

Título: AN EFFICIENT APPROACH TO THE SYNTHESIS OF A CALCIUM PHOSPHATE BONE-CEMENT AND ITS REINFORCEMENT BY HYDROXYAPATITE CRYSTALS OF VARIOUS PARTICLE MORPHOLOGIES

Nombre: SÁNCHEZ NEIRA, MARIA INES

Universidad: Universidad de Santiago de Compostela

Departamento: Instituto Universitario Mixto de Cerámica

Fecha de lectura: 25/11/2008

Programa de doctorado: Química

Dirección:

> **Director:** Francisco Guitian Rivera

Tribunal:

> **presidente:** JOSE SERAFIN MOYA CORRAL

> **secretario:** ALVARO GIL GONZALEZ

> **vocal:** Arturo Martínez Insua

> **vocal:** VÍCTOR VALCARCEL JUAREZ

> **vocal:** Ramón Torrecillas San Millán

Descriptores:

> MATERIALES COMPUESTOS

> MATERIALES CERAMICOS

> CRECIMIENTO DE CRISTALES

El fichero de tesis ya ha sido incorporado al sistema

Localización: BIBLIOTECA XERAL USC

Resumen: Motivación

Los huesos humanos fracturados tienen la capacidad de autorrepararse a través de un proceso natural. Sin embargo, existen muchas situaciones en las que las fracturas no cicatrizan de forma apropiada o espontánea. Es por ello que, hoy en día, la reparación y sustitución de huesos mediante el uso de implantes fabricados con diversos materiales artificiales son prácticas médicas corrientes. Estos materiales artificiales empleados para reemplazar una parte o una función del cuerpo humano de un modo seguro, fiable, económico y psicológicamente aceptable, reciben el nombre de biomateriales.

En este contexto los cementos de fosfato cálcico (CPCs) presentan unas propiedades excelentes, tanto biológicas como fisiológicas, para ser empleados en la reparación o sustitución de elementos óseos. Los CPCs son altamente bioactivos, biocompatibles y osteoconductivos, es decir, son resorbidos por el suero fisiológico del cuerpo humano, permitiendo así su progresiva sustitución por hueso nuevo, recién formado.

De forma general, los CPCs se obtienen mediante la mezcla de uno o varios ortofosfatos de calcio, que actúan como precursores, en un medio acuoso. Dependiendo de la cantidad de fase líquida empleada, se obtiene una

especie de masilla, fácilmente moldeable, o un líquido inyectable. Ambos productos son capaces de fraguar in vivo. Es por esto que los CPCs se presentan como unos biomateriales altamente prometedores en su uso para aplicaciones clínicas, como puede ser el relleno de cavidades óseas.

Además, en la mayoría de los CPC se obtiene hidroxapatito deficiente en calcio como producto de la reacción de fraguado. Dicho hidroxapatito (HA) es química y estructuralmente muy similar al apatito biológico, el principal componente inorgánico de los huesos, lo que confiere a los CPC unas características excelentes desde un punto de vista biológico y fisiológico para su uso en implantes óseos.

En general, la rápida conversión de los precursores de los CPCs al producto final HA no sólo conlleva un aumento de las propiedades fisiológicas adecuadas, sino también de las propiedades mecánicas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que durante un proceso quirúrgico el CPC debe fraguar lo suficientemente lento como para permitir la implantación quirúrgica, y lo bastante rápido como para minimizar la duración de la operación. En consecuencia, desde un punto de vista fundamental y de aplicación, es importante diseñar CPCs que presenten tiempos de fraguado entre 10 y 30 minutos, así como una rápida conversión al producto final, preferiblemente, HA.

Debido a que los CPCs presentan una resistencia a la fractura menor que los huesos ($\sim 0.6-1.5$ MPa/m² frente a 2-12 MPa/m²), sus aplicaciones clínicas están, en la actualidad, limitadas a áreas dónde los huesos no soportan carga, por ejemplo, reparaciones craneofaciales o periodontales. Uno de los métodos más empleados para mejorar las propiedades mecánicas de los CPCs es la adición de fibras que actúen como fase de refuerzo. Por ejemplo, las cerámicas de HA han sido reforzadas con éxito mediante el empleo de fibras de SiC, carbón, Si₃N₄, Al₂O₃ o ZrO₂. Sin embargo, dichos materiales son, en el mejor de los casos, bioinertes, es decir, no interactúan con el tejido óseo circundante, y su empleo conlleva una disminución de la bioactividad de los correspondientes composites cerámicos.

En contraste con estas fibras bioinertes, si se emplean partículas de HA como fase de refuerzo, éstas no sólo actúan como tal, sino que también mejoran la bioactividad de los composites finales, siendo ésta la gran ventaja de las fibras de HA empleadas como refuerzo de biomateriales cerámicos o de CPCs.

Cuando se quiere reforzar un material, es de vital importancia tener en cuenta la morfología de las partículas empleadas como fase de refuerzo. Así, en composites isotrópicos, las inclusiones con forma de lámina son las más efectivas, seguidas de las fibras, siendo la morfología menos efectiva la esférica. Por tanto, es importante desarrollar una ruta sintética efectiva que nos permita obtener cristales puros de HA sin defectos y con una morfología definida y controlable.

Así, con unos materiales de partida adecuados, es posible obtener nuevos biocomposites (composites empleados como biomateriales) para su empleo en sustitución y reparación ósea. Estos composites están compuestos por un CPC con una rápida conversión a HA y un tiempo de fraguado adecuado como matriz, y cristales de HA con diferentes morfologías como fase de refuerzo. Dichos materiales tienen la ventaja de que todos sus componentes son biocompatibles, bioactivos y osteoconductivos. Es decir, son aceptados por los tejidos circundantes y son capaces de establecer uniones con ellos, proporcionando un soporte en el que el nuevo hueso puede formarse.

Además de la morfología, el tamaño y la fracción volumétrica ocupada por el refuerzo de HA son factores clave en las propiedades mecánicas finales de estos biocomposites, y por lo tanto, necesitan ser optimizadas.

Objetivos

Tal y como se ha mencionado, los cementos de fosfato cálcico son uno de los materiales con mayor potencial para su empleo en reparación y/o sustitución ósea. Uno de los principales objetivos de este trabajo es preparar un cemento de fosfato cálcico bioactivo, que fragüe entre 10 y 30 minutos y con una rápida conversión al producto final, HA.

El segundo objetivo es el desarrollo de una ruta hidrotermal fácil y económica que nos permita obtener partículas de HA para su empleo como fase de refuerzo. Variando las condiciones de síntesis, es posible sintetizar monocristales de HA sin defectos y con distintas morfologías.

El CPC preparado, así como los cristales de HA sintetizados, deben de ser adecuadamente caracterizados con el objetivo de determinar su estructura, composición y propiedades físico-químicas.

Una vez logrados los componentes adecuados, se estudiará el refuerzo del CPC empleando los cristales de HA como inclusiones, obteniendo así una nueva familia de biocomposites con unas propiedades mecánicas mejoradas con respecto al CPC puro. Para ello, se estudiará la influencia de la morfología, tamaño y fracción volumétrica de los cristales de HA empleados como refuerzo en las propiedades mecánicas del biocomposite final. Por último, se optimizarán estos factores con el fin de obtener nuevos y funcionales biomateriales con unas propiedades mecánicas, biológicas y fisiológicas mejoradas con respecto al CPC puro.

Estrategias

#. Cemento de fosfato cálcico:

Se empleó fosfato dicálcico dihidratado (DCPD) y fosfato tetracálcico (TTCP) como precursores en la obtención del CPC, ya que dichos compuestos reaccionan para dar hidroxapatito como producto final.

La estrategia empleada para acelerar la reacción de fraguado del cemento y su conversión a HA fue la disminución del tamaño de partícula de los precursores mediante molienda. El empleo de una fase líquida saturada con iones fosfatos es otro de los métodos empleados para activar la reacción de los precursores de los CPCs. Sin embargo, esta técnica presenta varias limitaciones, por ejemplo, la incorporación de iones extraños en la estructura cristalina del HA final. Así mismo, existe un exceso de iones reactivos que no participan en la reacción en el medio, y los bajos o altos valores iniciales de pH que ello conlleva suelen facilitar la formación de especies intermedias. Estos efectos pueden crear problemas de biocompatibilidad o disminuir la velocidad de reacción del CPC. Por el contrario, el empleo de DCPD y TTCP finamente molidos asegura una rápida disolución de los precursores, lo que implica una mayor velocidad de la reacción de fraguado del CPC.

#. Cristales de hidroxapatito (HA):

El método hidrotermal fue la ruta seleccionada para sintetizar cristales de HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) debido a su exitosa aplicación para la síntesis de la fase deseada bajo condiciones de reacción suaves y mediante un solo paso. Así mismo, la técnica hidrotermal permite la obtención de monocristales sin defectos, altamente cristalinos, con un tamaño de partícula relativamente controlable y con diversas características morfológicas. Así, se sintetizaron monocristales de HA con varias morfologías mediante un tratamiento hidrotermal, empleando nitrato de calcio tetrahidratado e hidrogenofosfato de diamonio como reactivos. Adicionalmente, se utilizó urea como agente de precipitación homogénea. La urea se descompone uniformemente entre 80# y 95#C, liberando $\text{NH}_3(\text{aq})$ al medio de reacción, lo que a su vez, aumenta el pH del sistema hasta alcanzar valores en los cuales HA no es soluble, y por lo tanto, precipita. La urea es muy soluble en agua, y la cinética de su descomposición térmica depende de la temperatura y del tiempo que se caliente la mezcla. Por lo tanto, mediante la variación juiciosa de las condiciones del tratamiento hidrotermal, fue posible controlar el pH del

medio de reacción y, en consecuencia, sintetizar monocristales de HA con diversas morfologías.

#. Biocomposites:

Se obtuvieron nuevos biocomposites mediante la combinación del CPC obtenido (matriz) y cristales de HA con diversas morfologías (fase de refuerzo bioactiva). La idea principal es que la presencia de una inclusión mecánicamente más fuerte que la matriz puede prevenir la propagación de fisuras y mejorar las propiedades mecánicas de dichos biocomposites frente al CPC puro. Ambas situaciones son de extrema importancia en el desarrollo de nuevos biomateriales para reparación de huesos que soportan carga.

La influencia de la morfología, tamaño y fracción volumétrica de las inclusiones de HA en las propiedades mecánicas finales de los correspondientes biocomposites fue estudiada y optimizada para obtener un biomaterial funcional.

Resultados y discusión

¿Obtención y caracterización de los cementos de fosfato cálcico

Para la obtención de los cementos de fosfato cálcico se eligió la reacción de disolución-precipitación entre fosfato dicálcico (DCPD, básico) y fosfato tetracálcico (TTCP, ácido) para preparar CPCs con HA $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ como producto final. El trabajar con un menor tamaño de partícula de los precursores conlleva un incremento en su solubilidad, lo que a su vez, implica un aumento de la velocidad de reacción de formación del CPC. Por ello, se realizó la síntesis de los CPCs mediante varias etapas.

La etapa inicial supuso la síntesis de DCPD y TTCP puros (muestras D-raw y T-raw respectivamente). A continuación, estos precursores fueron molidos mediante un molino de bolas con el fin de disminuir su tamaño de partícula. Se emplearon tres tamaños de bolas distintos con el fin de obtener distintos tamaños de partícula. Mediante combinación de los distintos precursores obtenidos tras la molienda, se obtuvieron nueve CPC, cuyas propiedades y características fueron estudiadas y comparadas con el fin de seleccionar el CPC óptimo con el que preparar los biocomposites.

El producto D-raw se obtuvo mediante una reacción de precipitación, mientras que T-raw fue sintetizado mediante una reacción a alta temperatura (1500°C). El análisis de las muestras D-raw y T-raw mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y dispersión de luz dinámica (DLS) muestra que ambos están compuestos por cristales y agregados de cristales de varias micras (~ 6 y ~ 7 μm respectivamente), lo que probablemente implique una velocidad de disolución baja en el caso de ambas muestras.

Con la idea de mejorar la reactividad y solubilidad de los precursores, D-raw y T-raw fueron molidos empleando tres tamaños de bolas distintos (3.6, 4.8 y 9.6 mm). La pureza de las muestras tras la molienda fue comprobada mediante difracción de rayos X (XRD). El estudio de las muestras obtenidas mediante SEM y DLS confirma que la molienda de D-raw y T-raw reduce de modo efectivo el tamaño de partícula y los agregados de los compuestos de partida. La distribución del tamaño de partícula indica que el tamaño de las bolas empleadas en la molienda influye en el tamaño de partícula obtenido: las bolas más pequeñas proporcionan muestras más finas y con una menor distribución de tamaño de partícula (PSD). Así, DCPD y TTCP se obtienen con un tamaño medio de partícula de 3.66 y 2.96 μm , 1.69 y 1.52 μm o 1.13 y 1.33 μm según las bolas empleadas sean de 9.6, 4.8 o 3.6 mm respectivamente.

Los tres DCPD y los tres TTCP obtenidos tras la molienda fueron combinados entre sí y se obtuvieron nueve

CPCs. En contraste con los datos publicados hasta la fecha para un CPC formado por DCPD y TTCP, el análisis mediante XRD muestra que, tras 24 horas de reacción, todos los CPC obtenidos consisten únicamente en HA puro. Muchos grupos han investigado la preparación de CPC empleando DCPD y TTCP como precursores, sin embargo, en la mayoría de los casos, tras 24 horas, la mezcla de reacción todavía contiene TTCP sin reaccionar, lo cual puede generar problemas de biocompatibilidad, ya que el TTCP se hidroliza en agua, generando iones OH^- que hacen aumentar el pH del medio a valores muy básicos, tóxicos para las células óseas:

Se cree que el TTCP remanente está relacionado con un mayor tamaño de partícula de este compuesto comparado con DCPD (~10 veces mayor) y con la formación de una capa de HA en la superficie de los reactantes que actúa como barrera y dificulta su disolución. Hasta la fecha, solo fue posible obtener un CPC basado en DCPD y TTCP que se convierte totalmente en HA tras 24 horas empleando una fase líquida saturada con iones fosfato. Sin embargo, dicho CPC presenta un alto valor de pH durante aproximadamente siete días, lo que provocaría daños celulares en el tejido circundante al emplearlo in vivo.

La determinación del tiempo de fraguado y los estudios de porcentaje de conversión a HA realizados para los nueve CPC preparados, indican que es el cemento C-D36/T48 formado por DCPD y TTCP con un tamaño medio de partícula de 1.13 y 1.52 μm respectivamente el que presenta un menor tiempo de fraguado (~22 minutos) y una mayor conversión a HA tras tres horas de reacción (~33%). Es importante destacar que este tiempo de fraguado cumple los requisitos médicos para CPCs y que se obtiene usando sólo agua como fase líquida, es decir, sin emplear aceleradores de reacción que pueden presentar potenciales problemas de biocompatibilidad.

Los resultados obtenidos mediante el estudio de la evolución de la reacción empleando XRD, indican que C-D36/T48 se transforma totalmente a HA tras sólo seis horas de reacción, lo cual es una clara ventaja comparado con cementos similares que tras 24 horas todavía no han reaccionado totalmente. Cuanto más rápido se produzca la reacción de fraguado del cemento, antes alcanzará éste sus propiedades mecánicas finales. El estudio de la evolución de la reacción de fraguado también muestra que ésta sigue un proceso de nucleación-crecimiento de cristales.

El análisis mediante espectroscopía de dispersión de rayos X (EDX) confirma que el cemento C-D36/T48 es deficiente en calcio, ya que obtenemos una relación $\text{Ca/P} \sim 1.49$, cuando el valor del HA estequiométrico es 1.67. El análisis mediante espectroscopía de infrarrojo (IR), Raman y análisis elemental muestra la existencia de aniones HPO_4^{2-} y CO_3^{2-} sustituyendo parcialmente grupos PO_4^{3-} en la estructura cristalina del HA. La espectroscopía de IR muestra también la incorporación de moléculas de agua en la estructura del cemento C-D36/T48.

Según estos resultados, la fórmula del cemento puede representarse como $\text{Ca}_{10-x-y}(\text{HPO}_4)_x(\text{CO}_3)_y(\text{PO}_4)_{6-x-y}(\text{OH})_{2-x-y}(\text{H}_2\text{O})_z$.

Es importante señalar que el HA biológico presente en los huesos y dientes de los vertebrados, es deficiente en calcio y además, contiene ~3-5 % en peso de grupos carbonato. Por lo tanto, la obtención de un CPC como el C-D36/T48 con grupos HPO_4^{2-} (presentes en la HA deficiente en calcio) y CO_3^{2-} en su estructura no representa ningún problema desde un punto de vista biocompatible.

Por otro lado, la determinación del área de superficie y de la porosidad indica que el C-D36/T48 posee un alta área superficial (~169 m^2/g) y una porosidad de aproximadamente el 35% producida por mesoporos desordenados.

Estudios detallados mediante microscopía de transmisión electrónica (TEM) del cemento C-D36/T48 tras 24

horas de reacción señalan que la muestra esta compuesta únicamente por HA, sin presencia de otras fases como impurezas. TEM confirma además que el CPC está formado por nanoláminas (10-15 nm) fuertemente entrelazadas entre si. Dicho entrelazamiento es el responsable de la solidez del CPC tras la reacción de fraguado. Estos nanocristales crecen según la dirección del eje c.

Estudios in vitro muestran la potencial capacidad de C-D36/T48 para formar un enlace químico con el tejido óseo circundante. Es decir, el test in vitro confirma la bioactividad de C-D36/T48.

La resistencia a la compresión de este cemento fue establecida como 25 ± 3 MPa, un valor que entra en el rango de valores previamente establecidos para cementos basados en DCPD y TTCP (20-170 MPa). El módulo elástico (relacionado con las propiedades elásticas) y la dureza (relacionada con las propiedades plásticas) fueron determinados mediante nanoindentación. Los valores hallados (23.1 ± 2.6 y 0.73 ± 0.2 GPa respectivamente) son ligeramente superiores a los calculados para el hueso humano trabecular (15.0-19.4 GPa) y están en el rango de los hallados para el hueso cortical (20.0-25.8 GPa). La dureza de C-D36/T48 sigue la misma tendencia, y es ligeramente superior a la del hueso trabecular (0.52-0.62 GPa) y está dentro de los valores del hueso cortical (0.62-0.74 GPa). Estos resultados muestran una gran similitud mecánica (elástica y plástica) entre C-D36/T48 y los huesos, presentando el cemento preparado una gran compatibilidad biomecánica con los tejidos óseos. Dicha compatibilidad es de gran importancia en los biomateriales.

¿Síntesis de monocristales de hidroxiapatito con distintas morfologías

La técnica hidrotermal es ampliamente empleada hoy en día en la síntesis de cristales de HA. En la mayor parte de los casos, los cristales obtenidos presentan una morfología fibrosa (whiskers, fibras, agujas, etc.) o de lámina. Adicionalmente, también existen trabajos en los que las partículas sintetizadas tienen forma de prisma hexagonal, elíptica o de lazo. A pesar de estas diferencias morfológicas, los cristales obtenidos crecen según el eje c, la tendencia natural del HA.

En este trabajo, los cristales de HA fueron sintetizados empleando $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ como reactivos y urea como agente de precipitación. La urea se descompone entre 80° y 95°C liberando NH_3 al medio de reacción, elevando el pH del medio hasta valores a los cuales el HA es la fase menos soluble. La descomposición de la urea es dependiente de la temperatura, por lo cual es posible controlar su velocidad de descomposición aplicando distintos ciclos de temperatura durante el tratamiento hidrotermal ($T_{\text{máx.}} = 90^\circ\text{C}$). Todos los productos obtenidos son HA puro (XRD y Raman), ligeramente no estequiométrico (EDX, Ca/P ~ 1.75). Los análisis mediante IR muestra la parcial sustitución de iones $\text{OH}^\#$ y $\text{PO}_4^{3\#}$ por grupos $\text{CO}_3^{2\#}$ ($\sim 0.75\%$ en peso según análisis elemental) en la estructura cristalina de los productos. La existencia de grupos $\text{HPO}_4^{2\#}$, indicativos de una deficiencia en calcio del HA obtenido, no fue observada mediante IR, Raman o análisis termogravimétrico y diferencial (TGA/DTA), en concordancia con los resultados obtenidos mediante EDX.

Los estudios realizados mediante SEM muestran que las partículas sintetizadas presentan distinta morfología en función del ciclo de temperatura empleado durante el tratamiento hidrotermal y de la concentración de reactivos empleada.

Así, si la síntesis se realiza a una temperatura constante de 90°C , la urea se descompone de modo intensivo, proporcionando una importante supersaturación del medio de reacción y, consecuentemente, deberían formarse un gran número de núcleos de cristalización. Sin embargo, en nuestro caso las partículas obtenidas muestran forma de lámina (muestra PT), probablemente debido a un crecimiento epitaxial de los cristales de HA sobre cristales de fosfato octacálcico $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, precursor de los cristales de HA. Por tanto, se supone que

la morfología de lámina de la muestra PT se debe a un predominio de efectos cinéticos sobre los efectos termodinámicos de la reacción.

Si el ciclo de temperatura empleado no se mantiene constante a 90°C sino que presenta varias etapas en las que se disminuye la temperatura a 70°C (por debajo del rango de descomposición de la urea), los cristales sintetizados presentan morfología de prisma hexagonal (muestra HX). Este resultado indica que con estas condiciones de reacción, los efectos termodinámicos son predominantes.

Si la descomposición de la urea se realiza lentamente, las partículas sintetizadas presentan forma de aguja (muestra ND). Dicha morfología concuerda con un predominio de los efectos termodinámicos sobre los cinéticos, ya que se forman un gran número de núcleos de cristalización que al crecer, producen cristales de gran tamaño y pequeña sección.

Con un ciclo de temperatura que implica no solo la interrupción de la descomposición de la urea sino que además mantiene dicha interrupción durante una hora, es imposible obtener HA puro si el resto de las condiciones de reacción se mantienen constantes. Sin embargo, si disminuimos la concentración de calcio y fósforo de 0.167 y 0.1 M respectivamente (muestras PT, HX y ND) a 0.083 y 0.05 M los cristales obtenidos presentan, mayoritariamente, forma de laminas finas (muestra FP). También se observa la presencia de partículas casi rectangulares. En general, el tamaño de partícula de esta muestra es mucho menor que el de los productos anteriores. Empleando esta misma concentración de calcio y fósforo (0.083 y 0.05 M respectivamente) pero utilizando cualquiera de los otros ciclos de temperatura mencionados, se obtienen partículas con el mismo tipo de morfología. Estos resultados indican que, para esta concentración, lo que predomina es el efecto de la concentración de reactivos. Por lo tanto, en sistemas diluidos, el control morfológico de los cristales mediante la descomposición controlada de urea está de algún modo limitado. Los estudios de estas muestras mediante TEM confirman que todos las partículas cristalizan en el sistema hexagonal del HA y que son monocristalinas. Además, dichos estudios muestran que, mientras las muestras PT, HX y ND crecen a lo largo del eje c, los cristales de FP crecen según las direcciones (211) en el caso de las partículas con morfología de lámina fina y (102) para las partículas rectangulares. El HA tiene una tendencia natural a crecer orientado según el eje c, por lo que estos resultados son altamente interesantes, pero, al mismo tiempo, sorprendentes.

El módulo elástico y dureza de los cristales con morfología hexagonal HX, se determinó mediante nano-indentación. Los resultados obtenidos muestran una anisotropía en el módulo elástico, obteniendo valores de 62 ± 7.0 GPa para el plano prismático de los cristales (paralelo al eje c) y de 68 ± 8.0 GPa en el caso del plano basal (perpendicular al eje c). Dichos valores demuestran que los cristales hexagonales de HA son más rígidos que el cemento

C-D36/T48, lo que implica que pueden emplearse como fase de refuerzo del citado cemento.

¿Obtención y caracterización de los biocomposites

El cemento C-D36/T48, que actúa de matriz, fue reforzado mediante cristales de HA con diversas morfologías sintetizados mediante tratamiento hidrotermal, obteniendo así los biocomposites correspondientes. Todos ellos se transforman en HA puro tras 24 horas de reacción. El estudio de la evolución de la reacción de fraguado mediante XRD muestra que dicha reacción sigue un proceso de nucleación-crecimiento de cristales, el mismo que el cemento puro. Es decir, la presencia de la fase de refuerzo no afecta a la reacción de fraguado de la matriz. Además, los estudios mediante SEM y TEM muestran que el HA obtenido como resultado de la reacción de fraguado del CPC posee las mismas características morfológicas y microestructurales que el cemento puro. Por tanto, se puede concluir que el incremento de las propiedades mecánicas observado para los biocomposites

preparados se debe a la #Regla de las mezclas# de los composites y no a algún cambio producido en la matriz. Se observó que la incorporación de cristales de HA con diversas morfologías (esferas, láminas PT, hexágonos HX o láminas finas FP) al cemento puro C-D36/T48 aumenta la resistencia a la compresión (CS) de los biocomposites correspondientes, independientemente de la forma de dichas inclusiones. Sin embargo, se constató que las distintas morfologías de las inclusiones proporcionan distintos incrementos en la resistencia a la compresión, lo que revela la importancia de la forma y tamaño de las fases reforzantes. La cantidad añadida de fase de refuerzo también resultó un factor clave de las propiedades finales alcanzadas por los biocomposites. El mejor incremento se obtuvo para el biocomposite formado por CPC y un 10% en peso de láminas finas como refuerzo (~50%, CS = 48 MPa). Se cree que el cierto grado de flexibilidad observado para esta morfología es el responsable de este efecto. Así mismo, su pequeño tamaño, comparado con el de los otros cristales, debe de ser otro factor importante. Otra ventaja del biocomposite reforzado con láminas finas es que sus pequeñas dimensiones no afectan de modo significativo las propiedades reológicas del CPC puro, importante para aplicaciones en huesos que no soportan carga pero que necesitan un intervención quirúrgica lo menos invasiva posible, por ejemplo, las vértebras.

El módulo elástico de los biocomposites también depende de la morfología, rigidez y fracción volumétrica de la fase de refuerzo añadida. Cuando se emplean cristales con morfología de lámina fina, más flexibles y probablemente menos rígidos que las inclusiones hexagonales y que la matriz, el módulo elástico se reduce ligeramente (de ~23 a 22 GPa). Sin embargo, los valores obtenidos para estos biocomposites todavía están dentro del rango de valores determinados para hueso humano cortical, lo que implica isoelasticidad entre los compuestos preparados y los huesos, una característica muy importante de los biocomposites.

La dureza de los biocomposites parece estar más influenciada por la fase de refuerzo con morfología de lámina fina, probablemente debido a una mayor área de superficie de estos cristales comparado con las inclusiones hexagonales.