



Revista EIA  
ISSN 1794-1237  
e-ISSN 2463-0950  
Año XIX/ Volumen 21/ Edición N.41  
Enero - junio de 2024  
Reia4101 pp. 1-18

Publicación científica semestral  
Universidad EIA, Envigado, Colombia

**PARA CITAR ESTE ARTÍCULO /  
TO REFERENCE THIS ARTICLE /**

Durán M. M. P.; Gaona J. Sonia y  
Raigoza C.F.V.

Efecto del precursor de calcio  
en las propiedades estructurales  
y microestructurales de la  
hidroxiapatita

Revista EIA, 21(41), Reia4101.  
pp. 1-18.

<https://doi.org/10.24050/reia.v21i41.1695>

✉ *Autor de correspondencia:*

Raigoza C.F.V.  
Doctora en Ciencia e Ingeniería de  
Materiales  
Universidad del Cauca  
Correo electrónico:  
gure@unicauca.edu.co

**Recibido:** 31-03-2023

**Aceptado:** 09-11-2023

**Disponible online:** 01-01-2024

# Efecto del precursor de calcio en las propiedades estructurales y microestructurales de la hidroxiapatita

Durán M. M. P.<sup>1</sup>

Gaona J. Sonia<sup>1</sup>

✉ Raigoza C.F.V.<sup>1</sup>

1. Universidad del Cauca

## Resumen

Debido a que en la actualidad las afecciones óseas siguen siendo un desafío clínico significativo y las soluciones son limitadas y en algunos casos poco efectivas, la investigación alrededor de la hidroxiapatita, principal componente mineral del hueso ha cobrado una importancia relevante. En este trabajo de investigación se analizó el efecto del precursor de calcio en las características estructurales y microestructurales de la hidroxiapatita, comparando los resultados obtenidos con hidroxiapatita extraída de una fuente natural. Mediante el método de reacción por combustión en solución fueron sintetizados polvos de hidroxiapatita utilizando como precursores de calcio carbonato de calcio extraído de la cáscara de huevo y carbonato y nitrato de calcio comerciales. A su vez, la fuente natural de hidroxiapatita fue hueso bovino, que se sometió a un proceso de lavado, fractura y tratamiento térmico. Los grupos funcionales presentes en las muestras obtenidas fueron determinados mediante espectroscopia infrarroja y las fases cristalinas mediante difracción de rayos-X. La microscopía electrónica de transmisión permitió determinar la morfología esférica de las partículas obtenidas a partir de carbonato de calcio (de cáscara de huevo) con el menor tamaño de partícula (entre 20 y 50 nm); mientras que, las obtenidas a partir de precursores comerciales presentaron una morfología no homogénea. Los resultados mostraron que el proceso seguido fue eficiente para la obtención de nanopartículas de hidroxiapatita cuando se obtiene a partir de carbonato de calcio y a una temperatura de 1100°C. El carbonato de calcio proveniente de la cáscara de huevo permitió obtener hidroxiapatita con morfología homogénea y tamaño nanométrico.

**Palabras clave:** Hidroxiapatita, reacción por combustión, cáscara de huevo, refinamiento Rietveld, análisis W-H

# Calcium precursor effect on structural and microstructural properties of hydroxyapatite

## Abstract.

Nowadays the bone conditions have been a meaning clinical challenge and solutions are limited, sometimes ineffective. Hydroxyapatite investigation (main bone component) has gained significant importance. In this research, was analyzed the calcium precursor effect on structural and microstructural properties of hydroxyapatite comparing results of hydroxyapatite obtained from a natural source. Through the solution combustion synthesis were synthesized hydroxyapatite powders using calcium carbonate extracted from eggshell and commercial calcium carbonate and calcium nitrate. As well the natural source of hydroxyapatite was bovine bone which was washed, fractured and heat treatment. The functional groups were obtained by infrared spectroscopy and the crystalline phases by X-ray diffraction. Transmission electron microscopy allowed to determine the particle spherical morphology produced from calcium carbonate (eggshell) with the smallest size (~20-50 nm) while those obtained by commercial precursors presented nonhomogeneous morphology. The results showed that the respective process followed was efficient to get hydroxyapatite nanoparticles obtained from calcium carbonate at temperature of 1100°C. Calcium carbonate from eggshells allowed getting HAp whose morphology was homogeneous with nanometric size.

**key words:** Hydroxyapatite, combustion reaction, eggshell, Rietveld refinement, W-H analysis

## 1. Introducción

El aumento en la demanda de tratamientos de trastornos óseos, causados por traumas o enfermedades degenerativas, así como las desventajas asociadas a los procedimientos convencionales usados para tratar estas patologías (autoinjertos, aloinjertos y xenoinjertos) evidencian la necesidad de crear estrategias terapéuticas alternativas, destinadas a la regeneración ósea. Es por eso, que el desarrollo de biomateriales con propiedades similares a las del tejido óseo natural, se hace cada vez más indispensable para garantizar la calidad de vida de las personas que padecen estas patologías (De Witte et al.,

2018; Qiao et al., 2023). Los huesos son órganos que dan soporte al cuerpo y protegen los órganos internos, cumplen además otra serie de funciones vitales para la vida como la producción de células sanguíneas, la regulación endocrina y el aprovisionamiento de minerales, entre otras; están formados por tejido conectivo, médula ósea y tejido óseo, siendo que este último, se compone de una fase orgánica (colágeno) que brinda flexibilidad y resistencia a la torsión y una fase inorgánica (hidroxiapatita- HAp) que confiere resistencia a la compresión (Le et al., 2017; Hu et al., 2019).

La HAp es un fosfato de calcio (CaP) con fórmula química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , está compuesta esencialmente por calcio y fósforo, con una relación molar ideal Ca/P de 1,67, posee estructura hexagonal compacta (HCP), con grupo espacial  $\text{P6}_3/\text{m}$ , parámetros de red  $a = b = 9,4225 \text{ \AA}$  y  $c = 6,8850 \text{ \AA}$  y una densidad teórica de  $3,16 \text{ g/cm}^3$  (Dorozhkin, 2013; Bahloul, Azzi & Maradi, 2020; Fiume et al., 2021). La HAp presenta una alta biocompatibilidad con las células vivas y una gran afinidad con los biopolímeros, logrando una interacción favorable con el tejido circundante al ser implantada en el cuerpo humano (De Carvalho et al., 2019; Sadat-Shojai et al., 2013). Al igual que otros CaP, tiene propiedades osteoconductoras que permiten que las células óseas se unan y proliferen en su superficie; y en presencia de fluidos corporales tiende a disolverse parcialmente, lo que implica un incremento de iones de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $(\text{PO}_4)^{3-}$  en las inmediaciones de la zona donde es implantada, que sobresaturan el entorno biológico y generan la precipitación de nanocristales de apatita, promoviendo la formación de nuevo hueso y la consiguiente regeneración del tejido óseo (Fiume et al., 2021; Rh Owen, Dard & Larjava, 2018). Las propiedades de la HAp la hacen útil en una amplia gama de aplicaciones biomédicas, como el recubrimiento bioactivo de implantes metálicos y prótesis ortopédicas, el tratamiento de fisuras y fracturas óseas, la reconstrucción maxilofacial, tratamientos odontológicos y en sistemas de ingeniería de tejidos (Jeong et al., 2019; Saxena & Pandey, 2022).

La HAp sintética fue obtenida por primera vez por Barrett y colaboradores a mitad del siglo XX, quienes reportaron un material con una composición química y un patrón de difracción de rayos X similar al del hueso natural (Barrett, Brown & Oleck, 1951). A

partir de ese momento, muchos investigadores han reportado la obtención de HAp con diferente tamaño de partícula, morfología, microestructura, propiedades mecánicas, cristalinidad y fases cristalinas adicionales, como el fosfato tricálcico TCP-( $\beta$ , $\beta'$ ), derivadas de diferentes métodos de síntesis (Mohd Pu'ad et al., 2020; Kalita & Bhatt, 2007), que pueden clasificarse en 4 grupos diferentes: (i) obtención a partir de fuentes naturales, como huesos de mamíferos, escamas de pescado, plantas y fuentes minerales, con la que se obtiene HAp con mayor similitud a la apatita biológica por la presencia de iones como magnesio, sodio, potasio, silicio, estroncio y hierro en su estructura cristalina, y además, es más biodegradable que la HAp sintética (Hussin et al., 2022; Mohd Pu'ad et al., 2019); (ii) métodos secos, que incluyen la reacción en estado sólido y el método mecanoquímico, con ventajas como alta reproducibilidad y bajos costos de procesamiento (Fiume et al., 2021; Sadat-Shojai et al., 2013); (iii) métodos húmedos, como la precipitación química, hidrólisis, sol-gel, microemulsión, entre otros, cuyos procesos requieren baja temperatura y dan como resultado nanopartículas con morfología regular (Sadat-Shojai et al., 2013; Zhan et al., 2005); (iv) procesos de alta temperatura, incluidos la pirolisis y la reacción por combustión en solución, que dan lugar a polvos de alta pureza mediante procesos rápidos y relativamente simples (Sadat-Shojai et al., 2013; Mohd Pu'ad et al., 2020). La mayoría de estos métodos requieren procesos de síntesis complejos, equipos especializados y precursores costosos. En contraste, el método de reacción por combustión en solución es un método simple, que utiliza reactivos de bajo costo y requiere menor tiempo de síntesis. Este método, descubierto accidentalmente por Kingsley y Patil en 1980 (Frikha et al. 2019), es una reacción redox exotérmica y autosostenida que requiere de un agente oxidante, como los nitratos metálicos, y de combustibles como urea, glicina, ácido cítrico, entre otros, que actúan como agente reductor. La característica principal de este método es que el calor requerido para conducir la reacción es suplido por la propia reacción y no a partir de una fuente externa. El producto obtenido depende del tipo de precursor, el coeficiente estequiométrico que relaciona la cantidad de precursores y combustibles, el valor de pH, entre otros (Ebrahimi, Kumar & Khraisheh, 2022).

El objetivo de la investigación reportada en este documento fue analizar el efecto del precursor de calcio en las propiedades estructurales y microestructurales de la HAp sintetizada por el método de reacción por combustión en solución y compararlo con el obtenido de una fuente natural.

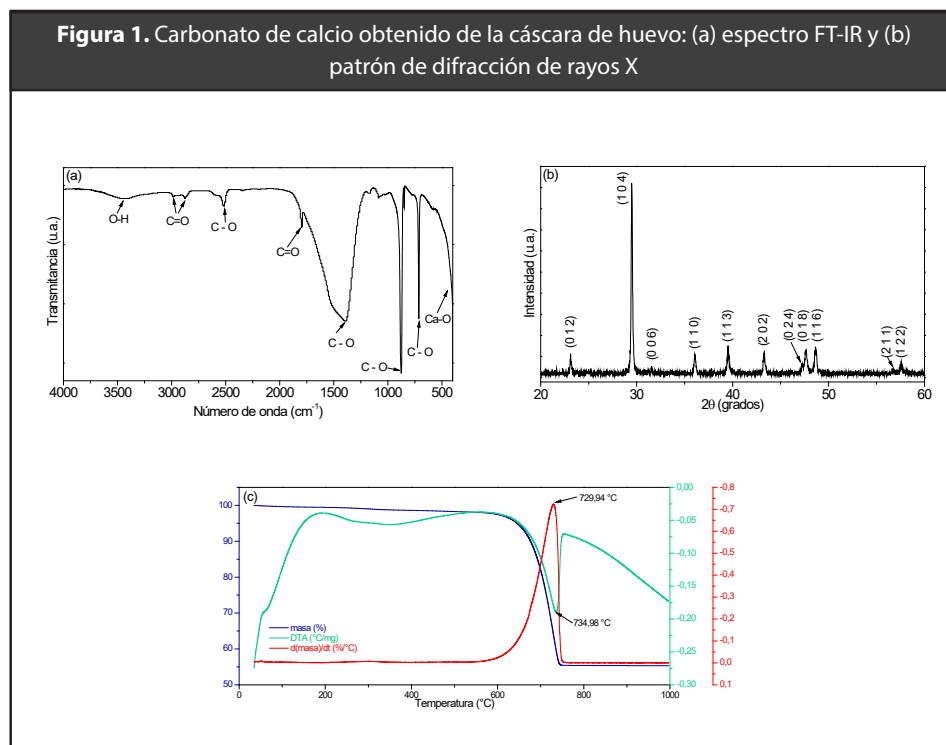
## 2. Metodología

Por el método de reacción por combustión en solución fueron sintetizados polvos cerámicos de  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ; se utilizó como precursor de fósforo, fosfato de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) (J. T. Baker 98.6%); como combustibles urea ( $\text{CON}_2\text{H}_4$ , Merck 98%) y glicina ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ , Merck 99.5%) en una relación 50/50. Como precursores de calcio se utilizaron: (i) carbonato de calcio extraído de la cáscara de huevo de gallina, (ii) carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (Merck, 99,0%) y, (iii) nitrato de calcio tetrahidratado  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (PanReac, 98%). La obtención del  $\text{CaCO}_3$  a partir de la cáscara de huevo requirió de tres etapas: inicialmente, las cáscaras de huevo se lavaron con agua desionizada, se fragmentaron manualmente, se adicionaron a una solución de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% a  $\sim 150^\circ\text{C}$  durante 3h, se lavaron nuevamente con agua desionizada y se secaron en una estufa a  $\sim 70^\circ\text{C}$ . En la segunda etapa las cáscaras fueron pulverizadas en un molino planetario (Pulverisette 6- FRITSCH 55743) utilizando etanol como medio de molienda; finalmente, para favorecer la cristalización del  $\text{CaCO}_3$ , las cáscaras molidas fueron tratadas térmicamente a  $450^\circ\text{C}/2\text{h}$  a una velocidad de  $3^\circ\text{C}/\text{min}$  en un horno (Terrígeno F2PCA). Para la obtención de la HAp, inicialmente se pesaron cantidades estequiométricas de cada precursor según la fórmula  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  con una relación  $\text{Ca}/\text{P}=1,67$ . Cada precursor fue disuelto en agua desionizada hasta lograr su completa disolución. Posteriormente, se mezclaron precursores y combustibles en un crisol a una temperatura  $\sim 150^\circ\text{C}$ , con agitación constante durante  $\sim 4\text{h}$ , con el fin de eliminar el solvente y obtener una mezcla homogénea y levemente viscosa. Finalmente, el crisol se introdujo en un horno precalentado a  $600^\circ\text{C}$  para promover la reacción de combustión, y se mantuvo a esta temperatura por 2h con el fin de eliminar el material orgánico. El producto de la combustión

fue macerado y calcinado a 1100°C/2h usando una velocidad de calentamiento de 3°C/min. La HAp extraída de una fuente natural, fue obtenida a partir de hueso bovino. El hueso fue lavado y sumergido en etanol durante ~48h con el fin de eliminar grasa, luego el hueso fue secado a 80°C/72h. Una vez secado, fue fracturado utilizando una prensa hidráulica hasta obtener pequeños trozos, los cuales fueron sometidos a un tratamiento térmico en una mufla a 650°C durante 4h. Finalmente, el hueso fue macerado hasta obtener un polvo blanco. Los polvos cerámicos fueron caracterizados mediante FTIR, utilizando el espectrofotómetro Thermo Electron Nicolet IR 200. El análisis de las bandas se hizo mediante deconvolución utilizando el programa Fityk 0.8.8, con la función Pearson7 para obtener el ajuste de las bandas. Los polvos de cáscara de huevo de gallina fueron analizados mediante análisis térmico, utilizando un equipo TA Instruments (SDT-650) con una velocidad de calentamiento de 5°C/min, hasta una temperatura de 1000°C. Las fases presentes en el material fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X utilizando el difractómetro Bruker D8 Advance, para el análisis se utilizó radiación  $K_{\alpha}$  del Cu ( $\lambda=1,5418 \text{ \AA}$ ), con paso de 0.02°/min e intervalo angular  $20^{\circ} < 2\theta < 60^{\circ}$ ; las características estructurales se obtuvieron realizando refinamiento Rietveld, usando el programa GSAS. La técnica de microscopía electrónica de transmisión (MET) fue utilizada para observar y analizar la morfología y el tamaño de partícula de los polvos sintetizados, utilizando un microscopio JEOL 1200-EX II TEM. Los difractogramas fueron analizados usando el método de Williamson-Hall, para obtener tamaño de cristalito y microtensiones a las que está sometida la red cristalina. Para facilitar la lectura del documento utilizaremos la siguiente nomenclatura para cada una de las muestras sintetizadas: (i) HAp obtenida de hueso bovino (HAp-HB), (ii) HAp sintetizada con carbonato de calcio extraído de la cáscara de huevo de gallina (HAp-CH), (iii) HAp sintetizada con carbonato de calcio comercial (HAp-CC), (iv) HAp sintetizada con nitrato de calcio (HAp-NC).

### 3. Resultados

En la figura 1 se presenta la caracterización realizada a los polvos obtenidos de la cáscara de huevo de gallina.



La figura 1a corresponde al FTIR del  $\text{CaCO}_3$  obtenido de las cáscaras de huevo de gallina; todas las bandas presentes en el espectro se ajustan a la fase calcita. Las bandas ubicadas a  $\sim 878 \text{ cm}^{-1}$  y  $\sim 713 \text{ cm}^{-1}$  están asociadas al enlace  $\text{CO}_3^{2-}$  y su vibración fuera del plano y en el plano, respectivamente; la banda alrededor de  $500 \text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración del enlace Ca-O. La banda ubicada a  $\sim 1393 \text{ cm}^{-1}$  corresponde al modo de estiramiento asimétrico del enlace C-O y la ubicada a  $\sim 2516 \text{ cm}^{-1}$  corresponde a la banda de absorción del enlace  $\text{HCO}_3$ . Las bandas de baja intensidad presentes a  $\sim 2877$  y  $\sim 2985 \text{ cm}^{-1}$  se asocian con los modos simétrico y asimétrico del enlace  $-\text{CH}_2$  respectivamente; la banda ubicada a  $\sim 1797 \text{ cm}^{-1}$  se relaciona con el modo de estiramiento del enlace Ca-O asociado a la presencia de  $\text{CaCO}_3$ ; la señal amplia alrededor de  $\sim 3700\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$

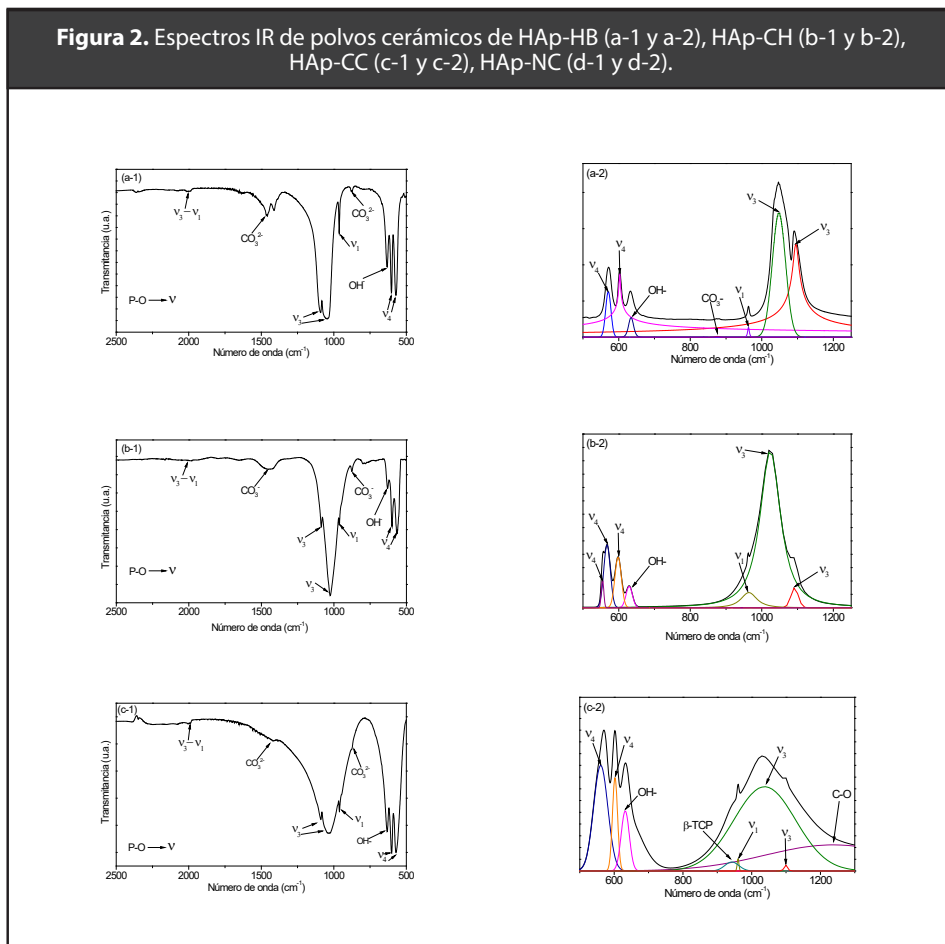
corresponde al modo de estiramiento del enlace O-H asociado con agua adsorbida (Puspitasari et al., 2020; Diningsih & Rohmawati, 2022). En la figura 1b se aprecia el difractograma de rayos X del  $\text{CaCO}_3$ ; se evidencia que el patrón de difracción corresponde al carbonato de calcio (calcita), ya que los picos se ajustan al patrón asociado a la base de datos JCPDS 05-0586 propia de la calcita. Un factor importante en la obtención del carbonato de calcio a partir de la cáscara de huevo de gallina es la temperatura de calcinación, que para el caso fue de  $450^\circ\text{C}$ , con la que se obtuvo  $\text{CaCO}_3$  monofásico; a temperaturas superiores a  $735^\circ\text{C}$ , el  $\text{CaCO}_3$  se descompone formando  $\text{CaO}$ , como se puede observar en el análisis térmico presentado en la figura 1c.

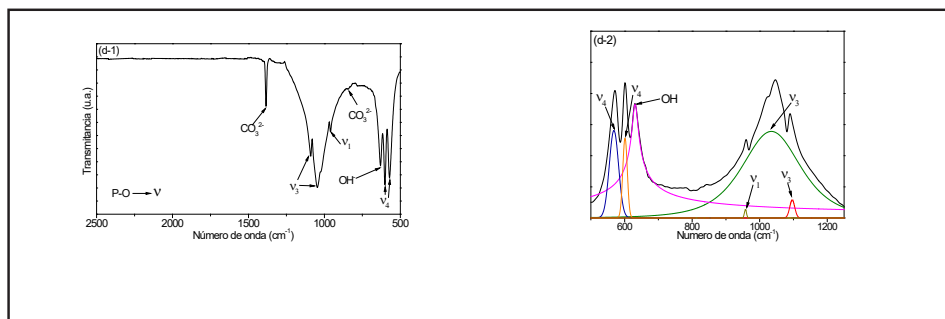
En la figura 2 se presentan los espectros infrarrojos de: HAp-HB (a-1), HAp-CH (b-1), HAp-CC (c-1) y HAp-NC (d-1), respectivamente. Las bandas observadas en todos los espectros son similares, sin embargo, su intensidad relativa es diferente. El modo de flexión del grupo hidroxilo, que caracteriza a la HAp, se asocia a la banda ubicada a  $\sim 637\text{ cm}^{-1}$ , el modo de flexión simétrico del enlace O-P-O en el ion  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\nu_4$ ) se ubica a  $\sim 560\text{ cm}^{-1}$  y  $\sim 602\text{ cm}^{-1}$ , la banda ubicada a  $\sim 962\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la deformación axial simétrica del enlace P-O ( $\nu_1$ ); la señal principal del grupo fosfato aparece en un triple dominio degenerado, localizado en  $\sim 1092\text{ cm}^{-1}$  y  $\sim 1024\text{ cm}^{-1}$  que representa la vibración de deformación axial asimétrica del enlace P-O del grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\nu_3$ ). La banda de absorción de intensidad débil ubicada entre  $1950\text{-}2100\text{ cm}^{-1}$  está relacionada con la combinación de los modos  $\nu_3$  y  $\nu_1$  del grupo  $\text{PO}_4^{3-}$ . El grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  se asocia con las bandas ubicadas a  $\sim 870$  y  $1420\text{ cm}^{-1}$ , la presencia de estas bandas sugiere la obtención de HAp carbonatada de tipo B, en la que el carbonato sustituye a los grupos fosfato en los sitios aniónicos en la estructura de la HAp. Además, según la literatura, el carbonato presente en la fase mineral del tejido óseo es, en su mayor parte, de tipo B, lo que aumenta la similitud química de la HAp sintetizada con la biológica (Kalpana & Nagalakshmi, 2023; Nunes et al., 2023). La deconvolución de los espectros entre  $500$  y  $1250\text{ cm}^{-1}$  corresponde a: HAp-HB (a-2), HAp-CH (b-2), HAp-CC (c-2) y HAp-NC (d-2); en ellas se observa de manera más evidente el cambio en la intensidad de las bandas correspondientes a los mismos grupos funcionales. El



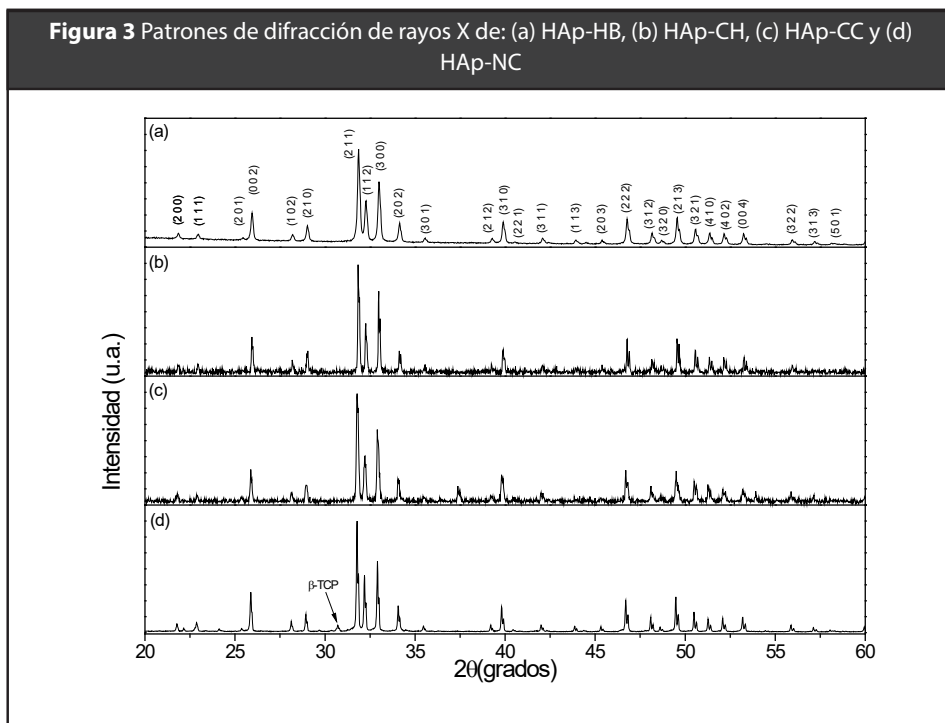
cambio en la intensidad puede ser debido a variaciones en la longitud de los enlaces y/o a la variación en la cristalinidad de las muestras, puesto que la condición necesaria para que una molécula tenga respuesta en el infrarrojo, es que presente un cambio del momento dipolar. Ya que los espectros presentan intensidades diferentes para los mismos grupos funcionales, la interpretación es que el cambio en el momento dipolar es diferente. A su vez, esta diferencia en el cambio del momento dipolar puede ser explicada con base en una diferencia tanto en la longitud de enlace como de la carga de los grupos funcionales. El cambio en la carga puede ser debido a modificación de las especies presentes en la estructura cristalina debido a los diferentes precursores utilizados. Cuando se utiliza carbonato de calcio proveniente de la cáscara de huevo, este posee trazas de magnesio que ocuparían las posiciones del calcio dentro de la estructura.

**Figura 2.** Espectros IR de polvos cerámicos de HAp-HB (a-1 y a-2), HAp-CH (b-1 y b-2), HAp-CC (c-1 y c-2), HAp-NC (d-1 y d-2).





En la figura 3 se presentan los patrones de difracción de rayos X de la HAp obtenida con los diferentes precursores de calcio. En la figura 3a se observa el patrón de difracción obtenido a partir de hueso bovino, observándose como única fase el compuesto HAp ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ) identificado con el patrón JCPDS 9-0432. Al tratar los polvos cerámicos obtenidos del proceso de combustión a  $1100^\circ\text{C}/2\text{h}$  se obtiene HAp monofásica para las muestras obtenidas con carbonato de calcio y un pequeño porcentaje de TCP- en la muestra sintetizada con nitrato de calcio; en todos los casos los patrones de difracción coincidieron con la fase hexagonal característica de la HAp ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ). La presencia de exceso de iones de calcio ( $\text{Ca}/\text{P}=1,67$ ) es un factor que conlleva a obtener esta única fase (Peña, 2003; Omori et al., 2014; Meejoo, Maneprakorn & Winotai, 2006). El programa GSAS fue usado para ajustar mediante el refinamiento Rietveld los patrones de difracción de las muestras obtenidas experimentalmente (figura 4). Para las muestras sintetizadas el refinamiento ajusta los datos de los patrones de difracción a un sistema cristalino hexagonal con grupo espacial  $\text{P6}_3/\text{m}$ , las características de cada celda, la densidad y que representa la confiabilidad del refinamiento, se presentan en la tabla 1.



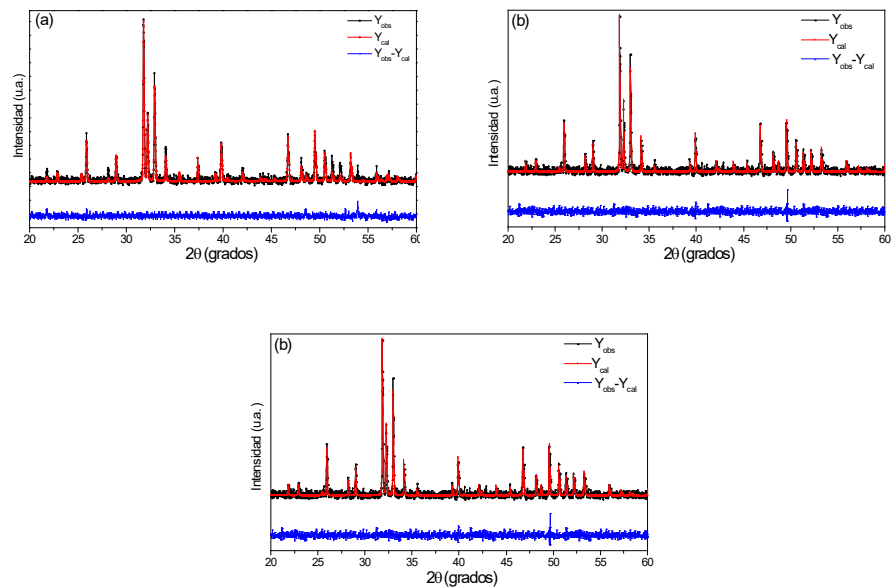
**Tabla 1.** Características de las muestras obtenidas mediante refinamiento Rietveld

Parámetro refinado	HAp-CH	HAp-CC	HAp-NC
$a(\text{Å})$	9,419	9,420	9,422
$c(\text{Å})$	6,882	6,882	6,883
Volumen $P6_3/m(\text{Å}^3)$	528,817	528,894	529,190
$\rho(\text{g/cm}^3)$	2,39	3,244	3,152
$\chi^2$	1,451	1,230	2,149

El ancho de un pico de difracción es una combinación de efectos dependientes tanto del instrumento como de la muestra; el efecto del instrumento se corrige mediante el refinamiento Rietveld; mientras que, el efecto asociado a la muestra, que involucra el tamaño de cristalito y las deformaciones que experimenta la red debido a las microtensiones a las que está sometida, puede ser analizado mediante la ecuación de Williamson-Hall (W-H), asumiendo que el material se somete a una deformación uniforme al considerar su naturaleza isotrópica (Bantikatla, N.S.M.P. & Bhogoju, 2021; Irfan, Racik & Anand, 2018):

$$\beta_{hkl} \cos \theta = k\lambda/D + 4\epsilon \sin \theta \quad (1)$$

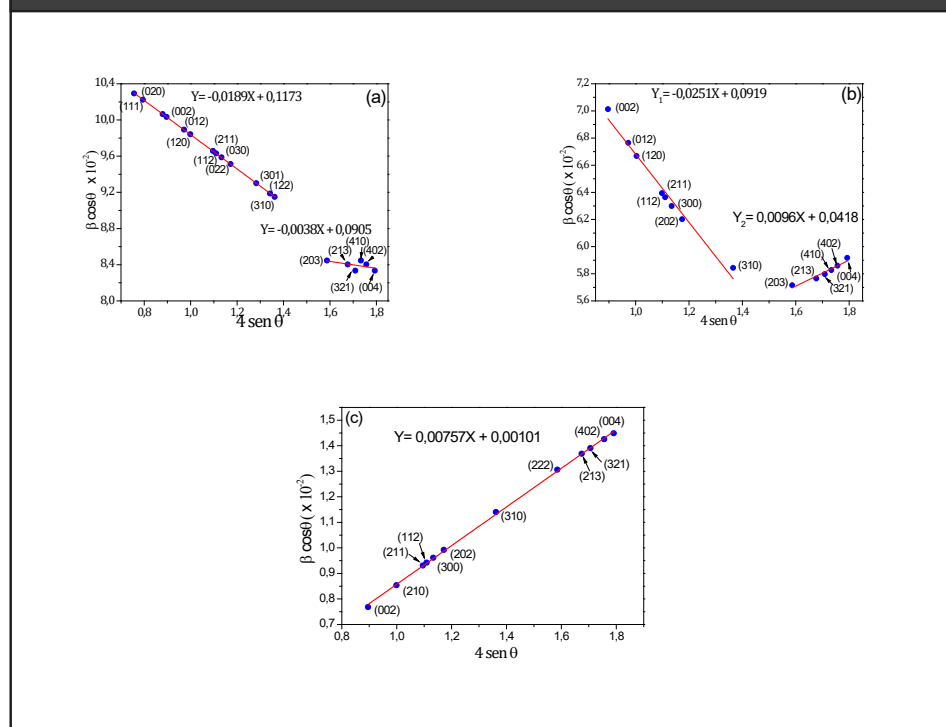
Donde  $\beta_{hkl}$  es el ancho del pico de difracción,  $D$  representa el tamaño del cristalito;  $k$  es un factor de forma,  $\sim 0,9$ , cuando se considera la forma esférica,  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación utilizada y  $\varepsilon$  representa la tensión que experimenta la muestra. El tamaño de cristalito puede obtenerse del intercepto con el eje vertical, de acuerdo a la ecuación de Debye-Scherrer, y las microtensiones se obtienen de la pendiente de la gráfica (Jain et al., 2023).



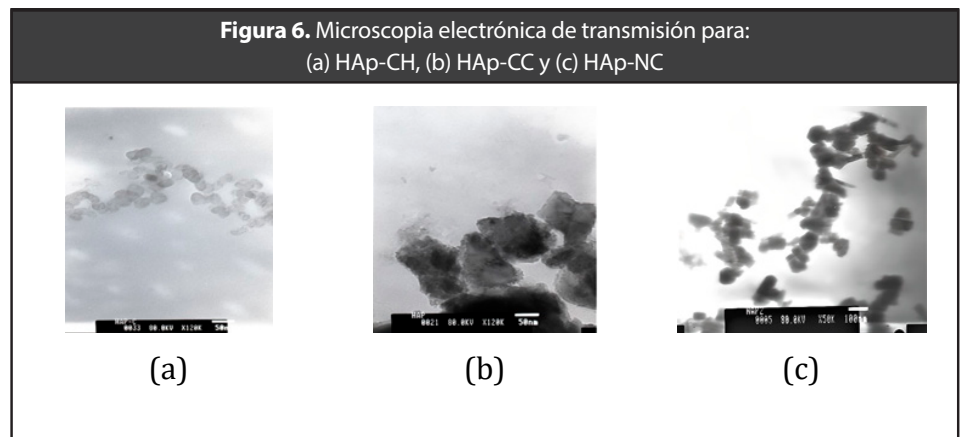
En la figura 5 se observan las gráficas de W-H para las muestras sintetizadas. Una pendiente negativa indica la existencia de una deformación producto de la tensión por compresión en el material; mientras que, una pendiente positiva indica que la deformación que experimenta la red cristalina es debido a una tensión por tracción. La deformación se atribuye al aumento de las dislocaciones, tensiones internas, límites de grano y a la variación en el tamaño del cristalito (Desai et al., 2021, Venkateswarlu et al., 2014). Para las muestras de HAp obtenidas con carbonato de calcio, se observa que los planos cristalográficos de la red hexagonal no experimentan la misma tensión. En la HAp-CH (figura 5a) todos los planos están sometidos

a tensión por compresión, evidenciándose dos comportamientos distintos, el primero indica que el mayor porcentaje de la red cristalina experimentan una gran compresión ( $\varepsilon \sim -18,9 \times 10^{-3}\%$ ) alrededor de los planos cristalinos indicados en la figura 5a, mientras que se observa una disminución en la compresión ( $\varepsilon \sim -3,8 \times 10^{-3}\%$ ) alrededor de los planos restantes; el tamaño de cristalito tiene un valor de  $\sim 13$  nm, este tamaño se calculó teniendo en cuenta el porcentaje de los planos asociados con cada una de las rectas. La figura 5b, correspondiente a la HAp-CC, evidencia que el 57% de los planos analizados experimentan tensión por compresión ( $\varepsilon \sim -25,1 \times 10^{-3}\%$ ) y el 43% restante están sometidos a esfuerzos por tracción ( $\varepsilon \sim -9,6 \times 10^{-3}\%$ ); en este caso el tamaño de cristalito es de  $\sim 23$  nm. En la figura 5c correspondiente a la HAp-NC, la gráfica se ajusta a una línea recta lo que representa que la estructura cristalina está sometida a una tensión homogénea ( $\varepsilon \sim 7,6 \times 10^{-3}\%$ ) y el tamaño de cristalito es de  $\sim 137$  nm. Los resultados de este análisis evidencian que los precursores influyen en la microestructura de los polvos obtenidos

**Figura 5.** Gráficas  $\beta_{hkl} \cos\theta_{hkl}$  vs  $4 \sin\theta_{hkl}$  para las muestras de: (a) HAp-CH, (b) HAp-CC y (c) HAp-NC.



En la Figura 6 se observan las micrográficas de transmisión de las nanopartículas de HAp obtenidas con los diferentes precursores de calcio. La HAp-CH presenta partículas con morfología esférica, distribución homogénea y tamaño de ~20-50 nm. En la HAp-CC se observan partículas formadas por aglomerados de partículas de menor tamaño (~50 nm). Las partículas de la HAp-NC no tienen morfología definida y su tamaño está en el rango de ~50-130 nm. Las partículas con morfología esférica tienen gran área superficial comparada con otras morfologías en un rango de tamaño similar, además dan al material una estabilidad mecánica mayor al generar una contrapresión más baja, haciéndolas adecuadas para aplicaciones biológicas (Gandou et al., 2015). Al obtener partículas de tamaño nanométrico, se observan aglomerados en las micrográficas, esto se debe 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 en este rango de tamaño (Chen et al., 2018). Se ha reportado que el uso de HAp de tamaño nanométrico mejora la bioactividad en comparación con el uso de partículas de mayor tamaño. Además, las nanopartículas de HAp tienen un efecto positivo sobre la adhesión a proteínas, la adhesión celular y la proliferación lo que promueve la regeneración del tejido óseo (Abere et al., 2022; Kubasiewicz-Ross et al., 2017).



#### 4. Conclusiones

Se obtuvo HAp monofásica mediante el método de reacción por combustión con un tratamiento térmico de 1100°C/2h para las muestras sintetizadas con carbonato de calcio. Los espectros infrarrojos mostraron que los grupos funcionales son los mismos para todas las muestras sintetizadas, pero poseen diferente longitud de enlace y/o diferente carga lo que puede deberse a impurezas provenientes del precursor utilizado en el proceso de síntesis. Mediante el refinamiento Rietveld se observa que la simetría de la red y el grupo espacial al que se ajusta la estructura cristalina es igual para todas las muestras con parámetros de red ligeramente diferentes. Mediante el análisis de las gráficas de Williamson-Hall se concluyó que los precursores utilizados influyen en la deformación generada en la red, así como en el tamaño de cristalito. El valor de la densidad de la HAp obtenida con carbonato de calcio proveniente de la cáscara de huevo se aleja del valor de la densidad teórica, tiene menor tamaño de partícula y su morfología es homogénea, lo que la convierte en un potencial biomaterial para uso como relleno óseo.

#### 5. Agradecimientos

Las autoras agradecemos a la Universidad del Cauca por el apoyo brindado durante el desarrollo de esta investigación.

#### 6. Referencias

- Abere, D.V.; Ojo, S.A.; Oyatogun, G.M.; Paredes-Epinosa, M.B.; Dharsika Niluxshun, M.C.; Hakami, A. (2022). Mechanical and morphological characterization of nano-hydroxyapatite (nHA) for bone regeneration: A mini review. *Biomedical Engineering Advances*, 4, 100056. <https://doi.org/10.1016/j.bea.2022.100056>
- Bahloul, L.; Azzi, A.; Maradi, H. (2020): Study of The Porosity and Density of Synthetically Produced Hydroxyapatite. *SAJ Biotechnology*, 7, 1, pp. 1-5.
- Bantikatla, H.; N.S.M.P, Latha Devi; Bhogoju, R.K. (2021). Microstructural parameters from X-ray peak profile analysis by Williamson-Hall models; A review. *Materials Today: Proceedings*, 47(14), pp. 4891-4896. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.06.256>

- Barrett, E.P.; Brown, J.M.; Oleck, S.M. (1951). Some granular carbonaceous adsorbents for sugar refining. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 43(3), pp. 639-654. <https://doi.org/10.1021/ie50495a026>
- 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), pp. 125-136. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(18\)64645-X](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(18)64645-X)
- De Carvalho, B.; Rompen, E.; Lecloux, G.; Schupbach, P.; Dory, E.; Art, J. F.; Lambert, F. (2019). Effect of Sintering on In Vivo Biological Performance of Chemically Deproteinized Bovine Hydroxyapatite. *Materials (Basel)*, 12(23), 3946. <https://doi.org/10.3390/ma12233946>
- De Witte, T.M.; Fratila-Apachitei, L.E.; Zadpoor, A.A.; Peppas, N.A. (2018). Bone tissue engineering via growth factor delivery: From scaffolds to complex matrices. *Regenerative Biomaterials*, 5(4), pp. 197-211. <https://doi.org/10.1093/rb/rby013>
- Desai, K.R.; Alone, S.T.; Wadgane, S.R.; Shirsath, S.E.; Batoor, K.M.; Imran, A.; Raslan, E.H.; Hadi, M.; Ijaz, M.F.; Kadam, R.H. (2021). X-ray diffraction-based Williamson-Hall analysis and rietveld refinement for strain mechanism in Mg-Mn co-substituted CdFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Physica B: Condensed Matter*, 614, 413054. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2021.413054>
- Diningsih, C.; Rohmawati, L. (2022). Synthesis of Calcium Carbonate (CaCO<sub>3</sub>) from Eggshell by Calcination Method. *Indonesian Physical Review*, 5(3), pp. 208-215.
- Dorozhkin, S.V. (2013). A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950. *Materials Science and Engineering: C*, 33(6), pp. 3085-3110. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.04.002>
- Ebrahimi, P.; Kumar, A.; Khraisheh, M. (2022). Analysis of combustion synthesis method for Cu/CeO<sub>2</sub> synthesis by integrating thermodynamics and design of experiments approach. *Results in Engineering*, 15, 100574. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2022.100574>
- Fiume, E.; Magnaterra, G.; Rahdar, A.; Verné, E.; Baino, F. (2021). Hydroxyapatite for Biomedical Applications: A Short Overview. *Ceramics*, 4, pp. 542-563. <https://doi.org/10.3390/ceramics4040039>
- Frikha, K.; Limousy, L.; Bouaziz, J.; Bennici, S.; Chaari, K.; Jeguirim, M. (2019). Elaboration of alumina-based materials by solution combustion synthesis: A review. *Comptes Rendus Chimie*, 22(2-3), pp. 206-219. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2018.10.004>
- 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), pp. 983-988
- Hu, C.; Ashok, D.; Nisbet, D. R.; Gautam, V. (2019). Bioinspired surface modification of orthopedic implants for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 219, 119366. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119366>
- Hussin, M.S.; Abdullah, H.Z.; Idris, M.I.; Wahap, M.A. (2022). Extraction of natural hydroxyapatite for biomedical applications—A review. *Heliyon*, 8(8), e10356. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10356>



- 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), pp. 54-62. <https://doi.org/10.1080/21870764.2018.1439606>
- Jain, A.; Somvanshi, A.; Prashant; Ahmad, N. (2023). X-ray diffraction analysis of SrTiO<sub>3</sub> nanoparticles by Williamson-Hall, size-strain plot and FullProf method. *Materials Today: Proceedings*, in press. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.03.166>
- Jeong, J.; Kim, J.H.; Shim, J.H.; Hwang, N.S.; Heo, C.Y. (2019). Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. *Biomaterials research*, 23, 4. <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0149-3>
- Kalita, S.J.; Bhatt, H.A. (2007). Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc, Synthesis and characterization. *Materials Science and Engineering*, 27(4), pp. 837-848. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2006.09.036>
- Kalpana, M.; Nagalakshmi, R. (2023). Effect of reaction temperature and pH on structural and morphological properties of hydroxyapatite from precipitation method, *Journal of the Indian Chemical Society*, 100, 100947. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2023.100947>
- Kubasiewicz-Ross, P; Hadzik, J.; Seeliger, J.; Kozak, K.; Jurczynszyn, K.; Gerber, H.; Dominiak, M.; Kunert-Keil, C. (2017). New nano-hydroxyapatite in bone defect regeneration: A histological study in rats. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, 213, pp. 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2017.05.010>
- Le, B.Q.; Nurcombe, V.; Cool, S.M.; van Blitterswijk, C.A.; de Boer, J.; LaPointe, V.L.S. (2017). The Components of Bone and What They Can Teach Us about Regeneration. *Materials (Basel)*, 11(1), 14. <https://doi.org/10.3390/ma11010014>
- Meejoo, S.; Maneepakorn, W; Winotai, P. (2006). Phase and thermal stability of nanocrystalline hydroxyapatite prepared via microwave heating. *Thermochimica Acta* 447(1), pp. 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2006.04.013>
- Mohd Pu'ad, N.A.S.; Koshy, P; Abdullah, H.Z.; Idris, M.I.; Lee, T.C. (2019). Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. *Heliyon*, 5(5), e01588. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01588>
- Mohd Pu'ad, N.A.S.; Abdul Haq, R.H.; Mohd Noh, H.; Abdullah, H.Z.; Idris, M.I.; Lee, T.C. (2020) Synthesis method of hydroxyapatite: A review. *Materials Today: Proceedings*, 29(1), pp. 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.536>
- Nunes, J.P.; Neme, N.P.; de Souza Matos, M.J.; Junio, R.; Batista, C.; de Almeida Macedo, W.A.; Gastelois, P.L.; Gomes, D.A.; Rodrigues, M.A.; Cipreste, M.F.; Barros Sousa, E.M. (2023). Nanostructured system based on hydroxyapatite and curcumin: a promising candidate for osteosarcoma therapy. *Ceramics International*, In Press, Journal Pre-proof, <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.03.115>
- 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, pp. 562-568. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.05.071>
- Peña, J. (2003). Hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic materials prepared by a liquid mix technique. *Journal of the European Ceramic Society*,

- 23(10), pp. 1687-1696. [https://doi.org/10.1016/S0955-2219\(02\)00369-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2219(02)00369-2)
- Puspitasari, P.; Utomo, D.M.; Zhorifah, H.N.; Permanasari, A.A.; Gaya, R.W. (2020). Physicochemical Determination of Calcium Carbonate (CaCO<sub>3</sub>) from Chicken Eggshell. *Key Engineering Materials*, 840, pp. 478-483. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.840.478>
- Qiao, D.; Cheng, S.; Xing, Z.; Zhang, Q.; Song, S.; Yan, F.; Zhang, Y. (2023). Bio-inspired glycosylated nano-hydroxyapatites enhance endogenous bone regeneration by modulating macrophage M2 polarization. *Acta Biomaterialia*, 162, pp. 135-148. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.03.027>
- Rh Owen, G.; Dard, M.; Larjava, H. (2018). Hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate biphasic ceramics as regenerative material for the repair of complex bone defects. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 106(6), pp. 2493-2512. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34049>
- Sadat-Shojai, M.; Khorasani, M.T.; Dinpanah-Khoshdargi, E.; Jamshidi, A. (2013). Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta biomaterialia*, 9(8), pp. 7591-7621. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>
- Saxena, V.; Pandey, L.M. (2022). Synthesis and Sintering of Calcium Hydroxyapatite for Biomedical Applications, Editor(s): M.S.J. Hashmi, *Encyclopedia of Materials: Plastics and Polymers*, Elsevier, 859-870. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820352-1.00136-X>
- 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, pp. 212-221. <https://doi.org/10.1016/j.mspro.2014.07.260>
- Zhan, J.; Tseng, Y.H.; Chan, J.C.C.; Mou, C.Y. (2005). Biomimetic formation of hydroxyapatite nanorods by a single-crystal-to-single-crystal transformation. *Advanced Functional Materials*, 15, pp. 2005-2010. <https://doi.org/10.1002/adfm.200500274>