

بررسی تاثیر مقدار فلئور آپاتیت بر روی خواص و رفتار *In vitro* نانوکامپوزیت‌های فلئور- هیدروکسی آپاتیت تهیه شده به روش سل- ژل

بابک فرساذاده^{۱*}، علی اصغر بهنام‌قادر^۲ و مرتضی دلیری^۳

- ۱- دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
- ۲- پژوهشکده سرامیک، پژوهشگاه مواد و انرژی
- ۳- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۷/۱۲/۱۲، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۸/۰۳/۳۱، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۸/۰۴/۱۵

چکیده

پودرهای هیدروکسی آپاتیت (HA)، فلئور- هیدروکسی آپاتیت (FHA) و فلئور آپاتیت (FA) در ابعاد نانومتری با روش سل- ژل سنتز شدند. تغییرات ساختاری، مورفولوژی پودر، آنالیز فازی و همچنین رفتار *In vitro* پودرها مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج XRD و SAED، با افزایش درصد فاز FA، درجه بلورینگی و زتاسایزر بیانگر آن است که با افزایش میزان فلئور، تمایل به آگلومره شدن پودر تشکیل FHA یا FA خالص است. مطالعات SEM و زتاسایزر بیانگر آن است که با افزایش میزان فلئور، تمایل به آگلومره شدن پودر بیشتر شده است. مشاهدات مستقیم TEM نشان داده که اندازه بلورک‌ها در محدوده ۲۰ تا ۵۰ نانومتر می‌باشد. در نمونه‌های FA، نسبت به HA تعداد سلول‌ها در آزمایش کشت سلول‌های فیبروبلاست افزایش یافته است. این امر بیانگر اثر مثبت افزودن فلئور بر زیست‌سازگاری پودر FHA می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: هیدروکسی آپاتیت، فلئور هیدروکسی آپاتیت، فلئور آپاتیت، نانوکامپوزیت، سل- ژل.

۱- مقدمه

بنابراین، تحریک زیست‌فعالی، رشد استخوان و اثرات درمانی را می‌توان به این شباهت نسبت داد [۳]؛ ولی با توجه به خواص مکانیکی ضعیف بدنه‌های HA، این ماده فقط در محل‌هایی استفاده می‌شود که متحمل نیرو نباشد. جذب و تجزیه HA ممکن است بر روی عمر و قابلیت

ترکیبات کلسیم فسفاتی از جمله هیدروکسی آپاتیت $(HA, Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ ، به دلیل شباهت با بافت سخت بدن انسان، به طور گسترده‌ای به عنوان کاشتنی و مواد ترمیم‌کننده در استخوان و دندان کاربرد دارند [۱،۲].

* عهده‌دار مکاتبات: بابک فرساذاده

محلول حاوی کلسیم به صورت قطره قطره به محلول حاوی فسفر اضافه گردید ($Ca/P = 1.67$) و سل حاصل به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط و ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد پیروسی شد. پس از خشک کردن نمونه‌ها در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد، عملیات حرارتی نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد در هوا انجام شد. مشخصات نمونه‌های تهیه شده در این تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: نمونه پودرهای سنتز شده بر حسب نسبت فلوئور به فسفر.

نمونه	نسبت فلوئور به فسفر (F/P)	ترکیب
HA	۰	100% HA
HA-25FA	۱/۱۲	75%HA,25%FA
HA-50FA	۱/۶	50%HA,50%FA
HA-75FA	۱/۴	25%HA,75%FA
FA	۱/۳	100% FA

نمونه‌های HA-75FA، HA-50FA، HA-25FA و FA با انحلال پیش‌ماده آمونیوم فلوراید (NH_4F ; Merck) در اتانول بر اساس نسبت استوکیومتری فلوئور به فسفر (F/P) تهیه شدند. نسبت F:P در این نمونه‌ها به ترتیب ۱:۱۲، ۱:۶، ۱:۴ و ۱:۳ در نظر گرفته شد. شکل ۱ مراحل تهیه پودر را نشان می‌دهد.

تغییرات ساختاری پودرهای HA، FHA و FA با استفاده از آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR, Bruker, Vector 33, German) و در محدوده طیف $4000 - 500$ cm^{-1} بررسی شدند.

تغییرات فازی پودرها نیز با استفاده از آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD, Siemens, D500, German) مورد ارزیابی قرار گرفتند و از طول موج اشعه ایکس $CuK\alpha$ برابر با 1.54056 \AA با سرعت زاویه‌ای دو درجه سانتیگراد بر دقیقه استفاده گردید.

درجه بلوری پودر (X_c) نیز بر اساس نتایج XRD و با استفاده از فرمول ۱ به دست آمد [۱۸]:

$$X_c = 1 - (V_{112/300}/I_{300}) \quad (1)$$

اطمینان مواد کاشتنی تاثیر بگذارند و در نهایت منجر به شکست آن‌ها شود [۳].

زمانی که یون فلوئور وارد ساختار هیدروکسی‌آپاتیت می‌شود، با جانشینی F^- با OH^- ترکیباتی نظیر فلوئور هیدروکسی‌آپاتیت ($FHA, Ca_{10}(PO_4)_6(OH, F)$) و فلوئورآپاتیت ($FA, Ca_{10}(PO_4)_6(F)_2$) بدست می‌آید. یون F^- فرآیند کانی‌شدن و بلوری‌شدن کلسیم‌فسفات را در فرآیند تشکیل استخوان تشویق نموده [۴،۵] و پایداری شیمیایی آن را افزایش می‌دهد [۶].

با وجود مزایای زیاد FA و FHA، تحقیقات کمی در مورد بررسی ویژگی‌های ساختاری، فازی و زیست‌سازگاری آن‌ها صورت گرفته است [۷-۱۰]. بیشتر تحقیقات بر روی امکان تهیه پودرهای FA با روش‌های رسوبی و یا فیلم‌های FA با روش‌های اسپری حرارتی انجام شده است [۱۱-۱۳].

سنتز پودر HA در سال‌های اخیر با روش‌های مختلفی چون هیدروترمال، هم‌رسوبی، سل-ژل و ... انجام شده است [۱۴-۱۷]. در بین این روش‌ها، سل-ژل از مزایای زیادی چون خلوص زیاد، ترکیب همگن، اندازه ذرات کوچکتر محصول و دمای سنتز کم نسبت به روش‌های دیگر برخوردار است.

در این تحقیق پودرهای HA، FHA و FA به روش سل-ژل و با بکارگیری مقادیر متفاوت فلوئور تهیه و تغییرات ساختاری، مورفولوژی پودر، تغییرات شیمیایی و آنالیز فازی و همچنین رفتار *In vitro* پودر توسط طیف‌سنجی مادون قرمز FT-IR، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD)، دستگاه زتاسایزر و آزمایش کشت سلولی مورد بررسی قرار گرفت.

۲- فعالیت‌های تجربی

جهت تهیه پودر HA ابتدا تری‌اتیل‌فسفیت ($(C_2H_5O)_3P$; Merck) در اتانول و مقدار کمی آب مقطر هیدرولیز شد. در ظرف جداگانه‌ای نیز نترات کلسیم آبدار ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$; Merck) در اتانول حل و سپس محلول‌های حاصل با سرعت ۱۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۲۴ ساعت هم‌زده شدند.

جهت بررسی ریزساختار و مورفولوژی پودرهای سنتز شده از میکروسکوپ الکترونی عبوری و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, XL30, Philips, Holland) استفاده شد و تصاویر هر یک از آنها در بزرگنمایی‌های مختلف گرفته شد.

در نهایت جهت بررسی رفتار *In vitro* از سلول‌های فیبروبلاست L929 موش به منظور کشت بر روی پودر حاصله استفاده شد. سلول‌ها به مدت ۴ روز بر روی پودرها در پلیت‌هایی از جنس پلی‌استایرن کشت داده شدند. محیط کشت شامل RPMI-1640+10% Fetal Bovine serum+50 mg/ml Streptomycin+50 IU/ml Penicillin با انتخاب شد و از میکروسکوپ معکوس (Invert) با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر برای مشاهده و بررسی سلول‌ها استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییرات فازی

تغییرات فازی پودرهای HA، FHA و FA کلسینه شده در دمای ۵۵۰°C توسط آنالیز XRD مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۲). در همه نمونه‌ها پیک‌های اصلی فاز آپاتیت مربوط به صفحات (۲۱۱)، (۰۰۲) و (۳۰۰) هستند، به وضوح دیده می‌شوند.

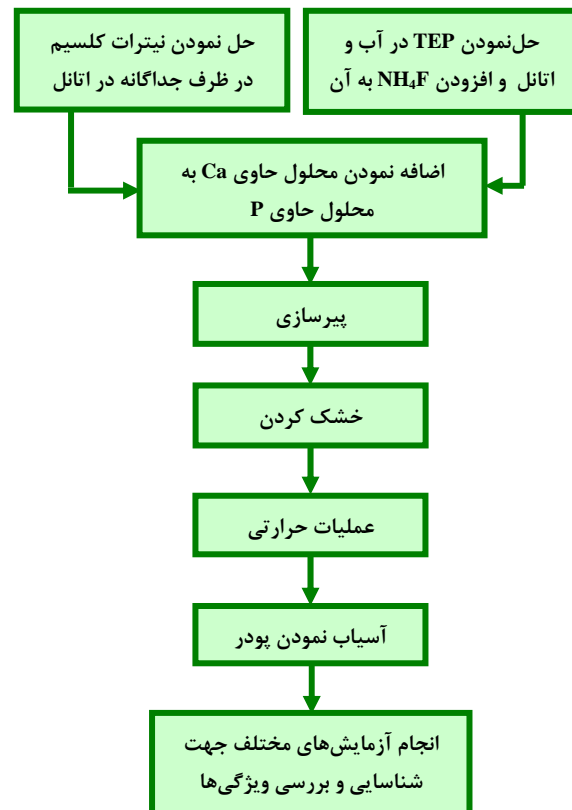
به دلیل تشابه زیاد ساختار کریستالوگرافی و ابعاد واحد شبکه، تمام پیک‌های HA و FA به طور دقیق قابل تمیز از یکدیگر نیستند [۱]. طیف‌های XRD نشان می‌دهند که در تمامی نمونه‌ها، علاوه بر فازهای فلئورآپاتیت و هیدروکسی‌آپاتیت، اکسید کلسیم نیز تشکیل شده است. در جدول ۲ مقدار فازهای فلئورآپاتیت و هیدروکسی‌آپاتیت نمونه‌ها محاسبه شده مقایسه شده‌اند. همان‌طور که مشخص است پیک‌های ویژه فلئورآپاتیت با افزایش مقدار فلئور افزایش یافته است.

اندازه بلورک‌های محاسبه شده (X_s) با استفاده از فرمول Scherrer (معادله ۲) نیز در جدول ۲ آورده شده است. هر چند که این محاسبه تقریبی می‌باشد ولی همان‌طور که در این جدول آمده است، اندازه بلورک‌ها با افزایش میزان فلئور به سمت فلئور هیدروکسی‌آپاتیت و فلئورآپاتیت تا اندازه‌ای بزرگتر می‌شود.

که در این رابطه، X_s درجه بلوری پودر، $V_{112/300}$ شدت عمق بین پیک‌های پراش (۱۱۲) و (۳۰۰) و I_{300} شدت پیک (۳۰۰) است.

اندازه بلورک‌ها و ذرات آپاتیت با روش‌های زیر مطالعه شد: - محاسبه تقریبی با استفاده از رابطه Scherrer (فرمول ۲) [۱۹]:

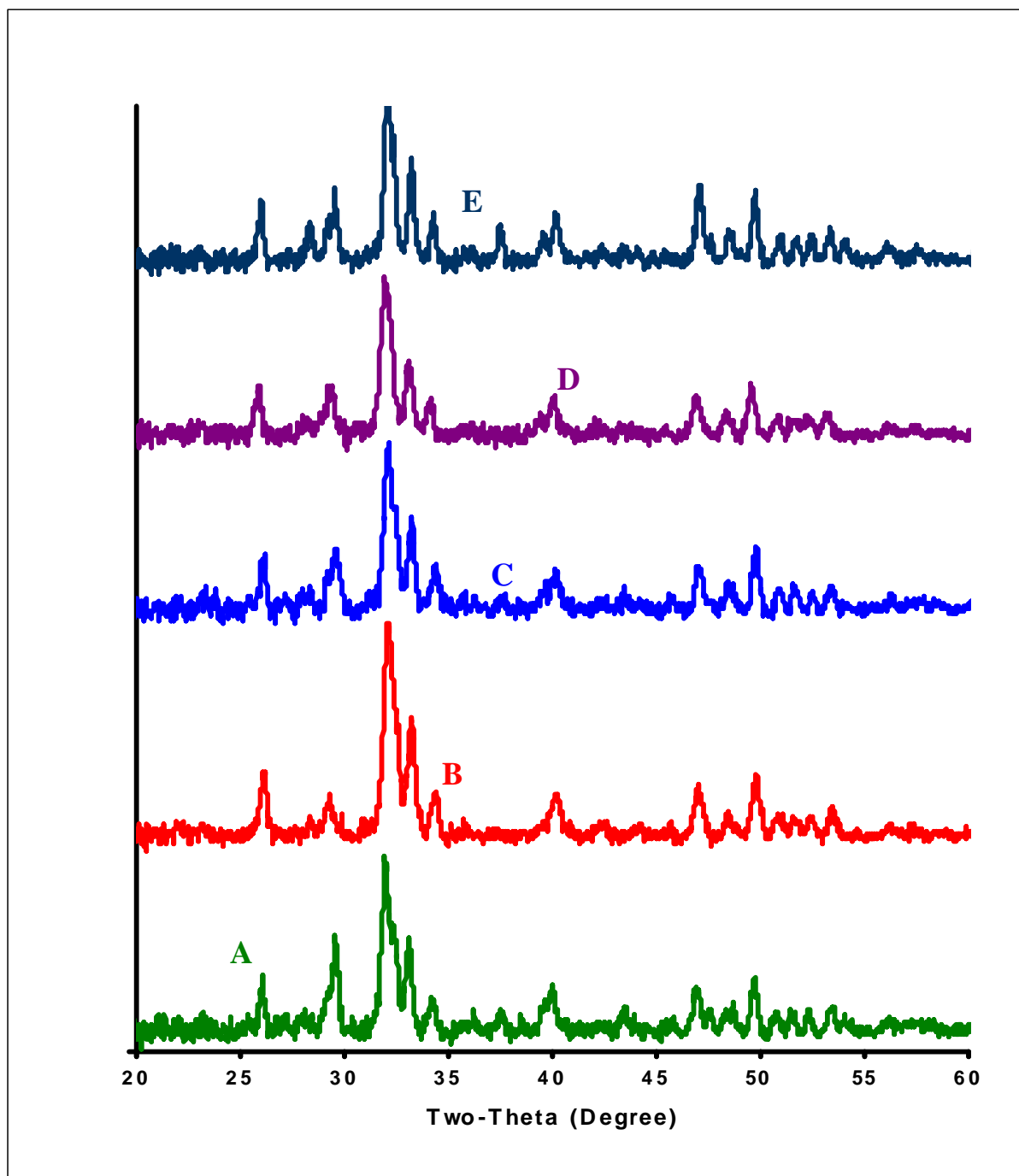
$$X_s = 0.9 \lambda / FWHM \cdot \cos\theta \quad (2)$$



شکل ۱: دیاگرام تهیه پودر فلئور هیدروکسی‌آپاتیت به روش سل-ژل.

در این رابطه X_s اندازه بلورک در مقیاس نانومتر، K فاکتور شکل برابر با ۰/۹، λ طول موج اشعه ایکس مساوی ۰/۱۵۴۰۵۱ نانومتر، θ زاویه براگ مربوط به پیک ناشی از پراش بر حسب درجه و FWHM نیز عرض پیک پراش در نصف ارتفاع مربوط به نمونه بر حسب رادیان می‌باشد.

- بررسی مستقیم با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM, Philips, CM200FEG)
- سنجش اندازه ذرات پخش شده در شرایط عملکرد دستگاه زتاسایزر (zetasizer, Malvern Instrument Co, 3000 HAS)



شکل ۲: منحنی‌های پراش اشعه ایکس نمونه‌های: (A) HA، (B) HA-25FA، (C) HA-50FA، (D) HA-75FA و (E) FA.

محور c در ساختار آپاتیتی که از مقدار یون فلوئور بیشتری برخوردار است در مقالات دیگری نیز گزارش شده است [۱۰، ۱۹، ۲۳].

درجه بلوری هر یک از نمونه‌ها نیز با استفاده از فرمول ۱ محاسبه شد که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان فلوئور و متعاقباً درصد فلوئور آپاتیت، درجه بلوری نیز افزایش

جانشینی F^- با OH^- باعث انقباض و فشردگی در اندازه محور a کریستالوگرافی شده ولی تغییر قابل توجهی را در اندازه محور c به همراه ندارد [۸، ۲۰، ۲۱]. در تحقیقات مشابهی نیز نشان داده شده است که در نمونه FA خالص با نسبت فسفر به فلوئور برابر ۳، اندازه محور a از ۹/۴۲ آنگستروم در HA خالص به ۹/۳۷ آنگستروم کاهش می‌یابد [۲۱، ۲۲]. افزایش درجه کریستالی بویژه در جهت

تشکیل باند OH-F (پیوند غیر هیدروژنی مد کششی OH) است که نشان دهنده نفوذ یون F به داخل شبکه آپاتیت است. همچنین پیک 1635 cm^{-1} مربوط به مد خمشی آب می باشد که با افزایش میزان فلئوئور کوچک تر و ضعیف تر می شود. همچنین پیک مربوط به OH آپاتیت در 627 cm^{-1} در HA خالص به وضوح مشخص است که به تدریج با افزایش F در ساختار آپاتیت در نمونه های FHA تقریباً محو شده و در FA کاملاً از بین رفته است. براساس نتایج تحقیقات Rodrigo [۲۵]، اختلاف اصلی بین هیدروکسی آپاتیت و فلئور آپاتیت در محدوده 3650 cm^{-1} - 3500 cm^{-1} می باشد و نیز، پیک 3570 cm^{-1} در نمونه HA خالص مربوط به باند ν_1 OH هیدروکسی آپاتیت می باشد. مشاهده دقیق طیف نشان می دهد پیک هایی در حدود 1400 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} دیده می شوند که مربوط به گروه کربنات ها می باشند. به نظر می رسد که به سمت HA کمی عمق آن افزایش یافته است که می تواند ناشی از پیش ماده ها و یا جذب شیمیایی CO_2 محیط باشد.

۳-۳- توزیع اندازه ذرات

تصاویر توزیع اندازه ذرات پودرهای آپاتیته با نسبت های مختلف فلئوئور در ابعاد نانومتری در شکل ۴ نمایش داده شده است. میانگین اندازه ذرات پودر با افزایش مقدار یون فلئوئور از ۱۰۲ تا ۱۶۶ نانومتر افزایش نشان می دهد. با مقایسه تصاویر میکروسکوپی عبوری و اندازه ذرات حاصل از این روش، افزایش اندازه ذرات را می توان به تمایل بلورک ها به تشکیل خوشه های بزرگتر نسبت داد. از طرف دیگر باید اشاره نمود که با توجه به توزیع بسیار یکنواخت اندازه ذرات، چسبندگی آنها به یکدیگر یکسان بوده و در شرایط این آزمایش به طور تقریباً برابر از یکدیگر جدا شده اند.

۳-۴- مورفولوژی پودر

۳-۴-۱- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی مورفولوژی، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد و هر یک از نمونه ها در بزرگنمایی های مختلف بررسی و با یکدیگر مقایسه شدند.

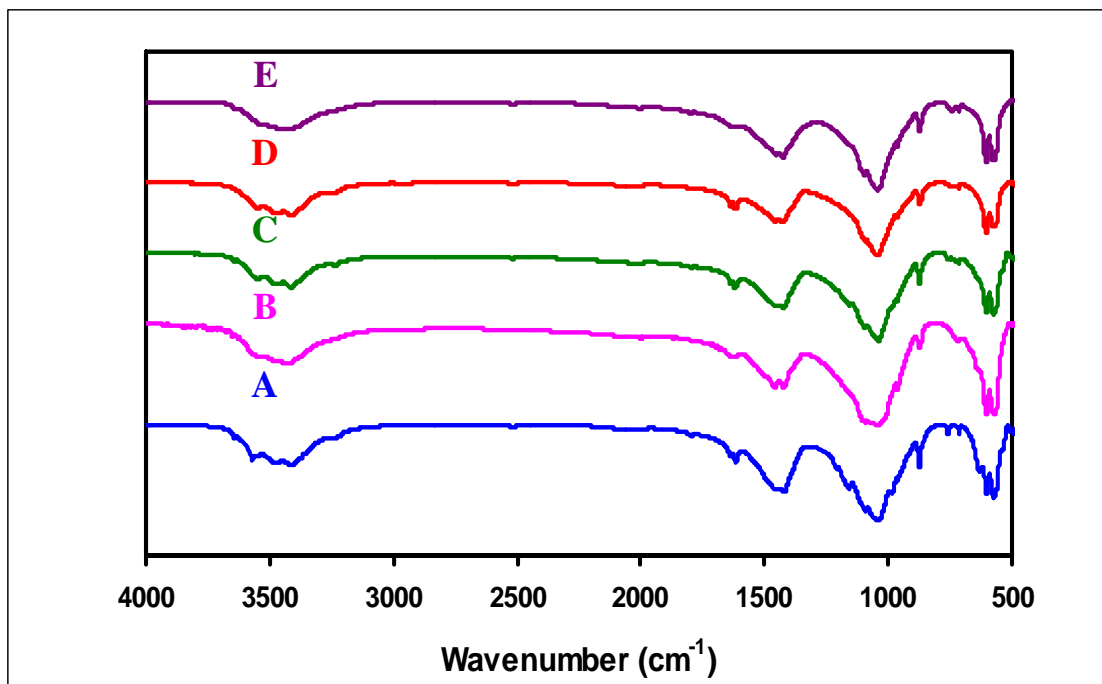
می یابد و احتمالاً به این دلیل است که همسایگی نزدیکتر F^- (شکل متقارن) در مقایسه با OH^- (شکل نامتقارن و دو اتمی) به کلسیم میسر می شود [۲۴]. به طور تجربی نیز مشاهده شده است که حضور یون فلئوئور در ساختار آپاتیت منجر به بلوری شدن ساختار آپاتیت خصوصاً در جهت محور c می شود [۱۰، ۱۱]. افزایش درجه بلوری منجر به پایداری بیشتر و حلالیت کمتر در محیط های بیولوژیکی می شود [۲۰].

جدول ۲: ترکیب فازی، اندازه بلورک ها و درجه بلوری نمونه ها.

نمونه	HA محاسباتی (%)	FA محاسباتی (%)	اندازه بلورک (nm)	درجه بلوری (%)
HA	۹۸/۲	-	۹/۷۲	۷۲/۱۴
HA-25FA	۷۴/۸	۲۴/۲	۱۲/۰۳	۷۲/۷۷
HA-50FA	۵۲	۴۸	۱۲/۵۴	۷۷/۶۰
HA-75FA	۲۶/۳	۷۳	۱۳/۷۷	۸۲/۱۷
FA	-	۹۸/۹	۱۶/۵۴	۹۲/۱۲

۳-۲- تغییرات ساختاری

تغییرات ساختاری نمونه ها، توسط FT-IR بررسی شد که در شکل ۳ مشاهده می شود. ساختار آپاتیت در همه نمونه ها با مدهای ارتعاشی P-O (610 cm^{-1} - 560 cm^{-1}) و 1100 cm^{-1} - 1000 cm^{-1} مشاهده می شود. پیک شدید و پهن بین 1100 cm^{-1} و 900 cm^{-1} مربوط به PO_4^{3-} است. مدهای کششی و خمشی PO_4^{3-} در 560 ، 561 ، 572 و 600 cm^{-1} به صورت پیک های شدیدی ظاهر شده اند. پیک 956 cm^{-1} را نیز می توان به ارتعاش ν_1 PO_4^{3-} در فلئور هیدروکسی آپاتیت و فلئور آپاتیت نسبت داد [۲۵]. پیک پهن مشاهده شده در محدوده 3800 cm^{-1} و 2600 cm^{-1} مربوط به مد کششی OH است. همان طور که می بینیم این پیک به تدریج با افزایش میزان فلئوئور در ترکیب، اندکی کوچکتر و پهن تر می شود و همچنین کمی به سمت فرکانس های بالاتر جابه جا می شود. می توان گفت با افزایش میزان فلئوئور، F جانشین OH در ساختار هیدروکسی آپاتیت شده و عامل این تغییر می باشد. پیک کوچک مابین 3536 cm^{-1} - 3545 cm^{-1} در FA مربوط به



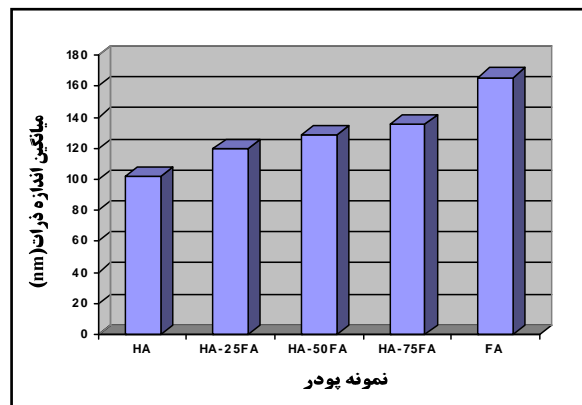
شکل ۳: FT-IR از نمونه پودرهای: HA (A), HA-25FA (B), HA-50FA (C), HA-75FA (D) و FA (E).

۳-۴-۲- میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

شکل ۶A-E به ترتیب تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، الگوی پراش و EDXA نمونه پودرهای HA، HA-25FA، HA-50FA، HA-75FA و FA را نشان می‌دهد. بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری با افزایش یون فلوراید، درجه بلوری و اندازه بلورکها تا اندازه‌ای افزایش داشته است. اندازه‌گیری مستقیم ابعاد ذرات در مشاهدات میکروسکوپ الکترونی عبوری، مقداری در محدوده ۲۰ تا ۵۰ نانومتر را نشان می‌دهد. همچنین مشاهده می‌شود، در الگوی پراش پودرها با افزایش مقدار فلئور شدت پراش نور از صفحات کریستالی بیشتر شده که نشان‌دهنده افزایش درجه بلوری پودرها می‌باشد. بر طبق مشاهدات، اندازه بلورکها در نمونه‌های حاوی فلئور اندکی بزرگتر از HA است. نتایج به دست آمده از آنالیز XRD و همچنین آنالیز zetasizer نیز این ادعا را تایید می‌کنند. بنابراین بر اساس نتایج حاصل از تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، اندازه بلورکها و میزان درجه بلوری نمونه‌ها در مقایسه به صورت زیر است:

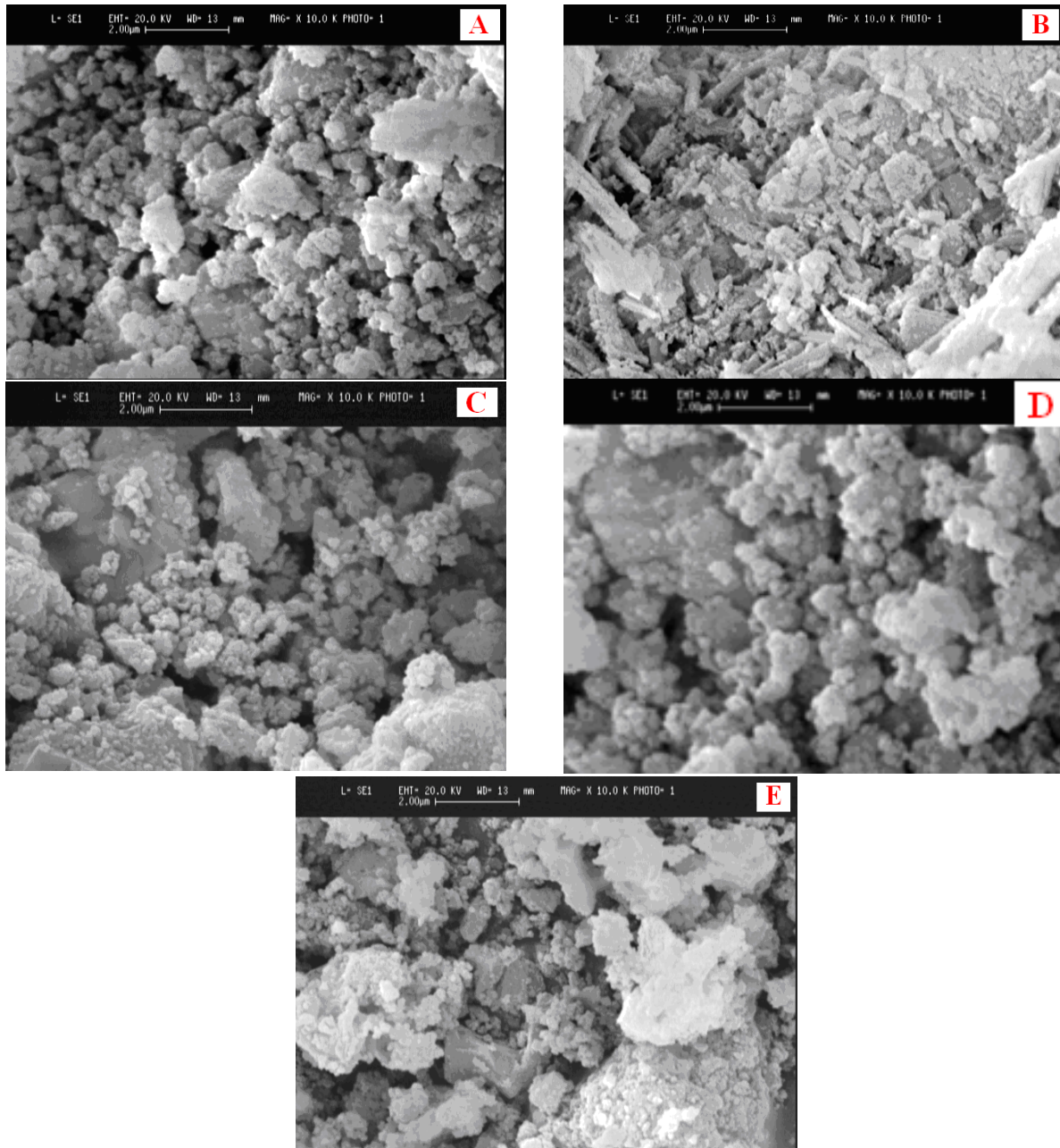
$$HA < HA-25FA < HA-50FA < HA-75FA < FA$$

شکل ۵ تصاویر SEM از پودرها را در بزرگنمایی ۱۰۰۰۰ برابر نشان می‌دهد. در این تصاویر مشاهده می‌شود که کریستال‌ها تشکیل شده‌اند. این کریستال‌ها به شکل کروی هستند که در بعضی نقاط به صورت آگلومره در آمده‌اند.



شکل ۴: نمودار میانگین اندازه ذرات پودر در نمونه‌های مختلف.

همانطور که مشاهده می‌شود دانه‌های کروی شکل ذرات آپاتیت در برخی نقاط آگلومره هستند که با افزایش میزان فلئور و درصد فلئور آپاتیت میزان آگلومره شدن پودر بیشتر شده است. قابل ذکر است که دانه‌های ریز و ذرات بزرگ متشکل از ذرات ریزتر در شرایط آزمایش زتاسایزر به خوبی از یکدیگر جدا شده‌اند.

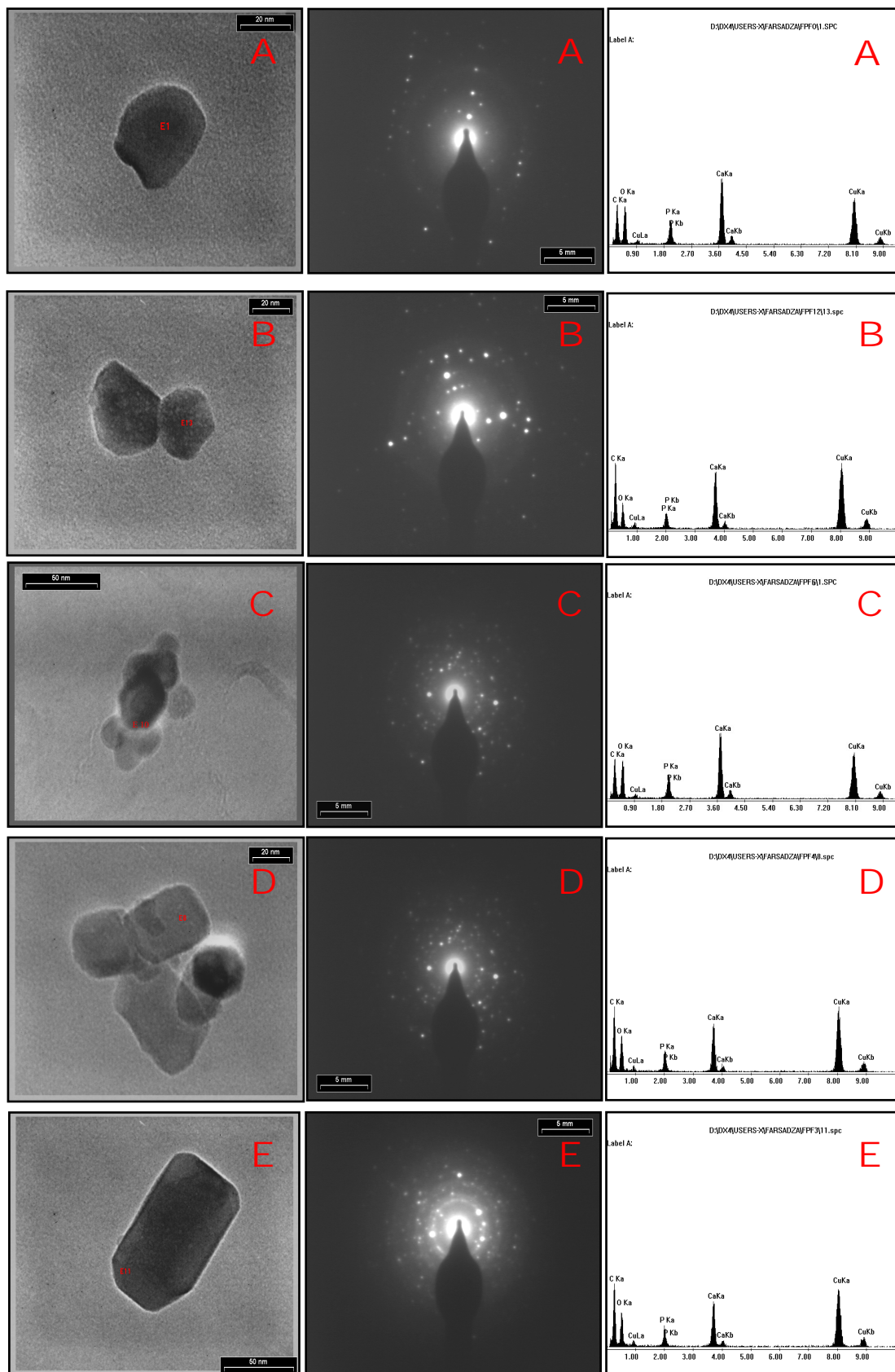


شکل ۵: تصاویر SEM از نمونه‌های (A) HA، (B) HA-25FA، (C) HA-50FA، (D) HA-75FA و (E) FA.

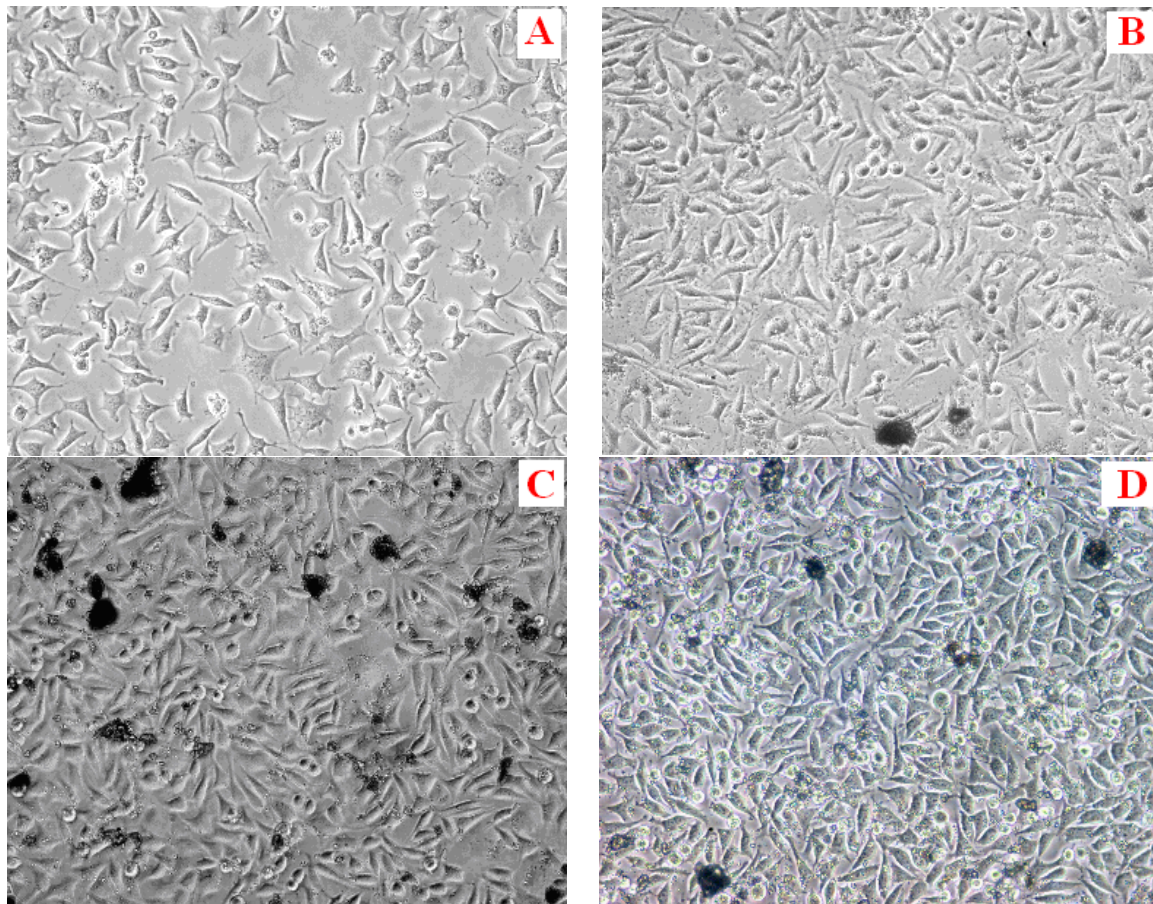
استریل شدند. سپس، سلول‌های فیبروبلاست L929 موش ۴ روز روی پودر و در پلیت‌هایی از جنس پلی‌استایرن کشت داده و سپس بوسیله میکروسکوپ معکوس (Invert) بررسی شدند.

۳-۵- رفتار *In vitro*

رفتار *In vitro* پودرها با نسبت‌های مختلف فلئورآپاتیت و هیدروکسی‌آپاتیت مورد ارزیابی قرار گرفت. قبل از انجام آزمایش ابتدا تمام پودرها به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو



شکل ۶: به ترتیب از چپ به راست، تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، الگوی پراش و EDAX از نمونه پودرهای FA (E) و HA-75FA (D) HA-50FA (C) HA-25FA (B) JHA (A)



شکل ۷: تصاویر حاصل از کشت سلول‌های فیبروبلاست موش (L929) بر روی پودرهای سنتز شده در مقادیر متفاوت فلوئور که ۱۵ دقیقه استریل شده‌اند: (A) نمونه شاهد، (B) HA، (C) HA-50FA و (D) FA.

رسید. نتایج XRD، دستیابی به فازهای هیدروکسی آپاتیت، فلوئورهیدروکسی آپاتیت و فلوئور آپاتیت را نشان می‌دهند.

اندازه بلورک‌ها و درجه بلوری پودرها با افزایش میزان جانشینی یون F^- در ساختار به جای OH^- ، افزایش پیدا می‌کند که نتایج حاصل از آزمایش XRD و TEM نیز این مطلب را تایید می‌کنند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان می‌دهند، با افزایش یون فلوراید، درجه بلوری و اندازه بلورک‌ها تا اندازه‌ای افزایش داشته است و اندازه‌گیری مستقیم ابعاد بلورک‌ها در مشاهدات میکروسکوپ الکترونی عبوری، مقداری در محدوده ۲۰ تا ۵۰ نانومتر را نشان می‌دهد.

در آزمایش میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده شد که با افزایش میزان فلوئور و درصد فلوئور آپاتیت، اندازه دانه‌ها تا اندازه‌ای بزرگتر شده و همچنین میزان آگلومره شدن پودر نیز بیشتر شده است.

به منظور تهیه نمونه شاهد نیز، از کشت سلول‌ها در محیط کشت بدون حضور پودر استفاده شد. نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهند (شکل ۷) که رشد سلول‌های فیبروبلاست روی تمام نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد از رشد مناسبی برخوردار بوده است و هر چه بر میزان فلوئور آپاتیت افزوده شده، تعداد سلول‌ها در محیط کشت زیادتر شده است که نشان‌دهنده تاثیر مثبت فلوئور بر زیست‌سازگاری پودر فلوئورهیدروکسی آپاتیت و فلوئور آپاتیت می‌باشد.

۴- نتیجه‌گیری

پودرهای هیدروکسی آپاتیت، فلوئورهیدروکسی آپاتیت و فلوئور آپاتیت به طور موفقیت‌آمیزی توسط روش سل-ژل و با استفاده از مقادیر مختلف یون فلوئور به دست آمدند. جانشینی یون F^- با OH^- توسط نتایج FT-IR در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد برای نمونه‌های مختلف به اثبات

- American Ceramic Society*, **85**, 2002, 1634.
- [7] H.W. Kim, L.H. Li, Y.H. Koh, J.C. Knowles, H.E. Kim, *Journal of the American Ceramic Society*, **87**, 2004, 1939.
- [8] E.C. Moreno, M. Kresak, R.T. Zahradnik, *Nature* (London), **247**, 1974, 64.
- [9] H.W. Kim, Y.M. Kong, Y.H. Koh, H.E. Kim, H.M. Kim, J.S. Ko, *Journal of the American Ceramic Society*, **86**, 2003, 2019.
- [10] M. Okazaki, Y. Mياke, H. Tohda, T. Yanagisawa, J. Takahashi, *Biomaterials*, **19**, 1998, 611.
- [11] L.J. Joa, S.M. Best, J.C. Knowles, I. Rehman, J.D. Santos, N. Bonfield, *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, **8**, 1997, 185.
- [12] J.A. Schwarz, I.C. Contescu, Karo Putyera, "Dekker Encyclopedia of nanoscience and Nanotechnology", **3**, 2004, 1797.
- [13] S. Overgaard, M. Lind, H. Grundvig, C. Biinger, K. Soballe, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **336**, 1997, 286.
- [14] A. Slosarczyk, E. Stobierska, Z. Paszkiewicz, M. Gawlick, *Journal of the American Ceramic Society*, **79**, 1996, 2539.
- [15] M. Yoshimura, H. Suda, K. Okamoto, K. Ioku, *Journal of Materials Science*, **29**, 1994, 3399.
- [16] W. Weng, J.L. Baptista, *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, **9**, 1998, 159.
- [17] D.M. Liu, T. Troczynski, W.J. Tseng, *Biomaterials*, **22**, 2001, 1721.
- [18] E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, *Journal of the European Ceramic Society*, **20**, 2000, 2377.
- [19] R. Jenkins, R.L. Snyder, "Introduction to X-ray Powder Diffractometry", John Wiley & Sons, New York, 1996.
- [20] R.Z. LeGeros, J.P. Legeros, "An introduction to bioceramics", New York University College of Dentistry, chapter 9, Pages 139-145.
- [21] D.K. Smith, "Calcium Phosphate Apatites in Nature", edited by P.W. Brown, B. Constantz, "Hydroxyapatite and Related Materials", CRC Press, London, 1994.
- [22] J.C. Elliott, "Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates", Elsevier, Amsterdam, 1994.
- [23] E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, *Journal of the European Ceramic Society*, **20**, 2000, 2377.
- [24] M. Luis, L. Rodriguez, N.H. Judy, K.A. Gross, *Journal of Physical Chemistry B*, **107**, 2003, 8316.
- [25] C. Prageeth Rodrigo, Master of Science Degree in Chemistry Department of Chemistry College of Sciences, University of Nevada, Las Vegas, 2005.

بر اساس نتایج آزمایش کشت سلولی، سلول‌های فیبروبلاست بر روی تمام نمونه پودرهای بدست آمده با هر میزان فلئوئور در ترکیب، رشد مناسبی داشته و افزایش مقدار فلئوئور آپاتیت تاثیر مثبت بر رشد سلول‌ها در محیط کشت سلولی داشته است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان این تحقیق از همکاری‌های ارزشمند متخصصین و مسئولین پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور، آزمایشگاه تخصصی بیومتریال دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و همچنین از حمایت‌های ستاد ویژه توسعه فناوری نانو کمال تشکر و قدردانی را ابراز می‌دارند.

مراجع

- [1] L.L. Hench, E.C. Ethridge, "Biomaterials: An Interfacial Approach", Academic Press, New York, 1982.
- [2] R.Z. Legeros, *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, **4**, 1981, 1.
- [3] H.W. Denissen, W. Kalk, H.M. Nieuport, C. Mangano, J.C. Maltha, *International Journal of Prosthodontics*, **4**, 1991, 432.
- [4] R.Z. Legeros, L.M. Silverstone, G. Daculsi, L.M. Kerebel, *Journal of Dental Research*, **62**, 1985, 138.
- [5] T. Aoba, *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, **8**, 1997, 136.
- [6] H.W. Kim, Y.H. Koh, B.H. Yoon, H.E. Kim, *Journal of the*