

XII. Erdélyi Tudományos Diákköri Konferencia

Kolozsvár, 2009. május 15–17.

## **Nano-hidroxiapatit előállítása emulziókból**

Témavezető

dr. Barabás Réka  
egyetemi adjunktus  
Babeş-Bolyai Tudományegyetem  
Kémia és Vegyészmérnöki Kar  
Vegyészmérnöki tanszék

Szerző

Chatterjee Réka  
Babeş-Bolyai Tudományegyetem  
Kémia és Vegyészmérnöki Kar  
Vegyészmérnöki szak, IV. Év

## 1.Bevezetés

### 1.1. Hidroxiapatit kerámiák

A kerámia szó a görög keramos szóból származik, ami égetett anyagot jelent. Ezek tűzálló, polikristályos, általában szervesetlen vegyületek. Ide tartoznak a szilikátok, fénoxidok, karbidok, különböző hőálló hidridek, szulfidok, szelenidek. Meghatározó fizikai tulajdonságaik: nagy olvadáshő, kis hő- és elektromos vezetőképesség. A polimerektől és fémektől eltérően nem munkálthatók meg könnyen, ez a tulajdonság az ionos kötések következménye. A kerámiákat felhasználják implantátumként vagy más implantátumok és protézisek tömör vagy porózus bevonataként[6].

A kemény szövetek legfontosabb szervesetlen alkotórésze a hidroxiapatit (HAp), a csontok és fogak keménységét, merevségét, ellenállóságát biztosítja. Az apatitok családja  $A_{10}(BO_4)X_2$  képletű, hexagonális rombos prizmákban kristályosodó vegyületek összessége. (A:1,2 vegyértékű kationok, pl Ca, K, Na, Cd, Pd, Sr. B: 3,7 vegyértékű ion, pl P, As, Si, Al, S. X:-3,-2,-1 vegyértékű ion vagy semleges molekula, pl OH, F) A hidroxiapatit  $Ca_{10}(PO_4)(OH)_2$  összegképletű vegyület, a kalcium-foszfátok közé tartozik[13].

A hidroxiapatitot általánosan használják az orvostudományban implantátumok készítésére és fémimplantátumok vagy protézisek bevonására, újabb alkalmazásai pedig gyógyszerhordozóként, a víztisztítás vagy rovarirtók hordozóanyagaként műtrágyákban. Míg a kutatások egy része a HAp különféle felhasználása felé irányul, egy új terület a nanoszemcsés hidroxiapatit előállítása [16].

### 1.2. Nano-hidroxiapatit

A kerámia nanoszemcsék igen inerte, egyszerűen előállíthatók, szabályozható a porozitásuk, alakjuk és nagyságuk az előállítási módszer megválasztásával[1.]

A csontokban levő hidroxiapatit tiszta nanoméretű részecskékből áll, a mesterséges nano-HAp-ot már az 1970-es évek óta használják csonttöltésre főleg a rekonstruktív plasztikai sebészetben. Ennek ellenére a kereskedelemben a nano-HAp még nincsen jelen, mint a konvencionális hidroxiapatit vetélytársa, de lehetséges felhasználási területei alapján a kutatások ez irányban nagyon széleskörűek mert jelentős kereskedelmi potenciállal bír.[18] A nano-HAp emelkedett fázis-tisztasága és homogenitása miatt jobban sűríthető és ez jobb minőségű implantátumok felé mutat. Ezenkívül a nano-

hidroxiapatit fajlagos felülete egyéb nanoanyagokkal összehasonlítva is különlegesen nagy. Kutatások igazolják, hogy rekonstruktív sebészetben a nanoszemcsés implantátumok jobb csonthelyettesítést biztosítanak, mert bioaktivitásuk a mikrostruktúrájú HAp-nál nagyobb. Ezenkívül segítik a csontsejtek differenciálódását, azok hamarabb formálódnak és így a csont gyorsabban visszanyeri eredeti keménységét.[13] Gyógyszerhordozóként helyileg antibiotikumokat hatásosan és hosszú időn keresztül tudnak felszabadítani a posztoperatív fertőzések elkerülésére, megfelelő anyagra rávive (pl. polimerek, kollagén, stb.) segíti az oszteokondukciót és oszteointegrálódást, inzulin bélben való felszívódásánál vivőanyagként felhasználható, de egészen új kutatások genetikai tumorelles terápiaiban való használatát is előrevetítik [15].

## 2. A nano-Hap előállítása

### 2.1. A csapadékos szintézis

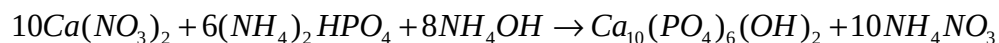
A hidroxiapatit és nano-HAp szintézisére sok módszer ismert, de az egyre sokrétűbb felhasználási kör megköveteli a jól kontrollált tulajdonságokkal rendelkező anyagok minél enyhébb körülmények közti szintézisét.[2.]

Az előállítás metódusa határozza meg az anyag morfológiáját, sztöchiometriáját, kristályszerkezetét, porozitását és fajlagos felületét, amelyek mindegyike fontos paraméter a felhasználásban. Attól függően választjuk meg a szintézist, hogy milyen tulajdonságokat várunk el az anyagtól, és a körülmények szigorú szabályozásával egyre közelebb kerülhetünk a kívánt jellemzőkhöz[5].

A legegyszerűbb és általánosabb előállítás a csapadékos módszer. A  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{PO}_4^{3-}$  ionokat tartalmazó vizes oldatokat bázikus pH-n elegyítjük, majd a csapadékot megfelelő körülmények közt tartjuk a következő néhány órában.  $\text{Ca}^{2+}$  forrásként felhasználhatunk :  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}$  stb.  $\text{PO}_4^{3-}$  források:  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4$  stb[14].

Az oldat bázikusságát ammónia gáz, NaOH vagy ammónia vizes oldatával biztosítjuk. Ez azért fontos, mert a hidroxiapatit képződése csak 10-10,5 pH feletti tartományban kedvezményezett. A reakció első részében a képződött csapadék szerkezetileg jelentősen eltér a sztchiometrikus HAp-tól. Ahogy hagyjuk a csapadékot öregedni folytatva a keverést, úgy nő a Ca/P arány 1,67-ig, ami a HAp jellemzője[4].

A csapadékképzodes első, rendkívül rövid időintervallumában a nukleáció dominál, majd utána következik a kristálynövekedési fázis. Mindkettőnek a sebessége bizonyos paraméterektől függ, amelyek meghatározzák a végtermék fizikai-kémiai sajátosságait : kezdeti reagensek koncentrációja, keverés sebessége, reakció hőmérséklet és idő valamint a kutatások által igazoltan egyik legbefolyásosabb a pH[8]. A reakció a következő egyenlet szerint játszódik le:



A csapadékoltatásos módszer hátrányai: a folyamat sok változót tartalmaz (oldatok kémhatása, reakció hőmérséklet és reakció idő), ezért nehéz reprodukálni az adott körülményeket és megtartani a sztökiometrikus Ca/P arányt, valamint megfelelően kontrollált kémiai és fizikai tulajdonságú HAp-ot előállítani.[9.]

## **2.2. Csapadékos szintézis emulziós rendszerben**

A folyadék fázisban lejátszódó módszer egyik alternatívája az emulziós szintézis. Abban különbözik a már bemutatott reakciótól, hogy szerves oldószerbe tesszük a  $\text{Ca}^{2+}$  ionokat tartalmazó vizes oldatot, majd egy tenzioaktív anyaggal keverés mellett még a reakció megkezdése előtt emulziót képezünk. Ebbe a rendszerbe juttatjuk be a  $\text{PO}_4^{2-}$  ionos oldatot. Az így képződő HAp szemcsék a finom emulzió természete miatt nem tudnak aggregálódni, és ez nanorészecskéket eredményez. A szerves oldószer a reakció után a szűrt csapadék mosásával és melegítéssel eltávolítható. Az így nyert HAp kristályok bizonyítottan felhasználhatók orvosi célra.

A szerves emulziós rendszerben eloallított hidroxiapatit nanoszemcséket fel lehet használni az orvostudományban mint a konvencionális HAp alternatíváját implantátum bevonatokként, kombinálva antibiotikumokkal vagy mint retard gyógyszervivőanyagot, a nagy fajlagos felülete miatt pedig az ivóvizek tisztításában és rovarirtásban. Célunk különböző reakciókörülményekkel kísérletezve kiválasztani azokat, amelyek mellett az emulziós hidroxiapatit szintézis a legjobb tulajdonságú nano-hidroxiapatitot eredményezi amelyet aztán főleg a sebészetben és gyógyszerészetben lehet felhasználni.

### **3.Kutatás menete**

A hidroxiapatit előállítását csapadékos reakcióval végeztük emulziós rendszerekben. Fourier transzformációs IR készülékkel győződünk meg, hogy a kapott anyag valóban HAp. Részecskeméret eloszlás meghatározására lézerdiffrakciós módszert használtunk, a SHIMADZU cég CoulterCounter SALD-7101 Nano Particle Size Analyser berendezését, mely 0,01-300  $\mu\text{m}$  tartományban mér.

#### **3.1. Részecskeméret-eloszlás meghatározása CoulterCounterrel**

A berendezés számítógéphez kötött, szemiautomata módban dolgozik, innen irányítjuk a mérést és dolgozzuk fel az eredményeket. Az emulziót bejuttatjuk cseppenként egy desztillált vízzel teli fordított harangba, majd ott beindítjuk az ultrahangos keverőt amíg adagolunk. Mivel a koncentráció pontos határok közt kell legyen, a gép ezt is automatikusan - abszorbancia segítségével- meghatározza, a mérést akkor lehet elkezdni, ha ez a megadott határok közt van. A berendezés még egyszer diszpergál ultrahanggal mérés előtt. A detektorok jól meghatározott szögekben (90-180), a fény haladási irányában vannak elhelyezve. A berendezés bekapcsolásakor igazítja magát a körülményekhez, ellenőrzi az ajtó teljes zárását és kiszűri az idegen fényt. Maga a mérés 20-25 másodpercig tart, és két mérés közt hat perc kell elteljen. Az adatokat mentjük, majd a WingSald-7101 programban nyithatjuk meg. A számításokhoz az általunk kiválasztott 1,65-ös törésmutatót használja fel.

#### **3.2. Hidroxiapatit szintézisének leírása emulzioból**

A hidroxiapatit előállításához kiindulóanyagként 50-50 ml  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (0,1-2 mol/l konc.) és  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (0,06-1,2 mol/l) vizes oldatokat készítettünk meghatározott koncentrációkban. Ezeket az oldatokat 25%-os ammónia oldattal 11-12 pH-ra állítottuk be. A reakciótérbe először 100 ml hexánt és meghatározott mennyiségű nonil-fenolt tettünk, majd ehhez adtuk a kalcium-nitrát oldatot és a mágneses keverőt 900 ford/perc-re állítottuk. Ezután hirtelen adagolva hozzáadtuk a foszfátos oldatot. 5, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240 és 1440 percenként 1-2 ml mintát vettünk az oldatból, amit a reakció lefagyasztása és az ionok beoldódásának megakadályozása céljából 10-20 ml 5%-os  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  oldatba tettünk. Az így kapott emulzióból adagoltuk a megfelelő mennyiséget a berendezésbe.

Megismételtük a kísérletet azonos nonil-fenol koncentrációnál 5 különböző reagens koncentráción, majd azonos kiindulóanyag koncentrációval négy különböző nonil-fenol koncentráción. A tenzioaktív anyagot mindig térfogatszázalékos koncentrációban fejeztük ki a teljes oldattérfogatra (200 ml) vonatkoztatva. A kísérleteket atmoszférikus nyomáson és szobahőmérsékleten végeztük.

#### 4.Eredmények:

**1. Táblázat:** Teljes oldattérfogatra vonatkoztatott nonilfenol koncentráció 0,0544 %. Öt különböző reagens koncentráción vizsgáltuk a szemcsenagyság időbeli változását az első 4 órában. A szemcsenagyság no az idovel. A kezdeti kristánynövekedést követi egy hirtelen szemcseméret megugrás, ez az agglomeracio eredménye.

| kísérleti körülmények              | C <sub>n.f.</sub> (%) | C <sub>Ca(NO3)2</sub><br>(mol/l) | C <sub>(NH4)2HPO4</sub><br>(mol/l) | dp(mikron) |        |       |       |       |       |       |       |
|------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                    |                       |                                  |                                    | 0.083h     | 0.167h | 0.33h | 0.5h  | 1h    | 2h    | 3h    | 4h    |
| p=1atm<br>ford/perc=900<br>t=25° C | 0.0544                | 0.1                              | 0.06                               | 4.742      | 2.711  | 2.172 | 2.084 | 4.735 | 4.78  | 4.748 | 4.828 |
|                                    |                       | 0.25                             | 0.15                               | 4.616      | 4.604  | 4.602 | 1.474 | 2.68  | 1.427 | 1.423 | 1.403 |
|                                    |                       | 0.5                              | 0.3                                | 1.366      | 4.625  | 4.63  | 4.014 | 4.647 | 1.445 | 2.851 | 1.452 |
|                                    |                       | 1                                | 0.6                                | 1.436      | 1.015  | 1.42  | 1.403 | 1.454 | 1.528 | 0.016 | 0.016 |
|                                    |                       | 2                                | 1.2                                | 0.016      | 0.016  | 1.574 | 1.412 | 1.581 | 1.704 | 1.546 | 1.002 |

**2. Táblázat:** Teljes oldattérfogatra vonatkoztatott nonilfenol koncentráció 0,008 %. Négy különböző reagens koncentráción vizsgáltuk a szemcsenagyság időbeli változását az első 4 órában. Akarcsak az elso tablázatban, itt is ugyanaz a tendencia figyelhető meg.

| kísérleti körülmények     | C <sub>n.f.</sub> (%) | C <sub>Ca(NO3)2</sub><br>(mol/l) | C <sub>(NH4)2HPO4</sub> (mol/l) | dp (mikron) |        |       |       |       |       |       |       |
|---------------------------|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                           |                       |                                  |                                 | 0.083h      | 0.167h | 0.33h | 0.5h  | 1h    | 2h    | 3h    | 4h    |
| p=1atm<br>rpm=900 t=25° C | 0.008                 | 0.1                              | 0.06                            | 0.016       | 0.015  | 1.288 | 1.454 | 4.622 | 1.419 | 8.456 | 1.417 |
|                           |                       | 0.5                              | 0.3                             | 4.663       | 0.016  | 0.016 | 0.016 | 0.016 | 4.598 | 4.593 | 0.016 |
|                           |                       | 1                                | 0.6                             | 0.016       | 1.457  | 1.151 | 0.952 | 0.983 | 0.016 | 1.615 | 1.342 |
|                           |                       | 2                                | 1.2                             | 1.489       | 1.484  | 0.016 | 0.016 | 0.016 | 0.016 | 0.016 | 0.016 |



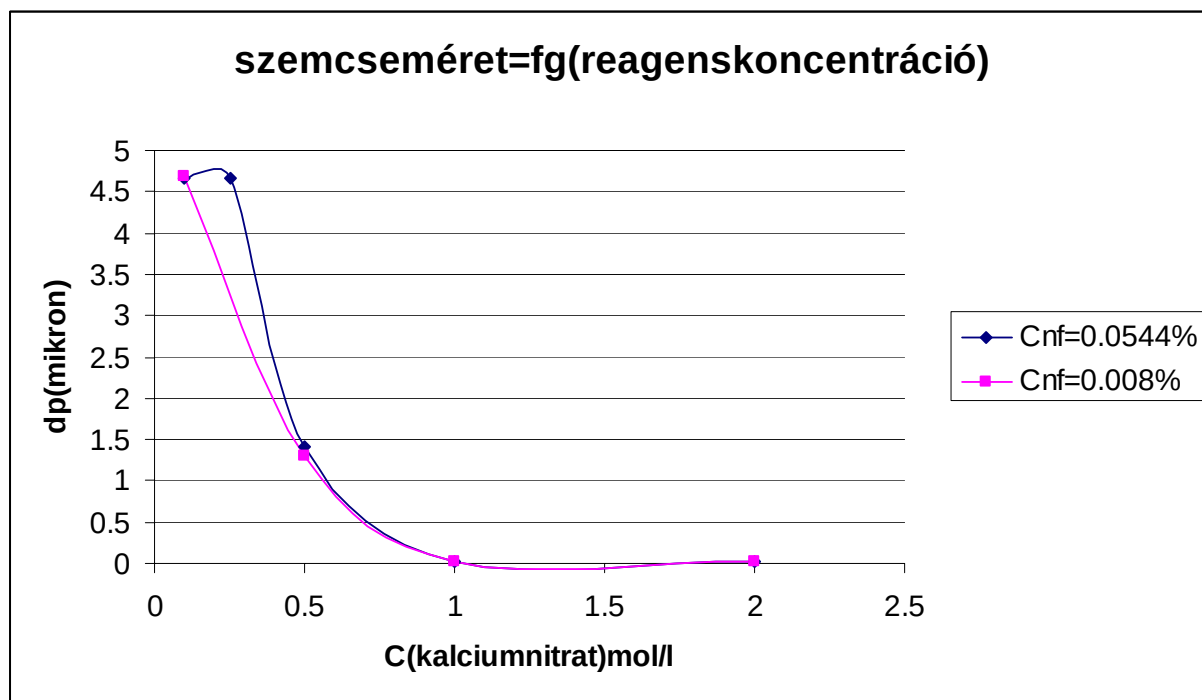
**3. Táblázat:** Azonos reagens koncentrációnál vizsgáltuk milyen hatással van a nonil-fenol tenzioaktív anyag koncentrációjának változtatása a végső részecskenagyságra. A nonil-fenol jelenlete miatt nano részecskéket kapunk, de ennek hiányában mikron nagysaguakat.

| kísérleti körülmények           | C <sub>n.f.</sub> (%) | C <sub>Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></sub><br>(mol/l) | C <sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></sub> (mol/l) | dp(mikron) |
|---------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------|
| p=1atm ford/perc=900<br>t=25° C | 0.0544                | 2                                                      | 1.2                                                              | 0.016      |
|                                 | 0.008                 |                                                        |                                                                  | 0.016      |
|                                 | 0.0008                |                                                        |                                                                  | 0.016      |
|                                 | 0                     |                                                        |                                                                  | 1.879      |

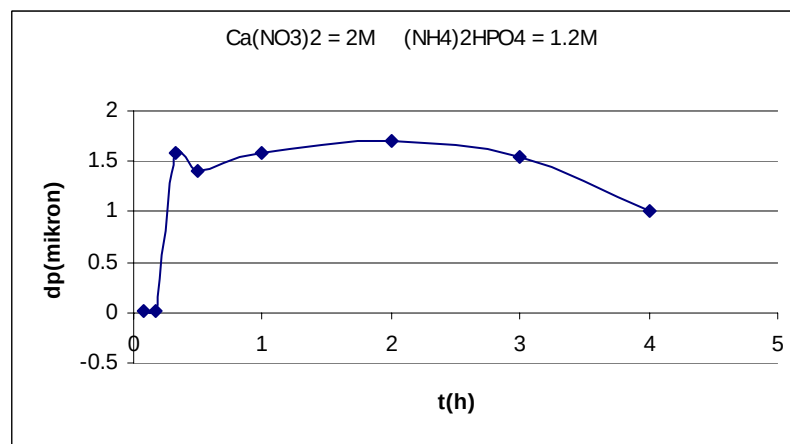
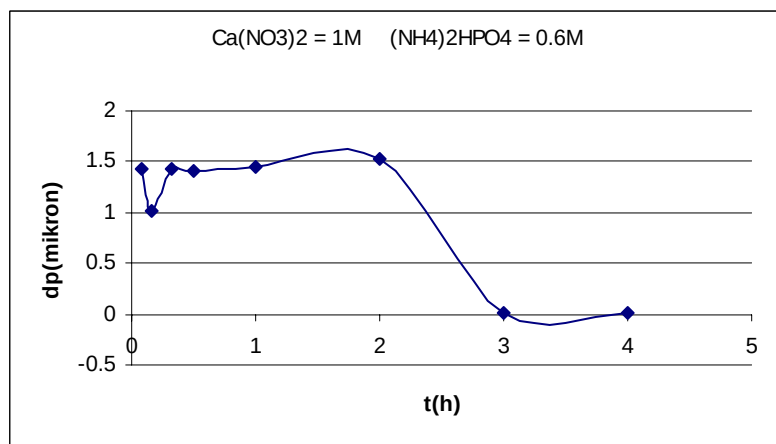
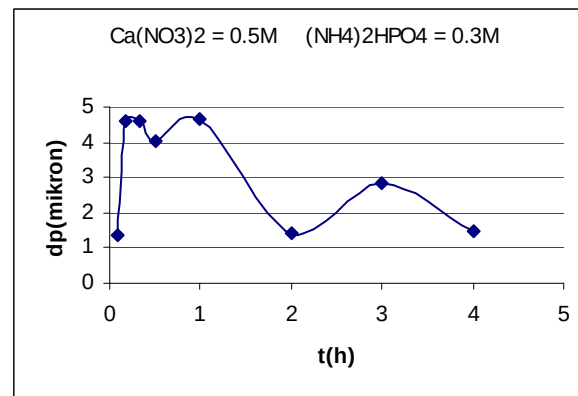
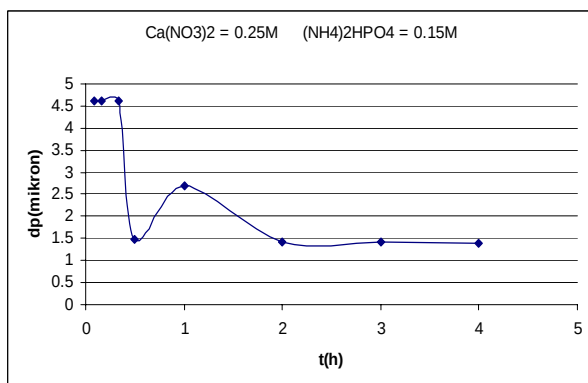
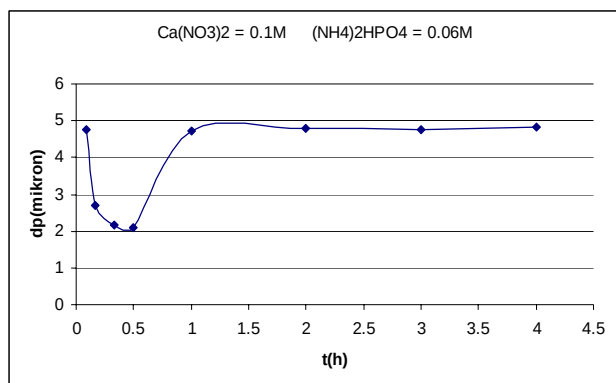
**4. Táblázat:** A reagenskoncentráció hatása a végső szemcsenagyságra (24 óra elteltével) Osszefoglalható, hogy a vegso szemcsemeret a nanil-fenol jelenletetol es a kezdeti reagenskoncentracioktol függ.

|                                 |                       |                                                        |                                                                  | dp(mikron) |
|---------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------|
| kísérleti körülmények           | C <sub>n.f.</sub> (%) | C <sub>Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></sub><br>(mol/l) | C <sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></sub> (mol/l) | 24h        |
| p=1atm ford/perc=900<br>t=25° C | 0.0544                | 0.1                                                    | 0.06                                                             | 4.661      |
|                                 |                       | 0.25                                                   | 0.15                                                             | 4.66       |
|                                 |                       | 0.5                                                    | 0.3                                                              | 1.406      |
|                                 |                       | 1                                                      | 0.6                                                              | 0.016      |
|                                 |                       | 2                                                      | 1.2                                                              | 0.016      |
|                                 | 0.008                 | 0.1                                                    | 0.06                                                             | 4.675      |
|                                 |                       | 0.5                                                    | 0.3                                                              | 1.307      |
|                                 |                       | 1                                                      | 0.6                                                              | 0.016      |
|                                 |                       | 2                                                      | 1.2                                                              | 0.016      |

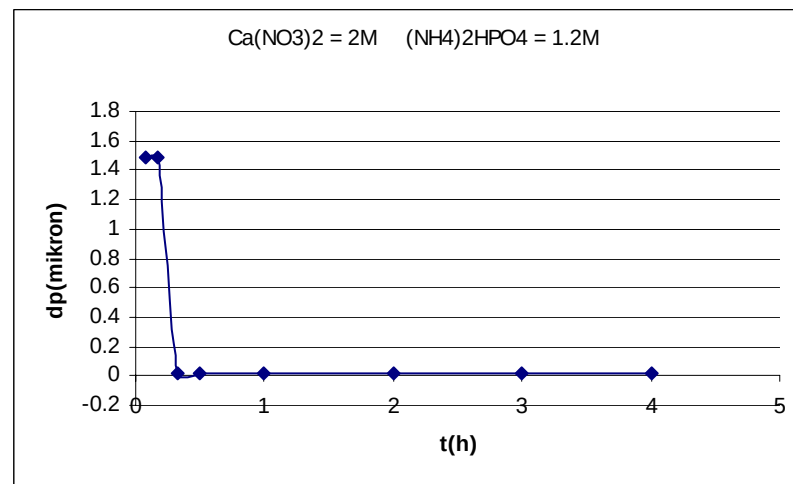
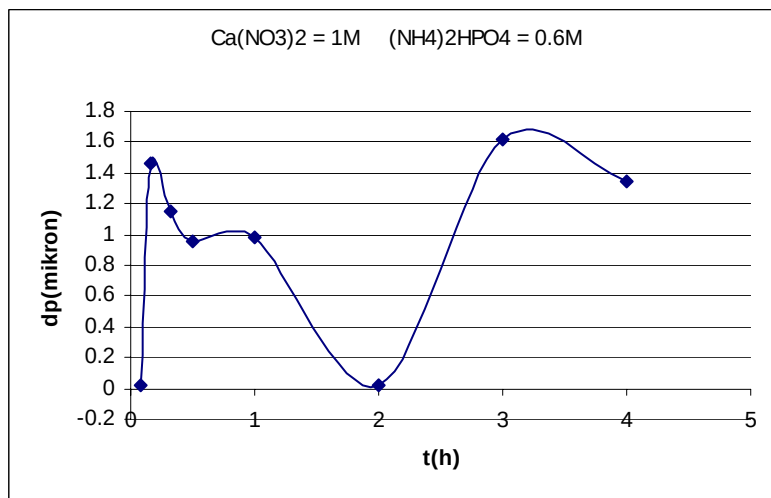
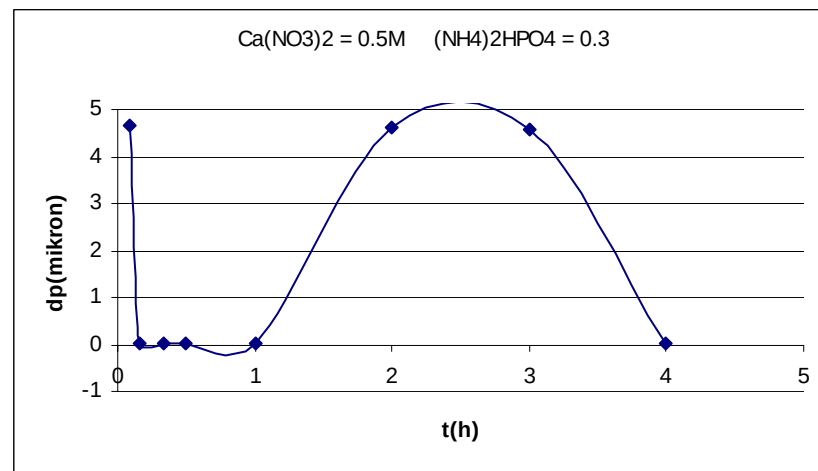
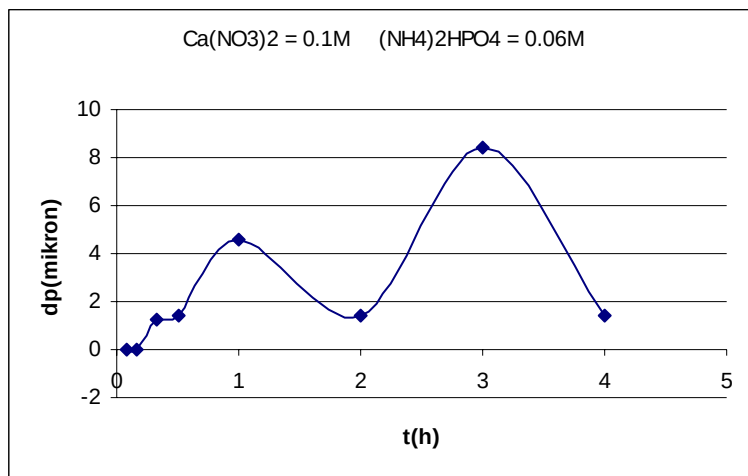
1. **grafikon:** Az alábbi grafikonon összehasonlítottuk a végső szemcseméretet különböző reagenskoncentrációk esetén. Ha a reagenskoncentráció eléri az 1 mol/l értéket, nano részecskéket kapunk. A végső részecskénagyság a két nonil-fenolkoncentráció esetén nagyjából ugyanaz.



2. **grafikonok:** Szemcseméret változás az első 4 órában  $C_{n.f.} = 0,0544\%$  tenzioaktiv anyagnál. Az agglomeracio jelensege megfigyelhető.



2. **grafikonok:** Szemcseméret változás az első 4 órában  $C_{n.f.} = 0,008\%$  tenzioaktív anyagnál



## 5.Kiértékelés és következtetések

1. Ahogy a 3. táblázatból és az 1. grafikonból kitűnik, a tenzioaktív anyagnak – esetünkben ez a nonil-fenol – nagy szerepe van a nanonagyságú szemcsék elérésében. Ebből az anyagból teljes reakcióterfogra vonatkoztatva egészen kis mennyiség (0,0008%) bejuttatása már eléri a kívánt hatást. Ennek az a magyarázata, hogy a tenzioaktív anyagok az emulzióban a hidroxiapatit szemcsék felületére adszorbeálódnak, és így lehetővé teszik, hogy a felületi feszültség csökkenjen. Minél kisebb a felületi feszültség, annál kisebb a hajtóerő az aggregációra és így különálló nano részecskéket kaphatunk. Kijelenthetjük ezek alapján, hogy a tenzioaktív anyag jelenlétében végzett emulziós szintézisben sikerült enyhe körülmények közt nano-hidroxiapatitot előállítani, és a felhasznált nonil-fenol megfelelő felületi feszültség csökkentést biztosított. Összehasonlítva az irodalomban talált csapadékos módszerek eredményeivel, ahol ez 1-2 mikron nagyságú részecskéket eredményezett, az emulziós szintézis sokkal hatékonyabb nagy fajlagos felületű HAp előállítására.
2. A 1. és 2. táblázat illetve a 2. és 3. számú grafikonokból azt látjuk, hogy a kezdeti kristálynövekedést követi egy hirtelen szemcseméret megugrás. Ez az aggregáció eredménye. Az eddigi kutatásokból kitűnik, hogy semmilyen körülmények között sem lehet elkerülni a részecskék aggregálódását. Ez éppen a felületi feszültség miatt van, mely kisebbé válik ha nagyobbak a részecskék. A kisebb szemcsék összetapadva az eredeti szemcséknél nagyságrenddel nagyobb agglomerátumokat képeznek, amelyek belsejében tovább folyik a kristálynövekedés. Elérve egy kritikus értéket, ahogy a grafikonokon is látszik, felbomlanak ezek az agglomerátumok és darabjaikra esnek szét. Sok esetben látszik, hogy ez nem egy egyedi folyamat, hanem többszörös agglomerálódás-szétesés zajlik le, míg a rendszerben befejeződik a reakció. Ez kb. 24 óra után történik, tehát az akkori adatot végső szemcseméretnek vehetjük\*
3. Az első grafikonból és a negyedik táblázatból láthatjuk, hogy a reagens koncentrációja is nagy hatással van a végső szemcseméretre, ez el kell érjen egy minimumot ( $C_{\text{Ca}(\text{NO}_3)_2} = 1 \text{ mol/l}$  és  $C_{\text{(NH}_4)_2\text{HPO}_4} = 0.6 \text{ mol/l}$ ) ahhoz, hogy végül nanotartományban legyenek a részecskeméreteket. Ennek az a magyarázata, hogy nagy reagenskoncentráció esetén a nukleáció nagyon gyorsan megy végbe és így több góc képződik: több, de kisebb méretű szemcse lesz.

\*FTIR –el és Röntgen-diffrakcióval végzett kutatások bizonyítják, hogy 24 óra elteltével képződik tiszta HAp.

## 6.Összefoglalás

Nano-hidroxiapatitot elő lehet állítani atmoszférikus körülmények közt csapadékkeltési eljárással emulziós rendszerben ha a kiindulóanyagok koncentrációja meghaladja a már említett ( $C_{\text{Ca}(\text{NO}_3)_2} = 1$  mol/l és  $C_{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4} = 0.6$  mol/l) értéket és a rendszerhez nonil-fenol tenzioaktív anyagot adagolunk. A reakció során nem lehet elkerülni az agglomerálódást, de a nonil-fenolnak köszönhetően miután szétesnek ezek az agglomerátumok a végső, 24 óra után mért szemcseméret nano tartományban van. Ez a szerves anyag elpárologtatása után lehetőséget nyújt a HAp széleskörű felhasználására mind oldatból mint esetleges szárítás után por formában.

További kísérletekkel modellezni kell a reakció lefolyását és a kristálynövekedést emulziós rendszerben és többféle tenzioaktív anyag vizsgálatával lehetőség van meghatározott alakú nano-HAp kristályok előállítására irányított kristálynövekedéssel.

## 7. Bibliográfia

1. „Chemically-induced nucleation of hydroxyapatite at low temperatures”: M.L.Montero, A Saenz, V.M.Castano, *Journal of Materials Science* 39 (2004):339-341
2. „Aqueous processing of hydroxyapatite”: J. Zhang, M. Maeta, N. Kotobuki, M. Hirasa, H. Ohgushi, D. Jiang, M. Iwasa, *Materials Chemistry and Physics* 99(2006): 398-404
3. „An improvement in processing of hydroxyapatite ceramics”: M.G.S. Murray, J. Wang, C.B. Ponton, P.M. Marquis, *Journal of Materials Science* 30(1995): 3061-3074
4. „Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11”: C. Liu, Y. Huang, W. Shen, J. Cui, *Biomaterials* 22(2001): 301-306
5. „Preparation and Characterization of Nanosized Hydroxyapatite in AOT Inverse Microemulsion”: R. Wei, L.Shi-pu, W You-fa, C. Xiang-ying, C. Xiao-ming, *Journal of Wuhan University of Technology- Mater Sci Ed*(2004) Vol-19, No 2
6. „Nanostructure Processing of Hydroxyapatite-based Bioceramics”: E.S. Ahn, N.J. Glenson, A. Nakahira, J. Y. Ying, *Nano Letters*(2001) voll. No. 3. 149-159
7. „Preparation of nanosized hydroxyapatite at low temperatures”: Z. Li, P. Wang, Z. Wu, *Journal of Materials Science* 40(2005): 6589-6591
8. „Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method”: I. Mobasherpour, M. Soulati Heshajni, A. Kazemdeh, M. Zakari, *Journal of Alloys and Compounds* 430(2007):330-333
9. „Fabrication and Characterization of porous hydroxyapatite microspheres by spray-drying method ”: Rui-xue Sun, Yu-Peng Lu, *Front Mater Science China* 2008, 2(1): 95-98
10. „Synthesis and sintering of biomimetic hydroxyapatite nanoparticles for biomedical applications”: Suprabha Nayar, M. K. Sinha, D. Basu, Arvind Sinha, *Journal of Materials Science: Mater Med*(2006) 17:1063-1068
11. „An X-Ray Electron Study of Nanodisperse Hydroxyapatite”: I. V. Melkhov, Yu. A. Teterin V. N. Rudin, A. Yu. Tetin, K. I. Maslakov, A. V. Servin, *ISSN Russian journal of Physical Chemistry A*. 2009 vol 83, No. 1. pp 91-97

12. „Influence of Synthesis Parameters on the Particle Sizes of Nanostructured Calcium – Hydroxyapatite”: D. J. Janakovic, P. Prelevic, L. K. Koshic, R. Petrovic, V. Janakovic, D. Uskovic, *Trans Tech Publications, Switzerland*
13. „Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies”: M. P. Ferraz, F. J. Monterio, C. M. Manuel, *Journal of Applied Biomaterials & Biomaterials* 2004;2:74-80
14. „Hydroxyapatite and Hydroxyapatite-Based Ceramics”: V. P. Orlovskii, V. S. Komlev, S. M. Barinov, *Inorganic Materials* vol 38, No 10.2002 pp 973-984. Translated from *Neorganic Materialy* vol 38, No 10.2002. pp 1159-1172
15. „Fabrication of nanostructured hydroxyapatite and analysis of human osteoblastic cellular response”: X. Guo, J. E. Gough, P. Xiao, J. Liu, Z. Shen, *Wiley InterScience* – 2007 10:1002-1031
16. „Fabrication of high-dispersibility nanocrystals of calcined hydroxyapatite”: M. Okasa, T. Furuzono, *Journal of Material Science* (2006) 41:6134-6137
17. „An Electron Microscopy study of the formation of hydroxyapatite through sol-gel processing”: A. Jilka, D. T. Hoelzer, A. Conrath, *Journal of Material Science* 34 (1999) 4821-4830
18. „Effect of Reaction temperature on the morphology and size of hydroxyapatite nanoparticles in an emulsion system”: T. Furuzono, D. Walsh, K. Sato, K. Sonoda, J. Tanaka, *Journal of Materials Science letters* 20, (2001), 111-114