



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

HIDROXIAPATITA: SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN.
HYDROXYAPATITE: SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION.

AQUINO-GUERRA A. ¹, LINARES C.F.²

^{1,2}Unidad de Síntesis de Materiales y Metales de Transición. Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad de Carabobo. Venezuela.

¹Odontólogo Facultad de Odontología. Universidad de Carabobo-Venezuela.

Residente Doctorado en Química Tecnológica. Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad de Carabobo.

Correspondencia: anadelazailith@gmail.com

Volumen 9.
Número 3.
Septiembre - Diciembre 2020

Recibido: 15 febrero 2020
Aceptado: 12 marzo 2020

RESUMEN

En las ciencias biomédicas, la hidroxiapatita sintética ha exhibido relevantes propiedades de bioactividad y biocompatibilidad tisular, al unirse químicamente al tejido óseo particularmente, lo cual la convierte en un material con resultados prometedores al imitar con éxito los sistemas biológicos, así mismo se ha demostrado que contribuyen con la prevención de enfermedades de los tejidos dentales y periodontales. Esta revisión se basa en las ventajas y desventajas que ofrecen diversos tipos de síntesis más comunes de hidroxiapatitas, su caracterización y algunas de las aplicaciones más empleadas en las ciencias de la salud. Se evidencia que la variabilidad termodinámica de la hidroxiapatita permite implementar diversos métodos de síntesis, los cuales presentan limitaciones y alcances inherentes a la técnica, cuyos parámetros como: pH, la temperatura, tipos de reactivos y presión, entre otros, repercuten en las propiedades y características del producto final.

Palabras Clave: Hidroxiapatita, síntesis química, caracterización química.

ABSTRACT

In biomedical sciences, synthetic hydroxyapatite has exhibited relevant properties of tissue bioactivity and biocompatibility, by chemically binding to specific bone tissue, which is the conversion into a material with promising results by successfully mimicking biological systems, and has also been affected problems with the prevention of diseases of dental and periodontal tissues. This review is based on the advantages and disadvantages offered by various types of most common synthesis of hydroxyapatites, their characterization and some of the most widely used applications in the health sciences. It is evident that the thermodynamic variability of hydroxyapatite allows the implementation of various synthesis methods, the specific limits and scopes inherent to the technique, our parameters such as: pH, temperature, types of reagents and pressure, among others, impact on the properties and characteristics of the final product.

Keywords: Hydroxyapatite, chemical synthesis, chemical characterization.



INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita (Hap), un fosfato de calcio biocerámico, de fórmula estequiométrica $(Ca_{10}[PO_4]_6[OH]_2)$ y una relación Ca/P de 1,67^{1,2}, forma parte de la fracción inorgánica más importante de los huesos de los vertebrados; y es el principal componente inorgánico del esmalte y constituye con más del 60% en la dentina^{3,4,5}. La Hap se puede obtener de manera sintética, exhibiendo atractivas propiedades fisicoquímicas y mecánicas tales como: cristalinidad, pureza, densidad, morfología, porosidad y microestructura^{6,7}, con lo que se ha convertido en una alternativa de gran interés en las ciencias de la salud, debido a su biocompatibilidad y similitud con la Hap natural.

Varias técnicas ha sido utilizadas para su síntesis, dentro de las cuales vale la pena mencionar: precipitación (vía húmeda), sol-gel, hidrotermal y sinterización en estado sólido entre otras^{8,9,10}, siendo éstas por diversos métodos fisicoquímicos tales como: espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X (DRX), microscopia electrónica de barrido (MEB) y microscopia electrónica de transmisión.

La presente revisión tiene como objetivo presentar los métodos de síntesis y caracterización de Hap más usuales en la actualidad considerando sus ventajas y desventajas, caracterización, y aplicaciones biomédicas del producto resultante.

MÉTODO DE SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA

Precipitación vía húmeda

Este método implica reacciones húmedas entre precursores de calcio y fósforo controlando el pH, la temperatura de reacción y tiempo de agitación⁴. El procedimiento más adecuado implica la reacción entre hidróxido de calcio, $Ca(OH)_2$ y ácido fosfórico H_3PO_4 como fuentes de calcio y fósforo respectivamente^{8,11,12,13,14,15}. Para ajustar el pH de la reacción se utiliza hidróxido de amonio¹³. Comúnmente se procede a partir de una suspensión 0,5 M de $Ca(OH)_2$ agregándole lentamente gotas de una disolución 0,3 M de H_3PO_4 bajo agitación constante para obtener una suspensión de nanocristales de Hap 0,05 M.¹⁶ La reacción usual es la siguiente:



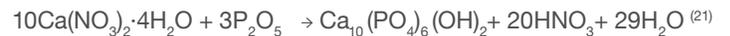
El precipitado se calcina entre 400 y 600 °C o incluso a temperaturas más altas para obtener una estructura estequiométrica de apatita^{4,8,11}. La forma geométrica, tamaño y superficie específica de las nanopartículas de Hap dependen, en gran medida, de la temperatura a la cual transcurre la reacción y de la velocidad de adición de los reactivos^{4,16}. Esta técnica permite la obtención de grandes cantidades de sólido fino de Hap, con alto rendimiento, simplicidad y bajo costo a diferencia de otros métodos^{8,17}.

Método de Sol-gel

El método sol-gel emplea precursores moleculares que mediante una serie de reacciones de hidrólisis y condensación conducen a la formación de partículas de alta pureza y más homogéneas

debido a la posibilidad de un control estricto de los parámetros del proceso. Generalmente el precursor es un compuesto metálico orgánico como los alcóxidos o una sal metálica inorgánica, como nitratos y cloruros¹⁸⁻²². Este método puede efectuarse por dos rutas: alcóxido de metal coloidal y polimérico.

La ruta del alcóxido de metal coloidal es la más utilizada, en la cual el disolvente puede ser alcohol o agua y los productos resultantes son coloides en medio acuoso. Diversos son los materiales utilizados como fuentes de calcio y fósforo, entre los cuales se puede mencionar al nitrato de calcio y el óxido de fósforo P_2O_5 ^{7,21}. El sol se prepara colocando a reflujo disoluciones de nitrato de calcio tetrahidratado $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ y pentóxido de fósforo P_2O_5 en etanol:

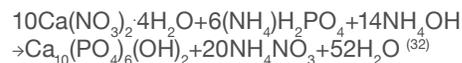


Este método permite a los precursores pre-reaccionar debido a la reactividad que poseen las especies de fósforo en disolución etanólica. La temperatura de secado suele ser 150°C y los tratamientos térmicos se llevan a cabo en atmósfera de aire a 500°C²¹.

Las ventajas del método radican en la obtención de micro y nanopartículas de Hap; asimismo, permite la preparación de revestimientos de Hap sobre sustratos metálicos^{7,23-27}. Por otra parte permite controlar las dimensiones del poro, parámetro consecuente con la bioactividad del producto²⁸. La desventaja primordial es el alto costo de los precursores a base de alcóxido, control minucioso de los procesos y el tiempo de procesamiento prolongado²⁹.

Método hidrotérmico

Este procedimiento pertenece al tipo de síntesis vía húmeda, distinguido frecuentemente por la reacción térmica y presión elevada de una solución acuosa. Típicamente se emplean temperaturas de 350-400°C durante 4-10 horas en presencia de agua, a un pH de 7,3 y presión de 24 MPa³⁰ controlada mediante el volumen de llenado un autoclave. Los precursores comúnmente empleados en esta vía para la obtención de Hap, son nitrato de calcio y fosfato ácido de amonio. La reacción se realiza de la siguiente manera:



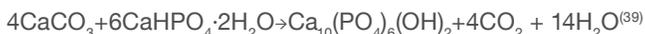
Es una de las rutas más utilizadas que permite obtener Hap estequiométrica, donde las variables más significativas a considerar son la temperatura y el tiempo³³. La síntesis por el medio hidrotermal permite obtener partículas nanométricas con morfología independientes del tiempo del proceso³¹.

Resulta en un método costoso ya que requiere de equipos especializados para aumentar la temperatura y presión durante el procedimiento, además resulta difícil controlar el tamaño y morfología de las partículas. La síntesis hidrotermal se realiza usualmente a presión autógena ($T > 100^\circ C$ y 1 Bar)³⁴. La temperatura resulta fundamental ya que se ha demostrado que a elevadas temperatura en el proceso hidrotérmico, se eleva la cristalinidad y aumenta el tamaño de cristalito^{35,36}.



Sinterización en estado sólido

Conocido también como vía seca o cerámico; implica la compactación de los reactivos sólidos con cantidades apropiadas de iones Ca^{2+} y PO_4^{3-} y el posterior sometimiento de esta mezcla a altas temperaturas de calentamiento con intervalos entre 900 y 1300 °C, debido a la alta energía de activación que necesitan las preparaciones de los reactivos en forma de polvo fino; el vapor de agua se usa como fuente de grupos OH⁻ ^{21,37,38,39}. Los precursores comúnmente empleados para la síntesis de Hap estequiométrica son CaCO_3 y $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o su forma anhidra CaHPO_4 de acuerdo a la siguiente reacción:



Este método garantiza la formación de Hap estequiométrica, pero exige altas temperaturas y tiempo, por otra parte el producto resultante frecuentemente tiene baja homogeneidad ⁴⁰.

La sinterización de Hap es una reacción química irreversible realizada a partir de los precursores y densificación de los polvos, donde se produce una disminución de la energía libre relacionada con la superficie de las partículas, la presión y la temperatura. Durante el proceso, ocurren varias modificaciones sobre la muestra; tales como: reducción del diámetro, del volumen de la muestra y variación de las propiedades mecánicas. La disminución del volumen es consecuente con la densificación de la muestra durante la sinterización, lo que determina su porosidad ³⁷. La ventaja de esta vía de reacción, es la eliminación de la calcinación en la formación de sólidos.

CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA

Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Una Hap típica presenta espectros característicos (Fig.1). Una banda estrecha y corta a 3566 cm^{-1} compatible con el estiramiento (stretching) correspondientes a grupos hidroxilo OH⁻, que la diferencian de otros fosfatos de calcio y se le identifica como apatita. Bandas en la región, 1.032, 1.040, ≈ 1.087 , 1.092 cm^{-1} , atribuido al estiramiento (stretching) grupos fosfato PO_4^{3-} , tres bandas en la región entre 500 cm^{-1} y 570 cm^{-1} correspondientes a la flexión (bending) en grupos fosfato grupos fosfato PO_4^{3-} ; bandas de vibración combinadas (overtone) poco intensas, del estiramiento del enlace O-H a 2,924 cm^{-1} y 2.845 cm^{-1} y varias bandas poco intensas alrededor de 2.070 cm^{-1} , resultantes de vibraciones combinadas (overtone) del enlace P-O en grupos fosfato y si las muestras contienen grupos carbonatos CO_3^{2-} los espectros aparecen entre (870, 1420 y 1480) cm^{-1} y en algunos procesos puede exhibir dos bandas, una ancha a 3434 cm^{-1} y otra a 1639 cm^{-1} si existe H_2O adsorbida sobre la Hap ^{1,2,8,9,41,42,43}.

Difracción de rayos X (DRX).

Una herramienta valiosa empleada en la caracterización de minerales mediante su la estructura cristalina. Permite indirectamente estimar la composición de la muestra analizada con una buena aproximación del contenido en elementos predominantes.

Los difractogramas de una Hap típica (Fig.2) muestran que el pico principal y con la mayor intensidad se encuentra a $2\theta = 31,70^\circ$, acompañado por tres picos cercanos; $2\theta = 32,20^\circ$ de menor intensidad del anterior; $2\theta = 32,90^\circ$ de casi igual intensidad

al anterior y un pico a $2\theta = 34,22^\circ$, más pequeño que los tres anteriores (correspondiente a los planos (211), (112), (300) y (202) respectivamente). Tal secuencia de cuatro pico de intensidades relativas, son característicos de la Hap al igual que los picos de menor intensidad que también están presentes (de acuerdo a ficha técnica ICCD-JCPDS 9-0432) ^{2,9,11,41,43,44,45}. La norma ISO 13779-3 establece que la Hap es identificable por los picos 202, 210 y 211, que corresponden a 34, 28 y 31 en 2θ ¹.

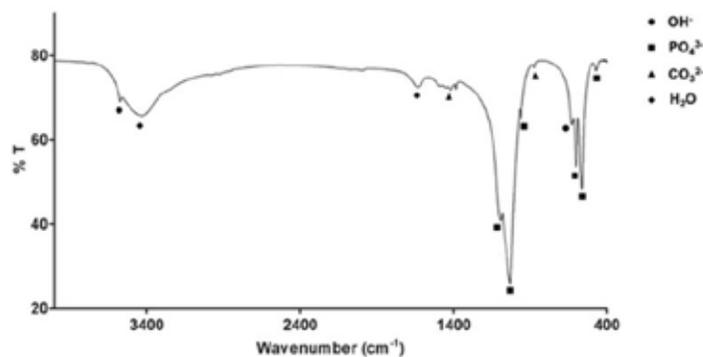


Fig 1.- Espectro (FTIR). Marcado con picos característicos de hidroxiapatita. (1)

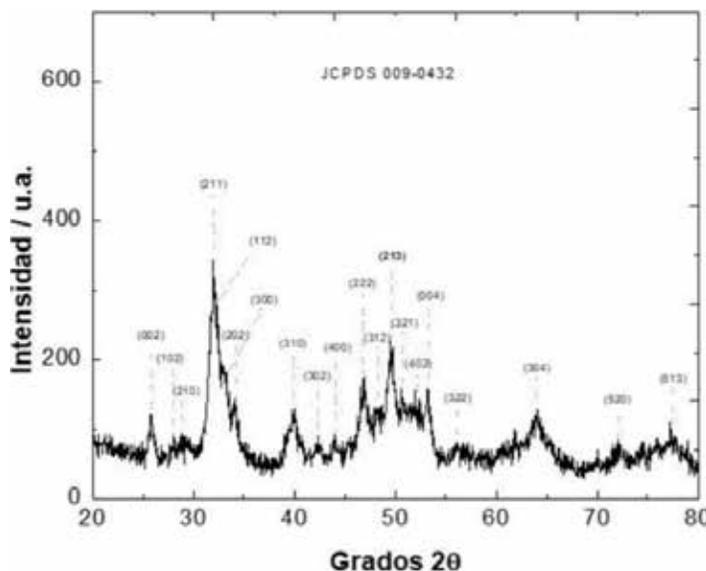


Fig 2.- Espectro de Rayos X del polvo de hidroxiapatita pura sintetizada por el método de precipitación vía húmeda. (45)

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La Hap observada en MEB, exhibe una estructura laminar, prismática; puede tener varios tamaños; las partículas presentan una distribución cristalina hexagonal claramente definida, aglomeradas entre ellas ⁴⁶, mediante MEB se ha demostrado que el método de síntesis para Hap influye no solo en el crecimiento, sino también en la forma de los granos al final del proceso. (Fig.3)

En el caso de síntesis por precipitación húmeda donde se emplea como precursores $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ y NH_4OH en un sistema a 90 °C y agitación constante durante 1 hora; las imágenes obtenidas por MEB muestran morfologías y tamaños de grano de tipo globular, cristales bien definidos entre 1 y 3 μm ^{47,48}.



En el caso de síntesis por método sol-gel, empleando como precursores P_2O_5 , $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ y Etanol para preparar dos compuestos HAG 1 y HAG 2, diferenciados por tiempo de maduración en gel, primera variante codificada (a) a 60 °C, el segundo codificado (b) a temperatura ambiente de 20 °C. Las imágenes de MEB para polvos HAG2a y HAG2b muestran que las unidades estructurales presentan una forma esférica y un tamaño relativamente homogéneo, así como microestructuras nanométricas con dimensiones cristalinas en el intervalo de 35 y 50 nm. Las muestras exhiben una macroporosidad compacta, bien densificada y presente (250-400nm). Los materiales son fuertemente aglomerados debido a la alta reactividad de distribución homogénea de las partículas pequeñas⁷.

Microscopía electrónica de transmisión (MET)

El método de síntesis de la Hap determina el crecimiento y la forma de las partículas obtenidas. Mediante el método hidrotermal, empleando $CaCO_3$ y $CaHPO_4$ como precursores de la reacción, se observa el crecimiento de haces de fibras de 800 nm de longitud y 160 nm de diámetro, y se puede visualizar la típica estructura hexagonal de la Hap⁴⁹. Los patrones de difracción de electrones que corresponden a fibras de Hap ocurren en $[0001]$ y en $[12\bar{1}0]$. (Fig.4, a-d).

Fig 3.- a) Manojos de fibras de 15 mm de longitud y 1-2 mm de diámetro. c) Paquetes de fibras de 17-32. de longitud y aproximadamente 2-6 mm de diámetro. (49)

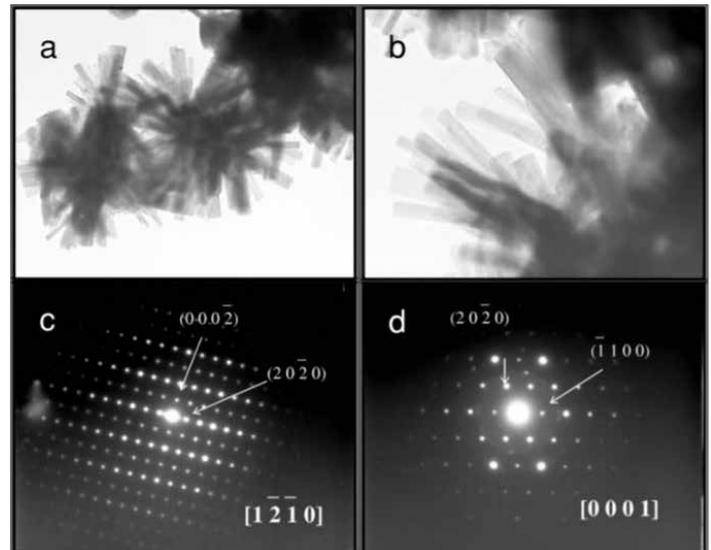
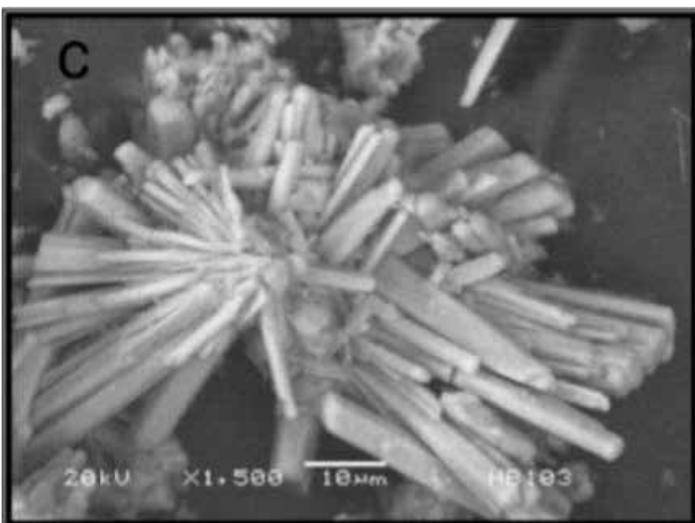
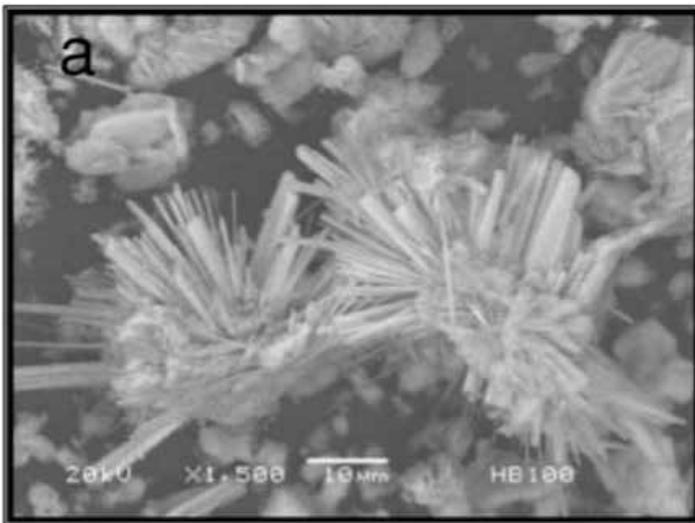


Fig 4.- Imagen MET de fibras obtenidas en condiciones estequiométricas después de 20 h de reacción. (49)

APLICACIONES BIOMÉDICAS DE LA HIDROXIAPATITA SINTÉTICA.

En las ciencias biomédicas la Hap sintética es de gran interés ya que puede usarse como biomaterial para aplicaciones óseas debido a su superficie bioactiva^{50,51,52}. Estudios reportan con éxito el uso de la misma como material de relleno óseo en la colocación de implantes dentales² y como recubrimiento de implantes, por su excelente bioactividad, osteoinducción y osteoconductividad⁸. En la cirugía bucal y maxilofacial, particularmente en zonas con bajo potencial regenerativo, como es el caso del seno maxilar, se ha utilizado Hap sintética para estimular la adhesión y proliferación celular y optimizar el funcionamiento clínico⁵³. Es bien reconocido que la Hap mejora la diferenciación celular, la migración y la proliferación en el tejido óseo recién formado⁵⁴. El funcionamiento regenerativo de la Hap en los tejidos depende de varios parámetros mecánicos, estructurales, morfológicos, químicos y biológicos⁵⁵.

En relación a la hipersensibilidad dentinaria se ha investigado la infiltración de Hap en túbulos dentinarios como tratamiento de la misma con resultados positivos en la reducción de la sintomatología^{31,56}. Por otra parte se reporta la adición de Hap en la preparación de materiales compuestos de relleno, experimentales, de uso odontológico que demuestran mejoras en las propiedades de resistencia a la desmineralización del esmalte, proporcionales a la cantidad de aditivo⁵⁷. Así mismo estudios indican el uso de la Hap sintética como compuesto de productos de higiene bucal, obteniendo resultados favorables^{58,59}. De esta manera se ha incorporado Hap sintética en pastas dentales sin flúor con el fin de lograr la remineralización y reparación del esmalte, con resultados que demuestran ser una excelente alternativa en la prevención de caries dental en dentición primaria al crear un re-





cubrimiento de nanopartículas microestructuradas de Hap que reproduce la estructura y la morfología de la hidroxiapatita biológica del esmalte⁵⁸. Así mismo se ha utilizado nanocristales de Hap en enjuagues bucales, siendo eficaz en la disminución del biofilm y la gingivitis, exhibiendo por otra parte efectos remineralizantes en caries dental incipiente⁵⁹. En cuanto a la aplicación de Hap al medio odontogénico, hallazgos *in vitro* demuestran que la nanohidroxiapatita promueve la diferenciación odontogénica de células madre de pulpa dental, evidenciando un aumento de la expresión de gran parte de los genes odontogénicos, pudiendo ser útil en el diseño de tratamientos regenerativos para la dentina⁶⁰.

CONCLUSIONES

El método de síntesis de Hap se debe elegir en relación a la aplicación que se le dará a la misma. Las diferentes rutas son posibles gracias a la diversidad termoquímica de la Hap, donde cada vía presenta ventajas y desventajas propias de la técnica, en las cuales parámetros significativos como pH, temperatura, tiempo, presión, reactivos, entre otros, son variables determinantes en las características deseadas del sólido resultante. Cada método genera variabilidad en cuanto a la cristalinidad, solubilidad, proporción Ca/P, tamaño y forma de las partículas. Por otra parte es necesaria la valoración de la simplicidad y costos derivados de los equipos y reactivos empleados son al momento de seleccionar el método. Las técnicas de caracterización como la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X permiten una identificación precisa de la hidroxiapatita sintética, mediante la interpretación de espectros y bandas típicas; por su parte la microscopía electrónica de barrido proporciona imágenes que tienen variabilidad de tamaño, forma y porosidad dependientes de los métodos de síntesis.

De manera positiva son numerosas las aplicaciones que se le puede procurar a la hidroxiapatita sintética; particularmente en las ciencias biomédicas, en la regeneración y reparación de tejidos óseos y dentarios dadas sus características de osteoinducción, osteoconducción y osteointegración. Su capacidad de mineralización del hueso, esmalte y dentina son beneficios prometedores en el área de la odontología, tanto en la prevención como el tratamiento de patologías bucodentarias.

Se deben proponer más estudios que permitan discernir sobre las propiedades y características necesarias para su empleo exitoso en el andamiaje del crecimiento celular de la matriz osteogénica y su acción en las estructuras dentarias, con fines regenerativos y reparativos.



REFERENCIAS

1. Coelho C, Grenho L, Gomes P, Quadros P, Fernandes M. Nano-hydroxyapatite in oral care cosmetics: characterization and cytotoxicity assessment. *Sci. Rep* 2019;9(1):1-10.
2. Pareja N, Escobar D, Ossa C, Echavarría A. Síntesis y caracterización de hidroxiapatita microporosa, comparación con un producto comercial. *Rev Fac Ing-Univ Ant* 2008;(43):67-76.
3. Goenka S, Balu R, Kumar T. S. Effects of nanocrystalline calcium deficient hydroxyapatite incorporation in glass ionomer cements. *J Mech Behav Biomed Mater* 2012;(7):69-76.
4. De Melo Costa A. C. F, De Lima M. G, De Almeida Lima L. H. M, Cordeiro V. V, De Souto Viana K. M, De Souza C, De Lucena Lira H. 4. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações REMAP 2009;4(3):29-38.
5. Melero H, Fernández J, Guilemany J. Recubrimientos bioactivos: Hidroxiapatita y titanía. *Biomecánica* 2011;19(1):35-48.
6. Nausa J. Evaluación Clínica y radiográfica de injertos biocerámicos tipo Hidroxiapatita como alternativa en la reconstrucción de alveolos dentarios postexodoncia. *Nova* 2014;12(22):157-164.
7. Sava B, Tardei C, Simonescu C, Boroica L, Melinescu A. Hydroxyapatite nanoparticles obtained by sol-gel method, synthesis and properties. *Optoelectron. Adv. Mat* 2015 9;(11-12):1415-1424.
8. Sequeda L, Díaz J, Gutiérrez S, Perdomo S, Gómez O. Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm* 2012;41(1):50-66.
9. Balamurugan A, Kannan S, Rajeswari S. Bioactive Sol-Gel Hydroxyapatite Surface for Biomedical Application-in vitro Study. *Trends Biomater. Artif. Organs* 2002;16(1):18-20.
10. Fumero A, López H, Goyos L, Alves J, Lariot C. Estudio preliminar acerca de recubrimientos de hidroxiapatita HAP-200 obtenidos por plasma atmosférico. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2011;30(2):280-291.
11. Guillen-Romero L, Oropeza-Guzmán M, López-Maldonado E, Iglesias A, Paz-González J, Ng T, Villarreal-Gómez L. Synthetic hydroxyapatite and its use in bioactive coatings. *J Appl Biomater Funct Mater* 2019;17(1):1-12.
12. Kim W, Saito F. Sonochemical synthesis of hydroxyapatite from H₃PO₄ solution with Ca(OH)₂. *Ultrasonics Sonochemistry* 2001;8(2):85-88.
13. Santos M, Oliveira M, Souza L, Mansur H, Vasconcelos W. Synthesis control and characterization of hydroxyapatite prepared by wet precipitation process. *Mater. Res* 2004;7(4):625-630.
14. Gehrke S, Carbonari M, Díaz G, da Silva Rigo E. Obtención de hidroxiapatita para injerto óseo por el método de precipitación. *Actas Odontológicas* 2016;4(2):41-48.
15. Rafie S, Nordin D. Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticle. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 2017;21(1):136-148.
16. Bouyer E, Gitzhofer F, Boulos M. Morphological study of hydroxyapatite nanocrystal suspension. *J. Mater. Sci.: Mater. Med* 2000;11(8):523-531.
17. Liu C, Huang Y, Shen W, Cui J. Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11. *Biomaterials* 2001;22(4):301-306.
18. Bezzi G, Celotti G, Landi E, La Torretta T, Sopyan I, Tampieri A. A novel sol-gel technique for hydroxyapatite preparation. *Mater. Chem. Phys.* 2003;78(3):816-824.
19. Suárez L, Galindo H. Estudio de los procesos Sol-gel para la obtención de un aglutinante apropiado para el peletizado de alúmina. 1. Ensayos de una técnica de peletizado. *Ing.inv.* 2001;(48):57-63.
20. Rodrigues L, d'Ávila M, Monteiro F, Favaglia C. Synthesis and characterization of nanocrystalline hydroxyapatite gel and its application as scaffold aggregation. *Mater. Res* 2012;15(6):974-980.
21. Villora J, Callejas P, Barba M. Métodos de síntesis y comportamiento térmico del hidroxiapatito. *Bol. Soc. Esp. Cerám* 2002;41(5):443-450.
22. Gu L., He X., Wu Z. Mesoporous hydroxyapatite: Preparation, drug adsorption, and release properties. *Mater. Chem. Phys.* 2014;148:153-158
23. Bilton M, Brown A, Milne, S. Sol-gel synthesis and characterisation of nano-scale hydroxyapatite. *J. Phys. Conf. Ser* 2010;241(1):1-4.
24. Negrila C, Predoi M, Iconaru S, Predoi D. Development of Zinc-Doped Hydroxyapatite by Sol-Gel Method for Medical Applications. *Molecules* 2018;23(11):2986,1-15.
25. Santos M, Florentino O, Saeki M, Aparecida A, Fook M, Guastaldi A. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. *Ecl. Quim* 2005;30(3):29-35.
26. Han Y, Li S, Wang X, Chen X. Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by citric acid sol-gel combustion method. *Mater. Res.* 2004;39(1):25-32.
27. Saranya K, Kowshik M, Ramanan S. Synthesis of hydroxyapatite nanopowders by sol-gel emulsion technique. *Bull. Mater. Sci.* 2011;34(7):1749-1753.
28. Owens G, Singh R, Foroutan F, Alqaysi M, Han C, Mahapatra C. Sol-gel based materials for biomedical applications. *Prog. Mater. Sci* 2016;77:1-9.
29. Kien P, Phu H, Linh N, Quyen T, Hoa N. Recent Trends in Hydroxyapatite (HA) Synthesis and the Synthesis Report of Nanostructure HA by Hydrothermal Reaction. *Novel Biomaterials for Regenerative Medicine* 2018;1077 343-354.
30. Chaudhry A, Haque S, Kellici S, Boldrin P, Rehman I, Khalid F, Darr J. Instant nano-hydroxyapatite: a continuous and rapid hydrothermal synthesis. *Chem. Commun* 2006;(21):2286-2288 .
31. Earl J, Wood D, Milne S. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite. *J. Phys. Conf. Ser* 2006;26,268-271.
32. Londoño M, Echavarría A, De La Calle F. Características cristaloquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. *Revista EIA* 2006;(5):109-118.
33. Ma M. Hierarchically nanostructured hydroxyapatite: hydrothermal synthesis, morphology control, growth mechanism, and biological activity. *Int. J. Nanomed* 2012;(7):1781-1791.
34. Martínez-Valencia A, Esparza-Ponce H, Ortiz-Landeros J. Caracterización estructural y morfológica de hidroxiapatita nanoestructurada: estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis. *Superficies y vacío* 2008;21(4):18-21.
35. Jin X, Chen X, Cheng Y, Wang L, Hu B, Tan J. Effects of hydrothermal temperature and time on hydrothermal synthesis of colloidal hydroxyapatite nanorods in the presence of sodium citrate. *Colloid Interface Sci* 2015;450, 151-158.
36. Ryu G, Kim G, Khalid H, Lee H. The Effects of Temperature on the Hydrothermal Synthesis of Hydroxyapatite-Zeolite Using Blast Furnace Slag. *Materials* 2019;12(13):2131:1-12.
37. Valín-Fernández M, Fernández-Abreu ME, Valín-Rivera JL, Lopez-Salinas H, Figueroa-Hernández C, González-Ruiz JE. Caracterización mecánica de discos de hidroxiapatita nanoporosos obtenidos por sinterización. *Ingeniería Mecánica* 2017;20(3):144-151.
38. Sepulveda P, Ortega FS, Innocentini MD, Pandolfelli VC. Properties of highly porous hydroxyapatite obtained by the gelcasting of foams. *J. Am. Ceram. Soc* 2000;83(12):3021-3024.
39. Simonescu CM, Tatarus A, Tardei C, Patroi D, Dragne M, Culita DC, et al. Nano and Micro-hydroxyapatite Particles for Lead Removal from Wastewater. *Rev. Chim.(Bucharest)* 2015;(66):732-742.
40. Orlovskii VP, Komlev VS, Barinov SM. Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics. *Inorganic Materials* 2002;38(10):973-984.
41. Villani Angelina, Millan A, Gonzalez G. Caracterización físico-química y cerámica de hidroxiapatitas producidas por distintos métodos de síntesis (Parte I). *Rev. Fac. Ing. UCV* 2012;27(4):7-16.
42. García-García R, Tapia-Pasos A, Reyes-Gasga J. Estudio del comportamiento térmico de la Hidroxiapatita mediante las técnicas de espectroscopia infrarroja y análisis térmico diferencial. *Rev. Latin Am. Met. Mat* 2002;22(2):73-77 .
43. Bouropoulos N, Stampoulakis A, Mouzakis D. Dynamic mechanical properties of calcium alginate-hydroxyapatite nanocomposite hydrogels. *Sci. Adv. Mater* 2010;2(2):239-242.
44. Granados-Correa F, Bonifacio Martínez J, Serrano Gómez J. Estudio cinético y termodinámico de la adsorción de Cr (VI) presente en solución acuosa sobre fosfato de calcio sintético. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 2009;75(2):201-212.
45. Villarreal-Gómez L, Iglesias A, Angeles S, Vera-Graziano R, González G, Pineda L.



Síntesis y Caracterización de Hidroxiapatita Sintética para la Preparación de Filmes de PLGA/HAp con Potencial Uso en Aplicaciones Biomédicas. *ReCIBE, Revista electrónica de Computación, Informática, Biomédica y Electrónica* 2018;7(2):93-116.

46. Jaramillo C, Rivera J, Echavarría A, O'byrne J, Congote D, Restrepo L. Comparación de las propiedades de osteoconducción y osteointegración de una hidroxiapatita reabsorbible comercial con una hidroxiapatita reabsorbible sintetizada. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 2009;22(2):117-130.

47. Sossa P, Giraldo B, García B, Parra E, Arango P. Comparative study between natural and synthetic Hydroxyapatite: structural, morphological and bioactivity properties. *Matéria* 2018;23(4):e12217.

48. Villani A, Millán A, González G. Caracterización físico-química y cerámica de hidroxiapatitas producidas por distintos métodos de síntesis: Parte II: Efectos del tratamiento térmico. *Rev. Fac. Ing. UCV* 2015;30(1):201-210.

49. Rodríguez-Lugo V, Hernández JS, Arellano-Jiménez MJ, Hernández-Tejeda PH, Recillas-Gispert S. Characterization of hydroxyapatite by electron microscopy. *Microscopy and Microanalysis* 2005;11(6):516-523.

50. Shin K, Acri T, Geary S, Salem A. Biomimetic mineralization of biomaterials using simulated body fluids for bone tissue Engineering and regenerative medicine. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(19-20):1169–1180.

51. Buitrago-Vásquez M, Ossa-Orozco C. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods using a fruit extract template. *Dyna* 2018;85(204):283-288.

52. Tampieri A, Sprio S, Ruffini A, Celotti G, Lesci IG, Roveri N. From wood to bone: multi-step process to convert wood hierarchical structures into biomimetic hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *J Mater Chem* 2009;19:4973–4980.

53. Turco G, Porrelli D, Marsich E y cols. Three-dimensional bone substitutes for oral and maxillofacial surgery: Biological and structural characterization. *J Funct Biomater* 2018;9(4):62.

54. Porrelli D, Travan A, Turco G, y cols. Alginate-hydroxyapatite bone scaffolds with isotropic or anisotropic pore structure: Material properties and biological behavior. *Macromol. Mater. Eng.* 2015;300:989–1000.

55. Tadic D, Epple M. Una caracterización fisicoquímica exhaustiva de 14 materiales de sustitución ósea a base de fosfato de calcio en comparación con el hueso natural. *Biomateriales* 2004;25:987-994.

56. Enax J, Epple M. Synthetic Hydroxyapatite as a Biomimetic Oral Care Agent. *Oral health & preventive dentistry* 2018;16(1):7-19.

57. Gorken F, Kuru S, Batu S, Guven Y, Sepet E. Compomers Reinforced with Bioactive Glass and Hydroxyapatite Particles. *Oral Hlth Prev Dent* 2018;16(5):431-438.

58. Bossù M, Saccucci M, Salucci A, Di Giorgio G, Bruni E, Uccelletti D, et al. Enamel remineralization and repair results of Biomimetic Hydroxyapatite toothpaste on deciduous teeth: an effective option to fluoride toothpaste. *J Nanobiotechnol* 2019;17(1):17-29.

59. Hegazy S, Salama R. Antiplaque and remineralizing effects of Biorepair mouthwash: A comparative clinical trial. *Pediatr Dent J* 2016;26(3):89-94.

60. Hanafy A, Shinaishin S, Eldeen G, Aly R. Nano Hydroxyapatite & Mineral Trioxide Aggregate Efficiently Promote Odontogenic Differentiation of Dental Pulp Stem Cells. *J Med Sci* 2018;6(9):1727-1731.