

HIDROXIAPATITA SINTÉTICA DE POROSIDAD INDUCIDA —COMPARACIÓN CON EL HUESO CALCINADO—

*Carlos Riaño B.**
*Alejandro Echavarría V.***
*Antonio Noreña G.***

RESUMEN

La hidroxiapatita (HAP), el compuesto mineral de los huesos, puede obtenerse sintéticamente por reacción entre cantidades estequiométricas de soluciones acuosas de fosfato de amonio y nitrato de calcio en condiciones básicas. El precipitado se somete a un doble lavado con agua destilada y se le incorpora fibras de celulosa (papel de filtro analítico molido) para obtener la porosidad deseada, en cantidades de 8, 16, 24 y 32%. Luego de filtrado, se seca y se calcina a 1050 °C por 2.5h.

Tanto el producto obtenido como muestras de hueso de canino cortical calcinado a 1050 °C fueron caracterizados por AAS, DRX, SEM y FTIR. Los resultados indicaron que tanto la HAP como el hueso calcinado presentan buena cristalinidad y pureza, sin vestigios de fosfatos del tipo tricálcico o tetracálcicos. El contenido de carbonatos es mayor en el hueso calcinado que en la HAP sintética. Los espacios tubulares de la HAP y del hueso calcinado tienen cerca de 10 mm en diámetro, sin embargo, se observa mayor rugosidad y mayores agregados porosos en el hueso calcinado. Las composiciones químicas de ambas muestras son similares. Las muestras de HAP exhibieron características muy similares a las del hueso calcinado.

ABSTRACT

The hydroxyapatite (HAP), natural component of bone, can be obtained by reaction between stoichiometric quantities of aqueous solutions of calcium nitrate and ammonium phosphate in basic conditions. The obtained precipitate is bi-washed with distilled water and then cellulose fiber (milled analytical paper) is incorporated to obtain the desired porosity in orders of 8, 16, 24 and 32%. After filtering, the precipitate is dried and calcined at 1050 °C for 2.5 hours.

The obtained product and calcined canine tibia bone are characterized by AAS, DRX, SEM and FTIR. The results indicated that the HAP and calcined bone showed good crystallinity and purity, without traces of tri or tetracalcium phosphates. The amount of carbonates are greater in the sample of calcined bone. The tubular spaces in both samples are similar with 10 mm in diameter, although bone showed greater rugosity and porous aggregates. The chemical compositions of both samples were similar. Samples of HAP exhibited characteristics like of calcined bone.

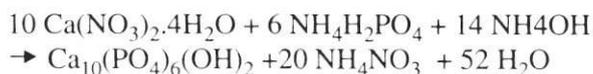
* Grupo de Ciencia y Tecnología Biomédica, Medicina Veterinaria y Zootecnia.

** Ingeniería Metalúrgica y de Materiales, Universidad de Antioquia.

INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita (HAP) se utiliza como recubrimiento de implantes metálicos de titanio para permitir su osteointegración al hueso que actúa de soporte. Este es el caso de las prótesis totales de cadera o los tornillos para restauraciones en pacientes edéntulos. Se utiliza también como aumento para reborde mandibular, relleno de extracciones producidas por extracción de tumores y quistes, como ayuda en el tratamiento de grandes fracturas o como prótesis orbital en el caso de enucleaciones.

La HAP es un fosfato de calcio que constituye la fase cristalina del hueso¹⁻⁶ y corresponde estequiométricamente a la fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Puede obtenerse por descomposición hidrotermal del coral o por vía sintética^{5,7-9}. En ésta última, puede obtenerse a partir de fosfato de amonio y nitrato de calcio, según la reacción:



Su porosidad puede darse mediante una adición controlada de peróxido de hidrógeno o de un compuesto carbonáceo, como la celulosa ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$)⁷⁻⁹. En el proceso del tratamiento térmico (1050 °C-2.5h), se volatiliza la celulosa (proporcionando los espacios tubulares que ayudan a la vascularización del implante) y se completa la cristalización de la hidroxiapatita. Toda traza de nitrato o de amonio se volatilizan también en el transcurso del tratamiento térmico.

En el presente trabajo se obtuvieron muestras de HAP con adiciones de 8, 16, 24, 32 % de celulosa y fueron caracterizadas por DRX, FTIR, AAS y SEM. Se compararon además dichos resultados con los obtenidos a partir de hueso calcinado a 1050 °C durante 2.5 h, extraído de tibia de canino con el objeto de evaluar su posible aplicación como material de implante.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Las muestras de HAP se obtuvieron de reactivos analíticos. Se utilizaron recipientes plásticos cerrados y agitador (700 rpm) con aspas recubiertas de resina de poliéster, con el objeto de evitar contaminación metálica. Como base de cálculo se tomaron 20 g de HAP. Los pesos de los compuestos, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Pesos de los compuestos para la síntesis de hidroxiapatita

Compuesto	Peso molecular	Pureza, %	Peso, g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236.15	98	47.018
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	115.03	99	13.880

Tanto el fosfato de amonio y el nitrato de calcio se prepararon disolviendo las cantidades citadas para 1800 cm³ y 3000 cm³ respectivamente, incluyendo la adición de amoníaco necesaria para un pH ~12. Los parámetros de proceso se ilustran en la tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de proceso para obtención de la HAP

Proceso	Proceso	Parámetro
Reacción		1 h
Maduración	Agitación	24 h
	Reposo	24 h
	Separación supernatante	0,3 h
Primer Lavado	Adición de agua	0,2 h, 3000 cm ³
	Agitación	12 h
	Reposo	18 h
Segundo Lavado	Separación supernatante	0,3 h
	Adición de agua	0,2 h, 3000 cm ³
	Agitación	12 h
	Reposo	18 h
	Separación supernatante	0,3 h

Al precipitado final obtenido se determinó el porcentaje de sólidos con base entre el peso en húmedo y en seco. Este, se fraccionó en cuatro partes iguales y se adicionó celulosa en cantidades de 8, 16, 24 y 32% respectivamente, tomando como base el porcentaje de sólidos previamente calculado.

Los análisis *XRD* se realizaron en difractómetro Bruker, modelo D8 Advance, con cátodo de cobre ($\lambda=1.5406 \text{ \AA}$). Los ensayos de composición química se hicieron por absorción atómica. Las determinaciones *SEM* se realizaron en microscopio elec-

Tabla 4. Corrimientos (ángulos 2θ) de las muestras de HAP y hueso calcinado con relación al estándar de Brindley-Brown³¹

Pico	2θ HAPt	2θ Hueso calc	2θ Std	Corrimiento HAPt-Std	Corrimiento Hueso-Std	d hkl A°	plano hkl
1	31.986	31.840	31.774	0.212	0.066	2.814	211
2	33.119	33.000	32.902	0.217	0.098	2.72	300
3	32.405	32.282	32.197	0.208	0.085	2.778	112
4	49.696	49.567	49.469	0.227	0.098	1.841	213
5	26.085	25.944	25.879	0.206	0.065	3.44	002
6	34.273	34.120	34.049	0.224	0.071	2.631	202
7	40.017	39.884	39.819	0.198	0.065	2.262	310
8	46.915	46.778	46.713	0.207	0.065	1.943	222
9	50.705	50.594	50.494	0.211	0.100	1.806	321
10	29.141	29.002	28.967	0.174	0.035	3.08	210
11	51.482	51.373	51.285	0.197	0.088	1.78	410
12	53.407	53.250	53.145	0.255	0.105	1.722	004
Media				0.21	0.08		
Desv. Std				0.019	0.021		

Como puede observarse, el corrimiento de los picos es aproximadamente constante, de 0.21° para la HAP y 0.08° para el hueso calcinado, prácticamente con la misma desviación estándar (0.020°).

El cálculo realizado con el *software* "TREOR-PYRUM" a partir de los datos obtenidos de los difractogramas indicó una buena correlación

con los parámetros teóricos citados en el estándar anterior. Las estructuras cristalinas encontradas para ambas muestras corresponden al sistema hexagonal. Para evaluar el posible efecto por descalibración del equipo se corrigieron en 0.21° los ángulos 2θ para la HAP y en $0,08^\circ$ para el hueso calcinado, obtenidos de la tabla anterior. Los resultados se encuentran en la tabla 5.

Tabla 5. Parámetros de red (sistema hexagonal) de las muestras de HAP y hueso calcinado, sin corregir y corregidos, calculados por el software TREOR-PYRUM. Se citan además los datos teóricos y los números de méritos M_{20} , M_{30} y M_{38}

	HAP	Hueso calc	HAP- 0.21°	Hueso calc- 0.08°
a _{calc} , A°	9.390	9.408	9.420	9.423
a _{teor} , A°	9.418	9.418	9.418	9.418
a _{error} , %	-0.30	-0.11	+0.02	+0.05
c _{calc} , A°	6.846	6.871	6.882	6.887
c _{teor} , A°	6.884	6.884	6.884	6.884
c _{error} , %	-0.55	-0.19	-0.03	+0.04
Líneas observadas	38	38	38	38
Líneas calculadas	42	45	46	47
M ₂₀	10	22	47	47
M ₃₀	9	21	41	38
M ₃₈	6	17	18	23

La figura 3 ilustra los corrimientos de los picos de ambas muestras con respecto al estándar citado.

Como se sabe, una buena correlación con los datos experimentales, se valora con un M_{20} entre 10 a 20. Por

tos aumentó de una manera bastante notoria. Este resultado da idea sobre la influencia de una posible descalibración del equipo en la determinación de la cristalinidad, aunque bien puede atribuirse a ligeras variaciones en la estequiometrías de las muestras.

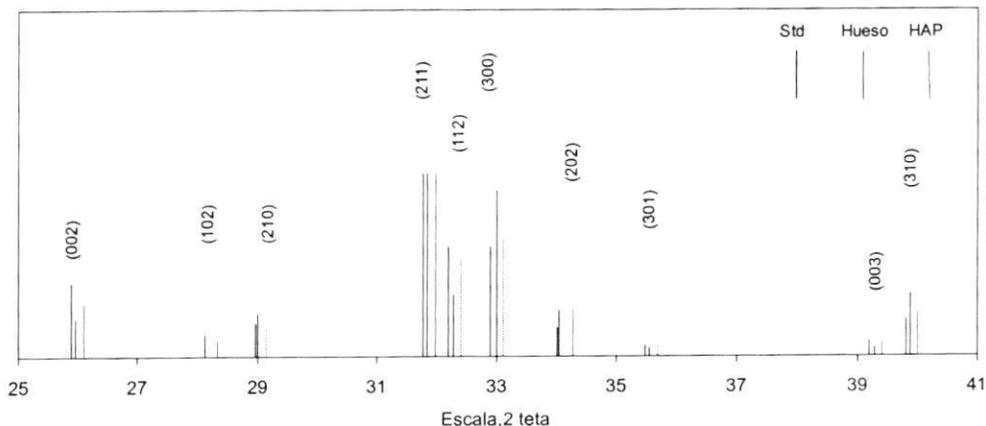


Figura 3. Corrimiento de los picos hkl de las muestras de hidroxiapatita (HAP) y hueso calcinado a 1050 °C con relación al estándar de Brindley-Brown

esto, la cristalinidad del hueso calcinado es un poco mayor que la obtenida con la HAP, por los mayores valores encontrados de M_{20} , M_{30} y M_{38} y el menor porcentaje de error con relación a los parámetros de red teóricos. Sin embargo, debe anotarse que ambas muestras tienen alta cristalinidad ya que la variación en los parámetros de red es menor al 1%. La corrección de 0.21° y 0.08° para los difractogramas de HAP y hueso calcinado, disminuyó el error en los parámetros de red a valores inferiores al 0.06% y la calificación por mérito

3.2 Análisis FTIR

Los resultados *FTIR* de las muestras de HAP y hueso calcinado aparecen en las figuras Nos. 4 y 5 respectivamente. En ambas muestras se encuentran fosfatos con trazas de nitratos y agua. En el hueso calcinado, aparte de los anteriores se encuentran carbonatos. Es muy probable que la presencia de estas especies se deba a la adsorción física a partir de la atmósfera.

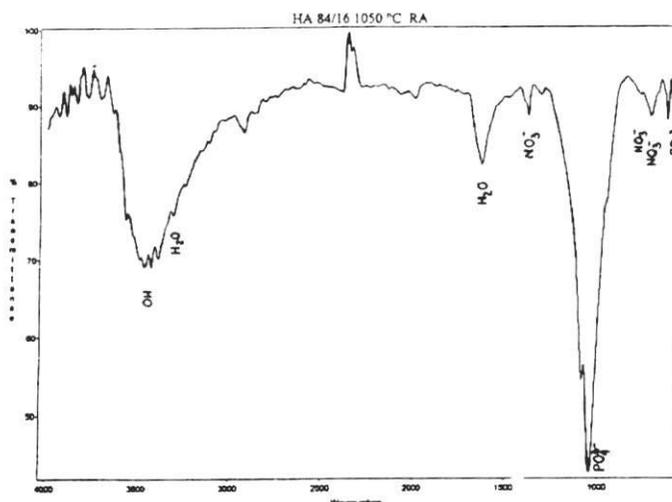


Figura 4. Espectro de infrarrojos obtenido para la muestra de hidroxiapatita

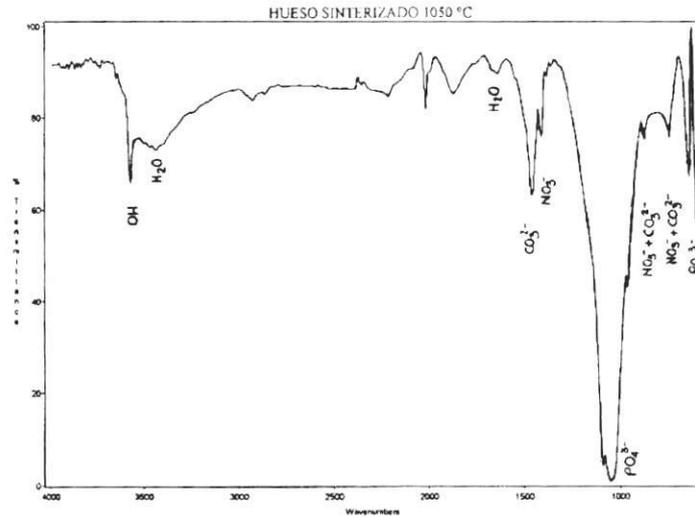


Figura 5. Espectro de infrarrojos de la muestra de hueso sinterizado a 1050 °C

3.3 Composición química

Los contenidos de Ca y P para las muestras de HAP y hueso calcinado, son muy similares entre sí. Sin embargo, se evidencian desviaciones importantes, sobre todo en el contenido de fósforo, cuando se comparan con el contenido teórico según la fórmula estequiométrica - $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ - o al rango de composiciones reportados para el esmalte dental, esencialmente 97% de Hidroxilapatita (Elliott¹⁰). La tabla 6 ilustra esas diferencias.

madamente al tipo $3.2\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$ (Tabla6). Según los análisis químicos reportados debería encontrarse en ambas muestras presencia muy importante de fosfatos dicálcicos ($2\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$) y tricálcicos ($3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$), correspondiendo aproximadamente al $2.4\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$ para el caso de la muestra de HAP y $2.3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$ para el hueso calcinado.

Puesto que según el análisis XRD en ninguna de las muestras se detectaron picos de los fosfatos monocálcicos a tetracálcicos, es de suponerse que la varia-

Tabla 6. Comparación entre los contenidos de calcio y fósforo para las muestras de HAP y hueso calcinado con los contenidos teóricos estequiométricos y los reportados para el esmalte dental

	HAPt Trabajo	Hueso Calcinado	Hidroxiapatita Fórmula	Esmalte dental ^s /Elliott ³⁰
Ca, %	34.7	34	39.889	33.6-39.4
P, %	21	23.8	18.511	16.1-18
Ca/P, mol/mol	1.277	1.104	1.665	1.50-1.68
CaO/P ₂ O ₅ , mol/mol	2.4	2.3	3.2	

Como se sabe, la hidroxiapatita a temperaturas mayores de 1450 °C se descompone en una mezcla de fosfatos tricálcicos y tetracálcicos⁴ correspondiendo aproxi-

ción encontrada en el contenido de calcio y de fósforo muy posiblemente se deba a las curvas de calibración con que se reportaron los análisis de adsorción atómica.

3.4 Microscopía electrónica de barrido

En las figuras 6 y 7 se muestran diferentes fotografías SEM de las muestras de HAP sintéticas a diferentes porosidades. Los aumentos se calcularon de las dimensiones de la regla en la parte inferior derecha de la foto. Como es de suponerse, la porosidad aumenta con la mayor adición inicial de celulosa y se encuentran tanto espacios tubulares de 4 a 14 μm de diámetro como regiones cavernosas hasta de 50 μm de diámetro, causados por agrupación no homogénea de

fibras de celulosa, en el mismo proceso de coprecipitación en el filtrado de las muestras.

Las microscopías SEM de las muestras de hueso sinterizado (figuras 8 y 9) muestran espacios tubulares entre 3 a 10 μm de diámetro, rodeadas por una matriz muy porosa de pequeños cristales hexagonales de hidroxiapatita, dispuestos en arreglos muy compactos. La distancia entre los poros es aproximadamente 10 μm . Los espacios tubulares se observan tanto en las vistas de planta como de corte.



Figura 6. Microscopía SEM de la muestra de HAP con 24% de adición de celulosa. Observación a 1000 X. Vista en corte

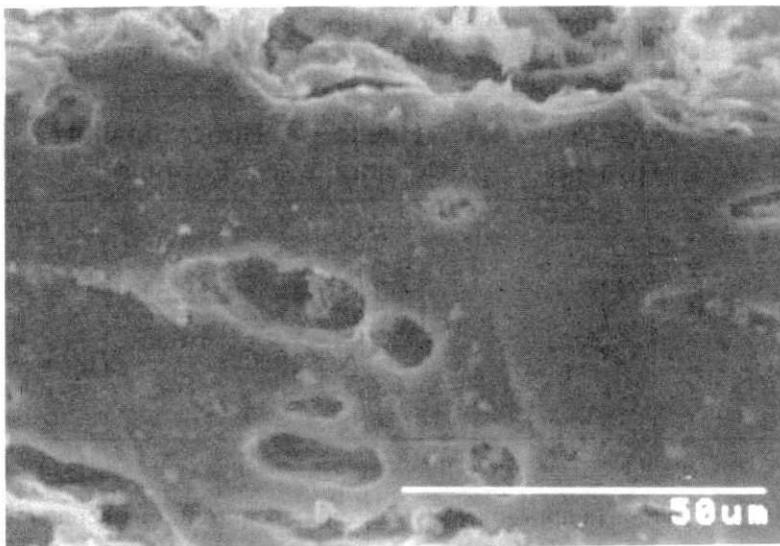


Figura 7. Microscopía SEM de la muestra de HAP con 16% de adición de celulosa. Observación a 1000 X. Vista en corte

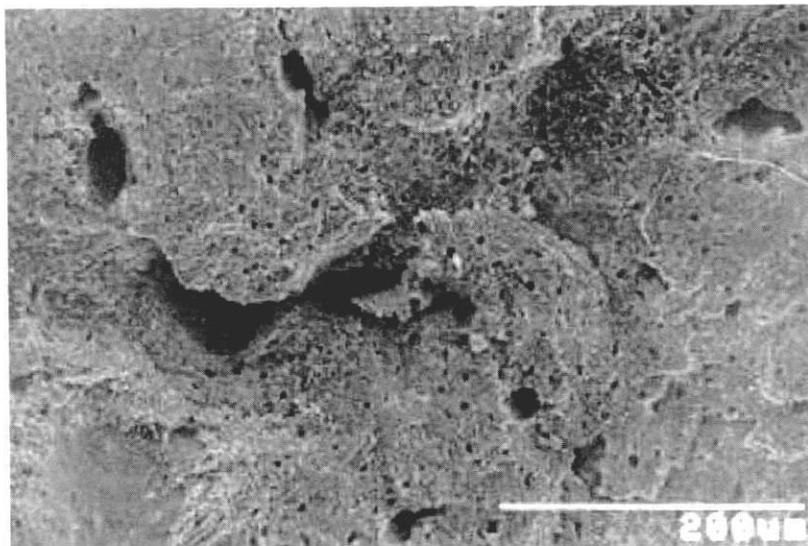


Figura 8. Microscopía SEM de la muestra de hueso calcinado a 1050 °C Observación a 200 X. Vista en planta

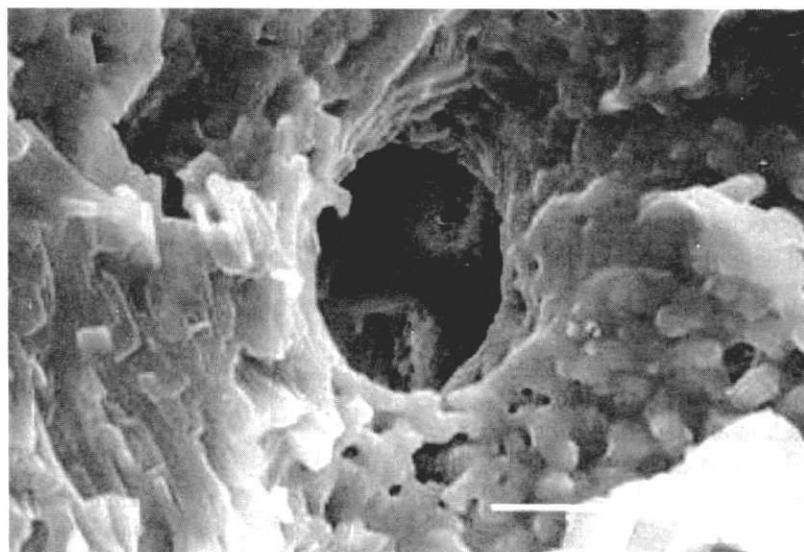


Figura 9. Microscopía SEM de la muestra de hueso calcinado a 1050 °C Observación a 2000 X. Vista en corte

4. CONCLUSIONES

Tanto las muestras de HAP sintética como la del hueso calcinado tienen alta cristalinidad, con muy poca (o ninguna) presencia de fosfatos de calcio del tipo mono, di, tri o tetracálcico.

Los ensayos FTIR mostraron abundante presencia de fosfatos, tanto en las HAP como en las del hueso calcinado y en menor cantidad nitratos y agua. La pre-

sencia de éstos últimos, puede deberse muy posiblemente a su adsorción física a partir de la atmósfera. La presencia de carbonatos es apreciable en el hueso calcinado.

Los ensayos de composición química son similares en las muestras de HAP y hueso calcinado, sin embargo, los contenidos de fósforo son mayores que los teóricos, posiblemente debido a desajuste en las curvas de calibración.

La morfología de los poros atrapados en la HAP varía desde espacios tubulares aislados hasta regiones cavernosas de dimensiones mayores, mostrando alta rugosidad. Los poros (“osteones”) presentes en el hueso calcinado son aproximadamente cilíndricos, distribuidos tanto transversal como longitudinalmente distribuidos en una matriz que muestra muy pequeños cristales hexagonales de hidroxilapatita en agregados que muestran muy alta rugosidad.

Las muestras de HAP sintéticas exhiben características similares a las del hueso calcinado, en cuanto estructura cristalina, composición química y adsorción de especies. Las muestras que se aproximan a la porosidad del hueso calcinado son las que se procesaron con 16 y 24% de celulosa.

En general, las muestras de HAP y hueso calcinado exhiben características muy similares.

5. RECOMENDACIONES

Es importante utilizar estándares internos de cuarzo (SiO_2) en las muestras a analizar por DRX, para definir si los corrimientos con respecto al estándar citado son debidos a descalibración del equipo o a variaciones estequiométricas.

En las pruebas para el ensayo FTIR es necesario comparar las muestras almacenadas en recipientes sellados con unas expuestas a la atmósfera para determinar si realmente hay adsorción de contaminantes atmosféricos.

Es necesario patronar el equipo de espectrometría AAS con estándares analíticos del fosfato tricálcico y tetracálcicos, con el objeto de asegurar composición química.

Es interesante profundizar sobre el modo de cristalización natural de la hidroxiapatita en el hueso para tratar de aplicarla a la síntesis de las muestras.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al CODI y al Centro de Investigaciones Ambientales y de Ingeniería por la financiación del proyecto y al equipo de trabajo de Catalizadores y Adsorbentes por su colaboración en el manejo de los datos de Difracción de rayos X.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] ARITA, I. “Chemistry and sintering behaviour of thin hydroxyapatite ceramics with controlled porosity”. *Biomaterials*. Vol 16 No. 5, 1995, p. 403-408.
- [2] DEGROOT, K. “Calcium hydroxylapatite”. *The Journal of Oral Implantology*. Vol. 12 No. 3, 1986, p. 485-489.
- [3] LACEFIELD, W. “Characterization of Hydroxyapatite Coatings”. *The Journal of Oral Implantology*, Vol 20 No. 3, 1994, p. 214-219.
- [4] NEWSELY, H. “High temperature behaviour of hydroxy-and fluorapatite”. *The Journal of Oral Rehabilitation*, Vol 4, 1997, p. 97-104.
- [5] PARKS, J and LAKES, R. *Biomateriales. An Introduction*. New York. 2ª Ed., 1992.
- [6] ROOTARE, H. “Characterization of hydroxyapatite powders and compacts at room temperature and after sintering at 1200°C”. *Journal of Oral Rehabilitation*. Vol. 5 1978, p. 293-307.
- [7] CARDONA, J.J. *Obtención y caracterización de hidroxilapatita sintética*. Universidad de Antioquia, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Metalúrgica y Materiales, Medellín, 1997
- [8] GIRALDO, A.E. *Caracterización de muestras coral tratadas con fosfato de amonio por las vías hidrotermal y piro-térmica*. Universidad de Antioquia, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Metalúrgica y Materiales. Medellín 1997
- [9] RIAÑO, C. *et al.* “Descripción de las características osteointegradoras de la hidroxilapatita derivada de corales marinos”. Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Medellín. 1998
- [10] ELLIOTT, J.C. y WILLIAMS, R.A.D. “Bioquímica dental básica y aplicada”. Manual Moderno. S.A. de C.V. México. D.F. 2ª Ed. 1990
- [11] BRINDLEY, G. W. and BROWN, G. “*Crystal Structures of Clay Minerals and their X-Ray identification*”. Mineralogical Society. London. 1980