

## CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y CERÁMICA DE HIDROXIAPATITAS PRODUCIDAS POR DISTINTOS MÉTODOS DE SÍNTESIS: Parte II: EFECTOS DEL TRATAMIENTO TÉRMICO

ANGELINA VILLANI<sup>1</sup>, ARNALDO MILLÁN<sup>1</sup>, GEMA GONZÁLEZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Universitario de Tecnología Dr. Federico Rivero Palacio, e-mail: villaponte@gmail.com

<sup>2</sup> Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Carretera Laboratorio de Ciencia e Ingeniería de Materiales, e-mail: gemagonz@ivic.ve

Recibido: junio 2014

Recibido en forma final revisado: diciembre 2014

### RESUMEN

La hidroxiapatita (HA) sintética es un fosfato de calcio con fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , semejante al componente mineral del tejido óseo de los vertebrados, la cual se ha venido utilizando como reemplazo de secciones de hueso, relleno de cavidades en odontología, recubrimiento de superficies de metales para implantes, refuerzo de materiales compuestos y como liberador de medicamentos. En esta investigación se procedió al tratamiento térmico a 1350°C y posterior caracterización de tres muestras de HA, una no comercial sintetizada por precipitación en fase acuosa (HA1) constituida por partículas nanométricas y dos productos comerciales, sintetizados por el método hidrotérmico (HA2) y por atomización a alta temperatura (HA3), respectivamente. La caracterización de las muestras se realizó mediante la determinación de la densidad y la superficie específica, contracción, FTIR, DRX y MEB. De los resultados obtenidos se evidencia que, con el tratamiento térmico aplicado, en el caso de la HA1, se logra un incremento de la densidad, disminución de la superficie específica, eliminación de agua e iones carbonato adsorbidos, mayor definición cristalina y superficie con porosidad y rugosidad, obteniéndose una HA con características semejantes a los productos comerciales HA2 y HA3, las cuales no sufren modificaciones significativas con el tratamiento térmico.

*Palabras Claves:* Hidroxiapatita, biomateriales, tratamiento térmico, caracterización.

### PHYSICO-CHEMICAL AND CERAMIC CHARACTERIZATION OF HYDROXYAPATITE OBTAINED BY DIFFERENT SYNTHESIS METHODS: Part II.- EFFECTS OF THERMIC TREATMENT

#### ABSTRACT

Synthetic hydroxyapatite (HA) is a calcium phosphate with  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  formula, similar to the mineral component of vertebrates bones tissues which has been used as a replacement of bone sections, filling cavities in dentistry, metal surface coating for implants, composite reinforcement and drug-eluting. In this research, three HA samples were submitted at 1350 °C heat treatment and then to a chemical, physical and ceramic characterization. Those samples were a non-commercial one synthesized by aqueous precipitation method (HA1), and two commercial products, synthesized by hydrothermal method (HA2) and spray pyrolysis (HA3), respectively. Samples characterization was performed by density measurements, specific surface, shrinkage percentage, FTIR spectrometry, X-ray diffraction (DRX) and scanning electron microscope (SEM). Results showed that after thermic treatment, HA1 increases its density, decreases its specific surface, eliminates adsorbed water and carbonate ions, and increases its crystallinity and has porous morphology as well as rougher surface similar to commercial products HA2 and HA3 which do not undergo significant changes with heat treatment.

*Keywords:* Hydroxyapatite, biomaterials, thermic treatment, characterization.

#### INTRODUCCIÓN

Los biomateriales cerámicos o biocerámicos son aquellos materiales de ingeniería que se utilizan para aplicaciones

médicas, odontológicas, veterinarias o farmacéuticas a fin de reparar, reconstruir o reemplazar un tejido u órgano enfermo o dañado del cuerpo. Al ser implantados entran en contacto íntimo con sistemas biológicos debiendo presentar

un específico comportamiento biológico y fisiológico (Williams, 1987; Hench, 1998).

La hidroxiapatita (HA) sintética es un fosfato de calcio, con fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , y relación molar (10:6) Ca/P = 1,67, semejante al componente mineral del tejido óseo de los vertebrados. Es una cerámica dura, refractaria, con punto de fusión mayor a 1500°C, insoluble, con una densidad de 3,16 g/cm<sup>3</sup>, y sus propiedades mecánicas varían de acuerdo con el proceso de manufactura (Londoño *et al.*, 2006). El hueso humano está formado por este mineral en un 65% de su masa total, siendo el resto materia orgánica (mayoritariamente colágeno) y agua. Los cristales de HA que constituyen el hueso humano son de tamaño nanométrico con una longitud media de 50 nm, un ancho de 25 nm y espesor de 2-5 nm, dispersos en la matriz orgánica; además, contienen entre 4 y 8% de carbonato en su estructura (Vallet, 2008), y son deficientes en calcio (De Aza *et al.*, 2005).

La HA, por ser una cerámica bioactiva, posee propiedades de osteoconductividad, lo cual le permite proporcionar un andamiaje que facilita el crecimiento de capilares, tejido perivascular y células desde el hueso y tejidos blandos circundantes hacia el interior del injerto, desarrollando una reacción *in vivo* con el hueso y produciendo una excelente osteointegración. La HA se relaciona con el hueso circundante de una manera estrecha y estable tanto química como físicamente, permitiendo así que los procesos de reparación se desarrollen como si se tratara de dos tejidos óseos en estrecho contacto (Anyers *et al.*, 1998; Cornell *et al.*, 1992; Mink *et al.*, 1996; en Rivera *et al.*, 2004).

La HA se puede utilizar como reemplazo de secciones pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología, recubrimiento de superficies de metales para implantes (Barral *et al.* 2002), refuerzo de materiales compuestos y como liberador de medicamentos, entre otros. Para una aplicación determinada se requieren diferentes características de la HA, como puede ser su capacidad de reabsorción o bioactividad (Ratner *et al.*, 1996, en Londoño *et al.*, 2006), además de alta superficie específica, pequeño tamaño de partículas, con poca aglomeración de las mismas, y el mejoramiento de sus propiedades a través de la sinterización (Kothapalli *et al.*, 2004; en Monmaturapoj *et al.*, 2010).

En la actualidad se comercializan prótesis recubiertas con hidroxiapatita; esto permite que el organismo las reconozca como propias, creciendo el hueso en contacto con la prótesis, evitando la formación de cápsula fibrosa (Fumero *et al.*, 2011). La hidroxiapatita puede combinarse con

biopolímeros, capaces de microencapsular medicamentos, pudiendo convertir el compuesto en una fuente localizada de suministro controlado del mismo (Fernandez *et al.* 2013). Para la HA al igual que cualquier materia prima cerámica es de gran importancia el conocimiento de sus características iniciales lo que en principio contribuye a predecir su desempeño en las condiciones de trabajo, y una vez evaluadas dichas características, la materia prima puede requerir la aplicación de diversos tratamientos a fin de mejorar su estructura y propiedades.

Stea *et al.* (en Prokopiev y Sevostianov, 2006) indicaron que la HA sinterizada forma fuertes uniones con el tejido óseo. De acuerdo a lo planteado por Nasser (2005), entender el comportamiento de sinterización de la HA es importante, ya que esto permitiría el control del crecimiento de grano, de la microestructura y de las propiedades mecánicas durante su producción. Según lo indica Champion (2012), durante la sinterización parece haber una competencia entre dos fenómenos térmicos que proceden por difusión de materia en estado sólido: densificación y crecimiento de grano de los cuales usualmente se requiere promover la primera y prevenir el segundo.

Es así como en el presente trabajo se ha planteado como objetivo evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre muestras de HA mediante la caracterización fisico-química y estructural, que junto al control de variables de procedimiento y conformado permita explorar la posibilidad de predecir las propiedades finales del material.

Según lo planteado por Willmann (1996) sobre la HA de grado médico y Villora *et al.* (2002), la sinterización de la HA no debe hacerse a temperaturas superiores a 1350°C, ya que cerca de 1450°C puede iniciarse la transformación de parte de la HA en fosfato tricálcico y su descomposición ocurriría hacia 1650°C; Tampieri *et al.* (1997) indicaron que generalmente la temperatura de sinterización de polvos de HA está comprendida entre 1150°C y 1350°C, dependiendo de la manufactura inicial del polvo; además la temperatura mínima se define por la cantidad de porosidad residual en la superficie de granos y la máxima por el proceso de degradación. Estos últimos autores analizaron la contracción de una HA comercial en función de la temperatura, determinando que esta procede en dos etapas: la primera debida a la eliminación de agua; la segunda, empezando a 950°C, representa el periodo de sinterización, para el cual determinaron como el mejor rango de densificación el intervalo de temperatura entre 1000°C y 1300°C. Al estudiar el comportamiento de densificación en función del tiempo bajo condiciones isotérmicas a diferentes temperaturas, encontraron que la temperatura

de sinterización óptima corresponde a un intervalo entre 1200°C y 1300°C, en el cual se alcanza una completa densificación, además señalan que a 1450°C comienza la descomposición de la HA y la posterior fusión de algunos productos de la descomposición.

Adicionalmente a lo señalado por estos autores, en cerámica se tiene un principio: a mayor temperatura de sinterización se logra una mayor densificación y en consecuencia mayor resistencia mecánica, aunque existen las particularidades sobre estos fenómenos.

## METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se analizaron tres muestras en polvo de HA obtenidas por métodos diferentes: la primera (HA1) sintetizada por precipitación en fase acuosa, siguiendo la metodología descrita por Villani *et al.* (2012); de las otras dos muestras comerciales, una sintetizada por el método hidrotérmico (HA2) a partir de coral marino como materia prima, marca Coralina® HAP-200, y la otra por atomización a alta temperatura (HA3) marca Teknimed. Una vez caracterizadas las muestras HA1, HA2 y HA3, y analizados los resultados obtenidos en trabajo previo (Villani *et al.*, 2012) para el caso de la presente investigación, muestras de estos materiales fueron sometidas a tratamiento térmico con la finalidad de observar el efecto del mismo sobre sus características.

De acuerdo a los resultados de la caracterización del polvo inicial de las tres muestras estudiadas, la HA1 es una HA estequiométrica, con relación molar Ca/P de 1,67, presenta baja densidad (2,69 g/cm<sup>3</sup>) en comparación con el valor referencial (3,16 g/cm<sup>3</sup>), baja cristalinidad, alta superficie específica (83 m<sup>2</sup>/g) y morfología de partículas alargadas y aciculares de diferentes tamaños, siendo todas de dimensiones nanométricas (Villani *et al.*, 2012).

Los productos comerciales (HA2 y HA3) presentan densidades comparables con el valor referencial, tamaños de partículas micrométrico, menos superficie específica que la HA1, presencia de iones carbonato (solo en la estructura de la HA2), alta cristalinidad, porosidad y rugosidad superficial (Villani *et al.*, 2012).

Debido a las características de las HA objeto de esta investigación, se decidió someterlas a tratamiento térmico, a fin de observar sus posibles cambios en densidad, superficie específica, tamaño de partícula, estructura y morfología.

Considerando los resultados de la caracterización de las tres muestras analizadas y esperando obtener una buena

densificación de la HA1 y a la vez mejorar su cristalinidad, se seleccionó la temperatura de 1350°C para el tratamiento térmico, siendo esta la temperatura del límite superior que indican Willmann (1996) y Tampieri *et al.*, (1997), y mantenida por 30 minutos para prevenir una posible descomposición de las mismas.

Este procedimiento se llevó a cabo en un Horno Thermolyne Modelo 46200, con un ciclo de calentamiento de 11,5°C/min para llegar a 1350°C en 2 horas, se mantuvo la temperatura señalada durante 30 min y luego se dejó enfriar dentro del horno hasta temperatura ambiente.

Los materiales tratados térmicamente fueron identificados como HA1T, HA2T y HA3T, a los cuales se les determinó densidad por picnometría, superficie específica BET (Micromeritics, modelo ASAP 2010), contracción, y fueron sometidos a ensayos de espectrometría de absorción en el infrarrojo FTIR (Perkin Elmer Spectrum One), difracción de rayos X DRX (Difractómetro Phillips, modelo PW 1840) y microscopía electrónica de barrido MEB, (Microscopio electrónico de barrido Phillips, modelo XL30).

Para determinar la contracción debida al tratamiento térmico, se prepararon tres pastillas de 25,4 mm de diámetro por cada muestra (HA1, HA2 y HA3), con 1% en peso respecto al peso seco de agarosa como aglomerante, agregada a partir de una disolución al 3,5% preparada previamente y mezclada con el polvo de HA, calentado a 60°C para evitar la gelificación y aglomeración. Las pastillas fueron conformadas por prensado a una presión de 3 Psi, sin mantenimiento a la presión, pero con una etapa de desaireación. Todas las pastillas se dejaron secar por 72 horas en condiciones ambientales y luego sometidas al tratamiento térmico según el siguiente ciclo de calentamiento: 25°C a 480°C a 2°C/min; 480°C a 5°C/min hasta alcanzar la temperatura de 1350°C, manteniendo esta temperatura durante 30 minutos y permitiendo luego el enfriamiento dentro del horno hasta temperatura ambiente. Se midió el diámetro final de cada pastilla y se calculó el porcentaje de contracción para HA1T, HA2T y HA3T.

Una vez determinada la contracción, se cortó una sección de cada material para ser preparados y evaluados por microscopía electrónica de barrido, MEB (Microscopio Electrónico de Barrido Phenom, FEI company).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Densidad

En la tabla 1 se presentan los valores de densidad obtenidos

para las muestras sin tratar y tratadas térmicamente, además de la densidad relativa y el incremento en valores de  $\rho$ .

**Tabla 1.** Valores de densidad ( $\rho$ ), densidad relativa respecto al valor referencial y porcentaje de densidad alcanzado de las muestras sin tratamiento térmico y después de tratadas a 1350°C durante 30 minutos

Muestra	Densidad ( $\rho$ ) g/cm <sup>3</sup>	% Densidad relativa respecto a $\rho_t$ (*)	% $\rho$ alcanzado
HA1	2,69 ± 0,03 (**)	85,1% (**)	-----
HA2	3,11 ± 0,08 (**)	98,4% (**)	-----
HA3	3,16 ± 0,07 (**)	100% (**)	-----
HA1T	3,08 ± 0,03	99%	+15%
HA2T	2,69 ± 0,08	85%	-14%
HA3T	3,14 ± 0,05	99%	0%

(\*) Densidad referencial de la HA ( $\rho_t$ )= 3,16 g/cm<sup>3</sup>  
 (\*\*) Villani *et al.*, 2012

En los resultados expresados en la tabla 1 se puede observar que las muestras HA1T y HA3T presentaron densidades muy próximas al valor referencial de 3,16 g/cm<sup>3</sup>, mientras que la densidad de la HA2T fue de 85% respecto a este valor. Se evidencia una variación en los valores de densidad entre las muestras con tratamiento térmico y las mismas muestras sin tratamiento térmico (HA1, HA2 y HA3); se aprecia que la densidad de la muestra HA1, después del tratamiento térmico, se incrementó hasta 3,08 g/cm<sup>3</sup> (99% respecto al valor referencial), lográndose un incremento de 15% en la densidad de esta muestra, hecho que podría ser atribuido a la coalescencia de las partículas y a la eliminación de porosidad intragranular en este material.

En el caso de la HA2 (“HAcoralina”) ocurrió una disminución de 14% en su densidad inicial llegando a 2,69 g/cm<sup>3</sup> (85% respecto al valor referencial). Este comportamiento sugiere que en el material ocurre un proceso de pérdida de masa, con generación de porosidad cerrada, probablemente debida a la salida del carbonato (Villani *et al.*, 2012). Una vez realizado el tratamiento térmico, los granos adquieren cierta porosidad provocando la disminución de la densidad. Este cambio es de gran interés, ya que el grado y tipo de porosidad, así como el tamaño de poros generados con el tratamiento térmico, es una característica fundamental para lograr la osteoconducción una vez aplicado el material de

implante (Jintao y Jiemo, 2001).

En el caso de la HA3 no se produjeron cambios significativos en su densidad luego de ser tratada térmicamente, lo que era de esperarse, ya que este material fue sintetizado a alta temperatura. Por tanto, este resultado permite corroborar que con esta técnica de síntesis se logra obtener un material muy estable (Villani *et al.*, 2012).

### Superficie específica

En la tabla 2 se presentan los valores de superficie específica para las muestras sin tratar y tratadas a 1350°C, así como la variación de la superficie específica de cada muestra.

**Tabla 2.** Valores de superficie específica de las muestras sin tratamiento térmico y después de tratadas térmicamente a 1350°C durante 30 min, así como variación de la superficie específica.

Muestra	Superficie Específica m <sup>2</sup> /g (*)	Muestra	Superficie Específica m <sup>2</sup> /g	% de dism. de la Sup. Esp.
HA1	83,0 ± 0,6	HA1T	2,3 ± 0,2	97%
HA2	5,4 ± 0,1	HA2T	2,6 ± 0,2	52%
HA3	3,4 ± 0,1	HA3T	1,65 ± 0,08	51%

(\*)Villani *et al.*, 2012

Los resultados presentados en la tabla 2 evidencian valores de superficies específicas semejantes para las muestras HA1T y HA2T, pero distinta para la HA3T; al comparar estos resultados con los correspondientes a las muestras HA1, HA2 y HA3, se puede apreciar que en la HA1, al ser tratada térmicamente, se produce una notable disminución de la superficie específica, pasando de 83 m<sup>2</sup>/g a 2,3 m<sup>2</sup>/g. Es evidente entonces que después de someter dicha muestra a 1350°C durante 30 minutos, el material se densifica y se reduce la superficie específica, lo que sugiere un crecimiento en el tamaño de grano para la HA1.

Adicionalmente, se puede observar que después del tratamiento térmico, la superficie específica de la HA2 y la HA3 disminuyeron respecto a su valor inicial; en el caso de la primera, de 5,4 m<sup>2</sup>/g a 2,6 m<sup>2</sup>/g, mientras que para la segunda de 3,4 m<sup>2</sup>/g a 1,65 m<sup>2</sup>/g, lo cual es muy significativo y representa una disminución del orden del 50%. Mientras que en el caso de la HA1 se produjo una disminución de la superficie específica de 97% (HA1T); esto indica que en la HA1 se produjo una fuerte interacción entre partículas

que induce a su coalescencia y crecimiento con desarrollo de porosidad cerrada, ocurriendo posiblemente el mismo fenómeno para las otras dos muestras, pero en menor intensidad, valores que se corresponden con los de densidad.

### Contracción

En la tabla 3 se presentan los valores de contracción de las muestras HA1, HA2 y HA3 después del tratamiento térmico, calculados respecto al diámetro inicial de las muestras prensadas.

**Tabla 3.** Valores de contracción (en porcentaje) para las muestras HA1, HA2 y HA3 después del tratamiento térmico a 1350°C durante 30 min.

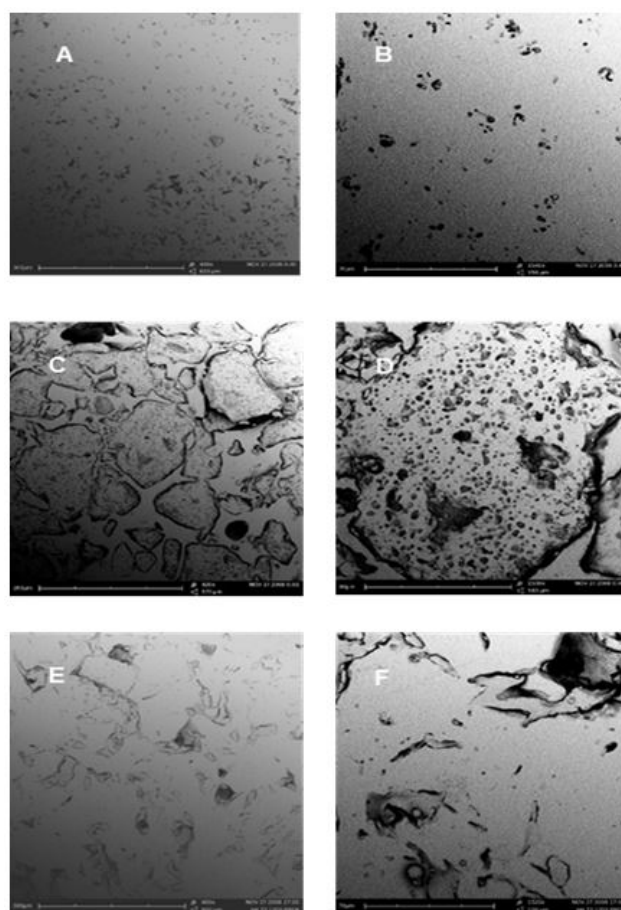
Muestra	% de contracción
HA1T	27,3 ± 0,1
HA2T	0,0
HA3T	18,7 ± 0,1

Al comparar los valores de contracción de las muestras estudiadas se puede observar que la HA1T y la HA3T se contrajeron en 27,3% y 18,7% respectivamente, mientras que la HA2T no experimentó contracción.

En la figura 1 se presentan micrografías de las pastillas de HA1T, HA2T y HA3T que previamente fueron conformadas por prensado con 1% de agarosa como aglomerante, y posteriormente sometidas a tratamiento térmico a 1350°C durante 30 minutos.

En el caso de la HA1, después del tratamiento térmico aplicado, se produce una marcada densificación, así como una disminución considerable de su superficie específica, lo que hace suponer un importante crecimiento de grano, y que en consecuencia haya tenido la mayor contracción en comparación con las otras muestras estudiadas. Es de destacar, que la HA1 fue sintetizada por precipitación en fase acuosa a temperatura ambiente, por lo que al ser sometida a alta temperatura experimental, de una vez, todos los fenómenos típicos que ocurren durante la sinterización de materiales cerámicos. Al observar las micrografías de esta muestra (figuras 1: A y B) se observa una estructura compacta y con poca porosidad, evidencia de un alto grado de contracción debido a los cambios anteriormente descritos.

Adicionalmente, en cuanto a los valores de densidad y



**Figura 1.** Micrografías por MEB de las pastillas conformadas con 1% de agarosa y las muestras: A) HA1T (400X), B) HA1T (1500X), C) HA2T (400X), D) HA2T (1500X), E) HA3T (400X), F) HA3T (1500X), todas tratadas a 1350°C durante 30 minutos

superficie específica de la HA2 después del tratamiento térmico aplicado, reflejados en las tablas 1 y 2, se observa una disminución de 14% en su densidad y de un 52% en su superficie específica; esto hace pensar en la pérdida de masa que se observa en el termograma de esta muestra (Villani *et al.*, 2012) y en la generación de porosidad, producidas por la salida de carbonato, cuya presencia se observa en el espectro FTIR de este material, fenómenos que se producen durante el tratamiento térmico de las pastillas de HA2, pero que no provocan variación en las dimensiones de las mismas, lo cual coincide con el aspecto de las muestras que se observa en las micrografías de esta muestra en la figura 1 (C y D).

En el caso de la HA3, material que fue sintetizado a alta temperatura, al ser sometido a 1350°C durante 30 minutos, probablemente se generó una mínima porción de fase líquida en la superficie de los granos, la cual desaparece con el enfriamiento, pero provocando la aproximación de

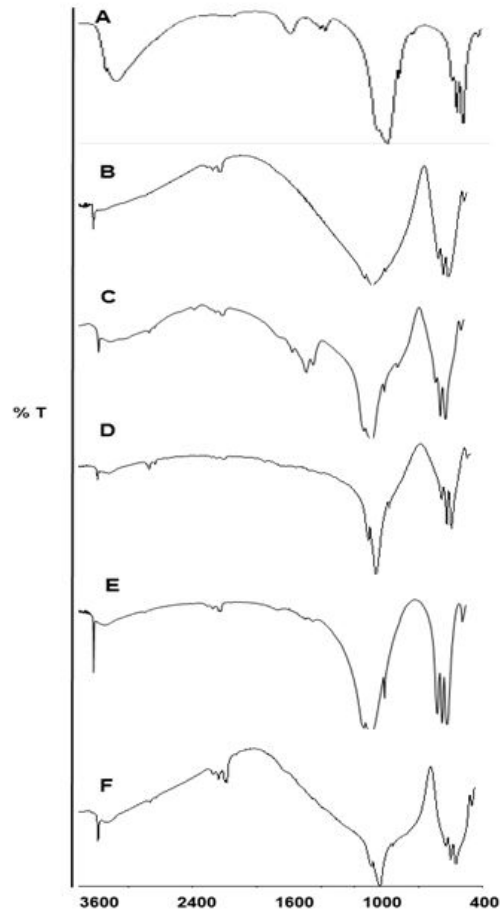
dichos granos, conduciendo finalmente a la contracción del material, quedando una estructura más compacta, y con poca porosidad, tal como se observa en las micrografías de esta muestra en la Figura 1 (E y F).

### Espectrometría de absorción en el infrarrojo (FTIR)

En la figura 2 se presentan los espectros FTIR de las muestras de HA antes y después de tratadas térmicamente a 1350°C.

En los espectros de las muestras sin tratar y tratadas térmicamente (HA1T, HA2T y HA3T), se observan algunas semejanzas tales como la presencia de bandas características de los grupos funcionales que forman una hidroxiapatita típica: una banda estrecha y corta a 3566  $\text{cm}^{-1}$  atribuible al estiramiento del enlace O-H en grupos hidroxilo; tres bandas en la región entre 1000  $\text{cm}^{-1}$  y 1100  $\text{cm}^{-1}$ , atribuible al estiramiento del enlace P-O en grupos fosfato; 3 bandas en la región entre 500  $\text{cm}^{-1}$  y 570  $\text{cm}^{-1}$  debidas a la flexión del enlace P-O en grupos fosfato; bandas de vibración combinadas poco intensas, del estiramiento del enlace O-H a 2924  $\text{cm}^{-1}$  y 2845  $\text{cm}^{-1}$  y varias bandas poco intensas alrededor de 2070  $\text{cm}^{-1}$ , debidas a vibraciones combinadas del enlace P-O en grupos fosfato (Baddiel y Berry, 1996; Koutsopoulos, 2002); no obstante, en el caso de las muestras tratadas térmicamente (HA1T, HA2T, HA3T), también se advierte un marcado ensanchamiento de las bandas entre 800 y 1100  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a vibraciones del enlace P-O en grupos fosfato. El ensanchamiento en las bandas señaladas pudo producirse por la aparición de nuevas bandas muy cercanas que se obtendrían por vibraciones debidas a modificaciones en algunos enlaces por efecto del tratamiento térmico, las cuales no se distinguen separadamente en los espectros; este fenómeno no puede ser aclarado con los espectros que se obtuvieron; para ello se requieren estudios de FTIR a diferentes temperaturas próximas a 1350°C.

Al comparar la asignación de las bandas de las muestras bajo estudio, en el espectro de la HA1T se percibe la ausencia de bandas, atribuibles a cambio en el ángulo de enlace flexión en agua adsorbida (1639  $\text{cm}^{-1}$ ) y a flexión de enlaces característico de iones carbonato (1454  $\text{cm}^{-1}$ , 1418  $\text{cm}^{-1}$ ); así mismo, en el espectro de la HA2T se observa la ausencia de las bandas asignadas a iones carbonato. Considerando que el tratamiento térmico fue a 1350°C, es posible inferir que a esa temperatura ya haya ocurrido la salida completa de estas sustancias, bien sea la adsorbida en la superficie de las muestras iniciales o la de tipo estructural, hecho que queda justificado en estos espectros FTIR.



**Figura 2.** Espectros FTIR de las muestras: A) HA1, B) HA1T, C) HA2, D) HA2T, E) HA3, F) HA3T

En el caso de la HA3, no se observa cambio en las bandas presentes en los espectros obtenidos antes y después del tratamiento térmico, aunque sí es notable el ensanchamiento debido a la vibración del enlace P-O de los grupos fosfatos; como ya se ha explicado, el procedimiento de síntesis a alta temperatura permite la configuración de una estructura estable y con menor grado de impurezas.

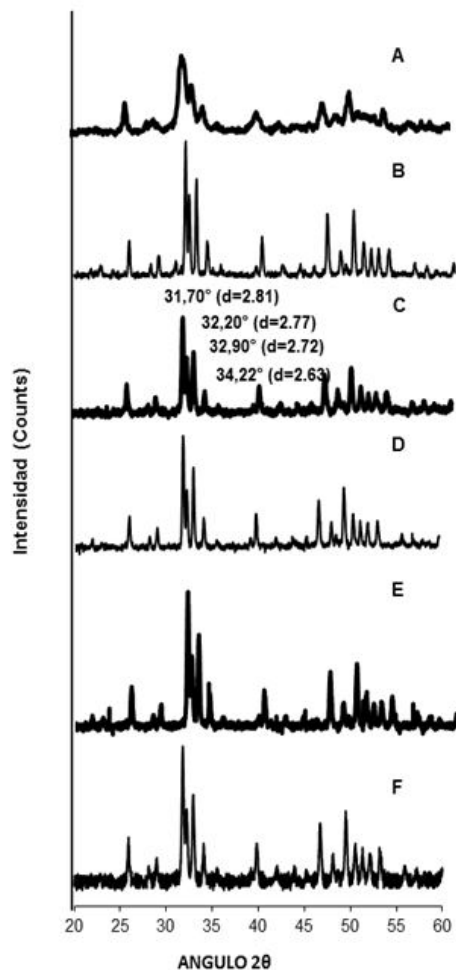
### Difracción de rayos X (DRX)

En la figura 3 se presentan los difractogramas de las muestras sin tratar y tratadas térmicamente a 1350°C y las muestras en estado de entrega.

En estos se puede observar la presencia de picos característicos de hidroxiapatita, el pico principal y con la mayor intensidad de la HA se encuentra a  $2\theta = 31,70^\circ$ , correspondiente al plano (211), acompañado por tres picos cercanos; el de  $2\theta = 32,20^\circ$ , correspondiente al plano (112), de menor intensidad del anterior; el de  $2\theta = 32,90^\circ$ , correspondiente al plano (300) de casi igual intensidad

al anterior y un pico a  $2\theta = 34,22^\circ$ , más pequeño que los tres anteriores, correspondiente al plano (202). Esta serie de cuatro picos, con sus intensidades relativas, son característicos de la hidroxiapatita, al igual que los picos de menor intensidad que también están presentes (según ficha técnica ICCD-JCDPS # 9-0432); sin embargo al comparar los difractogramas correspondientes antes y después del tratamiento térmico, se aprecia que después del tratamiento térmico a  $1350^\circ\text{C}$  se produjo un reordenamiento estructural de la HA1 sintetizada, obteniéndose un difractograma con picos agudos y bien definidos, lo que sugiere la presencia de una sustancia con alta cristalinidad, tal como en el caso de la HA2 y la HA3, aun antes del tratamiento térmico. Esto permite afirmar que mediante un tratamiento térmico es posible mejorar la cristalinidad de la HA1.

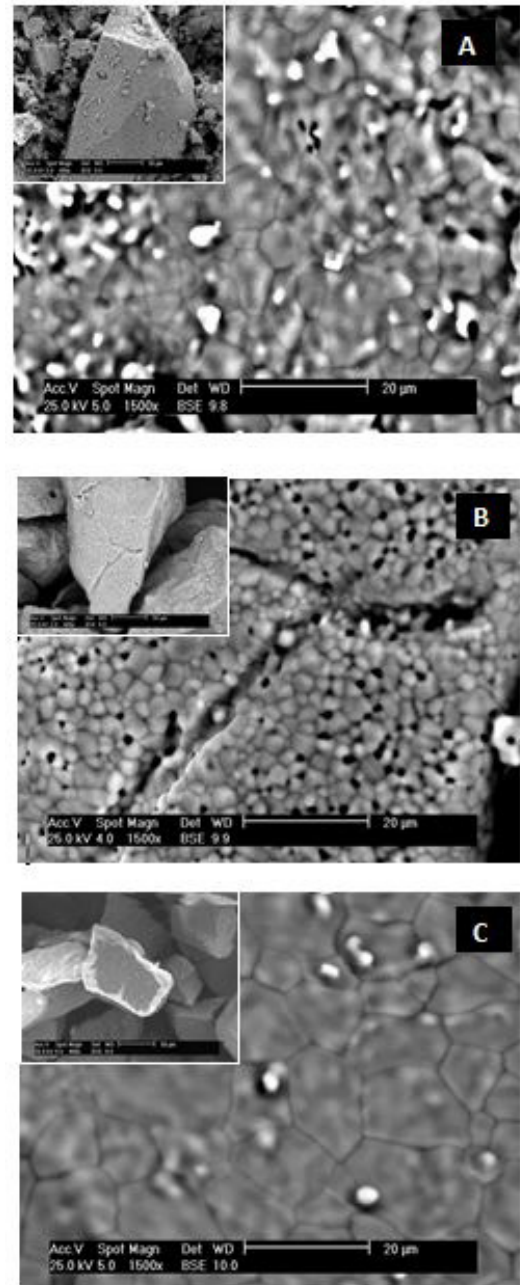
Para las muestras HA2 y HA3 no se apreciaron cambios en sus difractogramas antes y después del tratamiento térmico, probablemente debido a la estabilidad estructural que presentan estos dos materiales.



**Figura 3.** Difractogramas de las muestras:  
A) HA1, B) HA1T, C) HA2, D) HA2T,  
E) HA3, F) HA3T

### Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las micrografías de las muestras HA1T, HA2T y HA3T se presentan en la figura 4. En estas micrografías, se observa que, después del tratamiento térmico a  $1350^\circ\text{C}$  durante 30 minutos, los tres materiales presentaron granos de forma equiaxial, con diferentes grados de porosidad y rugosidad, siendo significativo el tamaño de partículas de  $20\ \mu\text{m}$  alcanzado para la HA1.



**Figura 4.** Micrografías por MEB de las muestras:  
A) HA1T (200X y 1500X), B) HA2T (200X y 1500X),  
C) HA3T (200X y 1500X)

El análisis de la HA1T (Figura 4A) permite apreciar irregularidades superficiales, poros de diferentes formas, y tamaños entre 2 μm y 4 μm, además de rugosidad superficial. Adicionalmente, se evidencia un marcado crecimiento de granos, los cuales están en el orden de 8 μm de diámetro después del tratamiento térmico aplicado a esta muestra, lo que explicaría el aumento de su densidad, la disminución de su superficie específica y el cambio en su cristalinidad, ya observados en los resultados presentados en las secciones anteriores.

En el caso de la HA2T, su micrografía (figura 4B) muestra una considerable porosidad cerrada, con poros de tamaños semejantes (2 μm y 3 μm), además de grietas y cierta rugosidad superficial con un crecimiento de grano bastante homogéneo, del orden de 5 μm promedio. Al comparar estos resultados con los correspondientes de la micrografía presentada en la figura 1, se aprecia que, después del tratamiento térmico aplicado a la HA2 se incrementa considerablemente el tamaño de los poros hasta 3 μm, y reordenamiento de la estructura, probablemente debido al crecimiento de los granos, induciendo a la coalescencia y aislamiento de los poros, lo cual también es influenciado por la descarbonatación. Si se considera que esta HA es sintetizada a partir de coral marino (“HA coralina”) y que mantiene en su estructura iones carbonato (tal como se observó en el espectro FTIR), los cuales pueden estar sustituyendo iones fosfato y/o iones hidroxilo y que, según el análisis de ATG correspondiente, estos iones carbonato son liberados entre 700°C y 800°C por reacciones de descomposición produciéndose CO<sub>2</sub> gaseoso (Villani *et al.*, 2012), entonces se puede inferir que debido a la pérdida de carbonato se produce el incremento de porosidad que se observa en este material, lo cual, a su vez, incide en la disminución de los valores de la densidad de esta muestra.

La micrografía de la HA3T (figura 4C) muestra que se han producido algunos cambios en esta HA, pasando a ser un material con rugosidad superficial moderada, aunque presenta un crecimiento de grano importante, del orden de 15 μm promedio, superior a los otros dos materiales, probablemente debido al grado de compactación de sus partículas, observado antes del tratamiento térmico, lo que favorece esta tendencia.

En la Tabla 4 se resume el diámetro del tamaño de grano, así como la porosidad para las diferentes muestras después del tratamiento térmico a 1350°C. Se puede observar que el tamaño de grano en cada muestra es bastante uniforme, con prevalencia de granos de 8 μm, 4 μm y 10 μm en la HA1T, HA2T y HA3T respectivamente, aunque diferente entre ellas, siendo muy significativa la homogeneidad del tamaño

de grano de la HA2T respecto a las otras. Mientras que la porosidad en muestras HA1T y HA3T es prácticamente inexistente, para la HA2T es notable, lo que explica y corrobora los valores obtenidos de densidad.

**Tabla 4.** Valores de diámetro del tamaño de grano y porosidad para las muestras HA1, HA2 y HA3 después del tratamiento térmico a 1350°C durante 30 min.

Muestra	Diámetro de Tamaño de grano (μm)	Porosidad (μm)
HA1T	3 - 15	2 - 4
HA2T	1 - 8	2 - 3
HA3T	6 - 20	-----

Según los cambios observados, con un tratamiento térmico a 1350°C, se pueden modificar y/o mejorar algunas características de la HA sintetizada por precipitación en fase acuosa, pudiéndose obtener un biomaterial con mejores condiciones para aplicaciones biomédicas.

Los resultados obtenidos sugieren que el comportamiento de estos materiales antes del tratamiento térmico y después de este será diferente tanto individualmente como entre ellos.

## CONCLUSIONES

Con el tratamiento térmico a 1350°C durante 30 minutos a las tres muestras de HA, se produjo un crecimiento de grano apreciable en la HA1 y una HA2 con buena definición de sus bordes, lo cual también es una característica observada en la HA3. Adicionalmente, en el caso de la muestra HA1, se produjo un incremento de densidad, disminución de superficie específica, eliminación de agua e iones carbonato adsorbidos, aumento de cristalinidad y superficie con porosidad y rugosidad, obteniéndose una HA con características semejantes a los productos comerciales HA2 y HA3.

Según los resultados y desde el punto de vista de materiales cerámicos, la HA obtenida por el método de precipitación en fase acuosa y posteriormente tratada térmicamente a 1350°C por 30 minutos, presenta características similares a las HA de referencia, por lo que debía esperarse una respuesta clínica y biológica similar a éstas.



## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero del FONACIT a través del Proyecto 2005000173.

## REFERENCIAS

- BADDIEL C. & BERRY E. (1996). Spectra structure correlations in hydroxy and fluoroapatite. *Spectrochimica Acta*, 22: pp. 1407-1416.
- BARRALET J., KNOWLES J. C., BEST S. & BONFIELD W. (2002). Thermal decomposition of synthesised carbonated hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13: pp. 529-533.
- CHAMPION E. (2005). Sintering of calcium phosphate bioceramics. *Acta Biomaterialia*, 9: pp. 5855-5875.
- DE AZA P., DE AZA A. & DE AZA S. (2005). Crystalline bioceramic materials. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 44 (3): pp. 135-145.
- FERNANDEZ M. E., LOPEZ H., ALVES C., DE OLIVEIRA M., DE CARVALHO. R., FIGUEROA C. & VALIN M. (2013). Discos de poco espesor de hidroxiapatita cubana sinterizada como sistema de liberación de fármacos. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 32 (3): pp. 244-253.
- FUMERO A., LOPEZ H., GOYO L., ALVES C. & LARIOT C. (2011). Estudio preliminar acerca de recubrimientos de hidroxiapatita HAP-200 obtenidos por plasma atmosférico. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 30 (2): pp. 280-291.
- HENCH L. (1998). Bioceramics. *Journal of the American Ceramic Society*, 81 (7): pp. 1705-1728.
- JINTAO T. & JIEMO T. (2001). Preparation of porous hydroxyapatite. *Journal of Materials Science*, 36, pp. 3061-3066.
- KOUTSOPOULOS S. (2002). Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. *Journal of Biomedical Materials Research*, 62 (4): pp. 600-612.
- LONDOÑO M.E., ECHAVARRÍA A. & DE LA CALLE F. (2006). Características cristalográficas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, (5): pp. 109-118.
- MONMATURAPOJ N. & YATONGCHAI C. (2010). Effect of Sintering on Microstructure and Properties of Hydroxyapatite Produced by Different Synthesizing Methods. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 20 (2): pp.53-61.
- NASSER Y. M. (2005). Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes. *Materials Chemistry and Physics*, 94: pp. 333-341.
- PROKOPIEV O. & SEVOSTIANOV I. (2006). Dependence of the mechanical properties of sintered hydroxyapatite on the sintering temperature. *Materials Science and Engineering, A* 431: pp. 218-227.
- RIVERA J., RIAÑO C., ECHAVARRÍA A., MONSALVE P., GILDARDO J. V., RESTREPO L. & JARAMILLO C. (2004). Injertos óseos-Nueva alternativa. Fase III. Obtención, caracterización y evaluación de Hidroxiapatita Sintética y el compuesto Hidroxiapatita Sintética porosa-Proteínas Morfogénicas Óseas en un modelo experimental Lapino. *Rev. Col. Cienc. Pec*, Vol 17 (1): pp. 20-28.
- TAMPIERI A., CELOTTI G., SZONTAGH F. & LANDI E. (1997). Sintering and Characterization of HA and TCP Bioceramics with Control of their Strength and Phase Purity. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 8, pp. 29-37.
- VALLET M. (2008). Nanoapatitas: imitando la naturaleza. Recuperado el 18-02-2008 de [www.ranf.com](http://www.ranf.com).
- VILLANIA, MILLANA. & GONZALEZ G. (2012). Caracterización físico-química y cerámica de hidroxiapatitas producidas por distintos métodos de síntesis (Parte I). *Revista de la Facultad de Ingeniería de la UCV*, 27 (4): pp. 7-16.
- VILLORA J.M., CALLEJAS P. & BARBA M.F. (2002). Métodos de síntesis y comportamiento térmico del hidroxiapatito. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 41 (5): pp. 443-450.
- WILLIAMS D. F. (1987). Tissue-biomaterial interactions. *Journal of Materials Science*, 22, pp. 3421-3445.
- WILLMANN G. (1996). Medical grade hydroxyapatite: state of the art. *British Ceramic Transactions*, 95 (5): pp. 212-216.