

**Influencia del método de obtención en las propiedades  
estructurales, microestructurales y mecánicas de la  
hidroxiapatita**



**Eduar Antonio Landazuri Idrobo**  
**Ana Gabriela Zapata Torres**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN**  
**DEPARTAMENTO DE FÍSICA**  
**POPAYÁN**  
**2019**

**Influencia del método de obtención en las propiedades  
estructurales, microestructurales y mecánicas de la  
hidroxiapatita**

**Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Físico**

**Eduar Antonio Landazuri Idrobo**

**Ana Gabriela Zapata Torres**

**Directora**

**Dra. Claudia Fernanda Villaquirán Raigoza**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE FÍSICA  
POPAYÁN  
2019**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

Director: \_\_\_\_\_

Dra. Claudia Fernanda Villaquirán Raigoza

Jurado: \_\_\_\_\_

Mg. Carol Julieth Agilar

Jurado: \_\_\_\_\_

Dr. Carlos Alberto rincón

Lugar y fecha de sustentación: Popayán, 26 de abril de 2019

# Tabla de contenido

Resumen .....	8
Introducción.....	9
1. Marco Teórico .....	12
1.1 Biomateriales .....	12
1.2 Generalidades de la hidroxiapatita.....	13
1.2.1 La Hidroxiapatita y el tejido óseo .....	14
1.2.2 Fuentes de hidroxiapatita .....	16
1.3 Síntesis de polvos cerámicos .....	18
1.3.1 Método de reacción por combustión .....	18
1.4 Procesamiento cerámico .....	20
1.4.1 Prensado uniaxial .....	20
1.4.2 Sinterización.....	20
1.5 Caracterización estructural y microestructural .....	20
1.5.1 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).....	21
1.5.2 Difracción de rayos X .....	22
1.5.3 La microscopía electrónica de transmisión (MET) .....	23
1.5.4 La microscopía electrónica de barrido (MEB).....	23
1.6 Caracterización Mecánica.....	24
Capítulo 2 .....	27
Metodología.....	27
2.1 Síntesis de polvos cerámicos .....	28
2.1.1 Reacción por combustión utilizando precursores comerciales .....	28
2.1.2 Reacción por combustión utilizando carbonato de calcio extraído del huevo de gallina .....	29
2.1.2.1 Obtención del carbonato de calcio de la cáscara de huevo de gallina.....	29
2.1.2.2 Reacción por combustión .....	30
Para la síntesis de la HAp se utilizaron como precursores $\text{CaCO}_3$ obtenido a partir de la cáscara de huevo de gallina y .....	30
2.3. Procesamiento del material cerámico para caracterización mecánica .....	31

2.3.1 Prensado uniaxial .....	31
2.3.2 Sinterización.....	32
2.4 Caracterización estructural y microestructural .....	32
2.4.1 Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR): .....	32
2.4.2. Difracción de rayos X (DRX): .....	33
2.4.3 Microscopía electrónica de transmisión.....	33
2.4.4 Caracterización mecánica.....	34
Capítulo 3 .....	35
Caracterización estructural, microestructural y mecánica.....	35
3.1 Caracterización estructural y microestructural de la HAp obtenida a partir de CaCO <sub>3</sub> comercial.....	36
3.1.1 Espectroscopia infrarroja de la HAp obtenida a partir de CaCO <sub>3</sub> comercial .....	36
3.1.2. Difracción de rayos X de la HAp obtenida a partir del CaCO <sub>3</sub> comercial.....	43
3.1.3 Microscopía electrónica de transmisión de las muestras de HAp obtenidas a partir de CaCO <sub>3</sub> comercial .....	56
3.2 Caracterización estructural del CaCO <sub>3</sub> obtenido a partir la cáscara de huevo de gallina .....	58
3.2.1 Espectroscopia infrarroja del CaCO <sub>3</sub> obtenido a partir de la cascara de huevo de gallina .....	58
3.2.2. DRX de la muestra de CaCO <sub>3</sub> obtenida a partir de la cascara de hueva de gallina .....	60
3.3 Caracterización estructural y microestructural de la HAp obtenida por la técnica de síntesis por combustión a partir de CaCO <sub>3</sub> obtenido de la cáscara de huevo de gallina...	61
3.3.1 Espectroscopía infrarroja de la HAp obtenida a partir de la cascara de huevo de gallina .....	61
3.3.1 Difracción de rayos X de la HAp obtenida a partir de la cascara de huevo de gallina.....	63
3.3.2 Microscopía electrónica de transmisión de la HAp obtenida a partir de CaCO <sub>3</sub> comercial .....	69
3.5 Caracterización mecánica de la HAp.....	70
4. Conclusiones.....	72
5. Referencias .....	73

*Dedicamos este trabajo principalmente a Dios, por concedernos vida y permitirnos llegar hasta este momento tan importante de nuestra formación profesional. A nuestros padres, por ser el pilar más importante y por demostrarnos siempre su cariño y apoyo incondicional.*

*Nos faltarían páginas para agradecer a las personas que se han involucrado en la realización de este trabajo, sin embargo merecen reconocimiento especial nuestros padres que con su esfuerzo y dedicación nos ayudaron a culminar nuestra carrera universitaria y nos dieron el apoyo suficiente para no decaer cuando todo parecía complicado e imposible.*

*Asimismo, agradecemos infinitamente a nuestros Hermanos y amigos, por sus palabras de apoyo y aliento.*

*De igual forma, agradecemos a nuestra Directora de Tesis, que gracias a sus consejos y correcciones hoy podemos culminar este trabajo. A los Profesores que nos han visto crecer como persona, y gracias a sus conocimientos hoy podemos sentirnos dichosos y contentos, por el tesoro que dejaron en nuestras vidas.*

## Resumen

Los materiales sustitutos de hueso más destacados presentes hoy en día, corresponden a cerámicas de fosfato de calcio sintéticos en base a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ -HAp) o fosfato  $\beta$ -tricálcico, debido a que la composición química de estas cerámicas está muy relacionada con la del mineral óseo, lo que conduce a una buena biocompatibilidad en contacto con el hueso. El magnesio (Mg) y el zinc (Zn) son dos de los oligoelementos más importantes en huesos y dientes. En humanos adultos, la concentración de iones de Mg en huesos, dientes y esmalte dental es de 0,72, 1,23 y 0,45% en peso, respectivamente [1]. El Mg desempeña un papel clave en el metabolismo óseo, en particular durante las primeras etapas de la osteogénesis, donde estimula la proliferación de osteoblastos, y su deficiencia causa fragilidad y pérdida ósea [2]. Los iones Zn están relacionados con muchas metaloenzimas y proteínas, incluido el fosfato alcalino (ALP), y pueden promover la proliferación y diferenciación celular de los osteoblastos y la formación ósea [3]. El zinc se encuentra en todos los tejidos humanos y también en los huesos y está estrechamente relacionado con el metabolismo óseo; según los estudios realizados, el contenido de Zn varía de 0.0126% a 0.0217% en peso en el hueso humano y es comparativamente mayor que el contenido de Zn en tejidos y plasma [3].

Este trabajo se enfocó en la obtención de la HAp mediante el método de reacción por combustión empleando precursores comerciales y carbonato de calcio extraído de la cáscara de huevo, considerando la relación estequiométrica Ca:P de 1,67. También se adicionó 5%, 9% y 11% de Mg/Zn a las muestras de HAp obtenidas a partir de precursores comerciales, con el fin de ver la influencia de la inclusión en las propiedades estructurales, microestructurales y mecánicas. Las muestras se caracterizaron mediante difracción de rayos X (DRX), espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de transmisión (MET), y pruebas de nanoindentación. Los resultados permitieron evidenciar que a una temperatura de 1100°C se obtiene HAp como única fase cristalina; el zinc y el magnesio fueron totalmente solubles en la red de la HAp hasta 5%, para un 9 y 11% de los dos elementos se obtuvo un pequeño porcentaje de fosfato tricálcico  $\beta$ . La adición de zinc y magnesio redujeron el tamaño de partícula, aumentaron la dureza y afectaron la cristalinidad de la HAp.

## Introducción

Una de las limitaciones a las que se enfrenta la ciencia médica es la dificultad que tiene el cuerpo humano para aceptar piezas u objetos extraños destinados a reparaciones o sustituciones óseas. El ser humano, como todos los vertebrados, cuenta con un tejido óseo, la base de este tejido está constituida por huesos, que se caracterizan por su rigidez y su resistencia mecánica. Entre las funciones del sistema óseo está la de proteger los órganos blandos, así como formar una estructura encargada del movimiento corporal. Los huesos están formados por una fase orgánica compuesta por colágeno y proteínas que contribuye a la flexibilidad y elasticidad del cuerpo, y una fase inorgánica compuesta en su mayor parte por hidroxiapatita (HAp) e iones de magnesio, zinc, flúor, sodio, entre otros. Esta fase corresponde a aproximadamente al 70% en peso del hueso [4]. Considerando que la hidroxiapatita es la componente mayoritaria del hueso, durante los últimos años este material ha sido estudiado para ser utilizado en reconstrucción ósea [5]. Tradicionalmente, la HAp se obtiene a partir de procesos de síntesis química, que son relativamente costosos, así como a partir de fuentes biológicas como huesos, caparazones y cáscaras de huevo, debido al alto contenido de calcita. Entre las aplicaciones que tiene la HAp están las reparaciones de fracturas mandibulares, la reconstrucción de huesos faciales, la cirugía maxilofacial, las prótesis ortopédicas [6], los recubrimientos de prótesis metálicas [7], los implantes dentales [8], prótesis de oído medio, entre muchas otras utilidades [9, 10].

El magnesio (Mg) es uno de los oligoelementos más importantes en huesos y dientes, así como el Zn [11, 12, 13]. Al igual que el Ca, el Mg mejora los huesos y reduce el riesgo de osteoporosis; además, el Zn presenta propiedades antibacterianas [14],

Si bien, en los objetivos del anteproyecto presentado estaba el obtener la HAp e HAp con Mg/Zn por el método Pechini, no fue posible mediante este método de síntesis obtener los sistemas mencionados, así que optamos por emplear otro método de síntesis como es el método de reacción por combustión, mediante el cual se pudieron estabilizar los sistemas obtenidos en este trabajo de investigación.

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de este trabajo fue: (i) obtener mediante el método de reacción por combustión HAp pura y con diferentes concentraciones de Mg/Zn (5%, 9% y 11%) utilizando como precursor de calcio, carbonato de calcio comercial, (ii) obtener mediante el método de reacción por combustión HAp utilizando como precursor de calcio, carbonato de calcio obtenido de cáscara de huevo de gallina, (iii) determinar el efecto del precursor de calcio sobre las características de la HAp; (iv) analizar las modificaciones experimentadas por la red cristalina de la HAp con la inclusión de Mg/Zn, (v) concluir sobre el efecto del Mg/Zn en las propiedades estructurales, microestructurales y mecánicas de la HAp.

Para una mejor comprensión del desarrollo de esta investigación, en el capítulo 1 se encuentra los fundamentos teóricos básicos: una revisión conceptual sobre los biomateriales, generalidades de la HAp. Adicionalmente, se presentan los métodos de síntesis, procesamiento y caracterización utilizados en este trabajo.

En el capítulo 2 se describen los materiales usados como precursores, se discute la metodología seguida en el proceso de síntesis y procesamiento de los polvos cerámicos, también se describen los procesos seguidos para la caracterización de los polvos cerámicos y los diferentes equipos utilizados para dichas caracterizaciones.

En el capítulo 3 se analizan los resultados obtenidos a partir de las caracterizaciones estructurales, microestructurales y mecánicas realizadas a las muestras de: (i) HAp pura utilizando como precursor carbonato de calcio comercial y el carbonato de calcio extraído de la cáscara de huevo de gallina, (ii) HAp con los diferentes porcentajes de magnesio y zinc (5%, 9% y 11%) utilizando como precursor de calcio carbonato de calcio comercial.

Finalmente, se presentan las conclusiones y las referencias utilizadas en el desarrollo de este trabajo de investigación.

# **Capítulo 1**

## **Marco Teórico**

## **1. Marco Teórico**

### **1.1 Biomateriales**

Un biomaterial es un material o sustancia utilizado en la fabricación de dispositivos médicos encaminados a interactuar con los tejidos humanos para desempeñar funciones del cuerpo o para tratar condiciones patológicas del mismo. Si el material es vivo se denomina injerto y los no vivos colocados dentro del cuerpo se denominan implantes. Para que un biomaterial pueda interactuar con el tejido, debe existir “biocompatibilidad” entre ambos, la cual se debe a la habilidad del biomaterial para cumplir satisfactoriamente una aplicación definida, con una respuesta apropiada [15], es decir, es de vital importancia que el biomaterial no cause ningún daño dentro del organismo [16]. Un material biocompatible es considerado (i) “inerte” cuando no existe ningún tipo de reacción con el tejido y permanece estable por periodos indefinidos de tiempo (la única respuesta probable será la formación de una capa fibrosa alrededor del implante); (ii) “bioactivo” cuando existen interacciones específicas con el tejido circundante; (iii) “bioabsorbible”, cuando se disuelve dentro del cuerpo a través de una actividad celular y el espacio vacante se ocupa eventualmente con tejido y (iv) “biodegradable” cuando el material falla gradualmente debido a una actividad biológica o bioquímica específica [17].

Los biomateriales pueden ser metálicos, poliméricos y cerámicos. Los biomateriales metálicos son aleaciones y aceros inoxidables que se utilizan para aplicaciones ortopédicas, como tornillos y clavos; entre los poliméricos se encuentran la celulosa, el quitosano, los polímeros sintéticos, entre otros y se utilizan en prótesis faciales, partes de prótesis de oído, aplicaciones dentales, marcapasos, riñones, hígado, pulmones, etc. [18]. Las cerámicas utilizadas en medicina son materiales biocompatibles que se caracterizan por ser más rígidos y resistentes que el acero cuando se someten a fuerzas de compresión, soportan más calor y corrosión que los metales o los polímeros, tienen una densidad menor que la mayoría de los metales y sus aleaciones; y sus materias primas son abundantes y baratas; sin embargo son frágiles, es decir que no tiene fase de deformación plástica y poseen una escasa resistencia a las fuerzas de tracción, flexión o cizallamiento, según su composición

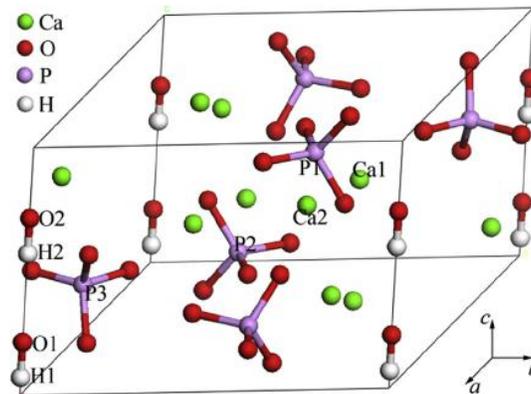
química se clasifican en óxidos cerámicos, biovidrios y fosfato de calcio; la hidroxiapatita forma parte del último grupo [19].

Desde el punto de vista biomédico, para que un material cerámico sea considerado como material de implante, debe cumplir con diferentes propiedades. A nivel biológico debe poseer bioactividad, biodegradabilidad, osteoconducción y osteoinducción [20]. Mecánicamente debe poseer resistencia a la fatiga, compresión y tensión similar a la de la zona en la que se desea implantar [16]. Por otro lado, el crecimiento poblacional trajo consigo el fenómeno de la movilización en medios mecánicos, lo que generó más accidentes y por ende traumatologías severas por fracturas del sistema óseo. A causa de esta problemática y del hecho de que la capacidad de auto restauración del hueso natural es lenta, se han desarrollado biomateriales sintéticos como sustitutos óseos para restaurar, mantener o mejorar su función [21].

## 1.2 Generalidades de la hidroxiapatita

La hidroxiapatita (HAp) proviene de la familia de las apatitas; son cristales que se pueden describir mediante la fórmula  $A_{10}(BO_4)_6C_2$ , donde **A** es habitualmente calcio, **B** fósforo y **C** puede ser flúor, cloro o un hidróxido, recibiendo así nombres de fluoroapatita, cloroapatita e hidroxiapatita, siendo esta última el principal componente inorgánico del hueso de los vertebrados, compuesta esencialmente por calcio y fósforo [18]. También llamada Hidroxilapatita es un mineral que se produce naturalmente a partir del calcio de la apatita con fórmula  $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ , pero usualmente es escrita como  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  para denotar que el cristal como unidad de la celda contiene dos moléculas [22], con una relación molar ideal calcio fósforo (Ca/P) de 1,67. Este fosfato cálcico tiene estructura hexagonal compacta (*hcp*), con parámetros de red  $a = b = 9,432 \text{ \AA}$  y  $c = 6,88 \text{ \AA}$  (figura 1.1); el carácter iónico de la HAp la hace una cerámica dura, refractaria, con punto de fusión mayor a  $1500^\circ\text{C}$ . También, este carácter iónico le facilita la capacidad de la sustitución parcial o total de iones de la red por otros de tamaño similar ( $PO_4^{3-}$  por  $HPO_4^{2-}$ ,  $Ca^{2+}$  por  $K^+$  o  $Mg^{2+}$ ,  $OH^-$  por  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ) y le proporciona su propiedad de insolubilidad. La densidad calculada es de  $3,219 \text{ g/cm}^3$  y sus propiedades mecánicas varían de acuerdo con el proceso de obtención. La resistencia mecánica de la HAp, depende del tamaño del grano, su

distribución, porosidad y otros defectos microestructurales [18]. El gran desarrollo de la ingeniería de tejidos y la creciente necesidad de sustitutos óseos, explican la cantidad de esfuerzos destinados a la preparación, caracterización y estudio de la HAp bajo diferentes condiciones fisicoquímicas, clínicas y sobre diferentes tipos de sustratos. El polvo de HAp ha sido utilizado en cirugías desde el año 1920, con el objetivo de promover la consolidación del hueso en aplicaciones ortopédicas, dentales y maxilofaciales [25].



**Figura 1.1** Estructura de una HAp [23]

### 1.2.1 La Hidroxiapatita y el tejido óseo

El hueso es un tejido firme, duro, resistente y al igual que los dientes, su composición se basa en sustancias minerales y tejidos; entre las funciones que desempeña se encuentra el proteger los órganos, dar soporte y conectar los músculos [15]. El hueso como tejido vivo permite la reparación y la homeostasis, propiciando que su carga y propiedades mecánicas se mantengan. El tejido óseo sufre procesos de destrucción y formación constantes, además existe una relación dinámica entre su estructura y función. Es una forma especializada de tejido conectivo, mineralizado, muy vascularizado e innervado, que está estructurado en laminillas de matriz osteoide calcificada, proporcionando al hueso resistencia, soporte y protección [24]. Está compuesto por una fase mineral (fase inorgánica), que ocupa un 69% de su peso total y un 9% de agua; la fase mineral es conocida como bio-hidroxiapatita (bio-HAp): bio por su origen, e hidroxiapatita debido a que contiene gran cantidad de fosfato, aunque también contiene iones de magnesio, flúor, cloro, plomo, aluminio, carbonatos, cobre y sodio, entre otros, en menor cantidad. El 22% restante la conforma una matriz orgánica, formada por células, vasos sanguíneos y colágeno, de los cuales el colágeno es el

principal componente; esta fase orgánica contribuye a dar flexibilidad y elasticidad al cuerpo, ocupando entre un 90% y 96% de esta [16].

El tejido óseo (figura 1.2) posee varios tipos de células óseas, entre las que están las células osteoprogenitoras, los osteoblastos, los osteoclastos y los osteocitos. Las primeras, están ubicadas en dos tipos de membrana del hueso cortical: el periostio, que recubre el hueso en su parte externa y el endostio, que reviste las superficies internas del hueso. Las células osteoprogenitoras del periostio y de la médula ósea son inducidas a la diferenciación generando osteoblastos, que son células ubicadas en el periostio que se unen entre sí y forman una matriz amorfa; es decir, se encargan de generar matriz ósea produciendo sustancias intercelulares orgánicas llamadas osteoides (parte no mineralizada del hueso) que capturan cristales de fosfatos y carbonatos de calcio para formar la fase inorgánica del hueso (hidroxiapatita). Otro tipo de células, los osteocitos, son células que provienen de osteoblastos que tienen la capacidad de segregar o reabsorber la matriz ósea que les circunda, quedando atrapados en la matriz amorfa o laguna ósea, cuando se depositan los cristales en el osteoide. Los osteocitos desempeñan un importante papel en el intercambio de calcio con la sangre. A diferencia de los osteoblastos, los osteoclastos son células que derivan de células hematológicas provenientes de la médula ósea y son células encargadas, junto con los osteoblastos, de la generación y mantenimiento del hueso [18].

Durante las etapas de desarrollo del tejido, se forma primero la matriz orgánica que va variando en su composición y luego se mineraliza. En la tabla 1, se muestra la composición del tejido óseo; indicando la parte orgánica y la parte mineral.

**Tabla 1.** Composición del tejido óseo.

Componente	% en peso	% en volumen
Hidroxiapatita carbonatada 80%		
Carbonatos de calcio 15%	70	45
Otros minerales 5%		
Colágeno tipo I 90%	20	33
Agua	10	22

La fase mineral del tejido está compuesta principalmente de cristales microscópicos de fosfatos de calcio, dentro de los cuales la Hidroxiapatita es la más importante. Otro mineral importante presente en el hueso es el fosfato de calcio dibásico (DCP;  $\text{CaHPO}_4$ ). Cabe mencionar que estos dos minerales son de gran importancia ya que son las únicas fases de fosfato de calcio que son químicamente estables a la temperatura y pH del cuerpo humano [25].

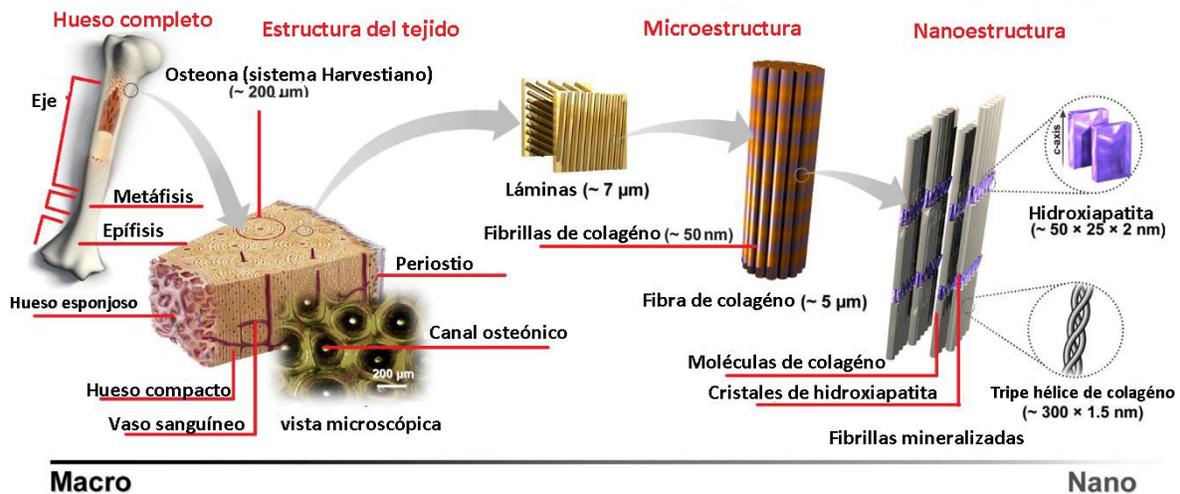


Figura 1.2 Estructura y jerarquía del tejido óseo [26].

## 1.2.2 Fuentes de hidroxiapatita

La hidroxiapatita puede ser de origen natural o sintético, y sus propiedades dependen de la fuente de extracción (si es natural) o del método de síntesis utilizado para su obtención (si es sintética).

### 1.2.2.1 Hidroxiapatita de origen natural

La hidroxiapatita puede obtenerse naturalmente a partir de la transformación hidrotermal del carbonato cálcico  $\text{CaCO}_3$  (Aragonito) de los corales; también se puede obtener a partir de huesos humanos o de otras especies animales que así lo permitan, como es el caso del hueso bovino [22]. También se puede encontrar en exoesqueletos como la estrella de mar *Mellita sp.*, en los corales marinos, en cáscaras de huevo, exoesqueletos de vertebrados, entre otros [18]. Existe también otro tipo de hidroxiapatita de origen natural que se deriva de las algas, contiene microporos y no es reabsorbible. Su superficie es muy parecida a la

del hueso y el patrón de formación de los minerales de ambos es bastante parecido, lo que facilita la integración ósea [22]. La HAp extraída de las fuentes antes mencionadas imita al tejido óseo en composición y estructura, conservan las propiedades de bioactividad, osteointegración y no toxicidad, y promueven la formación de un nuevo tejido. Esta HAp no es estequiométrica ya que al ser extraída de componentes biológicos posee otro tipo de iones adicionales como el magnesio, flúor, cloro, plomo, aluminio, cobre, sodio, entre otros en menor cantidad [18].

### **1.2.2.2 Hidroxiapatita de origen sintético**

La hidroxiapatita puede sintetizarse para la obtención de materiales con gran variabilidad fisicoquímica y morfológica dependiendo del método de síntesis que se utilice. Debido a que es el principal componente del tejido óseo se ha puesto especial atención en reproducirla, tanto química como cristalográficamente [22]. Entre los diferentes métodos utilizados para su obtención se cuentan reacción en estado sólido, método hidrotermal, sol-gel, Pechini, combustión, precipitación, deposición térmica, microemulsión inversa, entre otros, utilizando diferentes precursores que contengan calcio y fósforo, elementos principales de la HAp. Entre los precursores químicos utilizados para la síntesis de HAp están el nitrato de calcio  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , el fosfato monoácido de diamonio  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , ácido fosfórico  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , pentaóxido de fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ), entre otros [18].

### **1.2.2.3 Adición de magnesio y zinc a la Hidroxiapatita**

El magnesio es un oligoelemento importante en los huesos y los dientes. De hecho, a pesar de su baja concentración (generalmente entre 0.5 y 1.5% en peso), desempeña un papel clave en el metabolismo óseo, en particular durante las primeras etapas de la osteogénesis donde estimula la proliferación de osteoblastos, y su agotamiento causa fragilidad y pérdida ósea [27], por otra parte el zinc es el metal traza más abundante en el hueso, puede promover la proliferación y mantenimiento de las células de los osteoblastos y mantener el crecimiento y desarrollo normal del cuerpo [28]. Existe una diferencia significativa en las propiedades de los cristales de apatitas naturales que se encuentran en el mineral óseo, que contiene los elementos mencionados y la HAp sintética convencional. El mineral óseo

contiene iones traza de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  que desempeñan un papel en su funcionamiento. Investigaciones han demostrado que es posible mejorar el rendimiento mecánico y biológico de la HAp mediante el control de las características de los polvos, como el tamaño y la forma de las partículas, su distribución y aglomeración [29], estas características se pueden controlar incorporando iones traza, como el Zn y Mg, que están presentes de forma natural en el mineral óseo y mejoran la bioactividad de la HAp sintética [29, 30]. Se ha demostrado que los injertos óseos fabricados con polvos de HAp nanocristalina dopada con oligoelementos esenciales poseen propiedades mecánicas y biológicas superiores o análogas a las del hueso natural [2].

### **1.3 Síntesis de polvos cerámicos**

El desarrollo de nuevas tecnologías, y los requerimientos de la tecnología actual, ha incentivado a los investigadores a buscar, desarrollar y optimizar procesos de síntesis que permitan obtener polvos cerámicos de alta pureza química, con tamaño, distribución de tamaño y morfología específica. Los polvos cerámicos sintéticos se utilizan en la fabricación de productos o dispositivos que se requieren en aplicaciones avanzadas y que presenten alta eficiencia [31]. Por esto, se han desarrollado diferentes técnicas de preparación de materiales tendientes a controlar las características estructurales y microestructurales del producto obtenido, estas incluyen métodos físicos y químicos, como el sol gel, coprecipitación, Pechini, síntesis por combustión, entre otras [32].

#### **1.3.1 Método de reacción por combustión**

En 1967, Munir y colaboradores [33] desarrollaron el proceso de combustión en estado sólido que comenzó a implementarse como método de síntesis alternativo a las vías tradicionales. La síntesis por combustión es un método rápido, fiable y eficaz para obtener polvos cerámicos, metálicos, vidrios y cementos. En este proceso se utiliza como fuente energética el calor liberado en la reacción a partir de los reactivos, dando lugar a un proceso auto-sostenido. En algunos casos es posible activar el proceso, ya que la entalpía de la reacción de síntesis no es suficiente para lograr que el proceso se autopropague. La reacción por combustión se puede realizar de varias formas, una de las cuales es la adición de un combustible que pueda oxidarse con los reactivos usados en la síntesis. La elección

del combustible es importante debido a que la exotermicidad de la combustión varía con el combustible, modificando con ello la energía liberada en la reacción y por tanto las características de los productos obtenidos [34]. Los combustibles más utilizados son el tetraformato de triazina (TFTA,  $C_4H_{16}N_6O_2$ ), hidrazida Maleica ( $C_4H_4N_2O_2$ ) y la carbohidrazida ( $CO(N_2H_3)_2$ ), urea ( $CON_2H_4$ ), la glicina y el ácido cítrico ( $C_6H_8O_7H_2$ ) [35]. Todos estos compuestos difieren entre sí por su poder reductor y por la cantidad de gases que liberan durante la combustión, siendo estos dos factores determinantes tanto de las condiciones de reacción, como de la morfología y composición de los productos obtenidos. Otro factor importante a considerar es la naturaleza de los precursores de los cationes metálicos que intervienen en la reacción. Se suelen utilizar nitratos hidratados porque poseen un marcado carácter oxidante que ayuda a superar la barrera de energía de activación de la reacción y porque funden a bajas temperaturas garantizando con ello una mezcla homogénea a una temperatura inferior a la de la descomposición del combustible. La relación entre los nitratos y el combustible determina la temperatura de ignición y la autopropagación de la reacción de combustión, siendo que para mezclas estequiométricas (sumatoria de las valencias positivas igual a la sumatoria de las valencias negativas provenientes de los nitratos y el combustible), la temperatura alcanza un máximo y el tiempo de reacción un mínimo, y tiende a disminuir tanto para un aumento o disminución de la concentración de combustible. Para mezclas muy pobres o muy ricas en combustible, no ocurre la combustión, pues el exceso de combustible hace que haya una disminución de la temperatura debido a la absorción de calor por los gases, impidiendo así la autoignición. Para mezclas muy pobres de combustible, no hay calor suficiente para que ocurra la autoignición. La diferencia entre los combustibles está en su poder de reducción y la cantidad de gas que ellos generan. La valencia asociada a los diferentes combustibles es: TFTA = +28, urea = +6, hidrazina = +16 y carbohidrazina = +5. La cantidad de gas producido por un mol de estos combustibles es: 4 moles, 15 moles, 7 moles y 6 moles respectivamente. Las diferencias entre el poder de reducción y la cantidad de gas formado para cada combustible afectarán directamente la temperatura y tiempo de combustión, el estado de aglomeración y la morfología del polvo.

## **1.4 Procesamiento cerámico**

Los materiales cerámicos tradicionales y funcionales son manufacturados compactando polvos o partículas en matrices que posteriormente son sometidas a altas temperaturas (dependiendo del material) para densificar el material.

### **1.4.1 Prensado uniaxial**

En el prensado uniaxial, el polvo es compactado en una matriz metálica mediante presión aplicada en una sola dirección. La pieza conformada toma la forma de la matriz y de las superficies a través de las cuales se aplica la presión. Este método está restringido a formas que son relativamente sencillas; sin embargo, las velocidades de producción son altas y el proceso es barato [36].

### **1.4.2 Sinterización**

La sinterización es un tratamiento térmico en el cual el cuerpo en verde es convertido en un sólido denso. El tamaño de partícula y el empaquetamiento del cuerpo en verde a menudo tienen un efecto significativo en la sinterización. Las características comunes para el producto sinterizado son la alta densidad y el tamaño de grano, debido a que las propiedades de la pieza para su desempeño, depende de las características microestructurales. La sinterización es un proceso irreversible, y como todo proceso irreversible está acompañado de una reducción en la energía libre del sistema. La fuerza motriz que conduce a la compactación del polvo es la reducción de la energía libre, esta fuerza motriz está relacionada con la reducción del área superficial del polvo compactado [37].

## **1.5 Caracterización estructural y microestructural**

Para determinar las propiedades de los polvos obtenidos se requiere de técnicas de caracterización física y química. Existen distintas técnicas utilizadas en la caracterización de materiales, entre estas se encuentran:

### 1.5.1 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es una técnica analítica instrumental que permite conocer los principales grupos funcionales de la estructura molecular de un compuesto. La región del espectro infrarrojo comprende radiación con números de onda entre 12800 y 10  $\text{cm}^{-1}$  o longitudes de onda de 0.78 a 1000  $\mu\text{m}$ . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de los instrumentos, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones, infrarrojo: (i) cercano, (ii) medio y (iii) lejano [38].

El espectro de infrarrojo de un compuesto es una representación gráfica de los valores de longitud de onda ( $\mu\text{m}$ ) o número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) ante los valores de % de transmitancia (%T). La absorción de radiación IR por un compuesto a una longitud de onda dada, origina un descenso en el %T, lo que se pone de manifiesto en el espectro en forma de una banda de absorción [38]. En la espectroscopia infrarroja, la radiación IR pasa a través de la muestra, parte de la radiación es absorbida por el material y otra parte es transmitida; el espectro resultante representa la absorción y transmisión molecular. Los enlaces moleculares vibran a varias frecuencias dependiendo de los elementos y tipos de enlace presentes; para un enlace dado, existen varias frecuencias específicas en los cuales estos pueden vibrar. De acuerdo a la mecánica cuántica, estas frecuencias corresponden al estado base (bajas frecuencias) y a varios estados excitados (altas frecuencias). La causa que origina un aumento en la frecuencia de vibración molecular radica en la excitación de los enlaces a medida que estos absorben la energía de la radiación emitida. La transición dada entre dos estados de energía (determinados por la longitud de onda) o más exactamente la diferencia de energía entre estos estados (usualmente estado base  $E_0$  y primer estado excitado  $E_1$ ) viene dada por la siguiente expresión [39]:

$$E_i - E_0 = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.1)$$

Donde  $h$  es la constante de Planck,  $c$  es la velocidad de la luz y  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación emitida. La energía correspondiente a las transiciones dadas entre los estados de vibración molecular esta aproximadamente entre 1 a 10 kilocalorías/mol, el cual corresponde a la región de infrarrojo del espectro electromagnético.

## 1.5.2 Difracción de rayos X

La difracción de rayos X es una técnica analítica no destructiva y de las más importantes en la caracterización de materiales cristalinos [40]. Esta técnica se fundamenta en la ley de Bragg para interferencias constructivas. Bragg desarrolló una explicación sencilla de lo que sucede cuando un haz monocromático de rayos X incide en un cristal; cuando el haz incide con un ángulo  $\theta$  en una estructura ordenada, la ley establece que, para que se presente interferencia constructiva (difracción), es necesario que la diferencia de caminos recorridos debe sea un múltiplo entero de la longitud de onda del haz incidente, esto es:

$$2d\text{sen}(\theta) = n\lambda \quad (1.2)$$

Donde,  $d$  representa la distancia interplanar,  $n$  el orden de difracción y  $\lambda$  la longitud de onda de la fuente de rayos x. Los sólidos que poseen orden periódico son cristalinos y por tanto dan lugar a patrones de difracción bien definidos. Las distancias entre los diferentes planos que definen la red cristalina determinan el valor del ángulo de Bragg, cuya posición se considera como la “huella de identidad” del sólido ordenado. De este modo los patrones de difracción suministran información inequívoca de la estructura cristalina [41].

### 1.5.2.1 Análisis Williamson- Hall (W-H)

El ancho del pico de Bragg es una combinación de efectos dependientes tanto del instrumento como de la muestra. Para eliminar el efecto asociado al instrumento se refina el difractograma obtenido con un patrón de calibración del equipo. El ancho de un pico de difracción puede escribirse como [42].

$$\beta_D^2 = [\beta_{\text{medido}}^2 - \beta_{\text{instrumental}}^2] \quad (1.3)$$

$$D = \frac{k \lambda}{\beta_D \cos \theta} \quad (1.4)$$

Siendo (1.4) la conocida ecuación de Scherrer. Las imperfecciones cristalinas y la distorsión de la red, induce ensanchamiento de los picos, estos parámetros están relacionados por la expresión  $\varepsilon \approx \frac{\beta_s}{\tan \theta}$ . La ecuación de Scherrer sigue una dependencia

$\frac{1}{\cos \theta}$  pero no con la  $\tan \theta$  como aparece en el método W-H. Esta diferencia radica en que ambas causas microestructurales: tamaño del cristalito y las microdeformaciones simultáneamente influyen en el ancho del pico de difracción. Para las diferentes posiciones de  $\theta$ , un análisis W-H permite separar las contribuciones del tamaño del cristalito y las microdeformaciones, utilizando las siguientes relaciones:

$$\beta_{hkl} = \beta_s + \beta_D \quad (1.5)$$

$$\beta_{hkl} = \left( \frac{k \lambda}{D \cos \theta} \right) + 4\varepsilon \tan \theta \quad (1.6)$$

$$\beta_{hkl} \cos \theta = \left( \frac{k \lambda}{D} \right) + 4\varepsilon \sin \theta \quad (1.7)$$

Donde  $\lambda$  es la longitud de onda de rayos X,  $k$  es el factor de forma que se toma como 0,9,  $\beta$  es el ancho a la altura media de cada uno de los picos de difracción (FWHM),  $\theta$  el ángulo de Bragg,  $\varepsilon$  la deformación y  $D$  el tamaño del cristalito [43], FWHM fue calculada de los parámetros obtenidos mediante el refinamiento. Una gráfica de  $\beta \cos \theta$  vs.  $4 \sin \theta$  nos proporciona los datos para encontrar  $\varepsilon$  de la pendiente de la recta y  $D$  de su intercepto con el eje “y”.

### 1.5.3 La microscopía electrónica de transmisión (MET)

El microscopio electrónico de transmisión (MET) tiene gran resolución, más allá que la ofrecida por el microscopio óptico. El MET es un sistema de visión complejo, equipado con un conjunto de lentes electromagnéticas, utilizados para controlar la imagen formada por los electrones, con el fin de generar detalles estructurales extremadamente finos. Dado que los electrones pasan a través de la muestra, se dice que la información es una imagen transmitida. El moderno MET puede lograr aumentos de un millón de veces con resoluciones de 0.1 nm [44]

### 1.5.4 La microscopía electrónica de barrido (MEB)

El microscopio electrónico de barrido (MEB) permite la observación de materiales a escala manométrica y la observación de imágenes tridimensionales de la superficie; su mayor

aplicación es la obtención de imágenes topográficas de  $\sim 10\text{--}10000$  nm. En el MEB, la muestra es irradiada por un haz fino de electrones, el cual barre un área para formar una imagen. Los tipos de interacciones producidos por el efecto del haz de electrones sobre el material incluyen electrones secundarios, electrones retro-dispersados, rayos X característicos, fotones de varias energías, etc. De estas señales o interacciones, las de mayor interés son los electrones secundarios y retro-dispersados, ya que varían como resultado de la diferencia en topografía superficial. La emisión de electrones secundarios esta confinada a un volumen muy pequeño cerca del área de impacto del haz, este volumen depende de la energía del propio haz y permite obtener imágenes de la misma resolución del haz incidente. La obtención de imágenes con profundidad es causada tanto por la penetración del haz como por el efecto de relieve de sombra debido al contraste entre los electrones secundarios y retro-dispersados [45]

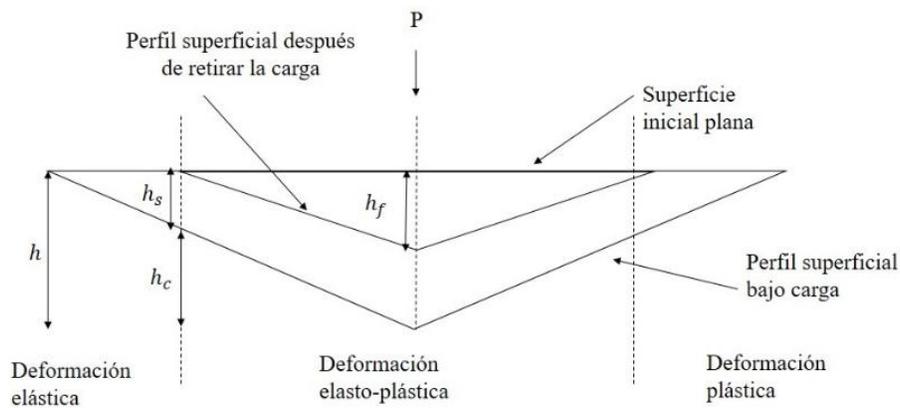
## **1.6 Caracterización Mecánica**

La determinación de propiedades mecánicas de una muestra es de gran utilidad para predecir el comportamiento del material, específicamente: la dureza, módulo de elasticidad y tenacidad a la fractura. Actualmente la principal herramienta utilizada para este propósito es la nanoindentación, que permite medir la profundidad de penetración cuando se usan fuerzas de prueba muy bajas. La dureza  $H$  es la medida de la resistencia que presenta un material a la deformación permanente. El módulo de elasticidad  $E$  es la relación entre el esfuerzo aplicado y la deformación elástica que sufre un material.

Un método ampliamente aceptado para calcular la dureza y módulo de elasticidad es el propuesto por Oliver y Pharr en 1992, el cual viene ya incorporado en el “software” de los equipos de micro y nanoindentación dinámica. Este método presenta una técnica de análisis que tiene en cuenta la forma no lineal de la curva de carga que se obtiene en la mayoría de indentaciones y provee un procedimiento físico para determinar la profundidad de indentación plástica alcanzada. La figura 1.3 muestra una sección transversal de una indentación para un material elasto-plástico e identifica los parámetros usados en el análisis. Durante la carga, la profundidad de penetración total  $h$  se puede expresar como:

$$h = h_c + h_s \quad (1.8)$$

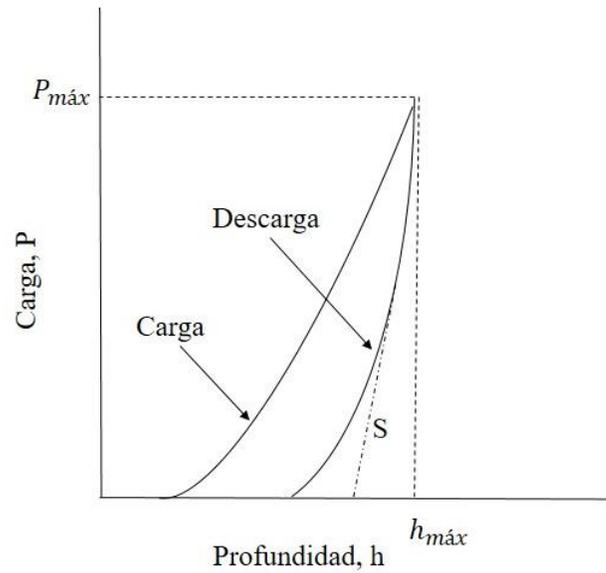
Donde  $h_c$  es la profundidad de contacto real y  $h_s$  es el hundimiento elástico de la superficie alrededor del contacto. En el punto final del proceso de carga, la penetración total es  $h_{max}$  y el radio del círculo de contacto real es  $a$ . El área de contacto real a carga máxima  $A_C$  queda determinado por la geometría del indentador y la profundidad de contacto real  $h_c$ . La geometría del indentador es descrita por la función de área del diamante que relaciona su área de sección transversal con la distancia desde la punta. Durante la descarga, la deformación elástica establecida alrededor del contacto real se recupera y en el punto final del proceso de descarga la penetración del indentador es  $h_f$ ; cuando el indentador es completamente retirado, la profundidad de la impresión residual en la muestra es  $h_f$ .



**Figura 1.3** sección transversal de una indentación [46]

Los parámetros experimentales necesarios para determinar la dureza y el módulo de elasticidad son mostrados sobre las curvas de carga-descarga de un material elasto-plástico en la figura 1.4. A partir de las curvas de carga-descarga medidas por el equipo se obtiene: la carga máxima  $P_{m\acute{a}x}$ , la penetración total a carga máxima  $h_{m\acute{a}x}$  y la rigidez del contacto al inicio de la descarga  $S_{m\acute{a}x}$ . Para determinar la profundidad de contacto real  $h_c$  con la expresión (1.8) es necesario conocer, por separado, la penetración total  $h$  medida experimentalmente y el hundimiento elástico de la superficie alrededor del contacto  $h_s$ , que se puede expresar como:

$$h = \varepsilon \frac{P_{m\acute{a}x}}{S} \quad (1.9)$$



**Figura 1.4** curvas de carga-descarga de un material elasto-plástico [46]

Donde  $S$  es la pendiente  $S = P/h$  al inicio de la descarga y  $\varepsilon$  es una constante que depende de la geometría del indentador y generalmente se supone que es igual a 0.75.

Una vez obtenidas  $h_S$  y  $h_{m\acute{a}x}$  su diferencia nos da la profundidad de contacto  $h_C$ , de acuerdo a la expresión 1.9, e introduciendo esta cantidad en la función de área (determinada experimentalmente para cada indentador) se obtiene el área de contacto a carga máxima  $A_C$  y con ella ya se pueden calcular el módulo de elasticidad  $E$  y la dureza  $H$  con las expresiones (1.10) y (1.11):

$$E = \frac{\sqrt{\pi}}{2} \frac{S}{\sqrt{A_C}} \quad (1.10)$$

$$H = \frac{P_{m\acute{a}x}}{A_C} \quad (1.11)$$

Donde  $P_{m\acute{a}x}$  es la carga máxima de indentación [46].

# **Capítulo 2**

# **Metodología**

## 2.1 Síntesis de polvos cerámicos

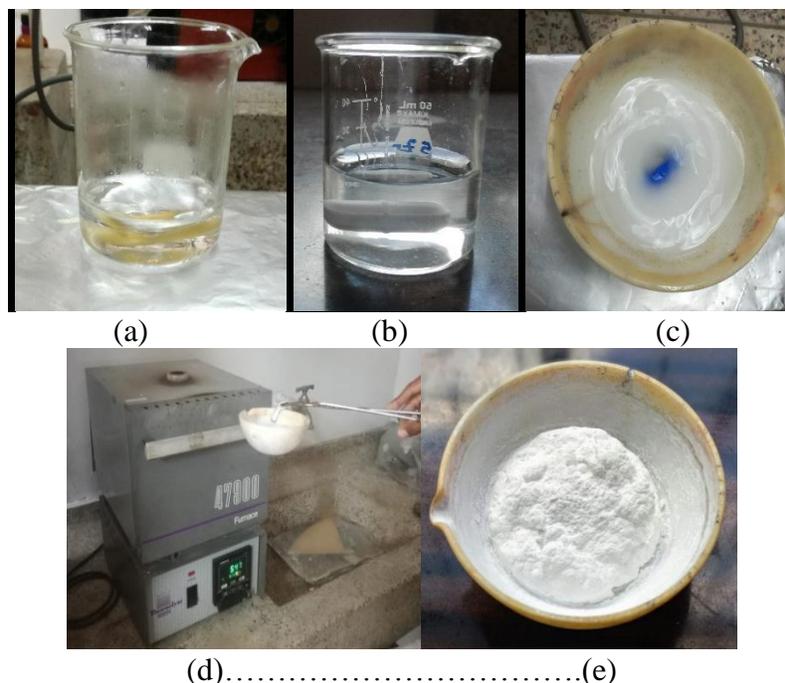
Por el método de reacción por combustión fueron sintetizados polvos cerámicos de: (i) HAp pura e HAp con 5%, 9% y 11% de Zn y 5%, 9% y 11% de Mg a partir de precursores comerciales, (ii) HAp pura utilizando como precursor el carbonato de calcio extraído de la cascara de huevo de gallina.

### 2.1.1 Reacción por combustión utilizando precursores comerciales

Para obtener HAp pura se utilizaron los siguientes precursores comerciales: carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (Merck, 99,0%), fosfato de amonio hidrogenado ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) (J. T. Baker 98.6%), como combustibles, úrea (Merck 98%) y glicina (Merck 99.5%), estos últimos en una relación 50/50. Se pesaron cantidades estequiométricas de cada precursor según la fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , posteriormente cada precursor fue disuelto en agua desionizada hasta lograr su completa disolución (figura 2.1 a-b), este proceso se realiza con agitación constante para favorecer la homogeneidad de la solución.

Cuando se adiciona 5%, 9% y 11% de Mg/Zn se utilizan además de los precursores descritos anteriormente, acetato de zinc dihidratado ( $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, 99,0%) y acetato de magnesio tetrahidratado ( $(\text{CH}_3\text{COO})\text{Mg}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, 99,5%). El procedimiento seguido es el descrito en el párrafo anterior.

Posteriormente, en un crisol se mezclaron las soluciones de precursores y combustibles, esta mezcla es precalentada en una plancha a una temperatura  $150^\circ\text{C}$  con agitación constante, propiciándose la evaporación del solvente (figura 2.1c); finalmente el crisol se introdujo en un horno precalentado a  $600^\circ\text{C}$  para dar lugar a la reacción de combustión (figura 2.1d); después de realizada la combustión, el crisol con el material obtenido se deja en el horno por 2 h, hasta obtener el producto final (figura 2.1d). Con el fin de descomponer los aglomerados presentes en el material, el producto de la combustión se maceró en un mortero de ágata y el polvo obtenido se calcinó a  $1100^\circ\text{C}/2\text{h}$  usando una velocidad de calentamiento de  $3^\circ\text{C}/\text{min}$ .



**Figura 2.1** Proceso de síntesis Combustión: (a) disolución de los precursores (carbonato de calcio y fosfato de amonio) en agua y ácido nítrico, (b) disolución de los combustibles (urea y glicina), (c) agitación de las soluciones previamente disueltas, (d) tratamiento térmico en un horno a 600°C, (e) Producto de la combustión.

## 2.1.2 Reacción por combustión utilizando carbonato de calcio extraído del huevo de gallina

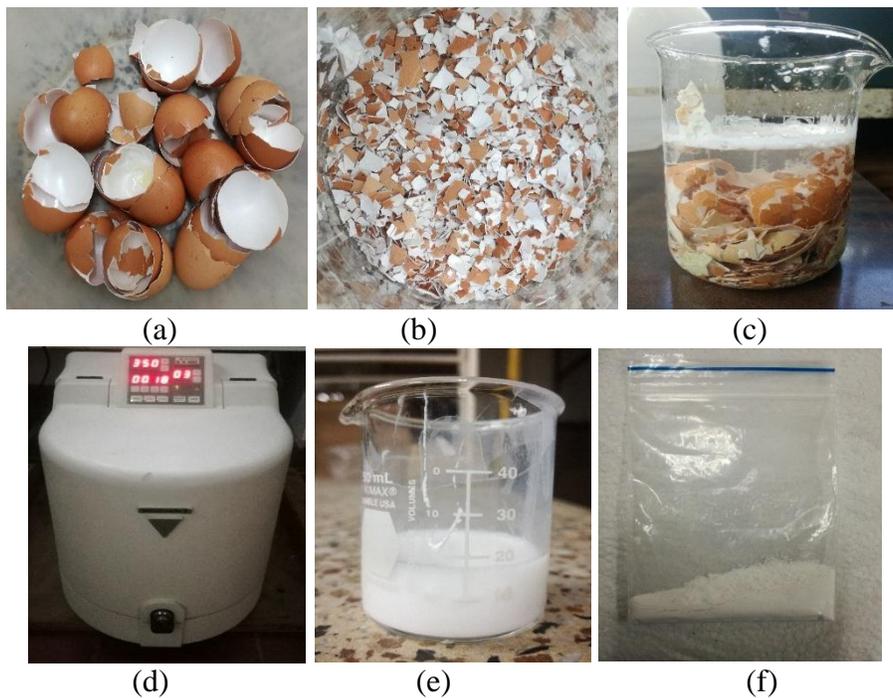
### 2.1.2.1 Obtención del carbonato de calcio de la cáscara de huevo de gallina

El carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) obtenido a partir de la cáscara de huevo, requiere de tres etapas: (i) inicialmente las cáscaras de huevo (figura 2.2a) se someten a un proceso de limpieza con agua desionizada y luego son fragmentadas manualmente (figura 2.2b), posteriormente como agente desinfectante se les adiciona una solución de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% por 1 hora hasta la ebullición (figura 2.2c); este procedimiento se realizó 2 veces. Luego se lavan de nuevo con agua desionizada y se secan a 48°C en una plancha; (ii) en la segunda etapa las cáscaras fueron pulverizadas en un molino planetario (Pulverisette 6- FRITSCH 55743) utilizando etanol como medio de molienda (figura 2.2d), posteriormente se elimina el solvente (figura 2.2 e); (iii) Finalmente, para favorecer la cristalización del Carbonato de Calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (Figura 2.2f), las cáscaras son sometidas a tratamiento térmico de 450°C

durante 2 horas a una velocidad de calentamiento de 3°C/min en un horno (Terrigeno F2PCA).

### 2.1.2.2 Reacción por combustión

Para la síntesis de la HAp se utilizaron como precursores  $\text{CaCO}_3$  obtenido a partir de la cáscara de huevo de gallina y fosfato de amonio hidrogenado ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) (J. T. Baker 98.6%), como combustibles, úrea (Merck 98%) y glicina (Merck 99.5%) con una relación 50/50 para estos últimos. El  $\text{CaCO}_3$  se disuelve en una solución de agua desionizada y ácido nítrico, el fosfato de amonio se disuelve en agua desionizada, los precursores y combustibles se mantienen con agitación constante hasta obtener una completa disolución. A continuación, se mezclaron los precursores y combustibles en un crisol a una temperatura 150°C con agitación constante con el fin de eliminar el solvente, posteriormente se calcina la mezcla en un horno a 600°C durante de 2 horas, generándose la reacción de combustión, el producto final de la combustión se maceró y calcinó a 1100°C a una velocidad de calentamiento de 3°C/min para obtener polvos cerámicos de HAp, en esta reacción no se utilizaron ni Zn ni Mg.



**Figura 2.2** Proceso de obtención de  $\text{CaCO}_3$  a partir de la cáscara de huevo: (a) cáscaras de huevo, (b) cáscara molidas manualmente, (c) lavado con peróxido de hidrógeno, (d) molino de bolas, (e) cáscaras molidas (etanol usado como medio de molienda), (f) producto final.

### 2.3. Procesamiento del material cerámico para caracterización mecánica

Para llevar a cabo la caracterización mecánica es necesario conformar piezas a partir de polvos de cerámicos de HAp pura (obtenida utilizando como precursor de calcio del carbonato de calcio comercial y el obtenido a partir de la cáscara de huevo) e HAp con los diferentes porcentajes de magnesio y zinc (en este caso los sistemas son obtenidos con precursores comerciales), en este caso se elaboraron pastillas por prensado uniaxial.

#### 2.3.1 Prensado uniaxial

El conformado de las piezas en verde se realizó por el método de prensado uniaxial; para ello se utilizó un troquel (figura 2.3c) de ~ 10 mm de diámetro, una prensa universal (CARVER) y un molino planetario (PULVERISETTE).



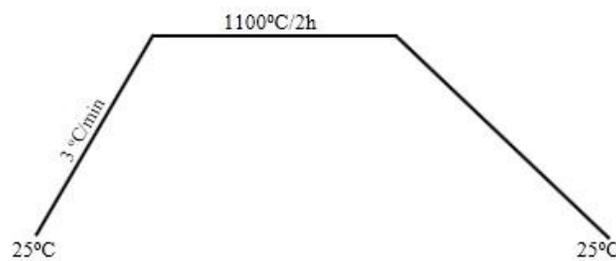
**Figura 2.3** Conformado de piezas de HAp en verde: (a) Molino planetario, (b) horno Haceb, (c) troquel, (d) prensa universal, (e) y (f) pastilla de HAp.

Inicialmente los polvos de HAp son pesados y mezclados con 2% en peso de alcohol polivinílico (PVA) en un molino planetario (figura 2.3 a) a 350 rpm durante 20 min, utilizando como medio para la mezcla etanol. El PVA se añadió como ligante orgánico para

proporcionar resistencia mecánica a la pieza en verde. Una vez se obtuvo la suspensión esta fue sometida a un tratamiento térmico de 100°C en una estufa (Haceb) (figura 2.3b) para eliminar el etanol. La mezcla de los polvos de HAp y PVA fue depositada en el troquel (figura 2.3c) que se ubicó en una prensa universal (figura 2.3d), aplicando una presión de 2000 psi durante 5 min. Al retirar la presión se obtuvo la pieza que se observan en la figura 2.3f, una pastilla de ~ 10 mm diámetro y 4 mm de espesor.

### 2.3.2 Sinterización

Con el fin de obtener muestras densas para realizar la caracterización mecánica, las piezas en verde fueron sometidas a tratamiento térmico en un horno (Terrígeno F2PCA) con una tasa de calentamiento de 3°C/min hasta alcanzar una temperatura de 1100°C (figura 2.4) donde se mantuvo por dos horas.



**Figura 2.4** Tratamiento térmico utilizado en la obtención de la HAp

## 2.4 Caracterización estructural y microestructural

A continuación, se describen las diversas técnicas y equipos utilizados para caracterizar las muestras obtenidas en este trabajo de investigación.

### 2.4.1 Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR):

Los polvos cerámicos obtenidos fueron caracterizados mediante FTIR, utilizando el espectrofotómetro Thermo Electron Nicolet IR 200. Para llevar a cabo este análisis es necesario elaborar una pastilla conformada con una mínima cantidad del material obtenido de la síntesis (polvo cerámico) y bromuro de potasio (KBr) que debe estar totalmente seco para evitar la interferencia generada por el agua al realizarse el ensayo, esta mezcla es prensada para conformar una pastilla. Las muestras obtenidas se depositaron en el

portamuestras del espectrofotómetro para encontrar los espectros de cada una de las ellas. El análisis de las bandas de interés se hizo mediante la aplicación de la técnica de deconvolución, con empleo del programa Fityk 0.8.8, donde se usó la función pseudovoight para obtener un mejor ajuste de bandas.

#### **2.4.2. Difracción de rayos X (DRX):**

Las fases presentes en el material fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X utilizando el difractómetro Bruker D8 Advance (figura 2.6) del Instituto Interdisciplinario de la Ciencia, de la Universidad del Quindío, para el análisis se utilizó radiación  $K_{\alpha}$  del Cu ( $\lambda=1,5418 \text{ \AA}$ ) y 1,5 kW. Para la identificación de fases se midieron e interpretaron patrones obtenidos con paso  $2\theta=0.02^{\circ}$ , intervalo angular  $20^{\circ} < 2\theta < 60^{\circ}$  y tiempo por paso de 2,5 s. Finalmente, las características estructurales y el análisis de las fases presentes en los difractogramas, se obtuvieron realizando refinamiento Rietveld haciendo uso del programa GSAS.



**Figura 2.5** Difractómetro de Rayos X Bruker D8 Advance

#### **2.4.3 Microscopía electrónica de transmisión**

La técnica de microscopía electrónica de transmisión (TEM) fue utilizada para observar y analizar la morfología y el tamaño de partícula de los polvos de HAp pura y con diferentes concentraciones de Zn y Mg, sintetizados y calcinados a  $1100^{\circ}\text{C}$ . Fue utilizado un microscopio JEOL 1200-EX II TEM (figura 2.7) perteneciente a la unidad de microscopía de la Universidad del Cauca. Para realizar el análisis de TEM, el polvo sintetizado se

suspendió en agua desionizada y la gota de la suspensión se colocó sobre una película de carbono, en una rejilla de cobre que se insertó en el portamuestra que se inserta en el microscopio para su posterior visualización.



**Figura 2.6** microscopio electrónico de transmisión JEOL 1200-EX II

#### **2.4.4 Caracterización mecánica**

Las probetas de HAp fueron caracterizadas mediante ensayos mecánicos, a fin de analizar propiedades de dureza y módulo de elasticidad. En las medidas se emplea el método de indentación dinámica, el equipo utilizado es un NANOVEA M1 Hardness Tester, perteneciente al laboratorio de recubrimientos duros de la Universidad del Valle. Este equipo cuenta con un software para el manejo del indentador Berkovich que genera presión sobre la superficie de las muestras y a su vez mide continuamente la penetración resultante del indentador dentro de la muestra. La carga máxima aplicada por el indentador es de 5mN, al finalizar el ensayo el equipo generó la curva carga-desplazamiento; de la cual se pudo analizar las propiedades mecánicas del material.

## **Capítulo 3**

# **Caracterización estructural, microestructural y mecánica**

En este capítulo se presentan los resultados de la caracterización realizada a las muestras de HAp pura e HAp con adición de Mg/Zn. Para identificar las principales características estructurales y morfológicas de las muestras obtenidas mediante el método de combustión, se presentan los resultados obtenidos mediante técnicas de espectroscopia infrarroja (FTIR), difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica de transmisión (MET), técnicas utilizadas para determinar los grupos funcionales, estructura, morfología y tamaño de partícula. También se presentan los resultados obtenidos de los ensayos de nanoindentación, que permite determinar propiedades mecánicas de las muestras como la dureza Vickers y el módulo elástico. En la tabla 3.1 se presenta la nomenclatura que se utilizará a lo largo del capítulo.

**Tabla 3.1** Muestras de HAp e HAp con diferentes porcentajes de Mg y Zn

Muestra	Porcentaje	Estequiometria
HAp	---	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
HAp+5Zn	5% de Zn	$\text{Ca}_{9.55}\text{Zn}_{0.05}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
HAp+9Zn	9% de Zn	$\text{Ca}_{9.91}\text{Zn}_{0.09}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
HAp+11Zn	11% de Zn	$\text{Ca}_{8.99}\text{Zn}_{0.11}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
HAp+5Mg	5% de Mg	$\text{Ca}_{9.55}\text{Mg}_{0.05}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
HAp+9Mg	9% de Mg	$\text{Ca}_{9.91}\text{Mg}_{0.09}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
HAp+11Mg	11% de Mg	$\text{Ca}_{8.99}\text{Mg}_{0.11}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

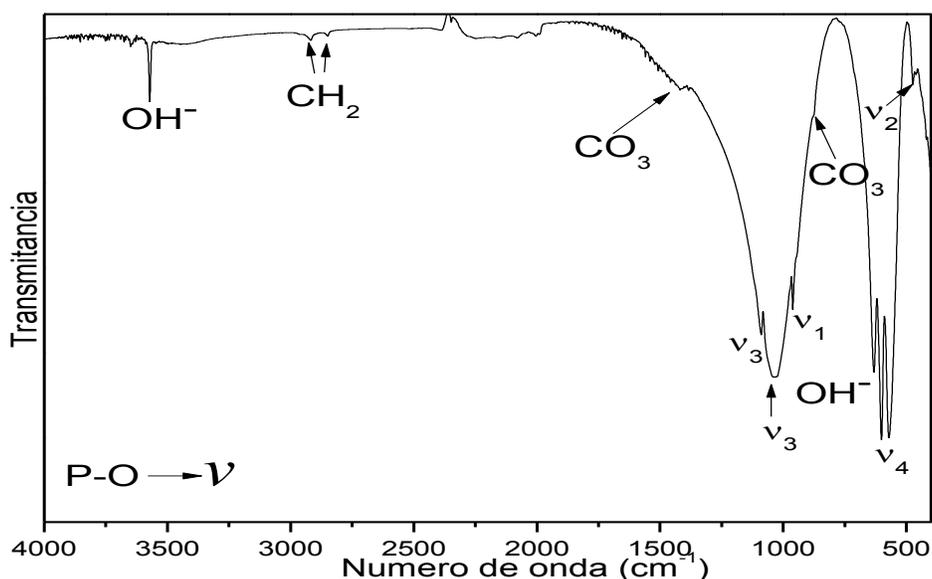
### **3.1 Caracterización estructural y microestructural de la HAp obtenida a partir de $\text{CaCO}_3$ comercial.**

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de las diferentes caracterizaciones realizadas a las muestras de HAp pura y con adición de Zn/Mg.

#### **3.1.1 Espectroscopia infrarroja de la HAp obtenida a partir de $\text{CaCO}_3$ comercial**

En la figura 3.1 se presenta el espectro FT-IR de la HAp obtenida por el método de reacción por combustión; En la tabla 3.2 se identifican las bandas correspondientes a las vibraciones principales de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{OH}^-$ , así como a enlaces C-O. Las bandas

ubicadas a  $\sim 870$  y  $1420\text{ cm}^{-1}$  están asociadas al grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  [47], la señal amplia alrededor de  $\sim 3700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones del enlace O-H asociado con el agua adsorbida, el grupo hidroxilo se asocia a la banda ubicada a  $\sim 637\text{ cm}^{-1}$ , la banda ubicada a  $\sim 2980\text{ cm}^{-1}$  se asocia al modo de tensión del enlace C-H [48]. Teóricamente, existen cuatro modos de vibración para los iones fosfato,  $\nu_1$ ,  $\nu_2$ ,  $\nu_3$  y  $\nu_4$ . La banda correspondiente al modo  $\nu_1$  se observa a  $\sim 961\text{ cm}^{-1}$ . Las bandas débiles en  $\sim 472\text{ cm}^{-1}$  y un hombro en  $\sim 462\text{ cm}^{-1}$  son componentes del modo de flexión doblemente degenerado,  $\nu_2$ , del grupo fosfato. La banda  $\nu_3$  está presente a  $\sim 1090$  y  $1040\text{ cm}^{-1}$ . Las bandas asociadas al modo  $\nu_4$  están presentes en la región entre  $660$  y  $520\text{ cm}^{-1}$  y es una banda bien definida y aguda y tiene tres sitios observados en  $633$ ,  $602$  y  $560\text{ cm}^{-1}$ , esta división de la banda  $\nu_4$  indica la baja simetría de las moléculas en el sitio, ya que la presencia de dos y tres bandas confirman la presencia de más de un sitio asociado al grupo fosfato [49, 50].



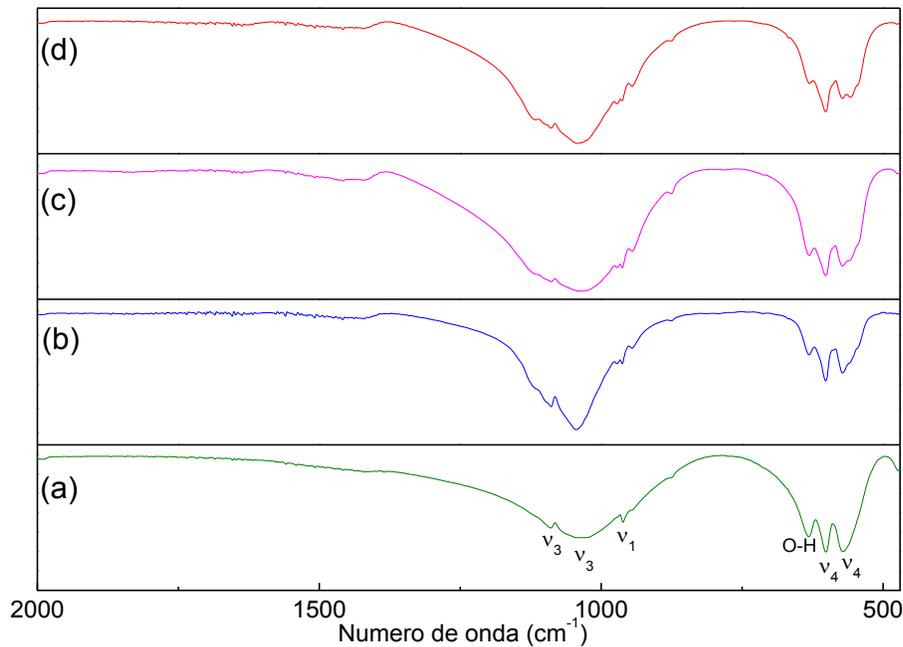
**Figura 3.1** Espectro FT-IR de polvos de Hidroxiapatita

La figura 3.2 muestra los espectros FT-IR de la HAp pura (figura 3.2a) y con la adición de diferentes porcentajes de Zn (figura 3.2b-d); se observa que los modos de vibración de los grupos  $\text{OH}^-$  y de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  fueron similares a HAp pura, también se observa una acentuada disminución en la intensidad del modo de vibración del grupo  $\text{OH}^-$  a  $\sim 630\text{ cm}^{-1}$ .

**Tabla 3.2** Principales bandas asociadas a los distintos modos de vibración de la HAp

MODOS DE VIBRACIÓN						
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	OH <sup>-</sup>	C-H	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>			
			v <sub>1</sub>	v <sub>2</sub>	v <sub>3</sub>	v <sub>4</sub>
~870 cm <sup>-1</sup> ~1420 cm <sup>-1</sup>	~637 cm <sup>-1</sup> ~3700-3000 cm <sup>-1</sup>	~2980 cm <sup>-1</sup>	~961 cm <sup>-1</sup>	~472 cm <sup>-1</sup> ~462 cm <sup>-1</sup>	~1090 cm <sup>-1</sup> ~1040 cm <sup>-1</sup>	~633 cm <sup>-1</sup> ~602 cm <sup>-1</sup> ~560 cm <sup>-1</sup>

Al introducir zinc en la red de la HAp se observa que las bandas correspondientes a los modos de vibración de la HAp se ven fuertemente afectados, para observar con más detalle este efecto se hizo la deconvolución de las bandas.



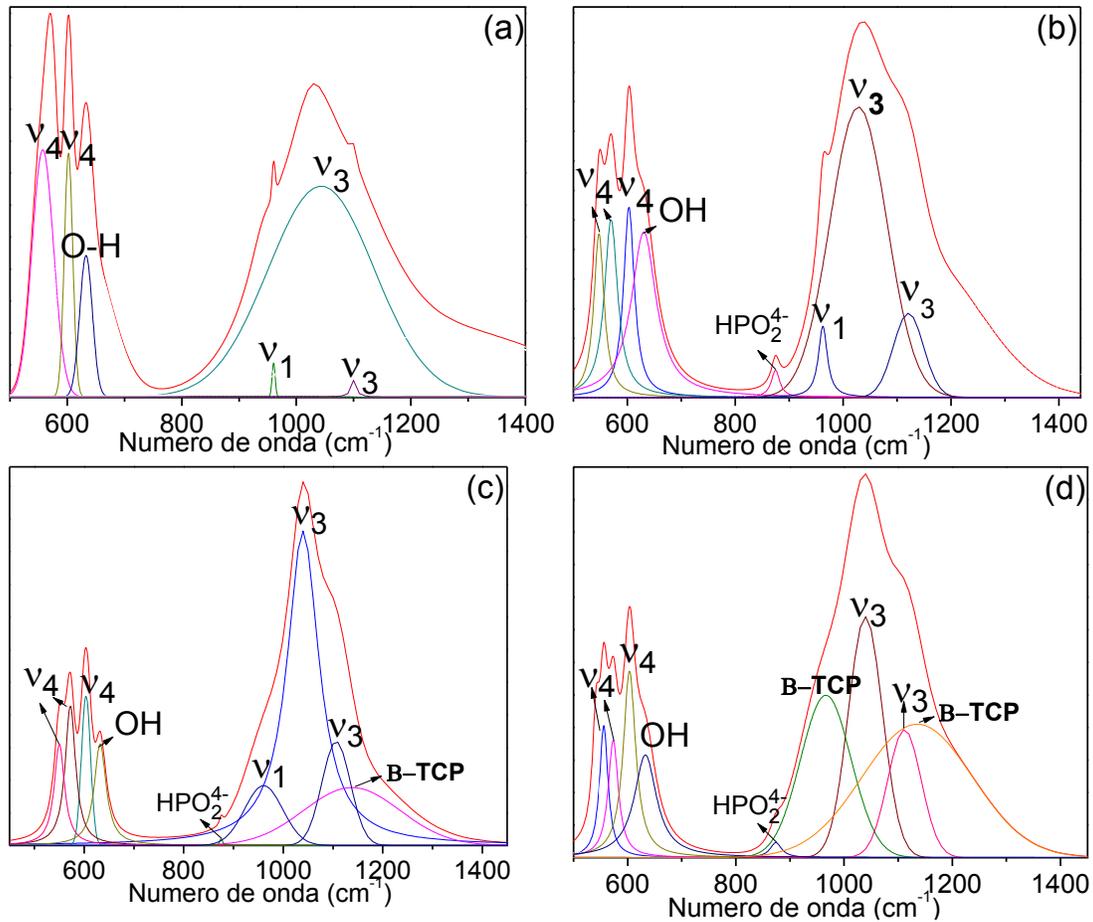
**Figura 3.2** Espectros FT-IR de polvos cerámicos de HAp para diferentes concentraciones de zinc: (a) 0%, (b) 5%, (c) 9% y (d) 11%.

La región de interés entre 500 y 1450 cm<sup>-1</sup>, contiene las bandas asociadas a los diferentes modos de vibración del grupo fosfato y enlaces O-H, donde se aprecian las modificaciones que experimenta la estructura por la adición de Zn (tabla 3.3); para hacer un análisis detallado de esta región se realizó un proceso de deconvolución que se muestra en la figura 3.3. Al adicionar zinc a la red de la HAp se observa que las bandas ubicadas alrededor de 600 cm<sup>-1</sup> y asociadas al modo de vibración v<sub>4</sub> del grupo fosfato y al grupo OH disminuyen considerablemente. Para 5% de Zn se aprecia como la banda ubicada ~560 cm<sup>-1</sup>

correspondiente al modo de vibración  $\nu_4$  del grupo fosfato presenta un desdoblamiento generando dos bandas a  $\sim 547$  y  $570 \text{ cm}^{-1}$ , este desdoblamiento se mantiene con el aumento del porcentaje de zinc. Las bandas ubicadas a  $960$ ,  $1040$  y  $1090 \text{ cm}^{-1}$  asociadas a los modos de vibración  $\nu_1$  y  $\nu_3$  sufren un aumento en su intensidad, y se genera una nueva banda a  $\sim 873 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración del ion  $\text{HPO}_4^{2-}$  que se mantiene con el aumento de Zn. Cuando se adiciona 9% se forma una nueva banda a  $\sim 1140 \text{ cm}^{-1}$  relacionada a la vibración del grupo fosfato típica del  $\beta$ -TCP (fosfato tricálcico  $\beta$ ). Para un 11% de Zn se observa la banda correspondiente al modo de vibración del  $\text{HPO}_4^{2-}$  a  $\sim 873 \text{ cm}^{-1}$  y las bandas  $\nu_1$  correspondiente al grupo fosfato y la asociada a la vibración del  $\beta$ -TCP se solapan formando una banda de intensidad media ubicada a  $\sim 967 \text{ cm}^{-1}$ ; la banda ubicada a  $\sim 1140 \text{ cm}^{-1}$  y relacionada a la vibración del grupo fosfato del  $\beta$ -TCP aumenta en intensidad, ya que el porcentaje de esta fase aumenta como puede observarse en el espectro de DRX (figura 3.8(d)). La frecuencia de los modos de vibración depende de la fuerza de enlace y la masa reducida asociada a los diferentes grupos moleculares; la fuerza de enlace depende de la longitud de estos que se asocia al tamaño de los átomos y/o iones presentes.

**Tabla 3.3** evolución de las bandas asociadas a los diferentes modos de vibración de la HAp con la incorporación de Zn

Modos de vibración		HAp	HAp+5Zn	HAp+9Zn	HAp+11Zn
OH <sup>-</sup>		$\sim 637 \text{ cm}^{-1}$			
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	$\nu_1$	$\sim 961 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 960 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 960 \text{ cm}^{-1}$	---
	$\nu_3$	$\sim 1040 \text{ cm}^{-1}$			
		$\sim 1090 \text{ cm}^{-1}$			
$\nu_4$	$\sim 633 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 633 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 633 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 633 \text{ cm}^{-1}$	
	$\sim 602 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 602 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 602 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 602 \text{ cm}^{-1}$	
	$\sim 560 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 547 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 547 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 547 \text{ cm}^{-1}$	
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		---	$\sim 873 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 873 \text{ cm}^{-1}$	---
$\beta$ -TCP		---	---	$\sim 1140 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 972 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 1140 \text{ cm}^{-1}$

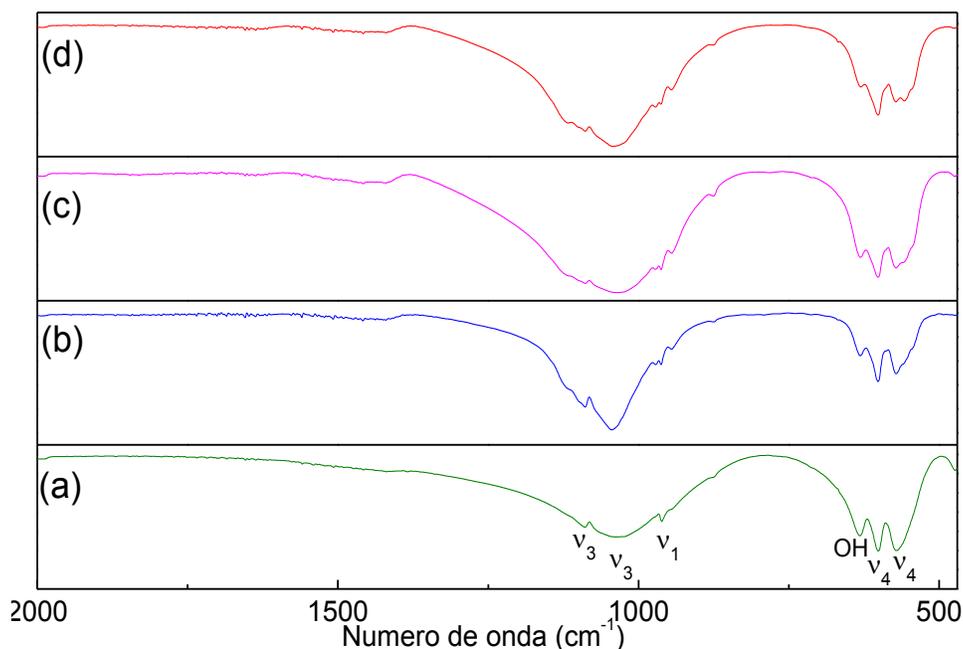


**Figura 3.3.** Deconvolución de los espectros FT-IR de polvos cerámicos de HAp para las diferentes concentraciones de Zn: (a) 0 %; (b) 5%; (c) 9% y (d) 11%.

La modificación de las bandas de la HAp con la adición de zinc puede tener varias explicaciones: (i) el  $\text{Ca}^{+2}$  ( $0.99 \text{ \AA}$ ) está siendo reemplazado por  $\text{Zn}^{+2}$  ( $0.75 \text{ \AA}$ ) [28] lo que modifica la longitud de los enlaces; (ii) el continuo aumento de  $\text{Zn}^{+2}$  puede ser compensado por la aparición de iones  $\text{OH}^-$  o  $\text{HPO}_4^{2-}$ , se espera que los protones intersticiales sean estables al unirse a los iones de oxígeno de los grupos  $\text{OH}^-$  o  $\text{PO}_4^{-3}$ , formando  $\text{H}_2\text{O}^0$  o  $\text{HPO}_4^{2-}$  [3] y (iii) la diferencia entre las masas del calcio ( $40,078 \text{ g/mol}$ ) y del zinc ( $65,409 \text{ g/mol}$ ), que afecta la frecuencia vibracional de los enlaces.

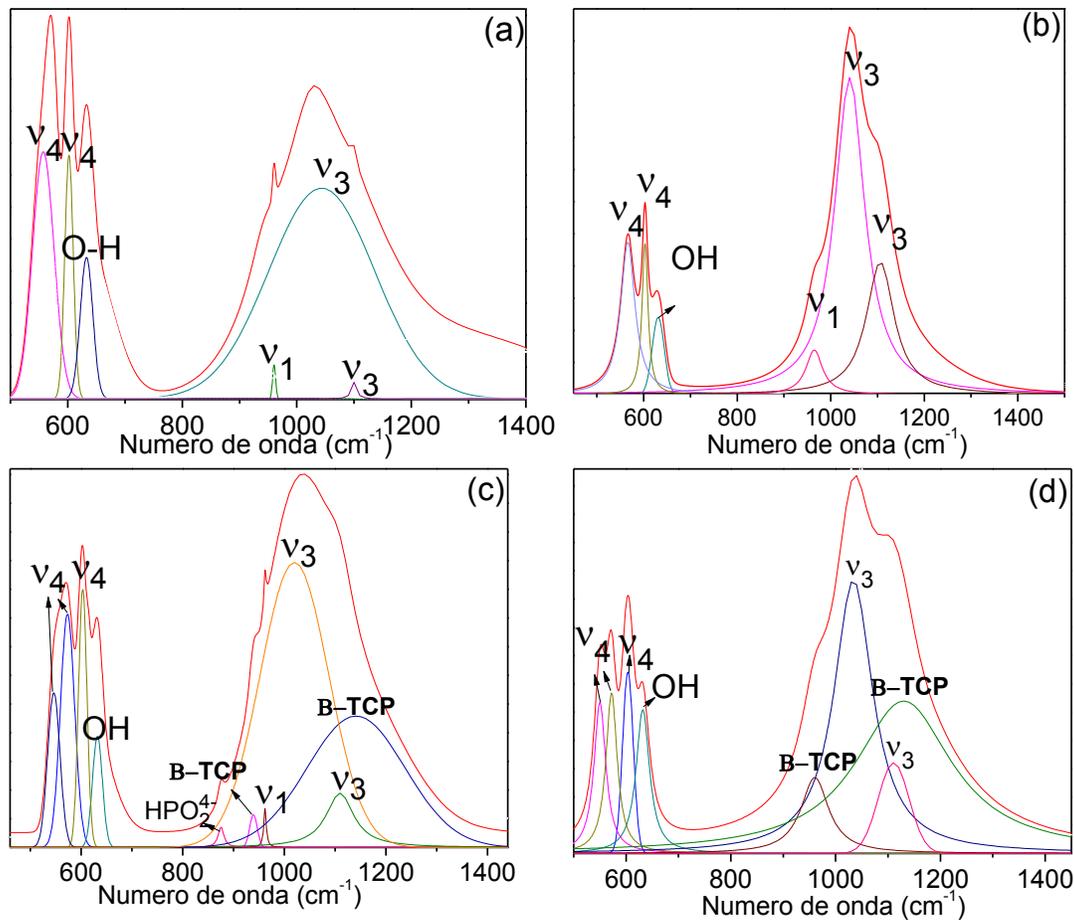
En la figura 3.4 se presentan los espectros FT-IR de las muestras dopadas con magnesio en ellos se evidencian las bandas características de la HAp, además, como se discutió ampliamente para las muestras dopadas con zinc, se observa una acentuada disminución en

la intensidad del modo de vibración del grupo  $\text{OH}^-$  a  $\sim 630 \text{ cm}^{-1}$ . Al introducir magnesio en la red de la HAp se observa que las bandas correspondientes a los modos de vibración de la HAp se ven fuertemente afectadas; para observar con más detalle este efecto se hizo la deconvolución de las bandas (figura 3.5) y se presentan en los resultados en la tabla 3.4.



**Figura 3.4** Espectro IR de polvos cerámicos de HAp para diferentes concentraciones de magnesio: (a) 0%, (b) 5%, (c) 9% y (d) 11%.

Cuando se adiciona 5% de Mg a la HAp se aprecian tres bandas correspondientes a los modos de vibración del grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  que se encuentran alrededor de  $\sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ , estas bandas sufren un desplazamiento hacia números de onda mayores, para el caso de las dos primeras bandas pasan de  $960$  a  $963 \text{ cm}^{-1}$  propia del modo de vibración  $\nu_1$  y las ubicadas a  $\sim 1030 \text{ cm}^{-1}$  asociada al modo de vibración  $\nu_3$ , se desplaza a  $1041 \text{ cm}^{-1}$ ; por otra parte las bandas entre  $550$ - $650 \text{ cm}^{-1}$  no sufren ningún desplazamiento pero se observa considerable atenuación de la intensidad.



**Figura 3.5.** Deconvolución de los espectros IR de polvos cerámicos de HAp para diferentes concentraciones de Mg: (a) 0 %; (b) 5%; (c) 9% y (d) 11%.

Cuando se adiciona 9% de Mg, los modos de vibración  $v_1$  y  $v_3$ , del grupo fosfato sufren una atenuación en su intensidad y aparecen nuevas bandas ubicadas a  $\sim 876 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $\text{HPO}_4^{2-}$  y  $940 - 1140 \text{ cm}^{-1}$  que se atribuyen a los modos de vibración del grupo  $\text{PO}_4^{-3}$  característicos  $\beta$ -TCP [51], también se presenta una disminución progresiva en la intensidad de la banda del grupo  $\text{OH}^-$  ubicada en  $\sim 630 \text{ cm}^{-1}$ . Para una concentración de 11% de Mg, se presentan las mismas bandas mencionadas para 9% con excepción de las bandas de  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\beta$ -TCP y  $v_1$ , ubicadas a  $\sim 876$ ,  $940$  y  $960 \text{ cm}^{-1}$  respectivamente que se solapan formando una única banda en  $\sim 961 \text{ cm}^{-1}$  asociada al  $\beta$ -TCP [54]. Se observa además un desdoblamiento de la banda característica del  $\text{PO}_4^{-3}$  ubicada en  $570 \text{ cm}^{-1}$ , esto puede deberse a lo anteriormente mencionado. Teniendo en cuenta el modelo del oscilador armónico, la frecuencia de vibración depende de la fuerza de enlace y de la masa reducida,

que se ve afectada tanto por el cambio en la longitud de los enlaces como por la diferencia de las masas atómicas; por lo anterior la modificación de las bandas de la HAp con la adición de magnesio puede tener varias explicaciones: (i) la diferencia de tamaños entre los cationes  $Mg^{+2}$  (0.65 Å) y Ca (0.99Å), ya que el  $Mg^{+2}$  ocupa la posición del  $Ca^{+2}$  [2] generando contracción en la celda unitaria; (ii) distorsiones causadas por la diferencia en la longitud de los enlaces debido a la sustitución ya que la disminución progresiva del volumen de la celda puede generar presión química resultado de la diferencia en los radios iónicos de los cationes sustituyentes y los de la red hospedera; (iii) la gran diferencia en las masas entre el Ca (40,078g/mol) y el Mg (24,3050 g/ mol) [27].

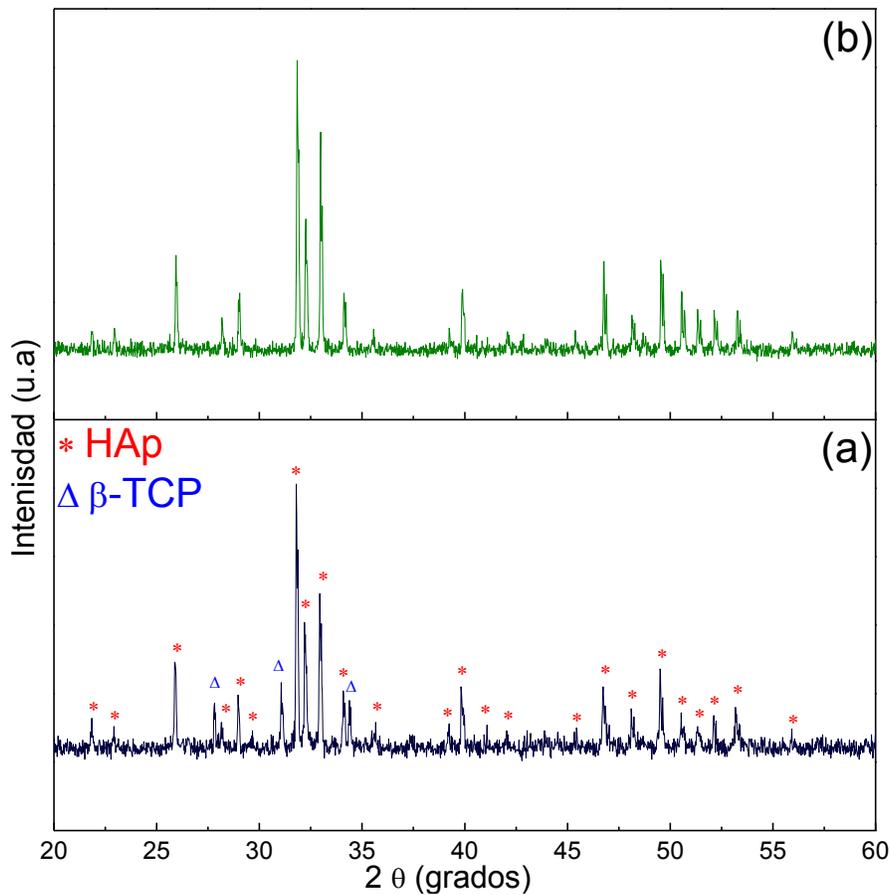
**Tabla 3.4** Evolución de las bandas asociadas a los diferentes modos de vibración de la HAp con la incorporación de Mg

Modos de vibración		HAp	HAp+5Mg	HAp+9Mg	HAp+11Mg
OH <sup>-</sup>		~637 cm <sup>-1</sup>	~637 cm <sup>-1</sup>	~630 cm <sup>-1</sup>	~630 cm <sup>-1</sup>
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	v <sub>1</sub>	~961 cm <sup>-1</sup>	~963 cm <sup>-1</sup>	~963 cm <sup>-1</sup>	
	v <sub>3</sub>	~1040 cm <sup>-1</sup>	~1041 cm <sup>-1</sup>	~1041 cm <sup>-1</sup>	~1041 cm <sup>-1</sup>
		~1090 cm <sup>-1</sup>	~1090 cm <sup>-1</sup>	~1090 cm <sup>-1</sup>	~1090 cm <sup>-1</sup>
	v <sub>4</sub>	~633 cm <sup>-1</sup>	~633 cm <sup>-1</sup>	~633 cm <sup>-1</sup>	~633 cm <sup>-1</sup>
~602 cm <sup>-1</sup> ~560 cm <sup>-1</sup>		~602 cm <sup>-1</sup> ~560 cm <sup>-1</sup>	~602 cm <sup>-1</sup> ~560 cm <sup>-1</sup>	~602 cm <sup>-1</sup> ~570 cm <sup>-1</sup>	
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>				~876 cm <sup>-1</sup>	
β-TCP				~940 cm <sup>-1</sup> ~1140 cm <sup>-1</sup>	~961 cm <sup>-1</sup> ~1140 cm <sup>-1</sup>

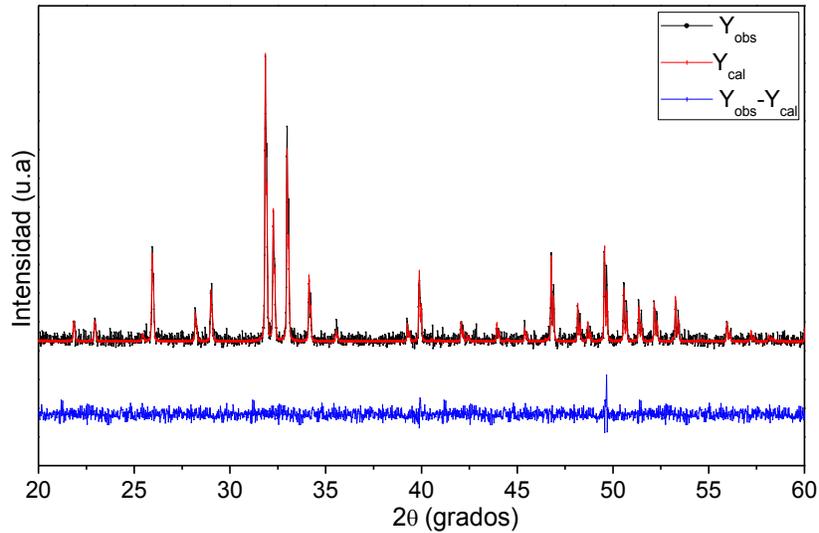
### 3.1.2. Difracción de rayos X de la HAp obtenida a partir del CaCO<sub>3</sub> comercial.

El patrón de difracción de rayos X presentado en la figura 3.6 corresponde a la muestra de hidroxiapatita sintetizada por el método de reacción por combustión, la muestra fue obtenida utilizando una relación de Ca/P=1,67 siendo esta la más adecuada para obtener HAp según se reporta en la literatura [51], la presencia de exceso de iones de calcio debido a la relación Ca/P mencionada, es un factor que conlleva a obtener esta única fase [52, 53].

Al tratar los polvos cerámicos obtenidos del proceso de combustión a 1000°C/2h (figura 3.6(a)) se puede observar claramente la coexistencia de dos fases, una correspondiente a la HAp y otra en menor porcentaje correspondiente al fosfato tricálcico beta ( $\beta$ -TCP) JCPDS 09-0169. El aumento de temperatura a 1100°C permite la obtención de la HAp monofásica (figura 3.6(b)). En el patrón de difracción de la figura 3.6(b) se observan los picos característicos del compuesto ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) correspondiente al PDF 010740566 [52]. La técnica de Rietveld, utilizando el programa GSAS, fue utilizada para ajustar el patrón de difracción de la figura 3.6(b), el resultado es presentado en la figura 3.7. El refinamiento realizado ajusta los datos del patrón de difracción a un sistema cristalino hexagonal, con parámetros de red  $a = b = 9.420 \text{ \AA}$ ,  $c = 6.882 \text{ \AA}$ , grupo espacial  $P6_3/m$ , volumen  $528.894 \text{ \AA}^3$  y una densidad de  $3.244 \text{ g/cm}^3$ . El  $\chi^2$  del ajuste realizado tuvo un valor de 1.230 lo que representa una buena confiabilidad del refinamiento.



**Figura 3.6.** Difractograma de HAp calcinada a: (a) 1000°C y (b) 1100°C



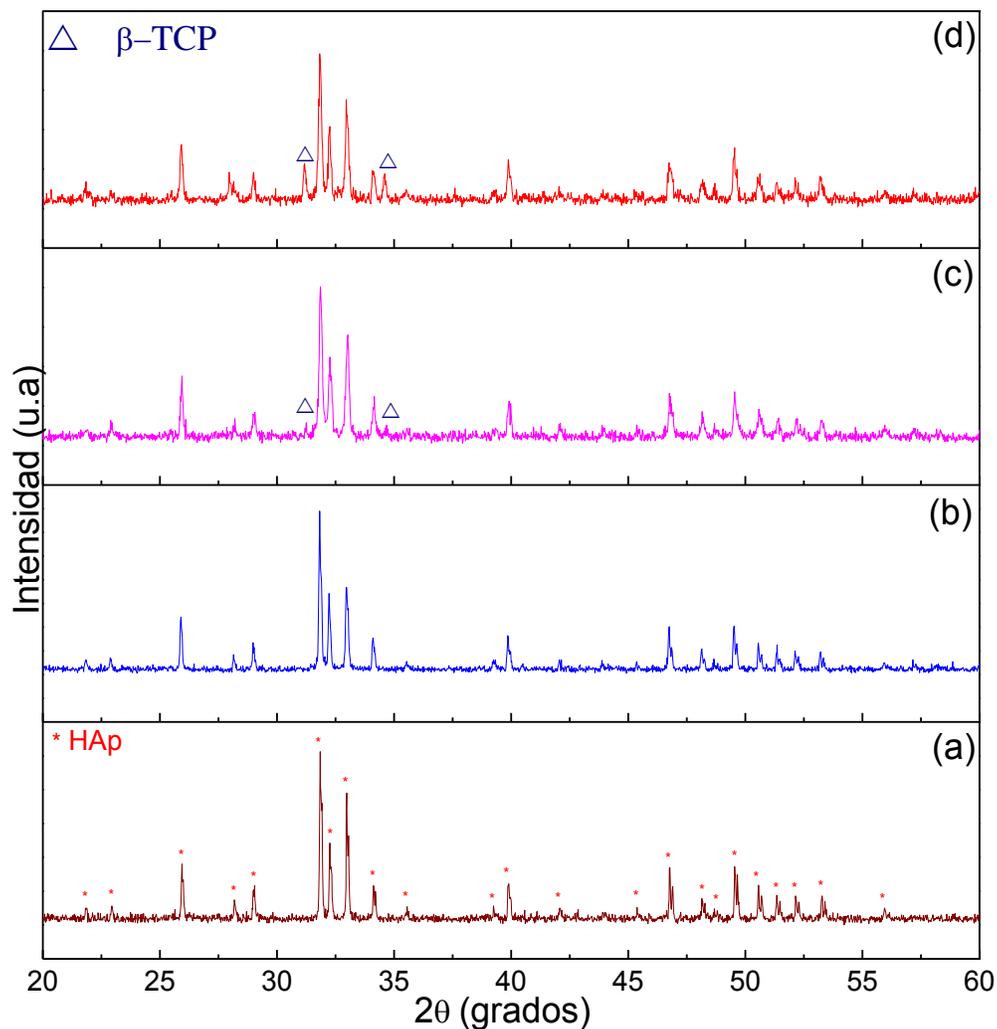
**Figura 3.7.** Refinamiento de Rietveld de la muestra de HAp presentada en la figura 3.6 (b)

Los picos de difracción característicos de la HAp hexagonal son evidentes cuando se adicionan diferentes concentraciones de Zn (Figura 3.8). Cuando se incorpora 5% Zn a la estructura de HAp se presenta solubilidad completa del zinc en la red de la HAp; para 9% de Zn se detecta en un pequeño porcentaje de la fase  $\beta$ -TCP que aumenta en intensidad para un 11% Zn.

Los patrones de DRX de la HAp con diferentes porcentajes de Mg se muestran en la figura 3.9, cuando se adiciona 5% de magnesio se observa que los iones de Mg se incorporan en la estructura de la HAp lográndose una completa solubilidad, dando como resultado una fase pura. Para 9% de Mg se presenta la fase principal de la HAp y un pequeño porcentaje de la fase secundaria  $\beta$ -TCP, que aumenta en intensidad para un 11% de Mg, lo que está de acuerdo con resultados reportados [54]. Cuando los iones de Zn/Mg entran en la red cristalina de la HAp crean un desajuste estructural previniendo el crecimiento cristalino y conduciendo la formación del fosfato tricálcico [55].

Para conocer cuál es la posición que ocupan el magnesio y el zinc dentro de la red de la HAp, primero analizamos como están dispuestos los diferentes átomos y/o iones en la

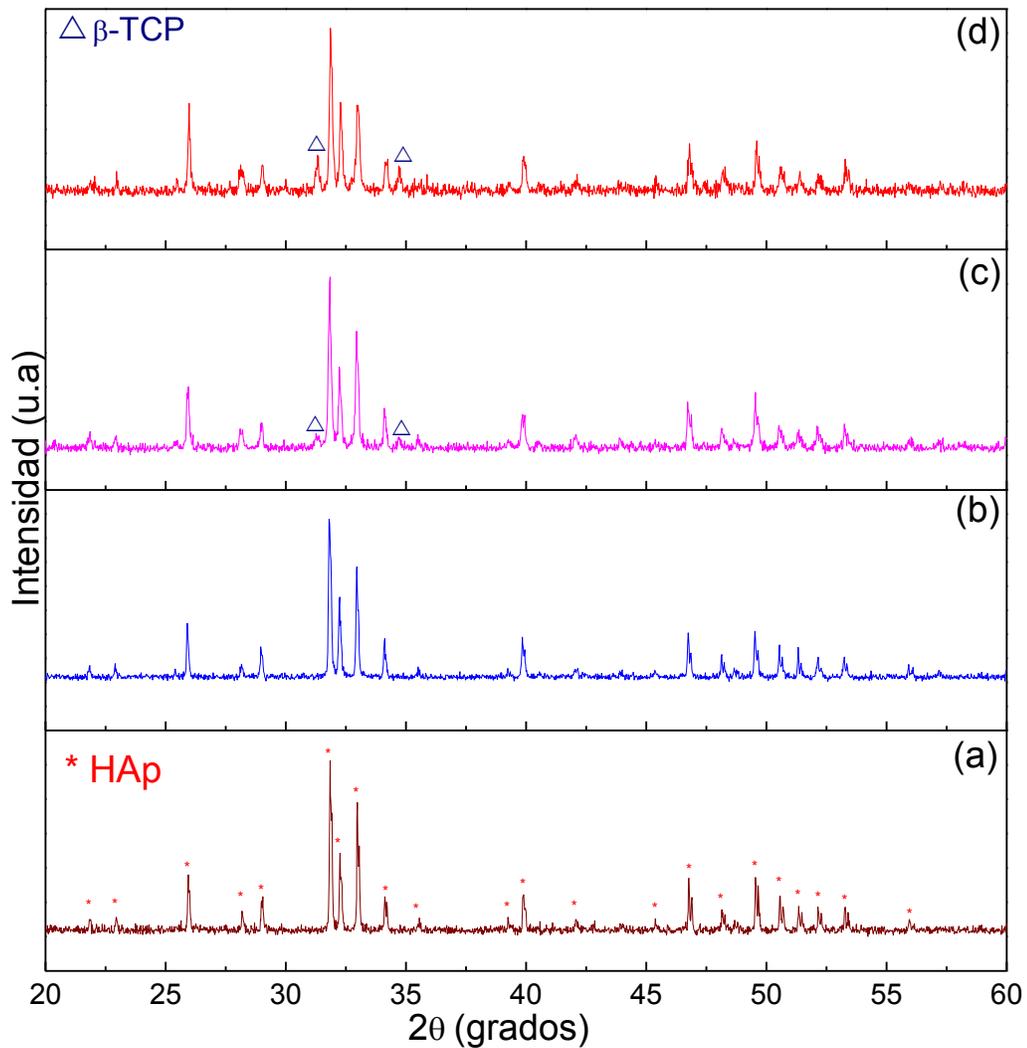
estructura. Investigaciones han reportado que existen dos sitios de calcio cristalográficamente diferentes en la celda unitaria de la HAp, Ca (I) y Ca (II) [27].



**Figura 3.8.** Difractogramas correspondientes a la HAp con diferentes concentraciones de zinc: (a) 0%, (b) 5%, (c) 9% y (d) 11%.

Los cuatro cationes Ca (I) se ubican en posiciones generalmente conocidas como "sitios columnares de calcio" y forman columnas atómicas perpendiculares al plano basal. Por otro lado, los seis iones Ca (II) en la celda unitaria están dispuestos en triángulos alrededor de los grupos hidroxilo (OH), formando así canales hexagonales a lo largo de la dirección  $c$  de la estructura, el ambiente local del calcio en los dos sitios es diferente. Cada Ca (I) es coordinado por nueve átomos de O que pertenecen a seis aniones  $\text{PO}_4^{3-}$  diferentes; seis de estos oxígenos están ubicados a menos de  $2.55 \text{ \AA}$  del catión, mientras que los otros tres

están más distantes. El Ca (II) está coordinado por cinco átomos de oxígeno y un grupo hidroxilo que forma un octaedro. El número de coordinación del ion Ca (II) es 7, uno de ellos es un enlace débil a otro oxígeno [56]. Cuando se considera el entorno local de los aniones, parece que los tetraedros  $\text{PO}_4^{3-}$  tienen cinco sitios Ca (II) y cuatro Ca (I) en su entorno, en contraste con los grupos hidroxilo que solo están rodeados por sitios de Ca (II). Los iones hidroxilo están ubicados en las esquinas del plano a intervalos iguales a lo largo de las columnas perpendiculares al plano.



**Figura 3.9.** Difractogramas correspondientes a la HAp con diferentes concentraciones de magnesio: (a) 0%, (b) 5%, (c) 9% y (d) 11%.

Los grupos fosfato se encuentran en la parte exterior de la disposición hexagonal, y su estructura tetraédrica única hace que la hidroxiapatita sea estable [56]. Investigadores han reportado que el Mg/Zn ocupan preferencialmente el sitio del Ca (II), permaneciendo la

ocupación del Ca (I), casi inalterada [57]. En los difractogramas de las figuras 3.8 y 3.9 se observa un ensanchamiento de los picos de difracción lo que puede interpretarse como una “leve pérdida” de cristalinidad en la estructura, lo que puede ser promovido por la inclusión de los iones magnesio y zinc. Se ha demostrado que, cuando los iones de Mg/Zn entran en la red de la HAp crean un desajuste estructural que impide el crecimiento del cristal, lo que lleva a la formación de  $\beta$ -TCP [58]. La incorporación de Zn/Mg genera alteración en los parámetros de red debido a la diferencia entre los radios iónicos del  $Zn^{2+}$  (0.74 Å) / $Mg^{2+}$  (0.65 Å) en comparación con el radio iónico del calcio (0.99 Å), lo que genera disminución en la longitud de los enlaces catión-oxígeno, generando alteración en los parámetros de red de la estructura [28, 2].

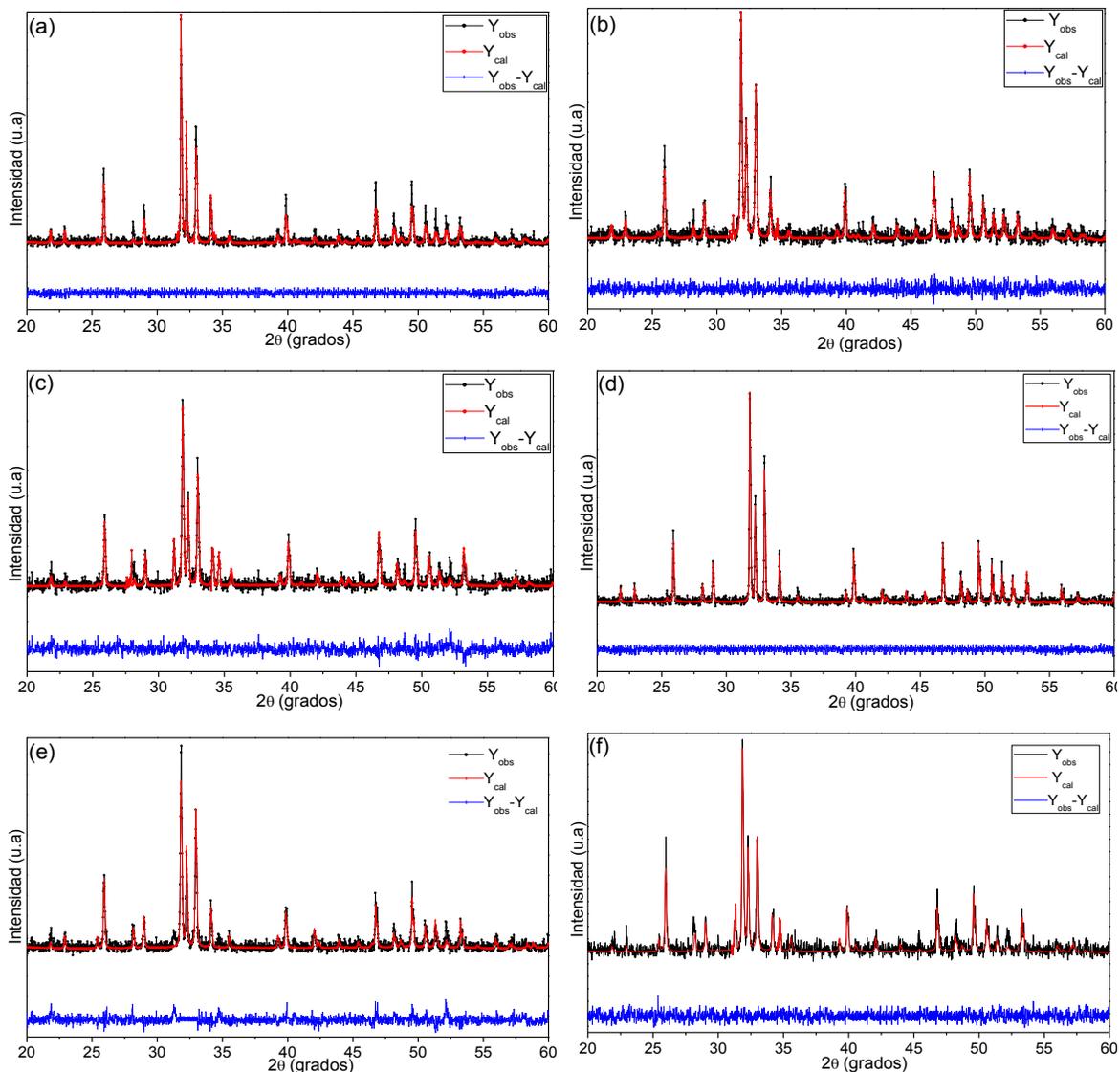
El  $\beta$ -TCP permite mejorar la bioactividad y la biodegradación, lo que garantiza la estabilidad del biomaterial y promueve el crecimiento óseo [59]. La presencia de  $\beta$ -TCP en la fase HAp da paso a la formación de fosfato de calcio bifásico (BCP) que se caracteriza por mejorar algunas propiedades de la HAp como la bioactividad, bioabsorbilidad, osteoconductividad y osteoinductividad, que favorece la formación del tejido óseo [59].

Para obtener los parámetros de red y ver cómo afecta la inclusión de iones de Zn y Mg la estructura cristalina de la HAp, los patrones de difracción presentados en las figuras 3.8 y 3.9 fueron refinados con el programa GSAS y se presentan en la figura 3.10. Los datos tanto de la HAp pura como de los sistemas con zinc y magnesio obtenidos del refinamiento, se presentan en la tabla 3.5; en todos los casos se observa bajos valores de  $\chi^2$  (<2) lo cual es un indicativo de una buena precisión de los resultados obtenidos en el refinamiento [60]. En la tabla se observa que los valores del volumen disminuyen al aumentar la cantidad de Zn/Mg, lo que puede justificarse por la diferencia de radios iónicos entre el Zn/Mg y el Ca.

**Tabla 3.5.** Datos de volumen y parámetros de red de la HAp y la HAp con diferentes concentraciones de magnesio y zinc

Parámetro refinado		HAp	HAp+5Zn	HAp+9Zn	HAp+11Zn	HAp+5Mg	HAp+9Mg	HAp+11Mg
Fase P6 <sub>3</sub> /m	<i>a</i> (Å)	9.420	9.415	9.415	9.419	9.420	9.421	9.421
	<i>c</i> (Å)	6.882	6.885	6.884	6.887	6.883	6.879	6.879

Volumen P <sub>63</sub> /m (Å <sup>3</sup> )	528.894	528.515	528.456	529.073	528.915	528.792	528.780
$\chi^2$	1.230	1.546	1.156	1.542	1.156	1.323	1.324



**Figura 3.10** Refinamiento Rietveld para la HAP con diferentes porcentajes de Zinc y Magnesio: (a) 5% Zn, (b) 9% Zn, (c) 11% Zn, (d) 5% Mg, (e) 9% Mg y (f) 11% Mg.

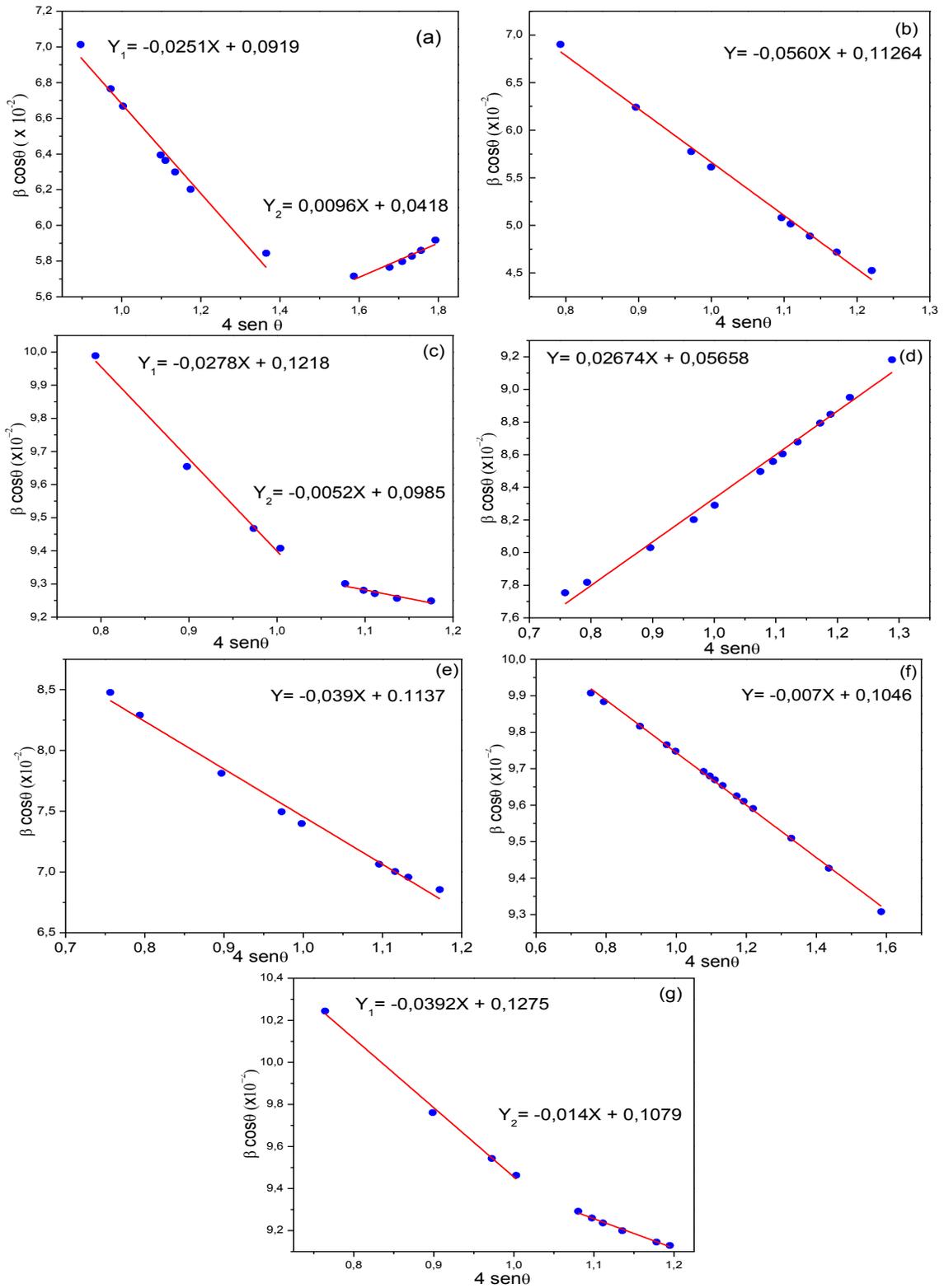
El porcentaje de cristalinidad para las muestras de HAP con diferentes concentraciones de Zn/Mg se presenta en la tabla 3.6, y fue calculado usando la ecuación [61]:

$$X_c (\%) = \left( 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

Donde  $V_{112/300}$  es la intensidad de la depresión entre los picos de difracción (112) y (300),  $I_{300}$  es la intensidad del pico de difracción (300). La incorporación de Zn/Mg causa grandes distorsiones en la red de la HAp debido a la diferencia de radios iónicos entre el Ca y Zn/Mg; estas distorsiones conducen a la reducción de la cristalinidad [62].

Ya que la cristalinidad depende del tamaño del cristalito y la deformación experimentada por el cristal y teniendo en cuenta la ecuación (1.7), se realizaron gráficas de  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \sin \theta$  llamadas gráficas tipo Williamson-Hall (W-H), considerando el modelo de deformación uniforme (UDM) (figura 3.11), de ellas se puede obtener el tamaño del cristalito del intercepto con el eje y y del valor de la pendiente se calcula la deformación de la red [63, 64, 65]; los datos tamaño del cristal ( $D_{HW}$ ) y deformación ( $\epsilon$ ), se consignan en la tabla 3.6. La deformación se atribuye al aumento de las dislocaciones, tensiones internas, límites de grano y a la disminución en el tamaño del cristal [66]. Del análisis se observa, excepto para 11% de Zn, una disminución en el tamaño del cristal con el aumento de Zn y Mg a la matriz de HAp. Al analizar las gráficas de la figura 3.11, se observan pendientes negativas, indicando la existencia de deformaciones producto de la tensión por compresión en el material. Cuando se adiciona 11% de Zn la pendiente de la gráfica es positiva indicando la presencia de deformaciones en este caso debida a que el material experimenta tensión por tracción, para este caso el tamaño del cristalito es mayor [67].

De acuerdo con la tabla 3.5 el volumen de la celda de la HAp cuando se adiciona 5% y 9% de Zn disminuye lo que puede interpretarse como una deformación de la celda cuando es sometida a tensión por compresión; al adicionar 11% el volumen de la celda aumenta, lo que genera deformación en este caso el material está experimentando tensión por tracción. Cuando a la celda de la HAp se adiciona Mg en todos los porcentajes la deformación de la celda se debe a tensiones por compresión.



**Figura 3.11** Gráficas  $\beta_{hkl} \cos\theta_{hkl}$  vs  $4 \text{ sen } \theta_{hkl}$  para (a) HAp, e HAp con: (b) 5% Zn, (c) 9% Zn, (d) 11% Zn, (e) 5% Mg, (f) 9% Mg y (g) 11% Mg.

**Tabla 3.6.** Tamaño del cristal, deformación en la celda y porcentaje de cristalinidad para la HAp y la HAp con diferentes concentraciones de magnesio y zinc

Parámetro	HAp		HAp+5Zn	HAp+9Zn			HAp+11Zn	HAp+5Mg	HAp+9Mg	HAp+11Mg	
Tamaño cristalito(nm)	25,2		12,9	21,7			24,8	12,2	13,3	11,9	
$\varepsilon$ ( $\times 10^{-3}$ ) %	-25,5	9,6	-56	-27,8	-5,2	36	26,7	-39	-7,2	-39,2	-14
$X_c$ (%)	96,5		94,2	93,2			93	96,1	94,7	89,4	

En el análisis realizado se asumió que la deformación era uniforme en todas las direcciones cristalográficas, considerando así la naturaleza isotrópica del cristal, donde las propiedades del material son independientes de la dirección a lo largo de la cual se miden, este modelo, de Williamson-Hall, de deformación uniforme considera un sistema cristalino isotrópico (perfecto). Para un sistema cristalino real se debe considerar la naturaleza anisotrópica del módulo de Young; en el modelo UDSM se asume que la deformación tiene una proporcionalidad lineal con la tensión de acuerdo a la ley de Hook, dentro del límite elástico, esta relación de proporcionalidad está dada por  $\sigma = Y\varepsilon$ , donde  $Y$  es la constante de proporcionalidad que es el módulo de elasticidad o módulo de Young. Esta ecuación es simplemente una aproximación que es válida solo cuando el cristal presenta pequeñas deformaciones. Suponiendo que la deformación en las partículas de HAp es pequeña, se puede aplicar la ley de Hook para estimar las tensiones a las que está sometida la red con una aproximación razonable. Más allá del límite elástico o con un aumento adicional en la deformación, la tensión en las partículas se desvía de esta proporcionalidad lineal. Asumiendo que la deformación de la red es uniforme en todas las direcciones cristalográficas, se puede sustituir en la ecuación (1.7) [68],  $\varepsilon = \frac{\sigma}{Y}$ , obteniéndose:

$$\beta \cos \theta = \frac{k \lambda}{D} + \frac{4 \sigma \sin \theta}{Y} \quad (3.2)$$

La gráfica  $\beta \cos \theta$  vs  $\frac{4 \sin \theta}{Y}$  (figura 3.12) permite calcular el tamaño de cristalito del intercepto con el eje y, la tensión se calcula de la pendiente de la recta, los datos obtenidos se presentan en la tabla 3.7, el tamaño del cristalito anisotrópico es más pequeño que su conjugado isotrópico ya que se toman en consideración la distorsión de la red que se

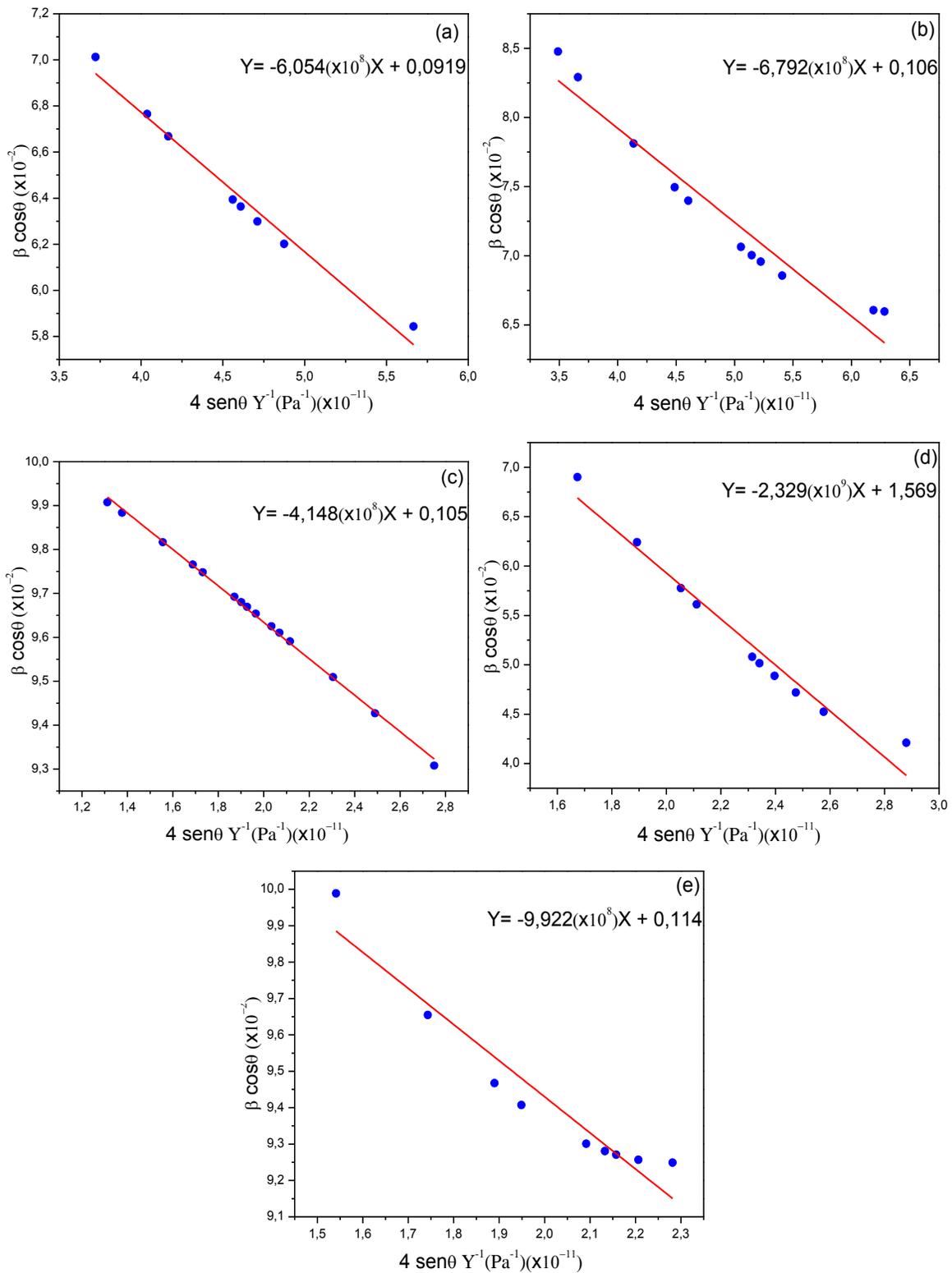
genera debido a dislocaciones, límites de grano y las fallas de apilamiento. Las pendientes negativas de las gráficas indican en todos los casos que la deformación presente en la red cristalina se debe a la tensión por compresión a la cual está sometido el material. Esta tensión puede ser generada por dislocaciones, límites de grano, que ejercen presión sobre la matriz hexagonal de la HAp [69]. En principio, los materiales no siempre son homogéneos e isotrópicos; los aglomerados, defectos y dislocaciones generan imperfecciones en los materiales. Las consideraciones de estos efectos sugieren la aplicación de otro modelo, donde las constantes de proporcionalidad asociadas con la relación tensión-deformación no son independientes. Se considera la densidad de energía de deformación ( $\mu$ ) (energía por unidad de volumen); de acuerdo con la ley de Hooke,  $\mu$  como función de la deformación ( $\epsilon$ ), está dada por la siguiente relación [70]:

$$\mu = \frac{\epsilon^2 Y}{2} \quad (3.3)$$

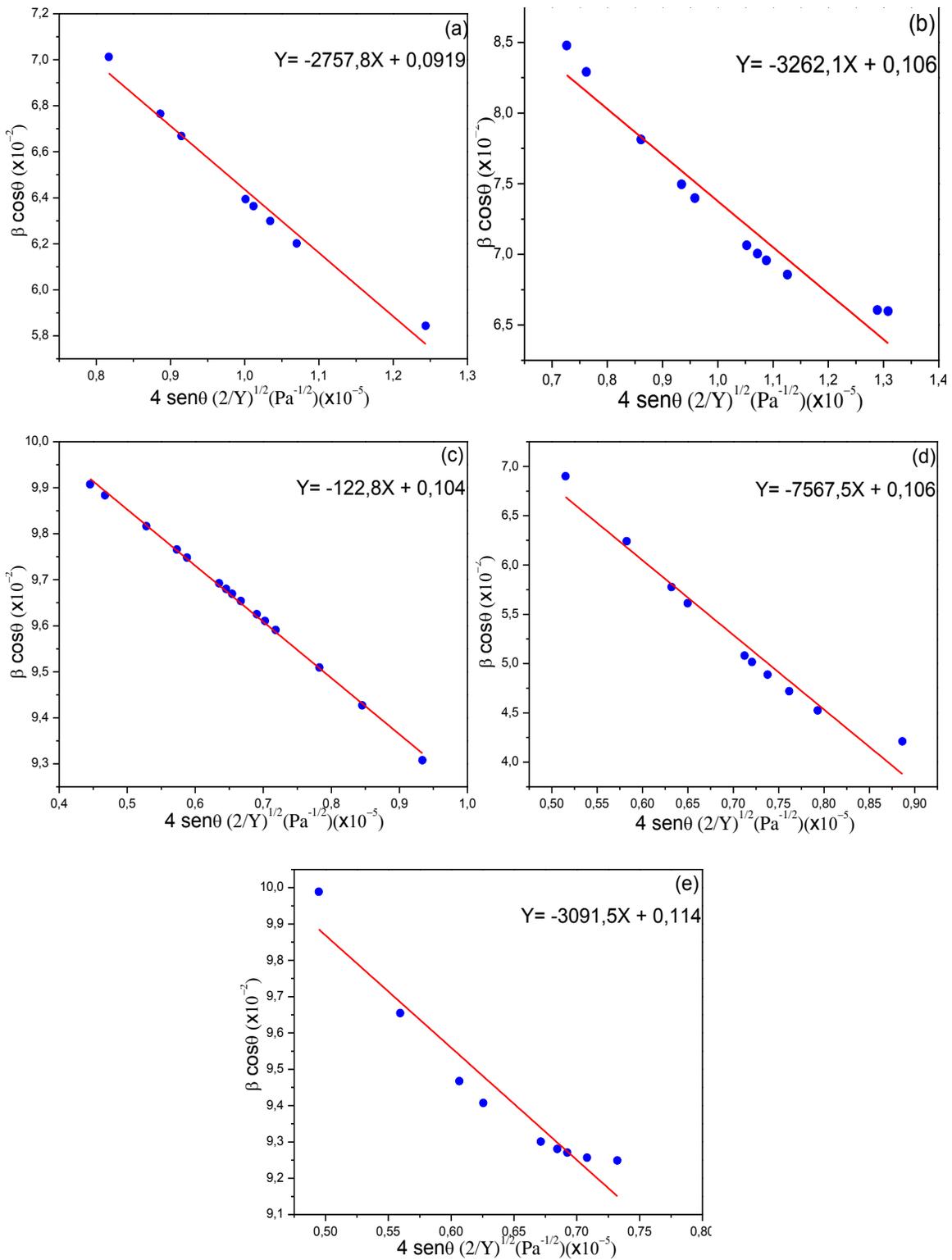
El modelo de densidad de energía de deformación uniforme (UDED) es usado para determinar el tamaño de cristalito, la deformación ( $\epsilon$ ), la tensión ( $\sigma$ ) y la densidad de energía, en este modelo la ecuación de Williamson-Hall (1.7), se reescribe como:

$$\beta \cos \theta = \frac{k \lambda}{D} + 4 \operatorname{sen} \theta \left( \frac{2 \mu}{Y} \right)^{1/2} \quad (3.4)$$

Graficando  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \operatorname{sen} \theta \left( \frac{2}{Y} \right)^{1/2}$  (figura 3.13), se obtuvo de la pendiente de la recta el valor de la densidad de energía de deformación, y del intercepto el tamaño del cristalito, estos valores se consignaron en la tabla 3.7.



**Figura 3.12** Gráficas  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \text{ sen } \theta Y^{-1}$  para (a) HAp, e HAp con: (b) 5% Mg, (c) 9% Mg, (d) 5% Zn y (e) 9% Zn



**Figura 3.13** Gráficas  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \operatorname{sen} \theta \left(\frac{2}{Y}\right)^{1/2}$  para (a) HAp, e HAp con: (b) 5% Mg, (c) 9% Mg, (d) 5% Zn y (e) 9% Zn

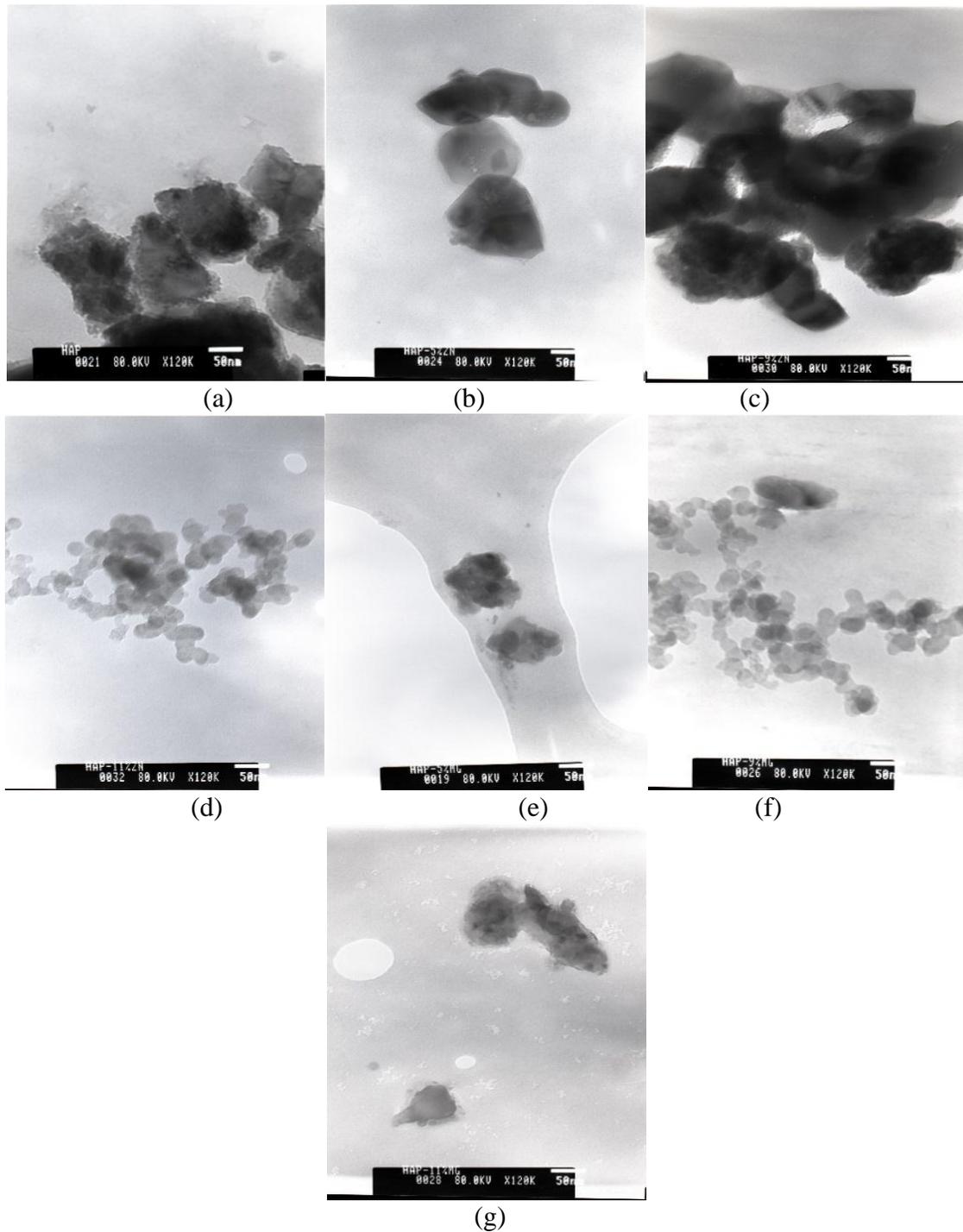
**Tabla 3.7.** Tamaño de cristalito, estrés, tensión y energía anisotrópica en la celda para HAp y la HAp con diferentes concentraciones de magnesio y zinc

Parámetro	HAp	HAp + 5%Mg	HAp + 9%Mg	HAp + 5%Zn	HAp + 9%Zn
Tamaño cristalito (nm)	15,09	13,08	13,21	0,9	12,16
Tensión $\sigma$ (MPa)	605,4	679,2	414,8	2329	992,2
Deformación anisotrópica $\varepsilon$ ( $\times 10^{-3}$ ) %	25,13	31,32	7,19	49,17	19,26
Densidad de energía anisotropía $\mu$ (kJ/m <sup>3</sup> )	7,6065	106,4	15,079	586,296	95,604

### 3.1.3 Microscopía electrónica de transmisión de las muestras de HAp obtenidas a partir de CaCO<sub>3</sub> comercial

En la Figura 3.14 se observan las micrografías de trasmisión de las nanopartículas de HAp pura y con las distintas concentraciones de Zn/Mg empleadas. Se observa que para todas las composiciones las partículas presentan forma irregular, para la HAp pura el tamaño de partícula es de ~110-150 nm, al adicionar 5% de Zn (figura 3.14(b)) se aprecia una disminución en el tamaño de partícula, disminuyendo a ~90-150 nm, al aumentar la cantidad de Zn a 9% se observa una fuerte tendencia a la formación de aglomerados como se aprecia en la Figura 3.14(c); esto muestra que el corto tratamiento con ultrasonidos no fue suficiente para romper los aglomerados y que la HAP tiene una alta afinidad a la aglomeración [71], para este porcentaje de Zn, las partículas presentan un tamaño entre ~75-140 nm. Para un 11% de Zn (figura 3.14d) se observa que las muestras están compuestas por un gran número de partículas finas estrechamente unidas con huecos interconectados con un tamaño de partícula de ~10-30 nm. Con la incorporación de Mg en la matriz de la HAp se ve una disminución progresiva en el tamaño de partícula, al adicionar 5% de Mg (figura 3.14e) se observan partículas con morfología irregular de ~90-100 nm, al aumentar la concentración a un 9% de Mg (figura 3.14f) se aprecian partículas con forma esférica y una notable disminución en el tamaño de partícula a ~15-100 nm, para

un 11% de Mg (figura 3.14g) las partículas presentan un tamaño de ~70-100 nm, con la incorporación de Mg reduce la



**Figura 3.14** Microscopia electrónica de transmisión para la HAp pura y con diferentes porcentajes de Zinc y Magnesio: (a) HAp, (b) 5% Zn, (c) 9% Zn, (d) 11% Zn, (e) 5% Mg, (f) 9% Mg y (g) 11% Mg.

tendencia de la formación de aglomerados. La aglomeración de partículas es un fenómeno natural; en el caso de las nanopartículas, la aglomeración se produce muy fácilmente debido a que las fuerzas superficiales como las fuerzas de Van der Waals, las fuerzas capilares y las fuerzas electrostáticas vencen las fuerzas gravitacionales e inerciales de las partículas en este rango de tamaño [66, 72]. El tamaño del cristal disminuye con el aumento de la sustitución de Zn/Mg en la red de HAp; los resultados indicaron que la adición de Zn/Mg influyó en la morfología de HAp, la dispersión y el tamaño de partícula promedio.

En la siguiente discusión de resultados se presentará la relación entre los parámetros de síntesis y la extracción de carbonato de calcio de una fuente natural como precursor para obtención de los polvos cerámicos de HAP y la influencia sobre sus propiedades estructurales, microestructurales y mecánicas.

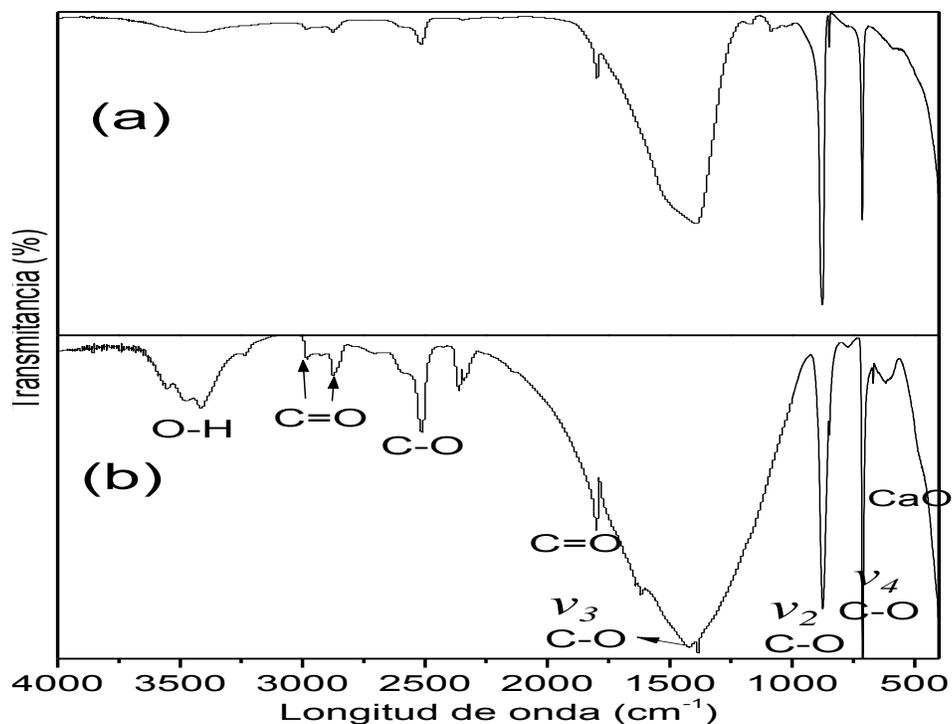
### **3.2 Caracterización estructural del $\text{CaCO}_3$ obtenido a partir la cáscara de huevo de gallina**

Para determinar las características cristalográficas del material se caracterizaron las muestras mediante la técnica de difracción de rayos X y espectroscopia infrarroja, FT-IR, para observar los grupos funcionales que se encuentran presentes en las mismas. La cáscara de huevo de gallina está compuesta de fosfato de calcio, materia orgánica y en su mayor cantidad por carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ). Un factor importante en la obtención del carbonato de calcio a partir de la cáscara de huevo de gallina es la temperatura de calcinación ya que de esta depende la calidad del producto final, es por ello que en la investigación se concluye que la temperatura óptima es de  $450^\circ\text{C}$ , ya que esta temperatura es suficiente para cristalizar el carbonato de calcio, obteniendo una fase pura de  $\text{CaCO}_3$ , como se evidencia en su DRX (figura 3.16b)

#### **3.2.1 Espectroscopia infrarroja del $\text{CaCO}_3$ obtenido a partir de la cascara de huevo de gallina**

En la figura 3.15 se presentan los espectros FT-IR del  $\text{CaCO}_3$  obtenido a partir de la cáscara de huevo y el  $\text{CaCO}_3$  comercial. En la figura 3.15(a) se observan los diferentes modos de

vibración del  $\text{CaCO}_3$  obtenido a partir de la cáscara de huevo de gallina y se presentan en la tabla 3.8, donde se identifican cuatro modos diferentes de vibración del enlace C-O presente



**Figura 3.15** Espectro FT-IR de: (a)  $\text{CaCO}_3$  obtenido a partir de la cáscara de huevo de gallina después de un tratamiento térmico a  $450^\circ\text{C}$  y (b)  $\text{CaCO}_3$  comercial.

**Tabla 3.8** Principales bandas asociadas a los distintos modos de vibración del  $\text{CaCO}_3$  obtenido a partir de la cáscara de huevo de gallina

MODOS DE VIBRACIÓN			
C-O	C=O	Ca-O	O-H
$\sim 713 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 878 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 1162 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 1393 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 2516 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1792 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 2877 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 2985 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 500 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 3440 \text{ cm}^{-1}$

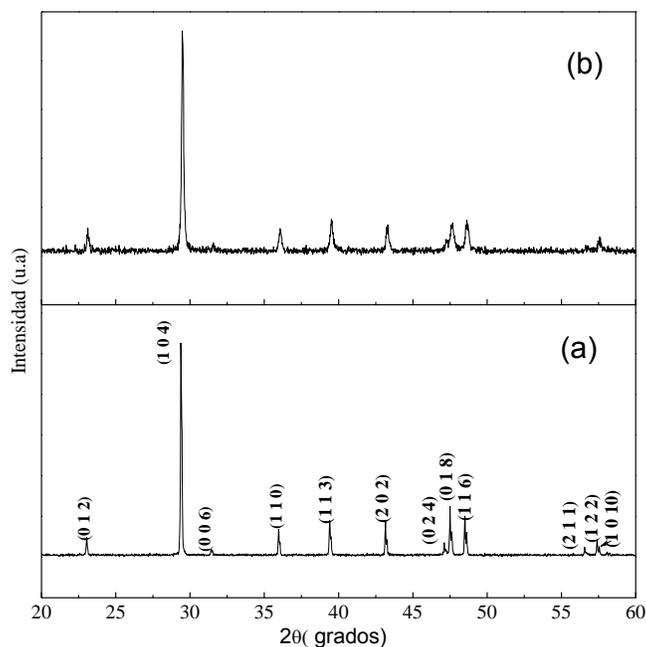
en el ion  $\text{CO}_3^{2-}$ ; a  $\sim 713 \text{ cm}^{-1}$  se encuentra la banda correspondiente a la vibración de flexión dentro del plano, a  $\sim 878 \text{ cm}^{-1}$  se encuentra la banda debida al modo de vibración de flexión

fuera del plano, y las bandas ubicadas a  $\sim 1162\text{ cm}^{-1}$  y  $\sim 1393\text{ cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones de tensión simétrica y asimétrica respectivamente. La banda observada a  $2516\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración armónica de los modos de elongación del enlace C-O. Las bandas de baja intensidad que se encuentran a  $\sim 2877$  y  $\sim 2985\text{ cm}^{-1}$  se deben a las vibraciones de flexión en el plano del enlace C=O del ion carbonato, al igual que la banda situada en  $\sim 1797\text{ cm}^{-1}$ ; la banda alrededor de  $500\text{ cm}^{-1}$  corresponde a los enlaces Ca-O.

La banda situada a  $\sim 3440\text{ cm}^{-1}$  está asociada a la vibración del enlace O-H debido posiblemente a la formación de  $\text{Ca(OH)}_2$  durante el proceso de síntesis ya que el hidróxido es un componente restante del proceso de carbonatación. Al comparar estos resultados con los que se presentan en el espectro FT-IR de la figura 3.15(b) para el  $\text{CaCO}_3$  comercial se confirma la formación de carbonato de calcio en el proceso de obtención de un precursor de calcio a partir de una fuente natural como lo es la cáscara de huevo de gallina [73] [74].

### **3.2.2. DRX de la muestra de $\text{CaCO}_3$ obtenida a partir de la cascara de huevo de gallina**

En la figura 3.16b se puede apreciar el difractograma de rayos X de la muestra  $\text{CaCO}_3$  obtenido; se evidencia que el patrón de difracción corresponde a carbonato de calcio o calcita,  $\text{CaCO}_3$ , ya que los picos coinciden con los de la base de datos JCPDS 05-0586 propio de la calcita; además se observa que no existe ninguna fase secundaria al compararse con el patrón de difracción del  $\text{CaCO}_3$  comercial (figura 3.16a).



**Figura 3.16** Difracción de rayos X de (a)  $\text{CaCO}_3$  comercial, (b)  $\text{CaCO}_3$  obtenido a partir de la cáscara de huevo después de ser calcinada a  $450^\circ\text{C}$

### 3.3 Caracterización estructural y microestructural de la HAp obtenida por la técnica de síntesis por combustión a partir de $\text{CaCO}_3$ obtenido de la cáscara de huevo de gallina.

#### 3.3.1 Espectroscopía infrarroja de la HAp obtenida a partir de la cascara de huevo de gallina

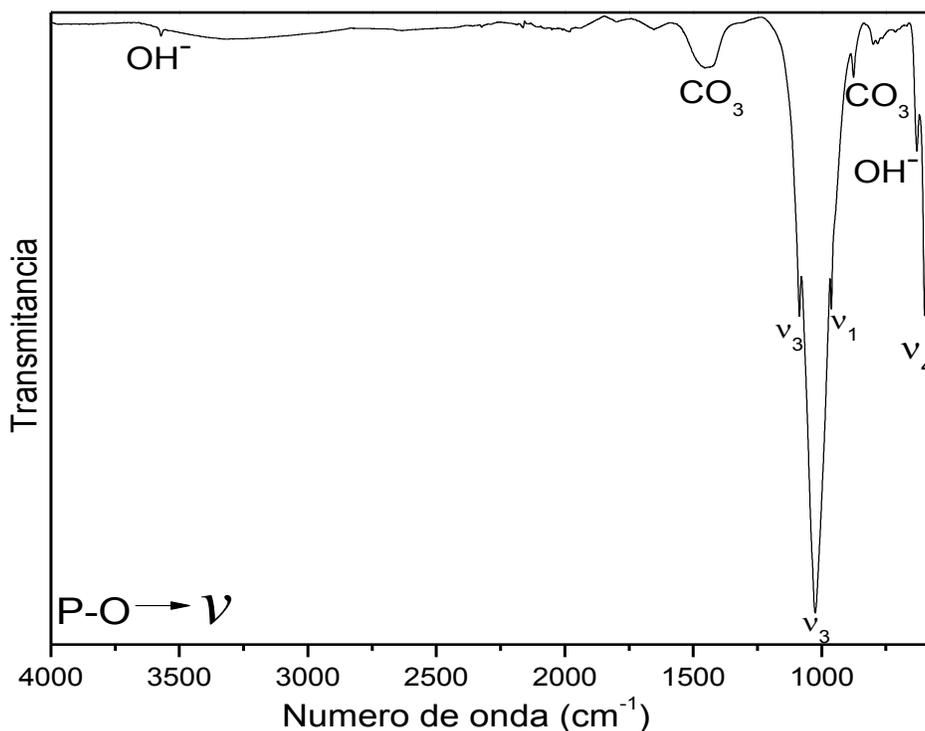
En la figura 3.17 se presenta el espectro FT-IR de la HAp sintetizada a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina, obtenida por el método de reacción por combustión; En la tabla 3.9 se identifican las bandas correspondientes a las vibraciones principales de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{OH}^-$ , así como a enlaces C-O. Las bandas ubicadas a  $\sim 871$  y  $1446\text{ cm}^{-1}$  están asociadas al grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  [75], la señal alrededor de  $\sim 3570\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones del enlace O-H asociado con el agua adsorbida, el grupo hidroxilo se asocia a la banda ubicada a  $\sim 628\text{ cm}^{-1}$ , la banda ubicada a  $\sim 2980\text{ cm}^{-1}$  se asocia al modo de tensión del enlace C-H [76]. Teóricamente, existen cuatro modos de vibración para los iones fosfato,  $\nu_1$ ,  $\nu_2$ ,  $\nu_3$  y  $\nu_4$ . La banda correspondiente al modo  $\nu_1$  se observa a  $\sim 959\text{ cm}^{-1}$ . La banda  $\nu_3$  está presente a  $\sim 1089$  y  $1020\text{ cm}^{-1}$ . Las bandas asociadas al modo  $\nu_4$  están presentes en la región entre  $603$  y  $560\text{ cm}^{-1}$ , donde se observa un

desdoblamiento de estas bandas, esta división de la banda  $\nu_4$  indica la baja simetría de las moléculas en el sitio, ya que la presencia de dos y tres bandas confirman la presencia de más de un sitio asociado al grupo fosfato [77,78].

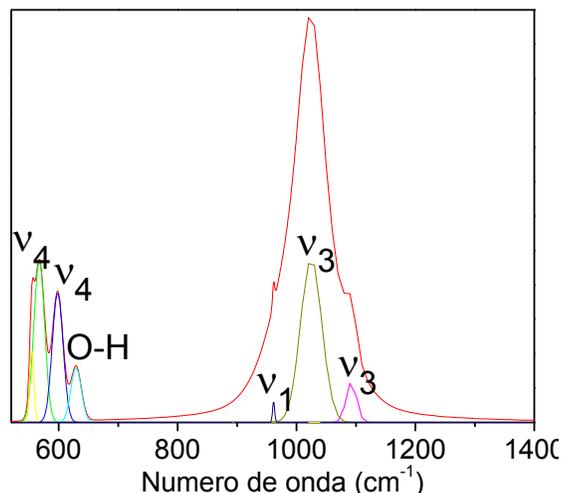
**Tabla 3.9** Principales bandas asociadas a los distintos modos de vibración de la HAp obtenida a partir de  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{OH}^-$	$\text{PO}_4^{3-}$		
		$\nu_1$	$\nu_3$	$\nu_4$
$\sim 871 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 1446 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 628 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 3570 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 959 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1020 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 1089 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 603 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 560 \text{ cm}^{-1}$

La deconvolución realizada en la zona de interés entre  $400$  y  $1400 \text{ cm}^{-1}$ , en donde se encuentran los enlaces metal oxígeno de nuestro sistema, permitió identificar y confirmar la intensidad de los principales modos de vibración del grupo fosfato ( $\nu_1$ ,  $\nu_3$ ) y el grupo hidroxilo (Figura 3.18); presentes en la HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cascara de huevo, cuyas bandas también se observan en la HAp utilizando como precursor de calcio  $\text{CaCO}_3$  comercial.



**Figura 3.17** Espectro FT-IR de la HAp obtenida a partir de  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

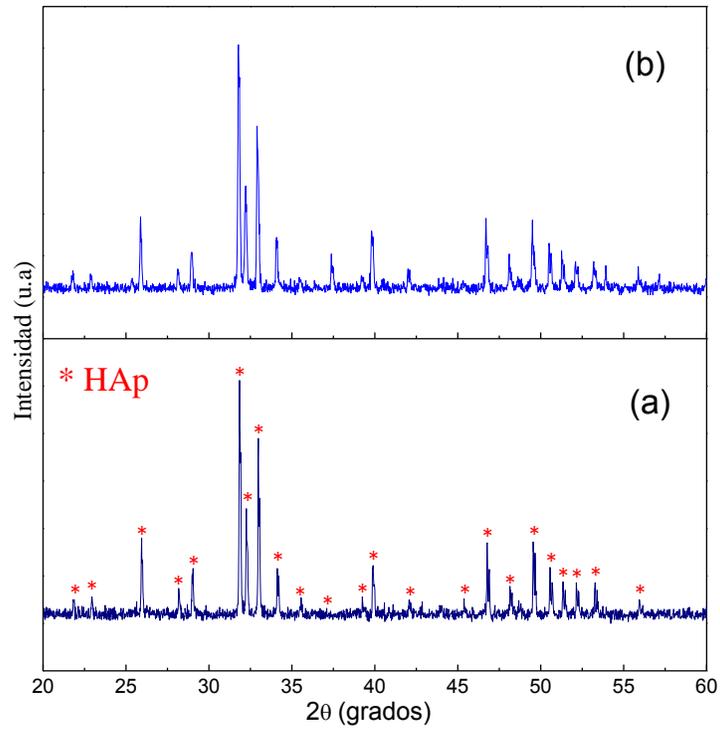


**Figura 3.18** Deconvolución del espectro FT-IR de polvos cerámicos de HAp obtenida a partir de  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

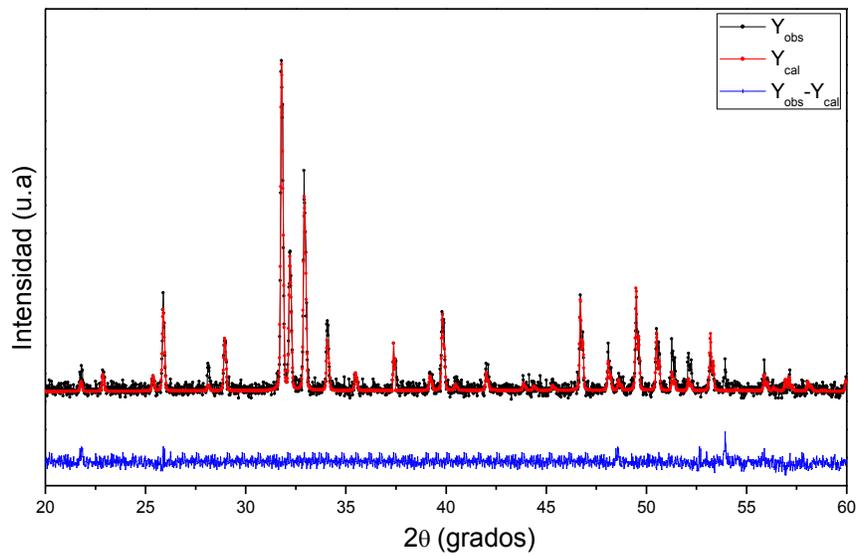
### 3.3.1 Difracción de rayos X de la HAp obtenida a partir de la cascara de huevo de gallina.

Los patrones de DRX (figura 3.19) obtenidos de las muestras de HAp a partir de precursor sintético y de la cáscara de huevo de gallina, coincidieron con la fase hexagonal característica de HAp (JCPD 9-0432). Es de resaltar que los difractogramas de rayos X evidencian que no existen otras fases diferentes a la HAp, presentes en las muestras que han sido calcinadas a 1100°C, demostrando que la temperatura y el tiempo calcinación fueron suficientes para la obtención de los polvos cerámicos deseados, obteniendo resultados comparados con los reportados por Juan Vélez y colaboradores [79].

Mediante la técnica de Rietveld, se ajustó el patrón de difracción de la figura 3.19(b), el resultado es presentado en la figura 3.20; el refinamiento realizado ajusta los datos del patrón de difracción a un sistema cristalino hexagonal, con parámetros de red  $a = b = 9.419258 \text{ \AA}$ ,  $c = 6.882419 \text{ \AA}$ , grupo espacial  $P6_3/m$ , volumen =  $528.817 \text{ \AA}^3$  y  $\chi^2 = 1.451$  con lo cual se observa que HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo presenta parámetros de red similares a la HAp obtenida con un precursor comercial ( $a = b = 9.420 \text{ \AA}$ ,  $c = 6.882 \text{ \AA}$ , grupo espacial  $P6_3/m$ , volumen  $528.894 \text{ \AA}^3$  )



**Figura 3.19** Difractograma de: (a) HAp ( $\text{CaCO}_3$  comercial). (b) HAp ( $\text{CaCO}_3$  obtenido a partir de la cáscara de huevo de gallina).



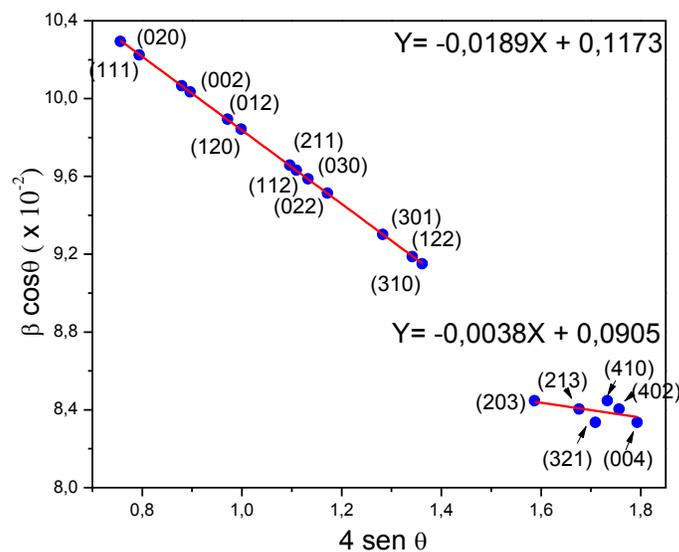
**Figura 3.20** Refinamiento de Rietveld de la muestra de HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

El porcentaje de cristalinidad para la muestra de HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina se presenta en la tabla 3.10 y fue calculado usando la ecuación [80]:

$$X_c (\%) = \left( 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

Donde  $V_{112/300}$  es la intensidad de la depresión entre los picos de difracción (112) y (300),  $I_{300}$  es la intensidad del pico de difracción (300). Este porcentaje es muy cercano al obtenido para la HAp sintetizada con  $\text{CaCO}_3$  comercial, lo que indica que es posible obtener HAp a partir de una fuente natural, con un alto porcentaje de cristalinidad.

Ya que la cristalinidad depende del tamaño del cristalito y la deformación experimentada por el cristal y teniendo en cuenta la ecuación (1.7), se realizó la gráfica de  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \text{ sen } \theta$  llamada gráfico tipo Williamson-Hall (W-H), considerando el modelo de deformación uniforme (UDM) (figura 3.21), de ella se puede obtener el tamaño del cristalito del intercepto con el eje y y del valor de la pendiente se calcula la deformación de la red [81, 82, 83]; los datos tamaño del cristal ( $D_{HW}$ ) y deformación ( $\epsilon$ ), se consignan en la tabla 3.10. La deformación se atribuye al aumento de las dislocaciones, tensiones internas, límites de grano y a la disminución en el tamaño del cristal [84].



**Figura 3.21** Gráficas  $\beta_{hkl} \cos\theta_{hkl}$  vs  $4 \sin \theta_{hkl}$  para la HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

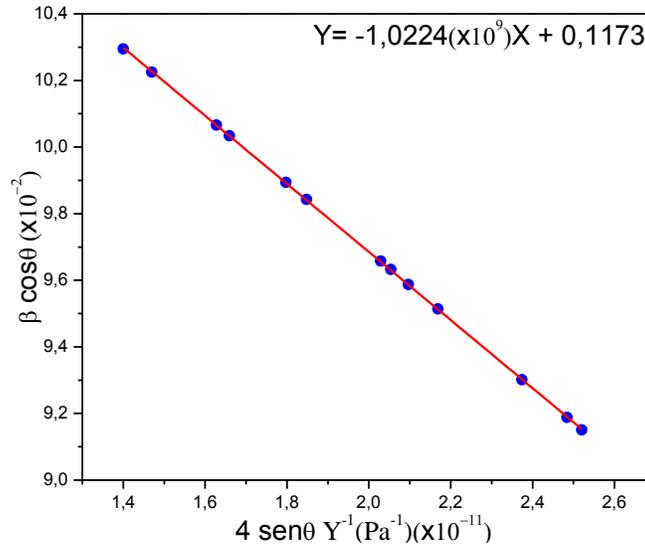
En la figura 3.21 se presenta la gráfica de Williamson Hall para la HAp obtenida utilizando como precursor de calcio el  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina, donde se evidencia dos comportamientos distintos; en el primero, se exhibe una pendiente mayor para algunos planos cristalográficos indicando que el material experimenta mayor tensión por compresión alrededor de estos planos; En la segunda región, se obtiene una disminución en la tensión por compresión que experimenta HAp a lo largo de planos cristalográficos que se muestran en el gráfico, como se evidencia en la tabla 3.10. Estos resultados señalan que la tensión que sufre el material no es homogénea, indicando una mayor afectación de estas tensiones para distintos planos.

El valor del tamaño de cristalito de la HAp obtenida utilizando como precursor de calcio el  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo (tabal 3.10) es menor, comparada con el de la HAp con  $\text{CaCO}_3$  de comercial (tabla 3.6), señalando así que la fuente de obtención de los precursores de la HAp influye en sus efectos microestructuras.

**Tabla 3.10** Tamaño del cristalito, deformación en la celda y porcentaje de cristalinidad para la HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

Parámetro	HAp ( $\text{CaCO}_3$ cáscara de huevo)	
Tamaño cristalito(nm)	14,2	
$\varepsilon$ ( $\times 10^{-3}$ ) %	-18,9	-3,8
$X_c$ (%)	95,8	

En el análisis realizado se asumió que la deformación era uniforme en todas las direcciones cristalográficas, considerando así la naturaleza isotrópica del cristal, donde las propiedades del material son independientes de la dirección a lo largo de la cual se miden, este modelo, de Williamson-Hall, de deformación uniforme considera un sistema cristalino isotrópico (perfecto). Para un sistema cristalino real se debe considerar la naturaleza anisotrópica del módulo de Young.



**Figura 3.22** Gráficas  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \text{ sen } \theta Y^{-1}$  para la HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

Teniendo en cuenta la ecuación 3.2 se realiza la gráfica  $\beta \cos \theta$  vs  $\frac{4 \text{ sen } \theta}{Y}$  (figura 3.22), que permite calcular el tamaño de cristalito del intercepto con el eje y, la tensión se calcula de la pendiente de la recta. Los datos obtenidos se presentan en la tabla 3.11, donde se observa un tamaño de cristalito menor que el obtenido cuando se considera la naturaleza isotrópica del material. Ya que los materiales no siempre son homogéneos e isotrópicos, es más fiable elegir este valor para el tamaño de cristalito, pues considera un sistema real.

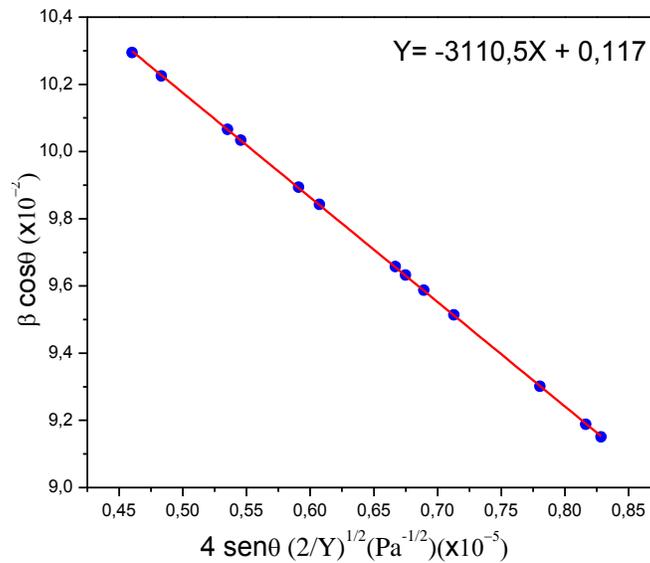
**Tabla 3.11** Tamaño de cristalito, tensión y deformación anisotrópica de la celda para HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

Parámetro	HAp ( $\text{CaCO}_3$ cáscara de huevo)
Tamaño cristalito (nm)	12,34
Tensión $\sigma$ (MPa)	1022,4
Deformación anisotrópica $\varepsilon (\times 10^{-3}) \%$	18,92

El modelo de densidad de energía de deformación uniforme (UDEDM) es usado para determinar el tamaño de cristalito, la deformación ( $\varepsilon$ ), la tensión ( $\sigma$ ) y la densidad de energía, en este modelo la ecuación de Williamson-Hall (1.7), se reescribe como:

$$\beta \cos \theta = \frac{k \lambda}{D} + 4 \operatorname{sen} \theta \left( \frac{2 \mu}{Y} \right)^{1/2}$$

Graficando  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \operatorname{sen} \theta \left( \frac{2}{Y} \right)^{1/2}$  (figura 3.23), se obtuvo de la pendiente de la recta el valor de la densidad de energía de deformación, y del intercepto el tamaño del cristalito, estos valores se consignaron en la tabla 3.12. Donde se observa que el valor para la densidad de energía anisotrópica de la HAp obtenida utilizando  $\text{CaCO}_3$  obtenido de la cáscara de huevo es mayor que el obtenido para la HAp sintetizada con  $\text{CaCO}_3$  comercial (tabla 3.7), lo que indica una mayor presencia de tensiones en la red; de acuerdo con la relación lineal entre la tensión-deformación de este modelo, que se observa en la gráfica (figura 3,23).



**Figura 3.23** Gráficas  $\beta \cos \theta$  vs  $4 \operatorname{sen} \theta \left( \frac{2}{Y} \right)^{1/2}$  para la HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

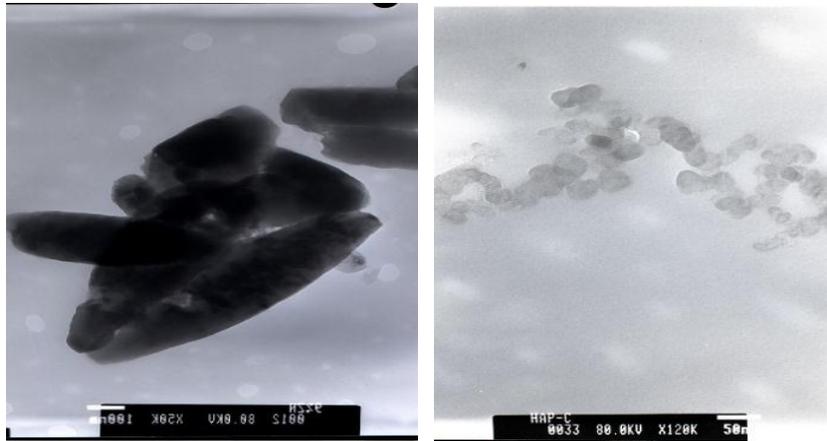
**Tabla 3.12** Tamaño de cristalito y densidad de energía anisotrópica de la celda para HAp obtenida a partir del  $\text{CaCO}_3$  extraído de la cáscara de huevo de gallina

Parámetro	HAp ( $\text{CaCO}_3$ cáscara de huevo)
Tamaño cristalito (nm)	12,34

Densidad de energía anisotrópica $\mu$ (MJ/m <sup>3</sup> )	9,6752
---	--------

### 3.3.2 Microscopía electrónica de transmisión de la HAp obtenida a partir de CaCO<sub>3</sub> comercial

Como se observa en la figura 3.19(a) las partículas de HAp mostraron cristales muy finos en forma de varilla con una longitud de 0.9  $\mu\text{m}$  y un ancho promedio de 230 nm. [29]. La formación del tamaño de partícula obtenido, relativamente grande, pudo deberse a la rápida adición de la solución del precursor de Ca en el precursor de fósforo lo que pudo ocasionar un menor número de sitios de nucleación de los cristales [85], también pudo deberse a que el pH del medio en el que se realiza la síntesis por combustión es muy ácido (pH=1.03); ya que estudios anteriores han llevado a suponer que un pH alto reduce el crecimiento de partícula [86]. Por otro lado, los polvos de HAp se sometieron a un proceso de molienda utilizando un molino de bolas a 340 rpm durante 12h, observándose así una modificación en la morfología y tamaño de las muestras, presentándose una forma esférica, distribución homogénea con un diámetro de ~20-50 nm (figura 3.19b). Se ha demostrado que la reabsorción de la HAp cambia cuando sus cristales son similares al del tejido óseo y el tamaño de partícula está en el rango de los nanómetros, presentando gran área superficial. La morfología esférica se desea debido a que las partículas esféricas tienen gran área superficial comparada con otras morfologías en un rango de tamaño similar, lo que favorece el contacto con otros materiales. En segundo lugar, las partículas con esta morfología generan una contrapresión más baja y tienen una mayor estabilidad mecánica [87].



**Figura 3.24** Microscopia electrónica de transmisión para la HAp partir de  $\text{CaCO}_3$  obtenido de la cáscara de huevo de gallina (a) sin molienda (b) molienda

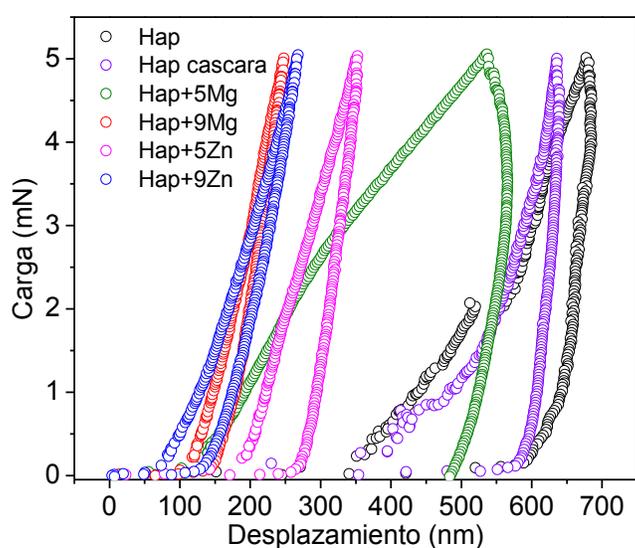
### 3.5 Caracterización mecánica de la HAp

La densidad de las muestras de HAp pura, HAp con adición de 5%, 9% y 11% de Mg/Zn, obtenida a partir del precursor  $\text{CaCO}_3$  comercial y la HAp obtenida a partir de  $\text{CaCO}_3$  de la cascara de huevo de gallina, sinterizadas a  $1100^\circ\text{C}/1\text{h}$  se presentan en la tabla 3.14; donde se observa un aumento con el incremento de la concentración de Mg/Zn. Este aumento en la densidad puede ser debido a un tamaño de partícula más fino en los polvos sintetizados cuando es adicionado Mg/Zn, lo que está de acuerdo con los resultados obtenidos de la microscopía electrónica de transmisión, unido a ello los defectos en la red debido a la incorporación de Mg/Zn también pueden activar el proceso de sinterización [88].

Ensayos de nanoindentación fueron realizados a las muestras de HAp pura y con los diferentes porcentajes de Mg/Zn utilizados. En la figura 3.25 y en la tabla 3.13 se presentan los valores de dureza Vickers y del módulo elástico, que fueron determinados a partir de las curvas carga-desplazamiento, donde fue utilizada una carga máxima de 5 mN. En la curva correspondiente a la HAp pura se observó una zona de discontinuidad, donde se presenta un aumento repentino en el desplazamiento sin un aumento de carga, esta discontinuidad se denomina “pop-in” y es posible que se genere por el colapso entre poros vecinos [89], vinculado a la presencia de una zona local frágil; como se puede notar en la tabla 3.13 la densidad de la muestra es inferior al valor teórico. La existencia de pop-in tiene origen microestructural, más específicamente está vinculado a una heterogeneidad en el material,

como porosidad, inclusiones o segregaciones de elementos traza, y generalmente ocurre en la fase de carga, es decir, antes de la carga máxima [90, 91].

Las curvas correspondientes a las muestras de HAp pura, HAp de cascara de huevo e HAp con una concentración de 5% de Mg exhiben mayor profundidad de penetración a lo largo del ensayo (figura 3.25) lo que puede ser debido al alto grado de porosidad reflejado en los bajos valores de densidad lo que conlleva a que estas muestras presenten menor dureza [92].



**Figura 3.25** Gráfico de carga-desplazamiento para la HAp e HAp dopada con Mg y Zn

**Tabla 3.13** Propiedades mecánicas de HAp y la HAp con diferentes concentraciones de magnesio y zinc

Muestra	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Dureza Vickers (GPa)	Módulo de Young (GPa)
HAp pura	2,39	0,5041	24,095
HAp cáscara de huevo	1,83	0,5361	54,017
HAp +5Mg	2,79	0,4247	21,679
HAp +9Mg	2,71	6,1167	57,644
HAp +11Mg	1,86	-----	-----
HAp +5Zn	2,73	2,2276	47,362
HAp +9Zn	2,71	5,0886	51,506
HAp +11Zn	2,71	-----	-----

Al comparar el módulo elástico y la dureza Vickers obtenido de las muestras con los reportados para la HAp usando una carga de prueba de 5 mN ( $E = 23 \pm 3.5$  y  $H = 0.7 \pm 0.2$  GPa) [93], puede notarse un aumento en estos con la incorporación de Mg/Zn presentando un valor máximo para la HAp con una concentración de 9% de Mg; la inclusión de Mg/Zn en la matriz de la HAp mejora la densidad, dureza y modulo elástico; propiedades de gran interés para su aplicabilidad.

Idealmente, el módulo elástico E y la dureza Vickers H de los biomateriales, que están destinados a ser utilizados como injertos óseos, deben coincidir con los de los huesos humanos. Las muestras sintetizadas exhiben un módulo elástico entre (21-57 GPa) concordante con el hueso cortical humano promedio (20–25.8 GPa) y más alto que en los huesos trabeculares humanos (15–19.4 GPa). La dureza de las muestras sintetizadas se encuentra entre (0.47 - 6.11 GPa), mayor que la de los huesos trabeculares humanos (0.52–0.62 GPa) y en consistencia con H de los huesos corticales humanos (0.62–0.74 GPa). En general, los resultados observados demuestran claramente una alta similitud elástica entre el biomaterial sintetizado y el hueso humano, por lo que cumple un requisito esencial de los biomateriales para la sustitución ósea.

#### **4. Conclusiones**

- Mediante espectroscopia infrarroja y difracción de rayos-X se confirmó la obtención de carbonato de calcio con estructura hexagonal (calcita), a partir de la cáscara de huevo de gallina, a una temperatura de 450°C.
- Mediante el método de reacción por combustión y un tratamiento térmico posterior de 1100°C/2h se obtuvo HAp monofásica, tanto para el carbonato de calcio obtenido a partir de la cáscara de huevo de gallina y el carbonato de calcio comercial.

- El uso de cáscaras de huevo de gallina para obtener el precursor de calcio para la posterior obtención de la HAp, ayuda al medio ambiente ya que requiere el uso de esta fuente natural que generalmente es desechada; además es un proceso económico en comparación con el costo del precursor de calcio comercial.
- El Mg/Zn son solubles hasta un 5%, porcentajes mayores generan una fase adicional llamada fosfato tricálcico  $\beta$ .
- Mediante el refinamiento Rietveld se observa variación en el volumen de la celda con la adición de Mg/Zn
- Debido a la diferencia de tamaño iónico, la adición de Mg/Zn genera tensiones en la red cristalina de la HAp esto se comprobó mediante las gráficas de Williamson-Hall.
- La adición de Mg/Zn mejora las propiedades mecánicas de la HAp, ya que los valores del módulo de elasticidad y la dureza aumentan considerablemente.

## 5. Referencia

- 
- [1] Arghavan, F.; Farhad, B.; Mehran, S.-H.; Mitra, A.-E.; Noor, A. (2014): Magnesium incorporated hydroxyapatite: Synthesis and structural properties characterization, *Ceramics International*, 40: 6021-6029.
  - [2] Kaygili, O.; Keser, S.; Bulut, N.; Ates, T. (2018): Characterization of Mg-containing hydroxyapatites synthesized by combustion method. *Physica B: Condensed Matter*, 537, 63-67.
  - [3] Tank, K.; Sharma, P.; Kanchan, D.; Joshi, M. (2011): FTIR, powder XRD, TEM and dielectric studies of pure and zinc doped nano-hydroxyapatite, *Crystal Research and Technology*, 46(12): 1309-1316.
  - [4] Miralles, Á. (2011): Síntesis y caracterización de cerámicas de fosfato cálcico sustituidas con iones de estroncio, silicio y hierro, tesis doctoral, Universidad Rey Juan Carlos, España.

- 
- [5] Barakat, N.; Khalil, K.; .Sheikh, F.; Omran, A.; Gaihre, B.; Khil, S.; Kim, H. (2008): Physiochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones by three different methods: Extraction of biologically desirable HAp, 28(8): 1381-1387.
- [6] Jaramillo, C.; Posada, J.; Echavarría, A.; Byrne, J.; Congote, D.; Restrepo, L. (2009): Comparación de las propiedades de osteoconducción y osteointegración de una hidroxiapatita reabsorbible comercial con una hidroxiapatita reabsorbible sintetizada, Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 22(2): 117-130.
- [7] Pinzón, N.; Sarmiento, M.; Peña, P.; Tuta, E. (2014): Recubrimientos de hidroxiapatita biológica dopada con magnesio y reforzada con TiO<sub>2</sub>: síntesis y caracterización, Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 34(2): 240-250.
- [8] Ramírez, E.; Garcés, A.; Villareal, R.; Orea, G.; Pérez, M. (2011): Síntesis y análisis de la biocompatibilidad y osteoconductividad de un composito hidroxiapatita/colágeno, implantado en el sacro de un perro, Revista Mexicana de Ingeniería Biomedica, 32(2): 119-124.
- [9] Lacerda, K.; Lameiras, F.; Silva, V. (2006): Síntese e caracterização de matrizes porosas de hidroxiapatita para aplicação como fontes radioativas em braquiterapia, Revista Escola de Minas, 59(2): 217-223.
- [10] Valencia, A.; Ponce, H.; De la Torre, G.; Landeros, J. (2008): Caracterización estructural y morfológica de hidroxiapatita nanoestructurada: estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis, Superficies y vacío, 21(4): 18-21.
- [11] Rautray, T.; Kim, K. (2013): Synthesis of Mg<sup>2+</sup> Incorporated Hydroxyapatite by Ion Implantation, Key Engineering Materials, 529(1): 114-118.
- [12] Dasgupta, S.; Bandyopadhyay, A.; Bose, S. (2010): Zn and Mg Doped Hydroxyapatite Nanoparticles for Controlled Release of Protein, Langmuir, 26(7): 4958-4964.
- [13] Dorozhkin, S.; Epple, M. (2002): Biological and Medical Significance of Calcium Phosphates, Angewandte Chemie International, 41(17): 3130-3146.
- [14] Stipniece, L.; Salma-Ancane, K.; Borodajenko, N.; Sokolova, M.; Jakovlevs, D.; Berzina-Cimdina, L. (2014): Characterization of Mg-substituted hydroxyapatite synthesized by wet chemical method, Ceramics International, 40(2): 3261-3267.
- [15] Molina, J. (2007): Biomateriales; Fundamentos, Técnicas y Aplicaciones, Universidad de Guadalajara, México.

- 
- [16] Eguía, S. I. (2009): Estudio microestructural de partículas de hidroxiapatita crecidas sobre geles de sílice, Tesis de pregrado, Universidad Autónoma de Nuevo León, Guanajuato, México.
- [17] Dorozhkin, S. V. (2013): A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950, *Materials Science and Engineering*, 33(6): 3085-3110.
- [18] Castillo Paz, A. (2016): Influencia de la temperatura de calcinación en la formación de cristales de bio-hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) extraída de hueso porcino, Tesis de pregrado, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia.
- [19] Muratore Moreno, G.; Ojeda Castellano, J. S.; Erdocia Eguia, P.; Carrasco Martínez, L.; Chirino Cabrera, A.; Rodríguez Alvarez, J. P. (2003): Biomateriales Cerámicos, XVII Jornadas Canarias de Traumatología y Cirugía Ortopédica, 306-311.
- [20] Orgaz, F.; Rincon, J.; Cabel, F. (1987): Materiales Cerámicos y Biovidrios, *Boletín de la Sociedad Española de cerámica y vidrio*, 26(1): 13-19.
- [21] Botero, Y. L. (2016): Hidroxiapatita carbonatada, una opción como biomaterial para implantes: una revisión del estado del arte, *Revista colombiana de materiales*, 8, 79-97.
- [22] Kowalyszyn, K.; Silva, A.; Torres, Q. (2013): La hidroxiapatita como biomaterial para la reconstrucción de rebordes alveolares, *Revista venezolana de investigación odontológica de la IADR*, 1(1): 62-71.
- [23] Ren, F.; Lu, X.; Leng, Y. (2013): Ab initio simulation on the crystal structure and elastic properties of carbonated apatite, *journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 26, 59-67.
- [24] Thomas, T.; Martin, A.; Lafage-Proust, M. H. (2011): Fisiología del tejido óseo, *EMC - Podología*, 13(2): 1-17.
- [25] Torres Fuentes, J. (2010): obtención y caracterización de hidroxiapatita porosa a partir de cáscara de huevo y tunicina. Tesis pregrado, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- [26] Cantero, K.; Gutiérrez, J.; Nuño, C.; Fuentes, M. T. (2016): Caracterización de hidroxiapatita a partir de materiales sintéticos con aplicaciones óseas., XII encuentro participación de la mujer en la ciencia, México.
- [27] Laurencin, D.; Barrios, N.; Leeuw, N.; Gervais, C.; Bonhomme, C.; Mauri, F.; Chrzanowski, W.; Knowles, J.; Newport, R.; Wong, A.; Gan, Z.; Smith, M. (2011): Magnesium incorporation into hydroxyapatite, *Biomaterials*, 32(7): 1826-1837

- 
- [28] Xu, Y.; An, L.; Chen, L.; Cao, L.; Zeng, D.; Wang, G. (2018): Facile Chemical Route to Synthesize Zn Doped Hydroxyapatite Nanorods for Protein Drug Delivery, *Materials Chemistry and Physics*, 214, 359-363
- [29] Kalita, S. J.; Bhatt, H. A. (2007): Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc, Synthesis and characterization, *Materials Science and Engineering*, 27(4): 837-848
- [30] Lopes, M. A.; Santos, J. D.; Monteiro, F. J.; Knowles, J. C. (1998): Glass-reinforced hydroxyapatite: a comprehensive study of the effect of glass composition on the crystallography of the composite. *Journal of Biomedical Materials Research*, 39(2): 244-251
- [31] Rodríguez Páez, J. E. (2001): Síntesis de polvos cerámicos por el método de precipitación, *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 40 (3): 173-184.
- [32] Díaz del Castillo, F. (2012): Introducción a los nanomateriales, Departamento de ingeniería, Laboratorio de tecnología de materiales, Facultad de estudios superiores Cuautitlán, UNAM, México, 54-55.
- [33] Munir, Z.A.; Holt, J.B. (1987): The combustion synthesis of refractory nitrides. *Journal of Materials Science Letters*, 22(2): 710-714.
- [34] Hwang, C.; Wu, T.Y.; Wan, J.; Tsai, J.S. (2004): Development of a novel combustion synthesis method for synthesizing of ceramic oxide powders. *Materials Science and Engineering*, 111(1): 49-56.
- [35] Manoharan S.; Patil, K. C. (1992): Combustion synthesis of metal chromite powders. *Journal of the American Ceramic Society*, 75(4): 1012-1015.
- [36] Callister, W. D. (2002): Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales cerámicos, Volumen 1, Editorial Reverté S.A, España.
- [37] Rahaman, M. N. (2007): *Ceramic processing*, 3ª edición, CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida, USA.
- [38] Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch S. R. (2008): *Principios de análisis instrumental*. Santa Fe, México, Cengage Learning Editores.
- [39] Young, R. J.; Novell, P. A. (1981): *Introduction to Polymers* Chapman & Hall. 2<sup>da</sup> Edición, Londres.

- 
- [40] Cullity, B. D. (1978): Elements of X-ray diffraction, Addison-Wesley publishing company, inc., 2<sup>nd</sup> edition, U.S.
- [41] Kittel, C. (2003): Introducción a la física del estado sólido, 3<sup>a</sup> edición, Editorial Reverté S. A., España.
- [42] Taraka, Y.; Venkateswara, Rao, K.; Sai Kumar, V. S.; Siva Kumari, B.; (2014): X-Ray Analysis by Williamson-Hall and Size-Strain Plot Methods of ZnO Nanoparticles with Fuel Variation, World Journal of Nano Science and Engineering, 4(1): 21-28.
- [43] Suryanarayana, C.; Norton, M.G. (1998): X-ray Diffraction: A Practical Approach, Part II Experimental Modules 6, New York: Plenum Press.
- [44] Bozzola, J.; Russell, L. (1999): Electron microscopy: principles and techniques for biologists, Jones and Bartlett Publishers Canada, Canada.
- [45] Márquez, A. (2005): Crecimiento y caracterización de películas delgadas ferroeléctricas de  $Ba_{1-x}Sr_xTiO_3$  por la técnica del Rf-sputtering, Instituto Politécnico Nacional, Altamira, Tamaulipas, México.
- [46] Gómez Botero, M. (2005): Caracterización de las propiedades tribológicas de los recubrimientos duros, tesis doctoral, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.
- [47] Núñez, D.; Elgueta, E.; Varaprasad, K.; Oyarzún, P. (2018): Hydroxyapatite nanocrystals synthesized from calcium rich bio-wastes; Materials Letters, 230, 64-68.
- [48] Shaltout, A.; Allam, M.; Moharram, M. (2011): FTIR spectroscopic, thermal and XRD characterization of hydroxyapatite from new natural sources, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 83(1): 56-60.
- [49] Rehman, I.; Bonfield, W. (1997): Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy, Journal of materials science: materials in medicine, 8(1): 1-4.
- [50] Koutsopoulos, S. (2002): Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods, Journal of Biomedical Materials Research, 62(4): 600-612.
- [51] Peña, J. (2003): Hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic materials prepared by a liquid mix technique, Journal of the European Ceramic Society, 23(10): 1687-1696.

- 
- [52] Omori, Y.; Okada, M.; Takeda, S.; Matsumoto, N. (2014): Fabrication of dispersible calcium phosphate nanocrystals via a modified Pechini method under non-stoichiometric conditions, *Materials Science and Engineering*, 42, 562-568
- [53] Meejoo, S.; Maneeprakorn, W.; Winotai, P. (2006): Phase and thermal stability of nanocrystalline hydroxyapatite prepared via microwave heating, *Thermochimica Acta* 447(1): 115-120.
- [54] Cacciotti, I.; Bianco, A.; Lombardi, M.; Montanaro, L. (2009): Mg-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sintering behaviour, *Journal of the European Ceramic Society*, 29(14): 2969-2978.
- [55] Bigi, A.; Foresti, E.; Gandolfi, M.; Gazzano, M.; Roveri, N. (1995): Inhibiting effect of zinc on hydroxylapatite crystallization, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 58(1): 49-58.
- [56] Evis, Z.; Webster, T. J. (2011): Nanosize hydroxyapatite: doping with various ions, *Advances in Applied Ceramics*, 110 (5): 311-321.
- [57] Lala, S.; Ghosh, M.; Das, P. K.; Das, D.; Kar, T.; Pradhan, S. K. (2016): Magnesium substitution in carbonated hydroxyapatite: Structural and microstructural characterization by Rietveld's refinement, *Materials Chemistry and Physics*, 170, 319-329.
- [58] Sergi, R.; Bellucci, D.; Candidato, R.; Lusvarghi, L.; Bolelli, G.; Pawlowski, L.; Candiani, G.; Altomare, L.; De Nardo, L.; Cannillo, V. (2018): Bioactive Zn-doped hydroxyapatite coatings and their antibacterial efficacy against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Surface & Coatings Technology*, 352, 84-91.
- [59] Ebrahimi, M.; Botelho, M. G.; Dorozhkin, S. V. (2017): Biphasic calcium phosphates bioceramics (HA/TCP): Concept, physicochemical properties and the impact of standardization of study protocols in biomaterials research, *Materials Science and Engineering*, 71, 1293-1312.
- [60] Simões, A. Z.; Cavalcante, L. S.; Moura, E.; Longo, J. A. Varela; (2011): *Journal. Alloys Compd*, 509(17): 5326-5335.
- [61] Kaygili, O.; Keser, S.; Bulut, N.; Ates, T. (2018): Characterization of Mg-containing hydroxyapatites synthesized by combustion method. *Physica B: Condensed Matter*, 537, 63-67.

- 
- [62] Sa, Y., Guo, Y.; Feng, X.; Wang, M.; Li, P.; Gao, Y.; Jiang, T. (2017): Are different crystallinity index calculating methods of hydroxyapatite efficient and consistent? *New Journal of Chemistry*, 41(13): 5723-5731.
- [63] Khorsand, A.; Abd. Majid, W. H; Abrishami, M. E; Yousefi, R. (2011): X-ray analysis of ZnO nanoparticles by Williamson–Hall and size–strain plot methods. *Solid State Sciences*, 13(1): 251-256.
- [64] Nakano, T.; Umakoshi, Y.; Tokumura, A. (2002): Variation in crystallinity of hydroxyapatite and the related calcium phosphates by mechanical grinding and subsequent heat treatment, *Metallurgical and Materials Transactions A*, 33(3): 521-528.
- [65] Irfan, H.; Racik, K; Anand, S. (2018): Microstructural evaluation of CoAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles by Williamson–Hall and size–strain plot methods. *Journal of Asian Ceramic Societies*, 6(1): 54-62.
- [66] Venkateswarlu, K.; Sandhyarani, M.; Nellaippan, T. A.; Rameshbabu, N. (2014): Estimation of Crystallite Size, Lattice Strain and Dislocation Density of Nanocrystalline Carbonate Substituted Hydroxyapatite by X-ray Peak Variance Analysis, *Procedia Materials Science*, 5, 212-221
- [67] Senthilkumar, V.; Vickraman, P.; Jayachandran, M. (2010): Structural and electrical studies of nano structured Sn<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>O<sub>2</sub> (x = 0.0, 1, 2.5, 4.5 and 7 at%) prepared by co-precipitation method. *Journal of Materials Science*, 21(4): 343-348.
- [68] Venkateswarlu, K.; Chandra Bose, A.; Rameshbabu, N. (2010): X-ray peak broadening studies of nanocrystalline hydroxyapatite by Williamson-Hall analysis. *Physica B: Condensed Matter*, 405(20): 4256-4261.
- [69] Mansour, S. F.; El-dek, S. I.; Ahmed, M. K. (2017): Physico-mechanical and morphological features of zirconia substituted hydroxyapatite nano crystals. *Scientific Reports*, 7(1).
- [70] Raleaooa, P. V.; Roodt, A.; Mhlongo, G.; Motaung, D. E.; Ntwaeaborwa, O. M. (2018): Analysis of the structure, particle morphology and photoluminescent properties of ZnS:Mn<sup>2+</sup> nanoparticulate phosphors, *Optik-International Journal for Light and Electron Optics*, 153, 31-42

- 
- [71] Bogya, E.; Cziko, M.; Barabás, R.; Csavdari, A. (2013): Influence of synthesis method of nano-hydroxyapatite-based materials on cadmium sorption processes, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 11(1): 53-68.
- [72] Chen, L. J.; Chen, T.; Cao, J.; Liu B. L.; Shao, C. S.; Zhou, K. C.; Zhang, D. (2018): Effect of Tb/Mg doping on composition and physical properties of hydroxyapatite nanoparticles for gene vector application, *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 28(1): 125-136.
- [73] Xia, M.; Yao, Z.; Ge, L.; Chen, T.; Li, H. (2014): A potential bio-filler: The substitution effect of furfural modified clam shell for carbonate calcium in polypropylene, *Journal of Composite Materials*, 49(7): 807-816.
- [74] Galván, M.; Hernández J.; Baños L.; Noriega, J.; Rodríguez, M. E. (2009): Characterization of Calcium Carbonate, Calcium Oxide, and Calcium Hydroxide as Starting Point to the Improvement of Lime for Their Use in Construction, *Journal of Materials in Civil Engineering*, 21(11): 625-708.
- [75] Núñez, D.; Elgueta, E.; Varaprasad, K.; Oyarzún, P. (2018): Hydroxyapatite nanocrystals synthesized from calcium rich bio-wastes; *Materials Letters*, 230, 64-68.
- [76] Shaltout, A.; Allam, M.; Moharram, M. (2011): FTIR spectroscopic, thermal and XRD characterization of hydroxyapatite from new natural sources, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 83(1): 56-60.
- [77] Rehman, I.; Bonfield, W. (1997): Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy, *Journal of materials science: materials in medicine*, 8(1): 1-4.
- [78] Koutsopoulos, S. (2002): Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods, *Journal of Biomedical Materials Research*, 62(4): 600-612.
- [79] Vélez, J.; Cardona, N.; Gómez, J.; López, E. (2014): Síntesis de hidroxiapatita por combustión a partir del carbonato de calcio obtenido de cascaras de huevo de gallina, *Revista Colombiana de Materiales*, 5, 97-102.
- [80] Kaygili, O.; Keser, S.; Bulut, N.; Ates, T. (2018): Characterization of Mg-containing hydroxyapatites synthesized by combustion method. *Physica B: Condensed Matter*, 537, 63-67.

- 
- [81] Khorsand, A.; Abd. Majid, W. H.; Abrishami, M. E.; Yousefi, R. (2011): X-ray analysis of ZnO nanoparticles by Williamson–Hall and size–strain plot methods. *Solid State Sciences*, 13(1): 251-256.
- [82] Nakano, T.; Umakoshi, Y.; Tokumura, A. (2002): Variation in crystallinity of hydroxyapatite and the related calcium phosphates by mechanical grinding and subsequent heat treatment, *Metallurgical and Materials Transactions A*, 33(3): 521-528.
- [83] Irfan, H.; Racik, K.; Anand, S. (2018): Microstructural evaluation of CoAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles by Williamson–Hall and size–strain plot methods. *Journal of Asian Ceramic Societies*, 6(1): 54-62.
- [84] Venkateswarlu, K.; Sandhyarani, M.; Nellaippan, T. A.; Rameshbabu, N. (2014): Estimation of Crystallite Size, Lattice Strain and Dislocation Density of Nanocrystalline Carbonate Substituted Hydroxyapatite by X-ray Peak Variance Analysis, *Procedia Materials Science*, 5, 212-221
- [85] Alobeedallah, H.; Ellis, J.; Rohanizadeh, R.; Leonard, H. (2011): Preparation of Nanostructured Hydroxyapatite in Organic Solvents for Clinical Applications, *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 25(1): 12-19.
- [86] Bilton, M.; Milne, S. J.; Brown, A. P. (2012): Comparison of Hydrothermal and Sol-Gel Synthesis of Nano-Particulate Hydroxyapatite by Characterisation at the Bulk and Particle Level, *Open Journal of Inorganic Non-Metallic Materials*, 2(1): 1-10.
- [87] Gandou, Z.; Nounah, A.; Belhorma, B.; Yahyaoui, A. (2015): Nanosized Calcium-Deficient Carbonated Hydroxyapatite synthesized by microwave activation, *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(4): 983-988
- [88] Pal, A.; Nasker, P.; Paul, S.; Choudhury, A. R.; Sinha, A.; Das, M. (2018): Strontium doped hydroxyapatite from Mercenaria clam shells: Synthesis, mechanical and bioactivity study, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 90, 328-336.
- [89] Meille, S.; Lombardi, M.; Montanaro, L. (2012): Mechanical properties of porous ceramics in compression: On the transition between elastic, brittle, and cellular behavior, *Journal of the European Ceramic Society*, 32(15): 3959-3967.
- [90] Viswanath, B.; Raghavan, R.; Ramamurty, U.; Ravishankar, N. (2007): Mechanical properties and anisotropy in hydroxyapatite single crystals, *Scripta Materialia*, 57(4): 361-364.

---

[91] Petit, T.; Ritter, C.; Besson, J.; Morgeneyer, T. F. (2018): Impact of machine stiffness on “pop-in” crack propagation instabilities, *Engineering Fracture Mechanics*, 202, 405-422.

[92] Fornell, J.; Feng, Y. P.; Pellicer, E.; Suriñach, S.; Baró, M. D.; Sort, J. (2017): Mechanical behaviour of brushite and hydroxyapatite coatings electrodeposited on newly developed FeMnSiPd alloys, *Journal of Alloys and Compounds*, 729, 231-239.

[93] Neira I. S.; Kolen'ko Y.V.; Lebedev O. I., Tendeloo G. V.; Gupta H. S.; Matsushita N.; Yoshimura M.; Guitián F. (2009): Rational synthesis of a nanocrystalline calcium phosphate cement exhibiting rapid conversion to Hydroxyapatite, *Materials Science and Engineering C* 29, 2124–2132.

.