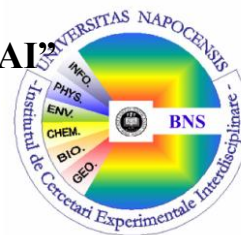




UNIVERSITATEA „BABEȘ –BOLYAI”

FACULTATEA DE FIZICĂ



CAMIL CIPRIAN MIREȘTEAN

Studiul unor compozite nanostructurate de hidroxiapatită cu oxizi de fier de interes biomedical

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Coordonator științific
Prof. dr. Simion SIMON**

Cluj-Napoca, 2013

UNIVERSITATEA „BABEȘ –BOLYAI”

FACULTATEA DE FIZICĂ

CAMIL CIPRIAN MIREȘTEAN

**Studiul unor compozite nanostructurate
de hidroxiapatită cu oxizi de fier de interes
biomedical**

Rezumatul tezei de doctorat

**Coordonator științific
Prof. dr. Simion SIMON**

Cluj-Napoca, 2013

Cuprins

Argument	3
1. Prepararea probelor	5
1.1. Hidroxiapatita dopată cu fier preparată prin precipitare	5
1.2. Hidroxiapatita dopată cu fier preparată prin metoda sol-gel	5
2. Probele preparate prin metoda precipitării	6
2.1. Difrakția de raze X	6
2.2. Rezonanța paramagnetică electronică	8
2.3. Rezonanța magnetică nucleară	9
2.4. Stabilitatea probelor în SBF	12
2.5. Concluzii	14
3. Probele preparate prin metoda sol-gel	15
3.1. Analiza termică diferențială și termogravimetrică	16
3.2. Difrakția de raze X.	17
3.3. Rezonanța paramagnetică electronică	18
3.4. Rezonanța magnetică nucleară	20
3.5. Stabilitatea probelor în SBF	22
3.6. Concluzii	23
4. Efectele atmosferei de tratament termic asupra proprietăților probelor	24
4.1. Analize termice	24
4.2. Difrakția de raze X	25
4.3. Rezonanța paramagnetică electronică	26
4.4. Concluzii	27
Concluzii generale	29
Bibliografie selectivă	30

Cuvinte cheie:

Hidroxiapatită, oxizi de fier superparamagnetici, RMN, RPE, hipertermie.

Argument

Circumscrisă interdisciplinarității de tip aplicativ, lucrarea de față își propune determinarea proprietăților structurale ale hidroxiapatitei dopate cu fier, biomaterial susceptibil a fi utilizat în tratamentul oncologic datorită capacității sale de a produce supraîncălzirea țesuturilor aflate în relație de proximitate, prin conversia energiei undelor de radiofrecvență în energie termică. Hidroxiapatita, considerată cea mai importantă dintre ceramicile pe bază de fosfat de calciu, și-a găsit în ultimii 20 ani semnificative aplicații datorită biocompatibilității sale și biodegradabilității extrem de reduse.

După implanturile osoase realizate de chirurgia ortopedică și tratamentele unor leziuni parodontale, hidroxiapatita dopată controlat cu un material feromagnetic, deschide și posibilitatea uzului oncologic, în condițiile în care își conservă structura în mediul biologic chiar la temperaturi ridicate. Întrucât tratamentul tumorilor presupune contactul biomaterialului cu organismul viu pe o durată prelungită și adaptarea acestuia la particularitățile diverselor componente ale corpului omenesc, s-a impus efectuarea unor măsurători pentru identificarea structurii rezultate după o prealabilă impurificare controlată a hidroxiapatitei și după aplicarea unor tratamente termice la diverse temperaturi și în diverse atmosfere. Aceasta pentru că, reușita actului medical presupune un material cu proprietăți ușor feromagnetice, chiar dacă matricea de bază este un material diamagnetic.

Posibilitățile încălzirii biomaterialului introdus într-o cavitate naturală sau realizată chirurgical în interiorul organismului uman sunt diverse, cu avantaje și dezavantaje specifice, în funcție de modalitățile de realizare, de poziționare etc. Temperatura țintă pentru a obține hipertermie cu efect tumoricid este cuprinsă între 42°C și 44°C, valori dincolo de care se pot produce necroze, cu eliminări de compuși toxici. Este necesar deci, controlul atent al temperaturilor înregistrate, fie prin utilizarea unor senzori de temperatură în vecinătatea implantului, fie prin realizarea unor aliaje care își păstrează proprietățile feromagnetice numai la temperaturi Curie cuprinse în limitele amintite mai sus. Practic, încălzirea biomaterialului implantat se poate realiza cu ajutorul undelor electromagnetice de radiofrecvență obținute de la un generator situat în afara corpului supus hipertermiei.

Probele de hidroxiapatită dopată cu fier care să posede un cuplu de proprietăți biofuncționale/biocompatibile superioare celor cunoscute până acum au fost realizate la *Institutul de Cercetări Interdisciplinare în Bio-Nano-Științe al Universității „Babeș-Bolyai”*.

Studiul eșantioanelor obținute s-a efectuat prin metode diverse, un rol determinant între acestea avându-l rezonanța paramagnetică electronică care permite inclusiv estimarea proprietăților magnetice ale acestora.

În majoritatea cazurilor, rezultatele atestă, aplicabilitatea medicală cu risc minim de producere a unor reacții adverse la contactul cu mediile biologice.

1. Prepararea probelor

1.1. Hidroxiapatita dopată cu fier preparată prin precipitare

Pentru prepararea hidroxiapatitei dopate cu oxid de fier, $\{(x\text{Fe}_2\text{O}_3) \cdot (100-x)[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]\}$, sunt necesare substanțe chimice cu grad de puritate analitică¹. S-au preparat din $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ și $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, H_2O distilată, soluții de concentrații 0,2 molar (0,2 M) care au fost adăugate sub formă de picături la o soluție apoasă (0,2 M) de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, încălzită la aproximativ 90°C , sub agitare continuă, timp de 3 ore, urmărind obținerea hidroxiapatitei prin metoda precipitării chimice². În scopul pregătirii pentru efectuarea măsurătorilor, precipitatul obținut a fost spălat cu apă caldă, la 90°C și ulterior uscat în etuvă la 120°C .

Setul de probe astfel obținut are concentrația de fier exprimată în procente de greutate: 0.1; 0.2; 0.5; 1; 5 % Fe_2O_3 .

1.2. Hidroxiapatita dopată cu fier preparată prin metoda sol-gel

Metodele sol-gel sunt utilizate mai ales atunci când se urmărește prepararea unor sisteme oxidice la temperaturi relativ coborâte³. Solul reprezintă o dispersie coloidală de particule într-un lichid, în care acestea manifestă tendința naturală de apropiere, de formare a unor agregate, nedorite de cele mai multe ori, motiv pentru care se procedează adesea la stabilizarea acestui coloid⁴. Procesul este realizabil prin adăugarea unui peptizant (de obicei un acid) care determină formarea unui strat de sarcină electrică în jurul fiecărei particule din suspensie. Datorită existenței acestuia, se produce respingerea coulombiană reciprocă, astfel încât este exclusă orice apropiere între respectivele particule.

În vederea consolidării, coloidul este gelat, realizându-se o rețea tridimensională continuă, rețea ce nu s-ar putea obține altfel (prin simpla precipitare), deoarece există tendința formării agregatelor mari, dar discrete.

Gelul umed are spațiile interstițiale umplute cu lichid, care trebuie eliminat, în vederea obținerii gelului uscat. Această eliminare necesită precauții deosebite, deoarece operația de vaporizare determină apariția unor forțe capilare, sub acțiunea cărora apare pericolul unor fisuri la o evaporare agresivă. Evitarea acestui neajuns poate fi realizată prin uscarea probelor la temperaturi moderate. Pentru prepararea probelor cu concentrațiile molare cuprinse între 10-50 % Fe_2O_3 , s-au folosit aceleași soluții ca în metoda precipitării.

2. Probele preparate prin metoda precipitării

Probele obținute prin metoda precipitării chimice au fost supuse unor analize structurale prin difracție de radiație X, spectroscopie de rezonanță paramagnetică electronică (RPE) și prin spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară (RMN)⁵. Ulterior probele au fost supuse unor tratamente termice, știut fiind faptul că proprietățile unui biomaterial sunt influențate decisiv de structura lor, care la rândul ei poate fi modificată prin tratament termic⁶. Schimbările induse depind în principal de doi factori, și anume de temperatura la care se efectuează tratamentul și de timpul de tratament¹. Se justifică, în felul acesta, necesitatea unor tratamente, la diverse temperaturi și pe durate diferite de timp⁷.

Tratamentele termice ale eșantioanelor realizate și prezentate în continuare au fost efectuate cu ajutorul unui cuptor electric marca Carbolite, model RHF 1600. De la temperatura ambientală până la temperatura de 710°C încălzirea s-a făcut cu o rată de 20°C/minut. Primul set de probe a fost menținut la temperaturile de 300°C și 710°C, timp până la 3 și respectiv 24 h, după care a fost răcit, prin decuplarea tensiunii, până când temperatura din cuptor ajunge la nivelul celei existente în mediul ambiant. Pe probele tratate s-au repetat măsurătorile efectuate înaintea tratamentelor termice, pentru a determina modificările lor structurale⁵.

2.1. Difracția de raze X

Un studiu simplu al difractogramelor de raze X ne oferă indicii legate de simetria fazei cristaline analizate, deci a tipurilor celulelor de bază prezente în proba supusă difracției⁸. Mărimea cristalitelor a fost estimată utilizând ecuația Scherrer:

În figura 23 sunt prezentate difractogramele de raze X ale probelor preparate prin metoda precipitării chimice netratate termic. În cazul matricii (0% Fe₂O₃) s-a identificat o singură fază cristalină, faza de monetit CaHPO₄. Din difractogramele probelor dopate cu Fe₂O₃ se observă transformări evidente ale structurii probelor, faza identificată, pe lângă urme de fază de tip monetit, a fost faza cristalină de hidroxiapatită, Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, gradul de cristalinitate al probelor scăzând odată cu creșterea cantității de Fe₂O₃ din probe.

Și după tratamentul termic de la 300°C (figura 24) în difractogramele probelor se regăsesc cele două faze cristaline identificate anterior, hidroxiapatita și monetitul.

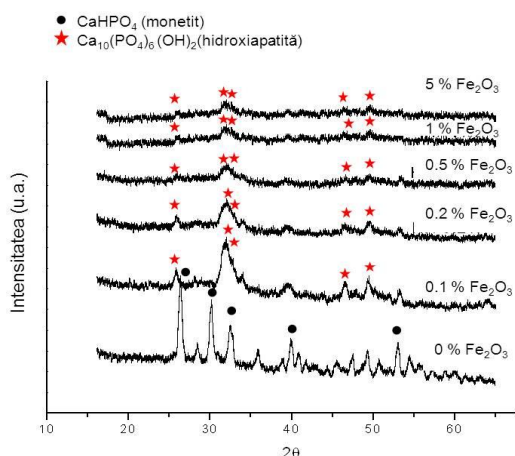


Fig. 23. Difractogramele probelor de hidroxiapatită cu fier, netratate termic.

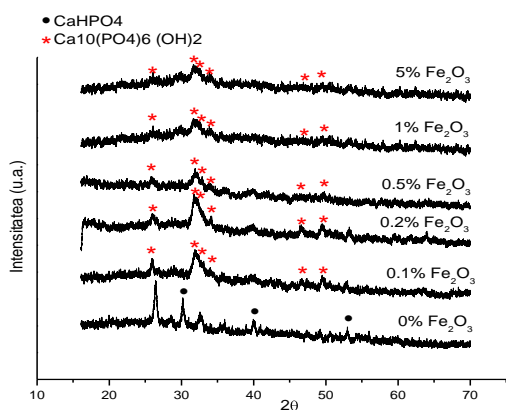


Fig. 24. Difractogramele probelor de hidroxiapatită cu fier, tratate termic la 300°C.

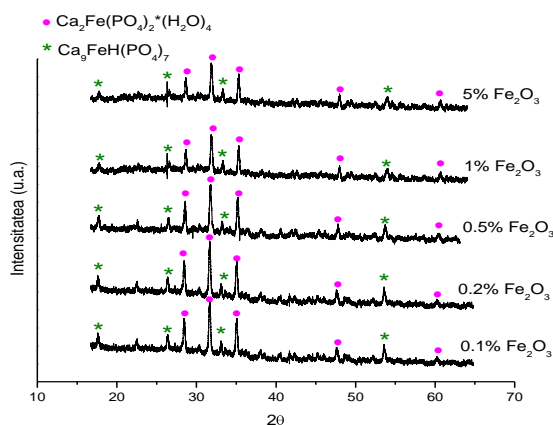


Fig. 25. Difractogramele probelor de hidroxiapatită cu fier, tratate termic la 710°C.

Difractogramele arată un caracter parțial amorf care crește odată cu creșterea concentrației de dopant din probă.

Adăugarea oxidului de fier în probe conduce la formarea hidroxiapatitei, deci fierul are rolul de catalizator în dezvoltarea fazei cristaline de hidroxiapatită în aceste sisteme¹⁰.

Tratamentul termic de la 710°C (figura 25) induce modificări structurale majore în probe¹⁸. Difractogramele arată un caracter cristalin, fazele cristaline identificate fiind $\text{Ca}_9\text{FeH}(\text{PO}_4)_7$ și $\text{Ca}_2\text{Fe}(\text{PO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_4$, așa cum rezultă din baza de date a difractometrului.

Spre deosebire de celelalte tratamente termice, doparea cu Fe_2O_3 nu produce modificări semnificative în structura probelor^{10,12}

Dimensiunea cristalitelor, a fost estimată¹⁷, folosind ecuația Scherrer, la valoarea de aproximativ 20 nm pentru hidroxiapatită, ~100 nm pentru monetit, și ~50 nm pentru faza de tip monetit.

Cele mai mici cristale obținute au fost cele ale hidroxiapatitei cu un conținut ridicat de fier, iar cele mai mari cristale au fost cele ale fazei de tip monetit.

2.2. Rezonanța paramagnetică electronică

Investigarea prin RPE a sistemelor sintetizate s-a făcut pe probe sub formă de pulberi plasate în tuburi de sticlă, la temperatura camerei și presiune atmosferică, în atmosferă normală. Spectrele astfel obținute sunt prezentate în figurile alăturate.

Măsurătorile RPE ne dau informații despre ionii Fe^{3+} și interacțiunile acestora cu ionii paramagnetici din vecinătatea lor. În cazul probelor netratate termic (figura 26), creșterea concentrației de oxid de fier influențează în principal semnalul din jurul valorii $g = 2$, intensitatea semnalului fiind direct proporțională cu concentrația ionilor Fe^{3+} ¹⁵. În urma tratamentului termic de la 300°C (figura 27) se observă lărgirea semnalului dominant de la $g = 2$ ¹⁶ ca urmare a constrângerilor pe care le suportă ionii de Fe^{3+} în urma consolidării matricii de hidroxiapatită.

Tratamentul la 710°C , așa cum se va vedea și din investigațiile RMN, are un efect mai pronunțat asupra structurii probelor și implicit asupra formei și intensității semnalului dat de ionii de Fe^{3+} (figura 28).

Pentru valori mici ale concentrației de oxid de fier (0,1% și 0,2% Fe_2O_3), semnalul dominant în spectrul EPR este înregistrat la valori ale lui $g > 3,3$ ¹⁴.

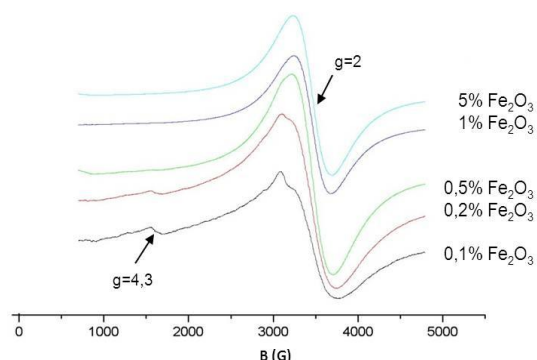


Fig. 26 Spectrele RPE ale probelor de hidroxiapatită cu fier, netratate termic.

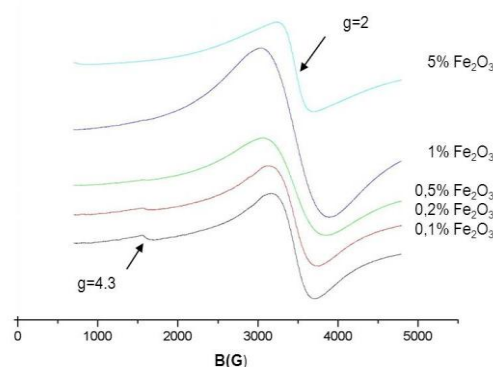


Fig. 27 Spectrele RPE ale probelor de HA cu fier, tratate termic timp de 10 minute, la temperatura de 300°C

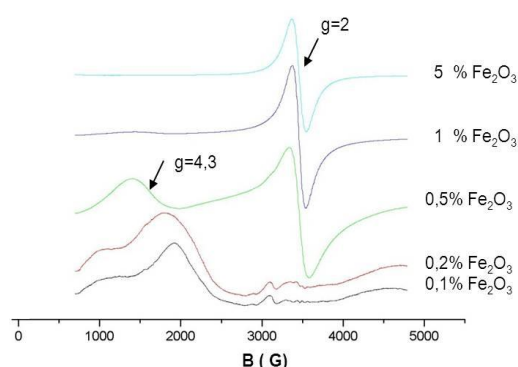


Fig. 28. Spectrele RPE ale probelor de HA cu fier, tratate termic timp de 10 minute la temperatura de 710°C

Pentru probele cu concentrație de 0,5% ; 1% și 5% Fe₂O₃, semnalul de la $g = 3,3$ se deplasează spre valori mai mari ($g = 4,3$) și reapare în spectre semnalul de la $g = 2$. Raportul relativ al intensității liniilor de la $g = 2$ și $g = 4,3$ se modifică, și în spectru domină semnalul din jurul valorii $g = 2$. Se observă deasemenea și o îngustare a liniei din jurul valorii $g = 2$, îngustare care sugerează o interacțiune de schimb puternică între ionii Fe³⁺ sau/și cu ionii Fe²⁺.

Tratamentul termic afectează dispunerea atomilor în rețea, ceea ce produce schimbări^{17,18} în vecinătatea ionilor de Fe³⁺, schimbări care se regasesc în forma liniei spectrelor RPE.

2.3. Rezonanța magnetică nucleară

Experimentele 1D MAS-RMN ale nucleului ³¹P au fost efectuate utilizându-se o secvență de tip „Single Puls” cu următoarele caracteristici: putere 160 W (putere rf 90 kHz), puls rf de 1,5 μs generator al unui unghi al magnetizării transversală de 20°(pentru obținerea unui spectru cantitativ) și timp de repetiție de 100 secunde. Au fost astfel acumulate între 32 și respectiv 120 scanări pentru obținerea unui raport semnal/zgomot (RSZ) ridicat. Acesta este imperios necesar pentru identificarea exactă a tuturor unităților structurale de baza de tip Q⁽ⁿ⁾. Toate probele au fost măsurate în aceleași condiții obținându-se spectrele prezentate în figurile 30, 31, 32.

Spectrul 1D MAS RMN al fosforului în cazul matricei netratate (figura 30) evidențiază formarea unor unități structurale de baza izolate, de tip Q⁰. Acest spectru prezintă o linie largă (lățimea maximă la semi-înălțime - LMSI de aproximativ 2,83 ppm), formată din contribuția a trei unități diferite Q⁰, unități ce se diferentiază atât datorită unghiurilor și lungimii legături P – O – P cât și al celorlate doua posibile specii din cea de a doua seferă de coordinare. Semnalul de la 2,4 ppm este asociat hidroxiapatitei, în timp ce celelate două semnale provin de la faza de tip monetit²⁰. Se observă o scădere a raportului semnal/zgomot odată cu creșterea concentrației de oxid de fier datorită prezenței ionilor paramagnetici în vecinătatea fosforului, fapt care duce la scăderea considerabilă a timpului de relaxare și la modificarea câmpului magnetic local, efecte care au făcut imposibilă înregistrarea semnalelor RMN pentru probele cu 5% Fe₂O₃.

Același tip de unități structurale îl regăsim și în probele dopate, dar raportul lor este diferit datorită prezenței fierului²¹. Se observă o creștere semnificativă a ponderii hidroxiapatitei odată cu introducerea fierului în matricea calcofosfatică.

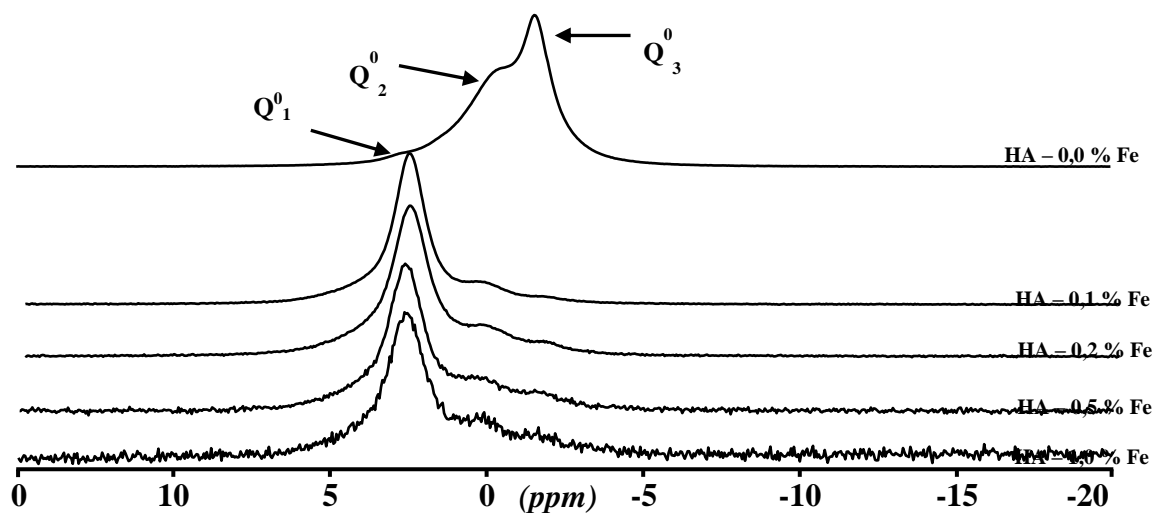


Fig.30. Spectrele MAS - RMN pentru probe de HA netratate termic

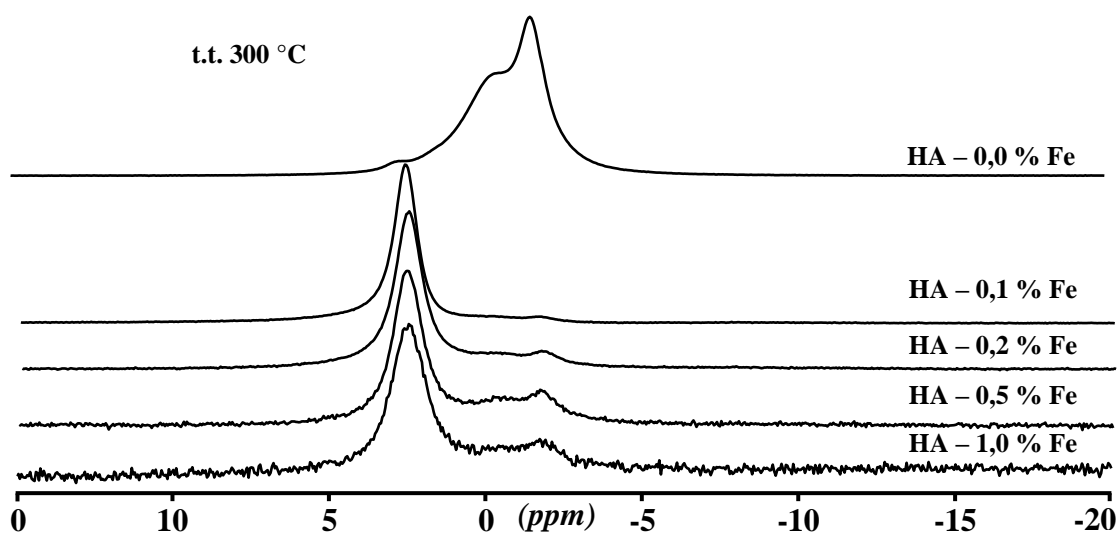


Fig. 31. Spectrele MAS - RMN pentru probe de HA cu fier, tratate termic la 300°C

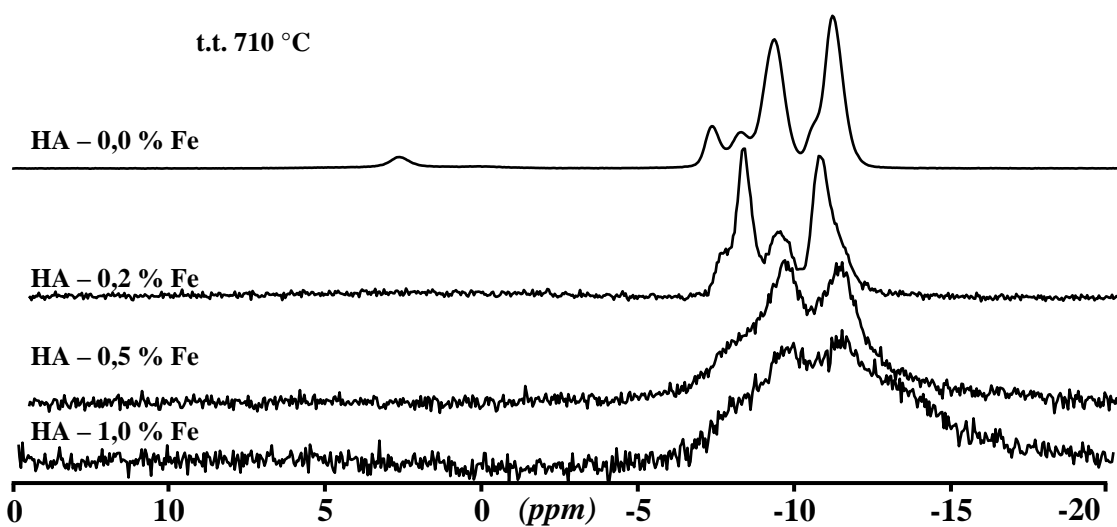


Fig. 32. Spectrele MAS - RMN pentru probe de HA cu fier, tratate termic la 710°C

Primul tratament termic de la 300°C (figura 31) are ca efect o slabă modificare (ordonare) a structurii, evidențiată prin îngustarea lărgimii liniilor (LMSI) de la 2,8 ppm, -0,41 ppm și -1,6 ppm, atribuite unităților structurale Q⁰

În urma tratamentului termic de la 710°C timp de 3 ore (figura 32) se observă o modificare mai accentuată la nivelul spectrului ³¹P 1D MAS RMN, în acord cu rezultatele analizelor de difracție de raze X care au pus în evidență formarea altor faze cristaline, Ca₉FeH(PO₄)₇ și Ca₂Fe(PO₄)₂(H₂O)₄. Astfel, spre deosebire de cazul probelor netratate sau al celor tratate termic la 300°C, unitățile de tip Q¹ (cu deplasările chimice de -7,05 ppm, -7,99 ppm, -9,03 ppm, -10,25 ppm, -10,87 ppm) sunt majoritare. În cazul probei nedopate cele 5 tipuri de unități Q¹ (Figura 33) cu un grad ridicat de cristalinitate ajung să reprezinte 93,86 % din ponderea semnalului. Influența introducerii fierului în matricea calcofosfatică este evidentă la nivelul spectrelor ³¹P 1D MAS RMN. Astfel pe măsură ce concentrația de fier crește anizotropia interacțiunii de ecranare chimică a celor 5 unități de tip Q⁽¹⁾ din domeniul deplasării chimice (-7,05) – (-10,87) devine predominantă ducând la largirea și deplasarea semnalelor RMN. În cazul compusului cu cel mai ridicat conținut de fier analizat prin RMN (1 % Fe) ajungându-se chiar la un un spectru caracteristic materialelor amorfe. Cu excepția probei nedopate cu fier, în urma tratamentului la temperatura de 710 °C se observa dispariția totală a semnalelor RMN de tip Q⁽⁰⁾ dintre care cel de la aproximativ 2,4 ppm este caracteristic hidroxiapatitei în acord cu rezultatele obținute prin difracția de raze X.

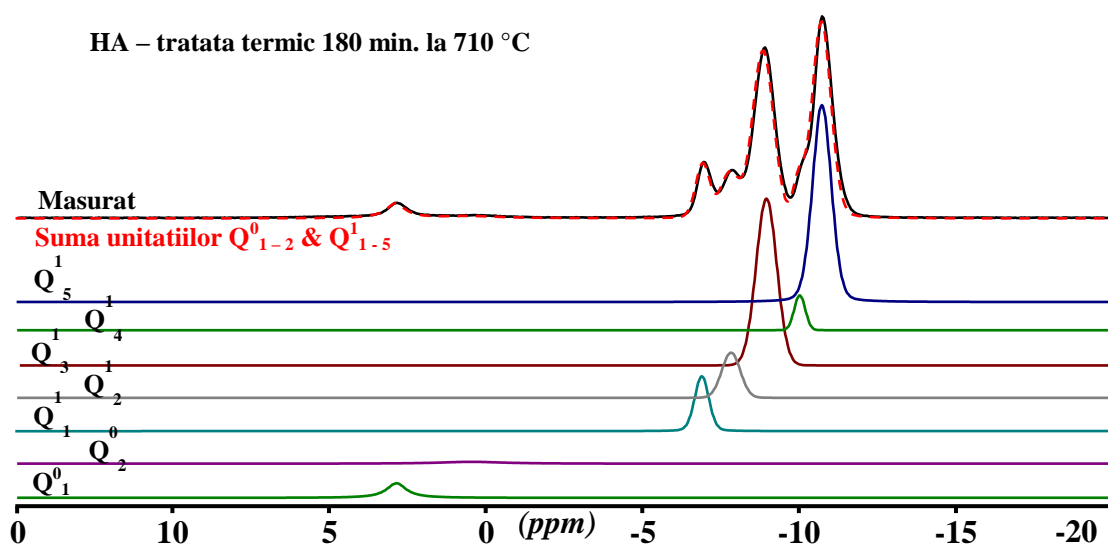


Fig. 33. Spectrul ³¹P MAS - RMN al probei de HA, tratată termic timp de 180 de minute la 710 °C și deconvoluția sa

2.4. Stabilitatea probelor în SBF

Așa cum s-a afirmat inițial, intenția prezentului studiu a fost să se obțină un material biocompatibil și bioactiv, având și proprietăți feromagnetice, astfel încât, prin magnetizare să se încălzească, în vederea utilizării lui în tratamentele hipertermice, pentru resorbția unor tumori maligne observate la nivelul țesutului osos. S-a dovedit că hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) îndeplinește condițiile de biocompatibilitate și bioactivitate necesare regenerării țesutului osos, iar materialul policristalin care conține hidroxiapatită și oxizi de fier $\{(x\text{Fe}_2\text{O}_3) \cdot (100-x)[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]\}$ prezintă în plus și ușoare proprietăți feromagnetice.

Având în vedere efectul fierului de atenuare puternică a semnalului RMN al ^{31}P chiar la procente mici, s-a ales pentru studiu de bioactivitate, probele cu un procent de dopaj de 0,1 % Fe_2O_3 . După preparare prin metoda prezentată anterior, a urmat tratamentul termic a acestei probe, la patru valori de temperatură alese pe baza experienței anterioare, când s-a observat că modificări semnificative apar peste temperatura de 700°C , astfel încât această probă a fost supusă unui tratament la 710°C , 900°C , 1100°C și 1200°C .

Pentru obținerea unor rezultate cantitative investigațiile ^{31}P MAS – RMN a probelor imersate au fost efectuate în condiții identice cu probele deHA – 0,1 % Fe.

Probele netratate termic și tratate termic la 710°C și 1100°C au fost imersate în SBF timp de 12 ore și menținute la temperatura de 37°C pentru a simula condițiile de mediu pe care le are un implant în organismul unui mamifer.

După o nouă filtrare, uscare și mojarare, probele au fost uscate în etuvă, la temperatura de 120°C timp de 3 ore, apoi au fost supuse investigațiilor RMN.

Investigațiile RMN pe nucleul de ^{31}P au fost efectuate pentru a observa stabilitatea probelor după imersia în SBF, urmărind o eventuală dezvoltare a stratului de hidroxiapatită de pe suprafața probelor.

Prin compararea rezultatelor obținute înainte și după imersia în SBF, nu se observă modificări semnificative în forma liniei spectrului, spectrele RMN având o formă aproape identică. În concluzie, imersia în SBF nu a condus la modificări structurale semnificative demonstrând stabilitatea probelor. Lărgirea liniilor în special la probele tratate la temperaturi mai joase reflectă o dezordine locală.

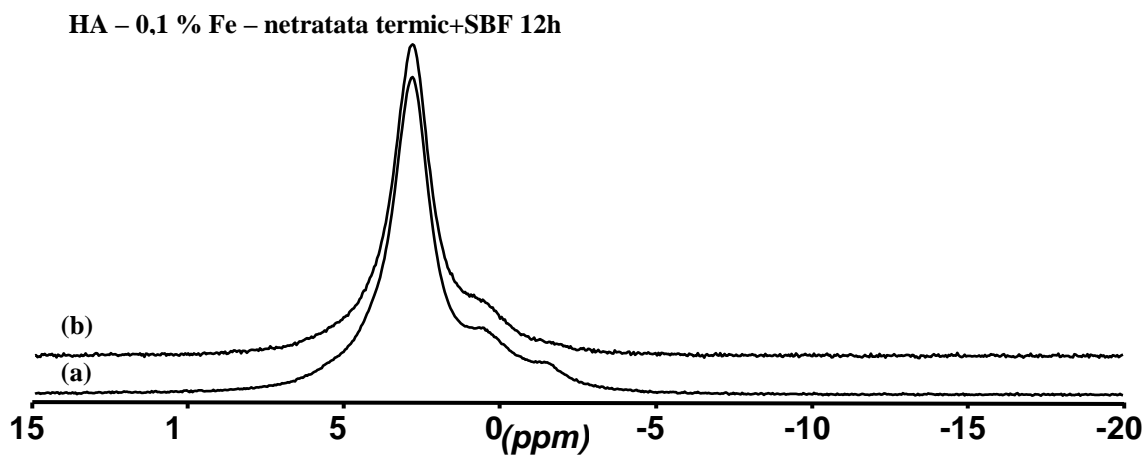


Fig. 35. Spectrele ³¹P MAS NMR ale hidroxiapatitei cu 0,1% Fe₂O₃, netratate termic, înainte (a) și după imersia în SBF(b) timp de 12 h

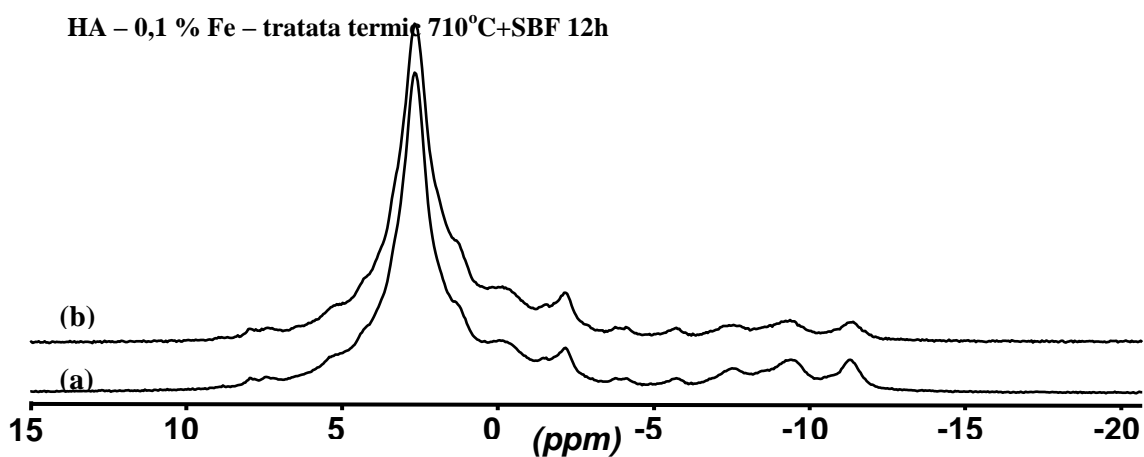


Fig. 36. Spectrele ³¹P MAS NMR ale hidroxiapatitei cu 0,1% Fe₂O₃, tratate termic la 710°C, înainte (a), și după imersia în SBF(b) timp de 12 h

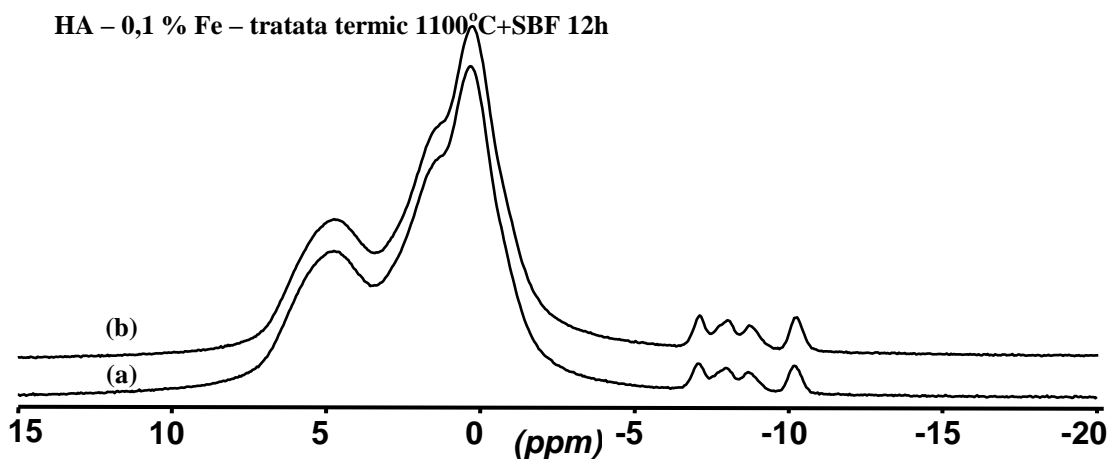


Fig. 37. Spectrele ³¹P MAS NMR ale hidroxiapatitei cu 0,1% Fe₂O₃, , tratate termic la 1100°C, înainte (a) și după imersia în SBF(b) timp de 12 h

2.5. Concluzii

DIFRACTIA DE RAZE X:

- Pentru probele netratate termic, cât și pentru cele tratate la 300°C, în matrice a fost identificată faza cristalină de tip monetit. Introducerea fierului induce o modificare structurală substanțială, identificându-se faza $\text{Ca}_{10}(\text{PO})_4(\text{OH})_2$ – hidroxiapatita, ce se menține pentru toate probele care conțin oxid de fier, de la cea mai mică concentrație până la valoarea de 5 % Fe_2O_3 .
- Fierul are rolul de catalizator în dezvoltarea fazei cristaline de hidroxiapatită în aceste sisteme.
- În urma tratamentului termic de la 710°C se dezvoltă două faze cristaline noi: $\text{Ca}_9\text{FeH}(\text{PO}_4)_7$ și $\text{Ca}_2\text{Fe}(\text{PO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_4$.
- Dimensiunea cristalitelor a fost estimată la aproximativ 20 nm pentru hidroxiapatită, 100 nm pentru monetit și 50 nm pentru fosfat de fier și calciu. Cele mai mici cristale au fost cele ale hidroxiapatitei cu cea mai mare cantitate de oxid de fier.

RPE:

- Se confirmă existența ionilor de Fe^{3+} , creșterea concentrației de oxid de fier influențând direct proporțional semnalul din jurul valorii $g = 2$, în timp ce semnalul din jurul valorii $g = 4,3$ este mai puțin influențat. Tratamentul termic de la 300°C are ca efect lărgirea semnalului dominant de la $g = 2$ ca urmare a constrângerilor pe care le suportă ionii de Fe^{3+} în urma consolidării matricii de hidroxiapatită.
- Tratamentul termic de la 710°C are efecte mai pronunțate. La valori mici ale concentrației de dopant, semnalul din jurul $g=2$ dispare aproape complet, înregistrându-se numai contribuții ale unor semnale cu $g > 3,3$. Începând cu proba cu concentrația de 0,5% Fe_2O_3 se observă din nou semnalele de la $g = 2$ și $g = 4,3$, dominând semnalul de la $g = 2$ tipic pentru clusteri superparamagnetici.
- Tratamentele termice au ca urmare și o îngustare a liniei semnalului de la $g = 2$, ceea ce denotă o ordonare a structurii din vecinătatea ionilor Fe^{3+} , dar și o creștere a ponderii interacțiunilor de schimb dintre ionii paramagnetici.

RMN

- Spectrul RMN al matricii netratate evidențiază formarea unităților structurale ale fosforului de tip Q^0 . Acest spectru constă într-o linie largă, la care își aduc contribuția trei tipuri de unități structurale Q^0 , care se deosebesc prin unghiurile și

lungimile legăturilor P-O. În probele dopate cu fier domină unitățile Q^0 specifice hidroxiapatitei, în acord cu rezultatele obținute prin difracția de raze X.

- Tratamentul termic de la 300°C duce la o ușoară îngustare a liniilor spectrului și la modificarea ponderii celor trei unități structurale Q^0 identificate, ca urmare a unui proces de ordonare structurală.
- Tratamentul termic de la 710°C produce modificări structurale mult mai pronunțate, datorită formării noilor faze cristaline, așa cum s-a observat prin difracția de raze X. Astfel sunt identificate doar două grupuri de unități Q^0 și cinci tipuri de unități Q^1 .

STABILITATEA ÎN SBF

- Imersia în SBF nu a evidențiat modificări structurale semnificative, o ușoară lărgire a liniilor fiind atribuită dezordonării locale la suprafața probelor.

3. Probele preparate prin metoda sol-gel

Metoda sol-gel este frecvent utilizată, mai ales atunci când se urmărește obținerea la temperaturi relativ coborâte a unor compuși oxidici refractari, spre deosebire de metodele clasice care presupun temperaturi de sinteză foarte ridicate.

Prin metoda sol-gel s-a realizat un nou set de probe, dopate cu oxid de fier în proporții cuprinse între 10% și 50%, procentele molare, aparținând sistemului $\{(x(\text{Fe}_2\text{O}_3); (100-x)[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]\}$. Aceste probe au fost supuse aceluiași măsuratori, pentru ca ulterior, prin comparare cu celelalte, să se detașeze noi concluzii sau să poată fi confirmate cele deja formulate.

Materiale de start folosite au fost: soluție 0,2M fosfat dibazic de amoniu ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), soluție 0,2M azotat de calciu ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) și azotatul de fier ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$). Precursorul calciului a fost picurat sub agitare continuă peste precursorul fosforului. Amestecul format a fost adus la temperatura de 90°C , sub agitare continuă, apoi fiind adăugată prin picurare soluția 0,2M de precursor al fierului. Vasul cu amestecul final a fost introdus în baie marină și menținut la o temperatură de $< 100^\circ\text{C}$ până la eliminarea completă a solventului din amestecul final. După gelare, probele au fost uscate în etuvă la 120°C timp de 12 ore apoi au fost mojarate.

Datorită proprietăților higroscopice ale probelor preparate, acestea au fost imediat analizate prin metodele folosite și în cazul probelor preparate prin metoda precipitării. Temperaturile de tratament termice la 450°C , 550°C și 700°C au fost determinate în urma analizelor termice diferențiale.

3.1. Analiza termică diferențială și termogravimetrică

Temperaturile la care s-au efectuat tratamentele termice au fost stabilite prin măsurătorile de analiză termică diferențială^{23,24}.

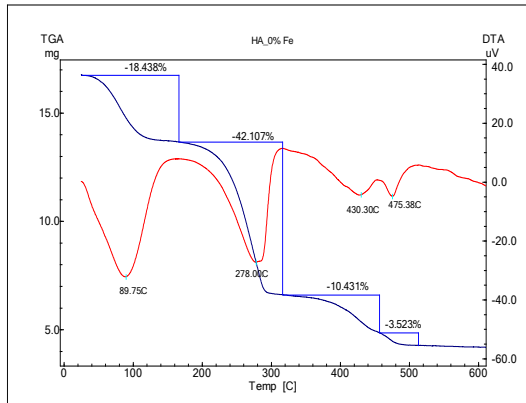


Fig. 38. Analiza DTA-TG pentru hidroxiapatită pură preparată prin metoda sol-gel

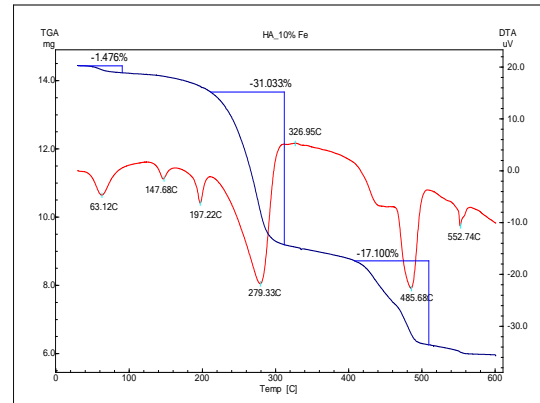


Fig. 39. Analiza DTA-TG pentru hidroxiapatită dopată cu 10 % Fe₂O₃, netratată termic

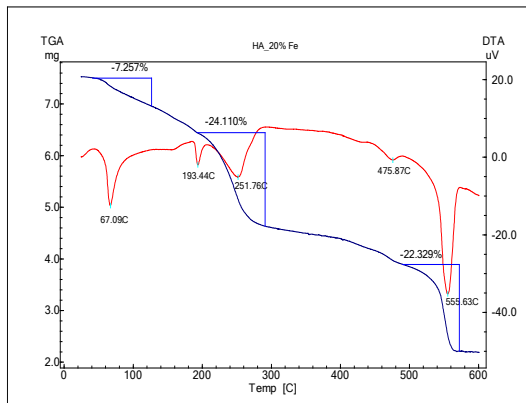


Fig. 40. Analiza DTA-TG pentru hidroxiapatită dopată cu 20 % Fe₂O₃, netratată termic

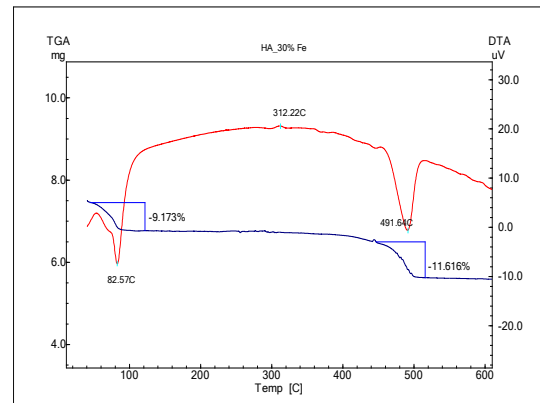


Fig. 41. Analiza DTA-TG pentru hidroxiapatită dopată cu 30 % Fe₂O₃, netratată termic

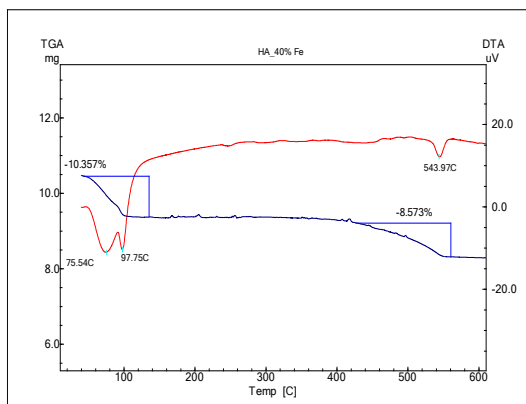


Fig. 42. Analiza DTA-TG pentru hidroxiapatită dopată cu 40 % Fe₂O₃

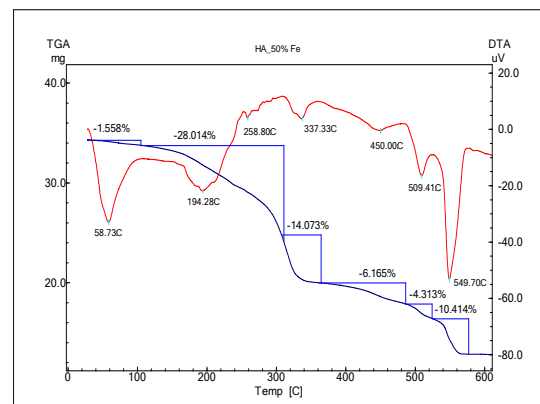


Fig. 43. Analiza DTA-TG pentru hidroxiapatită dopată cu 50 % Fe₂O₃

Curbele de analiză termică au pus în evidență temperaturile la care se elimină apa și celelalte evenimente termice care au loc în probe. Evoluția curbelor DTA și TGA este prezentată în figurile 38-43. Din curbele TGA obținute se observă că cea mai pronunțată pierdere de masă are loc în mai multe trepte, în intervalul 25 - 600°C, fiind însoțită pe curbele DTA de evenimente endo- sau exoterme.

Efectele endoterme din intervalul 0° - 200°C observate pe curba DTA și însoțite de pierdere de masă pe curba TGA, sunt corelate cu pierderea apei adsorbite sau a alcoolului, rezultați în urma reacțiilor de policondensare și care nu au fost îndepărtați în timpul procesului de uscare^{25,26}.

Între 200 - 400°C, evenimentele termice de pe curba DTA pot fi atribuite descompunerii și eliminării rezidurilor nitrare din sărurile folosite la sinteză iar cele din intervalul 400 - 550°C pot fi atribuite unui proces de dehidroxilare²⁷.

3.2. Difrakția de raze X

Datorită proprietăților higroscopice ale probelor netratate termic, difractogramele s-au obținut cu mare dificultate, raportul semnal-zgomot fiind mare, motiv pentru care nu le-am prezentat.

În figura 44 sunt prezentate difractogramele de raze X ale probelor preparate prin metoda sol-gel, tratate termic la 450°C. Difractogramele sunt specifice sistemelor policristaline, fazele cristaline identificate¹¹ fiind cele de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ și respectiv $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HA).

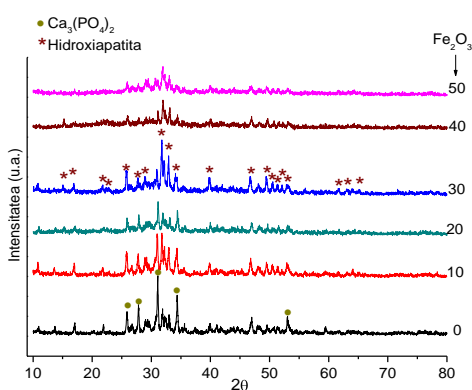


Fig. 44. Difractogramele de raze X ale hidroxiapatitei tratată termic la 450°C, timp de 30 minute

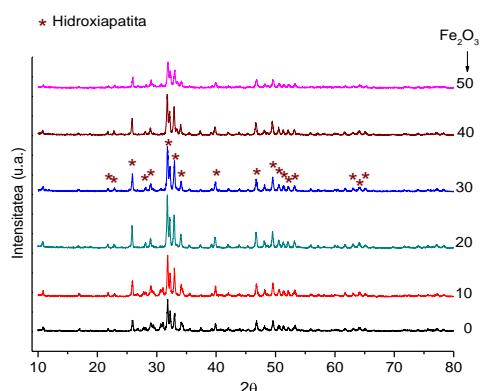


Fig. 45. Difractogramele de raze X ale hidroxiapatitei tratată termic la 550°C, timp de 30 minute

În figura 45 sunt prezentate difractogramele de raze X ale probelor preparate prin metoda sol-gel, tratate termic la 550°C. Difractogramele sunt specifice sistemelor policristaline, faza cristalină identificată¹⁸ fiind cea de hidroxiapatită.

După tratamentul termic de la 700°C (figura 46), pe lângă faza cristalină Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ identificată în difractogramele probelor tratate termic la 550°C, apare o nouă faza cristalină, și anume cea a hematitului – Fe₂O₃.

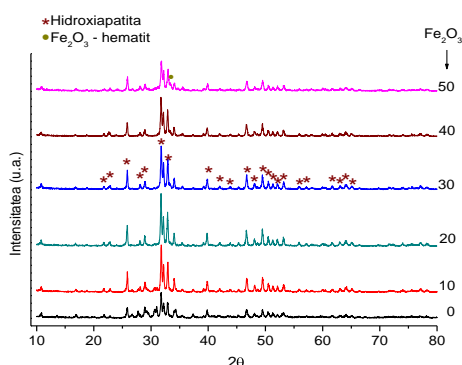


Fig. 46. Difractogramele de raze X ale hidroxiapatitei tratată termic la 700°C, timp de 30 minute

		D (nm)					
T(°C)	x (%mol)	0	10	20	30	40	50
	450°C		33.9	29.7	32.4	36.9	32.6
550°C		45.2	44.3	56	48.7	48.8	44.9
700°C		38.9	55.9	53.8	48.8	51	49

Tabelul 8. Dimensiunea cristalelor calculate cu ecuația Scherrer

În urma tratamentului termic de la 700°C, fierul apare ca fază cristalină sub formă de hematit (Fe₂O₃).

Dimensiunile medii ale cristalitelor de HA calculate cu ajutorul ecuației Scherrer, pentru probele tratate termic la 450°, 550°, respectiv 700°C sunt prezentate în tabelul 8.

3.3. Rezonanță paramagnetică electronică

Analiza RPE confirmă prezența ionilor de Fe³⁺ în hidroxiapatita dopată cu fier. În figurile 47, 48 și 49 sunt prezentate spectrele RPE obținute pentru probele preparate prin metoda sol-gel după tratamentele de la 450°, 550°, respectiv 700°C. Investigațiile au fost efectuate la temperatura camerei. Datorită creșterii cantității de fier din probe, semnalul principal din jurul valorii de g=2 fiind foarte puternic, s-au folosit atenuări diferite pentru a putea efectua înregistrările. Spectrele RPE prezintă două semnale de rezonanță, la g=4,23 și g=2. Linia de rezonanță din jurul valorii de g = 4,3 poate fi atribuită ionilor Fe³⁺ izolați, dispuși în poziții de joasă simetrie ale ionilor de calciu din structura hidroxiapatitei, caracterizate de câmpuri cristaline intense^{28,10}.

Această linie de rezonanță nu este influențată semnificativ de creșterea concentrației fierului în matricea calcofosfatică și nici de tratamentele termice la care au fost supuse

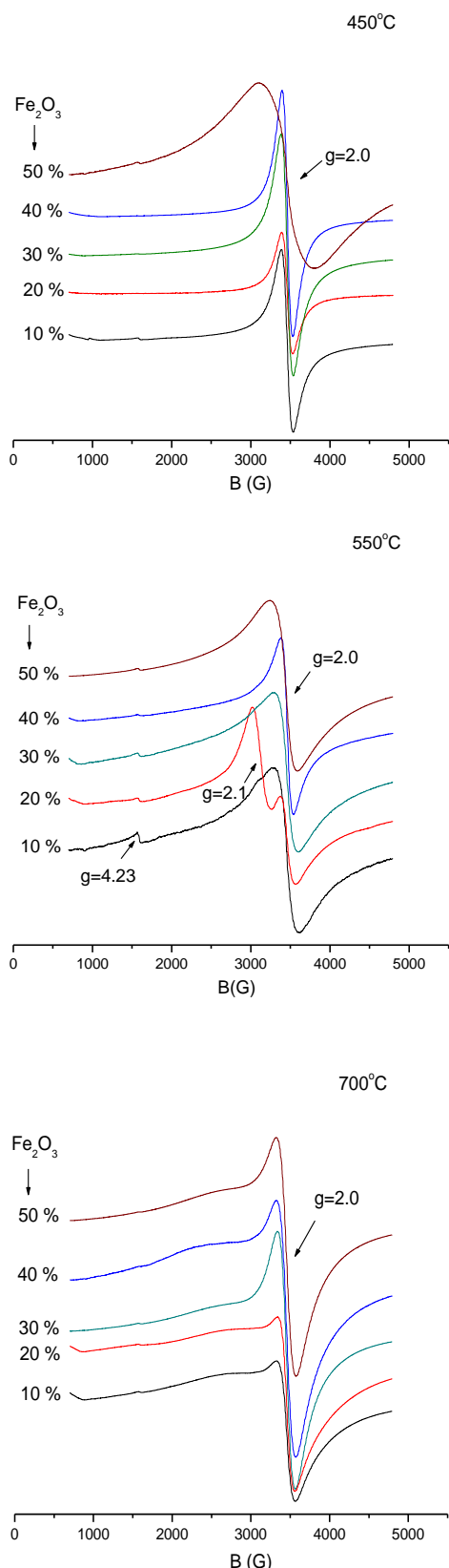


Fig. 47, 48, 49. Spectrele RPE pentru probele tratate termic la 450°C, 550°C, 700°C timp de 30 minute

probele. Deși în spectrele prezentate în figurile 47-49 nu se observă, această linie de rezonanță este prezentă, dar datorită atenuărilor puternice folosite pentru înregistrarea semnalelor RPE, ele nu sunt vizibile în spectre.

Semnalul de rezonanță din jurul valorii de $g = 2$, este atribuit ionilor Fe^{3+} dispuși în poziții de simetrie octaedrică, caracterizate de câmpuri cristaline slabe, precum și ionilor de fier supuși unor puternice interacțiuni dipolare și/sau de schimb ^{16,29,30}. În cazul probelor tratate la 450°C se observă că semnalul de rezonanță din jurul valorii de $g=2$ este mai larg pentru proba cu 50% Fe₂O₃, indicând o mai mare dezordine structurală locală, fapt evidențiat și de măsurătorile RMN ale acestei probe. Linia dominantă din jurul valorii de $g = 2$ este frecvent observată în spectrele RPE ale ionilor Fe^{3+} din sticlele sau ceramicile cu concentrații mari de fier. Ea poate fi asociată ionilor paramagnetici puternic cuplați prin intermediul interacțiunilor de schimb.

După tratamentul de la 700°C, liniile de rezonanță se îngustează ca urmare a creșterii interacțiunilor de schimb între ionii de fier datorită formării fazelor de tip hematit și/sau magnetit .

În timp ce efectul altor elemente cum ar fi zincul, siliciul, stronțitul, asupra structurii apatitelor a fost masiv studiată, studiile legate de efectul ionilor de fier se regăsesc în literatura de specialitate într-un număr mult mai sumar.

3.4. Rezonanța magnetică nucleară

În figurile 50, 51 și 52 sunt prezentate spectrele ^{31}P MAS – RMN obținute pe probele preparate prin metoda sol-gel, nedopate și dopate cu fier, tratate la 450° , 550° , respectiv 700°C .

După tratamentul de la 450°C (figura 50) în spectrele RMN pe nucleul de fosfor (^{31}P) ale probelor, au fost identificate unitățile structurale Q^0 și Q^1 . Adiția fierului în matricea calcofosfatică determină modificări structurale evidențiate prin modificarea formei liniei spectrelor și a ponderii celor două tipuri de unități structurale.

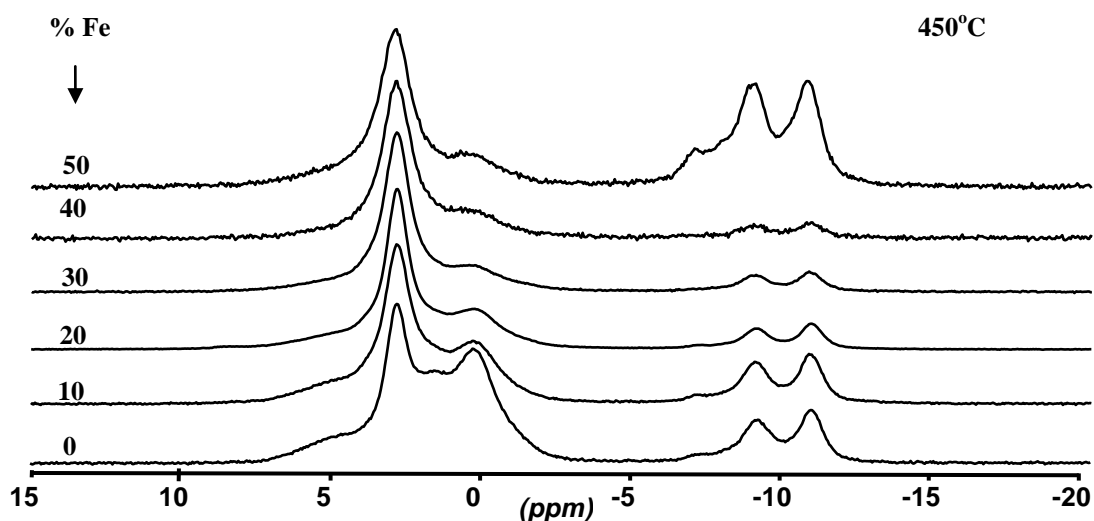


Fig. 50. Spectrele ^{31}P MAS NMR pentru probele tratate termic la 450°C , 30 minute

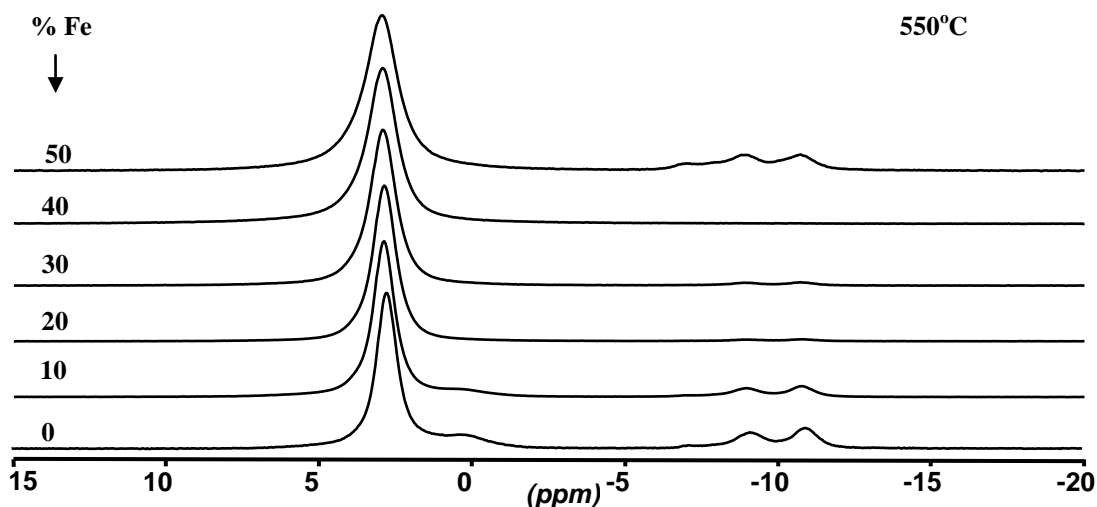


Fig. 51. Spectrele ^{31}P MAS NMR pentru probele tratate termic la 550°C , 30 minute

Aceste modificări sunt datorate reorganizărilor diferitelor tipuri de unități structurale Q^0 și Q^1 , observându-se că odată cu creșterea cantității de fier din probe ponderea unităților Q^1 scade până la proba cu 40% oxid de fier, iar linia corespunzătoare unităților Q^0 se îngustează. Pentru proba cu 50% oxid de fier în spectrul RMN se observă creșterea ponderii unităților Q^1 . Astfel, putem spune că până la o valoare de 40% ,fierul are un efect de fragmentare a lanțurilor de unități fosfatice și favorizează formarea hidroxiapatitei. Aceste date sunt în concordanță cu rezultatele obținute prin difracția de raze X și prin rezonanța paramagnetică electronică.

Spectrele ^{31}P RMN ale probelor după tratamentele de la 550° și 700°C (figurile 51 și 52) nu au pus în evidență modificări majore în structura probelor. Se observă însă, o îngustare a liniilor spectrelor, datorată uniformizării structurii. Adiția fierului, până la 40%, are același efect ca și în cazul tratamentului de la 450°C . La 50% oxid de fier, apare din nou efectul de re-polimerizare a rețelei cristaline, evidențiat prin creșterea ponderii unităților structurale Q^1 , dar nu la fel de intens ca în cazul tratamentului termic de la 450°C .

Datele obținute prin RMN, confirmă ipoteza din difracția de raze X, conform căreia o parte din fier, după tratamentele termice, nu este înglobat în matrice, cristalizând sub formă de hematit.

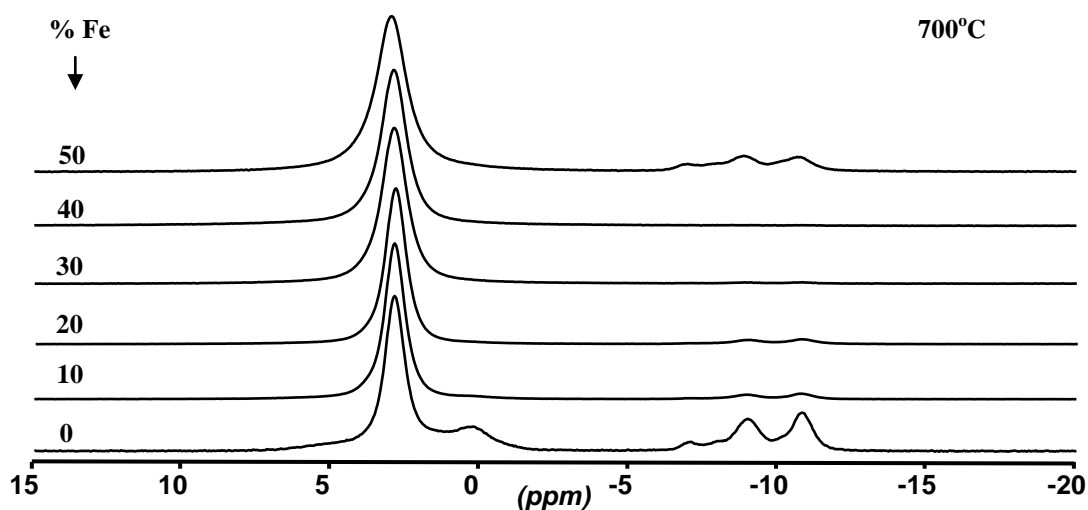


Fig. 52. Spectrele ^{31}P MAS NMR pentru probele tratate termic la 700°C , 30 minute

În figura 53 este ilustrată deconvoluția spectrului ^{31}P RMN pentru proba nedopată (0% Fe_2O_3), tratată termic la 700°C . Din datele obținute se observă existența a trei tipuri de unități structurale fosfatice de tip Q^0 și cinci tipuri de unități structurale fosfatice de tip Q^1 .

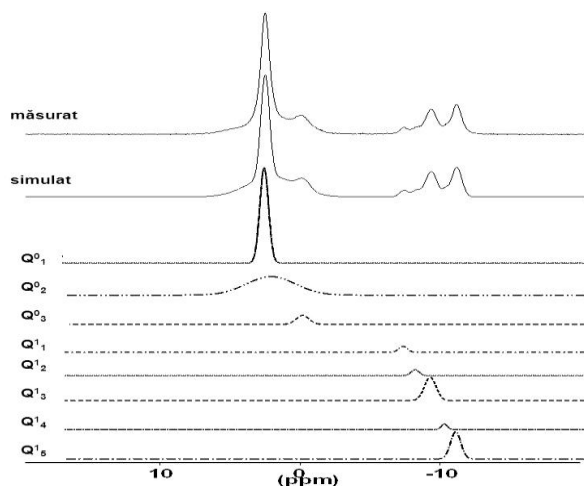


Fig. 53. Deconvoluția spectrului ^{31}P MAS-NMR pentru hidroxiapatita nedopată (0% Fe_2O_3), tratată termic la 700°C , 30 minute.

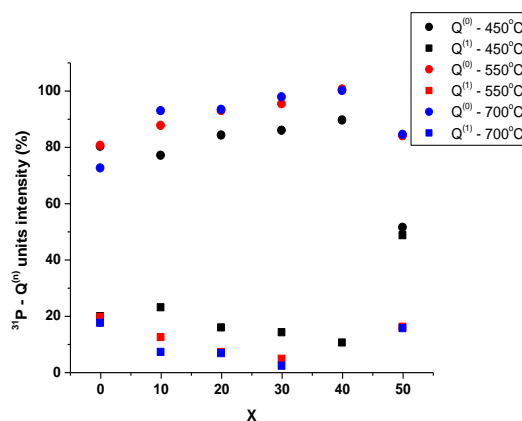


Fig.54. Evoluția ponderii unităților Q^n pentru hidroxiapatita tratată termic la diverse temperaturi, timp de 30 minute

În figura 54 este reprezentată grafic dependența ponderii unităților Q^n , de concentrația de oxid de fier și de temperatura de tratament termic, în urma deconvoluției spectrelor ^{31}P RMN pentru probele tratate termic la 450° , 550° , respectiv 700°C . Se observă că efectul de depolimerizare a structurii este direct proporțional cu conținutul de fier, până la 40% procente molare adăuga fierului are efect stabilizator asupra structurii hidroxiapatitei.

3.5. Stabilitatea probelor în SBF

Ca și în cazul probelor preparate prin metoda precipitării, am urmărit testarea stabilității probelor preparate prin metoda sol-gel, în lichidul biologic simulat pentru a constata dacă prin metoda de preparare aleasă se pot obține compuși biocompatibili stabili. Probele tratate la 550°C au fost imersate în SBF timp de 72 de ore și menținute la 37°C .

Elocvente pentru comportarea probelor după imersarea în SBF sunt investigațiile de rezonanță magnetică nucleară, fapt pentru care am apelat exclusiv la acest tip de investigații, așa cum am procedat și la setul de probe obținut prin metoda precipitării.

În figura 55 sunt prezentate rezultatele obținute după imersarea în SBF. Au fost identificate în spectre, unitățile structurale fosfatice de tip Q^1 și Q^0 . Analizele ^{31}P RMN nu au pus în evidență nici o modificare în forma liniei spectrelor față de rezultatele obținute pe aceleași probe înainte de imersare, evidențiind stabilitatea biologică a probelor.

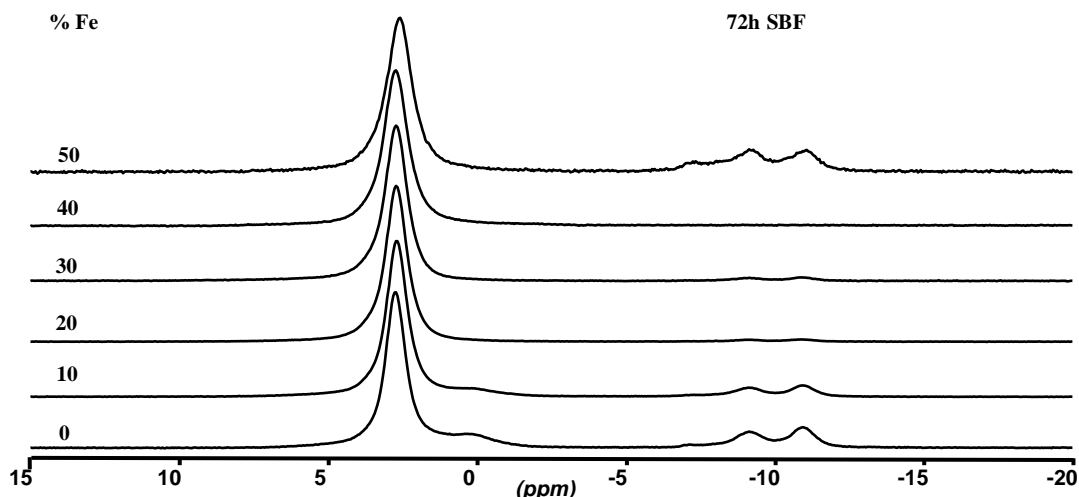


Fig. 55. Spectrele ^{31}P MAS NMR pentru probele tratate termic la 550° , imersate 72 ore în SBF

3.6. Concluzii

DIFRACTIA DE RAZE X

- După tratamentul termic la 450°C se identifică în toate probele două faze cristaline, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ și respectiv HA, ponderea fazei de HA crescând dramatic odată cu concentrația de oxid de fier.
- După tratamentul de la 550°C s-a pus în evidență o singură fază cristalină, aceea de HA.
- După tratamentul de la 700°C apare în plus la probele cu concentrație mare de oxid de fier, faza cristalină de hematit pe lângă cea de HA.
- Creșterea temperaturii de tratament termic, determină creșterea dimensiunii cristalitelor de HA.
- Este remarcabilă calitatea hidroxiapatitei obținută în probele rezultate prin adăugarea a 20 și 30% (mol.) oxid de fier.

RPE

- Confirmă prezența ionilor de Fe^{3+} în hidroxiapatita dopată cu fier, linia de rezonanță de la $g = 4,3$ fiind atribuită ionilor Fe^{3+} izolați, dispuși în poziții de joasă simetrie ale ionilor de calciu din vecinătatea hidroxiapatitei, caracterizate de câmpuri cristaline intense.
- Linia de rezonanță de la $g = 2.0$ este atribuită ionilor Fe^{3+} dispuși în poziții de simetrie octaedrică, caracterizate de câmpuri cristaline slabe, în regiuni bogate în fier ionii de fier fiind supuși unor puternice interacțiuni dipolare și/sau de schimb.

- Linia îngustă, de la $g = 2.0$, preponderentă în probele obținute după tratament termic la 700°C , este frecvent observată în spectrele RPE ale ionilor Fe^{3+} din sticlele sau ceramicile cu concentrații mari de fier, putând fi asociată cu formarea nanoparticulelor de hematit și magnetit.

RMN

- Au fost identificate unitățile structurale fosfatice de tip Q^0 și Q^1 .
- Adiția oxidului de fier până la 40% are efect de stabilizare a structurii hidroxiapatitei, în cazul tuturor tratamentelor termice.
- La un procent de 50% efectul fierului este de a crește ponderea unităților Q_1 , prin repolimerizarea rețelei cristaline. Acest efect este mai vizibil pentru tratamentul de la 450°C .
- Datele obținute prin RMN, confirmă ipoteza din difracția de raze X, conform căreia o parte din fier, după tratamentele termice, nu este înglobat în matrice, cristalizând sub formă de hematit.

STABILITATEA ÎN SBF

- Analizele ^{31}P RMN nu au pus în evidență nici o modificare în forma liniei spectrelor față de rezultatele obținut pe aceleași probe înainte de imersare, evidențiind stabilitatea biologică a probelor.

4. Efectele atmosferei de tratament termic asupra proprietăților probelor

4.1 Analiza termică

Pentru a studia influența atmosferei de tratament termic, s-a preparat prin metoda precipitării o proba cu 20% (molare) Fe_2O_3 . Substanțele de start au fost $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. În soluția 0,2M de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, s-a adăugat picătură cu picătură soluțiile de 0,2M de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, menținute la 90°C , sub agitare continuă.

Amestecul final a fost introdus în etuvă pentru evaporarea apei, apoi precipitatul rezultat a fost uscat la 120°C , timp de 24 h, și în final, a fost tratat la 700°C în cuptorul tubular Carbolite, în atmosferă normală și în atmosferă îmbogățită în azot.

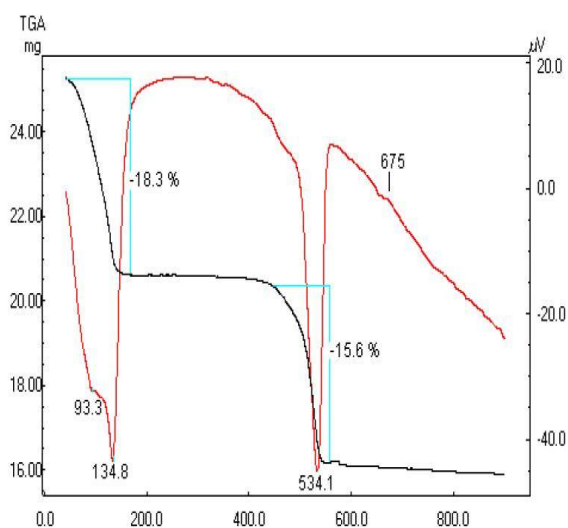


Fig. 56. Analiza termică pentru hidroxiapatită dopată cu 20 % mol Fe_2O_3

4.2. Difrakția de raze X

Analiza prin difracție de raze X (figura 57), pentru compozitul hidroxiapatită-fier indică diferențe structurale induse de tratamentul termic în diverse atmosfere (aer și azot).

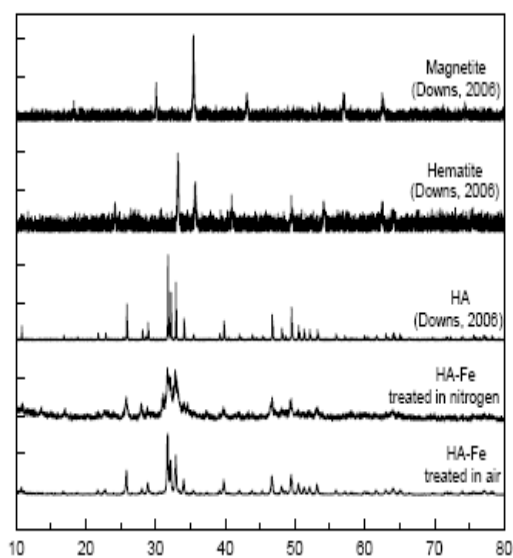


Fig.57. Difractogramele probelor tratate la 700°C în aer și atmosferă îmbogățită în azot, și referințele difractogramelor HA, hematitului și magnetitului

Analiza termică diferențială evidențiază evenimente multiple până în jurul temperaturii de 700°C , cele mai importante fiind eliminarea apei absorbite, până la 135°C cu o pierdere de masă de 18.3 % și descompunerea nitraților și dehidroxilarea, în jur de 534°C , însoțită de o pierdere de masă de 15.6 %. Peak-ul exoterm de la 675°C denotă o rearanjare structurală și din acest motiv s-a ales ca temperatură de tratament termic, temperatura de 700°C .

Difractograma probei tratate în aer evidențiază cristale caracteristice hidroxiapatitei, cu dimensiuni de aproximativ 40 nm, în timp ce difractograma probei tratate în atmosferă îmbogățită în azot semnalează prezența unor microcristalite cu dimensiunea de aproximativ 15 nm.

În același timp, pentru proba tratată în atmosferă îmbogățită în azot s-au observat maxime de difracție la $31,7^\circ$ și $32,9^\circ$, precum și un maxim slab și larg la $34,7^\circ$ care s-ar putea datora contribuției fazelor de hematit și magnetit 16.

Absența unei evidențe clare a prezenței fazelor de hematit și magnetit³² sugerează posibilitatea că acestea nu sunt detectate prin difracția X datorită dimensiunii foarte mici a cristalitelor.

4.3. Rezonanța paramagnetică electronică

Spectrele de rezonanță paramagnetică ale probelor tratate termic la 550°C (figura 58) prezintă două linii de rezonanță la $g = 4,3$ și $g = 2$. Linia de la $g = 4,3$ este atribuită ionilor de Fe^{3+} izolați, dispuși în poziții de joasă simetrie, caracterizate de câmpuri cristaline intense, distribuiți în structura hidroxiapatitei. Linia de rezonanță din jurul valorii de $g = 2$, este atribuită ionilor Fe^{3+} dispuși în poziții de simetrie octaedrică, caracterizate de câmpuri cristaline slabe, precum și ionilor de fier, din fazele de tip hematit și/sau magnetit, supuși unor puternice interacțiuni dipolare și/sau de schimb^{16,29,30}

Intensitatea liniei din jurul valorii de $g = 2,0$ se diminuează în cazul probei tratate termic în atmosferă îmbogățită în azot, indicând o concentrație mai mică de ioni ferici decât în proba tratată termic în atmosferă normală (aer), o parte din ionii de Fe^{3+} devenind ioni de Fe^{2+} datorită atmosferei reducătoare.

În cazul tratamentului la 700°C (figura 59), linia de rezonanță corespunzătoare valorii de $g = 4,3$ nu se mai observă, fiind dominantă cea de la $g = 2$.

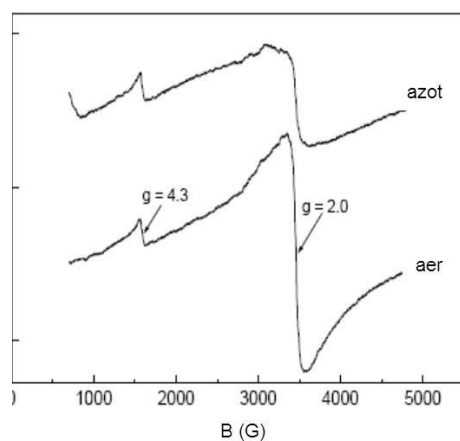


Fig. 58. Spectre EPR pentru proba cu 20 % mol Fe_2O_3 , tratată termic la 550 °C în atmosferă normală, și în atmosferă îmbogățită în azot

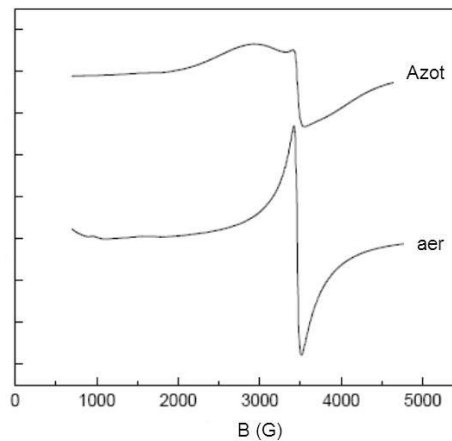


Fig. 59. Spectre EPR pentru proba cu 20 % mol Fe_2O_3 , tratată termic la 700 °C în atmosferă normală, și în atmosferă îmbogățită în azot

Diferențe majore se observă și în forma liniei din jurul valorii de $g = 2,0$, pentru proba tratată în aer linia este îngustă, de aproximativ 100 G, și simetrică, iar pentru proba tratată în atmosferă îmbogățită în azot semnalul de rezonanță din jurul valorii de $g = 2,0$ este

constituit din suprapunerea a 2 linii, una îngustă ca și în cazul probei tratate în aer, și una largă și asimetrică cu lărgimea de aproximativ 900 G. Liniile de rezonanță din jurul valorii de $g = 2$, înguste, cu lărgimea sub 200 G sunt considerate caracteristice pentru faza de hematit superparamagnetic, pe când cele mai largi și asimetrice sunt asociate particulelor de magnetit^{34,35,36,37,16}

Rezultatele rezonanței paramagnetice electronice sunt susținute pe de altă parte și de culoarea probelor. Din literatură este cunoscut faptul că în sistemele aluminosilicatică, cum sunt argilele, prezența particulelor superparamagnetice de fier influențează culoarea acestora.³⁸ Faza de hematit superparamagnetic formată în proba tratată în aer îi conferă probei o culoare roșiatică, iar faza de magnetit superparamagnetic format în proba tratată în atmosferă îmbogățită în azot îi conferă o probei culoarea cenușie.

4.4. Concluzii

ANALIZA TERMICĂ

- S-au pus în evidență evenimentele termice care au loc în proba sintetizată și a fost aleasă temperatura de 700°C pentru tratamentul termic final.

DIFRACTIA DE RAZE X

- Pentru tratamentul în aer sunt evidențiate cristale de hidroxiapatită cu mărimea de aproximativ 40 nm, iar în urma tratamentului în atmosferă îmbogățită în azot se semnalează prezența unor microcristalite de hidroxiapatită cu dimensiunea de aproximativ 15 nm
- Pentru proba tratată termic în atmosferă îmbogățită în azot difractograma prezintă peak-uri datorate fazi cristaline de magnetit.

ANALIZA RPE

- S-a pus în evidență prezența ionilor de Fe^{3+} , precum și coexistența ionilor paramagnetici Fe^{3+} izolați și a particulelor superparamagnetice.
- Linia de rezonanță este mai puțin intensă în cazul probei tratată termic în atmosferă îmbogățită în azot, datorită diminuării numărului de ioni ferici (Fe^{3+}) din probă, ca urmare a reducerii acestora la ioni de Fe^{2+} .
- Linia de rezonanță a ionilor Fe^{3+} obținută pentru proba tratată în aer este îngustă de aproximativ 100 G și are aspect simetric fiind atribuită particulelor superparamagnetice de hematită.
- Linia de rezonanță este considerabil lărgită, până în jur de 900 G, pentru probele tratate în atmosferă îmbogățită în azot, și semnalul devine puternic asimetric, asimetria fiind atribuită particulelor de magnetită ce apar în probă.

- Lărgirea liniei sugerează că o bună parte din ionii Fe^{3+} , existenți după tratamentul în aer, au trecut în ioni Fe^{2+} în urma tratamentului aplicat în atmosferă îmbogățită în azot.

- Doar o mică parte din ionii de fier sunt integrați în matricea de hidroxiapatită în locul ionilor de calciu, cea mai mare parte existând sub formă de particule foarte mici de oxid de fier, particule superparamagnetice de tip hematit în cazul probelor tratate în aer și particule superparamagnetice de tip magnetit în cazul probelor tratate în azot.

- Culoarea probelor este în concordanță cu concluziile măsurărilor RPE. Particulele superparamagnetice de oxid de fier afectează culoarea matricei, prezența fazei de hematit superparamagnetic conferă culoarea roșiatică probei obținută după tratamentul în aer, iar prezența fazei de magnet superparamagnetic dă o nunață cenușie probei după tratamentul în atmosferă îmbogățită în azot.

Concluzii generale

- Au fost sintetizate prin metoda coprecipitării probe de hidroxiapatită cu până la 5% (procente de greutate) Fe_2O_3 .
- Au fost sintetizate prin metoda sol-gel probe de hidroxiapatită cu până la 50% (procente molare) Fe_2O_3 .
- Metoda precipitării nu a condus la formarea compușilor de tip hidroxiapatită în cazul probelor nedopate cu fier, dar adăția Fe_2O_3 a avut ca și efect formarea acestei structuri, fierul acționând ca un catalizator.
- Metoda sol-gel păstrează raportul $\text{Ca/P} = 10/6$ în compușii formați, conducând la compuși de tip hidroxiapatită, în acest caz adăția fierului are rol stabilizator asupra structurii, până la un procent molar de 40% Fe_2O_3 .
- Prin metoda sol-gel doar o parte din fier este încorporat în matrice, restul se distribuie în regiuni bogate în fier, tratamentele termice având ca efect cristalizarea fazei de hematit.
- Tratamentele termice între 450° și 700°C modifică structurile cristaline dar le conferă și stabilitate în fluidul biologic simulat.
- Atmosfera de tratament termic influențează formarea fazelor cristaline ale fierului, tratamentul în atmosferă reducătoare (atmosfera îmbogățită în azot) conduce la formarea fazei de tip magnetită, fază preferată din punctul de vedere al aplicațiilor în scopul hipertermiei .

Bibliografie selectivă

1. Y. Adda, J. M. Dupouy, J. Philibert, Y. Quéré, *Techniques du laboratoire de science des matériaux*, tome 2, (Instin Cea Collection enseignement, Gif-sur-Yvette, 1993);
2. P. M. Chaikin, T. Lubenski, *Principles of condensed matter physics*, (Cambridge University Press: 1995);
3. A. H. Brunski, J. B. Cooper, S. L. Hench, L. L. Hergenrother, R. W. Hooman, A. S. Kohn, J. Langer, N. A. Peppas, B. D. Ratner, S. W. Shalaby, S. A. Visser, P. Atkins, J. de Paula, *Physical Chemistry*, (8, Oxford, 2006);
4. V. Pop, I. Chicinaş, N. Jumate, *Fizica materialelor, Metode experimentale*, (Presa universitară clujeană: Cluj-Napoca, 2001);
5. P. Eberhart, *Analyse structurale et chimique des matériaux*, (Dunod: Paris, 1989);
6. F. P. Filho, R. E. F. Q. Nogueira, M. P. F. Graça, M. A. Valente, A. S. B. Sombra, C. C. Silva, *Structural and mechanical study of the sintering effect in hydroxyapatite doped with iron oxide*, *Physica B: Condensed Matter*, 403, 19-20, (2008), 3826-3829;
7. Y. Adda, J. M. Dupouy, J. Philibert, Y. Quéré, *Techniques du laboratoire de science des matériaux*, tome 2, (Instin Cea Collection enseignement: Gif-sur-Yvette, 1993);
8. L. Ortega, C. Bouchard, R. Bruyère, P. Bordet, *Étude structurale de nanomatériaux par diffraction X : utilisation d'un montage avec optique multicouche à collimation 2D*, *Phys. IV France*, 118, (2004), 71-75;
9. [http //prism.mit.edu/xray/basicsofxrd.ppt](http://prism.mit.edu/xray/basicsofxrd.ppt);
10. C. Mireştean, H. Mocuţa, R. F.V. Turcu, G. Borodi, S. Simon, *Nanostructured materials for bone tumors*, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 9, 3, (2007), 764–767;
11. H. Mocuţa, C. Mireştean, V. Gheorghe, S. Bot, S. Simon, *Studiul structurii biomaterialelor aplicabile în hipertermie și radioterapie prin metoda difracției de raze X*, *Simpozionul Național de Biomateriale SNB'2007*, 18-20 octombrie 2007, Cluj-Napoca;
12. B. I. Lazonyak, V. A. Morozov, A. A. Belik, S. S. Khasanov, V. Sh. Shekhtman, *J. Solid State Chem.* 122, 15 (1996).
13. J. A. Nielsen, D. Mac Morrow, *Element of Modern X-ray crystallography*, (Wiley: N.Y.: 2000);
14. A. Schweiger, G. Jeschke, *Principles of Pulse Electron Paramagnetic Resonance*, (Hardcover, 2001) ;
15. C. Faure, E. Soulié, T. Berclaz, *Résonance paramagnétique électronique, optimisation et différenciation automatique*, *Institut National de Recherche en Informatique et en Automatique*, 3907, (2000), 30;
16. C. Mireştean, P. Berce, S. Simon, *Influence of heat treatment atmosphere on the superparamagnetic iron oxide – hydroxyapatite composites*, *Journal of optoelectronics and advanced materials*, 12, 9, (2010), 1899-1902;
17. R. G. Sajfutdinov, L. I. Larina, T. I. Vakulskaya, M. G. Voronkov, *Electron Paramagnetic Resonance in Biochemistry and Medicine*, (Hardcover, 2001);
18. M. Réglie, *Résonance Paramagnétique Electronique*, (Université Paul Cézanne /Aix-Marseille III/, (2000);
19. K. A. Gross, R. Jackson, J. D. Cashion, L. M. Rodriguez-Lorenzo, *Iron substituted apatites: a resorbable biomaterial with potential magnetic properties*, *European Cells and Materials*, 3, 2, (2002), 114-117;
20. C.Jäger, T. Welzel ,W.Meyer-Zaika, M.Epple, *A solid-state NMR investigation of the structure of nanocrystalline hydroxyapatite*. *Magnetic. Reson. Chem.*,44, (2006), 573 -580
21. R.V. F. Turcu, C. Mireştean, S. Simon, *Caracterizarea structurală a hidroxipatitei prin rezonanță magnetică nucleară de înaltă rezoluție*, *Advanced Spectroscopies on Biomedical and Nanostructured Systems*, September 7-10, 2008, Cluj-Napoca, Section 1: Biomedical Applications, Cluj-Napoca, 2008;
22. R. F. V. Turcu, *Pollycrystalline Materials Study by Nuclear Magnetic Resonance* (Babeş-Bolyai University, Physis Faculty: Cluj-Napoca, 2007);
23. E. N. Voronkov, *Crystallization in Chalcogenide Glass by Differential Thermal Analysis Measurements*, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 4, 4, (2002), 863 – 866;
24. <http://www.msm.cam.ac.uk/phasetrans/2002/Thermal1.pdf>;
25. D. Trandafir, M. Vasilescu, S. Simon, *Structural investigation of sol-gel derived SiO₂-GeO₂ noncrystalline and nanocomposite materials* *J Sol-Gel Sci Technol* (2012) 63:425–434,
26. A. Vulpoi, L. Baia, S. Simon, V. Simon, *Silver effect on the structure of SiO₂-CaO-P₂O₅ ternary system*, *Materials Science and Engineering C 32* (2012) 78-183,
27. A. Vulpoi, M. Tămasan, V. Simon, *Synthesis and analysis of sol-gel derived bioglasses incorporating silver*, *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Physica, LV, 1,* (2010)
28. B. M. Krieger, H. Y. Lee, T. J. Emge, J. F. Wishart, E. W. Castner, Jr., *Ionic Liquids and Solids with Paramagnetic Anions*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*,12, (2010), 8919-8925;

29. **D. L. Griscom**, *J. Non-Cryst Solids*, **67**, 81 (1984).
30. **S. Simon, R. Pop, V. Simon, M. Coldea**, *J. Non- Cryst. Solids*, **331** (1-3) 1 (2003)
31. **S. Arthur, J. Gunnar**, *Principles of Pulse ElectronParamagnetic Resonance*, (Hardcover, 2001);
32. **J. Komusinski, L. Stoch, S.M. Dubiel**, *Clay Clay Miner.*, **29**(1), 23 (1981).
33. **R. T. Downs**, **The RRUFF Project: an integrated study of the chemistry, crystallography, Raman and infrared spectroscopy of minerals**, *Program and Abstract of the 19th General Meeting of the International Mineralogical Association in Kobe, Japan*. O03-13, (2006).
34. **A. Bigi, E. Boanini, S. Panzavolta, N. Roveri, K. Rubini**, *Bonelike apatite growth on hydroxyapatite-gelatin sponges from body fluid simulated*, *J. Biomed. Mater. Res.*, **59**, 4 (2002), 709 -715
35. **A. Griciuc, T. Popescu-Negreanu, R. Grecu, V. Simon**, *Corem Composite Matrix Behaviour in Simulated Body Fluid*, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, **7**, 6, (2005), 2827-2831;
36. **I. R. Macdonald, R. F. Howe, S. Saremi-Yarahmadi, K. G. U. Wijayantha**, *Photo-induced Superparamagnetism in Nanostructured α -Fe₂O₃*, *J. Phys. Chem. Lett.*, **1**, (2010) 2488;
37. **D. L. Griscom**, *Ferromagnetic resonance of precipitated phases in natural glasses*, *J. Non-Cryst Solids*, **67**, 81 (1984), 81-118;
38. **L. C. Bertolino, A. M. Rossi, R. B. Scorzelli, M. L. Torem**, *Influence of iron on kaolin whiteness: An electron paramagnetic resonance study*, *Appl. Clay Sci.*, **49**(3), (2010), 170-175;