



Synthesis and Characterization of Alpha-Tricalcium Phosphate and Its Single-Component Cement

Rahim Jahandideh ¹, AliAsghar Behnamghader ^{2*}, Saeed Hesaraki ³

¹ Ph. D. Candidate, Department of Nanotechnology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran

² Associate Professor, Department of Nanotechnology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran

³ Professor, Department of Nanotechnology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran

*Corresponding Author's Email: a-behnamghader@merc.ac.ir (A. A. Behnamghader)

Paper History:

Received: 2021-06-30
Revised in revised form: 2021-08-26
Scientific Accepted: 2022-09-14

Keywords:

Alpha-Tricalcium Phosphate,
Synthesis,
Cement,
Calcium Deficiency Hydroxyapatite

Abstract Alpha-tricalcium phosphate can be used as a powder component in the preparation process of calcium phosphate cements in hard tissue applications. In this study, the mentioned powder was synthesized through chemical precipitation method using calcium nitrate and diammonium hydrogen phosphate as the raw materials. The resulting powder was heat-treated at 1250 °C and quenched at the ambient temperature. The results of X-Ray Diffraction (XRD) analysis and Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy confirmed the formation of crystalline Alpha-tricalcium phosphate phase and presence of P-O chemical groups, respectively. The Single-component cement was prepared using Alpha-tricalcium phosphate powder with the liquid phase containing 2.5 % disodium hydrogen phosphate. The resulting cement sample had an initial setting time of 17±1 minute and the compressive strength of 21±2 MPa. The XRD and FTIR experiments revealed the formation of a great amount of calcium deficient hydroxyapatite as the resulting cement product. According to the findings, the cement setting occurred through the hydrolysis of Alpha-tricalcium phosphate powders and the formation of calcium deficient hydroxyapatite nanoflakes of approximately 500 nm in length. Finally, the cement acellular bioactivity experiment confirmed that the hydroxyapatite was formed on the outer surface of the cement during 14 days of immersion in the simulated body fluid.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2022.293011.1179>

URL: https://www.jamt.ir/article_158197.html

1. INTRODUCTION

One of the main reasons why calcium phosphates are used as the bone fillers and substitutes is to obtain a bone-like mineral composition and chemical affinity. Hydroxyapatite is an important mineral component in hard tissues such as teeth and bone. The synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications usually requires high temperatures. For this reason, the produced apatite is very crystalline and insoluble at physiological pH [1]. One solution to this problem is to use formulations that react at the room temperature to produce Calcium Deficient Hydroxyapatite (CDHA) products. Of note, α -TCP is an unstable phase under 1100 °C that dissolves in water or phosphate solutions and then precipitates as CDHA, which is known as a stable component compared to α -TCP. The CDHA formation at the room temperature allows it to be set by forming a network of entangled crystals [2, 3]. This property, along with other advantageous characteristics such as biocompatibility, workability, injectability, bioactivity, and resorbability, has made α -TCP cement a bone replacement material for hard tissue engineering [4]. Resorbability is considered a desirable characteristic of implantable materials. Calcium phosphate cements show low resorption in both passive and active methods. Passive resorption depends on the chemical

composition, porosity, and crystallinity of the hardened cement as well as the pH of cement surface and surrounding tissues interface [5]. Upon controlling the α -TCP characteristics using the synthesis method, its resorption rate can be improved. Different methods were used to prepare α -TCP powder, most of which are based on a solid-state reaction [3]. In this study, monophasic α -TCP powder was synthesized through the chemical precipitation-heat treatment process at low temperatures. The powder was then used to prepare the single-component α -TCP cement. The synthesis and physicochemical properties as well as the bioactivity of the cement were reported in this paper.

2. MATERIALS AND METHODS

In the first step, the α -TCP powder was synthesized using the chemical precipitation heat treatment method, as shown in Figure 1. Then, the single-component cement was prepared using the synthesized α -TCP powder with the liquid phase containing 2.5 % Na₂HPO₄. The cement was prepared by mixing the powder phase with the liquid phase at the P/L ratio of 2 g/ml to form a homogeneous paste. The phase composition and microstructure of the synthesized powder and its hydrated cement were analyzed through XRD, FTIR, and FE-SEM analyses. The setting times of

Please cite this article as: Jahandideh, R., Behnamghader, A. A., Hesaraki, S., "Synthesis and characterization of alpha-tricalcium phosphate and its single-component cement", *Journal of Advanced Materials and Technologies (JAMT)*, Vol. 11, No. 2, (2022), ??-??. (<https://doi.org/10.30501/jamt.2022.293011.1179>).



the cement were assessed using the Gillmore needles (ASTM C266-89) [6]. The porosity of the cement was measured using Archimedes' principle [7], and the compressive strength of the cylindrical cement sample was tested according to the ASTM standard F451 using a universal testing machine. Kokubo method [8] was

employed to investigate the in-vitro bioactivity via cement immersion in Simulated Body Fluid (SBF). The washout of the disc-shaped cement was determined by measuring the weight loss in a dynamic water environment [9].

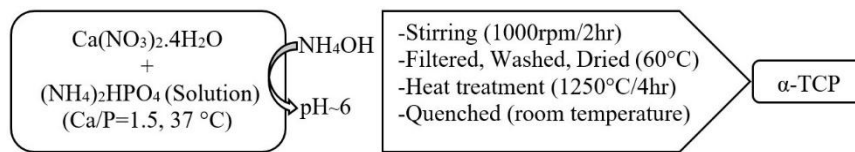


Figure 1. Synthesis flowchart of α -TCP powder

3. RESULTS AND DISCUSSION

Figure 2a illustrates the XRD pattern of the synthesized powder, thus confirming the formation of the monophasic α -TCP. The X-Ray Diffraction (XRD) and Fourier Transform Infrared (FTIR) experiments done on the cement confirmed the formation of high amounts of Calcium Deficient Hydroxyapatite (CDHA) (Figure 2b), indicating the conversion of α -TCP to CDHA. However, the peak related to the α -TCP powder was almost observed mainly due to the fact that the hydrolysis reaction was not complete, and a certain percentage of the remaining unhydrolyzed α -TCP was identified in the cement. This is completely natural from the point of view of the dissolution chemistry of raw materials, as reported by other researches [4]. The XRD pattern of the cement after 14 days of immersion in the

SBF conformed the formation of HA on the cement surface (Figure 2c). The intensity of the apatite peaks increased followed by their immersion in the SBF, compared to the apatite formed during the cement setting, thus confirming the re-formation of apatite on the cement surface during immersion in the SBF solution. Since the surface of the cement immersed in the SBF is covered by HA, the peaks corresponding to the remaining α -TCP powder cannot be; instead, HA can be observed as the dominant phase on the surface of the cement. Ginebra et al. also reported the complete conversion of α -TCP peaks to CDHA for the same cement mixture after 15 days of immersion in Ringer's solution [10]. It should be noted that the FTIR analysis also confirmed the phases identified by XRD among the chemical functional groups related to each phase.

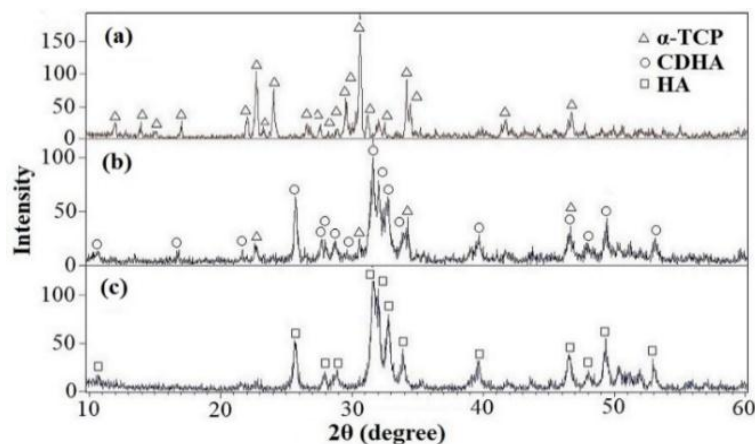


Figure 2. XRD patterns: α -TCP powder (a), cement (b), and cement after immersion in SBF (c)

The initial and final setting times of the cement sample were measured as 17 ± 1 and 35 ± 2 minutes, respectively, and its porosity percentage was calculated as 39.7 % according to the Archimedes' principle. The compressive strength of the cement sample was 21 ± 2 MPa. The cross-section surface morphology was investigated using FE-SEM observations (Figures 3a and 3b). The resulting cement product was found to be formed as the flake-like nanocrystals on the non-hydrolyzed α -TCP powder. According to the XRD experiments (Figure 2c) and results from the chemical cementation process, the nature of these flake-like nanocrystals was CDHA. In the set cement sample, the micrometer porosities with the size of about 2-4 μm were found in the region between particles. The setting

of the cement through the hydrolysis of α -TCP powders could result in the formation of CDHA nanoflakes of approximately 500 nm in length. The FE-SEM images of the cement after immersion in the SBF solution confirmed the presence of a biomimetic coating with a granular structure at low magnification (5 kx) and flake-like nanocrystals at high magnification (25 kx) (Figure 3c and 3d). The washout rate of the cement was measured by its weight loss after 3, 7, 14, and 21 days of immersion in the SBF. The cement maintained its cohesion and geometric dimensions without any significant physical degradation. The minor assessed washout could be correlated to the ion dissolution and release.

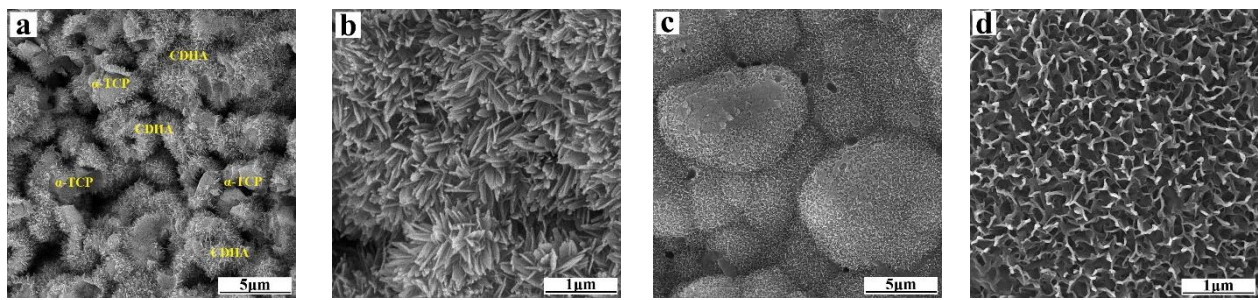


Figure 3. FE-SEM images of cement (a, b: before and c, d after immersion in SBF)

4. CONCLUSION

The method used in the chemical synthesis made it possible to obtain the α -TCP compound at a lower temperature and higher phase purity than those in other conventional itineraries. The single-component cement was prepared using synthesized α -TCP with a liquid phase containing 2.5 % Na_2HPO_4 . The XRD and FTIR experiments done on the cement sample confirmed the formation of great amounts of CDHA through the cementation process. Based on the porosity and mechanical strength values as well as the results from acellular bioactivity and washout experiments, it can be concluded that the single-component α -TCP cement prepared in this research work can be considered a suitable candidate for further cellular in-vitro experiment and in-vivo animal model trial.

5. ACKNOWLEDGEMENT

This research paper is part of a student thesis in Materials and Energy Research Center (MERC), MeshkinDasht, Alborz, Iran. We hereby thank all the colleagues of the organisation who helped us in carrying out this research work.

REFERENCES

- Almirall, A., Larrecq, G., Delgado, J. A., Martinez, S., Planell, J. A., Ginebra M. P., "Fabrication of low temperature macroporous hydroxyapatite scaffolds by foaming and hydrolysis of an α -TCP paste", *Biomaterials*, Vol. 25, No. 17, (2004), 3671-3680. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.066>
- Hideki, M., Takafumi, K., "The hydration of α -tricalcium phosphate", *Journal of the Ceramic Association*, Vol. 84, No. 968, (1976), 209-213. https://doi.org/10.2109/jcersj1950.84.968_209
- Carrodeguas, R. G., De Aza, S., " α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications", *Acta Biomaterialia*, Vol. 7, No. 10, (2011), 3536-3546. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.06.019>
- Dorozhkin, S. V., "Self-setting calcium orthophosphate formulations", *Journal of Functional Biomaterials*, Vol. 4, No. 4, (2013), 209-311. <https://doi.org/10.3390/jfb4040209>
- LeGeros, R. Z., Parsons, J. R., Daculsi, G., Driessens, F., Lee, D., Liu, S. T., Metsger, S., Peterson, D., Walker, M., "Significance of the porosity and physical chemistry of calcium phosphate ceramics", *Bioceramics: Material Characteristics Versus in Vivo Behavior*, Vol. 523, No. 1, (1988), 268-271. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb38519.x>
- American Society for Testing and Material (ASTM), "ASTM C266-89 A: Standard test method for time of setting of hydraulic-cement paste by gillmore needles", West Conshohocken, PA, (2004). Available at: <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/C266-04.htm>
- Xie, Y., Liu, J., Cai, Sh., Bao, X., Li, Q., Xu, G., "Setting characteristics and high compressive strength of an anti-washout, injectable calcium phosphate cement combined with thermosensitive hydrogel", *Materials*, Vol. 13, No. 24, (2020), 5779. <https://doi.org/10.3390/ma13245779>
- Kokubo, T., Takadama, H., "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity", *Biomaterials*, Vol. 27, No. 15, (2006), 2907-2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
- Chen, F., Song, Z., Liu, Ch., "Fast setting and anti-washout injectable calcium-magnesium phosphate cement for minimally invasive treatment of bone defects", *Journal of Materials Chemistry B*, Vol. 3, No. 47, (2015), 9173-9181. <https://doi.org/10.1039/c5tb01453k>
- Ginebra, M. P., Fernandez, E., De Maeyer, E. A. P., Verbeeck, R. M. H., Boltong, M. G., Ginebra, J., Driessens, F. C. M., Planell, J. A., "Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement", *Journal of Dental Research*, Vol. 76, No. 4, (1997), 905-912. <https://doi.org/10.1177/00220345970760041201>



مقاله کامل پژوهشی

سنتز آلفا-تری‌کلسیم فسفات و بررسی خصوصیات سیمان تک‌جزئی حاصل از آن

رحیم جهاننیده^۱، علی اصغر بهنام قادر^{۲*}، سعید حصارکی^۳^۱ دانشجوی دکتری، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران^۲ دانشیار، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران^۳ استاد، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران

تاریخچه مقاله:

ثبت اولیه: ۱۴۰۰/۰۴/۰۹

دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۰/۰۶/۰۴

پذیرش علمی: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳

کلیدواژه‌ها:

آلفا-تری‌کلسیم فسفات،

سنتز،

سیمان،

هیدروکسی‌آپاتیت با کمبود کلسیم

چکیده آلفا-تری‌کلسیم فسفات، به‌عنوان جزء پودری در فرآیند تهیه سیمان‌های کلسیم فسفاتی جهت بازسازی بافت سخت استفاده می‌شود. در این تحقیق، پودر مذکور از مواد اولیه نیترا کلسیم و دی‌آمونیم هیدروژن فسفات به روش رسوب‌دهی شیمیایی سنتز شد. پودر حاصل در ۱۲۵۰ درجه سلسیوس تحت عملیات حرارتی قرار گرفت و در دمای محیط به‌سرعت سرد شد. نتایج آزمون پراش اشعه ایکس (XRD) و طیف‌سنجی فرسرخ تبدیل فوریه (FTIR) پودر سنتز شده، تشکیل فاز آلفا-تری‌کلسیم فسفات بلوری و وجود گروه‌های شیمیایی P-O را تأیید کرد. سیمان تک‌جزئی با استفاده از پودر آلفا-تری‌کلسیم فسفات و فاز مایع حاوی ۲/۵ درصد دی‌سدیم هیدروژن فسفات تهیه شد. سیمان حاصل با زمان گیرش اولیه 1 ± 17 دقیقه، دارای استحکام فشاری 2 ± 21 مگاپاسکال بود. آزمایش‌های XRD و FTIR تشکیل مقدار زیادی هیدروکسی‌آپاتیت با کمبود کلسیم را به‌عنوان محصول سیمان تأیید کرد. طبق یافته‌ها، گیرش سیمان از طریق آب‌کافت پودرهای آلفا-تری‌کلسیم فسفات و تشکیل نانوفلس‌های هیدروکسی‌آپاتیت با کمبود کلسیم به طول تقریبی ۵۰۰ نانومتر اتفاق افتاده است. آزمایش زیست‌فعال، تشکیل هیدروکسی‌آپاتیت در سطح خارجی سیمان را طی ۱۴ روز غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن، نشان داد.

<https://doi.org/10.30501/jamt.2022.293011.1179>URL: https://www.jamt.ir/article_158197.html

۱- مقدمه

زیست‌شیمیایی^۲، به دمای بالا نیاز است و آپاتیت تولید شده بس‌بلور^۳ و در pH کاراندام‌شناختی^۴ نامحلول است [۱]. فرمول‌بندی‌هایی که در دمای اتاق واکنش گیرش دارند و محصول برایش^۵ (DCPD) یا هیدروکسی‌آپاتیت با کمبود کلسیم^۶ (CDHA) تولید می‌کنند، اولین بار توسط براون و چاو^۷ گزارش شدند [۲]. واکنش گیرش می‌تواند در اثر فعل و انفعالات اسید و بازی مواد کلسیم فسفاتی و یا آب‌پوشی^۸ تنها یک فاز

دستیابی به ترکیب معدنی که تمایل شیمیایی آن مشابه با استخوان باشد، یکی از دلایل استفاده از کلسیم فسفات‌ها به‌عنوان مواد پرکننده و جایگزین استخوان است. در میان کلسیم فسفات‌ها، هیدروکسی‌آپاتیت^۱ (HA) به دلیل شباهت استوکیومتری و ساختاری آن به استخوان، بیشتر از همه، مورد مطالعه قرار گرفته است. معمولاً برای تولید HA با کاربردهای

¹ Hydroxyapatite² Biochemical³ Polycrystal⁴ Physiological⁵ Dicalcium Phosphate Dihydrate⁶ Calcium Deficient Hydroxyapatite⁷ Brown & Chow⁸ Hydration

*عهده دار مکاتبات: علی اصغر بهنام قادر

نشانی: ایران، البرز، مشکین دشت، پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، تلفن: ۰۲۶-۳۶۲۸۰۰۴۰، دورنگار: ۰۲۶-۳۶۲۰۱۸۸۸

پیام‌نگار: a-behnamghader@merc.ac.ir

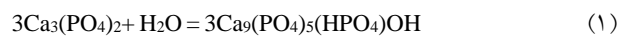
به‌وسیله فضاهای بین بلورک‌های درون کلوخه‌ها ایجاد می‌شود [۹]. سیمان با محصول CDHA به‌واسطه ترکیب شیمیایی و داشتن تخلخل دارای قابلیت بازجذب بهتری است [۷ و ۹]. روش‌های مختلفی برای تهیه پودر α -TCP مورد استفاده قرار می‌گیرند که اکثر آن‌ها بر پایه واکنش حالت جامدند [۴ و ۱۰]. روش سنتز به‌کار رفته در این تحقیق، ارزان، آسان و بدون نیاز به تجهیزات پیچیده است که در زمان و دمای عملیات حرارتی پایین‌تری در مقایسه با روش‌های حالت جامد انجام می‌شود. با این روش می‌توان پودر α -TCP تک‌فاز تهیه کرد. در این تحقیق α -TCP تک‌فاز تهیه‌شده، به‌عنوان فاز پودری سیمان تک‌جزئی استفاده شد و خصوصیات شیمی فیزیکی و زیست‌فعالی سیمان مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- روش تحقیق

۲-۱- تهیه پودر α -TCP

از روش رسوب‌دهی شیمیایی- عملیات حرارتی برای تهیه پودر α -TCP استفاده شد (شکل ۱). پودر نیترات کلسیم $[Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O \text{ Merck}]$ به‌آرامی به محلول آمونیوم هیدروژن فسفات $[(NH_4)_2HPO_4 \text{ Merck}]$ اضافه و برای تنظیم pH محلول NH_4OH به محتویات ظرف واکنش افزوده شد و ظرف حاوی مخلوط واکنش‌دهنده‌ها به مدت ۲ ساعت روی همزن قرار گرفت. رسوب حاصل با استفاده از صافی^۷ جداسازی، شستشو و خشک شد. پودر خشک شده در دمای ۱۲۵۰ درجه سلسیوس با نرخ حرارتی ۱۰ درجه سلسیوس بر دقیقه عملیات حرارتی شد و جهت جلوگیری از تغییرات فازی (تبدیل به β -TCP) به سرعت در دمای اتاق سرد شد. بررسی خصوصیات پودر سنتز شده با آزمون‌های پراش اشعه ایکس^۸ (XRD)، طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه^۹ (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی^{۱۰} (FE-SEM) و طیف‌سنجی پراکنده انرژی^{۱۱} EDS انجام شد.

اتفاق بیفتد. واکنش آب‌کافت^۱ آلفا-تری‌کلسیم فسفات^۲ (α -TCP) $(Ca_3(PO_4)_2)$ مطابق واکنش (۱) است.



α -TCP در زیر دمای ۱۱۰۰ سلسیوس یک فاز ناپایدار است؛ به‌همین دلیل هنگام قرارگیری در آب یا محلول‌های فسفاتی، حل شده و به‌صورت CDHA که کلسیم فسفات پایدارتری است، رسوب می‌کند. تشکیل CDHA در دمای اتاق اجازه می‌دهد تا سیمان از طریق ایجاد شبکه بلورهای سوزنی درهم‌پیچیده گیرش یابد [۳ و ۴]. این خصوصیت به‌همراه مزایای دیگر مانند زیست‌سازگاری، کارپذیری، تزریق‌پذیری، زیست‌فعالی و قابلیت بازجذب، سیمان‌های کلسیم فسفاتی α -TCP را به‌عنوان مواد پرکننده و جایگزین استخوان در زمینه مهندسی بافت مطرح کرده است [۵].

قابلیت بازجذب مواد قابل کاشت مهندسی بافت، ویژگی مطلوبی است. سیمان‌های α -TCP جزو مواد با قابلیت بازجذب هستند؛ با این‌وجود در بدن به‌دلیل وجود بافت استخوانی رشدیافته در اطراف کاشتنی و کاهش نفوذ به آن، میزان بازجذب بسیار کند است [۶]. سیمان‌های کلسیم فسفاتی در هر دو روش غیرفعال و فعال، بازجذب پایینی دارند. بازجذب غیرفعال، به ترکیب شیمیایی سیمان سخت‌شده، تخلخل، میزان تبلور و pH فاز میانی بین سطح سیمان و بافت‌های اطراف آن بستگی دارد [۷]. بازجذب فعال توسط سلول ایجاد می‌شود؛ فعالیت درشت‌خوارها^۳ یا استخوان‌کاه‌ها^۴ با ایجاد pH حدود ۵/۵، سرعت انحلال سطح سیمان را افزایش می‌دهد [۸].

با در نظر گرفتن موارد فوق، سیمان‌های α -TCP می‌توانند مواد مناسبی برای بازسازی استخوان‌ها باشند. سیمان‌های کلسیم فسفاتی به‌طور ذاتی متخلخل هستند. تخلخل آن‌ها نانو و میکرومتری است. تشکیل خوشه‌ها^۵ و کلوخه‌ها^۶ هنگامی که CDHA در اطراف ذرات α -TCP رسوب می‌کند، باعث ایجاد تخلخل میکرومتری می‌شود. از طرف دیگر، تخلخل نانومتری

⁷ Filter

⁸ X-Ray Diffraction

⁹ Fourier-Transform Infrared Spectroscopy

¹⁰ Field Emission Scanning Electron Microscope

¹¹ Energy Dispersive Spectroscopy

¹ Hydrolysis

² Alpha-Tricalcium Phosphate

³ Macrophages

⁴ Osteoclasts

⁵ Clusters

⁶ Agglomerates

زمان گیرش اولیه و نهایی نمونه سیمانی تهیه‌شده، براساس استاندارد ASTM^۴ C266-89 و با استفاده از روش سوزن‌های گیل‌مور^۵ اندازه‌گیری شد. این آزمایش سه بار تکرار شد. در این روش، آثار باقی‌مانده سوزن روی نمونه سیمانی به‌وسیله سوزن‌های مخصوص در دوره‌های متفاوت زمانی ارزیابی و در صورت باقی‌نماندن اثری از سوزن روی نمونه سیمانی، گیرش تأیید می‌شود [۱۱].

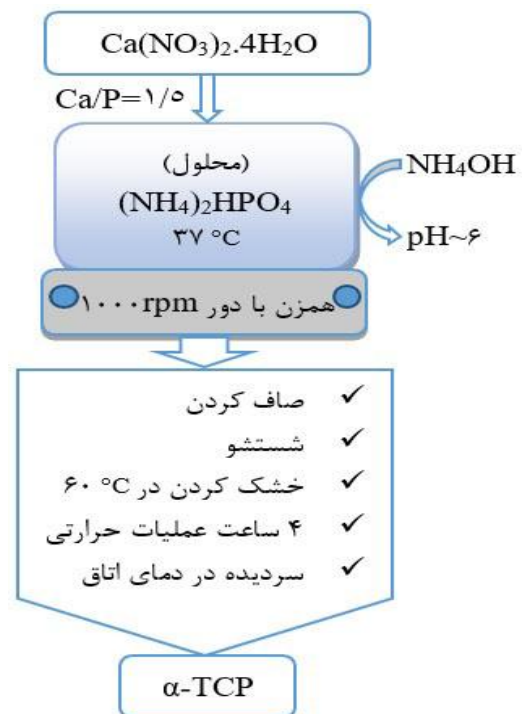
استحکام فشاری نمونه سیمانی تهیه‌شده براساس استاندارد (استوانه‌ای به ارتفاع ۱۸ و قطر ۹ میلی‌متر)، توسط دستگاه اندازه‌گیری استحکام فشاری با سرعت بارگذاری ۱ میلی‌متر بر دقیقه اندازه‌گیری شد. این آزمایش نیز سه بار تکرار شد.

برای ارزیابی زیست‌فعالی در شرایط آزمایشگاهی، سیمان در SBF غوطه‌ور شد و در داخل گرم‌خانه تکانشی^۶ در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۴ روز قرار گرفت. محلول SBF هر ۲۴ ساعت تعویض شد. بعد از ۱۴ روز نمونه به آرامی با آب غیر یونیزه شسته و در دمای اتاق خشک شد. ریخت‌شناسی سطح سیمان بعد از غوطه‌وری در SBF توسط میکروسکوپ FE-SEM مورد بررسی قرار گرفت [۱۲].

مقاومت به آب‌شویی نمونه سیمانی با اندازه‌گیری تغییرات کاهش وزن در داخل آب مقطر که هر ۲۴ ساعت عوض می‌شد، بررسی شد [۱۳]. دیسک سیمانی تهیه‌شده، قبل و بعد از غوطه‌وری در آب مقطر با دقت وزن و با توجه به معادله (۱)، درصد کاهش وزن ($W_L\%$) پس از زمان‌های غوطه‌وری ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز محاسبه شد. در این رابطه W_0 وزن اولیه نمونه و W_t وزن نمونه خشک‌شده بعد از غوطه‌وری در زمان‌های ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز است.

$$W_L\% = \left(\frac{W_0 - W_t}{W_0} \right) \times 100 \quad (1) \text{ معادله}$$

درصد تخلخل سیمان طبق اصل ارشمیدس محاسبه شد. نمونه سیمانی به مدت ۲ ساعت در تاون^۱ با دمای ۶۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و وزن نمونه خشک‌شده (W_{dry}) اندازه‌گیری شد. نمونه سیمانی به مدت ۲۴ ساعت در اتانول



شکل ۱. مراحل سنتز پودر α -TCP به روش رسوب‌دهی شیمیایی

۲-۲- تهیه سیمان

به‌منظور تهیه فاز پودری سیمان، پودر α -TCP سنتز شده، به مدت ۴ ساعت آسیاب و از الک ۶۰۰ مش عبور داده شد. فاز مایع با استفاده از محلول Na_2HPO_4 ۲/۵ درصد به‌عنوان شتاب‌دهنده گیرش تهیه شد. برای تهیه سیمان، پودر α -TCP و فاز مایع به نسبت $P/L=2$ مخلوط شدند. خمیر حاصل جهت انجام آزمون استحکام فشاری داخل قالب تفلونی استوانه‌ای شکل به ارتفاع ۱۸ و قطر ۹ میلی‌متر و نیز برای آزمون‌های زیست‌فعالی و مقاومت به آب‌شویی به‌شکل دیسک به قطر ۹ و ارتفاع ۴/۵ میلی‌متر قالب‌گیری شد. همه نمونه‌های حاصل جهت کامل شدن فرایند گیرش به مدت ۲۴ ساعت در داخل تاون^۱ با رطوبت ۱۰۰ درصد و دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

۳-۲- مشخصه‌یابی

تغییرات فازی و ریخت‌شناسی^۲ α -TCP سنتز شده و سیمان تهیه‌شده از α -TCP، قبل و بعد از غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن^۳ (SBF) توسط آزمون‌های XRD، FTIR، FE-SEM و EDS بررسی شدند.

^۴ American Society for Testing and Materials

^۵ Gillmore Needles

^۶ Shaker Incubator

^۱ Oven

^۲ Morphology

^۳ Simulated Body Fluid

کامل شدن واکنش گیرش، در الگوی پراش XRD قابل شناسایی است. باین وجود، پیک‌های مربوط به ماده اولیه سیمان (α -TCP) با شدت کمتر قابل مشاهده است که نشان می‌دهد واکنش آب‌کافت کامل نبوده و درصدی از α -TCP واکنش نکرده در محصول سیمان وجود دارد. این امر با نگاهی که شیمی انحلال مواد اولیه دارد، کاملاً طبیعی است و در سایر تحقیقات و محصولات تجاری نیز دیده می‌شود [۵]. شکل (۲-ج) الگوی XRD سیمان بعد از غوطه‌وری در SBF را نشان می‌دهد. تشکیل فاز هیدروکسی‌آپاتیت در سطح سیمان قابل شناسایی است. همچنین با پوشیده شدن سطح نمونه توسط HA، پیک‌های مربوط به ماده اولیه α -TCP قابل شناسایی نیست و فاز غالب در سطح نمونه سیمانی، HA است.

چین ابرا^۱ و همکارانش تبدیل کامل پیک‌های α -TCP به CDHA را برای ترکیب سیمانی مشابه، پس از ۱۵ روز غوطه‌وری در محلول رینگر^۲ گزارش کردند [۱۵]. گیرش و سفت شدن سیمان مربوط به واکنش هیدراتاسیون α -TCP ایجاد محصول CDHA است.

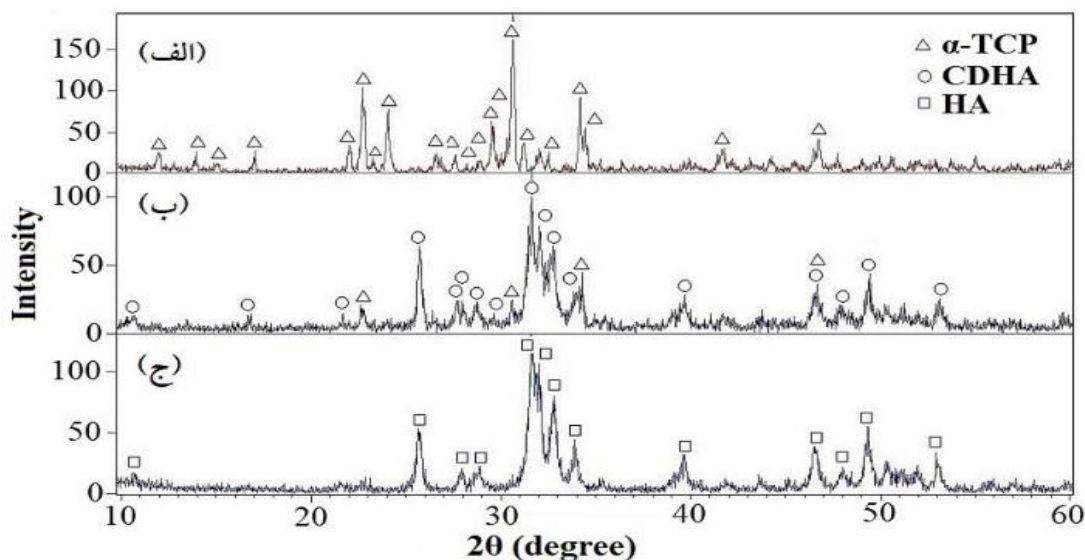
غوطه‌ور شد تا اتانول کاملاً به تخلخل‌ها نفوذ کند. نمونه از اتانول خارج شد و بعد از حذف اتانولی که در سطوح آن بود، وزن نمونه اشباع‌شده (W_{sat}) اندازه‌گیری شد. در مرحله آخر، وزن غوطه‌وری نمونه (W_{susp}) در اتانول توزین شد. تخلخل سیمان با استفاده از معادله (۲) محاسبه شد [۱۴].

$$\text{Porosity}(\%) = \frac{(W_{sat} - W_{dry})}{(W_{sat} - W_{susp})} \times 100 \quad \text{معادله (۲)}$$

۳- نتایج و بحث

۳-۱- پراش اشعه ایکس

شکل (۲-الف) الگوی پراش اشعه ایکس پودر سنتز شده را بعد از عملیات حرارتی نشان می‌دهد. این الگو تنها حضور فاز α -TCP را تأیید می‌کند و با الگوی پراش کارت (۰۰۹-۰۳۴۸) JCPDS مطابقت دارد. پیکی که نشان‌دهنده تشکیل سایر فازهای کلسیم فسفات‌های نظیر HA یا β -TCP باشد (که در اثر تبدیل فازی حین سرد کردن ایجاد می‌شوند)، مشاهده نمی‌شود. شکل (۲-ب) الگوی XRD محصول سیمانی ایجاد شده را نشان می‌دهد. تبدیل α -TCP به CDHA بعد از



شکل ۲. آزمون پراش اشعه ایکس، (الف) پودر α -TCP سنتز شده، (ب) سیمان، (ج) سیمان بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF

اجازه نفوذ سریع مایع از میان این لایه را بدهد. در این مرحله باید لایه CDHA، نازک، ناپیوسته یا نفوذپذیر به انتقال یون باشد. در مرحله دوم وقتی لایه CDHA ضخیم‌تر شد و به‌طور کامل سطح ذرات α -TCP را می‌پوشاند، سرعت نفوذ مایع از لایه

آب‌کافت α -TCP به‌طور عمده توسط دو سازوکار کنترل می‌شود. در مرحله اول، واکنش توسط سطح پودر α -TCP در تماس با مایع کنترل می‌شود و این تا زمانی ادامه دارد که لایه سطحی تشکیل شده CDHA در اطراف ذرات α -TCP اولیه،

² Ringer's Solution

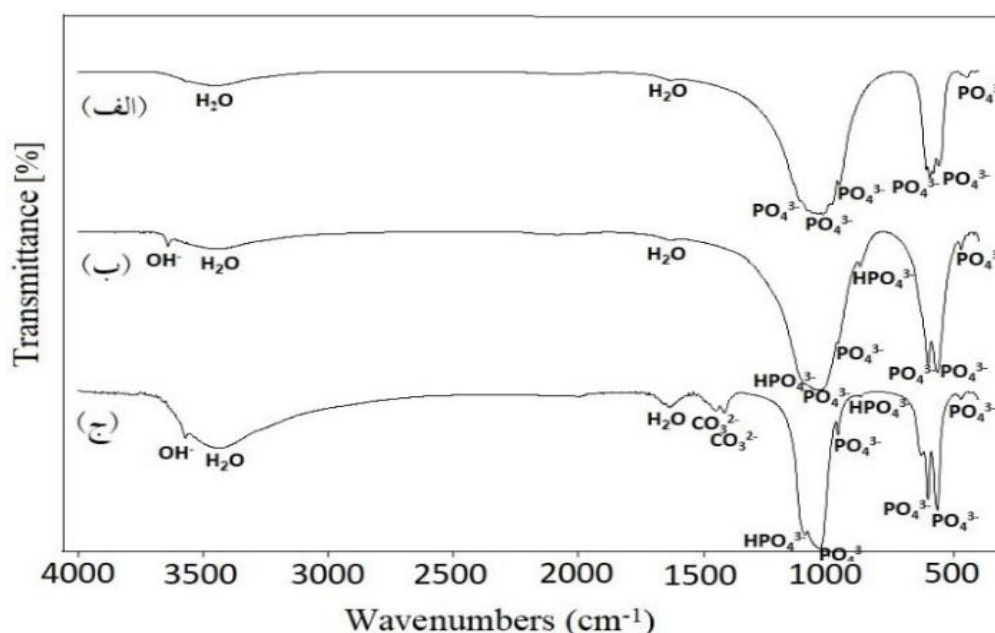
¹ Ginebra

به پیوند غیر هیدروژنی مد کششی OH^- و همچنین مدهای ارتعاشی P-O در محدوده $610-560 \text{ cm}^{-1}$ و $1100-1000 \text{ cm}^{-1}$ تأیید می‌شود [۱۷ و ۱۸]. شکل (۳-ج) طیف FTIR سیمان را بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF نشان می‌دهد. تشکیل فاز هیدروکسی‌آپاتیت کربناته در سطح سیمان قابل شناسایی است. در این طیف نوارهای جذبی مشخصه ساختار HA کربناته از طریق نوارهای جذبی مربوط به کربنات CO_3^{2-} در محدوده $1500-1400 \text{ cm}^{-1}$ قابل مشاهده است. وارد شدن یون کربنات در ساختار هیدروکسی‌آپاتیت تشکیل شده در SBF، به دلیل حضور یون‌های کربنات در محلول SBF است [۱۸-۲۰]. نوارهای جذبی مربوط به HPO_4^{2-} ، OH^- و P-O که در طیف CDHA مشاهده شد، در این نمونه نیز دیده می‌شوند. لازم به ذکر است که این نوارهای جذبی نشان‌دهنده ساختار آپاتیتی هستند.

CDHA ایجاد شده کمتر از سرعت انحلال α -TCP می‌شود. به این معنی که سازوکار نفوذ، واکنش آب‌کافت را کنترل می‌کند [۱۶].

۳-۲- طیف‌سنجی فرسرخ تبدیل فوریه

شکل (۳-الف) طیف FTIR پودر α -TCP سنتز شده را بعد از عملیات حرارتی نشان می‌دهد. در این طیف نوارهای جذبی مشخصه ساختار α -TCP از طریق دو نوار گسترده در $605-531 \text{ cm}^{-1}$ با مد خمشی نامتقارن P-O (ν_4) و $1076-944 \text{ cm}^{-1}$ با مد کششی نامتقارن P-O (ν_3)، تأیید می‌شود [۴ و ۱۷]. شکل (۳-ب) طیف FTIR سیمان را نشان می‌دهد. در این طیف مقادیر غالب ترکیب CDHA از طریق شناسایی نوارهای جذبی مربوط به HPO_4^{2-} در محدوده 1070 cm^{-1} و 1091 cm^{-1} نوار جذبی OH^- در محدوده 3570 cm^{-1} (مربوط



شکل ۳. آزمون FTIR، (الف) پودر α -TCP سنتز شده، (ب) سیمان، (ج) سیمان بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF

ایجاد می‌شوند.

۳-۳- اندازه‌گیری زمان گیرش و آزمون استحکام فشاری

زمان گیرش اولیه و نهایی اندازه‌گیری شده با سوزن گیل‌مور در نمونه سیمانی تهیه شده، به ترتیب 17 ± 1 و 35 ± 2 دقیقه بود. همچنین نمونه سیمانی تهیه شده دارای استحکام فشاری 21 ± 2 مگاپاسکال بود.

نوارهای جذبی اختصاصی α -TCP و HA در جدول (۱) خلاصه شده است. نوارهای مربوط به آب جذب شده از محیط در $3700-3000 \text{ cm}^{-1}$ و 1635 cm^{-1} در هر سه طیف مربوط به پودر α -TCP، محصول سیمانی CDHA و سیمان غوطه‌ور شده در SBF قابل مشاهده‌اند [۱۸]. HA کربناته و CDHA، ساختاری مشابه با HA دارند؛ با این تفاوت که CDHA در اثر کمبود کلسیم و HA کربناته در اثر جایگزینی یون کربنات در ساختار HA،

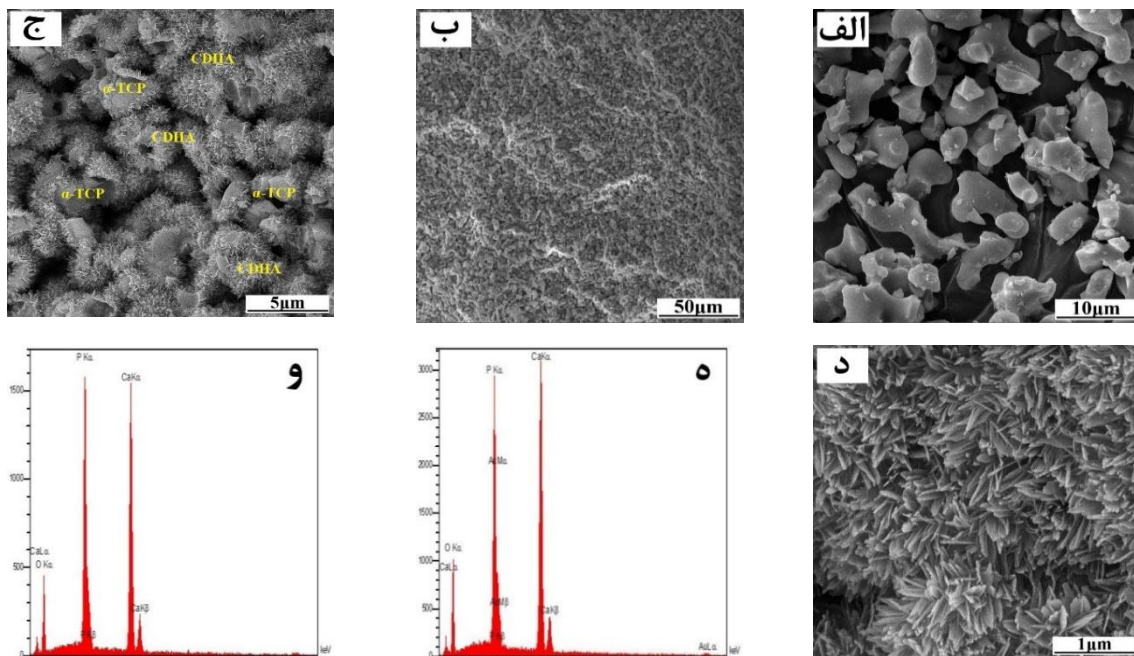
شکل (۴-الف) تصویر FE-SEM از پودر سنتز شده بعد

از عملیات حرارتی در دمای ۱۲۵۰ درجه سلسیوس که از الک ۶۰۰ مش عبور داده شده را نشان می‌دهد. اندازه تقریبی ذرات α -TCP تهیه شده به عنوان فاز پودری سیمان، زیر ۱۰ میکرومتر است. شکل (۴-ب) تصویر سطح خارجی سیمان است که ریخت‌شناسی یکنواخت سطح سیمان تشکیل شده را نشان می‌دهد. تصویر سطح مقطع شکست سیمان (شکل ۴-ج)، نشان می‌دهد که سطح ذرات α -TCP تا عمق معینی آب‌کافت شده و مغز واکنش نکرده، α -TCP باقی مانده است که با کنده شدن ذرات CDHA تشکیل شده روی آن، نمایان شده‌اند. تخلخل‌های میکرومتری با اندازه تقریبی ۲-۴ میکرومتر در فضای بین ذرات و تخلخل‌های نانومتری در فضاهای بین بلورک‌های CDHA تشکیل شده، قابل رؤیت‌اند. همان‌طور که در تصویر مشخص است، آب‌کافت در سطح ذرات α -TCP اتفاق افتاده و نانوفلس‌های CDHA را ایجاد می‌کند و درهم‌رفتگی این نانوفلس‌ها باعث گیرش سیمان می‌شود. طول تقریبی این نانوفلس‌ها ۵۰۰ نانومتر است که در شکل (۴-د) قابل مشاهده است.

جدول ۱. مدهای ارتعاشی ویژه α -TCP و HA [۱۵ و ۱۷]

بسامد ارتعاش (cm^{-1})		مد ارتعاشی
HA	α -TCP	
۹۶۳	۹۶۳	PO ₄ (v ₁)
۴۳۳	۴۶۲	PO ₄ (v ₂)
۱۰۲۹		PO ₄ (v ₃)
۱۰۳۴	۱۱۲۰	
۱۰۴۱	۱۱۰۰	
۱۰۴۸	۱۰۸۴	
۱۰۵۷	۱۰۲۵	
۱۰۶۴	۹۹۰	
۱۰۸۷		PO ₄ (v ₄)
۵۸۰	۵۹۷	
۵۹۱	۵۸۳	
۶۰۷	۵۷۲	
۶۱۴	۵۵۹	OH (v ₁)
۳۵۷۰	-	

۳-۴- میکروسکوپ الکترونی نشر میدان (FE-SEM) و EDS



شکل ۴. تصاویر FE-SEM، (الف) پودر α -TCP سنتز شده با بزرگنمایی ۵۰۰X، (ب) سطح خارجی سیمان با بزرگنمایی ۱۰۰۰X، (ج) مقطع شکست سیمان با بزرگنمایی ۱۰۰۰X، (د) نانوفلس‌های CDHA در مقطع شکست با بزرگنمایی ۱۰۰۰X، (ه) EDS سیمان و (و) EDS پودر α -TCP سنتز شده

می‌دهند. نسبت Ca/P در α -TCP برابر ۱/۵ و در CDHA در محدوده ۱/۶۷-۱/۵ قرار دارد. تعیین مقدار دقیق Ca/P با استفاده

نتایج آزمون EDS برای هر دو نمونه α -TCP سنتز شده و سیمان تهیه شده از آن، حضور عناصر کلسیم و فسفر را نشان

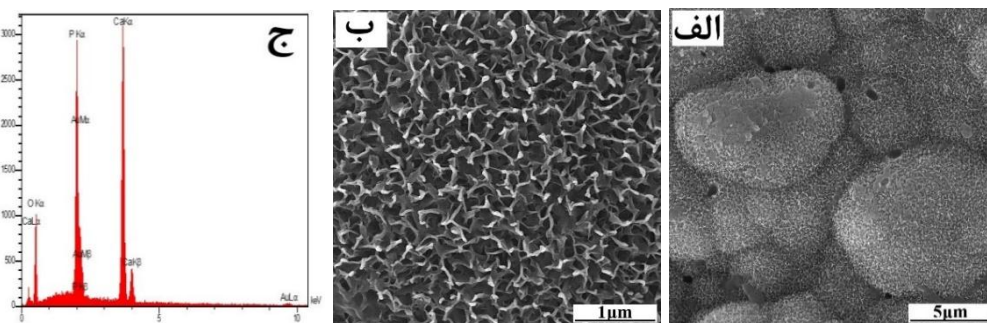
است. در شرایط کاراندام‌شناختی، یک لایه آپاتیت شبیه به استخوان رسوب می‌کند که بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF قابل تشخیص است [۱۲ و ۲۱].

شکل (۵-الف و ب)، تصاویر FE-SEM از سطح نمونه سیمانی را بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF نشان می‌دهد. ریخت‌شناسی سطح نشان می‌دهد که روی سطح سیمان به وسیله لایه‌ای از هیدروکسی‌آپاتیت پوشیده شده است که آزمون XRD نیز این موضوع را تأیید می‌کند. آزمون EDS حضور عناصر کلسیم و فسفر را نشان می‌دهد. در EDS دلیل کمتر بودن نسبت Ca/P از مقدار معمول برای HA کربناته تشکیل شده، هم‌پوشانی پیک‌های فسفر با پیک طلای پوشش داده‌شده روی نمونه است. در شکل (۵-ب) شبکه‌ای از بلورهای فلس مانند درهم‌تنیده یا صفحات گلبیگ مانند برای سیمان‌های کلسیم‌فسفات بر پایه α -TCP، پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF قابل مشاهده است.

از آزمون EDS به دلیل هم‌پوشانی پیک‌های مربوط به فسفر با عنصر طلا که به عنوان پوشش استفاده می‌شود، امکان‌پذیر نیست و به همین دلیل، نسبت Ca/P در منحنی‌های EDS برای α -TCP و CDHA کمتر از مقدار واقعی آن‌هاست. استفاده از نتایج EDS به صورت کیفی می‌تواند مفید باشد. با مقایسه کردن شدت پیک‌های مربوط به عناصر کلسیم و فسفر در دو نمونه α -TCP و CDHA به ترتیب در شکل‌های (۴-و) و (۴-ه)، مشخص می‌شود که با تشکیل CDHA، نسبت Ca/P در نمونه سیمانی افزایش یافته است. مقدار فسفر مورد نیاز برای این اتفاق می‌تواند از طریق محلول‌گیری Na_2HPO_4 ۲/۵ درصد تأمین شده باشد.

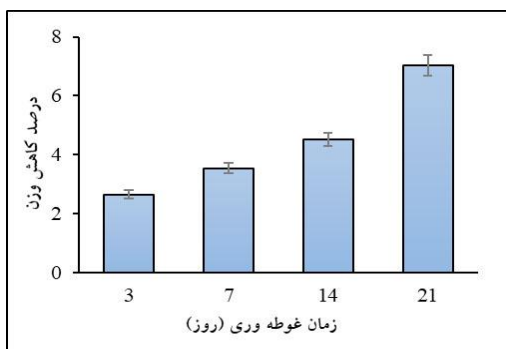
۳-۵- بررسی زیست‌فعالی در SBF

زیست‌فعال بودن مواد با تشکیل یک لایه سطحی از هیدروکسی‌آپاتیت پس از غوطه‌وری در SBF قابل‌شناسایی



شکل ۵. تصاویر FE-SEM سطح سیمان بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF، (الف) بزرگنمایی ۱۰KX، (ب) بزرگنمایی ۵۰KX، (ج) EDS سطح سیمان بعد از ۱۴ روز غوطه‌وری در SBF

سیمان مؤثر است. خاطر نشان می‌شود که این امر، جدای از تکمیل آپاتیت‌زایی آرام و طولانی‌مدتی است که در توده سیمان درون بدن رخ می‌دهد [۲۲ و ۲۳].



شکل ۶. منحنی مقاومت به آب‌شوئی سیمان بعد از غوطه‌وری در آب مقطر در زمان‌های مختلف

۳-۶- بررسی مقاومت به آب‌شوئی سیمان

نتایج مقاومت به آب‌شوئی نمونه‌ها در شکل (۶) آورده شده است. همان‌طور که منحنی نشان می‌دهد با افزایش زمان غوطه‌وری، میزان کاهش وزن بیشتر شده که بیشترین مقدار کاهش وزن تقریباً برابر با ۷ درصد، بعد از ۲۱ روز بوده است. منحنی نشان می‌دهد که رابطه آب‌شوئی با زمان برای سیمان مورد مطالعه به صورت خطی نیست. نتایج تغییرات کاهش وزن بعد از ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز غوطه‌وری در آب مقطر، نشان می‌دهد که نمونه سیمانی، انسجام و ابعاد هندسی خود را پس از غوطه‌وری حفظ می‌کند و تخریب فیزیکی قابل ملاحظه‌ای مشاهده نمی‌شود. کاهش وزن، بیشتر مربوط به انحلال و رهایش یونی از سیمان موردنظر است که بر ایجاد لایه آپاتیتی روی

۳-۷- محاسبه درصد تخلخل سیمان

سیمان با محلول)، میزان انحلال و رهائش یونی را افزایش می‌دهد. بررسی زیست‌فعالی نمونه سیمانی در محیط SBF، تشکیل هیدروکسی‌آپاتیت روی نمونه سیمانی را نشان می‌دهد. این آزمایش در زمره آزمایش‌های زیست‌فعالی سیستم‌های مهندسی بافت استخوان، طبقه‌بندی می‌شود. البته در گام‌های بعدی، آزمایش‌های سلولی و مدل‌های حیوانی برای تکمیل اطلاعات زیست‌فعالی مورد نیاز است.

درصد تخلخل نمونه سیمانی طبق اصل ارشمیدس با استفاده از معادله (۲)، $39/7$ درصد محاسبه شد. همچنین پردازش تصاویر میکروسکوپی سیمان در بزرگنمایی ۱، ۱۰ و $50 \times$ به ترتیب مقدار تخلخل $36/9$ ، $38/8$ و $39/2$ درصد را نشان می‌دهد. درصد تخلخل با افزایش بزرگنمایی اندکی افزایش پیدا کرده است که دلیل آن لحاظ شدن تخلخل‌های ریزتر در تخلخل کل سیمان است.

۵- سپاسگزاری

این مقاله، حاصل بخشی از پایان‌نامه مصوب دانشجویی در مقطع دکتری است که با حمایت پژوهشگاه مواد و انرژی اجرا شده است. بدین‌وسیله از کلیه همکاران سازمان که در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

۴- نتیجه‌گیری

نوآوری انجام‌شده در فرایند سنتز شیمیایی باعث شد تا ترکیب α -TCP در دمای کمتر و با خلوص فازی بیشتری نسبت به روش‌های متداول تهیه شود. این ترکیب به‌عنوان ماده اولیه در تهیه سیمان تک‌جزیی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همان‌طور که نتایج XRD، FTIR و FE-SEM نشان می‌دهد گیرش در اثر آب‌کافت α -TCP و تبدیل آن به نانوفلس‌های CDHA و درهم‌رفتگی و قفل شدن مکانیکی آن‌ها اتفاق می‌افتد. رشد بلورهای CDHA باعث تقویت استحکام فشاری شده است. آب‌شوئی سیمان‌های کلسیم فسفاتی هم در داخل بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی بسیار کند است و سیمان‌های کلسیم فسفاتی در نتیجه آب‌کافت α -TCP و تشکیل CDHA در سطح نمونه، معمولاً افزایش توده‌ای را پس از زمان طولانی خیساندن تجربه می‌کنند. با توجه به حالیت بیشتر α -TCP در مقایسه با CDHA، تشکیل CDHA بر سطح سیمان در محیط آبی می‌تواند انحلال α -TCP را کاهش دهد.

مراجع

- Almirall, A., Larrecq, G., Delgado, J. A., Martinez, S., Planell, J. A., Ginebra M. P., "Fabrication of low temperature macroporous hydroxyapatite scaffolds by foaming and hydrolysis of an α -TCP paste", *Biomaterials*, Vol. 25, No. 17, (2004), 3671-3680. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.066>
- Brown, W. E., Chow, L.C., "Dental resorative cement pastes", U.S. Patent 4518430 A, (1985). <https://www.freepatentsonline.com/4518430.html>
- Hideki, M., Takafumi, K., "The hydration of α -tricalcium phosphate", *Journal of the Ceramic Association*, Vol. 84, No. 968, (1976), 209-213. https://doi.org/10.2109/jcersj1950.84.968_209
- Carrodeguas, R. G., De Aza, S., " α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications", *Acta Biomaterialia*, Vol. 7, No. 10, (2011), 3536-3546. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.06.019>
- Dorozhkin, S. V., "Self-setting calcium orthophosphate formulations", *Journal of Functional Biomaterials*, Vol. 4, No. 4, (2013), 209-311. <https://doi.org/10.3390/jfb4040209>
- Valle, S., Mino, N., Munoz, F., Gonzalez, A., Planell, J. A., Ginebra, M. P., "In vivo evaluation of an injectable macroporous calcium phosphate Cement", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 18, (2007), 353-361. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0700-y>
- LeGeros, R. Z., Parsons, J. R., Daculsi, G., Driessens, F., Lee, D., Liu, S. T., Metsger, S., Peterson, D., Walker, M., "Significance of the porosity and physical chemistry of calcium phosphate ceramics", *Bioceramics: Material Characteristics Versus in Vivo Behavior*, Vol. 523, No. 1, (1988), 268-271. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb38519.x>
- Shimazaki, K., Mooney, V., "Comparative study of porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate as bone substitute", *Journal of Orthopaedic Research*, Vol. 3, No. 3, (1985), 301-310. <https://doi.org/10.1002/jor.1100030306>
- Montufar, E. B., Traykova, T., Gil, C., Harr, I., Almirall, A., Aguirre, A., Engel, E., Planell, J. A., Ginebra, M. P., "Foamed surfactant solution as a template for self-setting injectable hydroxyapatite scaffolds for bone regeneration", *Acta Biomaterialia*, Vol. 6, No. 3, (2010), 876-885. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.10.018>
- Asadi Tabrizi, R., Zamanian, A., Hesaraki, S., "Effects of time, temperature and precursor on solid state synthesis of α -TCP",

واکنش سیمان گیرش‌یافته در محیط آبی شامل انحلال محصول سیمانی CDHA و α -TCP باقی‌مانده است. لازم به ذکر است که آب‌کافت α -TCP باقی‌مانده می‌تواند منجر به رسوب مجدد CDHA شود. نتایج مقاومت به آب‌شوئی نشان می‌دهد که انحلال α -TCP و CDHA، از مقدار CDHA که ممکن است مجدداً در محیط آبی رسوب کند، بیشتر است؛ بنابراین، وزن نمونه سیمانی بعد از غوطه‌وری در زمان‌های مختلف، مقداری کاهش نشان می‌دهد. با توجه به این‌که انسجام و ابعاد هندسی نمونه سیمانی پس از غوطه‌وری حفظ می‌شود؛ بنابراین کاهش وزن بیشتر مربوط به انحلال و رهائش یونی از سیمان موردنظر است. تخلخل موجود در سیمان (به دلیل افزایش سطح تماس

- Bandyopadhyay, A., Bose, S., (ed.), Academic Press, (2013), 11-47. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415800-9.00002-4>
18. Berzina-Cimdina, L., Borodajenko, N., "Research of calcium phosphates using fourier transform infrared spectroscopy", Theophile, T., *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*, IntechOpen, (2012), 123-148. <https://doi.org/10.5772/36942>
 19. Ramanan, S. R., Venkatesh, R., "A study of hydroxyapatite fibers prepared via sol-gel route", *Materials Letters*, Vol. 58, No. 26, (2004), 3320-3323. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2004.06.030>
 20. Montel, G., Bonel, G., Heughebaert, J. C., Trombe, J. C., Rey, C., "New concepts in the composition, crystallization and growth of the mineral component of calcified tissues", *Journal of Crystal Growth*, Vol. 53, No. 1, (1981), 74-99. [https://doi.org/10.1016/0022-0248\(81\)90057-9](https://doi.org/10.1016/0022-0248(81)90057-9)
 21. Gil, F. J., Padro's, A., Manero, J. M., Aparicio, C., Nilsson, M., Planell, J. A., "Growth of bioactive surfaces on titanium and its alloys for orthopaedic and dental implants", *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 22, No. 1, (2002), 53-60. [https://doi.org/10.1016/S0928-4931\(01\)00389-7](https://doi.org/10.1016/S0928-4931(01)00389-7)
 22. Feng, B., Guolin, M., Yuan, Y., Changshen, L., Zhen, W., Jian, L., "Role of macropore size in the mechanical properties and in vitro degradation of porous calcium phosphate cements", *Materials Letters*, Vol. 64, No. 18, (2010), 2028-2031. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.06.008>
 23. Lu, J., Descamps, M., Dejoui, J., Koubi, G., Hardouin, P., Lematre, J., Proust, J. P., "The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone", *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 63, No. 4, (2002), 408-412. <https://doi.org/10.1002/jbm.10259>
 11. American Society for Testing and Material (ASTM), "ASTM C266-89 A: Standard test method for time of setting of hydraulic-cement paste by gillmore needles", West Conshohocken, PA, (2004). Available at: <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/C266-04.htm>
 12. Kokubo, T., Takadama, H., "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity", *Biomaterials*, Vol. 27, No. 15, (2006), 2907-2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
 13. Chen, F., Song, Z., Liu, Ch., "Fast setting and anti-washout injectable calcium-magnesium phosphate cement for minimally invasive treatment of bone defects", *Journal of Materials Chemistry B*, Vol. 3, No. 47, (2015), 9173-9181. <https://doi.org/10.1039/c5tb01453k>
 14. Xie, Y., Liu, J., Cai, Sh., Bao, X., Li, Q., Xu, G., "Setting characteristics and high compressive strength of an anti-washout, injectable calcium phosphate cement combined with thermosensitive hydrogel", *Materials*, Vol. 13, No. 24, (2020), 5779. <https://doi.org/10.3390/ma13245779>
 15. Ginebra, M. P., Fernandez, E., De Maeyer, E. A. P., Verbeeck, R. M. H., Boltong, M. G., Ginebra, J., Driessens, F. C. M., Planell, J. A., "Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement", *Journal of Dental Research*, Vol. 76, No. 4, (1997), 905-912. <https://doi.org/10.1177/00220345970760041201>
 16. Ginebra, M. P., Fernandez, E., Driessens, F. C. M., Planell, J. A., "Modeling of the hydrolysis of α -tricalcium phosphate", *Journal of the American Ceramic Society*, Vol. 82, No. 10, (1999), 2808-2812. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1999.tb02160.x>
 17. Sampath Kumar, T. S., "Physical and chemical characterization of biomaterials", *Characterization of Biomaterials*, *Advanced Ceramics Progress*, Vol. 1, No. 1, (2015) 36-39. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=458574>