

가수분해 조건에 따른 수산화인회석의 형상변화

최경림* · 이동규†

충북대학교 공업화학과

(2018년 5월 17일 접수: 2018년 6월 22일 수정: 2018년 6월 27일 채택)

Morphology Changes of Hydroxyapatite in Different Hydrolysis Conditions

Kyoung-Rim Choi, Dong-Kyu Lee†

Department of Industrial Engineering Chemistry, Chungbuk National University

(Received May 17, 2018; Revised June 22, 2018; Accepted June 27, 2018)

요약 : 수산화인회석은 생체적합성이 뛰어나기 때문에 생체재료로 사용되고 있다. 본 연구에서는 온도, 농도, pH를 조절하여 인산수소칼슘 중간체의 가수분해반응을 통해 c면이 배향된 수산화인회석을 합성하였다. 염기조건에서 전구체의 농도가 낮을 경우 막대 형태의 수산화인회석 결정이 모여 불규칙한 형태의 입자를 만들었고 농도가 높을 경우 수산화인회석결정의 c면이 노출된 판 형태의 입자를 만들었으며 이에 따라 입자의 제타전위 차가 3 mV가 되었다. 생성물의 물리화학적 특성은 XRD, SEM, FT-IR, 제타전위측정기를 통해 평가하였다.

주제어 : 수산화인회석, 생체재료, 배향성, 가수분해, 형태

Abstract : Hydroxyapatite has been used for biomaterials since it has high biocompatibility. In this study, c-plane oriented hydroxyapatite was synthesized by hydrolysis of dicalcium phosphate intermediate by controlling temperature, concentration and pH. In basic condition, rod-like hydroxyapatite crystals were aggregated to form irregular particles in low concentration and plate-like particles exposed c-plane of hydroxyapatite crystal were obtained in high concentration, causing difference of 3 mV in zeta potential. Physicochemical properties of product were characterized by XRD, SEM, FT-IR, zeta potential measurement.

Keywords : Hydroxyapatite, Biomaterials, Orientation, Hydrolysis, Morphology

†Corresponding author
(E-mail: dklee@chungbuk.ac.kr)

1. 서론

인산칼슘 화합물 중 하나인 수산화인회석(hydroxyapatite, HA, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$)는 인체 내 뼈와 결정학적, 화학적 유사성을 가지고 있어 인체에 어떠한 독성도 나타나지 않으며 경조직, 피부조직, 근조직과의 생체적합성이 뛰어나기 때문에 뼈나 치아의 재생과 교체에 이용되고 있다[1,2]. HA는 생체재료 이외에도 약물전달물질, 액체크로마토그래피 컬럼, 촉매, 흡수제, 암세포 지연제 등에 응용할 수 있다[3,4].

HA를 합성하기 위한 방법으로는 연소법, 기계화학합성법, 습식침전법, 졸겔합성법, 수열합성법, 에멀전 또는 마이크로에멀전법, 전기화학증착법, 생체모방증착법과 같은 다양한 방법들이 있다. 그 중 습식법은 나노상 입자의 크기와 모양을 조절할 수 있으며 수득률이 높고 에너지가 적게 필요하다. 습식법 중에서도 온화한 조건에서 시행할 수 있어 쉽고 편리한 침전법이 많이 사용되고 있다[5]. 인산은 pH에 따라 3개의 양성자화된 형태로 존재하며 HA는 염기조건과 중성조건에서 합성될 수 있다[6]. 체액과 비슷한 중성조건에서도 HA가 가장 안정한 상으로 존재하지만 pH와 전구체 농도에 따라 약산성 혹은 중성의 pH에서 인산염은 PO_4^{3-} 보다는 H_2PO_4^- 혹은 HPO_4^{2-} 형태로 존재하여 칼슘염과 인산염을 이용한 침전을 통해 합성할 경우 초기에 인산수소칼슘(dicalcium phosphate, DCP, CaHPO_4), 비정질인산칼슘(amorphous calcium phosphate), 인산팔칼슘(octacalcium phosphate, OCP, $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 등의 다양한 인산칼슘을 만들어 인산칼슘의 침전을 예측하고 제어하기 어렵다[7]. 이들은 HA의 전구체로 이용될 수 있다[8].

이 중 DCP는 가수분해를 통해 HA로 전환 가능하며 칼슘염과 인산염 용액을 약산성과 중성 조건에서 혼합하면 DCP가 생성된다. DCP를 HA로 전환하는 연구들이 많았지만 대부분 DCP를 이용하거나 합성한 DCP를 통해 HA를 합성하였다[9-11]. 이들은 HA로의 전환을 위하여 pH 10 이상의 염기조건에서 가열을 통하여 가수분해하여 DCP를 HA로 전환시켰다.

HA결정은 육방정계로서 P63/m 공간군에 속하며 a, b면은 칼슘이온으로 둘러싸여 있으며 c축 중심에는 수산화이온이 자리잡고 있고 c면에 인과 수산화이온이 노출되어 있는 형태이다[7]. 인간의 뼈는 HA가 콜라겐 섬유와 평행하게 배치하

고 있어 a(b)면이 노출되어 있고 치아의 법랑질은 HA결정의 c면이 노출되어 있다[13]. 특히 c면의 수산화이온은 HA가 성장하는데 도움을 준다[14]. 배향을 가진 입자의 경우 노출된 결정면에 따라 표면전하가 다르기 때문에 서로 다른 전하를 가진 단백질을 더욱 효과적으로 흡수할 수 있다[13]. 일반적으로 HA는 c축으로 성장하기 때문에 c면이 노출된 형태의 입자를 만들기는 어렵다.

본 연구에서는 DCP 중간체의 가수분해를 통해 HA를 합성하고 가열 온도와 시간, 농도변화를 통해 가수분해 과정에 대해 고찰하고자 하며, 가수분해 조건에 따른 HA 형상 변화와 서로 다른 형상을 가진 HA의 물리화학적 성질을 확인하였다.

2. 실험

2.1. 실험재료

수산화아파타이트를 합성하기 위하여 전구체로 질산칼슘4수화물(calcium nitrate tetrahydrate, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 98.5%, Kanto Chemical Co., Inc., Japan)과 제2인산암모늄(diammonium hydrogen phosphate, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 99.0%, Junsei Chemical Co., Ltd., Japan), 제2인산소듐(disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4 , 99.0%, Samchun Co., Ltd., Korea)을 사용하였고 pH 조절을 위해 암모니아수(ammonia solution, NH_4OH , 28.0-30.0%, Samchun., Co., Ltd., Korea)와 수산화소듐(sodium hydroxide, NaOH , 98.0%, Samchun, Co., Ltd., Korea)를 사용하였다.

2.2. 실험 방법

수산화인회석의 합성은 다음과 같은 방법으로 진행하였다. 수산화인회석의 칼슘과 인의 조성비인 Ca/P 비가 1.67이 되도록 칼슘 수용액과 인산 수용액을 각각 제조한다. 인산 수용액 50 mL를 교반중인 칼슘 수용액 50 mL에 천천히 적하하여 침전을 생성한다. 인산 용액을 모두 적하시킨 후 실온에서 30분간 숙성시킨다. 혼합 용액의 pH를 조정하는 경우 서로 다른 양이온으로 인한 영향을 제거하기 위해 제2인산암모늄을 사용하는 경우 암모니아수로, 제2인산소듐을 사용하는 경우 수산화 소듐으로 pH를 조정한다. 숙성을 마친

혼합용액을 일정온도에서 일정시간 가열한 후 상온에서 냉각시킨다. 냉각된 용액은 원심분리기를 이용하여 용액과 침전물을 분리시키고 증류수로 3회 수세한 후 60°C에서 건조한다.

2.3. 분석

합성된 수산화인회석의 물리·화학적 특성 분석은 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 결정의 상 및 결정성을 확인하기 위해 X-선 회절분석기(XRD, D8 Discover with GADDS, Bruker, AXS, Germany)를 이용하였다. 분석조건은 Cu의 $K\alpha$ 방사선을 사용하여 스캔간격은 $0.01^\circ/\text{step}$, 스캔속도는 0.2 sec/step 으로 측정하였다. 결정화도는 다음의 식을 통해 계산하였다. $X_C = 1 - (V_{112/300} / I_{300})$ [12] X_C 는 결정화도, $V_{112/300}$ 은 (112)와 (300)의 회절피크 사이 움푹들어진 부분의 피크 강도, I_{300} 은 (300)의 회절 피크의 피크 강도를 의미한다. 결정 크기의 계산은 Scherrer-Debye식($D_C = K\lambda / \beta \cos\theta$)을 이용하였다. 여기에서 D_C 는 결정크기, K 는 Scherrer-Debye 상수(일반적으로 0.9), λ 는 X선의 파장($\text{Cu-K}\alpha, 1.54 \times 10^{-10} \text{ m}$), β 는 FWHM(Full Width at Half Maximum), θ 는 Bragg각을 의미한다. 적외선 분광기(FT-IR, 480-Plus, Jasco, Japan)를 이용하여 생성물의 기능기를 확인하였다. 입자의 크기 및 형상을 확인하기 위해 입자를 백금으로 코팅하고 전계방사형 전자현미경(FE-SEM, ULTRA PLUS, Carl Zeiss NTS GmbH, Germany)을 통해 분석하였다. 입자의 형상에 따른 제타전위를 측정하기 위해 증류수 혹은 PBS(Phosphate Buffered Saline) 10 ml에 시료 5 mg를 첨가하고 초음파를 이용하여 분산시켜 제타전위 측정기(Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, U.K.)로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. X-선 회절 분석

적당한 가수분해 온도와 시간을 정하기 위해 0.1 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 수용액과 0.06 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 수용액을 사용하여 실험하였다. 60, 70, 80, 90°C에서 각각 12, 6, 3, 1시간 가열을 통하여 DCP에서 HA로 완전한 전환이 이루어진 것을 XRD를 통해 확인하였다. Fig. 1은 인산염 종류와 농도, 온도에 따른 XRD 결과이다. 농도

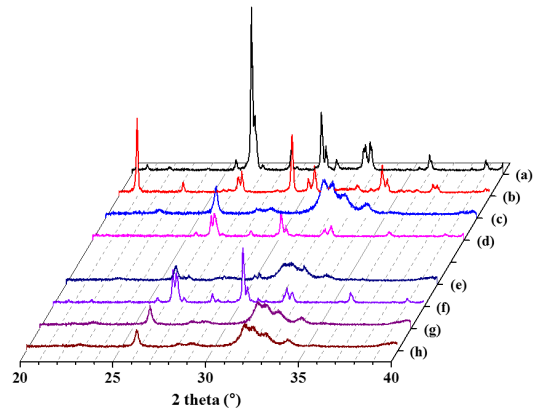


Fig. 1. XRD patterns of samples using (a-d) ammonium phosphate and (e-h) sodium phosphate. (Precipitates of (a, e) 0.1 M Ca^{2+} and (b, f) 0.4 M Ca^{2+} and heated precipitate of (c, g) 0.1 M Ca^{2+} at 80°C for 3 h and (d, h) 0.4 M at 80°C for 24 h.

가 높을 때는 반응 속도가 감소하므로 칼슘 용액과 인산 용액을 혼합하였을 때 초기 상태를 알 수 있다. 인산 전구체로 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 사용하였을 때는 초기에 DCPD(dicalcium phosphate, dihydrate, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)가, Na_2HPO_4 를 사용하였을 때는 DCP가 주 생성물이 된다. Ca^{2+} 농도가 0.1 M이고 Na_2HPO_4 를 사용한 경우에는 상온에서도 HA가 주 생성물로 생성된다. 반면 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 사용하였을 때는 상온에서 24시간이 지나더라도 HA의 회절패턴이 나타나지 않았다. HA는 높은 pH 그리고 중성의 pH에서 합성이 가능하다. 인산은 다양성자산이기 때문에 pH에 따라 3가지 형태의 이온으로 존재할 수 있기 때문에 합성 조건에 따라 다양한 형태의 인산 칼슘으로 합성될 수 있다[6,8]. 높은 pH에서는 여러 인산이온 형태 중 PO_4^{3-} 이온만 존재하며 OH^- 이온 또한 존재한다. 이 이온들은 HA를 구성하고 있는 이온들이므로 높은 pH에서는 HA가 잘 생성된다[7]. 그러나 중성의 pH에서는 HPO_4^{3-} 이온의 농도가 높기 때문에 초기에 DCP 혹은 DCPD가 형성된다. 여기에 열을 가하게 되면 DCP의 가수분해에 의하여 각 이온이 과포화상태에 이르러 DCP가 핵형성을 위한 표면을 제공하여 더 안정한 형태인 HA로 전환된다[9]. Na_2HPO_4 전구용액은 pH가 9인 반면 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 전구용

Table 1 Crystallinity and Crystallite Size of Samples Calculated from XRD Data

Phosphate source	Concentration of Ca ²⁺ (M)	pH adjustment	Temperature (°C)	Time (h)	crystallinity (%)	crystallite size (nm)
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.1	-	60	12	37.2	38.5
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.1	-	70	6	42.7	34.5
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.1	-	80	3	44.8	30.5
Na ₂ HPO ₄	0.1	-	80	3	40.5	32.3
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.1	-	90	1	48.4	20.4
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.4	10	80	3	51.4	25.3
Na ₂ HPO ₄	0.4	12	80	3	64.1	42.9

액은 pH가 8이기 때문에 상대적으로 높은 Na₂HPO₄를 이용하였을 때 상온에서도 HA로의 가수분해가 빠르게 진행되었다. Isabel 등[15]에 따르면 더 낮은 pH용액을 만드는 H₂PO₄⁻염을 전구체로 사용하였을 때도 NH₄H₂PO₄의 경우 수일 경과 후에도 HA가 생성되지 않지만 NaH₂PO₄를 사용하였을 때는 OCP, ACP 등이 HA로 전환된다. 또한 DCP에서 HA로의 전환이 이루어진 후 pH의 감소를 확인할 수 있었다. 전구체 용액의 혼합 초기 pH는 5.4였으나 HA로의 전환 이후 pH는 4.5 이하로 감소하였다.

HA로 완전히 전환된 시료의 결정화도와 (002)면의 결정크기를 Table 1에 나타내었다. HA에서 (002)면의 피크는 다른 피크들과 떨어져있기 때문에 결정크기를 분석하기에 적합하다. 또한 (002)면은 HA의 c축방향이며 HA는 주로 c축 성장을 한다. 온도증가에 따라 결정화도가 증가하였고 결정크기는 온도에 반비례하는 경향을 보였다.

pH도 가수분해와 입자 형상에 영향을 주기 때문에[9,11] 가열 온도, 시간, 농도 조건을 일정하게 하고 pH가 인산 전구체에 따라 HA로의 전환에 어떤 영향을 끼치는지 알아보았다. 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. (NH₄)₂HPO₄를 사용하고 pH를 10으로 조정하였을 때는 40°C에서 3시간 가열하여 DCP가 HA로 모두 전환되었다. 하지만 Na₂HPO₄를 사용하였을 때는 같은 pH에서 80°C에서 3시간 가열하여도 HA로의 가수분해가 거의 일어나지 않았다. 앞의 실험들과 비교를 위해 가열 조건을 80°C에서 3시간으로 고정하고 pH에 따른 전환정도를 보았을 때 pH를 12이상으로 조정하여야만 가열 후 완전한 전환이 일어났다.

(NH₄)₂HPO₄를 사용하였을 때는 암모늄이온의 공통이온효과로 인해 pH가 높은 상태를 유지할 수 있기 때문에 상대적으로 낮은 pH에서 완전한 전환이 일어날 수 있었다[15]. 그러나 암모늄이온이 입자의 성장을 방해하고 HA의 c축 성장은 OH⁻이온의 농도가 높아야 활발해지므로 Na₂HPO₄를 사용하였을 경우가 더 높은 결정화도를 갖고 결정크기도 컸다.

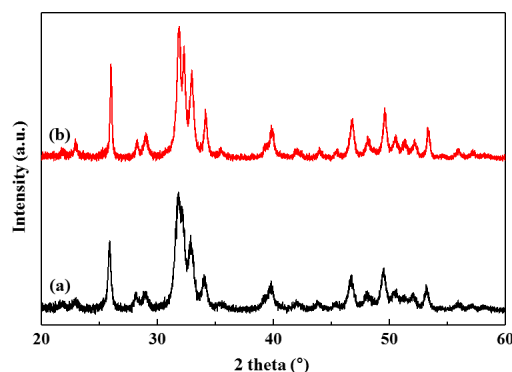


Fig. 2. XRD patterns of hydroxyapatite obtained by hydrolysis (heated at 80°C for 3 h) (a) at pH 10 using ammonium phosphate and (b) at pH 12 using sodium phosphate.

3.2. 적외선 분광 분석

Fig. 3의 (a)와 (b)는 Ca²⁺의 농도가 0.1 M이며 pH를 제어하지 않고 각각 소듐과 암모늄 인산 전구체를 사용하였을 때이고, (c)와 (d)는

Ca²⁺의 농도가 0.4 M이고 염기조건에서 각각 소듐과 암모늄 인산전구체를 사용하였을 때 완전히 HA로 전환이 일어난 시료들에 대한 FT-IR 분석 결과를 타나낸다. HA가 가지고 있는 작용기인 PO₄³⁻는 1095, 1032 cm⁻¹에서 비대칭 신축진동에 의한 [PO₄³⁻]^{v3}와 962cm⁻¹에서 대칭 변형에 의한 [PO₄³⁻]^{v4}, 603, 564 cm⁻¹에서 굽힘진동에 의한 [PO₄³⁻]^{v2}와 OH⁻는 표면의 수분과 결정 내 OH⁻에 의하여 3568, 1629 cm⁻¹와 633 cm⁻¹에서 나타났다. 칼슘-결핍 수산화아파타이트와 같은 부산물에서 발견되는 HPO₄²⁻에 대한 피크는 발견되지 않았다. 1383 cm⁻¹에서는 NO₃⁻ 피크가 발견되는데 HA 합성 시 NO₃⁻와 NH₄⁺가 포함되어 있는 혼합용액을 가열할 경우 HPO₄²⁻에서 PO₄³⁻로의 전환을 도와주며 역반응을 방지해주기 때문에 순수한 HA를 합성하는데 도움이 된다[7].

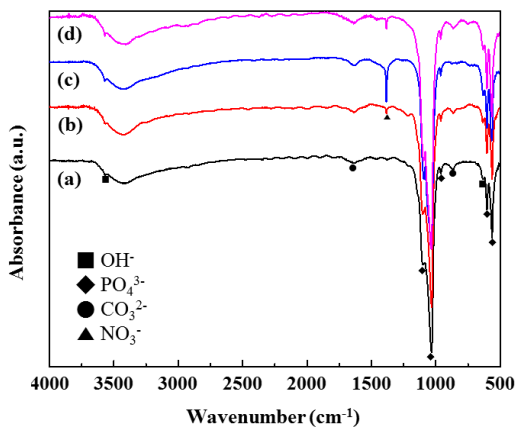


Fig. 3. FT-IR spectra of samples corresponding to perfectly conversion of dicalcium phosphate to hydroxyapatite.

3.3. 전자 현미경 분석

3.3.1 농도변화에 따른 입자의 형상

전구체의 농도가 0.1 M Ca²⁺와 0.4 M Ca²⁺일 때 같은 온도에서 같은 시간동안 가열하여 가수분해 중간과정과 최종입자의 형상을 각각 SEM 이미지를 통해 확인할 수 있다. Fig. 4 (a)에서 긴 섬유형태로 보이는 것이 HA이고 큐빅형태의 큰 입자는 DCP이다. DCP에서 HA로 전환되면서 큐빅형태의 입자에서 섬유형태로 분리되고 있다. DCP의 b축과 HA의 c축은 비슷한 길이를 갖는 Ca-PO₄사슬을 가지고 있어 구조적으로 닮아있는

데 이 사슬이 HA의 핵형성을 위한 seeding site 역할을 하여 DCP의 표면에서 축방향으로 HA가 성장하여 DCP의 위상을 승계하는 전환과정을 볼 수 있다[9]. 온도 상승에 따라서는 입자의 길이가 길고 윤곽이 뚜렷하며 분리가 잘 되는데 이는 Pang 등[10]의 연구결과에서도 확인할 수 있다. 불용성 물질의 생성속도가 빠를 때 거친 표면이 형성되는데 거친 표면은 성장속도를 증가시키는 원인이 되어 빠른 성장을 통해 규칙적이고 명확한 윤곽이 얻어진다. 따라서 상대적으로 높은 온도에서 핵형성이 일어나면 거친 표면이 만들어지고 빠른 성장을 하게 되어 균일하고 뚜렷한 윤곽을 가진 입자가 형성되고 상대적으로 성장이 빠르게 된 입자의 크기는 낮은 온도에서 만들어진 입자보다 크기가 크기 때문에 응집 경향이 적다.

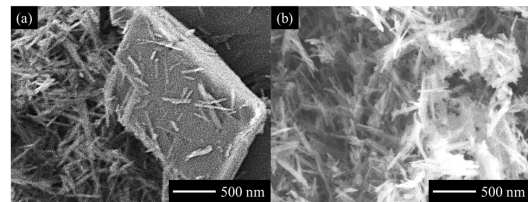
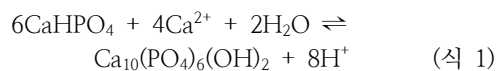


Fig. 4. SEM images of precipitates of (a) 0.4 M and (b) 0.1 M Ca²⁺ heated at 80°C for 3 h.

전구체 농도비에 따른 Ha 입자의 형상을 보여주는 Fig. 5 (a)와 (b)는 Ca/P 비가 각각 0.5와 5인 입자의 SEM 결과이다. PO₄³⁻이온의 비율이 높은 경우 판상형태의 입자가 응집되어 있다. Ito 등[11]은 충분한 양의 PO₄³⁻이온이 존재할 때 DCP로부터 HA로의 직접전이를 방해하고 DCP가 전부 용해되고 이어 HA결정이 생성되는 메커니즘을 따른다고 설명하였다. 그렇기 때문에 DCP의 위상을 계승하지 않고 판상형태의 HA 입자가 형성되었다. Ca/P비가 5인 경우 80°C에서 1시간 이내에 총형비가 작은 HA가 생성되었다. 이는 DCP에서 HA로의 전환에서 부족한 Ca²⁺이온이 과량으로 존재하여 반응의 평형이 HA쪽으로 향하기 때문으로 해석할 수 있다. 앞에서 확인한 pH 감소와 위의 사실을 바탕으로 다음과 같은 평형반응식을 가정할 수 있다.



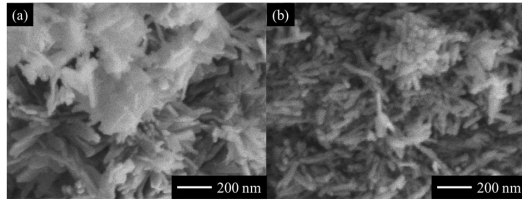


Fig. 5. SEM images of hydrolyzed samples in different initial Ca/P ratio (a) 0.5 and (b) 5.

3.3.2. pH변화에 따른 형상 변화

Fig. 6은 염기조건에서 가수분해되어 생성된 HA의 입자 형상을 나타낸 SEM 결과이다. (a)와 (c)는 Ca^{2+} 전구체의 농도가 0.1 M 이고, (b)와 (d)는 Ca^{2+} 전구체의 농도가 0.4 M 이다. 두 경우 모두 개개의 단결정은 막대모양이며 중성 혹은 약산성 조건에서 가수분해 한 경우보다 뚜렷한 결정을 형성하였다. 농도가 낮을 때에는 긴 막대의 HA결정이 서로 얽혀 불규칙한 형태의 입자가 만들어지지만 농도가 높을 때에는 짧은 막대의 HA결정이 모여 판 형태의 입자가 생성된다. 판 형태 입자의 면은 주로 HA의 c면이 노출되어 있다. 농도가 낮을 때에는 입자 성장이 빠르기 때문에 개개의 결정이 떨어져 나가지만 농도가 높을 때에는 성장 속도가 느리고 용액 내 이온이 성장을 방해하여 떨어지지 않는 채로 판형 입자를 형성하게 된다.

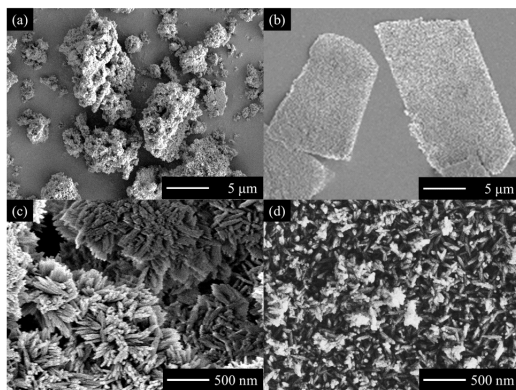


Fig. 6. SEM images of hydrolyzed samples at basic condition in different concentrations.

3.4. 입자 형상에 따른 제타전위 측정

HA결정의 a면이 노출되었을 때와 c면이 노출

되었을 때의 제타전위 값은 각각 증류수에서 1.59, -1.51 mV로 나타났고 PBS에서는 -17.8, -21.7 mV로 나타났다. c면에서는 OH^- 이온이 a면에서는 Ca^{2+} 이온이 위치하기 때문에 결정의 배향에 따라 제타전위가 달라진다. 결정의 배향을 조절하여 입자의 제타전위를 다르게 하여 입자, 단백질, 세포 등의 상호작용을 달리할 수 있다.

4. 결론

인산수소칼슘 중간체의 가수분해를 통한 수산화인회석을 합성하였고 가수분해 조건에 따른 형상의 변화와 가수분해 과정에 대하여 연구하였다. 중성에서는 인산수소칼슘이 우선적으로 침전되고 이후 열을 가해주면 인산수소칼슘의 가수분해에 의하여 용해도가 낮아 안정성이 높은 수산화인회석으로 전환되며 전환에 따라 pH가 5.4에서 4.5로 감소하였다. 또한 Ca^{2+} 의 농도가 높을수록 반응시간이 단축되었다. 따라서 (식 1)과 같은 평형 반응식을 얻을 수 있다.

인산암모늄 보다는 인산소듐을 전구체로 하였을 때가 초기 pH가 높아 가수분해 속도가 빨랐고 60°C에서는 12시간만에, 90°C에서는 1시간만에 전환이 이루어졌다. 가수분해 온도 증가에 따라 입자의 형태가 뚜렷하며 응집이 적고 결정성이 높은 입자가 형성되었다. 인산수소칼슘에서 수산화인회석으로의 전환은 판상형태의 인산수소칼슘의 한 축의 위상을 승계하여 종횡비가 긴 형태의 수산화인회석으로의 전환을 보여주었다.

염기조건에서 전구체의 농도가 낮을 때는 막대 형태의 결정이 뭉쳐 불규칙한 형태의 입자를 만들었고 농도가 높을 때는 더 짧은 결정이 배향성을 가지고 모여 c면이 더욱 노출된 판형 입자를 만들었다. 이에 따라 약 3 mV의 제타전위 차이를 만들었다.

References

1. P. N. Kumta, C. Sfeir, D. H. Lee, D. Olton, D. Choi, "Nanostructured calcium phosphates for biomedical applications: novel synthesis and characterization", *Acta Biomaterialia.*, Vol.1, No.1, pp. 65-83, (2005).

2. W. Suchanek, M. Yoshimura, "Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants", *Journal of Materials Research*, Vol.13, No.1, pp. 94-117, (1998).
3. T. G. Kim, B. Park, "Synthesis and growth mechanisms of one-dimensional strontium hydroxyapatite nanostructures", *Inorganic Chemistry*, Vol.44, No.26, pp. 9895-9901, (2005).
4. Q. J. He, Z. L. Huang, "Controlled growth and kinetics of porous hydroxyapatite spheres by a template-directed method", *Journal of Crystal Growth*, Vol.300, No.2, pp. 460-466, (2007)
5. S. S. Mehdi, M. T. Khorasani, D. K. Ehsan, A. Jarnshidi, "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structure", *Acta Biomaterialia*, Vol.9, No.8, pp. 7591-7621, (2013).
6. J. C. Elliott, *Studies in inorganic chemistry 18: structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphate.*, Elsevier, (1994).
7. A. K. Lynn, W. Bonfield, "A novel method for the simultaneous, titrant-free control of pH and calcium phosphate mass yield", *Accounts of Chemical Research*, Vol.38, No.3, pp. 202-207, (2005).
8. L. Wang, G. H. Nancollas, "Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution", *Chemical Reviews*, Vol.108, No.11, pp. 4628-4669, (2008).
9. Z. Zou, X. Liu, L. Chem, K. Lin, J. Chang, "Dental enamel-like hydroxyapatite transformed directly from monetite", *Journal of Materials Chemistry*, Vol.22, No.42, pp. 22637-22641, (2012).
10. Y. X. Pang, X. Bao, "Influence of temperature, ripening time and calcination on the morphology and crystallinity of hydroxyapatite nanoparticles.", *Journal of the European Ceramic Society*, Vol.23, No.10, pp. 1697-1704, (2003).
11. H. Ito, Y. Oaki, H. Imai, "Selective synthesis of various nanoscale morphologies of hydroxyapatite via an intermediate phase", *Crystal Growth and Design*, Vol.8, No.3, pp. 1055-1059, (2008).
12. E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, "Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites", *Journal of European Ceramic Society*, Vol.20, pp. 2377-2387, (2000).
13. M. Aizawa, T. Matsuura, Z. Zhuang, "Synthesis of single-crystal apatite particles with preferred orientation to the a- and c-axes as models of hard tissue and their applications", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Vol.36, No.11, pp. 1654-1661 (2013).
14. G. K. Toworfe, R. J. Composto, I. M. Shapiro, P. Ducheyne, "Nucleation and growth of calcium phosphate on amine-, carboxyl- and hydroxyl-silane self-assembled monolayers", *Biomaterials*, Vol.27, No.4, pp. 631-642, (2006).
15. I. Lopez-Valero, C. Gomez-Lorente, R. Boistelle, "Effect of sodium and ammonium ions on occurrence, evolution and crystallinity of calcium phosphates", *Journal of Crystal Growth*, Vol.121, No.3, pp. 297-304, (1992).