



**Universidad Autónoma de San Luis Potosí**

**Facultad de Ingeniería**

**Centro de Investigación y Estudios de Posgrado**



**Evaluación del Consolidante base Silicato Sódico /  
Partículas en la Consolidación de Hueso Paleontológico  
Sintético**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de:

Maestría en Metalurgia e Ingeniería de Materiales

Presenta:

LCRBCM Claudia Astrid Montelongo Luevanos

Asesor:

Dra. Lilia Narvárez Hernández

Co-asesor:

Dr. Octavio Domínguez Espinós



**UASLP**  
Universidad Autónoma  
de San Luis Potosí



FACULTAD DE  
INGENIERÍA

16 de diciembre de 2021

**LIC. CLAUDIA ASTRID MONTELONGO LUEVANOS  
P R E S E N T E.**

En atención a su solicitud de Temario, presentada por los **Dres. Lilia Narváez Hernández 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 16 de diciembre del presente, fue aprobado el Temario propuesto:

**TEMARIO:**

**"Evaluación del Consolidante base Silicato Sódico / Partículas en la Consolidación de Hueso Paleontológico Sintético"**

- Introducción.
1. Estructura y Composición del material Óseo Paleontológico y los Métodos para su Consolidación.
  2. Metodología y Técnicas Experimentales de Caracterización para Hueso Paleontológico Sintético y Materiales Consolidantes.
  3. Resultados y Evaluación del Efecto Mecánico en la Consolidación del Hueso Paleontológico Sintético.
- 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.**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
DIRECCION

www.uaslp.mx

Copia. Archivo.  
\*etn.

Av. Manuel Nava 8  
Zona Universitaria • CP 78290  
San Luis Potosí, S.L.P.  
tel. (444) 826 2330 al39  
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:

#### **Evaluación del Consolidante base Silicato Sódico / Partículas en la Consolidación de Hueso Paleontológico Sintético**

se realizó en el periodo de febrero de 2021 a febrero de 2022 bajo la dirección de la Dra. Lilia Narváez Hernández.

### **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.

---

Claudia Astrid Montelongo Luevanos



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (CVU;1035810) por el apoyo económico brindado para realizar mis estudios de Maestría. A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y al Instituto de Metalurgia, a todas las personas que residen en esta institución, mis sinodales, maestros, técnicos, personal de biblioteca y administrativo que me ofrecieron sinceramente su apoyo y atención para la realización de este trabajo de investigación.

Muy especialmente a mi asesora Dra. Lilia Narváez Hernández y mi co-asesor Dr. Octavio Domínguez Espinós por apoyarme en todo momento, enseñarme y por su paciencia para conseguir terminar con éxito este trabajo.

A toda mi familia, en especial a mis padres, mi pareja y hermanos por el amor, el apoyo incondicional y por siempre creer en mí.

# Índice

Resumen.....	1
Abstract .....	3
Introducción .....	4
Objetivos .....	6
<b><i>CAPÍTULO 1: Estructura y Composición del material Óseo Paleontológico y los Métodos para su Consolidación</i></b> .....	<b>7</b>
1.1 Hueso.....	7
1.1.1. Estructura y composición .....	8
1.1.2. Propiedades físicas y mecánicas .....	12
1.2. Material óseo paleontológico .....	13
1.3. Métodos para la consolidación de especímenes óseos paleontológicos .....	16
<b><i>CAPÍTULO 2: Metodología y Técnicas Experimentales de Caracterización para Hueso Paleontológico Sintético y Materiales Consolidantes</i></b> .....	<b>20</b>
2.1 Materiales .....	21
2.1.1. Espécimen óseo paleontológico.....	21
2.1.2. Probetas de hueso paleontológico sintético.....	21
2.1.3. Soluciones consolidantes .....	28
2.1.3.1. Soluciones de Paraloid B72 .....	28
2.1.3.2. Soluciones de silicato sódico .....	28
2.1.3.3. Solución de nanopartículas de HAP .....	30
2.1.3.4. Solución de partículas fluorita CaF <sub>2</sub> .....	31
2.1.3.5. Solución de partículas HAP/ TiO <sub>2</sub> / CaF <sub>2</sub> .....	32
2.1.3.6. Solución de silicato sódico al 30% / solución de partículas HAP/ TiO <sub>2</sub> / CaF <sub>2</sub> .....	34
2.2. Aplicación de los tratamientos consolidantes .....	35
2.3 Técnicas de caracterización.....	36
2.3.1. Microscopia electrónica de barrido con detector EDS.....	36
2.3.2. Difracción de Rayos X .....	36
2.3.3. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	38
2.3.4. Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (DTA/TGA) .....	38
2.3.5. Ensayo de resistencia a la compresión.....	39

<b>CAPÍTULO 3: Resultados y Evaluación del Efecto Mecánico en la Consolidación del Hueso Paleontológico Sintético</b> .....	40
3.1. Aspecto superficial del hueso paleontológico sintético tratado con las soluciones consolidantes .....	40
3.2. Determinación de la porosidad en la estructura de hueso paleontológico sintético con las soluciones consolidantes .....	47
3.3. Resistencia mecánica del hueso paleontológico sintético consolidado .....	54
Conclusiones .....	59
Referencias.....	60

## Resumen

El deterioro en las propiedades mecánicas que sufren los especímenes óseo-paleontológicos se debe a la degradación del hueso cuando se encuentra en contexto de enterramiento, al momento de que se extrae, es necesaria su conservación, por lo cual se aplican soluciones consolidantes que ayudan a devolverle resistencia. Existen pocos estudios sobre materiales consolidantes para hueso paleontológico, tradicionalmente se han usado resinas poliméricas para su restauración, pero estas han generado efectos desfavorables en los especímenes óseos. En esta investigación se presentan nuevas alternativas de materiales para usarlos como posibles consolidantes.

El enfoque propuesto en este estudio se basa en la preparación de soluciones con partículas de materiales inorgánicos de diferentes tamaños que resuelvan la problemática de porosidad presente en la estructura del hueso degradado. Las soluciones consolidantes propuestas incluyeron la resina acrílica comercialmente distribuida como Paraloid B72, soluciones base silicato sódico y soluciones base alcohol etílico/alcohol isopropílico con la incorporación de partículas nanométricas de hidroxiapatita (HAP) (~70 nm), partículas micrométricas de fluorita  $\text{CaF}_2$  (5 -30  $\mu\text{m}$ ) y partículas de óxido de titanio  $\text{TiO}_2$  (~100-200 nm) con el objetivo de dar resistencia mecánica al hueso degradado. Para contar con un sustrato que emulara las características de los especímenes óseo-paleontológicos, se prepararon probetas de hueso envejecido artificialmente, las cuales se denominaron hueso paleontológico sintético. El efecto de la temperatura en hueso fresco se estudió por medio de Difracción de Rayos X (DRX), Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (DTA/TGA). Para determinar el porcentaje de porosidad que adquiere el hueso antes y después de su tratamiento de consolidación, se empleó el análisis de imágenes digital con el programa *ImageJ*. El efecto del tratamiento de consolidación en el hueso paleontológico sintético se evaluó a través de ensayos mecánicos de compresión.

La solución de silicato sódico al 30% con la mezcla de partículas HAP/ $\text{CaF}_2$ / $\text{TiO}_2$  induce una disminución de porosidad de un 81.6%, confirmando el efecto de consolidación sobre la estructura porosa. Finalmente, a partir de los resultados de resistencia a la compresión, se determinó que la mezcla de partículas HAP/ $\text{CaF}_2$ / $\text{TiO}_2$  con el silicato sódico al 30% logró alcanzar un valor de 19.4 MPa, lo cual es cuatro veces mayor que el valor obtenido para el hueso paleontológico sintético sin consolidante (testigo). Esto se debe a que las partículas actúan como material de refuerzo y el silicato sódico logra la formación de un tipo de sistema reticular tridimensional en el cual las partículas quedan enlazadas, dando como resultado una fase rígida que le confiere resistencia mecánica al hueso paleontológico



sintético. Los resultados mostraron que la solución base silicato de sodio con partículas propuesta induce una mayor resistencia mecánica al hueso degradado demostrando que esta mezcla se puede usar como parte de un tratamiento consolidante para especímenes de hueso paleontológico.

## Abstract

The deterioration in the mechanical properties suffered by bone-paleontological specimens is due to the degradation of the bone when it is in the context of burial, at the time it is extracted, its conservation is necessary, for which consolidating solutions are applied to help restore its strength. There are few studies on consolidating materials for paleontological bone, traditionally polymeric resins have been used for its restoration, but these have generated unfavorable effects on bone specimens. In this research, new alternative materials are presented for use as possible consolidants.

The approach proposed in this study is based on the preparation of solutions with particles of inorganic materials of different sizes that solve the problem of porosity present in the structure of degraded bone. The proposed consolidant solutions included acrylic resin commercially distributed as Paraloid B72, sodium silicate based solutions and ethyl alcohol/isopropyl alcohol based solutions with the incorporation of nanometric hydroxyapatite (HAP) particles (~70 nm), micrometric fluorite  $\text{CaF}_2$  particles (5 -30  $\mu\text{m}$ ) and titanium oxide  $\text{TiO}_2$  particles (~100-200 nm) with the objective of giving mechanical strength to the degraded bone. In order to have a substrate that emulated the characteristics of bone-paleontological specimens, artificially aged bone specimens were prepared, which were referred to as synthetic paleontological bone. The effect of temperature on fresh bone was studied by means of X-Ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Differential Thermal Analysis and Thermogravimetric Analysis (DTA/TGA). To determine the percentage of porosity acquired by the bone before and after its consolidation treatment, digital image analysis with the ImageJ program was used. The effect of the consolidation treatment on the synthetic paleontological bone was evaluated through mechanical compression tests.

The 30% sodium silicate solution with the HAP/ $\text{CaF}_2$ / $\text{TiO}_2$  particle mixture induced a porosity decrease of 81.6%, confirming the consolidation effect on the porous structure. Finally, from the compressive strength results, it was determined that the HAP/ $\text{CaF}_2$ / $\text{TiO}_2$  particle mixture with 30% sodium silicate achieved a value of 19.4 MPa, which is four times higher than the value obtained for the synthetic paleontological bone without consolidant (control). This is due to the fact that the particles act as reinforcement material and the sodium silicate achieves the formation of a type of three-dimensional reticular system in which the particles are bonded, resulting in a rigid phase that confers mechanical strength to the synthetic paleontological bone. The results showed that the proposed sodium silicate based solution with particles induces a higher mechanical strength to degraded bone demonstrating that this mixture can be used as part of a consolidating treatment for paleontological bone specimens.

## Introducción

La conservación de material óseo de carácter paleontológico es de gran relevancia para el estudio de especies extintas y en investigaciones para el conocimiento de la relación del hombre con la fauna a través de los materiales descubiertos en este tipo de contextos. Los materiales óseos que se encuentran enterrados atraviesan por un proceso de degradación química y de descomposición en donde las bacterias degradan los tejidos blandos (colágeno) y otras proteínas perdiendo casi el 50% de su volumen. La degradación de la estructura interna del hueso origina un apreciable nivel de porosidad principalmente sobre la estructura del tejido esponjoso, ya que su fracción de materia orgánica desaparece parcial o completamente (Hare *et al.* 1988). Es por esto por lo que al momento de la extracción de los materiales óseo y al ser expuestos a cambios bruscos en sus condiciones ambientales, estos materiales se vuelven frágiles, siendo necesaria la aplicación de consolidantes. Tradicionalmente se han usado resinas poliméricas como consolidantes en materiales óseo-paleontológicos logrando su consolidación parcialmente; sin embargo, algunos productos alteran las propiedades fisicoquímicas originales del hueso degradado, interfiriendo en los posteriores análisis que son sometidos este tipo de materiales (Johnson, 1994, López-Polín 2012; Baglioni, 2013). También se han desarrollado estudios enfocados en materiales inorgánicos para devolverles cohesión y resistencia mecánica al hueso degradado como son las nanopartículas de hidroxiapatita (HAP) e hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (Natali *et al.* 2014; North *et al.* 2016; Yang *et al.* 2016; Sassoni, 2018; Gong *et al.* 2019; Yan *et al.* 2020; Campanella *et al.* 2020; Salvatore *et al.* 2020; Yan Liu *et al.* 2021). Sin embargo, estas investigaciones reportan resultados de disminución de porosidad cuando las partículas se depositan sobre la superficie del tejido compacto sin evaluar el efecto que tiene sobre la estructura del tejido esponjoso. Además, varias investigaciones carecen de información con respecto a propiedades mecánicas, análisis de porosidad y penetración para conocer el efecto de la consolidación.

A partir de estas observaciones se elaboró la hipótesis que se relaciona con el uso de una solución constituida de partículas inorgánicas y un medio polimérico adecuado que permita rellenar los poros del tejido esponjoso y compacto para producir una buena consolidación.

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad consolidante de diversas soluciones a las que se le incorporaran partículas inorgánicas de diferentes tamaños para mejorar las propiedades mecánicas del hueso degradado. Los resultados de la investigación se presentan en tres capítulos, el contenido de estos se describe a continuación:

El primer capítulo está dedicado a la definición de los aspectos generales de la investigación, se describen las principales características y propiedades del hueso. También se abordarán conceptos fundamentales sobre especímenes óseos-paleontológicos originales y su proceso de degradación en su contexto de enterramiento. Adicionalmente, se incluye una sección donde se presentan los tipos de consolidantes orgánicos e inorgánicos usados para la restauración de especímenes óseo-paleontológicos. Además de que se proporciona información de los métodos usados para hacer los tratamientos de consolidación con nanomateriales (hidroxiapatita, hidróxidos de calcio).

En el segundo capítulo se presenta la descripción de las técnicas analíticas empleadas para la caracterización fisicoquímica de los materiales empleados para las formulaciones de las soluciones consolidantes y la metodología de trabajo de la investigación. También se muestra el proceso de fabricación de las probetas de hueso envejecido artificialmente, las cuales se denominaron hueso paleontológico sintético. Se describe el método de síntesis para la HAP. Por último, en este capítulo se describe la evaluación del efecto de la temperatura sobre hueso natural.

En el tercer capítulo se analizan los resultados del aspecto superficial y la penetración de cada solución consolidante aplicada sobre hueso paleontológico sintético. Con base en el análisis de porosidad también se presentan los resultados del porcentaje de porosidad que adquiere el hueso sometido a diferentes temperaturas y el hueso paleontológico sintético una vez tratado con cada solución propuesta. Finalmente, se muestra el análisis de las pruebas de resistencia a la compresión al que fue sometido el hueso paleontológico sintético después de la aplicación de cada tratamiento de consolidación, para determinar si existen mejoras en las propiedades mecánicas del hueso degradado.

## Objetivos

Objetivo general:

Estudiar el efecto de diferentes soluciones sin y con partículas inorgánicas para la consolidación de hueso paleontológico sintético.

Objetivos específicos:

- Desarrollar un método de envejecimiento artificial de hueso fresco mediante tratamiento térmico para elaborar probetas de hueso paleontológico sintético.
- Desarrollar soluciones consolidantes de resinas acrílicas, de silicato sódico y de alcohol etílico/alcohol isopropílico con la incorporación de partículas de HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>.
- Evaluar la porosidad y la resistencia a la compresión de las probetas de hueso paleontológico sintético antes y después del tratamiento de consolidación.

# CAPÍTULO 1: Estructura y Composición del material Óseo Paleontológico y los Métodos para su Consolidación

**E**n este capítulo se describen las principales características y propiedades del material óseo, mencionando los compuestos que lo conforman, su organización macroscópica y el comportamiento mecánico de cada una de las estructuras del hueso. Se revisarán conceptos fundamentales sobre especímenes óseos-paleontológicos originales, así como los materiales y métodos que se usan para su consolidación.

## 1.1 Hueso

Los huesos son tejidos que integran el esqueleto de organismos vertebrados, ejecutan funciones importantes, tales como: sostén ya que el esqueleto está integrado como un armazón donde se apoyan y se fijan otras partes del cuerpo proporcionando estructura. Los huesos protegen los órganos internos del cuerpo tal es el caso de los huesos del cráneo, que protegen el encéfalo, la columna vertebral y las costillas protegen al corazón y los pulmones, las cavidades orbitarias protegen a los ojos, el hueso temporal alberga al oído, y la columna vertebral protege la médula espinal. Otra función importante que desempeñan los huesos es el de la locomoción, pues en conjunto con los músculos permiten movimiento y desplazamiento a la estructura del cuerpo.

Los huesos que conforman el esqueleto de organismos vertebrados tienen tamaños y formas diferentes. Los cuatro tipos principales de huesos se clasifican en largos, cortos, planos y los que conforman las vértebras. Los huesos largos consisten en un eje largo con dos extremidades voluminosas. Son principalmente tejido compacto, pero pueden tener una gran cantidad de tejido esponjoso en las extremidades. Los huesos cortos se constituyen de tejido esponjoso. Los huesos planos son delgados, aplanados y algunos de ellos cuentan con curvatura. También se encuentran los huesos de las vértebras están constituidos principalmente de tejido esponjoso en su interior cubierto de una capa de tejido compacto (Bangash *et al*, 2007; Singh, 2013).

### 1.1.1. Estructura y composición

El material que conforma al hueso se denomina tejido óseo, este tejido estructuralmente se clasifica en dos tipos:

- Hueso compacto o tejido cortical
- Hueso esponjoso o tejido trabecular

El hueso compacto es una masa sólida conformada por canales microscópicos donde están contenidos osteocitos, canalículos y vasos sanguíneos, aproximadamente el 40% de la masa esquelética es hueso cortical, el cual forma una pared exterior de los huesos y sus funciones principales son de soporte y protección confiriendo también resistencia mecánica. La porosidad del hueso compacto se encuentra a nivel microscópico, está representada por el porcentaje (volumen) de cavidades o espacios formados por los canales haversianos en el que residen los nervios y vasos sanguíneos como se aprecia en la figura 1.1. El 60% restante pertenece al hueso esponjoso, también conocido como poroso o trabecular, el cual cuenta con una capa de hueso compacto en su exterior y en su interior está dispuesto con un sistema de trabéculas verticales y horizontales. Aparece principalmente en los extremos de los huesos largos, a lo largo de los huesos cortos, como los huesos de la muñeca (carpo), en los huesos grandes y planos como la escápula y costillas, y en las protuberancias donde se intercalan los músculos a los huesos. El tejido esponjoso está compuesto de cristales de hidroxiapatita dentro de una matriz de fibras de colágeno, tiene un contenido mineral menor al hueso compacto que lo rodea, tal y como se muestra en la figura 1.1 donde se puede observar la disposición estructural del hueso completo a varias escalas de longitud. La estructura del tejido se conforma por hueso compacto y esponjoso, la microestructura está constituida por un conjunto de fibrillas de colágeno donde se encuentran cristales de hidroxiapatita mineralizado (Bangash *et al*, 2007; Currey, 2012, Qiu *et al*. 2019).

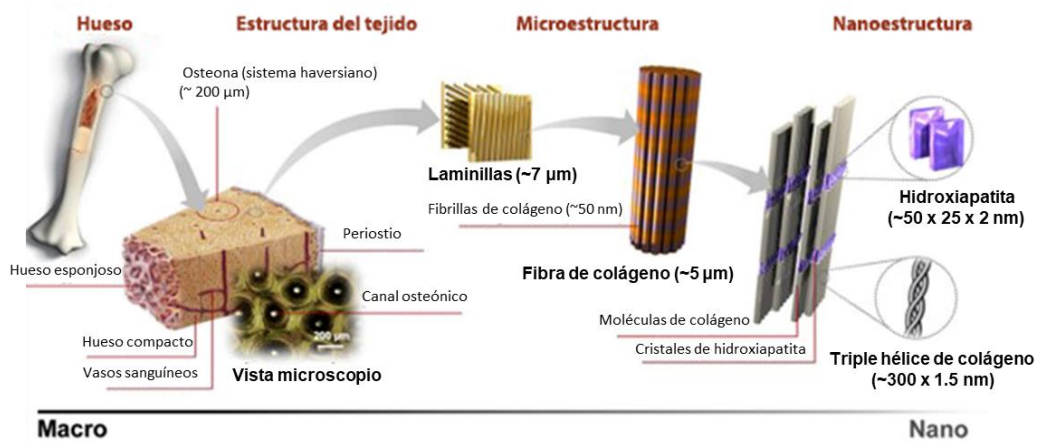


Figura 1.1. Estructura jerárquica del hueso desde escala macrométrica a nanométrica (Bangash et al, 2007).

En la figura 1.2 se puede apreciar tanto la estructura del tejido compacto que microscópicamente está formado por osteonas, periostio y vasos sanguíneos, así como las lamelas concéntricas del sistema de Havers, también se observan las trabéculas que corresponden al tejido esponjoso.

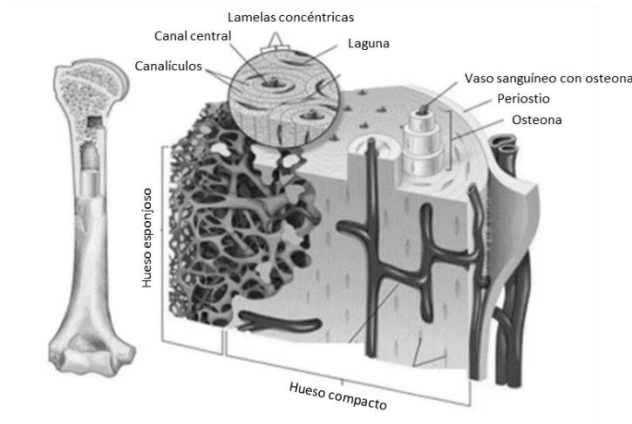


Figura 1.2. Diagrama de la estructura jerárquica del hueso (Qiu, 2019).

El hueso esponjoso generalmente existe solo dentro de los límites de las cubiertas de hueso cortical. El hueso esponjoso también se llama hueso trabecular porque está compuesto de materiales óseos llamados trabéculas. La porosidad de este tejido es la proporción del volumen total que no está ocupado por tejido óseo que por lo general está lleno de médula (Cowin, 2007; Bangash et al, 2007; Currey, 2008).



Los componentes principales del tejido óseo son hidroxiapatita, está contenida en un 60-70%, el colágeno y otros componentes orgánicos en un 20-30% y el resto es agua. El componente orgánico es principalmente colágeno tipo I y una pequeña cantidad de proteína, polisacáridos, lípidos, etc.; el colágeno es el que le confiere flexibilidad al tejido óseo principalmente del tejido esponjoso. Su componente inorgánico es mayoritariamente un fosfato de calcio en relación molar de Ca/P entre 1.5 – 1.67 denominadas comúnmente como apatitas y entre ellas está la hidroxiapatita (HAP) (Weiner y Zaslansky, 2004). Para el caso de una relación molar Ca/P = 1.67 se obtiene la hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ) presentando a temperatura ambiente la estructura cristalográfica:

- Hexagonal, grupo espacial  $P6_3/m$ , con parámetros de red  $a = b = 9.432 \text{ \AA}$ ,  $c = 6.881 \text{ \AA}$ . La composición de la celda unitaria es  $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$  que corresponde a 2 veces su fórmula química equivalente.

La hidroxiapatita presenta una transición alotrópica a 200 °C cambiando de estructura cristalina a:

- Monoclínica, grupo espacial  $P2_1/b$ , con parámetros reticulares  $a = 9.421 \text{ \AA}$ ,  $b = 2a$ ,  $c = 6.881 \text{ \AA}$ .

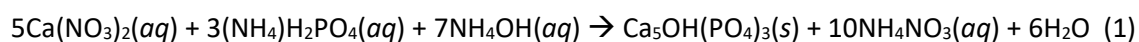
Su fórmula química está representada por  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ , las apatitas biológicas presentan variaciones en esta composición ya que contienen cantidades de impurezas sustitucionales, aproximadamente un 4-6% de carbonato denominándose apatita carbonatada ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$ ) y otras impurezas con diferentes iones como el  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ , entre otros (Currey, 2008; Ma y Liu 2009; Eliaz y Metoki 2017; Khalid y Chaudhry 2020). Estos componentes se encuentran organizados en bloque en el interior del hueso, la hidroxiapatita se mineraliza dentro de las fibrillas de colágeno y otros sustratos proteicos, los cuales se encuentran dispuestos en capas paralelas que atraviesan la sección transversal de la fibrillas impregnadas y rodeadas por el mineral de hidroxiapatita. Su orientación cristalográfica se relaciona con la orientación de la materia orgánica (Weiner y Zaslansky, 2004; Qiu *et al.*, 2019).

La hidroxiapatita (HAP) es un material biocéramico ampliamente usado en el campo de la biomedicina para la reconstrucción de dientes o regeneraciones óseas y en el área de la bioingeniería por tener una gran biocompatibilidad (Venugopal *et al.* 2010; Tian *et al.* 2011; Jaafar *et al.* 2020; Du *et al.* 2021). La hidroxiapatita se puede obtener directamente de hueso natural o de forma sintética; en la obtención por procesamiento de polvo de hueso natural se han usado huesos de especies de bovino, porcino, cáscaras de huevo, pollo, conchas marinas, entre una gran variedad de especies. La principal diferencia entre la hidroxiapatita de fuentes naturales a la sintética es que la derivada de hueso natural

mantiene la composición química y estructura de su materia prima, no es estequiométrica y se encontrarán contenidos iones como  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $CO_3^{-2}$ , entre otros.

En cuanto a la HAP sintética existen diferentes métodos de síntesis para su obtención, los frecuentemente empleados son el método en estado sólido, el método de precipitación química en medio acuoso, hidrotermal, método de crecimiento en gel y crecimiento de flujo (Byrappa y Yoshimura 2021; Santos *et al.*, 2004; Khalid y Chaudhry, 2020) (la hidroxiapatita que se obtiene de esta forma presenta una estructura hexagonal) (Ooi *et al.* 2007; Currey, 2008; Ma y Liu 2009; Figueiredo *et al.* 2010; Mucalo, 2015; Eliaz y Metoki 2017; Khalid y Chaudhry 2020).

La síntesis de la HAP por precipitación en medio acuoso es un método en donde se precipitan dos o más compuestos simultáneamente en un solvente, siendo el resultado de alcanzar el límite de solubilidad de los correspondientes sólidos. El paso más importante de este método es la nucleación que es cuando se empiezan a formar las partículas. Para llevar a cabo la reacción de síntesis se usa generalmente algún compuesto de calcio soluble y sales de fósforo que en conjunto se precipitan mediante la adición de una base. La fuente de iones de calcio son sales solubles de calcio, como por ejemplo el nitrato de calcio  $[Ca(NO_3)_2]$ , perclorato de calcio  $[Ca(ClO_4)_2]$  y cloruro de calcio ( $CaCl_2$ ). Para los iones fosfato, generalmente se usa fosfato di-ácido de amonio  $[(NH_4)_2H_2PO_4]$ , fosfato mono-ácido de amonio  $((NH_4)_2HPO_4)$ , ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ), fosfato sódico ( $Na_3PO_4$ ) o fosfato potásico ( $K_3PO_4$ ). Un ejemplo, de una de las reacciones que ocurren por este método es la siguiente:



En donde se busca mantener la relación molar  $5Ca:3P = 1.666$ , en la cual la reacción se lleva a temperatura ambiente y a pH básico. Generalmente los precipitados que se producen por la reacción entre iones calcio y fosfatos son sólidos mal cristalizados. El pH de la reacción juega un papel importante, ya que se ha reportado la obtención de HAP a un pH alcalino (superior a 10) (Santos *et al.*, 2004; Khalid y Chaudhry, 2020).

### 1.1.2. Propiedades físicas y mecánicas

Las propiedades mecánicas del tejido óseo difieren de acuerdo con los dos tipos de estructuras que lo conforman, teniendo un comportamiento mecánico muy diferente entre ellas. La diferencia de sus propiedades mecánicas entre los dos tejidos óseos se cuantifica en términos de la densidad aparente del hueso que se encuentra definida como la masa de tejido óseo presente en una unidad de volumen óseo (Nordin y Frankel, 2001). La resistencia del hueso compacto va en función de su densidad, mientras que la densidad en el hueso esponjoso se basa en las trabéculas verticales y horizontales que le conceden fuerza. En la figura 1.3 se muestra como el hueso trabecular tiene un módulo de tenacidad mayor (área bajo la curva) que el hueso compacto, aunque este último puede soportar mayor carga. Si hay una disminución en las trabéculas, su resistencia baja considerablemente. Según lo reportado, la resistencia a la compresión en el hueso compacto se encuentra entre 100-150 MPa y el hueso trabecular aproximadamente entre 9-50 MPa (Nordin y Frankel, 2001; Currey, 2008; Ramírez-Díaz *et al*, 2010).

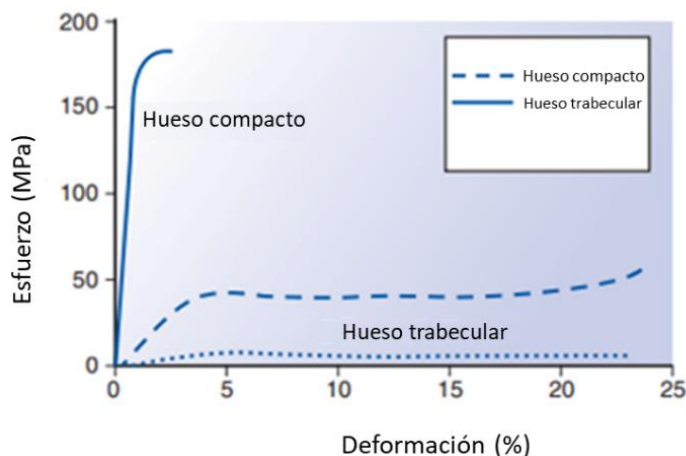


Figura 1.3. Curvas de tensión-deformación de hueso cortical y trabecular (Nordin y Frankel, 2001).

La relación mineral/colágeno y especialmente la porosidad de la muestra tienen un efecto en las propiedades mecánicas previas y posteriores al rendimiento del tejido óseo. Una propiedad que se ve afectada por esta relación mineral/colágeno es el módulo de Young de las estructuras. El módulo de Young presenta valores inferiores en el hueso esponjoso, el cual es capaz de doblarse debido a su estructura relativamente porosa ya que el colágeno que se encuentra dentro de los poros le confiere flexibilidad al material. Cuanto mayor sea la mineralización del tejido compacto, mayor será su rigidez, pero producirá detrimento en su tenacidad. La inclusión de materia orgánica en el tejido aumenta la resistencia del material ya que generalmente se tiene una matriz flexible reforzada por una fase rígida

inorgánica, pero solo hasta cierto nivel ya que si aumenta la fase inorgánica el hueso se vuelve frágil (Evans, 1969; Currey, 2009; Currey, 2008).

El estudio de las propiedades mecánicas del hueso ha sido un campo ampliamente estudiado en el área médica. Una importante parte de los estudios han sido dirigidos hacia el análisis del proceso de fractura y los experimentos se han realizado usando la geometría natural del hueso (Bonfield, 1987; Zioupos *et al*, 2008; Sharir *et al*, 2008). No obstante, existen estudios sobre el comportamiento del hueso natural que han sido realizados usando probetas por medio de ensayos de compresión y/o flexión con probetas maquinadas, así como ensayos de dureza superficial por medio de nanoidentación de los cuales han reportado datos del comportamiento biomecánico del hueso enfocándose en el impacto que tiene la desmineralización y desproteinización en su resistencia (Currey 2009; Li *et al*, 2013; Novitskaya *et al*, 2011, Cohen, 2016).

## 1.2. Material óseo paleontológico

El tipo de tejido que generalmente se conserva en contextos de enterramiento paleontológicos es el tejido duro que compone el esqueleto que son; huesos, dientes, cascarones o cuernos. A estos materiales se les ha denominado como “especímenes óseos paleontológicos o restos óseos fósiles”. Los especímenes óseos paleontológicos o restos fósiles no solo se refieren a estructuras esqueléticas de individuos del pasado, este término se ha ampliado hasta conjuntar cualquier clase de evidencias materiales en donde su materia orgánica haya desaparecido, la descripción de huesos excavados como fósiles es bastante útil ya que el término puede usarse para incluir todo el material óseo de esqueletos que en algún momento ha estado enterrado. Estos materiales han ayudado a proporcionar información sobre la evolución de especies, como apoyo para respaldar estudios de paleoambiente y recreaciones de extensiones paleográficas, contribuyendo también en estudios de datación, etc. (Turner-Walker y Howard, 1993; Ray *et al*, 2018).

La supervivencia física del hueso es parte importante en cualquier tipo de estudio paleontológico. No solo se debe mantener el esqueleto en el ambiente del entierro o exhumación, también debe contar con suficiente resistencia para ser excavado, archivado y estudiado. Todo este material, huella de organismos del pasado ha sufrido cambios físicos-químicos desde su enterramiento, su deterioro no solo contribuye a la fragilidad de los huesos paleontológicos, sino que altera la estructura de los tejidos. Estos cambios pueden involucrar: disolución del tejido óseo o su cementación por minerales exógenos provocando porosidad en su estructura, distorsiones y compactación (Behrensmeyer *et al*, 1988; Pinhasi *et al*, 2008; Turner-Walker y Howard, 1993).

Existen dos mecanismos predominantes en la degradación del hueso o diagénesis ósea en contextos de enterramiento, que pueden o no proceder simultáneamente. Estos son la degradación bacteriana de los tejidos y la hidrólisis química del colágeno, en donde el tipo de suelo, el agua y la temperatura juegan un papel importante.

El ataque bacteriano o microbiano causada por hongos y bacterias es un contribuyente importante en la degradación del hueso, está relacionado con la putrefacción y las etapas muy tempranas de degradación. El alcance del ataque microbiano parece estar determinado tanto por factores durante la muerte del organismo hasta la descomposición, así como por factores ambientales posteriores. Los microorganismos del suelo degradan rápidamente la materia orgánica del hueso, dando paso a la disolución parcial de la fase mineral exponiendo el colágeno al ataque microbiano (Behrensmeyer *et al*, 1988; Weiner y Zaslansky, 2004; Pinhasi *et al*, 2008; Kendall *et al*, 2018). Después de esto sucede la disolución ósea e hidrólisis química del colágeno influenciado por procesos hidrológicos, el agua es el medio de casi todas las reacciones químicas que tienen lugar en el suelo. El tejido óseo, por lo tanto, es vulnerable a la disolución, en el cual el agua del suelo se encuentra fluyendo repetidamente alrededor y a través de los huesos, esta disolución genera mayor porosidad en su estructura. Los huesos que se encuentran en saturación permanente de agua presentan un mejor estado de conservación. El agua no solo permite el crecimiento de microbios, sino que también acelera la pérdida de proteínas a través de este proceso de hidrólisis, donde la susceptibilidad a la disolución depende de muchas variables principalmente la porosidad del hueso. La pérdida de proteínas aumenta esta porosidad y permite que el agua penetre más en la fase mineral. Dado que el mineral constituye la mayor parte del volumen de material óseo, cualquier pérdida por disolución, tiene una gran influencia en la porosidad del hueso degradado. La distribución de la porosidad en el hueso influye en el grado de alteración diagenética que puede ocurrir, y un aumento en esta porosidad, subsecuentemente, aumentará la velocidad de los procesos de disolución de minerales, lo que, a su vez, conducirá una mayor porosidad, por lo tanto, el hueso se volverá más frágil (Nielsen-Marsh *et al*, 2000; Jans *et al*, 2004; Pinhasi *et al*, 2008; Kendall *et al*, 2018)

En la figura 1.4 a se muestra el fémur de un espécimen óseo paleontológico, en la figura 1.4 b se muestra especificado con flechas los dos tipos de hueso donde se puede observar el alto nivel de porosidad en la zona del hueso esponjoso y la capa del hueso compacto que lo recubre está fragmentada a consecuencia del desmoronamiento y la fragilidad del tejido esponjoso que se encuentra en el interior, estos deterioros son característicos de un material óseo paleontológico al momento de su extracción en el contexto paleontológico.

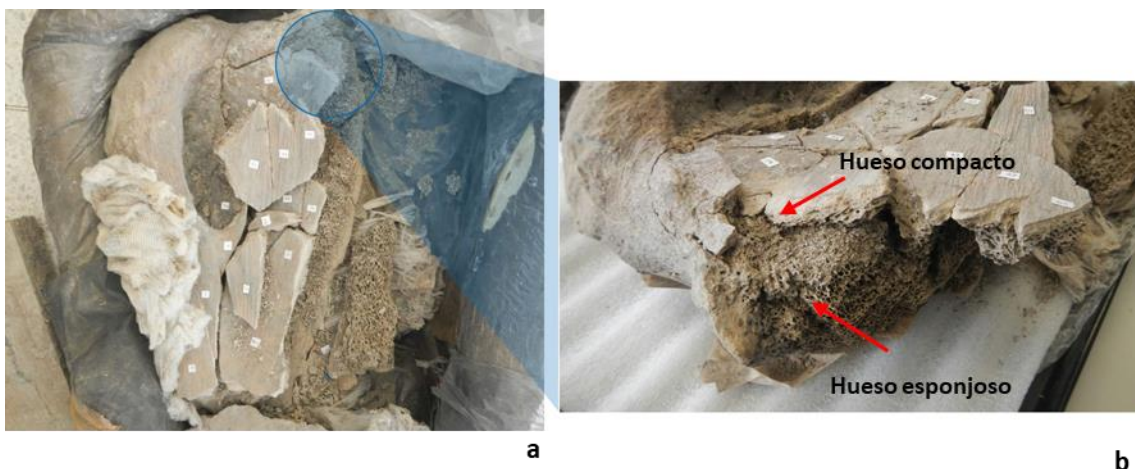


Figura 1.4. a) *Espécimen paleontológico del Informe de la arqueofauna aparecida en el predio de la Subestación Diana, Cd. México, Instituto Nacional de Antropología e Historia, (Ramos et al, 2015), b) detalle de la parte superior del espécimen.*

La figura 1.5 a corresponde a la parte de la pelvis de un espécimen óseo paleontológico, en la figura 1.5 b se indica con flechas la sección del hueso compacto y esponjoso, la capa de hueso compacto es más delgada que el caso anterior, esto debe a que en la estructura de la pelvis predomina el tejido esponjoso, aunque en los dos especímenes se observa como la porosidad prevalece.

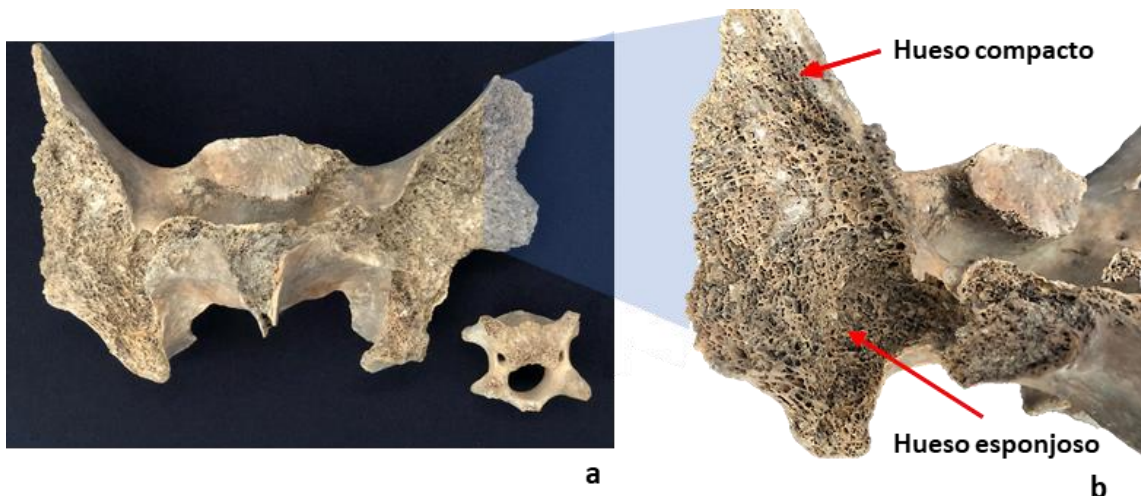


Figura 1.5. a) *Espécimen paleontológico del Proyecto Rescate Paleontológico de Rancho Córdoba Cedral, San Luis Potosí, b) detalle de la parte derecha del espécimen.*

### 1.3. Métodos para la consolidación de especímenes óseos paleontológicos

Para la preservación del material óseo paleontológico o restos fósiles, la consolidación es el tratamiento más relevante, ya que por el alto nivel de fragilidad que presentan estos materiales lo que se busca es devolverles la suficiente resistencia al momento de su extracción, para ser archivados y estudiados. En el campo de la conservación, la consolidación es un tratamiento que se usa para conferirle fuerza y resistencia a materiales estructuralmente frágiles (Horie, 2010).

Existen diferentes tipos de materiales que son aplicados como consolidantes, los cuales de acuerdo con su naturaleza se clasifican en:

- Consolidantes orgánicos
- Consolidantes inorgánicos

#### Consolidantes orgánicos

Los consolidantes orgánicos naturales más comunes son las resinas, ceras, gomas y colas. A partir de la segunda mitad del siglo XX comienza el uso de los polímeros orgánicos sintéticos como consolidantes, los cuales son materiales químicamente compuestos por cadenas de átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Sus propiedades físicas y químicas están condicionadas por el largo de su cadena, resultado de la unión de una o más moléculas pequeñas llamadas monómeros (Johnson, 1994; López-Polín, 2012).

Para la consolidación de hueso paleontológico, comúnmente se han usado polímeros compuestos a base del grupo acrílico ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}(=\text{O})-$ ) formados por acrilatos (PMA), metacrilatos (PMMA) y cianoacrilatos, comercialmente conocidos como Paraloid B72 (copolímero de etilmetacrilato y metilmetacrilato), acrilato de etilo y acrilato de metilo), Rhoplex WS-24 (copolímeros acrílicos). Su presentación comercial es en estado sólido (perlas o polvos) y en solución, que para obtener variaciones en el fraguado y viscosidad se producen con diferentes formulaciones (Chadefaux *et al*, 2008; Davidson y Alderson 2009; López-Polín, 2012; Villena y García, 2018). Además de este tipo de polímeros, también es común el uso de polímeros vinílicos que contienen principalmente poli(vinil acetato) (PVAC)  $[\text{CH}_3\text{OOCHCH}_2]$ , polivinil acetal (PVA)  $[(\text{OH})_2\text{CHCH}_2]$ , alcohol polivinílico (PVAL)  $[(\text{OH})\text{CHCH}_2]$ , polivinil butiral  $[(\text{CH}_2)_2(\text{CH})_2\text{O}_2\text{CHCH}_2]$ , y son conocidos bajo diferentes marcas comerciales (Mowilith, Rhodopas M, Vinamul, Vinilite, Butirales). Su presentación comercial es en solución facilitando su aplicación, tienen alto nivel de

penetración, por eso son muy comunes en tratamientos de consolidación de madera y hueso (Billingham, 2006; McGlinchey 2018). Estos materiales consolidantes poliméricos presentan ciertas desventajas a largo plazo y al ser expuestos a factores como temperatura, luz y humedad reaccionan provocando una serie de efectos, tales como amarillamiento, se vuelven quebradizos, también en algunos casos generan una capa superficial, entre otros. El uso de estas resinas en material óseo paleontológico genera interferencia e impiden una correcta lectura en el análisis por isótopos y pueden influenciar en los resultados de datación por radiocarbono catorce ( $^{14}\text{C}$ ) (Johnson, 1994, López-Polín 2012; Baglioni, 2013).

Para la selección de productos usados para la conservación y restauración del patrimonio, el enfoque se orientó en buscar afinidad de los nuevos productos con los materiales constitutivos del objeto original, tanto de sus características físicas y químicas, como de su estructura interna y externa. Así fue como se definió otro principio operativo principal para la selección de productos y métodos de restauración, la “compatibilidad”, significando que los materiales de restauración deben exhibir características químicas y físicas muy similares a las del material original (Baglioni, 2013).

### **Consolidantes inorgánicos**

Los materiales inorgánicos usados en procesos de consolidación presentan una alta afinidad desde el punto de vista físico-químico con muchos sustratos, como: piedra caliza, pintura mural, estucos, piedra, hueso, cerámica, entre otros. Las partículas inorgánicas como materiales de consolidación son aplicadas dispersas en un medio. Sin embargo, una de sus desventajas es que son menos cohesivos y presentan propiedades adhesivas muy pobres. (Baglioni y Chelazzi, 2013).

Los consolidantes inorgánicos se pueden dividir en sistemas que contienen:

1. Sólidos reactivos dispersos en suspensiones acuosas.
2. Soluciones acuosas reactivas que contienen solo componentes inorgánicos disueltos.
3. Partículas (ya sea del tamaño nanométrico) suspendidas en diferentes disolventes.

Dentro del primer sistema (sólidos dispersos en suspensiones acuosas) se encuentran aglutinantes que con el tiempo solidifican y forman masas mecánicamente estables. En la literatura se menciona que, por el tamaño relativamente grande de partículas en suspensiones, su penetración en las estructuras porosas es limitado, pero en el caso de una estructura de hueso degradada donde existen poros de tamaño muy grande los sólidos reactivos dispersos en suspensiones acuosas podrían ser de utilidad para su consolidación.



El segundo sistema, soluciones acuosas reactivas, proporciona una gran penetración más profunda en sustratos con poros pequeños del rango de nanómetros, debido al carácter de las soluciones. El tercer sistema, suspensiones o dispersiones de nanopartículas, se han investigado como posibles agentes consolidantes (Ziegenbalg *et al.* 2018).

La consolidación ocurre debido a la combinación de una serie de factores entre los cuales el más relevante es la viscosidad de las soluciones consolidantes, la cual condicionará el grado de penetración que tendrá en el material. Otro de estos factores también es el proceso de aplicación de los consolidantes, existen diferentes métodos de aplicación de los cuales dependerá el tipo de sustrato y las características de las soluciones consolidantes, algunos de estos métodos son; por inmersión, impregnación (pincel o compresas), por inyección, aplicación por goteo, por aspersión o consolidación dentro de una campana de vacío (Villena y García, 2018).

Recientes investigaciones de consolidantes para especímenes óseo-paleontológicos se sustentan con el principio de compatibilidad, desarrollando estudios con materiales inorgánicos afines a la composición inorgánica del hueso. Existe el reporte del uso de sustancias inorgánicas disueltas en tratamientos de consolidación de material óseo como, por ejemplo, las soluciones de silicatos alcalinos como el silicato de etilo. En diversos proyectos de conservación se ha utilizado el Estel 1000® diluido con White Spirit D40 aplicado en material óseo degradado por medio de goteo, logrando una penetración en el tejido esponjoso de 1.2 mm (García *et al.*, 2003; Castellano y Canales, 2017; Ziegenbalg *et al.* 2018).

Se han realizado investigaciones del uso de nanopartículas de hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  que mediante la reacción con el  $\text{CO}_2$  del ambiente promovieron la formación de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) sobre la superficie de hueso compacto paleontológico. Mencionan que se redujeron los valores de porosidad en 65% en el tejido compacto y le otorgó un aumento en su microdureza de 2.5 GPa (Natali *et al.* 2014).

Otros estudios han empleado hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  para promover el crecimiento de sulfato de calcio dihidratado ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) sobre la superficie de hueso arqueológico, mediante el método de permeabilidad al goteo. Sus resultados hubo un aumento en su microdureza de 0.29 GPa en cuanto a la porosidad del tejido compacto disminuyó un 50% aproximadamente (Yan Liu *et al.* 2021).

También se ha evaluado como posible tratamiento de consolidación el uso de hidroxiapatita sobre hueso de fémur arqueológico y muestras de harina de hueso, en donde el método de aplicación ha variado, algunos han sido por la precipitación de la HAP dentro de la matriz

de hueso, por inmersión en un sistema de vacío (Gong *et al.* 2019; Campanella *et al.* 2021), con el uso de cataplasma y por medio de goteo (North *et al.* 2016; Yang, 2016; Salvatore *et al.* 2020). Sus resultados se centran en el crecimiento de cristales de HAP en los poros del tejido compacto y en el aumento de la humectabilidad de la superficie del hueso arqueológico con valores de absorción de agua que oscilaron entre 33 y 82 % concluyendo que el introducir los fosfatos por sí solos pueden no ser suficientes para crear una nueva red de HAP (North *et al.* 2016; Yang *et al.* 2016; Sassoni, 2018; Gong *et al.* 2019; Campanella *et al.* 2021; Salvatore *et al.* 2020). Estas investigaciones (nanopartículas de hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y nanopartículas de HAP) analizaron la superficie del tejido compacto con la disposición de las partículas por medio de Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) sin embargo no muestran resultados del poder de penetración, disminución de porosidad, ni pruebas mecánicas de resistencia a la compresión. La mayoría de los análisis y pruebas en estas investigaciones fueron realizadas sobre restos de hueso arqueológicos y especímenes paleontológicos originales (García *et al.*, 2003; Natali *et al.* 2014; Castellano y Canales, 2017; Yang *et al.* 2016; Sassoni, 2018; Gong *et al.* 2019; Campanella *et al.* 2021; Salvatore *et al.* 2020; Yan Liu *et al.* 2021) lo que demuestra que hace falta manufacturar probetas de hueso con las características de un espécimen óseo paleontológico para contar con un proceso estandarizado. Por este motivo es importante establecer una metodología que pueda ser sistematizada y poder evaluar parámetros de forma metódica.

## CAPÍTULO 2: Metodología y Técnicas Experimentales de Caracterización para Hueso Paleontológico Sintético y Materiales Consolidantes

**E**n este capítulo se presenta la metodología para la síntesis de hidroxiapatita (HAP) por el método químico de precipitación, también se explica el proceso de fabricación de hueso paleontológico sintético, la fabricación de las probetas y la metodología para los tratamientos de consolidación. Se describen las diferentes técnicas de caracterización para determinar las propiedades químicas y físicas de los materiales que se usaron para el desarrollo de esta investigación. La Difracción de Rayos X (DRX), Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) con detector para Espectroscopía por Dispersión Energía de Rayos X (EDXS). Con el fin de conocer la influencia de la temperatura en la obtención de la HAP se usó Difracción de Rayos X (DRX). Para estudiar el efecto de la temperatura en el hueso se utilizó Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (DTA/TGA), para conocer la cristalinidad de HAP natural del hueso fresco sometido a tratamiento térmico se utilizó Difracción de Rayos X (DRX) y para saber a partir de qué temperatura desaparece la fracción orgánica del hueso se usó Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Para evaluar el efecto del consolidante sobre las propiedades mecánicas del hueso se realizaron ensayos mecánicos de compresión.

## 2.1 Materiales

### 2.1.1. Espécimen óseo paleontológico

Para evaluar las propiedades físicas del hueso natural envejecido y realizar la comparación morfológica con un espécimen óseo paleontológico, se utilizó una muestra de un hueso paleontológico de la especie bovidae proveniente del Proyecto Rescate Paleontológico de Rancho Córdoba Cedral, San Luis Potosí resguardado en el Laboratorio de Arqueología de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Se le realizaron toma de imágenes al espécimen paleontológico en el microscopio óptico a aumentos de 20X y análisis de imágenes digital por el programa *ImageJ*.

### 2.1.2. Probetas de hueso paleontológico sintético

Se explicará la metodología para la realización de las probetas de hueso envejecido denominadas probetas de hueso paleontológico sintético. Con el fin de establecer la calidad optima de las probetas, se realizó un tratamiento térmico al hueso natural para conocer sus cambios en función de la temperatura y saber a qué temperatura el colágeno desaparece de su estructura.

El hueso de especies relativamente grandes (porcino, bovino) tiene como ventaja la posibilidad de obtener probetas de gran tamaño. De esta forma, el hueso de bovino (de la parte de fémur y costilla) fue la especie que más se adecuaba para la obtención de las probetas. Se tomó en cuenta que el hueso perteneciera al mismo individuo para que existiera un mínimo en factores biológicos que pudieran afectar los posteriores estudios.

Se realizó limpieza mecánica al hueso fresco, se puso a hervir durante 4 horas a 100°C para poder remover los restos de tejido suave que aún conservaba sobre su superficie. Posteriormente los huesos se colocaron en un vaso de precipitado con peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) al 30% a 50°C durante 2 horas para eliminar el colágeno contenido en las trabéculas del tejido esponjoso y del compacto. Finalmente, los huesos fueron lavados con agua destilada para eliminar los residuos del peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ). El diagrama del proceso se muestra en la figura 2.1.

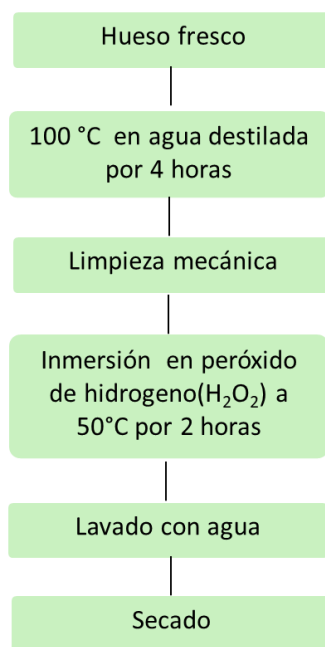


Figura 2.1. Procesamiento de hueso natural por tratamiento químico.

Después del tratamiento químico se cortaron probetas del fémur donde se extrajo el tejido cortical con dimensiones de 5 mm x 5 mm x 10 mm, y muestras de tejido esponjoso con paredes de hueso cortical con dimensiones de 10 mm x 10 mm x 10 mm con 6 mm de tejido cortical y 4 mm de tejido esponjoso. Después se colocaron en la mufla para calcinar a diferentes temperaturas (250°C, 500°C, 650°C y 850°C) durante 2 horas a cada temperatura. En la figura 2.2 a se presentan las muestras del tejido cortical y en la figura 2.2 b las muestras del tejido compacto con paredes de tejido cortical después de realizar el tratamiento térmico a las distintas temperaturas. En todas las muestras de la figura 2.2 a y b se observa el cambio de color que adquiere el hueso a diferentes temperaturas. A una temperatura de 250 °C empieza la combustión del tejido orgánico por lo que en el tejido esponjoso se observa residuos de materia orgánica conduciendo a la coloración café. A una temperatura de 500 °C a 650 °C, las muestras en las dos estructuras presentan algunas zonas grises oscuros y otras en tonos más claros resultado de la descomposición de los grupos carboxílicos, dejando pequeñas cantidades de carbón residual en la estructura de la HAP. A temperatura de 850 °C se produce la combustión completa del carbón en CO<sub>2</sub>, observándose el hueso en color blanco donde la fracción orgánica ha desaparecido y la inorgánica (hidroxiapatita) es la que permanece. A esta temperatura se observa como el hueso presenta una contracción en su morfología como se aprecia en la figura 2.2 a, se observa una reducción en su tamaño de aproximadamente un 20% a comparación de las demás muestras. A partir de las temperaturas entre 750 y 800 °C se inicia el proceso de sinterización, comportamiento característico por la contracción del tejido óseo y la cristalización de la hidroxiapatita (Shipman *et al*, 1984; Ellingham y Sandholzer, 2020).

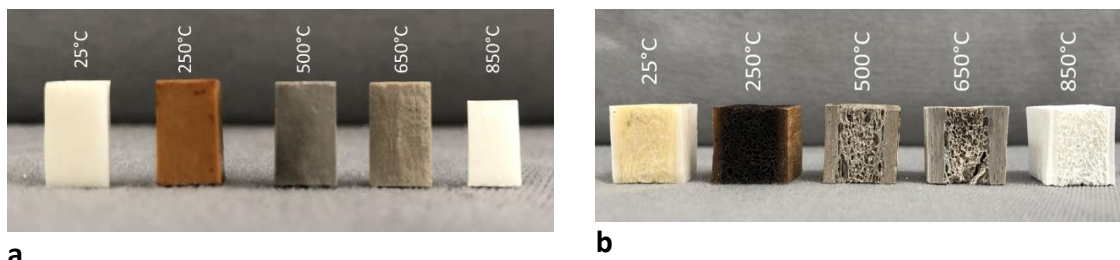


Figura 2.2. Muestras de hueso, a) hueso compacto, b) tejido esponjoso con paredes de hueso compacto tratadas a 250°C, 500°C, 650°C, 850°C durante 2 horas.

### Determinación de porosidad

Con el fin de evaluar el nivel de porosidad que adquiere el tejido esponjoso de las muestras tratadas térmicamente se utilizó el análisis de imágenes digital por el programa *ImageJ* a partir de las imágenes tomadas con microscopio óptico a aumentos de 20X. Se hicieron tomas de más de 5 campos en diferentes zonas para promediar los resultados, principalmente estas imágenes se ajustaron en brillo y contraste para convertirlas a imágenes binarias (blanco y negro) para que el análisis se realizara adecuadamente. El análisis se basó en la visualización directa de los poros, cuantificando el factor geométrico y su distribución. En la figura 2.3 corresponde a la imagen binaria del tejido esponjoso a 500°C donde se aprecia que las áreas oscuras representan los poros (o huecos) en este caso para el cálculo de la porosidad el programa realizó la cuantificación sobre estas zonas y las áreas blancas representan la superficie sólida (es decir, tejido compacto).

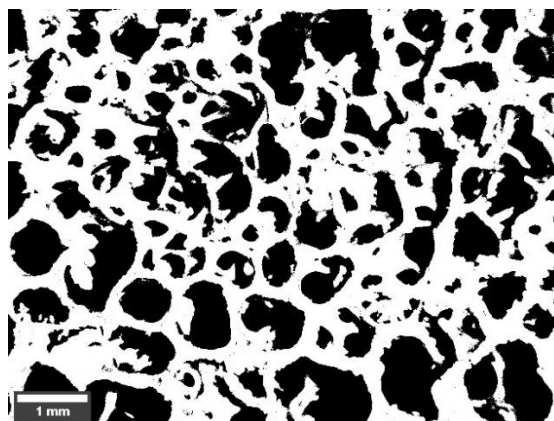


Figura 2.3. Imagen binaria (blanco y negro) del tejido esponjoso de hueso tratado a 500 °C durante 2 horas.

### Caracterización del hueso fresco tratado térmicamente

Para la caracterización del hueso fresco tratado a diferentes temperaturas se utilizaron las técnicas analíticas de Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (DTA/TGA), Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y Difracción de Rayos X (DRX). En la figura 2.4 se muestra el correspondiente termograma del tejido óseo de bovino, en donde se aprecia que la calcinación del tejido óseo comprende una serie de reacciones de descomposición (25 °C zona 1, 250°C zona 2, 500°C zona 3, 650°C y 850°C zona 4). En general está aceptado que zona 1 corresponde a la pérdida de agua estructural. La zona 2 es la que corresponde a la combustión de los grupos amino que componen los aminoácidos del colágeno para posteriormente en la zona 3 se presente la descomposición de los grupos carboxílicos, dejando residuos de carbón en la red cristalina de la HAP. Finalmente, en la zona 4 ocurre la cristalización de la HAP (Eslami *et al.* 2008; Snoeck *et al.*, 2014).

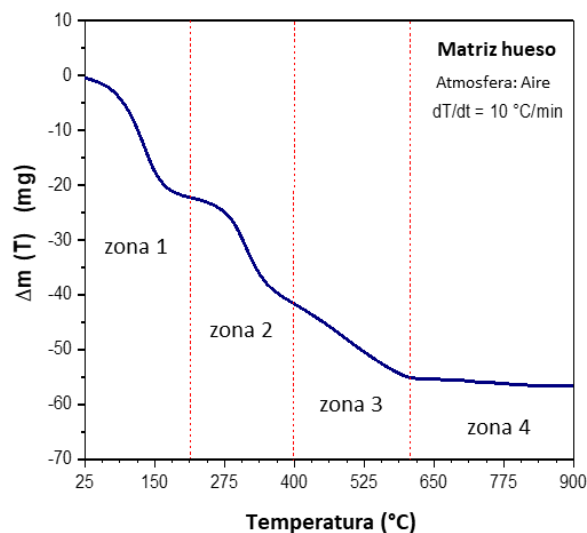


Figura 2.4. Termograma correspondiente a la pérdida de masa en función de la temperatura del tejido óseo de bovino.

En la figura 2.5 se muestran los correspondientes patrones de difracción de hueso de bovino tratado a las diferentes temperaturas, todos los patrones presentaron la fase cristalina de HAP, identificada con la tarjeta JCPDF 01-089-6439 de estructura hexagonal. Como se puede apreciar, a 25°C la hidroxiapatita contenida en el hueso presenta una estructura predominantemente amorfa ya que el hueso aún contiene colágeno y su factor de dispersión de rayos X es menor, en donde se traslapan completamente los picos asociados

a las familias de planos (211) (300) y (202). Conforme se aumenta la temperatura a partir de 500°C, se empieza a definir los picos de difracción de la familia de planos (202), mejorando el grado de cristalinidad de la hidroxiapatita, hasta llegar a 850 °C en donde ya se encuentra totalmente cristalizada incrementando la intensidad hasta 11,000 conteos para el plano (211).

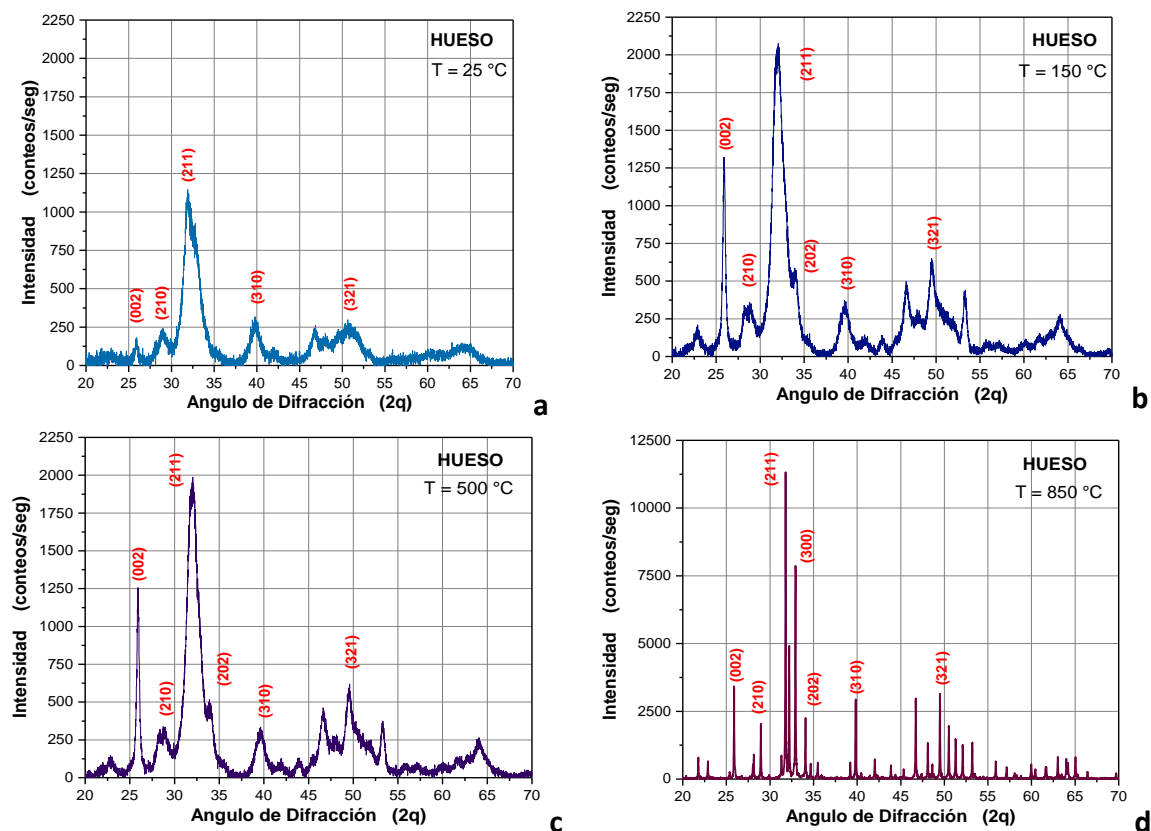
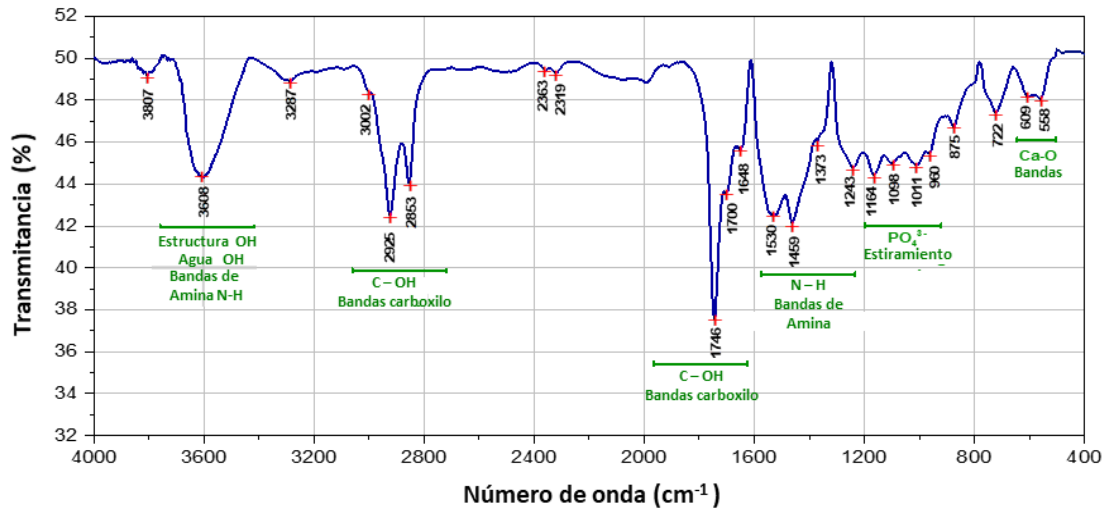


Figura 2.5. Patrones de difracción obtenidos del hueso despues de tratarlo a) 25°C, b) 150 °C, c) 500 °C y d) 850 °C durante 2 horas.

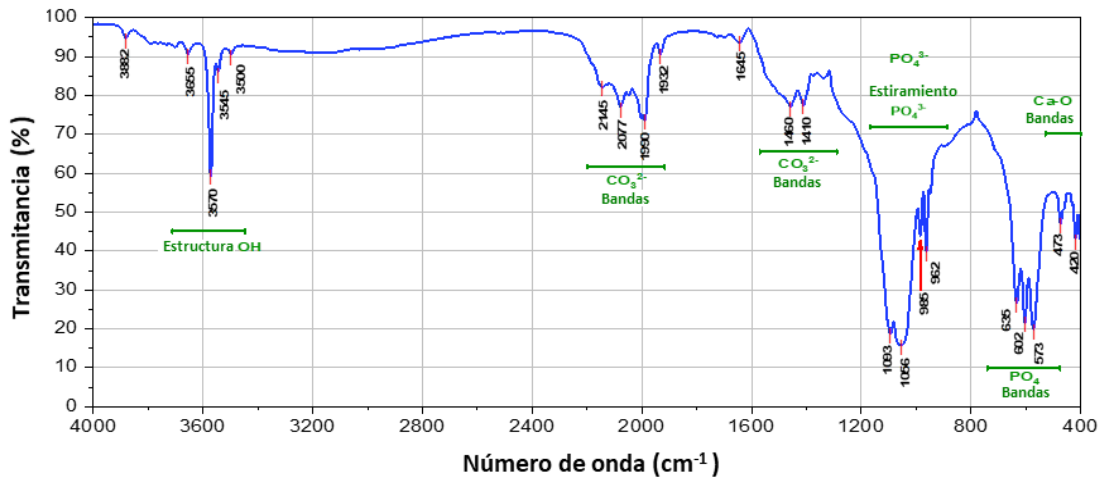
Por otra parte, en la figura 2.6 se muestran los correspondientes espectros de infrarrojo del hueso a temperaturas de 25°C y a 500 °C, apreciándose que a 25°C (figura 2.6 a) se encuentran las bandas de absorción características de los grupos carboxílicos con intensidad de 2925  $\text{cm}^{-1}$ , 2853  $\text{cm}^{-1}$ , 1746  $\text{cm}^{-1}$  y las bandas con intensidad de 1530  $\text{cm}^{-1}$ , 1459  $\text{cm}^{-1}$ , 1373  $\text{cm}^{-1}$  que se asignan al grupo amino (N-H) que conforman los aminoácidos presentes del colágeno. Mientras que el hueso tratado a 500 °C prácticamente no se detectan más estas bandas, las bandas que se observan son las que corresponden a la HAP, se encuentran en intensidades de 1093  $\text{cm}^{-1}$ , 1056  $\text{cm}^{-1}$ , 985  $\text{cm}^{-1}$  y 962  $\text{cm}^{-1}$  que



corresponden al fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), también se aprecian bandas características del Ca-O en intensidades que están desde  $609\text{ cm}^{-1}$  hasta  $420\text{ cm}^{-1}$ . Esto se debe a que el colágeno al aumentar la temperatura va desapareciendo de la estructura del hueso quedando solamente la HAP, apreciándose con mayor intensidad las bandas de fosfato y calcio.



a



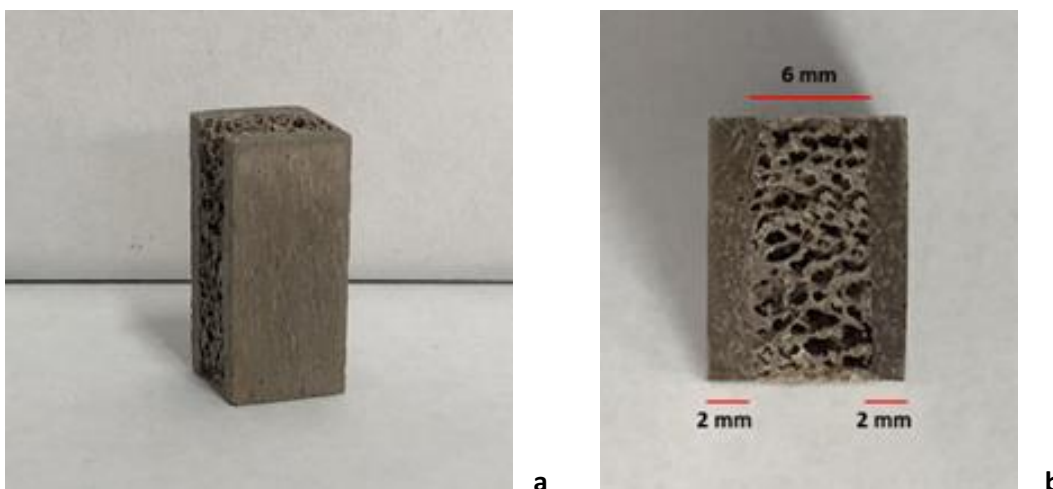
b

Figura 2.6. Espectros FTIR obtenidos del hueso con tratamiento térmico, a)  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  y b)  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Después de conocer el comportamiento que presenta el hueso a diferentes temperaturas y conociendo que a temperaturas superiores de 500 °C el colágeno de su estructura desaparece, se procedió a realizar las probetas de hueso paleontológico sintético. Dado que algunas de las partes que conforman los huesos tienen formas y tamaños diferentes, la zona donde se obtuvieron las probetas se seleccionaron de acuerdo con los siguientes aspectos:

- Que las zonas donde se obtengan las probetas se encuentren contenidas las dos estructuras que conforman el hueso (tejido esponjoso y hueso compacto).
- La zona cuente con una geometría que facilite la elaboración de las probetas y en la que se pueda conservar una relación 1:2 de ancho y alto.

La zona que se eligió para realizar las probetas fue el área interna de las costillas de hueso de bovino. Se cortaron con microcortadora para obtener una figura prismática cuadrangular con dimensiones de 10 mm de ancho, 10 mm de largo y 20 mm de altura y posteriormente fueron tratadas térmicamente a 500°C durante 2 horas en la mufla. En la figura 2.7 a se observa la forma prismática obtenida para las probetas y en la figura 2.7 b se aprecia la vista superior de una probeta donde se indican las dimensiones de tejido cortical (4 mm) y de tejido esponjoso (6 mm).



*Figura 2.7. a) Probetas de hueso paleontológico sintético manufacturadas, b) dimensiones de tejido cortical y esponjoso.*

### 2.1.3. Soluciones consolidantes

En este trabajo se propusieron 8 soluciones. A continuación, se presentarán las concentraciones de cada solución:

#### 2.1.3.1. Soluciones de Paraloid B72

Se utilizó un copolímero de metacrilato de metilo y etilo comercialmente distribuido con el nombre de Paraloid® B72, se utilizaron en dos concentraciones 3 y 15% en peso diluido en acetona grado reactivo.

#### 2.1.3.2. Soluciones de silicato sódico

La solución de silicato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) que se utilizó tiene una composición de ~26.5% en peso de  $\text{SiO}_2$ , ~10.6% en peso de  $\text{Na}_2\text{O}$  de la marca Merck, cuenta con una proporción en peso de 2.5 y una densidad 1.39 g/ml a 25 °C. Se utilizó concentrado (100%) y diluido al 30% en agua desionizada.

Mediante el análisis FT-IR se caracterizó el silicato sódico, en la figura 2.8 se presenta el correspondiente espectro infrarrojo donde las bandas de absorción se muestran entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  y  $500\text{ cm}^{-1}$ . Una de las bandas de absorción característica es a  $1140\text{ cm}^{-1}$  corresponde al enlace de Si-O y a  $505\text{ cm}^{-1}$  es una banda de absorción por vibración por deformación de (Si) O-Si-O (Si). Otras de las bandas principales son las que se ubican entre  $1064\text{ cm}^{-1}$  y  $890\text{ cm}^{-1}$  que pertenecen al grupo Si-O (Na), la banda que se encuentra entre  $620\text{ cm}^{-1}$  se presenta cuando contiene O y  $\text{Na}^+$  corresponde al grupo (Na) O-Si-O (Na) y la banda relacionada con los protones en solución acuosa,  $770\text{ cm}^{-1}$ , es la vibración de deformación asimétrica de Si-O (Si). Estas bandas se atribuyeron al  $\text{SiO}_4^{4-}$  por lo que forma grupos Si-O-Si. A  $3300\text{ cm}^{-1}$  y  $1635\text{ cm}^{-1}$  se asigna a los grupos hidroxilo (Yang *et al*, 2008; Monteiro *et al*, 2011; Ryu *et al*, 2018).

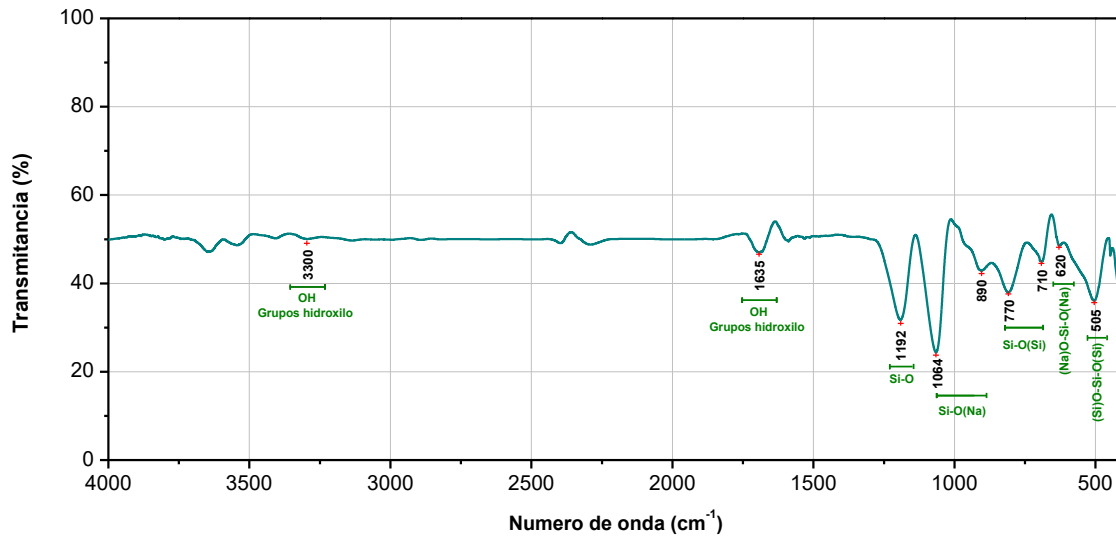


Figura 2.8. Espectro FT-IR del silicato de sodio.

Debido a la viscosidad de la solución de silicato sódico se realizó una prueba para medir esta propiedad. Esto se consideró relevante ya que lo que se busca en la formulación es que exista una buena penetración en la estructura del hueso degradado. La viscosidad del silicato sódico en solución se midió con un reómetro a diferentes concentraciones (100%, 85%, 75%, 65%, 55%, 30%). De acuerdo con la gráfica de la figura 2.9 la viscosidad del silicato sódico en solución al 100% presenta una viscosidad media entre un 35-40 cP. A un porcentaje menor de silicato sódico, 60% aproximadamente, se observa una disminución considerable en su viscosidad (menos de 15 cP), por lo que para el tratamiento de consolidación se usó silicato sódico diluido al 30% en una solución de agua desionizada para que su viscosidad fuera menor a 40 cP y existiera mayor penetración.

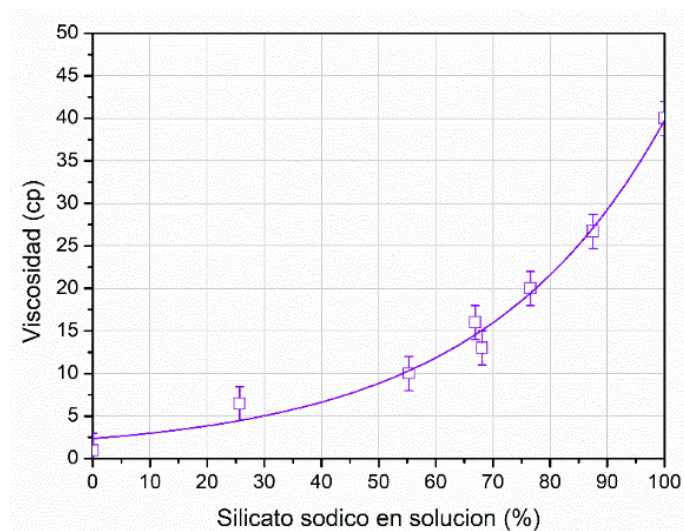


Figura 2.9. Variación de la viscosidad del silicato sódico en solución a diferentes concentraciones diluido en agua desionizada.

### 2.1.3.3. Solución de nanopartículas de HAP

Se utilizó una solución de partículas nanométricas de HAP a una concentración de 10% dispersas en alcohol etílico y alcohol isopropílico grado reactivo. La HAP nanométrica fue sintetizada a partir de una solución 0.39 M del  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , y una solución de 0.23 M de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  añadiéndole  $\text{NH}_4\text{OH}$  hasta alcanzar un pH de 10.5 aproximadamente, en agitación constante, apareciendo un precipitado blanco. Los productos se lavaron y se filtraron con agua, etanol y acetona usando papel filtro, pasando las 24 horas los precipitados se volvieron a lavar, después se secaron en un horno a  $100^\circ\text{C}$  durante 7 horas, el procedimiento se realizó de acuerdo a la reacción (1) se realizó a temperaturas de  $25^\circ\text{C}$  y  $70^\circ\text{C}$  a fin de conocer el efecto de la temperatura en la obtención de la HAP.

Como parte de la caracterización de la HAP sintetizada, en la figura 2.10 se presentan los correspondientes patrones de difracción de rayos X de la HAP sintetizada a temperatura ambiente,  $25^\circ\text{C}$  y a  $70^\circ\text{C}$ . Como se puede apreciar, en ambos casos el producto obtenido corresponde a hidroxiapatita, con el número de tarjeta JCPDF 9-0432, que corresponde a una estructura hexagonal con parámetros de red  $a = 0.9418 \text{ nm}$  y  $c = 0.6884 \text{ nm}$ , en cuanto a la variación de temperatura se apreció que no influye en la obtención de la HAP sintética por lo que se decidió seguir sintetizando la HAP a  $25^\circ\text{C}$ . No se pudieron evidenciar picos que pudiesen estar asociados a otros compuestos provenientes de los mismos precursores, por lo que se puede considerar que la  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$  obtenida, de tener impurezas, éstas deben de estar con porcentaje inferior al límite de detección de la técnica de DRX. Basado en el ancho de los picos difractados mostrados en la figura 2.10 a, se determinó por medio de la ecuación de Scherrer obteniendo un valor promedio de tamaño de partícula de 70 nm (Cullity 1978).

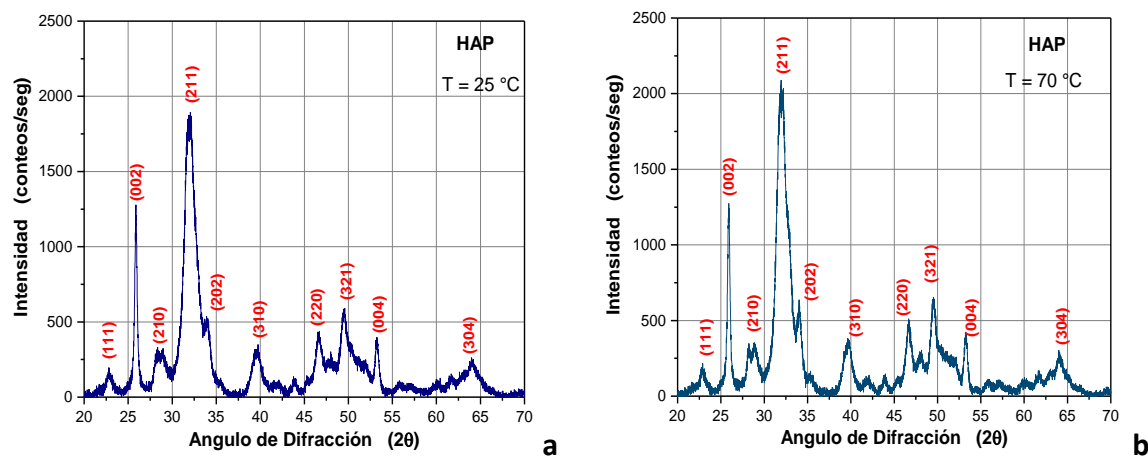


Figura 2.10. Patrones de difracción de la HAP sintetizada: a)  $25^\circ\text{C}$  y b)  $70^\circ\text{C}$

#### 2.1.3.4. Solución de partículas fluorita $\text{CaF}_2$

Su utilizaron partículas micrométricas de fluorita grado industrial de la marca Mexichem, a una concentración de 10% en peso dispersas en alcohol etílico y alcohol isopropílico grado reactivo.

Como parte de la caracterización de las partículas de fluorita se muestra el espectro infrarrojo en la figura 2.11 donde se ubican las bandas  $1634\text{ cm}^{-1}$ ,  $1430\text{ cm}^{-1}$ ,  $1044\text{ cm}^{-1}$  y  $884\text{ cm}^{-1}$  características del  $\text{CaF}_2$ . También se muestran las bandas entre  $765\text{ cm}^{-1}$  a  $780\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a la presencia por estiramiento de Ca-F. Se localizaron bandas asociadas a vibraciones de grupos de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) ubicadas en  $1460\text{ cm}^{-1}$ . Entre  $1080\text{ cm}^{-1}$  y  $1100\text{ cm}^{-1}$  estas vibraciones pueden ser atribuidas a la presencia de Si-O (Khunur *et al*, 2012; Tahvildari *et al*, 2012; Al Hameed *et al*, 2017).

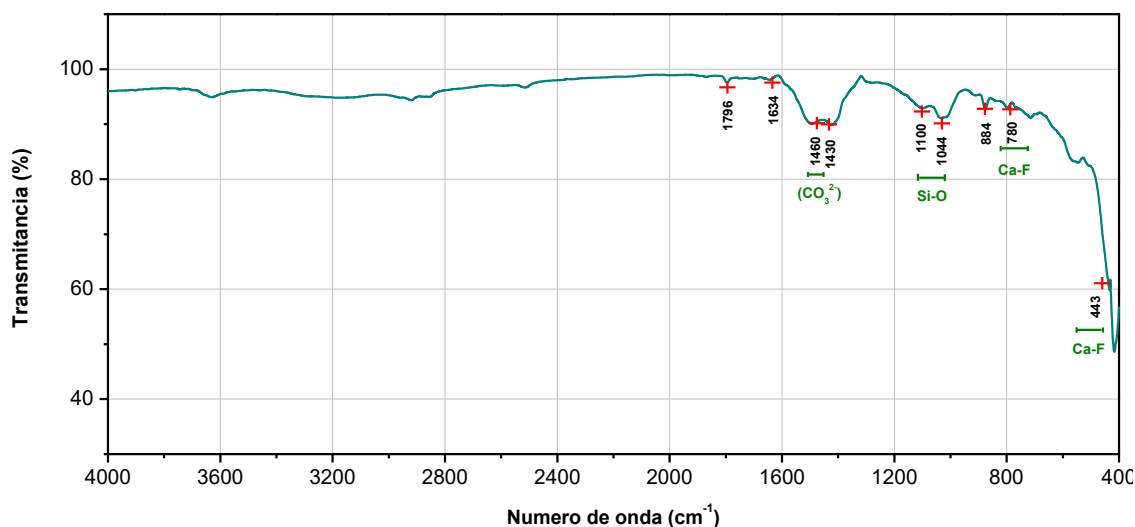


Figura 2.11. Espectro FT-IR del fluoruro de calcio  $\text{CaF}_2$ .

En la figura 2.12 se observa el patrón de difracción de rayos X de la fluorita ( $\text{CaF}_2$ ), utilizándose la tarjeta JCPDF 01-071-4796 para su indexación. El patrón de DRX de la fluorita se encuentra en un ángulo de difracción entre  $20\text{--}60^\circ$  confirmando que es fluorita pura. Los resultados del FT-IR muestran que la fluorita contiene algún tipo de carbonato ( $\text{CO}_3$ ) y  $\text{SiO}_2$ , pero en el patrón de difracción no se logran apreciar por lo que podrían deberse a una pequeña cantidad de impurezas por abajo del 1%. En la figura 2.13 se observa que el tipo de partícula de la fluorita es angular con formas irregulares en su mayoría y su tamaño se encuentra entre  $5\text{ }\mu\text{m}$  a  $30\text{ }\mu\text{m}$  aproximadamente.

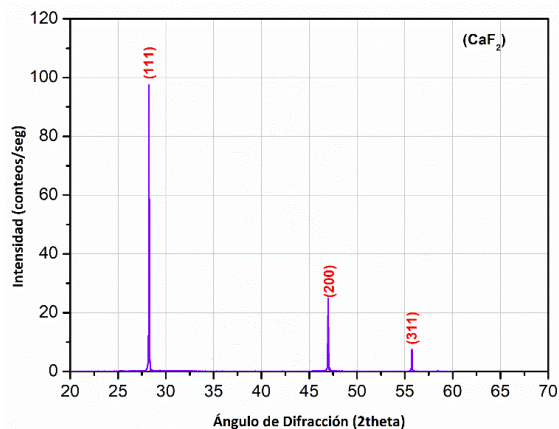


Figura 2.12. Patrón de difracción de  $\text{CaF}_2$ .

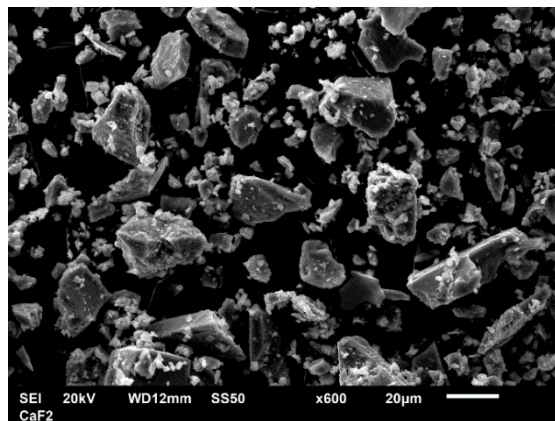


Figura 2.13. Morfología del  $\text{CaF}_2$ .

#### 2.1.3.5. Solución de partículas HAP/ $\text{TiO}_2$ / $\text{CaF}_2$

Se utilizaron 3.3% en peso de partículas nanométricas de HAP sintetizadas, 3.3% en peso de partículas de fluorita ( $\text{CaF}_2$ ) grado industrial y 3.3% en peso de partículas de óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) grado industrial, (concentración total 10% en peso) dispersas en alcohol etílico y alcohol isopropílico grado reactivo en relación 1:1.

El óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) que se utilizó en esta investigación proviene de la empresa alemana Evonik-Degussa Corporation y según el patrón DRX de la figura 2.14 se observa que los picos pueden ser indexados a la estructura del rutilo de acuerdo con el número de tarjeta JCPDF 01-070-7347, la cual corresponde a una red de Bravais tetragonal con parámetros de red dados por  $a = b = 0.4584$  nm y  $c = 0.2953$  nm. Realizando los cálculos correspondientes con los datos de la figura 2.14, se encontró un parámetro de red de  $a = b = 0.4594$  nm, se obtiene que  $c = 0.2958$  nm. Las partículas de  $\text{TiO}_2$  empleadas se encuentran entre 100-200 nm, en cuanto a su morfología se aprecia que cuentan con formas redondeadas, como se observa en la figura 2.15. No obstante, aplicando la ecuación de Scherrer a los datos obtenidos por DRX que se muestran en la figura 2.14, se obtiene que el valor medio de tamaño de partícula está en aproximadamente 120 nm.

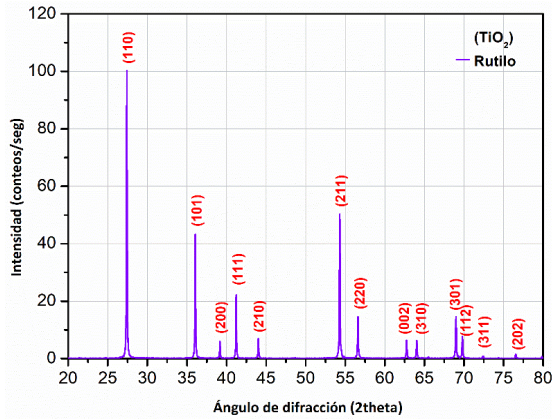


Figura 2.14. Patrón de difracción del  $\text{TiO}_2$ .

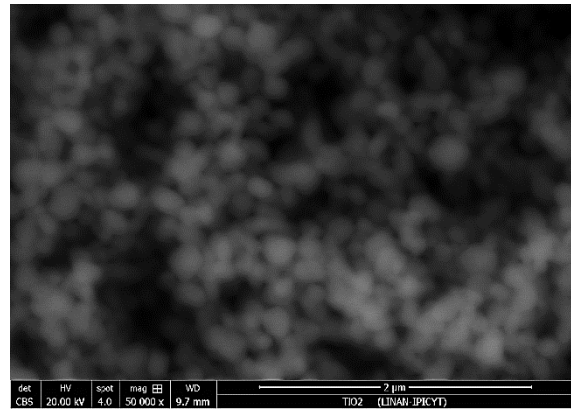


Figura 2.15. Morfología del  $\text{TiO}_2$ .

El espectro infrarrojo del óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) que aparece en la figura 2.16 mostró las bandas de absorción principales de este compuesto, la banda con intensidad de  $690\text{ cm}^{-1}$  se asigna a la banda característica de estiramiento del Ti-O y entre  $500\text{ cm}^{-1}$  a  $600\text{ cm}^{-1}$  se ubican los enlaces de vibración (Ti-O-Ti) en la red de  $\text{TiO}_2$ . La banda ancha entre  $3600\text{ cm}^{-1}$  corresponde con el estiramiento del grupo hidroxilo de la molécula de agua en la superficie de  $\text{TiO}_2$ . En  $1650\text{ cm}^{-1}$  esta banda es la vibración de flexión característica del grupo O-H (Al-Taweel y Saud, 2016; Al-Amin *et al*, 2016).

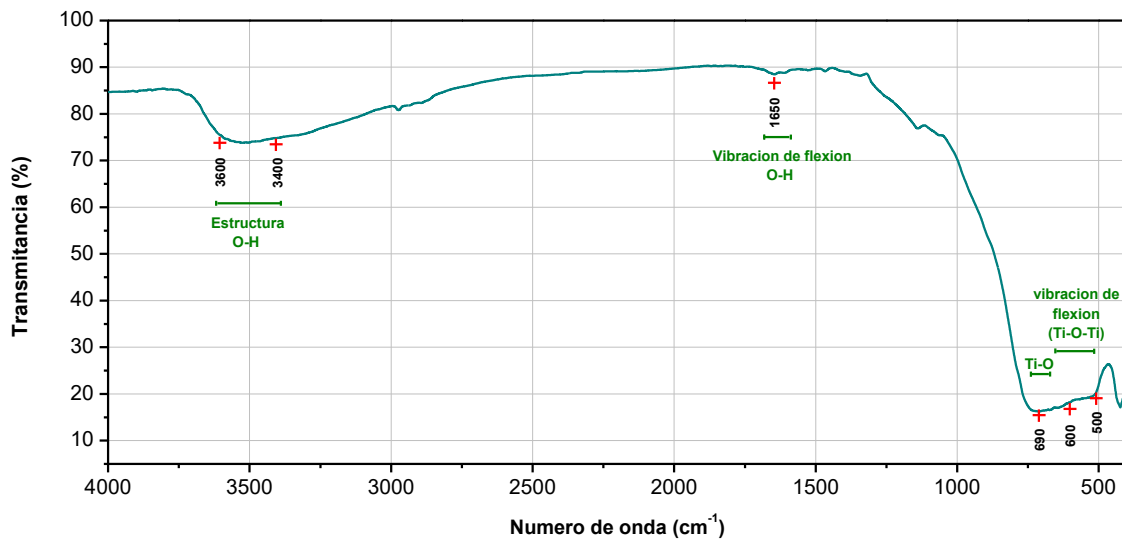


Figura 2.16. Espectro FTIR del  $\text{TiO}_2$ .



2.1.3.6. Solución de silicato sódico al 30% / solución de partículas HAP/ TiO<sub>2</sub>/ CaF<sub>2</sub>

Se utilizó silicato sódico diluido al 30% en agua desionizada con la adición de 3.3% en peso de las partículas nanométricas de HAP, 3.3% en peso de partículas macrométricas de fluorita (CaF<sub>2</sub>) al 3.3 % y 3.3% en peso de partículas grado industrial de óxido de titanio (TiO<sub>2</sub>), (concentración total 10% en peso) dispersas en alcohol etílico y alcohol isopropílico grado reactivo en relación 1:1.

A continuación, en la tabla 2.1 se muestran especificadas las concentraciones de cada solución consolidante utilizada en la presente investigación.

Tabla 2.1. Especificaciones de las concentraciones de las soluciones consolidantes

	Medios consolidantes	Concentración (%)						Partículas (% peso)			
		3	5	10	15	30	50	100	HAP	TiO <sub>2</sub>	CaF <sub>2</sub>
1	Paraloid B72 en acetona	X									
2	Paraloid B72 en acetona				X						
3	Silicato sódico concentrado							X			
4	Silicato sódico en H <sub>2</sub> O desionizada					X					
5	Hidroxiapatita en: Alc. Etílico Alc. isopropílico						X		10%		
6	Fluoruro de calcio en: Alc. Etílico Alc. isopropílico						X				10%
7	Partículas diversas en: Alc. Etílico Alc. isopropílico						X		3.3%	3.3%	3.3%
8	Silicato sódico en H <sub>2</sub> O desionizada + Partículas diversas en: Alc. Etílico Alc. isopropílico					X			3.3%	3.3%	3.3%

## 2.2. Aplicación de los tratamientos consolidantes

El procedimiento de aplicación de todos los medios consolidantes se realizó por inyección usando una jeringa de capacidad de 3 ml, se inyectaron 2 ml de cada solución en una sola aplicación sobre las probetas en posición vertical, para que no existiera escurrimientos y se depositara toda la solución en la estructura porosa del hueso esponjoso y la superficie del compacto como se puede apreciar en la imagen de la figura 17 a. Después se colocaron en un desecador y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 48 horas. Para la visualización en Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de las probetas con las soluciones consolidantes se les realizó un corte transversal en el tejido esponjoso a fin de observar su nivel de penetración, como se ejemplifica en la imagen de la figura 17 b.

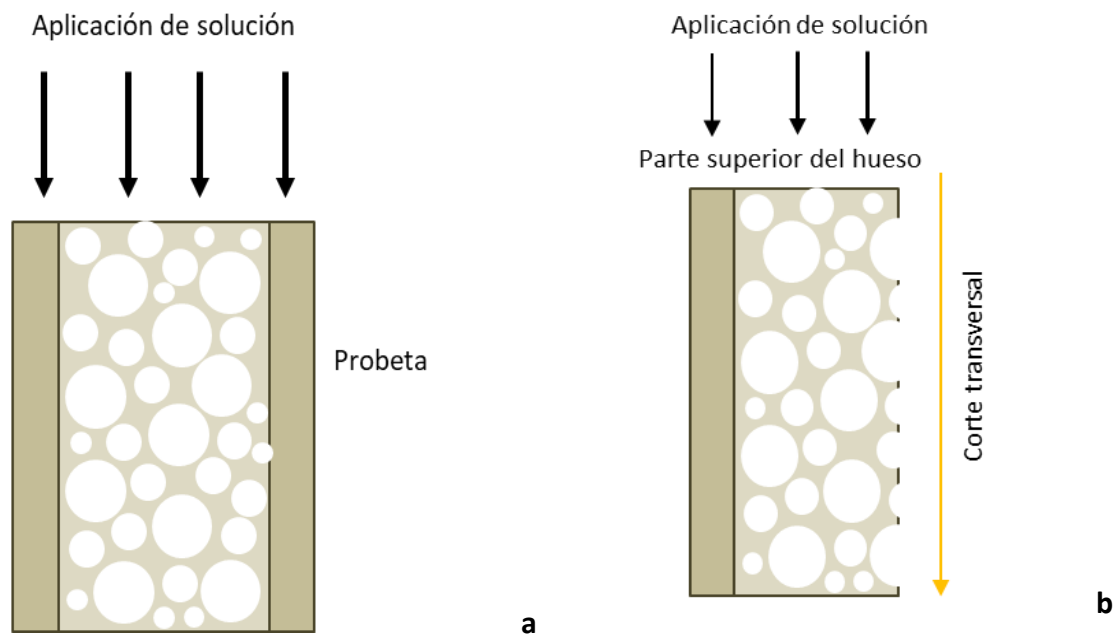


Figura 17. Esquemas de, a) aplicación de las soluciones en las probetas, b) corte transversal de las probetas.

## 2.3 Técnicas de caracterización

En este apartado se explicarán las técnicas que se usaron para determinar la composición química, tamaño de partícula, degradación térmica y morfología de los materiales óseos así como de los consolidantes, las técnicas de caracterización que se emplearán en este trabajo son Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) con detector para Espectroscopía por Dispersión Energía de Rayos X (EDXS), Difracción de Rayos X (DRX), Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (DTA/TGA) y resistencia a la compresión.

### 2.3.1. Microscopia electrónica de barrido con detector EDS

Para la determinación del aspecto de las probetas de hueso sintético sin y con tratamiento de consolidación se realizaron observaciones microscópicas mediante el Microscopio Electrónico de Barrido MEB. El equipo se encuentra acoplado a un espectrómetro de dispersión de energía de rayos X (EDXS) para determinar la composición elemental. También se utilizó para observar la morfología, tamaño de partícula y composición elemental de los materiales consolidantes de tamaño micrométrico. Se realizaron probetas de forma cúbica en un volumen no mayor a 1 cm<sup>3</sup> aproximadamente las cuales fueron recubiertas con oro, para el caso de los materiales consolidantes, se prepararon polvos dispersos sobre una cinta de grafito. El equipo que se utilizó para este trabajo es un MEB marca JEOL-SEM-6610LV operado a 20 kV.

### 2.3.2. Difracción de Rayos X

Para conocer las fases cristalográficas de los materiales utilizados en esta investigación se empleó la difracción de rayos X. La difracción de rayos X es una técnica de análisis que a partir de la determinación de la estructura cristalina de los materiales se puede identificar su composición química (Leng, 2009). Los materiales caracterizados fueron polvo de hueso sometido a temperaturas de 25°C, 250°C, 500°C, 650°C y 850°C, hidroxiapatita (HAP) sintética, fluorita (CaF<sub>2</sub>) y óxido de titanio (TiO<sub>2</sub>). El tipo de muestra que se requirió para este análisis es en polvo, se utilizó un difractómetro BRUKER D8 Advance. Se realizó el correspondiente refinamiento Rietveld a los difractogramas obtenidos con el software *Match 3 Phase Identification using Powder Diffraction*. Para determinar el tamaño de partícula del correspondiente patrón de difracción, existen dos procedimientos los cuales son la ecuación de Scherrer (Cullity 1978). Por su simplicidad, la ecuación de Scherrer se emplea frecuentemente y se expresa de la siguiente forma:

$$\delta = \frac{0.9 \lambda}{B_{(hkl)} \cos \theta_{(hkl)}} \quad (2)$$

En donde  $\delta$  = tamaño de cristal,  $\lambda$ = longitud de onda de la radiación,  $\theta$ = es el ángulo de Bragg del plano con índices de Miller ( $hkl$ ),  $B$  = es el ancho del pico ( $hkl$ ) a la mitad de su intensidad máxima por sus siglas en ingles FWHM (Full Width at Half Maximum) (Cullity 1978).

Para conocer el parámetro de red, se emplearon las siguientes ecuaciones, considerando que la distancia interplanar para el caso de una estructura hexagonal viene dada por la ecuación:

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

Sistema cristalino Hexagonal de constantes de red  $a$  y  $c$  – el espaciado  $d$  de los planos individuales de la red cristalina, con índices ( $hkl$ ), y junto con la ecuación de Bragg:

$$2d_{hkl} \sin \theta_{hkl} = \lambda \quad (4)$$

Siendo  $\lambda$  la longitud de onda de los rayos X,  $d$  es la distancia entre los planos de la red cristalina y,  $\theta$  es el ángulo de Bragg del plano con índices de Miller ( $hkl$ ). Se pueden determinar los parámetros de red del  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$  sintetizado.

Considerando que la distancia interplanar para el caso de una estructura tetragonal viene dada por la ecuación:

$$\frac{1}{d^2} = \left( \frac{h^2 + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} \quad (5)$$

Para el Sistema cristalino Tetragonal, - de constantes de red  $a$  y  $c$  - el espaciado  $d$  de los planos individuales de la red cristalina, con índices ( $hkl$ ), y junto con la ecuación de Bragg:

$$2d_{hkl} \sin \theta_{hkl} = \lambda \quad (6)$$

Siendo  $\lambda$  la longitud de onda de los rayos X,  $d$  es la distancia entre los planos de la red cristalina y,  $\theta$  es el ángulo de Bragg del plano con índices de Miller ( $hkl$ ). Se puede determinar los parámetros de red del  $\text{TiO}_2$  empleado. El procedimiento consiste en tomar todas las familias de planos con índices de Miller de la forma ( $hk0$ ), a fin de extrapolar el valor del parámetro  $a$  y  $b$  (Cullity 1978).

### 2.3.3. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

En el presente trabajo se usó este análisis para caracterizar el hueso tratado térmicamente a 250°C, 500°C, 650°C, 850°C y los materiales consolidantes (principalmente el silicato sódico en solución). La Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica utilizada para determinar las bandas de absorción de los diferentes modos vibracionales de las moléculas presentes en el sólido a fin de identificar los compuestos presentes en el material. Esta técnica espectroscópica vibracional se basa en la utilización del método de transformada de Fourier para obtener un espectro infrarrojo en toda una gama de números de ondas simultáneamente (Carter *et al*, 2007; Leng, 2009). Los tipos de muestras que se utilizaron fueron muestras sólidas y líquidas. Para la preparación de las muestras sólidas se trituró el sólido en un mortero con bromuro de potasio (KBr) para obtener partículas de polvo, después esa mezcla se compactó para colocarse en el portamuestras del equipo. Para las muestras líquidas se depositó una gota de la muestra sobre el portamuestras del equipo. Los espectros FTIR se obtuvieron utilizando un espectrómetro marca Perkin-Elmer modelo Spectrum Two™.

### 2.3.4. Análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico (DTA/TGA)

En el presente trabajo se utilizaron estos análisis con el objetivo de conocer el comportamiento del hueso cuando es sometido a tratamiento térmico, determinar la serie de reacciones que atraviesa su fracción orgánica e identificar la temperatura en que la hidroxiapatita ha cristalizado. Se requirió una muestra de hueso en polvo y se realizó el análisis a partir de temperatura ambiente 25 °C hasta 900 °C. El análisis Térmico Diferencial y Termogravimétrico son técnicas calorimétricas que miden los cambios en el material en función de la temperatura, determinando diferentes procesos como la fusión, formación de compuestos, descomposición o cristalización. La termogravimetría (TGA) se utiliza principalmente para examinar la descomposición de materiales monitoreando el cambio de masa con la temperatura. El Análisis térmico diferencial (DTA) determina los eventos térmicos (endotérmicos y exotérmicos) en una muestra por calentamiento o enfriamiento midiendo los cambios relativos en la temperatura de la muestra durante el calentamiento (Carter *et al*, 2007; Leng, 2009). Este análisis se llevó a cabo utilizando un equipo marca Linseis STA1400.

### 2.3.5. Ensayo de resistencia a la compresión

En el presente trabajo, para evaluar el efecto en las propiedades mecánicas que los materiales consolidantes inducen sobre el hueso degradado, se realizaron ensayos mecánicos de compresión a probetas maquinadas. Las probetas se ensayaron por medio de una maquina universal marca Physical Instruments con celda de carga de 20 kN a una velocidad de cabezal constante de 0.1 mm/min.

Para determinar la resistencia a la compresión se manufacturaron probetas con dimensiones 10 mm x 10 mm x 20 mm para posteriormente aplicar una fuerza uniaxial de compresión. Se evaluaron 4 probetas de hueso paleontológico sintético una vez consolidadas con las 8 soluciones propuestas a fin de tener una representación confiable de los valores obtenidos para la resistencia a la compresión.

En estas condiciones, la sección transversal de la probeta se determina ya que es el área en la que se aplica la fuerza de compresión, distribuyéndose uniformemente sobre toda la sección transversal de la probeta. Por consiguiente, el esfuerzo a la compresión del material puede calcularse a partir de la fórmula:

$$\sigma = \frac{P}{A} \quad (7)$$

en la que  $\sigma$  es el esfuerzo de compresión,  $P$ = fuerza o la carga aplicada y  $A$ = área de la sección transversal de la probeta. Por otra parte, el esfuerzo de compresión está relacionado con la deformación  $\epsilon$  y el módulo de elasticidad  $E$  por medio de la ecuación:

$$\sigma = E\epsilon \quad (8)$$

## CAPÍTULO 3: Resultados y Evaluación del Efecto Mecánico en la Consolidación del Hueso Paleontológico Sintético

**E**n el apartado 3.1 se presenta el aspecto superficial de las probetas de hueso paleontológico sintético después de cada tratamiento de consolidación propuesto. En el apartado 3.2 se presenta la determinación del porcentaje de porosidad en la estructura de hueso paleontológico sintético con la aplicación de cada solución de consolidación. En el último apartado se muestran los resultados obtenidos para la resistencia a la compresión de las diferentes soluciones consolidantes aplicadas en hueso paleontológico sintético.

### 3.1. Aspecto superficial del hueso paleontológico sintético tratado con las soluciones consolidantes

A continuación, se presentan los resultados del efecto de cada una de las soluciones consolidantes propuestas en el hueso paleontológico sintético. En la figura 3.1 a se muestran las imágenes del hueso paleontológico sintético tratado con Paraloid B72 a una concentración del 3%. En la imagen no aprecian restos de la resina acrílica sobre la estructura del tejido compacto y ni del esponjoso. Por el contrario, cuando se aplica Paraloid B72 al 15% se aprecia que algunos poros de la estructura esponjosa están parcialmente cubiertos con el Paraloid indicado en la imagen con flechas y parte de las trabéculas que quedaron recubiertos mostrando un aspecto brillante.

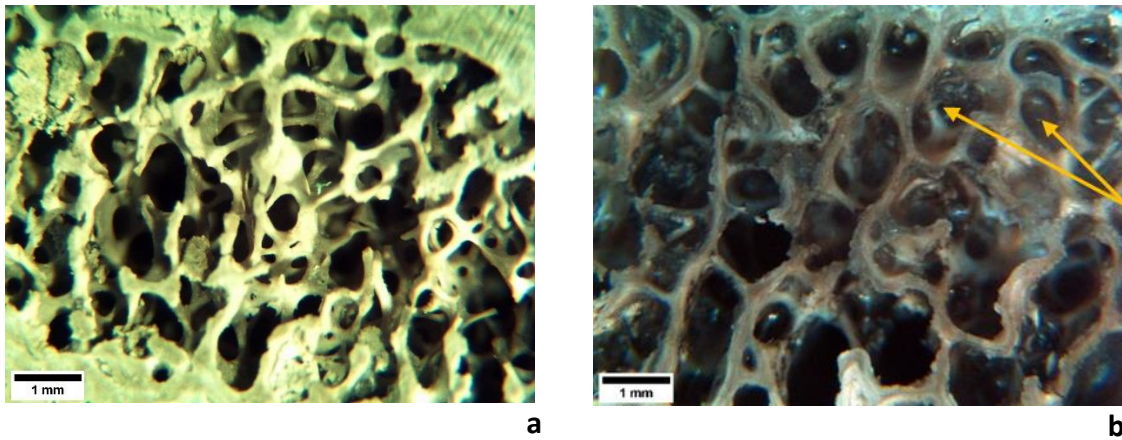


Figura 3.1. Aspecto superficial del hueso paleontológico sintético consolidado con Paraloid B72 al, a) 3% y b) 15%.

En la figura 3.2 a corresponde al corte transversal de la probeta con la solución de Paraloid B72 al 3%, no se observan residuos del polímero en la estructura del hueso (se observa en color blanco) la profundidad de penetración no puede estimarse en esta imagen; sin embargo, cabe mencionar que se observó que la solución penetró a lo largo de toda la probeta (20 mm) debido a la baja viscosidad de la solución.

Al aplicar la solución de Paraloid B72 en una concentración del 15% en la figura 3.2 b se aprecia que esta queda depositada como un recubrimiento superficial logrando penetrar aproximadamente entre 1-2 mm; donde la zona oscura corresponde al Paraloid B72 al 15% y en color blanco las trabéculas de hueso sin la impregnación de este polímero.

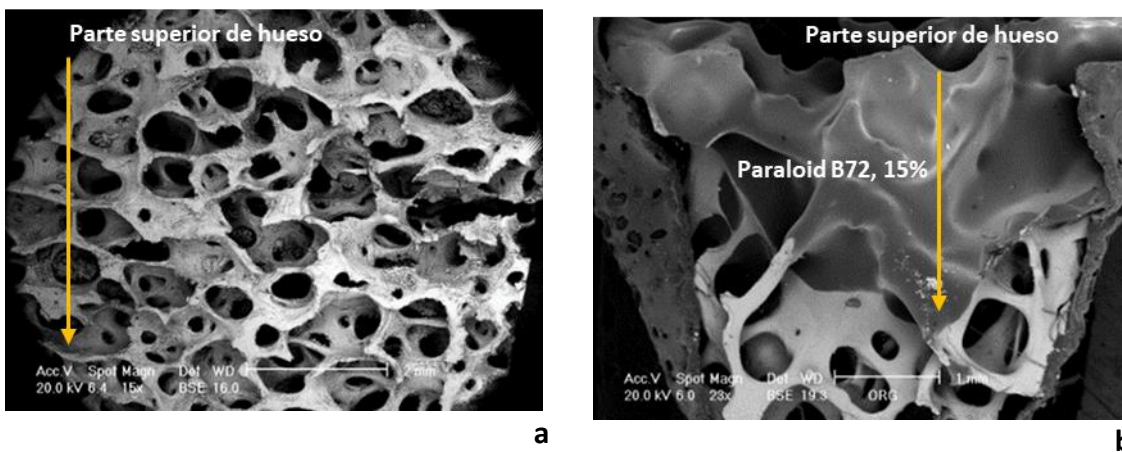


Figura 3.2. Penetración del Paraloid B72 en hueso paleontológico sintético a concentraciones de, a) 3% y b) 15%.



En cuanto a las soluciones constituidas de partículas dispersas en alcohol etílico/ alcohol isopropílico (soluciones 5,6 y 7 de la tabla 2.2) se apreció que las partículas se depositan en distintos puntos dependiendo de su tamaño y morfología. A manera de ejemplo se presenta en la figura 3.3 a el hueso paleontológico sintético con la solución de partículas HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> se puede observar saturación de partículas en el interior de las microfisuras (indicada con flechas en la imagen). El uso de disolventes como el etanol e isopropanol mejora la estabilidad de la dispersión de estas partículas teniendo mayor penetración y deposición en poros de menor tamaño como lo mencionado en investigaciones sobre el efecto de los disolventes para el transporte de partículas (Borsoi *et al*, 2016). El análisis EDX se muestra en la figura 3.3 b se realizó en la zona del interior de una microfisura para verificar la presencia de las partículas, se detectó en mayor porcentaje la presencia de elementos Ca, P, Ti asociado a las nanopartículas de HAP y las partículas de TiO<sub>2</sub>.

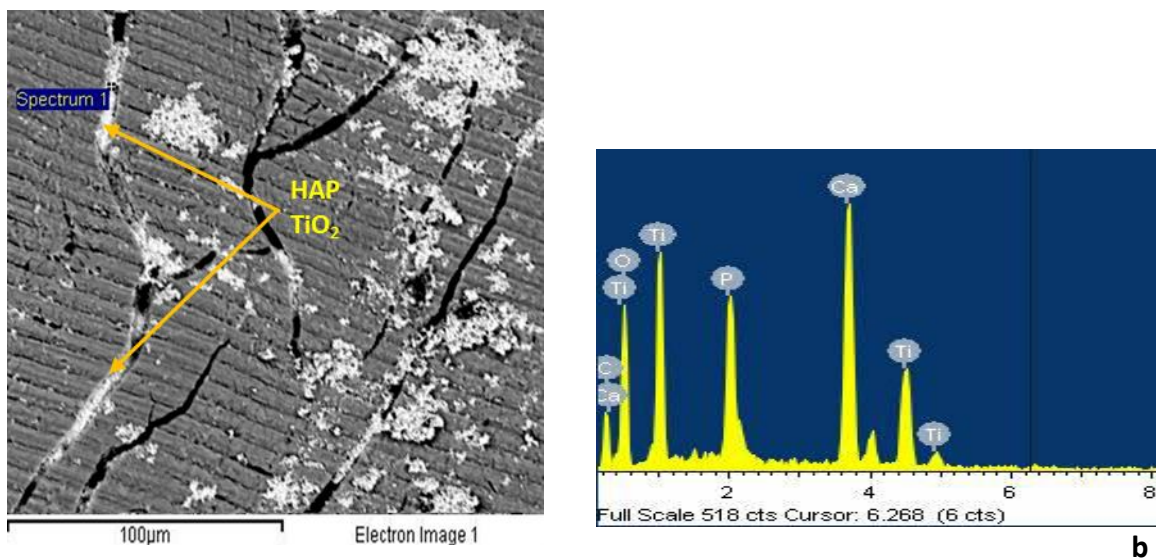


Figura 3.3. a) Partículas de HAP y TiO<sub>2</sub> depositadas sobre las microfisuras del tejido compacto de hueso paleontológico sintético, b) análisis EDX.

La evaporación del medio dispersante (etanol e isopropanol) de las partículas de mayor tamaño como lo son las partículas micrométricas de fluorita básicamente conduce a que estas se depositen en la superficie del tejido compacto, la alta volatilidad de estos solventes no garantiza una adecuada migración de las partículas de tamaños más grandes en las microfisuras, puesto que durante el secado forman aglomeraciones blancas. En la figura 3.4 a se observa como estas partículas se depositan principalmente sobre la superficie externa de la estructura de tejido compacto, pero no logran introducirse en las microfisuras. Para verificar esto se realizó un análisis EDX de las aglomeraciones blancas en superficie (figura 3.4 b y c), detectando flúor asociado a las partículas de fluorita.

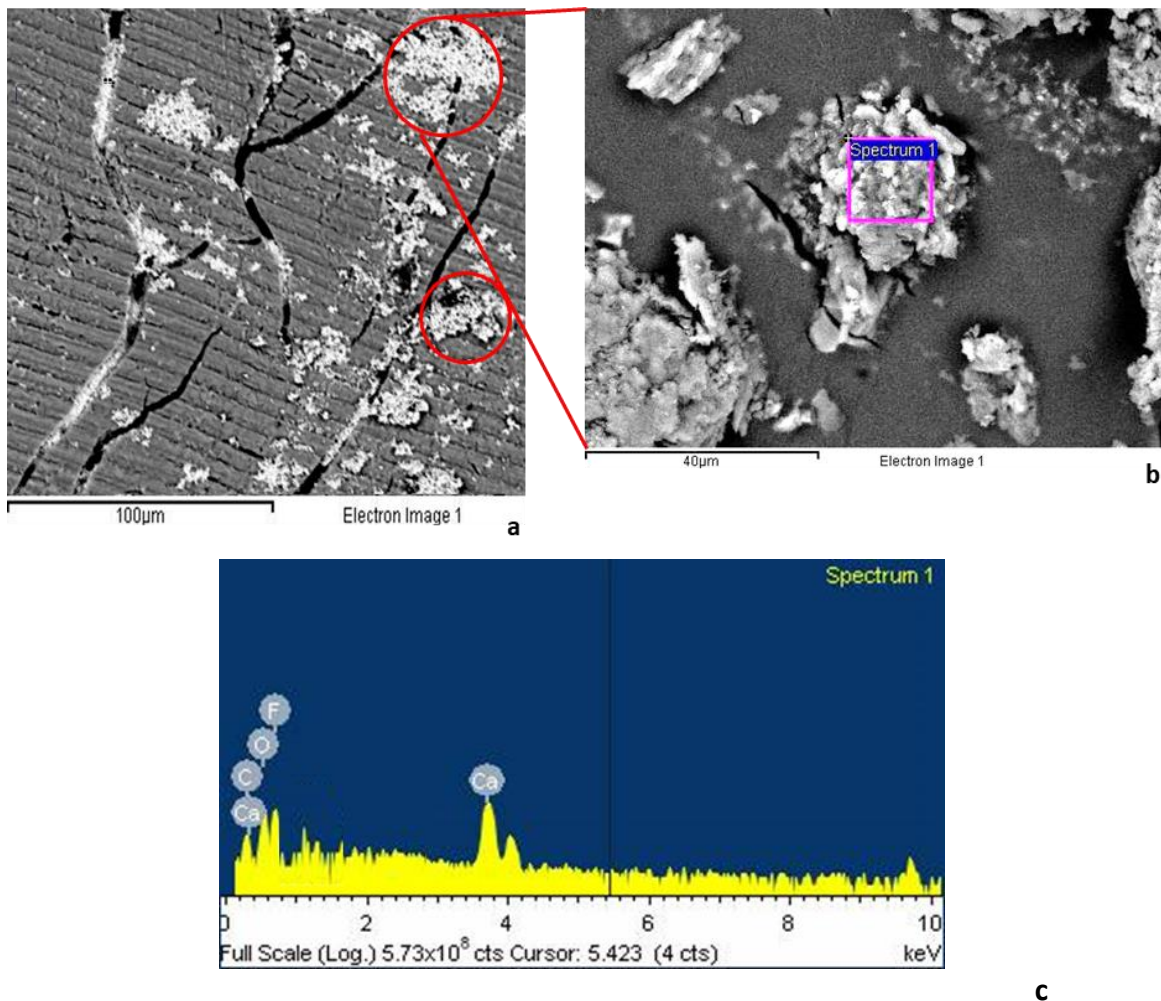


Figura 3.4 a) Partículas de  $\text{CaF}_2$  depositadas sobre la superficie del tejido compacto de hueso paleontológico sintético, b) acercamiento de la zona de las partículas y c) análisis EDX.

Asimismo, al consolidar el hueso paleontológico sintético con la solución de silicato sódico concentrado (100%, solución 6) se observa que la fase líquida presenta una penetración de entre 2-4 mm aproximadamente (figura 3.5 a), pero aún no consigue introducirse en el interior de toda la estructura del tejido óseo, como se muestra en las micrografías de la vista del corte transversal; se puede apreciar que la zona oscura corresponde al silicato sódico y las zonas claras son las trabéculas de hueso sin la impregnación de la solución. Por otra parte, al aplicar silicato sódico diluido a un 30% (solución 4) en el hueso paleontológico sintético conduce a una distribución completa y uniforme a lo largo de la estructura porosa del hueso logrando penetrar en toda la estructura de la probeta, lo cual se observa en el corte transversal (figura 3.5 b) apreciándose que la zona oscura abarca toda la estructura porosa que corresponde al silicato sódico.

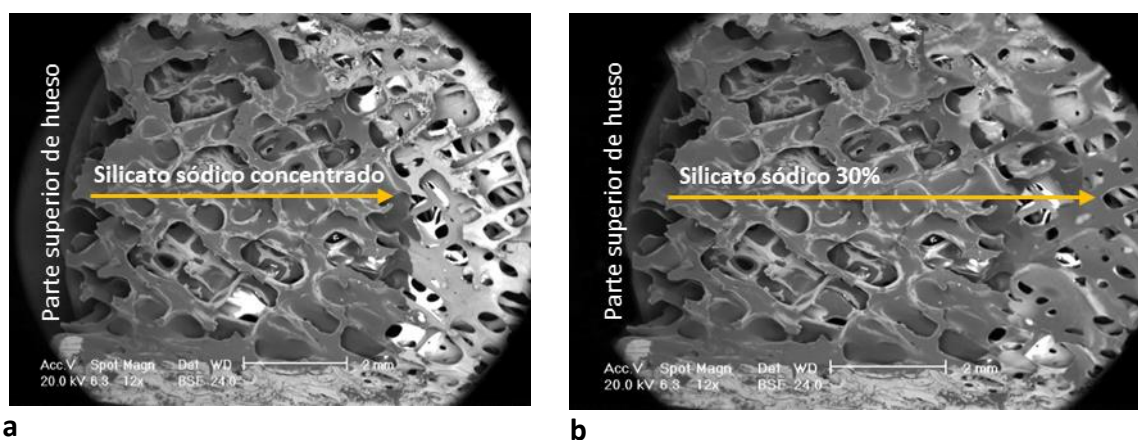


Figura 3.5. Hueso paleontológico sintético consolidado con silicato sódico al, a) 100%, b) 30%.

Al consolidar el hueso paleontológico sintético con la solución de silicato sódico al 30% con la mezcla de partículas de HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> (solución 8) dispersas en alcohol etílico y alcohol isopropílico conduce a que se depositen las partículas sobre toda la estructura de hueso tanto en el tejido compacto como en el esponjoso. En la figura 3.6 a se puede apreciar la vista superior del tejido compacto de hueso paleontológico sintético donde se observan partículas depositadas en las microfisuras. En la figura 3.6 b corresponde a la vista del corte transversal donde se aprecia claramente la zona trabecular en donde las partículas han quedado ocluidas dentro de los poros de la estructura. La profundidad de penetración no se aprecia en la imagen debido a la escala, sin embargo, visualmente se tuvo una penetración de la solución a largo de toda la probeta (20 mm).

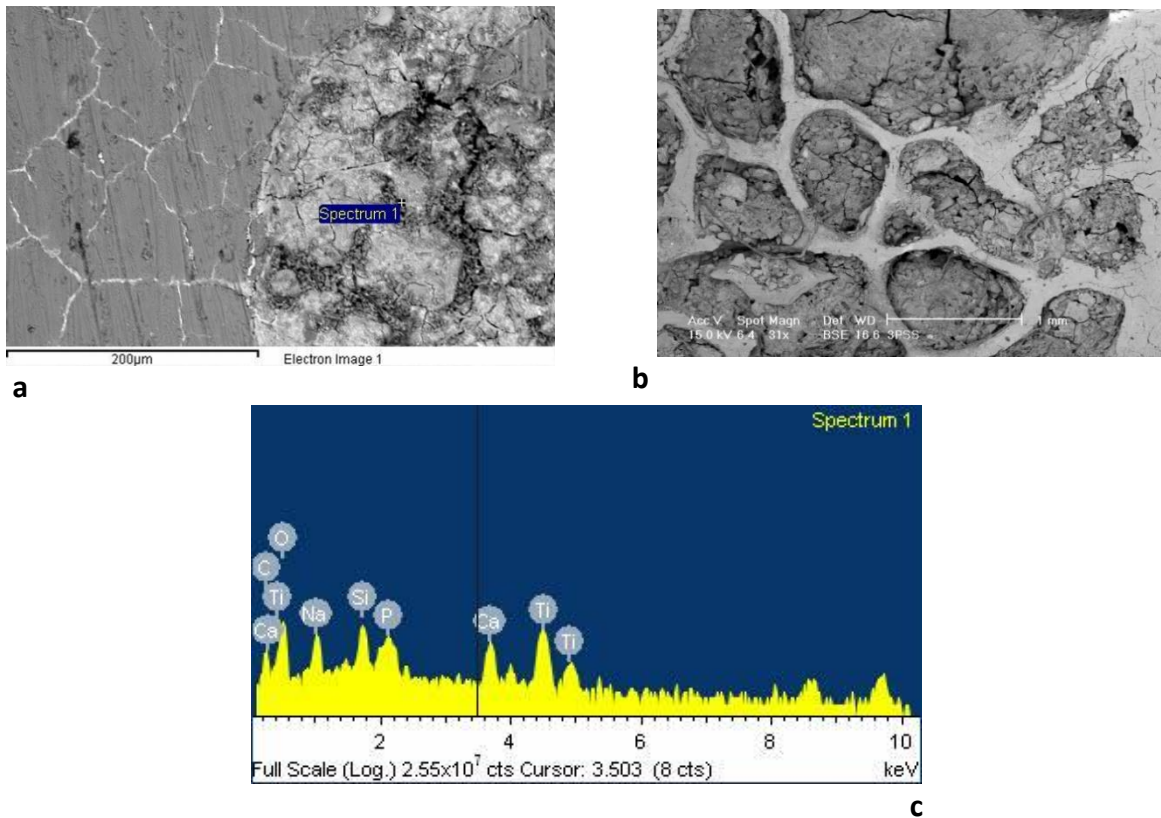


Figura 3.6. Mezcla de partículas de HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> con silicato sódico al 30% sobre, a) tejido compacto, b) tejido esponjoso de hueso paleontológico sintético, c) análisis EDX del interior de un poro.

El silicato sódico en solución diluido al 30% intervino como medio de transporte para que las partículas tuvieran la facilidad de desplazarse dentro de toda la estructura del hueso impregnando a todos los poros. Además de que las dispersiones de las partículas nanométricas de HAP y las partículas de óxido de titanio en la estructura porosa se basan en el proceso en donde el uso de partículas en el rango nanométrico contribuye a que existan sobresaturaciones mayores. Las nanopartículas presentan dispersiones estables por lo cual ayudarán a depositarse con mayor facilidad y tendrán buena penetración en las zonas de las microfisuras del tejido compacto y del tejido esponjoso (Goodwin *et al*, 2010; Sierra-Fernandez *et al*, 2017; Ziegenbalg *et al*. 2018).

La incorporación del agua como medio diluyente para el silicato sódico y con la incorporación de alcohol etílico y alcohol isopropílico como medios dispersantes para las partículas HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> contribuyó a que esta formulación presentase mayor penetración

produciendo condiciones de alta sobresaturación en los poros de mayor tamaño. La buena penetración de las partículas de esta solución en la estructura porosa se debe a un modelo fundamentado en la selección del disolvente, en donde la estabilidad de la dispersión de las partículas debe adaptarse a las propiedades de transporte del disolvente y de las características del sustrato a tratar (porosidad y tamaño de poro). Este modelo menciona que el uso de disolventes que proporcionan una estabilidad baja en la dispersión de las partículas como lo es el agua, son más adecuadas para sustratos con poros de mayor tamaño (Borsoi *et al*, 2016). Para sustratos con microfisuras o poros más pequeños, el uso de disolventes con mayor índice de secado (como lo es el alcohol etílico y alcohol isopropílico) y que presentan alta estabilidad en las dispersiones de las nanopartículas, resultarán en una mejor penetración y depositación en materiales con poros pequeños. En el caso de contar con un material con poros de gran tamaño, la mezcla de diferentes disolventes adicionadas con las partículas puede resultar en una mayor penetración.

El análisis EDX de la figura 3.6 c de la zona porosa donde se encuentran ocluidas las partículas corrobora la presencia de los compuestos usados como materiales consolidantes de este tratamiento, identificando los elementos de silicio (Si) y sodio (Na) provenientes de la solución de silicato sódico, calcio (Ca) y titanio (Ti) del sistema (HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>) y el oxígeno (O), calcio (Ca) y fósforo (P) que corresponden al tejido óseo, no se logró detectar elementos como F ya que la técnica EDX es por lo general muy poco sensible para detectar los elementos de bajo peso atómico.

### 3.2. Determinación de la porosidad en la estructura de hueso paleontológico sintético con las soluciones consolidantes

La evolución de la porosidad del tejido esponjoso del hueso sin y con tratamiento térmico puede apreciarse 3.7.

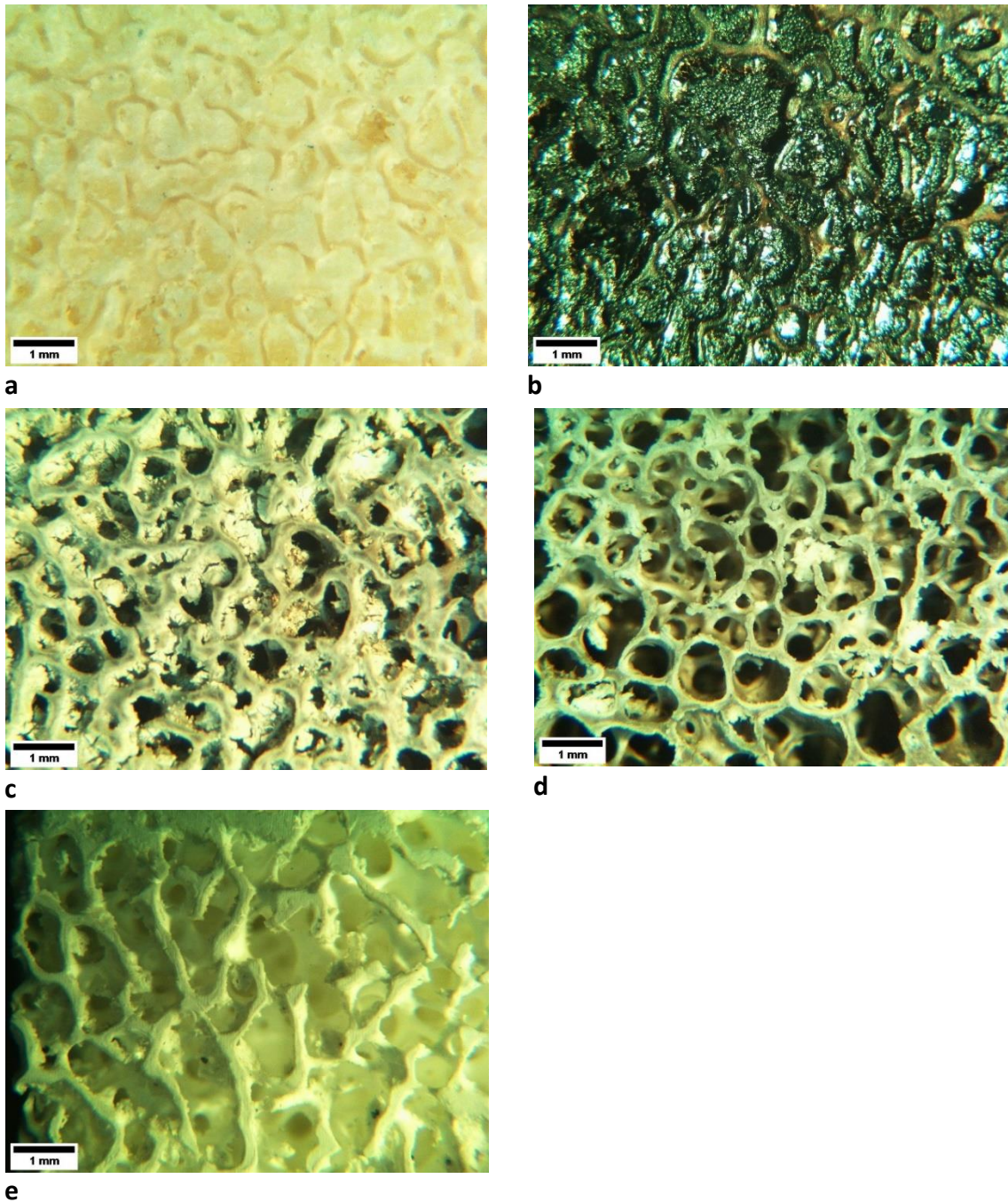


Figura 3.7. Aspecto superficial de, a) hueso fresco, b) hueso calcinado a 250 °C, c) hueso calcinado a 500 °C, d) hueso calcinado a 650 °C, e) hueso calcinado a 850 °C.

En la figura 3.7 a donde se observa el hueso natural, con el tejido esponjoso y su materia orgánica (colágeno). En la figura 3.7 b se aprecia el hueso esponjoso con tratamiento térmico a 250 °C, se observa cómo la materia orgánica contenida en las trabéculas se encuentra carbonizada pero aún se mantiene dentro de los poros. En las figuras 3.7 c y d se comienza a percibir el aumento de la porosidad cuando desaparece el colágeno a temperaturas de 500 °C a 650°C, a la temperatura de 850 °C (figura 3.7 e) ya no hay restos del colágeno intensificando el nivel de porosidad superficial en las trabéculas del hueso.

El tejido compacto del hueso paleontológico sintético tratado a 500 °C revela mínimos deterioros en su morfología presentando micro fisuras y grietas que se encuentran en el rango de de 5  $\mu\text{m}$  a 20  $\mu\text{m}$  como se muestra en la figura 3.8 a. En la figura 3.8 b se observa la diferencia en tamaño de la porosidad que adquiere el tejido esponjoso, un poro se encuentra entre 500 a 2000  $\mu\text{m}$  en comparación a las microfisuras del tejido compacto.

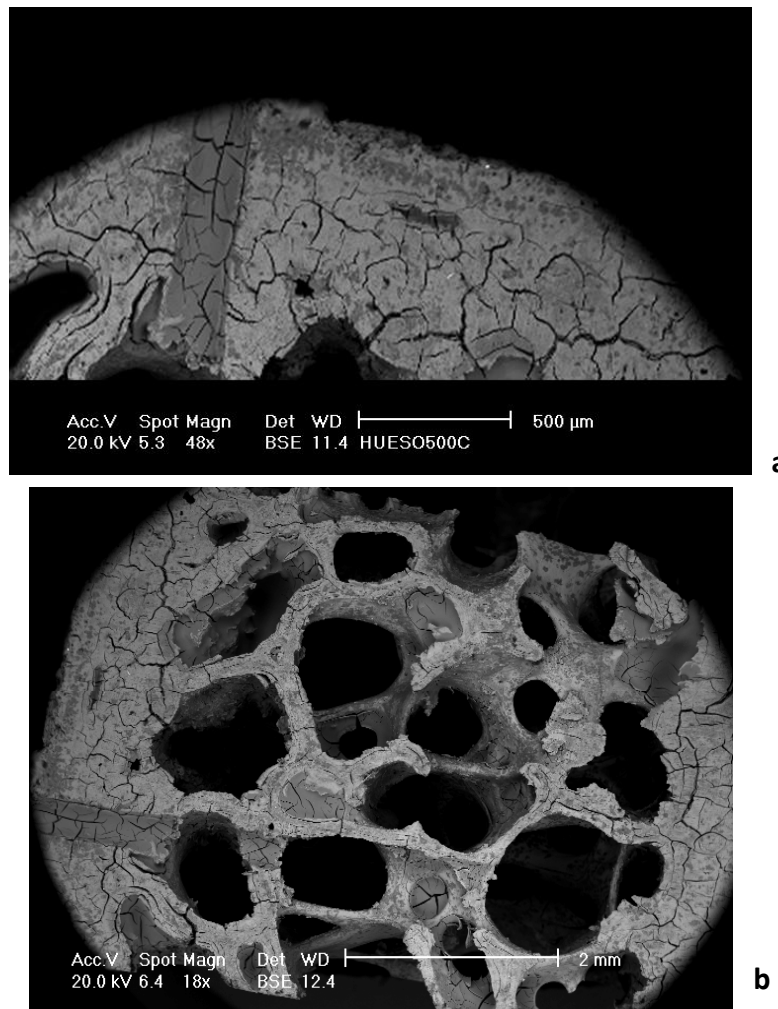
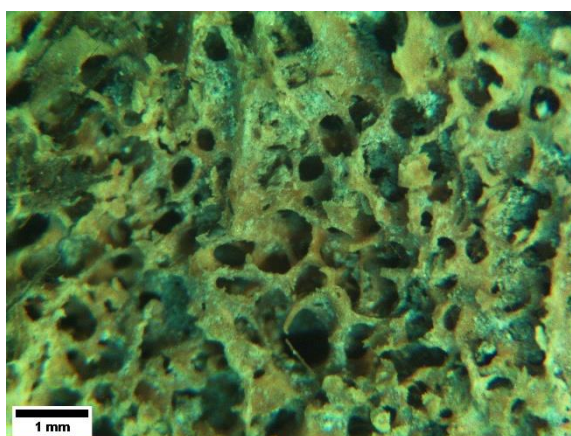


Figura 3.8. Micrografías de microscopio electrónico de barrido del, a) tejido compacto, b) tejido esponjoso sometido a 500 °C.

En la tabla 3.1 se muestran los resultados del área total de poros, el promedio del área de los poros y el porcentaje de área cubierta por poros. El porcentaje de porosidad del espécimen óseo paleontológico real tiene un 46.7%, visualmente esta porosidad se aprecia en la figura 3.9, la temperatura que alcanza este porcentaje de porosidad es a 500 °C, temperatura a la cual el hueso adquiere un 44.6% de porosidad que es equiparable a la porosidad de un espécimen óseo paleontológico (46.7%). Las probetas sintéticas tratadas térmicamente se sometieron a 500 °C para lograr un porcentaje de poros similar al del espécimen paleontológico real.

*Tabla 3.1. Valores de área total de poros y % de área de poros del hueso paleontológico sintético tratado térmicamente a diferentes temperaturas y de espécimen óseo paleontológico real.*

Temperatura	Área total de poros (mm <sup>2</sup> )	Área de poros (%)
250 °C	8.8	26.3
500 °C	26.3	44.6
650 °C	31.2	55.6
800 °C	55.5	77.2
Espécimen óseo paleontológico real	26.8	46.7



*Figura 3.9. Aspecto superficial de hueso de espécimen óseo paleontológico.*



La disminución de la porosidad de la estructura del tejido esponjoso de las probetas de hueso paleontológico sintético tratadas con cada solución consolidante se aprecia en las imágenes de microscopio óptico. La figura 3.10 a corresponde a la estructura porosa con el tratamiento de Paraloid B72 al 3%, se observa que todos los poros se encuentran vacíos, en la figura 3.10 b se aprecia el hueso esponjoso con Paraloid B72 al 15% donde se observa cómo se forma una capa de esta resina polimérica en superficie.

El tratamiento de consolidación con la solución de silicato sódico concentrado se deposita en el interior de algunos poros como se aprecia en la figura 3.10 c donde el silicato sódico se encuentra a mayor profundidad de la estructura, penetrando más de 2 mm, la figura 3.10 d corresponde a la solución de silicato sódico al 30%, se aprecia como a diferencia del concentrado hay más poros vacíos esto es debido a que al estar diluido disminuye aún más su grado de viscosidad con respecto al concentrado.

La estructura porosa con la aplicación de la solución de partículas nanométricas de HAP (~70 nm) dispersas en la mezcla de alcoholes, se aprecia en la figura 3.10 e donde se pueden apreciar que todos los poros se encuentran vacíos, esto se debe a que, por ser partículas tan pequeñas y el tamaño de poros grande no se depositaran en los poros de la estructura del tejido esponjoso. En la figura 3.10 f se observa la estructura porosa con la solución de las partículas de  $\text{CaF}_2$  dispersa en la mezcla de alcoholes, estas ocupan la totalidad el área de algunos poros ya que por su tamaño macrométrico (~ 5  $\mu\text{m}$  a 30  $\mu\text{m}$ ) cuando se aglomeran logran asentarse en su interior.

Con la solución de la mezcla de partículas de HAP/ $\text{CaF}_2$ / $\text{TiO}_2$  (~ 120 nm) sobre la estructura porosa, en la figura 3.10 g se observa como las partículas se depositan sobre la mayor cantidad de poros, al contar con una mezcla de varios tamaños de partículas esto ayuda a que exista una mejor distribución evitando se concentren en las zonas superficiales de las trabéculas. En cuanto a lo que ocurre al aplicar la solución de silicato sódico al 30% con la mezcla de partículas HAP (~ 70 nm),  $\text{TiO}_2$  (~ 120 nm),  $\text{CaF}_2$  (~ 5-30  $\mu\text{m}$ ) estas se depositan sobre todos los poros de la estructura como se aprecia en la figura 3.10 h. Se observa la oclusión y distribución homogénea de las partículas dentro de los poros.

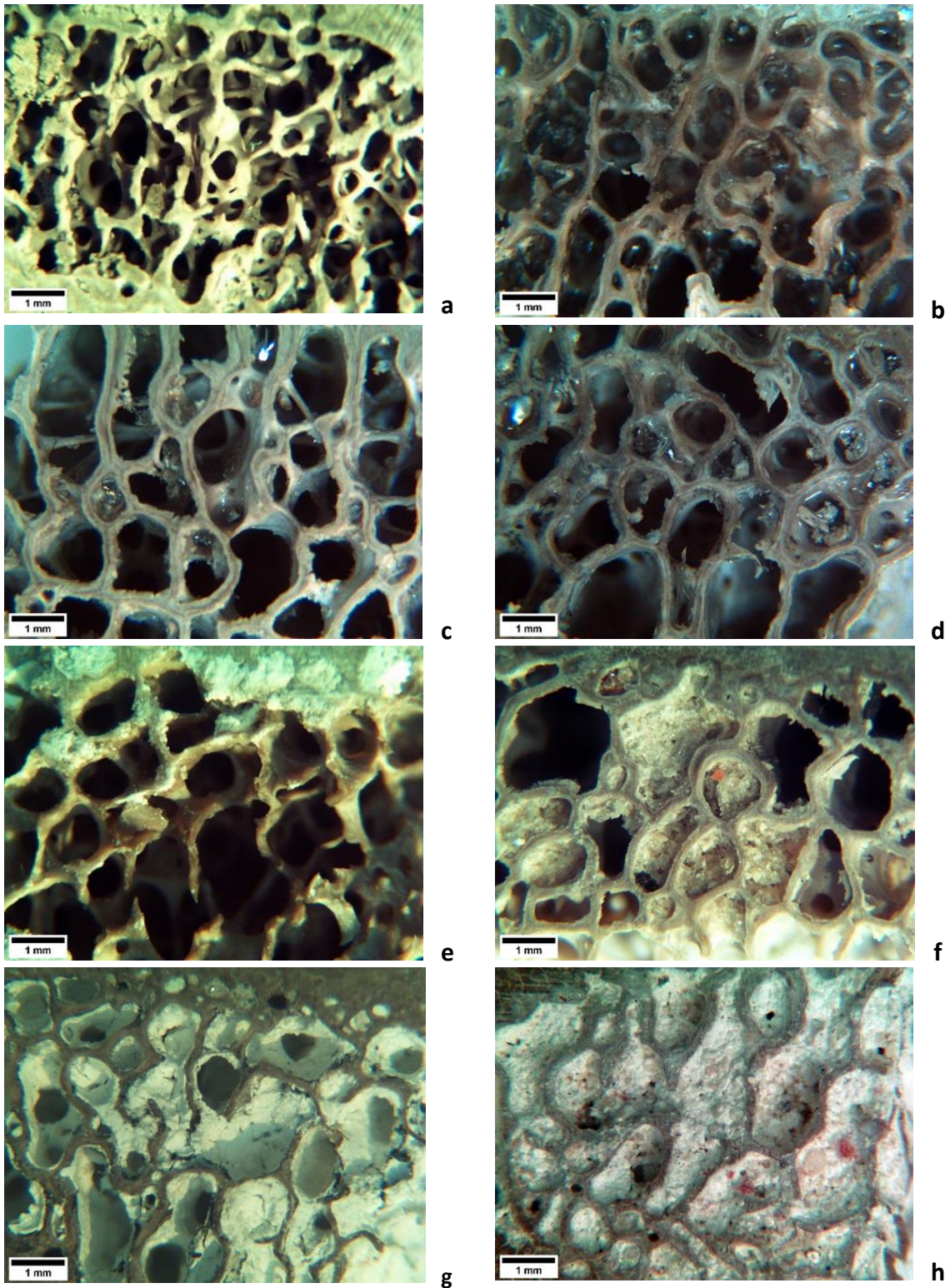
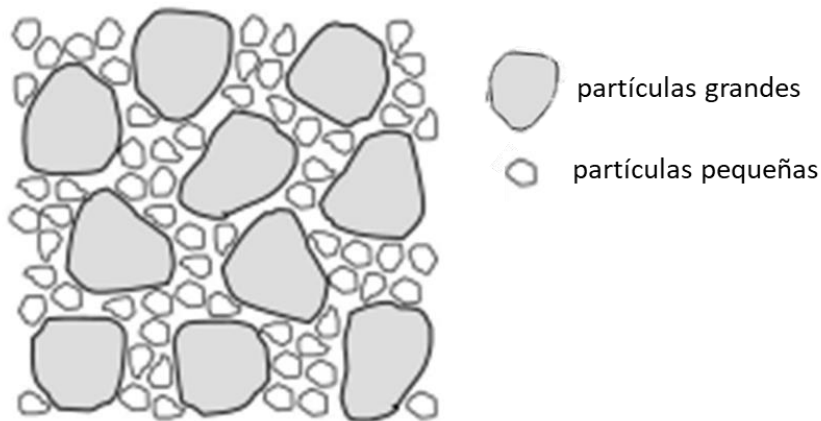


Figura 3.10. Aspecto superficial de hueso paleontológico sintético consolidado con, a) Paraloid B72 3%, b) Paraloid B72 15%, c) silicato sódico al 30%, d) silicato sódico 100%, e) solución de HAP, f) solución de  $\text{CaF}_2$ , g) mezcla de HAP/ $\text{CaF}_2$ / $\text{TiO}_2$ , g) silicato sódico el 30%/mezcla de HAP/ $\text{CaF}_2$ / $\text{TiO}_2$ .

La distribución de las partículas dentro de los poros se debe a los diferentes tamaños y morfologías; la partícula macrométrica de  $\text{CaF}_2$  cuenta con formas angulares e irregulares mientras que la partícula de  $\text{TiO}_2$  presenta formas redondeadas, esto ayuda en la manera en que se agrupan ya que al momento de unirse confiere mejores propiedades de empaquetamiento. Esta propiedad es referenciada en el campo de materiales cerámicos utilizada para la dosificación de mezclas de hormigón donde se emplea el Método de Empaquetamiento de Partículas (PPM). En el PPM, las partículas más pequeñas se seleccionan para llenar los vacíos entre partículas grandes y así sucesivamente (Borges *et al*, 2014; Pradhan *et al*, 2017). En la figura 3.11 se muestra un esquema representando este método, donde se llenan los huecos entre partículas grandes con partículas más pequeñas aumentando así la densidad máxima de empaquetamiento (Fennis *et al*, 2009). Además, con la adición del silicato sódico por sus propiedades aglutinantes las mantendrá juntas en el interior de los poros (Iler, 1979).



partículas grandes + partículas pequeñas

Figura 3.11. Configuración esquemática del empaquetamiento de partículas (Fennis *et al*, 2009).

El porcentaje de porosidad que adquiere un hueso paleontológico sintético equiparable a la de un espécimen óseo paleontológico original es de entre 40-46% según lo reportado en los datos de la tabla 3.1. La porosidad de los huesos sintéticos una vez consolidados con las soluciones propuestas se muestra en la tabla 3.2. Según los resultados de porcentaje de área de los poros se observa que las soluciones que mantuvieron un porcentaje de área de poros similar al testigo (45.2% y 44.6%) es el Paraloid B72 al 3% y la solución de partículas de HAP dispersas en la mezcla de alcoholes. Estos resultados permiten establecer que el proceso de consolidación no fue eficiente con estas soluciones.

Las soluciones de silicato sódico al 30% y la solución de las partículas de  $\text{CaF}_2$  dispersas en alcohol tuvieron un porcentaje de disminución por debajo del 10% en comparación al testigo, el porcentaje de área de poros de las dos soluciones se mantuvo entre 41.8% y 40.7% por lo que no tienen una notable reducción de la porosidad. Los productos que se usaron concentrados o disueltos en altos porcentajes como lo son el silicato sódico al 100% y el Paraloid B72 al 15%, vuelven las soluciones más densas de modo que abarcarán mayor área al depositarse en los poros, independientemente si lo hacen superficialmente como lo ocurrido en estos casos, esto provocará que la porosidad disminuya, pero no existirá buena penetración estructural. La porosidad de la estructura del tejido esponjoso con la aplicación del silicato sódico concentrado, Paraloid B72 al 15% y la solución de la mezcla de las partículas de  $\text{HAP}/\text{CaF}_2/\text{TiO}_2$  tiene valores de porcentaje de área de poros de 33.8, 24.8 y 29.7 cada una de estas que corresponde a un porcentaje de disminución de porosidad de entre un 20 y 45% con respecto al testigo.

La solución de silicato sódico al 30% con la mezcla de partículas de  $\text{HAP}/\text{TiO}_2/\text{CaF}_2$ , presenta un porcentaje de área de poros de 8.2 que corresponde a un porcentaje de disminución de porosidad de un 81.6%, el valor más alto comparado con las demás soluciones, por lo tanto, es el tratamiento que cuenta con la menor cantidad de poros vacíos.

*Tabla 3.2. Valores de área total de poros y % de área de poros del hueso paleontológico sintético consolidado con las soluciones propuestas.*

Tratamiento	Área total de poros ( $\text{mm}^2$ )	Área de poros (%)
Hueso paleontológico sintético (testigo)	26.3	44.6
PB72 3%	21.1	45.2
PB72 15%	11.6	24.8
Silicato sódico concentrado	13.2	33.8
Silicato sódico 30%	21.9	41.8
HAP	20.8	44.6
Fluorita	19.1	40.7
Partículas $\text{HAP}/\text{CaF}_2, /\text{TiO}_2$	13.9	29.7
Silicato sódico 30% + Partículas $\text{HAP}/\text{CaF}_2, /\text{TiO}_2$	3.9	8.2

### 3.3. Resistencia mecánica del hueso paleontológico sintético consolidado

La curva de resistencia a la compresión vs temperatura de la figura 3.12 muestra el comportamiento del tejido compacto y del tejido esponjoso con paredes corticales después de someterse a tratamiento térmico.

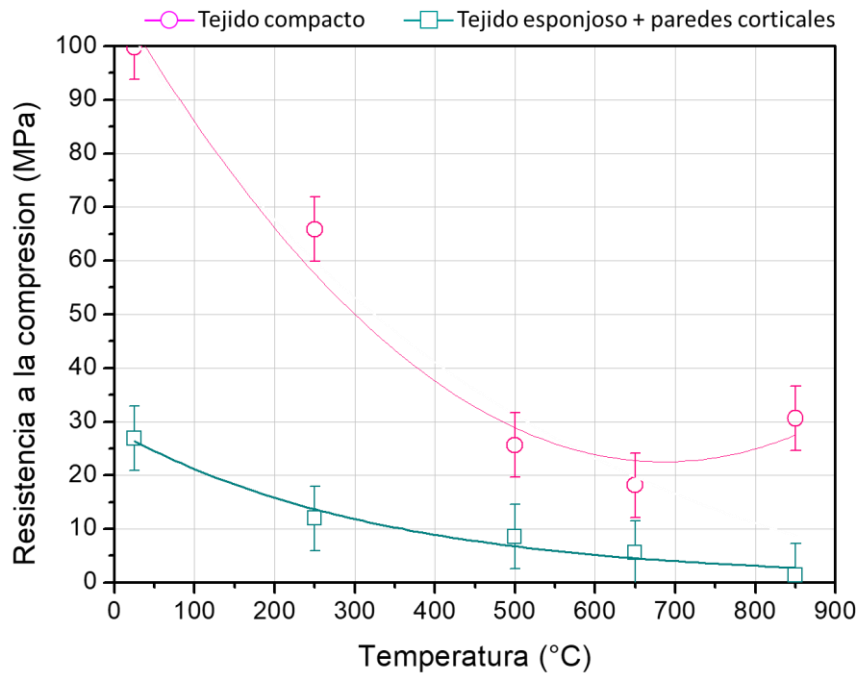


Figura 3.12. Resistencia de la compresión en función de la temperatura de calcinación en el tejido compacto y tejido esponjoso de hueso de bovino.

Se observa que conforme la temperatura se incrementa, las propiedades mecánicas de las dos estructuras se ven afectadas mostrando una tendencia en la disminución de resistencia a la compresión. Este efecto está relacionado con la pérdida de la fracción orgánica que es la que le confiere resistencia, el hueso al irse degradando adquiere porosidad volviéndolo frágil. En la figura 3.12 se aprecia un ligero aumento de la resistencia a la compresión del hueso compacto a 850 °C, este comportamiento podría deberse al proceso de sinterización que atraviesa el hueso al estar expuesto a temperaturas de entre 700 °C y 900 °C donde la hidroxiapatita comienza a compactarse de tal forma que no existen espacios vacíos, así cuanto mayor sea la mineralización y densidad del tejido compacto, mayor será su rigidez (Currey, 2009; Currey, 2008).

Los resultados de los ensayos a compresión de las probetas de hueso paleontológico sintético tratadas con los tipos de soluciones consolidantes se muestran en la figura 3.13. La probeta testigo se refiere a hueso paleontológico sintético sin ninguna solución consolidante.

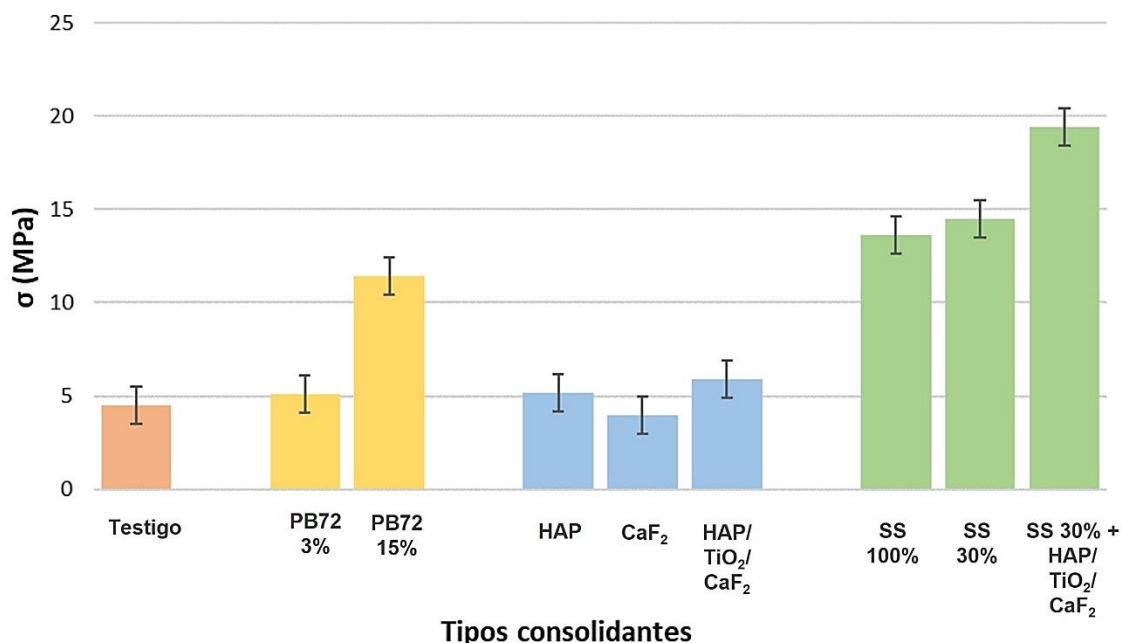


Figura 3.13. Resistencia a la compresión de hueso paleontológico sintético consolidado con las soluciones consolidantes.

La resistencia a la compresión para el consolidante con Paraloid B72 al 3% (PB72 3%) aumentó aproximadamente un 10% sobre el valor del testigo, demostrando que este tratamiento no es efectivo a baja concentración. Al incrementar la concentración del polímero (PB72 15%) se observa como el valor de la resistencia se duplica con respecto al testigo, teniendo valores de 11.4 MPa.

Para el caso de los consolidantes con nanopartículas de HAP y la mezcla de las partículas de HAP/TiO<sub>2</sub>/CaF<sub>2</sub> dispersas en la mezcla de alcoholes hubo un aumento insignificante considerando el rango de error. Aun cuando la porosidad de este consolidante disminuyó un 30%, las partículas no cuentan con un medio que las mantenga unidas por lo tanto no se reflejará una mejora en sus propiedades mecánicas.

En lo referente a los tratamientos de consolidación mediante el empleo del silicato sódico (SS 100% y SS 30%) los resultados de la resistencia a la compresión triplicaron los valores con respecto al testigo. Si bien es evidente que cualquiera de los tratamientos utilizando

silicato sódico mejora las propiedades mecánicas en el hueso paleontológico sintético, ya que aumentan significativamente la resistencia a la compresión.

Con la aplicación de la solución consolidante de silicato sódico al 30% más la mezcla de partículas HAP/TiO<sub>2</sub>/CaF<sub>2</sub> (SS 30% + HAP/TiO<sub>2</sub>/CaF<sub>2</sub>) cuatriplica el valor obtenido con respecto al testigo, alcanzando una resistencia a la compresión de 19.4 MPa, este consolidante tiene una resistencia considerablemente mayor a la que alcanzan los componentes por separado.

A fin de explicar el posible origen del efecto sinérgico entre silicato sódico/partículas nano-micro, el silicato sódico en fase acuosa, por su naturaleza química cuenta con mecanismos de gelación/polimerización con lo cual probablemente logra la formación de un tipo de sistema reticular tridimensional en el cual las partículas (HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>) queden enlazadas con la especie [SiO<sub>4</sub>]<sup>4-</sup> mediante algún tipo de enlace químico, dando como resultado una fase rígida que es la que le confiere resistencia mecánica al tejido óseo degradado cuando es aplicado. Tal mecanismo inicia cuando se comienza a secar el silicato, los iones de sodio se coordinan con los átomos de oxígeno y los grupos silanol en el sistema, no hay agua unida a los iones de sodio (Iler, 1979).

Hoy en día, en lo referente a la química asociada a los silicatos en solución y los eventos que acontecen con los iones de polisilicatos, persisten temas aún no muy bien entendidos (Iler 1979; Dietzel 1995; Gorrepati 2010). La distinción entre polisilicatos y partículas sílicas coloidales es probablemente una cuestión de semántica. Los iones de polisilicatos o silicato polimérico están presentes en tales soluciones, en donde la relación estructural de ciertos silicatos, dependiente de una serie de factores diversos como son concentración, pH, temperatura, fuerza iónica, etc, probablemente conducen a la formación de ciertos arreglos estructurales en donde las diferentes especies van siguiendo trayectorias de polimerización que conducen a configuraciones de sílica compactas como la octamérica, las cuales pueden ionizarse y formar (Si<sub>8</sub>O<sub>20</sub>)<sup>8-</sup> con zonas de acoplamiento como se observa la estructura en la figura 3.14 y seguir creciendo hasta formar una red o partícula coloidal.

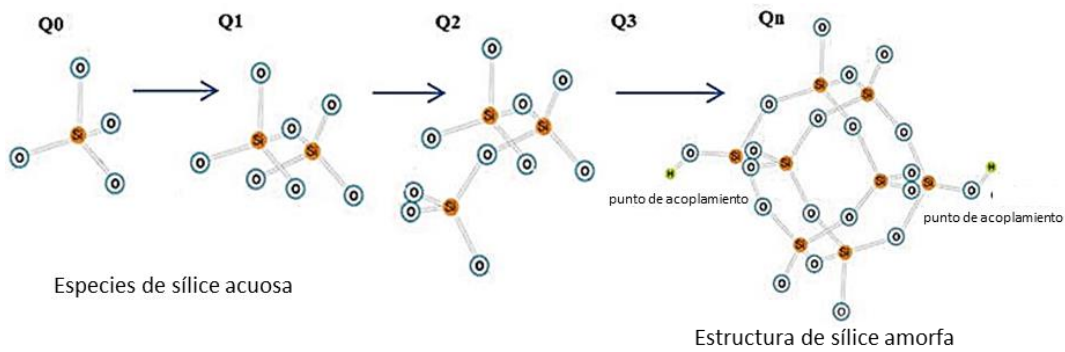


Figura 3.14. Esquema del posible mecanismo de la polimerización de especies silicas (Iler 1979).

Esta unidad es probablemente el comienzo para la formación de un germen o partícula coloidal que, en función de las condiciones, estos gérmenes pueden conducir a la formación de micelas las cuales al condensar llevan a la formación de sílice coloidal (Weldes y Lange 1969; Iler, 1979; Gorrepati *et al*, 2010; Duo *et al*, 2016).

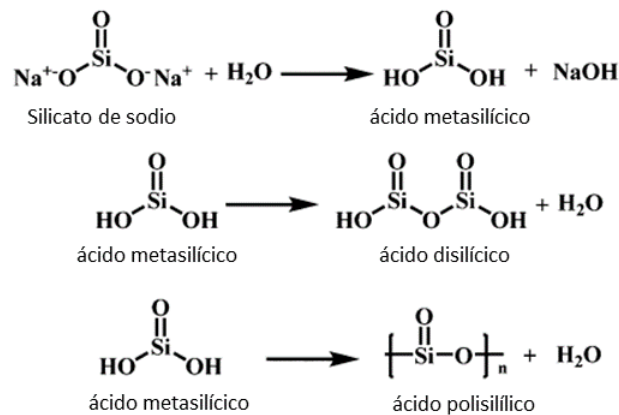


Figura 3.15. Esquema de la hidrólisis y condensación de  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  para la generación de partículas coloidales de sílice (Duo *et al*, 2016).

Se ha encontrado que las soluciones de silicato de sodio pueden llegar a reaccionar con cationes polivalentes disueltos para formar precipitados. Dependiendo de las condiciones de reacción, como pH, concentración y temperatura, resultarán silicatos de metal insoluble o sílice hidratada enlazados con óxidos de metal o hidróxidos. En la figura 3.15 se muestra esquematizado como se generan las partículas coloidales de sílice; con el aumento en la concentración de  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  conduciría a una mayor concentración de  $\text{OH}^-$  que puede ser liberado por la hidrólisis de  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  (Masui *et al*, 2002; Ebnesajjad *et al*, 2014; Duo *et al*,



2016). No obstante, la posibilidad de tal mecanismo de polimerización y enlace con las partículas de HAP,  $\text{CaF}_2$  y  $\text{TiO}_2$  es totalmente hipotético por ahora y este proceso de consolidación se encuentra totalmente desconocido.

## Conclusiones

La investigación sobre materiales consolidantes enfocados en la restauración de hueso paleontológico es limitada debido a que no se pueden realizar pruebas en muestras reales, es por eso por lo que en este trabajo se desarrolló un método para generar probetas de hueso degradado que permitan simular las condiciones de las muestras paleontológicas reales, favoreciendo así el estudio de las dos estructuras del tejido óseo (compacto y esponjoso).

El uso de partículas tanto nanométricas, como micrométricas no tiene resultados determinantes en cuanto conferir propiedades mecánicas a una estructura porosa de hueso degradado ya que solo se depositan superficialmente sobre el tejido compacto. Por otro lado, de los líquidos consolidantes evaluados el que mostró mejor desempeño fue el silicato sódico con adecuados niveles de penetración y distribución en la estructura del hueso degradado.

La solución base silicato sódico diluido a un 30% con la adición de partículas HAP/CaF<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> logró generar una resistencia a la compresión cuatro veces mayor y una disminución de porosidad del 81.6% con respecto al hueso paleontológico sintético sin consolidar. Esta notable mejora en las propiedades mecánicas permite que sea una propuesta viable como tratamiento de consolidación para la restauración de hueso paleontológico.

Las posibles líneas de investigación podrían estar enfocadas en el efecto que podrían tener los diferentes tipos de silicatos en solución en la consolidación del hueso paleontológico.

## Referencias

- Al Hameed, Z., Saleem, J., Hussain, S. S., Ghani, A. A., & Lal, H. (2017). Study of indigenous fluorspar as metallurgical flux. *Journal of Engineering and Applied Sciences (JEAS)*, Volumen 36(Issue 1), pp 322-365.
- Al-Amin, M., Dey, S. C., Rashid, T. U., Ashaduzzaman, M., & Shamsuddin, S. M. (2016). Solar assisted photocatalytic degradation of reactive azo dyes in presence of anatase titanium dioxide. *International Journal of Latest Research in Engineering and Technology*, 2(3), pp 14-21.
- Al-Taweel, S. S., & Saud, H. R. (2016). New route for synthesis of pure anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles via ultrasound-assisted sol-gel method. *J. Chem. Pharm. Res*, 8(2), pp 620-626.
- Baglioni, P., & Chelazzi, D. (Eds.). (2013). *Nanoscience for the Conservation of Works of Art* .(28), RSC Nanoscience & Nanotechnology, UK, pp 80-89.
- Bangash M. Y. H., Al-Obaid Y. F., Bangash F. N., Bangash T. (2007). Bones: Tissues and Material Properties. In: *Trauma - An Engineering Analysis*. Springer, Berlin, Heidelberg. Pp 142-151.
- Behrensmeyer, A. K., & Hill, A. P. (Eds.). (1988). Fossils in the making: vertebrate taphonomy and paleoecology (No. 69). *University of Chicago Press*. Pp 156-182.
- Billingham, N. C. (2006). *Degradation and stabilization of polymers. Materials Science and Technology*, pp 469-507.
- Bisulca, C., Elkin, L. K., & Davidson, A. (2009). Consolidation of fragile fossil bone from Ukhaa Tolgod, Mongolia (late Cretaceous) with Conservare OH100. *Journal of the American Institute for Conservation*, 48(1), pp 37-50.
- Bonfield, W. (1987). Advances in the fracture mechanics of cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 20(11-12), pp 1071–1081.
- Borges, P. H., Fonseca, L. F., Nunes, V. A., Panzera, T. H., & Martuscelli, C. C. (2014). Andreasen particle packing method on the development of geopolymer concrete for civil engineering. *Journal of materials in civil engineering*, 26(4), pp 692-697.
- Borsoi, G., Lubelli, B., van Hees, R., Veiga, R., Silva, A. S., Colla, L., & Tomasin, P. (2016). Effect of solvent on nanolime transport within limestone: How to improve in-depth deposition. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, (497), pp 171-181.
- Byrappa K. & Yoshimura M., (2021). *Handbook of Hydrothermal Technology*. 2nd ed. Elsevier, William Andrew Inc, UK, pp. 287-300.

- Campanella, L., Grimaldi, F., Angeloni, R., Dell'Aglio, E., & Reale, R. (2021). Improvements in bones and stones consolidating processes by vacuum system method. *Natural Product Research*, 36(1), pp 63-70.
- Carter, C. B., & Norton, M. G. (2007). Characterizing Structure, Defects, and Chemistry. *Ceramic Materials*. Springer, New York, pp 154-177.
- Castellano, E. M., & Canales, J. P. (2017). Consolidación de material óseo fósil: estudio de penetración de consolidantes. *PH investigación*, (7), pp 26-51.
- Chadefaux, C., Vignaud, C., Menu, M., & Reiche, I. (2008). Effects and efficiency of consolidation treatments on Palaeolithic reindeer antler. Multi-analytical study by means of XRD, FT-IR microspectroscopy, SEM, TEM and  $\mu$ -PIXE/PIGE analyses. *Applied Physics A*, 92(1), pp 171-177.
- Cohen, H., Kugel, C., May, H., Medlej, B., Stein, D., Slon, V., ... Brosh, T. (2016). The impact velocity and bone fracture pattern: Forensic perspective. *Forensic Science International*, (266), pp 54–62.
- Cowin, S. C., & Doty, S. B. (2007). *Tissue mechanics*. Springer, New York, pp 7-38.
- Cullity, B. D. (1978). Elements of X-ray diffraction, Addison. Wesley Mass, pp 127-31.
- Currey J. (2009). Measurement of the mechanical properties of bone: a recent history. *Clinical Orthopedics and Related Research*, 467(8), pp 1948-1954.
- Currey J., (2008). Collagen and the mechanical properties of bone and calcified cartilage, *Fratzl P. (eds) Collagen*. Springer, Boston, pp. 397-420.
- Currey, J. D. (2012). The structure and mechanics of bone. *Journal of Materials Science*, 47(1), pp 41-54.
- Davidson A., Alderson S. (2009). An introduction to solution and reaction adhesives for fossil preparation. *Methods in fossil preparation: Proceedings of the first annual fossil preparation and collections symposium*, pp 53-62.
- Dietzel, M., Usdowski, E. (1995). Depolymerization of soluble silicate in dilute aqueous solutions. *Colloid Polymer Science*, 273(6), pp 590-597.
- Du M., Chen J., Liu K., Xing H. Song, C. (2021). "Recent advances in biomedical engineering of nano-hydroxyapatite including dentistry, cancer treatment and bone repair". *Composites Part B: Engineering*. (215) p. 108790.
- Duo, J., Zhang, Z., Yao, G., Huo, Z., & Jin, F. (2016). Hydrothermal conversion of glucose into lactic acid with sodium silicate as a base catalyst. *Catalysis Today*, (263), pp 112–116.
- Ebnesajjad, S., & Landrock, A. H. (2014). Adhesives technology handbook. 3rd ed, Elsevier, UK, Pp 67-83

Eliaz, N., & Metoki, N. (2017). Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. *Materials*, 10(4), 334, Pp 4-51.

Ellingham, S., & A. Sandholzer, M. (2020). Determining Volumetric Shrinkage Trends Of Burnt Bone Using Micro-CT. *Journal Of Forensic Sciences*, 65(1), pp 196-199.

Eslami, H., Soulati, H. M., & Tahriri, M. (2008). Synthesis And Characterization Of Hydroxyapatite Nanocrystals Via Chemical Precipitation Technique. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2), pp 127-134.

Evans, F. G. (1969). The Mechanical Properties Of Bone. *Artificial Limbs*, 13(1), pp 37-48.

Fennis, S. A., Walraven, J. C., & Den Uijl, J. A. (2009). The use of particle packing models to design ecological concrete. *Heron*, (54)2/3, pp 2-3.

Figueiredo, M., Fernando, A., Martins, G., Freitas, J., Judas, F., & Figueiredo, H. (2010). Effect of the calcination temperature on the composition and microstructure of hydroxyapatite derived from human and animal bone. *Ceramics international*, 36(8), pp 2383-2393.

García, Á. G., Lobato, E. W., González, A. H., Romero, E. G., Martínez, H. G., & Salgado, J. J. P. G. (2003). Restauración de restos paleontológicos: tortugas gigantes. *Pátina*, (12), pp 17-22.

Goldstein J. I., Newbury D. E., Michael J. R., Ritchie N. W., Scott J. H. J., Joy, D. C., (2017). Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. 4th ed, Springer, New York.

Gong, W., Yang, S., Zheng, L., Xiao, H., Zheng, J., Wu, B., & Zhou, Z. (2019). Consolidating effect of hydroxyapatite on the ancient ivories from Jinsha ruins site: Surface morphology and mechanical properties study. *Journal of Cultural Heritage*, (35), pp 116-122.

Goodwin, A. L., Michel, F. M., Phillips, B. L., Keen, D. A., Dove, M. T., & Reeder, R. J. (2010). Nanoporous Structure and Medium-Range Order in Synthetic Amorphous Calcium Carbonate. *Chemistry of Materials*, 22(10), pp 3197–3205

Gorrepati E., Wongthahan P., Raha S., Scott-Fogler H. (2010). Silica Precipitation In Acidic Solutions: Mechanism, Ph Effect And Salt Effect. *Langmuir*, 26(13), pp 10467-10474.

Hare, P. E. (1988). Organic geochemistry of bone and its relation to the survival of bone in the natural environment. *Fossils in the making: Vertebrate taphonomy and paleoecology*, (69), 208-350.

Horie, C.V., (2010). *Materials for Conservation: Organic Consolidants, Adhesives and Coatings*, 2nd ed. Elsevier, London, pp 106-489.

Iler, K. R. (1979). The Chemistry of Silica. Solubility, Polymerization, Colloid and Surface Properties and Biochemistry of Silica. John Wiley & Sons, Toronto, pp 116-150.

Jaafar, A., Hecker, C., Áрки, P., & Joseph, Y. (2020). Sol-gel derived hydroxyapatite coatings for titanium implants: A review. *Bioengineering*, 7(4), 127, pp 4-10.

Jans, M. M. E., C. M. Nielsen-Marsh, C. I. Smith, M. J. Collins, & H. Kars. (2004). Characterisation of Microbial Attack on Archaeological Bone. *Journal of Archaeological Science* 31(1) pp 87–95.

Johnson, J. S. (1994). "Consolidation of archaeological bone: a conservation perspective". *Journal of Field Archaeology*, 21(2), pp 221-233.

Kendall, C., Eriksen, A. M. H., Kontopoulos, I., Collins, M. J., & Turner-Walker, G. (2018). Diagenesis of archaeological bone and tooth. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, (491), pp. 21-37.

Khalid, H., & Chaudhry, A. A. (2020). Basics of hydroxyapatite—structure, synthesis, properties, and clinical applications. *Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites*. Woodhead Publishing, pp 85-115.

Khunur, M. M., Risdianto, A., Mutrofin, S., & Prananto, Y. P. (2012). Synthesis of fluorite (CaF<sub>2</sub>) crystal from gypsum waste of phosphoric acid factory in silica gel. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis*, 7(1), pp 71-77.

Leng, Y. (2009). *Materials characterization: introduction to microscopic and spectroscopic methods*. John Wiley & Sons, Singapore.

Li, S., Abdel-Wahab, A., & Silberschmidt, V. V. (2013). Analysis of fracture processes in cortical bone tissue. *Engineering Fracture Mechanics*, 110, pp 448–458.

Lopez-Polin, L. (2012). Possible interferences of some conservation treatments with subsequent studies on fossil bones: A conservator's overview. *Quaternary International*, (275), pp. 120-127.

Ma, G., & Liu, X. Y. (2009). ¿Hydroxyapatite: hexagonal or monoclinic?. *Crystal Growth and Design*, 9(7), pp. 2991-2994.

McGlinchey, C. (2018). Polymers in Conservation. *The Encyclopedia of Archaeological Sciences*, 8 John Wiley & Sons, Museum of Modern Art, USA, pp 1-3.

Monteiro, G., Santos, L. F., Pereira, J. C. G., & Almeida, R. M. (2011). Optical and spectroscopic properties of germanotellurite glasses. *Journal Of Non-Crystalline Solids*, 357(14), pp 2695-2701.

Mucalo M. R., (2015). Hydroxyapatite HAP for biomedical applications.(No 95), Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Elsevier, Cambridge, pp. 307-342.

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), pp. 660-668.

- Nielsen-Marsh, C., Gernaey, A., Turner-Walker, G., Hedges, R., Pike, A., Collins, M. (2000). The Chemical Degradation of Leather. *Human Osteology In Archaeology And Forensic Science*, 62(11), pp 439–54.
- Nordin M. and Frankel V. H., (2001). Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System, Lippincott Williams & Wilkins.
- North, A., Balonis, M., & Kakoulli, I. (2016). Biomimetic hydroxyapatite as a new consolidating agent for archaeological bone. *Studies in Conservation*, 61(3), pp. 146-161.
- Novitskaya, E., Chen, P.-Y., Lee, S., Castro-Ceseña, A., Hirata, G., Lubarda, V. A., & McKittrick, J. (2011). Anisotropy in the compressive mechanical properties of bovine cortical bone and the mineral and protein constituents. *Acta Biomaterialia*, 7(8), pp 3170–3177.
- Ooi, C. Y., Hamdi, M., & Ramesh, S. (2007). Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone. *Ceramics international*, 33(7), pp. 1171-1177.
- Pinhasi, R., & Mays, S. (Eds.). (2008). *Advances in Human Palaeopathology*. John Wiley & Sons. Chichester, pp 3-11.
- Pradhan, S., Kumar, S., & Barai, S. V. (2017). Recycled aggregate concrete: Particle Packing Method (PPM) of mix design approach. *Construction and Building Materials*, (152), pp 269–284.
- Qiu, Z.-Y., Cui, Y., & Wang, X.-M. (2019). Natural Bone Tissue and Its Biomimetic. *Mineralized Collagen Bone Graft Substitutes*, Woodhead Publishing, Elsevier, Duxford, pp 1–22.
- Ramírez-Díaz, E. I., Ortiz-Prado, A., Schouwenaars-Franssens, R., & Ruiz-Cervantes, O. (2010). Mechanical Modelling of Cancellous Bone from their Microstructure. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 11(2), pp 199-216.
- Ramos X., Ortiz V., Roldan G. (2015). Informe de la arqueofauna aparecida en el predio de la Subestación Diana. *Instituto Nacional de Antropología e Historia, INAH*, Cd. México, México, pp 1-30.
- Ray, C. E., Linares, O. J., & Morgan, G. S. (2018). Paleontology. *Natural History of Vampire Bats*. 1st Ed., CRC Press, pp. 19-30.
- Ryu, Y. B., & Lee, M. S. (2018). Infrared spectra and thermal properties of sodium silicate solutions. *Journal of the Korean Institute of Metals and Materials*, 56(1), pp 72-78.
- Salvatore A., Vai S., Caporali S., Caramelli D., Lari M., Carretti, E. (2020). Evaluation of Diammonium hydrogen phosphate and Ca(OH)<sub>2</sub> nanoparticles for consolidation of ancient bones. *Journal of Cultural Heritage*, (41), pp 1-12.
- Santos, M. H., Oliveira, M. D., Souza, L. P. D. F., Mansur, H. S., & Vasconcelos, W. L. (2004). Synthesis control and characterization of hydroxyapatite prepared by wet precipitation process. *Materials Research*, 7(4), pp 625-630.

- Sassoni, E. (2018). Hydroxyapatite and other calcium phosphates for the conservation of cultural heritage: A review. *Materials*, 11(4), pp 557.
- Sharir, A., Barak, M. M., & Shahar, R. (2008). Whole bone mechanics and mechanical testing. *The Veterinary Journal*, 177(1), pp 8–17.
- Shipman, P., Foster, G., & Schoeninger, M. (1984). Burnt bones and teeth: an experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage. *Journal Of Archaeological Science*, 11(4), pp 307-325.
- Sierra-Fernandez, A., Gomez-Villalba, L. S., M. E. Rabanal, & R. Fort. (2017). New nanomaterials for applications in conservation and restoration of stony materials: a review, *Materiales de Construcción*, (67), pp 1–18.
- Singh, V. (2013). *General Anatomy-E-book*. 2nd ed, Elsevier Health Sciences, (1), pp 65-80.
- Snoeck, C., Lee-Thorp, J. A., & Schulting, R. J. (2014). From bone to ash: Compositional and structural changes in burned modern and archaeological bone. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, (416), pp 55-68.
- Tahvildari, K., ESMAEILI, P. M., Ghammamy, S., & Nabipour, H. (2012). CaF<sub>2</sub> nanoparticles: synthesis and characterization. *International Journal Of Nano Dimension (Ijnd)*. (2)4-8, pp 269-273.
- Tian, K., Peng, M., Wu, P., Liao, C. H., & Huang, F. Y. (2011). Biom mineralization of the Hydroxyapatite with 3D-Structure for Enamel Reconstruction. *Advanced Materials Research*, (391-392), pp 633–637.
- Turner-Walker, Howard G., (1993). The characterisation of fossil bone. Doctoral dissertation, Durham University, pp 14-30
- Venugopal, J., Prabhakaran, M. P., Zhang, Y., Low, S., Choon, A. T., & Ramakrishna, S. (2010). Biomimetic hydroxyapatite-containing composite nanofibrous substrates for bone tissue engineering. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1917), pp 2065-2081.
- Villena Gómez, A. J., & García, F. (2018). Aplicaciones Del Paraloid-B72 Como Consolidante En Prepa- Raciones Paleontológicas. *Asociación Paleontológica Alcoyana Isurus*, (11), pp 38–49.
- Weiner S., Zaslansky P. (2004). Structure-mechanical function relations in Bones and teeth. Learning from Nature How to Design New Implantable Biomaterials, R.L. Reis and S. Weiner (eds.), pp. 3-13.
- Weiner, S., & Zaslansky, P. (2004). Structure-mechanical function relations in bones and teeth. *Learning from Nature How to Design New Implantable Biomaterials*, Kluwer Academic Publishers, Springer, Dordrecht, pp 1-12.



Weldes, H. H., & Lange, K. R. (1969). Properties of soluble silicates. *Industrial & Engineering Chemistry*, 61(4), pp 29-44.

Yan Liu., Qing H., Kun Z., Fuwei Y., Lu Y., Liqin, W. (2021). In-situ growth of calcium sulfate dihydrate as a consolidating material for the archaeological bones. *Materials Letters*, (282), pp 128-713.

Yang, F., Dongcheng H., Yan Liu, Ningmin L., & Wang Y. (2016). Conservation of Bone Relics Using Hydroxyapatite as Protective Material. *Applied Physics A*, 122(479), pp 1–5.

Yang, X., Roonasi, P., & Holmgren, A. (2008). A study of sodium silicate in aqueous solution and sorbed by synthetic magnetite using in situ ATR-FTIR spectroscopy. *Journal Of Colloid And Interface Science*, 328(1), pp 41-47.

Ziegenbalg, G., Drdácký, M., Dietze, C., & Schuch, D. (Eds.). (2018). *Nanomaterials in Architecture and Art Conservation*. Pan Stanford Publishing, Singapore, pp 108-130.

Zioupos, P., Hansen, U., & Currey, J. D. (2008). Microcracking damage and the fracture process in relation to strain rate in human cortical bone tensile failure. *Journal of Biomechanics*, 41(14), pp 2932–2939.