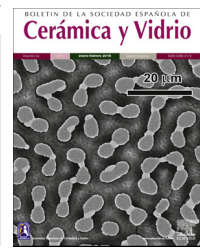




BOLETIN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
**Cerámica y Vidrio**

www.elsevier.es/bsecv



## Elaboración de un cemento óseo de fosfato de calcio con una adición de biovidrio



Erwin Ciro\*, Natalia Zapata y Esperanza López

Departamento de Ingeniería Materiales y Grupo de Investigación en Materiales y Recubrimientos Cerámicos (GIMACYR), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 19 de septiembre de 2014

Aceptado el 3 marzo de 2015

Palabras clave:

Cementos óseos

Fosfato tricálcico alfa

Biovidrio

Bioactividad

Pruebas in vitro

### R E S U M E N

Un cemento óseo se sintetizó a partir  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{CaHPO}_4$ , en un tratamiento térmico a  $1.400\text{ }^\circ\text{C}$ , el material sintetizado fue enfriado rápidamente, con un chorro de aire. El cemento óseo fue mezclado con biovidrio en un 10% en peso (BC-10BG) y luego molido y caracterizado mediante Distribución de Tamaño de Partícula (DTP), Difracción y Fluorescencia de rayos X (DRX y FRX). La mezcla, cemento-biovidrio, y el cemento sólo fueron caracterizados físicomecánicamente con pruebas de resistencia a la compresión, microdureza, tiempo de cohesión y fraguado. Con el fin de observar tendencias a la precipitación en los estudios *in-vitro*, se evaluaron adicionalmente otras dos composiciones con biovidrio del 5 y del 15% en peso, por DRX, SEM y FTIR-ATR. Las fases cristalinas encontradas inicialmente corresponden en el cemento óseo al  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP,  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  y  $\text{CaHPO}_4$ , por su parte en el biovidrio se detectó, en una parte de su estructura cristalina, la fase whitlockita. En términos físicos, los tiempos de manipulación y las propiedades mecánicas corresponden a un cemento para el relleno de cavidades óseas. Las pruebas *in-vitro* mostraron un efecto bioactivo progresivo conforme aumenta el tiempo de exposición.

© 2015 Sociedad Española de Cerámica y Vidrio. Publicado por Elsevier España, S.L.U.

Este es un artículo Open Acces distribuido bajo los términos de la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### Elaboration of bone calcium phosphate cement with an addition of bioglass

#### A B S T R A C T

Bone cement is synthesized using  $\text{CaCO}_3$  and  $\text{CaHPO}_4$ , in a thermal treatment at  $1400\text{ }^\circ\text{C}$ . The mixture was rapidly cooled with a stream of forced air; bone cement was mixed with 10%wt. Bioglass (BC-10BG) later milled and characterized milled and characterized by Particle Size Distribution (PSD), X-ray diffraction and fluorescence (XRD and XRF). The mixing (Bone cement-Bioglass) and bone cement alone were characterized physic-mechanically through testing compressive strength, microhardness, cohesive and setting times; in order to see precipitation trends were carried out *in-vitro* tests. Additionally, two compositions more of bioglass (5 and 15% wt.) were evaluated by XRD, SEM and FTIR-ATR.

Keywords:

Bone cements

Tricalcium phosphate alpha

Bioglass

Bioactivity

In vitro tests

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [erwinciro@gmail.com](mailto:erwinciro@gmail.com) (E. Ciro).

The crystalline phases of  $\alpha$ -TCP y  $\beta$ -TCP,  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  y  $\text{CaHPO}_4$  were related to bone cement and whitlockita phase was in agreement with bioglass in one part of its crystalline structure. Physically handling times and the mechanical properties correspond to bone cement for filling cavities. The in-vitro tests showed a progressive bioactive effect with increase the exposition time.

© 2015 Sociedad Española de Cerámica y Vidrio. Published by Elsevier España, S.L.U.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introducción

Las fracturas en el sistema óseo ocurren regularmente debido a esfuerzos excesivos, accidentes y al debilitamiento del mismo tejido como consecuencia de enfermedades que comprometen la movilidad y la salud del paciente. Sin embargo, el uso de nuevos materiales biocompatibles promotores de hueso, que contrarresten comportamientos perjudiciales como la desmineralización [1], están tomando lugar con mucho más fuerza. Los fosfatos de calcio fueron empleados inicialmente para el mantenimiento de hueso en 1920 por F. Albee, pero sólo hasta 1980 se usaron como material cementante para la osteoregeneración por parte de Brown y Chow, el cual consistía en un material moldeable que se endurecía por sí solo, donde simultáneamente ocurría una reacción de precipitación. Dichos cementos fueron empleados entonces para el relleno de cavidades maxilofaciales, donde la morfología del material sintetizado cambió, pasando de bloques y gránulos a un estado viscoso, con el fin facilitar la implantación del material a las formas heterogéneas de las lesiones [2].

Por otro lado, la síntesis del cemento óseo ha sido realizada principalmente por dos procesos, los cuales son el sol-gel y los tratamientos térmicos [3]. Hay que tener en cuenta que el proceso de obtención del cemento óseo es muy sensible a la formación de dos tipos de fases durante la síntesis, las cuales son la fase  $\alpha$  y  $\beta$  de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , aunque ambas fases sean biocompatibles, su solubilidad difiere respecto a su cristalografía, siendo la solubilidad mayor para la estructura monoclinica (fase  $\alpha$ , estable  $> 1.125$  °C) que para la romboédica (fase  $\beta$ , estable  $< 1.125$  °C) [4]. Por ello, en este trabajo fueron escogidos los tratamientos térmicos con el fin de controlar la fase  $\alpha$  y evitar contaminaciones químicas por parte de precursores.

La osteointegración o la integración de compuestos al hueso ocurre a través de un mecanismo de disolución del biomaterial, donde partículas de  $\alpha$ -TCP liberan desde su superficie más externa iones de calcio y fosfato hasta los alrededores más próximos. De esta manera, el progreso de la disolución conlleva a la precipitación del compuesto más insoluble en un medio sobresaturado de dichos iones [5]. De acuerdo a las condiciones de pH y relaciones de calcio-fósforo, los compuestos pueden ser PHA (hidroxapatita precipitada;  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  – pH  $> 4,2$ ) y brushita DCPD (dihidrato de fosfato dicálcico;  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – pH  $< 4,2$ ) [6,7].

El estudio de materiales que regulen los fenómenos de la resorción del  $\alpha$ -TCP, enfocados a la bioactividad, ha tomado lugar en los últimos años, mostrando no solo interés en determinar las características intrínsecas del material, sino también el efecto de las adiciones sobre el material base [8,9]. De

esta manera, biocerámicos vítreos han demostrado en diferentes estudios la capacidad de regular la liberación de iones de calcio y contribuir con la formación de tejido óseo nuevo en cementos óseos [10,11]. Sin embargo, hasta ahora continúan algunos cuestionamientos, como el efecto sobre las propiedades mecánicas, el efecto de diferentes composiciones de biovidrios y la tasa de liberación de iones, etc.

En esta investigación se elaboró un cemento óseo de fosfatos de calcio alfa ( $\alpha$ -TCP), siguiendo la tasa de calentamiento de L. Asensio en 2004 [12] y adicionando una cantidad de biovidrio ( $31\text{SiO}_2-56\text{CaO}-2\text{MgO}-11\text{P}_2\text{O}_5$ ) en una proporción de 10% en peso, para comprobar el mejoramiento de la bioactividad. Se realizaron pruebas de caracterización como difracción de rayos X (DRX), Fluorescencia de rayos X (FRX), microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía infrarroja (IR). Adicionalmente se hicieron pruebas de caracterización física como evaluación del tiempo de cohesión y de fraguado, resistencia a la compresión y medición de la porosidad. Por último, para determinar el comportamiento bioactivo (tendencia de precipitación de apatitas) del cemento óseo y biovidrio como adición (adiciones de 5, 10, 15% en peso) fueron realizadas pruebas *in vitro* en una solución SBF (Fluido Corporal Simulado).

## Metodología

### Síntesis del cemento óseo de $\alpha$ -TCP

Los polvos de hidrógeno fosfato de calcio ( $\text{CaHPO}_4$ ; Sigma, ref. C7263) y carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ; Merck, ref. 102059) fueron mezclados en un molino centrífugo marca S1000 Restch con 3 cuerpos molidores esféricos de circonia (esferas de 2,5 cm diámetro aprox.) por 5 min a 170 rpm, para garantizar la integración homogénea de los polvos. Luego se realizó un el tratamiento térmico propuesto por L. Asensio en 2004 [12], que consiste en un calentamiento hasta 1.400 °C, con un tiempo total de calentamiento de 15 horas y donde se involucra un sobrefriamiento rápido por medio de un chorro de aire, en aras de obtener la fase metaestable  $\alpha$  a temperatura ambiente. Este proceso se hizo por siete veces bajo las mismas condiciones, para garantizar una reproducibilidad en los resultados y obtener suficiente cantidad de material para todos los experimentos y ensayos de caracterización.

Al cemento óseo y al biovidrio se les hizo Distribución de Tamaños de Partículas (DTP) en un equipo marca Master Sizer 2000 E con accesorio Hydro 2000; Difracción de Rayos X (DRX) en un equipo marca PANalytical de referencia EMPYREAN con una fuente de radiación de cobre ( $\text{CuK}\alpha$ ,  $\lambda = 1.540598$  Å); operando a 45 kV y 40 mA. El espectro del cemento óseo se

detectó en un rango  $2\theta$  entre 0 y  $55^\circ$ , y un paso de  $0,05^\circ/\text{min}$ . Para determinar la composición química se empleó un FRX-WD (Fluorescencia de rayos X de Onda Dispersiva) con un espectrómetro de marca Thermo Scientific usando una fuente de rodio.

#### *Síntesis del biovidrio y mezcla del cemento óseo-biovidrio*

El biovidrio suministrado se sintetizó siguiendo los métodos planteados por M. Monsalve [13], calentando a  $1.600^\circ\text{C}$  por 6 horas diferentes mezclas de  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{MgO}$  y  $\text{P}_2\text{O}_5$ , y vitrificados rápidamente en agua (reactivos de marca Alfa Aesar). El cemento óseo fue mezclado con una proporción de 10% en peso de biovidrio (BC-10BG) para estudiar su comportamiento físico y químico (bioactivo). Adicionalmente, dos composiciones más de biovidrio (5 y 15% en peso) en el cemento óseo fueron evaluadas sólo desde el punto de vista bioactivo, con el fin de determinar una tendencia de precipitación.

La relación Líquido/Polvo (L/P) utilizada para la mezcla del cemento óseo y el biovidrio fue de 0,32, con el fin de obtener una fluidez y consistencia adecuada. La mezcla con la fase líquida tuvo lugar en un mortero a temperatura ambiente durante 1 min. Posteriormente, la pasta cerámica fue moldeada en probetas cilíndricas para evitar su desintegración durante el desmoldeo.

#### *Comportamiento físico del cemento óseo-biovidrio*

El tiempo de fraguado fue evaluado usando la norma ASTM 266-08, implementando una adaptación respecto a la cantidad de cemento empleado. Para hallar el tiempo de cohesión, las probetas elaboradas fueron expuestas a la solución SBF (Fluido Fisiológico Simulado) a  $37^\circ\text{C}$  hasta su desintegración estructural. En cada prueba fueron empleadas 3 probetas de cada una de las composiciones de 0% y 10% de biovidrio. La nomenclatura empleada: BC-0BG corresponde a la composición sin biovidrio y BC-10BG es la que contiene 10% de biovidrio.

Para evaluar la porosidad, se preparó superficialmente una probeta de cada composición, posteriormente se tomaron 20 imágenes usando un microscopio óptico de luz reflejada marca Olympus BX41 y estas imágenes fueron analizadas utilizando el Software Image J. El porcentaje de porosidad fue tomado siguiendo las indicaciones de la norma ASTM E 2109-01.

La resistencia a la compresión fue medida en una máquina universal de ensayos marca DIGIMESS®, empleando una velocidad de aplicación de carga de  $5\text{ mm}/\text{min}$  a 4 probetas de dimensiones  $12 \times 24\text{ mm}$  (ancho  $\times$  largo). Debido a la ausencia de una norma específica para este tipo de cementos, se emplearon algunos parámetros de la norma ASTM F451-08 para cementos óseos de acrílico, tales como los procedimientos de manipulación, mezcla de los polvos con la fase líquida y la relación de aspecto de las probetas. Por otro lado, la microdureza fue realizada en un microdurómetro marca Zwick/Roell Referencia ZHV $\mu$ , con 25gf (0,245 N) de carga, un tiempo de sostenimiento de 15 s y un indentador tipo Vickers. Los ensayos fueron repetidos 20 veces sobre probetas fraguadas de BC-0BG y BC-10BG.

#### *Comportamiento bioactivo del cemento óseo-biovidrio*

La bioactividad del cemento óseo y sus adiciones fueron evaluadas exponiendo las probetas a un proceso de incubación en la solución SBF propuesta por Kokubo y otros [14], a  $37^\circ\text{C}$  durante 1 y 15 días; con movimientos cíclicos translacionales. Luego de finalizar la prueba, las probetas fueron retiradas a un desecador para las posteriores evaluaciones en Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), utilizando un equipo JEOL JSM 6490 LV.

Además para determinar los grupos funcionales, después de la exposición a la solución SBF, fue realizada una prueba de espectrometría infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) marca IR Prestige-21/FTIR-8400S. Finalmente, para complementar este resultado fue realizada la valoración del pH en la reacción de fraguado, por medio de un pH-metro Mettler Toledo MP 220, la medición se hizo cada 3 segundos durante 30 min.

---

## **Análisis de resultados**

#### *Caracterización de la materia prima*

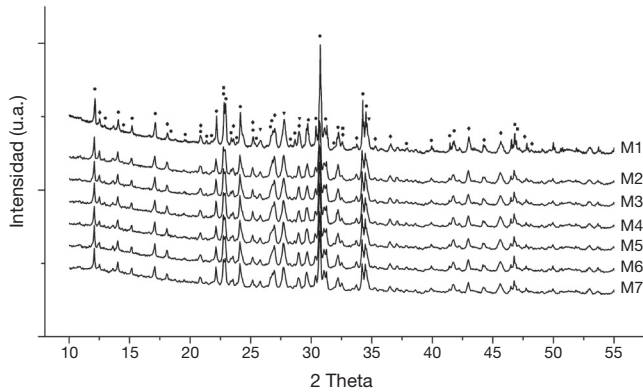
A los polvos de partida  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{CaHPO}_4$  se les realizó DTP, para comprobar su estado inicial antes de ser homogenizados y sinterizados. Dichos polvos mostraron una distribución trimodal y bimodal con tamaños entre  $10,59\text{-}40,18\ \mu\text{m}$  y  $2,50\text{-}32,88\ \mu\text{m}$ , respectivamente. Lo anterior permitió suponer que dichos rangos de tamaños eran los adecuados para promover la reacción de sinterización, evitando procesos de molienda adicionales. Así mismo, los resultados de las pruebas de Difracción de Rayos X (DRX) para los anteriores compuestos mostraron concordancia con los espectros del  $\text{CaHPO}_4$  y  $\text{CaCO}_3$ , responsables de la formación de los cementos óseos de  $\alpha$ -TCP en el tratamiento térmico.

#### *Caracterización del cemento óseo y biovidrio*

##### *Cemento óseo*

El cemento óseo de  $\alpha$ -TCP fue sintetizado por reacción en estado sólido, se le realizó un tratamiento térmico y posteriormente una molienda a un tiempo de 10 min a 250 rpm bajo las condiciones expuestas en la sección «Síntesis del cemento óseo de  $\alpha$ -TCP». El rango de tamaño de partícula obtenido en la DTP estuvo entre  $2,02\ \mu\text{m}$  y  $32,88\ \mu\text{m}$ , lo cual indica que el proceso de molienda fina fue eficaz y que las partículas presentan un rango adecuado para la posterior interacción con la fase líquida.

Con el DRX fue posible apreciar la fase alfa en las siete síntesis realizadas (fig. 1). Los espectros obtenidos muestran una similitud en la fase  $\alpha$  del fosfato tricálcico (01-070-0364, X-highScore plus (Xhsp)), los cuales están relacionados al sistema cristalino monoclinico P21/a. Adicionalmente, se han encontrado evaluaciones similares con este tipo de técnicas donde patrones asociados al  $\beta$ -TCP (romboedro-R3C, 00-009-0348(Xhsp)) coinciden o están solapados por la fase  $\alpha$  en los ángulos  $2\theta$ : 17,13, 21,98, 32,51, 34,54, 36,56, 39,98. Lo anterior ocurre debido principalmente al polimorfismo que guardan



**Figura 1 – Difracción de rayos X de control de las 7 muestras sintetizadas de cemento óseo en un rango de 0 a 55 para el ángulo  $2\theta$  (●  $\alpha$ -TCP, ▼  $\beta$ -TCP, ◆  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , ■  $\text{CaHPO}_4$ ).**

las fases de TCP. Así mismo, patrones relaciones al  $\beta$ -TCP también fueron encontrados. Todo lo anterior es atribuido al método de síntesis del cemento óseo, donde los gradientes de temperatura involucrados en el enfriamiento promueven la reversión de la fase  $\alpha \rightarrow \beta$ , la cual es estable a temperatura ambiente [4,15]. Pese a lo anterior, la bioactividad del cemento óseo no se ve afectada, ya que esta fase polimorfa ofrece características similares; a pesar que difieran respecto a la solubilidad, densidad y parámetros de red. Para este estudio en particular, la fase  $\beta$  toma lugar explícitamente en los ángulos  $2\theta$ : 25,85, 27,76, 29,04, 34,68°.

Adicionalmente otras fases remanentes con intensidades menores fueron encontradas (fig. 1) asociados al  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  - Pirofosfato de calcio - (romboedral, 00-009-0345(Xhsp)) [ángulos  $2\theta$ : 12,52, 18,15, 20, 85, 23,55, 25,24, 27,05, 29,04, 32,59, 33,75, 35,37, 36,58, 43,01, 44,3, 45,65, 47,59, 49,72] y  $\text{CaHPO}_4$  - fosfato de calcio dibásico - (01-072-1137 (Xhsp)) [ángulos  $2\theta$ : 32,59, 44,86, 44,94°].

Los cementos óseos de  $\alpha$ -TCP presentan nominalmente una relación molar de Ca/P de 1,50, sin embargo este parámetro resulta tener una alta sensibilidad a las condiciones del procesamiento, en consecuencia, el tiempo que tarda el cemento en descomponerse en presencia del SBF y obtenerse la precipitación de la hidroxiapatita, se ven relativamente modificados [16]. Con respecto a la pureza del compuesto, a través de una prueba de FRX fue posible establecer que el cemento óseo sintetizado muestra un 98,76% de pureza donde el 52,58% es CaO y 46,18% es  $\text{P}_2\text{O}_5$  en peso, los cuales son proporciones aproximadas a la composición indicada por el diagrama de fases del sistema  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$  para obtener el  $\alpha$ -TCP. La relación molar Ca/P obtenida para este biomaterial fue 1,45 (tabla 1).

#### Biovidrio

El biovidrio utilizado en este estudio fue suministrado por M. Monsalve, el cual presenta características que difieren a la de los biovidrios tradicionales ( $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ ) [10], es así como el biovidrio sintetizado contiene una proporción de 2% y 56%

**Tabla 1 – Composición elemental del fosfato tricálcico**

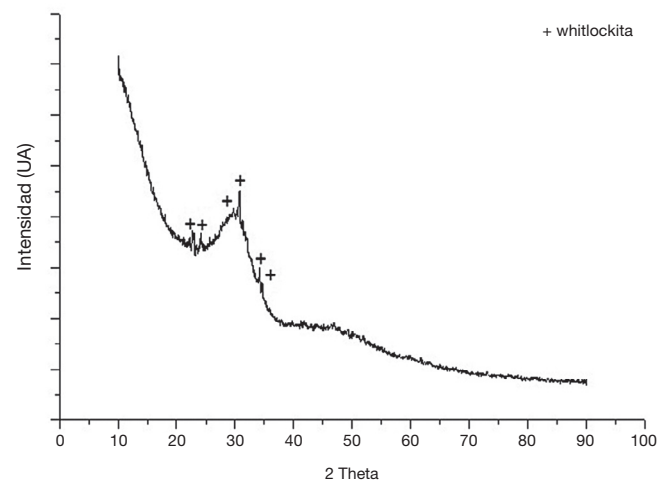
	Ca	P	Relación Ca/P
% peso	37,77	20,15	1,45
Moles	0,94	0,65	

**Tabla 2 – Comparación entre la composición teórica y experimental del biovidrio  $31\text{SiO}_2\text{-56CaO-2MgO-11P}_2\text{O}_5$**

Compuesto	Composición (%molar)	$\text{SiO}_2$	CaO	MgO	$\text{P}_2\text{O}_5$	Otros
Biovidrio	Teórico	31	56	2	11	0
	Experimental	31,19	55,84	2,26	10,71	0

molar de óxido de magnesio y óxido de calcio, respectivamente. Las anteriores proporciones fueron suministradas convenientemente con la intención de propiciar una mayor respuesta osteogénica, pues como ha sido bien documentado el MgO y el CaO en relaciones adecuadas promueven el crecimiento de tejido óseo [17]. Para determinar la composición química del biovidrio adicionado al cemento óseo de  $\alpha$ -TCP, se llevó a cabo una prueba de FRX (tabla 2). A partir de este resultado se puede deducir que las variaciones en la composición experimental respecto a la composición teórica del biovidrio suministrado son mínimas, lo que lleva a pensar que durante la síntesis no hubo alteraciones estequiométricas.

El rango de tamaño en el que se encuentran los cerámicos vítreos suministrados para este trabajo fue determinado por una prueba de DTP, dicho rango estuvo entre 5,13 y 61,63  $\mu\text{m}$ , lo cual indica que no hubo una sobreexposición el proceso de molienda y el efecto del tamaño de las partículas del biovidrio y el cemento óseo en este caso es similar. En la figura 2 se muestra el difractograma del biovidrio, en el que aparece un



**Figura 2 – Prueba de difracción de rayos X realizado al biovidrio suministrado.**

espectro típico de compuestos amorfos o semicristalinos. Así, en medio del ruido de fondo una fase cristalina fue encontrada, la cual corresponde a la whitlockita (090348, Xhsp). En contraste a lo anterior, se presume que a pesar de la agresividad del proceso de vitrificación inducido, se presenta un porcentaje de cristalinidad remanente del 2,43%, el cual fue determinado por el software X'pert High score plus y debido a la cantidad encontrada no se compromete la estabilidad funcional del biomaterial.

### Caracterización del cemento luego del fraguado

#### Tiempo de cohesión y fraguado

Los tiempos de cohesión (TC) y fraguado (TF), reflejan tiempos en los cuales las partículas interaccionan con la fase líquida. El primer caso consiste en el tiempo que permanece el cemento estructuralmente estable hasta hidrolizarse y en el segundo, es el tiempo requerido para llevarse a cabo la reacción de endurecimiento. Normalmente, el TC resulta menor que el TF inicial, para facilitar la manipulación en el momento de ser implantado [7]. En la tabla 3 se ve tanto el TC como el de TF final de las muestras evaluadas. Los anteriores valores reflejan, que las convenciones de manipulación establecidas son respetadas, donde se espera TC y TF final sean inferiores a 5 y 15 minutos, respectivamente [18].

Por otro lado, ha ido documentado previamente por M. D. Vlad en 2012 [19], que la relación Ca/P modifica el TF final debido a la presencia de fases alternas como CCP (Pirofosfato de calcio) o TTCP (fosfato tetracálcico). Así, relaciones de Ca/P entre 1,29 y 1,50 muestran TF finales de aproximadamente 80 y 16 min respectivamente. De hecho para la primera relación Ca/P, el endurecimiento no es claro, formándose finalmente un material de textura arenosa. Se observa entonces para esta investigación que el cemento óseo con una relación Ca/P de 1,45 presenta unos tiempos TF determinados (tabla 3) y que frente a la adición de biovidrio no hay al parecer un efecto notable debido a la similitud de los resultados, confirmando los resultados de M. D Vlad en el efecto de la relación de Ca/P sobre estos tiempos. A pesar que el biovidrio presenta un comportamiento regulador de la disolución en SBF (sección «Pruebas *in vitro*») en esta etapa de mezcla y endurecimiento la solución empleada no resulta suficientemente efectiva para promover su efecto en la reacción de fraguado.

#### Porosidad

El efecto de la porosidad sobre las propiedades mecánicas y bioactivas de diferentes biocerámicas ha sido considerado permanentemente. Luego de la reacción de endurecimiento de las cerámicas sinterizadas, se esperaría que alcanzaran

propiedades mecánicas comparables a sus homólogos tradicionales que fraguan (por ejemplo cemento portland), sin embargo para los biomateriales tales como los fosfatos de calcio y HA (Hidroxiapatita), la reacción produce el efecto contrario [7]. Por otro lado, la reducción de las propiedades mecánicas es evidente frente a la porosidad debido al aumento de puntos críticos de tensión, generados en el interior del material ante un esfuerzo experimentado, este comportamiento fue comparado por S. Kwon en 2002 [20], donde probaron en espumas de HA, HA/TCP y  $\beta$ -TCP, encontrando que a medida que aumentaba la porosidad en esos tres compuestos, el esfuerzo a compresión se reducía, mostrando los mejores resultados para HA (~3 MPa).

Contrario a lo que se presenta en las propiedades mecánicas, las propiedades bioactivas comprenden otro comportamiento respecto a la porosidad interna. Es bien conocido que la presencia de la porosidad aumenta el comportamiento osteogénico, tal como la formación de vasos sanguíneos, el crecimiento y remodelación de hueso [21]. Sin embargo, lo anterior no se relaciona enteramente a la porosidad (Microporosidad + Macroporosidad), de hecho, la razón por la cual es promovida la bioactividad está asociada con la interconectividad de los poros más que por el tamaño de los mismo, siendo el proceso de fabricación determinante para alcanzar una conveniente interconectividad [22].

La porosidad obtenida en este trabajo para el cemento óseo sin biovidrio y para el cemento óseo con 10% de biovidrio (BC-0BG y BC-10BG) fue aproximadamente del 62% en ambos casos. De esta manera, se clarifica que la presencia del biovidrio no involucra un crecimiento o reducción de la porosidad, ya que depende principalmente del método de conformación del biomaterial. Por otro lado, es claro que de acuerdo a este resultado, dicho material sigue un comportamiento mecánico propio de cerámicas frágiles (siguiente sección), y una respuesta bioactiva como se muestra en «Pruebas *in vitro*».

#### Resistencia a la compresión

Las cerámicas bioactivas han sido ampliamente usadas como relleno de cavidades maxilofaciales por sus propiedades mecánicas reducidas, donde los esfuerzos a los que están sometidos no comprometen el desempeño del implante. Tal como se vio en el numeral anterior, la porosidad tiene una fuerte influencia en ellas, a pesar de su beneficio bioactivo. Sin embargo, otros parámetros tienen influencia en dichas propiedades, por ejemplo el tamaño de grano, la relación Ca/P y las impurezas remanentes, lo que genera dificultad en la comparación entre dichos biocerámicos a causa de la dispersión estadística de los resultados [23].

En cuanto a la resistencia a la compresión, se encontró que para BC-0BG y BC-10BG con un curado a condiciones estándar, el resultado obtenido fue de  $0,52 \pm 0,09$  MPa y  $0,27 \pm 0,05$  MPa, respectivamente. Al parecer, ambos resultados corresponden a un material acorde con una exigencia mecánica reducida. Algunas razones fueron mencionadas anteriormente para explicar este comportamiento, además cabe mencionar que las condiciones de humedad ya sean al interior de la muestra como en el ambiente y la presencia de las fases remanentes pueden tener una influencia directa sobre los valores de la resistencia a la compresión medidos [19,24].

**Tabla 3 – Tiempo de la reacción de cohesión y fraguado para 0% y 10% de biovidrio en el cemento óseo**

	Tiempo de cohesión (min)	Tiempo final de fraguado (min)
BC-0BG	2,08 $\pm$ 0,27	11,56
BC-10BG	2,22 $\pm$ 0,21	11,25

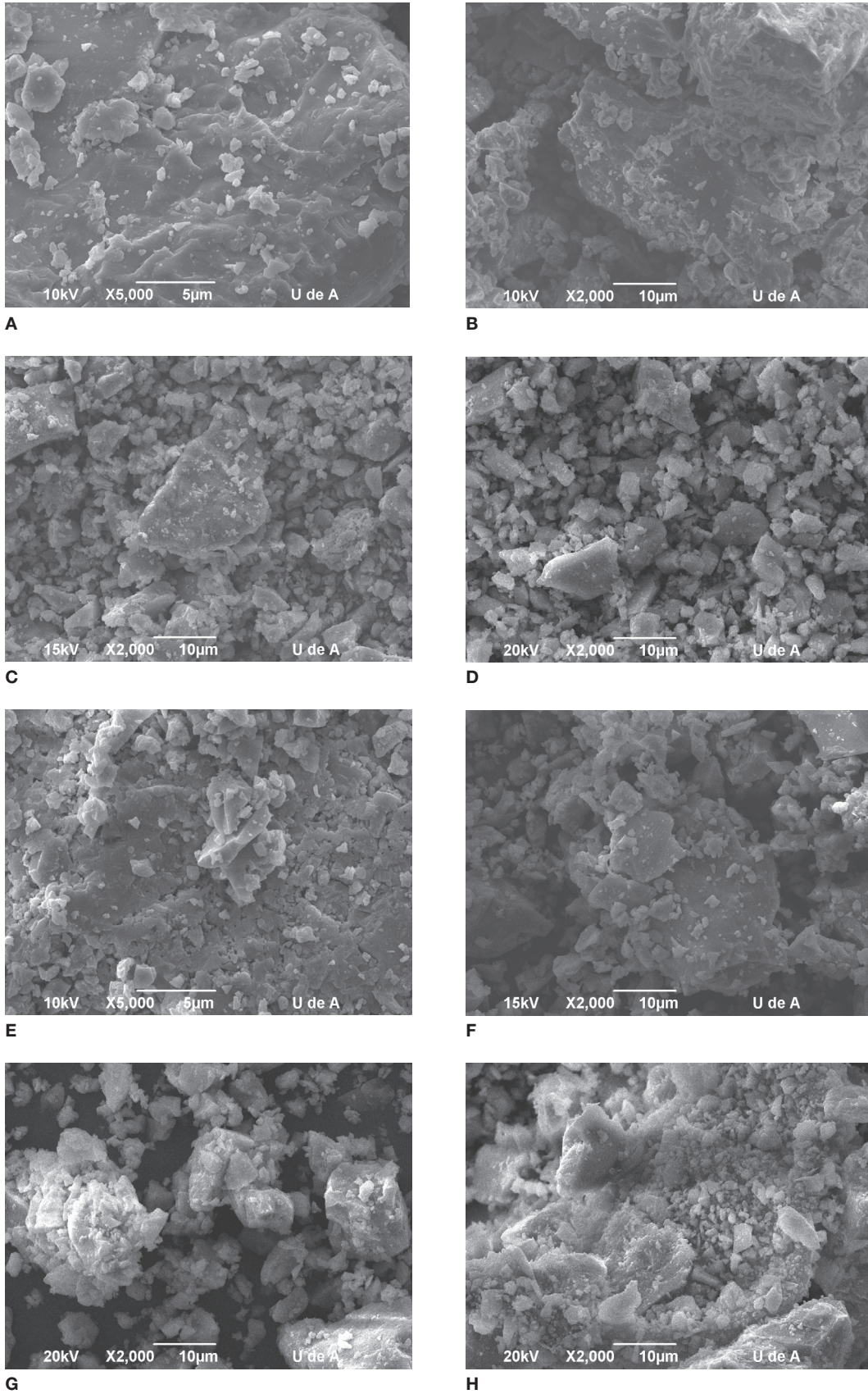


Figura 3 – Microscopía electrónica de barrido de las composiciones de cemento óseo de  $\alpha$ -TCP y sus adiciones de biovidrio inmersos en SBF a 1 y 15 días: (A-E) BC-0BG, (B-F) BC-5BG, (C-G) BC-10BG, (D-H) BC-15BG.

### Microdureza

La microdureza realizada a muestras de BC-0BG y BC-10BG fue 57 y 67 HV respectivamente. Este resultado es esperado en este tipo de cerámicas, donde el biovidrio presenta una fragilidad reconocida lo cual limita ampliamente sus aplicaciones mecánicas. En lo que se encuentra en el estado del arte de este tema G. Goller en 1998, usó el biovidrio como un precursor de la síntesis de la HA en aras de genera una posterior estabilidad, resultando en un aumento de sus propiedades mecánicas debido principalmente a la densificación alcanzada por parte del  $P_2O_5$  [25]. Por otra parte, A. Slószarczyk en 1998 mostró que la presencia de cristales de calcita causados por la exposición de CaO al medio ambiente pudo reducir la dureza hasta un 35% de cementos de HA,  $\beta$ -TCP,  $\alpha$ -TCP. Pese a esto, la presencia de esos cristales facilitó la aparición de microgrietas que incrementaban la resistencia a la fractura [26]. De acuerdo a lo anterior, es posible inferir que las durezas obtenidas en este proyecto se presentaron inicialmente debido a la heterogeneidad de las microestructuras, además el incremento que se observa en BC-10BG con respecto a la composición sin biovidrio puede estar asociado a las características vítreas superficiales que guarda dicha adición, y las fases remanentes determinadas previamente.

### Pruebas in vitro

Los resultados del análisis realizados mediante microscopía electrónica de barrido a las muestras que fueron expuestas a SBF indican una aparición creciente de aglomerados asociados a apatita:  $3\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$ . En la figura 3 se observa una fuerte relación entre el comportamiento bioactivo, el contenido de biovidrio en el cemento óseo, y además con el tiempo de exposición en solución SBF; encontrándose que aumenta la deposición de aglomerados a medida que aumenta el contenido de biovidrio y el tiempo de exposición en SBF. Ha sido documentado previamente que la presencia de pequeñas adiciones de Mg y Si en la síntesis estabilizan la fase  $\alpha$ -TCP del cemento óseo, lo que conlleva a

aumentar los tiempos de fraguado [19]; sin embargo, la liberación de iones a partir del biovidrio como adición en un material monolítico de  $\alpha$ -TCP tiene un efecto diferente.

F. Barrère en 2008 [27] describió en 5 pasos la forma como reacciona la superficie del biovidrio en contacto con un fluido fisiológico simulado, aunque enfatiza que estos fenómenos dependen directamente del variables como el pH y el tipo solución, además del tamaño de las partículas y tipo de biovidrio, ellos son: (i) formación de silanos, (ii) pérdida de sílice y formación de silanos, (iii) formación de gel de sílice hidratado por una policondensación previa, (iv) formación de capas de fosfato de calcio amorfas, (v) crecimiento de las capas de HA. De esta manera, la formación de apatitas es promovida tanto por la matriz, como por el biovidrio, siendo el último el encargado de regular la resorción de material compuesto.

De esta manera, resulta adecuado asumir que la composición con mayor deposición de precipitados es la relación con 15% de biovidrio en el cemento óseo de  $\alpha$ -TCP, y además es la composición con mayor efecto bioactivo. Sin embargo, se ha logrado demostrar [26] que composiciones que tienen un efecto estabilizador apreciable, generan la formación rápida de capas de hidroxiapatita deficiente en calcio (DCHA) (amorfa). Entonces usar altas concentraciones de biovidrio, conlleva a una precipitación y saturación excesiva, que desfavorece la osteointegración debido a la limitada disolución en medios acuosos o fisiológicos; razón por la cual se estudió la proporción de 10% de biovidrio.

Para comprobar que los aglomerados precipitados corresponden a una composición formada por cemento óseo y de apatitas producto de una exposición a SBF, fue realizada una prueba de espectrometría infrarroja (fig. 4) que exhibió la presencia de los siguientes grupos funcionales:

Inicialmente, en el espectro IR se identificaron 3 modos de vibración asociados al P-O:  $\nu_1$ ) extensión simétrica,  $\nu_2$ ) extensión triplemente degenerada anti simétrica,  $\nu_4$ ) flexión doblemente degenerada anti simétrica. De esta manera, la banda de absorción débil situada en  $815\text{ cm}^{-1}$  corresponde al modo de

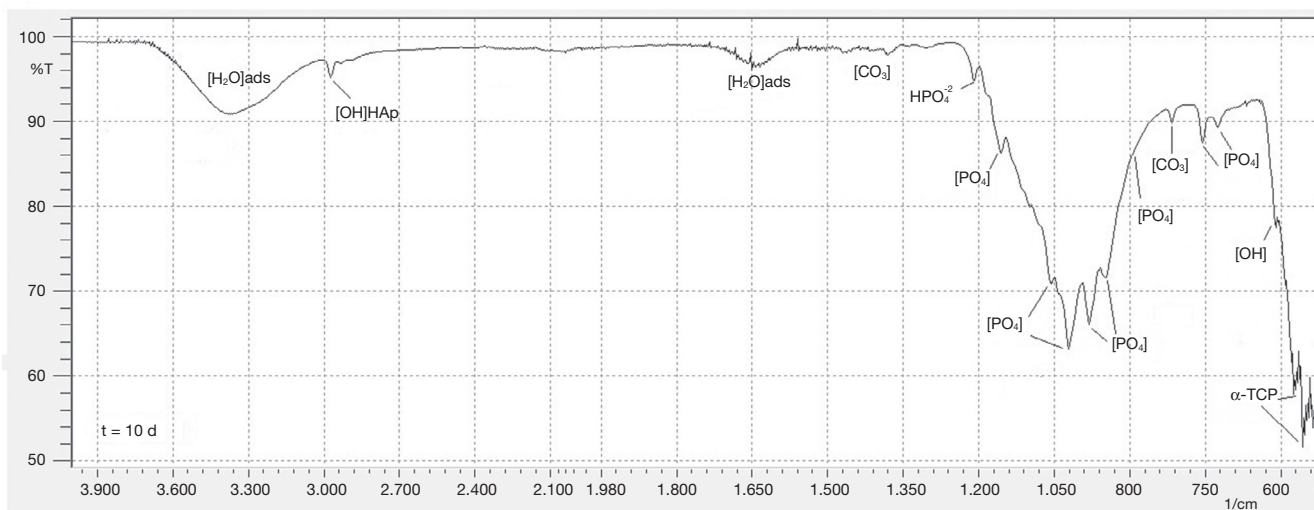


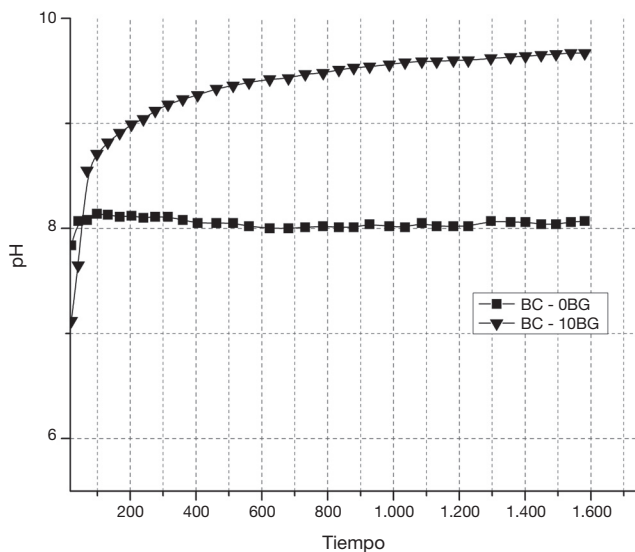
Figura 4 – Espectro infrarrojo de probetas compuestas por BC-10BG a 10 días de inmersión en SBF.

vibración  $\nu_1$ . Otras bandas de absorción importantes con algunos hombros corresponden a 945, 980, 1.020, 1.060, 1.095, 1.155  $\text{cm}^{-1}$ , las cuales están relacionadas al modo de vibración  $\nu_3$ . Las bandas situadas en 609, 592, 585, 577  $\text{cm}^{-1}$  aproximadamente se atribuyen al modo de vibración  $\nu_4$ . A pesar que en el espectro no fue registrado; de la literatura se documenta que el modo vibracional  $\nu_2$  de flexión doblemente degenerado simétrico se atribuyen a bandas muy débiles en 454, 463, 471  $\text{cm}^{-1}$  [16].

Otras bandas de interés fueron identificadas para los grupos carbonato en 1.380, 1.470 y 810  $\text{cm}^{-1}$ . Las bandas ubicadas en 620 y 2.985  $\text{cm}^{-1}$  y 1.210  $\text{cm}^{-1}$  se relacionan a los grupos OH y  $\text{HPO}_4^{2-}$  respectivamente. Lo anterior confirma que existe la presencia de hidroxiapatita deficiente en calcio [28], luego de 15 días de exposición del cemento óseo con 10% de biovidrio como adición en presencia de SBF. Finalmente, se observan bandas de absorción relacionadas a moléculas de agua en 3.410 y 1.650  $\text{cm}^{-1}$ .

Respecto a las composiciones que presentan adiciones de biovidrio, se observó una clara diferencia en las bandas de absorción relacionadas a los grupos OH y  $\text{HPO}_4^{2-}$ ; con un aumento en la intensidad de estas bandas conforme las proporciones de biovidrio aumentaron, confirmando esta tendencia de precipitación.

Finalmente, se realizó una evaluación del pH, al cemento óseo con 10% de biovidrio y el patrón de comparación (cemento óseo sin biovidrio), en una solución acuosa durante su reacción de fraguado. En la figura 5 se observa un aumento de la insolubilidad durante la reacción de fraguado en la solución del compuesto BC-10BG, lo cual da muestra que inmediatamente los polvos sinterizados entran en contacto con una solución acuosa la precipitación de un compuesto más insoluble tiene lugar.



**Figura 5 – Tendencia de insolubilidad de polvos de  $\alpha$ -TCP y biovidrio  $31\text{SiO}_2\text{-}56\text{CaO-}2\text{MgO-}11\text{P}_2\text{O}_5$  en presencia de un medio acuoso.**

## Conclusiones

Se sintetizó un cemento óseo de fosfato tricálcico alfa a partir de  $\text{CaHPO}_4$  y  $\text{CaCO}_3$ , en condiciones adecuadas de temperatura de cocción y enfriamiento, en donde también se encontraron tres fases adicionales:  $\beta$ -TCP,  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{CaHPO}_4$ . El biovidrio adicionado presentó una composición elemental aproximada a  $31\text{SiO}_2\text{-}56\text{CaO-}2\text{MgO-}11\text{P}_2\text{O}_5$ , con la fase whitlockita y 2,3% de cristalinidad.

Las propiedades mecánicas obtenidas en esta investigación muestran a un material con prestaciones mecánicas reducidas comparadas con otros biomateriales como HA. Para próximos estudios sobre el cemento óseo de  $\alpha$ -TCP se recomienda ajustar la relación de Ca/P, con un enfriamiento mucho más severo que evite la descalcificación y la presencia de fases alternas [19].

La porosidad registrada en el cemento óseo estuvo alrededor del 62%, lo cual es un valor acertado para biocerámicas de fosfato de calcio usadas como relleno de cavidades. A pesar de la limitada resistencia a la compresión, la bioactividad analizada con la ayuda de pruebas SEM e IR, fue notablemente alta.

La bioactividad de las muestras de cemento óseo con adiciones de 10 y 15% de biovidrio fue superior a la del cemento óseo sin biovidrio ya que presentaron una mayor tendencia a la formación de precipitados de Hidroxiapatita. Adicionalmente, luego de la reacción de fraguado la insolubilidad del cemento con 10% de biovidrio aumentó, y como ha sido documentado en investigaciones previas, dicho compuesto está relacionado con la DCHA (hidroxiapatita deficiente en calcio).

## Agradecimientos

Al Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI), que financió la este proyecto PR12-2-03. Por otra parte a M. Monsalve por suministrar el biovidrio empleado en este proyecto y al Grupo de Investigación en Materiales y Recubrimientos Cerámicos, GIMACYR. (Grupo de Investigación) por el préstamo de sus espacios y equipos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. C. Holroyd, C. Cooper, E. Dennison, Epidemiology of osteoporosis, *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 22 (2008) 671-685.
2. M. Alkhrasat, Bioactividad de cementos fosfatos cálcicos sustituidos con estroncio y su aplicación en regeneración ósea, Universidad Complutense de Madrid, España, 2008 [consultado 23 Nov 2014]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/8581/1/T30934.pdf>
3. J.A. Juhasz, S.M. Best, Bioactive ceramics: processing, structures and properties, *J. Mater. Sci.* 47 (2011) 610-624.
4. S.V. Dorozhkin, Calcium orthophosphates in nature, *J. Mater. Sci.* 2 (2009) 399-498.
5. G.I. Drosos, E. Babourda, E.A. Magnissalis, A. Giatromanolaki, K. Kazakos, D.A. Verettas, Mechanical characterization of bone graft substitute ceramic cements, *Injury* 43 (2012) 266-271.



6. Y. Maazouz, Cementos de fosfato tricálcico sustituidos con silicio: estudio de la bioactividad y de la liberación de iones, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2010 [consultado 21 Jul 2014]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2099.1/9240>
7. E.B. Montufar Jiménez, Espumas inyectables de hidroxiapatita obtenidas por el método de espumado de la fase líquida de un cemento de fosfato tricálcico alfa, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2010 [consultado 25 Nov 2014]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10803/6212>
8. G. Schneider, K. Blechschmidt, D. Linde, P. Litschko, T. Körbs, E. Beletes, Bone regeneration with glass ceramic implants and calcium phosphate cements in a rabbit cranial defect model, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 21 (2010) 2853-2859.
9. S.V. Fresno, Desarrollo de cemento de fosfato de calcio macroporosos inyectable: influencia de la porosidad y la microestructura en el comportamiento biológico, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2011 [consultado 27 Jun 2014]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10803/52305>
10. H. ElBatal, M. Azooz, E.M. Khalil, A. Soltan Monem, Y. Hamdy, Characterization of some bioglass-ceramics, *Mater. Chem. Phys.* 80 (2003) 599-609.
11. A.C.M. Renno, F.C.J. van de Watering, M.R. Nejadnik, M.C. Crovace, E.D. Zanotto, J.G.C. Wolke, et al., Incorporation of bioactive glass in calcium phosphate cement: An evaluation, *Acta Biomater.* 9 (2013) 5728-5739.
12. L.A. Asensio, Estudio de diferentes formulaciones de cementos de fosfato de calcio para regeneración ósea, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2004 [consultado 28 Ago 2014]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/2099.1/3211>
13. M. Monsalve, H. Ageorges, E. Lopez, F. Vargas, F. Bolivar, Bioactivity and mechanical properties of plasma-sprayed coatings of bioglass powders, *Surf. Coatings Technol.* 220 (2013) 60-66.
14. T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials* 27 (2006) 2907-2915.
15. P.M. Ginebra, Desarrollo y caracterización de un cemento óseo basado en fosfato tricálcico, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 1996 [consultado 18 Abr 2014]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10803/6064>
16. R.G. Carrodeguas, S. de Aza,  $\alpha$ -Tricalcium phosphate: synthesis, properties and biomedical applications, *Acta Biomater.* 7 (2011) 3536-3546.
17. A. Balamurugan, G. Balossier, J. Michel, S. Kannan, H. Benhayoune, A.H.S. Rebelo, Sol Gle Derived  $\text{SiO}_2$ -CaO-MgO- $\text{P}_2\text{O}_5$  System - Preparation and In Vitro Characterization, *Wiley Intersci.* 5 (2007) 546-553.
18. E. Fernández, F.J. Gil, M.P. Ginebra, F.C.M. Driessens, J.A. Planell, S.M. Best, Production and characterization of new calcium phosphate bone cements in the  $\text{CaHPO}_4$ - $\alpha$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  system: pH, workability and setting times, *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 10 (1999) 223-230.
19. M.D. Vlad, S. Gómez, M. Barracó, J. López, E. Fernández, Effect of the calcium to phosphorus ratio on the setting properties of calcium phosphate bone cements, *J Mater Sci Mater Med.* 23 (2012) 2081-2090.
20. S. Kwon, Y. Jun, S. Hong, I. Lee, H. Kim, Calcium phosphate bioceramics with various porosities and dissolution rates, *J. Am. Ceram. Soc.* 31 (2002) 3129-3131.
21. C. Lerebours, C.D.L. Thomas, J.G. Clement, P.R. Buenzli, P. Pivonka, The relationship between porosity and specific surface in human cortical bone is subject specific, *Bone* 72 (2015) 109-117.
22. S.V. Dorozhkin, Bioceramics of calcium orthophosphates, *Biomaterials* 31 (2010) 1465-1485.
23. J.T. Zhang, F. Tancret, J.M. Bouler, Fabrication and mechanical properties of calcium phosphate cements (CPC) for bone substitution, *Mater Sci Eng C.* 31 (2011) 740-747.
24. J.T. Zhang, W. Liu, V. Schnitzler, F. Tancret, J.M. Bouler, Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties, *Acta Biomater.* 10 (2014) 1035-1049.
25. G. Goller, H. Demirkiran, F.N. Oktar, E. Demirkesen, Processing and characterization of bioglass reinforced hydroxyapatite composites, *Ceram Int.* 29 (2003) 721-724.
26. A. Slósarczyk, J. Białoskórski, Hardness and fracture toughness of dense calcium-phosphate-based materials, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 9 (1998), 103-108.
27. F. Barrère, M. Ni, P. Habibovic, P. Ducheyne, Cap. 8, Degradation of bioceramics, *Tissue Eng.* (2008) 223-254.
28. L. Berzina-cimdina, N. Borodajenko, Research of calcium phosphates using fourier transform infrared spectroscopy, in: *Infrared spectroscopy - Materials science, engineering and technology*, InTech, Atenas, 2012, pp. 123-148.