



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

“DESARROLLO DE UN MATERIAL
RESTAURADOR DENTAL
EXPERIMENTAL A BASE DE
NANOHIPOXIFOSFATO DE
CALCIO OBTENIDO
DE LA CÁSCARA DE HUEVO”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA VIDA

JOSÉ ALBERTO CASTAÑEDA VÍA

LIMA – PERÚ

2023

ASESORA

PhD. Mg. Esp. CD. Lidia Yileng Tay Chu Jon

Laboratorio de Materiales Dentales

Departamento Académico de Clínica Estomatológica

Facultad de Estomatología

JURADO DE TESIS

DR. JORGE ARTURO BELTRAN SILVA

PRESIDENTE

DR. RONALD GUILLEN

VOCAL

DRA. LESLIE CAROLL CASAS APAYCO

SECRETARIA

DEDICATORIA.

A mi madre Rosana que me impulsa cada día a ser alguien mejor.

A mi hermana Julia por su inagotable apoyo.

AGRADECIMIENTOS.

A la Dra. Lidia Yileng Tay Chu Jon por asesorarme en la presente tesis de doctorado e invitarme a trabajar interdisciplinariamente, permitiéndome adentrarme en un área completamente nueva e interesante para mí. Al Dr. Carlos Vladimir Landauro Sáenz por su apoyo a lo largo del desarrollo de esta tesis, así como las facilidades brindadas para los experimentos en los laboratorios del Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM-UNMSM).

FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

Tesis financiada por el Proyecto Concytec - Banco Mundial “Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica” 8682-PE, a través de su unidad ejecutora Fondecyt [contrato número E033-01-08-2018].

DESARROLLO DE UN MATERIAL RESTAURADOR DENTAL
EXPERIMENTAL A BASE DE NANOHIPOXIPATITA OBTENIDA
DE LA CÁSCARA DE HUEVO

ORIGINALITY REPORT

7 %	6 %	3 %	2 %
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	hdl.handle.net Internet Source	1 %
2	cybertesis.unmsm.edu.pe Internet Source	<1 %
3	Submitted to Universidad Catolica Los Angeles de Chimbote Student Paper	<1 %
4	bdigital.unal.edu.co Internet Source	<1 %
5	qdoc.tips Internet Source	<1 %
6	J. J. Suñol, A. González, L. Escoda, M. T. Mora. "Development of Fe-based nanocrystalline materials by mechanical alloying", Revista de Metalurgia, 2008 Publication	<1 %
7	dspace.unitru.edu.pe Internet Source	<1 %

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

RESUMEN

ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS	6
III.	METODOLOGÍA	7
	III. 1. Etapa 1: Síntesis de hidroxiapatita	7
	III. 1. 1. Proceso de mecano-síntesis	7
	III. 1. 2. Simulación computacional.....	9
	III. 2. Etapa 2: Preparación de refuerzos de hidroxiapatita	10
	III. 2. 1. Síntesis de cuasicristal Al-Cu-Fe-Cr.....	10
	III. 2. 2. Síntesis de nanopartículas de Ag	12
	III. 3. Etapa 3: Formulación de resinas compuestas.....	12
	III. 4. Caracterización	16
	III. 4. 1. Caracterización de los materiales de la Etapa 1	16
	III. 4. 1. 1. Caracterización estructural	16
	III. 4. 1. 2. Caracterización química.....	17
	III. 4. 1. 3. Caracterización morfológica	19
	III. 4. 1. 4. Caracterización piezo-espectroscópica	21
	III. 4. 1. 5. Análisis estadístico.....	22
	III. 4. 2. Caracterización de los materiales de la Etapa 2.....	23
	III. 4. 2. 1. Caracterización estructural.....	23
	III. 4. 2. 2. Caracterización morfológica	23
	III. 4. 3. Evaluación de los materiales de la Etapa 3.....	23

III. 4. 3. 1. Evaluación de color.....	23
III. 4. 3. 2. Evaluación de rugosidad	24
III. 4. 3. 3. Evaluación de grado de conversión.....	25
III. 4. 3. 4. Evaluación de absorción y solubilidad.....	26
III. 4. 3. 5. Evaluación de microdureza	28
III. 4. 3. 6. Evaluación de inhibición antibacteriana	29
III. 4. 3. 7. Análisis estadístico.....	29
IV. RESULTADOS.....	31
IV. 1. Etapa 1: Síntesis de hidroxiapatita	31
IV. 1. 1. Proceso de mecano-síntesis	31
IV. 1. 2. Simulación computacional	40
IV. 2. Etapa 2: Preparación de refuerzos de hidroxiapatita.....	48
IV. 2. 1. Síntesis de cuasicristal Al-Cu-Fe-Cr	48
IV. 2. 2. Síntesis de nanopartículas de Ag.....	51
IV. 3. Etapa 3: Formulación de resinas compuestas.....	54
V. DISCUSIÓN.....	71
VI. CONCLUSIONES.....	83
VII. REFERENCIAS	85
VIII. ANEXOS	
A. Difractogramas de las HAp obtenidas por mecano-síntesis	
B. Espectros FTIR de las HAp obtenidas por mecano-síntesis	
C. Espectros Raman de las HAp obtenidas por mecano-síntesis	
D. Distribución de tamaños de las HAp obtenidas por mecano-síntesis	
E. Script de estabilidad de la HAp y CHAp	
F. Difractogramas de los refuerzos	
G. Matrices de datos de la evaluación de los grupos de estudio	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Diagrama de flujo con las diferentes etapas del presente trabajo.....	7
Figura 3.2. Representación gráfica de la ley de Bragg (izquierda) y esquema experimental de la técnica DRX (derecha).....	17
Figura 3.3. Esquema experimental de la técnica FTIR.....	18
Figura 3.4. Esquema experimental de la técnica MEB.....	20
Figura 3.5. Esquema experimental de la técnica SPOS.....	21
Figura 3.6. Esquema experimental de la técnica CRM.....	22
Figura 3.7. Espectrofotómetro EasyShade 4.0 realizando la lectura de los parámetros de color de una resina compuesta.....	24
Figura 3.8. Microscopio óptico digital VHX-7000 para la lectura de la rugosidad de resinas compuestas.....	25
Figura 3.9. Bandas alifáticas y aromáticas en el espectro infrarrojo de una resina compuesta antes y después de polimerizar (arriba) y esquema del cambio en la estructura molecular de los monómeros debido a la polimerización (abajo).....	27
Figura 3.10. Montaje experimental para el ensayo de absorción y solubilidad en agua de resinas compuestas.....	27
Figura 3.11. Microdurómetro HV-1000 para la medida de la microdureza Vickers.....	28

Figura 3.12. Siembra de bacterias mediante la técnica de difusión (arriba) y resinas compuestas sobre las placas con agar para el ensayo de inhibición (abajo).....	30
Figura 4.1. Concentración de fases cristalinas en las muestras sintetizadas por mecano-síntesis.....	32
Figura 4.2. Parámetros cristalográficos “a”, “c”, volumen de la celda unitaria V y tamaño promedio de cristalito $\langle D \rangle$ en función del tiempo de molienda y temperatura de tratamiento térmico.....	33
Figura 4.3. Espectros infrarrojos de las muestras sometidas a mecano-síntesis durante 20 horas y con diferentes temperaturas de tratamiento térmico.....	34
Figura 4.4. Razones entre las bandas CO_3^{2-} y PO_4^{3-} obtenidas por FTIR.....	35
Figura 4.5. Micrografías MEB a cuatro muestras obtenidas por mecano-síntesis.....	35
Figura 4.6. Concentración elemental en las muestras obtenidas por mecano-síntesis mediante EDS. Las líneas punteadas corresponden a la concentración nominal de la hidroxiapatita.	36
Figura 4.7. Valor medio (izquierda) y de moda (derecha) de partículas correspondientes a las muestras obtenidas por mecano-síntesis analizadas por SPOS.....	36
Figura 4.8. Banda vibracional Raman ν_1 del ion fosfato para diferentes muestras obtenidas por mecano-síntesis (arriba) y mapa de tensión elástica interna para diferentes tiempos de molienda y temperaturas de tratamiento térmico (abajo).....	37

Figura 4.9. Gráfico de las componentes principales de las muestras preparadas por mecano-síntesis. Encerradas en elipses se presentan aquellas muestras que presentan similitudes entre sí de acuerdo a sus componentes.....	39
Figura 4.10. Estructura hexagonal de la celda unitaria de una hidroxiapatita convencional con fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (izquierda) y de una carboapatita tipo B con fórmula $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ (derecha).....	40
Figura 4.11. Valores de energía vs energía de corte para ambas estructuras.....	41
Figura 4.12. Valores de energía vs densidad de carga para ambas estructuras.....	41
Figura 4.13. Valores de energía vs puntos K para ambas estructuras.....	41
Figura 4.14. Superficie de energía modulada por los parámetros de red a y c para las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo).....	42
Figura 4.15. Densidad de estados electrónicos de las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo) con sus respectivos <i>bandgap</i>	44
Figura 4.16. Densidad de estados parciales desglosados por iones y orbitales de las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo).....	45
Figura 4.17. Espectro UV-Visible de las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo). La figura insertada corresponde al gráfico de Tauc para determinar el <i>bandgap</i>	47
Figura 4.18. Comparación de los valores teórico y experimental del <i>bandgap</i> en las muestras HAp-SG y HAp-MQ.	48

Figura 4.19. Difractograma refinado de la mezcla de muestras monofásicas de cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr usando la fase aproximante O_1	49
Figura 4.20. Micrografía MEB del cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr.....	50
Figura 4.21. Espectro EDS de la muestra de cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr.....	50
Figura 4.22. Difractograma refinado del compuesto Ag-HAp usando las fases hidroxiapatita y plata.	52
Figura 4.23. Micrografía MEB del compuesto Ag-HAp.....	53
Figura 4.24. Espectro EDS del compuesto Ag-HAp.....	53
Figura 4.25. Difractograma del relleno HAp-fill.....	55
Figura 4.26. Resina Si40 durante el proceso de formulación. Se aprecia su textura granulosa que impide su correcta manipulación y polimerización.....	56
Figura 4.27. Resinas QC-HAp70 (izquierda) y Ag-HAp40 (derecha) durante el proceso de fotopolimerización. Se aprecia que las resinas no llegan a polimerizar debido a la coloración grisácea.....	56
Figura 4.28. Parámetros cromáticos L , a^* y b^* de las muestras en estudio, y sus tonos equivalentes en el sistema VITA Classical. Los símbolos (*) y (**) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$	58
Figura 4.29. Rugosidad aritmética media de las muestras en estudio. Los símbolos (*) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$	59

Figura 4.30. Bandas de los enlaces aromático (1608 cm^{-1}) y alifático (1638 cm^{-1}) obtenidas por FTIR que se utilizan en el cálculo del grado de conversión de una resina compuesta.....	60
Figura 4.31. Grado de conversión de las resinas compuestas en estudio. Los símbolos (*) y (**) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$	60
Figura 4.32. Absorción (izquierda) y solubilidad (derecha) de las resinas compuestas en estudio. Los símbolos (*) y (**) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$	61
Figura 4.33. Densidad de las resinas compuestas en estudio. Los símbolos (*) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$	62
Figura 4.34. Microdureza Vickers de las muestras en estudio (izquierda) y el ajuste alométrico para las resinas respecto al contenido de relleno de hidroxiapatita (derecha). Los símbolos (*) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$	63
Figura 4.35. Curvas de la regla de las mezclas generalizada (GMR) con diferentes valores de J para la microdureza de resinas con relleno de HAp utilizando (A) valores mecánicos de la literatura y (B) valores obtenidos del ajuste exponencial. Se presentan los datos experimentales obtenidos en el presente trabajo (★) y su corrección considerando la porosidad del material (●).....	67
Figura 4.36. Gráfico de las componentes principales de las resinas compuestas estudiadas. Se muestran las variables evaluadas como líneas azules, mientras que	

los grupos Z350, LX5, HAp40, HAp50, HAp60 y HAp70 como círculos
rojos.....68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1. Muestras preparadas mediante mecano-síntesis según tiempo de molienda y temperatura de tratamiento térmico.....	9
Tabla 3.2. Concentración en peso de los componentes de las resinas compuestas formuladas.....	14
Tabla 3.3. Grupos de estudio y su descripción según porcentaje y tipo de relleno.....	15
Tabla 4.1. Tensión elástica interna de las muestras obtenidas por mecano-síntesis medida por CRM.....	38
Tabla 4.2. Parámetros cristalográficos obtenidos de la optimización para las muestras HAp-SG y HAp-MQ.....	43
Tabla 4.3. Composición elemental en porcentaje atómico y en peso de la muestra cuasicristalina.....	51
Tabla 4.4. Composición elemental en porcentaje atómico y en peso del compuesto Ag-HAp.....	54
Tabla 4.5. Microdureza Vickers de las resinas a base de hidroxiapatita y su corrección para ser consideradas materiales no porosos.....	68
Tabla 4.6. Halos de inhibición antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> de las muestras en estudio.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

HAp:	Hidroxiapatita
TCP:	Fosfato tricálcico
RBC:	Resina compuesta
ENT:	Enfermedad no transmisible
DFT:	Teoría del funcional de la densidad
GGA:	Aproximación de gradiente generalizado
DOS:	Densidad de estados electrónicos
d-QC:	Cuasicristal decagonal
NPs-Ag:	Nanopartículas de plata
Bis-GMA:	Bisfenol A glicidil metacrilato
TEGDMA:	Dimetacrilato de trietilenglicol
BHT:	Butilhidroxitolueno
DMAEMA:	Acrilato de dimetilaminoetilo
CQ:	Alcanforquinona
LED:	Diodo de emisión de luz
ICDD:	Centro Internacional de Datos de Difracción
DRX:	Difracción de rayos X
FTIR:	Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier
ATR:	Reflexión total atenuada
MEB:	Microscopía electrónica de barrido
BSD:	Detector de electrones retrodispersados
EDS:	Espectroscopía de energía dispersiva
SPOS:	Análisis óptico de partícula individual

CRM:	Microscopía Raman confocal
UHTS:	Espectrómetro de ultra alto rendimiento
CCD:	Dispositivo de carga acoplada
⟨D⟩:	Tamaño promedio de cristalito
a:	Parámetro de red a
c:	Parámetro de red c
ν_1 :	Modo vibracional de estiramiento simétrico del ion PO_4^{3-}
Ry:	Rydberg (1 Ry = 13.61 eV)
F_t :	Suma de fuerzas internas
E_F :	Energía de Fermi
PCA:	Análisis de componentes principales
CIELab:	Comisión Internacional de Iluminación L-a-b
L:	Luminosidad
a^* :	Parámetro cromático a^*
b^* :	Parámetro cromático b^*
R_a :	Rugosidad aritmética media
DC:	Grado de conversión
ISO:	Organización Internacional para la Estandarización
W_{SP} :	Absorción de agua
W_{SL} :	Solubilidad en agua
ρ :	Densidad
HV:	Microdureza Vickers
GMR:	Regla de las mezclas generalizada
ATCC:	Colección americana de tipos de cultivos

RESUMEN

El presente trabajo consistió en la formulación de un material restaurador dental a base de nanopartículas de hidroxiapatita (HAp) obtenida de la cáscara de huevo de gallina. Para ello se utilizó el método de mecano-síntesis para la preparación de HAp usando como precursor de calcio a la cáscara de huevo, variando el tiempo de molienda y la temperatura de tratamiento térmico. Se utilizaron las técnicas de DRX, FTIR, MEB, EDS, SPOS y CRM para determinar cuáles fueron las condiciones óptimas de preparación, obteniendo que para 16 horas de molienda y 400 °C de tratamiento térmico la HAp resultante consistía en un material puro con tamaño nanométrico, inclusiones de carbonato y mayor tensión elástica interna. A la par, se realizaron simulaciones computacionales mediante cálculos *ab-initio* para obtener algunas propiedades físicas de manera teórica en dos tipos de HAp: sin y con inclusión de iones de carbonato en su estructura. Además, se sintetizaron dos tipos de refuerzos: un refuerzo mecánico de cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr mediante la técnica de horno de arco, y un refuerzo de nanopartículas de Ag mediante co-precipitación química *in-situ*. Ambos mostraron ser materiales nanoestructurados con estequiometría acorde a lo esperado. Finalmente, se formularon resinas compuestas (RBCs) con rellenos de HAp pura mediante una mezcla manual de monómeros Bis-GMA/TEGDMA, y diferentes concentraciones de relleno (40 – 70 %wt.). Las RBCs se estudiaron mediante diferentes metodologías de evaluación, obteniendo propiedades como color, rugosidad, grado de conversión e inhibición antibacteriana similares a las de dos resinas comerciales; o características como absorción, solubilidad y microdureza diferentes a las de dichas resinas comerciales. Además, se propusieron modelos analíticos para

describir el comportamiento mecánico de las RBCs basadas en HAp, así como predecir su resistencia mecánica en función del contenido de relleno. Se concluyó que las RBCs basadas en HAp tiene potencial aplicación como un material restaurador dental de bajo costo y eco-amigable.

PALABRAS CLAVES

RESINAS COMPUESTAS, NANOHIIDROXIAPATITA, CÁSCARA DE HUEVO

ABSTRACT

The present work consisted in the formulation of a dental restorative material based on hydroxyapatite (HAp) nanoparticles obtained from chicken eggshells. For this, the mechano-synthesis method was used for the preparation of HAp using the eggshell as a calcium precursor, varying the milling time and the heat treatment temperature. The DRX, FTIR, MEB, EDS, SPOS and CRM techniques were used to determine the optimal preparation conditions, obtaining that for 16 hours of milling and 400 °C of heat treatment, the resulting HAp consisted of a pure material with size nanometric, carbonate inclusions and higher internal elastic stress. At the same time, computational simulations were carried out using *ab-initio* calculations to obtain some theoretical physical properties in two types of HAp: without and with inclusion of carbonate ions in its structure. In addition, two types of reinforcements were synthesized: a mechanical reinforcement of decagonal quasicrystal Al-Cu-Fe-Cr using the arc furnace technique, and an Ag nanoparticles reinforcement by *in-situ* chemical co-precipitation. Both showed to be nanostructured materials with stoichiometry as expected. Finally, composite resins (RBCs) with pure HAp fillers were formulated by manual mixing of Bis-GMA/TEGDMA monomers, and different filler concentrations (40–70% wt.). The RBCs were studied using different evaluation methodologies, obtaining properties such as color, roughness, degree of conversion, and antibacterial inhibition similar to those of two commercial resins; or characteristics such as sorption, solubility and microhardness different from those of said commercial resins. Furthermore, analytical models were proposed to describe the mechanical behavior of HAp-based RBCs, as well as to predict their mechanical strength as a function of filler content.

It was concluded that HAp-based RBCs have potential application as a low-cost and eco-friendly dental restorative material.

KEY WORDS

COMPOSITE RESIN, DURAPATITE, EGGSHELL

I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad multifactorial generada por bacterias cariogénicas adheridas a los dientes, especialmente biofilms a base de *Streptococcus Mutans*, que metabolizan carbohidratos y generan un medio ácido, desmineralizando la estructura dental con el tiempo (1). Esta enfermedad no transmisible (ENT) es un problema de salud pública que afecta a millones de personas en el mundo (en promedio al 43% de la población mundial) y sobre todo a nuestro país, con una prevalencia entre 35.6% y 40.6% (2), siendo más crítico en menores de 12 años (entre 90% y 94.3% en los últimos 12 años) (3). Esta enfermedad bucodental generada por diversos factores como el cambio brusco del pH bucal, malos hábitos alimenticios y/o falta de higiene oral (4), afecta principalmente al mineral de los dientes llamado hidroxiapatita (HAp), el cual conforma el 98% del esmalte dental y el 70% de la dentina (5,6).

La HAp ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) es un compuesto mineral que se encuentra naturalmente en el tejido óseo y dental, lo que le confiere una excelente biocompatibilidad y osteoconductividad (7,8). Debido a sus propiedades, la HAp se ha utilizado en una variedad de aplicaciones médicas, incluyendo la regeneración ósea y remineralización dental (9,10), así como su uso como relleno de resinas compuestas para mejorar la estabilidad y la durabilidad de las restauraciones dentales (11).

En la odontología restaurativa, las resinas compuestas (*Resin-based composite*, RBC) son uno de los materiales más utilizados para la reconstrucción de dientes dañados a lo largo de casi 60 años (12,13). Estos materiales son una mezcla de una matriz de monómeros y rellenos inorgánicos, y se utilizan comúnmente en la técnica

de "capa por capa" para construir restauraciones directamente en la boca del paciente (14,15). Sin embargo, las RBCs pueden ser propensas a la contracción de polimerización y la deformación, lo que puede provocar fallas en la restauración (16–18). La inclusión de HAp en RBCs puede mejorar la estabilidad dimensional y la resistencia mecánica de las restauraciones (19,20). La HAp se ha utilizado también como relleno en sistemas adhesivos específicos (21–24), cuyos estudios han demostrado que la adición de HAp mejora la fuerza de adhesión y la resistencia al desgaste. Además, la HAp tiene propiedades antibacterianas y, al liberar iones de calcio y fosfato que son esenciales para la remineralización del esmalte dental, ayuda a prevenir la formación de caries secundarias y la inflamación en la zona restaurada (25–27).

Por otro lado, la HAp puede sintetizarse en el laboratorio por diferentes rutas: co-precipitación química, hidrotermal, mecano-síntesis, reacción de estado sólido, entre otras (28), generando diferencias en el producto final, tanto en forma como en tamaño de las partículas y/o granos (29–33), lo que le proporciona distintas propiedades físicas, químicas, mecánicas y biológicas. Además, el origen de los compuestos precursores para la síntesis o la propia HAp puede provenir de fuentes animales, vegetales o minerales (34,35). Un caso particular es el de la cáscara de huevo de gallina, que se encuentra conformada de carbonato de calcio, componente rico en iones de calcio para la síntesis de HAp (36).

La cáscara de huevo de gallina es un potencial componente que se ha utilizado en la síntesis de HAp (37). No obstante, al ser el carbonato de calcio un compuesto poco soluble en agua, impide su dilución para usarse por la ruta de co-precipitación química, obligando a transformarlo en compuestos como el nitrato de calcio (38–

40) que generan soluciones tóxicas como residuos. Una alternativa a esta limitación es el uso de la molienda mecánica como proceso de mecano-síntesis para obtener HAp (41–43), cuya metodología permite usar directamente el carbonato de calcio en un vial de alta resistencia, que contiene los compuestos precursores junto a bolas que se agitan y generan la reacción química a través de los choques entre ellas (44,45). Algunos autores han reportado la mecano-síntesis de HAp utilizando cáscara de huevo de gallina junto a un compuesto de fosfato de calcio, donde la cáscara cumple el rol de modulador de la estequiometría (46,47), aunque esta puede ser utilizada directamente en un solo paso junto a un precursor de iones fosfato y así obtener HAp (48–50).

Con el propósito de formular una RBC basada en HAp obtenida por metodologías sostenibles, que tenga bajo impacto al medio ambiente y reutilice subproductos orgánicos, se planteó utilizar la cáscara de huevo de gallina como compuesto precursor mediante mecano-síntesis que permita sintetizar HAp en un solo paso.

Además, las RBCs basadas en HAp puede ser reforzadas de manera mecánica y antibacteriana, utilizando materiales que sean innovadores. Como refuerzo mecánico se tuvo en cuenta a los cuasicristales. Estos materiales tienen la peculiaridad de tener un ordenamiento molecular a largo alcance, pero sin presentar periodicidad cristalina en su estructura (51). Esta característica hace que los cuasicristales presenten propiedades atípicas pero aprovechables en diferentes áreas de la ciencia e ingeniería (52,53).

Los cuasicristales han sido objeto de investigación en diversas áreas, incluida la estomatología. Una de sus aplicaciones más estudiadas es la fabricación de

implantes médicos. Estos implantes a base de cuasicristales han demostrado tener una mayor resistencia a la corrosión y un mejor estrés de tracción que los implantes de titanio (54), que es el material más comúnmente utilizado para la fabricación de implantes dentales. Además, se ha comprobado que pueden fabricarse RBCs fotopolimerizables con cuasicristal que tengan propiedades mecánicas mejoradas como una alta dureza y un bajo coeficiente de fricción (55). En particular, la familia de cuasicristales a base de aluminio se ha venido estudiando como potencial refuerzo de matrices cerámicas y poliméricas debido a su biocompatibilidad y resistencia mecánica (56,57), por lo que el cuasicristal de estructura decagonal Al-Cu-Fe-Cr es un potencial refuerzo mecánico de las RBCs basadas en HAp formuladas en la presente tesis.

Las RBCs pueden ser propensas a la acumulación de placa dental y a la colonización bacteriana en la interface diente-resina, lo que puede llevar a la formación de nueva caries dental u otras infecciones orales como la enfermedad periodontal (58,59). Por ello, el otro tipo de refuerzo que se puede aplicar a las RBCs a base de HAp es el de tipo antibacteriano. Entre los materiales más usados para este fin se encuentran las nanopartículas de plata (NPs-Ag), materiales que se encuentran en el rango de 1 a 100 nm y que a esa escala sus propiedades son muy distintas a las de su contraparte sólida debido a su alta relación área/volumen (60). Las NPs-Ag tienen diferentes mecanismos de acción antibacteriana: la alteración de las proteínas de la membrana, la acumulación de cadenas de transporte de electrones en la membrana que afecta la permeación, la alteración de las bombas de eflujo, la alteración de la membrana y la fuga del contenido intracelular, y la interacción y posterior daño en el ADN (61).

No obstante, a pesar de presentar muchos beneficios, es importante tener en cuenta que la liberación continua de NPs-Ag por parte de las RBCs puede tener efectos secundarios no deseados, por lo que es necesario controlar su citotoxicidad en tejidos blandos para su uso en la odontología (62–64).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de este estudio es desarrollar una resina compuesta experimental como material restaurador dental usando hidroxiapatita obtenida de la cáscara de huevo como relleno, y considerando reforzarla con partículas metálicas para mejorar sus propiedades mecánicas y antibacterianas, como el d-QC y las NPs-Ag, respectivamente.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar un material restaurador dental experimental a base de nanohidroxiapatita obtenida de la cáscara de huevo con propiedades físico-mecánicas similares a los tejidos dentales.

Objetivos específicos

- Optimizar un protocolo de síntesis de nanohidroxiapatita usando la cáscara de huevo como precursor de calcio mediante la técnica de mecano-síntesis utilizando un molino de bolas.
- Funcionalizar de manera mecánica y antibacteriana la nanohidroxiapatita sintetizada con refuerzos de una aleación cuasicristalina de Al-Cu-Fe-Cr y nanopartículas de Ag, respectivamente.
- Formular las resinas compuestas experimentales consistentes en una matriz orgánica de mezcla de monómeros, y un relleno inorgánico a base de nanohidroxiapatita a diferentes porcentajes de peso.
- Evaluar las propiedades físicas (color, rugosidad, grado de conversión, absorción y solubilidad) de las resinas compuestas formuladas.
- Evaluar la resistencia mecánica (microdureza Vickers) de las resinas compuestas formuladas.
- Evaluar las propiedades biológicas (halo de inhibición) de las resinas compuestas formuladas.

III. METODOLOGÍA

La metodología seguida en la presente tesis está dividida en tres etapas consecutivas: “Mecano-síntesis de hidroxiapatita”, “Preparación de refuerzos de hidroxiapatita” y “Formulación de resinas compuestas” (véase la Figura 3.1). A continuación, se detallará cada una de dichas etapas.

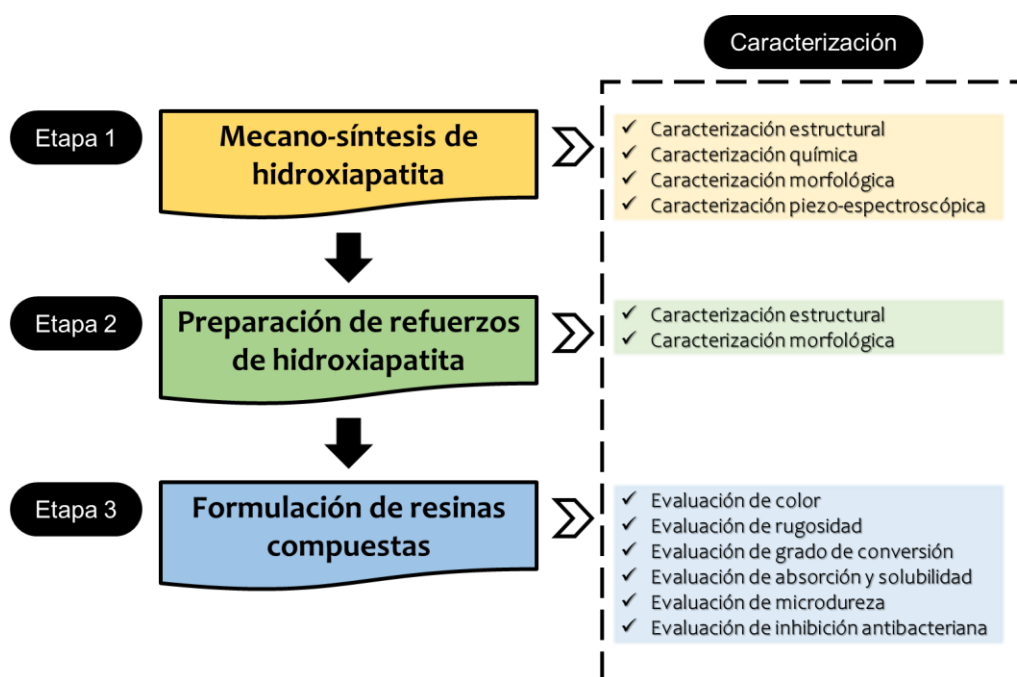


Figura 3.1. Diagrama de flujo con las diferentes etapas del presente trabajo.

III. 1. Etapa 1: Síntesis de hidroxiapatita

III. 1. 1. Proceso de mecano-síntesis

La preparación de hidroxiapatita se realizó usando la técnica de mecano-síntesis (65). En un reactor de óxido de zirconio dopado con itrio (YZrO_2) de 125 mL se colocaron los compuestos precursores junto a billas del mismo material del reactor en una razón de masa de billas a masa de muestra de 7:1. Los compuestos precursores utilizados fueron, por un lado, carbonato de calcio en estructura calcita

obtenida directamente de cáscara de huevo de gallina (CaCO_3) como fuente de iones Ca^{2+} y, por otro lado, fosfato monoamónico ($(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$) adquirido comercialmente (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) como fuente de iones PO_4^{3-} . Siguiendo la siguiente ecuación de reacción (48):



se utilizaron 10.478 g de cáscara de huevo y 7.225 g de fosfato monoamónico para mantener la relación molar Ca/P = 1.67 y obtener nominalmente 10.518 g de hidroxiapatita. El reactor con la mezcla en polvo y las billas se selló herméticamente y se llevó a un molino de bolas planetario PM 400 (Retsch GmbH, Haan, Alemania). La velocidad de giro del disco principal del molino se fijó en 350 rpm, mientras que el reactor giró en sentido contrario y al triple que el disco principal. La rutina que se siguió para el proceso de mecano-síntesis consistió en lapsos de molienda de 30 min con pausas de 5 min con inversión de giro hasta llegar a las 2 h de molienda neta, para luego abrir el reactor dejando escapar los gases generados y raspar la muestra acumulada en las paredes y billas.

Se prepararon muestras independientes a 4 h, 8 h, 12 h, 16 h y 20 h de molienda. A continuación, se pesaron 1.5 g de cada muestra para ser llevados a un horno tubular VCTF4 (Vecstar Ltd, Chesterfield, Reino Unido) y aplicar tratamientos térmicos a cada muestra a 200 °C, 400 °C, 600 °C, 800 °C y 1000 °C, con velocidad de calentamiento de 5 °C/min y manteniendo la muestra a las temperaturas mencionadas durante 3 horas. También se reservó muestra a temperatura ambiente dándole la etiqueta de RT (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Muestras preparadas mediante mecano-síntesis según tiempo de molienda y temperatura de tratamiento térmico.

Tiempo de molienda	Temperatura de tratamiento térmico					
	RT	200 °C	400 °C	600 °C	800 °C	1000 °C
4 horas	4h-RT	4h-200	4h-400	4h-600	4h-800	4h-1000
8 horas	8h-RT	8h-200	8h-400	8h-600	8h-800	8h-1000
12 horas	12h-RT	12h-200	12h-400	12h-600	12h-800	12h-1000
16 horas	16h-RT	16h-200	16h-400	16h-600	16h-800	16h-1000
20 horas	20h-RT	20h-200	20h-400	20h-600	20h-800	20h-1000

Luego de definir la muestra con las condiciones ideales para ser usada como relleno de la resina compuesta, se realizaron 12 procesos de mecano-síntesis iguales para obtener suficiente cantidad de hidroxiapatita. A este proceso se aplicó un paso adicional de lavado de cada muestra tres veces con agua destilada con una centrífuga, con el fin de eliminar rastros de iones amonio que puedan quedar en las muestras. Una vez analizadas y verificadas la pureza de las muestras, se mezclaron para tener una sola muestra de relleno denominado “HAp-fill”.

III. 1. 2. Simulación computacional

Con el fin de comparar el material obtenido mediante el proceso de mecano-síntesis con una hidroxiapatita convencional, se realizó una simulación computacional *ab-initio* usando la teoría del funcional de la densidad (*Density Functional Theory*, DFT) (66). Los cálculos se realizaron usando el código Quantum Espresso (67) con pseudopotenciales ultrasuaves para representar la interacción entre los núcleos

iónicos y los electrones de valencia en la hidroxiapatita. El potencial de correlación de intercambio de electrones de Perdew-Burke-Ernzerhof se enmarcó dentro de una aproximación de gradiente generalizado (*Generalized Gradient Approximation*, GGA). Las funciones de onda de Kohn-Sham (68) se representaron usando una base de onda plana truncada a una energía de corte y una densidad de carga de corte a evaluar realizando cálculos previos hasta alcanzar la estabilidad. Las zonas de Brillouin se muestrearon con una malla Monkhorst-Pack de puntos-k en el espacio recíproco también ensayando diferentes mallas previamente hasta alcanzar la estabilidad. La optimización estructural se llevó a cabo realizando cálculos auto-consistentes de energía total para diferentes valores de los parámetros de red a y c , y luego ajustando la superficie de energía con la ecuación de estado isotérmica de Birch-Murnaghan (69). Con la estructura ya optimizada se calcularon la densidad de estados electrónicos (*Density of states*, DOS) para obtener el ancho de la banda prohibida o gap de energía.

III. 2. Etapa 2: Preparación de refuerzos de hidroxiapatita

Con el objetivo de funcionalizar la hidroxiapatita y darle propiedades mejoradas, se prepararon dos tipos de refuerzos: una aleación de cuasicristal (d-QC) de Al-Cu-Fe-Cr como refuerzo mecánico y nanopartículas de plata (NPs-Ag) como refuerzo antibacteriano. A continuación, se detallarán los procesos de preparación de cada uno.

III. 2. 1. Síntesis de cuasicristal Al-Cu-Fe-Cr

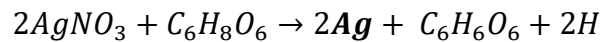
La síntesis del refuerzo de cuasicristal decagonal (d-QC) de Al-Cu-Fe-Cr se realizó mediante la técnica de horno de arco (70). Se usaron reactivos elementales de

aluminio, cobre, hierro y cromo de pureza mayor al 99.9% (Sigma-Aldrich, Missouri, Estados Unidos), los cuales fueron pesados siguiendo la fórmula estequiométrica nominal $\text{Al}_{65}\text{Cu}_{20}\text{Fe}_8\text{Cr}_7$ considerando una masa de 2 gramos por muestra y 9 muestras en total. Se colocaron dichos elementos en la cámara del horno de arco sobre el electrodo de cobre, de abajo hacia arriba en orden ascendente según su temperatura de evaporación ($T_{\text{Al}} = 1200\text{ °C}$, $T_{\text{Cu}} = 2567\text{ °C}$, $T_{\text{Cr}} = 2672\text{ °C}$, $T_{\text{Fe}} = 2750\text{ °C}$). Se aisló la cámara con purga constante de argón para evitar la oxidación de los metales durante la fundición, y se mantuvieron los electrodos en refrigeración interna con flujo de agua. Con ayuda de una llave pedal, se procedió a cerrar el circuito del horno para aplicar una alta diferencia de potencial y generar el arco voltaico entre el electrodo manual de tungsteno y el electrodo base de cobre. Una vez generado el arco, se manipuló llevándolo sobre la muestra metálica con movimientos envolventes durante 30 segundos. Una vez terminada la síntesis de todas las muestras, estas se encapsularon con un soplete de soldadura oxiacetilénica en tubos de cuarzo con atmósfera de argón, para luego llevarlas a un tratamiento térmico. El tratamiento térmico se realizó en un horno tubular VCTF4 (Vecstar Ltd, Chesterfield, Reino Unido) durante 48 horas a 800 °C con una velocidad de calentamiento de 5 °C/min . Finalmente, una vez fría cada muestra fue pulverizada con una lima de taller cuadrada de alta dureza 1142 (PFERD-Werkzeuge GmbH, Marienheide, Alemania) y un mortero de ágata, para luego ser tamizada con una malla de 325 mesh hasta obtener un polvo fino con partículas menores a 44 micrómetros. Una vez analizadas y verificadas la pureza de las muestras, se mezclaron para tener una sola muestra de refuerzo que luego se agregó a la hidroxiapatita en 20% en peso y se denominó “QC-HAp”.

III. 2. 2. Síntesis de nanopartículas de Ag

La síntesis del refuerzo de nanopartículas de plata (NPs Ag) se realizó mediante la ruta de co-precipitación química basado en el método de Miranda y col. (71). Se utilizó como compuesto precursor al nitrato de plata (AgNO_3) adquirido comercialmente (Labchimica, Lima, Perú) y como agente reductor al ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) de alta pureza (Sigma-Aldrich, Missouri, Estados Unidos).

Teniendo en cuenta la siguiente ecuación de reacción química:



se preparó una solución con 3.150 g de nitrato de plata a 1 M y se precipitó sobre una solución reductora de 1.633 g de ácido ascórbico y 38 g de HAp-fill en 100 mL de agua, para obtener nominalmente un compuesto de Ag e HAp a razón de 5%/95% en peso. Se ajustó manualmente una pera de decantación para que el goteo sea de 2 gotas/s mientras se mantuvo la solución reductora en constante agitación magnética a 400 rpm durante 30 min. Luego, se dejó decantar la solución durante 1 día para separar la fase acuosa de la fase precipitada, y seguidamente se lavó la muestra tres veces con agua destilada en una centrífuga, con el fin de eliminar los iones nitrato de la muestra. La pasta obtenida se secó en una estufa a 120 °C durante 1 hora y se obtuvo un polvo gris al que se denominó “Ag-HAp”.

III. 3. Etapa 3: Formulación de resinas compuestas

Las resinas compuestas experimentales se formularon siguiendo la metodología de Dominguez (72). Estas consistieron en una matriz orgánica de mezcla de monómeros bisfenol A glicidil metacrilato (Bis-GMA) y dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA), un inhibidor de butilhidroxitolueno (BHT), un co-

iniciador de acrilato de dimetilaminoetilo (DMAEMA) y un fotopolimerizador de alcanforquinona (CQ) en las concentraciones indicadas en la Tabla 3.2, y un relleno orgánico que definió el grupo de estudio según su porcentaje en masa y el tipo de material como se detalla en la Tabla 3.3. Los reactivos de la matriz orgánica fueron adquiridos comercialmente como compuestos de alta pureza (Sigma-Aldrich, Missouri, Estados Unidos). La formulación se realizó manualmente con un mortero de vidrio con pilón, agregando primero la mezcla de monómeros Bis-GMA y TEGDMA hasta unificar, luego el DMAEMA y BHT, seguidamente se agregó la CQ y finalmente el relleno. Todo el proceso se realizó en un cuarto oscuro con iluminación roja para evitar la incidencia de luz sobre las resinas, y al término de la formulación todas las resinas se almacenaron en recipientes oscuros y se llevaron a una refrigeradora a 4 °C hasta el momento de la polimerización. Para la preparación de especímenes se utilizó un molde diseñado en dos partes simétricas con una cavidad cilíndrica de 7 mm Ø x 3 mm de espesor e impreso en 3D por inyección de polímero de ácido poliláctico. El molde se colocó sobre una placa de vidrio a la cual se le colocó una tira de poliéster Airon (Maquira Indústria de Produtos Odontológicos S.A., Maringá, Brasil) para lograr una superficie lisa en la resina. Una segunda tira de poliéster se colocó sobre la resina ya puesta en el molde, y se aplicó una carga de 1 kg durante 1 min para asegurar la uniformidad de la muestra y que no queden burbujas de aire en el molde. Luego se polimerizó cada muestra usando una lámpara LED de fotocurado Valo (Ultradent Products Inc., South Jordan, Estados Unidos) con una potencia de 3200 mW/cm² durante 20 seg.

Tabla 3.2. Concentración en peso de los componentes de las resinas compuestas formuladas.

	Resina40	Resina50	Resina60	Resina70
Relleno	40%	50%	60%	70%
Bis-GMA	29.755%	24.755%	19.755%	14.755%
TEGDMA	29.755%	24.755%	19.755%	14.755%
CQ	0.2%	0.2 %	0.2%	0.2%
BHT	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
DMAEMA	0.19%	0.19%	0.19%	0.19%

Se utilizaron especímenes de esmalte y dentina como grupos controles, los cuales fueron obtenidos de dientes humanos premolares sanos extraídos por razones ortodónticas ajenas al estudio, con el fin de comparar sus propiedades físicas y mecánicas con las de las resinas compuestas. Además, se usaron resinas comerciales con el fin de comparar sus propiedades físicas, mecánicas y biológicas con las resinas experimentales formuladas en la presente tesis. Estas fueron las resinas Filtek Z350 XT (3M ESPE, Minesota, EE.UU.) y Palfique LX5 (Tokuyama Dental Corporation, Tokio, Japón) denominadas como grupos “Z350” y “LX5”, respectivamente, las cuales fueron polimerizadas según las recomendaciones de cada fabricante. Adicionalmente, se formularon resinas compuestas con relleno de sílice (Sigma-Aldrich, Missouri, Estados Unidos) al 40% y 50% en peso como grupos de referencia.

Tabla 3.3. Grupos de estudio y su descripción según porcentaje y tipo de relleno.

Grupo	Descripción	Grupo	Descripción
Esmalte	Grupo control de especímenes de esmalte dental	HAp70	Resina compuesta con 70% en peso de relleno de hidroxiapatita
Dentina	Grupo control de especímenes de dentina	QC-HAp40	Resina compuesta con 40% en peso de relleno de cuasicristal/hidroxiapatita (20%/80%)
Z350	Resina comercial Filtek® Z350 (3M, Estados Unidos)	QC-HAp50	Resina compuesta con 50% en peso de relleno de cuasicristal/hidroxiapatita (20%/80%)
LX5	Resina comercial Palfique® LX5 (Tokuyama, Japón)	QC-HAp60	Resina compuesta con 60% en peso de relleno de cuasicristal/hidroxiapatita (20%/80%)
Si40	Resina compuesta con 40% en peso de relleno de sílice	QC-HAp70	Resina compuesta con 70% en peso de relleno de cuasicristal/hidroxiapatita (20%/80%)
Si50	Resina compuesta con 50% en peso de relleno de sílice	Ag-HAp40	Resina compuesta con 40% en peso de relleno de plata/hidroxiapatita (5%/95%)
HAp40	Resina compuesta con 40% en peso de relleno de hidroxiapatita	Ag-HAp50	Resina compuesta con 50% en peso de relleno de plata/hidroxiapatita (5%/95%)
HAp50	Resina compuesta con 50% en peso de relleno de hidroxiapatita	Ag-HAp60	Resina compuesta con 60% en peso de relleno de plata/hidroxiapatita (5%/95%)
HAp60	Resina compuesta con 60% en peso de relleno de hidroxiapatita	Ag-HAp70	Resina compuesta con 70% en peso de relleno de plata/hidroxiapatita (5%/95%)

III. 4. Caracterización

Los materiales formulados y estudiados fueron caracterizados según cada etapa bajo las siguientes técnicas:

III. 4. 1. Caracterización de los materiales de la Etapa 1

III. 4. 1. 1. Caracterización estructural

La caracterización estructural se realizó mediante la técnica de difracción de rayos X (DRX). La técnica DRX se basa en la interferencia constructiva de haces de rayos X por su naturaleza ondulatorio y debido a la interacción con un sólido ordenado. En el montaje experimental de un análisis por DRX, los haces de rayos X que inciden sobre la muestra interaccionan de manera elástica con los átomos de la estructura, los cuales forman planos periódicos, y son difractados hacia un detector llegando en fase y causando interferencias constructivas siempre que se cumpla la ley de Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta_{hkl}$$

donde λ es la longitud de onda de la fuente de rayos X, θ_{hkl} es el ángulo formado por el haz de rayos X y la superficie de la muestra, d_{hkl} es la distancia interplanar cuyos índices de Miller son hkl y n es el orden de difracción (véase la Figura 3.2). Esta técnica permitió identificar las fases cristalinas presentes en las muestras sintetizadas comparando los difractogramas leídos con los de la base de datos ICDD-2004 y posteriormente, a través de un procesamiento del difractograma completo llamado Refinamiento Rietveld, se obtuvieron los porcentajes de las fases presentes y la información microestructural, como los parámetros de red y el tamaño promedio de cristalito.

El equipo utilizado fue un difractómetro D8 Focus (Bruker AXS, Karlsruhe, Alemania) con fuente de tubo de rayos X de cobre ($\lambda_{K\alpha} = 1.5418 \text{ \AA}$) con potencia de 40 kV y 40 mA. Se utilizó una configuración Bragg-Brentano con rango angular 2θ de 5° a 100° con incrementos de 0.02° y tiempo de 1 s por paso. El Refinamiento Rietveld para la cuantificación de fases y obtención de la información microestructural mediante el método de parámetros fundamentales se realizó con el software TOPAS 3 (Bruker AXS, Karlsruhe, Alemania).

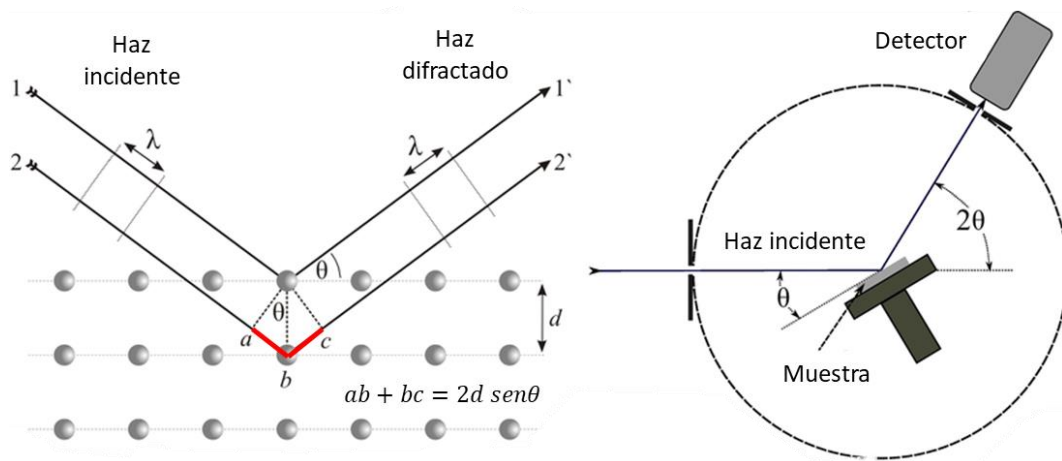


Figura 3.2. Representación gráfica de la ley de Bragg (izquierda) y esquema experimental de la técnica DRX (derecha).

III. 4. 1. 2. Caracterización química

El entorno químico de los iones presentes en la hidroxiapatita se estudió mediante la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (*Fourier-transform infrared spectroscopy*, FTIR). La técnica se basa en la interacción entre las moléculas del material y la luz incidente en el rango infrarrojo, lo que activa los modos vibracionales característicos de los enlaces químicos del material y que pueden ser detectados a través de su espectro de absorción (véase la Figura 3.3).

El equipo utilizado fue un espectrómetro Tensor 27 (Bruker AXS, Karlsruhe, Alemania) que analiza en el rango de 400 a 4000 cm^{-1} con resolución de 2 cm^{-1} realizando 32 escaneos. Las muestras en polvo fueron colocadas directamente sobre el cristal de diamante del accesorio para medidas en modo de reflexión total atenuada (*Attenuated total reflection, ATR*). Se obtuvieron los espectros de absorción para identificar las bandas características de los iones PO_4 , OH , H_2O y CO_3 .

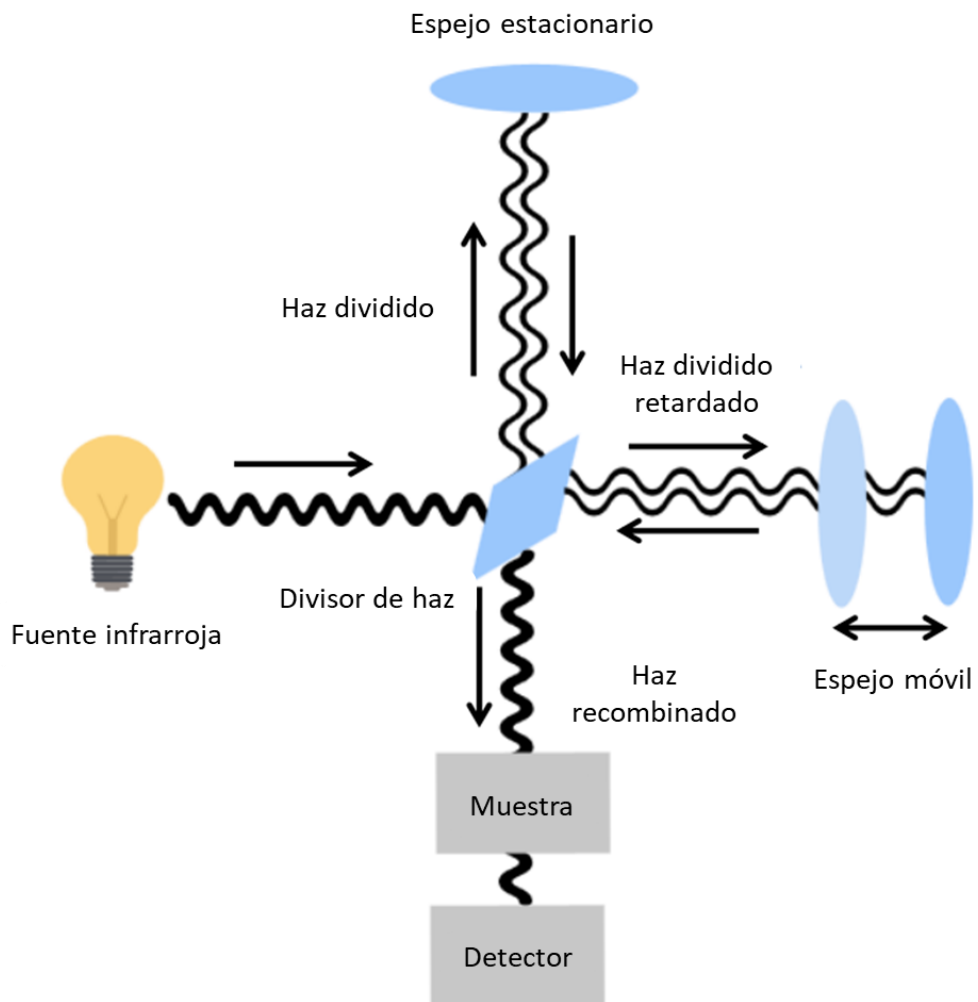


Figura 3.3. Esquema experimental de la técnica FTIR.

III. 4. 1. 3. Caracterización morfológica

La morfología de las muestras se estudió mediante las técnicas de microscopía electrónica de barrido (MEB) y el análisis óptico de partícula individual (*Single particle optical sizing*, SPOS).

La técnica MEB se basa en la interacción de la muestra con un haz de electrones acelerados (que pueden llegar a voltajes alrededor de los 30 kV) que bombardea su superficie y genera diferentes señales detectables según la configuración del instrumento. Estas señales pueden ser rayos X, electrones retrodispersados, electrones secundarios, electrones Auger, etc, y estos dependerán del voltaje aplicado al haz de electrones. Los detectores se encargan de brindar la información topológica de la muestra, así como su composición en base a la intensidad de la señal recolectada (véase la Figura 3.4).

El equipo utilizado fue un microscopio Prisma E (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE.UU.) con un voltaje aplicado de 30 kV en alto vacío. Las muestras fueron colocadas sobre una cinta de grafito para ser observadas a 100 aumentos. Se tomaron dos imágenes representativas de cada muestra usando un detector de electrones retrodispersados (*Back-Scattering Detector*, BSD) y un detector de rayos X por energía dispersiva (*Energy dispersive X-ray spectroscopy*, EDS) para estudiar la topografía y composición elemental, respectivamente.

Por otro lado, los tamaños de partícula en cada muestra fueron medidos con la técnica SPOS. Esta técnica consiste en hacer fluir una corriente de partículas de la muestra diluida en una suspensión entre una fuente de luz (un diodo láser) y un detector. El láser, que ilumina individualmente las partículas en la suspensión,

genera una sombra o extinción de luz en el detector, el cual interpreta la reducción de la intensidad de luz usando una curva de calibración interna, y determina el tamaño de cada partícula en la muestra diluida (véase la Figura 3.5).

El equipo utilizado fue un analizador AccuSizer 780 SIS (Entegris, Massachusetts, EE.UU.) equipado con un detector LE400 que mide en el rango de 0.5 a 400 μm . Las muestras fueron preparadas en solución de 10 mg de muestra por 100 mL de agua destilada, y se mantuvieron en constante agitación magnética durante las medidas. Se obtuvieron los histogramas los cuales fueron procesados para determinar el valor medio y el valor de moda.

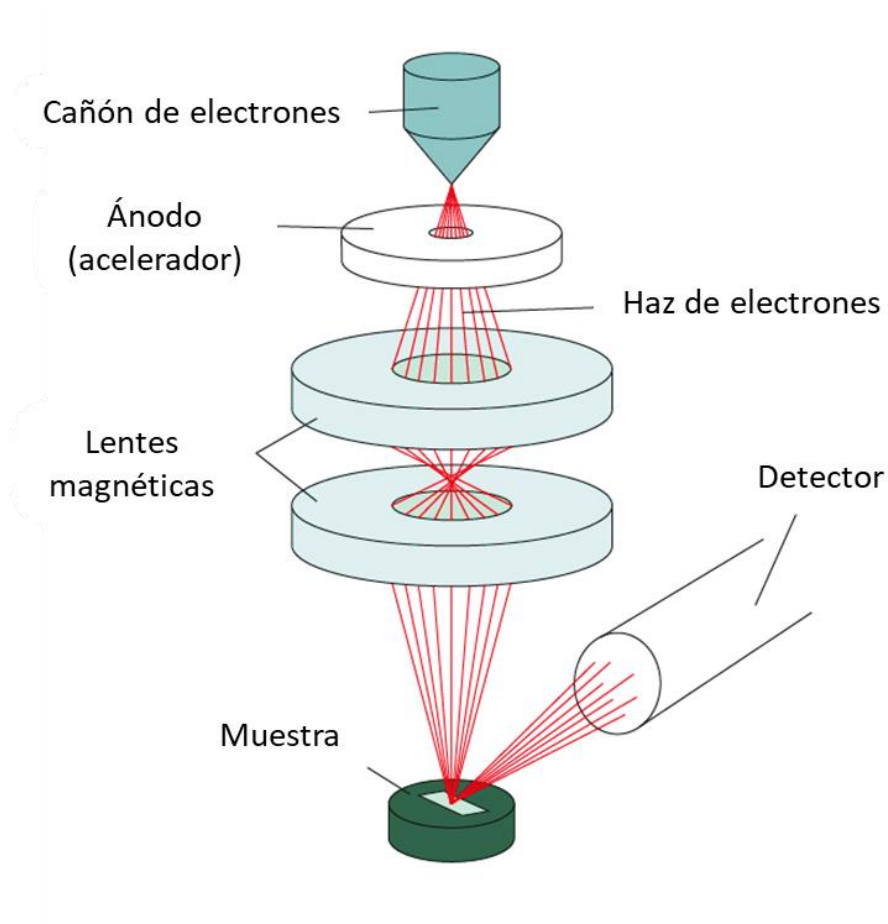


Figura 3.4. Esquema experimental de la técnica MEB.

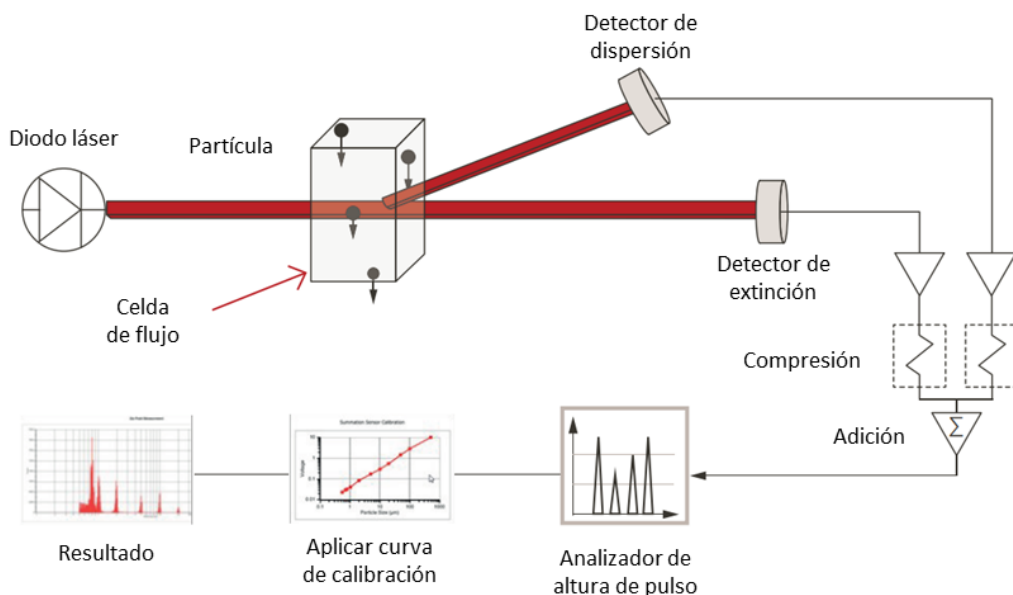


Figura 3.5. Esquema experimental de la técnica SPOS.

III. 4. 1. 4. Caracterización piezo-espectroscópica

El estudio indirecto de la respuesta mecánica de las muestras sintetizadas se realizó con la técnica de microscopía Raman confocal (*Confocal Raman microscopy*, CRM). Con esta técnica, similar a FTIR, es posible identificar las bandas vibracionales típicas de las moléculas presentes en la hidroxiapatita, además de relacionar el corrimiento de éstas con la tensión interna generada por iones presentes en el entorno químico. La técnica se basa en el efecto Raman, proceso físico de dispersión inelástica de luz monocromática que interactúa con los átomos de un material y que los hace vibrar (véase la Figura 3.6).

El equipo utilizado fue un microscopio Raman confocal alpha300RA (WITec GmbH, Ulm, Alemania), equipado con un espectrómetro UHTS con rejilla de 1800 líneas/mm que mide en el rango de 200 cm^{-1} a 1340 cm^{-1} , una cámara CCD como detector y un láser de estado sólido bombeado por diodo de 532 nm como fuente de

luz. El análisis puntual, usando una objetiva Zeiss EC Epiplan de 20 aumentos, se realizó tomando 20 escaneos durante un tiempo de 1.5 s cada escaneo. El software Project FIVE+ (WITec GmbH, Ulm, Alemania) se utilizó para el procesamiento de los espectros Raman, y obtener los centros de masa de la banda ν_1 del ion fosfato en cada muestra.

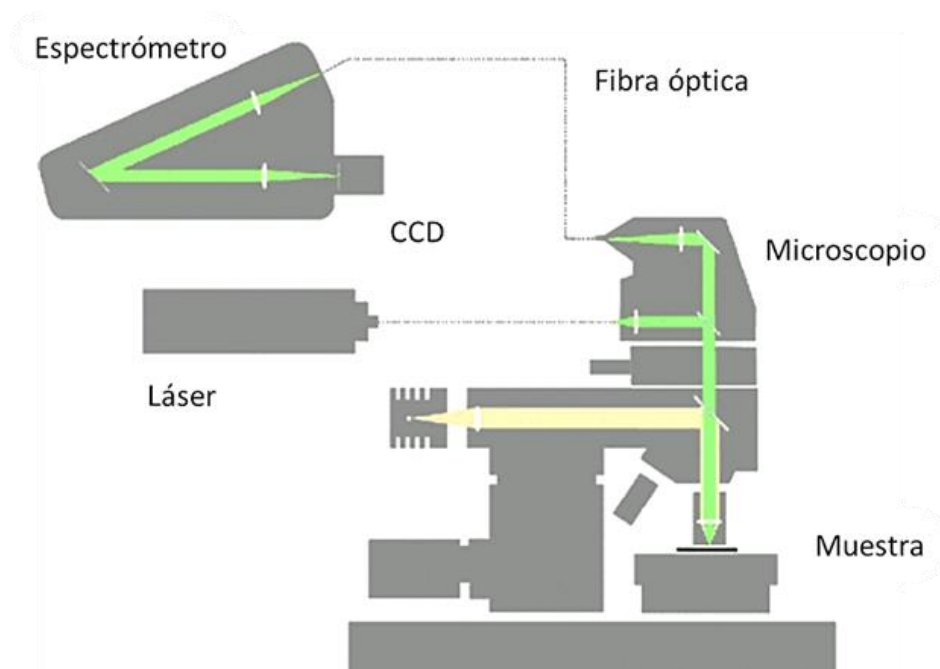


Figura 3.6. Esquema experimental de la técnica CRM.

III. 4. 1. 5. Análisis estadístico

Para determinar la importancia de cada parámetro obtenido por todas las técnicas de caracterización realizadas, se realizó un análisis de componentes principales (*Principal Component Analysis*, PCA) utilizando el software OriginPro 2018 (OriginLab Corporation, Northampton, EE.UU.) para agrupar las muestras en subgrupos con similitudes estadísticas.

III. 4. 2. Caracterización de los materiales de la Etapa 2

III. 4. 2. 1. Caracterización estructural

Al igual que en la sección III. 4. 1. 1., se utilizó la técnica de DRX para la caracterización estructural del refuerzo mecánico d-QC y del refuerzo antibacteriano en el compuesto Ag-HAp. Se utilizaron las mismas condiciones experimentales para ambos casos, y luego se realizó la identificación de fases usando la base de datos ICDD-2004. En el caso del cuasicristal se realizó el Refinamiento Rietveld utilizando una estructura aproximante, ya que este compuesto no es periódico e imposibilita realizar un refinamiento convencional. Por otro lado, en el caso del compuesto Ag-HAp, se realizó el refinamiento para cuantificar el porcentaje de fases de NPs Ag e HAp.

III. 4. 2. 2. Caracterización morfológica

Al igual que en la sección III. 4. 1. 3., se utilizó la técnica de MEB para la caracterización morfológica del cuasicristal d-QC y del compuesto Ag-HAp. Se utilizaron las mismas condiciones experimentales para ambos casos con la diferencia que el aumento empleado fue de 1000 aumentos.

III. 4. 3. Evaluación de los materiales de la Etapa 3

III. 4. 3. 1. Evaluación de color

El color de las muestras de resinas compuestas ($n = 10$) se analizó usando un espectrofotómetro EasyShade 4.0 (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemania) por reflectancia con rango espectral de 400 a 700 nm, obteniendo los valores L^* , a^* y b^* del sistema cromático del Commission Internationale d'Éclairage (CIELab).

Además, el espectrofotómetro cuenta con un algoritmo integrado de transformación de los parámetros cromáticos a los colores dentales del sistema cromático VITA Classical A1-D4 (véase la Figura 3.7).

III. 4. 3. 2. Evaluación de rugosidad

La rugosidad de las resinas estudiadas se midió usando un microscopio óptico digital VHX-7000 (Keyence Corporation, Bois-Colombe, Francia) con iluminación parcial coaxial de luz blanca y objetiva de 500 aumentos (véase la Figura 3.8). Una vez obtenido el mapeo topográfico de las muestras de cada grupo ($n = 4$) se calcularon diez valores de rugosidad aritmética media R_a por cada una. El valor de R_a se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |z(x)| dx$$

donde L es la longitud de muestreo y $z(x)$ es el perfil de alturas de la muestra.



Figura 3.7. Espectrofotómetro EasyShade 4.0 realizando la lectura de los parámetros de color de una resina compuesta.



Figura 3.8. Microscopio óptico digital VHX-7000 para la lectura de la rugosidad de resinas compuestas.

III. 4. 3. 3. Evaluación de grado de conversión

El ensayo se realizó usando un espectrómetro infrarrojo Nicolet iS 10 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE.UU.) con accesorio ATR. Las muestras polimerizadas ($n = 5$) se colocaron sobre el cristal ATR y se adquirieron escaneos promediados en el rango de longitud de onda entre 400 y 4000 cm^{-1} con una resolución de 0.48 cm^{-1} . Además, se realizaron las medidas a las muestras sin polimerizar para calcular el grado de conversión mediante el método de estándar interno, el cual consiste en determinar una proporción entre picos de enlaces alifáticos (1638 cm^{-1}) y enlaces aromáticos (1608 cm^{-1}) en estado fotopolimerizado y sin fotopolimerización según la siguiente fórmula (73):

$$DC = \left[1 - \frac{\left(\frac{I_{\text{alifático}}}{I_{\text{aromático}}} \right)_{\text{polimerizado}}}{\left(\frac{I_{\text{alifático}}}{I_{\text{aromático}}} \right)_{\text{sin polimerizar}}} \right] * 100\%$$

donde $I_{\text{alifático}}$ corresponde a la intensidad del pico de los enlaces alifáticos ubicado en 1638 cm^{-1} , e $I_{\text{aromático}}$ corresponde a la intensidad del pico de los enlaces aromáticos ubicado en 1608 cm^{-1} (véase la Figura 3.9).

III. 4. 3. 4. Evaluación de absorción y solubilidad

El ensayo de absorción y solubilidad se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la norma ISO 4049 (74). Por cada grupo se prepararon discos de resina ($n = 5$) de 15 mm de diámetro y 1 mm de espesor, y se tomó el peso seco m_1 de cada muestra con una balanza de 0,1 mg de precisión luego de estar almacenadas en un desecador a 37 °C por 22 horas y a 23 °C por 2 horas, a la vez que se tomó el diámetro y altura con un vernier para calcular su volumen V . Posteriormente, las muestras se sumergieron en placas con 100 ml de agua destilada a 37 °C durante 7 días. Luego de transcurrido este tiempo, las muestras se retiraron y secaron superficialmente para medir inmediatamente el peso en equilibrio m_2 . Finalmente, las muestras se llevaron nuevamente al desecador a 37 °C por 22 horas y a 23 °C por 2 horas hasta alcanzar su peso final m_3 (véase la Figura 3.10). La absorción de agua (W_{SP}) y solubilidad (W_{SL}) se calcularon usando las siguientes fórmulas:

$$W_{\text{SP}} = \frac{m_2 - m_3}{V}, \quad W_{\text{SL}} = \frac{m_1 - m_3}{V},$$

mientras que la densidad de la resina se calculó con la siguiente fórmula:

$$\rho = \frac{m_1}{V}.$$

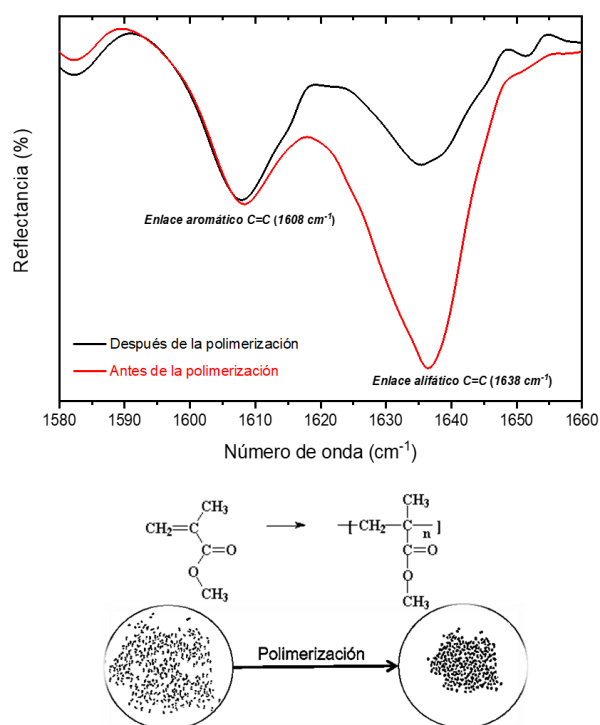


Figura 3.9. Bandas alifáticas y aromáticas en el espectro infrarrojo de una resina compuesta antes y después de polimerizar (arriba) y esquema del cambio en la estructura molecular de los monómeros debido a la polimerización (abajo).



Figura 3.10. Montaje experimental para el ensayo de absorción y solubilidad en agua de resinas compuestas.

III. 4. 3. 5. Evaluación de microdureza

La microdureza se midió usando un microdurómetro Vickers HV-1000 (LG, Seúl, Corea del Sur) con indentador de diamante. Para este ensayo, las muestras de resinas compuestas (n = 10) se fotopolimerizaron siguiendo el procedimiento descrito en la sección III. 3. Se aplicó una carga de 0.025 Kg-f durante 15 s y se realizaron 3 indentaciones por muestra. Las diagonales de la marca dejada por el indentador se midieron en milímetros y se reemplazaron en la siguiente fórmula:

$$HV = 1.854 \frac{F}{d^2}$$

donde F es la fuerza aplicada en Kg-f, y d es el promedio de las diagonales de la impronta dejada por la indentación en mm (véase la Figura 3.11).



Figura 3.11. Microdurómetro HV-1000 para la medida de la microdureza Vickers.

III. 4. 3. 6. Evaluación de inhibición antibacteriana

Para evaluar la inhibición antibacteriana se aplicó la técnica de difusión en disco siguiendo el procedimiento de Vargas (75). Cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fueron cultivadas en caldo de Infusión Cerebro Corazón (*Brain heart infusion*, BHI) en condiciones de micro-aerofilia durante 24 horas a 37 °C para luego llevarlas a una densidad celular aproximada de 10^8 UFC/mL (0.5 en la escala de McFarland). El medio de cultivo se preparó en placas con Agar Cerebro Corazón (*Brain heart Agar*, BHA), las cuales se controlaron durante 24 horas para comprobar su esterilidad. El ensayo se realizó embebiendo un hisopo estéril con el caldo de *S. mutans* y luego se procedió a sembrar en toda la superficie del agar dejando reposar por unos 5 minutos. Luego, se colocaron tres muestras por placa: un disco de papel de filtro (Whatman 3) de 7 mm de diámetro embebido con 10 µL de clorhexidina al 0.12 % como control positivo de este ensayo, otro disco embebido con 10 µL de agua Milli-Q como control negativo de este ensayo, y un disco de la resina compuesta en estudio. Las placas se llevaron a incubación durante 48 horas a 37 °C en condiciones de micro-aerofilia considerando tres placas por grupo. Posteriormente, se realizó la lectura de los halos de inhibición con la ayuda de un vernier digital (Ubermann, Lima, Perú), y también se tomaron fotografías para procesarlas con el software ImageJ (National Institute of Health, Bethesda, EE.UU.) escalando las dimensiones con el diámetro del disco de resina de 7 mm.

III. 4. 3. 7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los ensayos de evaluación se procesaron para obtener los valores de media y desviación estándar por cada grupo de estudio. Seguidamente

se realizó la prueba de Levene para evaluar la igualdad de varianzas con un valor $p=0.05$. Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para determinar si existieron diferencias significativas entre grupos, y el test de Tukey para la comparación de medias entre cada grupo con un nivel de significancia de 0.05. Para este procedimiento se usó el software STATA 17 (StataCorp LLC, Texas, EE.UU.).

Para determinar la importancia de cada característica física evaluada en las resinas, se realizó un análisis de componentes principales (*Principal Component Analysis*, PCA) utilizando el software OriginPro 2018 (OriginLab Corporation, Northampton, EE.UU.) para determinar similitudes entre las muestras.

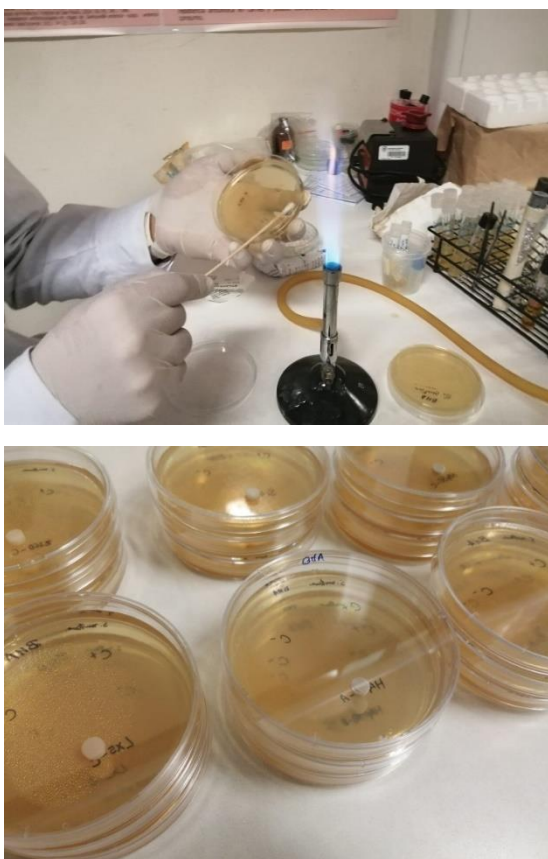


Figura 3.12. Siembra de bacterias mediante la técnica de difusión (arriba) y resinas compuestas sobre las placas con agar para el ensayo de inhibición (abajo).

IV. RESULTADOS

Los resultados se estructuraron de la misma forma que la preparación de los materiales en estudio, y se muestran a continuación.

IV. 1. Etapa 1: Síntesis de hidroxiapatita

IV. 1. 1. Proceso de mecano-síntesis

De los resultados obtenidos por DRX se determinó que todas las muestras sometidas al proceso de molienda mecánica resultaron contener la fase hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (ICDD N° 09-0432), sin embargo, al someterse a temperaturas mayores a 800 °C se obtuvo también la fase whitlockita/TCP $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (ICDD N° 09-0169) en aproximadamente una concentración de 25%. Además, se notó que en la etapa inicial de la molienda se encontró calcita CaCO_3 (ICDD N° 05-0586) en 5% aproximadamente. Los resultados del análisis composicional de fases cristalinas se observan en la Figura 4.1. Analizando la microestructura de la hidroxiapatita, se evidenció que ni el proceso de molienda mecánica ni el tratamiento térmico hasta 600 °C afectó el tamaño promedio de cristalito $\langle D \rangle$, pero a la temperatura de 800 °C hubo un primer proceso de cristalización en todas las muestras hasta alrededor de 40 nm, y a 1000 °C aconteció un segundo proceso de cristalización hasta salir del régimen nanométrico aproximadamente en 200 nm. Cambios similares se notaron en los parámetros de red, donde se distinguió que el parámetro “a” tiende a disminuir con respecto al tiempo de molienda, pero al aplicar tratamientos térmicos a 800 °C y 1000 °C los valores disminuyen apreciablemente; así mismo, el parámetro “c” tiene máximos entre 8 y 12 horas de molienda, pero al aplicar tratamientos térmicos de 800 °C y

1000 °C los valores disminuyen notoriamente, lo que se ve reflejado en el volumen total de la celda unitaria V. Los parámetros microestructurales en función del tiempo de molienda y de la temperatura se observan en la Figura 4.2.

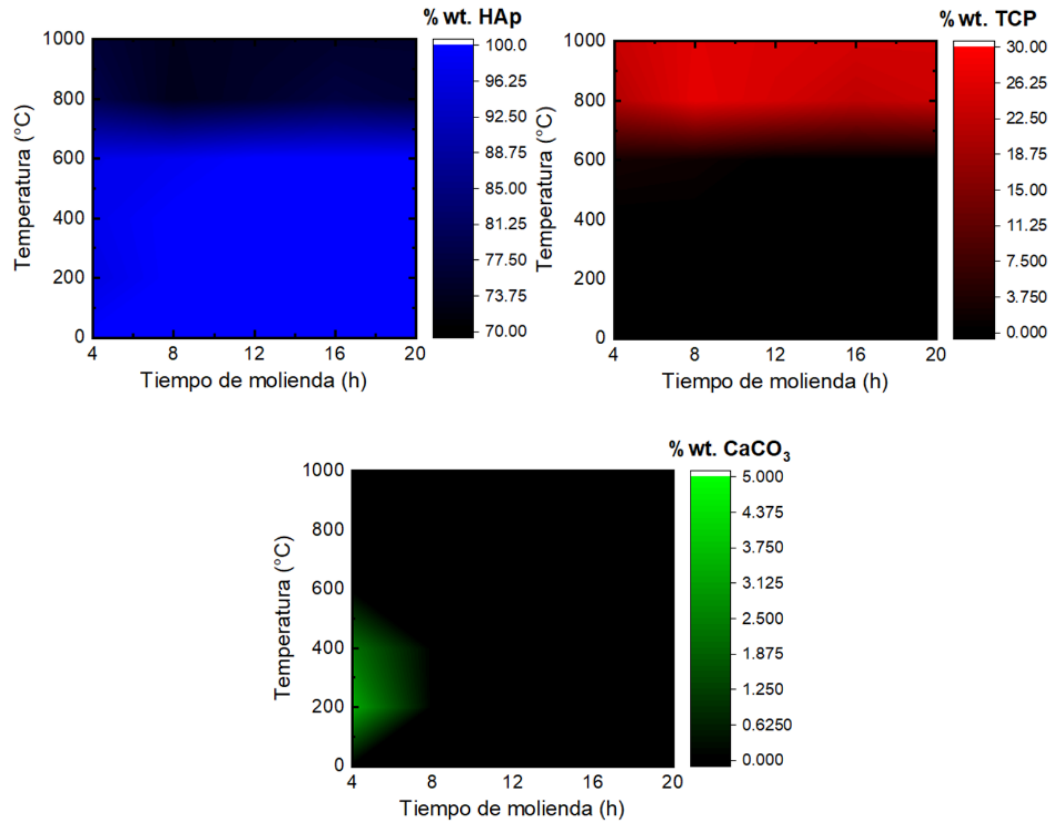


Figura 4.1. Concentración de fases cristalinas en las muestras sintetizadas por mecano-síntesis.

Los espectros infrarrojos obtenidos mediante FTIR reflejaron la presencia de las bandas características de los iones PO_4^{3-} de la hidroxiapatita (1088 cm^{-1} , 1025 cm^{-1} , 962 cm^{-1} , 630 cm^{-1} , 600 cm^{-1} , 564 cm^{-1} , 473 cm^{-1}) y una banda ancha asociada al H_2O (3214 cm^{-1}). Además, se observan bandas en 1434 cm^{-1} , 1411 cm^{-1} y 873 cm^{-1} asociadas a la presencia de iones CO_3^{2-} (76,77), como se observa en la Figura 4.3. Cuando se aplica el tratamiento térmico aumentando la temperatura, las bandas se vuelven más angostas y la banda OH^- aparece en 3572 cm^{-1} a las temperaturas de

800 °C y 1000 °C. Así mismo, las bandas de CO_3^{2-} disminuyen su intensidad conforme aumenta la temperatura llegando a desaparecer a partir de 800 °C. Para observar mejor esto, se graficaron las razones entre las intensidades de las bandas de CO_3^{2-} y PO_4^{3-} respecto al tiempo de molienda y temperatura de tratamiento térmico, encontrando tendencias similares a los parámetros de red (Figura 4.4).

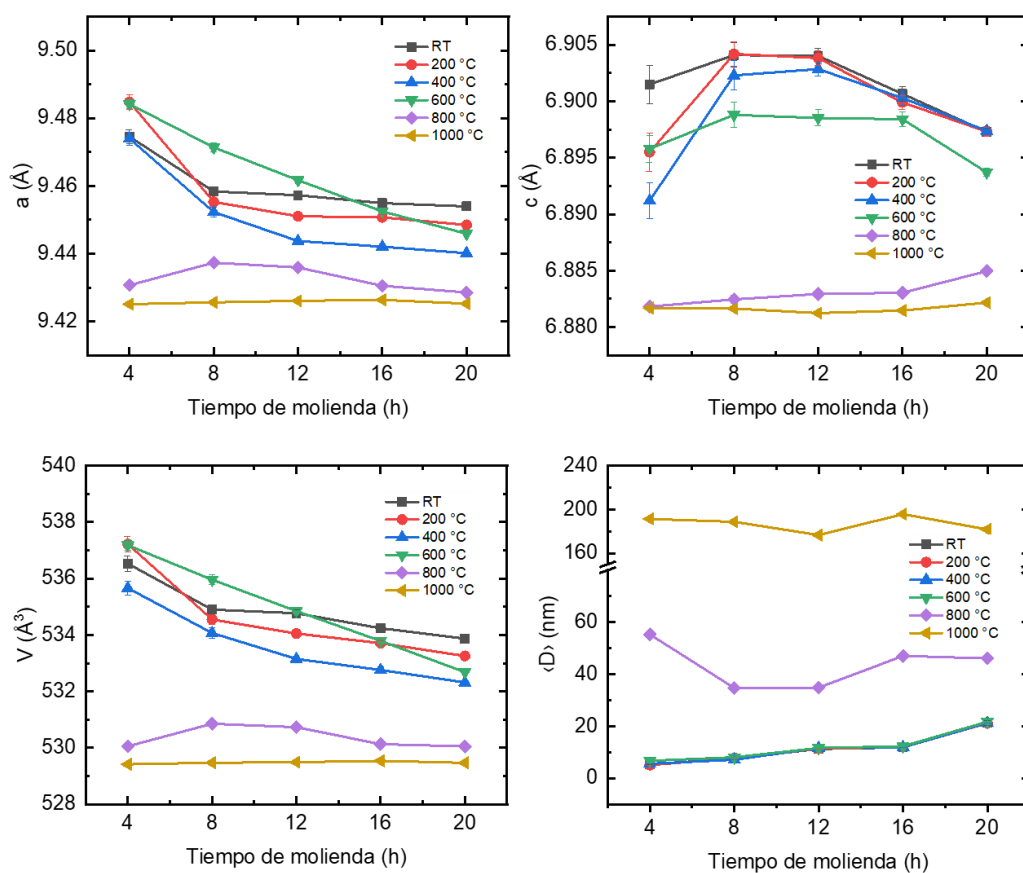


Figura 4.2. Parámetros cristalográficos “a”, “c”, volumen de la celda unitaria V y tamaño promedio de cristalito $\langle D \rangle$ en función del tiempo de molienda y temperatura de tratamiento térmico.

Por otra parte, las medidas de MEB realizadas a las muestras 4 h – 400 °C, 8 h – 600 °C, 16 h – 400 °C y 20 h – 1000 °C evidenciaron la naturaleza granulosa de las muestras obtenidas, como se observa en la Figura 4.5. Con el análisis EDS, como

se puede ver en la Figura 4.6., se determinaron los elementos químicos presentes y su concentración en peso, notándose la presencia de magnesio y zirconio, elementos provenientes de la cáscara de huevo y de las billas del molino, respectivamente. También se determinó que las muestras analizadas son deficientes en calcio, y que todas cuentan con contenido de carbono, incluso en aquellas que ya no cuentan con iones CO_3^{2-} dentro de la estructura.

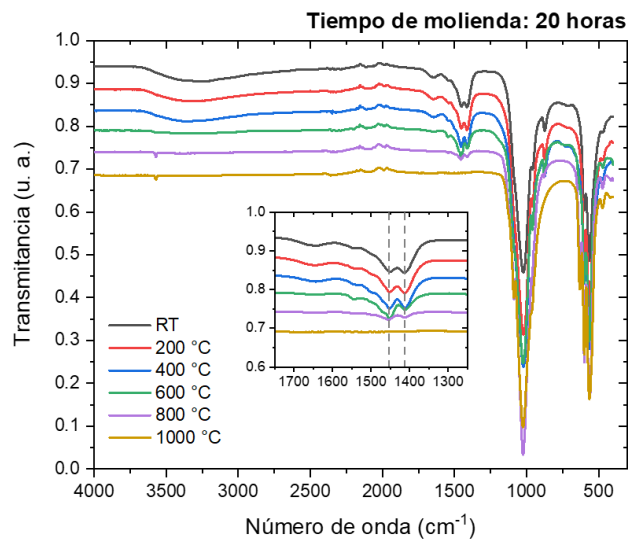


Figura 4.3. Espectros infrarrojos de las muestras sometidas a mecano-síntesis durante 20 horas y con diferentes temperaturas de tratamiento térmico.

El análisis por SPOS permitió encontrar el valor medio y el valor de moda de los tamaños de las partículas en todas las muestras. Se evidenció que el valor medio es cercano a 8 μm en todas las muestras, sin embargo, la desviación estándar refleja una alta dispersión de tamaños en el histograma de cada muestra. Algo similar se observa en el valor de moda, donde no se distingue una tendencia definida, sino que, por el contrario, los valores son muy dispersos alrededor de 9.5 μm , como se observa en la Figura 4.7. En cualquiera de los casos, la resina compuesta que se elabore con estos rellenos resultaría una resina micro-híbrida (78).

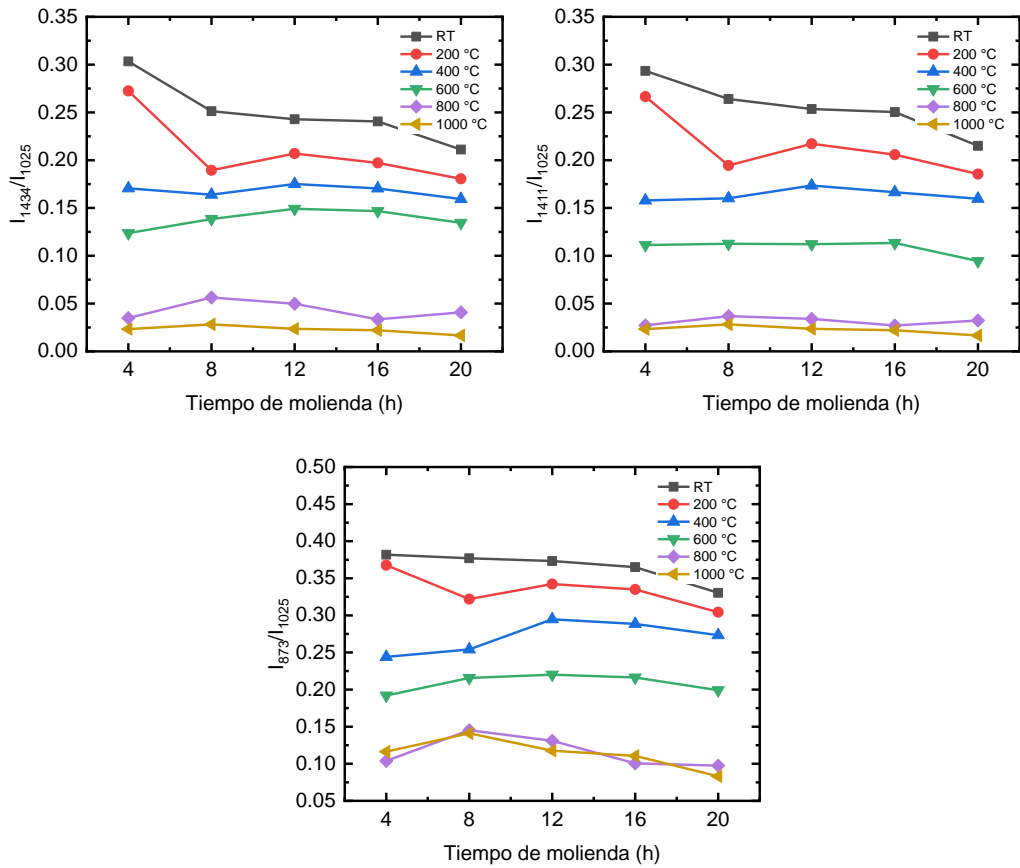


Figura 4.4. Razones entre las bandas CO_3^{2-} y PO_4^{3-} obtenidas por FTIR.

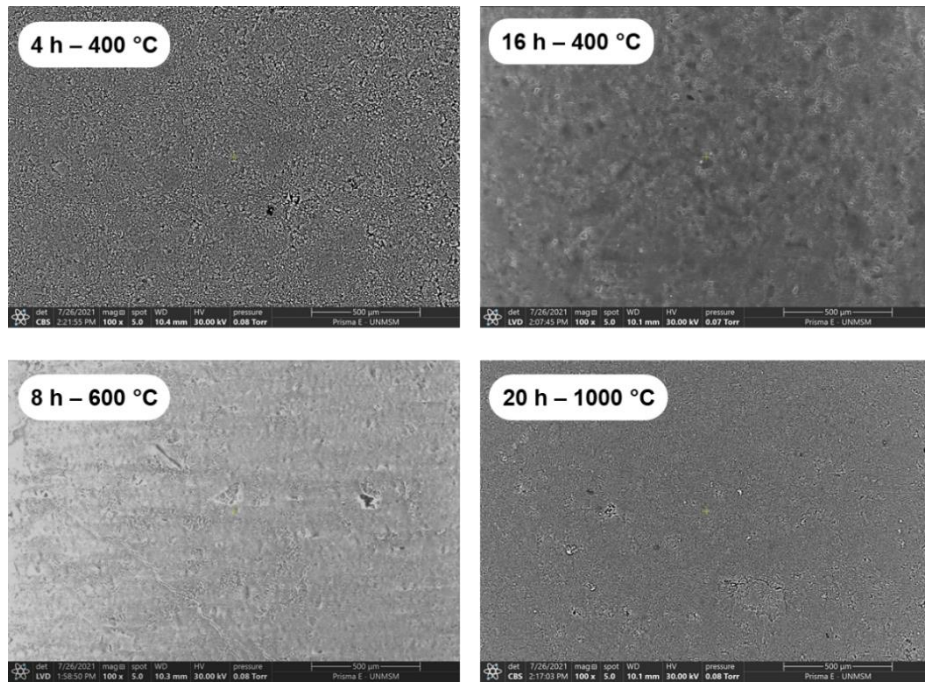


Figura 4.5. Micrografías MEB a cuatro muestras obtenidas por mecano-síntesis.

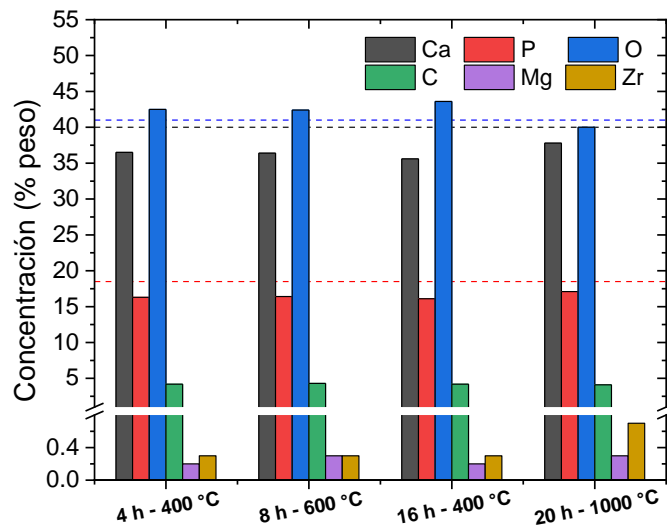


Figura 4.6. Concentración elemental en las muestras obtenidas por mecano-síntesis mediante EDS. Las líneas punteadas corresponden a la concentración nominal de la hidroxiapatita.

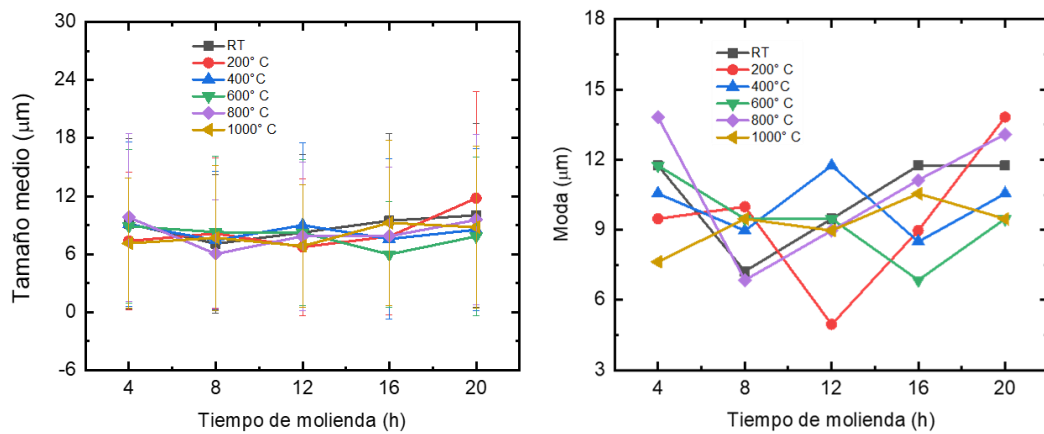


Figura 4.7. Valor medio (izquierda) y de moda (derecha) de partículas correspondientes a las muestras obtenidas por mecano-síntesis analizadas por SPOS.

El análisis piezo-espectroscópico realizado por CRM permitió cuantificar las fuerzas de tensión en cada muestra a través del corrimiento espectral de la banda principal del ion fosfato de estiramiento simétrico ν_1 . Como se muestra en la Figura

4.8, según las condiciones de preparación de cada muestra, la banda vibracional ν_1 realiza un corrimiento hacia el violeta o hacia el rojo respecto a su posición natural (961 cm^{-1}). Como el corrimiento de la banda ν_1 es directamente proporcional a la tensión elástica interna, con constante de proporcionalidad igual a $-3.89 \text{ cm}^{-1}/\text{GPa}$ (79), se realizó la conversión y se graficó el mapa de este parámetro para los diferentes tiempos de molienda y temperaturas de tratamiento térmico. Los valores de tensión elástica interna se detallan en la Tabla 4.1.

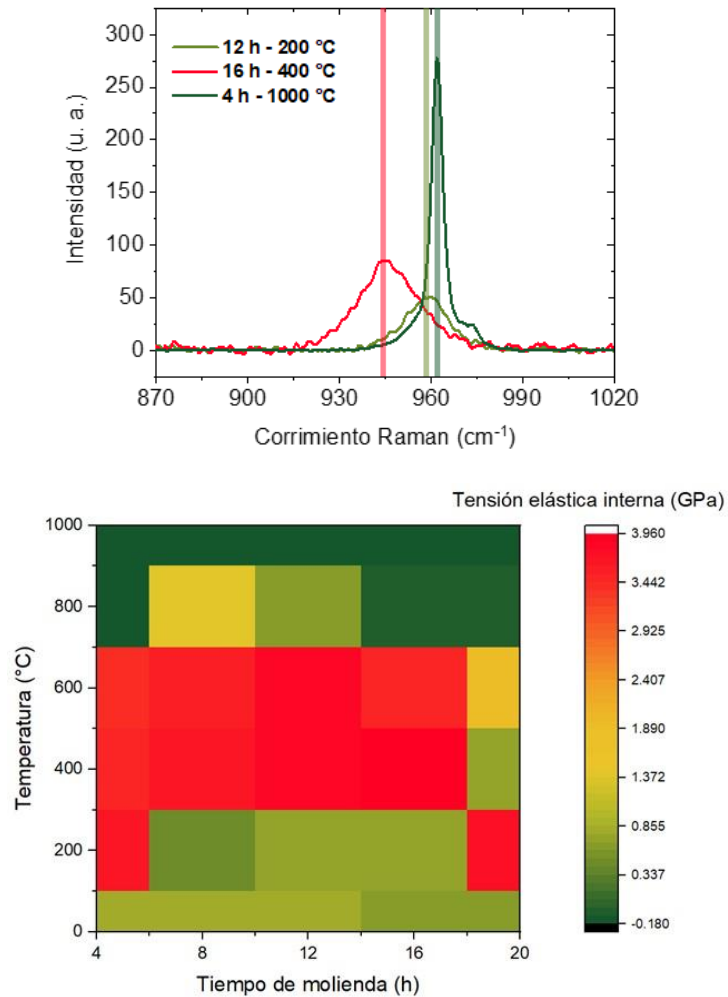


Figura 4.8. Banda vibracional Raman ν_1 del ion fosfato para diferentes muestras obtenidas por mecano-síntesis (arriba) y mapa de tensión elástica interna para diferentes tiempos de molienda y temperaturas de tratamiento térmico (abajo).

Tabla 4.1. Tensión elástica interna de las muestras obtenidas por mecano-síntesis medida por CRM.

Tensión elástica interna (GPa)						
Tiempo de molienda	Temperatura de tratamiento térmico					
	RT	200 °C	400 °C	600 °C	800 °C	1000 °C
4 horas	0.844	3.670	3.451	3.416	0.104	0.169
8 horas	0.845	0.425	3.699	3.582	1.380	0.101
12 horas	0.775	0.733	3.843	3.830	0.616	0.133
16 horas	0.657	0.695	3.943	3.521	0.077	0.168
20 horas	0.662	3.737	0.739	1.951	0.078	0.146

El análisis estadístico realizado mediante PCA sirvió para agrupar las variables dependientes en factores y así poder clasificar las muestras de hidroxiapatita. Para simplificar esta clasificación, no se tomaron en cuenta las muestras 4 h-200°C y 4h-400°C ya que fueron las únicas muestras que contenían residuos de calcita y su clasificación es trivial; además, tampoco se consideraron las variables dependientes de tamaño promedio y moda de partículas obtenidas por SPOS ya que no demostraron diferenciar ninguna de las muestras sintetizadas. Con estas consideraciones se realizó el análisis de componentes principales y se obtuvieron dos componentes: la primera con el 78.98% de la varianza total y la segunda con el 9.68%. Al realizar el gráfico de factores superpuesto con la ubicación de las

muestras se lograron diferenciar cuatro grupos de muestras, como se observa en la Figura 4.9.

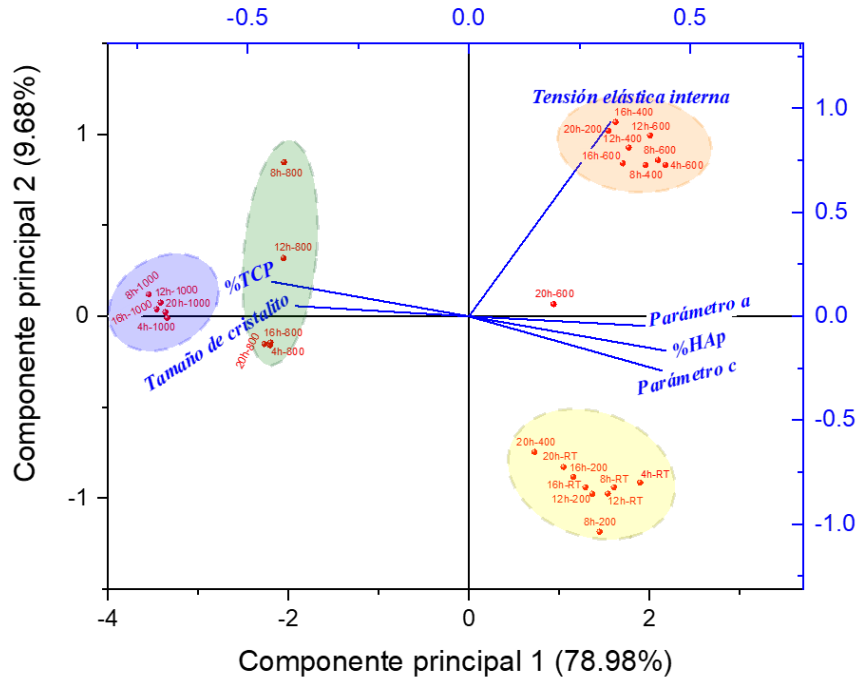


Figura 4.9. Gráfico de las componentes principales de las muestras preparadas por mecano-síntesis. Encerradas en elipses se presentan aquellas muestras que presentan similitudes entre sí de acuerdo a sus componentes.

Del gráfico de componentes principales se distinguen 6 grupos de muestras con características similares. En la Figura 4.9, la elipse verde agrupa aquellas muestras que presentan un alto porcentaje de TCP, siendo todas aquellas que fueron tratadas a 800 °C, mientras que la elipse morada agrupa a las que fueron tratadas a 1000 °C que, además del contenido de TCP, también presentan mayor tamaño de cristalito. En contraposición a estas dos variables, se encuentran el contenido de HAP y los parámetros de red a y c, las cuales están en sentido opuesto hacia los cuadrantes de la derecha. Sin embargo, perpendicular a estas variables, se encuentra la tensión elástica interna, magnitud que permitió diferenciar dos grupos de muestras: los de

la elipse amarilla, con valores menores y tratados entre temperatura ambiente y 200 °C; y los de la elipse naranja, cuyos valores de tensión elástica interna son los más altos y corresponden a las muestras tratadas entre 400 °C y 600 °C. Cabe mencionar que la muestra 20h-600°C no mostró similitudes con las demás hidroxiapatitas sintetizadas.

IV. 1. 2. Simulación computacional

Con el fin de comparar las propiedades electrónicas de una hidroxiapatita convencional con una obtenida por mecano-síntesis se utilizaron las dos estructuras que se observan en la Figura 4.10. La primera corresponde a la molécula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ de 44 átomos por celda unitaria denominada HAp-SG, mientras que la segunda corresponde a la molécula $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ con 46 átomos por celda unitaria denominada HAp-MQ. La muestra HAp-SG se basa en la estructura nominal de la hidroxiapatita, mientras que la muestra HAp-MQ está basada en una carboapatita tipo B, es decir, con un ion de fosfato PO_4^{3-} reemplazado por dos iones carbonato CO_3^{2-} , y retirándole un ion de calcio Ca^{2+} para equilibrar las cargas (80).

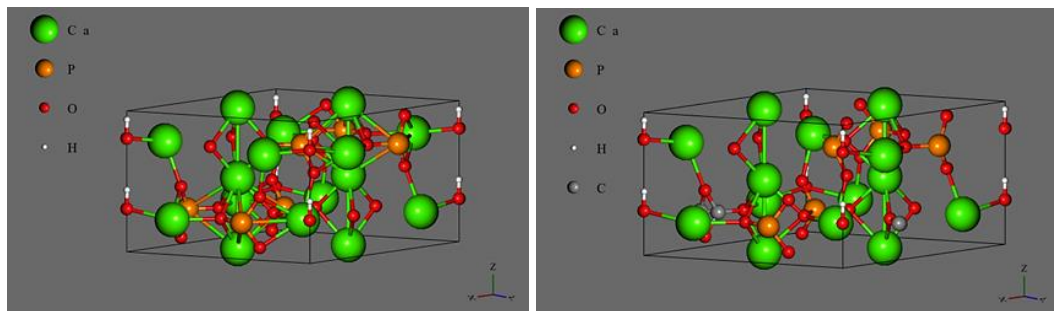


Figura 4.10. Estructura hexagonal de la celda unitaria de una hidroxiapatita convencional con fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (izquierda) y de una carboapatita tipo B con fórmula $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ (derecha).

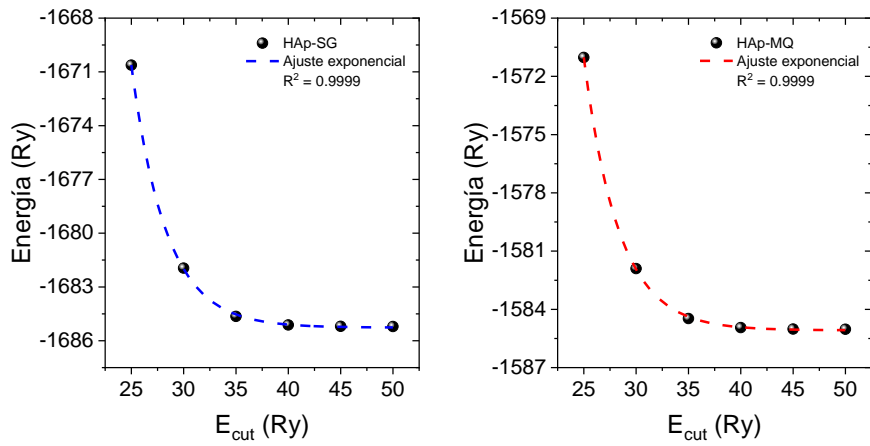


Figura 4.11. Valores de energía vs energía de corte para ambas estructuras.

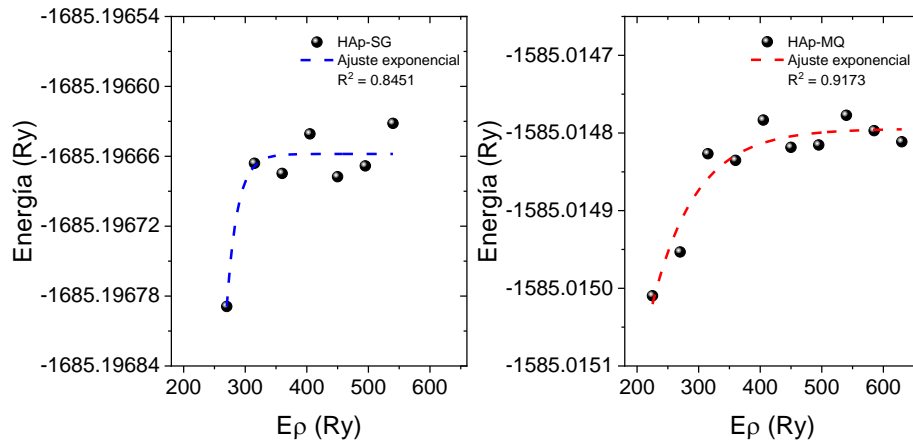


Figura 4.12. Valores de energía vs densidad de carga para ambas estructuras.

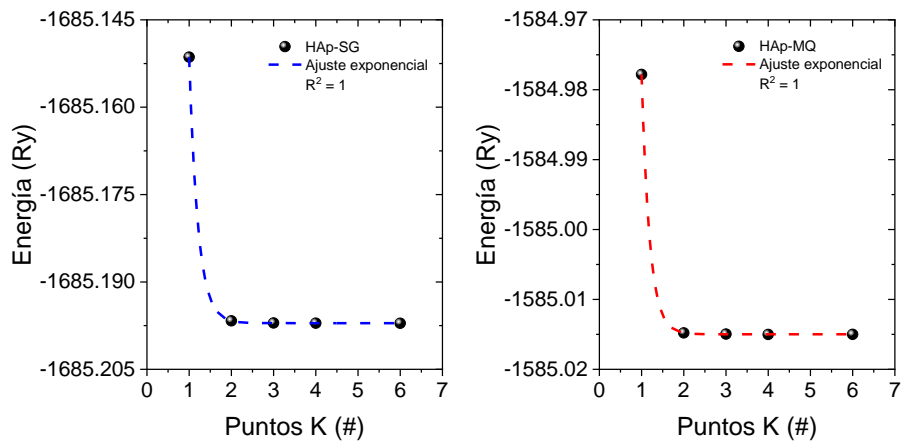


Figura 4.13. Valores de energía vs puntos K para ambas estructuras.

El primer cálculo consistió en obtener la energía total del sistema truncando la base de onda plana a diferentes energías de corte como se observa en la Figura 4.11. En base a las curvas obtenidas, se observó que la estabilidad se alcanzó a los 45 Ry para ambas muestras, por lo que se procedió a variar la densidad de carga de corte como se observa en la Figura 4.12. Se encontró también que la estabilidad se alcanza a una densidad de carga 450 Ry para ambas estructuras. Finalmente, se evaluó la estabilidad según los puntos K de la malla en la red recíproca, encontrando que esta se alcanza con una malla de 3x3x3 tanto para la muestra HAp-SG como para HAp-MQ, como se observa en la Figura 4.13. Con dichos valores ya fijos, se optimizaron las estructuras buscando el mínimo de la superficie de energía luego de realizar diferentes combinaciones de parámetros de red (modulación) como se observa en la Figura 4.14. Los parámetros cristalográficos de optimización encontrados se detallan en la Tabla 4.2.

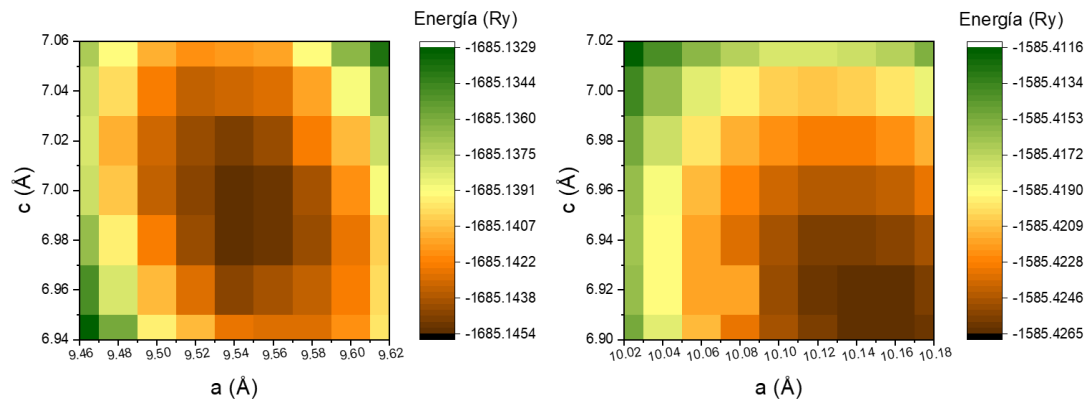


Figura 4.14. Superficie de energía modulada por los parámetros de red a y c para las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo).

Tabla 4.2. Parámetros cristalográficos obtenidos de la optimización para las muestras HAp-SG y HAp-MQ.

Parámetros cristalográficos		
	HAp-SG	HAp-MQ
a = b (Å)	9.547	10.149
c (Å)	6.994	6.907
V (Å ³)	552.05	616.12
c/a	0.733	0.681
F _t	0.014	5.627

Se observó que el volumen de la celda unitaria de la muestra HAp-MQ ($V = 616.12 \text{ \AA}^3$) es un 12% más grande que el de la de la muestra HAp-SG ($V = 552.05 \text{ \AA}^3$). Además, la relación de aspecto c/a , que representa la forma de la celda unitaria (cuando es <1 la celda está achatada en la dirección Z), es menor en la muestra HAp-MQ. Por otro lado, la suma de fuerzas internas es mínima en la muestra HAp-SG (0.014), lo que indica una estructura relajada; mientras que en la muestra HAp-MQ es relativamente alta (5.627) evidenciando una estructura tensionada consecuencia del dopaje de los iones carbonato CO_3^{2-} .

La densidad de estados electrónicos de cada muestra obtenida de los cálculos se observa en la Figura 4.15. En la muestra HAp-SG el ancho de la banda prohibida (*bandgap*) fue de 4.8 eV, mientras que en la muestra HAp-MQ fue de 2.4 eV. Un mejor análisis de la contribución de los iones en cada banda se puede realizar

observando la densidad de estados parciales, como se muestra en la Figura 4.16. Se notó en ambas muestras que los átomos de oxígeno que forman los tetraedros de PO_4^{3-} son aquellos que están presentes en el borde del nivel de Fermi, así como los iones OH^- aunque en menor medida, caso opuesto al de los iones de Ca^+ que presentan estados internos de menor energía. También se notó que la presencia de iones CO_3^{2-} en la muestra HAp-MQ generó un desorden de los orbitales creándose estados de energía adicionales.

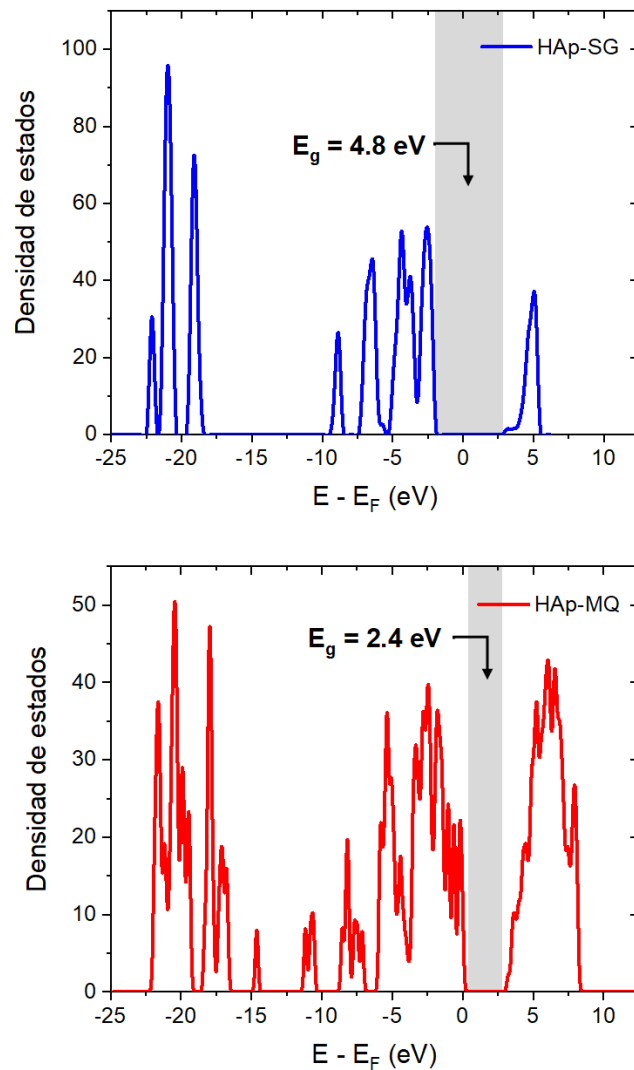


Figura 4.15. Densidad de estados electrónicos de las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo) con sus respectivos *bandgap*.

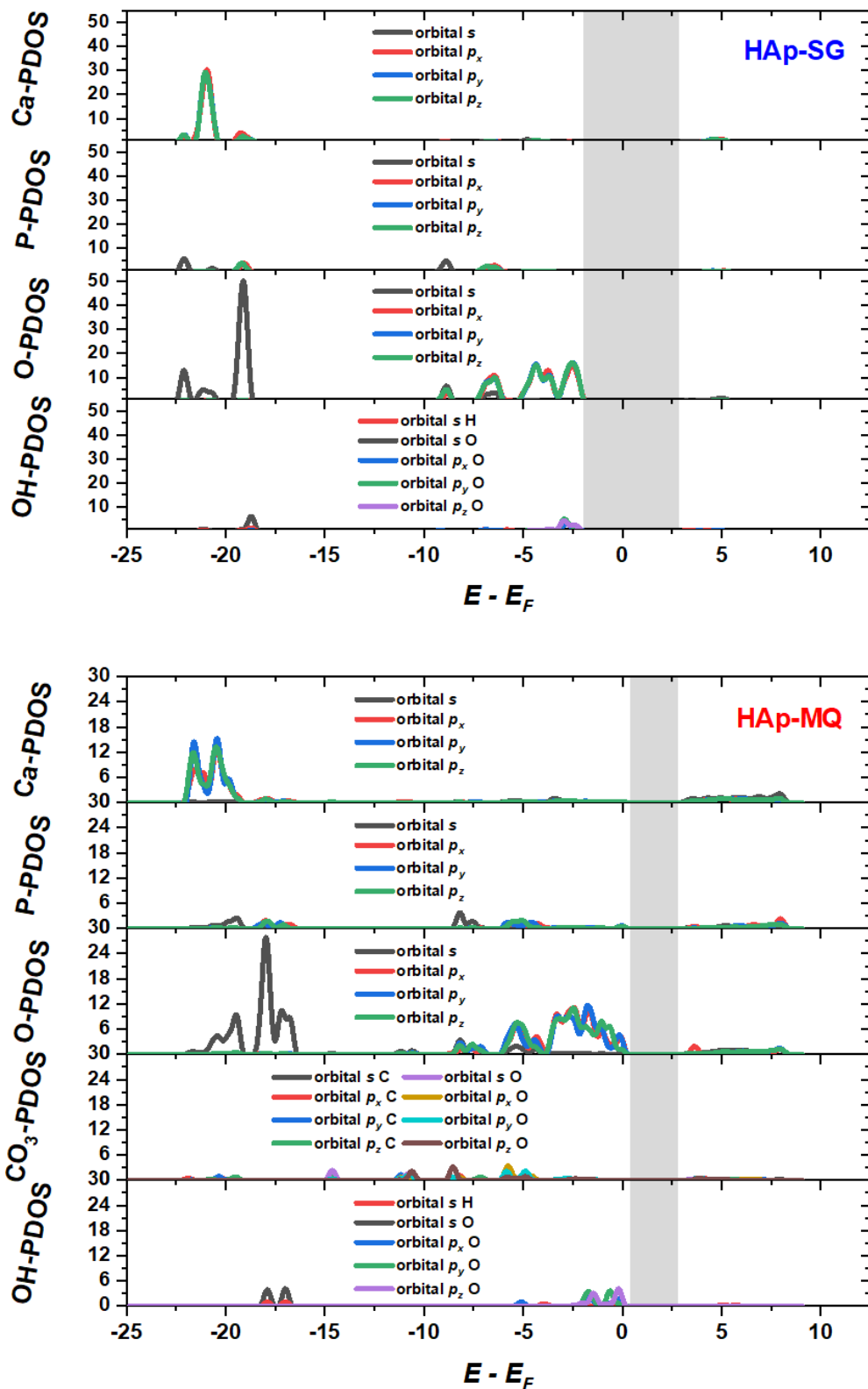


Figura 4.16. Densidad de estados parciales desglosados por iones y orbitales de las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo).

Con el propósito de verificar de manera experimental este resultado, se realizaron medidas de espectroscopía UV-Visible a dos muestras de hidroxiapatita, la primera sintetizada por método sol-gel como referencia (HAp-SG) siguiendo el método de Castañeda y col. (57) y la segunda obtenida por mecano-síntesis durante 16 horas y tratada a 400 °C (HAp-MG) siguiendo el procedimiento descrito en la sección III.

1. 1. El gráfico de Tauc obtenido a partir del espectro de absorción (véase Figura 4.17) permitió determinar el valor del *bandgap* experimentalmente realizando el ajuste de los datos con la siguiente ecuación (81):

$$\alpha hv = B(hv - E_g)^n$$

donde α es el coeficiente de absorción definido por $\alpha = 2.3026 * (A/t)$, A la absorbancia, t el espesor de la celda ($t = 1\text{cm}$), hv la energía del fotón incidente, B una constante de proporcionalidad, E_g el *bandgap* en la región lineal y n un factor que depende del tipo de transición electrónica en la hidroxiapatita ($n = 1/2$). Una comparación de los valores obtenidos teórica y experimentalmente en ambas muestras se observa en la Figura 4.18, donde se pudo determinar que bajo ambos enfoques el *bandgap* de la muestra HAp-SG es mayor que el de la muestra HAp-MQ, sin embargo, los cálculos computacionales subestimaron el ancho de la banda prohibida medido experimentalmente.

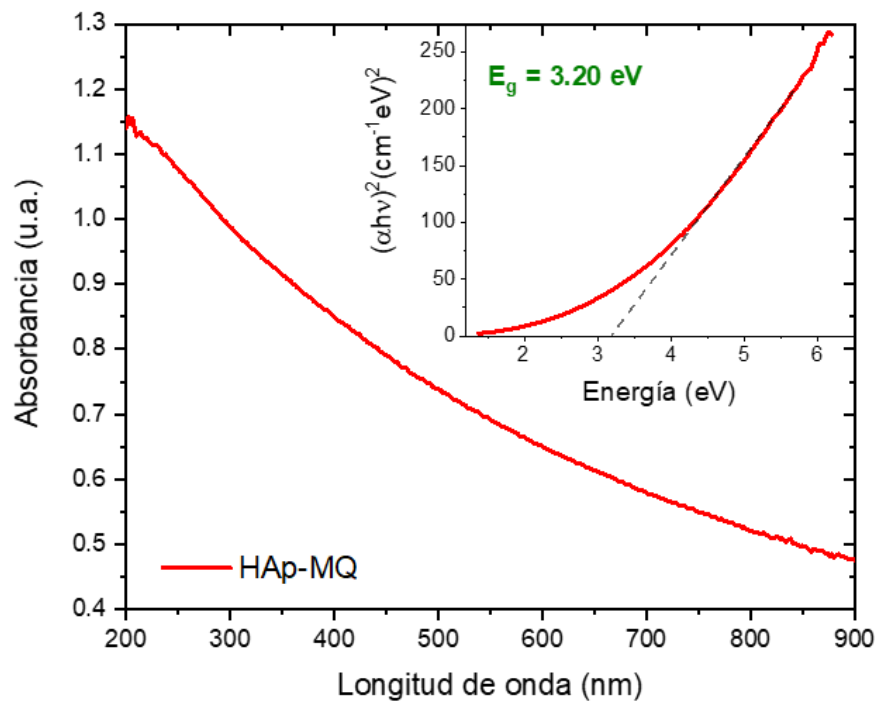
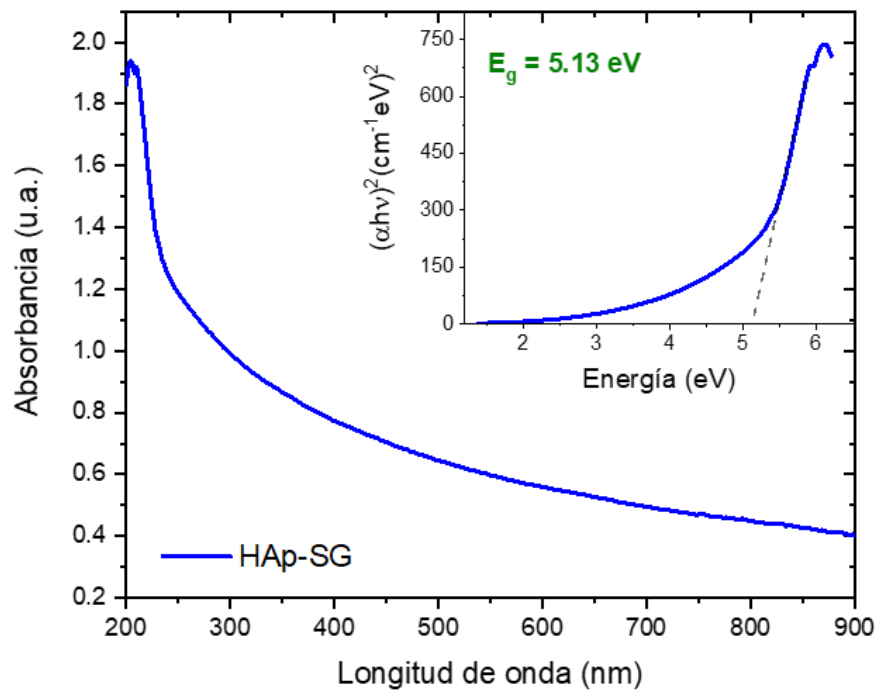


Figura 4.17. Espectro UV-Visible de las muestras HAp-SG (arriba) y HAp-MQ (abajo). La figura insertada corresponde al gráfico de Tauc para determinar el *bandgap*.

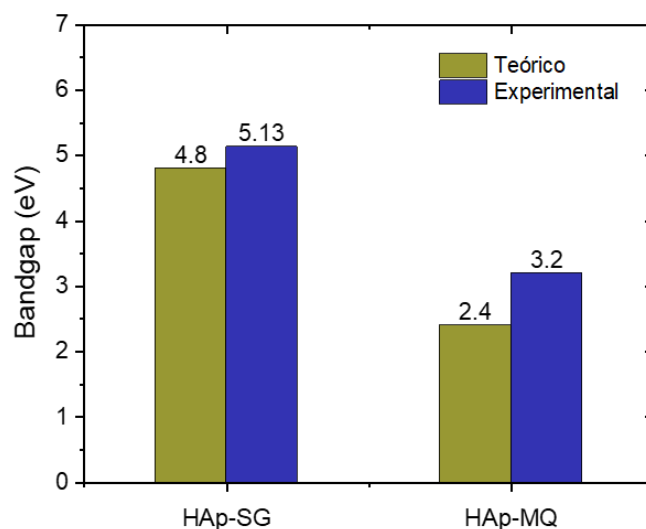


Figura 4.18. Comparación de los valores teórico y experimental del *bandgap* en las muestras HAp-SG y HAp-MQ.

IV. 2. Etapa 2: Preparación de refuerzos de hidroxiapatita

IV. 2. 1. Síntesis de cuasicristal Al-Cu-Fe-Cr

Del análisis realizado por DRX se determinó que siete de las nueve muestras sintetizadas resultaron ser monofásicas con estructura cuasicristalina decagonal (ICDD N° 42-1280). Las dos restantes contenían otras fases intermetálicas como ω -Al₇Cu₂Fe, θ -Al₂Cu, entre otras (para más detalles véase el anexo F). Una vez mezcladas las muestras con la fase cuasicristalina pura se analizó nuevamente por DRX, obteniéndose el difractograma de la Figura 4.19. Con el fin de determinar el tamaño promedio de cristalito se realizó el refinamiento Rietveld utilizando una fase aproximante como modelo estructural, ya que las estructuras aperiódicas como los cuasicristales no pueden ser refinadas por no poseer una celda unitaria. La fase escogida fue la fase aproximante ortorrómbica de base centrada O₁ con grupo espacial *Bmm2* y 117 sitios cristalográficos no equivalentes, obteniendo un factor

de ajuste de $\chi^2 = 2.68$. Los parámetros de red de la estructura refinada fueron $a = 32.5491 \pm 0.0035 \text{ \AA}$, $b = 12.3443 \pm 0.0023 \text{ \AA}$ y $c = 23.9532 \pm 0.0080 \text{ \AA}$, mientras que el tamaño promedio de cristalito fue $\langle D \rangle = 25.77 \pm 0.37 \text{ nm}$.

Por otro lado, las medidas de MEB dejaron ver la morfología irregular de las partículas de cuasicristal, así como la presencia de diferentes tamaños de dichas partículas, como se ve en la Figura 4.20. Al realizar el análisis EDS sobre estas partículas se obtuvo el espectro de fluorescencia de rayos X con las líneas de emisión características del aluminio, cobre, hierro y cromo, como se aprecia en la Figura 4.21. Por el método de parámetros fundamentales, se cuantificaron las concentraciones de estos elementos, cuyos valores se encuentran en la Tabla 4.3. Los porcentajes atómicos permitieron determinar que la ecuación real del cuasicristal resultó ser $\text{Al}_{64.7}\text{Cu}_{20.6}\text{Fe}_{8.5}\text{Cr}_{6.1}$, muy cercana a la ecuación nominal.

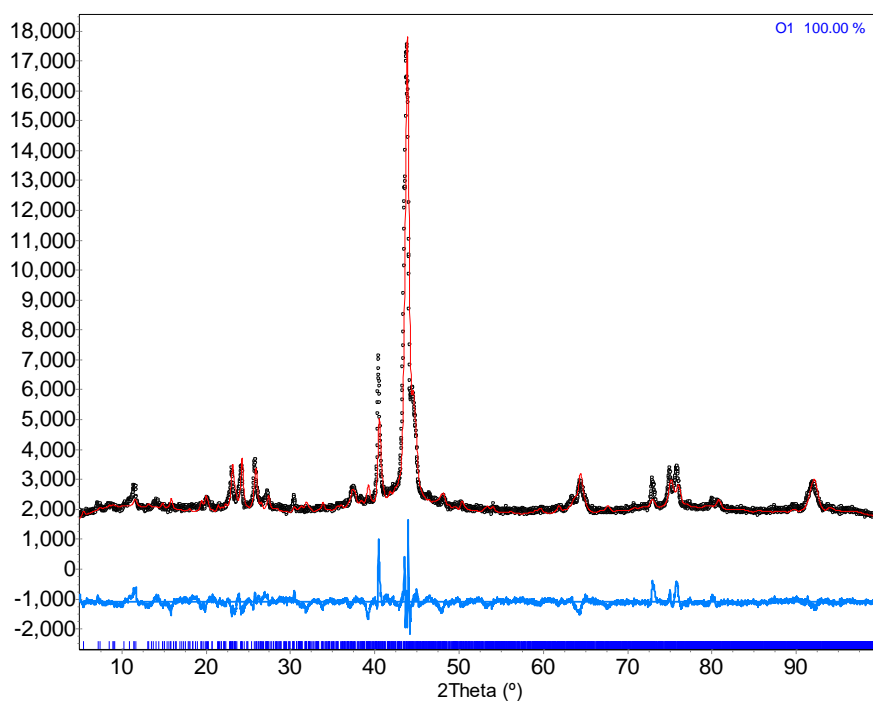


Figura 4.19. Diffractograma refinado de la mezcla de muestras monofásicas de cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr usando la fase aproximante O_1 .

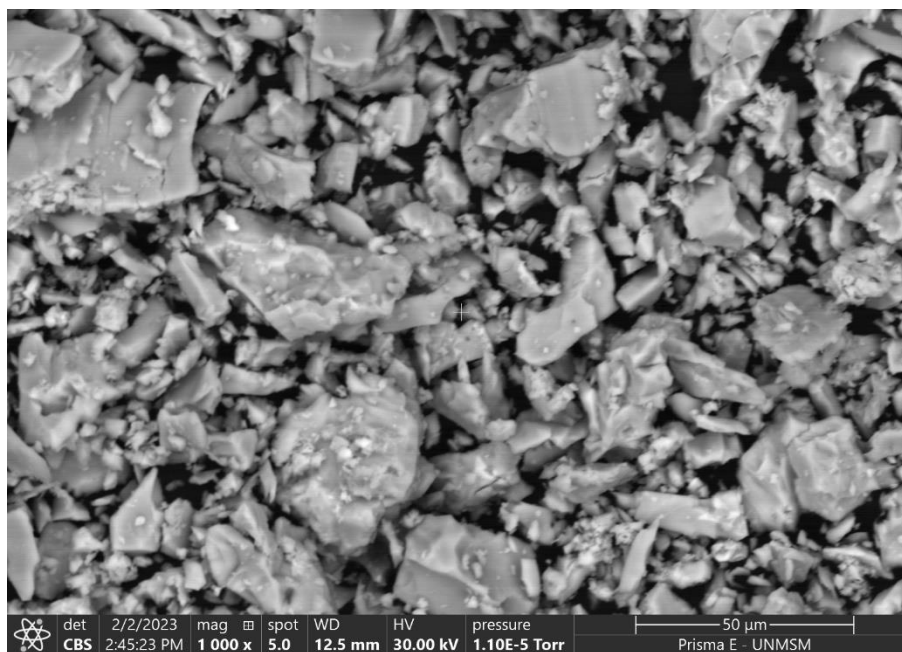


Figura 4.20. Micrografía MEB del cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr.

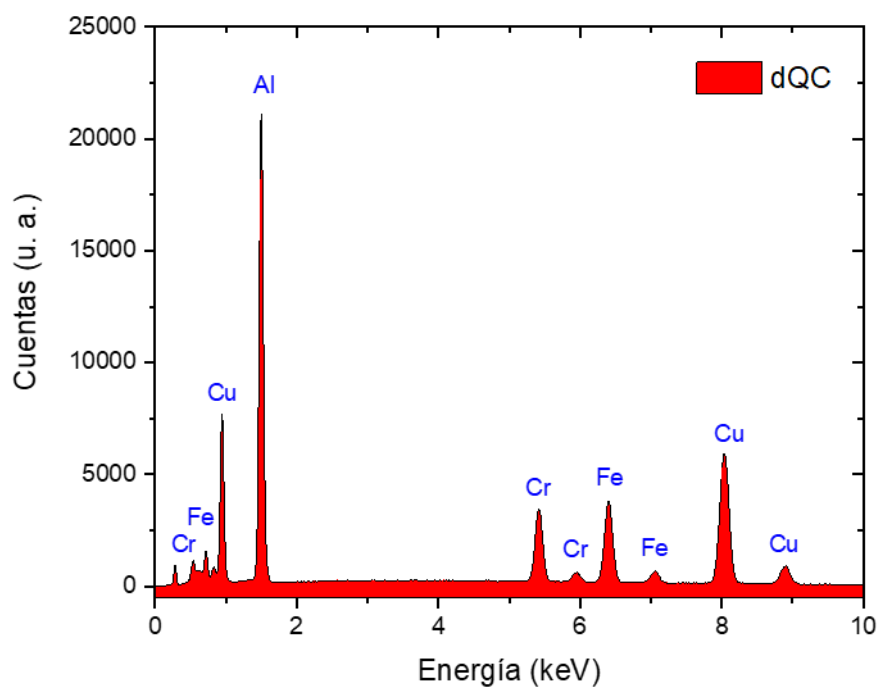


Figura 4.21. Espectro EDS de la muestra de cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr.

Tabla 4.3. Composición elemental en porcentaje atómico y en peso de la muestra cuasicristalina.

Composición elemental		
	% atómico	% peso
Aluminio (Al)	64.7 ± 0.1	45.3 ± 0.1
Cobre (Cu)	20.6 ± 0.0	34.1 ± 0.0
Hierro (Fe)	8.5 ± 0.0	12.3 ± 0.0
Cromo (Cr)	6.1 ± 0.0	8.3 ± 0.0

IV. 2. 2. Síntesis de nanopartículas de Ag

Utilizando como andamio a la muestra 16 h - 400 por ser la que mejores propiedades físicas, químicas y mecánicas demostró según el análisis PCA, la síntesis de las nanopartículas de Ag se realizó sobre esta hidroxiapatita. Los resultados del análisis por DRX al compuesto Ag-HAp mostraron la presencia únicamente de la fase hidroxiapatita (descrita en la sección IV. 1. 1.) y de la fase plata Ag (ICDD N° 04-0783), como se muestra en la Figura 4.22. El ajuste por refinamiento Rietveld permitió encontrar el porcentaje en peso de ambos compuestos, siendo 95.09% para la hidroxiapatita y 4.91% para la plata. La estructura de la fase Ag fue una cúbica centrada en las caras $Fm-3m$ con parámetro de red $a = 4.08819 \pm 0.00019 \text{ \AA}$. Además, el tamaño promedio de cristalito de la plata fue $\langle D \rangle = 28.95 \pm 0.30 \text{ nm}$.

Así mismo, las micrografías de MEB permitieron observar la granulometría de la hidroxiapatita con decoraciones de plata que se muestran como pequeños puntos blancos a lo largo de toda la imagen, como se observa en la Figura 4.23. Mediante el análisis EDS se obtuvo el espectro de fluorescencia de rayos X con las líneas de emisión características del calcio, fósforo, oxígeno, magnesio y zirconio, elementos propios de la hidroxiapatita obtenida mediante mecano-síntesis, además de la línea característica de la plata, como se observa en la Figura 4.24. Por el método de parámetros fundamentales se cuantificaron las concentraciones de estos elementos, cuyos valores se encuentran en la Tabla 4.4. Se destaca que el porcentaje en peso obtenido para la plata resultó 4.2%, cercano al porcentaje nominal (5%) y al porcentaje obtenido por DRX (4.91%).

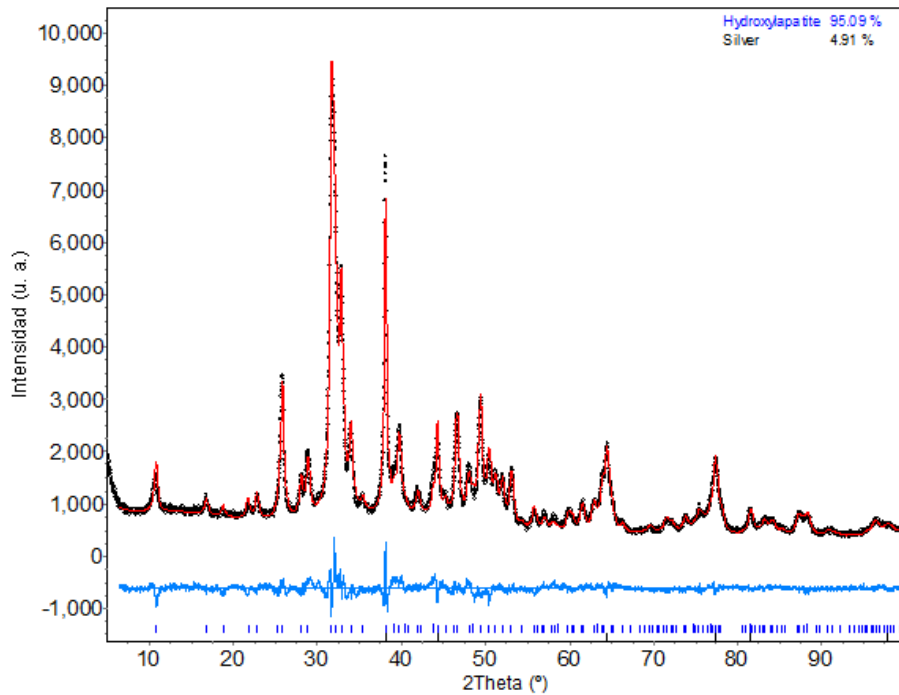


Figura 4.22. Difractograma refinado del compuesto Ag-HAp usando las fases hidroxiapatita y plata.

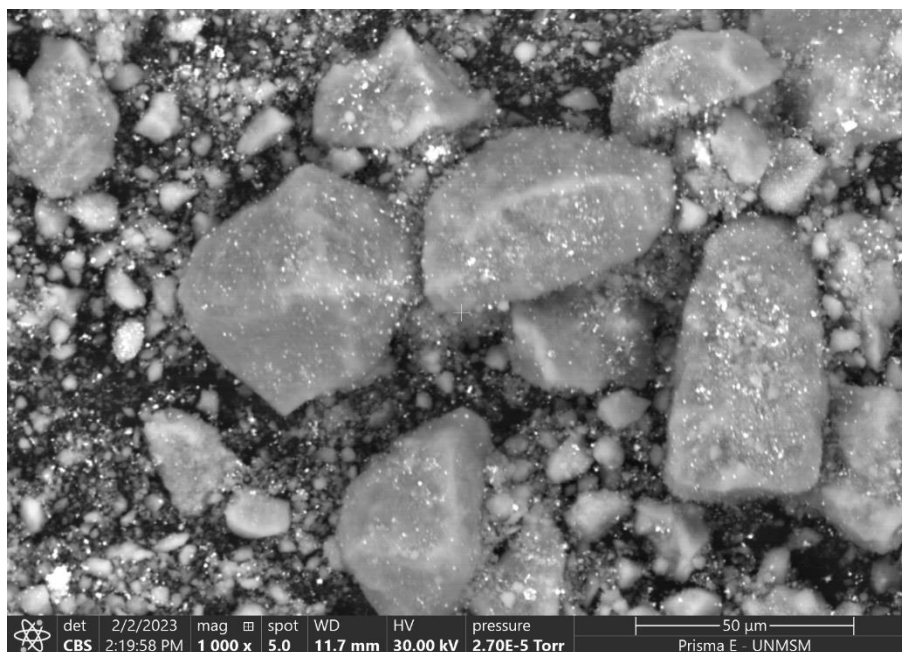


Figura 4.23. Micrografía MEB del compuesto Ag-HAp.

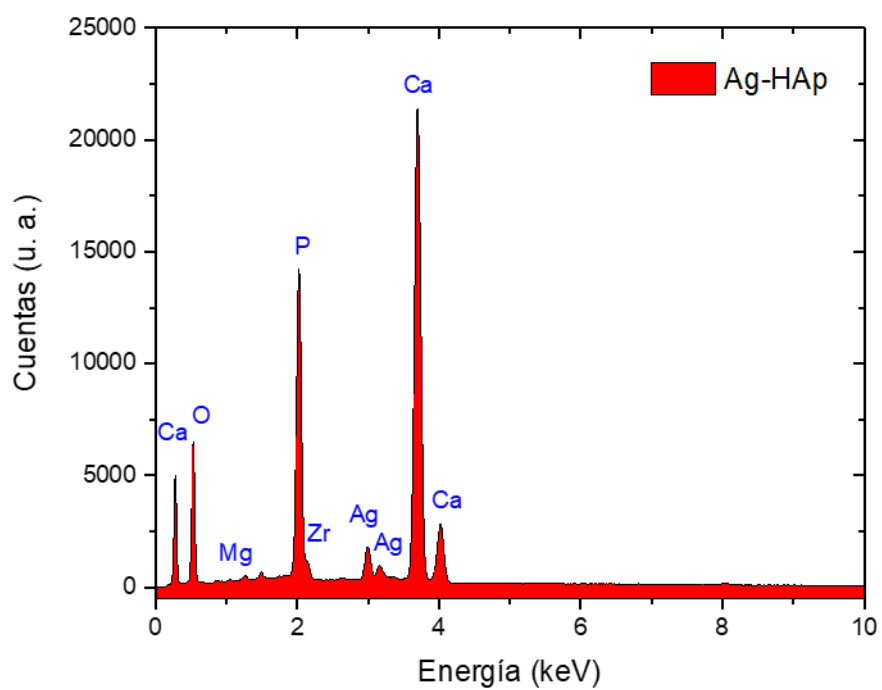


Figura 4.24. Espectro EDS del compuesto Ag-HAp.

Tabla 4.4. Composición elemental en porcentaje atómico y en peso del compuesto Ag-HAp.

Composición elemental		
	% atómico	% peso
Calcio (Ca)	15.7 ± 0.0	28.5 ± 0.1
Fósforo (P)	9.2 ± 0.0	12.9 ± 0.0
Oxígeno (O)	73.6 ± 0.3	53.3 ± 0.2
Zirconio (Zr)	0.2 ± 0.0	0.7 ± 0.0
Magnesio (Mg)	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0
Plata (Ag)	0.9 ± 0.0	4.2 ± 0.0

IV. 3. Etapa 3: Formulación de resinas compuestas

Tal como se pudo apreciar en los resultados descritos en la sección IV. 1. 1., la mecano-síntesis permitió obtener nanohidroxiapatita a partir de la cáscara de huevo con propiedades mejoradas frente a una hidroxiapatita convencional. La muestra escogida para usarse en la formulación de resinas fue aquella que requiere 16 horas de molienda y un tratamiento térmico a 400 °C. La mezcla del producto de los 12 procesos de síntesis a dichas condiciones (HAp-fill) fue analizada por DRX y se obtuvo el difractograma de la Figura 4.25, verificándose que los resultados descritos en la sección IV. 1. 1. fueron reproducibles.

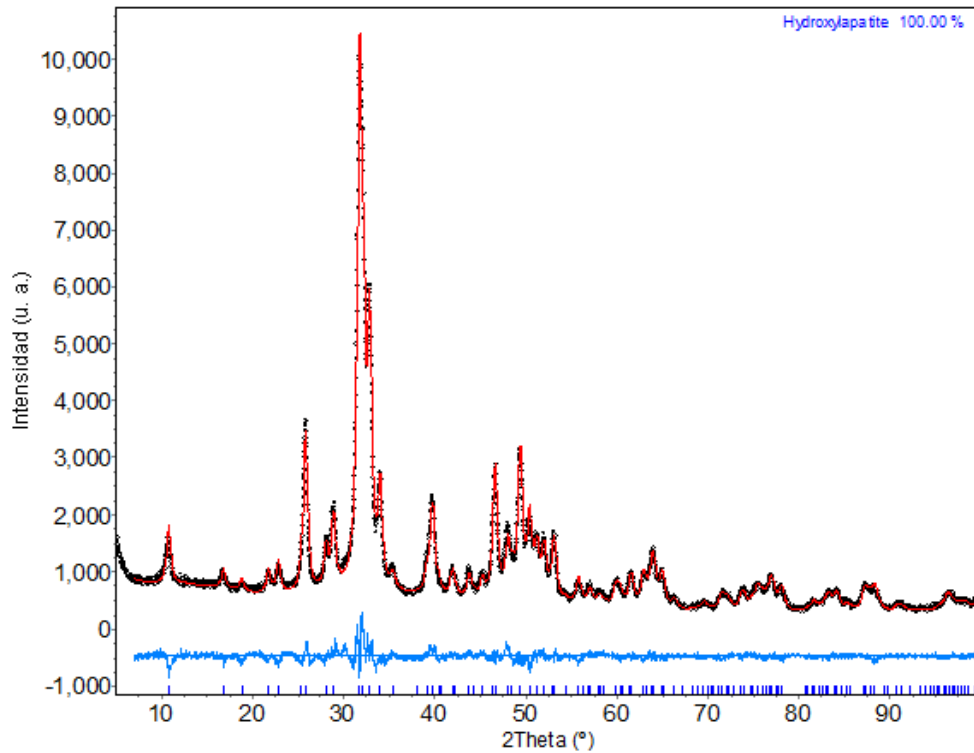


Figura 4.25. Difractograma del relleno HAp-fill.

Durante la formulación de las resinas correspondientes a los grupos listados en la Tabla 3.3 se apreciaron las siguientes complicaciones: Las resinas de los grupos Si40 y Si50 no pudieron ser correctamente formuladas debido a la baja densidad del relleno de sílice, impidiendo la correcta mezcla con la matriz orgánica y quedando con textura granulosa por exceso del componente en polvo, por lo que estos grupos quedaron descartados del presente estudio (Figura 4.26). Por otro lado, las resinas con refuerzos mecánicos y antibacterianos (QC-HAp y Ag-HAp) no fueron posible polimerizarse debido a su coloración grisácea que impide la correcta transmisión de la luz hacia todo el espécimen, por lo que también quedaron descartadas de este estudio (Figura 4.27).



Figura 4.26. Resina Si40 durante el proceso de formulación. Se aprecia su textura granulosa que impide su correcta manipulación y polimerización.



Figura 4.27. Resinas QC-HAp70 (izquierda) y Ag-HAp40 (derecha) durante el proceso de fotopolimerización. Se aprecia que las resinas no llegan a polimerizar debido a la coloración grisácea.

En los ocho grupos restantes (Esmalte, Dentina, Z350, LX5, HAp40, HAp50, HAp60 y HAp70) se realizaron los ensayos de evaluación de color, rugosidad y microdureza. Los ensayos de grado de conversión, absorción y solubilidad, e inhibición antibacteriana no se realizaron en los grupos Esmalte y Dentina por tratarse de muestras dentales.

De los resultados de la toma de color se notó que en las resinas con HAp la luminosidad L disminuyó significativamente ante el incremento del relleno desde 70.77 ± 0.74 hasta 46.31 ± 1.21 , además de ser menores a los de las resinas comerciales Z350 y LX5, con valores 77.73 ± 0.71 y 73.75 ± 1.11 , respectivamente. Es importante notar que la resina HAp50 presentó luminosidad similar a la del control de Esmalte (64.50 ± 1.84 y 63.18 ± 1.79 , respectivamente), pero menor al del control de Dentina (67.35 ± 1.92).

Por su parte, los controles de Esmalte, Dentina y resina LX5 presentaron valores similares del parámetro cromático a^* sin diferencias estadísticamente significativas, siendo estos -0.02 ± 0.37 , 0.07 ± 0.31 y 0.20 ± 0.20 , respectivamente. La resina comercial Z350 presentó un valor de a^* de 0.59 ± 0.10 , mientras que las resinas con HAp aumentaron este parámetro desde 2.10 ± 0.36 hasta 6.30 ± 0.19 conforme el incremento del relleno.

Así mismo, los grupos Esmalte, Dentina, Z350 y HAp40 presentaron valores similares del parámetro cromático b^* , siendo estos 24.60 ± 0.43 , 23.85 ± 1.32 , 23.71 ± 0.39 y 24.87 ± 1.83 , respectivamente. Las resinas HAp60 y HAp70, con valores de 29.08 ± 0.46 y 29.16 ± 0.47 respectivamente, tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí. Finalmente, la resina HAp50 presentó un valor de 26.90 ± 2.60 , mientras que la resina comercial LX5 mostró un valor de b^* de 14.90 ± 0.40 , siendo el menor entre todos los grupos de estudio.

Con los parámetros cromáticos representativos de cada grupo, se obtuvieron los colores digitales correspondientes a cada uno para poder diferenciarlos mejor. Además, se obtuvieron los tonos según el sistema VITA Classical, encontrando que

las resinas a base de hidroxiapatita HAp40, HAp50, HAp60 y HAp70 presentaron tonos A3.5, A4, C4 y C4, respectivamente. Por su parte, los controles dentales de Esmalte y Dentina presentaron tonos B2 y D1, respectivamente, mientras que las resinas comerciales Z350 y LX5 arrojaron tonos A2 y C1, respectivamente. Los gráficos de los parámetros cromáticos se observan en la Figura 4.28 (para mayor detalle véase la Tabla G.1 del Anexo G).

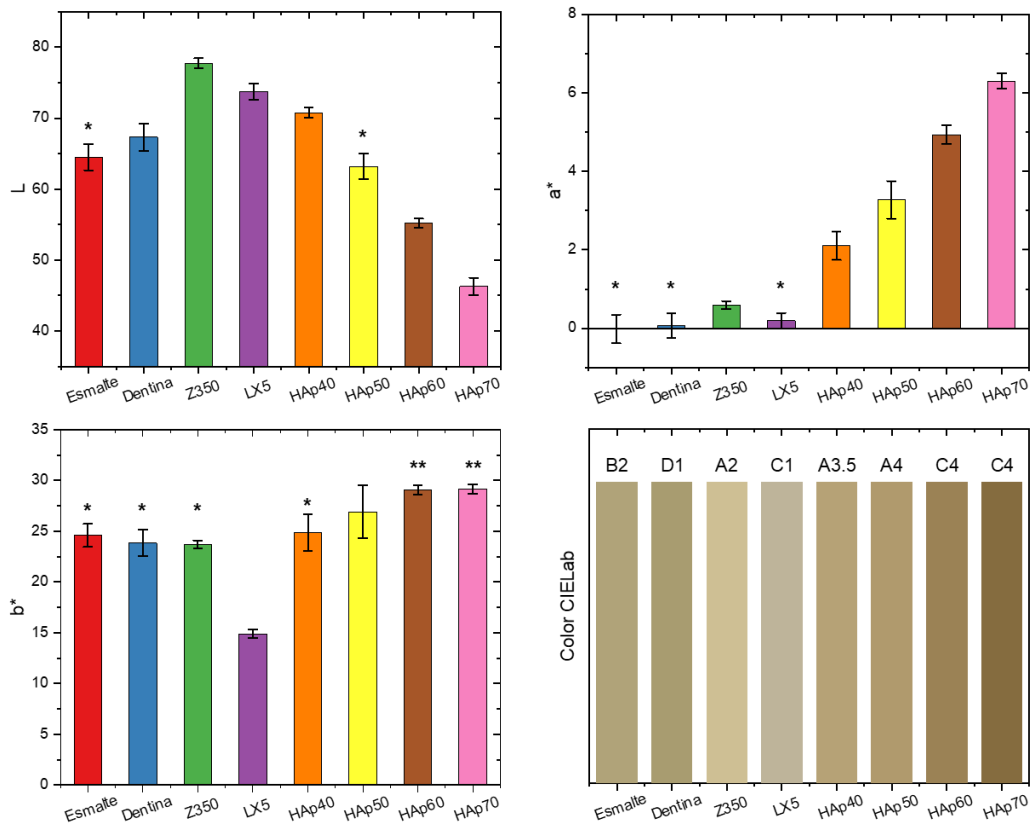


Figura 4.28. Parámetros cromáticos L , a^* y b^* de las muestras en estudio, y sus tonos equivalentes en el sistema VITA Classical. Los símbolos (*) y (**) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$.

Mediante microscopía óptica digital se pudieron obtener los valores de rugosidad aritmética media, cuyos valores se observan en la Figura 4.29. Se determinó que sólo el grupo correspondiente a la resina comercial LX5 mostró una rugosidad

significativamente mayor a los demás grupos, con un valor de $0.29 \pm 0.14 \mu\text{m}$, mientras que los demás arrojaron valores entre $0.14 \mu\text{m}$ y $0.22 \mu\text{m}$ sin diferencias significativas entre sí (para mayor detalle véase la Tabla G.2 del Anexo G).

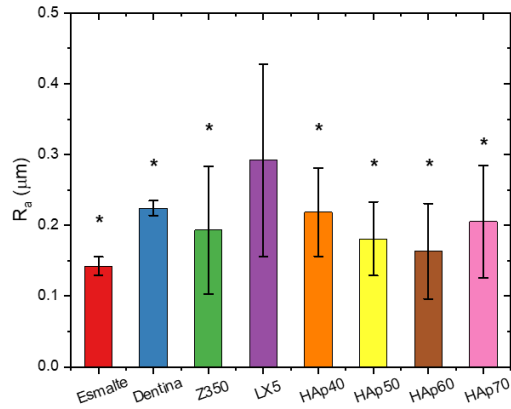


Figura 4.29. Rugosidad aritmética media de las muestras en estudio. Los símbolos (*) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$.

Los espectros infrarrojos obtenidos por FTIR se procesaron siguiendo la metodología de Collares y col. (73), que indicaron que la mejor forma de tomar las intensidades de las bandas aromáticas y alifáticas del enlace $\text{C}=\text{C}$ es trazando líneas referenciales desde cada uno de los extremos de dichas bandas hacia el extremo en común, y luego tomando la longitud vertical desde las puntas de las bandas hacia estas líneas referenciales, como se observa en la Figura 4.30, para calcular el grado de conversión (DC) de las resinas en estudio.

Como se observa en la Figura 4.31, las resinas comerciales Z350 y LX5 mostraron grados de conversión similares, $65.29 \pm 1.42 \%$ y $63.80 \pm 2.73 \%$, respectivamente, sin diferencias significativas entre sí. Por su parte, las resinas a base de hidroxiapatita HAp40, HAp50, HAp60 y HAp70 tuvieron mayor grado de

conversión, $73.97 \pm 0.73 \%$, $71.62 \pm 1.02 \%$, $74.30 \pm 1.69 \%$ y $74.51 \pm 1.99 \%$, respectivamente, pero sin tener diferencias significativas entre sí (para mayor detalle véase la Tabla G.3 del Anexo G).

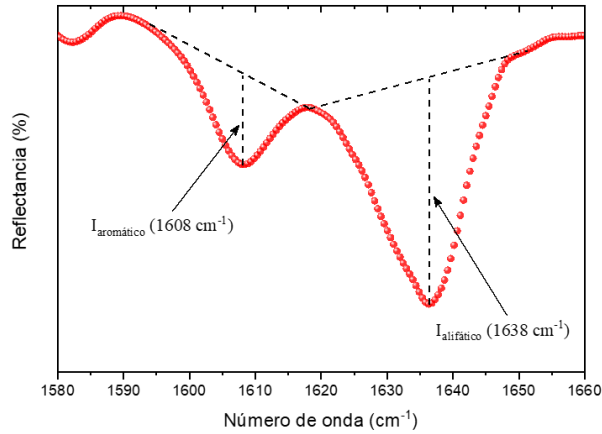


Figura 4.30. Bandas de los enlaces aromático (1608 cm^{-1}) y alifático (1638 cm^{-1}) obtenidas por FTIR que se utilizan en el cálculo del grado de conversión de una resina compuesta.

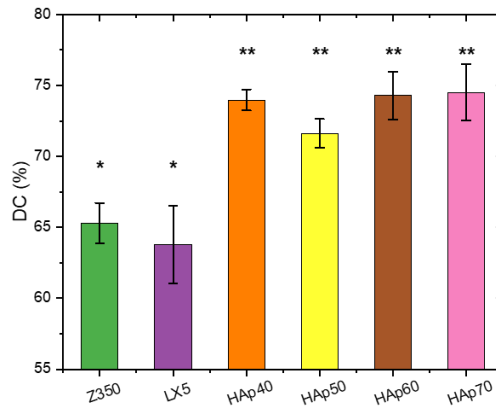


Figura 4.31. Grado de conversión de las resinas compuestas en estudio. Los símbolos (*) y (**) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$.

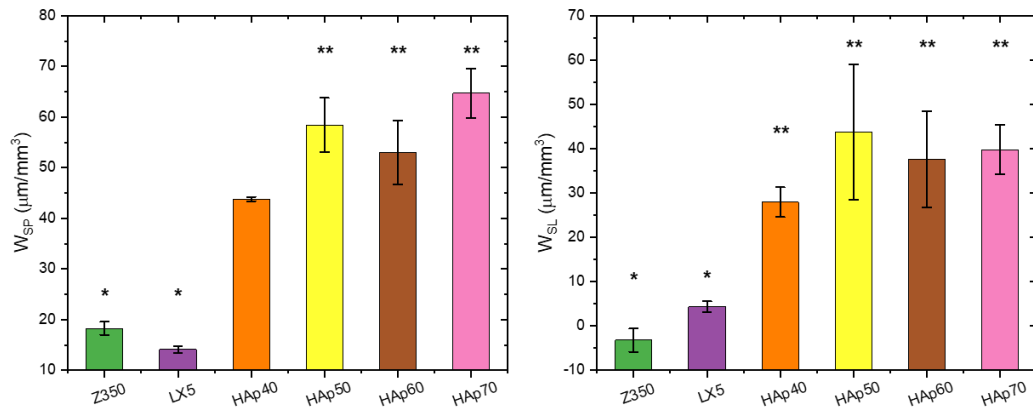


Figura 4.32. Absorción (izquierda) y solubilidad (derecha) de las resinas compuestas en estudio. Los símbolos (*) y (**) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$.

De los ensayos de absorción y solubilidad se obtuvieron los valores de W_{SP} , W_{SL} y ρ . La absorción de agua fue baja para las resinas comerciales Z350 y LX5, con valores de $18.30 \pm 1.30 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ y $14.13 \pm 0.67 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ respectivamente, sin diferencias significativas entre sí. Entre las resinas experimentales, el grupo HAp40 mostró la menor absorción con un valor de $43.81 \pm 0.42 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, mientras que los grupos HAp50, HAp60 y HAp70 mostraron valores similares sin diferencias significativas, siendo estos $58.44 \pm 5.32 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, $53.03 \pm 6.27 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, $64.70 \pm 4.86 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, respectivamente, como se observa en la Figura 4.32 (para mayor detalle véase la Tabla G.4 del Anexo G).

Similar al caso anterior, la solubilidad en agua fue baja para las resinas comerciales Z350 y LX5, con valores de $-3.18 \pm 2.66 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ y $4.39 \pm 1.21 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ respectivamente, sin diferencias significativas entre sí. Sin embargo, todas las resinas experimentales HAp40, HAp50, HAp60 y HAp70 tuvieron valores de solubilidad similares sin presentar diferencias significativas entre sí, siendo estos

$27.95 \pm 3.34 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, $43.76 \pm 15.29 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, $37.58 \pm 10.82 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ y $39.81 \pm 5.58 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, respectivamente, como se observa en la Figura 4.32 (para mayor detalle véase la Tabla G.5 del Anexo G).

La densidad de las resinas a base de hidroxiapatita fue aumentando conforme se incrementó la cantidad de relleno, siendo la densidad del grupo HAp40 la más baja con $1.49 \pm 0.05 \text{ g}/\text{cm}^3$. A continuación, el grupo HAp50 tuvo una densidad de $1.65 \pm 0.02 \text{ g}/\text{cm}^3$, seguido del grupo HAp60 con una densidad $1.77 \pm 0.07 \text{ g}/\text{cm}^3$, similar al de las resinas comerciales Z350 y LX5, con densidades de $1.82 \pm 0.01 \text{ g}/\text{cm}^3$, $1.77 \pm 0.05 \text{ g}/\text{cm}^3$, sin diferencias significativas entre estos tres grupos. Finalmente, la resina con mayor densidad fue la del grupo HAp70 con $1.91 \pm 0.04 \text{ g}/\text{cm}^3$, como se observa en la Figura 4.33 (para mayor detalle véase la Tabla G.6 del Anexo G).

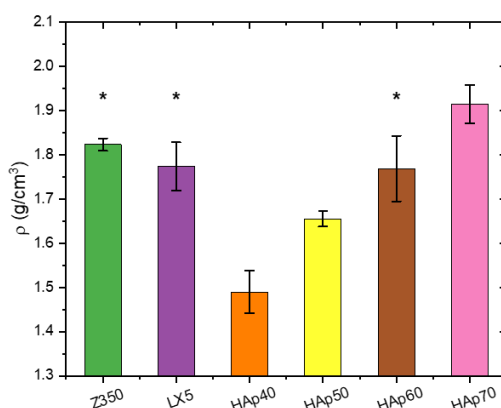


Figura 4.33. Densidad de las resinas compuestas en estudio. Los símbolos (*) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$.

La microdureza Vickers de los grupos estudiados se muestran en la Figura 4.34. La microdureza del grupo Esmalte fue la mayor con $335.20 \pm 15.40 \text{ Kg-f}/\text{mm}^2$. Los valores para el grupo Dentina y Z350 fueron de $65.83 \pm 3.09 \text{ Kg-f}/\text{mm}^2$ y $64.71 \pm 4.92 \text{ Kg-f}/\text{mm}^2$, respectivamente, sin diferencias significativas entre sí. Por su parte,

la resina comercial LX5 obtuvo una microdureza de $52.55 \pm 2.95 \text{ Kg-f/mm}^2$. Las resinas basadas en hidroxiapatita aumentaron su microdureza conforme incrementó su porcentaje de relleno, cuyos valores fueron $13.52 \pm 2.35 \text{ Kg-f/mm}^2$, $18.55 \pm 3.18 \text{ Kg-f/mm}^2$, $26.15 \pm 2.84 \text{ Kg-f/mm}^2$ y $38.85 \pm 4.75 \text{ Kg-f/mm}^2$ para los grupos HAp40, HAp50, HAp60 y HAp70, respectivamente (para mayor detalle véase la Tabla G.7 del Anexo G).

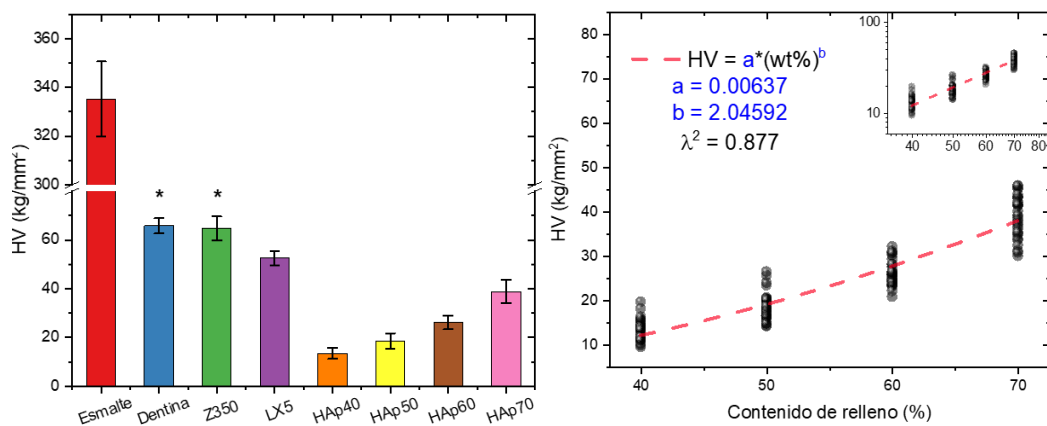


Figura 4.34. Microdureza Vickers de las muestras en estudio (izquierda) y el ajuste alométrico para las resinas respecto al contenido de relleno de hidroxiapatita (derecha). Los símbolos (*) indican que no existen diferencias significativas entre sí con un valor de $p > 0.05$.

El incremento de la microdureza con respecto al contenido de relleno de hidroxiapatita en las resinas experimentales fue analizado ajustando los datos con una función alométrica del tipo $Y=a*X^b$ que describe la ley de potencia para magnitudes físicas dependientes de un parámetro microscópico (82). Bajo este modelo, el exponente en esta función indica la rapidez de cambio de la microdureza con respecto al contenido de relleno, teniendo un valor de 2.04592 ± 0.07985 , lo

cual aproxima a la función alométrica a una dependencia cuadrática, como se observa en la Figura 4.34.

Por otra parte, realizando un análisis bajo el enfoque de Mecánica de Medios Continuos para materiales compuestos con el fin de predecir el comportamiento micromecánico de las resinas, se utilizó la regla de las mezclas generalizada (*Generalized Mixture Rule*, GMR) mediante la siguiente ecuación (83):

$$HV^J = \sum_{i=1}^2 (V_i HV_i^J)$$

donde HV es la microdureza Vickers de la resina, V_i es la fracción volumétrica de la i-ésima componente, HV_i es la microdureza de la i-ésima componente, y J es el parámetro microestructural. El subíndice i varía entre 1 y 2, que corresponden a la matriz orgánica y al relleno de HAp, respectivamente.

Cuando $J = 1$, la GMR se le conoce como el promedio de Voigt y representa la media aritmética de la microdureza de las componentes de la resina bajo condiciones de isodeformación (84). Por otro lado, cuando $J = -1$, la GMR se le conoce como el promedio de Reuss y tiene la forma de la media armónica entre la microdureza de las componentes bajo condiciones de isoesfuerzo (85). Un caso particular es cuando el parámetro microestructural tiende a cero ($J \rightarrow 0$), que resulta en la media geométrica entre la microdureza de las componentes y que se aproxima mejor a compuestos de microestructura más compleja (86). Sin embargo, según la naturaleza del compuesto, el tipo de componentes que lo conforman, la geometría de las partículas de relleno o la continuidad entre las fases, este parámetro puede

variar para describir mejor la fórmula fenomenológica de la microdureza respecto al volumen del relleno (87).

Para describir y predecir la microdureza en función de la cantidad de hidroxiapatita, se graficaron las curvas GMR para diferentes valores de J (1.0, 0.75, 0.5, 0.25, 0, -0.25, -0.5, -0.75, -1.0) tomando 8.9 Kg-f/mm² como valor de microdureza de la matriz orgánica (88) y 157.5 Kg-f/mm² como valor de la microdureza del relleno de HAp en polvo (89), obtenidos de la literatura. La gráfica de las curvas GMR se observa en la Figura 4.35A, además se aprecian los puntos experimentales obtenidos en el presente trabajo. Como se puede observar, las curvas GMR no describen correctamente el comportamiento micromecánico de la resina, a pesar de encontrarse dentro de los límites de Voigt y Reuss.

Otra forma de ajustar los datos experimentales de microdureza es mediante una función exponencial, mediante la siguiente ecuación (90):

$$HV = HV_M e^{bV_{HAp}} \wedge$$

$$b = \ln(HV_{HAp}/HV_M) ,$$

la cual permite calcular los valores de microdureza de la matriz orgánica y de la HAp para los datos del presente estudio, resultando los valores de 5.71 Kg-f/mm² y 529.80 Kg-f/mm², respectivamente. Con estos nuevos valores se pueden graficar las curvas GMR y el ajuste exponencial, como se observa en la Figura 4.35B. Cabe notar que el ajuste exponencial coincide exactamente con la curva GMR con J = 0, lo cual indica que la resina es un sistema complejo, probablemente debido a la variada distribución de tamaños de partículas de la HAp.

Un aspecto a tener en cuenta es que las resinas compuestas a base de hidroxiapatita pueden poseer porosidad debido al método manual de formulación y a la propia naturaleza porosa del relleno. Esta característica debe ser tomada en cuenta al momento de ajustar los datos entre los límites de Voigt y Reuss. Para ello, se aplicó una corrección que relaciona la microdureza del material no poroso con su contraparte porosa:

$$\frac{HV_{no\ poroso}}{HV_{poroso}} = (1 - \phi)^{-1/J}$$

donde ϕ corresponde a la porosidad de la resina, y J toma el valor de 0.5 cuando se tratan de poros esféricos y 0.25 cuando se tratan de poros de formas aleatorias. En este caso se consideró un $J = 0.25$. Cabe resaltar que la porosidad de la resina ϕ se obtuvo considerando el promedio de Voigt, con $\phi_{HAP} = 0.107$ y $\phi_M \rightarrow 0$ (91).

Con estas consideraciones, los datos experimentales obtenidos del ensayo de microdureza Vickers a las resinas dentales se corrigieron para predecir la propiedad mecánica de su contraparte no porosa, cuyos valores se observan en la Tabla 4.5. La corrección permitió ajustar los valores de microdureza a una curva GMR con el parámetro $J = 0.274$, como se observa en la Figura 4.35B.

Los ensayos de inhibición antibacteriana permitieron evaluar la actividad antibacteriana de las resinas en estudio a través de los halos de inhibición. En la Tabla 4.6 se observan las medidas de dichos halos utilizando un vernier digital y a través del procesamiento de una fotografía. Las resinas en estudio no presentaron halo de inhibición por ninguno de los métodos de medición, en contraste con el halo del control positivo de clorhexidina que tuvo diámetros de 24.43 ± 2.17 mm y 28.18 ± 2.67 mm medidos con vernier y por software, respectivamente.

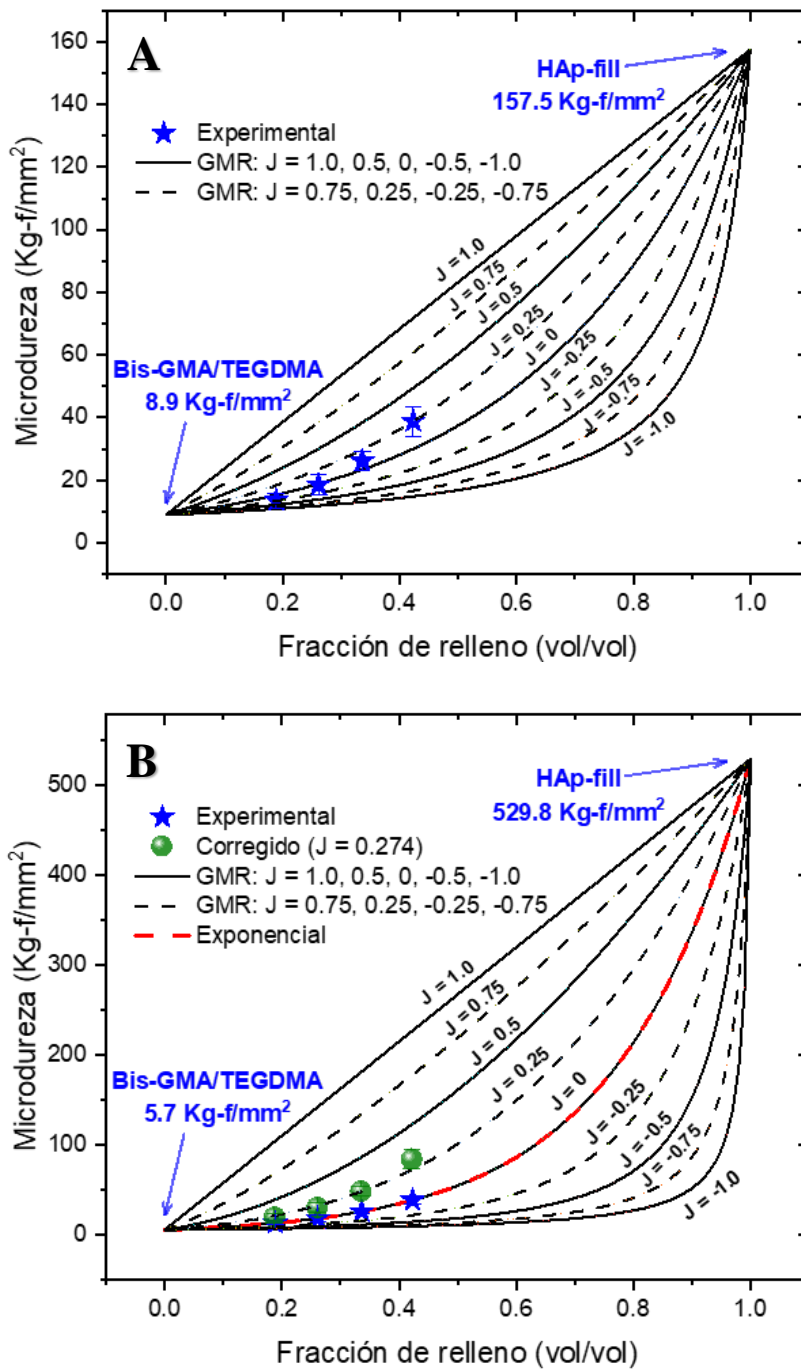


Figura 4.35. Curvas de la regla de las mezclas generalizada (GMR) con diferentes valores de J para la microdureza de resinas con relleno de HAp utilizando (A) valores mecánicos de la literatura (88,89) y (B) valores obtenidos del ajuste exponencial. Se presentan los datos experimentales obtenidos en el presente trabajo (★) y su corrección considerando la porosidad del material (●).

Tabla 4.5. Microdureza Vickers de las resinas a base de hidroxiapatita y su corrección para ser consideradas materiales no porosos.

Muestra	Fracción de relleno (vol/vol)	ϕ	HV _{poroso} (Kg-f/mm ²)	HV _{no poroso} (Kg-f/mm ²)
HAp0†	0	0	5.71	5.71
HAp40	0.189	0.020	13.52	18.96
HAp50	0.261	0.028	18.55	29.63
HAp60	0.336	0.036	26.15	47.87
HAp70	0.423	0.046	38.85	83.41
HAp100†	1	-	529.80	529.80

† Valores obtenidos del ajuste exponencial de los datos de microdureza.

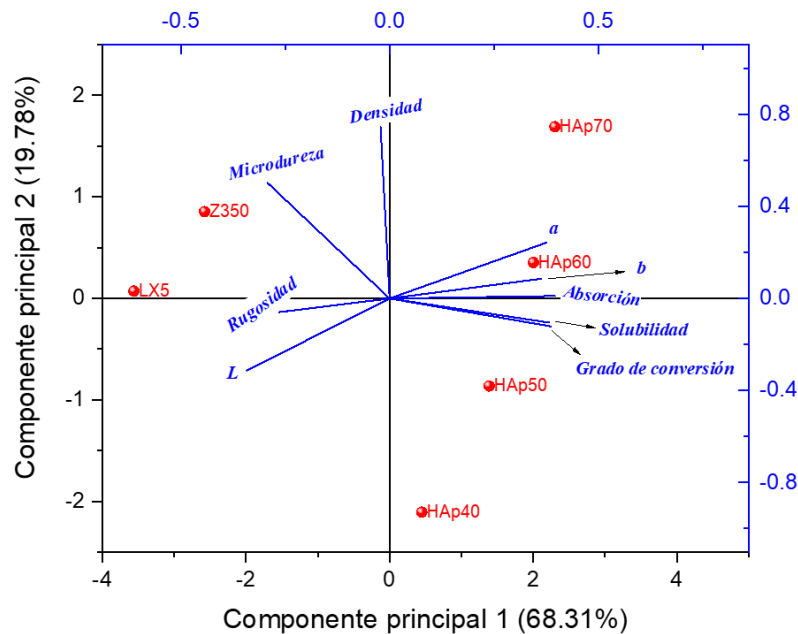


Figura 4.36. Gráfico de las componentes principales de las resinas compuestas estudiadas. Se muestran las variables evaluadas como líneas azules, mientras que los grupos Z350, LX5, HAp40, HAp50, HAp60 y HAp70 como círculos rojos.

Tabla 4.6. Halos de inhibición antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* de las muestras en estudio.

Halo de inhibición (mm)		
	Vernier \pm SD	ImageJ \pm SD
Z350	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
LX5	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
HAp40	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
HAp50	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
HAp60	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
HAp70	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Control +	24.43 \pm 2.17	28.18 \pm 2.67
Control -	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

Con el objetivo de buscar similitudes en las resinas en estudio que nos permitan clasificarlas de acuerdo a algunas de las características físicas evaluadas, se realizó el análisis PCA tomando en cuenta las variables: luminosidad, parámetros cromáticos a^* y b^* , rugosidad, grado de conversión, absorción, solubilidad, densidad y microdureza. Las componentes principales obtenidas fueron dos: la primera con el 68.31% de la varianza total y la segunda con el 19.78%. El gráfico de factores superpuesto con la ubicación de las muestras, que se observa en la Figura 4.36, permitió notar tendencias en los diferentes grupos de resinas. Respecto

a la densidad, es clara la tendencia al aumento en las resinas experimentales con respecto a la concentración de relleno, a la vez que se observan las resinas comerciales Z350 y LX5 al mismo nivel de la resina HAp60, verificando que son grupos con valores similares como ya se vio anteriormente. Por otro lado, las variables absorción, solubilidad, grado de conversión y los parámetros cromáticos a^* y b^* mostraron ser factores opuestos a las variables rugosidad y luminosidad, ya que se ubicaron casi sobre el eje de las abscisas, pero en sentidos opuestos, y diferenciando a las resinas comerciales de las experimentales. Finalmente, la variable microdureza, que se ubicó en el primer cuadrante, describió correctamente el comportamiento escalonado de los grupos respecto a esta magnitud, siendo la resina Z350 la de mayor microdureza, y la resina HAp40 la de menor microdureza.

V. DISCUSIÓN

Formación de nanohidroxiapatita mediante mecano-síntesis.

Con el fin de optimizar el protocolo de síntesis de nanohidroxiapatita mediante la técnica de mecano-síntesis usando cáscara de huevo como fuente de calcio, se utilizaron dos variables independientes en esta metodología: tiempos de molienda y temperaturas de tratamiento térmico, ya que ambas son una medida de la energía total suministrada al material para que se produzca la reacción química de formación de la hidroxiapatita. A diferencia del método sol-gel, en el que la reacción se produce en medio acuoso con un pH alcalino controlado, por mecano-síntesis no es necesario tener en cuenta este aspecto ya que la molienda se realiza en un medio seco (28). Otro aspecto a tener en cuenta es que la cáscara de huevo, formada por CaCO_3 , no es soluble en agua, por lo que es necesario transformarla previamente en Ca(OH)_2 o $\text{Ca(NO}_3)_2$ para llevar a cabo el método sol-gel, mientras que en la mecano-síntesis utilizada en este trabajo se usa directamente (34). Por su parte, como se observaron en los resultados de este trabajo, la hidroxiapatita obtenida retuvo iones CO_3^{2-} en su estructura debido al uso de la cáscara de huevo, transformándola en una carboapatita tipo AB, siendo esto evidenciado por su volumen de celda unitaria mayor al de una hidroxiapatita convencional, presencia de bandas carbonato en su espectro infrarrojo, mayor tensión elástica interna y presencia de carbono en su espectro de energía dispersiva. Todos estos aspectos resaltan los beneficios de usar la mecano-síntesis como un método de obtención de nanohidroxiapatita con propiedades mejoradas frente a otras metodologías, y también en cumplimiento de uno de los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU, la ODS 12 que recomienda una producción y consumo responsables de los

recursos naturales mediante el aprovechamiento de un subproducto del huevo de gallina (92). Así mismo, la mecano-síntesis se ha reportado como método de preparación de hidroxiapatita usando cáscara de huevo como regulador de la cantidad de calcio en un fosfato dicálcico dihidratado (93), o para comparar la eficiencia entre la cáscara de huevo y el esqueleto de sepias (ambos carbonatos de calcio) en la síntesis de hidroxiapatita (50).

La estabilidad de la fase hidroxiapatita en las muestras obtenidas mediante mecano-síntesis se mantuvo hasta antes de los 800 °C, ya que para temperaturas mayores se obtuvo una segunda fase (TCP). Esta temperatura es menor a lo reportado por otros autores (40) que, al utilizar un tiempo de nucleación mayor, permiten que los cristales de hidroxiapatita se formen adecuadamente y soporten temperaturas de hasta 1000 °C sin descomponerse en otras fases. El proceso de mecano-síntesis genera una mayor tensión elástica interna en la hidroxiapatita, que por un lado hace sensible a la temperatura, pero por otro la hace mecánicamente más resistente, lo cual se observó en las medidas piezo-espectroscópicas de este trabajo. Por su parte, el tiempo de molienda ayudó a la aglomeración de los cristalitos y la densificación de la estructura de la hidroxiapatita, lo cual se evidenció mediante el aumento del tamaño promedio de cristalito y la disminución del volumen de la celda unitaria, respectivamente, aspecto no explorado en trabajos similares (45,48,50). Además, la muestra obtenida con 16 horas de molienda y 400 °C de tratamiento térmico permitió mantener un balance óptimo entre la pureza de la muestra de hidroxiapatita, su tamaño promedio de cristalito en un régimen nanométrico y su tensión elástica interna máxima de 3.94 GPa, siendo esta la

muestra con mejores características para usarse en una resina compuesta para imitar el tejido dental natural.

El análisis de componentes principales mostró que controlando las variables tiempo de molienda y temperatura de tratamiento térmico es posible sintetizar hidroxiapatitas con características específicas, las cuales pueden ser usadas para determinados procedimientos dentales. Por ejemplo, las muestras que fueron tratadas térmicamente por encima de los 800 °C son ideales para usarse como rellenos óseos ya que cuentan parcialmente con TCP y un tamaño de cristalito fuera del régimen nanométrico (9). Por otro lado, las muestras tratadas entre 400 °C y 600 °C son las que cuentan con mayor tensión elástica interna, menor tamaño de cristalito y mayor pureza, por lo que pueden ser usadas como agente activo en pastas dentales (94), o como en este caso, como relleno de resinas compuestas.

Modelamiento computacional de la estructura de la hidroxiapatita.

Con ayuda de un método *ab-initio*, como lo es el DFT, es posible calcular propiedades físicas de los materiales utilizando una estructura modelo (95). En el presente trabajo se utilizó como información de entrada la estructura convencional de la hidroxiapatita y la estructura obtenida de la muestra con 16 horas de molienda y 400 °C de tratamiento térmico. Al optimizar los parámetros estructurales para los cuales la energía se vuelve mínima y, por lo tanto, es más probable su obtención, se encontró una correcta coherencia entre estos resultados teóricos y los obtenidos por difracción de rayos X, ya que la celda unitaria de la hidroxiapatita sintetizada por mecano-síntesis tiene parámetros de red y volumen de celda unitaria mayores que una convencional. Además, las fuerzas internas calculadas en dicha muestra son

notoriamente mayores con respecto a la hidroxiapatita convencional (400 veces mayor), lo que tiene coherencia con la tensión elástica interna obtenida experimentalmente mediante espectroscopía Raman confocal. Por su parte, la densidad de estados electrónicos obtenida a partir de estos cálculos *ab-initio* muestran el comportamiento del electrón a lo largo del material como, por ejemplo, los niveles energéticos a los que puede acceder y el ancho del *bandgap* (energía que separa la banda de valencia de la banda de conducción). Esta información es crucial para entender el efecto que tiene la distribución de cargas electrónicas en las propiedades ópticas debido al intercambio de iones en la estructura (CO_3^{2-} por PO_4^{3-}). El *bandgap* de 4.8 eV encontrado para la hidroxiapatita convencional se encuentra en el rango reportado por otros autores (96,97), mientras que el *bandgap* de la hidroxiapatita obtenida por mecano-síntesis se redujo hasta 2.4 eV, lo cual cobra sentido ya que aparecen nuevos estados localizados debido al desorden estructural generado por la inclusión de iones externos en la hidroxiapatita (98). Esto se observa mejor al analizar la densidad de estados parciales en los que podemos distinguir cuál es el efecto de los orbitales de cada átomo. Se notó que los átomos calcio se mantienen como estados internos de baja energía en ambas estructuras, pero con un desorden (más niveles de energía accesibles) en la hidroxiapatita por mecano-síntesis. Por su parte, los orbitales s de los átomos de oxígeno que forman tanto los iones PO_4^{3-} como los iones OH^- tienen niveles de energía internos en ambas estructuras, mientras que sus orbitales p son más abundantes en el borde del nivel de Fermi (energía del nivel más alto ocupado a una temperatura de 0 K), por este motivo las bandas infrarrojas y Raman que son las más resonantes corresponden a estos iones (99). Los iones CO_3^{2-} en la hidroxiapatita por mecano-

síntesis poseen niveles de energía muy variados, siendo los orbitales p del oxígeno los más abundantes cerca del nivel de Fermi, mientras que los orbitales s y p del carbono poseen energías menores similares al calcio y a los orbitales s del oxígeno (~20 eV). Los valores del *bandgap* obtenidos experimentalmente por espectroscopía UV-visible para ambas estructuras corroboran los resultados calculados mediante DFT, lo que le da validez al método realizado y a la estructura propuesta para la hidroxiapatita por mecano-síntesis. Además, se observó que los cálculos subestiman los valores del *bandgap* obtenidos experimentalmente en ambas estructuras, lo cual se debe al funcional de intercambio y correlación escogido en esta metodología (aproximación de gradiente generalizado, GGA), lo cual podría mejorarse usando funcionales híbridas como PBE0, HSE o B3LYP (100). Un menor *bandgap* en la hidroxiapatita obtenida por mecano-síntesis representa una alternativa de uso en aplicaciones biomédicas, ya que permite que el material genere una señal electrónica con un menor estímulo (luz o calor) teniendo gran potencial como sensor, generador de imágenes médicas o catalizador de procesos biológicos (101).

Refuerzos mecánicos y antibacteriano

El refuerzo mecánico de cuasicristal fue obtenido por la técnica de horno de arco en la concentración nominal de $\text{Al}_{65}\text{Cu}_{20}\text{Fe}_8\text{Cr}_7$ como lo habían reportado Liu y col. (102), sin embargo, con el agregado de haber obtenido un material monofásico debido al tratamiento térmico de 800 °C durante 48 horas, condiciones ideales reportadas por Pinto y col. (103) para el cuasicristal icosaedral $\text{Al}_{64}\text{Cu}_{23}\text{Fe}_{13}$. Mediante DRX se obtuvo el difractograma característico de la muestra, no obstante, Dong y Dubois (104) reportaron que mediante esta técnica es imposible determinar

con exactitud la presencia de la fase decagonal cuasicristalina o si se trata de su aproximante ortorrómbico, por lo que se requeriría un análisis más especializado como microscopía electrónica de transmisión (TEM) y difracción de electrones (ED) para observar las reflexiones de quinto orden. En vista de que Li y col. (105) reportaron que entre los aproximantes de este cuasicristal, la fase O_1 es la más acorde al cuasicristal, se utilizó este modelo estructural para realizar un refinamiento Rietveld y encontrar sus parámetros estructurales, hallando que los parámetros de red a, b y c están en buena relación con los reportados por otros autores (102,104,105). Por su parte, el tamaño promedio de cristalito alrededor de 26 nm refleja que se trata de un nanomaterial con potenciales propiedades mecánicas y tribológicas frente a otras aleaciones, por ejemplo, su alta dureza y baja fricción frente al acero inoxidable AISI 444 (106) o frente a una aleación de titanio (107). Además, este cuasicristal ya es usado comercialmente como recubrimiento de artículos de cocina (108) y puede usarse como refuerzo de hidroxiapatita como el compuesto cuasicristalino Al-Cu-Fe (57).

El refuerzo antibacteriano de nanopartículas de plata fue obtenido mediante una síntesis *in-situ* sobre la hidroxiapatita, como se apreciaron en las micrográficas MEB, lo que permitió asegurar una correcta adhesión y homogénea distribución de ambos compuestos, lo que conllevaría a una acción antibacteriana uniforme. Además, se comprobó que esta ruta tiene una eficiencia de síntesis del 98%, obteniendo partículas nanométricas por debajo de los 30 nm, según los resultados de DRX. Así mismo, el análisis elemental mostró una ligera deficiencia de plata con respecto a la concentración nominal, como se vio por DRX. El compuesto sintetizado Ag-HAp al ser usado como relleno de una resina compuesta en

concentraciones de 40% a 70% en peso, arrojaría una concentración final de entre 2% y 3.5% de plata en la resina, cantidad suficiente para tener un efecto antibacteriano sobre cepas de *S. mutans*, que requieren concentraciones por encima del 0.5% cuando se agregan solas (109) o 0.3% cuando se agregan junto a HAp (110).

Propiedades físicas, mecánicas y biológicas de las resinas compuestas

La limitación que tuvo la presente tesis fue que los grupos de resinas experimentales con rellenos de sílice, cuasicristal y plata no lograron formularse y/o prepararse correctamente.

En el caso de las resinas con sílice (Si40 y Si50), el relleno inorgánico cuenta con una densidad baja (2.65 g/cm^3) comparada a la de la hidroxiapatita (3.72 g/cm^3), lo que conlleva a tener más volumen del polvo para una misma cantidad de matriz inorgánica, y el impedimento de poder formular una resina pastosa. Una alternativa de solución ante este inconveniente sería el tratamiento del sílice mediante un proceso de molienda mecánica de baja energía para densificar el polvo (111–113), permitiendo que la mezcla de monómeros se integre correctamente y forme la resina compuesta con textura pastosa.

Las resinas reforzadas (QC-HAp y Ag-HAp) no pudieron polimerizarse debido a la coloración grisácea de los compuestos metálicos en los rellenos. Esto genera que el valor cromático de la resina sea muy bajo y la opacidad impida la transmisión de la luz de curado más allá de la capa superficial (114). Para lograr la polimerización de estas resinas se puede optar por un curado químico asistido por temperatura, utilizando peróxido de benzoilo (115,116). Este compuesto cumple el

papel de catalizador en la polimerización por radicales libres respondiendo a un estímulo térmico para desencadenar la reacción química. Se puede usar también en otros materiales restauradores dentales, como en los adhesivos ortodónticos activándolos por temperatura (109) o por fotocurado cuando contiene una baja cantidad de relleno (110).

De los resultados de toma de color en el resto de grupos de estudio, es importante notar que el relleno de HAp afecta a los tres parámetros cromáticos estudiados. La luminosidad decreció linealmente conforme se incrementó el contenido de relleno, lo cual es coherente ya que a mayor presencia de partículas de HAp hay una mayor absorción de luz por el material en el rango visible, esto debido a su coeficiente de absorción óptica ($\alpha_{\text{HAp}} = 910 \text{ cm}^{-1}$ a $\lambda = 694 \text{ nm}$) (117). Otra explicación a la pérdida de luminosidad estaría en la dispersión difusa de la luz debido a la rugosidad de la muestra (118), sin embargo, se observó que los valores de rugosidad aritmética media no tienen diferencias significativas entre las resinas con diferentes concentraciones de HAp. Respecto a los otros dos parámetros cromáticos, se observaron dependencias lineales positivas entre la concentración del relleno inorgánico con a^* y con b^* , esto debido a que la HAp obtenida por mecano-síntesis tiene un color entre rosa y naranja, sumado a que la matriz orgánica es transparente, tiene sentido que ambos parámetros cromáticos incrementen su valor conforme hay más HAp. Para evaluar diferencias generales entre las resinas basadas en HAp es necesario tener en cuenta la diferencia de color absoluta ΔE^* definida como la distancia entre dos puntos del espacio cromático CIELab (119). Teniendo en cuenta ello, la diferencia de color absoluta entre las resinas basadas en HAp están por encima del valor de 3.3 el cual es perceptible al ojo humano

(120,121), siendo una variación “apreciable” entre resinas con diferencia de 10% de HAp, y una variación “extraordinaria” entre resinas con diferencia de más de 20% (122). A pesar de los cambios significativos en el color de estas resinas, los tonos que poseen normalmente son usadas en restauraciones posteriores que, aplicándolas mediante una técnica bicromática en cavidades de dentina Clase I, son una muy buena alternativa en la práctica clínica (123).

Las resinas basadas en HAp mostraron un grado de conversión mayor al de las resinas comerciales, teniendo en cuenta que la potencia de luz y tiempo de polimerización utilizados en los especímenes a base de HAp fue mayor al que usualmente se utiliza en la práctica clínica (124) y al que recomienda cada fabricante de las resinas comerciales. Como el objetivo fue estudiar el desempeño máximo que tendrían las resinas experimentales, se optó por aplicar una alta potencia y un tiempo suficientemente grande para lograr la convergencia del grado de conversión, quedando como materia de futuros estudios el desempeño de estas resinas bajo condiciones clínicas.

La absorción y la solubilidad medidas en todas las resinas basadas en HAp estuvieron por encima de los valores recomendados por la norma ISO 4049, cuyos valores máximos son $40 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ y $7.5 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, respectivamente (74). Esta falencia se podría deber a la técnica de formulación manual utilizada, ya que el sistema de polimerización es el correcto según el grado de conversión evaluado. Además, un proceso de silanizado al relleno de HAp a través de sus grupos funcionales OH^- podría mejorar el enlace matriz-relleno para incrementar la estabilidad de la resina y evitar la infiltración de agua (125).

Durante el proceso de formulación de las resinas a base de HAp, se apreció que las consistencias de éstas sin curar iban desde una resina fluida (HAp40) hasta una resina convencional (HAp70), lo que está en buena concordancia con la densidad medida en dichas resinas, y podría ser mucha utilidad en la docencia como parte de la práctica de estudiantes de Estomatología. Además, es interesante que la resina con 60% de relleno de HAp tenga una densidad similar a la de las resinas Z350 y LX5, que cuentan con 78.5% y 82% de relleno, respectivamente (126,127). Este resultado refleja que podemos tener una menor cantidad de relleno en la resina experimental y lograr una densidad similar a la de productos comerciales. Sin embargo, la naturaleza del relleno de las resinas comerciales, ambas basadas en una mezcla de sílice y zirconia tratada ($\text{SiO}_2/\text{ZrO}_2$), les confiere propiedades mecánicas mayores a las resinas experimentales formuladas en la presente tesis (128–131). Esto se puede mejorar al reforzar mecánicamente la HAp con partículas de d-QC, siempre que se logre optimizar el procedimiento de polimerización.

Uno de los motivos por los que se formularon las resinas experimentales en porcentajes desde 40% hasta 70% en peso fue para obtener una curva de dependencia analítica entre la propiedad mecánica en función de su relleno, y así explicar qué ocurría en el material a microescala. Para abordar esta incógnita existen diferentes métodos de análisis, como se vio en la sección Resultados. El primero de ellos es mediante la ley de potencia usando una función alométrica (82), obteniendo una dependencia cuadrática con respecto al volumen del relleno, lo cual está en buena concordancia con lo reportado por Amendola y col. para muestras poliméricas de redes pentamodales (132). Por su parte, Braem y col. (90) proponen ajustar los datos experimentales siguiendo una función exponencial, lo que permite

obtener los valores de frontera (microdureza de la matriz y del relleno). Sin embargo, en base a la Mecánica de Medios Continuos, el reto de este trabajo está predecir las propiedades mecánica de todo el material sólido asumiéndolo isotrópico y continuo (133). Entonces, utilizando la regla de las mezclas generalizada (GMR) para una resina compuesta de dos componentes (83,87), y utilizando los valores de frontera reportados por Zuber y col. (88) y Al-Sanabani y col. (89) se obtienen las curvas del comportamiento mecánica dentro de los límites de Voigt y Reuss, para diferentes parámetros microestructurales J . No obstante, los puntos experimentales no se ajustaron a dichas curvas GMR, debido a que los valores de frontera utilizados no corresponden a nuestro material, debido a la inclusión de aire en la preparación. Es por ello que se optó por tomar los valores obtenidos del ajuste exponencial como condiciones de frontera y graficar las curvas GMR, observando un ajuste ideal para cuando $J = 0$, lo indica una alta complejidad en la microestructura de las resinas basadas en HAp (86), lo que está en buena concordancia en la distribución multimodal de tamaños de partículas del relleno de HAp.

Como se mencionó anteriormente, la inclusión de aire en la formulación de las resinas genera cambios en la dependencia de la propiedad mecánica con respecto al volumen del relleno. En consecuencia, se genera porosidad que hace las veces de una tercera componente con resistencia mecánica nula, disminuyendo la propiedad mecánica de la resina. Por ello, se utilizó la GMR considerando a la porosidad como otra componente para corregir los puntos experimentales de las resinas formuladas y convertirlas a su contraparte no porosa. Con ello, la GMR para la microdureza de la resina no porosa ajusta mejor a los datos cuando $J = 0.274$. Este parámetro

microestructural, también llamado parámetro fractal, es propio de cada sistema y sirve para predecir la propiedad física en cada concentración de relleno, tales como el amortiguamiento, resistencia a la flexión y módulo de Young en resinas epóxicas (134) o la conductividad efectiva en compuestos bifásicos (135). Es preciso indicar que existen otros modelos en la literatura, como los de Halpin-Tsai (136), Mori-Tanaka (137), Eshelby (138), elementos finitos (139), que serán materia de futuros trabajos.

Finalmente, ningún grupo de resina compuesta evaluado mediante el ensayo de halo de inhibición mostró acción antibacteriana, puesto que dichas muestras no deberían tener este tipo de actividad, y son las resinas con refuerzo de nanopartículas de plata las que tendrían una actividad significativa. Este aspecto queda como trabajo futuro siempre que se logre la polimerización de las muestras.

VI. CONCLUSIONES

Al término del presente trabajo se llegó a las siguientes conclusiones:

Se desarrolló y optimizó un protocolo de síntesis de HAp usando cáscara de huevo como precursor de calcio mediante la técnica de mecano-síntesis, obteniendo un material nanoestructurado y con inclusiones de carbonato en su estructura. Las condiciones ideales de preparación encontradas fueron: molienda mecánica de 16 horas con un posterior tratamiento térmico a 400 °C.

Se sintetizaron, por un lado, el cuasicristal decagonal Al-Cu-Fe-Cr con una estructura y composición acorde a la literatura, y con tamaño de cristalito nanométrico; y por otro, el compuesto Ag-HAp mediante una síntesis *in-situ* que permitió una buena distribución de las nanopartículas de plata.

Se formularon resinas compuestas experimentales a base de HAp a diferentes porcentajes de peso mediante un procedimiento manual, obteniendo resinas fluidas y pastosas con buenas propiedades físicas y mecánicas, como color, grado de conversión y microdureza, que pueden ser utilizadas como parte de un protocolo clínico de restauración de caries.

La absorción y solubilidad de las resinas compuestas formuladas requieren mejorarse mediante un proceso de silanizado, que optimice la unión matriz-relleno para evitar la infiltración de agua y extender su durabilidad.

La formulación de las resinas compuestas a base de HAp con refuerzos mecánico y antibacteriano requieren aplicar otro tipo de metodología de polimerización, quedando como perspectiva de trabajos futuros.

Es importante mencionar que la línea de biomateriales dentales debe continuar con las investigaciones. Se sugiere que se realicen ensayos de envejecimiento y evaluación de la durabilidad de las propiedades mecánicas, modelado computacional de las propiedades mecánicas mediante métodos auto-consistentes, y evaluación de la citotoxicidad en las resinas formuladas a base de hidroxiapatita.

VII. REFERENCIAS

1. Rathee M, Sapra A. Dental Caries [Internet]. StatPearls. 2023. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20630195>
2. Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la situación mundial de la salud bucodental: hacia la cobertura sanitaria universal para la salud bucodental de aquí a 2030: resumen ejecutivo [Internet]. Ginebra; 2022. Available from: <https://www.who.int/es/publications/i/item/9789240061569>
3. Ramos Escobar CS, Uruce Mora OA, Wisa Castañeda GM. Caries dental en niños menores de 12 años en el Perú [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2022. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12866/11935>
4. Tinanoff N. Dental Caries. In: Pediatric Dentistry [Internet]. Elsevier; 2019. p. 169–79. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323608268000122>
5. Goldberg M, Septier D, Lécolle S, Chardin H, Quintana MA, Acevedo AC, et al. Dental mineralization. Int J Dev Biol [Internet]. 1995 Feb;39(1):93–110. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7626424>
6. Duggal MS, Curson MEJ. DENTAL DISEASE | Etiology of Dental Caries. In: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition [Internet]. Elsevier; 2003. p. 1746–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B012227055X003254>
7. Gutiérrez-Prieto SJ, Fonseca LF, Sequeda-Castañeda LG, Díaz KJ,

- Castañeda LY, Leyva-Rojas JA, et al. Elaboration and Biocompatibility of an Eggshell-Derived Hydroxyapatite Material Modified with Si/PLGA for Bone Regeneration in Dentistry. *Int J Dent* [Internet]. 2019 Dec 5;2019:1–12. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ijd/2019/5949232/>
8. Bordea IR, Candrea S, Alexescu GT, Bran S, Băciuț M, Băciuț G, et al. Nano-hydroxyapatite use in dentistry: a systematic review. *Drug Metab Rev* [Internet]. 2020 Apr 2;52(2):319–32. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03602532.2020.1758713>
 9. Bermúdez García VS. Evaluación de una matriz experimental de relleno óseo a base de nanohidroxiapatita obtenida de cáscara de huevo de gallina y nanopartículas de plata [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2021. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12866/9592>
 10. Huamán-Mujica K, Castañeda-Vía J, Bermúdez García V, Dominguez J, Landauro C, Quispe-Marcatoma J, et al. Dentinal tubules obliteration using a toothpaste with nano-hydroxyapatite obtained from chicken eggshell. *J Stomatol* [Internet]. 2022;75(3):147–54. Available from: <https://www.termedia.pl/doi/10.5114/jos.2022.119082>
 11. Balhuc S, Campian R, Labunet A, Negucioiu M, Buduru S, Kui A. Dental Applications of Systems Based on Hydroxyapatite Nanoparticles—An Evidence-Based Update. *Crystals* [Internet]. 2021 Jun 11;11(6):674. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4352/11/6/674>
 12. Rueggeberg FA. From vulcanite to vinyl, a history of resins in restorative dentistry. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2002 Apr;87(4):364–79. Available

from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022391302885821>

13. Terry DA. Direct applications of a nanocomposite resin system: Part 1--The evolution of contemporary composite materials. *Pract Proced Aesthet Dent* [Internet]. 2004 Jul;16(6):417–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15453647>
14. Terry DA. Direct applications of a nanocomposite resin system: Part 2--Procedures for anterior restorations. *Pract Proced Aesthet Dent* [Internet]. 2004 Oct;16(9):677–84; quiz 686. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15597532>
15. Ritter A V. Direct resin-based composites: current recommendations for optimal clinical results. *Compend Contin Educ Dent* [Internet]. 2005 Jul;26(7):481–2, 484–90; quiz 492, 527. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16060378>
16. Ferracane JL. Resin composite—State of the art. *Dent Mater* [Internet]. 2011 Jan;27(1):29–38. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S010956411000463X>
17. Gajewski VES, Pfeifer CS, Fróes-Salgado NRG, Boaro LCC, Braga RR. Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Braz Dent J* [Internet]. 2012 Oct [cited 2019 Apr 3];23(5):508–14. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402012000500007&lng=en&tlng=en
18. Kumar SR, Patnaik A, Bhat I. Analysis of polymerization shrinkage and

- thermo-mechanical characterizations of resin-based dental composite reinforced with silane modified nanosilica filler particle. *Proc Inst Mech Eng Part L J Mater Des Appl* [Internet]. 2016 Apr 10;230(2):492–503. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1464420715581003>
19. Moharam LM, Sherief MA, Nagi SM. Mechanical properties of resin composite reinforced with synthesized nano-structured hydroxyapatite. *Int J ChemTech Res*. 2016 Jan 1;9(7):634–44.
 20. Abdulkader SW, Aljubori SH. Shear Bond Strength of Nano-Hydroxyapatite Incorporated Self Adhesive Resin Cement to Lithium Disilicate. *J Glob Sci Res* [Internet]. 2022;7(2):2117–27. Available from: <https://www.gsjpublications.com/jgsr15920052.pdf>
 21. Sadat-Shojai M, Atai M, Nodehi A, Khanlar LN. Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. *Dent Mater* [Internet]. 2010 May;26(5):471–82. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564110000230>
 22. Leitune VCB, Collares FM, Trommer RM, Andrioli DG, Bergmann CP, Samuel SMW. The addition of nanostructured hydroxyapatite to an experimental adhesive resin. *J Dent* [Internet]. 2013 Apr;41(4):321–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030057121300002X>
 23. Zhang QM, Serpe MJ. Synthesis, Characterization, and Antibacterial Properties of a Hydroxyapatite Adhesive Block Copolymer. *Macromolecules* [Internet]. 2014 Nov 25;47(22):8018–25. Available from:

<https://doi.org/10.1021/ma501997x>

24. Hasan LA. Evaluation the properties of orthodontic adhesive incorporated with nano-hydroxyapatite particles. *Saudi Dent J* [Internet]. 2021 Dec;33(8):1190–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1013905221000018>
25. Aljabo A, Abou Neel EA, Knowles JC, Young AM. Development of dental composites with reactive fillers that promote precipitation of antibacterial-hydroxyapatite layers. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2016 Mar;60:285–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493115305725>
26. Li Y, Zhang D, Wan Z, Yang X, Cai Q. Dental resin composites with improved antibacterial and mineralization properties via incorporating zinc/strontium-doped hydroxyapatite as functional fillers. *Biomed Mater* [Internet]. 2022 Jul 1;17(4):045002. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-605X/ac6b72>
27. Qin L, Yao S, Meng W, Zhang J, Shi R, Zhou C, et al. Novel antibacterial dental resin containing silanized hydroxyapatite nanofibers with remineralization capability. *Dent Mater* [Internet]. 2022 Dec;38(12):1989–2002. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564122003153>
28. Sadat-Shojai M, Khorasani M-T, Dinpanah-Khoshdargi E, Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomater* [Internet]. 2013;9(8):7591–621. Available from:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706113001840>

29. Zhang H, Darvell BW. Synthesis and characterization of hydroxyapatite whiskers by hydrothermal homogeneous precipitation using acetamide. *Acta Biomater* [Internet]. 2010 Aug 1 [cited 2019 Apr 26];6(8):3216–22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706110000723?via%3Dihub>
30. Manafi S, Rahimpour MR. Synthesis of Nanocrystalline Hydroxyapatite Nanorods via Hydrothermal Conditions. *Chem Eng Technol* [Internet]. 2011 Jun 1;34(6):972–6. Available from: <https://doi.org/10.1002/ceat.201000393>
31. Buitrago-Vásquez M, Ossa-Orozco CP, Buitrago-Vásquez M, Ossa-Orozco CP. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods using a fruit extract template. *DYNA* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2019 Apr 27];85(204):283–8. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/65773>
32. Pramanik S, Agarwal AK, Rai KN, Garg A. Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process. *Ceram Int* [Internet]. 2007;33(3):419–26. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272884205003081>
33. Mostafa NY. Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes. *Mater Chem Phys* [Internet]. 2005 Dec 15 [cited 2019 Jul 10];94(2–3):333–41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254058405003020>

34. Bermúdez García VS, Huaman Mujica K, Castañeda-Vía JA, Landauro C V., Quispe J, Tay Chu Jon LY, et al. Obtención de hidroxiapatita a través de residuos biológicos para injertos óseos dentales. *Rev Estomatológica Hered* [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2023 Feb 28];31(2):111–6. Available from: <https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/3971>

35. Mohd Pu'ad NAS, Koshy P, Abdullah HZ, Idris MI, Lee TC. Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. *Heliyon* [Internet]. 2019 May;5(5):e01588. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844018368944>

36. King'ori AM. A Review of the Uses of Poultry Eggshells and Shell Membranes. *Int J Poult Sci* [Internet]. 2011;10(11):908–12. Available from: <https://scialert.net/abstract/?doi=ijps.2011.908.912>

37. Rivera EM, Araiza M, Brostow W, Castaño VM, Díaz-Estrada J., Hernández R, et al. Synthesis of hydroxyapatite from eggshells. *Mater Lett* [Internet]. 1999 Nov 1 [cited 2019 Apr 24];41(3):128–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167577X99001184?via%3Dihub>

38. Nazeer MA, Yilgor E, Yagci MB, Unal U, Yilgor I. Effect of reaction solvent on hydroxyapatite synthesis in sol–gel process. *R Soc Open Sci* [Internet]. 2017 Dec 20;4(12):171098. Available from: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsos.171098>

39. Azis Y, Adrian M, Alfarisi CD, Khairat, Sri RM. Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles from egg shells by sol-gel method. *IOP Conf Ser Mater Sci*

- Eng [Internet]. 2018 Apr;345:012040. Available from: <http://stacks.iop.org/1757-899X/345/i=1/a=012040?key=crossref.5bb94642c129dfae6f79610aa3ab8eb0>
40. Camacho Díaz I, Vela Rodríguez M, Villanueva Aburto L, Borja Villanueva A, Montalvo Amanca F, Quispe Marcatoma J. Hidroxiapatita sintetizada a partir de la cáscara de huevo como potencial sustituto óseo en defectos periodontales y periimplantarios. *Odontol Sanmarquina* [Internet]. 2018 Dec 10;21(4 SE-Artículos originales):296–301. Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/15557>
41. Abu Bakar SAS, Sopyan I, Bin Abd Shukor MH. Mechanochemical Synthesis of Hydroxyapatite Nanopowder: Effects of Rotation Speed and Milling Time on Powder Properties. *Appl Mech Mater* [Internet]. 2011 Oct 24;110–116:3639–44. Available from: <https://www.scientific.net/AMM.110-116.3639>
42. Ilieva R, Dyulgerova E, Petrov O, Aleksandrova R, Titorenkova R. Effects of high energy dry milling on biphasic calcium phosphates. *Adv Appl Ceram* [Internet]. 2013 May 22;112(4):219–26. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/1743676112Y.0000000063>
43. Nuamsrinuan N, Kaewwiset W, Limsuwan P, Naemchanthara K. Hydroxyapatite Synthesized from Waste Eggshell via Ball Milling. *Appl Mech Mater* [Internet]. 2017 Jun;866:12–6. Available from:

<https://www.scientific.net/AMM.866.12>

44. Coreño A. J, Coreño A. O, Cruz R. JJ, Rodríguez C. C. Mechanochemical synthesis of nanocrystalline carbonate-substituted hydroxyapatite. *Opt Mater (Amst)* [Internet]. 2005 Apr;27(7):1281–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925346704004422>
45. Lala S, Pradhan SK. Structural interpretation, microstructure characterization, mechanical properties, and cytocompatibility study of pure and doped carbonated nanocrystalline hydroxyapatites synthesized by mechanical alloying. In: *Materials for Biomedical Engineering* [Internet]. Elsevier; 2019. p. 81–117. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081028148000044>
46. Wu S-C, Hsu H-C, Hsu S-K, Chang Y-C, Ho W-F. Synthesis of hydroxyapatite from eggshell powders through ball milling and heat treatment. *J Asian Ceram Soc* [Internet]. 2016 Mar 1;4(1):85–90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jascer.2015.12.002>
47. Youness RA, Taha MA, Elhaes H, Ibrahim M. Molecular modeling, FTIR spectral characterization and mechanical properties of carbonated-hydroxyapatite prepared by mechanochemical synthesis. *Mater Chem Phys*. 2017 Apr 1;190:209–18.
48. Quispe-Marcatoma J, Moreno M, Montano J, Guzman A, Cavero A, Arce M, et al. Estudio comparativo entre bioapatita e hidroxiapatita sintética obtenida por precipitación química y síntesis mecanoquímica. *Rev Investig Física*. 2009;12(1):21–4.

49. Faksawat K, Kaewwiset W, Limsuwan P, Naemchanthara K. Comparison of characteristics of hydroxyapatite powders synthesized from cuttlefish bone via precipitation and ball milling techniques. *J Phys Conf Ser* [Internet]. 2017 Sep;901:012083. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/901/1/012083>
50. Ferro AC, Guedes M. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite using cuttlefish bone and chicken eggshell as calcium precursors. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2019;97:124–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493118314589>
51. Shechtman D, Blech I, Gratias D, Cahn JW. Metallic Phase with Long-Range Orientational Order and No Translational Symmetry. *Phys Rev Lett* [Internet]. 1984 Nov 12;53(20):1951–3. Available from: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.53.1951>
52. Dubois J-M. *Useful Quasicrystals* [Internet]. World Scientific; 2005. Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=TQIIVIOoBxec>
53. Dubois J-M. Properties- and applications of quasicrystals and complex metallic alloys. *Chem Soc Rev* [Internet]. 2012;41(20):6760–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/C2CS35110B>
54. Zheng MY, Qiao XG, Xu SW, Wu K, Kamado S, Kojima Y. In-situ quasicrystal-reinforced magnesium matrix composite processed by equal channel angular extrusion (ECAE). *J Mater Sci* [Internet]. 2005 May;40(9–10):2587–90. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10853-005-2081-x>

55. Sakly A, Kenzari S, Bonina D, Corbel S, Fournée V. A novel quasicrystal-resin composite for stereolithography. *Mater Des* [Internet]. 2014 Apr;56:280–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261306913010741>
56. Anderson BC, Bloom PD, Baikerikar KG, Sheares V V, Mallapragada SK. Al–Cu–Fe quasicrystal/ultra-high molecular weight polyethylene composites as biomaterials for acetabular cup prosthetics. *Biomaterials* [Internet]. 2002 Apr;23(8):1761–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961201003015>
57. Castañeda-Vía J, Landauro C V., Quispe-Marcatoma J, Champi A, Montalvo F, Delgado L, et al. Improvement of mechanical properties of hydroxyapatite composites reinforced with i -Al 64 Cu 23 Fe 13 quasicrystal. *J Compos Mater* [Internet]. 2021 Apr 15;55(9):1209–16. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0021998320964553>
58. Donmez N, Kazak M, Kaynar ZB, Sesen Uslu Y. Examination of caries-affected dentin and composite-resin interface after different caries removal methods: A scanning electron microscope study. *Microsc Res Tech* [Internet]. 2022 Jun 17;85(6):2212–21. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jemt.24078>
59. Kim G, Leme-Kraus A, Phansalkar R, Viana G, Wu C, Chen S-N, et al. Effect of Bioactive Primers on Bacterial-Induced Secondary Caries at the Tooth-Resin Interface. *Oper Dent* [Internet]. 2017 Mar 1;42(2):196–202. Available from: <https://meridian.allenpress.com/operative->

dentistry/article/42/2/196/107738/Effect-of-Bioactive-Primers-on-BacterialInduced

60. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2009 Jan;27(1):76–83. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975008000918>
61. Bruna T, Maldonado-Bravo F, Jara P, Caro N. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Jul 4;22(13):7202. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/13/7202>
62. Dos Santos CA, Seckler MM, Ingle AP, Gupta I, Galdiero S, Galdiero M, et al. Silver Nanoparticles: Therapeutical Uses, Toxicity, and Safety Issues. *J Pharm Sci* [Internet]. 2014 Jul;103(7):1931–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354915305128>
63. Talapko J, Matijević T, Juzbašić M, Antolović-Požgain A, Škrlec I. Antibacterial Activity of Silver and Its Application in Dentistry, Cardiology and Dermatology. *Microorganisms* [Internet]. 2020 Sep 11;8(9):1400. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/9/1400>
64. Naganthran A, Verasoundarapandian G, Khalid FE, Masarudin MJ, Zulkharnain A, Nawawi NM, et al. Synthesis, Characterization and Biomedical Application of Silver Nanoparticles. *Materials (Basel)* [Internet]. 2022 Jan 6;15(2):427. Available from: <https://www.mdpi.com/1996-1944/15/2/427>
65. Suryanarayana C. Mechanical alloying and milling. *Prog Mater Sci* [Internet]. 2001;46(1):1–184. Available from:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079642599000109>

66. Blinder SM. Density functional theory. In: Introduction to Quantum Mechanics [Internet]. Elsevier; 2021. p. 235–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128223109000227>
67. Giannozzi P, Baroni S, Bonini N, Calandra M, Car R, Cavazzoni C, et al. QUANTUM ESPRESSO: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials. J Phys Condens Matter [Internet]. 2009;21(39):395502. Available from: <http://dx.doi.org/10.1088/0953-8984/21/39/395502>
68. Kohn W, Sham LJ. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. Phys Rev [Internet]. 1965 Nov 15;140(4A):A1133–8. Available from: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.140.A1133>
69. Birch F. Finite Elastic Strain of Cubic Crystals. Phys Rev [Internet]. 1947 Jun 1;71(11):809–24. Available from: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.71.809>
70. Castañeda-Vía JA. Estudio del efecto del tamaño de grano sobre la dureza del cuasicristal i-Al₆₄Cu₂₃Fe₁₃ [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/14703>
71. Miranda M, Fernández A, Díaz M, Esteban-Tejeda L, López-Esteban S, Malpartida F, et al. Silver-hydroxyapatite nanocomposites as bactericidal and fungicidal materials. Int J Mater Res [Internet]. 2010 Jan 1;101(1):122–7. Available from: <https://doi.org/10.3139/146.110256>

72. Dominguez JA. Influência da incorporação de um plastificante e um polietileno de alto peso molecular nas propriedades de uma resina experimental e diminuição do estresse de contração [Internet]. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA; 2015. Available from: <http://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/1722>
73. Collares FM, Portella FF, Leitune VCB, Samuel SMW. Discrepancies in degree of conversion measurements by FTIR. *Braz Oral Res* [Internet]. 2014 Dec;28(1):1–7. Available from: <https://www.scielo.br/j/bor/a/SqCXkCshZz8rpn4rF4mPk6B/?format=pdf&lang=en>
74. Müller JA, Rohr N, Fischer J. Evaluation of ISO 4049: water sorption and water solubility of resin cements. *Eur J Oral Sci* [Internet]. 2017 Apr 1;125(2):141–50. Available from: <https://doi.org/10.1111/eos.12339>
75. Vargas Gil ML. Efecto inhibitorio de la fracción metanólica del propóleo de Oxapampa en diferentes genotipos aislados de *Streptococcus mutans* de niños con problemas de caries [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2022 [cited 2023 Feb 28]. Available from: https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/12858#.Y_5xVJRWFaU.mendeley
76. Madupalli H, Pavan B, Tecklenburg MMJ. Carbonate substitution in the mineral component of bone: Discriminating the structural changes, simultaneously imposed by carbonate in A and B sites of apatite. *J Solid State Chem* [Internet]. 2017 Nov;255:27–35. Available from:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022459617302864>

77. Ren FZ, Leng Y. Carbonated Apatite, Type-A or Type-B? *Key Eng Mater* [Internet]. 2011 Oct;493–494:293–7. Available from: <https://www.scientific.net/KEM.493-494.293>
78. Ferracane JL. Resin composite—State of the art. *Dent Mater* [Internet]. 2011 Jan 1 [cited 2019 Apr 4];27(1):29–38. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S010956411000463X?showall%3Dtrue%26via%3Dihub>
79. Rakngarm Nimkerdphol A, Otsuka Y, Mutoh Y. Effect of dissolution/precipitation on the residual stress redistribution of plasma-sprayed hydroxyapatite coating on titanium substrate in simulated body fluid (SBF). *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2014;36:98–108. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616114001088>
80. Kubota T, Nakamura A, Toyoura K, Matsunaga K. The effect of chemical potential on the thermodynamic stability of carbonate ions in hydroxyapatite. *Acta Biomater* [Internet]. 2014;10(8):3716–22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706114002104>
81. González-Fernández JV, Pinzón-Moreno DD, Neciosup-Puican AA, Carranza-Oropeza MV. Green Method, Optical and Structural Characterization of ZnO Nanoparticles Synthesized Using Leaves Extract of *M. oleifera*. *J Renew Mater* [Internet]. 2022;10(3):833–47. Available from: <https://www.techscience.com/jrm/v10n3/44744>

82. Mirzaali MJ, Schwiedrzik JJ, Thaiwichai S, Best JP, Michler J, Zysset PK, et al. Mechanical properties of cortical bone and their relationships with age, gender, composition and microindentation properties in the elderly. *Bone* [Internet]. 2016;93:196–211. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S8756328215004196>
83. Ji S. A generalized mixture rule for estimating the viscosity of solid-liquid suspensions and mechanical properties of polyphase rocks and composite materials. *J Geophys Res Solid Earth* [Internet]. 2004 Oct;109(B10). Available from: <http://doi.wiley.com/10.1029/2004JB003124>
84. Voigt W. *Lehrbuch der kristallphysik (mit ausschluss der kristalloptik)*. Nachdruck. B.G. Teubners Sammlung von Lehrbüchern auf dem Gebiete der mathematischen Wissenschaften mit Einschluss ihrer Anwendungen TA - TT -. Leipzig SE -: B.G. Teubner; 1928.
85. Reuss A. Berechnung der Fließgrenze von Mischkristallen auf Grund der Plastizitätsbedingung für Einkristalle . *ZAMM - Zeitschrift für Angew Math und Mech* [Internet]. 1929;9(1):49–58. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/zamm.19290090104>
86. Mainprice D, Humbert M. Methods of calculating petrophysical properties from lattice preferred orientation data. *Surv Geophys* [Internet]. 1994 Sep;15(5):575–92. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF00690175>
87. Ji S, Wang Q, Xia B, Marcotte D. Mechanical properties of multiphase materials and rocks: a phenomenological approach using generalized means.

- J Struct Geol [Internet]. 2004 Aug;26(8):1377–90. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0191814103002220>
88. Saddun Zuber MSI, Aziz N, Azlisham NAF, Johari Y, Abdullah AM. Mechanical and physical properties of highly eggshell-filled Bis-GMA/TEGDMA for dental application. Malaysian J Chem Eng Technol (MJCET) [Internet]. 2022 Oct 31;5(2). Available from: <https://ir.uitm.edu.my/id/eprint/70376/>
89. Al-Sanabani JS, Madfa AA, Al-Sanabani FA. Application of Calcium Phosphate Materials in Dentistry. Milthorpe B, editor. Int J Biomater [Internet]. 2013;2013:876132. Available from: <https://doi.org/10.1155/2013/876132>
90. Braem M, Finger W, Van Doren VE, Lambrechts P, Vanherle G. Mechanical properties and filler fraction of dental composites. Dent Mater [Internet]. 1989 Sep;5(5):346–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0109564189901280>
91. Ishai O, Coheno LJ. Effect of Fillers and Voids on Compressive Yield of Epoxy Composites. J Compos Mater [Internet]. 1968 Jul 27;2(3):302–15. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/002199836800200303>
92. Naciones Unidas. Objetivo 12: Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles [Internet]. 2015. Available from: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/sustainable-consumption-production/>

93. Wu SC, Hsu HC, Hsu SK, Chang YC, Ho WF. Synthesis of hydroxyapatite from eggshell powders through ball milling and heat treatment. *J Asian Ceram Soc.* 2016 Mar 1;4(1):85–90.
94. Huamán Mujica K. Efectividad de pasta experimental a base de nanohidroxiapatita obtenida de la cáscara de huevo en la obliteración de túbulos dentinarios [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12866/12487>
95. Weht RO. Aplicación de la teoría funcional de la densidad al cálculo de propiedades electrónicas en superconductores de alta temperatura crítica [Internet]. Universidad de Buenos Aires; 1995. Available from: https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n3616_Weht
96. Bhat SS, Waghmare U V, Ramamurty U. First-Principles Study of Structure, Vibrational, and Elastic Properties of Stoichiometric and Calcium-Deficient Hydroxyapatite. *Cryst Growth Des* [Internet]. 2014 Jun 4;14(6):3131–41. Available from: <https://doi.org/10.1021/cg5004269>
97. Eddy M, Tbib B, El-Hami K. High photocatalytic activity of hydroxyapatite biodegradable semiconductor for solar panels and environment protection. *Uncertainties Reliab Multiphysical Syst* [Internet]. 2018;2(Issue 1):1–8. Available from: https://www.openscience.fr/IMG/pdf/iste_incertfia18v2n1_9.pdf
98. Bystrov VS, Piccirillo C, Tobaldi DM, Castro PML, Coutinho J, Kopyl S, et al. Oxygen vacancies, the optical band gap (E_g) and photocatalysis of hydroxyapatite: Comparing modelling with measured data. *Appl Catal B*

- Environ [Internet]. 2016;196:100–7. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337316303526>
99. Corno M, Busco C, Civalleri B, Ugliengo P. Periodic ab initio study of structural and vibrational features of hexagonal hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. *Phys Chem Chem Phys* [Internet]. 2006;8(21):2464–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/B602419J>
100. Avakyan LA, Paramonova E V, Coutinho J, Öberg S, Bystrov VS, Bugaev LA. Optoelectronics and defect levels in hydroxyapatite by first-principles. *J Chem Phys* [Internet]. 2018 Apr 19;148(15):154706. Available from: <https://doi.org/10.1063/1.5025329>
101. Deshmukh K, Shaik MM, Ramanan SR, Kowshik M. Self-Activated Fluorescent Hydroxyapatite Nanoparticles: A Promising Agent for Bioimaging and Biolabeling. *ACS Biomater Sci Eng* [Internet]. 2016 Aug 8;2(8):1257–64. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbiomaterials.6b00169>
102. Liu W, Köster U, Müller F, Rosenberg M. Quasicrystalline and Crystalline Phases in $\text{Al}_{65}\text{Cu}_{20}(\text{Fe}, \text{Cr})_{15}$ Alloys. *Phys Status Solidi* [Internet]. 1992 Jul 16;132(1):17–34. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pssa.2211320103>
103. Pinto Vergara MZ, Pillaca Quispe M, Landauro Sáenz CV. Estudio de la influencia de la temperatura y el tiempo de tratamiento térmico sobre la formación del cuasicristal $i\text{-Al}_{64}\text{Cu}_{23}\text{Fe}_{13}$. *Rev Investig Física* [Internet]. 2012;15(01):1–6. Available from:

https://fisica.unmsm.edu.pe/rif/previo_files/2012-1/01pinto.pdf

104. Dong C, Dubois JM. Quasicrystals and crystalline phases in Al₆₅Cu₂₀Fe₁₀Cr₅ alloy. *J Mater Sci* [Internet]. 1991;26(6):1647–54. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00544677>
105. Li XZ, Dong C, Dubois JM. Structural Study of Crystalline Approximants of the Al–Cu–Fe–Cr Decagonal Quasicrystal. *J Appl Crystallogr* [Internet]. 1995 Apr 1;28(2):96–104. Available from: <https://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0021889894009714>
106. Wolf W, Koga GY, Schulz R, Savoie S, Kiminami CS, Bolfarini C, et al. Wear and Corrosion Performance of Al-Cu-Fe-(Cr) Quasicrystalline Coatings Produced by HVOF. *J Therm Spray Technol* [Internet]. 2020;29(5):1195–207. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11666-020-01053-2>
107. Zhou C, Cai F, Kong J, Gong S, Xu H. A study on the tribological properties of low-pressure plasma-sprayed Al–Cu–Fe–Cr quasicrystalline coating on titanium alloy. *Surf Coatings Technol* [Internet]. 2004 Oct;187(2–3):225–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897204002099>
108. Sordelet D., Widener S., Tang Y, Besser M. Characterization of a commercially produced Al–Cu–Fe–Cr quasicrystalline coating. *Mater Sci Eng A* [Internet]. 2000 Dec;294–296:834–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092150930001056X>
109. Sánchez-Tito M, Tay L. Antibacterial and white spot lesions preventive

- effect of an orthodontic resin modified with silver-nanoparticles. *J Clin Exp Dent* [Internet]. 2021;e685–91. Available from: <http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/aop/58330.pdf>
110. Sodagar A, Akhavan A, Hashemi E, Arab S, Pourhajibagher M, Sodagar K, et al. Evaluation of the antibacterial activity of a conventional orthodontic composite containing silver/hydroxyapatite nanoparticles. *Prog Orthod* [Internet]. 2016 Dec 12;17(1):40. Available from: <http://progressinorthodontics.springeropen.com/articles/10.1186/s40510-016-0153-x>
111. Mohd Sohor MAH, Mustapha M, Mamat O. The effect of milling duration on silicon dioxide characterization. Sakidin H, Yusof MH, Sa'ad N, Ling Chuan Ching D, Abdul Karim SA, editors. *MATEC Web Conf* [Internet]. 2017 Oct 25;131:03007. Available from: <http://www.matec-conferences.org/10.1051/matecconf/201713103007>
112. Talimian A, Pouchly V, El-Maghraby HF, Maca K, Galusek D. Impact of high energy ball milling on densification behaviour of magnesium aluminate spinel evaluated by master sintering curve and constant rate of heating approach. *Ceram Int* [Internet]. 2019 Dec;45(17):23467–74. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272884219322461>
113. Saghir M, Umer MA, Ahmed A, Monir NB, Manzoor U, Razzaq A, et al. Effect of high energy ball milling and low temperature densification of plate-like alumina powder. *Powder Technol* [Internet]. 2021 May;383:84–92. Available from:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032591021000425>

114. Sarmiento Limas MR, Trujillo CA, Mena Huertas DA, Mejía Rodríguez KL. Opacidad y translucidez de diferentes resinas compuestas de acuerdo a su tamaño de partícula y su aplicación clínica. *Acta Odontológica Colomb* [Internet]. 2012 Jan 1;2(1):101–17. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actaodontocol/article/view/30118>
115. Kwon T-Y, Bagheri R, Kim YK, Kim K-H, Burrow MF. Cure mechanisms in materials for use in esthetic dentistry. *J Investig Clin Dent* [Internet]. 2012 Feb;3(1):3–16. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2041-1626.2012.00114.x>
116. Kowalska A, Sokolowski J, Bociong K. The Photoinitiators Used in Resin Based Dental Composite—A Review and Future Perspectives. *Polymers (Basel)* [Internet]. 2021 Feb 2;13(3):470. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/3/470>
117. Fernández Pradas JM. Obtención de recubrimientos de hidroxiapatita por ablación con láser. TDX (Tesis Dr en Xarxa) [Internet]. 1999 May 25 [cited 2023 Jun 2]; Available from: <http://www.tdx.cat/handle/10803/667559>
118. Choudhury AKR. Colour and appearance attributes. In: *Principles of Colour and Appearance Measurement* [Internet]. Elsevier; 2014. p. 103–43. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857092298500036>
119. Wyszecki G, Stiles W. *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae* [Internet]. Second edi. New York: Wiley-Interscience;

2000. 976 p. Available from: <https://www.wiley.com/en-us/Color+Science%3A+Concepts+and+Methods%2C+Quantitative+Data+and+Formulae%2C+2nd+Edition-p-9780471399186>
120. Acuña ED, Delgado-Cotrino L, Rumiche FA, Tay LY. Effect of the Purple Corn Beverage “Chicha Morada” in Composite Resin during Dental Bleaching. *Scientifica (Cairo)* [Internet]. 2016;2016:1–6. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/scientifica/2016/2970548/>
121. Ruyter IE, Nilner K, Möller B. Color stability of dental composite resin materials for crown and bridge veneers. *Dent Mater* [Internet]. 1987 Oct;3(5):246–51. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564187800817>
122. Ramírez-Navas JS. Espectrocolorimetría en caracterización de leche y quesos. *Tecnol Láctea Latinoam*. 2010;61:52–8.
123. Pizzolotto L, Moraes RR. Resin Composites in Posterior Teeth: Clinical Performance and Direct Restorative Techniques. *Dent J* [Internet]. 2022 Nov 27;10(12):222. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-6767/10/12/222>
124. Almeida R, Manarte-Monteiro P, Domingues J, Falcão C, Herrero-Climent M, Ríos-Carrasco B, et al. High-Power LED Units Currently Available for Dental Resin-Based Materials—A Review. *Polymers (Basel)* [Internet]. 2021 Jun 30;13(13):2165. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/13/2165>
125. Lung CYK, Sarfraz Z, Habib A, Khan AS, Matinlinna JP. Effect of

- silanization of hydroxyapatite fillers on physical and mechanical properties of a bis-GMA based resin composite. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2016 Feb;54:283–94. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751616115003707>
126. 3M ESPE. Filtek Z350 XT Technical Product Profile [Internet]. 2010. Available from: <https://multimedia.3m.com/mws/media/6315470/filtek-z350-xt-technical-product-profile.pdf>
127. Tokuyama Dental Corporation. Resin-based Dental Restorative Material Palfique LX5 - Datasheet [Internet]. 2018. Available from: <https://phsgroup.com.br/wp-content/uploads/2022/06/Instrucao-de-Uso-Palfique-LX5-Tokuyama.pdf>
128. Randolph LD, Palin WM, Leloup G, Leprince JG. Filler characteristics of modern dental resin composites and their influence on physico-mechanical properties. *Dent Mater*. 2016 Dec 1;32(12):1586–99.
129. Liu F, Sun B, Jiang X, Aldeyab SS, Zhang Q, Zhu M. Mechanical properties of dental resin/composite containing urchin-like hydroxyapatite. *Dent Mater* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2019 Apr 5];30(12):1358–68. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564114006368?via%3Dihub>
130. Fabiano F, Calabrese L, Proverbio E. Mechanical behavior of hydroxyapatite-based dental resin composites. *Mater Biomed Eng* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2019 Mar 30];251–95. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128169094000099>

131. Jafarpour D, Ferooz R, Ferooz M, Bagheri R. Physical and Mechanical Properties of Bulk-Fill, Conventional, and Flowable Resin Composites Stored Dry and Wet. Pagano S, editor. *Int J Dent* [Internet]. 2022 Feb 10;2022:1–12. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ijd/2022/7946239/>
132. Amendola A, Fabbrocino F, Feo L, Auricchio F, Fraternali F. Dependence of the mechanical properties of pentamode materials on the lattice microstructure. In: *Proceedings of the VII European Congress on Computational Methods in Applied Sciences and Engineering (ECCOMAS Congress 2016)* [Internet]. Athens: Institute of Structural Analysis and Antiseismic Research School of Civil Engineering National Technical University of Athens (NTUA) Greece; 2016. p. 2134–50. Available from: <http://www.eccomasproceedia.org/conferences/eccomas-congresses/eccomas-congress-2016/1947>
133. Olivella XO, de Saracíbar Bosch CA. *Mecánica de medios continuos para ingenieros*. Segunda ed. Barcelona: Universitat Politecnica de Barcelona; 2002. 346 p.
134. Nallusamy S. Material Modeling of Epoxy Granite Composite by Analytical Model and Regression Analysis. *Int J Performability Eng* [Internet]. 2021;17(3):253. Available from: <http://www.ijpe-online.com/EN/10.23940/ijpe.21.03.p1.253262>
135. Yu Y, Wu X. Study of the generalized mixture rule for determining effective conductivity of two-phase stochastic models. *Appl Geophys* [Internet]. 2010

- Sep 20;7(3):210–6. Available from:
<http://link.springer.com/10.1007/s11770-010-0248-3>
136. Halpin Affdl JC, Kardos JL. The Halpin-Tsai equations: A review. *Polym Eng Sci* [Internet]. 1976 May;16(5):344–52. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pen.760160512>
137. Mori T, Tanaka K. Average stress in matrix and average elastic energy of materials with misfitting inclusions. *Acta Metall* [Internet]. 1973 May;21(5):571–4. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0001616073900643>
138. Eshelby JD. The elastic field outside an ellipsoidal inclusion. *Proc R Soc London Ser A Math Phys Sci* [Internet]. 1959 Oct 27;252(1271):561–9. Available from:
<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspa.1959.0173>
139. Tanimoto Y, Kitagawa T, Aida M, Nishiyama N. Experimental and computational approach for evaluating the mechanical characteristics of dental composite resins with various filler sizes. *Acta Biomater* [Internet]. 2006 Nov;2(6):633–9. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706106000766>

VIII. ANEXOS

A. DIFRACTOGRAMAS DE LAS HAp OBTENIDAS POR MECANO-SÍNTESIS.

A continuación, se presentan todos los difractogramas de las treinta muestras obtenidas por mecano-síntesis. Estos difractogramas fueron procesados por el método de refinamiento Rietveld y se muestran los datos experimentales (línea azul), el ajuste realizado (línea roja) y la curva diferencia (línea gris).

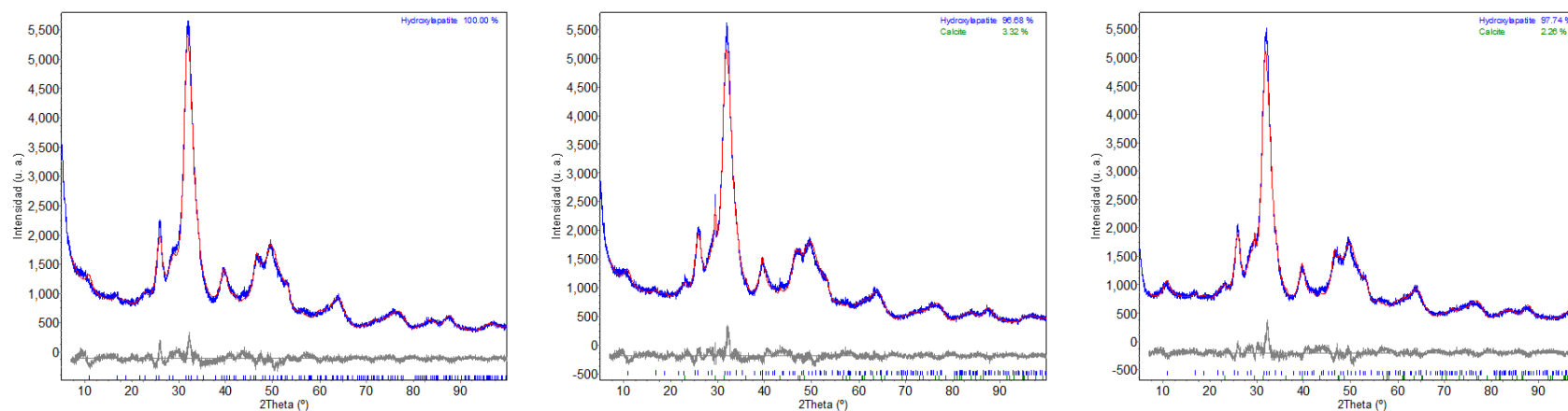


Figura A.1. Difractogramas refinados de las muestras 4 h – RT (izquierda), 4 h – 200 °C (centro) y 4 h – 400 °C (derecha).

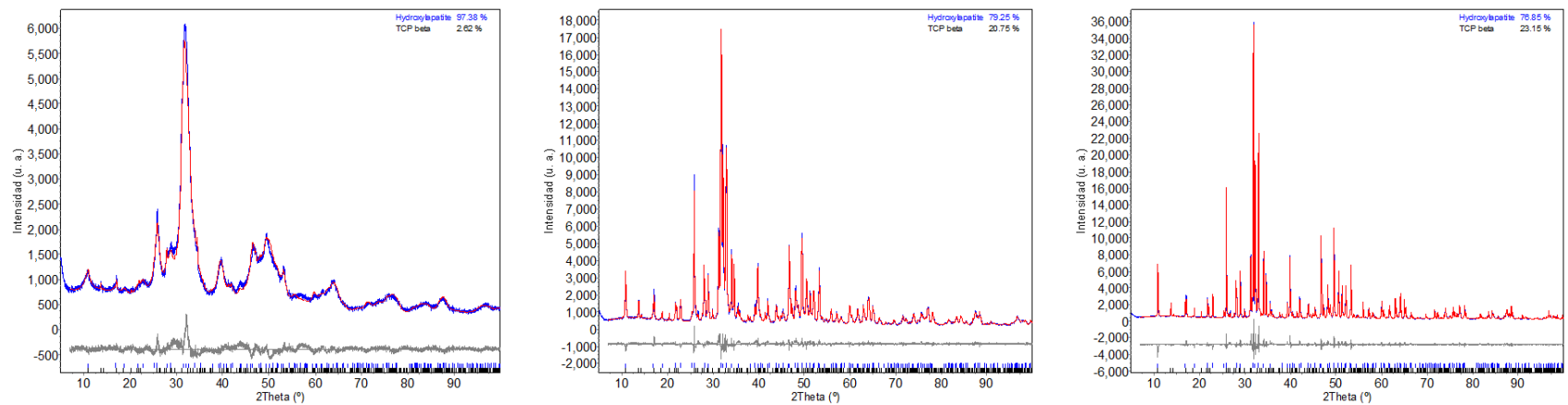


Figura A.2. Difractogramas refinados de las muestras 4 h – 600 °C (izquierda), 4 h – 800 °C (centro) y 4 h – 1000 °C (derecha).

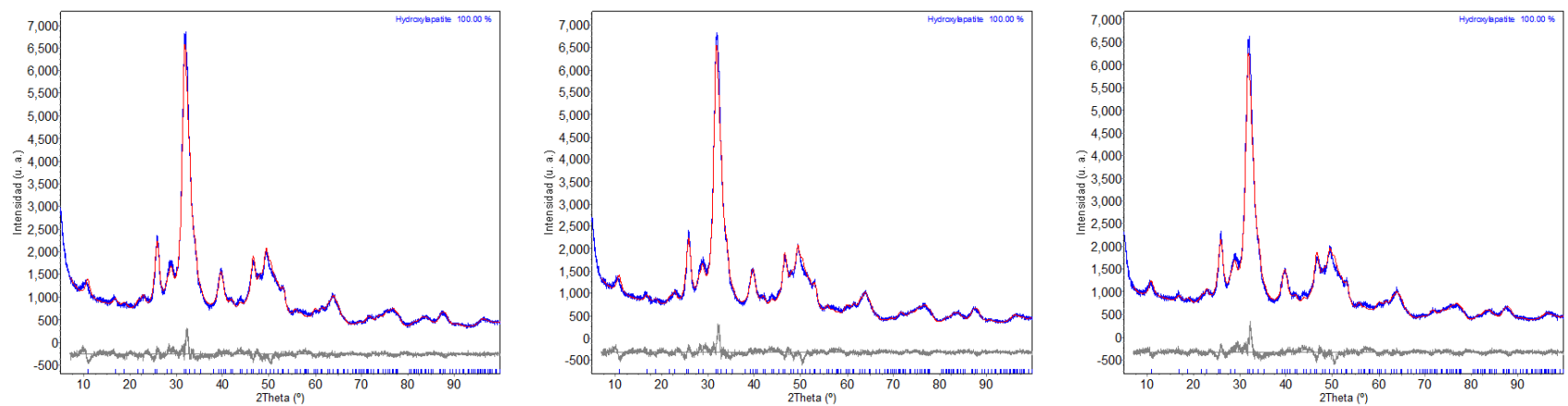


Figura A.3. Difractogramas refinados de las muestras 8 h – RT (izquierda), 8 h – 200 °C (centro) y 8 h – 400 °C (derecha).

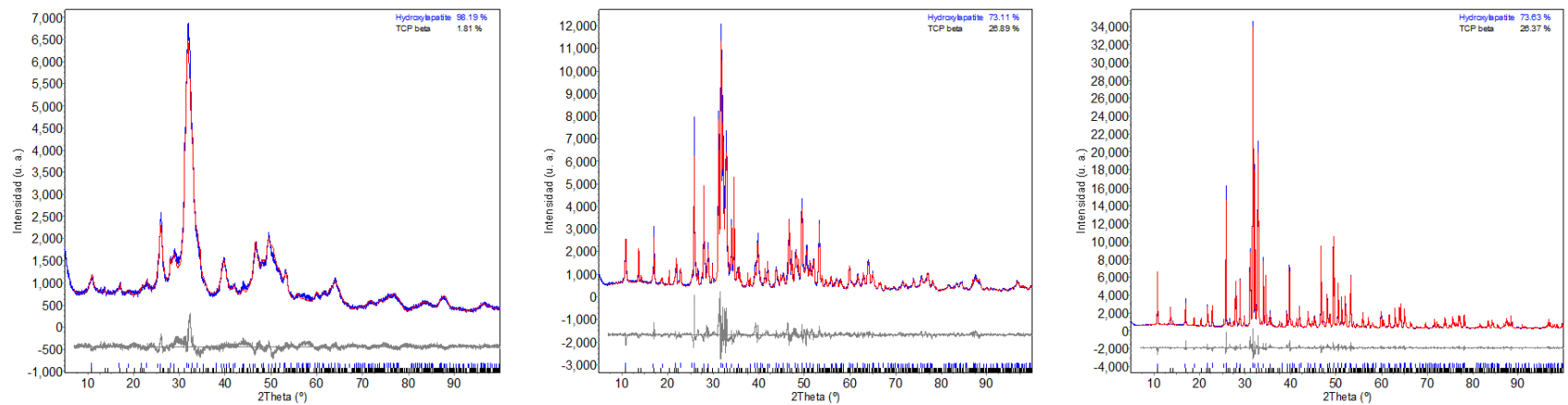


Figura A.4. Difractogramas refinados de las muestras 8 h – 600 °C (izquierda), 8 h – 800 °C (centro) y 8 h – 1000 °C (derecha).

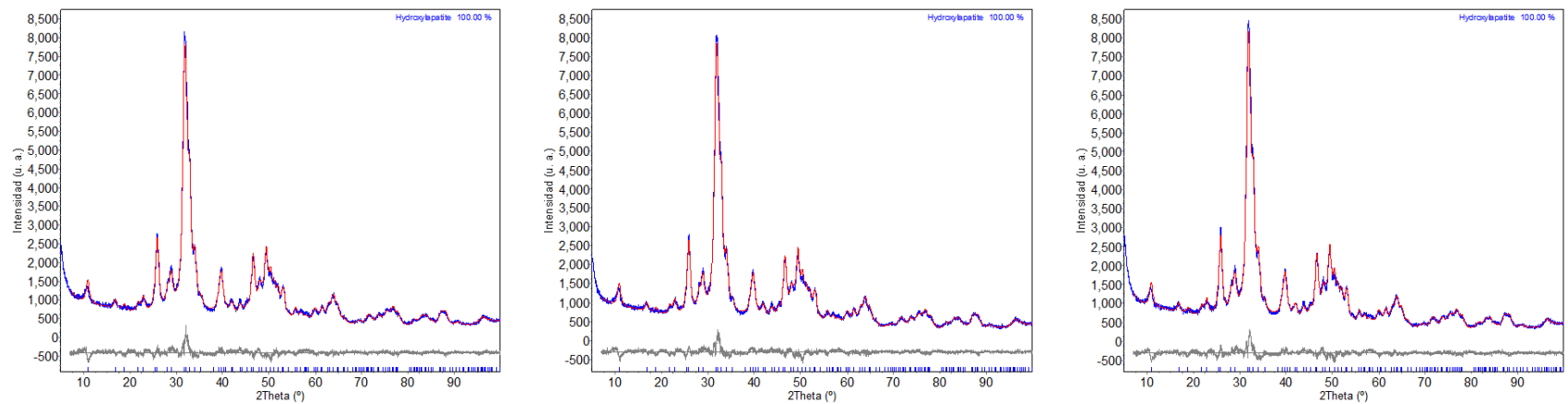


Figura A.5. Difractogramas refinados de las muestras 12 h – RT (izquierda), 12 h – 200 °C (centro) y 12 h – 400 °C (derecha).

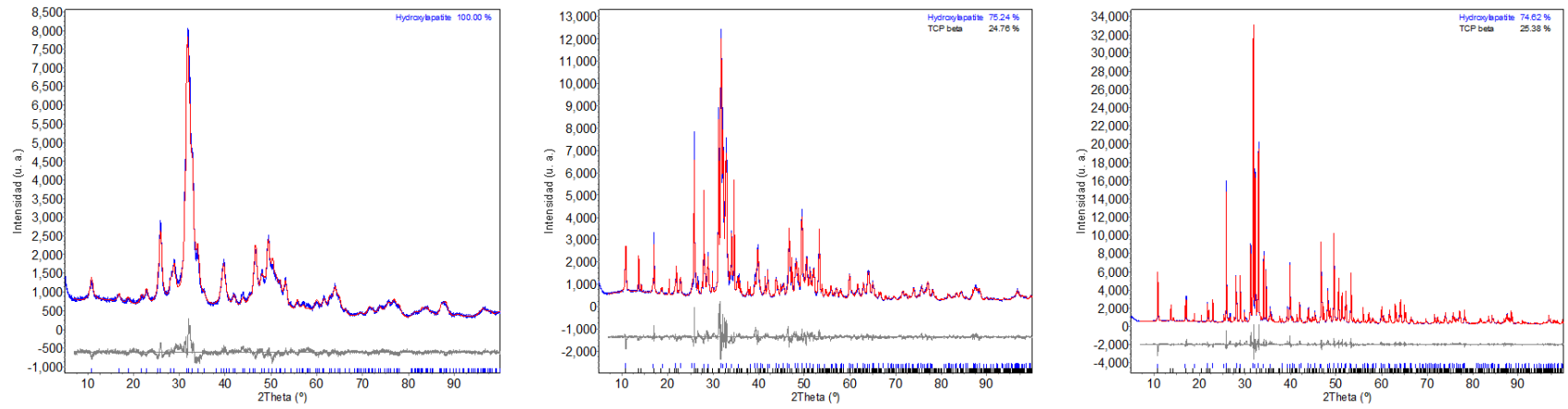


Figura A.6. Difractogramas refinados de las muestras 12 h – 600 °C (izquierda), 12 h – 800 °C (centro) y 12 h – 1000 °C (derecha).

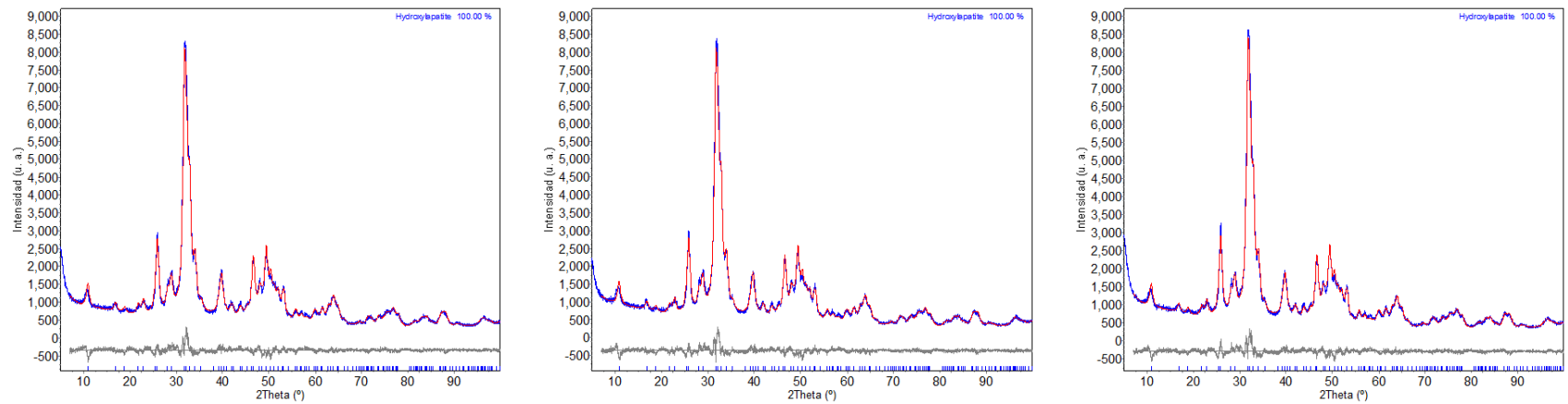


Figura A.7. Difractogramas refinados de las muestras 16 h – RT (izquierda), 16 h – 200 °C (centro) y 16 h – 400 °C (derecha).

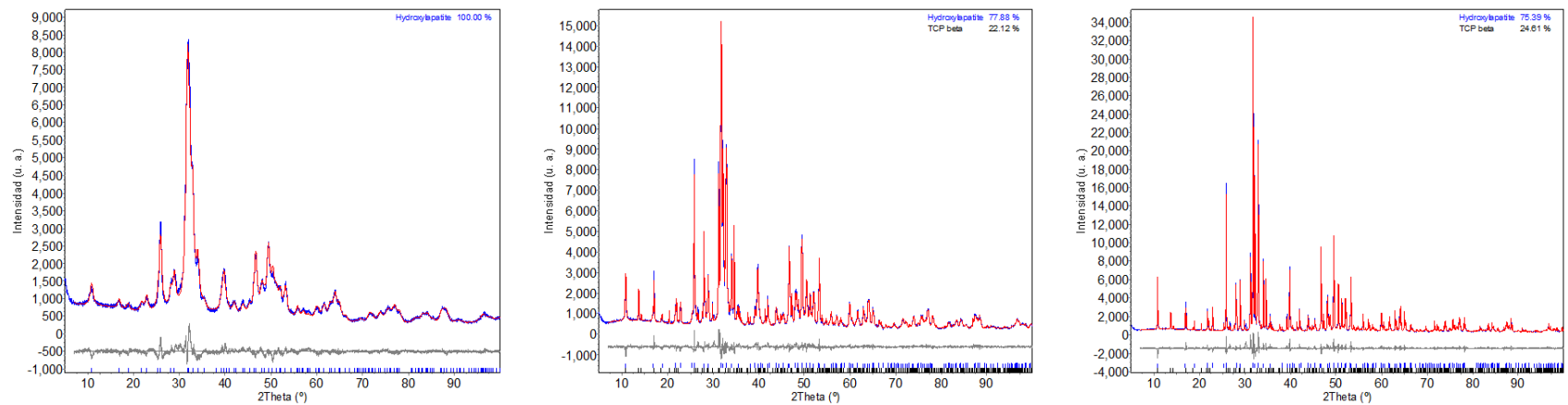


Figura A.8. Difractogramas refinados de las muestras 16 h – 600 °C (izquierda), 16 h – 800 °C (centro) y 16 h – 1000 °C (derecha).

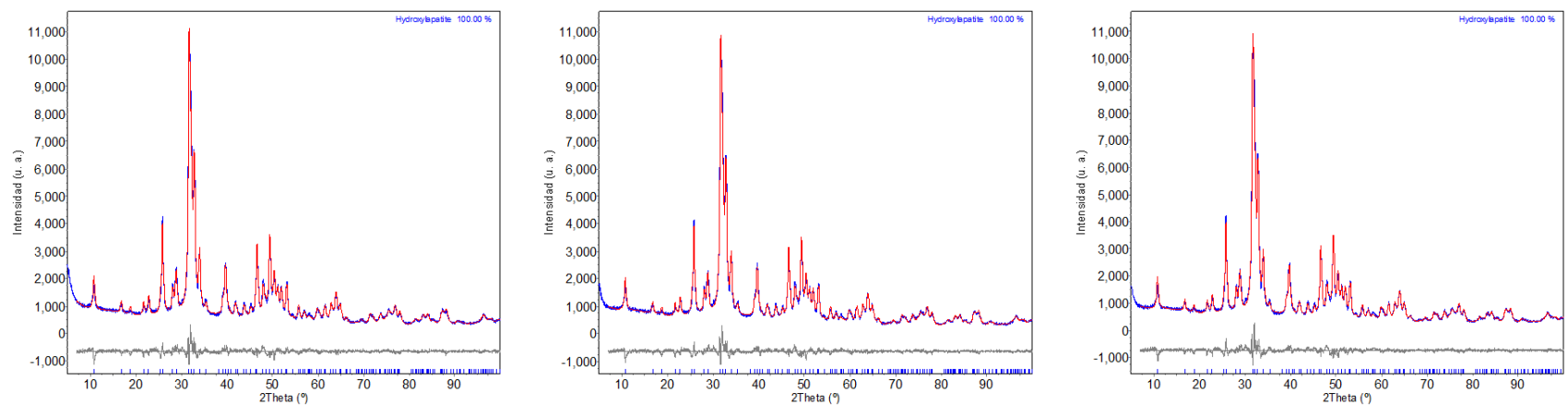


Figura A.9. Difractogramas refinados de las muestras 20 h – RT (izquierda), 20 h – 200 °C (centro) y 20 h – 400 °C (derecha).

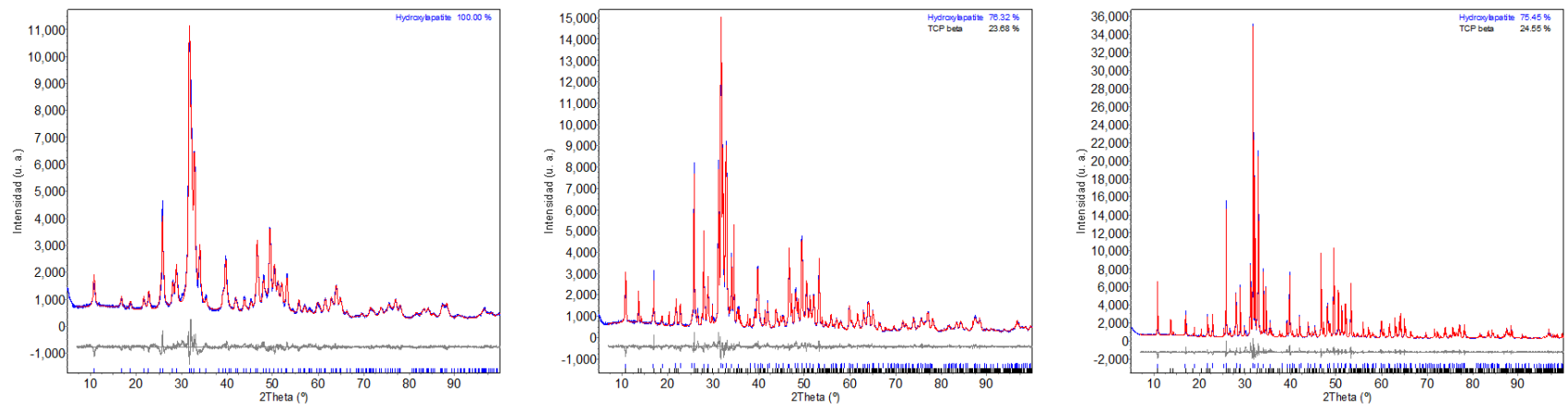


Figura A.10. Difractogramas refinados de las muestras 20 h – 600 °C (izquierda), 20 h – 800 °C (centro) y 20 h – 1000 °C (derecha).

B. ESPECTROS FTIR DE LAS HA_p OBTENIDAS POR MECANO-SÍNTESIS.

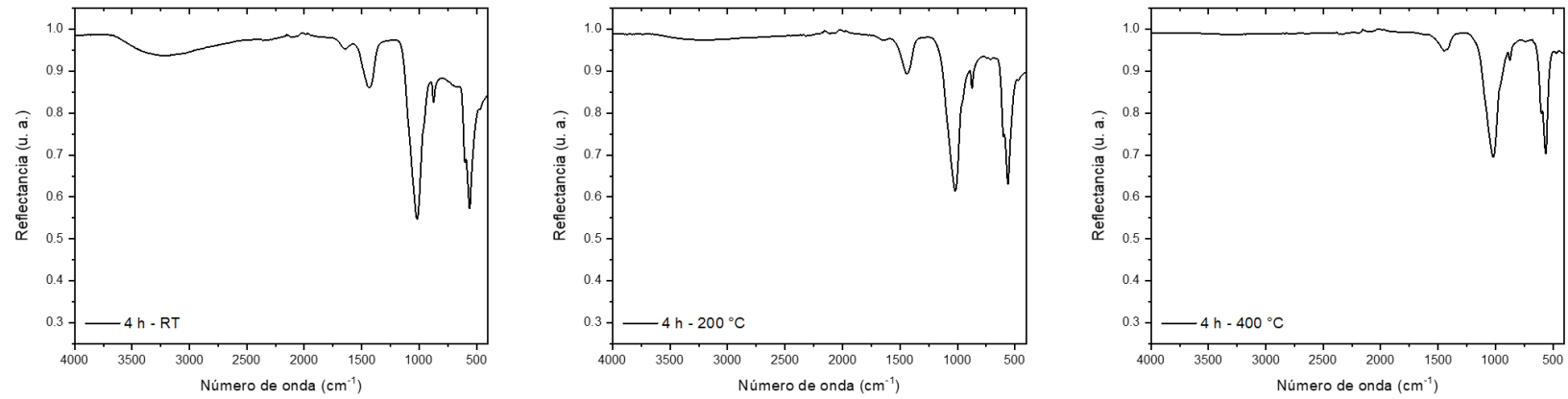


Figura B.1. Espectros infrarrojos de las muestras 4 h – RT (izquierda), 4 h – 200 °C (centro) y 4 h – 400 °C (derecha).

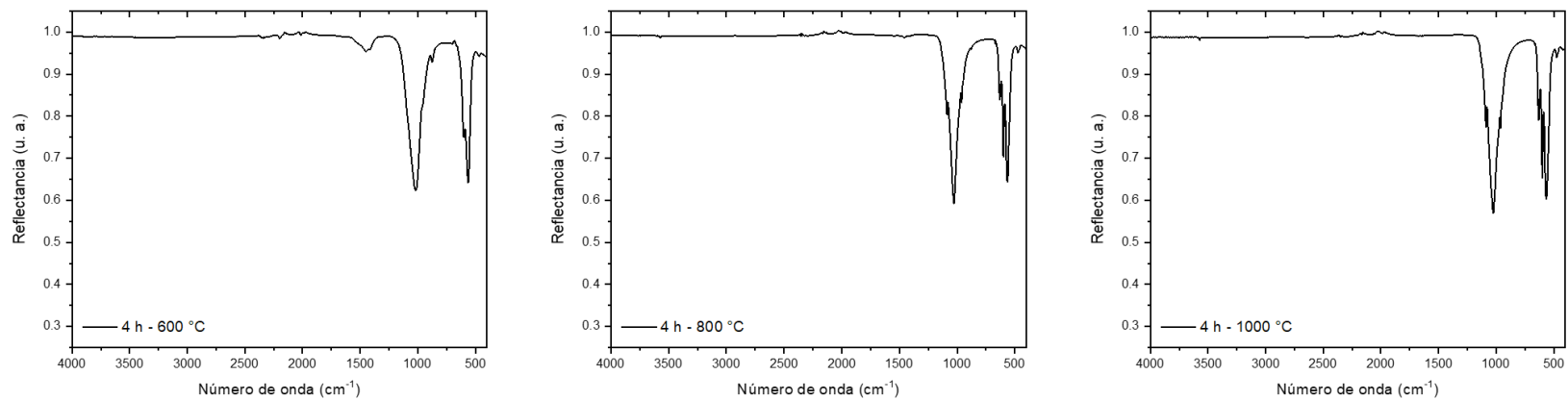


Figura B.2. Espectros infrarrojos de las muestras 4 h – 600 °C (izquierda), 4 h – 800 °C (centro) y 4 h – 1000 °C (derecha).

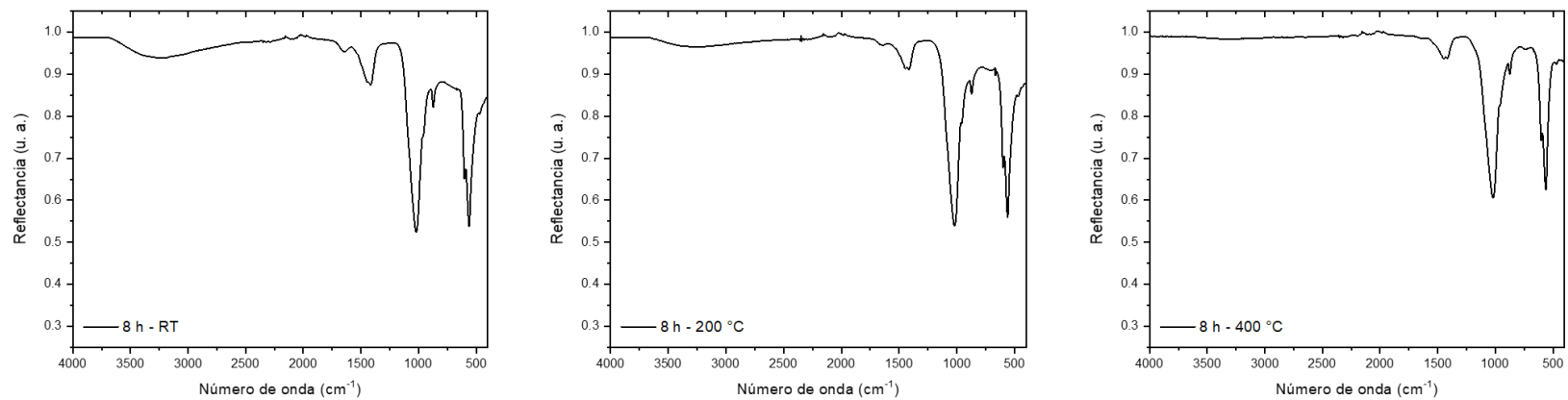


Figura B.3. Espectros infrarrojos de las muestras 8 h – RT (izquierda), 8 h – 200 °C (centro) y 8 h – 400 °C (derecha).

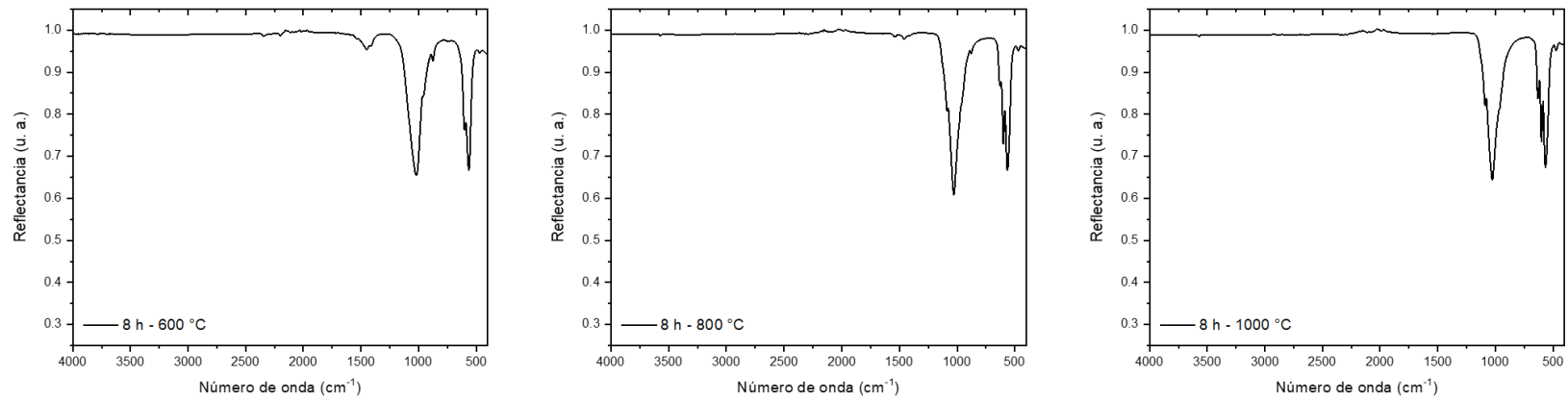


Figura B.4. Espectros infrarrojos de las muestras 8 h – 600 °C (izquierda), 8 h – 800 °C (centro) y 8 h – 1000 °C (derecha).

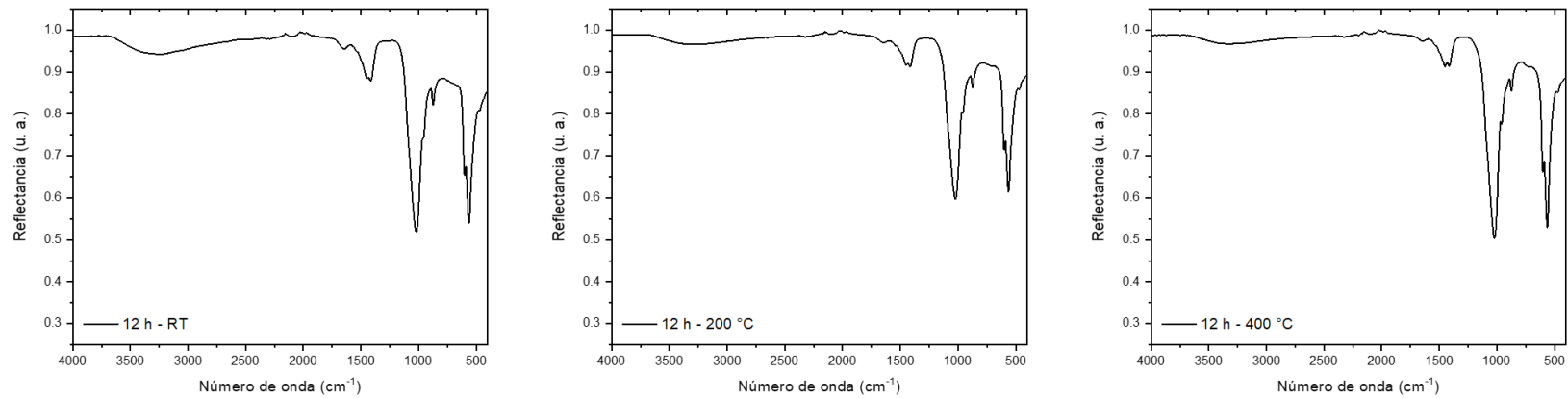


Figura B.5. Espectros infrarrojos de las muestras 12 h – RT (izquierda), 12 h – 200 °C (centro) y 12 h – 400 °C (derecha).

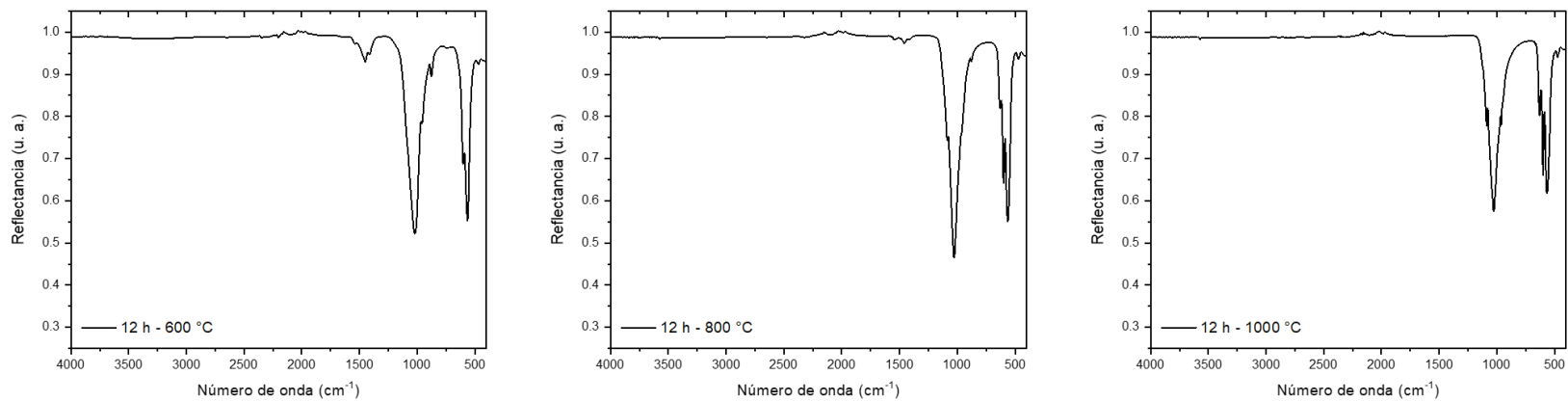


Figura B.6. Espectros infrarrojos de las muestras 12h – 600 °C (izquierda), 12 h – 800 °C (centro) y 12 h – 1000 °C (derecha).

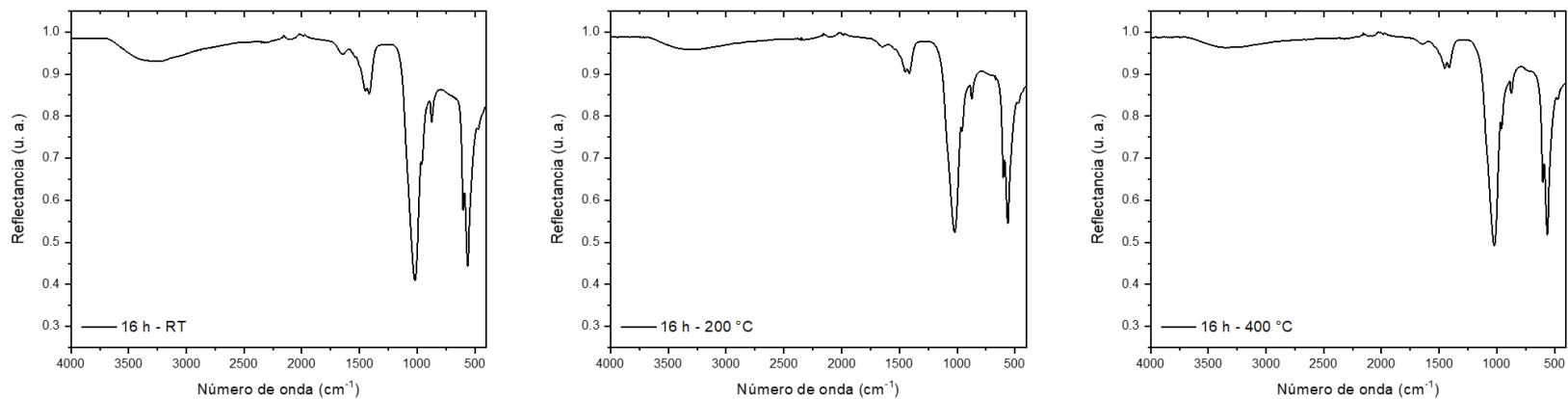


Figura B.7. Espectros infrarrojos de las muestras 16 h – RT (izquierda), 16 h – 200 °C (centro) y 16 h – 400 °C (derecha).

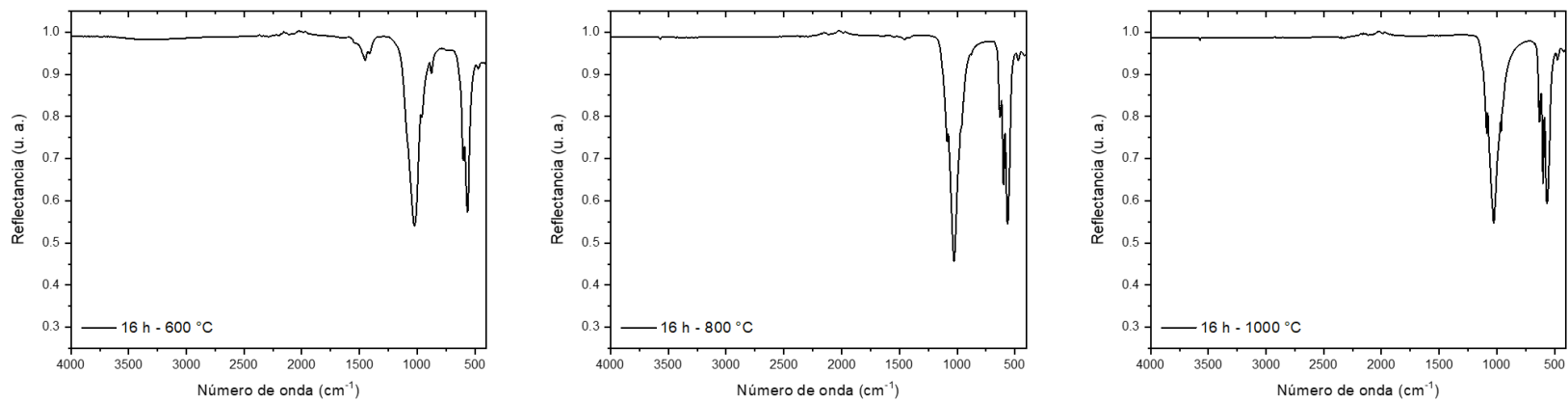


Figura B.8. Espectros infrarrojos de las muestras 16 h – 600 °C (izquierda), 16 h – 800 °C (centro) y 16 h – 1000 °C (derecha).

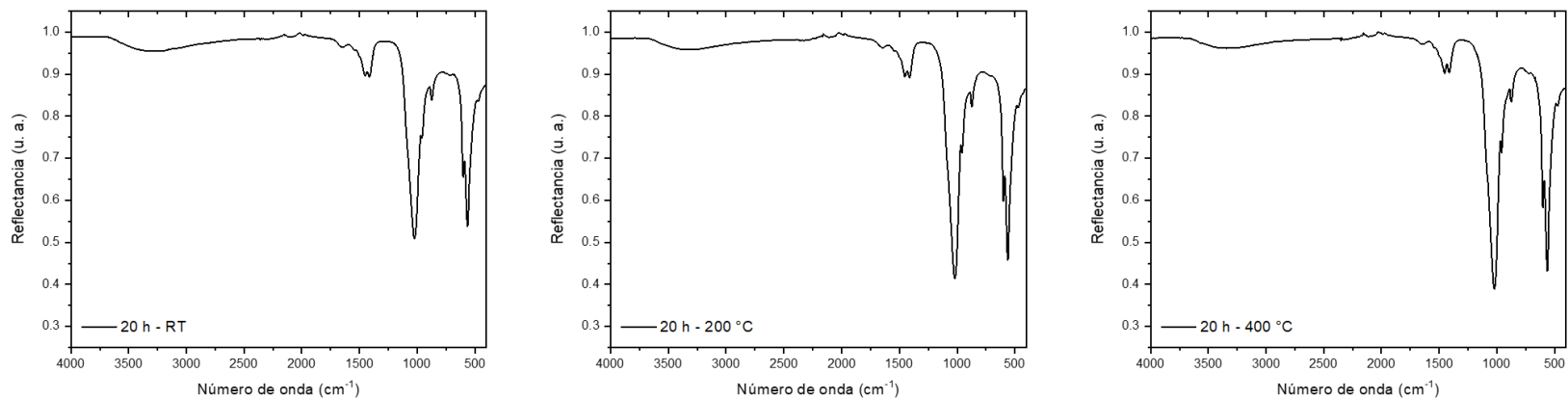


Figura B.9. Espectros infrarrojos de las muestras 20 h – RT (izquierda), 20 h – 200 °C (centro) y 20 h – 400 °C (derecha).

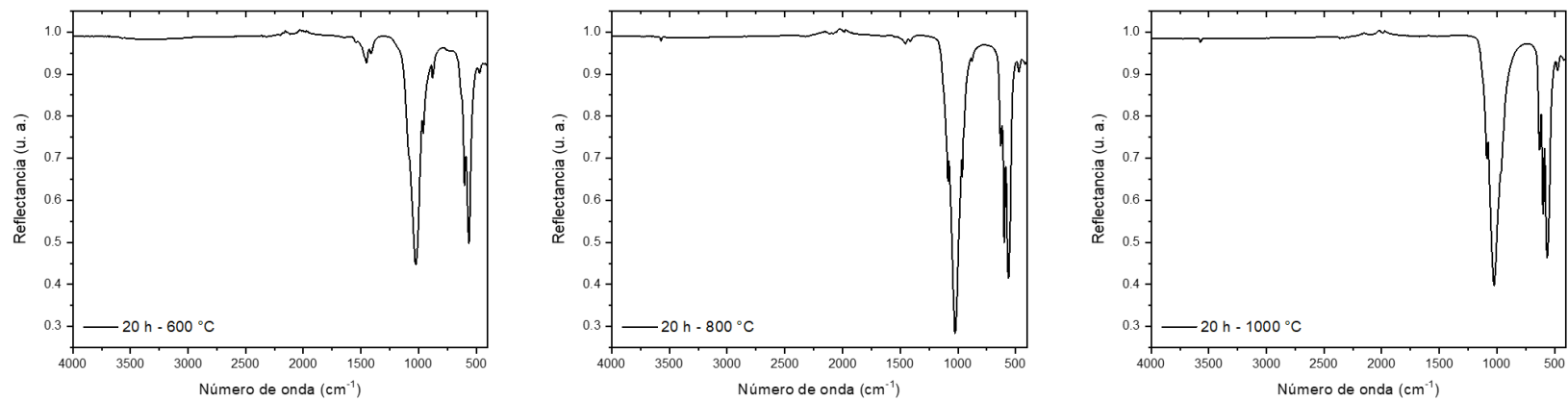


Figura B.10. Espectros infrarrojos de las muestras 20 h – 600 °C (izquierda), 20 h – 800 °C (centro) y 20 h – 1000 °C (derecha).

C. ESPECTROS RAMAN DE LAS HA_p OBTENIDAS POR MECANO-SÍNTESIS.

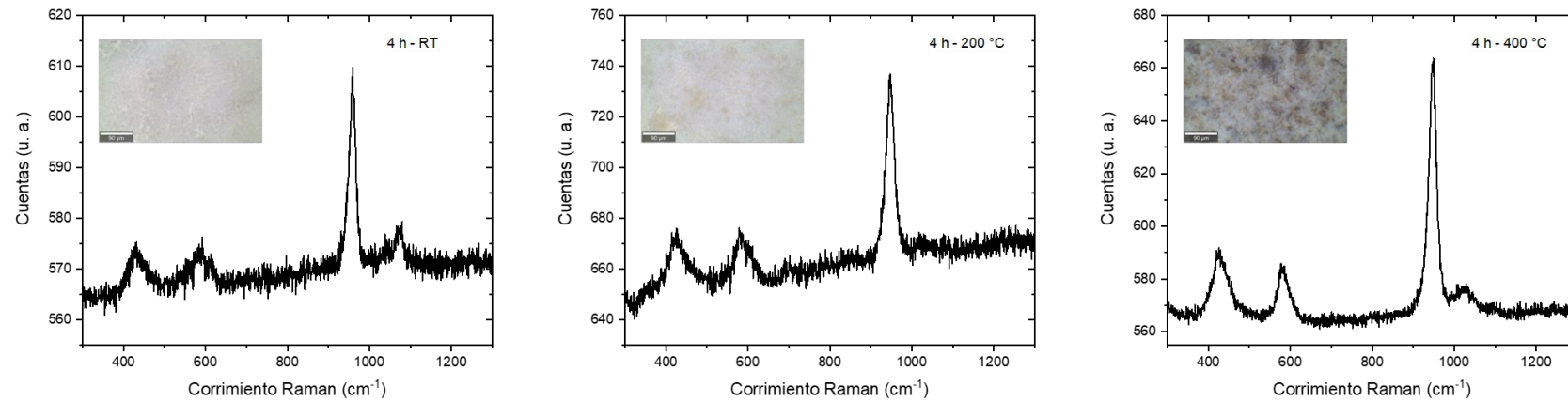


Figura C.1. Espectros Raman de las muestras 4 h – RT (izquierda), 4 h – 200 °C (centro) y 4 h – 400 °C (derecha).

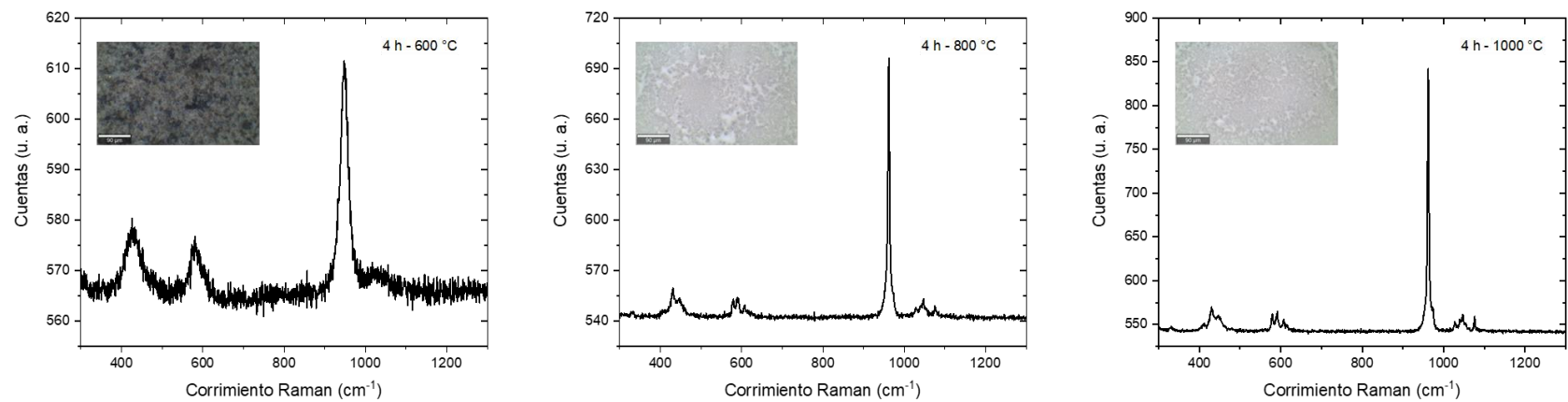


Figura C.2. Espectros Raman de las muestras 4 h – 600 °C (izquierda), 4 h – 800 °C (centro) y 4 h – 1000 °C (derecha).

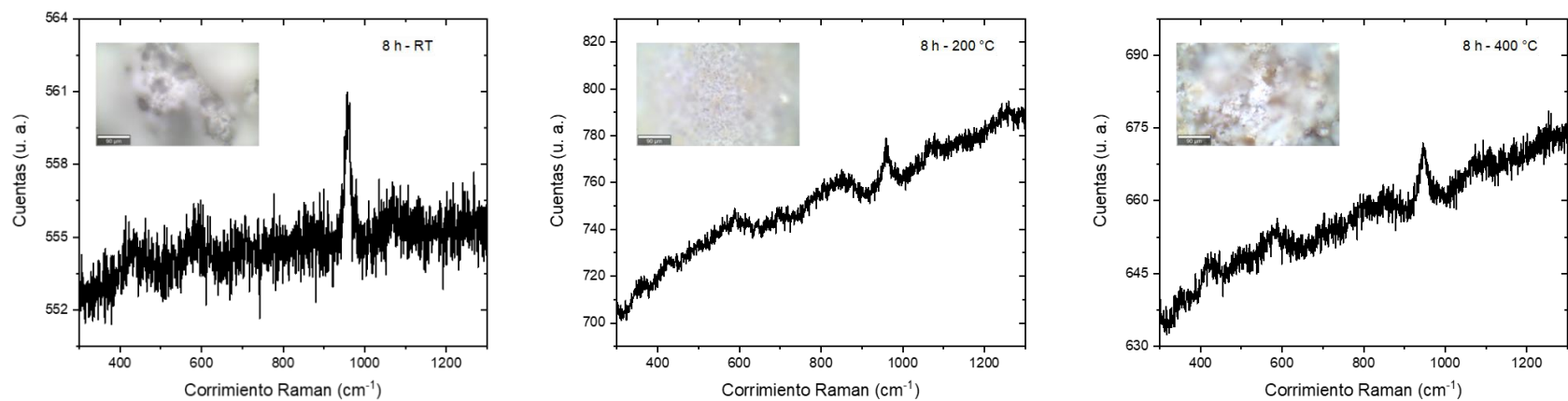


Figura C.3. Espectros Raman de las muestras 8 h – RT (izquierda), 8 h – 200 °C (centro) y 8 h – 400 °C (derecha).

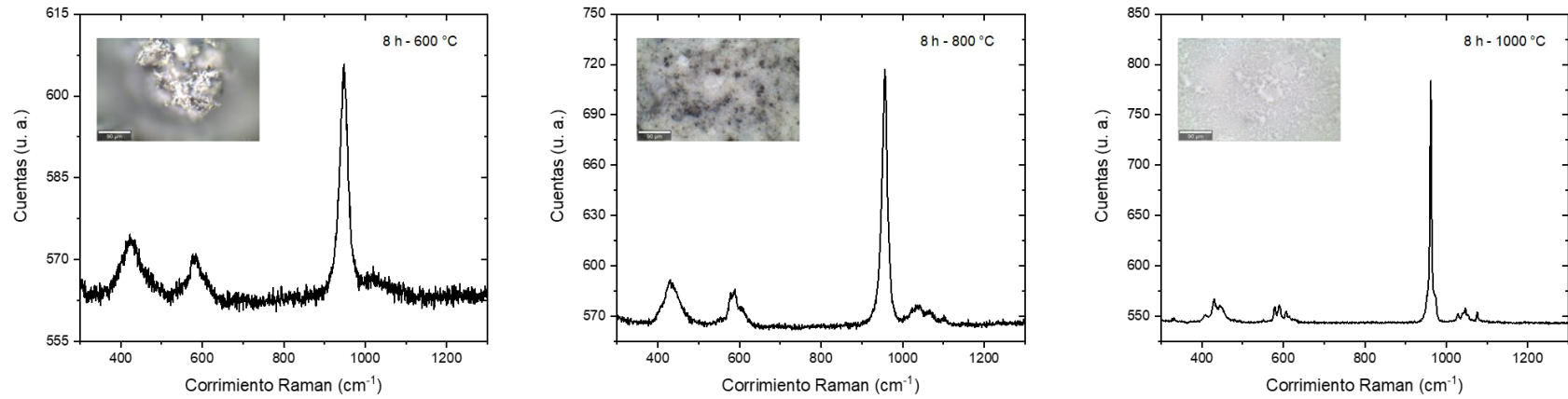


Figura C.4. Espectros Raman de las muestras 8 h – 600 °C (izquierda), 8 h – 800 °C (centro) y 8 h – 1000 °C (derecha).

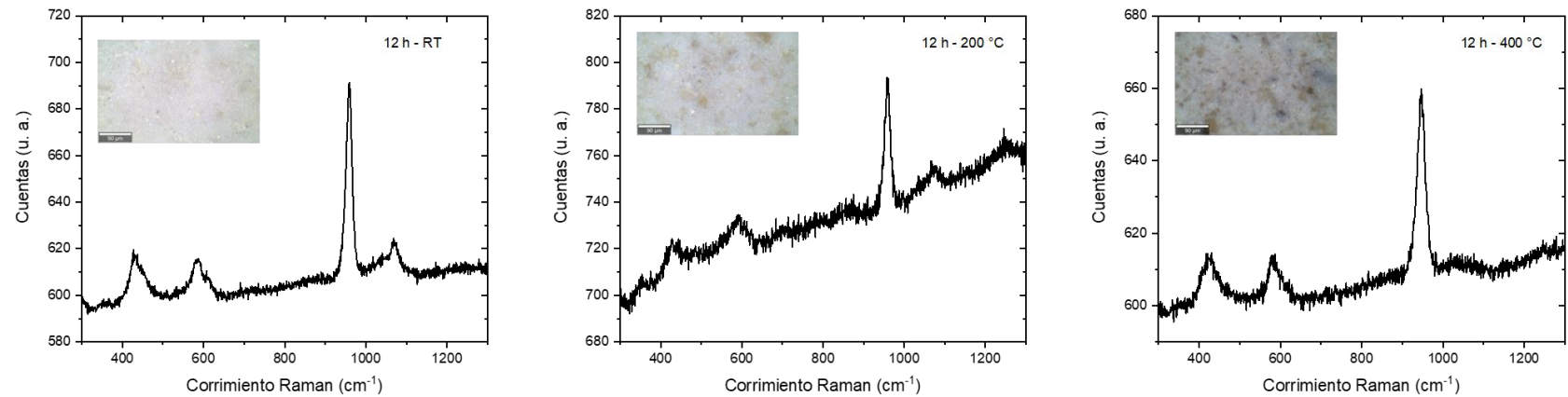


Figura C.5. Espectros Raman de las muestras 12 h – RT (izquierda), 12 h – 200 °C (centro) y 12 h – 400 °C (derecha).

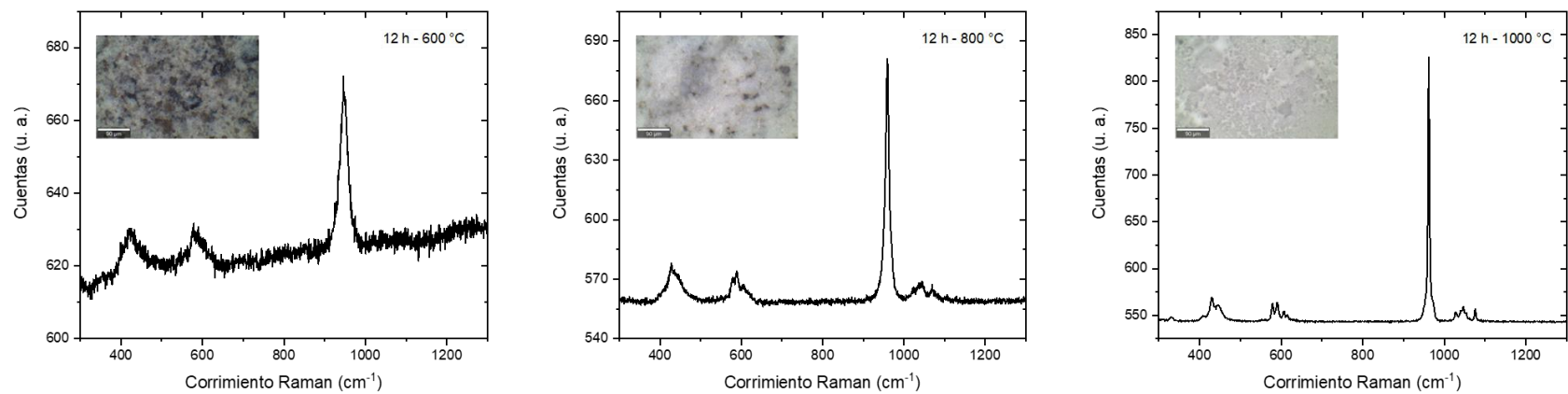


Figura C.6. Espectros Raman de las muestras 12 h – 600 °C (izquierda), 12 h – 800 °C (centro) y 12 h – 1000 °C (derecha).

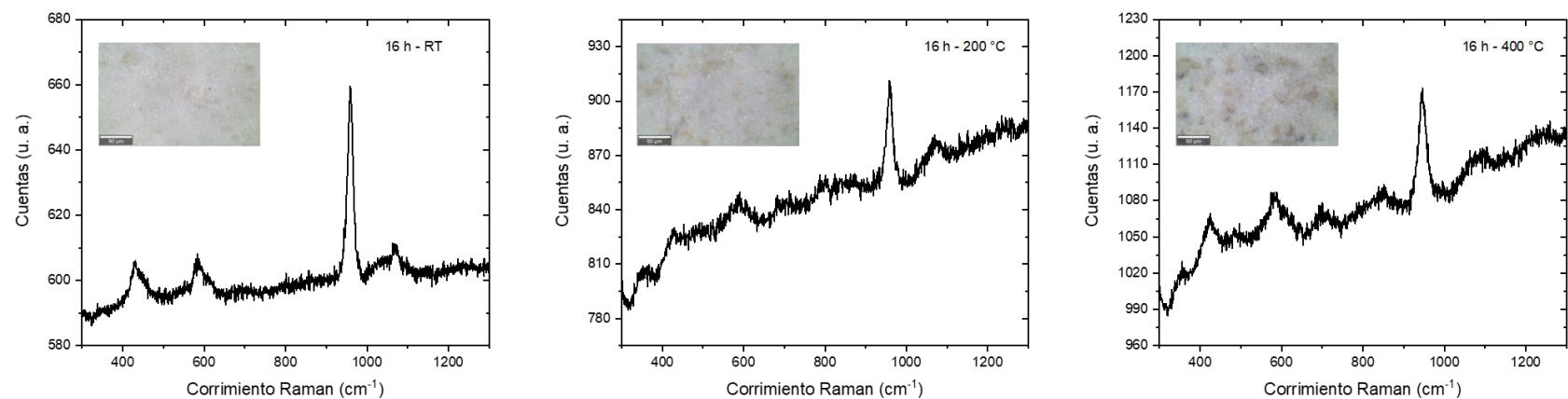


Figura C.7. Espectros Raman de las muestras 16 h – RT (izquierda), 16 h – 200 °C (centro) y 16 h – 400 °C (derecha).

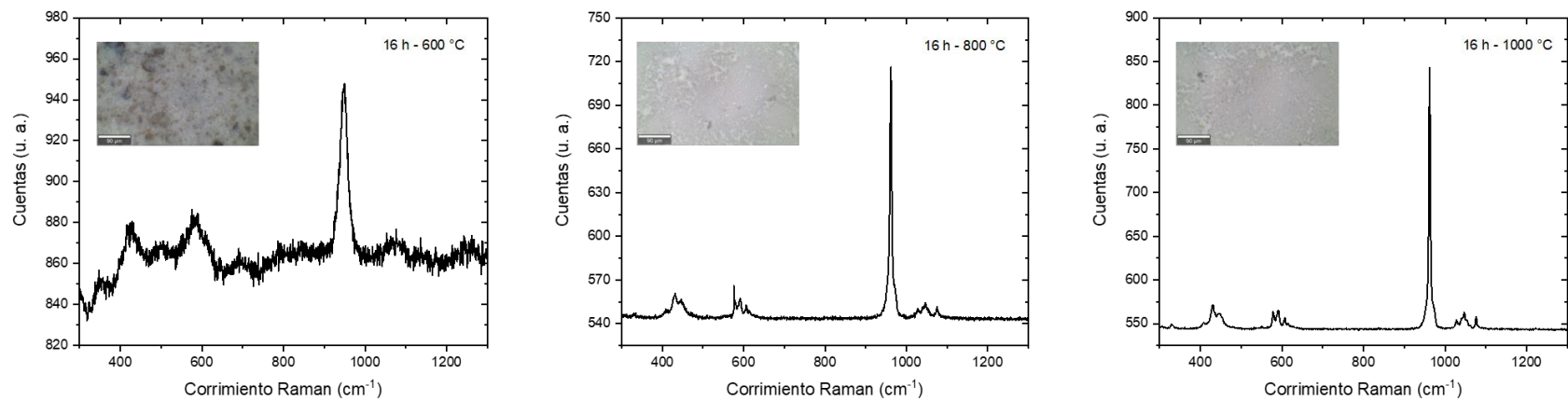


Figura C.8. Espectros Raman de las muestras 16 h – 600 °C (izquierda), 16 h – 800 °C (centro) y 16 h – 1000 °C (derecha).

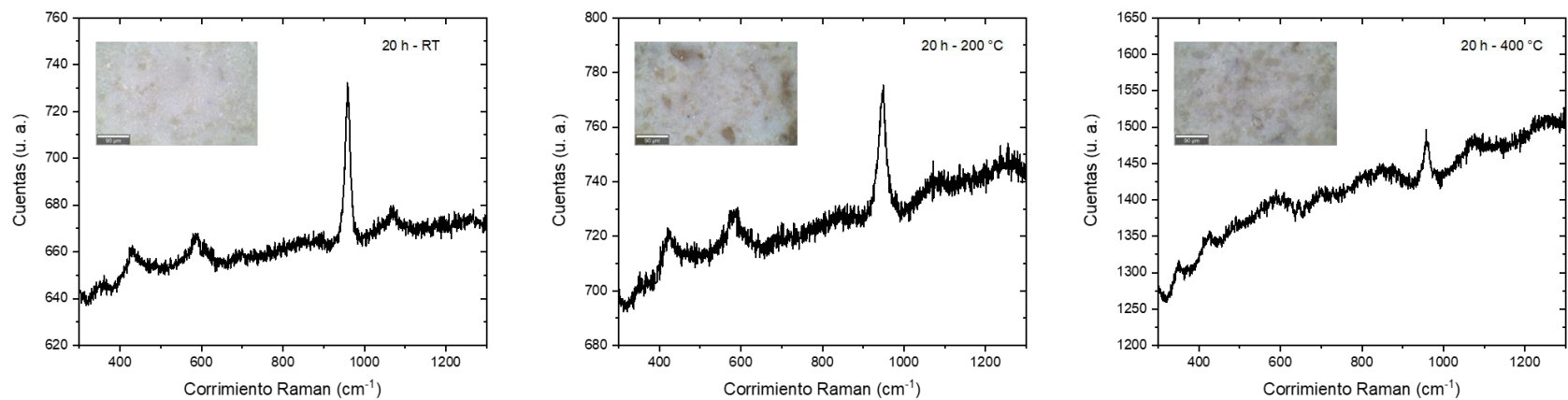


Figura C.9. Espectros Raman de las muestras 20 h – RT (izquierda), 20 h – 200 °C (centro) y 20 h – 400 °C (derecha).

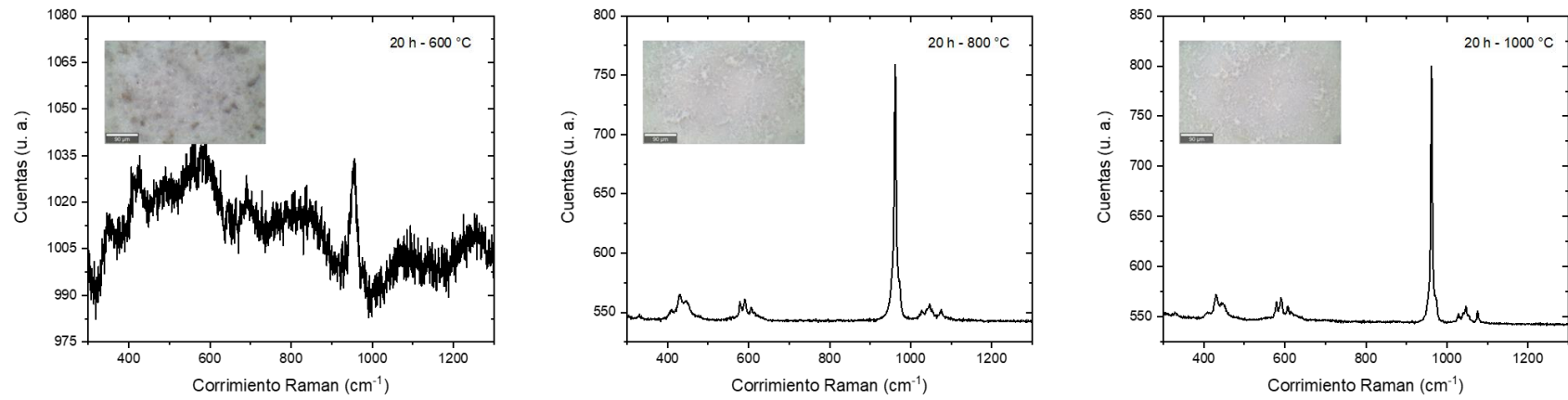


Figura C.10. Espectros Raman de las muestras 20 h – 600 °C (izquierda), 20 h – 800 °C (centro) y 20 h – 1000 °C (derecha).

D. DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑOS DE LAS HAp OBTENIDAS POR MECANO-SÍNTESIS.

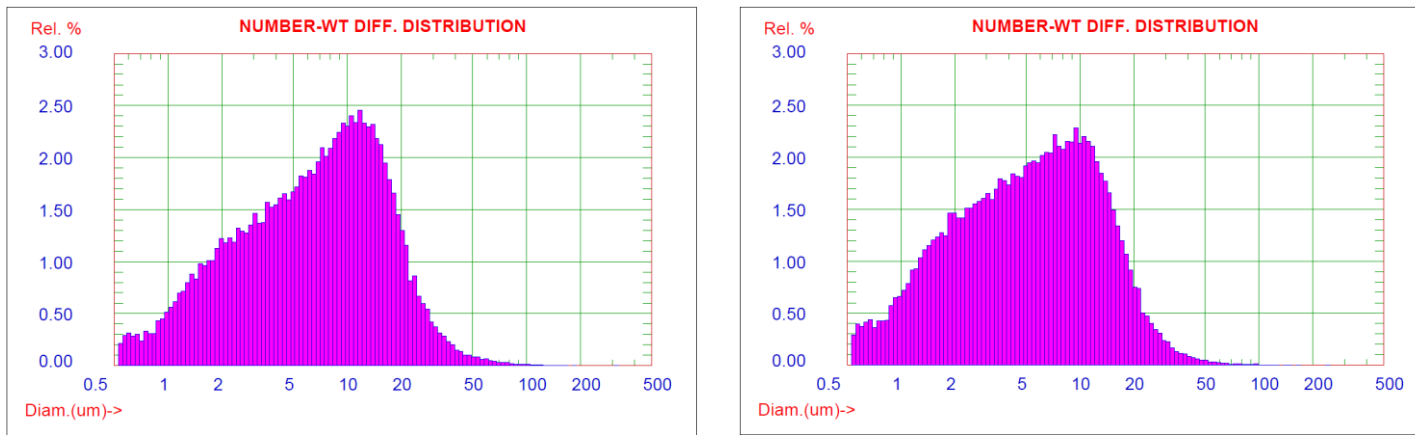


Figura D.1. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 4 h – RT (izquierda) y 4 h – 200 °C (derecha).

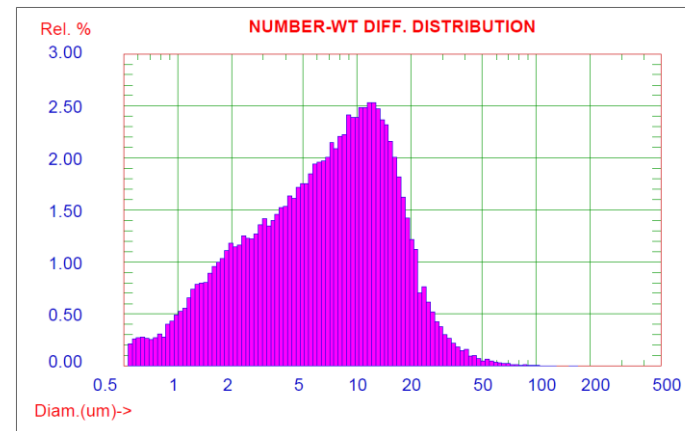
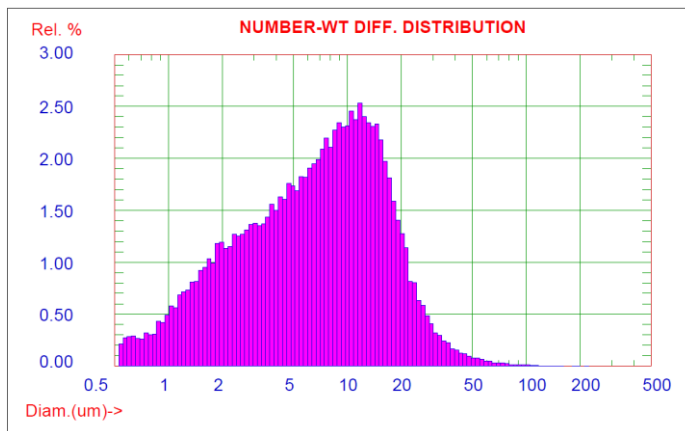


Figura D.2. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 4 h – 400 °C (izquierda) y 4 h – 600 °C (derecha).

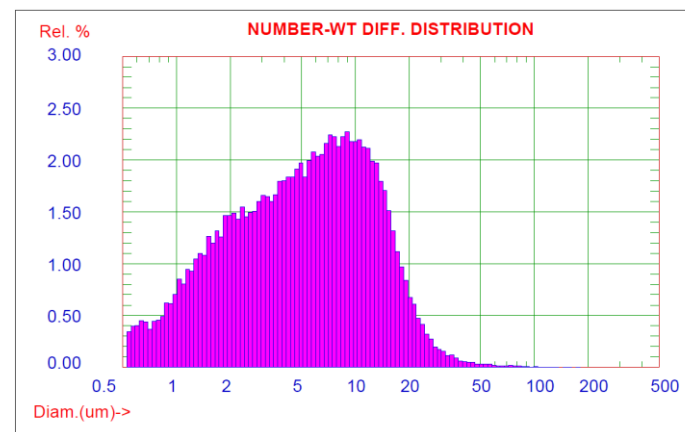
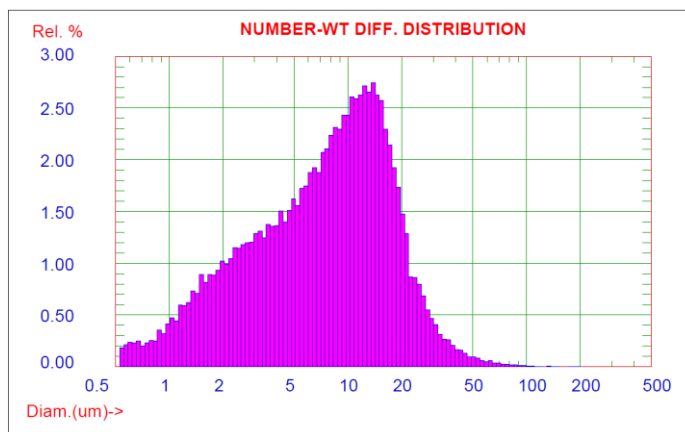


Figura D.3. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 4 h – 800 °C (izquierda) y 4 h – 1000 °C (derecha).

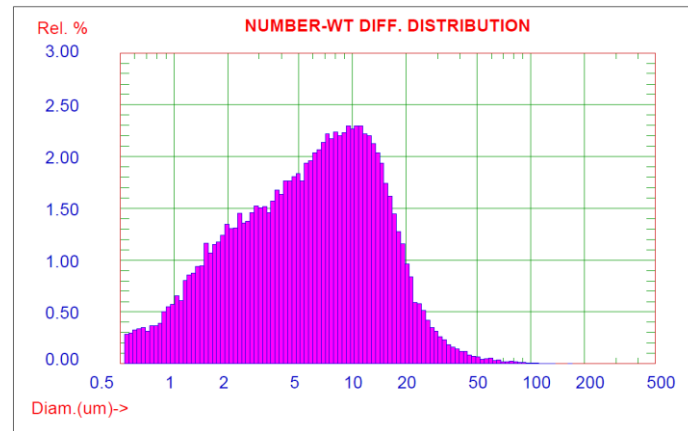
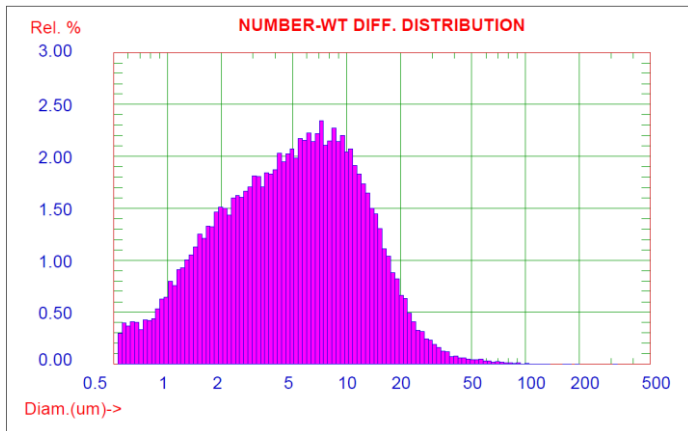


Figura D.4. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 8 h – RT (izquierda) y 8 h – 200 °C (derecha).

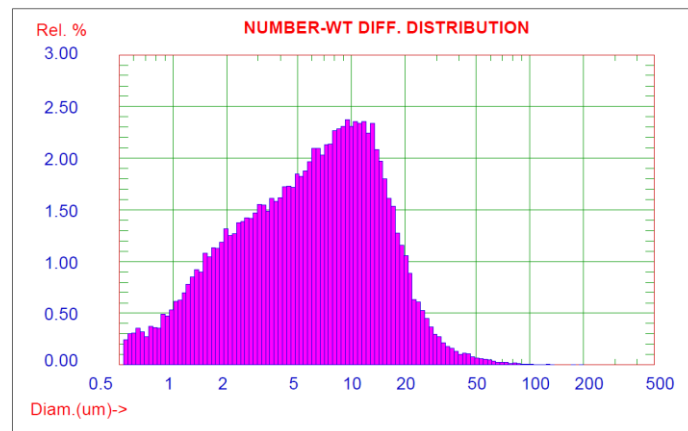
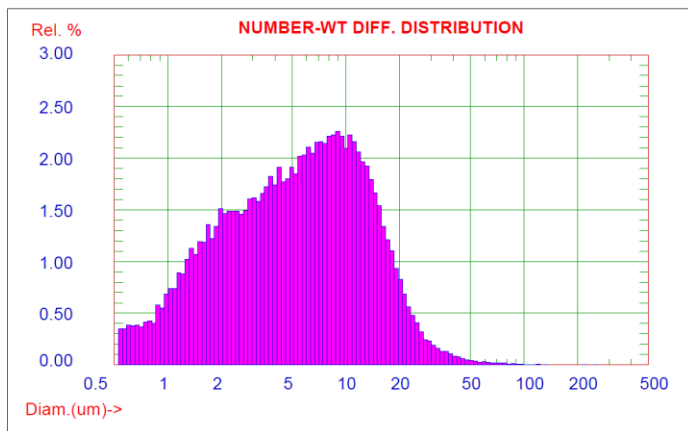


Figura D.5. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 8 h – 400 °C (izquierda) y 8 h – 600 °C (derecha).

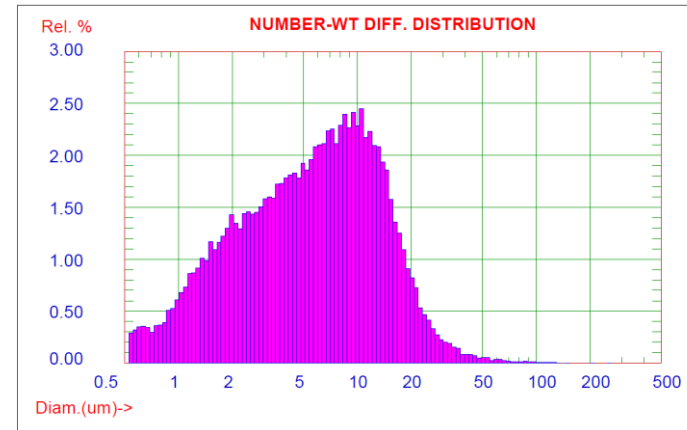
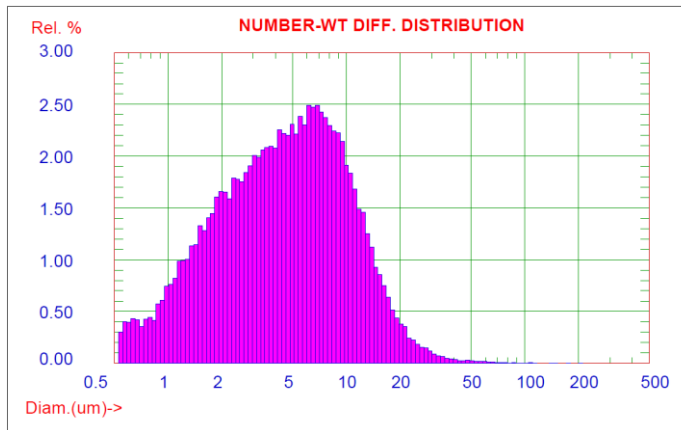


Figura D.6. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 8 h – 800 °C (izquierda) y 8 h – 1000 °C (derecha).

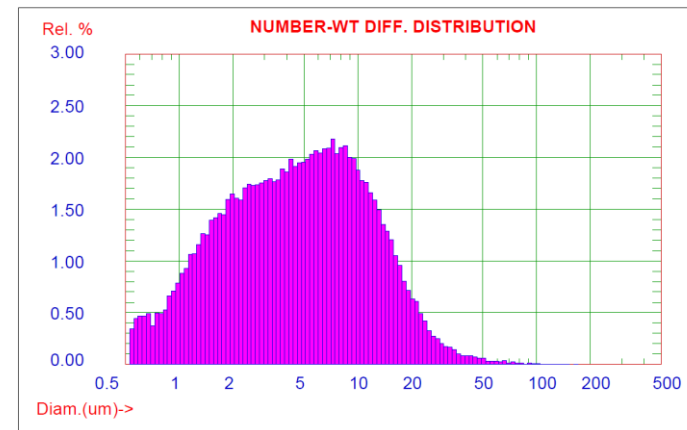
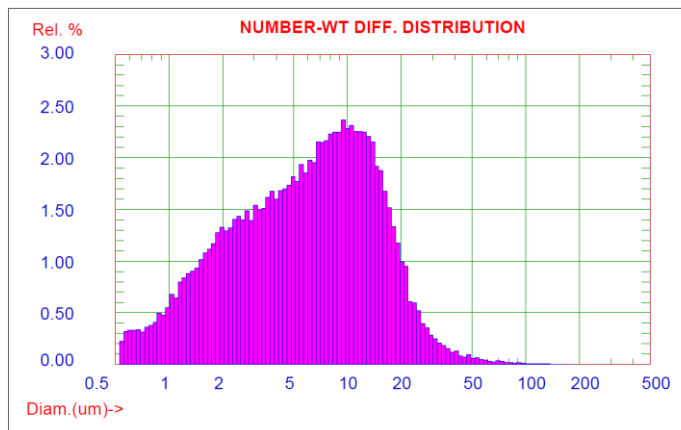


Figura D.7. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 12 h – RT (izquierda) y 12 h – 200 °C (derecha).

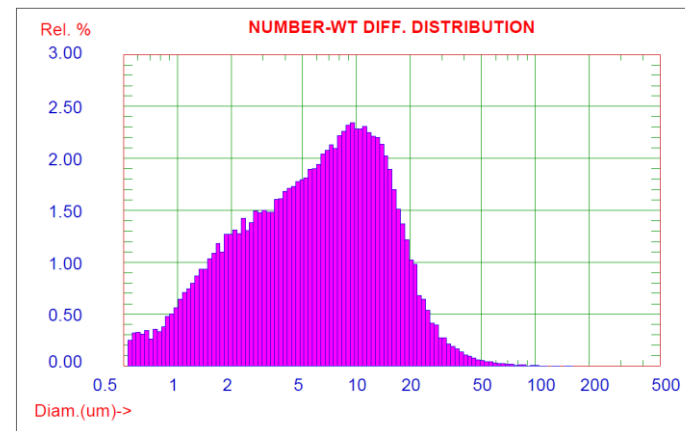
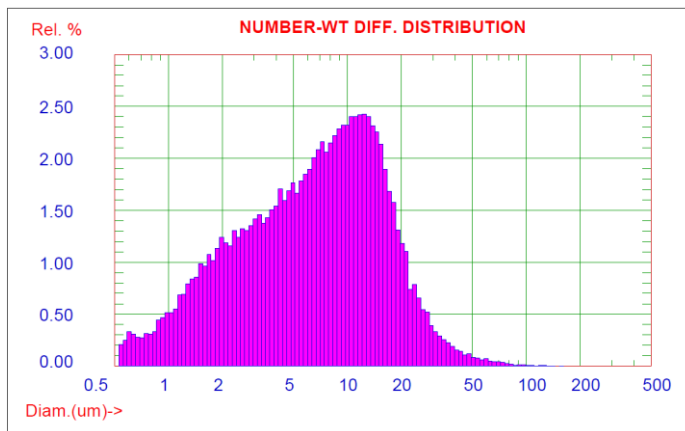


Figura D.8. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 12 h – 400 °C (izquierda) y 12 h – 600 °C (derecha).

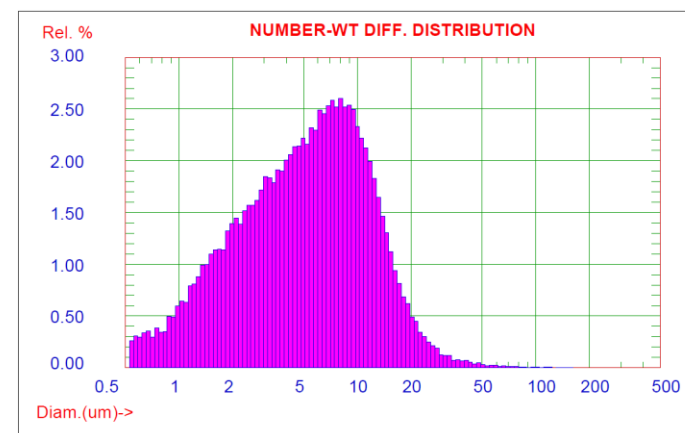
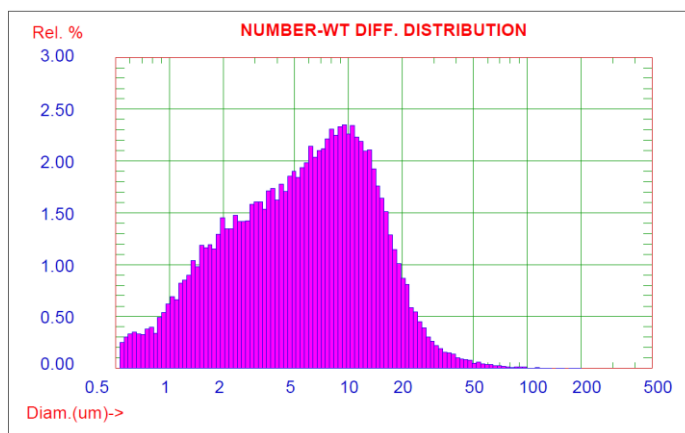


Figura D.9. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 12 h – 800 °C (izquierda) y 12 h – 1000 °C (derecha).

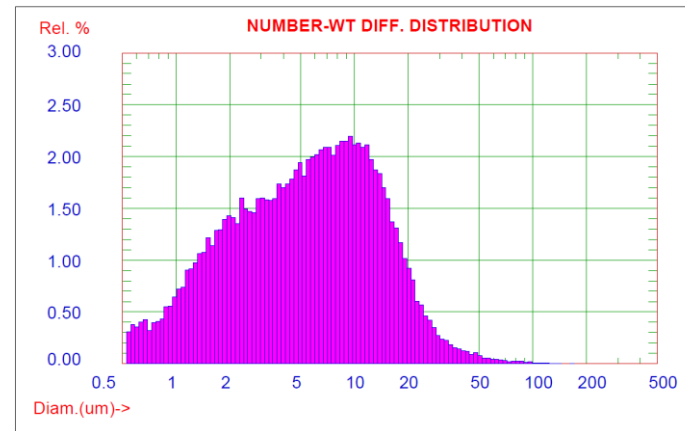
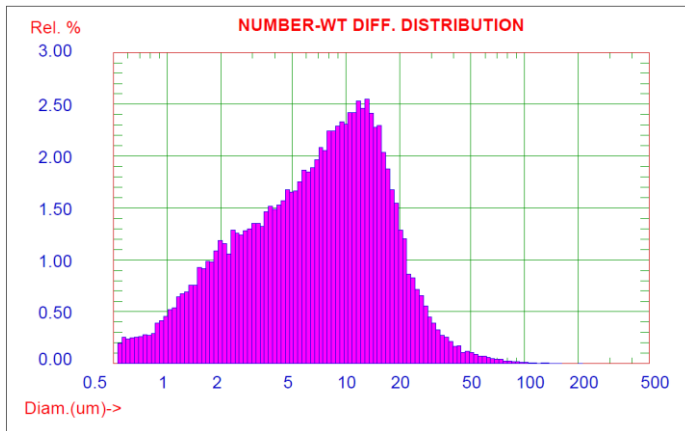


Figura D.10. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 16 h – RT (izquierda) y 16 h – 200 °C (derecha).

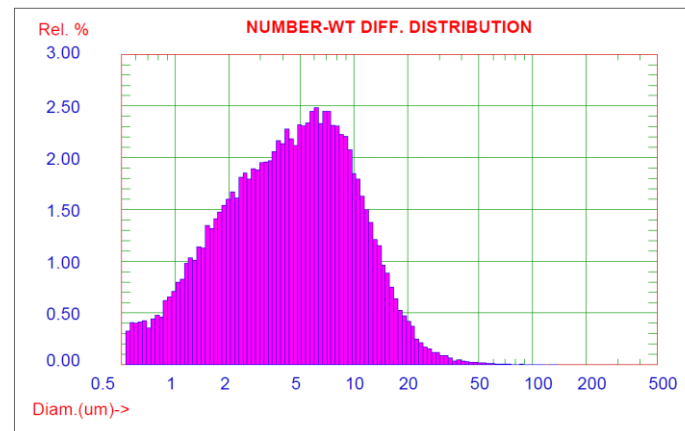
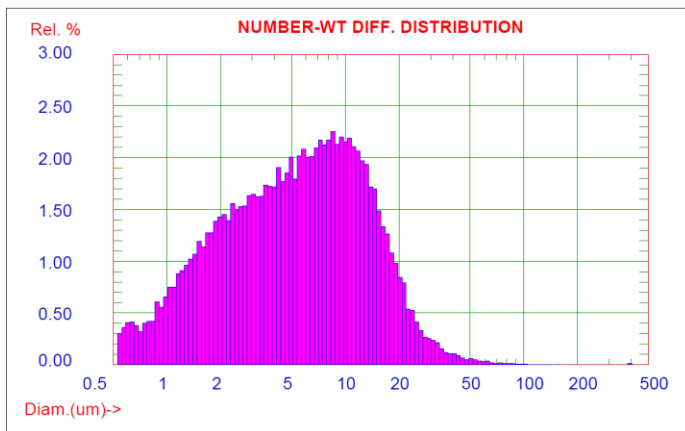


Figura D.11. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 16 h – 400 °C (izquierda) y 16 h – 600 °C (derecha).

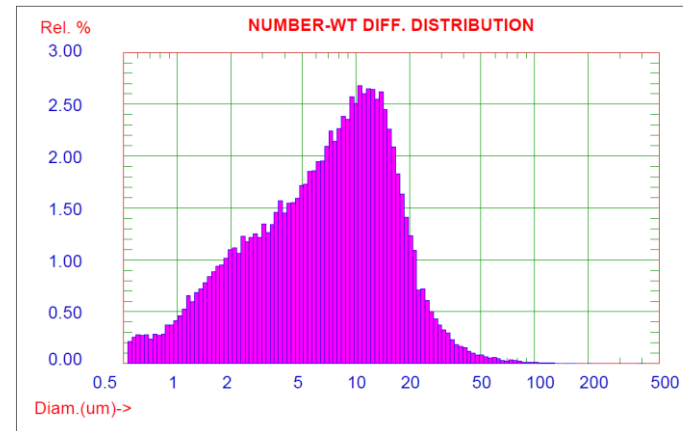
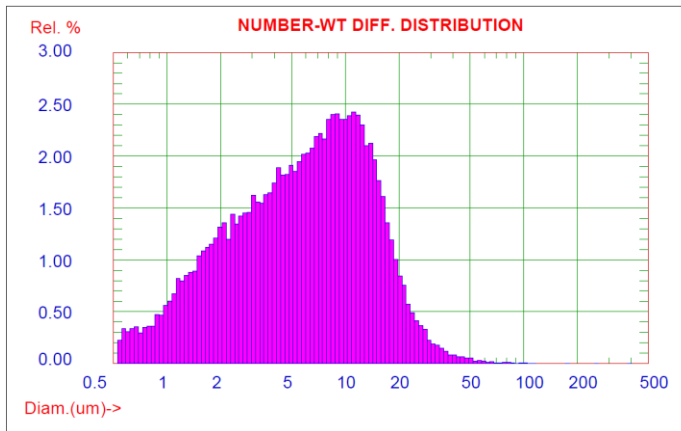


Figura D.12. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 16 h – 800 °C (izquierda) y 16 h – 1000 °C (derecha).

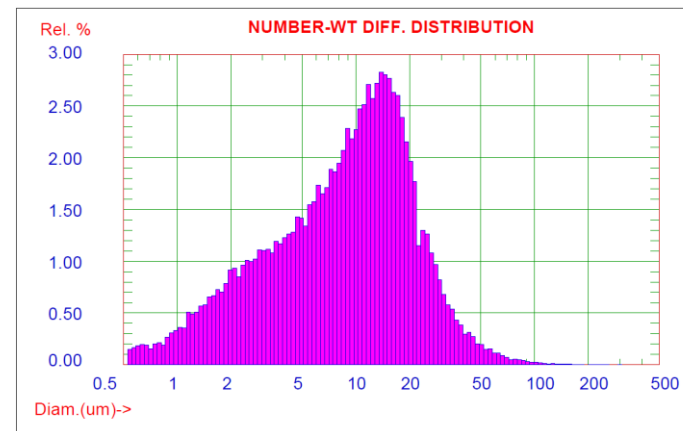
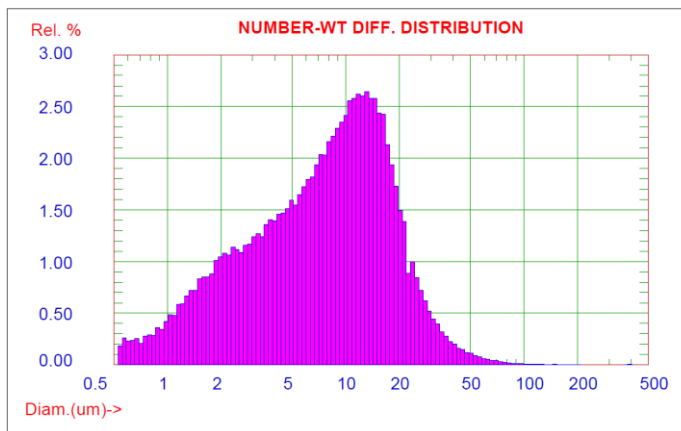


Figura D.13. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 20 h – RT (izquierda) y 20 h – 200 °C (derecha).

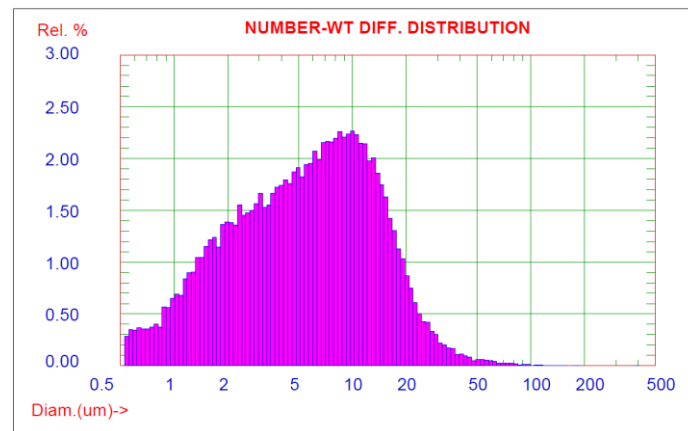
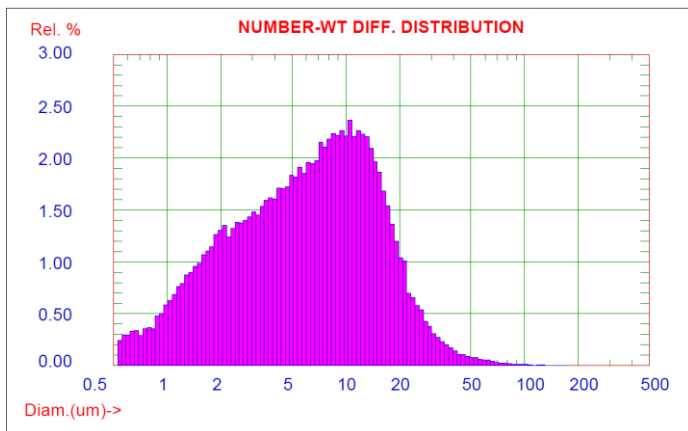


Figura D.14. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 20 h – 400 °C (izquierda) y 20 h – 600 °C (derecha).

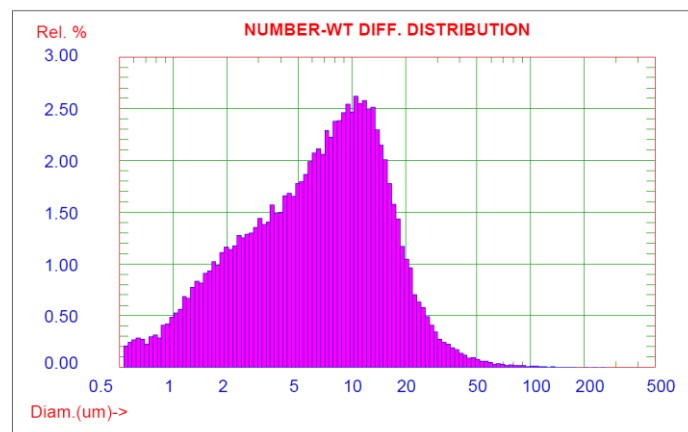
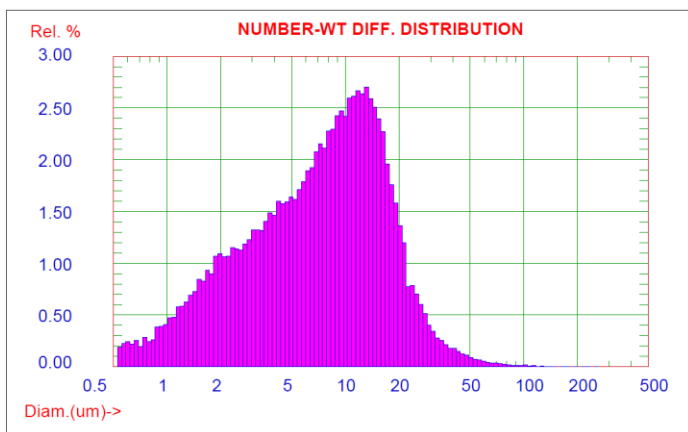


Figura D.15. Histogramas de distribución de tamaños de las muestras 20 h – 800 °C (izquierda) y 20 h – 1000 °C (derecha).

E. SCRIPT DE ESTABILIDAD DE LA HAp Y CHAp

- Código en Quantum Espresso para realizar el cálculo auto-consistente de la energía de la estructura hidroxiapatita (HAp):

```
&control
  calculation = 'scf'
  restart_mode='from_scratch',
  prefix='hap',
  tstress = .true.
  tprnfor = .true.
  pseudo_dir = './',
  outdir='./'
/
&system
  a      = 9.4312
  c      = 6.8802
 ibrav = 4
  nat    = 44
  ntyp  = 4
  ecutwfc = 45,
  ecutrho = 450,
  nbnd   = 160,
  occupations='fixed',
/
&electrons
  mixing_mode = 'plain'
  mixing_beta = 0.5
  conv_thr = 1.0d-6
/
ATOMIC_SPECIES
Ca  40.07800  Ca.pbe-spn-rrkjus_psl.1.0.0.UPF
P   30.97376  P.pbe-n-rrkjus_psl.1.0.0.UPF
O   15.99940  O.pbe-n-rrkjus_psl.1.0.0.UPF
H    1.00794  H.pbe-rrkjus_psl.1.0.0.UPF

ATOMIC_POSITIONS {crystal}
Ca  0.333300  0.666700  0.001480
Ca  0.666600  0.333300  0.501480
Ca  0.666700  0.333300  0.998520
Ca  0.333400  0.666700  0.498520
Ca  0.246560  0.993090  0.250000
Ca  0.253470  0.246560  0.750000
Ca  0.006910  0.253470  0.250000
Ca  0.753440  0.006910  0.750000
```

Ca	0.746530	0.753440	0.250000
Ca	0.993090	0.746530	0.750000
P	0.398320	0.368280	0.250000
P	0.030040	0.398320	0.750000
P	0.631720	0.030040	0.250000
P	0.601680	0.631720	0.750000
P	0.969960	0.601680	0.250000
P	0.368280	0.969960	0.750000
O	0.328290	0.484570	0.250000
O	0.843720	0.328290	0.750000
O	0.515430	0.843720	0.250000
O	0.671710	0.515430	0.750000
O	0.156280	0.671710	0.250000
O	0.484570	0.156280	0.750000
O	0.587240	0.464940	0.250000
O	0.122300	0.587240	0.750000
O	0.535060	0.122300	0.250000
O	0.412760	0.535060	0.750000
O	0.877700	0.412760	0.250000
O	0.464940	0.877700	0.750000
O	0.343370	0.258010	0.070320
O	0.085360	0.343370	0.570320
O	0.741990	0.085360	0.070320
O	0.656630	0.741990	0.570320
O	0.914640	0.656630	0.070320
O	0.258010	0.914640	0.570320
O	0.656630	0.741990	0.929680
O	0.914640	0.656630	0.429680
O	0.258010	0.914640	0.929680
O	0.343370	0.258010	0.429680
O	0.085360	0.343370	0.929680
O	0.741990	0.085360	0.429680
O	0.000000	0.000000	0.799640
O	0.000000	0.000000	0.299640
H	0.000000	0.000000	0.938300
H	0.000000	0.000000	0.438300

```
K_POINTS {automatic}
3 3 3 0 0 0
```

- Código en Quantum Espresso para realizar el cálculo auto-consistente de la energía de la estructura carboapatita (CHAp):

```
&control
  calculation = 'scf'
  restart_mode='from_scratch',
```

```

    prefix='bchap',
    tstress = .true.
    tprnfor = .true.
    pseudo_dir = './',
    outdir='./'
/
&system
  a      = 10.14862
  c      = 6.90748
 ibrav = 4
  nat    = 43
  ntyp   = 5
  ecutwfc = 45,
  ecutrho = 450,
  nbnd=200,
  occupations = 'smearing',
  smearing = 'gaussian',
  degauss=0.01d0
/
&electrons
  mixing_mode = 'plain'
  mixing_beta = 0.5
  conv_thr = 1.0d-6
/
ATOMIC_SPECIES
Ca  40.07800  Ca.pbe-spn-rrkjus_psl.1.0.0.UPF
P   30.97376  P.pbe-n-rrkjus_psl.1.0.0.UPF
O   15.99940  O.pbe-n-rrkjus_psl.1.0.0.UPF
H    1.00794  H.pbe-rrkjus_psl.1.0.0.UPF
C    12.0107  C.pbe-n-rrkjus_psl.1.0.0.UPF

ATOMIC_POSITIONS {crystal}
Ca  0.333333  0.666667  0.001100
Ca  0.666667  0.333333  0.998900
Ca  0.666667  0.333333  0.501100
Ca  0.333333  0.666667  0.498900
Ca  0.245700  0.987900  0.250000
Ca  0.754300  0.012100  0.750000
Ca  0.012100  0.257800  0.250000
Ca  0.742200  0.754300  0.250000
Ca  0.257800  0.245700  0.750000
P   0.399100  0.369200  0.250000
P   0.600900  0.630800  0.750000
P   0.369200  0.970100  0.750000
P   0.970100  0.600900  0.250000
P   0.029900  0.399100  0.750000
O   0.326400  0.482980  0.250000

```

O	0.517020	0.843420	0.250000
O	0.482980	0.156580	0.750000
O	0.156580	0.673600	0.250000
O	0.843420	0.326400	0.750000
O	0.587900	0.469500	0.250000
O	0.412100	0.530500	0.750000
O	0.530500	0.118400	0.250000
O	0.469500	0.881600	0.750000
O	0.881600	0.412100	0.250000
O	0.118400	0.587900	0.750000
O	0.340900	0.257900	0.066800
O	0.659100	0.742100	0.933200
O	0.257900	0.917000	0.933200
O	0.917000	0.659100	0.066800
O	0.083000	0.340900	0.933200
O	0.659100	0.742100	0.566800
O	0.340900	0.257900	0.433200
O	0.257900	0.917000	0.566800
O	0.083000	0.340900	0.566800
O	0.917000	0.659100	0.433200
O	0.701000	0.063000	0.089000
O	0.701000	0.063000	0.411000
O	0.000000	0.000000	0.811600
O	0.000000	0.000000	0.311600
H	0.000000	0.000000	0.945800
H	0.000000	0.000000	0.445800
C	0.638200	0.990400	0.250000
C	0.645000	0.083000	0.250000

K_POINTS {automatic}
3 3 3 0 0 0

F. DIFRACTOGRAMAS DE LOS REFUERZOS

Los difractogramas de las muestras, d-QC-3, d-QC-4, d-QC-5, d-QC-6, d-QC-8, d-QC-9 y d-QC-10 se observan en la Figura F.1 con la fase decagonal identificada como único compuesto (ICDD N° 42-1280). Los difractogramas de las muestras d-QC-2 y d-QC-7 se observan en la Figura F.2 y Figura F.3, respectivamente, donde se encontraron además de la fase decagonal otros compuestos como ω -Al₇Cu₂Fe (ICDD N° 25-1121), AlFe₃ (ICDD N° 50-0955), θ -Al₂Cu (ICDD N° 25-0012), β -AlFe (ICDD N° 33-0020).

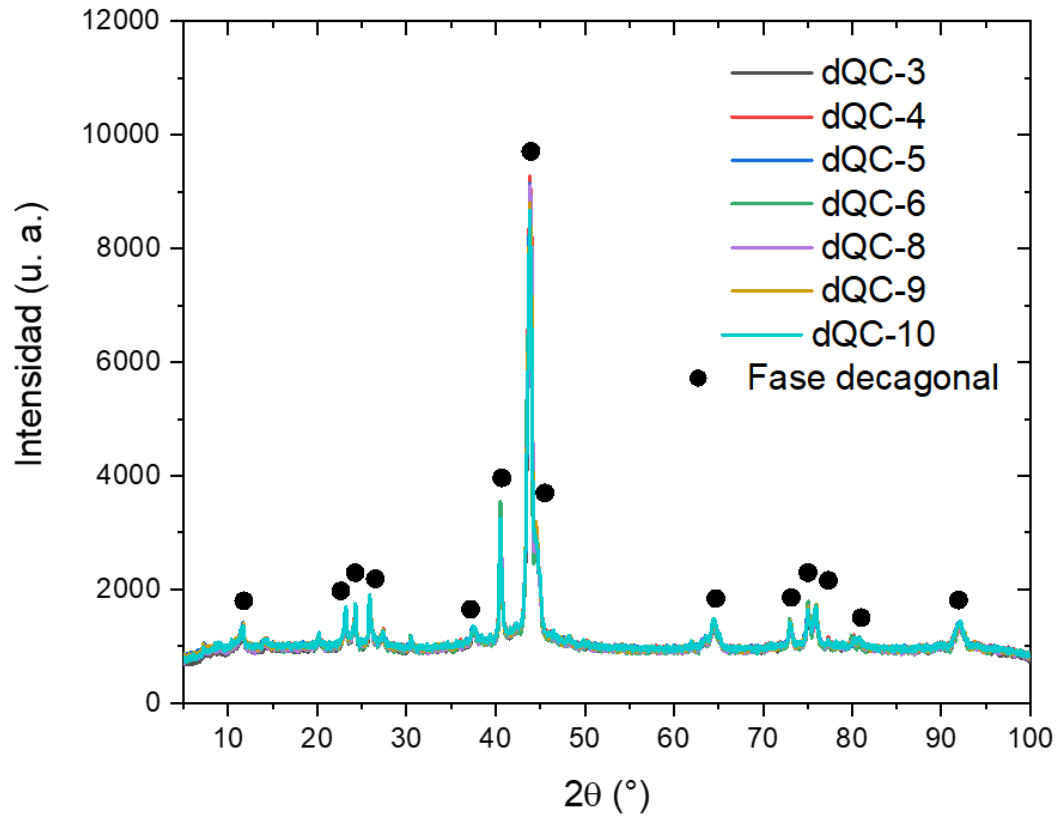


Figura F.1. Difractogramas de las muestras del refuerzo de Al-Cu-Fe-Cr conteniendo únicamente la fase cuasicristalina decagonal.

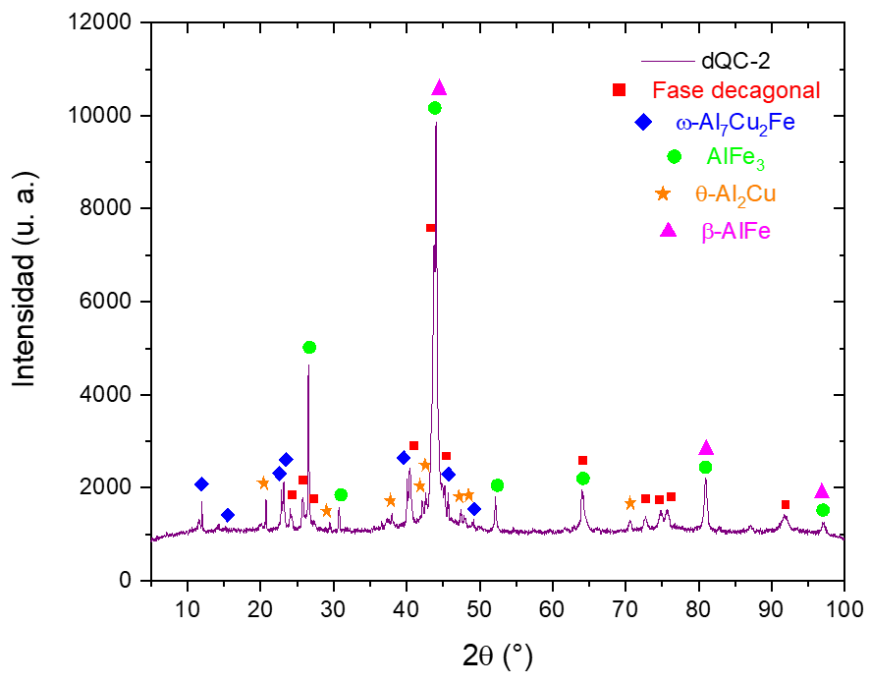


Figura F.2. Difractograma de la muestra d-QC-2 conteniendo la fase cuasicristalina decagonal y otras fases intermetálicas.

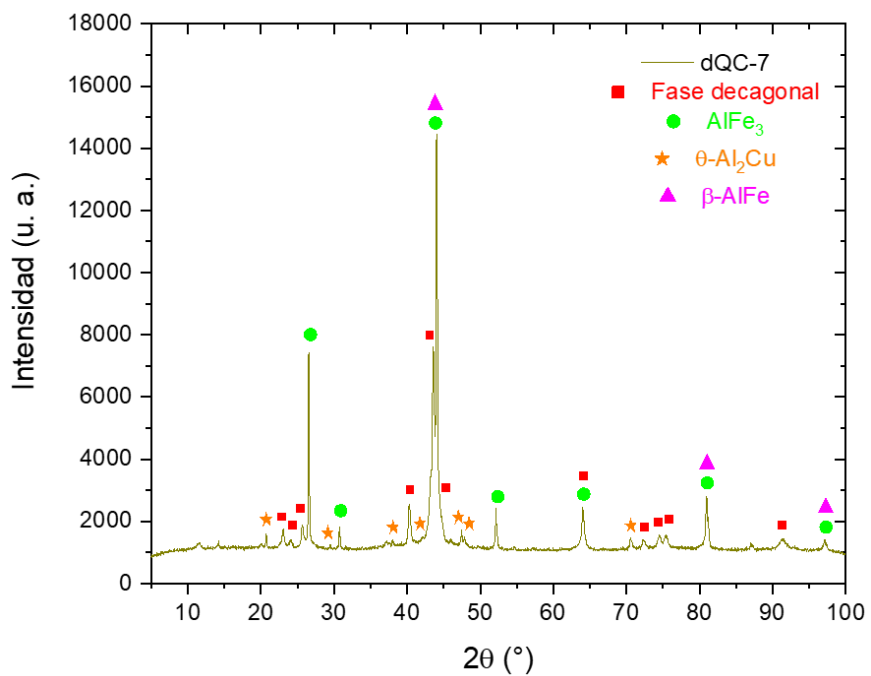


Figura F.3. Difractograma de la muestra d-QC-7 conteniendo la fase cuasicristalina decagonal y otras fases intermetálicas.

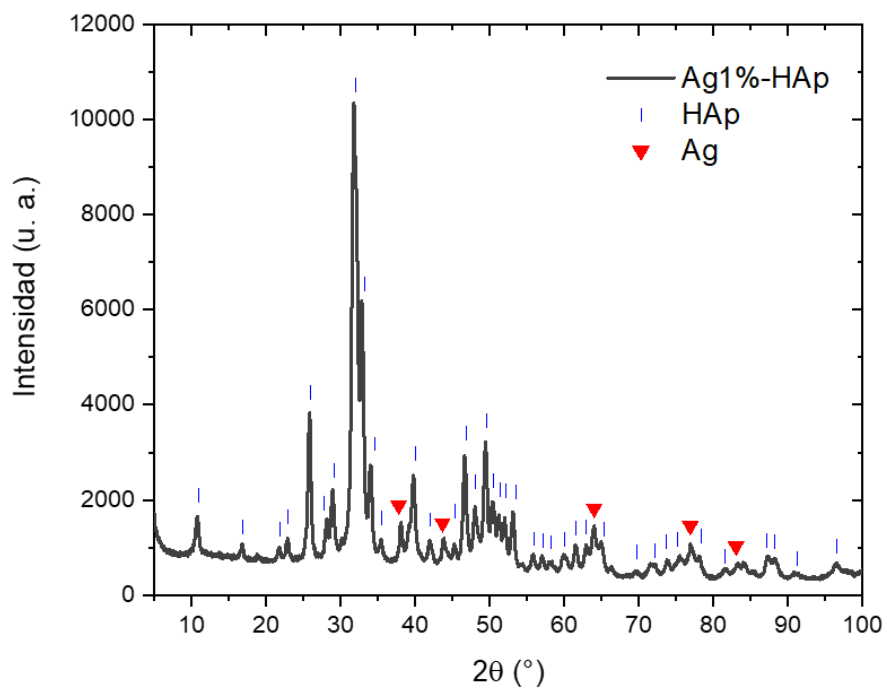


Figura F.4. Difractograma de la muestra Ag1%-HAp.

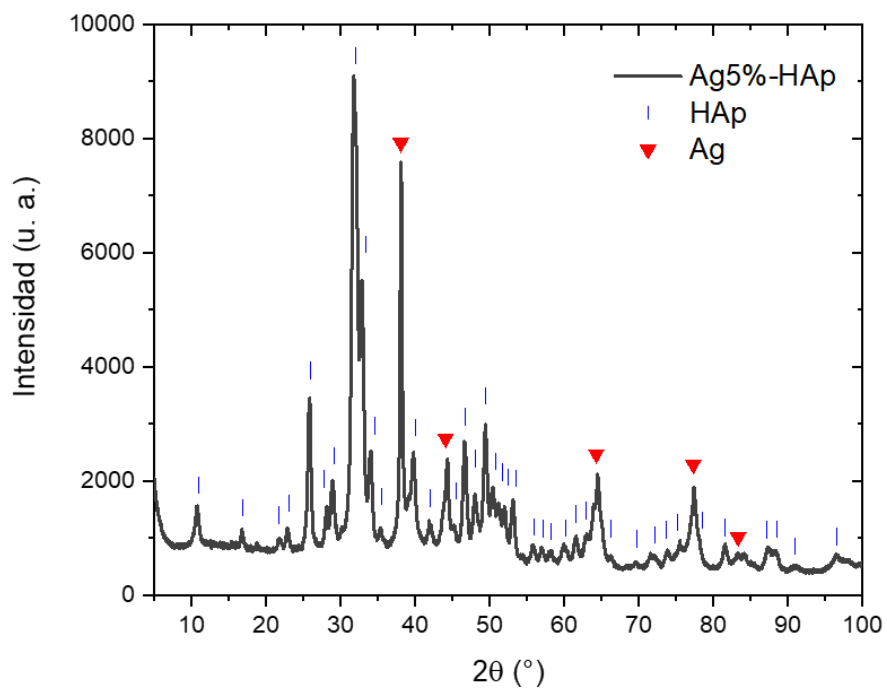


Figura F.5. Difractograma de la muestra Ag5%-HAp.

Por otro lado, se realizaron dos síntesis de nanopartículas de plata en hidroxiapatita en las concentraciones de 1% y 5% para verificar la eficiencia del método de coprecipitación química descrito en la sección III. 2. 2. En la Figura F.3 y Figura F.4 se observan los difractogramas de las muestras sintetizadas, y según el ajuste por refinamiento Rietveld los porcentajes de Ag presentes en dichas muestras fueron de 0.73% y 4.91%, respectivamente.

G. MATRICES DE DATOS DE LA EVALUACIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

En esta sección se presentan los datos de los ensayos de evaluación realizados a las resinas compuestas en estudio.

Tabla G.1. Parámetros de color del sistema CIELab y desviación estándar (SD) de las muestras en estudio.

Parámetros de color L, a^* y b^*			
	L \pm SD	a^* \pm SD	b^* \pm SD
Esmalte	64.50 \pm 1.84 ^a	-0.02 \pm 0.37 ^a	24.60 \pm 0.43 ^a
Dentina	67.35 \pm 1.92 ^b	0.07 \pm 0.31 ^a	23.85 \pm 1.32 ^a
Z350	77.73 \pm 0.71 ^c	0.59 \pm 0.10 ^b	23.71 \pm 0.39 ^a
LX5	73.75 \pm 1.11 ^d	0.20 \pm 0.20 ^a	14.90 \pm 0.40 ^b
HAp40	70.77 \pm 0.74 ^e	2.10 \pm 0.36 ^c	24.87 \pm 1.83 ^a
HAp50	63.18 \pm 1.79 ^a	3.27 \pm 0.47 ^d	26.90 \pm 2.60 ^c
HAp60	55.19 \pm 0.64 ^g	4.93 \pm 0.24 ^e	29.08 \pm 0.46 ^d
HAp70	46.31 \pm 1.21 ^h	6.30 \pm 0.19 ^f	29.16 \pm 0.47 ^d

Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas, mientras que superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas determinado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Tukey, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

Tabla G.2. Rugosidad aritmética media (R_a) y desviación estándar (SD) de las muestras en estudio.

$R_a \pm SD$ (μm)	
Esmalte	0.14 ± 0.01^a
Dentina	0.22 ± 0.01^a
Z350	0.19 ± 0.09^a
LX5	0.29 ± 0.14^b
HAp40	0.22 ± 0.06^a
HAp50	0.18 ± 0.05^a
HAp60	0.16 ± 0.07^a
HAp70	0.21 ± 0.08^a

Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas, mientras que superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas determinado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Tukey, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

Tabla G.3. Grado de conversión (DC) y desviación estándar (SD) de las muestras en estudio.

DC \pm SD (%)	
Z350	65.29 \pm 1.42 ^a
LX5	63.80 \pm 2.73 ^a
HAp40	73.97 \pm 0.73 ^b
HAp50	71.62 \pm 1.02 ^b
HAp60	74.30 \pm 1.69 ^b
HAp70	74.51 \pm 1.99 ^b

Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas, mientras que superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas determinado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Tukey, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

Tabla G.4. Absorción de agua (W_{SP}) y desviación estándar (SD) de las muestras en estudio.

$W_{SP} \pm SD$ ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	
Z350	18.30 ± 1.30^a
LX5	14.13 ± 0.67^a
HAp40	43.81 ± 0.42^b
HAp50	58.44 ± 5.32^c
HAp60	53.03 ± 6.27^c
HAp70	64.70 ± 4.86^c

Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas, mientras que superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas determinado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Tukey, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

Tabla G.5. Solubilidad en agua (W_{SL}) y desviación estándar (SD) de las muestras en estudio.

$W_{SL} \pm SD$ ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	
Z350	-3.18 ± 2.66^a
LX5	4.39 ± 1.21^a
HAp40	27.95 ± 3.34^b
HAp50	43.76 ± 15.29^b
HAp60	37.58 ± 10.82^b
HAp70	39.81 ± 5.58^b

Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas, mientras que superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas determinado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Tukey, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

Tabla G.6. Densidad (ρ) y desviación estándar (SD) de las muestras en estudio.

$\rho \pm SD$ (g/cm ³)	
Z350	1.82 \pm 0.01 ^a
LX5	1.77 \pm 0.05 ^a
HAp40	1.49 \pm 0.05 ^b
HAp50	1.65 \pm 0.02 ^c
HAp60	1.77 \pm 0.07 ^a
HAp70	1.91 \pm 0.04 ^d

Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas, mientras que superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas determinado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Tukey, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

Tabla G.7. Microdureza Vickers (HV) y desviación estándar (SD) de las muestras en estudio.

HV \pm SD (Kg-f/mm²)	
Esmalte	335.20 \pm 15.40 ^a
Dentina	65.83 \pm 3.09 ^b
Z350	64.71 \pm 4.92 ^b
LX5	52.55 \pm 2.95 ^c
HAp40	13.52 \pm 2.35 ^d
HAp50	18.55 \pm 3.18 ^e
HAp60	26.15 \pm 2.84 ^f
HAp70	38.85 \pm 4.75 ^g

Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas, mientras que superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas determinado mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Tukey, con un nivel de significancia de $p=0.05$.

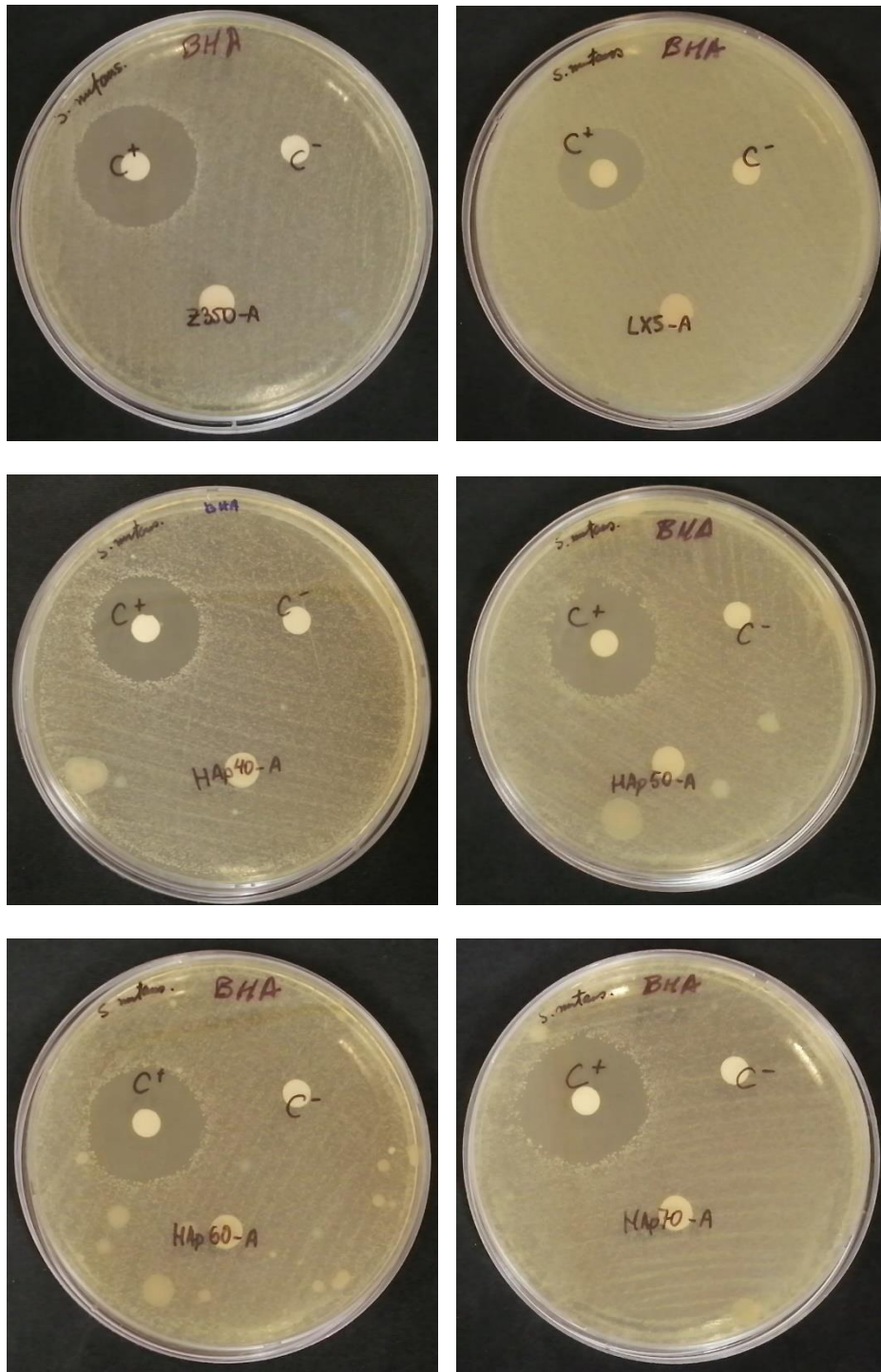


Figura G.1. Fotografías de placas de agar para el ensayo de inhibición antibacteriana.