

Suitability evaluation of magnesium substituted biphasic calcium phosphates prepared by coprecipitation method

Hyoung-Sin Lee, Tae-Wan Kim, Dong-Hyun Kim, Hong-Chae Park and Seog-Young Yoon[†]

School of Materials Science Engineering, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

(Received September 28, 2010)

(Revised October 8, 2010)

(Accepted October 11, 2010)

Abstract Magnesium-substituted BCP (biphasic calcium phosphate) powders were prepared by incorporating small amounts of magnesium into the structure of different hydroxyapatite (HAp)/ β -tricalcium phosphate (β -TCP) ratios through coprecipitation method. A series of magnesium substitutions ranging from 0, 0.5, and 1.0 wt%, which are comparable to the measured magnesium contents, were performed. The obtained powders were characterized by the following analytical techniques: X-ray diffraction analysis (XRD), Thermo Gravimetric Analyzer (TGA) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The results have shown that substitution of magnesium in the calcium-deficient apatites resulted in the formation of biphasic mixtures of different HAp/ β -TCP ratios after heating above 1000°C. The 1.0 wt% magnesium-substituted-BCP were soaked in Hank's solutions after 2 weeks to observe the morphology of the biocement, especially needle-like hydroxyapatite crystals and to estimate the length and diameter of nanoneedle crystals.

Key words Magnesium, Biphasic calcium phosphate, Hydroxyapatite, β -Tricalcium phosphate

공침법을 이용한 마그네슘이 첨가된 biphasic calcium phosphate의 적합성 평가

이형신, 김태완, 김동현, 박흥채, 윤석영[†]

부산대학교 재료공학부, 부산, 609-735

(2010년 9월 28일 접수)

(2010년 10월 8일 심사완료)

(2010년 10월 11일 게재확정)

요약 Mg-BCP(Mg Substituted BCP)를 제조하기 위하여 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Katayama chemical, Japan)과 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Junsei chemical, Japan), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Junsei chemical, Japan)를 출발물질로 공침법(co-precipitation process)을 이용하여 합성하였다. 제조된 분말의 마그네슘의 첨가에 따른 분말의 분광학적 특성은 FT-IR(MAGNA-IR 560, Nicolet)을 통하여 분석하였으며, SEM(S-4200, Hitachi)을 통하여 미세구조를 분석하였다. XRD 회절피크의 면적적분강도를 Integral Analysis (Rigaku, Japan)를 이용하여 HAp와 β -TCP의 비율을 확인하였다. 1.0 wt% 마그네슘이 첨가된 BCP 샘플의 경우 Hank's solution에서의 2주 침적 후 표면에 침상의 HAp로 추정되는 결정이 성장하였다. 이러한 미세구조의 변화는 생활성을 가지는 마그네슘의 첨가가 BCP 조직 내에서 표면의 활성을 증가시켜 결정의 성장을 촉진시킨 것으로 판단된다.

1. 서론

최근 뼈의 결합 및 손상을 복원하기 위해서 인산칼슘 계열의 세라믹 재료들이 많은 주목을 받고 있다. 이들 인산칼슘계 세라믹 재료 중 수산화인회석(Hydroxyapatite; HAp)과 β -삼인산칼슘(Tricalcium phosphate; β -TCP)은

생체적합성과 인체 골조직과의 화학적, 물리적인 유사성으로 인하여 많은 연구가 이루어져 왔다[1-5]. 하지만 치밀한 HAp는 생체 내에서 용해율이 낮아 숙주 결합 조직 내에서 면역반응 없는 이물질로서 작용하여 신생골 형성을 위한 지지체로 기능을 하지 못하고[2, 3, 6], β -TCP는 체액과 여러 용액에서 쉽게 흡수되어 골성장을 위한 골격을 예견성 있게 제공할 수 없어, 순수한 HAp나 β -TCP의 사용은 임상적으로 한계가 있다고 보고되고 있다[7, 8]. 따라서 HAp의 안정성과 β -TCP의 높은 용해율을 적절히 혼합하여 골전도성은 유지하면서 재료의 흡

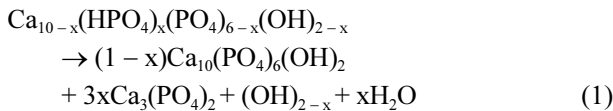
[†]Corresponding author

Tel: +82-51-510-2487

Fax: +82-51-512-0528

E-mail: syy3@pusan.ac.kr

수성을 조절한 이상인삼칼슘(Biphasic Calcium Phosphate; BCP)이 골이식 재료로서 장점을 지닐 수 있는 것으로 제시되었다. BCP는 HAp/ β -TCP의 비율을 조절하여 재료의 생체활성이나 흡수성을 조절할 수 있어 현재 치과나 정형외과 영역에서 임상적으로 성공적으로 이용되고 있다[9]. 생체 내에서 최적의 골전도성을 나타내기 위한 HAp/ β -TCP의 비율은 명확히 제시되어 있지 않으나 약 60 : 40의 HAp/ β -TCP의 비율이 적절한 것으로 제시되었다[10, 11]. 특히 최근에는 마그네슘이 치환된 아파타이트 상의 무기화 처리 영향과 HAp 내에서의 결정 형성과 성장이 주요한 이슈가 되고 있다[12, 13]. HAp 격자 구조는 다양한 원소가 쉽게 치환 될 수 있는 구조를 가지고 있다. 이러한 경우 분말의 결정성, 입자의 형상, 격자의 길이, 열적성질이 변화하게 된다. 이러한 치환 인자로는 양이온(Mg^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+})과 음이온(SiO_4^{4-} , F^- , CO_3^{2-})이 주로 이용된다. 양이온 치환 인자 중 인체 내에 4번째로 많은 양이온인 마그네슘(0.44~1.23 wt%)이 가장 널리 연구되고 있다[14, 15]. 게다가 골 내에 마그네슘이 결핍될 경우 모든 단계의 뼈의 신진대사와 골아세포의 골성장 및 활동성을 감소시키고, 골의 강도를 약화시킨다[16]. 이에 calcium deficient HAp[d-HAP, $Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$; $0 = x = 1$] 격자 내에 마그네슘을 치환시키면 Mg^{2+} 가 격자 내에서 아파타이트의 결정성을 감소시키고 열적안정성과 β -TCP 형성에 영향을 주어 Ca/P가 1.5와 1.67 범위의 다양한 BCP를 형성하게 한다[17, 18].



그러나 마그네슘이 치환된 BCP를 제작할 경우 정량적으로 정확히 혼재된 구조를 만들기 어렵다. Mg^{2+} 치환되는 양을 조절하여서 결정성, 용해도, 입자의 형상, 나노 입자 합성에 결과적으로 사용 할 수 있다[9].

본 연구에서는 공침법을 이용하여 일반적으로 생체 내에서 골전도성이 우수한 비율로 알려진 HAp/ β -TCP의 비율이 60 : 40인 BCP 분말을 합성하고 뼈의 신진대사와 골아세포의 골성장 및 활동성을 증가시키는 마그네슘이 0.5 wt%, 1.0 wt% 치환된 BCP 분말을 합성하였다. X-선 회절분석을 통하여 공침물의 결정성을 동정하고, 1000°C 하소 후 BCP의 Ca/P 몰분율을 X-선 회절분석을 이용하여 적분강도 값을 구한 후 비교 분석하였다. 또한 마그네슘 첨가량에 따른 결정성, 열적 특성, 분광학적 특성, 미세구조를 관찰하였다. 생체유사 마그네슘의 첨가에 따른 생체유사 체액에서의 분해 및 생성 거동을 Hank's solution에 침적 후 그 변화를 관찰하였다.

2. 실험방법

Mg-BCP(Mg Substituted BCP)를 제조하기 위하여 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (Katayama chemical, Japan)과 $(NH_4)_2HPO_4$ (Junsei chemical, Japan), $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (Junsei chemical, Japan)를 출발물질로 공침법(co-precipitation process)을 이용하여 합성하였다. BCP(HAp : β -TCP = 60 : 40)의 Ca/P 몰 비율인 1.602를 유지하기 위하여 $(Ca+Mg)/P$ 를 1.602로 하여 마그네슘을 0.5 wt%, 1.0 wt% 치환하였다. 이를 위해서 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 과 $(NH_4)_2HPO_4$, $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 를 정량으로 각각의 수용액을 제조하였다. 300 ml의 탈 이온 증류수(distilled water)에 $(NH_4)_3HPO_4$ 를 용해시킨 후 NH_3 를 적가하여 pH 11 ± 0.1 로 조절하였으며, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 와 $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 를 피펫을 통하여 적가하여 혼합교반 시켰다. 이때 혼합 시 변화하는 pH를 NH_3 를 적가하여 pH 11 ± 0.1 로 유지시켜 공침시켰다. 제조된 공침액을 2시간 교반 후 상온에서 24시간 동안 시효처리 시켰다. 현탁액에서 공침물을 분리하기 위하여 여과한 후 미반응 불순물을 제거하기 위하여 증류수로 수차례 수세하고 공침물을 건조하기 위하여 진공건조기에서 80°C로 고정하여 12시간 건조하였다. 건조된 분말을 400 mash 체가름 하였다.

생성된 분말의 열처리 전 공침물 상태의 결정성을 알아보기 위하여 XRD(D/max-IIA, Rigaku)를 사용하여 생성물의 상 분석을 행하고, 마그네슘 첨가에 따른 열적 거동을 파악하기 위해 TGA(DTG-60, Shimadzu) 이용하여 열분석 하였다. Mg-BCP 분말을 제조하기 위하여 공침 후 건조된 분말을 1000°C(승온 속도 1°C/min)에 2시간 열처리하여 제조하였다. 제조된 분말의 마그네슘 첨가에 따른 분말의 분광학적 특성은 FT-IR(MAGNA-IR 560, Nicolet)을 통하여 분석하였으며, SEM(S-4200, Hitachi)을 통하여 미세구조를 분석하였다. XRD 회절피크의 면적적분강도를 Integral Analysis(Rigaku, Japan)를 이용하여 HAp와 β -TCP의 비율을 확인하였다. 마그네슘 첨가에 따른 생체활성 평가를 위하여 공침 후 건조된 분말을 Φ ;10 mm \times h;10 mm의 펠렛으로 제조하여 1000°C(승온 속도 1/min)에 2시간 열처리한 후 Hank's solution에 2주간 침적 후 표면의 미세구조를 SEM을 통하여 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

BCP(HAp : β -TCP = 60 : 40)의 Ca/P 몰 비율인 1.602를 유지하기 위하여 공침시킨 공침물을 건조 후 측정된 XRD 패턴을 Fig. 1에 나타내었다. 마그네슘을 첨가하지 않은 BCP 분말과 0.5 wt%, 1.0 wt%를 첨가한 공침 분

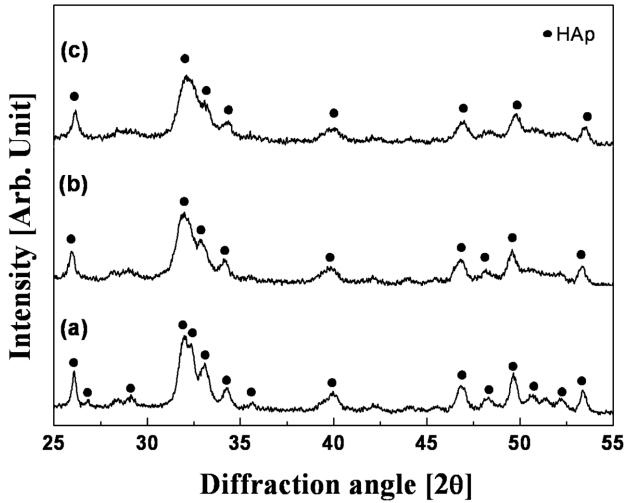


Fig. 1. XRD patterns of coprecipitate powders; (a) BCP, (b) 0.5 wt% Mg-BCP, (c) 1.0 wt% Mg-BCP.

말 모두에서 HAp 회절 패턴을 나타내었다. 그러나 마그네슘이 첨가된 경우에 첨가되지 않은 경우에 비하여 회절 peak가 완만해지고 회절 강도가 감소하는 경향이 나타났다. 이는 공침 반응을 통하여 공침물 내에서 Ca^{2+} 가 Mg^{2+} 로 치환되어 마그네슘의 농도가 증가함에 따라 칼슘 결손이 일어나고, 공침분말의 결정성이 감소하여, 회절 peak가 완만해진 것으로 판단되어 진다. 그러나 마그네슘의 치환에 따른 XRD 회절패턴에서는 HAp 결정상 외에 다른 결정상은 나타나지 않았다. 이는 공침법에 의한 HAp 합성의 경우 공침분말의 Ca/P 몰 비율이 1.67 보다 적어도 얻어지는 공침분말은 HAp 회절 패턴이 나타난다는 앞선 연구결과와도 일치한다[20].

마그네슘 첨가에 따른 공침반응물의 열적 변화를 알아보기 위하여 산화분위기에서 온도변화에 따른 중량 변화

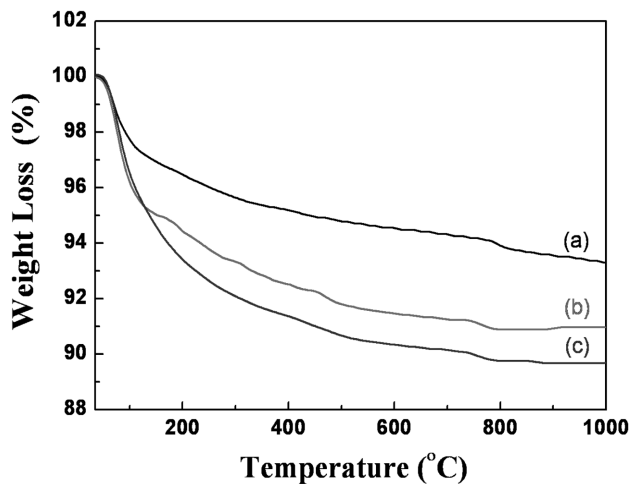


Fig. 2. TGA curve of coprecipitate powders; (a) BCP, (b) 0.5 wt% Mg-BCP, (c) 1.0 wt% Mg-BCP.

를 TGA(Thermo Gravimetric Analyzer)를 이용하여 관찰한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 상온에서 1000°C 까지 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 의 속도로 승온하면서 측정된 결과 상온에서 250°C 까지는 4~7% 내외의 중량변화가 나타난다. 이는 공침 분말의 표면에 흡착된 수분의 증발로 여겨지며, 마그네슘을 첨가한 경우 첨가하지 않은 분말에 비하여 그 중량 변화는 두드러지게 나타났다. $600\sim 800^{\circ}\text{C}$ 온도구간에서의 중량변화는 공침분말의 열에 의한 구조변화를 동반하여 OH^{-} 결합이 감소한 결과로 여겨지며, 이러한 구조변화는 아래의 식(2)로 나타낼 수 있다.

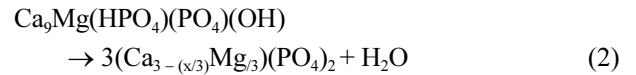


Fig. 3은 공침분말을 1000°C 열처리 한 후 생성된 분말의 XRD 회절 패턴을 나타낸 것이다. 열처리 결과 마그네슘 첨가 유무에 관계없이 본 연구에서 얻고자 하는 HAp : β -TCP = 60 : 40 BCP 분말의 회절 패턴을 나타내었다. 2θ 와 d-spacing 값을 보면 모든 샘플에서 JCPDS #74-0566의 HAp의 (211)면과 JCPDS #09-0169의 β -TCP의 (0210)면이 나타남을 관찰할 수 있었다. 또한 마그네슘의 첨가에 따라 BCP 회절 패턴의 peak 강도가 감소하는 경향이 나타났다. 이는 Fig. 1의 마그네슘이 첨가됨에 따라 Ca^{2+} 가 Mg^{2+} 로 치환되어 결정성이 감소하는 경향과 일치한다. 또한 공침분말의 열분석 결과 $600\sim 800^{\circ}\text{C}$ 부근의 중량변화가 구조변화를 동반하고 Mg^{2+} 가 HAp 격자 내에 Ca^{2+} 를 대체하여 치환되면 HAp의 결정성이 감소하는 반면 β -TCP가 열적으로 안정화되어 α -TCP의 생성 온도가 1125°C 이상으로 증가하게 되어 1000°C 열처리를 통하여 본 연구에서 얻고자 하는 HAp : β -TCP = 60 : 40의 분말을 얻을 수 있었다[21].

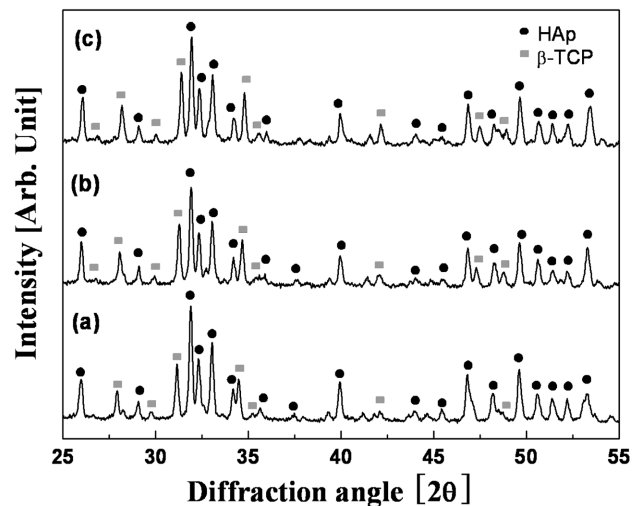


Fig. 3. XRD patterns of as-calcined powders; (a) BCP, (b) 0.5 wt% Mg-BCP, (c) 1.0 wt% Mg-BCP.

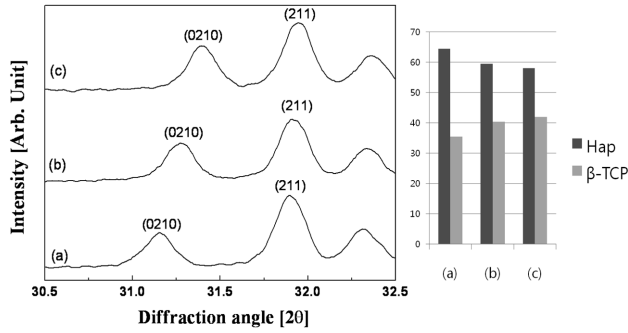


Fig. 4. Integral intensity of as-calcined powders calculated from XRD patterns; (a) BCP, (b) 0.5 wt% Mg-BCP, (c) 1.0 wt% Mg-BCP.

Fig. 4는 Fig. 3의 XRD 회절 패턴 결과를 확대하여 측정을 통해 얻어진 결과를 토대로 계산된 적분 강도 값 및 화학적 분석(정량분석)과 XRD 결과에 의한 HAp:β-TCP 비율의 관계를 나타낸 그림이다. 적분 강도 값은 Rigaku integral analysis 프로그램을 통해 분석하였다. 이때 측정범위는 β-TCP 상의 경우 2θ 범위 중 30.7~31.3°에서 계산하였고, HAp 상의 경우 31.7~32.3°에서 계산하였다. 적분 강도 값을 (Eq. 3)에 대입하여 부피 분율을 나타낸 다음 XRD 측정값에 의한 HAp:β-TCP 비율을 구하였다.

$$V_{\beta\text{-TCP}} = \frac{I_{\beta\text{-TCP}}}{I_{\beta\text{-TCP}} + I_{\text{HAp}}} \quad (3)$$

HAp:β-TCP 비율을 계산한 결과 마그네슘이 첨가됨에 따라 β-TCP 비율이 증가하는 것으로 나타났다. 이는 Ca²⁺에 Mg²⁺가 치환되면서 HAp의 결정성을 떨어지고 상대적으로 β-TCP의 결정성은 향상되는 결과에 기인한 것이다. 또한 Mg²⁺의 이온반경은 0.85 Å으로 Ca²⁺의 이온반경인 1.14 Å에 비하여 작으므로 이온화 에너지에 의한 결합력이 증가한다. 이로 인해 이온결합인 Mg²⁺ 양이온과 PO₄³⁻ 음이온의 결합이 증가하여 OH⁻ 결합을 상대적으로 배제하여 마그네슘의 첨가량이 증가할수록 β-TCP의 비율이 증가하는 것으로 판단된다.

마그네슘 첨가에 따른 BCP 분말의 1000°C 열처리 후

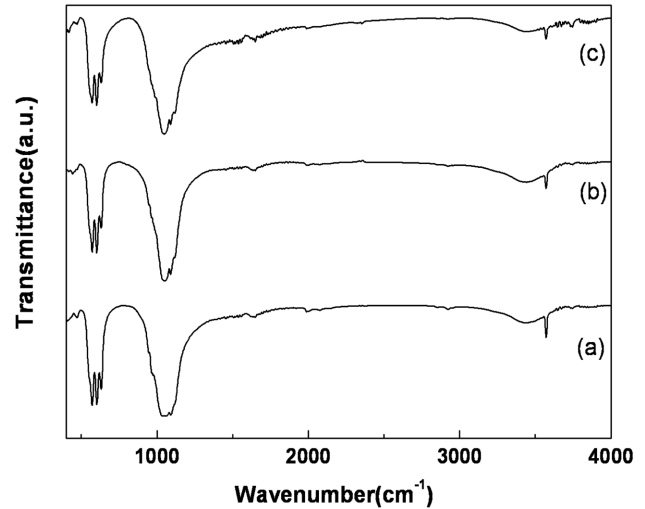


Fig. 6. FT-IR spectra of as-calcined powders; (a) BCP, (b) 0.5 wt% Mg-BCP, (c) 1.0 wt% Mg-BCP.

의 미세구조를 Fig. 5에 나타내었다. 마그네슘을 첨가하지 않은 BCP 분말과 마그네슘이 0.5 wt%, 1.0 wt% 첨가된 Mg-BCP 분말의 미세구조에는 큰 차이를 보이지 않는다. 그러나 열적으로 안정한 상인 β-TCP의 비율이 증가함으로써 내부의 공극이 작아지는 경향을 관찰할 수 있었다.

공침분말의 1000°C 열처리 후의 마그네슘 첨가에 따른 분광학적 특성을 알아보기 위하여 FT-IR을 측정하여 Fig. 6에 나타내었다. 모든 샘플에서 602 cm⁻¹, 567 cm⁻¹인 ν₄PO₄³⁻ bend와 504 cm⁻¹인 ν₂PO₄³⁻ bend와 3570 cm⁻¹의 OH⁻ stretching의 값의 감소를 통해 이를 확인할 수 있다. FT-IR 결과에서 마그네슘 첨가량이 증가할수록 OH와 PO₄ bend가 감소하는 경향을 나타내는데 이는 Fig. 1, Fig. 3의 XRD 결과와 Fig. 2의 TGA 결과를 뒷받침하는 결과이다. 또한 3300~3600 cm⁻¹ 범위는 수분의 흡수영역으로 마그네슘의 첨가량이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내는데 이는 마그네슘이 첨가됨에 따라 β-TCP의 비율이 증가하여 나타나는 결과로 사료된다.

생활성 마그네슘의 첨가에 따른 생체 유사체액에서의

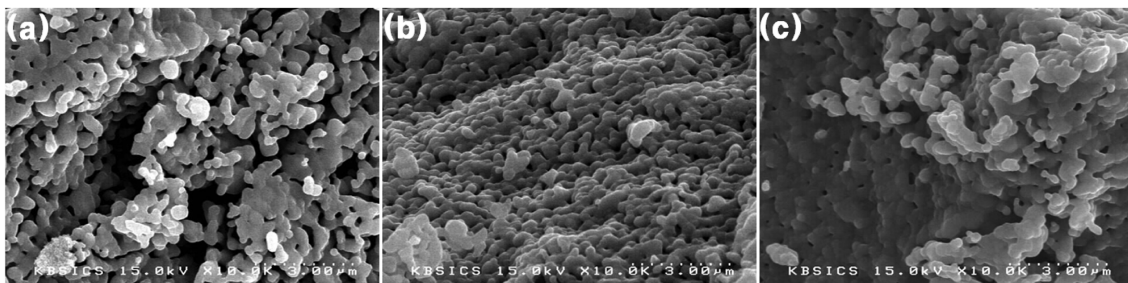


Fig. 5. SEM micrographs of as-calcined powders; (a) BCP, (b) 0.5 wt% Mg-BCP, (c) 1.0 wt% Mg-BCP.

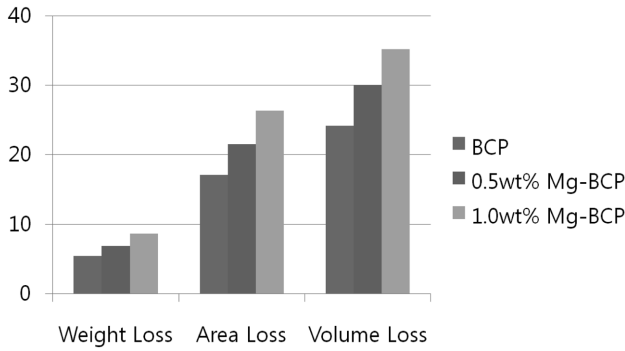


Fig. 7. Physical properties of Mg-BCP pallets sintered at 1000°C.

분해 및 생성 거동을 알아보기 위하여 공침분말을 펠렛으로 제작하여 1000°C 열처리 한 후 샘플의 수축률을 비교한 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 마그네슘이 첨가되지 않은 BCP 샘플과 비교하여 마그네슘이 첨가된 샘플의 경우 열처리 후의 무게변화가 두드러지며, 면적 수축률과 부피 수축률이 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 Fig. 2의 결과에서와 같이 온도에 따른 중량변화가 마그네슘의 첨가에 따라 증가하고 HAp 보다 열적으로 안정한 β -TCP가 마그네슘의 치환으로 증가되었기 때문인 것으로 사료된다.

Fig. 8은 생활성을 가지는 마그네슘의 첨가를 통하여 생체유사체액인 Hank's solution에서의 2주 침적 후 표면의 미세조직 변화를 관찰한 것이다. 마그네슘을 첨가하지 않은 BCP 샘플과 0.5 wt%의 마그네슘이 첨가된 BCP 샘플의 경우 Hank's solution에서의 2주 침적 후 특이한 변화가 관찰되지 않았으나, 1.0 wt%의 마그네슘이 첨가된 BCP 샘플의 경우 표면에 침상의 HAp로 추정되는 결정이 성장하였다. 이러한 미세구조의 변화는 생활성을 가지는 마그네슘의 첨가가 BCP 조직 내에서 표면의 활성을 증가시켜 결정의 성장을 촉진시킨 것으로 판단된다. 생체유사체액에서의 미세구조 발달에 영향을 미치는 마그네슘의 정량에 관한 연구는 추후 논의되어야 할 것으로 예상된다.

4. 결 론

본 연구에서는 HAp: β -TCP의 비율을 60:40의 마그네슘이 첨가된 이상인삼칼슘(Biphasic Calcium Phosphate; BCP)을 공침법을 이용하여 합성하였다. Ca^{2+} 이온이 Mg^{2+} 이온으로 치환되어 Mg-BCP가 얻어졌으며, XRD 결과에서 보듯이, 마그네슘의 첨가량이 증가함으로써 2 θ , d-spacing 값이 이동되었다. 이러한 결과는 TGA, FT-IR 결과와도 일치한다. 마그네슘이 첨가된 BCP의 경우 마그네슘이 첨가됨에 따라 β -TCP로의 상전이가 촉진되어 정량의 HAp: β -TCP의 비율을 유지하기 어려운 단점이 있다. 또한 펠렛 제작 후 샘플의 열처리를 통하여 수축률을 측정한 결과 마그네슘이 첨가된 경우 높은 수축률을 나타내었다. Hank's solution 침적을 통하여 마그네슘의 활성에 따른 표면의 미세구조의 변화를 관찰한 결과 1.0 wt% 마그네슘이 첨가된 BCP 샘플의 표면에서 침상의 HAp로 추정되는 결정이 성장하였다. 이러한 결과로 Mg-BCP의 제조는 마그네슘의 생활성과 HAp의 안정성 및 β -TCP의 분해성으로 인하여 생체재료로서의 그 응용 가치가 충분하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과입니다.

참 고 문 헌

- [1] T. Han, F.A. Carranza Jr and E.B. Kenney, "Calcium phosphate ceramics in dentistry: a review of the literature", J. West Soc. Periodontol Periodontal Abstr. 32 (1984) 80.
- [2] S.J. Froum, L. Kushner, I.W. Scopp and S.S. Stahl, "Human clinical and histologic responses to Durapatite implants in intraosseous lesions. Case reports", J Periodontol. 53 (1982) 719.

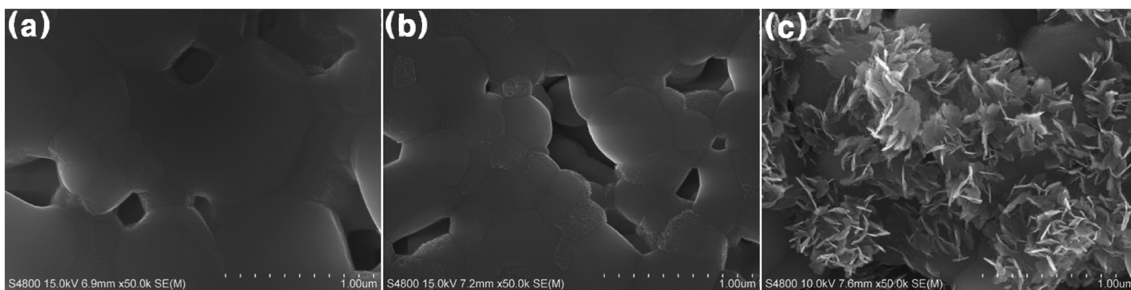


Fig. 8. SEM micrographs of the surface of the Mg-BCP pallets after soaking in Hank's solution for 2 weeks; (a) BCP, (b) 0.5 wt% Mg-BCP, (c) 1.0 wt% Mg-BCP.

- [3] B.S. Moskow and A. Lubarr, "Histological assessment of human periodontal defeat after durapatite ceramic implant. Report of a case", *J Periodontol.* 54 (1983) 455.
- [4] M.P. Levin, L. Getter, J. Adrian and D.E. Cutright, "Healing of periodontal defects with ceramic implants", *J Clin Periodontol.* 1 (1974) 197.
- [5] R.A. Yukna, B.G. Harrison, R.F. Caudill, et al., "Evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects. II. Twelve month reentry results", *J Periodontol.* 56 (1985) 540.
- [6] R.F. Ellinger, E.B. Nery and K.L. Lynch, "Histological assessment of periodontal osseous defects following implantation of hydroxyapatite and biphasic calcium phosphate ceramics: a case report", *Int J Periodontics Restorative Dent.* 6 (1986) 22.
- [7] M. Jarcho, "Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics", *Clin Orthop Relat Res.* 157 (1981) 259.
- [8] D. Buser, B. Hoffmann, J.P. Bernard, et al., "Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs", *Clin Oral Implants Res.* 9 (1998) 137.
- [9] E.B. Nery, R.Z. LeGeros, K.L. Lynch and K. Lee, "Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects", *Periodontol.* 63 (1992) 729.
- [10] R.Z. LeGeros, S. Lin, R. Rohanizadeh, D. Mijares and J.P. LeGeros, "Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications", *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 14 (2003) 201.
- [11] G. Daculsi, R.Z. LeGeros, M. Heughebaert and I. Barbieux, "Formation of carbonate-apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics", *Calcif Tissue Int.* 46 (1990) 20.
- [12] C. Ergun, T.J. Webster, R. Bizias and R.H. Doremus, "Hydroxylapatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium. I. Structure and microstructure". *J. Biomed. Mater. Res.* 59 (2002) 305.
- [13] A. Creedon, A. Flynn and A. Cashman, Br, "The effect of moderately and severely restricted dietary magnesium intakes on bone composition and bone metabolism in the rat", *British Journal of Nutrition.* 82 (1999) 63.
- [14] K. Lilley, U. Gbureck, J. Knowles, D. Farrar and J. Barralet, "Cement from magnesium substituted hydroxyapatite", *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 16 (2005) 455.
- [15] W.L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R.E. Riman, V.F. Janas and K.S. TenHuisen, "Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical-hydrothermal method", *Biomaterials.* 25 (2004) 4647.
- [16] M. Percival, "Bone health & osteoporosis", *Appl. Nutr. Sci. Rep.* 5(4) (1999) 1.
- [17] O. Gauthier, J.M. Bouler, E. Aguado, P. Pilet and G. Daculsi, "Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth", *Biomaterials.* 19 (1998) 133.
- [18] R.Z. LeGeros, "Calcium phosphates in oral biology and medicine, in: H.M. Myers (Ed.)", *Monographs in Oral Science*, Karger, Basel (1991) 31.
- [19] K. Ishikawa, P. Ducheyne and S. Radin, "Determination of the Ca/P ratio in calcium-deficient hydroxyapatite using X-ray diffraction analysis", *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 4 (1993) 165.
- [20] S.R. Kim, J.H. Lee, Y.T. Kim, D.H. Riu, S.J. Jung, Y.J. Lee, S.C. Chung and Y.H. Kim, "Synthesis of Si, Mg Substituted Hydroxyapatites and their Sintering Behaviors", *Biomaterials* 24 (2003) 1389.
- [21] S. Kannan, I.A.F. Lemos, J.H.G. Rocha and J.M.F. Ferreira, "Synthesis and characterization of magnesium substituted biphasic mixtures of controlled hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate ratios", *Journal of Solid State Chemistry* 178 (2005) 3190.