



**Universidad Autónoma de San Luis Potosí**  
**Facultad de Ingeniería**  
**Centro de Investigación y Estudios de Posgrado**

**Estudio del efecto colágeno/partícula en la resistencia  
mecánica de hueso poroso arqueológico**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de:  
Maestría en Metalurgia e Ingeniería de Materiales

Presenta:

Nelly Mariela Reyna Mendoza

Asesor:

Dra. Juana María Miranda Vidales

Co-asesor:

Dr. Octavio Domínguez Espinós

San Luis Potosí, S. L. P.

Junio de 2022





18 de noviembre de 2021

**LIC. NELLY MARIELA REYNA MENDOZA  
P R E S E N T E.**

En atención a su solicitud de Temario, presentada por los **Dres. Juana María Miranda Vidales y Octavio Domínguez Espinós**, Asesora y Coasesor de la Tesis que desarrollará Usted con el objeto de obtener el Grado de **Maestra en Metalurgia e Ingeniería de Materiales**, me es grato comunicarle que en la sesión del H. Consejo Técnico Consultivo celebrada el día 18 de noviembre del presente, fue aprobado el Temario propuesto:

**TEMARIO:**

**"Estudio del efecto Colágeno/Partícula en la resistencia Mecánica de Hueso Poroso Arqueológico"**

Introducción.

1. Aspectos Generales sobre la Consolidación de Hueso Arqueológico.
2. Materiales y Métodos para la Obtención de un Consolidante con las Propiedades Mecánicas Óptimas para ser Utilizadas en Hueso
3. Resultados y Discusiones del Efecto de los Consolidantes en Probetas de Hueso.

Conclusiones.

Referencias.

**"MODOS ET CUNCTARUM RERUM MENSURAS AUDEBO"**

**A T E N T A M E N T E**

**DR. EMILIO JORGE GONZÁLEZ GALVÁN  
DIRECTOR.**



[www.uaslp.mx](http://www.uaslp.mx)

Copia. Archivo.  
\*etn.

Av. Manuel Nava 8  
Zona Universitaria • CP 78290  
San Luis Potosí, S.L.P.  
tel. (444) 826 2330 al 39  
fax (444) 826 2336



**UASLP**  
Universidad Autónoma  
de San Luis Potosí



FACULTAD DE  
**INGENIERÍA**



CENTRO DE  
**INVESTIGACIÓN  
Y ESTUDIOS  
DE POSGRADO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**Área de Investigación y Estudios de Posgrado**

**Aclaración**

El presente trabajo que lleva por título:

**Estudio del Efecto Colágeno/Partícula en la Resistencia Mecánica de Hueso Poroso  
Arqueológico**

se realizó en el periodo de noviembre de 2020 a noviembre de 2021 bajo la dirección de la Dra. Juana María Miranda Vidales.

**Originalidad**

Por este medio aseguro que he realizado este documento de tesis para fines académicos sin ayuda indebida de terceros y sin utilizar otros medios más que los indicados.

Las referencias e información tomadas directa o indirectamente de otras fuentes se han definido en el texto como tales y se ha dado el debido crédito a las mismas.

El autor exime a la UASLP de las opiniones vertidas en este documento y asume la responsabilidad total del mismo.

Este documento no ha sido sometido como tesis a ninguna otra institución nacional o internacional en forma parcial o total.

Se autoriza a la UASLP para que divulgue este documento de Tesis para fines académicos.

Nelly Mariela Reyna Mendoza

---

## **Agradecimientos**

*Al CONACyT por el apoyo brindado a través de la beca con número (CVU): 929140*

*A mi asesora la Dra. Juana María Miranda Vidales y mi co-asesor el Dr. Octavio Domínguez Espinós, por la guía y gran apoyo invaluable.*

*A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y al Instituto de Metalurgia. A ustedes: sinodales, profesores y técnicos por el por el conocimiento y apoyo brindando para este trabajo de investigación.*

*A mis padres por su cariño y apoyo en cada paso.*

# INDICE GENERAL

<i>Resumen</i>	7
<i>Abstract</i>	7
<i>Introducción</i>	8
<i>Objetivos generales y específicos</i>	10
<b>Capítulo 1. Aspectos generales sobre la consolidación de hueso arqueológico</b>	11
1.1 Tejido óseo, composición y propiedades	11
1.2 Deterioro del hueso arqueológico y su impacto en la conservación	14
1.3. Consolidación ósea: agentes y métodos	17
1.3.1 Consolidantes orgánicos	18
1.3.2. Consolidantes inorgánicos	19
1.4 Sistemas de aplicación de consolidantes	20
<b>Capítulo 2. Materiales y métodos para la obtención de un consolidante con las propiedades mecánicas óptimas para ser utilizadas en hueso</b>	22
<b>2.1 Metodología experimental</b>	22
<b>2.2 Materiales y precursores</b>	22
2.2.1 Material óseo	22
2.2.2. Probetas de hueso	23
<b>2.3 Materiales y consolidantes</b>	25
2.3.1 Descripción de los consolidantes orgánicos empleados	25
2.3.2 Descripción de los consolidantes inorgánicos empleados	27
<b>2.4 Técnicas y métodos para la caracterización de los materiales</b>	29
2.4.1 Difracción de Rayos X (DRX)	30
2.4.2 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	30
2.4.3 Análisis Termo Gravimétrico (ATG) con Análisis térmico diferencial (ATD)	30
2.4.4 Microscopia Electrónica de Barrio (MEB)	31
2.4.5 Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)	31
2.4.6 Microscopía óptica	31

2.4.7 <i>Propiedades mecánicas</i>	32
<b>2.5 <i>Tratamientos de consolidación</i></b>	32
<b><i>Capítulo 3. Resultados y discusión del efecto de los consolidantes en probetas de hueso</i></b>	34
<b>3.1 <i>Composición y propiedades del material óseo</i></b>	34
3.1.1 <i>Análisis por Difracción de Rayos X (DRX)</i>	34
3.1.2. <i>Análisis Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR)</i>	36
3.1.3 <i>Análisis del comportamiento mecánico</i>	37
<b>3.2 <i>Efecto del tratamiento térmico en material óseo</i></b>	39
3.2.1 <i>Análisis térmicos</i>	39
3.2.2 <i>Análisis de porosidad</i>	41
3.2.3 <i>Comportamiento mecánico del material óseo</i>	43
<b>3.3 <i>Síntesis y caracterización de los componentes consolidantes</i></b>	46
3.3.1. <i>Partículas nanométricas de Ca(OH)<sub>2</sub></i>	46
3.3.2. <i>Partículas nanométricas de ZnO</i>	49
3.3.3 <i>Colágeno hidrolizado</i>	51
<b>3.4 <i>Análisis del proceso de consolidación</i></b>	52
3.4.1 <i>Consolidantes orgánicos tradicionales</i>	53
3.4.2 <i>Consolidante a base de colágeno hidrolizado</i>	56
3.4.3 <i>Consolidantes inorgánicos</i>	58
3.4.4 <i>Consolidantes colágeno/nanopartículas inorgánicas</i>	61
<b>Conclusiones</b>	65
<b>Bibliografía</b>	67

## RESUMEN

En el campo de la conservación y restauración de hallazgos óseos de interés histórico, se busca desarrollar consolidantes más compatibles con la matriz ósea, que permitan que las piezas mantengan su resistencia. En este trabajo se consolidaron muestras de material óseo, utilizando partículas de hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$  en combinación con hidroxiapatita HAP ( $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ ) y óxido de zinc (ZnO) en tamaño nanométrico y micrométrico. Estos materiales de relleno se adicionaron en una fase líquida a base de proteínas de colágeno hidrolizado de bajo peso molecular (6000 Dalton), para mejorar la resistencia mecánica al disminuir la porosidad. La eficacia del consolidante fue evaluada por medio de difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (MEB), espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), análisis térmico diferencial (ATD) y el cambio en la resistencia mecánica se evaluó por medio de ensayos de compresión. Los resultados obtenidos muestran una mejora apreciable partiendo de valores iniciales de 5MPa en la resistencia del hueso sin tratar hasta 17 MPa después del tratamiento de consolidación, apuntando a un método nuevo y compatible que puede ser prometedor para la preservación de hueso arqueológico.

## ABSTRACT

*In the field of conservation and restoration of bone finds of historical interest, the aim is to develop consolidants that are more compatible with the bone matrix, allowing the pieces to maintain their resistance. In this work, samples of bone material were consolidated, using particles of calcium hydroxide  $\text{Ca(OH)}_2$  in combination with hydroxyapatite HAP ( $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ ) and zinc oxide (ZnO) in nanometric and micrometric sizes. These filler materials were added in a liquid phase based on low molecular weight hydrolyzed collagen proteins (6000 Dalton), to improve mechanical resistance by reducing porosity. The effectiveness of the consolidant was evaluated by means of X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectrometry (FTIR), differential thermal analysis (DTA) and the change in mechanical resistance was evaluated through compression tests. The results obtained show an appreciable improvement from initial values of 5 MPa in the strength of untreated bone to 17 MPa after consolidation treatment, pointing to a new and compatible method that may be promising for the preservation of archaeological bone.*

## INTRODUCCIÓN

Los huesos recuperados de excavaciones arqueológicas no solo simbolizan objetos de interés histórico y arqueológico. En particular los restos antropológicos representan un recurso importante para entender los primeros asentamientos humanos. Los restos óseos humanos ofrecen un vínculo con nuestros antepasados, proporcionando evidencia importante de sistemas de creencias, rituales de entierro, jerarquías sociales, así como para conocer el sistema de alimentación, enfermedades y afiliaciones genéticas. Del mismo modo los restos óseos de fauna representan un poderoso recurso en la comprensión de la evolución y extinción de diferentes especies a lo largo de distintos periodos y eras.

El estudio de la preservación ósea está íntimamente relacionado con la comprensión de las características estructurales y la composición química del hueso. Macroscópicamente, los huesos están constituidos por dos tejidos superpuestos que tienen casi la misma composición química: uno corresponde a una capa externa densa denominada hueso cortical, la cual rodea una estructura interna, más porosa y menos densa, a la cual se le designa hueso trabecular. Químicamente el hueso es un material compuesto extremadamente complejo, que consiste en aproximadamente 20-30% en peso de colágeno, 60-70% en peso de minerales y 10% en peso de agua (Reiche *et. al.* 2002).

El contenido mineral está conformado principalmente por hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ ), cierta fracción de hidroxiapatita carbonatada ( $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_{0.5}(\text{PO}_4)_{5.5}$ ), en menor proporción se encuentra la presencia de elementos como flúor, sodio, magnesio y estroncio sustituyendo a los iones calcio, hidroxilo y fosfato. Otros elementos tales como: silicio, manganeso y hierro pueden existir en fases minerales independientes dentro de grietas y huecos del hueso (Schraer 1970). La intercalación de los componentes minerales y orgánicos se producen a nano, micro y macro escala, proporcionando respectivamente resistencia y elasticidad. Las propiedades mecánicas de los huesos están fuertemente relacionadas con su arquitectura, como lo sugiere el trabajo de Currey y colaboradores (Currey 2006) que han demostrado que las propiedades mecánicas de los huesos dependen del contenido de calcio y de la porosidad.

Hoy en día, los huesos de contexto arqueológico requieren ser tratados cuando presentan un estado de fragilidad y pérdida de resistencia mecánica, en consecuencia, pueden someterse a procedimientos de conservación como la consolidación. La consolidación es uno de los tratamientos más importantes en cualquier intervención de conservación-restauración y tiene como meta fundamental el devolver la resistencia mecánica, pero sobre todo dar la estabilidad a los sólidos óseos frágiles. La presente investigación busca ir más allá de la perspectiva actual, haciendo énfasis en que el problema no solo está en consolidar el hueso cortical, sino que la verdadera problemática es devolver la estabilidad a la estructura porosa, proponiendo



un nuevo consolidante que podría actuar como relleno para las cavidades y con ello devolver resistencia mecánica a la estructura atenuando defectos a nivel nano y micrométrico. Durante, la revisión bibliográfica se detectó la carencia de ensayos mecánicos en probetas maquinadas de hueso con geometría definida y que permitan cuantificar el grado de consolidación alcanzado. En este trabajo se preparan especímenes con formas estandarizadas y comparables.

La fragilidad que afecta a los materiales arqueológicos lleva a la necesidad de realizar tratamientos dirigidos a endurecerlos y fortalecerlos: los polímeros vinílicos y acrílicos se han convertido en los agentes consolidadores más popularmente empleados, actuando como pegamento, llenando pequeñas grietas y adhiriendo partes más pequeñas de materiales. Desafortunadamente, estos pueden conducir a efectos no deseados en términos de compatibilidad, reversibilidad y estabilidad.

Los problemas causados por los consolidantes son tan variados, como los productos utilizados y se deben principalmente a: poca penetración, fragilidad, contracción que resulta en delaminación, amarillamiento con el tiempo, reticulación resultante, solubilidad reducida e irreversibilidad, además de los excesos de brillo en la superficie del hueso (Johnson 1994). En la última década existe una tendencia por los consolidantes inorgánicos aplicados a estructuras óseas, por la compatibilidad de materiales y por ser considerados más estables que los polímeros. Diferentes grupos de investigación (North *et al.* 2016; Yang *et al.* 2016) promovieron el crecimiento de hidroxiapatita en hueso arqueológico como consolidante en estructuras de hueso cortical. Por otra parte, también se ha reportado que el empleo de nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2$  como tratamiento de consolidación (Natali *et al.* 2014; Salvatore *et al.* 2020).

Los antecedentes muestran el interés por crear consolidantes más compatibles con la matriz ósea y que tengan una eficacia en su resistencia. Por lo cual en el presente trabajo se pretende consolidar el material óseo con una carga de partículas compatibles con la matriz de diferentes tamaños nano y micrométrico. En esta investigación, se utilizará una mezcla de partículas de  $\text{Ca(OH)}_2$  micrométrico con óxido de zinc en tamaño nanométrico, en combinación con una fase líquida a base de proteínas de colágeno hidrolizado de bajo peso molecular con la finalidad de disminuir la porosidad e incrementar resistencia. Estos se comparan con agentes de consolidación utilizados en el área de conservación tanto de composición orgánica como inorgánica. Para esta investigación se usó material óseo tratado química y térmicamente para simular el hueso arqueológico real, a éste lo denominaremos hueso arqueológico sintético. Este material presenta una porosidad y resistencia equivalente a la de las piezas de hueso de contexto arqueológico.

La evaluación del consolidante fue estudiada usando difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (MEB), espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), análisis térmico diferencial (ATD) y el cambio en la resistencia mecánica se evaluó por medio de ensayos de compresión.

## OBJETIVO GENERAL

---

Evaluar la resistencia mecánica de hueso arqueológico sintético que fue consolidado usando el sistema colágeno hidrolizado con carga de partículas inorgánicas de  $\text{Ca(OH)}_2$  y  $\text{ZnO}$ .

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

---

- Elaborar probetas de hueso que contengan tejido óseo cortical y trabecular con una morfología geométrica y reproducible.
- Determinar la temperatura de tratamiento térmico para las probetas de hueso, que permita reducir el contenido de materia orgánica y obtener una matriz ósea porosa degradada que emule al hueso de contexto arqueológico.
- Sintetizar partículas de  $\text{Ca(OH)}_2$ , caracterizar su morfología y tamaño de partícula, estas serán utilizadas como agente de consolidación en el tejido óseo degradado.
- Preparar agentes de consolidación utilizados en el área de conservación de composición orgánica e inorgánica.
- Evaluar las propiedades mecánicas en compresión del hueso arqueológico sintético, después de aplicar los consolidantes propuestos y los utilizados actualmente en el área de conservación.

# Capítulo 1. Aspectos generales sobre la consolidación de hueso arqueológico

---

## 1.1 Tejido óseo, composición y propiedades

El sistema óseo en la mayoría de los seres vivos consta de tres tipos de huesos: huesos largos, huesos planos y huesos irregulares. Estos están hechos a base de dos tipos de crecimiento óseo, tejido cortical (o compacto) y tejido trabecular (o esponjoso). El hueso cortical conforma la capa exterior sólida y densa con grosor variable. (Schraer 1970). El hueso esponjoso es menos denso que el hueso cortical, siendo en donde radica prácticamente todo el colágeno en una estructura interconectada de poros que ayuda a disipar las tensiones mecánicas en las articulaciones (Mays 2010).

Químicamente, el hueso es un material compuesto extremadamente complejo, que consta de aproximadamente 20-30% en peso de colágeno, 60-70% en peso de minerales y 10% en peso de agua (Reiche *et al.* 2002).

El contenido mineral está compuesto principalmente de hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), con cantidades menores de flúor, sodio, magnesio y estroncio en sustitución de calcio y fosfato. Otros elementos, como el silicio, el manganeso y el hierro pueden existir de forma independiente en fases minerales dentro de grietas y huecos microscópicos (Schraer 1970; Parker and Toots 1970).

La estructura cristalográfica ideal de la hidroxiapatita (HAP) es monoclinica, sin embargo, biológicamente la HAP suele adoptar la forma de un prisma rómbico derecho, que se apila para formar una red hexagonal compacta (tabla 1.1) (Schraer 1970; Elliott 1994).

**TABLA 1.1** PROPIEDADES CRISTALINAS DE LA HIDROXIAPATITA (Sassoni *et al.* 2011).

Compuesto	Sistema cristalino	Estructura cristalina	Clase de cristal	Parámetros de red
Hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )	Hexagonal	Hexagonal bipiramidal	6/m	a=9.418 Å c=6.875 Å

La matriz orgánica está compuesta principalmente por colágeno tipo I presente en piel, huesos, dientes, tendones y órganos. Las fibras de colágeno que forman el hueso son el resultado de la unión mediante enlaces cruzados de una triple hélice de cadenas de aminoácidos. Esta estructura le confiere al hueso su resistencia a la tracción en sentido longitudinal y es responsable en gran parte de la elasticidad de este.

Las propiedades biomecánicas que proporciona el colágeno dependen a su vez de las características microestructurales del mismo, como la cantidad y la orientación de sus fibras o la estabilidad de sus enlaces. En diversos estados patológicos estas características se ven seriamente afectadas (principalmente la estabilidad de los enlaces). Por otro lado, los cristales de hidroxiapatita se disponen en los huecos que quedan libres en la matriz orgánica y son los responsables de la rigidez del hueso y de su resistencia a la compresión, por lo que estas características dependerán de la cantidad de mineral, del grado de empaquetamiento y del ordenamiento de los cristales alrededor de las fibras de colágeno (Malmberg and Nygren 2008). A causa de la compleja estructura del hueso, para conocer y comprender sus propiedades mecánicas, deben tenerse en cuenta los distintos niveles estructurales. El hueso, al igual que otros materiales biológicos, posee lo que se conoce como estructura jerárquica, compuesta de distintos niveles a medida que variamos la escala (Figura 1.1).

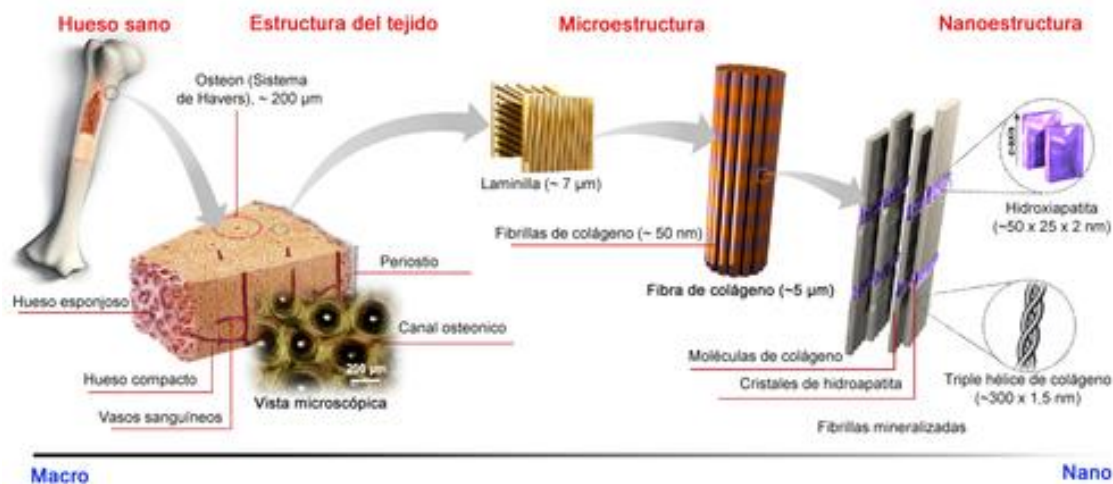


Figura.1.1 Estructura jerárquica del hueso típico en varias escalas de longitud (Sadat-Shojai *et al.* 2013).

Cada una de estas escalas o niveles jerárquicos va a tener influencia en las características mecánicas del hueso. Las diferencias morfológicas entre hueso cortical y trabecular producen importantes implicaciones biomecánicas. El hueso cortical posee un módulo elástico mayor, por lo que su curva de esfuerzo-deformación presenta una mayor pendiente. Esto implica que es capaz de soportar un alto grado de carga por unidad de superficie con un bajo índice de deformación, lo que le confiere una gran rigidez.

Sin embargo, el hueso trabecular presenta un módulo de Young menor y biomecánicamente describe una curva más aplanada, lo que se traduce en que la carga soportable por unidad de superficie es menor, pero con un mayor índice de deformación, lo que conlleva mayor flexibilidad (Figura 1.2). Debido a esto, los valores de resistencia del hueso cortical suponen un 60% de la resistencia del hueso entero, lo que implica una mayor resistencia mecánica de este componente tisular. El grosor y el diámetro del hueso cortical son los principales factores que afectan a su biomecánica. Un aumento de cualquiera de estas características provoca un aumento de la resistencia ósea (Batchelar *et al.* 2006).

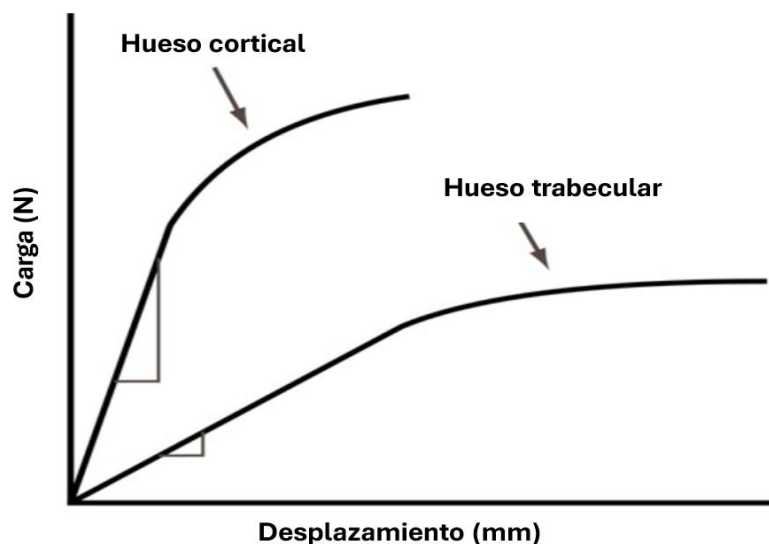


Figura 1.2. Curva carga-desplazamiento del comportamiento mecánico característico de los distintos tipos de tejidos óseos (Batchelar *et al.* 2006).

Una resistencia disminuida del hueso esponjoso por un estrechamiento de las trabéculas es reversible con un tratamiento adecuado; sin embargo, si desaparece la conectividad entre trabéculas, la pérdida de resistencia se vuelve irreversible ya que no se puede recuperar su elasticidad original. Por lo tanto, una estructura con mayor número, grosor y conectividad

entre trabéculas será más resistente que otra con menor número, menor grosor y mayor separación, aunque ambas presenten la misma masa ósea (Pinhasi and Mays 2007).

De lo descrito anteriormente se desprende que, el material óseo de contexto arqueológico que ha sido degradado por las condiciones de intemperie y el paso del tiempo experimenta la pérdida de materia orgánica y el tejido esponjoso es el que se deteriora más, como se puede apreciar en la figura 1.3, en donde la parte correspondiente al colágeno ha desaparecido por completo, dejando una red interconectada de porosidad.

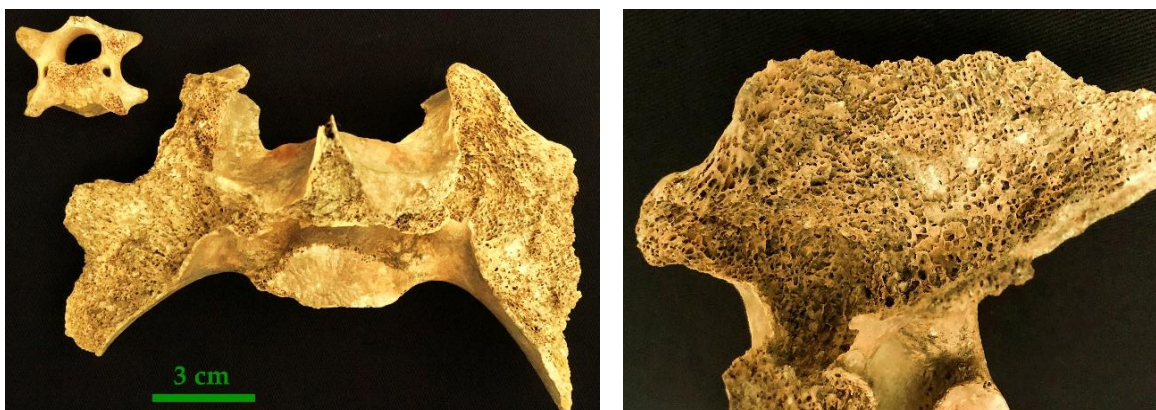


Figura 1.3. Fotografías de hueso sacado de sitios arqueológicos en donde se aprecia el tejido trabecular que ha perdido la fase orgánica a base de colágeno.

## 1.2 Deterioro del hueso arqueológico y su impacto en la conservación

El tejido óseo es uno de los materiales más frecuentemente encontrado en yacimientos arqueológicos y paleontológicos, apareciendo en todo tipo de cronologías. Normalmente, en manuales y programas formativos de conservación y restauración los materiales arqueológicos se dividen entre orgánicos e inorgánicos (García-Fortes y Flos-Travieso 2008). Esta separación es muy importante, ya que cada material requiere pautas determinadas para su conservación. En general, se asume que los fósiles de vertebrados son materiales inorgánicos de cronologías muy antiguas, por ejemplo, los dinosaurios y, por el contrario, los huesos arqueológicos se consideran materiales orgánicos de cronologías recientes.

En general, en los huesos más antiguos se ha producido una recristalización mineral y el material es totalmente inorgánico. Mientras que en huesos más modernos se preserva mejor tanto la parte orgánica como la inorgánica. Sin embargo, en cronologías intermedias, los

huesos pueden tener composiciones muy diversas. Además, pueden darse casos de huesos relativamente modernos muy mineralizados (Smith *et al.* 2002).

En contextos arqueológicos y/o paleontológicos, la historia material del tejido óseo empezaría desde el momento de su formación durante la vida del organismo y la preservación de los huesos no dependerá exclusivamente de su antigüedad, sino de los agentes y procesos que participan en la modificación de su naturaleza.

La preservación del hueso no depende del tiempo que el hueso ha estado bajo tierra, pero sí del tipo de ambiente del entierro (Child 1995; Hedges 2002). Las alteraciones del hueso enterrado dependen de la descomposición tanto del mineral como de los componentes orgánicos. Después de la deposición, el hueso puede sufrir intercambio iónico, pérdida de colágeno, ataque microbiano, lixiviación de minerales e infiltración por compuestos orgánicos u otros minerales encontrados en el suelo. Tanto la porosidad como la cristalinidad del hueso se ve afectada a medida que el hueso envejece y se degrada en respuesta a la interacción con el medio ambiente (Hedges 2002).

La problemática a la que se enfrenta la preservación de los materiales óseos también se ve influenciada por los cambios climáticos del medio ambiente y del contexto de enterramiento, ciclos húmedo-seco y de congelación-descongelación, agravados por las sales solubles, también pueden aumentar la degradación de los huesos, así como la exposición a la luz solar y radiación ultravioleta (UV) (Child 1995; Fernández-Jalvo and Andrews 2002).

Hay tres vías principales de deterioro del hueso: 1) deterioro químico del colágeno, 2) deterioro químico de las fases minerales y 3) biodegradación. Los contenidos de colágeno y minerales del hueso se protegen entre sí, ya que la presencia de contenido orgánico retardará las reacciones de disolución de minerales y, a la inversa, la disolución de minerales puede conducir a un aumento en la degradación microbiana del colágeno (Collins *et al.* 2002; Hedges 2002).

En general, los suelos alcalinos descomponen el colágeno de los huesos, al tiempo que preservan la estructura mineral (Child 1995). Sin embargo, los suelos altamente alcalinos pueden causar descamación o desprendimiento de la superficie del hueso en fragmentos (Fernández-Jalvo y Andrews 2002). Los suelos ácidos, con un pH (5 o menos) disolverán la estructura mineral del hueso, la hidroxiapatita (HAP) se perderá si el suelo de enterramiento es bajo en fosfatos, lo que lleva a la filtración de aniones de fosfato a medida que el hueso busca equilibrio con el medio ambiente (Child 1995). De hecho, es posible que los cristales de hidroxiapatita (HAP) se puedan disolver y precipitar repetidamente en su lugar (Hedges 2002). Todos estos eventos alteran la cristalinidad del hueso, posiblemente afectando su resistencia y conservación a largo plazo. Una vez que se ha producido el deterioro inicial por

medios químicos o físicos, la acción microbiológica también podría dañar el hueso, principalmente al atacar el componente orgánico de colágeno (Hedges 2002).

La disolución de minerales es más común en lugares con movimiento de agua, donde debe tener lugar una gran cantidad de transferencia de iones para que el hueso entre en equilibrio con el medio acuoso (Collins *et al.* 2002; Hedges 2002). Los huesos de ambientes acuosos se verán privados de HAP y, por lo tanto, se volverán más susceptibles a posterior deterioro del colágeno (Reiche *et al.* 2002). Suelos con alto en contenido de calcio también romperán el hueso a través de la formación de calcita (figura 1.4). Los cristales de calcita adquieren un mayor volumen dentro de los poros del hueso, lo que provoca agrietamiento y descamación (Child 1995). Se ha demostrado que el hierro, el aluminio, el manganeso y el potasio ingresan a los huesos desde el suelo y el medio ambiente, mientras que el calcio y el magnesio generalmente se pierden por el hueso en el suelo.

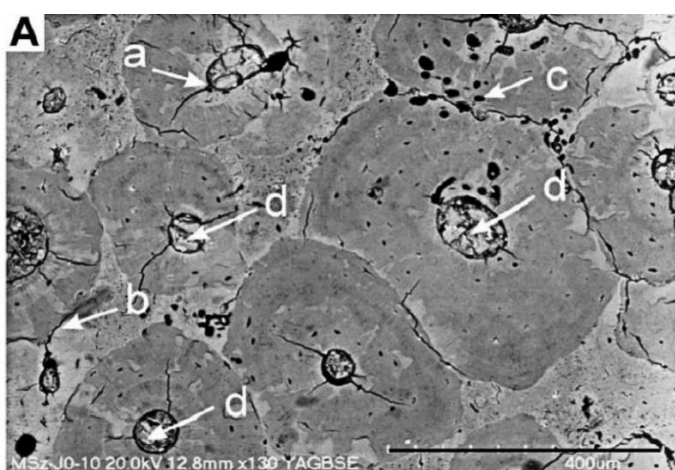


Figura 1.4. Imagen SEM de una sección transversal de hueso arqueológico. (a) grietas radiales, (b) grietas circunferenciales, (c) alteración bacteriana, y (d) canal de Havers lleno de material carbonatado (Rogoz *et al.* 2012).

El flúor también es de origen diagenético (ignorando los estándares de agua potable fluorada) (Parker and Toots 1970). El estroncio, por el contrario, viene de la dieta, y es un indicador común y bien investigado de los hábitos alimentarios (Parker and Toots 1970). Los elementos se pueden incorporar al hueso a través de huecos y fisuras en el hueso, o dentro de la propia matriz de apatita. Los vacíos resultantes de la descomposición del componente orgánico también pueden convertirse en lleno de impurezas en el suelo, especialmente materiales ricos en carbonatos. Hierro y manganeso, los compuestos se encuentran alrededor de los canales de Havers y los osteocitos. Estos dos elementos también son responsables de las manchas en la superficie ósea (Rogoz *et al.* 2012).



El hueso es un material importante en la comprensión e interpretación de la arqueología, sitios y conjuntos, ya que puede identificar entornos antiguos, paleodieta, métodos de herramienta haciendo, enfermedades antiguas y causas de muerte. Los huesos proporcionan la mayor cantidad de información cuando están intactos, cuando se pueden medir y examinar la superficie en busca de marcas de dientes y cortes, desgaste, signos de crecimiento o enfermedad, y evidencia de corte y pulido (Koob 1984). El número y tipo de huesos, así como su tamaño y forma, y cualquier característica de la superficie puede indicar depredación, caza, reelaboración u otra evidencia arqueológica importante (Child 1995). La preservación del hueso puede verse afectada a través de muchas vías complejas que incluyen cocción, descortezado y reelaboración, así como por exposición y entierro (Hedges 2002).

### 1.3 Consolidación ósea: agentes y métodos

Los huesos de contexto arqueológico deben ser lo suficientemente fuertes como para manipularlos y almacenarlos sin dañarlos y, a menudo, los huesos son grandes. La cantidad de material óseo que se extrae de los sitios de excavación requieren ser consolidados para su manipulación (Koob 1984). Los consolidantes utilizados en el material óseo arqueológico desde principios del siglo XX incluyen casi todos los adhesivos conocidos en el campo de la conservación, goma laca, resinas, colas de gelatina, proteína y ceras, no obstante, este tipo de consolidantes orgánicos fueron reemplazados por polímeros sintéticos a medida que se desarrollaron.

Actualmente, los consolidantes utilizados para el hueso arqueológico suelen estar basados en polímeros en soluciones, emulsiones o dispersiones coloidales acuosas o disolventes (Johnson 1994; Chadeaux *et al.* 2008). Un consolidante popular para huesos es el Acrysol WS-24 y su equivalente británico Primal WS-24, que es una dispersión coloidal acrílica que tiene un pH cercano al neutro y ha demostrado ser bastante estable en el tiempo. El Paraloid B-72, un copolímero de metacrilato de metilo/acrilato de etilo, es el otro consolidante más utilizado por arqueólogos y conservadores, no obstante, debe evitarse su uso con materiales húmedos, debido a su escasa compatibilidad con el agua, pero para material seco ha mostrado buenas propiedades de trabajo y envejecimiento (Koob 1984). Una de las características de los consolidantes poliméricos reside en que cambian significativamente el comportamiento fisicoquímico y la textura del material original. Los consolidantes poliméricos también son detectables e identificables usando Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) y otras técnicas espectroscópicas (Chadeaux *et al.* 2008). Sin embargo, todavía existen algunos desafíos en los polímeros de uso común en la actualidad. La alta tasa de evaporación de la mayoría de los solventes puede conducir a una baja penetración del agente consolidante. Además, muchos consolidantes a base de polímeros contienen altos

niveles de plastificantes y emulsionantes, a menudo patentados (Koob 1984). Actualmente se están diversificando los materiales a emplear en la consolidación ósea, por lo que se han establecido dos grandes grupos para clasificarlos: los consolidantes orgánicos y los consolidantes inorgánicos.

### 1.3.1 Consolidantes orgánicos

El hueso arqueológico se ha conservado a menudo en el campo y laboratorio mediante el uso de polímeros orgánicos. Los polímeros son moléculas muy largas formadas por cientos a millones de grupos de moléculas más pequeñas llamadas monómeros (Horie 2010). El polímero orgánico trabaja para preservar el hueso deteriorado consolidando la estructura dentro de una red de moléculas del polímero. La consolidación puede devolver resistencia estructural al material frágil y deteriorado.

Los monómeros de partida pueden tener la misma fórmula o no, obteniéndose en el primer caso los homopolímeros y en el segundo los copolímeros. A su vez los polímeros orgánicos están condicionados por su estructura que pueden ser lineal o reticular tridimensional. Las cadenas lineales constan de cientos de átomos de carbono (C) unidos entre sí y al mismo tiempo ligados a otros átomos de oxígeno, hidrógeno o nitrógeno (O, H, N), produciendo en algunos casos ramificaciones en la cadena. Las moléculas se van entrecruzando por policondensación o evaporación del disolvente, presentando un estado desordenado en el consolidante o sólo parcialmente ordenado (Johnson 1994).

Las moléculas orgánicas pueden absorber la energía térmica, debilitándose los enlaces entre ellas y moviéndose independientemente. Al aplicar calor a estas resinas termoplásticas, se puede observar que, si la temperatura es lo suficientemente elevada, esta energía puede romper los enlaces entre las macromoléculas. Igualmente, estas resinas pueden soportar esfuerzos apreciables, este último aspecto muy interesante, dado que este tipo de resinas puede absorber movimientos, vibraciones y cargas una vez puestas en obra. Este tipo de compuestos se vienen empleando desde la antigüedad, distintas referencias del uso de estos materiales se pueden encontrar en la literatura arqueológica (Horie 2010).

Ha habido un cambio gradual en los tipos de consolidantes que han utilizado los arqueólogos, a principios de siglo XIX comúnmente se usaban ceras y este material fue recomendado por el Museo Británico, otros consolidantes naturales como goma laca, dammar, gelatina, agar o diversas soluciones como cola de pescado y pegamento animal. La mayoría de estos materiales naturales sólo penetra pobremente en la estructura ósea y también ocasiona detalles oscuros de la superficie, algunos de estos polímeros naturales pueden encogerse

drásticamente con la edad ocasionando tensiones internas dentro del hueso que pueden derivar en la ruptura de la superficie del hueso (Johnson 1994).

Haciendo un recorrido histórico, se pueden encontrar innumerables productos poliméricos destinados a la consolidación: resinas de nitrato de celulosa, resinas de acetato de polivinilo, emulsiones de acetato de polivinilo, emulsiones acrílicas, resinas acrílicas, etc. (Horie 2010). El consolidante orgánico más destacado es la resina acrílica conocida como Paraloid B-72® o Acryloid B-72®, por ser sin lugar a duda la más utilizada desde su aparición hasta la actualidad. Esto se debe a su supuesta buena estabilidad y a su mayor reversibilidad en comparación con otros productos. El uso de esta resina queda referenciado en numerosas publicaciones y por ello es prácticamente la primera y mejor opción considerada en la mayoría de los casos (López-Polín 2012; Johnson 1994; Bisulca *et al.* 2009; Masetti-Bitelli 2002).

### 1.3.2 Consolidantes inorgánicos

Una posible alternativa eficaz a los polímeros orgánicos es el empleo de consolidantes inorgánicos en hueso y material fósil. Algunos consolidantes inorgánicos basados en alcóxidos de silicio (TEOS) han sido empleados (Bisulca *et al.* 2009; Zarraga *et al.* 2002), así como consolidantes a base de metasilicatos solubles (Thorn 2012). Sin embargo, se requieren más estudios para conocer los efectos de estos consolidantes a largo plazo.

Por otra parte, se han probado otras alternativas de consolidantes a base de compuestos inorgánicos como dispersiones de partículas coloidales que incluyen hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) (Warren 1999; Hansen *et al.* 2003; Chelazzi *et al.* 2013), hidróxido de magnesio ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) (Baglioni and Giorgi 2006), fosfato de calcio ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) (Matteini *et al.* 2011) y sílice ( $\text{SiO}_2$ ) (Oh *et al.* 1999).

Estos consolidantes han proporcionado una cohesión efectiva a las matrices en polvo; sin embargo, plantearon algunos desafíos causados por su inestabilidad a diferentes pH, toxicidad (caso de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ) (Giorgi *et al.* 2010), así como incompatibilidad de la estructura cristalina y una pobre penetración.

Estudios posteriores principalmente para la consolidación en sustratos porosos han demostrado un potencial considerable para desarrollar un consolidante más eficiente, proporcionando rigidez y resistencia mediante la imitación biológica del crecimiento de hidroxiapatita (HAP), el principal componente mineralógico de los dientes y la matriz ósea con la fórmula general  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$ , donde X generalmente se representa el ión flúor (fluorapatita), hidroxilo (hidroxilapatita) o cloro (clorapatita) (Posner 1969; Brown and

Constantz 1994; North *et al.* 2016; Matteini *et al.* 2011; Sassoni *et al.* 2011; Yang *et al.* 2016). Además de restaurar la integridad mecánica de materiales porosos con la hidroxiapatita se han demostrado propiedades protectoras (Polikreti and Maniatis 2003; Sassoni *et al.* 2011).

Estas aplicaciones preliminares de conservación, junto con importantes investigaciones fundamentales sobre la precipitación de HAP para aplicaciones de bioingeniería y biomédicas para la reconstrucción dental y la regeneración ósea (Kikuchi *et al.* 2004; Nayar *et al.* 2005; Ngiam *et al.* 2005) ofrecen una gran promesa en el uso de HAP como agente consolidante para huesos arqueológicos y otros materiales similares. Se han empleado disoluciones de fosfato ácido de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ), como precursor de hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), para consolidar huesos (Sassoni *et al.* 2016). Otros trabajos han estudiado diversos fosfatos amoniacales como formadores de consolidantes, usando fosfato ácido de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) y fosfato básico de amonio ( $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ ) junto con un precursor de calcio con el objetivo de formar hidroxiapatita, en ambos métodos se detectaron partículas de hidroxiapatita tras el tratamiento.

#### 1.4 Sistemas de aplicación de consolidantes

Dada la problemática existente en la degradación de los huesos paleontológicos, los profesionales de la restauración buscaron diversas opciones a fin de conferirle estabilidad mecánica a materiales cerámicos y huesos provenientes de sitios arqueológicos (Doehne and Price 2010). Independientemente del consolidante usado, los tratamientos se aplican mediante alguna de las siguientes técnicas de aplicación, dependiendo del sustrato (figura 1.5), existen los procedimientos de pincelado (*brushing*), absorción capilar (*capillary absorption*), inmersión (*immersion*), inmersión al vacío (*immersion using vacuum*), rociado (*spraying*), impregnación con cataplasma, papeta (*poultice*) o percolación e inyección (*injection*).

Investigadores (Ferreira and Delgado 2008) han estudiado la influencia de la técnica de aplicación comparando tres consolidantes aplicados en cuatro superficies porosas, las técnicas de aplicación estudiadas fueron el pincelado, la absorción por capilaridad y la inmersión. La conclusión básicamente ha sido que la técnica de aplicación juega un papel relativamente poco importante comparado con el rol del material consolidante empleado.

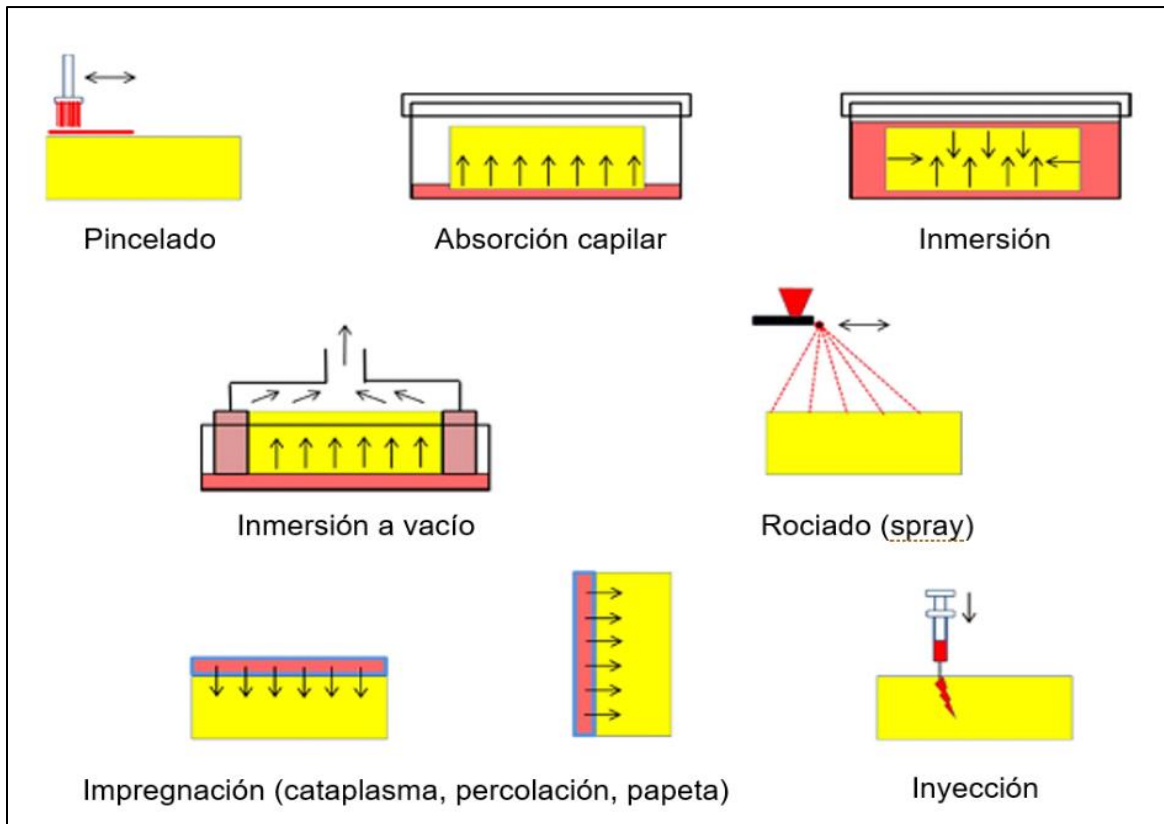


Figura 1.5 Esquema de las técnicas de aplicación de los tratamientos consolidantes (García-Fortes & Flos-Travieso 2008).

En otro estudio (Doehne and Price 2010) utilizaron tres consolidantes diferentes: silicato de etilo (Tegovakon V), resina acrílica (Paraloid B72) y resina epoxy (EP 2101) sobre un mismo sustrato, llegando a la conclusión de que la efectividad de la consolidación depende principalmente del tipo de consolidante incorporado al sustrato, y, por lo tanto, la técnica de aplicación juega un papel secundario. No obstante, otros grupos de investigadores (Franzoni *et al.* 2015) han estudiado la influencia de la técnica de aplicación en un solo tipo de tratamiento consolidante para superficies óseas. Dicho grupo, comparó el pincelado, la inmersión y la impregnación con cataplasmas de pulpa de celulosa.

En todos los casos lograron penetraciones del consolidante y un aumento de las propiedades mecánicas del sustrato. No obstante, los resultados reportados indican que la aplicación del tratamiento por inmersión dio los mejores resultados: aumento de la resistencia a la tracción (*tensile strength*), la resistencia a la abrasión y redujo la porosidad. Por consiguiente, dicho trabajo recomienda el emplear una sola técnica de aplicación para evaluar diferentes materiales consolidantes, a fin de evitar posibles errores en los valores experimentales.

## Capítulo 2. Materiales, técnicas de caracterización y métodos de obtención de consolidantes para hueso arqueológico

---

### 2.1 Metodología experimental

La presente sección cubre la metodología experimental y el diseño de consolidantes utilizados en esta investigación. Para probar el desarrollo y la evaluación de partículas en presencia de colágeno hidrolizado como agente de consolidación para huesos y otras matrices arqueológicas similares, los ensayos experimentales de laboratorio se llevaron a cabo mediante la aplicación de nanopartículas de hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$  y óxido de zinc (ZnO) en una solución de colágeno hidrolizado (CH) comparándolo con otros agentes consolidantes utilizados en el área de conservación, como son las resinas acrílicas y nitrocelulósicas.

Todos los análisis se llevaron a cabo en probetas de hueso maquinadas y degradadas artificialmente y los resultados fueron evaluados utilizando diferentes técnicas y métodos analíticos sensibles desde el punto de vista estructural y composicional para corroborar la efectividad de los tratamientos de consolidación. La caracterización del hueso, las partículas obtenidas en la síntesis  $\text{Ca(OH)}_2$  y las partículas de óxido de zinc ZnO se realizaron por medio de difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía óptica (MO), microscopía electrónica de transmisión (TEM), análisis termogravimétrico (ATG) y espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR). Para conocer la efectividad de los tratamientos se caracterizaron las propiedades mecánicas por medio de ensayos de compresión con el fin de obtener la resistencia del material óseo.

### 2.2 Materiales y precursores

#### 2.2.1 Material óseo

Para alcanzar los objetivos anteriormente mencionados, se eligieron diferentes materiales los cuales se expone a continuación: se requirieron tres tipos de materiales óseos para este estudio, según el tipo de ensayo a realizar: i) hueso fresco para conocer las características físicas y químicas de éste antes de su procesamiento; ii) muestras de hueso arqueológico para analizar su morfología, tipo de tejido, así como la porosidad promedio que presenta este material, y iii) hueso artificialmente degradado o también denominado hueso arqueológico

sintético, para la aplicación de los sistemas de consolidación y evaluar la resistencia mecánica posterior a los tratamientos.

El material arqueológico estudiado son fragmentos (figura 2.1) pertenecientes a diferentes estructuras óseas (hueso compacto y hueso trabecular) todas ellas procedentes de la especie *bovidae*, originarias del sitio arqueológico de Cedral, San Luis Potosí. Este material nos permite representar los diversos tipos de deterioros presentes en el hueso de contexto arqueológico. Por su naturaleza histórica, los análisis en este material no fueron invasivos o destructivos, consistieron en evaluar la cantidad y tipo de tejido presente, así como su porosidad. El hueso fresco y degradado para la implementación de este estudio, se decidió extraer de la caja torácica de res doméstica (*Bos primigenius Taurus*) específicamente de las costillas debido a sus características ya que presenta estructura óseo trabecular y cortical.

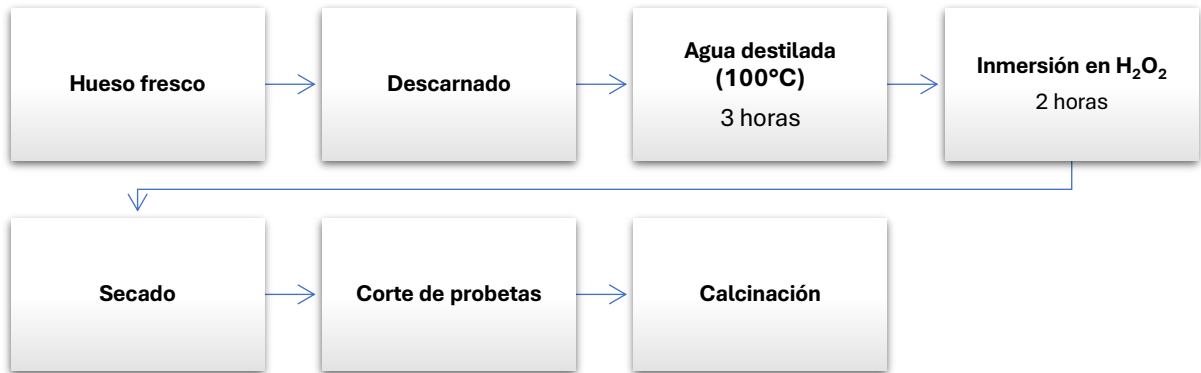


**Figura 2.1** Muestras de material óseo arqueológico evaluado.

### 2.2.2 Probetas de hueso

Para llevar a cabo la parte experimental de este estudio se planteó obtener múltiples probetas individuales de las piezas óseas provenientes de la caja torácica de res, a fin de tener un número apreciable de muestras tanto de referencia como para consolidación, a fin de que posteriormente se pudiesen realizar los análisis y ensayos pertinentes.

Para la elaboración de las probetas de hueso, piezas cortadas del hueso de la caja torácica de res fueron sometidas a distintos tratamientos químicos (figura 2.2) con el propósito de eliminar la materia orgánica pasando por un proceso inicial de descarnado, calentamiento en agua destilada hirviendo por 3 horas y posteriormente una inmersión en peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$  al 30%) a  $40^\circ C$  por 2 horas (Brzezińska *et al.* 2015).



**Figura 2.2** Metodología para la elaboración de probetas de huesos.

Una vez efectuada la eliminación de la materia orgánica por estos tratamientos, se dejaron secar las muestras a temperatura ambiente por un lapso de 72 horas. Una vez eliminada la materia orgánica mayor se examinó cada fragmento de material óseo y se determinó que intervalos ofrecían homogeneidad para obtener una morfología y tamaño comparable. Por lo cual las dimensiones de las muestras fueron determinadas por la región anatómica de la que se extrajo (costilla), con las siguientes medidas: 10 x 10 x 20 mm (la relación del hueso cortical en cada probeta fue de paredes de 2 mm por cada lateral y 6 mm de hueso trabecular). A continuación, mediante grafito y un vernier se ha medido y marcado cada probeta para proceder a cortar.

Los cortes de las probetas se han realizado con las dimensiones especificadas anteriormente con una microcortadora LECO VC-50 con disco diamantado, herramienta que ofrece gran precisión y control, además de velocidad regulable. Finalmente, al material óseo seleccionado ya tratado químicamente, maquinado y cortado se le realizó diferentes tratamientos de calcinación en una mufla a  $250^\circ C$ ,  $500^\circ C$ ,  $650^\circ C$  y  $800^\circ C$ , durante 2 horas en atmósfera de aire con el fin de reducir significativamente el contenido de colágeno y aumentar la porosidad en el sustrato óseo (Khoo *et al.* 2015).



## 2.3 Materiales consolidantes

Para la realización de los ensayos mecánicos, se requiere de la realización de varias pruebas con diferentes productos consolidantes, esto con el objetivo de poder comparar el efecto que cada uno de estos tiene en la resistencia mecánica que se alcanza al emplearlos como consolidantes. Aunado a lo anterior, se estudiaron diferentes agentes consolidantes que son empleados rutinariamente en hueso arqueológico. Como se mencionó anteriormente, los materiales consolidantes se clasifican a grandes rasgos en orgánicos e inorgánicos. Dentro de los tratamientos tradicionales orgánicos, se seleccionó una resina sintética acrílica conocida comercialmente como Paraloid B-72, una resina a base de nitrato de celulosa conocida comercialmente como Durofix, ambas por ubicarse entre los consolidantes más empleados en el mundo de la restauración de huesos y fósiles (Johnson 1994; Selwitz 1988; Koob 1984; Horie 2010). Además, en este trabajo se propone el empleo de otro compuesto orgánico, el colágeno hidrolizado, que podría ser empleado como material consolidante al percolar en forma líquida dentro de la estructura porosa del hueso.

Por otra parte, dentro del grupo de consolidantes inorgánicos se seleccionó el hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$  en forma de nanopartículas, las cuales se han empleado de forma aparentemente satisfactoria sobre hueso (Gomez-Ortiz *et al.* 2014; Chelazzi *et al.* 2013), así como nanopartículas de óxido de zinc ZnO, compuesto ampliamente conocido por sus propiedades antimicrobianas y que, hasta donde se tiene conocimiento, nunca ha sido utilizado en consolidación de hueso arqueológico.

Por consiguiente, en este trabajo se estudiaron los siguientes agentes consolidantes: nitrocelulosa, paraloid B72, colágeno hidrolizado,  $\text{Ca(OH)}_2$ , ZnO y las combinaciones de resinas orgánicas/partículas inorgánicas. Estos consolidantes fueron aplicados de la misma manera a probetas idénticas de hueso sintético artificial y evaluadas por ensayos de compresión, con la finalidad de evaluar su efecto en la resistencia mecánica final del material.

### 2.3.1 Descripción de los consolidantes orgánicos empleados

#### 2.3.1a Paraloid B72

El Paraloid B72 es una resina acrílica sólida formada por un copolímero de monómeros de metacrilato de etilo y acrilato de metilo (ME/AM) en proporción 70/30 introducido como Perspex por ICI en el año 1930, que posteriormente lo comercializó Röhm and Hass, una filial dependiente de Dow Chemical. En los años 70s y posteriores, se modificó su composición original que consistía en un 68% de etil acrilato y un 32% de metil acrilato, a un 70% de etil

metacrilato y un 30% de metil acrilato. Esta resina acrílica es soluble en cetonas, éteres, ésteres e hidrocarburos aromáticos (Koob 1986). Su temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) es de 40°C, temperatura por arriba de la cual este material polimérico pasa a su región plástica, transformándose de un material rígido con cierta dureza, a un material elastomérico deformable (Carraher 2018).

### *2.3.1b Nitrato de celulosa*

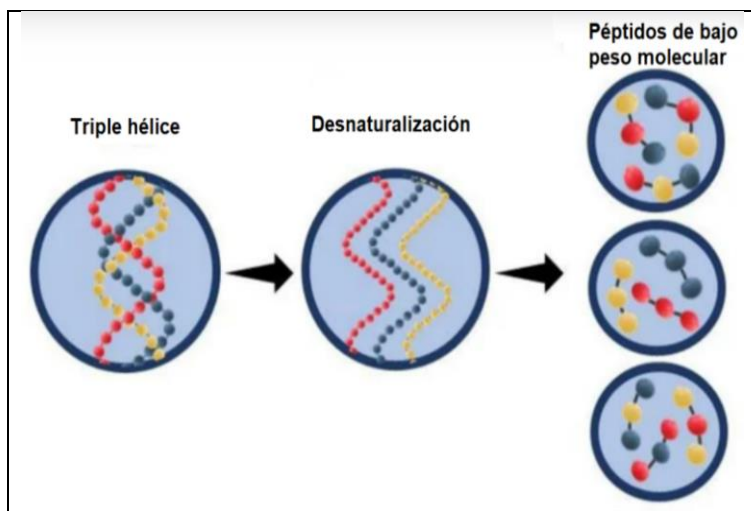
Polímero semisintético que resulta de la esterificación de la celulosa de origen vegetal mediante una mezcla de ácido sulfúrico y ácido nítrico. Los nitratos de celulosa fueron descubiertos a principios del siglo XIX y, pronto, fueron empleados como barnices (mezclado con alcohol y éter, conocido como colodión), como aglutinantes y adhesivos (por ejemplo, con la denominación comercial de Durofix y el Imedio®), así como un producto semi transparente conocidos con el nombre comercial de Celuloide®. Desde los años sesenta se extendió su uso como un adhesivo para huesos y cerámica, y también se sugirió como un consolidante óseo disuelto con acetona (Aubier 1996; Selwitz 1988). No obstante, se reconoció la inestabilidad de los adhesivos de nitrato de celulosa en arqueología (Johnson 1994) señaló que los compuestos de celuloide "se vuelven quebradizos y amarillentos".

Por lo cual su uso ha sido reemplazado por otras resinas sintéticas más estables, sin embargo, debido a su fácil disponibilidad, capacidad de trabajo y su familiaridad, el nitrato de celulosa (especialmente Duco Cemento) sigue utilizándose comúnmente como adhesivo; y estas características probablemente también lo recomienden para uso continuado como un consolidante por los arqueólogos, cuando otros materiales no están disponibles. La descomposición del polímero da como resultado fragilidad y encogimiento, así como un amarilleo severo (Aubier 1996; Selwitz 1988; Johnson 1994).

### *2.3.1c Colágeno hidrolizado Shaum*

El colágeno es una proteína formada principalmente por el aminoácido glicina (33%), prolina e hidroxiprolina (22%) en una triple hélice que está formada por tres cadenas  $\alpha$ . Se han identificado casi 28 tipos de colágeno, pero el colágeno tipo I es el más común en la piel, los huesos, los dientes, los tendones, los ligamentos y otros los órganos. Los colágenos son diferentes según su composición de cadena  $\alpha$ , dependiendo de la repetición y longitud los aminoácidos (Fratzi 2008; Gelse 2003).

En la figura 2.3 se puede ver que la desnaturalización del colágeno nativo, el cual produce tres cadenas  $\alpha$  en forma aleatoria en espiral, se puede observar que mediante tratamiento de hidrólisis el colágeno separa las cadenas y se compone de pequeños péptidos con bajo peso molecular 3–6 KDa. Su solubilidad y actividad funcional (antioxidante, antimicrobiana) están relacionadas con el tipo y grado de hidrólisis, así como con el tipo de enzima utilizada en el proceso (Fratzi 2008).



**Figura 2.3** Desnaturalización del colágeno nativo en pequeños péptidos de bajo peso molecular (León-López *et al.* 2019).

La composición y el grado de hidrólisis del colágeno son factores que aumentan las propiedades funcionales como la capacidad antioxidante y la actividad antimicrobiana, además, exhibe menor viscosidad en solución acuosa, olor neutro, incoloridad, transparencia, emulsificación y estabilización, formación de película, humectabilidad, solubilidad, y compresibilidad en polvo (Fratzi 2008). Estas propiedades le confieren al CH mejores propiedades como consolidante que el colágeno nativo, que presenta un alto grado de ataque biológico y amarillamiento de superficie (Johnson, 1994).

### 2.3.2 Descripción de los consolidantes inorgánicos empleados

En lo que respecta a la fabricación de partículas, la síntesis de nanopartículas de sustancias inorgánicas se fundamenta en una estrategia enfocada a lograr una mayor reactividad y profundidad de penetración del consolidante en el material óseo. Las técnicas de obtención de nanopartículas pueden ser divididas en dos grandes grupos: los métodos físicos y los métodos químicos.

### **2.3.2a Técnicas de Preparación Físicas**

Los procesos físicos más frecuentes para la obtención de nanopartículas consisten en la disgregación del material inorgánico mediante molienda, produciendo una disminución del tamaño original de partícula hasta obtener la reducción de tamaño y llegar a partículas más pequeñas, denominándose a estos procesos con el término anglosajón de *top-down* o *break-down process*. Estos métodos permiten obtener grandes cantidades de partículas, pero están limitados ya que el tamaño de las partículas obtenidas no suele ser inferior a unos varios micrómetros (West 1998).

Así mismo, los métodos de disgregación por molienda conducen inevitablemente a la contaminación del producto final por el desgaste del mismo material empleado para moler. Otra técnica física de obtención de partículas inorgánicas en el rango de cientos de nanómetros radica en la técnica de evaporación-condensación, la cual se fundamenta en evaporar/oxidar/condensar sólidos con elevadas presiones de vapor a relativamente bajas temperaturas (Honig and Rao 1981).

Este tipo de método es mucho más eficiente que el de molienda para la obtención de nanopartículas, pero se requiere de infraestructura mucho más compleja y costosa. Precisamente el óxido de zinc ZnO es uno de los compuestos que se obtienen de manera industrial con tamaño de partícula nanométrica por medio de esta técnica.

### **2.3.2b Técnicas de Preparación Químicas**

Estas técnicas de preparación consisten en la síntesis química de compuestos mediante reacciones de precipitación. En general, estos procesos se conocen como *bottom-up*, y en ellos, las partículas van creciendo mediante el proceso de nucleación-crecimiento en fase líquida al ir añadiendo átomos al germen cristalizado, llegándose a un tamaño que depende de condiciones como concentración, temperatura, fuerza iónica, pH, estados de oxidación, etc. (West 1998; Ashby *et. al.* 2009).

El  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  puede ser sintetizado, como se muestra en la [tabla 2.1](#), mediante reacciones en fase heterogénea y reacciones en fase homogénea, tanto en agua como en disolventes no acuosos (Baglioni y Giorgi 2006).

**TABLA 2.1** SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE  $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Referencia	Reactivo	Concentración	T (°C)	Tamaño (nm)
Ambrosi et al. (2001)	NaOH CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.2 a 0.8 M 0.1 a 0.4 M	60-90	200 - 500 nm a 90 °C 600–1200 nm a 60 °
Giorgi et al. (2005)	CaCl <sub>2</sub> NaOH	No Indicada	80–90	50–300 nm
Daniele et al. (2008)	CaCl <sub>2</sub> NaOH	0.3 M 0.6 M	90	50–600 nm
Daniele and Taglieri (2012)	NaOH CaCl <sub>2</sub>	0.6 0.3	90	100-800 nm

En el caso de reacciones en fase homogénea, las sales de calcio son las más utilizadas en la literatura científica para preparar nanopartículas, empleando tanto el  $\text{CaCl}_2$  anhidro como el cloruro de calcio hidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) a pH muy altos, no obstante, nitratos, percloratos y acetatos de calcio son también empleados como precursores del ión calcio. En su mayor parte, la literatura científica se centra en los procesos anteriores y sus variaciones, aunque también han sido descritas reacciones en condiciones extremas de calcio metálico en plasma de hidrógeno para obtener  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (Liu *et al.* 2010).

#### 2.4 Técnicas y Métodos para la caracterización de los materiales

Para el desarrollo del presente trabajo, distintas técnicas de caracterización de materiales fueron aplicadas para conocer propiedades físicas, químicas y mecánicas de los materiales empleados. La caracterización del hueso, las partículas obtenidas en la síntesis  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y las partículas de óxido de zinc ZnO, la hidroxiapatita  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  presente en hueso, se realizaron por medio de técnicas instrumentales como difracción de rayos X (DRX), microscopía óptica (MO), microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía electrónica de transmisión (MET), análisis termogravimétrico (ATG) y espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR).

### 2.4.1 Difracción de Rayos X (DRX)

La Difracción de Rayos X (DRX) es una técnica que es efectiva para determinar la estructura cristalina de los sólidos y, por consecuencia, es posible identificar los compuestos químicos asociados a tal estructura previo conocimiento de su composición química (Cullity 1978). En esta investigación, los materiales caracterizados por DRX fueron las partículas de hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$ , óxido de zinc (ZnO) y la hidroxiapatita del hueso a distintas temperaturas. Todas las mediciones se realizaron con material en polvo y en un difractómetro BRUKER D8 Advance (radiación  $\text{Cu}_{K\alpha}$ ,  $\lambda = 0.15405973$  nm) con los siguientes parámetros de operación: monocromador de Ni, voltaje de excitación de 40 kV, paso angular de  $0.01^\circ$ , tiempo de integración o recolección de datos de 1 segundo por paso angular y un barrido en  $2\theta$  de  $5^\circ$  a  $65^\circ$ . Los resultados generalmente se reportarán como una gráfica de intensidad de energía difractada en función de la posición angular entre el haz incidente de rayos X y el difractado (ángulo de difracción  $2\theta$ ).

### 2.4.2 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Las mediciones de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier se llevaron a cabo utilizando un espectrómetro Perkin-Elmer Spectrum en el rango de  $4000\text{--}400$   $\text{cm}^{-1}$ . Los parámetros de operación empleados fueron los siguientes: rango espectral de  $4000$  a  $400$   $\text{cm}^{-1}$ , resolución espectral de  $18$   $\text{cm}^{-1}$ , número de escaneos por espectro 25, método de medición por reflectancia difusa. Los especímenes para analizar se prepararon por la técnica de dilución, la cual consiste en moler finamente la muestra junto con KBr, mezclándolos en una proporción de aproximadamente 5 % muestra y 95 % KBr (Larkin 2011).

### 2.4.3 Análisis Termo Gravimétrico (ATG) con Análisis térmico diferencial (ATD)

El análisis termogravimétrico (ATG) es una técnica que determina la variación de la masa de la muestra en función de la temperatura de calentamiento con el fin de analizar la descomposición y la estabilidad térmica de un material. El análisis térmico diferencial (ATD), mide la diferencia de temperatura entre la muestra y un material de referencia (sujetos a la misma variación de temperatura en una atmósfera controlada) por la presencia de reacciones en la muestra a estudiar. La técnica detecta cambios como consecuencia de eventos endotérmicos o exotérmicos hasta cierto límite de detección para muestras en estado sólido (Brown 2004).

En esta investigación se realizó el ATG/ATD del polvo de hueso, con el fin de identificar sus eventos térmicos principales, conocer su estabilidad térmica en función de la temperatura en un ambiente oxidante, así como evaluar las reacciones que se efectuaron al incrementar la temperatura en la hidroxiapatita que está contenida en el material óseo. En este caso, las condiciones de operación consistieron en utilizar una atmósfera de aire seco a un flujo de 40 ml/min, con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min utilizando en todos los casos crisoles empleados fueron de alúmina  $Al_2O_3$ .

#### 2.4.4 Microscopia Electrónica de Barrio (MEB)

La Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), puede examinar la estructura microscópica de un material y obtener información de su composición química por medio de espectroscopía de Energía Dispersiva de rayos X (EDX) (Yang 2008). En esta investigación, se utilizó un equipo MEB JEOL-SEM-6610LV a 20kV con filamento de tungsteno que opera por emisión termiónica, lo cual conduce a una limitada resolución lo que hace imposible la observación de las partículas nanométricas de óxido de zinc (ZnO), pero permite analizar la morfología y el tamaño de la partícula de hidróxido de calcio  $Ca(OH)_2$  y del material óseo. No obstante, su limitada resolución espacial, permite realizar el análisis por EDX en todos los materiales.

#### 2.4.5 Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)

La Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) al acelerar electrones a muy altos potenciales, puede alcanzar una resolución del orden de 0.1 nm (Yang 2008), por lo cual, en esta investigación se utilizó para determinar el tamaño de las nanopartículas de  $Ca(OH)_2$  y ZnO, empleándose un JEOL-200-CX a un voltaje de operación de 80 keV, obteniéndose imágenes solamente en campo claro.

#### 2.4.6 Microscopía óptica

La microscopía óptica se realizó en un microscopio de la marca Olympus empleando la técnica de campo claro. Actualmente los microscopios ópticos tienen acoplada una cámara externa digital que permite la captura de las imágenes (Wayne 2009). Posteriormente, se realiza el análisis de la fotografía por medio de algún software de tratamiento de imagen, en el presente caso se efectuó la cuantificación de la porosidad por medio del software *ImageJ*, por el método de diferencia de contraste.

### 2.4.7 Propiedades mecánicas

Para evaluar las propiedades mecánicas del hueso y de las probetas consolidadas, se realizaron ensayos de compresión uniaxial en las muestras que fueron sometidas a los diferentes tratamientos con el fin de evaluar el efecto del consolidante en la resistencia mecánica. El ensayo de compresión uniaxial es uno de los procedimientos más ampliamente usados en el campo de materiales cerámicos (Pelleg 2013).

La técnica se fundamenta en la aplicación de una fuerza sobre una sección de área constante, la cual se aplica de forma uniaxial para ir midiendo la deformación inducida en el material a evaluar. En este caso, se utilizó una máquina universal marca Physical Test Solutions, modelo FMC y los parámetros de operación que se emplearon fueron con una celda de carga de 20 kN, con una velocidad de cabezal de 0.01 mm/min y frecuencia de recolección de datos de 0.5 Hz.

### 2.5 Tratamientos de consolidación

Los procedimientos de consolidación se elaboraron después de caracterizar los materiales y precursores y tomando en cuenta ciertas consideraciones. Los consolidantes orgánicos se encuentran en fase líquida, por lo que la preparación de consolidantes orgánicos conduce a soluciones con diferentes concentraciones: 3, 5, 10 y 15% (en peso), puesto que normalmente son los porcentajes a los que se usan estos agentes poliméricos.

Los porcentajes más bajos (3 y 5%) generalmente se emplean para funciones de consolidación y los más elevados (10 y 15%) para funciones adhesivas. El Paraloid B72 y la nitrocelulosa fueron disueltos en acetona en 3 y 15% (peso), y dichas soluciones fueron aplicadas como tratamientos de consolidación. Mientras que para el colágeno hidrolizado Schaum, dicho compuesto se disolvió en agua desionizada al 10% (peso) y así se aplicó el correspondiente tratamiento de consolidación.

En el caso de los agentes inorgánicos, se prepararon las nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2$  por precipitación química. Las partículas nanométricas de ZnO fueron adquiridas a una empresa nacional. Cada una de estas partículas fue dispersada en 5 g/L de una solución agua/isopropanol (50:50) para ser aplicadas cada composición como tratamiento. Posteriormente se elaboró la formulación propuesta por el consolidante orgánico a base de colágeno hidrolizado junto con la correspondiente carga de nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2$  y ZnO.



En cuanto a la técnica de aplicación, los consolidantes orgánicos fueron aplicados sobre las probetas de hueso por medio de impregnación con pincel, ya que se encuentran en fase líquida.

En lo referente a los agentes inorgánicos, el procedimiento de aplicación fue modificado ligeramente y se empleó la técnica de inyección de las dispersiones consolidantes, indicándose en la [tabla 2.2](#) los tratamientos realizados. Una vez aplicado el tratamiento, las probetas se dejaron secar a temperatura ambiente (25°C) por un lapso de 72 horas, para posteriormente ser ensayadas en compresión.

**TABLA 2.2** TRATAMIENTOS DE CONSOLIDACIÓN

CONSOLIDANTE			
TIPO	COMPOSICIÓN	CONCENTRACIÓN (%)	
ORGÁNICO	Nitrocelulosa	(NC-b) 3	(NC-a) 15
	Paraloid B72	(72-b) 3	(72-a) 15
	Colágeno hidrolizado Schaum®	(CO-b) 3	(CO-a) 10
INORGÁNICO	Ca(OH) <sub>2</sub>	5	
	ZnO	5	
	Ca(OH) <sub>2</sub> + ZnO	2.5 + 2.5	
COMPUESTO	Colágeno + Ca(OH) <sub>2</sub> + ZnO	10 + 2.5 + 2.5	

NC-b: nitrocelulosa baja concentración. NC-a: nitrocelulosa alta concentración. 72b: paraloid baja concentración. 72a: paraloid alta concentración. CO-a: colágeno alta concentración. CO-b: colágeno baja concentración.

## Capítulo 3. Análisis y discusión sobre el comportamiento mecánico de los huesos consolidados

### 3.1 Composición y propiedades del material óseo

Como se mencionó en el capítulo anterior, es de gran relevancia el conocer y tener bien caracterizados los materiales de base, a fin de poder entender el efecto de algunos parámetros y llegar a resultados representativos.

#### 3.1.1 Análisis por Difracción de Rayos X (DRX)

En la figura 3.1 se muestra el patrón de difracción de rayos X (DRX) obtenido de la muestra de polvo de hueso tratado químicamente pero previo al tratamiento de calcinación. Los principales picos identificados a partir del patrón DRX fueron indexados a las familias de planos cristalográficos (111), (002), (210), (211), (300), (301), (310), (311), (222), (312), (213), (321) y (004), lo cual indica la presencia de la fase cristalina hexagonal con grupo espacial P63/m correspondiente a la hidroxiapatita  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  (JCPDS tarjeta No. 00-009-432). No obstante, el patrón de difracción presenta picos ensanchados y superpuestos que sugieren una mala cristalización (Sa *et al.* 2017). Por lo general, la cristalinidad de un sólido está relacionada con el grado de ordenamiento de largo alcance, los esfuerzos internos existentes, así como del tamaño de los cristales que estén conformando el material. En el caso de la hidroxiapatita, se ha tratado de establecer un índice de cristalinidad (IC) a fin de tener un indicador cuantitativo de la cristalinidad del material y que represente el grado de ordenamiento en el cristal. De acuerdo con varios autores (Chukhchin *et al.* 2016; Hing *et al.* 1999), un procedimiento para evaluar el grado de cristalinidad de la hidroxiapatita (HAP) consiste en evaluar el grado de traslape existente entre los picos asociados a familias de planos cercanos, en este caso las familias de planos (211), (112) y (300) ubicados a valores de  $2\theta$  en  $31.90^\circ$ ,  $32.18^\circ$  y  $32.71^\circ$  como se muestra en la figura 3.2. La altura del pico más alto (211) se mide a partir de una línea de base establecida entre  $30^\circ$  y  $38^\circ$  del ángulo  $2\theta$  y las alturas de los otros picos se miden desde la parte superior del pico correspondiente y el "valle" separándolo del próximo pico. Entonces, el valor del índice de cristalinidad  $(\text{IC})_{\text{DRX}}$  viene dado por la ecuación (Sa *et al.* 2017):

$$(\text{CI})_{\text{DRX}} = \frac{a(112) + b(300) + c(202)}{h(211)} \quad (3.1)$$

Se ha reportado que el índice de cristalinidad IC calculado por DRX para una HAP sintética bien cristalizada puede fluctuar aproximadamente entre 0.7 y 1.1 (Person *et al.* 1995). En el caso del hueso tratado químicamente se observa que el índice de cristalinidad (IC) es de 0.11, por lo que, en este caso la hidroxiapatita que conforma al hueso presenta una estructura cristalina con un apreciable grado de desorden estructural. Actualmente está bien documentado el hecho de que la hidroxiapatita de hueso fresco presenta generalmente desorden estructural, mientras que la de hueso arqueológico está mejor cristalizada (Bartsiokas and Middleton 1992).

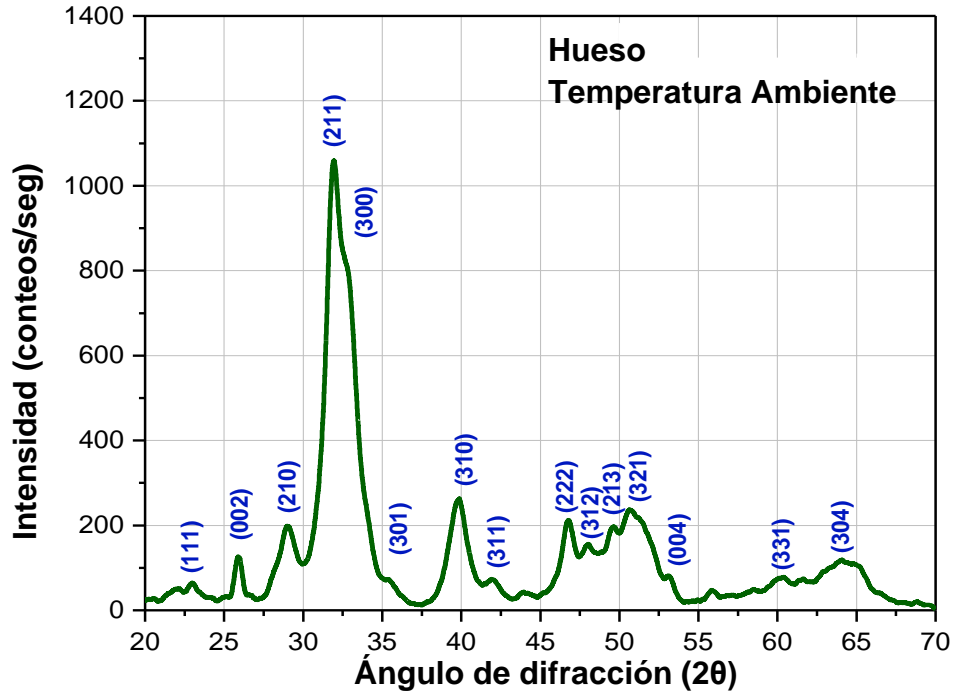


Figura 3.1 Patrón DRX del hueso después del tratamiento con  $H_2O_2$  a temperatura ambiente.

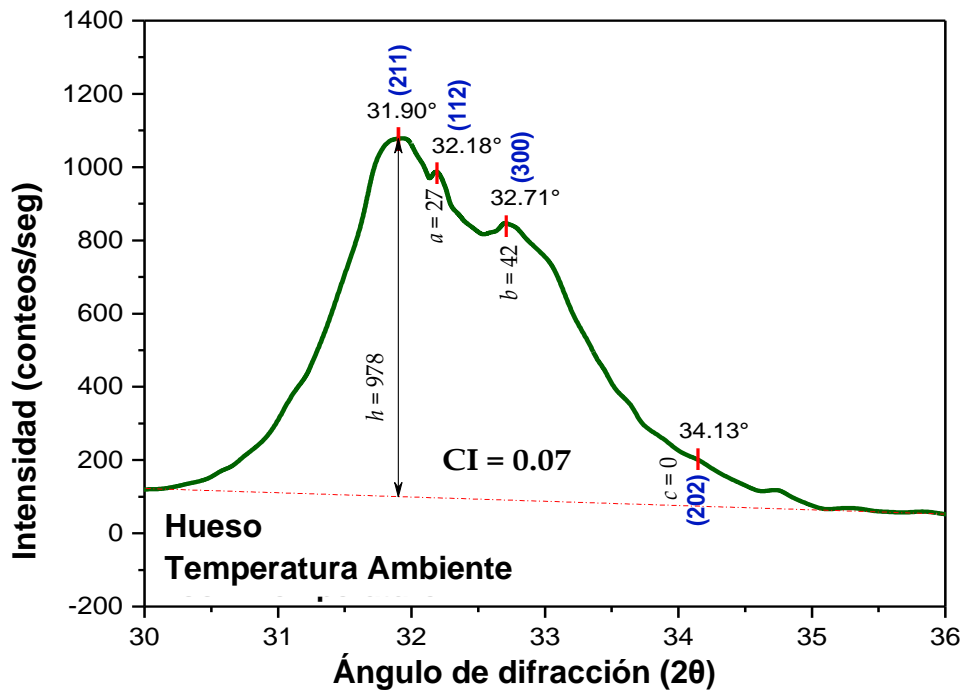


Figura 3.2 Análisis de índice de cristalinidad (CI) del mismo patrón DRX.

### 3.1.2. Análisis Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR)

Dado que las fases orgánicas presentes en el tejido óseo prácticamente no difractan, se procedió al análisis del mismo hueso (tratado químicamente pero no térmicamente) por medio de espectroscopía infrarrojo a fin de determinar, la presencia de colágeno en hueso cortical y trabecular. Considerando que el colágeno está conformado de cadenas de aminoácidos, las cuales están constituidos por ácido carboxílicos y grupos aminos, la presencia de las correspondientes bandas de absorción son una evidencia de la existencia de colágeno en la estructura del tejido óseo. En la [figura 3.3](#), se muestra el correspondiente espectro infrarrojo, en donde se pueden apreciar las bandas de absorción presentes en la muestra. Como se puede apreciar en dicho espectro, se encuentran bandas a  $3600-3287\text{ cm}^{-1}$  que son atribuidas a las vibraciones de estiramiento de los grupos OH que conforman los aminoácidos del colágeno, así como los grupos OH asociados con la hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$ ). En lo concerniente a las bandas a  $2925$ ,  $2853$  y  $1746\text{ cm}^{-1}$ , estos eventos están relacionadas con los modos vibracionales de los grupos carboxílicos que conforman al colágeno ([Riaz et al. 2018](#)). Por otra parte, las vibraciones presentes a  $1648$ ,  $1530$  y  $13273\text{ cm}^{-1}$ , corresponden a los enlaces N-H de los aminoácidos. La banda a  $609\text{ cm}^{-1}$  generalmente se les atribuye a las vibraciones de flexión del enlace Ca-O, así como las bandas que se presentan alrededor de  $900-1200\text{ cm}^{-1}$  se asignan a las vibraciones de P-O presentes en los grupos fosfatos, los cuales indican la presencia de hidroxiapatita ([Shi et al. 2018](#)).

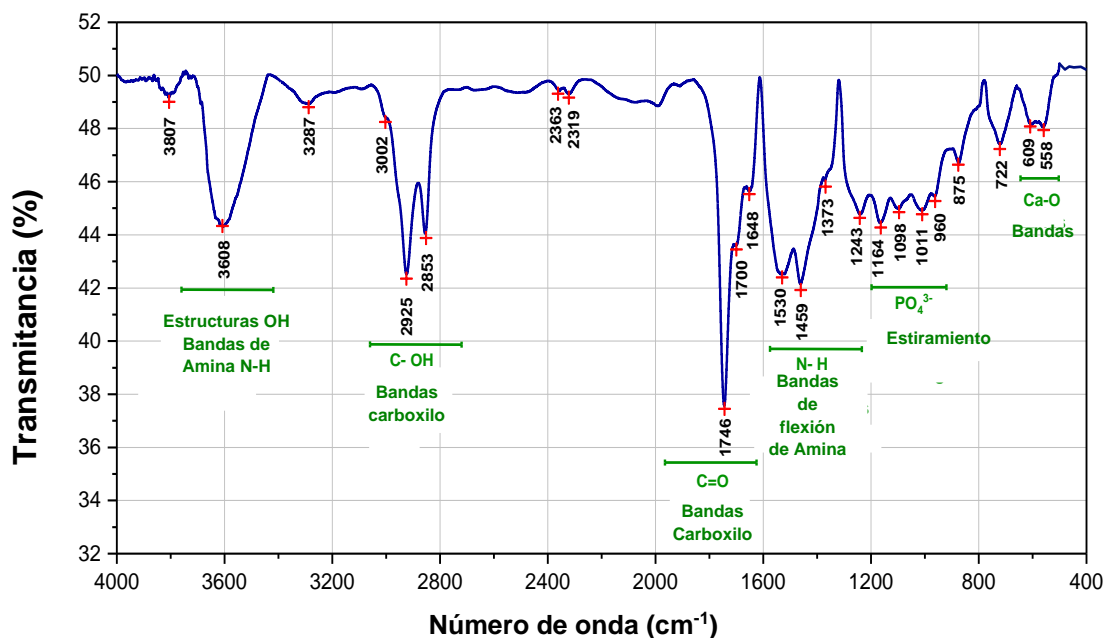


Figura 3.3 Espectro FTIR del hueso después del tratamiento con  $\text{H}_2\text{O}_2$  a temperatura ambiente.

### 3.1.3 Análisis del comportamiento mecánico

En este caso una vez más, se procedió a evaluar el comportamiento mecánico del hueso tratado químicamente pero antes de someterlo al tratamiento de calcinación. Para lograr esto, se procedió a someter en ensayos de compresión uniaxial muestras maquinadas con las dimensiones antes indicadas (10 x10 x 20 mm). Para esto, se procedió con una serie que tuviese 100 % en volumen de tejido cortical y luego con otra serie que contuviese 80% en volumen de tejido trabecular y 20 % en volumen de tejido cortical, tal y como se muestra en la [figura 3.4](#), ambas muestras tratadas química, pero no térmicamente. Esta última muestra se escogió de tal manera dado que, es extremadamente complicado maquinar muestras con solamente tejido trabecular. Ambas series fueron ensayadas con la misma celda de carga (20 kN) y con la misma velocidad de cabezal (0.1 mm/min).

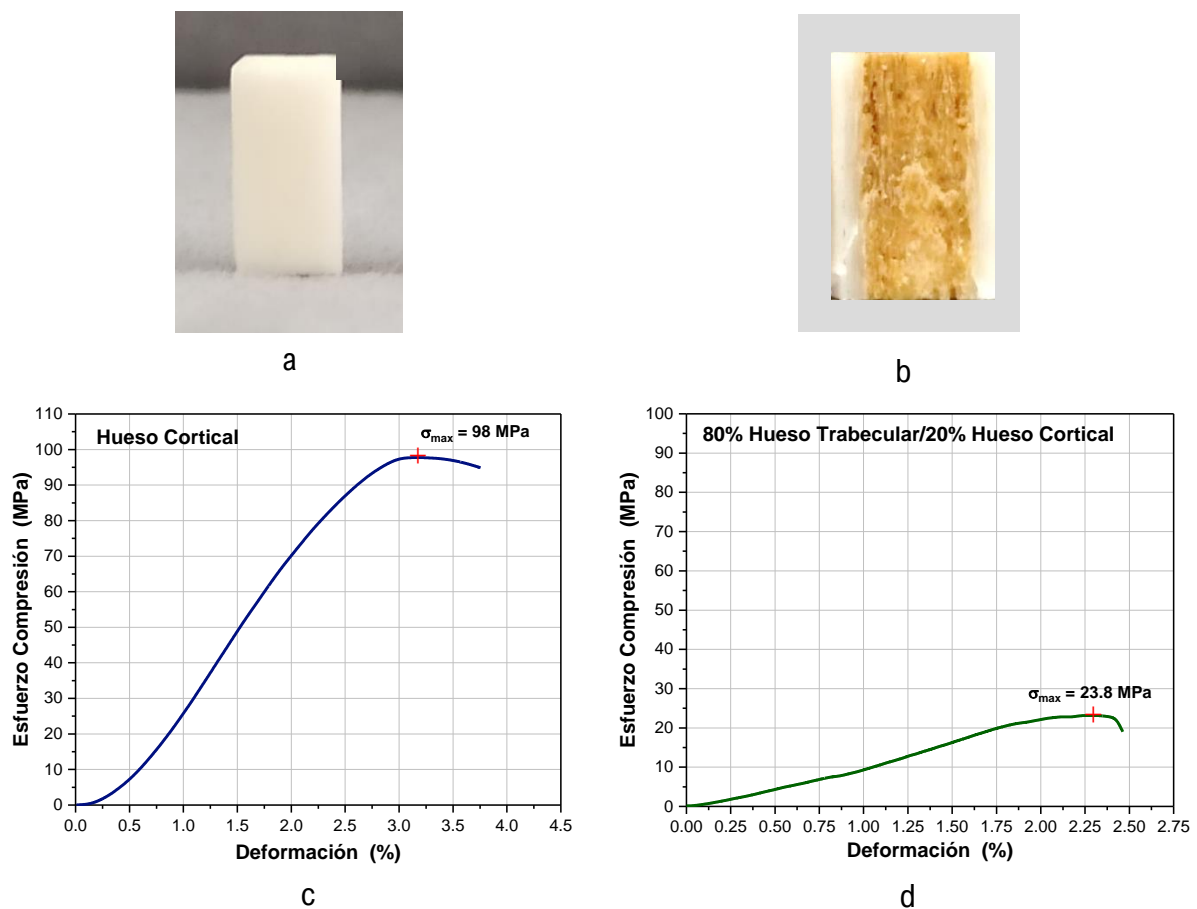


Figura 3.4 Fotografías de las muestras (a) Hueso cortical y (b) 80% en volumen de hueso trabecular y 20% en volumen de hueso cortical. (c) Curva Esfuerzo-Deformación del ensayo de compresión de la muestra de hueso trabecular y (d) Curva Esfuerzo-Deformación del ensayo de compresión de la muestra de hueso 80%trabecular/20%cortical.

De acuerdo con la mecánica de materiales compuestos, para sólidos conformados por dos fases, existen una diversidad de ecuaciones para describir el esfuerzo a la deformación en términos de como estén distribuidas las respectivas fases, así como de sus correspondientes propiedades mecánicas. Para el caso más simple de distribución de dos fases diferentes, existen ecuaciones para describir su comportamiento mecánico y están representadas por las correspondientes ecuaciones de Voigt y Reuss (Ward and Sweeney 2013; Aboudi *et al.* 2013). De acuerdo con los modelos de Voigt (a) y de Reuss (b) con sus respectivas ecuaciones las cuales se muestran en la figura 3.5 con sus respectivas geometrías. En donde  $\sigma_s$  es el esfuerzo a la ruptura del sólido compuesto,  $\sigma_c$  es el esfuerzo a la ruptura de la fase *c* (en este caso tejido cortical),  $\sigma_t$  es el esfuerzo a la ruptura de la fase *t* (en este caso tejido trabecular),  $x_c$  y  $x_t$  son las correspondientes fracciones en volumen de cada una de las fases (Ward and Sweeney 2013).

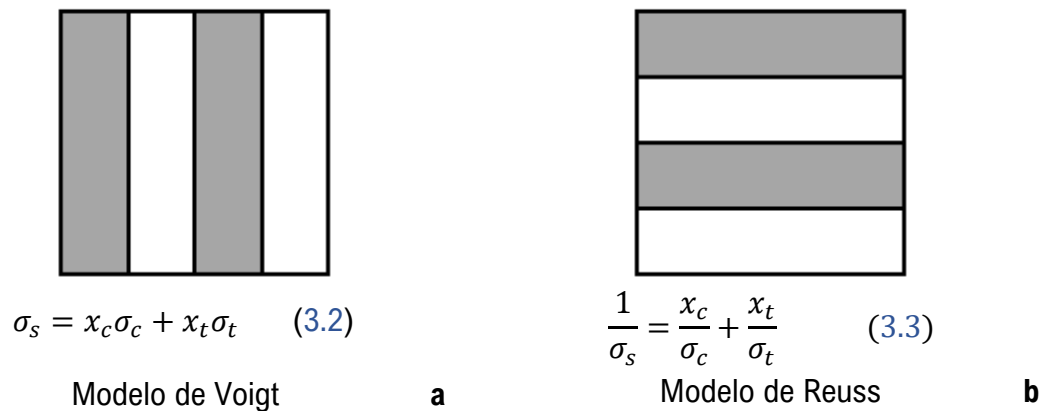


Figura 3.5 Representación de la distribución de dos fases en un sólido compuesto de acuerdo con los modelos de Voigt (a) y de Reuss (b) (Ward and Sweeney 2013).

De la prueba de compresión realizada a la probeta con 100% de tejido cortical de la figura 3.4a se concluye que, para este caso  $\sigma_c$  tiene un valor de 98 MPa. Empleando la ecuación de Voigt (3.1) y tomando en cuenta que en la prueba de compresión de la probeta 80% volumen trabecular y 20% volumen cortical, el valor obtenido en la figura 3.4b para  $\sigma_s$  es de 23.8 MPa, despejando el valor de  $\sigma_t$ , se obtiene que un material conformado por solamente hueso trabecular tendría un valor de esfuerzo de ruptura de solamente 5.3 MPa. Estudios realizados en tejido exclusivamente trabecular humano, dependiendo de diferentes factores y zonas, han reportado valores para el esfuerzo a la ruptura en compresión que puede llegar a variar entre 2 y 9 MPa (Misch *et al.* 1999). Por otra parte, estudios equivalentes realizados en tejido exclusivamente cortical, han reportado en compresión valores de esfuerzo a la ruptura que varían entre 80 y 200 MPa (Hernandez *et al.* 2001). Por lo tanto, los valores aquí reportados empleando la configuración de Voigt para el esfuerzo de ruptura en compresión de 98 y 5

MPa en tejido cortical y trabecular, son representativos de los valores reportados para estos tejidos en la literatura y avalan las mediciones de resistencia a la compresión efectuadas en esta investigación.

### 3.2 Efecto del tratamiento térmico en material óseo

Para proceder a evaluar el efecto del tratamiento térmico posterior al tratamiento químico que se les realizó a las probetas de hueso, se emplearon varias técnicas de análisis como el análisis termogravimétrico (ATG), el análisis térmico diferencial (ATD), el tratamiento de imágenes para determinar porosidad, así como comportamiento mecánico. La finalidad consistió en obtener información para fabricar un hueso sintético arqueológico que emulase al hueso real de origen antropológico.

#### 3.2.1 Análisis térmicos

Los termogramas obtenidos de las muestras óseas tratadas químicamente se pueden apreciar en la [figura 3.6](#). Como se puede apreciar en la [figura 3.6a](#) en donde se presenta una curva termogravimétrica, se presentan tres etapas sucesivas de pérdida de masa: una zona **1** por debajo de 200 °C que corresponde a pérdida de agua y se atribuye a la deshidratación del hueso. Una zona **2** entre 200 y 400 °C que corresponde a una pérdida de peso asociada a la combustión de los componentes amino del colágeno del hueso, tomando una coloración café el hueso (K. Haberko *et al.* 2006; Etok *et al.* 2007).

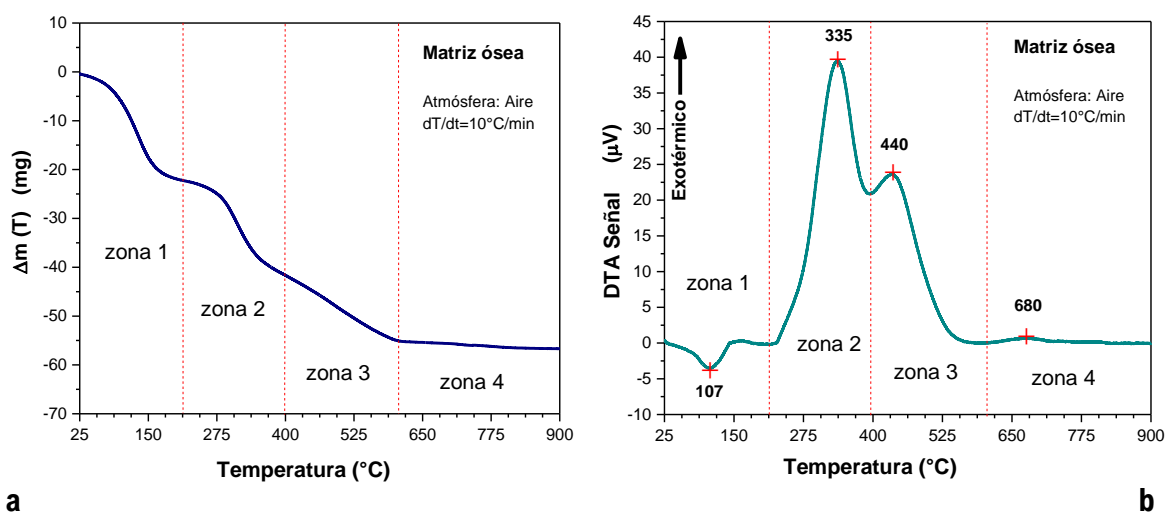
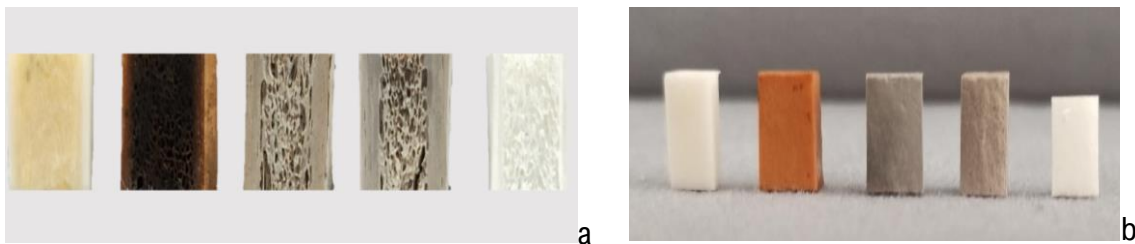


Figura 3.6 (a) Análisis termogravimétrico del hueso tratado químicamente. (b) Análisis térmico diferencial del mismo material.

Posteriormente una zona **3** entre 400 y 620 °C causada principalmente por la liberación de CO<sub>2</sub> proveniente de los grupos carboxílicos (Landi 2003). de la red de apatita, debido a la descomposición de carbonatos. Por encima de 620 °C en la zona **4**, la variación de peso no es significativa. Los resultados del análisis térmico diferencial que se muestran en la [figura 3.6b](#), corroboran lo anterior.

El pico endotérmico a 107 °C sugiere pérdida de agua, y los picos exotérmicos a 335 y 440 °C indican la oxidación o combustión de materia orgánica. El pico exotérmico que se aprecia a 680°C está asociado con la cristalización de la hidroxiapatita presente en el hueso aunado al proceso de sinterizado. De acuerdo con los resultados por ATG y ATD reportados en la literatura (Figueiredo *et. al.* 2010), a temperaturas inferiores de 600 °C, las muestras de hueso aún están compuestas de carbón dentro de la estructura de la hidroxiapatita, lo cual le confiere una coloración gris al material.

Los resultados anteriores junto con la información de la literatura condujeron a seleccionar un conjunto de temperaturas de calcinación: 250, 500, 600 y 800 °C. A fin de evidenciar los eventos que acontecen en el tejido óseo durante la calcinación, la [figura 3.7](#) muestra el tejido en las diferentes zonas de reacción.



**Figura 3.7** Probetas de material óseo tratadas a térmicamente de izquierda a derecha 25°C, 250°C, 500°C, 650°C y 850°C a) hueso trabecular con paredes corticales b) hueso cortical.

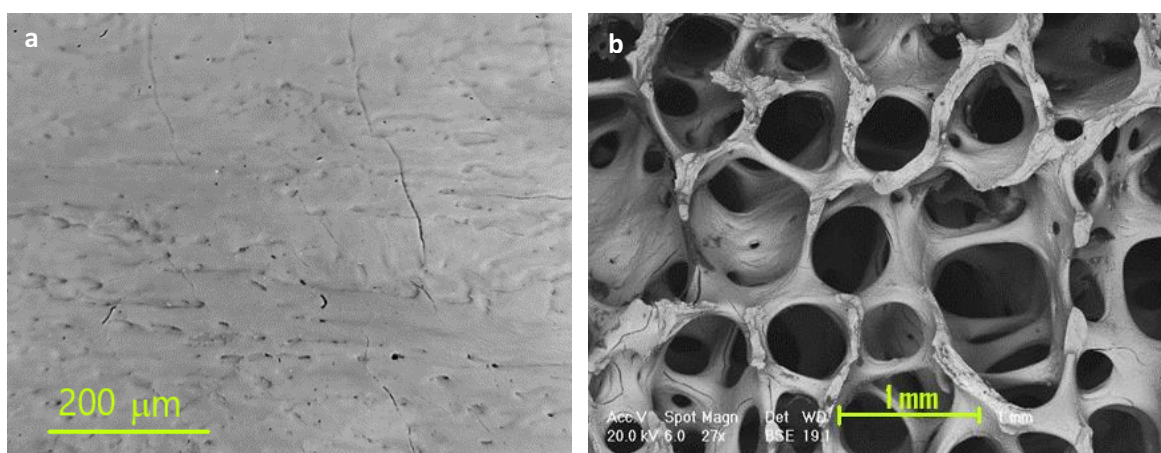
La [figura 3.7a](#) corresponde a las muestras de hueso trabecular tratadas a las distintas temperaturas y con el testigo a temperatura ambiente (25°C). El hueso tratado a 250 °C presenta un color marrón en las paredes laterales y en el interior se aprecia una tonalidad oscura debido al contenido de materia orgánica que aún se conserva, lo cual se acentúa cuando la combustión no ha sido completa por falta de oxígeno, lo que origina residuos carbonosos de color negro (Khoo 2015). A 500°C las muestras presentan un color gris en el 100% de los casos y los huesos sometidos a 650°C tendieron a presentar un color gris equivalente, pero se empieza a observar una mayor cantidad de fisuras resultado del desprendimiento de gas durante la combustión. A 850 °C el hueso se vuelve blanco, resultado



de la combustión de toda la materia orgánica como lo sugieren los resultados de la [figura 3.6](#). A esta temperatura, solamente hay hidroxiapatita en donde la densidad y tamaño de los poros aumenta, lo que conduce a una reducción significativa de la resistencia mecánica del tejido trabecular. En el caso del hueso cortical [figura 3.7b](#) se observa un comportamiento similar, pero a 850°C el hueso cortical presenta un comportamiento distinto, la exposición a altas temperaturas conduce a que ya no exista agua ni material orgánico, que conlleva a un proceso de sinterizado y contracción del tejido óseo.

### 3.2.2 Análisis de porosidad

Se analizó la topografía de superficie de las muestras óseas tratadas térmicamente mediante las técnicas de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB). En la [figura 3.8](#) se observa la porosidad obtenida posterior a un tratamiento de calcinación a 500 °C en el sistema óseo cortical y trabecular. El hueso cortical posterior al tratamiento térmico muestra defectos mínimos, en donde solo son apreciables algunos microporos de 5 a 10  $\mu\text{m}$ , así como la presencia de micro fisuras en el rango de 10  $\mu\text{m}$  de ancho por varios cientos de  $\mu\text{m}$  de largo. Por otra parte, en el caso de hueso trabecular, se corrobora como el tratamiento térmico a dicha temperatura ha eliminado la materia orgánica, dejando una matriz con poros interconectados de diferentes tamaños, los cuales fluctúan entre 0.25 a 1.5 mm de diámetro, los poros presentan algunas interconexiones fragmentadas, indudablemente por la pérdida de materia orgánica por el tratamiento térmico. Las fotografías de la [figura 3.8](#) dejan en claro que la problemática a resolver para recuperar la estabilidad mecánica del hueso radica en el tejido trabecular, en donde los defectos son del orden milimétrico.



**Figura 3.8** Imágenes por MEB de los sistemas óseos (a) cortical y (b) trabecular, después de tratamiento químico y calcinación a 500 °C.

De lo anterior, se puede inferir que el tejido óseo trabecular es el más afectado en los procesos de degradación artificial, y este mismo efecto repercute en la integridad de los huesos arqueológicos deteriorados por la intemperie y el tiempo. Con la finalidad de encontrar la temperatura más adecuada y que condujese a una porosidad equivalente a la del hueso de procedencia arqueológica, se procedió a determinar la fracción de porosidad de muestras tratadas a diferentes temperaturas.

Las fotografías de la superficie de las muestras calcinadas fueron tratadas digitalmente por medio de un software de tratamiento de imágenes denominado *ImageJ*. Dicho software permite determinar el porcentaje de porosidad existente al calcular el cociente de superficie de poros presente por unidad de superficie de imagen.

Para la determinación del tamaño de poro se tomaron microfotografías a varios aumentos y se procesaron en el software. El tamaño de poro se definió por contraste de color y se realizó en los rangos de temperatura seleccionados ([figura 3.9](#)) y se comparó con muestras de contexto arqueológico como se observa en dicha figura.

La [figura 3.9a](#) representa una muestra de hueso arqueológico real, en donde el análisis de imagen sugiere que en esta se encuentra en el rango de 40 a 50% de porosidad. En esta misma figura, se observa que la fracción de porosidad de la muestra calcinada a baja temperatura, 250 °C ([figura 3.9b](#)) es inferior a la del hueso arqueológico, y en contraste, la fracción de porosidad en la muestra calcinada a alta temperatura, 850 °C ([figura 3.9e](#)) resulta muy superior a la que presenta el hueso arqueológico. Como resultado de los análisis efectuados en las fotografías, en la gráfica que se presenta en la [figura 3.9f](#) se puede observar cómo varía la porosidad en términos de la temperatura de calcinación.

Por consiguiente, la selección de la temperatura de calcinación de las probetas se realizó apoyándose en este análisis, comprobando que el porcentaje más próximo a la porosidad de especímenes arqueológicos estaba ubicado en el rango de 500°C a 650 °C. No obstante, imágenes fotográficas como la mostrada en la [figura 3.8](#), indicaron que, a mayor temperatura, la densidad de micro fisuras aumentaba, razón por la que finalmente se escogió la temperatura de 500 °C como tratamiento térmico para la fabricación de las probetas de hueso sintético arqueológico.

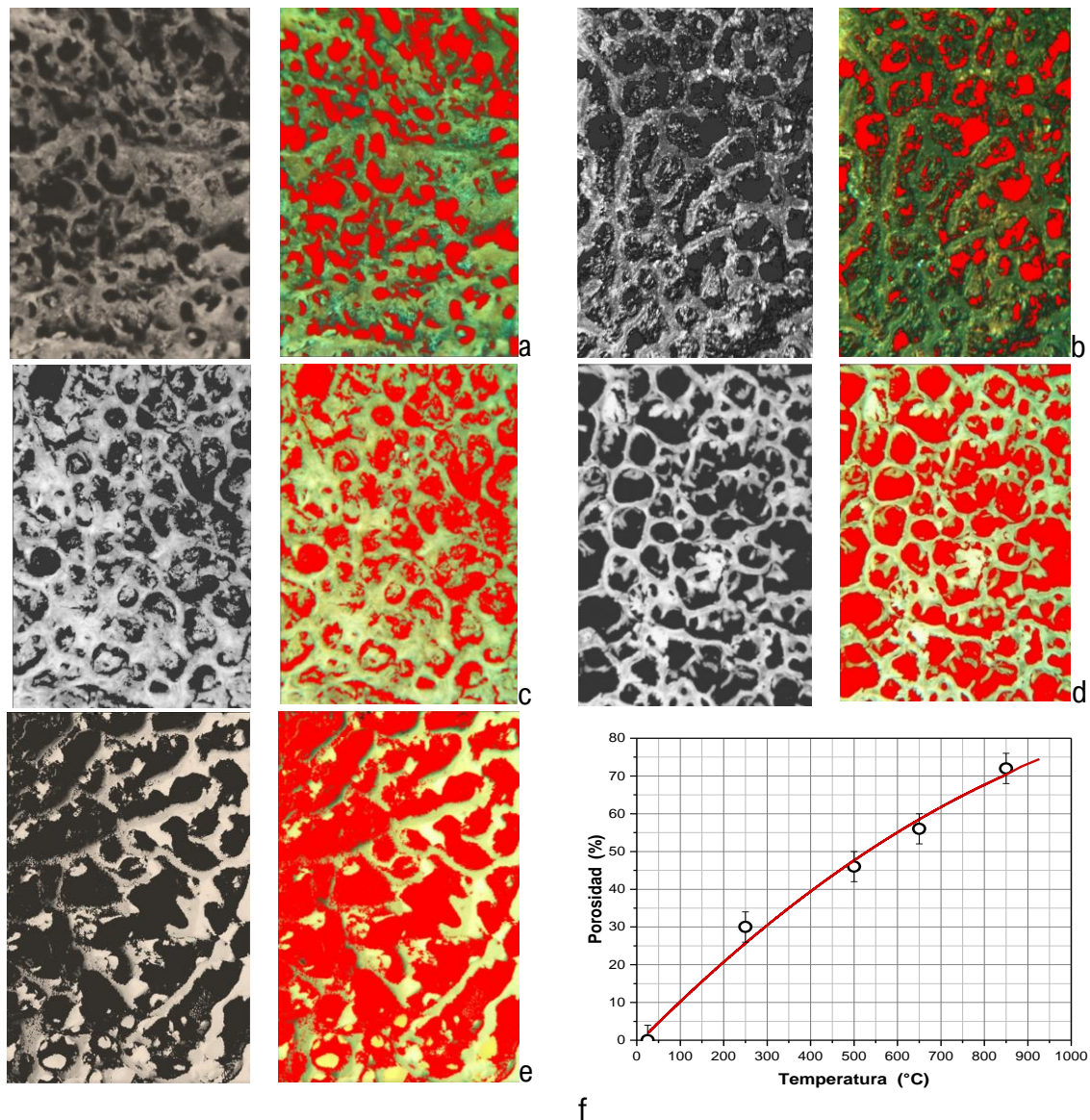


Figura 3.9 Fotografías obtenidas antes y después del contraste por análisis de imagen de (a) Hueso arqueológico, (b) Hueso tratado a 250 °C, (c) Hueso tratado a 500 °C, (d) Hueso tratado a 650 °C, (e) Hueso tratado a 850 °C y (f) gráfica de la variación del porcentaje de poros en función de la temperatura.

### 3.2.3 Comportamiento mecánico del material óseo

Después de los tratamientos térmicos, las probetas de hueso fueron evaluadas en compresión a las diferentes temperaturas de calcinación seleccionadas. Como se muestra en la figura 3.10, una vez más, con la finalidad de poder comparar ensayos mecánicos, se mantuvo la misma geometría. De manera análoga al hueso fresco, se prepararon probetas con hueso cortical y probetas con la misma relación 20% volumen cortical/80% volumen

trabecular para calcular la resistencia del tejido trabecular en compresión uniaxial, esto con la finalidad de poder aplicar la ecuación de Voigt. En la figura 3.10b se muestra la representación idealizada de la distribución de Voigt para las muestras con relación 20%cortical/80%trabecular, en donde  $a$  representa la fase trabecular y  $b$  la fase cortical de las muestras de hueso, permitiendo así estimar la resistencia mecánica en función del contenido volumétrico de cada una de estas fases.

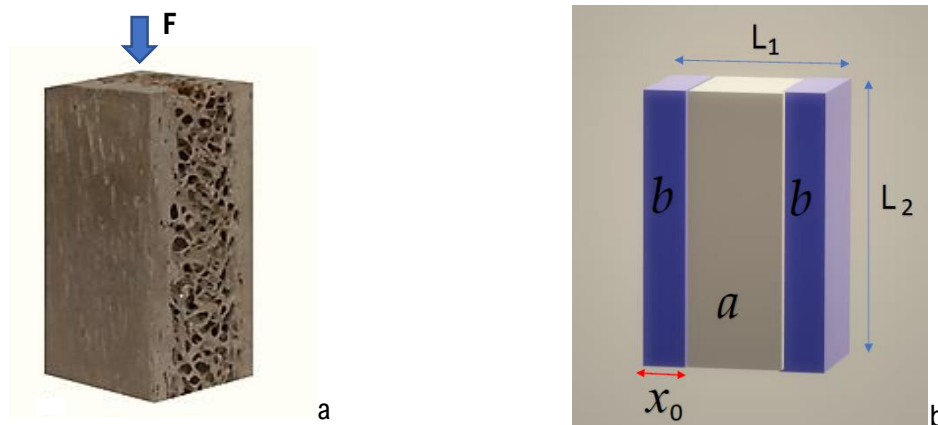


Figura 3.10 (a) Fotografía de una probeta calcinada a 500°C con 20%cortical/80%trabecular, (b) Representación idealizada de la distribución de Voigt.

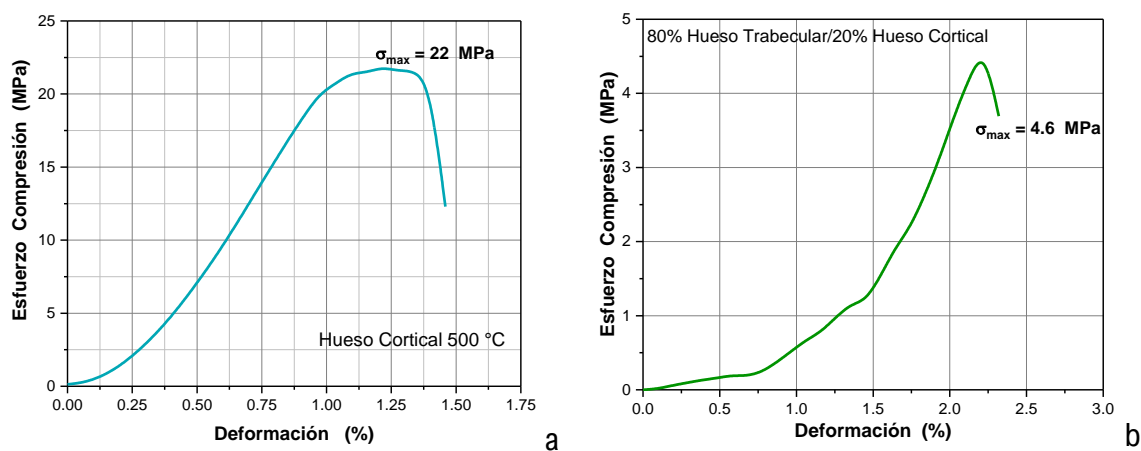
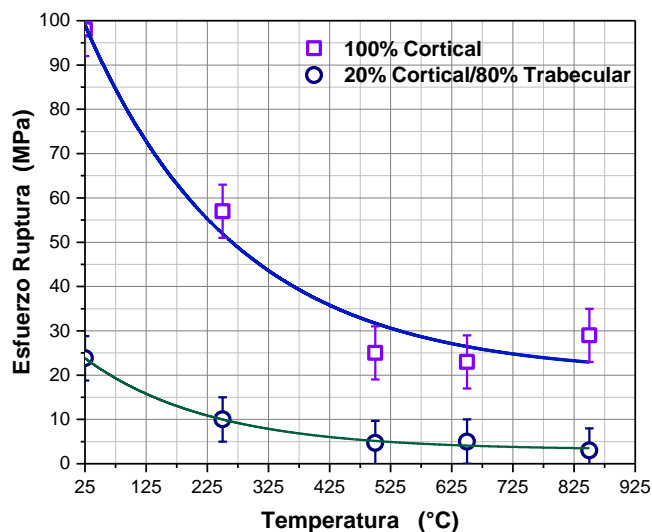


Figura 3.11 Curvas Esfuerzo-Deformación del ensayo en compresión uniaxial de la muestra (a) hueso 100% cortical calcinado a 500 °C y (b) hueso 80%trabecular/20%cortical calcinado a 500 °C.

De forma tal, que se obtuvieron las curvas de esfuerzo-deformación en compresión uniaxial para las muestras calcinadas de 100% hueso cortical y de las muestras con la relación 20% volumen hueso cortical y 80% volumen hueso trabecular. Como se puede constatar en la [figura 3.11](#), en donde se muestran las curvas de esfuerzo-deformación para dos muestras calcinadas a 500 °C, una 100 % hueso cortical y la otra 80% trabecular/ 20% cortical, la resistencia mecánica de ambos tipos de tejidos se reduce apreciablemente si se compara con las respectivas muestras sin calcar cuyas curvas de esfuerzo-deformación fueron mostradas en la [figura 3.4](#).

A partir de curvas de esfuerzo-deformación realizadas en muestras calcinadas en las diferentes zonas de temperaturas encontradas por análisis térmico ([figura 3.6](#)), se puede conocer la dependencia del esfuerzo de ruptura en términos de la temperatura de calcinación tanto para el tejido cortical como para el tejido trabecular. En la [figura 3.12](#) se grafican los valores promedios de los resultados experimentales obtenidos del esfuerzo de ruptura en compresión para el hueso 100% cortical y el hueso 20% cortical/80% trabecular calcinados a las distintas temperaturas seleccionadas.



[Figura 3.12](#) Valores del esfuerzo de ruptura obtenido de curvas esfuerzo-deformación de las muestras calcinadas a diferentes temperaturas.

Se puede observar que, en ambos casos la resistencia a la compresión del tejido óseo se ve afectado por la temperatura de calcinación, No obstante, el tejido cortical a 500 °C aún presenta una resistencia a la ruptura de 22 MPa, valor equivalente al de concreto de calidad media. Sin embargo, se calcula de acuerdo con la ecuación de Voigt el límite a la ruptura que presentaría el tejido puramente trabecular, tomando en cuenta que la muestra compuesta de

80% trabecular/20% cortical tiene un límite de ruptura de 4.6 MPa, entonces el valor calculado para el tejido puramente trabecular a 500 °C sería de solamente 0.8 MPa. Esto sugiere, que un hueso trabecular arqueológico con una porosidad del 45 %, resulta ser un material frágil dado que su componente principal, tejido trabecular, presenta un límite de ruptura en compresión de aproximadamente 1 MPa. Los resultados aquí obtenidos, indican claramente que el tejido cortical no representa un hándicap en el manejo del hueso arqueológico, por lo que resulta prácticamente inútil avocarse a tratar de eliminar las micro fisuras presentes en este. Por el contrario, toda la problemática en la restauración de un hueso arqueológico radica en eliminar en la medida de lo posible la porosidad, ya que es este componente es el que conduce a los bajos valores de ruptura que presenta el tejido trabecular y, por ende, el hueso arqueológico. Una vez establecido el origen de la fragilidad del tejido óseo arqueológico, se procedió a fijar las condiciones mediante las cuales se podía obtener un material óseo sintético que emulase al hueso encontrado en los sitios arqueológicos. Dado que la mayor similitud en porosidad y morfología al hueso arqueológico fue a la obtenida con las probetas tratadas químicamente y calcinadas a 500°C, a las cuales denominamos hueso arqueológico sintético, se procedió a obtener las correspondientes curvas de esfuerzo-deformación en compresión a fin de evaluar los tratamientos de consolidación. Como se puede apreciar, en este estudio se estableció un estándar de hueso sintético arqueológico, cuyas propiedades mecánicas se establecieron de manera sistemática y permite definirlo como referencia con respecto al cual comparar los diferentes tratamientos de consolidación.

### **3.3 Síntesis y caracterización de los componentes consolidantes**

En la presente sección, se describe la síntesis del hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$  nanométrico, así como la caracterización del óxido de zinc (ZnO) nanométrico industrial y del colágeno hidrolizado comercial, todos estos compuestos empleados en formulaciones aplicadas en el hueso sintético arqueológico como consolidantes.

#### **3.3.1. Partículas nanométricas de $\text{Ca(OH)}_2$**

Como ha sido reportado en la literatura, existe una amplia gama de procedimientos para obtener partículas de hidróxido de calcio (Nanni and Dei 2003; Taglieri *et al.* 2013; Taglieri *et al.* 2014; Kumar *et al.* 2020). En el presente trabajo, las partículas se obtuvieron mediante un proceso de precipitación química, mezclando mediante bombas peristálticas a flujos iguales de 10 ml/min, soluciones acuosas de hidróxido de sodio (NaOH) 0.5 M y cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) 0.25 M, los dos grados reactivos (Sigma-Aldrich) y cuyas soluciones acuosas fueron mantenidas a una temperatura de 90° C.

Las condiciones de concentración, temperatura, pH y mezclado lento tendieron a favorecer la velocidad de nucleación del  $\text{Ca(OH)}_2$  con respecto al crecimiento de las partículas, promoviendo la precipitación de partículas de hidróxido de calcio nanométricas, según la siguiente reacción:

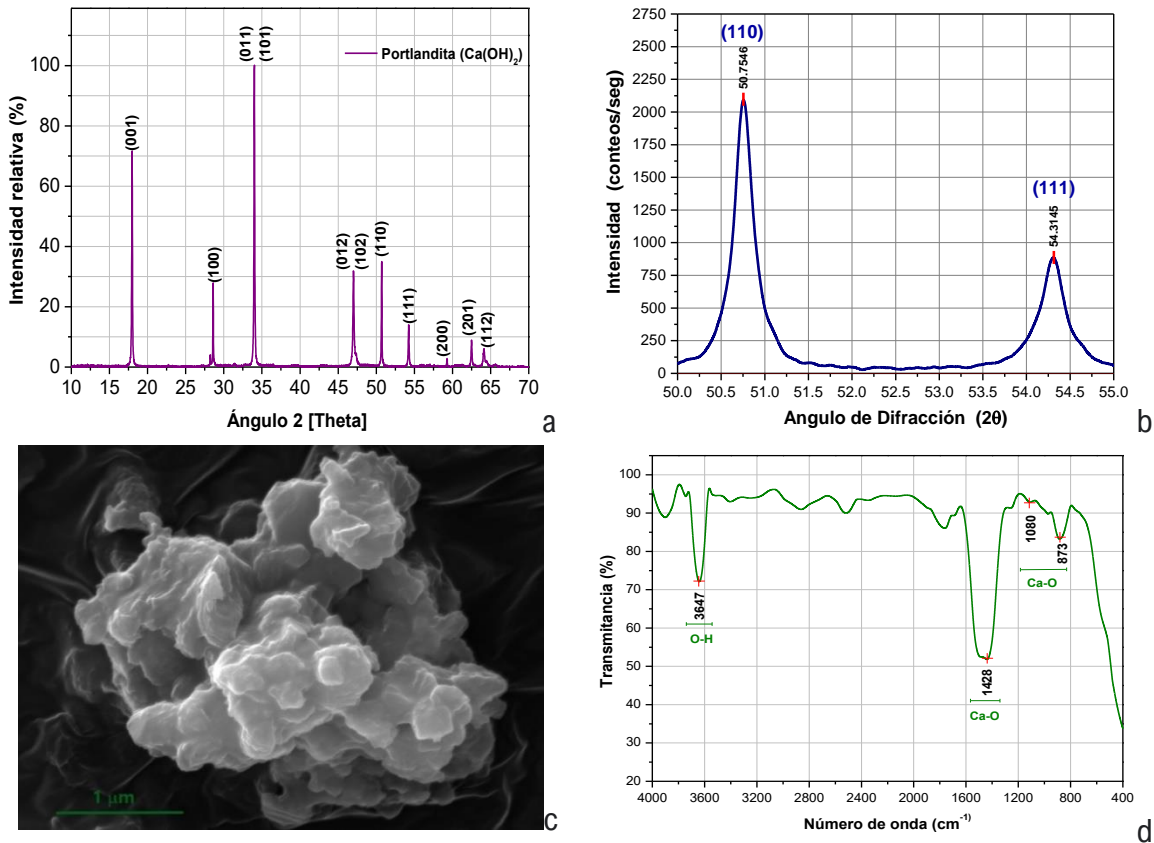
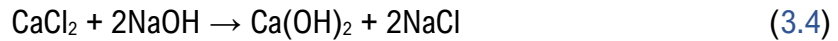


Figura 3.13 (a) Patrón de difracción del hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$ . (b) Patrón de difracción de la región empleada para calcular el tamaño de partícula por medio de la ecuación de Scherrer. (c) Imagen por microscopía electrónica de barrido del  $\text{Ca(OH)}_2$  y (d) Espectro FTIR del mismo.

La fase, pureza y tamaño de cristalito de las nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2$  sintetizadas fueron evaluadas por DRX. La figura 3.13 muestra claramente que todos los picos presentes se pueden indexar únicamente a las familias de planos cristalográficos del hidróxido de calcio, acorde con la tarjeta JCPDF 00-001-1079 que corresponde a una estructura hexagonal con parámetros de red  $a = 0.3593 \text{ nm}$  y  $c = 0.4909 \text{ nm}$ . No se pudieron evidenciar picos que pudiesen estar asociados a otros compuestos provenientes de los mismos precursores, por lo que se puede considerar que el  $\text{Ca(OH)}_2$  obtenido, de tener impurezas, estas deben de

estar por debajo del 1.5% que generalmente es el límite de detección de la técnica de DRX. Por otra parte, considerando que la distancia interplanar para el caso de una estructura hexagonal viene dada por la ecuación (Cullity 1978):

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \left( \frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} \quad (3.5)$$

y junto con la ecuación de Bragg:

$$2d_{hkl} \sin \theta_{hkl} = \lambda \quad (3.6)$$

Se pueden determinar los parámetros de red del  $\text{Ca(OH)}_2$  sintetizado. El procedimiento consiste en tomar todas las familias de planos con índices de Miller de la forma  $(00l)$ , a fin de extrapolar el valor del parámetro  $c$ . Desafortunadamente, el único pico que cumple en el rango angular empleado es el  $(001)$  que se presenta a  $2\theta = 17.9705^\circ$ . Realizando los cálculos correspondientes con los datos de la [figura 3.13a](#), encontramos para nuestro caso un parámetro de red  $c = 0.4932$  nm. Por otra parte, tomando la familia de planos con índices de Miller de la forma  $(h00)$  y realizando los cálculos se obtiene en este caso un parámetro de red  $a = 0.3579$  nm. Como se puede constatar, el hidróxido de calcio obtenido presenta parámetros de red similares a los reportados por otros autores. Basado en el ancho de los picos difractados  $(110)$  y  $(111)$  mostrados en la [figura 3.13b](#), se determinó por medio de la ecuación de Scherrer (Cullity 1978):

$$L = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (3.7)$$

que el tamaño promedio de partícula o cristalito, para este caso debería estar en aproximadamente 95 nm. Imágenes obtenidas por MEB ([figura 3.13c](#)), indican que el tamaño de partícula del hidróxido de calcio se fluctúa en el rango de 200 a 700 nm, por lo que el valor encontrado por DRX corresponde al tamaño de grano que conforma las partículas. Así mismo, se observa que las partículas quedan aglomeradas formando grumos de unos 5 a 10  $\mu\text{m}$ . Por otra parte, el correspondiente espectro infrarrojo FT-IR del  $\text{Ca(OH)}_2$  sintetizado se muestra en la [figura 3.13d](#). La banda de absorción observada a  $3647 \text{ cm}^{-1}$  está asociada al modo de estiramiento de los grupos O-H del hidróxido.



Las bandas de absorción a 1428, 1080 y 873  $\text{cm}^{-1}$  se asignan a diferentes modos de vibración del enlace Ca-O (Buchanan *et al.* 1963; Lagarde *et al.* 1973, Salvadori and Dei 2001). Junto a lo anterior, se observan pequeñas bandas de absorción en el rango de 2352  $\text{cm}^{-1}$  que podrían estar asociadas al grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  resultado de la carbonatación por la presencia de ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) en el agua empleada.

### 3.3.2. Partículas nanométricas de ZnO

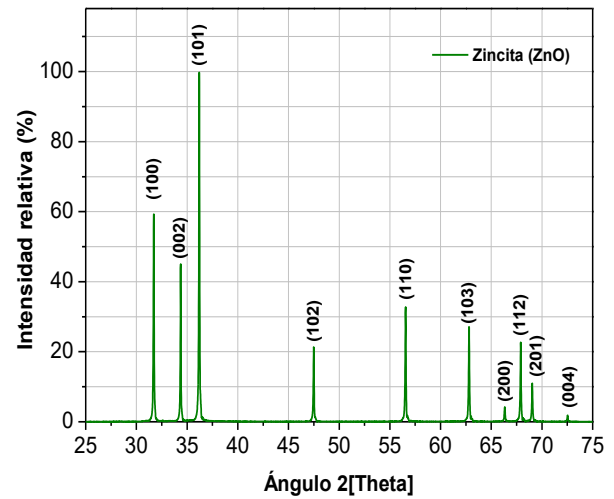
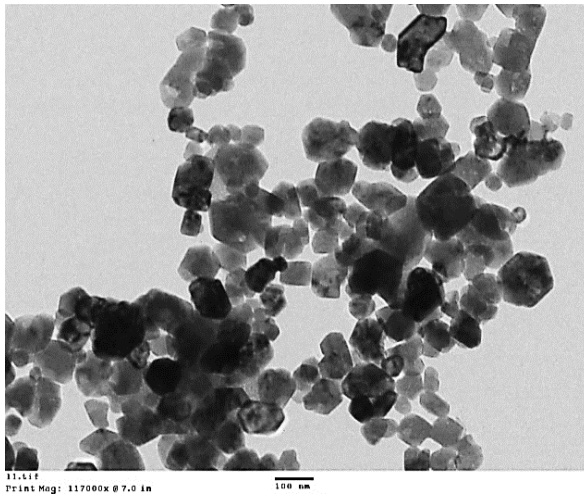
El óxido de zinc que mayormente se fabrica en el mundo es el que emplea el proceso indirecto o francés, en el cual zinc metálico es llevado al estado líquido en un crisol de grafito y vaporizado a temperaturas superiores a los 907°C (típicamente cercanas a los 1000°C). El vapor de zinc reacciona con el oxígeno del aire para formar el ZnO (Kołodziejczak and Jesionowski 2014).

Las partículas de óxido de zinc son transportadas a un ducto de enfriamiento y recolectadas en filtros. Este método indirecto se popularizó gracias a LeClaire (Francia) en 1844 y por ello es comúnmente conocido como el proceso francés. El producto normalmente consiste en partículas de óxido de zinc aglomeradas con un tamaño promedio de 0.1 micrómetros.

En la [figura 3.14a](#) se muestra una imagen obtenida por MET del óxido de zinc del proceso francés producido por la empresa Zinc Nacional S. A. (99.8%), en donde se puede apreciar que las partículas están ligeramente aglomeradas y presentan un tamaño medio de partícula de 105 nm.

La [figura 3.14b](#) muestra el correspondiente patrón de DRX de la muestra de partículas de óxido de zinc (ZnO). Como se puede apreciar claramente, todos los picos presentes se pueden indexar únicamente a las familias de planos cristalográficos del óxido de zinc, acorde con la tarjeta PDF 01-089-1397 que corresponde a una estructura hexagonal con parámetros de red  $a = 0.32498$  nm y  $c = 0.52066$  nm.

Empleando la ecuación de distancia interplanar para una estructura hexagonal dada por (3.5), la ecuación de Bragg (3.6) así como la ecuación de Scherrer (3.7), se obtiene que el óxido de zinc presenta las siguientes características:  $a = 0.3253$  nm,  $c = 0.5213$  nm y un tamaño promedio de partícula de 115 nm.



a

b

Figura 3.14 (a) Fotografía obtenida por microscopia electrónica de transmisión del ZnO empleado. (b) Patrón de difracción de rayos-x del óxido de zinc nanométrico.

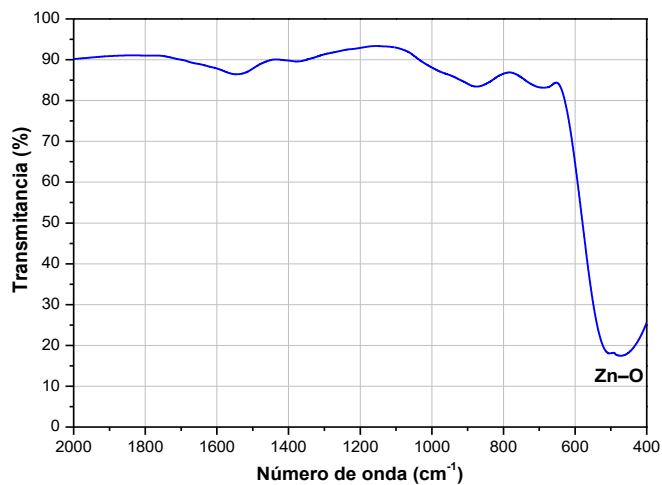
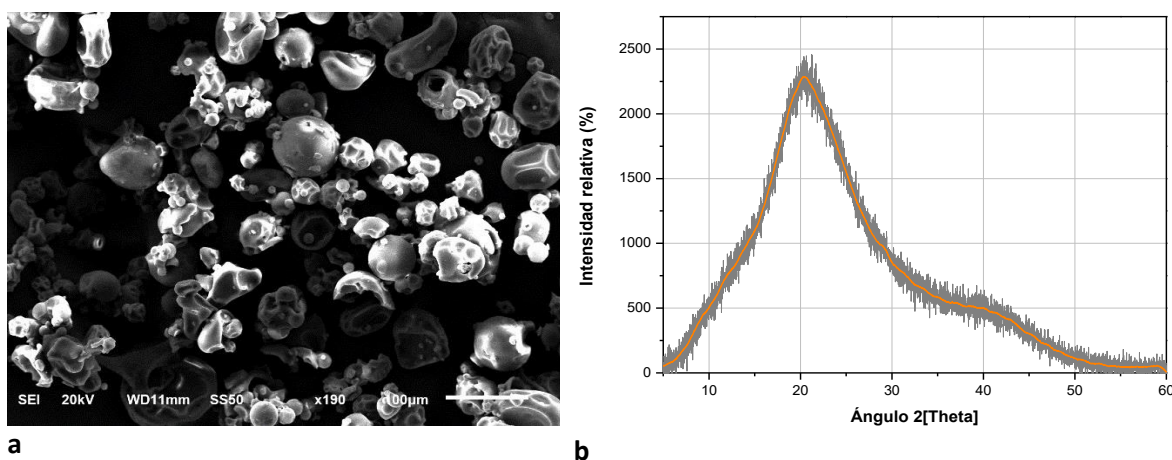


Figura 3.15 Espectro infrarrojo FTIR del ZnO industrial fabricado por el método francés.

Con la finalidad de determinar posibles impurezas, se procedió a realizar un análisis del óxido de zinc (ZnO) por medio de espectroscopía infrarroja FT-IR, el cual se muestra en la figura 3.15, correspondiendo a las frecuencias de vibración del óxido de zinc comúnmente reportadas en la literatura (Senthilkumar *et al.* 2009; Salvati *et al.* 2011). La ausencia de bandas sugiere que, de haber impurezas, estas se encuentran por debajo del límite de detección de la técnica.

### 3.3.3 Colágeno hidrolizado

El colágeno hidrolizado que se utilizó en el presente trabajo fue producido por la empresa Shaum Suplementos Alimenticios S. A. (99.5%). En la [figura 3.16a](#) se muestra que dicho producto consta de partículas con morfología semiesférica, las cuales presentan un diámetro promedio de aproximadamente 25  $\mu\text{m}$ . El patrón DRX de colágeno hidrolizado muestra el característico patrón amorfo de falta de ordenamiento de largo alcance y exhibe dos anchos picos, uno alrededor de  $22^\circ$  y otro pico de difracción alrededor de  $40^\circ$  ([figura 3.16b](#)), lo que indica que la muestra de colágeno no tiene estructura cristalina ([Sun et al. 2018](#)).



**Figura 3.16** (a) Imagen por MEB de las partículas de colágeno hidrolizado. (b) Patrón de difracción del mismo colágeno hidrolizado.

Como en todos los otros compuestos, se procedió a la caracterización por medio de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) del colágeno hidrolizado comercial. Como se puede apreciar en la [figura 3.17](#), el espectro muestra la presencia de bandas de absorción en el intervalo de  $3600$  a  $2800\text{ cm}^{-1}$ , las cuales están asociadas a los modos de vibración del enlace N-H de los grupos amino así como los enlaces C-OH de los grupos carboxílicos en el rango de  $2846$  y  $2919\text{ cm}^{-1}$ , tal y como se mencionó en la [figura 3.3](#) de la sección 3.1.2 del presente capítulo para el colágeno normal. No obstante, en este caso las bandas no son tan intensas ya que las cadenas de los aminoácidos que constituyen al colágeno natural han sido recortadas por el proceso de hidrolizado ([León-López et al. 2019](#)).

Por otra parte, en la [figura 3.17](#) se observa en la región de  $1250$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$  se observan las bandas de absorción asociadas en  $1445$ ,  $1543$  y  $1658\text{ cm}^{-1}$  a los grupos aminos ([Zhang, et al. 2009](#)). No obstante, las condiciones de obtención del colágeno hidrolizado son factores

que determinan las características finales del producto, lo cual ocasiona la variación en la intensidad de las bandas, no obstante, ocurren también en este caso las vibraciones frecuentemente atribuidas a los aminoácidos que conforman al colágeno (Gorlov *et al.* 2018).

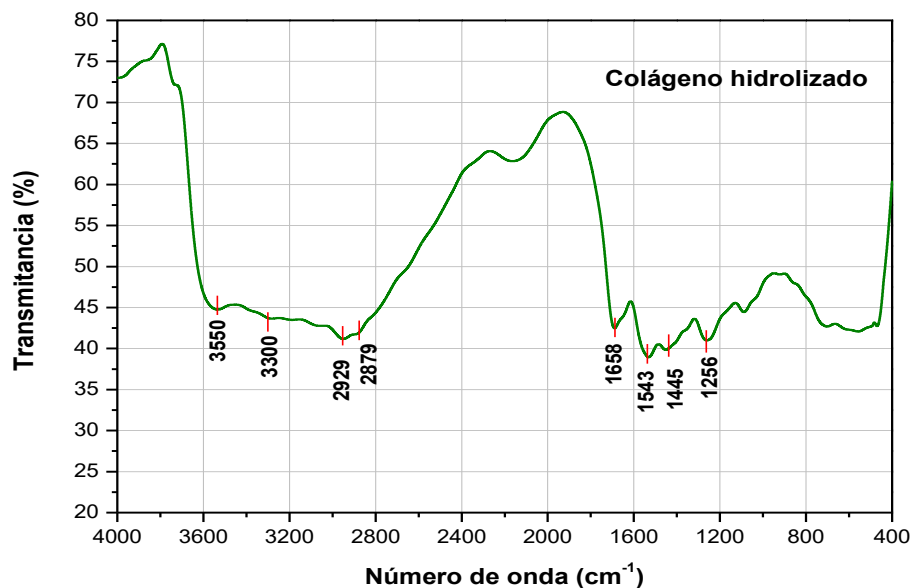


Figura 3.17 Espectro infrarrojo FT-IR del colágeno hidrolizado.

### 3.4 Análisis del proceso de consolidación

En el desarrollo de las etapas anteriores, como consecuencia del proceso de análisis en tejido óseo, la información adquirida referente al comportamiento mecánico de cada una de los componentes presentes, trabecular y cortical, así como la evolución de la fracción de porosidad presente y la dependencia de estas características en términos del tratamiento térmico, se logró converger en un estándar óseo, el hueso sintético arqueológico, el cual opera como material estándar a fin de poder comparar cualquier proceso de consolidación de manera cuantitativa. Por ende, a fin de verificar la efectividad de los diferentes compuestos de consolidación, se procedió a realizar análisis de porosidad, así como ensayos mecánicos en compresión uniaxial en probetas de dimensiones constantes y distribución de tejidos iguales, a las cuales se les aplicaron los diferentes compuestos con la finalidad de conocer su efecto en la resistencia mecánica del hueso sintético arqueológico. La técnica consistió en determinar la carga aplicada sobre la muestra hasta llegar a la ruptura del material, mediante el empleo de una máquina de ensayo universal. Todas las muestras se sometieron a la prueba usando una celda de carga máxima de 20 kN a una velocidad constante de cabezal de 0.1 mm/min. Microscopía digital óptica y electrónica de barrido se utilizaron para observar la superficie y la penetración de los consolidantes en las muestras.

### 3.4.1 Consolidantes orgánicos tradicionales

En el presente trabajo de investigación, como ya se mencionó con anterioridad, se seleccionaron dos sistemas poliméricos de amplio uso en el campo de la restauración de hueso arqueológico. Los sistemas seleccionados fueron el Paraloid B72 como representante de las resinas acrílicas y el otro, fue el Durofix como representante de las resinas de nitrato de celulosa. Se debe tener en mente que estos sistemas sirven como referencia para comparar cualquier otro material consolidante que se quiera desarrollar.

#### 3.4.1a Análisis de porosidad

En lo concerniente al Paraloid B72®, se procedió a determinar por microscopía electrónica y óptica el grado de incorporación que presentaba esta resina al ser aplicada en dos concentraciones diferentes, lo cual se muestra en la figura 3.18. En general, a bajas concentraciones se observa una porosidad superficial prácticamente similar antes y después de su empleo en la consolidación, por lo que el cambio en la porosidad es bajo y no satura los poros ni fisuras del tejido trabecular, tal y como se aprecia en la figura 3.18a. Al incrementar la concentración al 15% (figura 3.18b), se puede apreciar en la superficie una tonalidad diferente en una fracción apreciable de poros, lo cual corresponde a la presencia de la resina en el tejido trabecular. Sin embargo, a esta concentración empieza a presentarse una capa brillante sobre la superficie de la muestra, que de acuerdo con los cánones de la conservación no es lo más deseable.

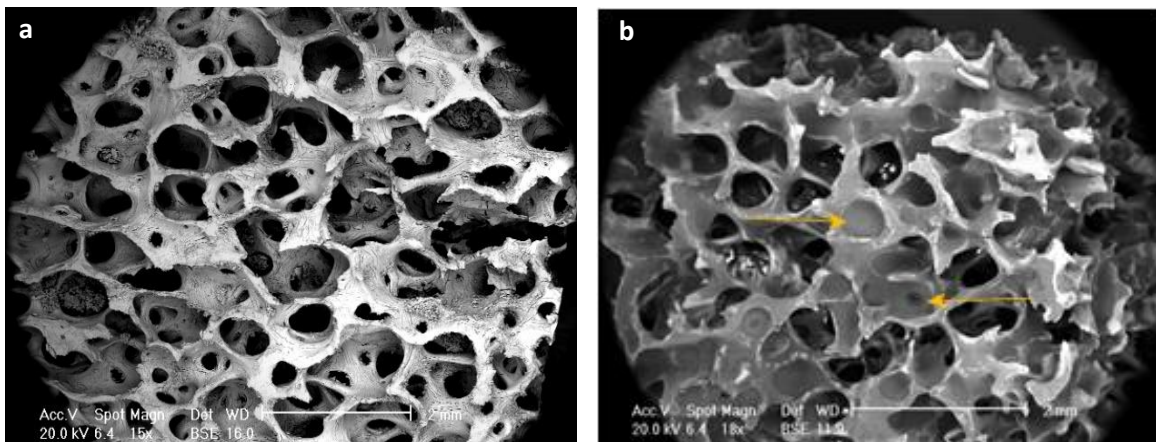
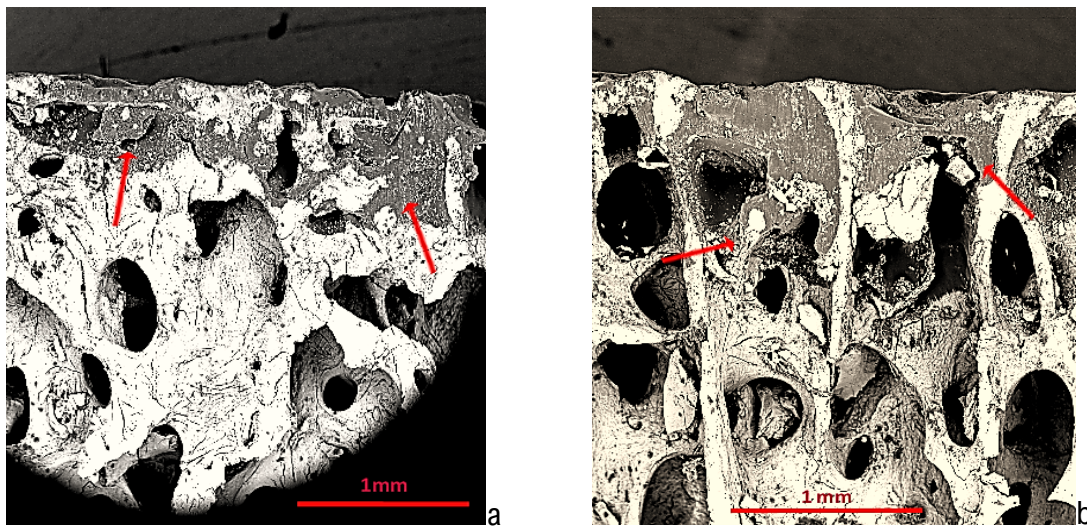


Figura 3.18 Imágenes por MEB de (a) Paraloid B72 al 3%, (b) Paraloid B72 al 15 %, Las flechas indican la presencia de la resina polimérica en cuestión.

Por otra parte, las muestras tratadas de forma análoga con nitrocelulosa muestran un comportamiento ligeramente diferente. En la [figura 3.19a](#) se muestra una imagen de la superficie cuando se añade resina al 3% de concentración como tratamiento de consolidación. La resina forma una película en la superficie la cual percola muy poco, como se puede observar al realizarse un corte transversal ([figura 3.19a](#)). En este caso, la penetración promedio fue de aproximadamente 0.75 mm. Al aplicar la resina de nitrocelulosa a una concentración del 15% ([figura 3.19b](#)), se observa un comportamiento similar al que se observó en el caso de baja concentración. La penetración a esta concentración fue ligeramente superior, promediando un valor de aproximadamente 1.2 mm. Aunado a lo anterior, las muestras tratadas con nitrocelulosa muestran un color superficial amarillento al utilizarse de forma concentrada, por lo cual no es aceptable para el tratamiento de artefactos óseos reales como se ha reportado en la literatura.

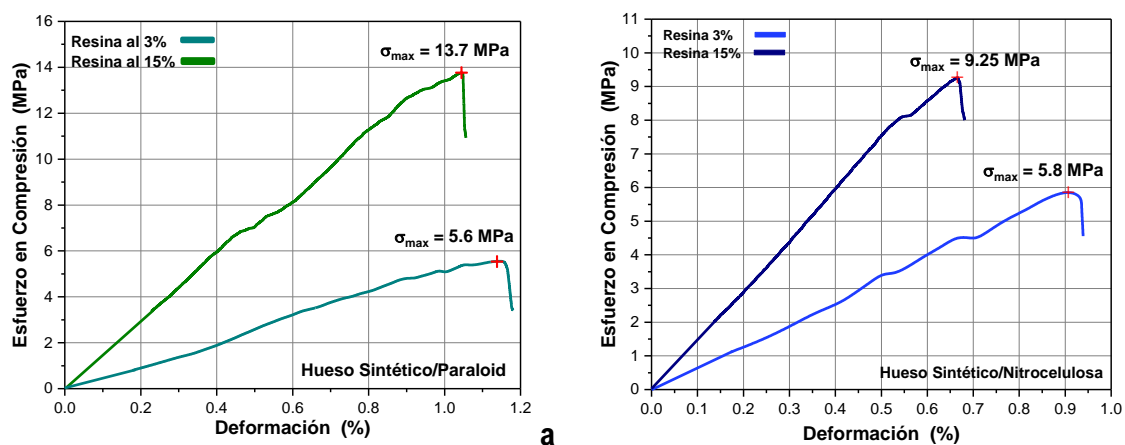


**Figura 3.19** Imágenes por MEB de (a) nitrocelulosa al 3%, (b) nitrocelulosa al 15 %, Las flechas indican la presencia de la resina polimérica en cuestión.

### **3.4.1b Análisis mecánico**

De los resultados mostrados en la [figura 3.11](#), se tiene que el hueso sintético arqueológico (conformado por 80% volumen de trabecular y 20% volumen de cortical) obtenido por tratamiento térmico a 500 °C, presenta en compresión un esfuerzo de ruptura de 4.6 MPa. Comparando el comportamiento mecánico del hueso sintético con el de las muestras que se les ha aplicado el proceso de consolidación, en función de los resultados que se obtengan se puede establecer si realmente las resinas poliméricas operan o no como consolidantes. En la [figura 3.20](#) se muestran las correspondientes curvas de esfuerzo-deformación obtenidas de las probetas de hueso sintético consolidadas con las resinas en cuestión. Se puede observar

en la [figura 3.20a](#), que para el caso del hueso sintético consolidado con Paraloid B72 a baja concentración (3.0%), el esfuerzo de ruptura es de 5.6 MPa, mientras que para alta concentración (15%) el esfuerzo de ruptura alcanza un apreciable valor de 12.4 MPa. El ensayo mecánico realizado en compresión uniaxial conduce a concluir que esta resina polimérica conduce a que el hueso sintético consolidado presente un mejor comportamiento mecánico que el testigo de hueso arqueológico sintético, sí solo sí, se aplica a concentraciones apreciables, de lo contrario no es tan relevante su efecto. En cierta medida, los resultados obtenidos por MEB de la porosidad cuando se aplica la resina ([figura 3.18](#)) indican en conjunto con la prueba de compresión que, introducir una fase con un módulo de Young mayor al del aire en los poros, contribuye apreciablemente en la resistencia mecánica del material óseo. En lo referente a la consolidación del hueso sintético con la resina nitrocelulosa, se observa el mismo comportamiento como se puede apreciar en la [figura 3.20b](#).



**Figura 3.20** Curvas Esfuerzo-Deformación del ensayo en compresión uniaxial de las muestras (a) hueso sintético consolidado con resina Paraloid y (b) hueso sintético consolidado con resina de nitrocelulosa.

La nitrocelulosa a baja concentración (3.0%) el hueso sintético consolidado con esta conduce a un esfuerzo de ruptura es de 5.8 MPa, el cual es prácticamente equivalente al valor de 4.6 MPa que presenta el hueso sintético sin consolidar. Por otra parte, el hueso sintético consolidado con la nitrocelulosa concentrada (15%) conduce a un esfuerzo de ruptura de 9.3 MPa, valor apreciablemente superior al del testigo. Por lo tanto, los resultados sugieren que el empleo de resinas poliméricas diluidas es una práctica no muy útil desde el punto de vista de mejorar las propiedades mecánicas de los huesos arqueológicos. Así mismo, las imágenes por MEB de la porosidad cuando se aplica la resina nitrocelulosa ([figura 3.19](#)) corroboran la importancia de introducir una fase con un módulo de Young elevado en los poros del tejido trabecular.

### 3.4.2 Consolidante a base de colágeno hidrolizado

Actualmente está bien establecido la posibilidad de obtener geles a partir del procesamiento de ciertas proteínas y aminoácidos naturales. En función de ciertas condiciones como temperatura, pH, concentración, etc., los hidrogeles formados pueden conducir a la generación de redes tridimensionales (Joly-Duhamel *et al.* 2002; Correa-Moraes *et al.* 2013). A continuación, se presentan resultados preliminares del empleo de colágeno hidrolizado como medio para consolidar el hueso sintético.

#### 3.4.2a Análisis de porosidad

En lo concerniente al empleo del colágeno hidrolizado como medio para consolidar hueso sintético, el principal problema radica en encontrar las condiciones de gelación. Se buscó proceder de manera análoga con el procedimiento realizado con las resinas poliméricas, pero en este caso, a baja concentración (3.0%) no se pudo detectar el colágeno por contraste de imagen en MEB y solo se pudo observar la gelación del colágeno hidrolizado a concentraciones del 10%. Los resultados de porosidad sugieren que, para este valor de concentración, el colágeno hidrolizado conduce a una reducción significativa en la porosidad, por lo que se puede apreciar en la [figura 3.21a](#) obtenida por MEB. Además, el tratamiento por medio del colágeno hidrolizado no conduce a cambios aparentes en la coloración de la superficie, debido probablemente a las características incoloras del colágeno hidrolizado, creando una capa compacta sobre la superficie con buena penetración en los poros.

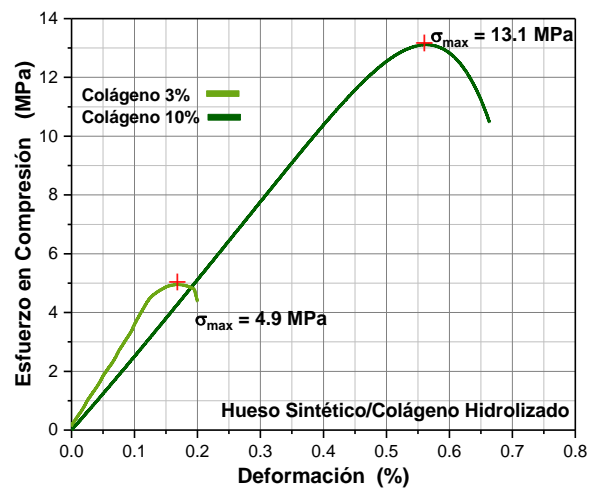


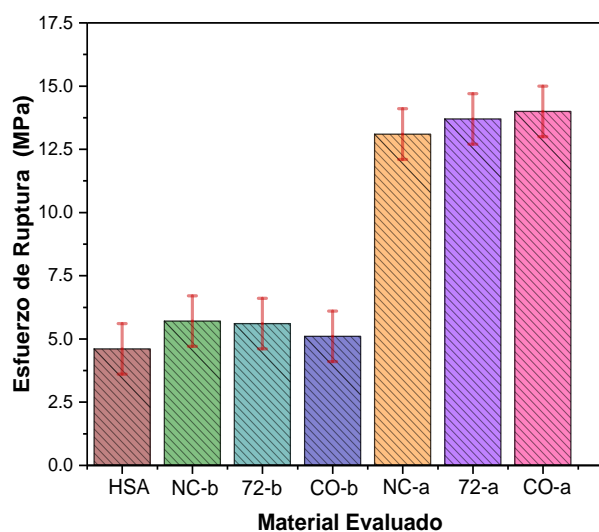
Figura 3.21 (a) Imagen obtenida por MEB del colágeno hidrolizado al 10% en hueso sintético. (b) Curva de Esfuerzo-Deformación del ensayo en compresión uniaxial del hueso sintético consolidado con colágeno hidrolizado.



### 3.4.2b Análisis Mecánico

Aun cuando no se pudo observar por MEB el tratamiento de consolidación a baja concentración de colágeno, en lo referente a la consolidación del hueso sintético con el colágeno se observa un comportamiento equivalente al que se observa con las resinas poliméricas, como se puede apreciar en la [figura 3.21b](#). Resulta interesante observar que el hueso sintético consolidado con el colágeno hidrolizado a baja concentración prácticamente no induce ningún aumento en el límite de ruptura, dado el valor alcanzado de 4.9 MPa. Por el contrario, una elevada concentración de colágeno hidrolizado (10%) conduce a un esfuerzo de ruptura de 13.1 MPa, que corresponde a un valor apreciablemente superior al del hueso sintético sin consolidar, pero de magnitud prácticamente igual al que se obtiene con los sistemas poliméricos concentrados. En la [figura 3.22](#) se muestran los valores obtenidos para el esfuerzo a la ruptura provenientes de las curvas de esfuerzo-deformación de los diferentes sistemas orgánicos de consolidación en fase líquida que se trabajaron. Como se puede apreciar en dicha figura, el valor del esfuerzo de ruptura del hueso sintético (HSA) tiene un valor equivalente al que se obtiene al consolidarlo con una fase polimérica a baja concentración (NC-b nitrocelulosa baja concentración, 72-b paraloid baja concentración, CO-b colágeno baja concentra). Por el contrario, el valor del esfuerzo de ruptura que se obtiene al consolidarlo con una fase polimérica a alta concentración (NC-a, 72-a, CO-a) es apreciablemente superior al hueso sintético (HSA). Este hecho conduce a que, al menos teóricamente se pueda generalizar que cualquier sistema líquido que puede formar una red tridimensional por medio de algún mecanismo de gelación y/o polimerización, debe de conducir a sistemas con un desempeño en la consolidación de hueso poroso altamente eficiente, si solo si, se emplean en las concentraciones adecuadas.

**Figura 3.22** Valores de esfuerzo a la ruptura obtenidos a partir de las curvas de esfuerzo-deformación en compresión uniaxial de los diferentes tratamientos de consolidación aplicados en el hueso sintético. HSA: hueso sintético solo. NC-b: nitrocelulosa baja concentración. NC-a: nitrocelulosa alta concentración. 72b: paraloid baja concentración. 72a: paraloid alta concentración. CO-a: colágeno alta concentración. CO-b: colágeno baja concentración.



### 3.4.3 Consolidantes inorgánicos

En lo relacionado con el uso de compuestos inorgánicos, ya se ha planteado en otras investigaciones el uso de partículas y precursores inorgánicos incluyen hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , hidróxido de magnesio  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , y sulfato de calcio (Baglioni & Giorgi, 2006; Liu *et al.* 2021). El argumento enarbolado ha sido que son compuestos más compatibles con la química del componente principal del hueso, la hidroxiapatita. Sin embargo, los estudios han comparador la capacidad de consolidar de dichos compuestos mediante ensayos de microdureza, la cual es una prueba superficial que no tiene implicaciones reales en cuanto a la estabilidad mecánica del material. A continuación, se presentan los resultados porosidad y resistencia mecánica obtenidos con el empleo de las nanopartículas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y  $\text{ZnO}$  en la consolidación de hueso sintético arqueológico.

#### 3.4.3a Análisis de porosidad

Como se mencionó en el capítulo 2, las partículas inorgánicas fueron dispersadas en una solución de agua/alcohol isopropílico 1:1 y se dispusieron a una concentración de 5% de sólidos. Después del tratamiento de consolidación con las nanopartículas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , se procedió a observar el grado de penetración en el tejido poroso. La figura 3.23a muestra una fotografía por MEB en donde se observa una ligera penetración de la suspensión de hidróxido de calcio en los poros del tejido trabecular (flechas verdes), pero no se observa que las nanopartículas sean capaces de rellenar los enormes poros de 1 a 2 mm de diámetro.

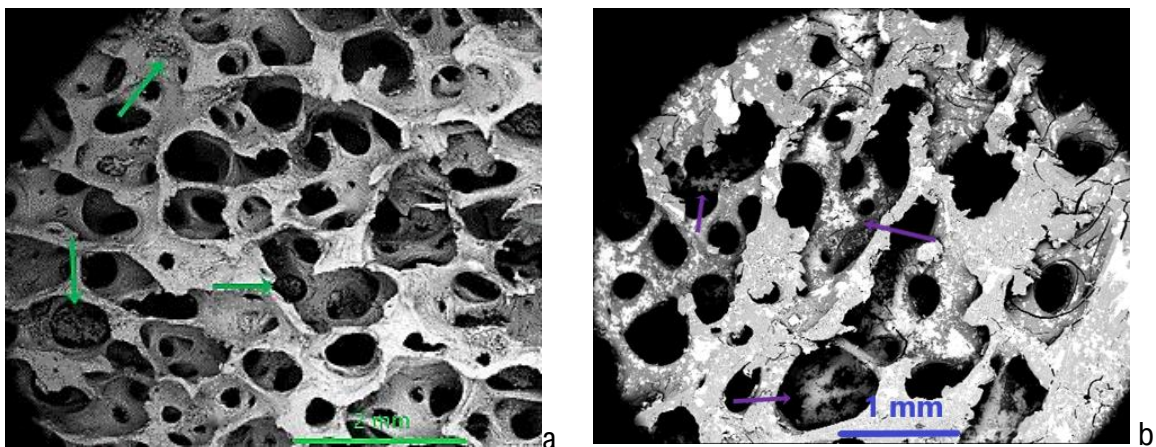


Figura 3.23 (a) Imagen MEB del hueso sintético consolidado con nanopartículas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . (b) Imagen obtenida por MEB del hueso sintético consolidado con nanopartículas de  $\text{ZnO}$ .

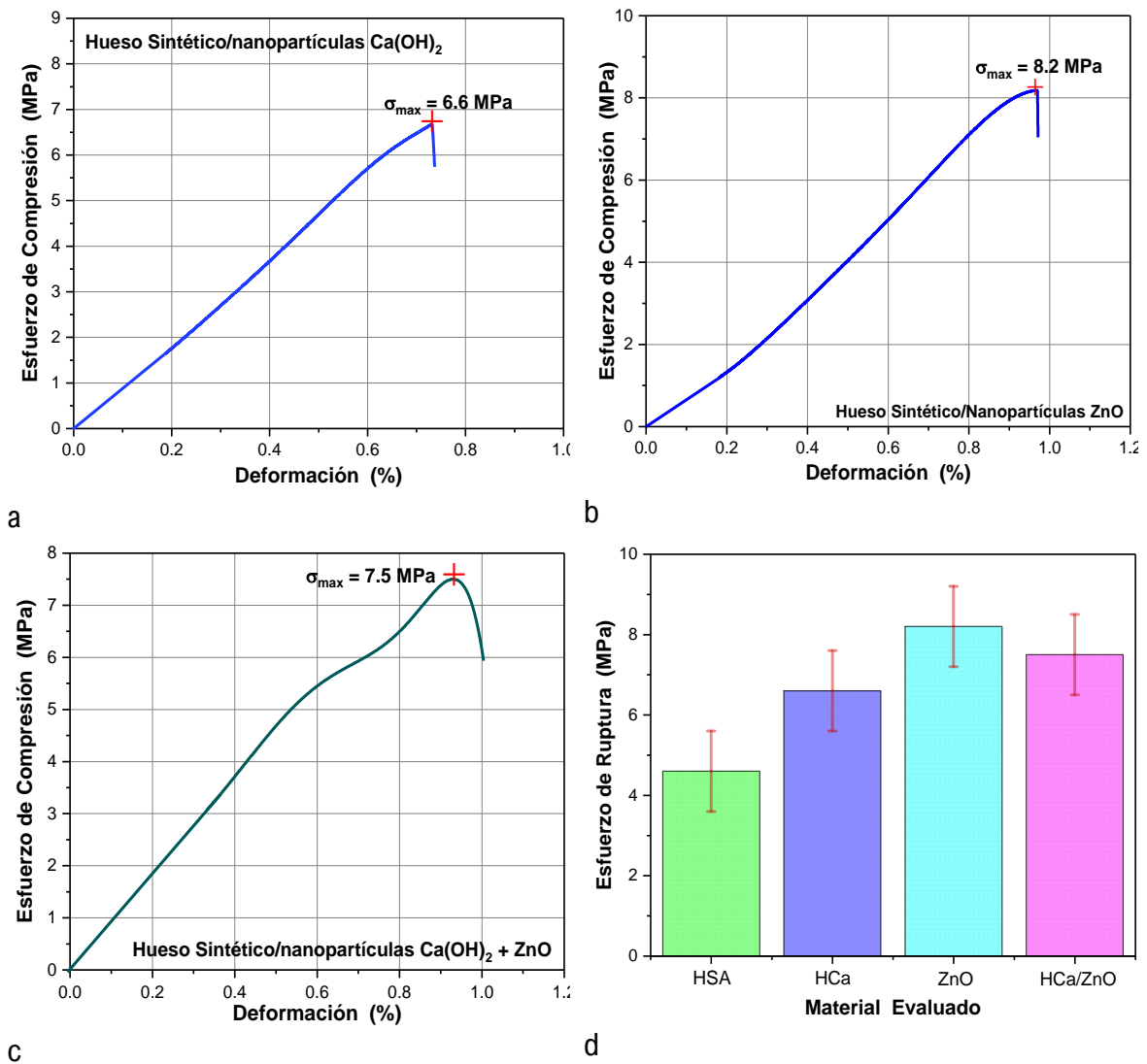
Además, a mayores ampliaciones no se observa que las nanopartículas estén enlazadas al material de hidroxiapatita que conforma el tejido trabecular, lo que sugiere que su capacidad de consolidación debe ser muy restringida. En lo que respecta a las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), la [figura 3.23b](#) muestra una fotografía por MEB en donde se observa un comportamiento análogo a las nanopartículas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . En este caso, existe una ligera mayor penetración de la suspensión de nanopartículas (flechas moradas), sugiriendo una mejor distribución de las partículas, pero tampoco se observa que las nanopartículas de ZnO sean capaces de ocluir los poros del tejido trabecular que varían entre 0.75 a 2 mm, ni se observa que se formen enlaces entre las partículas y el sustrato de hidroxiapatita.

### **3.4.3b Análisis mecánico**

En lo que respecta al comportamiento mecánico del hueso sintético consolidado por medio de las partículas nanométricas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y ZnO, de acuerdo con el análisis de porosidad, al no haberse ocluido los grandes poros, estos nanopulvos son de bajas expectativas de consolidación. En la [figura 3.24a](#) se presenta la curva esfuerzo-deformación obtenida para el caso del hueso sintético usando hidróxido de calcio como material para consolidar. Se puede observar que el valor del esfuerzo de ruptura presenta un valor de 6.6 MPa, el cual es muy cercano al valor de 4.6 MPa del hueso sintético sin tratar. En lo que concierne al óxido de zinc, en la [figura 3.24b](#) se presenta la correspondiente curva esfuerzo-deformación obtenida para el caso del hueso sintético usando óxido de zinc nanométrico en este caso como material para consolidar.

Se puede observar que el valor del esfuerzo de ruptura presenta un valor de 8.2 MPa, el cual es ligeramente mayor al valor de 4.6 MPa del hueso sintético sin tratar. La diferencia encontrada en el esfuerzo de ruptura entre el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y ZnO nanométricos probablemente esté asociada a la diferencia de valores en módulo de Young, en donde  $E_{\text{ZnO}}$  fluctúa de 130 a 145 GPa y para  $E_{\text{Ca}(\text{OH})_2}$  varía de 65 a 90 GPa (Fu *et al.* 2018; Manoharan *et al.* 2008). Consecuentemente, si se pretende realizar un tratamiento de consolidación, la selección de un material con reducido módulo de Young es una mala selección desde el punto de vista de comportamiento mecánico. Con la finalidad de saber si podría haber alguna sinergia por el empleo de dos compuestos con diferentes tamaños de partículas, se realizaron pruebas de consolidación de hueso sintético con una mezcla 1:1 de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y ZnO nanométricos, cuya curva de esfuerzo deformación se muestra en la [figura 3.24c](#), en donde no se aprecia mejora alguna.

En la [figura 3.24d](#) se muestran los valores de esfuerzo a la ruptura del hueso sintético consolidado con las diferentes partículas nanométricas. Es evidente que la mejora es prácticamente irrelevante comparada con las dificultades existente en la síntesis de nanopartículas, sobre todo si se observan los valores obtenidos con las resinas poliméricas mostrados en la [figura 3.22](#).



**Figura 3.24** Curvas Esfuerzo-Deformación de las muestras (a) hueso sintético consolidado con nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2$ , (b) hueso sintético consolidado con nanopartículas de ZnO. (c) hueso sintético consolidado con nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}$ . (d) Valores de esfuerzo a la ruptura obtenidos de compresión uniaxial.

### 3.4.4 Consolidantes colágeno/nanopartículas inorgánicas

Es bien sabido en el campo de los materiales poliméricos, el hecho de que, teniendo una matriz continua, existe la posibilidad de mejorar su comportamiento mecánico mediante la introducción de una segunda fase dispersa en esta, siempre y cuando el módulo elástico de la fase dispersa sea mayor que el de la matriz (Nielsen and Landel 1993; Ward and Sweeney 2013).

Sin embargo, no se han reportado estudios formales sobre la incorporación de sistemas inorgánicos en resinas con la finalidad de realizar el consolidado de hueso, existiendo reportes de dudosa validez acerca del uso de partículas micrométricas de fosfato de calcio en resinas acrílicas (Palazzo *et al.* 2015). Desafortunadamente, dicho trabajo ha sido realizado de manera tan poco sistemática y en probetas de geometría tan mal controlada, que lamentablemente no han llegado a resultados concluyentes y aceptables.

#### 3.4.4a Análisis de porosidad

Manteniendo la misma línea de razonamiento que en todos los casos anteriores, se procedió a incorporar las nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}$  en relación 1:1 dispersas al 5.0% en la suspensión de colágeno al 10% en agua, todo esto con la finalidad de evaluar como impactaba dicha composición en la porosidad del hueso sintético. En la [figura 3.25a](#) se muestra una fotografía obtenida por MEB, en donde se aprecia como las nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}$  en este caso han logrado ocluir la porosidad existente en el tejido trabecular del hueso sintético, quedando aparentemente las partículas enlazadas entre sí por la red tridimensional conformada por el colágeno.

Como se evidencia en la fotografía MEB a mayor magnificación de la [figura 3.25b](#), la imagen sugiere que existe aglomeración de las partículas primarias de  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}$  nanométricas, formando conglomerados de 50 a 200  $\mu\text{m}$  que son capaces de mantenerse dentro de los poros. La comprobación de que son las partículas nanométricas las que conforman lo conglomerados está fundamentada en la presencia de zinc (Zn) en el correspondiente espectro por dispersión de energía de rayos X (EDS) ([figura 3.25c](#)) obtenido de una micro zona del poro.

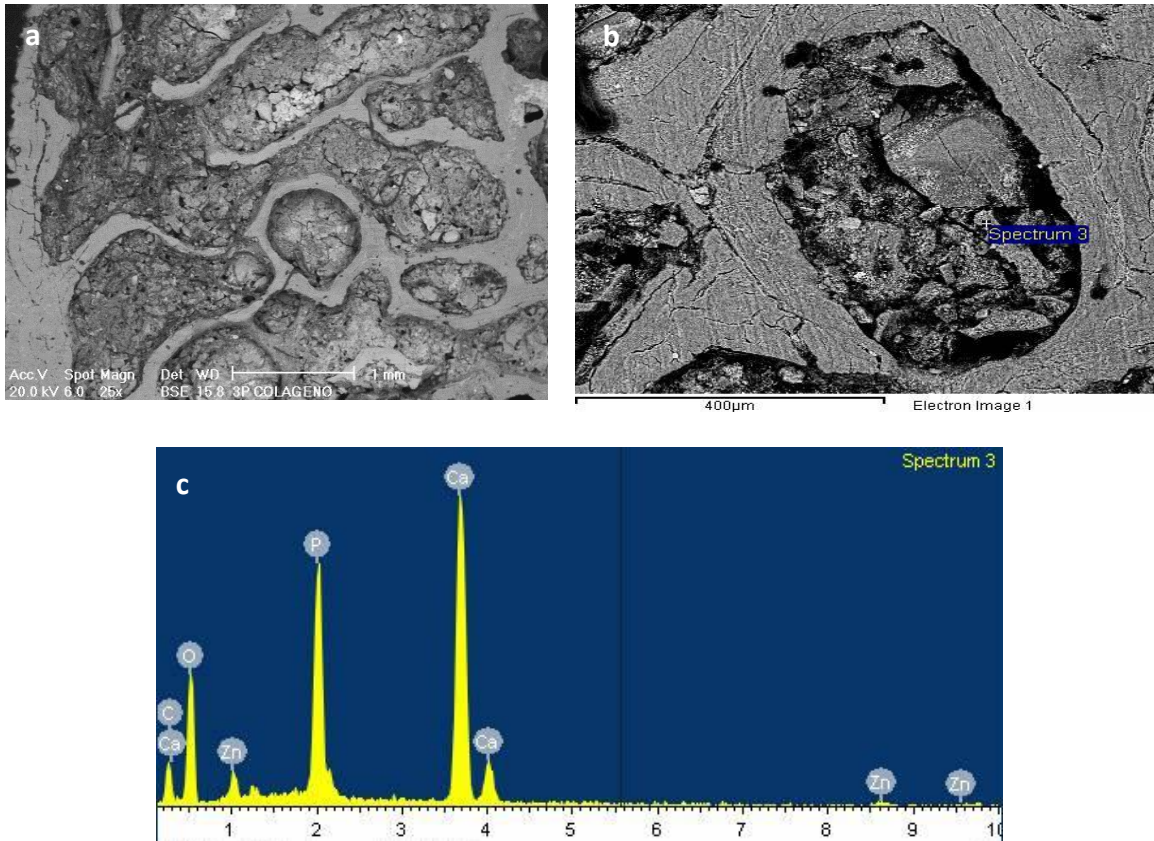


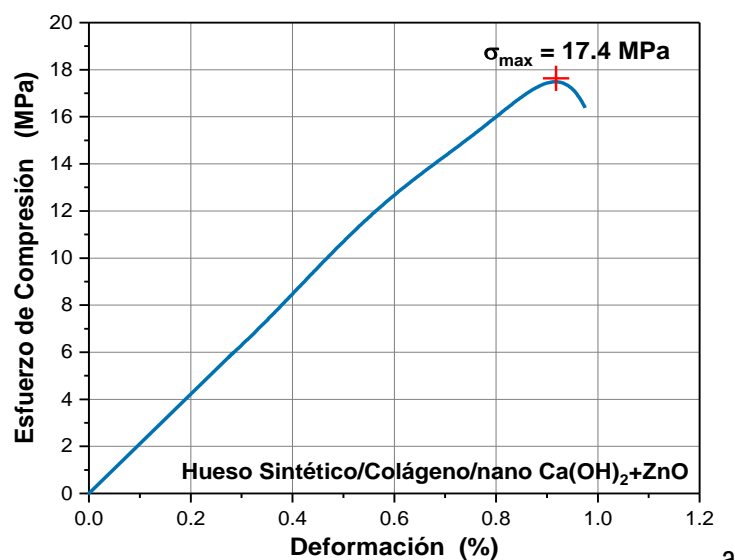
Figura 3.25 (a) Imagen obtenida por MEB del hueso sintético consolidado con nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}/\text{Colágeno}$ , (b) magnificación de la misma muestra y (c) espectro EDS correspondiente a la zona magnificada.

### 3.4.4b Análisis mecánico

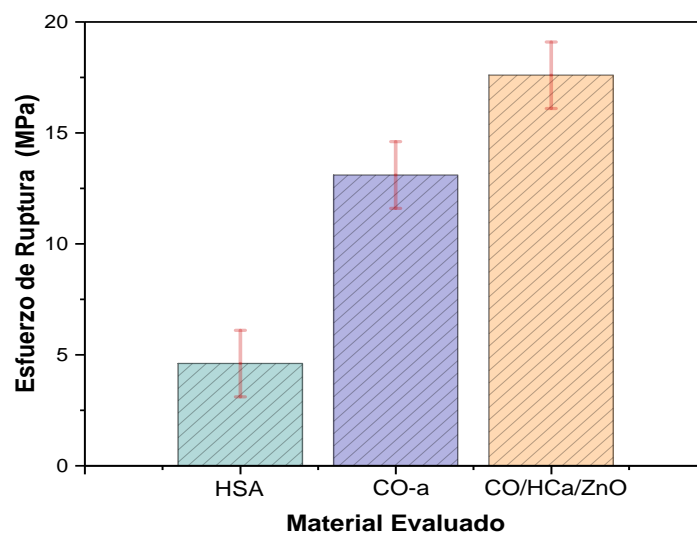
En lo que respecta al comportamiento mecánico del hueso sintético consolidado por medio del sistema  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}/\text{colágeno-hidrolizado}$ , de acuerdo con el análisis de porosidad, la presencia del material consolidante en los poros, sugiere bajo el concepto de materiales compuestos, una alta expectativa para el proceso de consolidación.

En la figura 3.26a se presenta la curva de esfuerzo-deformación obtenida para el caso del hueso sintético incorporando  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}/\text{Colágeno}$  como material para consolidar. Se puede observar que el valor del esfuerzo de ruptura a partir de dicha curva presenta un valor de 17.4 MPa, el cual es muy superior al valor de 4.6 MPa que presenta el hueso sintético sin consolidar.

A manera de comparación, en la [figura 3.26b](#) se muestran los valores del esfuerzo de ruptura del hueso sintético sin tratar y el del sistema  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}/\text{Colágeno}$ , evidenciándose de manera contundente la posibilidad de transformar un material poroso frágil en material consolidado resistente a partir de una selección adecuada de componentes de refuerzo.



a



b

**Figura 3.26** (a) Curva Esfuerzo-Deformación del ensayo en compresión uniaxial de la muestra hueso sintético consolidado con nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}/\text{colágeno}$ . (b) Valores de esfuerzo a la ruptura obtenidos a partir de las curvas de esfuerzo-deformación. HSA: hueso sintético solo. CO-a: hueso sintético con colágeno. Co/HCa/ZnO: hueso con colágeno y nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}$ .

De los resultados preliminares obtenidos en la realización de este trabajo, se puede en principio tratar de generalizar las deducciones presentadas en términos de la mecánica de materiales compuestos, proponiendo una tendencia para el proceso de consolidación de hueso arqueológico como el que se presenta en la [figura 3.27](#). Por lo valores encontrados para la resistencia a la ruptura, el análisis de los datos sugiere que entre el hueso sin tratar y el hueso tratado con partículas nanométricas, ambos se comportan mecánicamente de manera similar, por lo que resulta prácticamente inservible su empleo como materiales consolidantes. Por otra parte, se encontró que los sistemas líquidos que polimerizan o presentan gelación, si se les incorpora una segunda fase en forma de partículas reforzantes, en dicha configuración el tratamiento conduce a una importante consolidación.

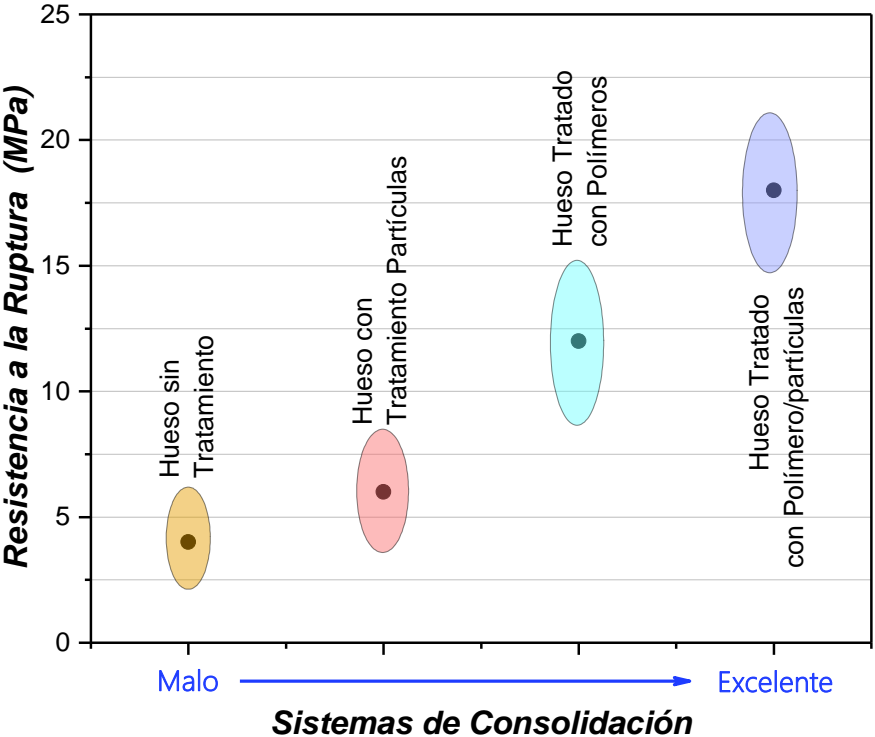


Figura 3.27 Gráfica hipotética de la tendencia de la resistencia a la ruptura de hueso poroso en función del arreglo empleado para su consolidación, acorde a los resultados obtenidos en este trabajo.



## CONCLUSIONES

En este estudio, se probaron nanopartículas de  $\text{Ca(OH)}_2$  y  $\text{ZnO}$  en presencia de colágeno hidrolizado para ser empleados en artefactos óseos, los resultados obtenidos muestran una mejora apreciable después del tratamiento de consolidación, apuntando a un método nuevo y compatible que puede ser prometedor para la preservación de hueso arqueológico.

Con la finalidad de evitar el manejo de hueso arqueológico real, en conjunto con otra investigadora, se desarrolló una metodología para obtener hueso arqueológico sintético. Este material presentó aproximadamente la misma fracción en volumen de fase trabecular y cortical, así como el mismo porcentaje de porosidad en el tejido trabecular, que el que se observa generalmente en el hueso arqueológico a restaurar.

El desarrollo de probetas con la misma fracción de tejido cortical/tejido trabecular y con porosidades equivalentes, permitió comparar cuantitativamente el uso de materiales que actualmente se emplean para consolidar, con los nuevos materiales que se desarrollaron en este trabajo se evaluaron la de porosidad, penetración y propiedades mecánicas de las probetas tratadas.

Los agentes orgánicos utilizados para la consolidación de hueso arqueológico en el área de conservación estudiados en esta investigación fueron el Paraloid B72® (resina base acrilatos) y el Durofix (resina base nitrato de celulosa), al incorporarse en una concentración de 3.0 % su impacto en las propiedades mecánicas es reducida, conduciendo a un hueso consolidado con una resistencia promedio a la ruptura de 6 MPa. Al emplear concentración de 15 %, su efecto en las propiedades mecánicas del hueso consolidado es significativa, conduciendo a una resistencia promedio de 12 MPa. Para el colágeno hidrolizado propuesto en este trabajo para usarse como fase líquida llevada a la gelación (10 %), se encontró un comportamiento totalmente equivalente al que presentan las resinas poliméricas concentradas. Considerando que el hueso de referencia sin tratar presenta una resistencia de 5 MPa, se concluye que las resinas diluidas a baja concentración tendrán un cambio poco significativo en la resistencia, pero aplicadas a concentraciones mayores, actúan eficientemente debido a que las resinas polimerizan en el interior de los poros reforzando la estructura confiriendo dureza al tejido óseo.

En lo concerniente a las nanopartículas el análisis realizado indica que, ante una porosidad con un tamaño promedio de poro de 1mm ( $1000 \mu\text{m}$  o  $10^6 \text{nm}$ ) en el tejido trabecular, el uso de nanopartículas no contribuye en la consolidación del material poroso. De forma tal que se

encontró que el empleo de partículas nanométricas, sean de  $\text{Ca(OH)}_2$  o de  $\text{ZnO}$ , conduce su empleo a una resistencia promedio a la ruptura de 7.5 MPa. Considerando una vez más que el hueso de referencia sin tratar presenta una resistencia de 5 MPa, se concluye que las partículas inorgánicas de tamaño nanométrico no confieren cambios considerables en las propiedades mecánicas, dado que, solo se depositan sobre la superficie en el tejido cortical.

Por último, la introducción del concepto de matriz continua reforzada con partículas y llevada a la práctica con el sistema  $\text{Ca(OH)}_2/\text{ZnO}/\text{Colágeno-Hidrolizado}$  dentro de los poros, los resultados preliminares son prometedores. No obstante, por separado, cada uno de los componentes no conduce a mejoras en el comportamiento mecánico del hueso sintético poroso, pero en conjunto, el sistema conduce a un valor promedio de resistencia a la ruptura de 17 MPa, valor que comparado con 5MPa del hueso de referencia sin tratar es mejor. Evidentemente, se tendría que estudiar su degradación y evolución en función del paso del tiempo antes de poder ser considerada su aplicación en el campo de la restauración, pero los resultados sugieren que es una línea de trabajo que amerita dedicarle más horas y recursos para investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aboudi J., S. M. Arnold, B. A. Bednarczyk, **Micromechanics of Composite Materials**, 1<sup>st</sup> Edition, Butterworth-Heinemann 2013.
- Ambrosi M., L. Dei, R. Giorgi, C. Neto, P. Baglioni (2001). "Colloidal particles of Ca(OH)<sub>2</sub>: Properties and applications to restoration of frescos", *Langmuir* 17(14): 4251–4255.
- Ashby M., P.J. Ferreira, D.L. Schodek, **Nanomaterials, Nanotechnologies and Design: An Introduction for Engineers and Architects**, Butterworth-Heinemann 2009.
- Aubier D., J. Blengino, A. Brandt, N. Silvie (1996). "Degradation caused by cellulose diacetate: Analysis and proposals for conservation treatment", *Restaurator*, 17(2): 130–143.
- Baglioni P., R. Giorgi (2006). "Soft and hard nanomaterials for restoration and conservation of cultural heritage", *Soft Matter*, 2: 293-303.
- Bartsiakos A., A. P. Middleton (1992). "Characterization and Dating of Recent and Fossil Bone by X-Ray Diffraction", *Journal of Archaeological Science*, 19: 63-72.
- Batchelar D. L., M. Davidson, W. Dabrowski, I. A. Cunningham (2006). "Bone-composition imaging using coherent-scatter computed tomography: Assessing bone health beyond bone mineral density", *Medical Physics*, 33(4): 904-915.
- Bisulca, C., L.K. Elkin, A. Davidson (2009). "Consolidation of Fragile Fossil Bone from Ukhaa Tolgod, Mongolia (Late Cretaceous) with Conservare OH100". *Journal of the American Institute for Conservation*, 48(1): 37–50.
- Brown P. W. and B. Constantz, **Hydroxyapatite and Related Materials**, 1<sup>st</sup> Edition, CRC Press 1994.
- Brown M. E., **Introduction to Thermal Analysis Techniques and Applications**, 2<sup>nd</sup> Edition Kluwer-Academic 2004.
- Brzezińska K., K. Haberko, M. Sitarz, M. M. Bućko, B. Macherzyńska (2015). "Hydroxyapatite from animal bones: Extraction and properties", *Ceramics International*, 41: 4841-4846.
- Buchanan R. A., H. H. Caspers, J. Murphy (1963). "Lattice vibration spectra of Mg(OH)<sub>2</sub> and Ca(OH)<sub>2</sub>", *Applied Optics*, 2(11): 1147-1150.
- Carragher C. E., **Carragher's Polymer Chemistry**, Tenth Edition CRC Press 2018.

- Chadefaux C., C. Vignaud, M. Menu, I. Reiche (2008). "Multianalytical study of palaeolithic reindeer antler. Discovery of antler traces in Lascaux pigments by TEM", *Archaeometry*, 50: 516-534.
- Chelazzi D., G. Poggi, Y. Jaidar, N. Toccafondi, R. Giorgi, P. Baglioni (2013). "Hydroxide nanoparticles for cultural heritage: consolidation and protection of wall paintings and carbonate materials", *Journal of Colloid and Interface Science*, 392: 42-49.
- Child, A. M. (1995). "Towards and understanding of the microbial decomposition of archaeological bone in the burial environment", *Journal of Archaeological Science*, 22(2): 165-174.
- Chukhchin D. G., A. V. Malkov, I. V. Tyshkunova, L. V. Mayer, E. V. Novozhilov (2016). "Diffractometric Method for Determining the Degree of Crystallinity of Materials", *Crystallography Reports*, 61(3): 371-375.
- Collins M. J., C. M. Nielsen-Marsh, J. Hiller, C. I. Smith, J. P. Roberts, R. V. Prigodich, T. J. Wess, J. Csapò, A. R. Millard, G. Turner-Walker (2002). "The survival of organic matter in bone: A review", *Archaeometry*, 44(3): 383-394.
- Correa-Moraes M., R. Lopes-Cunha (2013). "Gelation property and water holding capacity of heat-treated collagen at different temperature and pH values", *Food Research International*, 50(1): 213-223.
- Cullity B. D., Elements of X-Ray Diffraction, 2<sup>nd</sup> Edition, Addison-Wesley 1978.
- Currey J., Bones: Structure and Mechanics, 2<sup>nd</sup> Edition, Princeton University Press (2006).
- Daniele V., G. Taglieri, R. Quaresima (2008). "The nanolimes in cultural heritage conservation: Characterization and analysis of the carbonation process" *Journal of Cultural Heritage*, 9(3): 294-301.
- Daniele V., G. Taglieri (2012). "Synthesis of Ca(OH)<sub>2</sub> nanoparticles with the addition of Triton X-100. Protective treatments on natural stones: Preliminary results", *Journal of Cultural Heritage*, 13(1): 40-46.
- Doehne E. and Price C. A., Stone Conservation: An Overview of Current Research, 2<sup>nd</sup> Edition, Getty Conservation Institute Publications (2010).
- Elliott J. C., Structure and Chemistry of the Apatites and other Calcium Orthophosphates, 1<sup>st</sup> Edition, Elsevier 1994.

- Etok S., E. Valsami-Jones, T. Wess, J. C. Hiller, C. A. Maxwell, K. D. Rogers, D. Manning, M. White, E. Lopez, M. Collins, M. Buckley, K. Penkman, S. Woodgate (2007). "Structural and chemical changes of thermally treated bone apatite", *Journal of Materials Science*, 42(23): 9807-9816.
- Fernández-Jalvo Y., P. Andrews (2003). "Experimental effects of water abrasion on bone fragments", *Journal of taphonomy*, 1(3): 145-161.
- Ferreira-Pinto A.P., Delgado-Rodrigues, J. (2008). "Stone Consolidation: The Role of Treatment Procedures". *Journal of Cultural Heritage*, 9:38-53.
- Figueiredo M., A. Fernando, G. Martins, J. Freitas, F. Judas, H. Figueiredo (2010). "Effect of the calcination temperature on the composition and microstructure of hydroxyapatite derived from human and animal bone", *Ceramics International*, 36(8): 2383-2393.
- Franzoni E., G. Graziani, E. Sassoni, G. Bacilieri, M. Griffa, P. Lura (2015). "Solvent-based ethyl silicate for stone consolidation: influence of the application technique on penetration depth, efficacy and pore occlusion", *Materials and Structures*, 48: 3503-3515.
- Fratzi P., **Collagen: Structure and Mechanics**, Springer 2008.
- Fu J., S. Kamali-Bernard, F. Bernard, M. Cornen (2018). "Comparison of mechanical properties of C-S-H and portlandite between nano-indentation experiments and a modeling approach using various simulation techniques", *Composites Part B: Engineering*, 151(15): 127-138.
- García Fortes S. y Flos Travieso N., **Conservación y Restauración de Bienes Arqueológicos**, Editorial Síntesis 2008.
- Gelse K., E. Pöschl, T. Aigner (2003). "Collagens: Structure, function, and biosynthesis", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55: 1531-1546.
- Giorgi R., D. Chelazzi, P. Baglioni (2005). "Nanoparticles of calcium hydroxide for wood conservation. The deacidification of the Vasa warship", *Langmuir*, 21(23): 10743-10748.
- Giorgi R., M. Baglioni, D. Berti, P. Baglioni (2010). "New Methodologies for the Conservation of Cultural Heritage: Micellar Solutions, Microemulsions, and Hydroxide Nanoparticles", *Accounts of Chemical Research*, 43(6): 695-704.
- Gómez-Ortiz N., S. Rosa-García, W. González-Gómez, M. Soria- Castro, P. Natali, I. Tempesti, P. Carretti, E. Potenza, M. Sansoni, S. Baglioni, L. Dei (2014). "Aragonite Crystals Grown on Bones by Reaction of CO<sub>2</sub> with Nanostructured Ca(OH)<sub>2</sub> in the Presence of Collagen. Implications in Archaeology and Paleontology", *Langmuir*, 30(2): 660-668.

- Gorlov I. F., E. I. Titov, G. V. Semenov *et al.* (2018). "Collagen from porcine skin: A method of extraction and structural properties", *International Journal of Food Properties*, 21(1): 1031-1042.
- Haberko K., M. Bucko, J. Brzezinska, M. Haberko, W. Mozgawa, T. Panz, A. Pyda, J. Zarebski (2006). "Natural hydroxyapatite—its behavior during heat treatment", *Journal of the European Ceramic Society*, 26(4-5): 537-542.
- Hansen E., E. Doehne, J. Fidler, J. Larson, M. Matteini, C. Rodriguez-Navarro, A. Tagle, J.M.Teutónico, N. Weiss (2003). "A Review of Selected Inorganic Consolidants for Porous Calcareous Materials", *Reviews in Conservation*, 4: 13–25.
- Hedges R. E. M. (2002). "Bone diagenesis: An overview of the processes", *Archaeometry*, 44: 319-328.
- Hernandez C.J., G.S. Beaupre, T.S. Keller, D.R. Carter (2001). "The influence of bone volume fraction and ash fraction on bone strength and modulus", *Bone*, 29: 74-78.
- Hing K. A., S. M. Best, W. Bonfield (1999). "Characterization of porous hydroxyapatite", *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 10(3): 135-145.
- Honig J. M. and C. N. R. Rao, Preparation and Characterization of Materials, Academic Press 1981.
- Horie V., Materials for Conservation: Organic Consolidants, Adhesives and Coatings, 2<sup>nd</sup> Edition Butterworth-Heinemann 2010.
- Johnson J. S. (1994). "Consolidation of archaeological bone: A conservation perspective", *Journal of Field Archaeology*, 21(2): 221-233.
- Joly-Duhamel C., D. Helio, M. Djabourov (2002). "All gelatin networks: Biodiversity and physical chemistry", *Langmuir*, 18(19): 7208-7217.
- Khoo W., F.M. Nor, H. Ardhyana, D. Kurniawan, (2015). "Preparation of Natural Hydroxyapatite from Bovine Femur Bones Using Calcination at Various Temperatures", *Procedia Manufacturing*, 2: 196-201.
- Kikuchi M., T. Ikoma, S. Itoh, H.N. Matsumoto, Y. Koyama, K. Takakuda, K. Shinomiya, J. Tanaka (2004). "Biomimetic Synthesis of Bone-like Nanocomposites Using the Self-organization Mechanism of Hydroxyapatite and Collagen", *Composites Science and Technology*, 64(6): 819–25.
- Kołodziejczak A., T. Jesionowski (2014). "Zinc oxide – from synthesis to application: A review", *Materials*, 7: 2833-2881.

- Koob S. P. (1984). "The consolidation of archaeological bone", *Studies on Conservation*, 29(1): 98-102.
- Koob, S.P. (1986). "The use of Paraloid B-72 as an adhesive: Its application for archaeological ceramics and other materials", *Studies in Conservation*, 31: 7–14.
- Kumar P., B. Malhotra, P. Phalswal, P. K. Khanna, A. Salim, R. Singhal, A. K. Mukhopadhyay (2020). "Effect of reaction rate on the properties of chemically synthesized calcium hydroxide nanoparticles", *Materials Today: Proceedings*, 28(4): 2305-2310.
- Lagarde P., M. A. H. Nerenberg, Y. Lagarde (1973). "Ca(OH)<sub>2</sub> infrared vibrational spectra: Experimental and theoretical study on microcrystals and single crystals", *Physical Review*, B8(4):1731–46.
- Landi E. (2003). "Carbonated hydroxyapatite as bone substitute", *Journal of the European Ceramic Society*, 23(15): 2931-2937.
- Larkin P. J., *IR and Raman Spectroscopy: Principles and Spectra Identification*, Elsevier 2011.
- León-López A., A. Morales-Peñaloza, V. M. Martínez-Juárez, A. Vargas-Torres, D. Zeugolis, G. Aguirre-Alvarez (2019). "Hydrolyzed collagen-sources and applications", *Molecules*, 24(22): 4031.
- Liu T., Y. Zhu, X. Zhang, T. Zhang, T. Zhang, X. Li (2010). "Synthesis and characterization of calcium hydroxide nanoparticles by hydrogen plasma metal reaction method", *Materials Letters*, 64: 2575–2577.
- Liu Y., Q. Hu, K. Zhang, F. Yang, L. Yang, L. Wang (2021). "In-situ growth of calcium sulfate dihydrate as a consolidating material for the archaeological bones", *Materials Letters*, 282: 12713.
- López-Polín L. (2012). "Possible interferences of some conservation treatments with subsequent studies on fossil bones: A conservator's overview", *Quaternary International*, 275: 120-127.
- Malmberg P., H. Nygren (2008). "Methods for the analysis of the composition of bone tissue, with a focus on imaging mass spectrometry (TOF-SIMS)", *Proteomics*, 8(18): 3755-3762.
- Manoharan M. P., A. V. Desai, G. Neely, M. A. Haque (2008). "Synthesis and elastic characterization of zinc oxide nanowires", *Journal of Nanomaterials*, ID: 849745.

- Masetti-Bitelli L., **Arqueología, Restauración y Conservación**, Capítulo 3: Consolidación y Extracción del Material Óseo en el Paleosuelo de Isernia la Pineta por Boscato P., Editorial Nerea 2002.
- Matteini M., S. Rescic, F. Fratini, G. Botticelli (2011). “Ammonium Phosphates as Consolidating Agents for Carbonate Stone Materials Used in Architecture and Cultural Heritage: Preliminary Research”. ***International Journal of Architectural Heritage***, 5: 717–36.
- Mays S., **The Archaeology of Humans Bones**, 2<sup>nd</sup> Edition, Taylor & Francis (2010).
- Misch C. E., Z. Qu, M. W. Bidez (1999). “Mechanical properties of trabecular bone in the human mandible: implications for dental implant treatment planning and surgical placement”, ***Journal of Oral Maxillofacial Surgery***, 57(6): 700-706.
- Nanni A., L. Dei (2003). “Ca(OH)<sub>2</sub> nanoparticles from W/O microemulsions”, ***Langmuir***, 19(3): 933-938.
- Natali I., Tempesti, P. Carretti, E. Potenza, M. Sansoni S., Baglioni P., Dei L. (2014). “Aragonite Crystals Grown on Bones by Reaction of CO<sub>2</sub> with Nanostructured Ca(OH)<sub>2</sub> in the Presence of Collagen. Implications in Archaeology and Paleontology”. ***Langmuir***, 30(2): 660–68.
- Nayar S., M. K. Sinha, D. Basu, A. Sinha (2005). “Synthesis and Sintering of Biomimetic Hydroxyapatite Nanoparticles for Biomedical Applications”, ***Journal of Materials Science: Materials in Medicine***, 17(11): 1063–68.
- Ngiam M.L., S. Dhara, B. Su (2005). “Biomimetic Synthesis of Apatite on Polycaprolactone for Bone Tissue Engineering”, ***European Cells and Materials***, 10(2): 70.
- Nielsen L. and R. Landel, **Mechanical Properties of Polymers and Composites**, 2<sup>nd</sup> Edition CRC Press 1993.
- North A., M. Balonis, I. Kakoulli, (2016). “Biomimetic hydroxyapatite as a new consolidating agent for archaeological bone”, ***Studies on Conservation***, 61 (3), pp. 146-161.
- Oh M. H., J. H. So, J. D. Lee, S. M. Yang (1999). “Preparation of silica dispersion and its phase stability in the presence of salts”, ***Korean Journal of Chemical Engineering***, 16(4): 532–537.
- Palazzo A., B. Megna, I. Reiche, J. Levy (2015). “Comparative study between four consolidation systems suitable for archaeological bone artefacts”, <https://iris.unipa.it/handle/10447/203368>.
- Parker R.B., H. Toots (1970). “Minor elements in fossil bones”, ***Geological Society of America Bulletin***, 81(3): 925-932.



- Pearson A., H. Bocherenes, J. F. Saliége (1995). "Early Diagenetic Evolution of Bone Phosphate: An X-ray Diffractometry Analysis", *Journal of Archaeological Science*, 22: 211-221.
- Pelleg J., **Mechanical Properties of Materials**, Springer 2013.
- Pinhasi R. and S. Mays, **Advances in Human Paleopathology**, Chapter 7: Histological Studies on Ancient Bone by G. Turner-Walker and S. Mays, John Wiley & Sons 2007.
- Polikreti K., Y. Maniatis (2003). "Micromorphology, Composition and Origin of the Orange Patina on the Marble Surfaces of Propylae (Acropolis, Athens)," *The Science of the Total Environment*, 308(1–3): 111–19.
- Posner A.S. (1969). "Crystal Chemistry of Bone Mineral", *Physiological Reviews*, 49(4): 760–87.
- Reiche I., C. Vignaud, M. Menu (2002). "The crystallinity of ancient bone and dentine: New insights by transmission electron microscopy", *Archaeometry*, 44(3): 447-459.
- Riaz T., R. Zeeshan, F. Zarif, K. Ilyas, N. Muhammad, S. Z. Safi, A. Rahim, S. A. Rizvi, I. Ur-Rehman (2018). "FTIR analysis of natural and synthetic collagen", *Applied Spectroscopy Reviews*, 53(9): 703-746.
- Rogoz A., Z. Sawlowicz, P. Wojtal (2012). "Diagenetic history of woolly mammoth (*mammuthus primigenius*) skeletal remains from the archaeological site Cracow spadzista street, southern Poland", *Palaios*, 27(8): 541-549.
- Sa Y., Y. Guo, X. Feng, M. Wang, P. Li, Y. Gao, X. Yang, T. Jiang (2017). "Are different crystallinity-index-calculating methods of hydroxyapatite efficient and consistent", *New Journal of Chemistry*, 41: 5723-5731.
- Sadat-Shojai M., K. Mohammad, E. Dinpanah, A. Jamshidi (2013). "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures", *Acta Biomaterialia*, 9(8): 7591-7621.
- Salavati M., F. Davar, A. Khansari (2011). "Nanosphericals and nanobundles of ZnO: Synthesis and Characterization", *Journal of Alloys and Compounds*, 509(1): 61-65.
- Salvadori B., L. Dei (2001). "Synthesis and characterization of Ca(OH)<sub>2</sub> nanoparticles from diols," *Langmuir*, 17(8): 2371–2374.
- Salvatore A., S. Vai, S. Caporali, D. Caramelli, M. Lari, E. Carretti (2020). "Evaluation of Diammonium hydrogen phosphate and Ca(OH)<sub>2</sub> nanoparticles for consolidation of ancient bones". *Journal of Cultural Heritage*, 41: 1-12.

- Sassoni E., S. Naidu, G.W. Scherer (2011). "The use of hydroxyapatite as a new inorganic consolidant for damaged carbonate stones", *Journal of Cultural Heritage*, 12(4): 346–55.
- Schraer H., **Biological Calcification: Cellular and Molecular Aspects**; Chapter 1: "Structure and Chemistry of Bone Material" by Eanes E. D., Posner A. S., Elsevier (1970).
- Selwitz C., **Cellulose Nitrate in Conservation**, Getty Conservation Institute 1988.
- Senthilkumar K., O. Senthilkumar, K. Yamauchi, M. Sato, S. Morito, T. Ohba, M. Nakamura, Y. Fujita (2009). "Preparation of ZnO nanoparticles for bio-imaging applications", *Basic Solid State Physics*, 246(4): 885-888.
- Shi P., M. Liu, F. Fan, C. Yu, W. Lu, M. Du (2018). "Characterization of natural hydroxyapatite originated from fish bone and its biocompatibility with osteoblasts", *Materials Science and Engineering C*, 90(1): 706-712.
- Smith, C. I., C. M. Nielsen, M. E. Jans, A. G. North, M. J. Collins (2002). "The strange case of Apigliano: early "fossilization" of medieval bone in southern Italy", *Archaeometry*, 44(3): 405-415.
- Sorushanova A.; L.M. Delgado, Z. Wu, N. Shologu, A. Kshirsagar, R. Raghunath, A.M. Mullen, Y. Bayon, A. Pandit, M.J.A.M. Raghunath (2019). "*The collagen suprafamily: From biosynthesis to advanced biomaterial development*", *Advanced Materials*, 31:1801651.
- Sun T.W., Y.J. Zhu, F. Chen (2018). "Hydroxyapatite nanowire/collagen elastic porous nanocomposite and its enhanced performance in bone defect repair", *RSC Advances*, 8: 26218-26229.
- Taglieri G., C. Mondelli, V. Daniele, E. Pusceddu, A. Trapananti (2013). "Synthesis and X-ray diffraction analysis of calcium hydroxide nanoparticles in aqueous suspension", *Advances in Materials Physics and Chemistry*, 3(1): 30387.
- Taglieri G., C. Mondelli, V. Daniele, E. Pusceddu, G. Scoccia (2014). "Synthesis, textural and structural properties of calcium hydroxide nanoparticles in hydro-alcoholic suspension", *Advances in Materials Physics and Chemistry*, 4(3): 44105.
- Thorn A. (2012). "Lithium silicate consolidation of wet stone and plaster", *12<sup>th</sup> International Congress on the Deterioration and Conservation of Stone*, Columbia University, New York.
- Ward I. M. and J. Sweeney, **Mechanical Properties of Solid Polymers**, 3<sup>rd</sup> Edition John Wiley & Sons 2013.
- Warren J., **Conservation of Earth Structures**. Butterworth-Heinemann 1990.
- Wayne R., **Light and Video Microscopy**, Academic Press 2009.

- West A. R., **Solid State Chemistry and Its Applications**, John Wiley & Sons 1998.
- Yang L., **Materials Characterization: Introduction to Microscopic and Spectroscopic Methods**, John Wiley & Sons 2008.
- Yang F., D. He, Y. Liu, N. Li, Z. Wang, Q. Ma, G. Dong (2016). "Conservation of bone relics using hydroxyapatite as protective material", ***Applied Physics***, A122: 479.
- Zarraga R., D. E. Alvarez-Gasca, J. Cervantes (2002). "Solvent effect on TEOS film formation in the sandstone consolidation process", ***Silicon Chemistry***, 1: 397–402.
- Zhang J., R. Duan, Y. Tian, K. Konno (2009). "*Characterization of acid-soluble collagen from skin of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix)*". ***Food Chemistry***, 116(1): 318–322.