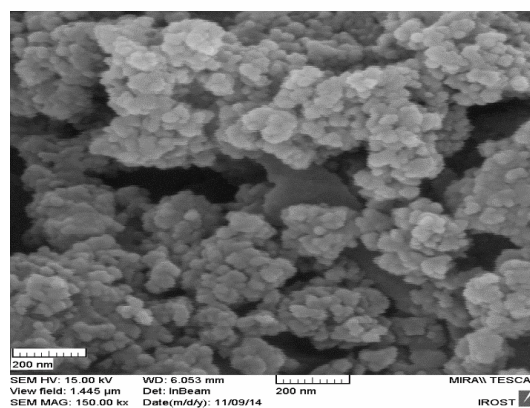


ب

شکل ۱۱ - VSM از نمونه‌های الف) HA6Fe ب) HA9Fe



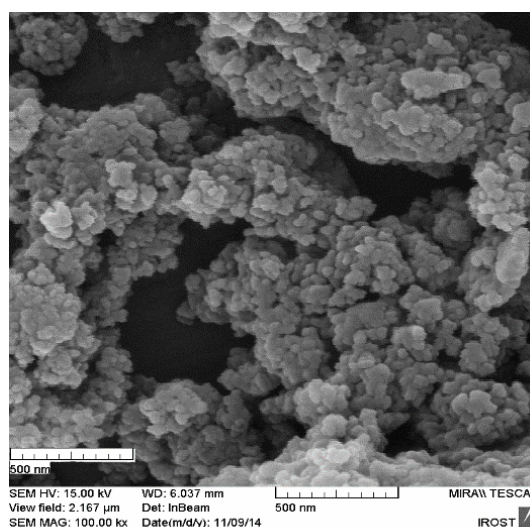
الف



ب

شکل ۸ - تصاویر FESEM از نمونه‌های

الف) HA ب) HA3Fe



شکل ۹ - تصویر FESEM از نمونه‌ی HA9Fe



اندازه ذرات زیر ۱۰۰ نانومتر است. با افزایش آهن نمونه‌ها رفتار پارامغناطیس از خود نشان دادند. آنالیز رامان وجود فازهای مگنتیت و هماتیت را برای دو نمونه HA6Fe و HA9Fe نشان داد.

مراجع

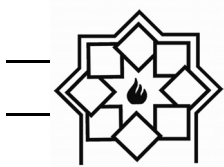
- [1] P. N. De Aza, F. Guitan, A. Merlos, E. Lora- Tamayo, and S. De, "Bioceramics-Simulated Body Fluid Interfaces : pH and Its Influence of Hydroxyapatite Formation", material medicine, vol 7, pp399-402, 1996
- [2] B. Cengiz, Y. Gokce, N. Yildiz, Z. Aktas, A. Calimli, "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Nanoparticles," Colloid Surface, vol. 32, pp. 29-33, 2008
- [3] M. Wakamura, K. Kandori, Tatsuo Ishikawa, "Surface structure and composition of calcium hydroxyapatites substituted with Al(III), La(III) and Fe(III) ions," Colloids and Surfaces, vol. 164, pp. 297-305, 200
- [4] ع. قنبری، "درمان هدفمند سرطان با نانوذرات مغناطیسی"، ستاد ویژه توسعه فناوری نانو، صفحه ۱۲-۱، ۱۳۹۳
- [5] JH Beattie, A Avenell, "Trace Element Nutrition And Bone Metabolism," Nutrition Research Review, vol. 5, pp. 167-188, 1992
- [6] Y. Li, Chai T. Nam, Ch. P. Ooi, "Iron(III) and manganese(II) substituted hydroxyapatite nanoparticles: characterization and cytotoxicity analysis," Conference Series, vol. 187, 2009.
- [7] E. R. Kramer, A. M. Morey, M. Staruch, S. L. Suib, M. Jain, J.I. Budnick, M. Wei, "Synthesis and characterization of iron-substituted hydroxyapatite via a simple ion-exchange procedure" Materials Science and Engineering, 48, 665-673, 2013

همان‌طور که در شکل ۱۰ مشخص است شیب منحنی M-H منفی است لذا نمونه ی HA دیامغناطیس است. نمونه‌های HA به همراه آهن در حضور میدان از خود خاصیت پارامغناطیس نشان می‌دهند. با توجه به شکل ۱۱ شیب منحنی‌های M-H برای نمونه‌های HA6Fe و HA9Fe مثبت است و با افزایش مقدار آهن مغناطش افزایش می‌یابد بطوریکه برای نمونه HAP9Fe به ۰/۲۰ می‌رسد. تصور می‌شود علت این پدیده پیوند یون‌های آهن با اکسیژن در ساختار هیدروکسی آپاتیت باشد. عدم تقارن شکل منحنی هیستریزس حاکی از عدم توزیع یکنواخت یون آهن در ساختار است.

بر اساس نتایج VSM و رامان خاصیت مغناطیسی نمونه‌های HA1Fe و HA3Fe ناشی از پیوندهای Fe-O در ساختار می‌باشد و مغناطیسی شدن نمونه‌های HA6Fe و HA9Fe علاوه بر پیوندهای Fe-O ناشی از وجود فاز مگنتیت نیز می‌باشد. خاصیت پارامغناطیسی پودرهای هیدروکسی آپاتیت دوپ شده با آهن در کارهای سایر پژوهشگران نیز به اثبات رسیده است. [11-12]

۳- نتیجه‌گیری

آنالیز فازی پودرهای سنتز شده با درصدهای مختلف آهن، در دمای ۵۵۰°C تنها حضور هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهد. با افزایش آهن بلورینگی نمونه‌های HA کم می‌شود و پایداری حرارتی کاهش می‌یابد. بطوریکه در ۷۰۰°C ساختار HA به مقدار زیادی تبدیل به فازهای دیگر شده است و ترکیبات دیگری به وجود می‌آید. در تصاویر FESEM آگلومراسیون شدید ملاحظه می‌شود و محدوده



- [8] M. Motskin, D. M. Wright, K. Muller, N. Kyle, T. G. Gard, A.E. Porter, J. N. Skepper, "Hydroxyapatite Nano and Microparticles: correlation of particle properties with cytotoxicity and biostability," *Biomaterial*, vol. 30, pp. 3307-3317, 2009.
- [9] G. A. Gamal, F. A. Al-Mufadi, A. H. Said "Effect of Iron Additives on the Microstructure of Hydroxyapatite," *ETASR*, vol. 6, pp. 532-539, 2013
- [10] K.A. Gross, R. Jackson, J. D. Cashion, L.M.Rodriguez-Lorenzo "Iron Substituted Apatites: A Resorbable Biomaterial With Potential Magnetic Properties," *European Cells and Materials*, vol. 3, pp. 114-117, 2002.
- [11] V. Sarath Chandra, Ganga Baskar , R. V. Suganthi , K. Elayaraja , M. I. AhymahJoshy , W. SofiBeaulaR.Mythili , Ganesh Venkatraman, S. Narayana Kalkura , "Blood Compatibility of Iron-Doped Nanosize Hydroxyapatite and Its Drug Release," *Applied materials & interfaces*, vol. 4, p. 1200–1210, 2012
- [12] Y. Li, Ch. T. Nam, Ch. P. Ooi, "Iron(III) and manganese(II) substituted hydroxyapatite nanoparticles: characterization and cytotoxicity analysis," *ConferenceSeries*, vol. 187, 2009