

**Síntesis y caracterización de fosfato de calcio mediante precipitación controlada para aplicaciones biomédicas**

**Carlos Andrés Valderruten Diaz**

**Director (a)**

**Jimmy Alexander Morales Morales, MSc y DSc**

**Universidad Santiago de Cali  
Facultad de Ciencias Básicas  
Programa de Química Farmacéutica  
Cali, Colombia  
2025**

**Síntesis y caracterización de fosfato de calcio mediante precipitación controlada para aplicaciones biomédicas**

**Carlos Andrés Valderruten Diaz**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:  
Químico Farmacéutico.**

**Director (a)  
Jimmy Alexander Morales Morales, MSc y DSc**

**Línea de Investigación:  
Desarrollos Tecnológicos y Biotecnológicos  
Grupo de Investigación: QUIBIO**

**Universidad Santiago de Cali  
Facultad de Ciencias Básicas  
Programa de Química Farmacéutica  
Ciudad, Colombia  
2025**

## IMPACTOS

Relacione el (los) impacto(s) que presentó el Trabajo de Grado

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Económico	Desarrollo de materiales biocerámicos de importancia biomédica	Universidad Santiago de Cali -Sociedad general
Responsabilidad social	Obtención de materiales biocerámicos a base de fosfatos de calcio con potencial aplicación biomédica	Universidad Santiago de Cali -Sociedad general
Científico	Propuesta de artículo de investigación. Trabajo de grado	Comunidad científica Contribución al reconocimiento al grupo de investigación QUIBIO
Tecnológico	Material nanotecnológico con potencial aplicación en biomedicina	Comunidad científica Contribución al reconocimiento al grupo de investigación QUIBIO
Técnico	Metodología de preparación de nanomateriales mediante precipitación controlada	Comunidad científica Contribución al reconocimiento al grupo de investigación QUIBIO
Ambiental	Contribuye como nutrientes en suelos	Universidad Santiago de Cali -Sociedad general

# SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE FOSFATO DE CALCIO MEDIANTE PRECIPITACIÓN CONTROLADA PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS

Carlos Andrés Valderruten Díaz <sup>1</sup>, Jimmy Alexander Morales Morales <sup>1\*</sup>  
carlos.valderruten00@usc.edu.co, jimmy.morals00@usc.edu.co

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Química y Biotecnología (QUIBIO), Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Santiago de Cali, Campus Pampalinda.

## RESUMEN

Los biomateriales son de crucial importancia para la supervivencia de los seres humanos. Gente que sufren accidentes, artritis y la longevidad humana requieren de biomateriales para mejorar la calidad de vida. Debido a esto, se han estudiado alternativas para solucionar dichos problemas, una de estas es el uso de cerámica de fosfato de calcio un biomaterial usado en regeneración ósea, ampliamente utilizado en el campo de la odontología y la cirugía ortopédica debido a su similitud con el componente mineral del hueso. Para la síntesis de fosfatos de calcio se utilizó un método económico llamado precipitación por vía húmeda asistida con ultrasonido. En este estudio, las soluciones acuosas de nitrato de calcio tetrahidrato ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y fosfato de amonio ( $\text{H}_2(\text{PO}_4)\text{NH}_4$ ) sirvieron como punto de partida para el método de precipitación utilizado para producir fosfatos de calcio sintético. Los factores físicos y químicos como el tiempo de agitación, la temperatura, se evaluaron. La composición depende de la relación molar de Ca/P, el pH y la temperatura de calcinación. Un pH igual a 11 y una relación molar de Ca/P cercana a 1,7 tienden a producir HA puro, mientras que un pH inferior combinado con una relación molar de Ca/P cercana a 1,5 da lugar a HA/CaO.

**Palabras clave:** hidroxiapatita, parámetros de síntesis, difracción de rayos-X, bioceramica

## SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CALCIUM PHOSPHATE BY CONTROLLED PRECIPITATION FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

### ABSTRACT

Biomaterials are of crucial importance for human survival. People who suffer from accidents, arthritis, and human longevity require biomaterials to improve their quality of life. Because of this, alternatives have been studied to solve these problems. One of these is the use of calcium phosphate ceramic, a biomaterial used in bone regeneration and widely used in dentistry and orthopedic surgery due to its similarity to the mineral component of bone. For the synthesis of calcium phosphates, an inexpensive method called ultrasound-assisted wet precipitation was used. In this study, aqueous solutions of calcium nitrate tetrahydrate ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) and ammonium phosphate ( $\text{H}_2(\text{PO}_4)\text{NH}_4$ ) served as the starting point for the precipitation method used to produce synthetic calcium phosphates. Physical and chemical factors such as stirring time and temperature were evaluated. The composition depends on the Ca/P molar ratio, pH, and calcination temperature. A pH equal to 11 and a Ca/P molar ratio close to 1.7 tend to produce pure HA, while a lower pH combined with a Ca/P molar ratio close to 1.5 results in HA/CaO.

**Keywords:** hydroxyapatite, synthesis parameters, X-ray diffraction, bioceramic.

## 1. INTRODUCCIÓN

La producción de huesos y dientes artificiales que no dañen el tejido sano y que se puedan proporcionar en cualquier momento y en cualquier cantidad ha sido objeto de una amplia investigación [1,2]. Los materiales cerámicos sintéticos basados en fosfato de calcio (CaP), específicamente los compuestos de fosfato tricálcico [ $\text{TCP}-\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ] e hidroxiapatita [ $\text{HACa}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ], han sido objeto de mucha investigación y aplicación clínica.

Durante treinta años, el campo de la investigación de biomateriales se ha concentrado en la síntesis de estas cerámicas para su uso en odontología y ortopedia [1],[3],[8]. Debido a su afinidad biológica y actividad en los tejidos circundantes del huésped tras la implantación, se sugiere su uso [6]. También, debido a la estructura similar a la apatita del esmalte, la dentina y los huesos (generalmente denominados "tejidos duros"), los fosfatos de calcio se utilizan ampliamente en la biología y la medicina oral, según la literatura [4]. Si bien existen varias técnicas de caracterización avanzadas disponibles para estudiar los tejidos dentales y óseos, aún se desconoce su composición precisa, distribución de fases y estructura [4]. Debido a su relativa semejanza, las preparaciones sintéticas de Ca-P buscan comprender las características y el comportamiento fisicoquímico de las fases minerales biológicas presentes en los tejidos duros humanos [5]. Además, debido a que estos minerales son componentes clave y predecesores de los huesos y los dientes, son especialmente relevantes en la investigación de la biomineralización [9]. Sería necesario abordar adecuadamente la composición, cristalinidad y nanoestructura del Ca-P sintético para obtener una comprensión clara de la intrincada estructura presente en las fases minerales biológicas. Estas características tienen un impacto significativo en la bioactividad de los materiales basados en fosfato de calcio en términos de degradación [6] y aumento de las áreas de contacto. Según una caracterización exhaustiva, a menudo se forma una capa de apatita en la superficie cerámica durante el proceso de implantación. La apatita "similar al hueso", que contiene iones de carbonato, establece una conexión con el hueso humano [1] en este estrato. Para aumentar la biocompatibilidad, estos materiales cerámicos también se pueden aplicar como revestimiento sobre implantes [2], [9] e inyectar en el hueso mediante métodos quirúrgicos no invasivos [10]. A lo largo del proceso de síntesis, una serie de variables afectan la bioactividad de los materiales de CaP, incluidos el pH, la temperatura, el tamaño y la forma de los cristales, las concentraciones de impurezas, la concentración de reactivos precursores y el orden de mezcla, y el tamaño y la forma de los cristales. Además, los perfiles de tratamiento térmico de secado y sinterización afectarán la respuesta de bioactividad de los materiales de Ca-P. Los parámetros de preparación de la síntesis determinan estas condiciones y, como resultado, se elige una ruta particular para cada aplicación [7], [11].

En vista de estos factores, el objetivo del presente trabajo fue la síntesis y caracterización de fosfato de calcio mediante un método de precipitación simple para aplicaciones biomédicas. Para la síntesis de fosfato de calcio se utilizó un método desarrollado por Realpe-Jaramillo y sus colaboradores en el 2017 [12]. Utilizando soluciones acuosas de nitrato de calcio y fosfato de amonio y el orden de adición de los reactivos, la temperatura de la mezcla, la duración del envejecimiento y el efecto del ultrasonido, en el presente trabajo se produjo hidroxiapatita mediante un método de síntesis química. Se realizaron varias síntesis, alterando una variable en cada prueba, para evaluar el impacto de estos parámetros. Se utilizaron difracción de rayos X (DRX) y espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) para evaluar los resultados intermedios y finales.

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1. Preparación de muestras

Inicialmente se optimizaron las condiciones de reacción para la preparación de fosfato de calcio utilizando un método de química húmeda modificado, Figura 1.



Figura 1. Síntesis de fosfato de calcio

**Procedimiento 1:** Se disolvieron individualmente 0.1 M nitrato de calcio de grado analítico tetrahidratado [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich 99,2 %] e 0.06 M hidrogenofosfato diamónico [ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , Sigma-Aldrich 99,2%] en agua destilada precalentando a 37°C. Se añadió la solución 0.1 M de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  gota a gota ( $2.4 \text{ ml min}^{-1}$ ), en una solución de 0.06 M  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  con agitación constante en baño ultrasónico para alcanzar la relación molar Ca/P de 1,50. la temperatura de la solución se mantuvo a 37°C. Se ajustó el pH inmediatamente mediante la adición gota a gota ( $2.0 \text{ ml min}^{-1}$ ), de hidróxido de amonio concentrado ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) solución a alrededor de pH = 8.0. La solución lechosa se agitó por ultrasonido durante 2h a 37°C. Luego, los precipitados formados se filtraron del licor madre, lavando repetidamente con agua destilada para eliminar iones nitrato y amonio  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  respectivamente, seguido de secado en atmósfera de aire a 60°C durante 24h. La torta obtenida después del secado fue pulverizada con mortero de ágata, y luego se calcinó en crisol a 950°C seguido de enfriamiento a temperatura ambiente (RT). La calcinación se realizó de la siguiente manera: Los polvos de fosfato de calcio se calentaron desde temperatura ambiente a 950°C en 4 horas, seguido de enfriamiento, en el horno, de 950°C a TA en 4 horas [13].

**Procedimiento 2:** Se añadió la solución 0.06 M  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  gota a gota ( $2.4 \text{ ml min}^{-1}$ ), en una solución de 0.1 M de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  con agitación constante en baño ultrasónico. Se ajustó el pH inmediatamente mediante la adición gota a gota ( $9.6 \text{ ml min}^{-1}$ ), de hidróxido de amonio concentrado ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) solución a alrededor de pH = 9.5. Se calculó la cantidad de reactivos para preparar 5.0 g de fosfato de calcio y cada síntesis se repitió tres veces

**Procedimiento 3:** Se añadió la solución 0.1 M de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  gota a gota ( $9.6 \text{ ml min}^{-1}$ ), en una solución de 0.06 M  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  con agitación mecánica constante. la temperatura de la solución se mantuvo a 37°C. Se ajustó el pH inmediatamente mediante la adición gota a gota ( $9.6 \text{ ml min}^{-1}$ ), de hidróxido de amonio concentrado ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) solución a alrededor de pH = 11.0. Se calculó la cantidad de reactivos para preparar 5.0 g de fosfato de calcio y cada síntesis se repitió tres veces, Tabla 1.

**Tabla 1.** Muestras de fosfatos de calcio y condiciones experimentales.

Muestra HA	Procedimiento	Velocidad de adición ( $\text{ml min}^{-1}$ )	agitación		pH de disolución	Calcinación (°C)
			mecánica	ultrasonido		
A1	1	2.4		si	7.5	-----
A2	1	2.4		si	11.0	950
A3	1	2.4		si	7.5	<sup>a</sup> 950
A4	1	2.4		si	7.5	950
A5	1	2.4		si	9.0	950
A6	1	2.4		si	9.0	1100
A7	1	2.4		si	9.5	-----
A8	2	2.4		si	9.5	950
A9	2	2.4		si	9.5	<sup>a</sup> 950
A10	3	9.6	si		11.0	-----
A11	3	9.6		si	11.0	950
A12	3	9.6	si		11.0	950

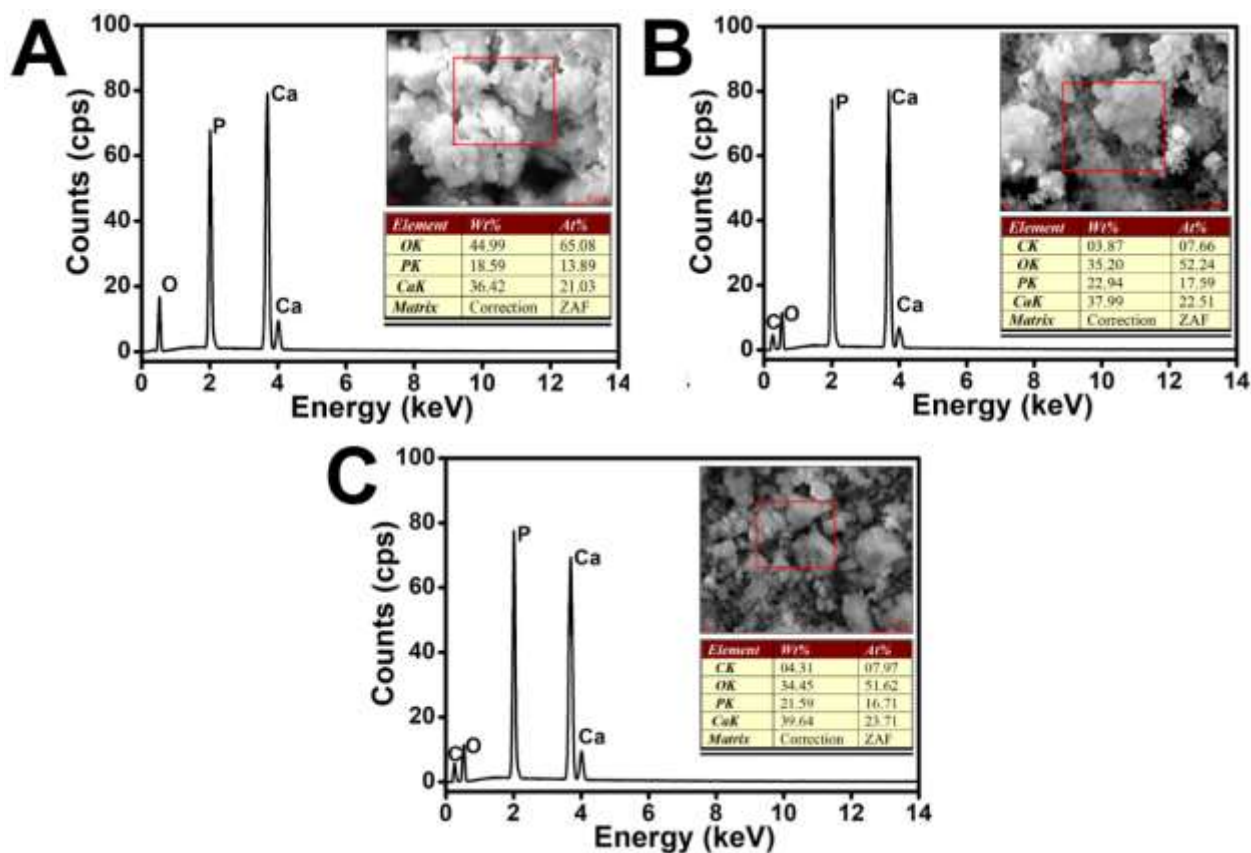
<sup>a</sup> Tratamiento térmico con enfriamiento rápido.

## 2.2. Caracterización

Una vez preparados las partículas de fosfato de calcio, se procedió con la caracterización mediante diferentes de análisis instrumental. Los espectros FTIR-ATR fueron medidos en un dispositivo JASCO FT/IR-4100 con Transformada de Fourier, con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$  y fuente ATR (PRO450-S), un escaneo de  $650 - 4100 \text{ cm}^{-1}$  con 512 escaneos. La difracción de rayos X se realizó en un difractómetro D8 ADVANCE (Bruker) con diseño DAVINCI, geometría theta - theta utilizando radiación monocromática de tubo de Cu y un detector de silicio LINXEYE. Se realizaron pruebas preliminares para definir el registro difraccional y las condiciones de campo apropiadas. Las condiciones de análisis fueron usar un monocromador de 0,02 NiO, colimador de 0,2 mm, tiempo de paso de 0,4 s, aumento de 02 y campo difraccional de 15 a 90°. La identificación de los difractogramas se realizó utilizando el software DIFFRAC. EVA versión 3. Las morfologías de las muestras se obtuvieron utilizando un microscopio de emisión de campo de barrido electrónico (FESEM) marca FEI QUANTA FEG modelo 650, con un voltaje de aceleración de 10kV. Para mejorar la visualización de las muestras del recubrimiento de carbono se realizó en una computadora modelo QUORUM QR 15R. Para realizar el análisis químico elemental se utilizó un detector para análisis EDS puntual. El análisis mediante espectroscopía micro-RAMAN se realizó con un equipo HORIBA Scientific LabRAM HR Evolution.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las mezclas de HA se prepararon utilizando el método de precipitación controlada en disolución acuosa ya que, a diferencia de la preparación térmica, se pueden producir volúmenes comparativamente grandes de HA a un costo razonable [14]. Además, la reacción no incluye ninguna sustancia extraña y el único subproducto es agua [15]. La temperatura de síntesis de HA se mantuvo a 37 °C en P1 y P3, y a temperatura ambiente en P2. Aunque la precipitación de HA también ocurrió a temperatura ambiente, se empleó una temperatura más alta para mejorar la disolución de nitrato de calcio tetrahidratado  $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  y la cinética de reacción de la producción de HA. Cualquier laboratorio de química normalmente tendría los mismos equipos utilizados en la síntesis de HA. Las micrografías, obtenidas por SEM (Figura 2A-C), muestran que el fosfato de calcio sintético sintetizado en este trabajo está compuesto por una geometría irregular no uniforme. La Figura 2A-C también muestra el análisis EDS del material sintetizado, que solo muestra la presencia de oxígeno, fósforo y calcio en el material A4, mientras en las muestras A1 y A9, se evidenció carbono dentro la composición elemental de la HA. Los resultados cualitativos de EDS sobre la composición química de las muestras de los tres procedimientos utilizados se pueden observar en la Figura 2. Se utilizaron reactivos puros para obtener polvos de HA. Como se esperaba, los componentes principales fueron fósforo (P) y calcio (Ca) que formaron el HA sintetizado y otros oligoelementos. Estos oligoelementos no han interferido en la reacción de síntesis de HA y es muy probable que no reaccionen durante la síntesis, permaneciendo en la fase amorfa. Como están en el rango de partes por millón, no alterarán la respuesta de biocompatibilidad general del material.



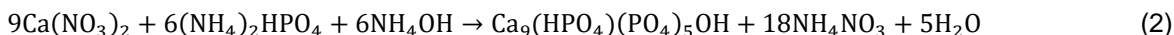
**Figura 2.** Análisis EDS; (Inserto: Imagen SEM y tabla EDS) de **A.** muestra A4 de polvo de HA sintetizado después del tratamiento térmico, **B.** muestra A1 de polvo de HA sintetizado antes del tratamiento térmico y **C.** muestra A9 de polvo de HA precipitado en una mezcla P2.

La tabla en Figura 2A-C, muestra el análisis EDS del porcentaje atómico de Ca, P y O presentes en los polvos ( $\text{Ca}/\text{P} = 1.52$ ), que de acuerdo al Centro Internacional de Datos de Difracción son correspondientes a muestra de hidroxiapatita deficiente en calcio CDHA, de fórmula  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$  [16-18]. La relación experimental  $\text{Ca}/\text{P}$  (1.52, 1.28 y 1.42 en Figuras 2A-C respectivamente) concuerda con el valor estequiométrico. Desde un punto de

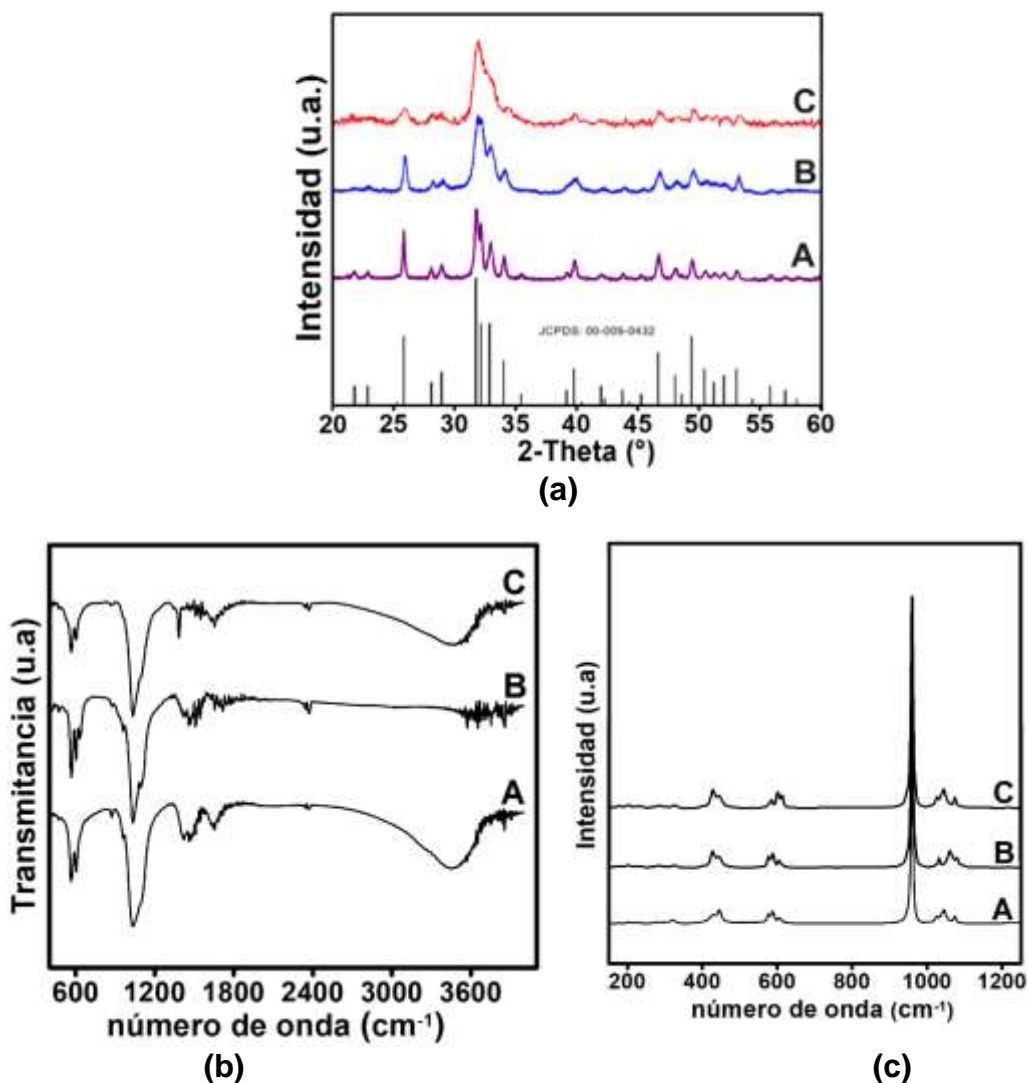
vista macroscópico, el proceso de precipitación húmeda y controlada produce polvos blancos. Cuando se utiliza una relación molar de Ca/P estequiométrica, el HA precipita de la solución sobresaturada que contiene iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  (véase la ecuación (1)).



Cuando se utiliza una relación de mezcla molar Ca/P menor (es decir, entre 1,5 y 1,67), la hidroxiapatita deficiente en calcio precipita según la reacción presentada en la ecuación (2).



Se considera el  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  en las reacciones porque  $\text{HPO}_4$  es la especie principal presente a pH 9 y pH 11. Se eligieron  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  y  $\text{H}_3\text{PO}_4$  como reactivos porque el subproducto resultante (es decir,  $\text{NH}_3\text{NO}_3$ ) se elimina o descompone fácilmente. Además, se ha demostrado que los iones  $\text{NH}_3$  y  $\text{NO}_3$  no se incorporan a la red del HA. En la Figura 3, se muestra resultados de difracción de rayos X DRX, del fosfato de calcio sintetizado mediante precipitación controlada, sin tratamiento térmico. Las muestras con tratamiento térmico se muestran en las figuras 4 y 5, siguiendo las tres rutas diferentes.



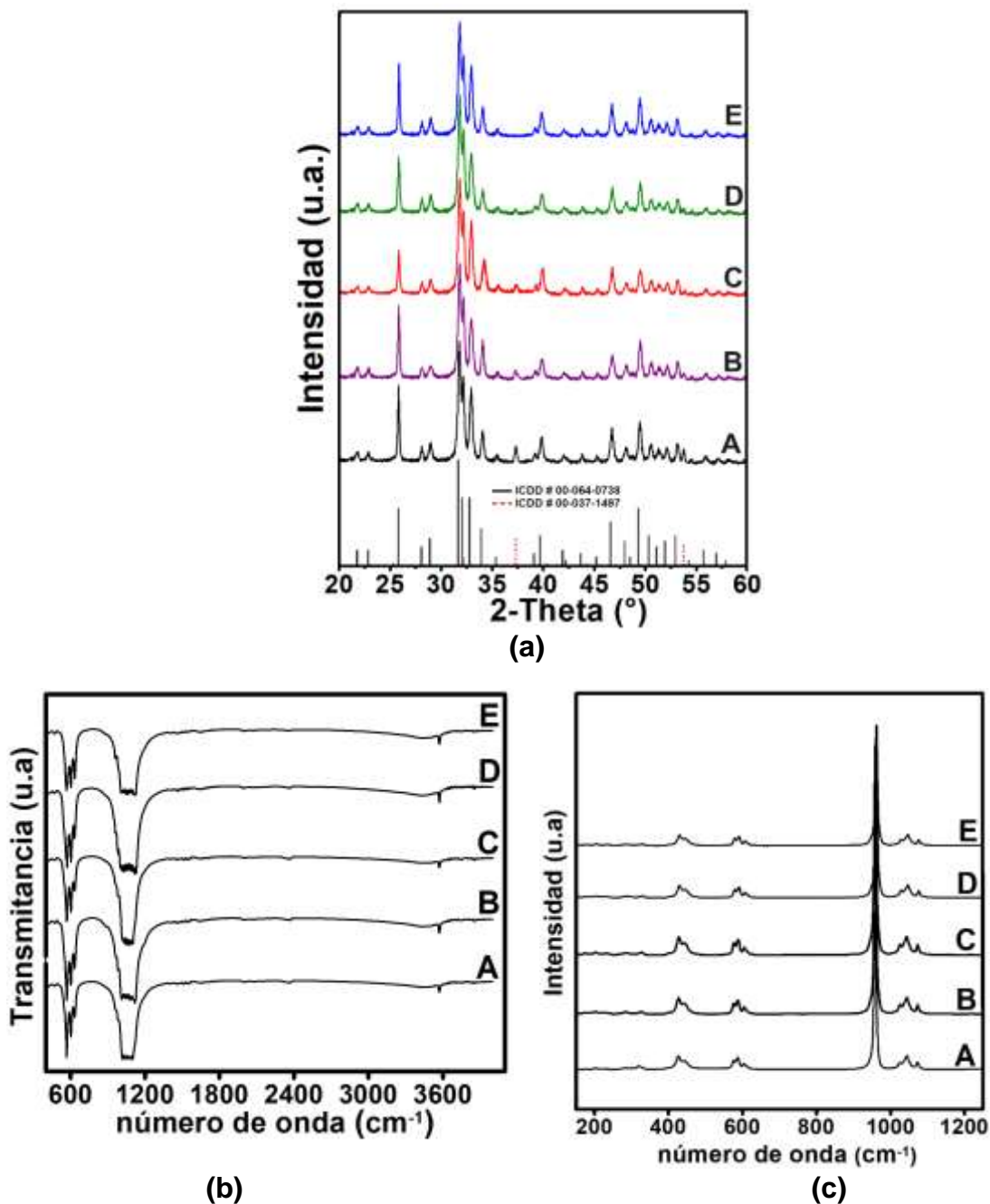
**Figura 3.** (a) Patrones DRX (b) Espectros Infrarrojo y (c) Espectros Raman de los polvos precipitados antes de la calcinación. A. P1 (muestra A10), B. P2 (muestra A7) y C. P3 (muestra A1).

Los patrones de difracción de rayos X de los polvos sintetizados fueron típicamente HA, de acuerdo con lo publicado en la literatura [19-29]. En la Figura 3a, se muestran los patrones DRX de los polvos sintéticos precipitados antes de tratamiento térmico en P1 (muestra A1), P2 (muestra A7) y P3 (Muestra A10). Los resultados de la Figura 3a-(A-C) muestran la presencia de la fase HA poco cristalina y fase amorfa, en las muestras A1, A7 y A10, que fueron secadas a 60 °C. Según algunos autores [30-32], este resultado es positivo, ya que los componentes amorfos presentarían un mejor comportamiento de biodegradación. La baja cristalinidad se puede reducir mediante tratamiento térmico para formar una entidad sólida [33]. Esto se puede confirmar mediante la comparación de los espectros de XRD de las muestras A1 y A2 (Figuras 3 y 4), A7 y A8 (Figs. 3 y 5), A10 y A12 (Figs. 3 y 5). Se observaron diferencias en la anchura de los picos en estos espectros, donde los picos más estrechos indicaban muestras más cristalinas [34-35].

En los difractogramas Figuras 3a(A-C), para las muestras A10, A7 y A1 respectivamente, se observaron posiciones de pico típicas correspondientes a las reflexiones de fosfato de calcio, incluidas aquellas con mayor intensidad, en valores  $2\theta$  de 25.80, 28.90, 31.80, 32.20, 32.90, 34.1, 39.80, 46.70, 49.50 y 53.20 que corresponden a los planos cristalinos (002), (210), (211), (112), (300), (202), (310), (222), (213) y (004) del fosfato de calcio, respectivamente [36-37]. Estos picos de difracción se pueden asignar a estructuras cristalinas hexagonales con grupo espacial P6<sub>3</sub>/m de acuerdo con la tarjeta estándar JCPDS 00-009-0432 [38-39]. Las reflexiones de difracción de rayos X se asignaron a la estructura hexagonal de fosfato de calcio y los parámetros de red promedio calculados fueron  $a = 9.5842 \text{ \AA}$  y  $c = 6.7739 \text{ \AA}$ . En los difractogramas de la Figura 3, el pico con la mayor intensidad se observa en  $2\theta$  de 31.80, que corresponde al pico principal de la estructura hexagonal de fosfato de calcio. Se observaron anchos en estos espectros donde los picos más estrechos indicó una muestra más cristalina [40-41]. Se realizaron análisis con la técnica de espectroscopía infrarroja con reflexión total atenuada (IR-ATR) puesto que permite la identificación de grupos químicos funcionales. La figura 3b-(A-C) mostró un espectro infrarrojo para las muestras A10, A7 y A1 respectivamente. Los espectros obtenidos mostraron señales típicas de fosfatos de calcio como la HA. La banda de adsorción del grupo hidroxilo a  $3571 \text{ cm}^{-1}$  casi desapareció en Figura 3b-B, y las vibraciones de flexión del fosfato a  $500\text{--}600 \text{ cm}^{-1}$  se fusionaron en un pico único ancho para la muestra seca, lo que sugiere su estructura poco cristalina. La adsorción amplia a  $3441 \text{ cm}^{-1}$  y la banda a  $1636 \text{ cm}^{-1}$  (ausente), de las muestras, son una indicación de agua adsorbida [42-46]. Sin embargo, para el fosfato de calcio, las bandas de estiramiento de fosfato obvias a  $1089$ ,  $1047$  y  $962 \text{ cm}^{-1}$  y las bandas de flexión a  $602$ ,  $569 \text{ cm}^{-1}$  demostraron el entorno estructuralmente poco ordenado (cristalino) de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ , que concuerdan con los resultados de DRX. La banda a  $3571 \text{ cm}^{-1}$  en la muestra seca se asoció con el modo de estiramiento O-H del grupo hidroxilo en fosfatos de calcio. Las intensidades de las bandas de hidroxilo y la banda a  $962 \text{ cm}^{-1}$  para fosfato se pueden usar como indicación de las bandas de absorción observadas del polvo después de secado. Los resultados de FTIR indicaron que el producto seco es una muestra de hidroxiapatita carbonatada. Después de la sinterización, las bandas de HA se vuelven cada vez más evidentes, lo que indica la mejora de la cristalinidad y el aumento del tamaño de las partículas y la disminución de la cantidad de carbonatos, lo que refleja el efecto de la calcinación [47-49]. La figura 3c-(A-C) mostró un espectro Raman para las muestras A10, A7 y A1 respectivamente, típico de un fosfato de calcio [50]. El espectro muestra cuatro grupos distinguibles de bandas espectrales; el primer grupo consta de dos bandas a  $432$  y  $442 \text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas corresponden a la división del grupo de factores de las vibraciones de flexión  $\nu_2$  del ion  $\text{PO}_4^{3-}$ . Las bandas presentes a  $579$ ,  $592$  y  $608 \text{ cm}^{-1}$  pertenecen al modo vibracional fundamental  $\nu_4$  y surgen de las vibraciones de flexión triplemente degeneradas. La señal de estiramiento simétrico del fosfato se observó en el rango de  $962 \text{ cm}^{-1}$ , que es característico de fosfato de calcio. Un número de onda creciente para este pico indica una estequiometría más cristalina de las partículas de hidroxiapatita. La banda muy intensa a  $962 \text{ cm}^{-1}$  surge de los modos de estiramiento simétrico y se designa como modo vibracional fundamental  $\nu_1$ . Las bandas que componen el cuarto grupo surgen de los modos vibracionales fundamentales  $\nu_3$  y se deben a las vibraciones de estiramiento asimétrico de los enlaces P-O; estas bandas se observan en  $1025$ ,  $1047$  y  $1087 \text{ cm}^{-1}$  [50-54].

En la Figura 4. (a) Patrones DRX (b) Espectros Infrarrojo y (c) Espectros Raman, de los polvos precipitados después de la calcinación en P1. A. (muestra A2), B. (muestra A6), C. (muestra A5), D. (muestras A4) y E. (muestra A3). En seguida la Figura 4a-(A-E), mostró patrones de DRX típicos de fosfatos de calcio tipo HA, ICDD # 00-064-0738. También se mostró la presencia de una nueva fase óxido de calcio (CaO) ICDD # 00-037-1497. En la muestra A2 se mantuvo el pH mínimo a las 11,5, aumentando la fase CaO en comparación con un pH mínimo más bajo (7,5) en la muestra A4 a la misma condición. En la muestra A6 se aplicó un tratamiento térmico a  $1100 \text{ }^\circ\text{C}$ . Estos procedimientos no mostraron cambios considerables en la presencia de la fase CaO. Posteriormente,

se asoció el pH 7,5 con un enfriamiento rápido tras el tratamiento térmico en la muestra A3 y la fase CaO no se evidenció. Es probable que el enfriamiento rápido haya impedido la formación de nuevas fases.

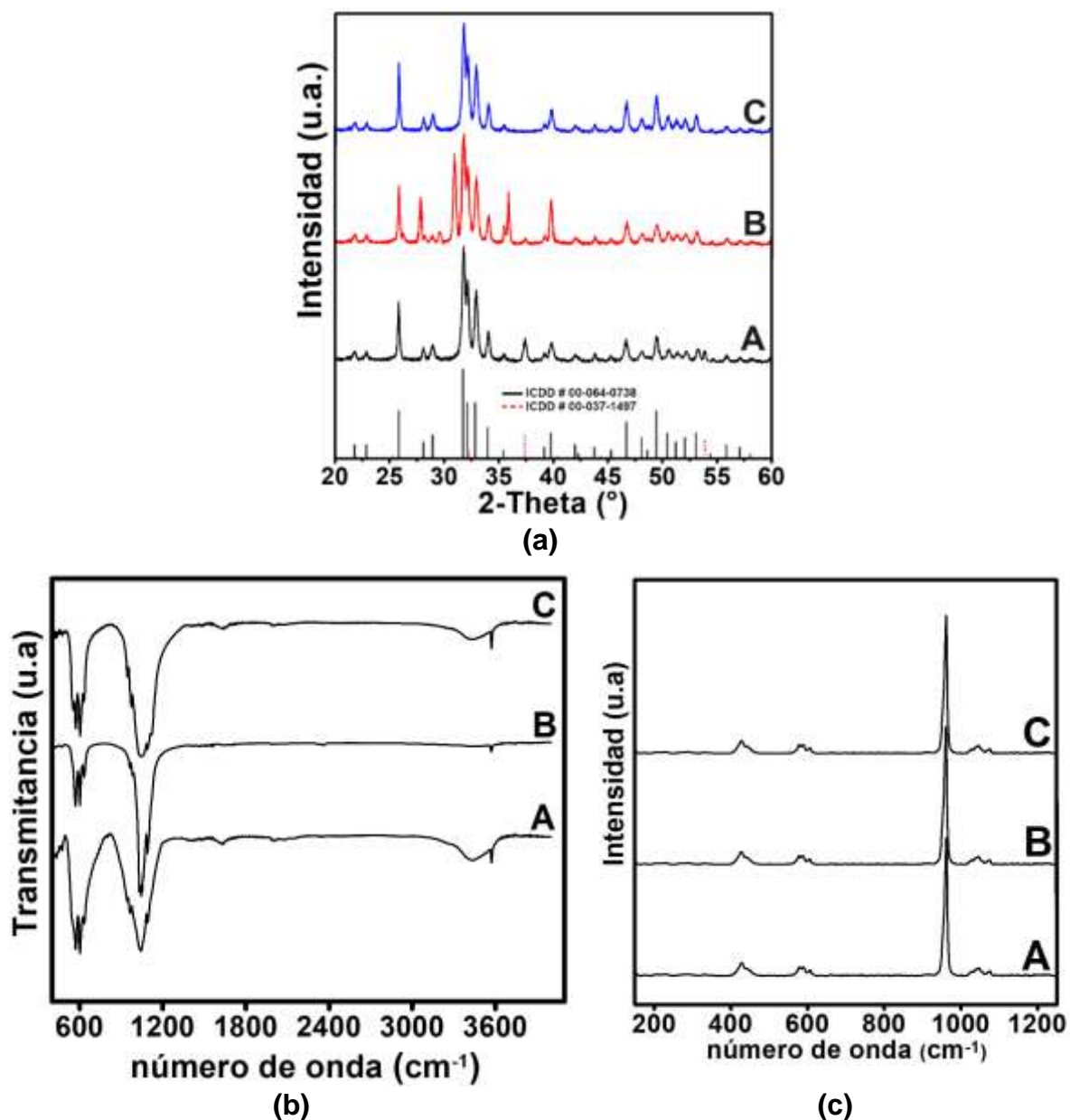


**Figura 4.** (a) Patrones DRX (b) Espectros Infrarrojo y (c) Espectros Raman de los polvos precipitados después de la calcinación en P1. **A.** (muestra A2), **B.** (muestra A6), **C.** (muestra A5), **D.** (muestras A4) y **E.** (muestra A3)

La figura 4b-(A-E) mostró un espectro infrarrojo para las muestras A2, A6; A5, A4 y A3 respectivamente. Los espectros obtenidos mostraron señales típicas de fosfatos de calcio como la HA. La banda de adsorción del grupo hidroxilo a  $3571\text{ cm}^{-1}$ , las vibraciones de flexión de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  a  $600\text{ cm}^{-1}$ , la banda a  $3571\text{ cm}^{-1}$ . del modo de estiramiento O-H del grupo hidroxilo. Sin embargo, para el fosfato de calcio tratado a  $950\text{ }^\circ\text{C}$ , las bandas de estiramiento de fosfato obvias a  $1089$ ,  $1047$  y  $962\text{ cm}^{-1}$  y las bandas de flexión a  $602$ ,  $569\text{ cm}^{-1}$  se fusionaron, siendo relacionado con la pérdida de cristalinidad de las muestras. Los resultados de FTIR indicaron que después de la sinterización, las bandas de HA se vuelven cada vez más evidentes, lo que refleja el efecto de la calcinación.

La figura 4c-(A-E) mostró un espectro Raman para las muestras A2, A6; A5, A4 y A3 respectivamente, típico de un fosfato de calcio. El espectro muestra cuatro grupos distinguibles de bandas espectrales; el primer grupo consta de dos bandas a 432 y 442  $\text{cm}^{-1}$  del ion  $\text{PO}_4^{3-}$ , las bandas a 579, 592 y 608  $\text{cm}^{-1}$ , la señal intensa de 962  $\text{cm}^{-1}$ , las bandas en 1025, 1047 y 1087  $\text{cm}^{-1}$  y se deben a estiramiento asimétrico de los enlaces P-O; que es característico de fosfato de calcio.

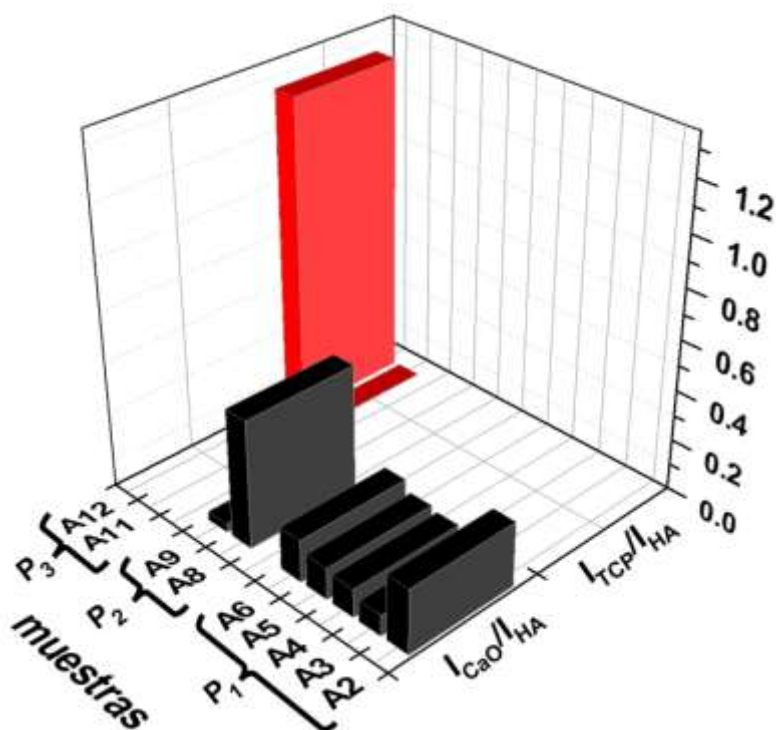
En la Figura 5. (a) Patrones DRX (b) Espectros Infrarrojo y (c) Espectros Raman de los polvos precipitados después de la calcinación en P2, (A. muestra A8) y P3, (B. muestra A12 y C. muestra A11). El P2 siguió las mismas condiciones que el P1. El pH mínimo de 9,5 se controló sin necesidad de añadir una solución alcalina, probablemente debido a la presencia de hidróxido. Se observó una gran cantidad de CaO en la muestra A8, que se redujo claramente con el enfriamiento rápido tras el tratamiento térmico, como muestran los espectros de la muestra A9.



**Figura 5.** (a) Patrones DRX (b) Espectros Infrarrojo y (c) Espectros Raman de los polvos precipitados después de la calcinación en P2, (A. muestra A8) y P3, (B. muestra A12 y C. muestra A11).

En el P3, se controló el pH mínimo de 11,0. La agitación asistida con radiación ultrasónica, es el método de manipulación elegido para lograr una mezcla perfecta de los reactivos y obtener HA. Este efecto se confirmó comparando los espectros de las muestras A11 y A12, ver Figura 5. Con agitación ultrasónica, se observaron picos de HA puro y, con agitación mecánica, se observó claramente la presencia de material bifásico (HA/TCP).

La intensidad del plano reticular (200) de CaO y del plano reticular (221) de TCP en los patrones de DRX del material precipitado se utilizó como indicador directo de su pureza. Se calcularon las razones de las intensidades de los picos en los patrones de DRX de CaO/HA ( $I_{(200)CaO}/I_{(002)HA}$ ) y TCP/HA ( $I_{(221)TCP}/I_{(002)HA}$ ), tras el tratamiento térmico. Las cantidades de ( $I_{(200)CaO}/I_{(002)HA}$ ) en las muestras A2, A6, A5, A4 y A3 (Figura 4a) fueron de 0,258, 0,167, 0,125, 0,112 y 0,083; en las muestras A8 y A9 (Figura 5a) fueron de 0,508 y 0,033, respectivamente. Las cantidades de ( $I_{(221)TCP}/I_{(002)HA}$ ) en las muestras A11 y A12 (Figura 5a) fueron de 0,003 y 1,262, respectivamente. Este cálculo se puede visualizar en el gráfico de la Figura 6.



**Figura 6.** Representación gráfica del contenido de fase medido por las intensidades relativas de los planos reticulares de HA (002) y CaO (200) en patrones de difracción de rayos X (DRX) de la hidroxiapatita sintetizada tras el tratamiento térmico en las muestras P1 (A2, A3, A4, A5 y A6) y P2 (A8 y A9); y los planos reticulares de HA (002) y TCP (221) en las muestras P3 (A11 y A12).

Los espectros de absorción FT-IR correspondientes de los polvos de fosfato de calcio sinterizado se muestran en las figuras 5b-(A-C) de los polvos precipitados después de la calcinación en P2, (A. muestra A8) y P3, (B. muestra A12 y C. muestra A11). Los espectros FTIR de las muestras de A8, A12 y A11 presentaron picos característicos de HA y TCP. Los picos correspondientes a la flexión de los grupos  $PO_4^{3-}$  se observan en  $561$  y  $600\text{ cm}^{-1}$ , para HA y en  $590$  y  $604\text{ cm}^{-1}$  para TCP [55-59]. El estiramiento de los grupos  $PO_4^{3-}$ , se detectó en  $962$ ,  $1022$ - $1024$  y  $1086$ - $1088\text{ cm}^{-1}$ , para HA y en  $970$ ,  $1013$ - $1016$ ,  $1078$ ,  $1099$  y  $1115\text{ cm}^{-1}$  para TCP [59-61]. Los picos característicos de OH estructural están presentes en  $629$ - $631$  y  $3578\text{ cm}^{-1}$  [48,61]. Confirmando los resultados de DRX, respecto al efecto de la relación de mezcla molar Ca/P y el pH, se detectó HA en muestra A8 y A11 respectivamente mientras que TCP está presente en la muestra A12. Similar al efecto del tipo de agitación en los patrones de DRX, la agitación influye en los espectros FTIR. Se observa que la intensidad máxima de los espectros de A8 y A11 aumenta con la agitación asistida por ultrasonido.

Los espectros Raman correspondientes de los polvos de fosfato de calcio sinterizado se muestran en las figuras 5c-(A-C) de los polvos precipitados después de la calcinación en P2, (A. muestra A8) y P3, (B. muestra A12 y C.

muestra A11). El pico a  $962\text{ cm}^{-1}$  se debe al  $\text{PO}_4^{3-}$  (P-O), presente en todas las muestras [62]. Independiente del tipo de agitación empleada, el pico de  $\text{PO}_4^{3-}$  se intensificó y la banda de  $\text{PO}_4^{3-}$  a  $1119\text{ cm}^{-1}$  fue débil. En todas las muestras (A8, A11 y A12), los modos débil y ancho de banda a  $\nu_3$ - $1054\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu_4$ - $583\text{ cm}^{-1}$  y  $\nu_2$ - $429\text{ cm}^{-1}$  del  $\text{PO}_4^{3-}$  también constituyen evidencia activa de las características de la HA. Las bandas de carbonato en los espectros Raman son muy débiles debido a su menor concentración. La banda más intensa a  $962\text{ cm}^{-1}$  se asigna al modo  $\nu_1$  del grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  para la HA cristalina. Las bandas de  $\text{PO}_4^{3-}$  que se observan a  $429, 459\text{ cm}^{-1}$ , determinan los modos de flexión de las vibraciones  $\nu_2$ -O-P-O y  $\nu_4$ -O-P-O a  $583\text{ cm}^{-1}$ . Un pequeño brote medio a  $583\text{ cm}^{-1}$  se debe al modo de flexión fuera del plano de los modos de vibración Raman  $\nu_4$ -O-P-O, lo cual constituye un análisis complementario de FT-IR. Además, la banda ubicada a  $1119\text{ cm}^{-1}$  es característica de la sustitución de  $\text{CO}_3^{2-}$  en la HA y se asigna al modo  $\nu_1$  del grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  [63-67].

El control de los parámetros de síntesis regula el desarrollo de la pureza del HA y el contenido de otras fases. El HA se sintetizó mediante tres vías diferentes de precipitación acuosa. Se observó la fase secundaria de CaO en P1 y P2, y la combinación de HA y TCP en P3. Los parámetros del proceso durante la síntesis del HA, como el tipo de agitación utilizada durante la síntesis, pH y el tratamiento térmico, han mostrado una fuerte influencia en las fases Ca/P obtenidas. La cristalinidad del material se encontró discretamente mediante el tratamiento térmico e influyó directamente en la aparición de las fases secundarias de CaO y TCP. La fase amorfa se mantuvo en menor cantidad después del tratamiento térmico.

#### 4. CONCLUSIONES

En conclusión, se prepararon mezclas de HA puro, HA/CaO y HA/ TCP in situ mediante tres procesos de síntesis. En cuanto a la precipitación húmeda controlada, los resultados indican que se pueden obtener mezclas in situ de HA/TCP con diferentes contenidos de HA. La composición depende de la relación molar de Ca/P, el pH y la temperatura de calcinación. Un pH igual a 11 y una relación molar de Ca/P cercana a 1,7 tienden a producir HA puro, mientras que un pH inferior (p. ej., 7,5) combinado con una relación molar de Ca/P cercana a 1,5 da lugar a HA/CaO. Ajustando los valores de pH y la relación molar de Ca/P, se pueden obtener mezclas de HA/TCP in situ con diferentes contenidos de HA. Desde un punto de vista práctico, esta técnica es muy prometedora para producir mezclas de HA/TCP in situ con una composición específica para aplicaciones de reconstrucción ósea.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a la Universidad Santiago de Cali por el apoyo financiero brindado a los Proyectos DGI-COCEIN-No. 939-621119-480 y DGI-COCEIN-No. 939-621120-2247.

#### 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Kokubo, T., Kim, H-M., Kawashita, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties *Biomaterials*, 2003, 24, 2161-2175.
- [2] Allen, G.C.; Ciliberto, E.; Fragalà, I., Spoto, G. Surface and bulk study of calcium phosphate bioceramics obtained by Metal Organic Chemical Vapor Deposition. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 1996, 116, 457-460.
- [3] Jones, F.H. Teeth and bones: applications of surface science to dental materials and related biomaterials *Surface Science Reports*, 2001, 42, 75-205.
- [4] Kikuchi, M.; Itoh, S.; Ichinose, S.; Shinomiya, K.; Tanaka, elf-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo *J. Biomaterials*, 2001, 22, 1705-1711.
- [5] Schnettler, R.; Alt, V.; Dingeldein, E.; Pfefferle, H-J.; Kilian, O.; Meyer, C.; Heiss, C.; Wensch, S. Bone ingrowth in bFGF-coated hydroxyapatite ceramic implants *Biomaterials*, 2003, 24, 4603-4608.
- [6] Liou, S-C.; Chen, S-Y.; Liu, D-M. Synthesis and characterization of needlelike apatitic nanocomposite with controlled aspect ratios. *Biomaterials*, 2003, 24, 3981-3988.
- [7] Mavropoulos, E.; Rossi, A.M.; Rocha, N.C.C., Soares; G.A.; Moreira, J.C.; Moure, G.T. *Materials Characterization*, 5578, 2003.
- [8] Li, Y.; Klein, C.P.A.T. Shape change and phase transition of needle-like non-stoichiometric apatite crystals *Journal of Materials Science – Materials Medical*, 1994, 5, 263.

- [9] Chussei, C.C.; Goodman, D.W. Calcium Phosphate Phase Identification Using XPS and Time-of-Flight Cluster SIMS *Analytical Chemistry*, 1999, 71, 149-153.
- [10] Weiss, P.; Obadia, L.; Magne, D.; Bourges, X.; Rau, C.; Weitkamp, T.; Khairoun, I.; Bouler, J.M.; Chappard, D.; Gauthier, O.; Daculsi, G. Synchrotron X-ray microtomography (on a micron scale) provides three-dimensional imaging representation of bone ingrowth in calcium phosphate biomaterials *Biomaterials*, 2003, 24, 4591-4601.
- [11] Afshar, A.; Ghorbani, M.; Ehsani, N.; Saeri, M.R.; Sorrell, C.C. Some Important Factors in the Wet Precipitation Process of Hydroxyapatite. *Materials & Design*, 2003, 24, 197-202.
- [12] J Realpe-Jaramillo, J A Morales-Morales, J A González-Sánchez, R Cabanzo, E Mejía-Ospino, J Rodríguez-Pereira Effect of modification substrate on the microstructure of hydroxyapatite coating *J. Phys. Conf. Ser.* 2017, 786, 012024}
- [13] Nosrati, H.; Sarraf-Mamoory, R.; Kazemi, M.H.; Perez, M.C.; Shokrollahi, M.; Emameh, R.Z.; Falak, R. Characterization of hydroxyapatite-reduced graphene oxide nanocomposites consolidated via high frequency induction heat sintering method. *J. Asian Ceram. Soc.* 2020, 8, 1296-1309
- [14] Priyadarshini, B., Ramya, S., Shinyjoy, E., Kavitha, L., Gopi, D., & Vijayalakshmi, U. Structural, morphological and biological evaluations of cerium incorporated hydroxyapatite sol-gel coatings on Ti-6Al-4V for orthopaedic applications. *Journal of Material and Research Technology*, 2021, 12, 1319-1338.
- [15] Jiang, J., Han, G., Zheng, X., Chen, G., & Zhu, P. Characterization and biocompatibility study of hydroxyapatite coating on the surface of titanium alloy. *Surface & Coatings Technology*, 2019, 375, 645-651.
- [16] Chou, Y.J.; Ningsih, H.S.; Shih, S.J. Preparation, characterization and investigation of antibacterial silver-zinc co-doped betatricalcium phosphate by spray pyrolysis. *Ceram. Int.* 2020, 46, 16708-16715.
- [17] M. Germain, F. Caputo, S. Metcalfe, G. Tosi, K. Spring, K. K. O. Åslund, A. Pottier, R. Schiffflers, A. Ceccaldi, R. Schmid, *J. Controlled Rel.* 2020, 326, 164-171
- [18] S. Heng, Z. Lu, Q. Liu, T. Jiang, M. He, F. Song, J. Zhao, L. Zheng, *Mater. Sci. Eng. C* 2020, 110, 110691
- [19] Precious, O.E.; Obinna, A.O.; Emeka, O.A.; Mohammed, Y.L.; Sikiru, A.M.; Opeyemi, I.I.; Peter, G.O.; Victor, D.; Aderibigbe, T.; Aina, D.O.; Solomon, C.N, In-depth review of synthesis of hydroxyapatite biomaterials from natural resources and chemical reagents for biomedical applications, *Arabian Journal of Chemistry*, 2024, 17, 106010
- [20] JMakshakova, O.N.; Gafurov, M.R.; Goldberg, M.A. The Mutual Incorporation of Mg<sup>2+</sup> and CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> into Hydroxyapatite: A DFT Study. *Materials* 2022, 15, 9046
- [21] Bulina, N.V.; Eremina, N.V.; Vinokurova, O.B.; Ishchenko, A.V.; Chaikina, M.V. Diffusion of Copper Ions in the Lattice of Substituted Hydroxyapatite during Heat Treatment. *Materials* 2022, 15, 575
- [22] Lubojański, A.; Zakrzewski, W.; Samól, K.; Bieszczad-Czaja, M.; Świtłała, M.; Wiglusz, R.; Watras, A.; Mielan, B.; Dobrzyński, M. Application of Nanohydroxyapatite in Medicine—A Narrative Review. *Molecules* 2024, 29, 5628
- [23] Imran, E.; Mei, M.L.; Li, K.C.; Ratnayake, J.; Ekambaram, M.; Cooper, P.R. Dental Applications of Ion-Substituted Hydroxyapatite: A Review of the Literature. *Dent. J.* 2024, 12, 304
- [24] Imran, E.; Cooper, P.R.; Ratnayake, J.; Ekambaram, M.; Mei, M.L. Potential Beneficial Effects of Hydroxyapatite Nanoparticles on Caries Lesions In Vitro—A Review of the Literature. *Dent. J.* 2023, 11, 40.
- [25] Muntean, F.L.; Olariu, I.; Marian, D.; Olariu, T.; Petrescu, E.L.; Olariu, T.; Drăghici, G.A. Hydroxyapatite from Mollusk Shells: Characteristics, Production, and Potential Applications in Dentistry. *Dent. J.* 2024, 12, 409
- [26] Cruel, P.T.E.; dos Santos, C.P.C.; Cueto, T.M.; Avila, L.P.V.; Buchaim, D.V.; Buchaim, R.L. Calcium Hydroxyapatite in Its Different Forms in Skin Tissue Repair: A Literature Review. *Surgeries* 2024, 5, 640-659.
- [27] Kazimierczak, P.; Wessely-Szponder, J.; Palka, K.; Barylyak, A.; Zinchenko, V.; Przekora, A. Hydroxyapatite or Fluorapatite—Which Bioceramic Is Better as a Base for the Production of Bone Scaffold?—A Comprehensive Comparative Study. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 5576
- [28] Kubiak-Mihkelsoo, Z.; Kostrzębska, A.; Błaszczyszyn, A.; Pitulaj, A.; Dominiak, M.; Gedrange, T.; Nawrot-Hadzik, I.; Matys, J.; Hadzik, J. Ionic Doping of Hydroxyapatite for Bone Regeneration: Advances in Structure and Properties over Two Decades—A Narrative Review. *Appl. Sci.* 2025, 15, 1108
- [29] Dopierała, K.; Krok, E.; Stachowska, E.; Nowak-Grzebyta, J.; Walczak, K.; Andrzejewski, J.; Prochaska, K. The Deposition of Hydroxyapatite Particles Within an Organic Matrix on the Surface of Poly(lactic acid). *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 11587
- [30] Hassan, Z.; Idaszek, J.; Kaszyca, K.; Zybała, R.; Tkocz, M.; Kuc, D.; Mizera, J.; Dobkowska, A. The Development of a New Bioabsorbable Plastically Deformed Mg-Based Composite with Hydroxyapatite Nanopowder Addition: Towards Improved Degradation and Biological Assessment. *Corros. Mater. Degrad.* 2025, 6, 12.

- [31] Ielo, I.; Calabrese, G.; De Luca, G.; Conoci, S. Recent Advances in Hydroxyapatite-Based Biocomposites for Bone Tissue Regeneration in Orthopedics. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 9721
- [32] Ciobanu, C.S.; Predoi, D.; Iconaru, S.L.; Negriila, C.C.; Leduc, D.; Ghegoiu, L.; Bleotu, C.; Kettani, M.E.C.E.; Trusca, R.; Zelmar, P.; et al. New Nanobioceramics Based on Hydroxyapatite for Biomedical Applications: Stability and Properties. *Nanomaterials* 2025, 15, 224
- [33] dos Santos, C.P.C.; Cruel, P.T.E.; Buchaim, D.V.; da Cunha, M.R.; Ervolino, E.; Issa, J.P.M.; Miglino, M.A.; Buchaim, R.L. Calcium Hydroxyapatite Combined with Photobiomodulation for Bone Tissue Repair: A Systematic Review. *Materials* 2025, 18, 1120
- [34] Ammar, M.; Ashraf, S.; Baltrusaitis, J. Nutrient-Doped Hydroxyapatite: Structure, Synthesis and Properties. *Ceramics* 2023, 6, 1799-1825
- [35] Duta, L.; Oktar, F.N. Synthetic and Biological-Derived Hydroxyapatite Implant Coatings. *Coatings* 2024, 14, 39.
- [36] Cotrut, C.M.; Blidisel, A.; Vranceanu, D.M.; Vladescu, A.; Ungureanu, E.; Pana, I.; Dinu, M.; Vitelaru, C.; Parau, A.C.; Pruna, V.; et al. Evaluation of the In Vitro Behavior of Electrochemically Deposited Plate-like Crystal Hydroxyapatite Coatings. *Biomimetics* 2024, 9, 704
- [37] Radulescu, R.; Meleşcanu Imre, M.; Ripszky, A.; Rus, F.; Popa, A.; Moisa, M.; Funieru, C.; Ene, R.; Pituru, S. Exploring the Broad Spectrum of Titanium–Niobium Implants and Hydroxyapatite Coatings—A Review. *Materials* 2024, 17, 6206
- [38] Sikder, P.; Ren, Y.; Bhaduri, S.B. Microwave processing of calcium phosphate and magnesium phosphate based orthopedic bioceramics: A state-of-the-art review. *Acta Biomater.* 2020, 111, 29–53.
- [39] Liu, X.; Wu, Z.; Cavalli, R.; Cravotto, G. Sonochemical Preparation of Inorganic Nanoparticles and Nanocomposites for Drug Release-A Review. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2021, 60, 10011–10032.
- [40] Kieswetter, K.; Bauer, T.W.; Brown, S.A.; Van Lente, F.; Merrit, K. *Biomaterials*, 1994, 15, 4609-4620.
- [41] Akhtar, K.; Pervez, C. Evaluation of the experimental parameters for the morphological tuning of monodispersed calcium hydroxyapatite. *J. Dispers. Sci. Technol.* 2021, 42, 984–997.
- [42] Kazeli, K.; Tsamesidis, I.; Theocharidou, A.; Malletzidou, L.; Rhoades, J.; Pouroutzidou, G.K.; Likotrafiti, E.; Chrissafis, K.; Lialiaris, T.; Papadopoulou, L.; et al. Synthesis and Characterization of Novel Calcium-Silicate Nanobioceramics with Magnesium: Effect of Heat Treatment on Biological, Physical and Chemical Properties. *Ceramics* 2021, 4, 628–651.
- [43] Guo, X.; Hu, Y.P.; Yuan, K.Z.; Qiao, Y. Review of the Effect of Surface Coating Modification on Magnesium Alloy Biocompatibility. *Materials* 2022, 15, 3291.
- [44] Esposti, L.D.; Dotti, A.; Adamiano, A.; Fabbi, C.; Quarta, E.; Colombo, P.; Catalucci, D.; De Luca, C.E.; Iafisco, M. Calcium Phosphate Nanoparticle Precipitation by a Continuous Flow Process: A Design of an Experiment Approach. *Crystals* 2020, 10, 17.
- [45] Verma, S.; Murugavel, R. Alkali Metal Di-tert-butyl Phosphates: Single-Source Precursors for Homo- and Heterometallic Inorganic Phosphate Materials. *Inorg. Chem.* 2022, 61, 6807–6818
- [46] Akbarzade, T.; Farmany, A.; Farhadian, M.; Khamverdi, Z.; Dastgir, R. Synthesis and characterization of nano bioactive glass for improving enamel remineralization ability of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP). *BMC Oral. Health* 2022, 22, 9.
- [47] Srinivasan, B.; Kolanthal, E.; Nivethaa, E.A.K.; Pandian, M.S.; Ramasamy, P.; Catalani, L.H.; Kalkura, S.N. Enhanced in vitro inhibition of MCF-7 and magnetic properties of cobalt incorporated calcium phosphate (HAp and ss-TCP) nanoparticles. *Ceram. Int.* 2023, 49, 855–861.
- [48] Gausterer, J.C.; Schüßler, C.; Gabor, F. The impact of calcium phosphate on FITC-BSA loading of sonochemically prepared PLGA nanoparticles for inner ear drug delivery elucidated by two different fluorimetric quantification methods. *Ultrason. Sonochemistry* 2021, 79, 105783.
- [49] Liu, X.; Wu, Z.; Cavalli, R.; Cravotto, G. Sonochemical Preparation of Inorganic Nanoparticles and Nanocomposites for Drug Release-A Review. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2021, 60, 10011–10032.
- [50] Wu, S.C.; Hsu, H.C.; Yu, H.C.; Shen, C.E.; Ho, W.F. Preparation and evaluation of osteoinductive porous biphasic calcium phosphate granules obtained from eggshell for bone tissue engineering. *Adv. Powder Technol.* 2023, 34, 103909
- [51] Xu, M.; Liu, T.; Qin, M.; Cheng, Y.; Lan, W.; Niu, X.; Wei, Y.; Hu, Y.; Lian, X.; Zhao, L.; et al. Bone-like hydroxyapatite anchored on alginate microspheres for bone regeneration. *Carbohydr. Polym.* 2022, 287, 119330.
- [52] Yu, H.N.; Hsu, H.C.; Wu, S.C.; Hsu, C.W.; Hsu, S.K.; Ho, W.F. Characterization of nano-scale hydroxyapatite coating synthesized from eggshells through hydrothermal reaction on commercially pure titanium. *Coatings* 2020, 10, 112.

- [53] M. Bohner, B.L.G. Santoni, N. Döbelin,  $\beta$ -tricalcium phosphate for bone substitution: synthesis and properties, *Acta Biomater.* 2020, 113 23–41
- [54] Bueno, O.M.V.M.; Herrera, C.L.; Bertran, C.A.; San-Miguel, M.A.; Lopes, J.H. An experimental and theoretical approach on stability towards hydrolysis of triethyl phosphate and its effects on the microstructure of sol-gel-derived bioactive silicate glass. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2021, 120, 111759
- [55] D. dos S. Tavares, L. de O. Castro, G. D. de A. Soares, G. G. Alves, J. M. Granjeiro, Synthesis and cytotoxicity evaluation of granular magnesium substituted  $\beta$ -tricalcium phosphate *J. Appl. Oral Sci.* 2013, 21, 37–42.
- [56] D. K. Pattanayak, R. Dash, R. C. Prasad, B. T. Rao, T. R. Rama Mohan, Calcium phosphate bioceramics and bioceramic composites *Mater. Sci. Eng. C* 2007, 27, 684–690.
- [57] R. N. Panda, M. F. Hsieh, R. J. Chung, T. S. Chin, FTIR, XRD, SEM and solid state NMR investigations of carbonate-containing hydroxyapatite nano-particles synthesized by hydroxide-gel technique *J. Phys. Chem. Solids* 2003, 64, 193–199.
- [58] A. Jillavenkatesa, R. A. Condrate, The Infrared and Raman Spectra of  $\beta$ - and  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) *Spectrosc. Lett.* 1998, 31, 1619–1634.
- [59] L. Nie, J. Suo, P. Zou, S. Feng, Preparation and Properties of Biphasic Calcium Phosphate Scaffolds Multiply Coated with HA/PLLA Nanocomposites for Bone Tissue Engineering Applications *J. Nanomater.* 2012, 2012.
- [60] R. G. Carrodeguas, S. De Aza,  $\alpha$ -Tricalcium phosphate: synthesis, properties and biomedical applications *Acta Biomater.* 2011, 7, 3536–3546.
- [61] A. Costescu, I. Pasuk, F. Ungureanu, A. Dinischiotu, M. Costache, F. Huneau, S. Galaup, P. le Coustumer, D. Predoi, Dig. Physico-chemical properties of nano-sized hexagonal hydroxyapatite powder synthesized by sol-gel *J. Nanomater. Biostructures* 2010, 5, 989–1000.
- [62] S. Gurjit, D. Mandair, and M. Morris, Contributions of Raman spectroscopy to the understanding of bone strength *Bone Key Rep.* 4, 620, 2015.
- [63] Walid Amer, Karma Abdelouahdi, H. R. Ramanarivo, Mohamed Zahouily, Aziz Fihri, Kamal Djessas, Khalid Zahouily, S. Rajender, and Varma Abderrahim Solhy, Microwave-assisted synthesis of mesoporous nano-hydroxyapatite using surfactant templates *Cryst. Eng. Comm.* 16, 543, 2013.
- [64] C. S. Ciobanu, S. L. Lconaru, P. Le Coustumer, L. V. Constantin, and D. Predoi, Antibacterial activity of silver-doped hydroxyapatite nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria *Nanoscale Res. Lett.* 7, 324, 2012.
- [65] Irwansyah, F.S.; Noviyanti, A.R.; Eddy, D.R.; Risdiana, R. Green Template-Mediated Synthesis of Biowaste Nano-Hydroxyapatite: A Systematic Literature Review. *Molecules* 2022, 27, 5586.
- [66] Jodati, H.; Tezcaner, A.; Alshemary, A.Z.; Sahin, V.; Evis, Z. Effects of the doping concentration of boron on physicochemical, mechanical, and biological properties of hydroxyapatite. *Ceram. Int.* 2022, 48, 22743–22758.
- [67] Sadiq, T.O.; Sudin, I.; Idris, J.; Fadil, N.A. Synthesis Techniques of Bioceramic Hydroxyapatite for Biomedical. *J. Biomim. Biomater. Biomed. Eng.* 2023, 59, 59–80