

Efecto del pH en la síntesis de hidroxiapatita en presencia de microondas

J.A Rivera^I, G. Fetter^I, P. Bosch^{II}

^I Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. 14 Sur y Av. San Claudio, 72570 Puebla, PUE, México

e-mail: angelcairo_19@yahoo.com.mx ; geolarfetter@yahoo.com.mx

^{II} Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones en Materiales, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510 México, D. F., México

e-mail: crocrocq@hotmail.com

RESUMEN

La hidroxiapatita sintética, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es un biomaterial que se emplea para reconstruir tejido óseo dañado o como recubrimiento de prótesis, ya que su composición química y su estructura se asemejan a la fase mineral contenida en el esqueleto; esta similitud favorece la formación de enlaces con el hueso, siendo por consiguiente un material biocompatible. La hidroxiapatita se puede obtener a partir de huesos, pero hoy en día se sintetiza mediante diferentes procedimientos químicos, como las reacciones en estado sólido, el método sol-gel, la reacción por doble descomposición, la neutralización o el método hidrotérmico. El método hidrotérmico es el más empleado por su simplicidad, pero los inconvenientes del proceso son las altas temperaturas (600-1000 °C) y los largos tiempos (2-14 días) necesarios para obtener los cristales de hidroxiapatita. Por otro lado, una mejora novedosa en la síntesis de sólidos como las arcillas pilareadas, las hidrotalcitas o las zeolitas es la irradiación con microondas que tiene la particularidad de reducir los tiempos y las temperaturas de cristalización.

En este trabajo se presenta la síntesis de hidroxiapatita por medio de irradiación con microondas en una autoclave a 80 °C, por 10 minutos, 1 atm y una potencia de 200 W. Además, se estudió la influencia del pH en la preparación. El tratamiento con microondas redujo considerablemente el tiempo de síntesis en comparación con otros métodos y las propiedades, la textura y la morfología de la hidroxiapatita obtenida resultaron ser significativamente diferentes.

Palabras clave: Hidroxiapatita, biomateriales, irradiación con microondas, núcleos, hidroxilos, porosidad, pH, morfología.

Hydroxyapatite synthesis using microwave irradiation during the crystallization step

ABSTRACT

Synthetic hydroxyapatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, is a biomaterial used to reconstruct damaged bone tissue or to recover prostheses. Indeed, the chemical composition and structure is similar to the mineral phase contained in the skeleton. This similarity favors the formation of bonds with the bone, it becomes then a biocompatible material. Hydroxyapatite may be obtained from bones, but, nowadays, it is synthesized through various chemical procedures such as: solid state, sol-gel, double decomposition, neutralization and hydrothermal reactions. The hydrothermal method is the most employed due to its simplicity but it presents the disadvantage of the required high temperatures (600-1000 °C) and very long times (2-14 days) to obtain hydroxyapatite crystals. A recent improvement in the synthesis of solids as pillared clays, hydrotalcites or zeolites has been the microwave irradiation, as it reduces time and crystallization temperature.

In this work, hydroxyapatite is synthesized in presence of microwave irradiation in an autoclave at 80 °C for 10 minutes, 1 atm and 200 W power. The influence of pH is studied. The microwave treatment reduced considerably the synthesis time if compared to the other methods. The properties, texture and morphology of the obtained compounds were significantly modified.

Keywords: hydroxyapatite, biomaterials, microwave irradiation, nuclei, hydroxyls, porosity, pH, morphology.

1 INTRODUCCIÓN

En los últimos años la síntesis de compuestos de fosfato de calcio ha generado un gran interés, puesto que tiene importantes aplicaciones biomédicas. Por ejemplo, la hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ se utiliza para reparar o reconstruir tejido óseo dañado o enfermo, ya que su composición y estructura química se asemeja a la fase mineral contenida en el esqueleto; esta similitud favorece la formación de enlaces con el hueso, siendo por consiguiente un material biocompatible, bioactivo y bioabsorbible. La hidroxiapatita presenta una amplia composición química, que se determina a partir de la relación molar calcio:fósforo y que puede ser de 1,67 en el compuesto estequiométrico pero resulta ser 1,63 en el esmalte dental [1-3]. Aunque la rama en la que más se han desarrollado estos compuestos es la medicina, ya que se usan también como vehículo de transporte controlado de drogas [4], se utilizan también como soportes de catalizadores [5-7], como intercambiadores iónicos, como sensores, como biocerámicas, entre otras.

Las hidroxiapatitas pertenecen a la familia de las apatitas cuya fórmula molecular es: $\text{M}_{10}(\text{TO}_4)_6\text{N}_2$, donde M representa un catión divalente o trivalente (raramente monovalente); su número de coordinación es de 7, 8 o 9; T es un catión con un número de coordinación 4 y presenta una geometría tetraédrica; la combinación TO_4 forma un radical negativo. En cambio, N simboliza un anión con número de coordinación 3 [1, 8]. Son los aniones N los que producen cambios más significativos, tanto en la estructura cristalina como en sus propiedades. Por ejemplo, el grupo espacial varía con el tamaño de N; al incrementar el radio iónico se genera una apatita con menor simetría. Es más, el grupo N identifica el tipo de apatita: si es OH resulta ser hidroxiapatita; si es F, fluorapatita.

La hidroxiapatita se puede obtener a partir de huesos humanos, especies animales (bovino) e inclusive de materiales naturales (coral), lo cual es un proceso lento, laborioso y poco eficiente. Actualmente es preferible sintetizarla según diferentes procedimientos químicos, como las reacciones en estado sólido, los métodos hidrotérmicos, la precipitación y el proceso sol-gel, la síntesis en fase acuosa mediante el método por doble descomposición y el método por neutralización [9-12]. Este último método consiste en neutralizar una solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ agregándole una solución de ácido fosfórico. Esta reacción permite obtener grandes cantidades de hidroxiapatita fosfocálcica empleando equipos sencillos. Con este método también es posible sintetizar fluorapatitas.

Sin embargo, el método convencional de neutralización se puede mejorar tomando en cuenta los resultados obtenidos al irradiar con microondas las soluciones precursoras de la síntesis de hidrotalcitas [13, 14] o de arcillas [15]. Es de suponer que la irradiación con microondas durante la preparación de la hidroxiapatita agilice el proceso de síntesis [16-18] y quizá procure sólidos textural y morfológicamente originales.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación de las muestras

Síntesis de hidroxiapatitas: La muestra de hidroxiapatita se sintetizó a partir de soluciones 0,1 molar de H_3PO_4 (Baker) y una solución 2 molar de hidróxido de calcio (Baker). La precipitación se realizó goteando los reactivos en un recipiente manteniendo un pH constante de 12. Las cantidades de reactivo utilizadas corresponden a una relación molar Ca/P de 1.67. El precipitado se trató en una autoclave (MIC-I, Sistemas y Equipos de Vidrio S.A. de C.V.) 10 minutos, a una frecuencia de 2,45 GHz y a una potencia de 200 W. La temperatura de la autoclave se fijó en 80 °C. La muestra se lavó con agua destilada hasta que la dispersión alcanzó un pH de 10. El sólido se recuperó por decantación y se secó en una estufa a 70 °C (muestra denominada HA12). Esta muestra se comparó con la que se obtiene en condiciones similares pero sin irradiación y que está reportada en la bibliografía [16-18].

Para estudiar el efecto del pH y de la concentración de la solución de ácido fosfórico, se prepararon tres muestras más a pH constante: HA11,5 (pH=11.5), HA10 (pH=10) y HA9 (pH=9), a partir de dos soluciones, la una 0,8 molar de H_3PO_4 y la otra 2 molar de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Las muestras fueron tratadas de la misma manera que la HA12.

Técnicas de caracterización

Difracción de rayos X: el equipo utilizado fue un difractómetro Brüker-axs D8-advance acoplado a un tubo de rayos X con ánodo de cobre, empleando un monocromador de haz difractado para seleccionar la radiación $\text{K}\alpha$.

Espectroscopia infrarroja: se utilizó un equipo Magna-IR Spectrometer 550 Nicolet. Las muestras se analizaron con KBr en forma de pastilla.

Adsorción de nitrógeno: se obtuvieron las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ empleando un equipo Micromeritics ASAP 2020. Las áreas específicas se determinaron empleando el método BET multipuntos y la distribución de tamaño de poros por el método BJH. Los volúmenes totales de poros se calcularon a partir de la cantidad de nitrógeno adsorbido a la presión relativa (P/P_0) de 0.97. La dimensión fractal de la superficie se midió a partir de las isothermas de adsorción de acuerdo con la ecuación [19]: $\ln(V/V_m) = [\text{constante} + (D-3)] / 3 \{ \ln[\ln(P_0/P)] \}$, que relaciona el recubrimiento de la superficie con la presión relativa P_0/P . El volumen de gas adsorbido es V y V_m es el volumen correspondiente a una monocapa, ambos medidos a temperatura y presión estándar; P es la presión de equilibrio y P_0 es la presión de saturación. Si $\ln(V/V_m)$ se grafica en función de $\{ \ln[\ln(P_0/P)] \}$, se obtiene una línea recta cuya pendiente debe ser proporcional a la dimensión fractal de superficie. Este análisis es válido en el intervalo $-2,3 < \{ \ln[\ln(P_0/P)] \} < 1,1$. Las muestras se trataron previamente a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 horas en alto vacío.

Microscopía electrónica de barrido: La morfología de los materiales obtenidos se estudió por microscopía electrónica de barrido con un microscopio LEICA, Stereoscan 440. Las muestras fueron previamente recubiertas con oro para evitar problemas de cargas.

3 RESULTADOS

La hidroxiapatita se reconoce principalmente por los picos con índices de Miller: 002, 211, 112, 300 y 130 que aparecen en la zona angular $20^{\circ} < 2\theta < 60^{\circ}$. Las muestras sintetizadas se compararon con la tarjeta JCPDS 09-432 y comprobamos que todos los picos de difracción de las muestras obtenidas se pueden atribuir a la hidroxiapatita. En la Figura 1 se presentan los difractogramas de rayos X de las muestras que se obtuvieron mediante la reacción de coprecipitación a diferentes pHs y que fueron tratadas térmicamente con irradiación de microondas. Los patrones difieren por la dispersión de rayos X a ángulos menores que 30° (2θ) que levanta la línea base. En la muestra HA10 esta contribución es muy clara e intensa. Tal efecto no se comprueba en las muestras preparadas por el método convencional, es decir el hidrotérmico [20]. Se debe atribuir a un compuesto microcristalino, no necesariamente a pequeños cristales de hidroxiapatita ya que de ser el caso los picos de difracción se ensancharían. Por lo tanto, se trata de material amorfo con la misma composición elemental. Es importante comprobar que, en cambio, independientemente del pH, la fase cristalina de hidroxiapatita se forma siempre y no presenta efectos de tamaño de cristalito ni de esfuerzos ya que los picos no se ensanchan.

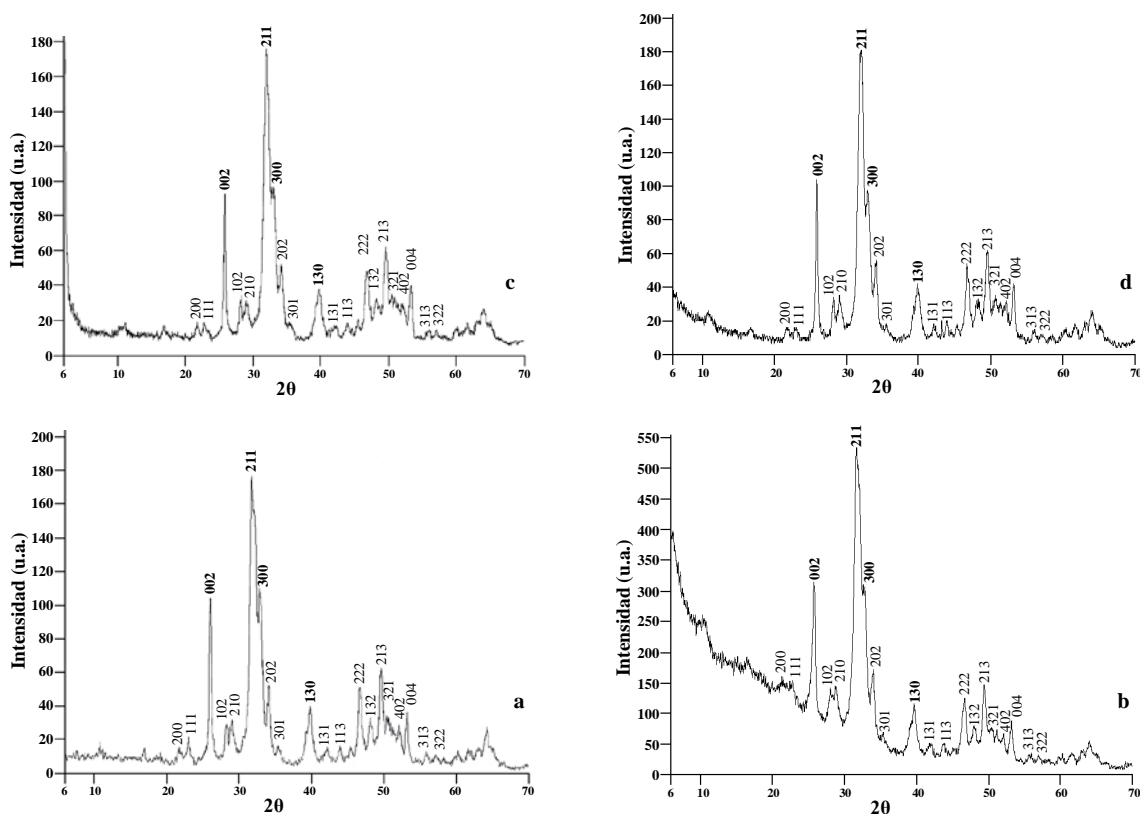


Figura 1: Difractogramas de rayos X de las muestras HA9 (a), HA10 (b), HA11,5 (c) y HA12 (d).

En la Figura 2 se presentan los espectros de infrarrojo de las muestras de hidroxiapatita. Se observan las bandas características del grupo fosfato a 1036, 604 y 565 cm^{-1} . La banda a 3443 cm^{-1} corresponde a una absorción fuerte de alargamiento de alta energía de los grupos OH de la estructura de la hidroxiapatita; la banda que aparece en 1635 cm^{-1} corresponde a la flexión del grupo OH de la estructura de la hidroxiapatita. Teniendo en cuenta que los grupos OH del agua aparecen en estos mismos números de onda, puede haber un aporte a las intensidades de las bandas según el grado de hidratación de las muestras. Los números de onda a 1420 y a 871 cm^{-1} corresponden a pequeñas cantidades de CO_3^{2-} que se forman en la mezcla de reacción a partir del CO_2 absorbido durante la síntesis de la hidroxiapatita a condiciones atmosféricas [3, 20-22].

Dado que todos los espectros de absorción de radiación infrarroja son similares hay que suponer que la fracción amorfa detectada en la difracción de rayos X tiene la misma composición que la fracción cristalina. Es decir que los enlaces a primeros vecinos son los mismos, probablemente formando pequeñas semillas de hidroxiapatita que no logran unirse para constituir cristales más grandes. Así el orden a largo alcance no existe. La banda a 900 - 1200 cm^{-1} del espectro de la muestra HA10 está menos definida y no presenta el pequeño pico en 982 cm^{-1} que aparece en los demás espectros. Según Pleshko *et al.* [23] esta particularidad se debe a que el compuesto es poco cristalino. En este mismo espectro no aparece la banda típica de los carbonatos (1427 y 874 cm^{-1}). Cuanto más básico es el compuesto mayor cantidad de carbonatos se retiene. Como esta muestra es intermedia hay que suponer que la superficie es altamente ácida, es pues una muestra poco homogénea a diferencia de las demás.

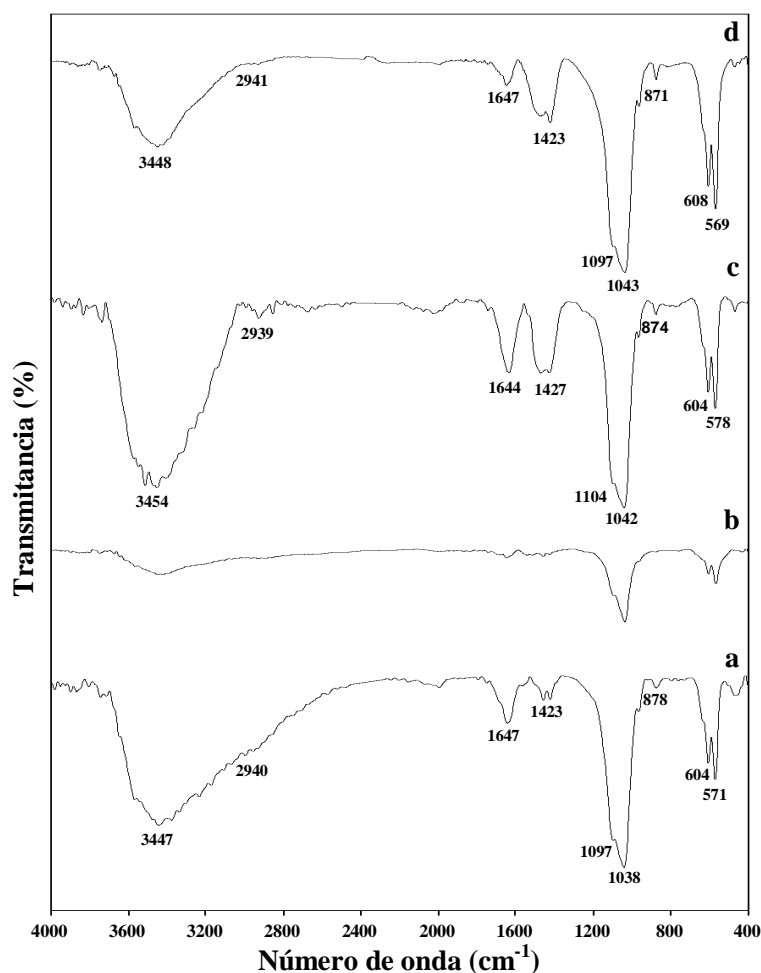


Figura 2: Espectros de infrarrojo de las muestras HA9 (a), HA10 (b), HA11,5 (c) y HA12 (d).

Las isotermas de adsorción-desorción de N_2 de las muestras se presentan en la Figura 3. En todas las muestras se observa que las curvas siguen un comportamiento del tipo IV, este comportamiento es típico de materiales mesoporosos [24-26]. Para presiones relativas más altas ($P/P_0 > 0,6$) se observan ciclos de histéresis del tipo A característico de poros con forma de tintero y tubulares abiertos en ambos extremos.

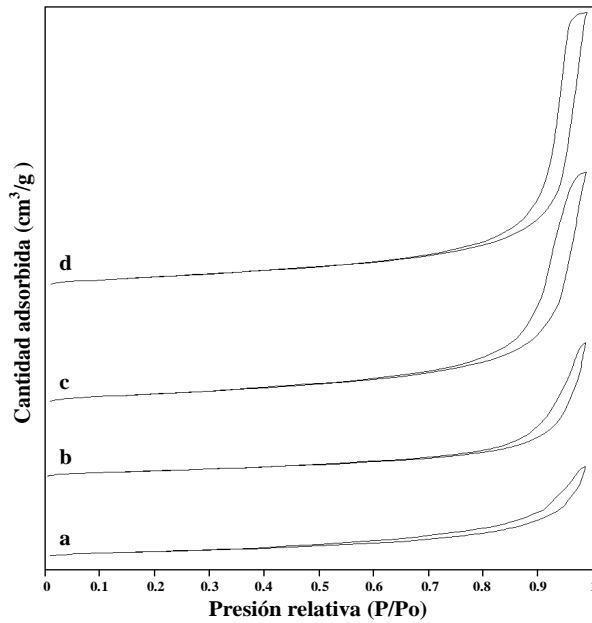


Figura 3: Isothermas de adsorción-desorción de las muestras HA9 (a), HA10 (b), HA11,5 (c) y HA12 (d).

En la Figura 4 se comparan las distribuciones de tamaño de poro que se calcularon usando el método Barrett-Joyner-Hallenda (BJH) [27]. Se comprueba que, a medida que aumenta el pH, el máximo de la distribución se desplaza hacia diámetros mayores. Así, la muestra preparada a un pH de 9 presenta un máximo localizado en 50, la de 10 en 220, la de 11,5 en 250 y la de 12 en 300 Å. Nótese que si el pH es de 9 o 10 la distribución es mucho más ancha que si el pH es 11,5 o 12. En estas últimas dos muestras la distribución se interrumpe en un diámetro de 550-600 Å mientras que en las otras dos muestras la distribución se prolonga hasta 800 Å. Sólo las muestras de pH 9 y 10 presentan un pico muy agudo para un diámetro de 30 Å.

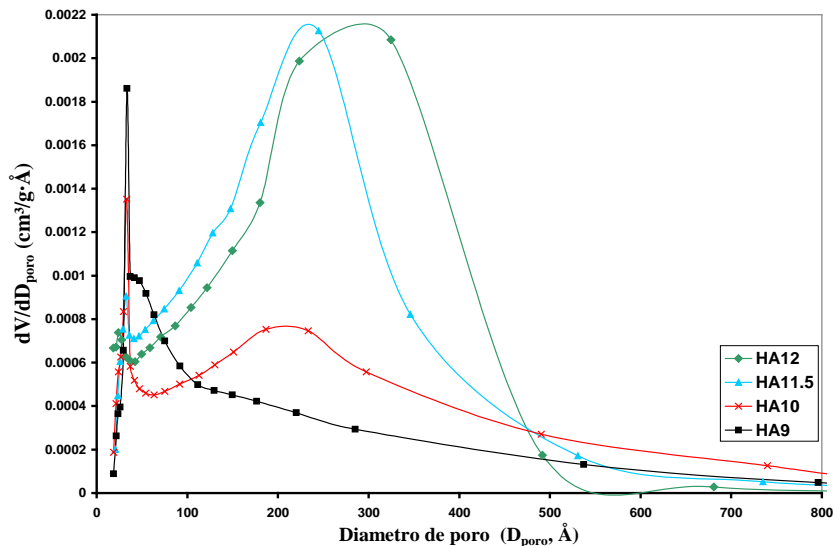


Figura 4: Distribución de tamaño de poro de las muestras HA9 (a), HA10 (b), HA11,5 (c) y HA12 (d).

En la Tabla 1 se presentan algunas propiedades texturales de las hidroxiapatitas sintetizadas a diferentes pHs. Nuevamente las muestras HA12 y HA11,5 se distinguen de las HA9 y HA10 porque sus áreas específicas (S_{BET}) están comprendidas entre 112 y 118 m^2/g mientras que las de las muestras HA9 y HA10 son de 66 y 72 m^2/g respectivamente, es decir, prácticamente un poco más de la mitad. Se puede observar que los diámetros de poro promedio van de 121 a 118 Å. Los volúmenes de poro (V_{total}) van de 0,239 cm^3/g para

la muestra HA9 a 0,699 cm³/g para la muestra A12, indicando que existe una correlación entre el incremento del área específica y el aumento del volumen de poro. Las dimensiones fractales resultaron en valores de 2,52 y 2,54 para las muestras preparadas a pHs de 11,5 o 12 y valores de 2,54 y 2,55 para los sólidos HA9 y HA10. Así, considerando que la rugosidad disminuye con el incremento de la dimensión fractal, las muestras preparadas a pHs bajos deben presentar superficies más lisas que éstas preparadas a pH 11,5 o 12. El procedimiento de síntesis afecta notoriamente la formación de compuestos porosos así como también su cristalinidad [21, 28-32]. Las áreas específicas reportadas para métodos convencionales son menores de 100 m²/g [6, 7]. Al comparar las isotermas de adsorción y desorción con las áreas específicas reportadas en la Tabla 1 se observa que las muestras A9 y A10 presentan ciclos de histéresis de menor tamaño y esto va correlacionado con su área específica que disminuye en comparación con las demás.

Tabla 1: Datos de textura de las muestras de hidroxiapatitas.

Muestra	S _{BET} (m ² /g)	V _{total} (cm ³ /g)	Dimensión fractal
HA12	118	0,699	2,54
HA11.5	112	0,591	2,52
HA10	72	0,349	2,55
HA9	66	0,239	2,54

En la Figura 5a se presenta la micrografía de la muestra HA9. En esta muestra se observa la formación de pequeñas partículas bien definidas, que se asocian para formar aglomerados porosos. Existe una porosidad entre los bloques de hidroxiapatita y al interior de estos. Los aglomerados son heterogéneos y tienen un tamaño de 3 a 10 µm de diámetro. En la figura de la derecha se presenta una región con mayor amplificación, en la que los aglomerados están formados por partículas pequeñas con un diámetro menor a 1 µm. En la micrografía de la muestra HA11,5, Figura 5b, se observa la formación de partículas grandes, que forman aglomerados mayores a 50 µm. En la parte derecha de la figura, se presenta una región con mayor amplificación, donde se observan aglomerados pequeños con un diámetro menor a 1 µm constituidos por hojuelas [22, 33].

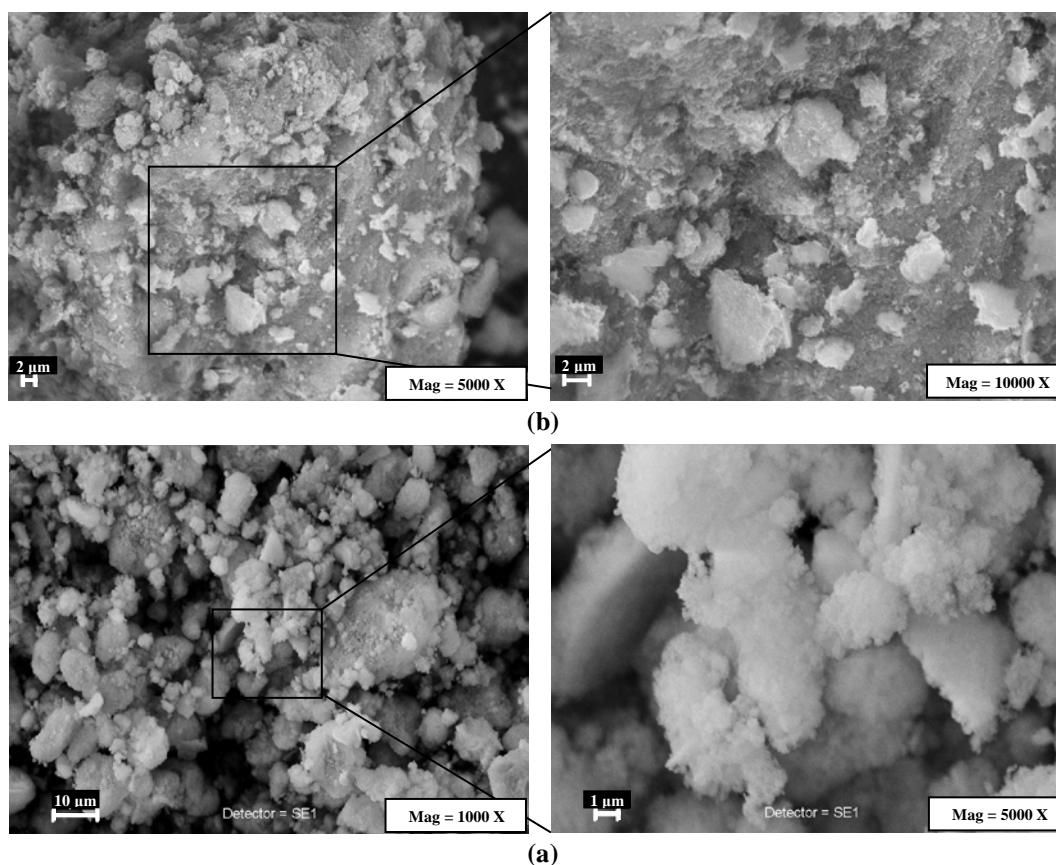


Figura 5: Micrografías de barrido de las muestras HA9 (a) y HA11,5 (b).

4 DISCUSIÓN

Según nuestros resultados dependiendo del pH se obtienen dos morfologías diferentes. Si el pH es del orden de 9 o 10 la superficie específica es baja, la distribución porosa ancha aunque existan poros regulares de 30Å. Si el pH es de 11,5 o 12 la distribución de poros es más estrecha y el máximo se encuentra en un diámetro de 250-300Å, la superficie en este caso es mucho mayor (112-120 m²/g). Resulta revelador graficar el área específica en función del pH, Figura 6. Los puntos correspondientes a las muestras HA9, HA11,5 y HA12 se alinean demostrando que el efecto de la concentración de OH⁻ es proporcional a la superficie específica. Sólo el punto correspondiente a la muestra HA10 no se alinea, para ese pH el área debería ser de 82 m²/g. Hay que suponer por lo tanto que la accesibilidad a la superficie está restringida por un agente externo. Esta particularidad coincide con la detección por difracción de rayos X, sólo en esta muestra, de un compuesto amorfo y con la ausencia de carbonatos en los espectros de infrarrojo.

La dimensión fractal está relacionada con la rugosidad de la superficie, es decir, que si la hidroxiapatita está bien formada y presenta una superficie lisa su dimensión fractal de superficie será mayor (del orden de 2) que si la superficie es rugosa por la presencia de una gran nanoporosidad o por la adhesión de partículas nanométricas que igual que propician el aumento del área superficial contribuyen a la rugosidad.

Comparando con el área de la superficie específica y las micrografías queda demostrada la estructura jerárquica de la hidroxiapatita. Es la misma muestra la que, en cada una de estas técnicas, que corresponden a escalas de tamaño diferente, se revela más compleja. En efecto se trata de un compuesto, por un lado, totalmente cristalino (hidroxiapatita) y de otro microcristalino o amorfo en forma de pequeñísimas partículas.

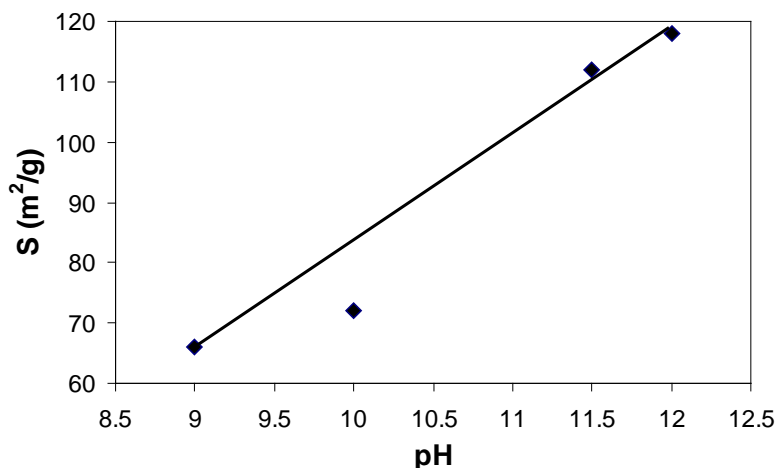


Figura 6: Área específica en función del pH de síntesis.

A una mayor escala estas diferencias se corroboran ya que el microscopio electrónico de barrido muestra morfologías diferentes. En efecto la muestra HA9 está constituida por aglomerados de 3-10 μm a su vez formados de partículas de 1 μm, y la muestra HA11,5 contiene aglomerados de más de 50 μm formados de partículas de 5 μm. Recalquemos que en estas síntesis no se utilizaron plantillas y que los efectos observados sólo se pueden explicar en términos de la concentración de OH⁻ y del efecto de la irradiación con microondas.

Siguiendo los esquemas propuestos por Liu *et al.* [28], son dos los factores que determinan el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita, a saber, los centros activos y la concentración de OH⁻. Una menor concentración de OH⁻ (pH 9) favorece el crecimiento fibrilar. En nuestro caso, dicha morfología no se observa si el pH es de 9, sólo se comprueba que los cristales son muy pequeños y globulares, este resultado parece contradictorio. Sin embargo, en nuestra preparación no se usaron agentes inductores, así que el efecto de la irradiación con microondas es contundente, ya que de inmediato, se forma una multitud de núcleos que se asocian entre ellos antes de crecer formando grupos parecidos a nubes. Hemos probado este mecanismo en la cristalización de hidrotalcitas en trabajos anteriores [34, 35]. Cuando esta red de núcleos asociados alcanza un tamaño crítico retiene los iones calcio disponibles en la solución, se forma entonces una capa enriquecida en calcio que no adsorbe el CO₂. La presencia de tal película se infiere de la cantidad de material amorfo detectada por la difracción de rayos X en la muestra preparada a un pH de 10. En cambio si el pH es de 11,5 o 12 el mecanismo de cristalización es definitivamente diferente. En éste se forman menos núcleos que así

pueden nutrirse de la solución madre para crecer. Sin embargo, dado que se forman grandes cristales redondeados aparentemente la energía superficial de las caras cristalinas formadas es equivalente. Por lo tanto el exceso de OH⁻ inhibe la formación de núcleos.

5 CONCLUSIONES

En la síntesis de hidroxiapatitas el empleo de la reacción de neutralización ácido-base y radiación con microondas favoreció la cristalización de hidroxiapatitas puras. El método (por irradiación con microondas) resultó efectivo en tales síntesis.

La variación del pH durante la precipitación no afecta la pureza aunque la cristalinidad de las muestras de hidroxiapatita se vea alterada, y por lo tanto también sus propiedades texturales. La morfología de las hidroxiapatitas también se ve afectada por la variación del pH de síntesis. La muestra sintetizada a pH constante de 11,5 presenta aglomerados grandes (> a 50 µm) muy rugosos, mientras que la sintetizada a pH constante de 9 presenta aglomerados pequeños (< a 10 µm) y más sueltos. Es importante destacar que dichos aglomerados son de partículas globulares de menos de 1 µm.

El mecanismo de cristalización es semejante al que hemos propuesto para la síntesis de hidrotalcitas en presencia de microondas. En efecto si el pH es de 9 o 10 se forman muchos núcleos que se asocian entre sí mientras que si el pH es de 11,5 o 12 los núcleos, que son menos, tienen la oportunidad de crecer. Así todo, en ambos casos los núcleos formados no son lo suficientemente regulares como para que se propicie un crecimiento direccional.

6 AGRADECIMIENTOS

A Leticia Baños por la difracción de rayos X y a José Guzmán por la microscopía electrónica de barrido. Al CONACYT por el soporte financiero.

7 BIBLIOGRAFÍA

- [1] CALDERÍN, L., STOTT, M.J., RUBIO, A., “Electronic and crystallographic structure of apatites”, *Physical Review*, v. 67, pp. 134106 (1-7), April 2003.
- [2] OGLIVIE, A, FRANK, R.M., BENQUE, E.P., GINESTE, M., HEUGHEBAERT, M., HEMMERLE, J., “The biocompatibility of hydroxyapatite implanted in the human periodontum”, *Journal of Periodontal Research*, v. 22, pp. 270-283, July 1987.
- [3] GUTIERREZ, P., PIÑA, C., LARA, V.H., BOSCH, P., “Characterization of enamel with variable caries risk”, *Archives of Oral Biology*, v. 50, pp. 843-848, October 2005
- [4] PALAZZO, B., SIDOTI, M.C., ROVERI, N., TAMPIERI, A., SANDRI, M., BERTOLAZZI, L., GALBUSERA, F., DUBINI, G., VENA, P., CONTRO, R., “Controlled drug delivery from porous hydroxyapatite grafts: An experimental and theoretical approach”, *Materials Science and Engineering: C*, v. 25, pp. 207-213, April 2005.
- [5] MORI, K., HARA, T., MIZUGAKI, T., EBITANI, K., KANEDA, K., “Hydroxyapatite-bound cationic ruthenium complexes as novel heterogeneous lewis acid catalysts for diels-alder and aldol reactions”, *Journal of the American Chemical society*, v. 125, pp. 11460-11461, August 2003.
- [6] SMAHI, A., SOLHY, A., BADAoui, H. E., AMOUKAL, A., TIKAD, A., MAIZI, M., SEBTI, S., “Potassium fluoride doped fluorapatite and hydroxyapatite as new catalysts in organic synthesis”, *Applied Catalysis A: General*, v. 250, pp. 151-159, September 2003.
- [7] ELAZARIFI, N., CHAOUI, M.A., OUASSOULI, A.E., EZZAMARTY, A., TRAVERT, A., LEGLISE, J., DE MENORVAL, L.C., MOREAU, C., “Hydroprocessing of dibenzothiophene, 1-methylnaphthalene and quinoline over sulfided NiMo-hydroxyapatite-supported catalysts”, *Catalysis Today*, v. 98, pp.161-170, November 2004.
- [8] DRIESSENS, F.C.M., VERBEECK, R.M.H., *Biomaterials*, Florida, CRC Press, 2000.

- [9] PRAKASH, K.H., KUMAR, R., OOI, C.P., CHEANG, P., KHOR, K.A., “Apparent solubility of hydroxyapatite in aqueous medium and its influence on the morphology of nanocrystallites with precipitation temperature”, *Langmuir*, v. 22, pp. 11002-11008, November 2006.
- [10] HAYEK, E., NEWESELY, H., RUMPEL, M.L., “Pentacalcium monohydroxyorthophosphate: (hydroxyapatite)”, *Inorganic Syntheses*, v. 7, pp. 63-65, May 1963.
- [11] ARENDS, J., CHRISTOFFERSEN, J., CHRISTOFFERSEN, M.R., ECKERT, H., FOWLER, O., HEUGHEBAERT, J.C., NANCOLLAS, G.H., YESINOWSKI, J.P., ZAWACKI, S.J., “A calcium hydroxyapatite precipitated from aqueous solution-an international multimethod analysis”, *Journal Crystal Growth*, v. 84, pp. 515-532, September 1987.
- [12] OSAKA, A., MIURA, Y., TAKEUCHI, K., ASADA, M., TAKAHASHI, K., “Calcium apatite prepared from calcium hydroxyde and orthophosphoric acid”, *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, v. 2, pp.51-55, May 1991.
- [13] FETTER, G., BOTELLO, A., LARA, V.H., BOSCH, P., “Detrital Mg(OH)₂ and Al(OH)₃ in microwaved hydroxalces”, *Journal of Porous Materials*, v. 8, pp. 227-232, April 2001.
- [14] OLANREWAJU, J., NEWALKAR, B.L., MANCINO, C., KOMARNENI, S., “Simplified synthesis of nitrate form of layered double hydroxide”, *Materials Letters*, v. 45, pp. 307-310, October 2000.
- [15] FETTER, G., HERNANDEZ, V., RODRÍGUEZ, V., VALENZUELA, M.A., LARA, V.H., BOSCH, P., “Effect of microwave irradiation time on the synthesis of zirconia pillared clays”, *Materials Letters*, v. 57, pp. 1220-1223, January 2003.
- [16] LIU, J., LI, K., WANG, H., ZHU, M., XU, H., YAN, H., “Self-assembly of hydroxyapatite nanostructures by microwave irradiation”, *Nanotechnology*, v. 16, pp. 82-87, January 2005.
- [17] MEEJOO, S., MANEEPRAKORN, W., WINOTAI, P., “Phase and thermal stability of nanocrystalline hydroxyapatite prepared via microwave heating”, *Thermochimica Acta*, v. 447, pp. 115-120, August 2006.
- [18] SIDDHARTHAN, A., SESHADRI, S.K., SAMPATH KUMAR, T.S., “Influence of microwave power on nanosized hydroxyapatite particles”, *Scripta Materialia*, v. 55, pp. 175-178, July 2006.
- [19] PFEIFER, P., COLE, M.W., “Fractals in surface science: scattering and thermodynamics of adsorbed films II”, *New Journal of Chemistry*, v. 14, pp. 221-232, July 1990.
- [20] LIU, J., YE, X., WANG, H., ZHU, M., WANG, B., YAN, H., “The influence of pH and temperature on the morphology of hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method”, *Ceramics International*, v. 29, pp. 629-633, January 2003.
- [21] MILEV, A.S., KANNANGARA, G.S., WILSON, M.A., “Template-Directed Synthesis of Hydroxyapatite from a Lamellar Phosphonate Precursor”, *Langmuir*, v. 20, pp.1888-1894, January 2004.
- [22] UOTA, M., ARAKAWA, H., KITAMURA, N., YOSHIMURA, T., TANAKA, J., KIJIMA, T., “Synthesis of high surface area hydroxyapatite nanoparticles by mixed surfactant-mediated approach”, *Langmuir*, v. 21, pp. 4724-4728, March 2005.
- [23] PLESHKO, N., BOSKEY, A., MENDELSON, R., “Novel infrared spectroscopic method for the determination of crystallinity of hydroxyapatite minerals”, *Biophysical Journal*, v. 60, pp. 786-793, October 1991.
- [24] GREGG, S.J., SING, K.S.W., Adsorption Surface Area and Porosity, Ed. Academic Press, 2nd. Edition, London, 1982.
- [25] PERGHER, B.C., CORMA, A., FORNÉS, V., “Preparation and characterization of MCM-22 zeolite and its layered precursor”, *Química Nova*, v. 26, pp. 795-802, 2003.

- [26] ROUQUEROL, F., ROUQUEROL, J., SING, K., Adsorption by powders and porous solids: principles methodology and applications, San Diego, Academic Press, 1999.
- [27] BARRETT, E.P., JOYNER, L.G., HALENDA, P.P., “The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms”, *Journal of the American Chemical society*, v. 73, pp. 373-380, January 1951.
- [28] LIU, J., LI, K., WANG, H., ZHU, M., YAN, H., “Rapid formation of hydroxyapatite nanostructures by microwave irradiation”, *Chemical Physics Letters*, v.396, pp. 429-432, October 2004.
- [29] KOTHAPALLI, CH., WEI, M., VASILIEV, A., SHAW M.T., “Influence of temperature and concentration on the sintering behavior and mechanical properties of hydroxyapatite”, *Acta Materialia*, v. 52, pp.5655-5663, November 2004.
- [30] PARHI, P., RAMANAN, A., RAY, A.R., “A convenient route for the synthesis of hydroxyapatite through a novel microwave-mediated metathesis reaction”, *Materials Letters*, v. 58, pp. 3610-3612, November 2004.
- [31] ZHANG, H.G., ZHU, Q., WANG, Y., “Morphologically controlled synthesis of hydroxyapatite with partial substitution of fluorine”, *Chemistry of Materials*, v. 17, pp.5824-5830, October 2005.
- [32] ZAKI, M.I., KNÖZINGER, H., TESCHE, B., “Structural and morphological consequences of high-temperature treatments of hydroxyapatite in the absence or presence of HCl vapor”, *Langmuir*, v. 22, pp. 749-755, December 2006.
- [33] SHIH, W.J., MOO-CHIN WANG, M.CH., MIN-HSIUNG HON, M.H., “Morphology and crystallinity of the nanosized hydroxyapatite synthesized by hydrolysis using cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) as a surfactant”, *Journal of Crystal Growth*, v. 275, pp. e2339-e2344, February 2005.
- [34] RIVERA, J.A., FETTER, G., GIMÉNEZ, Y., XOCHIPA, M.M., BOSCH, P., “Nickel distribution in (Ni,Mg)/Al-layered double hydroxides”, *Applied Catalysis A: General*, v. 316, pp. 207-211, January 2007.
- [35] RIVERA, J.A., FETTER, G., BOSCH P., “Microwave power effect on hydrotalcite synthesis”, *Microporous and Mesoporous Materials*, v. 89, pp.306-314, February 2006.