

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Maestría en Ciencias  
en Nanociencias**

---

**Recristalización de nanocintas de hidroxiapatita inducida por  
campos eléctricos**

Tesis  
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias

Presenta:

**Verónica Jazmín Huerta Guerra**

Ensenada, Baja California, México  
2018

Tesis defendida por  
**Verónica Jazmín Huerta Guerra**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dr. Manuel Herrera Zaldívar**  
Director de tesis

Miembros del comité

**Dra. María Guadalupe Moreno Armenta**

**Dra. Alma Georgina Navarrete Alcalá**

**Dra. Olivia Amalia Graeve**



---

**Dr. Sergio Fuentes Moyado**  
Coordinador del Posgrado en Nanociencias

---

**Dra. Rufina Hernández Martínez**  
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Verónica Jazmín Huerta Guerra** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Nanociencias.

### **Recristalización de nanocintas de hidroxiapatita inducida por campos eléctricos**

Resumen aprobado por:

---

Dr. Manuel Herrera Zaldivar  
**Director de tesis**

La hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , HAp] es el componente biomineral principal encontrado en tejidos óseos como dientes y huesos. Desde hace varias décadas, se ha obtenido HAp sintética que presenta excelente biocompatibilidad, bioactividad y osteoconductividad, para ser utilizada en una gran variedad de aplicaciones biomédicas como remplazo en defectos de hueso, agente de suministro de fármacos y recubrimiento bioactivo en implantes metálicos y en materiales dentales; además, resulta de gran interés utilizar la HAp como agente de contraste para tomar imágenes de resonancia magnética, rayos X y termografía infrarroja, mediante su dopaje con iones de tierras raras, así como su uso para acelerar la regeneración ósea, polarizando su superficie. En este trabajo se utilizó el método hidrotermal para sintetizar nanoestructuras de HAp las cuales fueron recristalizadas mediante la aplicación de un campo eléctrico de corriente alterna (AC) en microelectrodos de Au, fabricados por erosión con iones de  $\text{Ga}^{3+}$ . Las nanoestructuras compuestas por la red cristalina hexagonal de HAp, con HAp deficiente en calcio como fase predominante, presentaron una alta cristalinidad, y revelaron una morfología en forma de cintas delgadas con longitudes de 0.5 a 1  $\mu\text{m}$  y anchuras entre 10 y 100 nm. Los análisis de composición elemental demostraron la deficiencia en calcio de las nanocintas de HAp, la cual resultó ser mayor en la superficie de las mismas. Los resultados de fotoluminiscencia (PL) y catodoluminiscencia (CL) en el rango visible de dichas nanocintas comprobó la presencia de vacancias de calcio e iones hidroxilo en la red de HAp, así como los resultados de CL en el rango infrarrojo cercano (NIR) evidenciaron la presencia de vacancias de oxígeno en los grupos fosfato de la estructura de HAp. La recristalización de las nanocintas de HAp provocó una disminución de la deficiencia en calcio, generando un cambio en su morfología que dio lugar a la formación de prismas micrométricos compactos. Se demostró que al polarizar las nanocintas con el campo eléctrico AC aplicado mediante los microelectrodos, se produce la coalescencia de las mismas además de un efecto de recocido de defectos puntuales tipo vacancias de calcio ( $V_{\text{Ca}}$ ). Este efecto fue posteriormente corroborado por los espectros de PL, donde la señal atribuida a  $V_{\text{Ca}}$  disminuyó en intensidad, mientras que la señal asociada a vacancias de hidroxilos aumentó. Asimismo, los resultados de CL apoyaron lo anterior ya que la intensidad de la emisión se vio afectada significativamente, indicando un descenso en la concentración total de defectos en la HAp al ser recristalizada por el campo eléctrico AC aplicado. Como parte final, los resultados de CL en el rango infrarrojo cercano mostraron que, tanto las nanocintas de HAp como la HAp recristalizada, pueden ser utilizadas a futuro como agentes de contraste para imágenes de termografía infrarroja, ya que el proceso de recristalización no afecta significativamente la señal de CL en el NIR de la HAp deficiente en calcio, lo cual se ha probado por primera vez en este trabajo de tesis.

**Palabras clave:** hidroxiapatita, hidrotermal, nanoestructuras, catodoluminiscencia, campo eléctrico, polarización, recristalización.

Abstract of the thesis presented by **Verónica Jazmín Huerta Guerra** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Nanosciences.

### **Electric field assisted recrystallization of hydroxyapatite nanoribbons**

Abstract approved by:

---

Dr. Manuel Herrera Zaldivar  
Thesis Director

Hydroxyapatite [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , HAp] is the principal biomineral component found in bone tissue like teeth and bones. For several decades, synthetic HAp with excellent biocompatibility, bioactivity and osteoconductivity, has been obtained and used for a great variety of biomedical applications such as a replacement for bone defects, a drug delivery agent and a bioactive coating on metallic osseous implants and dental materials; also, it is of great interest to use HAp to acquire contrast-enhanced images from magnetic resonance, X-ray and near-infrared reflection imaging, when doped with rare-earth ions, as well as its use to accelerate bone regeneration, by polarizing its surface. In this work, HAp nanostructures were synthesized by the hydrothermal method, and then recrystallized through an alternating current (AC) electric field applied to Au microelectrodes, fabricated by  $\text{Ga}^{3+}$  ions erosion. The nanostructures composed by the HAp hexagonal crystal lattice, with calcium deficient HAp as the predominant phase, showed a high crystallinity and revealed a thin ribbon type morphology with lengths from 0.5 to 1  $\mu\text{m}$  and widths between 10 and 100 nm. Elemental composition analysis demonstrated the calcium deficiency in HAp nanoribbons, which resulted to be higher on their surface. Photoluminescence (PL) and cathodoluminescence (CL) results for the nanoribbons in the visible range, prove the presence of calcium and hydroxyl ions vacancies in the HAp lattice, as well as the CL results in the near-infrared (NIR) range showed the presence of oxygen vacancies in the phosphate groups of the HAp structure. The recrystallization of the HAp nanoribbons induced a reduction of calcium deficiency, resulting in a morphology change leading to the formation of compact micrometric prisms. It was demonstrated that by polarizing the nanoribbons applying an AC electric field through the microelectrodes, a coalescence between them is produced, followed by an annealing of the calcium vacancies ( $V_{\text{Ca}}$ ) point defects. This effect was then corroborated by PL results, where the intensity decreased for the signal attributed to  $V_{\text{Ca}}$ , while there was an intensity increase for the signal associated to hydroxyl ions vacancies. Likewise, CL results supported the above since the emission intensity was significantly affected, suggesting a decrease in the total concentration of defects present in the HAp when recrystallized by the applied AC electric field. Finally, CL results in the near-infrared range confirmed that, both the HAp nanoribbons and the recrystallized HAp, can be used in the future as contrast agents for near-infrared reflection imaging, since the recrystallization process does not considerably affect the calcium deficient HAp CL signal in the NIR range, which has been proven by the first time on this thesis work.

**Keywords:** Hydroxyapatite, hydrothermal, nanostructures, cathodoluminescence, electric field, polarization, recrystallization.

## Dedicatoria

*A mi tata Juan,  
con todo el amor que no alcancé a demostrarle.*

## Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE) y al Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNYN), por ser las instituciones que me formaron académicamente durante la maestría, así como al personal académico y administrativo que labora en ellas, por apoyarme de una forma u otra.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por apoyarme con la beca de maestría No. 593724 y posteriormente con la beca mixta, que fue un gran sustento durante una estancia realizada en el extranjero; asimismo, al proyecto No. IN101917 del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) DGAPA-UNAM, por el apoyo económico recibido para dicha estancia.

A mi asesor de tesis, el Dr. Manuel Herrera Zaldívar, por guiarme y apoyarme durante este proyecto de principio a fin con entera disposición. Agradezco la confianza que depositó en mí y la amistad que se ha formado.

A mi Comité de tesis formado por la Dra. María Guadalupe Moreno Armenta, la Dra. Alma Georgina Navarrete Alcalá y la Dra. Olivia Graeve, por su tiempo y disposición para llevar a cabo la revisión de la tesis, además de brindar sugerencias para mejorarla.

A la Dra. Paloma Fernández Sánchez, a quien le agradezco enormemente su atención y tiempo brindado durante la estancia realizada con ella en el departamento de Física de Materiales de la Universidad Complutense de Madrid en España. De igual forma, agradezco al resto de los integrantes de dicho departamento por haberme acogido de la mejor manera posible y apoyarme con cualquier duda que se pudiera presentar en el camino.

A mis compañeros de CNYN que han aportado de alguna manera u otra a mi formación durante la maestría, especialmente a mis compañeros de laboratorio "Team Manuel", que se han convertido en una familia para mí. Además, quisiera agradecer particularmente a Carolina Bohórquez y Enrique Pérez por su amistad y apoyo incluso en los momentos más difíciles.

A mi familia, especialmente a mi nana Petra y mi tata Juan, y a mis padres Juan y Vero por su apoyo y amor incondicional. A mis hermanos Ariatna, Juan Antonio y Christian, que me impulsan a ser un mejor ejemplo para ellos cada día.

A mi novio Richard por su amor, respeto y confianza. Gracias por siempre apoyar mis decisiones e impulsarme a continuar creciendo, tanto profesional como personalmente.

A mis amigas Viviana y Nataly, porque a pesar de la distancia, siempre están animándome para seguir adelante en mis proyectos.

## Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	xiii
<b>Capítulo 1. Introducción</b>	
1.1 Antecedentes.....	4
1.1.1 Síntesis de hidroxiapatita por el método hidrotermal.....	4
1.1.2 Conducción iónica en hidroxiapatita.....	6
1.1.3 Polarización eléctrica en hidroxiapatita.....	8
1.1.4 Crecimiento de nanoestructuras inducido por un campo eléctrico.....	9
1.2 Hipótesis.....	11
1.3 Objetivos.....	11
1.3.1 Objetivo general.....	11
1.3.2 Objetivos específicos.....	12
<b>Capítulo 2. Metodología</b>	
2.1 Síntesis de nanoestructuras de hidroxiapatita por el método hidrotermal.....	13
2.2 Fabricación de electrodos mediante erosión con iones de galio focalizados.....	13
2.3 Recristalización de nanoestructuras de HAp aplicando un campo eléctrico alterno.....	15
2.4 Técnicas de caracterización empleadas.....	15
2.4.1 Difracción de Rayos X (DRX).....	15
2.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	17
2.4.3 Espectroscopía de Energía Dispersa (EDS).....	19
2.4.4 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS).....	21
2.4.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).....	23
2.4.6 Espectroscopía Raman.....	24
2.4.7 Fotoluminiscencia (PL).....	26
2.4.8 Catodoluminiscencia (CL).....	27

**Capítulo 3. Síntesis hidrotermal de nanocintas de hidroxiapatita**

3.1 Estructura cristalina.....	32
3.2 Composición elemental.....	34
3.3 Morfología.....	37
3.4 Modos de vibración de la red.....	43
3.5 Luminiscencia.....	44

**Capítulo 4. Recristalización de nanocintas de hidroxiapatita en presencia de campos eléctricos**

4.1 Composición elemental.....	56
4.2 Morfología.....	58
4.3 Luminiscencia.....	61

**Capítulo 5. Conclusiones**

<b>Literatura citada.....</b>	<b>71</b>
-------------------------------	-----------

<b>Anexos.....</b>	<b>76</b>
--------------------	-----------

## Lista de figuras

Figura		Página
1	Esquema de la estructura jerárquica del hueso a distintas escalas de longitud. Imagen tomada del trabajo de tesis de maestría de Zavala (2015).....	1
2	Celda unitaria de la hidroxiapatita en el grupo espacial $P6_3/m$ .....	2
3	Imágenes fluorescentes de células tipo osteoblastos alrededor de la herida. O-HA es HAp sin carga superficial, N-HA es HAp con carga superficial negativa y P-HA es HAp con carga superficial positiva (Nakamura et al., 2008).....	3
4	(A) Patrones de XRD de los productos preparados por 12 h a un pH de 12.9 a (a) 200 °C y (b) 160 °C, y (c) con un pH de 11.4 y relación molar EDTA/Ca de 0.8 a 200 °C. (B) Micrografías de SEM de los productos obtenidos por 12 h a un pH de 12.9 con una temperatura de reacción de (a) 160 °C y (b) 200 °C, y de los productos sintetizados a 200 °C por 12 h a pH de 11.4 con relación molar EDTA/Ca de (c) 0.8 y (d) 1.05.....	4
5	(A) Patrones de difracción de las nanocintas de HAp obtenidas a 200 °C variando el tiempo de reacción de 0 h a 24 h, y (B) las micrografías SEM de dichas muestras con tiempos de reacción de (a) 0 h, (b) 0.5 h, (c) 2 h, (d) 4 h, (e) 12 h y (f) 24 h.....	5
6	(A) Patrones de difracción de las nanocintas de HAp con un tiempo de reacción de 8h variando la temperatura de 100 °C a 200 °C, y (B) las micrografías SEM de dichas muestras con tiempos de reacción de (a) 100 °C, (b) 120 °C, (c) 140 °C y (d) 160 °C.....	5
7	Imágenes SEM de las muestras de HAp sintetizadas (a) sin NaOH y preparadas a un pH de (b) 10.5, (c) 12.0 y (d) 12.5.....	6
8	Patrones XRD de (a) bigotes de HAp y (b) polvo de HAp.....	6
9	(A) Espectro IR de (a) bigotes de HAp y (b) polvo de HAp; (B) amplificación de dichos espectros en un intervalo de 700 a 1000 $\text{cm}^{-1}$ . Las pequeñas líneas sólidas y líneas punteadas indican los picos de estiramiento y doblamiento de $\text{PO}_4^{3-}$ , respectivamente; los triángulos corresponden a picos de $\text{OH}^-$ y los rombos abiertos indican picos de $\text{HPO}_4^{2-}$ .....	7
10	Gráficas de Arrhenius para la conducción iónica en (a) bigotes de HAp compactados, (b) polvo de HAp compactado y (c) HAp sinterizada.....	7
11	(a) Espectro de TSDC de HAp polarizada a 573 K aplicando campos eléctricos de 1 y 2 kV/cm. (b) Típico espectro de TSDC obtenido de un material ferroeléctrico de $\text{BaTiO}_3$ .....	8

12	Ilustraciones esquemáticas de (a) un ambiente atómico alrededor de los iones $\text{OH}^-$ , (b) iones hidroxilo orientados a lo largo de la dirección $c$ mostrando una inestabilidad de protón ( $\text{H}^+$ ) y (c) iones hidroxilo de la HAp mostrando el transporte de protones hacia iones de oxígeno ( $\text{O}^{2-}$ ).....	9
13	(a) Proceso de fabricación de los microelectrodos. Las películas de abajo hacia arriba son Si, $\text{SiO}_2$ y Cr/Au. (b) Esquema del arreglo (la película de Cr/Au fue utilizada como el material para el par de electrodos. (c) Imagen SEM del electrodo tipo cepillo (la barra de escala es de $20\ \mu\text{m}$ ).....	10
14	Imágenes SEM de nanohilos de ZnO sintetizados sobre microelectrodos coplanares mediante la aplicación de un campo eléctrico DC de 0.5 V a distintas concentraciones de solución. Las concentraciones son (a,c) 0.04 M y (b,d) 0.03 M. Las barras de escala en (a) y (b) corresponden a $50\ \mu\text{m}$ y $20\ \mu\text{m}$ , respectivamente; las barras en (c) y (d) corresponden a $2\ \mu\text{m}$ .....	10
15	(a) Vista a bajos aumentos del crecimiento de nanohilos en un par de electrodos bajo un campo eléctrico AC de 1.5 V <sub>pp</sub> a 5 MHz y (b) su amplificación. (c) Vista a bajos aumentos de nanohilos en un par de electrodos tipo peine bajo un campo eléctrico AC de 1.5 V <sub>pp</sub> a 1 MHz y (d) su amplificación. (e) Amplificación del segmento definido por la línea punteada en (c).....	11
16	Diagrama del método hidrotermal utilizado para sintetizar las nanocintas de HAp.....	13
17	(a) Arreglo de electrodos fabricado mediante la erosión con FIB sobre un sustrato de $\text{SiO}_2$ con una capa superficial de Au. (b) Sistema en forma de "T" usado para el crecimiento de las nanocintas de HAp y (c) amplificación del arreglo de electrodos.....	14
18	Sistema usado para el crecimiento de las nanocintas de HAp aplicando un campo eléctrico alterno de 3.3 kHz mediante una fuente generadora de pulsos.....	15
19	(a) Esquema de difracción de rayos X por un cristal que satisface la condición de Bragg (DARC, 2015). (b) Diagrama de un sistema de difracción convencional.....	17
20	Esquema de las señales generadas como consecuencia de la interacción electrón-espécimen.....	17
21	Diagrama de las partes que componen un microscopio electrónico de barrido convencional.....	18
22	Imagen del microscopio electrónico de barrido JEOL JIB-4500 utilizado en este proyecto.....	19

23	Proceso de generación de rayos X característicos en un átomo; formación de la vacante en la capa K, seguido del llenado de ésta por un electrón de mayor energía (capa M) y finalmente, la liberación de energía en forma de un rayo X $K\beta$ .....	20
24	(a) Representación esquemática del proceso de XPS, mostrando la fotoionización de un átomo mediante la expulsión de un electrón de la capa 1s. (b) Diagrama esquemático de un espectrómetro XPS.....	21
25	Esquema general de las secciones que conforman un microscopio electrónico de transmisión (TDMU, 2009).....	24
26	Diagrama energético sobre el origen de la dispersión Rayleigh y la dispersión Raman (líneas Stokes y anti-Stokes).....	25
27	Instrumentación empleada para realizar medidas de fotoluminiscencia.....	27
28	Representación esquemática de los procesos que generan la catodoluminiscencia en un material (Boggs y Krinsley, 2006).....	28
29	Diagrama esquemático del sistema de colección de CL adaptado a un SEM JEOL JIB-4500.....	30
30	Comparación entre los patrones de difracción de la HAp y la Ca-D HAp.....	33
31	Patrones de difracción de las muestras S1, S2, S4 y S5, sintetizadas con distintos tiempos de reacción a excepción de las muestras S1 y S2, donde la variación consistió en el procedimiento de síntesis.....	34
32	Espectro de composición elemental típico adquirido para una las muestras de HAp....	34
33	Espectro de XPS de la muestra S2 (24 h), en el que se observan los picos a las energías de enlace pertenecientes a la HAp.....	36
34	Espectro de XPS para las señales de O (1s), Ca (2p) y P (2p), correspondientes a la muestra S2.....	36
35	Imágenes de SEM de las muestras S1 a (a) 5 h, (b) 15 h y (c) 24 h, así como (d) la imagen SEM a altos aumentos de la muestra transcurridas las 24 h de reacción.....	38
36	Micrografías de SEM a altos aumentos de las muestras (a) S2 y (b) S3, ambas de 24 h. (c) Imagen de SEM a bajos aumentos de la muestra S3.....	38
37	Imágenes de SEM de las muestras (a) S4, (b) S5 y (c) S6.....	39

38	Micrografías TEM de la muestra S1 (24 h): (a) panorámica y (b) de una nanocinta individual.....	39
39	(a) Micrografía de TEM de alta resolución de la muestra S2 (24 h), (b) amplificación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.....	40
40	(a) Imagen de TEM de alta resolución de la muestra S4 (30 h), (b) amplificación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.....	40
41	(a) Micrografía de TEM a alta resolución de la muestra S5 (36 h), (b) amplificación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.....	41
42	Imágenes de TEM de la muestra S3 (24 h) a bajos aumentos. Zonas encerradas indican la presencia de defectos en la superficie de la nanoestructura.....	41
43	Micrografía de TEM de la muestra S4 (24 h) a altos aumentos. Zonas remarcadas indican la formación de dominios y desalineación de filas atómicas en una nanocinta.....	42
44	Imágenes de TEM de la formación de poros y deformación de una nanocinta de HAp en la muestra S4 (a) al momento de colocar el haz sobre la nanoestructura y (b) transcurridos 30 segundos de exposición. Zonas remarcadas exhiben la deformación del material.....	43
45	Espectros Raman de las muestras de HAp S2, S4, S5 y S6.....	44
46	Espectros de fotoluminiscencia de las muestras a) S2 (24 h), b) S4 (30 h), c) S5 (36 h) y d) S6 (36 h).....	45
47	Esquema que representa la dependencia de la semi-anchura a media altura (FWHM), medida como la diferencia entre las energías $E_1-E_2$ , con la función de distribución de Fermi $f(E)$ establecida para un nivel de energía dentro de la banda prohibida.....	46
48	Diagrama de los niveles de energía propuestos para las nanocintas de HAp mediante PL.....	47
49	Espectros de catodoluminiscencia de las muestras a) S1, b) S2 y c) S3, con 24 h de reacción cada una; d) S4 de 30 h de reacción; e) S5 y f) S6, con 36 h de reacción.....	48
50	Esquema de los niveles energéticos propuestos para las nanocintas de HAp mediante CL.....	50

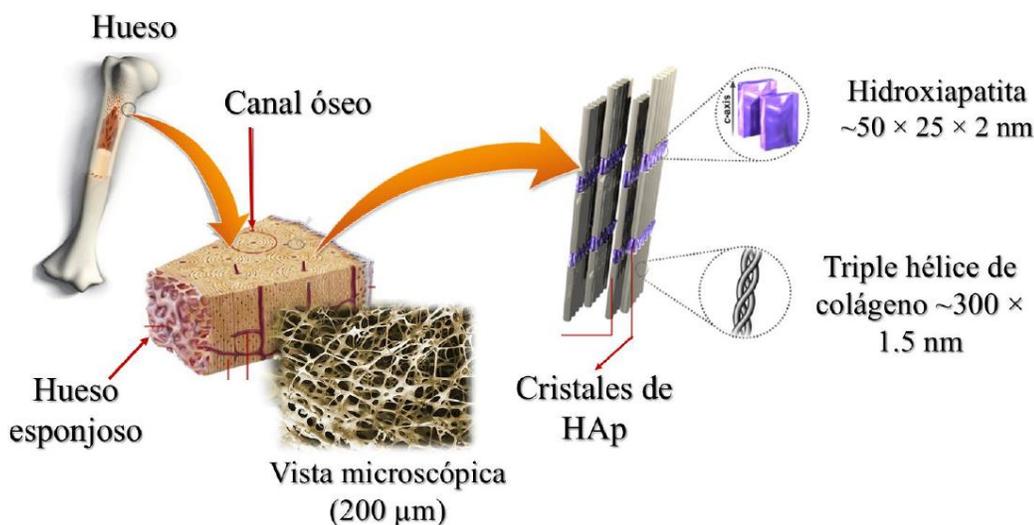
51	Espectros de catodoluminiscencia en el rango infrarrojo cercano de las muestras a) S2 (24 h), b) S4 (30 h), c) S5 (36 h) y d) S6 (36 h).....	51
52	Diagrama de las transiciones electrónicas propuestas para las nanocintas de HAp.....	52
53	(a) Patrones de difracción y (b) espectros Raman de las muestras de nanocintas de HAp S7, S8, S9 y S10.....	54
54	Imágenes de SEM de los microelectrodos tipo (a) ML1, (b) MZ y (c) ML2.....	56
55	Micrografías de SEM de las muestras (a) S7 y (b) S7AC.....	58
56	Imágenes de SEM de las muestras (a) S9, (b) S9AC (con microelectrodos tipo ML1), (c) ampliación de S9AC, (d) S10, (e) S10AC (con microelectrodos tipo MZ) y (f) ampliación de S10AC.....	59
57	Esquema que representa la movilidad iónica a lo largo de una línea atómica de la red de HAp entre dos nanocintas generando su coalescencia.....	59
58	Ilustración del proceso propuesto para la recristalización de las nanocintas de HAp comenzando por (a) la adherencia de las nanocintas de HAp a los microelectrodos de SiO <sub>2</sub> + Au, seguido de (b) la aplicación del campo eléctrico AC para finalmente dar paso a (a) la coalescencia de las nanocintas y por tanto, la generación de microestructuras compactas. $t_{AC}$ : Tiempo de aplicación del campo eléctrico AC.....	60
59	Imágenes de SEM de las muestras (a) S11, (b) S11AC (con microelectrodos tipo ML1), (c) ampliación de S11AC, (d) S12, (e) S12AC (con microelectrodos tipo MZ) y (f) ampliación de S12AC.....	61
60	Espectros de fotoluminiscencia de las muestras (a) S9, (b) S9AC, (c) S10 y (d) S10AC...	62
61	Espectros de CL en el rango visible de las muestras (a) S7, (b) S7AC, (c) S10 y (d) S10AC. Las muestras S7ACy S10AC, poseen microelectrodos tipo ML1.....	63
62	Espectros de CL en el rango visible de las muestras (a) S9, (b) S9AC, (c) S11, (d) S11AC, (e) S12 y (f) S12AC.....	65
63	Espectros de CL en el rango NIR de las muestras (a) S7, (b) S7AC, (c) S9, (d) S9AC, (e) S10 y (f) S10AC.....	66

## Lista de tablas

Tabla		Página
1	Morfologías de HAP nanocristalina obtenidas por distintos métodos de síntesis.....	3
2	Muestras de HAp obtenidas por el método hidrotermal.....	32
3	Análisis cuantitativo de las muestras de HAp obtenido mediante EDS.....	35
4	Análisis cuantitativo de las muestras de HAp S2, S4 y S5, realizado por XPS.....	37
5	Muestras de HAp en polvo y sus correspondientes muestras de HAp recristalizada mediante la aplicación de un campo eléctrico alterno.....	53
6	Muestras de HAp recristalizada con el tipo de microelectrodos utilizados para cada muestra.....	55
7	Resultados del análisis cuantitativo realizado por EDS para las muestras de nanocintas de HAp y su respectiva muestra de HAp recristalizada.....	57

## Capítulo 1. Introducción

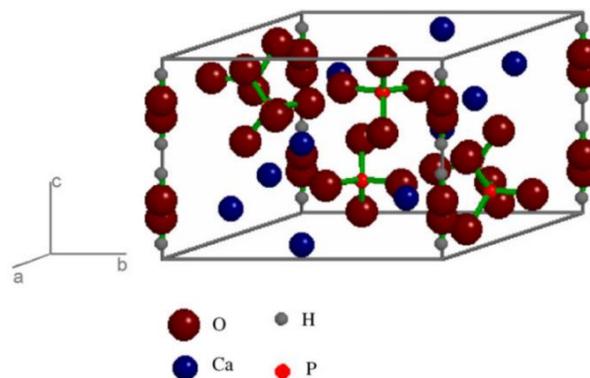
La hidroxiapatita (HAp) natural es el componente biomineral principal encontrado en tejidos óseos como dientes y huesos (Figura 1), en la forma de  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  con una relación atómica Ca/P de 1.67 (Kantharia et al., 2014). Desde hace varias décadas, se ha obtenido HAp sintética tanto cristalográfica como químicamente comparable a la HAp natural (Park y Lakes, 1992), que presenta excelente biocompatibilidad, bioactividad y osteoconducción (Liu et al., 1997), siendo utilizada en una gran variedad de aplicaciones biomédicas como remplazo en defectos de hueso, agente de suministro de fármacos y recubrimiento bioactivo en implantes metálicos y en materiales dentales (Sadat-Shojai et al., 2013). Además, si la HAp es dopada con iones de tierras raras, esta puede ser utilizada como agente de contraste para tomar imágenes de resonancia magnética, rayos X y termografía infrarroja, incluso usarla como una sonda fluorescente en tecnologías médicas (Zavala-Sanchez et al., 2015).



**Figura 1.** Esquema de la estructura jerárquica del hueso a distintas escalas de longitud. Imagen tomada del trabajo de tesis de maestría de Zavala (2015).

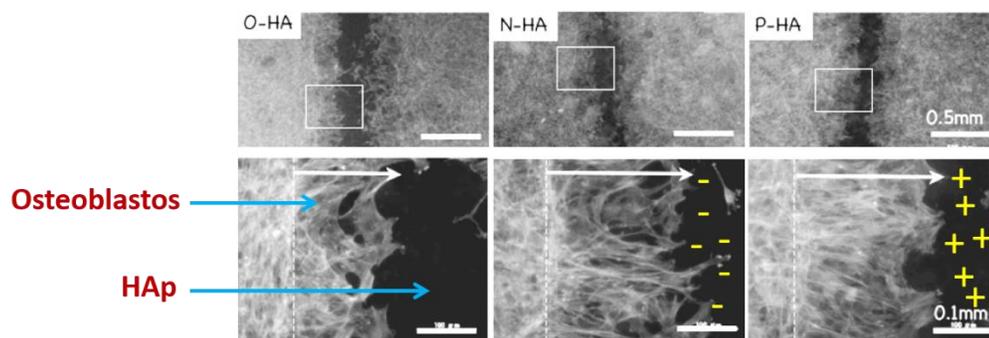
La hidroxiapatita posee una estructura cristalina hexagonal con un grupo espacial  $P6_3/m$  (Figura 2), siendo el fosfato de calcio termodinámicamente más estable a un pH fisiológico ( $\text{pH} \geq 5.4$ ), cuyas propiedades cristalográficas, físicas y químicas se ven afectadas por la sustitución de iones como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $(\text{PO}_4)^{3-}$  o grupos  $\text{OH}^-$  (Mostaf y Brown, 2007). A pesar de su excelente fuerza de compresibilidad, la HAp a macroescala tiene la desventaja de ser torsionalmente débil (con un módulo de elasticidad alto), es decir,

sumamente frágil. Debido a esto, el uso de la hidroxiapatita se encuentra un tanto restringido a aplicaciones que no sean de soporte de carga o como un recubrimiento de materiales más fuertes como acero inoxidable y titanio (Rezwan et al., 2006).



**Figura 2.** Celda unitaria de la hidroxiapatita en el grupo espacial  $P6_3/m$ .

Entre las diversas estructuras de HAp, la HAp nanométrica (también conocida como nanopartículas de HAp) con la estequiometría, morfología y pureza adecuada, provoca un gran interés en la investigación científica (Sadat-Shojai et al., 2013). La nano-hidroxiapatita (nano-HAp) parece capaz de rectificar los problemas de la HAp estándar, pues la nano-HAp posee una fuerza mayor debido al incremento en aspereza, área y densidad superficial, mejorando sus propiedades mecánicas bajo carga. La nano-HAp, que tiene un tamaño de grano de menos de 100 nm en al menos una dirección, tiene actividad superficial alta y una estructura cristalina similar al mineral que se encuentra en tejidos duros (Vallet-Regi y Gonzalez-Calbet, 2004). Se sabe que los materiales biocerámicos que imitan el mineral óseo en composición y estructura, pueden promover más fácilmente la osteointegración y la formación de tejido óseo posterior. Dado que la HAp se encuentra en los tejidos duros fisiológicos como nanocristales en forma de placas o varillas que poseen unos pocos nanómetros de espesor y decenas de nanómetros de longitud, se cree que la nano-HAp es el mejor material a utilizar para la sustitución y regeneración ósea (Cai et al., 2007). Un ejemplo de esto es el trabajo de Nakamura et al. (2008), donde se encontró que al polarizar (inducir una carga) la superficie de estructuras compactas de HAp, se acelera la reorganización del citoesqueleto de las células adheridas a ella (Figura 3).



**Figura 3.** Imágenes fluorescentes de células tipo osteoblastos alrededor de la herida. O-HA es HAp sin carga superficial, N-HA es HAp con carga superficial negativa y P-HA es HAp con carga superficial positiva (Nakamura et al., 2008).

Numerosos métodos han sido utilizados para la síntesis de HAp incluyendo precipitación, hidrólisis, sol-gel, sonoquímica, emulsión, hidrotérmal, combustión, electrodeposición, entre otros, mediante los cuales es posible obtener nano-HAp con diversas morfologías. En la Tabla 1, se enlistan algunas de las posibles morfologías a obtener mediante distintas rutas de síntesis (Wang et al., 2008). Siendo de particular interés la síntesis y recristalización de HAp nanocristalina en forma de nanoestructuras alargadas, la técnica de síntesis más apropiada para este proyecto es la hidrotérmal, debido a la facilidad, rapidez y costo accesible del método, además de la alta cristalinidad con la que se obtiene el producto.

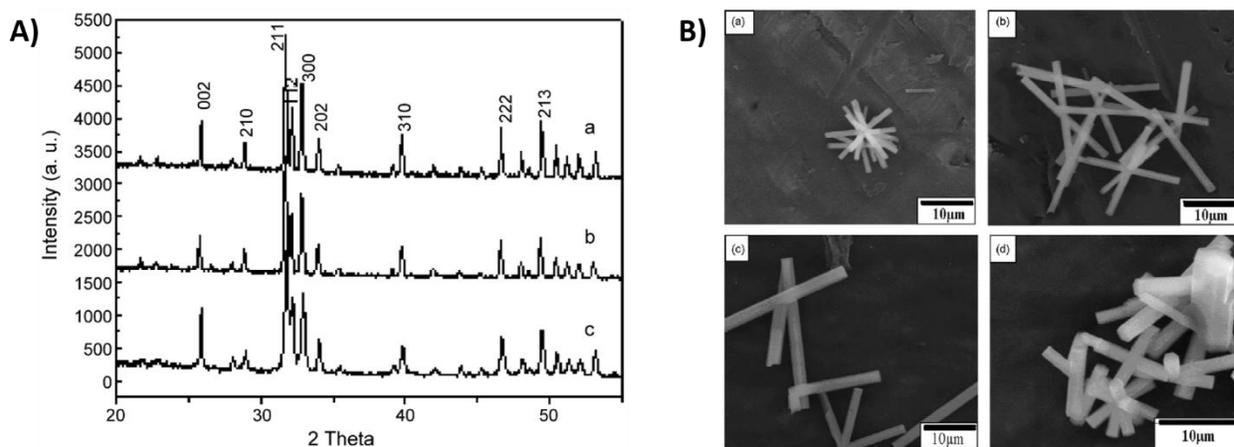
**Tabla 1.** Morfologías de HAp nanocristalina obtenidas por distintos métodos de síntesis.

Morfología	Nombres en la literatura	Intervalo de tamaño	Métodos de síntesis
	Irregular, sin forma	5 nm – 200 $\mu$ m	Precipitación, hidrólisis, sol-gel, hidrotérmal, emulsión, sonoquímica, combustión
	Esfera, microesfera, nanoesfera	10 nm – 1000 $\mu$ m	Precipitación, sol-gel, hidrotérmal, emulsión, sonoquímica, combustión
	Varilla, aguja, tubo, filamento, fibra, alambre, hilo	Longitud: 10 nm – 150 $\mu$ m Diámetro: 3 nm – 50 $\mu$ m	Precipitación, hidrólisis, sol-gel, hidrotérmal, emulsión, sonoquímica, combustión
	Placa, hojuela, lámina	Longitud: 40 nm – 50 $\mu$ m Anchura: 20 nm – 35 $\mu$ m Espesor: 5 nm – 3 $\mu$ m	Precipitación, hidrotérmal

## 1.1 Antecedentes

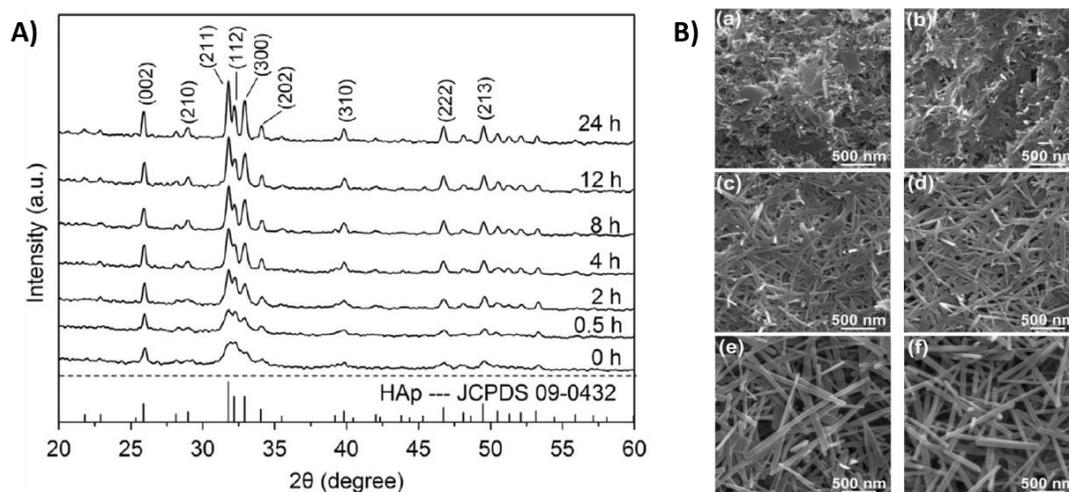
### 1.1.1 Síntesis de hidroxiapatita por el método hidrotermal

La síntesis hidrotermal de cristales de hidroxiapatita (HAp) hexagonal utilizando fosfato de sodio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) y nitrato de calcio [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ] como reactivos, y ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) como agente quelante, se reportó por Wang et al. en el año 2008. Los estudios de difracción de rayos X (DRX) de estas muestras [Figura 4 (A)] revelaron la formación de HAp altamente cristalina con un crecimiento preferencial orientación a lo largo del eje [0001]. Los estudios de microscopía electrónica de barrido (SEM) mostraron la obtención de cristales de diversos tamaños de acuerdo al valor del pH usado durante su síntesis, además del tiempo y temperatura de la reacción hidrotermal, y la relación molar EDTA/Ca, como se observa en la Figura 4 (B). La síntesis hidrotermal sin el uso de aditivos para obtener nanocintas de HAp partiendo de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  e hidróxido de sodio (NaOH) fue reportada en 2017 por Wang G. y colaboradores.



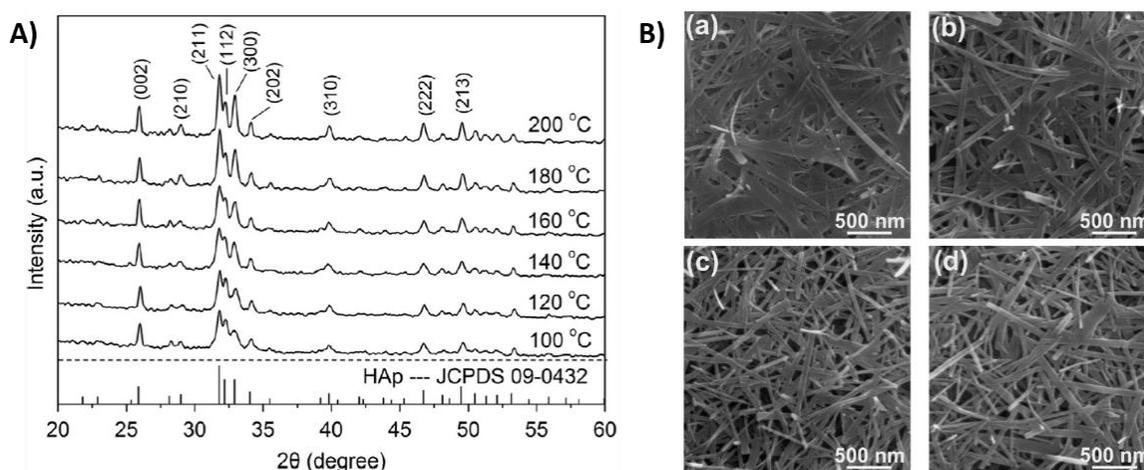
**Figura 4.** (A) Patrones de XRD de los productos preparados por 12 h a un pH de 12.9 a (a) 200 °C y (b) 160 °C, y (c) con un pH de 11.4 y relación molar EDTA/Ca de 0.8 a 200 °C. (B) Micrografías de SEM de los productos obtenidos por 12 h a un pH de 12.9 con una temperatura de reacción de (a) 160 °C y (b) 200 °C, y de los productos sintetizados a 200 °C por 12 h a pH de 11.4 con relación molar EDTA/Ca de (c) 0.8 y (d) 1.05.

Se estudió el efecto de la temperatura y tiempo de reacción para la preparación de HAp, realizando experimentos de síntesis a 200 °C variando el tiempo de reacción de 0 h a 24 h (Figura 5), y a un tiempo de 8 h variando la temperatura de reacción de 100 °C a 200 °C (Figura 6), manteniendo un pH fijo de 11.5 para ambos casos.

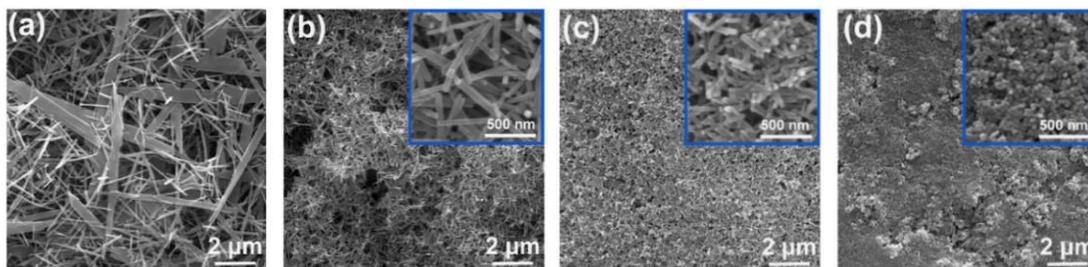


**Figura 5.** (A) Patrones de difracción de las nanocintas de HAp obtenidas a 200 °C variando el tiempo de reacción de 0 h a 24 h, y (B) las micrografías SEM de dichas muestras con tiempos de reacción de (a) 0 h, (b) 0.5 h, (c) 2 h, (d) 4 h, (e) 12 h y (f) 24 h.

Asimismo, se llevó a cabo la síntesis sin NaOH para observar el efecto de la ausencia de este reactivo en la morfología de la HAp nanocristalina (Figura 7). Como resultados se encontró que tanto el aumento de temperatura como el de tiempo de reacción, incrementan el grado de cristalinidad de las nanocintas de HAp, además de mejorar la uniformidad de éstas en tamaño y forma. En el caso de la preparación de HAp nanocristalina sin el uso de NaOH, se observó la falta de control respecto a la morfología pues, al no tener un pH fijo de 11.5, se obtuvieron diversas morfologías a distintos valores de pH, lo cual coincide con lo ya reportado en la literatura respecto a la influencia del pH sobre la morfología y tamaño en cristales de HAp.



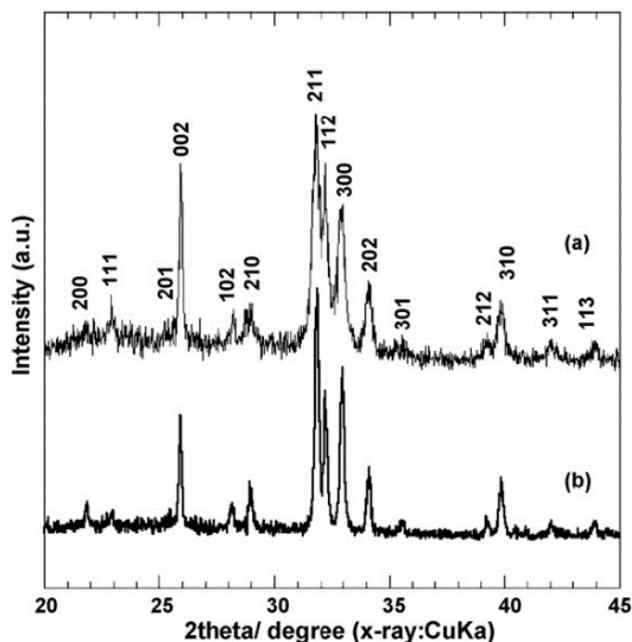
**Figura 6.** (A) Patrones de difracción de las nanocintas de HAp con un tiempo de reacción de 8h variando la temperatura de 100 °C a 200 °C, y (B) las micrografías SEM de dichas muestras con tiempos de reacción de (a) 100 °C, (b) 120 °C, (c) 140 °C y (d) 160 °C.



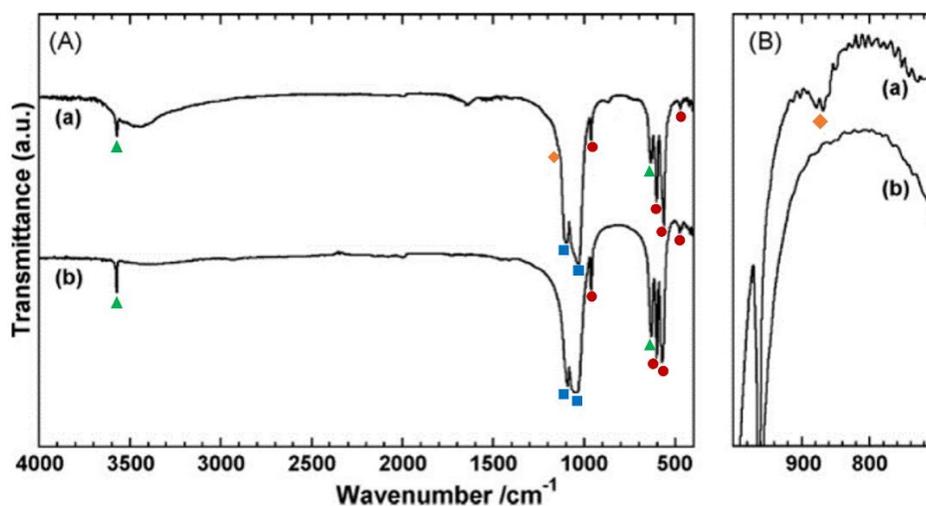
**Figura 7.** Imágenes SEM de las muestras de HAp sintetizadas (a) sin NaOH y preparadas a un pH de (b) 10.5, (c) 12.0 y (d) 12.5.

### 1.1.2 Conductión iónica en hidroxiapatita

El estudio de las propiedades de conducción iónica en HAp sintetizada por el método hidrotermal a partir de fosfato de calcio amorfo (ACP) fue publicado por Tanaka et al. en 2009. Las muestras estudiadas fueron nanoestructuras tipo “bigotes”, cuyas propiedades de cristalinidad y estructura química, caracterizadas por XRD y espectroscopía de infrarrojo (IR), y se compararon con polvos de HAp de alta pureza. Se encontraron similitudes en la cristalinidad y pureza de ambas muestras como revelan el espectro de XRD (Figura 8) y el espectro de IR (Figura 9). La Figura 9 muestra las señales a  $870\text{ cm}^{-1}$  y  $1145\text{ cm}^{-1}$ , atribuidas a dos modos de vibración de los iones  $\text{HPO}_4^{2-}$ .

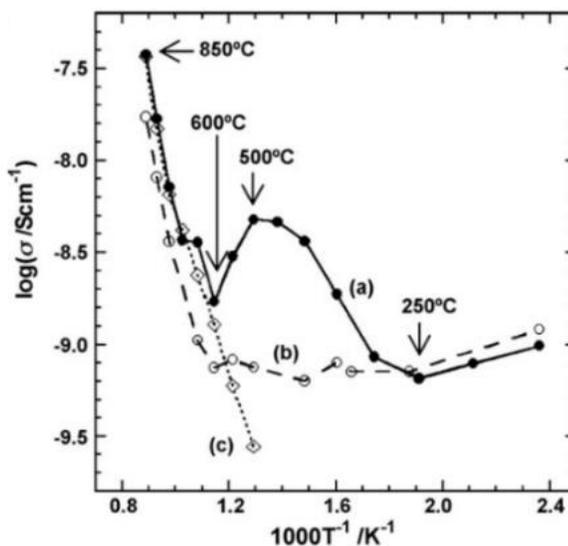


**Figura 8.** Patrones XRD de (a) bigotes de HAp y (b) polvo de HAp.



**Figura 9.** (A) Espectro IR de (a) bigotes de HAp y (b) polvo de HAp; (B) amplificación de dichos espectros en un intervalo de 700 a 1000  $\text{cm}^{-1}$ . Los pequeños cuadros y círculos indican los picos de estiramiento y doblamiento de  $\text{PO}_4^{3-}$ , respectivamente; los triángulos corresponden a picos de  $\text{OH}^-$  y los rombos indican picos de  $\text{HPO}_4^{2-}$ .

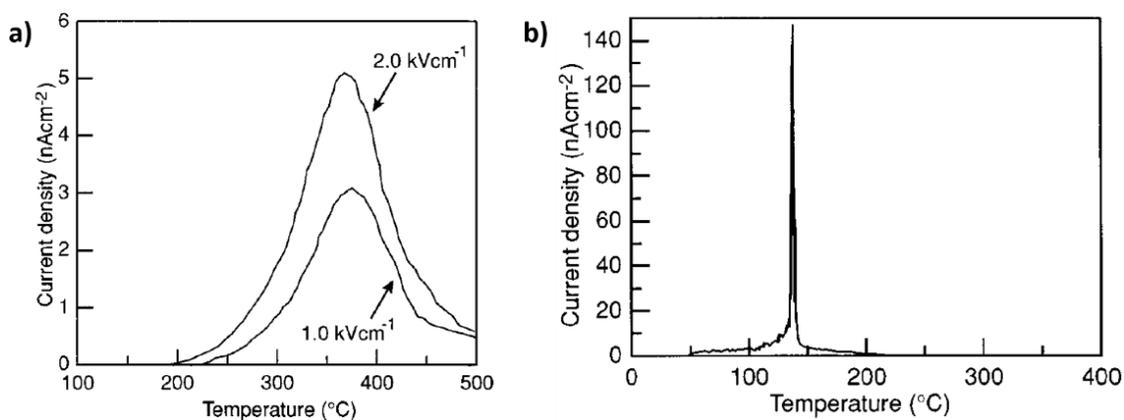
Para los experimentos de conducción iónica, se realizaron medidas de impedancia compleja en un intervalo de temperatura de 200 a 400  $^{\circ}\text{C}$  para bigotes y polvos de HAp, así como como para HAp sinterizada. Los resultados se presentan en la gráfica de Arrhenius (Figura 10), donde se observa que los bigotes de HAp muestran una mayor conductividad iónica en un rango de temperatura de 250 a 600  $^{\circ}\text{C}$ , lo cual fue atribuido a los iones  $\text{HPO}_4^{2-}$  contenidos en la estructura de esta muestra.



**Figura 10.** Gráficas de Arrhenius para la conducción iónica en (a) bigotes de HAp compactados, (b) polvo de HAp compactado y (c) HAp sinterizada.

### 1.1.3 Polarización eléctrica en hidroxiapatita

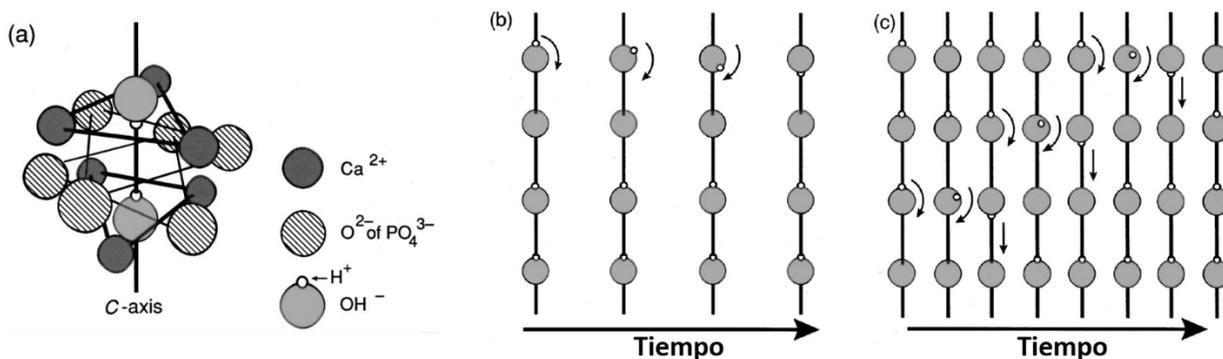
El fenómeno de conducción iónica observado en la HAp se genera por las propiedades de polarización eléctrica observadas en su estructura cristalina, la cual ha sido atribuida por Nakamura et al. (2001) a la inestabilidad eléctrica de los iones  $H^+$  (protones) en el ion compuesto  $(OH)^-$ . Estos autores realizaron mediciones de la polarización eléctrica de la HAp usando la técnica de Despolarización de Corriente Inducida Térmicamente (TSDC, por sus siglas en inglés). Esta técnica consiste en colocar el material en estudio entre dos electrodos, los cuales son enfriados (típicamente 100 K) para remover la carga de polarización intrínseca del material (despolarización) para posteriormente calentarlos gradualmente hasta temperaturas máximas de 700 K. Las mediciones del grupo de Nakamura mostraron como señal de polarización de la HAp un pico muy ancho en el espectro de densidad de corriente contra temperatura (J-T), contrastando con los picos angostos típicamente observados en los materiales piezoeléctricos (Figura 11).



**Figura 11.** (a) Espectro de TSDC de HAp polarizada a 573 K aplicando campos eléctricos de 1 y 2 kV/cm. (b) Típico espectro de TSDC obtenido de un material ferroeléctrico de  $BaTiO_3$ .

Como se ha mencionado, el mecanismo de polarización eléctrica en la estructura de HAp ocurre debido al transporte de iones  $H^+$  provenientes de los grupos hidroxilos alineados a lo largo de la dirección  $[0001]$ . La inestabilidad del protón  $H^+$  en los iones  $OH^-$  genera que alguno de estos pueda orientarse antiparalelamente con el resto de iones  $OH^-$  a lo largo de la dirección  $c$ , produciendo con ello la migración del protón  $H^+$  hacia iones de oxígeno de la red ( $O_2^-$ ). Este mecanismo se ilustra en la Figura 12. En este modelo la polarización eléctrica en la red de HAp es generada por la transferencia de protones de los iones

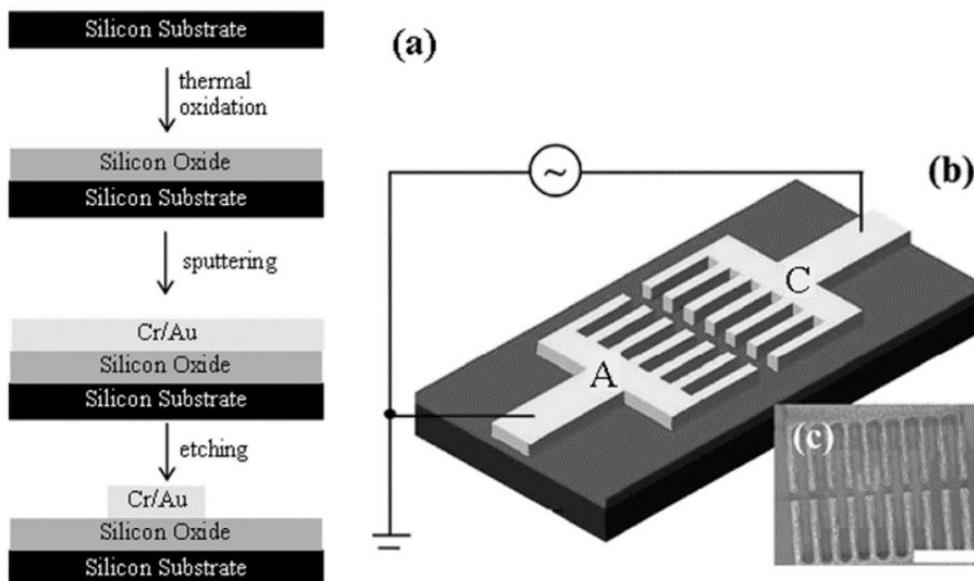
hidroxilo a los iones de  $O^{2-}$  que forman a los iones fosfato ( $PO_4^{3-}$ ). La carga eléctrica superficial máxima medida en HAp pura ha sido de  $15 \mu C/cm^2$ , y es suficientemente alta para ser usada en interacciones reconstructivas para la regeneración ósea (Ueshima et al., 2002).



**Figura 12.** Ilustraciones esquemáticas de (a) un ambiente atómico alrededor de los iones  $OH^-$ , (b) iones hidroxilo orientados a lo largo de la dirección c mostrando una inestabilidad de protón ( $H^+$ ) y (c) iones hidroxilo de la HAp mostrando el transporte de protones hacia iones de oxígeno ( $O^{2-}$ ).

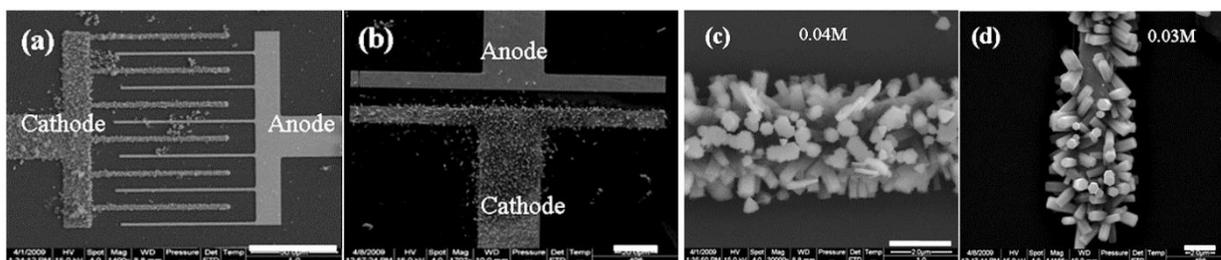
#### 1.1.4 Crecimiento de nanoestructuras inducido por un campo eléctrico

De forma análoga a la HAp el ZnO presenta una polarización eléctrica a lo largo de la dirección cristalográfica [0001]. Ambos compuestos poseen una estructura hexagonal formada por enlaces iónicos. La polarización eléctrica del ZnO se ha aprovechado para sintetizar nanoestructuras en presencia de campos eléctricos. Previamente Zhu et al. reportaron en 2010, la síntesis de nanoalambres (NW's) cristalinos de óxido de zinc (ZnO) mediante un método químico húmedo asistido por campos eléctricos, aplicados mediante microelectrodos coplanares colocados sobre un sustrato de silicio. Dichos electrodos fueron utilizados para inducir un crecimiento alineado de nanoalambres de ZnO. El proceso de fabricación de los electrodos se muestra la Figura 13 (a). Para investigar los efectos de la geometría de los electrodos en la formación de los nanocables, se utilizaron diversas formas para los electrodos, tales un arreglo tipo cepillo con múltiples puntas enfrentadas "cara a cara" [Figura 13 (b) y (c)].



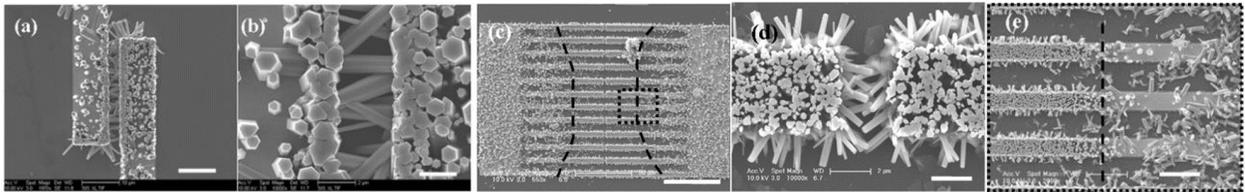
**Figura 13.** (a) Proceso de fabricación de los microelectrodos. Las películas de abajo hacia arriba son Si, SiO<sub>2</sub> y Cr/Au. (b) Esquema del arreglo (la película de Cr/Au fue utilizada como el material para el par de electrodos). (c) Imagen SEM del electrodo tipo cepillo (la barra de escala es de 20 μm).

Los dos electrodos sirvieron como ánodo (A) y cátodo (C), durante la nucleación del ZnO durante el crecimiento de los NW's. Los resultados revelaron que el crecimiento y alineación de los nanoalambres de ZnO es afectado significativamente por los campos eléctricos aplicados. Bajo un campo eléctrico de corriente directa (dc), los NW's crecen predominantemente en el cátodo, como se observa en la Figura 14.



**Figura 14.** Imágenes SEM de nanohilos de ZnO sintetizados sobre microelectrodos coplanares mediante la aplicación de un campo eléctrico DC de 0.5 V a distintas concentraciones de solución. Las concentraciones son (a,c) 0.04 M y (b,d) 0.03 M. Las barras de escala en (a) y (b) corresponden a 50 μm y 20 μm, respectivamente; las barras en (c) y (d) corresponden a 2 μm.

Por otra parte, los nanoalambres obtenidos bajo un campo eléctrico alterno (AC) con frecuencias de 1-5 megaHertz, crecen simétricamente tanto en el ánodo como en el cátodo. Estos últimos fueron obtenidos con alta densidad y orientados hacia los extremos opuestos de los electrodos (Figura 15). Este control de crecimiento y alineación de nanocables de óxido de zinc resulta prometedor para integrar distintos nanomateriales en dispositivos nanoelectromecánicos (NEMS).



**Figura 15.** (a) Vista a bajos aumentos del crecimiento de nanohilos en un par de electrodos bajo un campo eléctrico AC de 1.5 V<sub>pp</sub> a 5 MHz y (b) su amplificación. (c) Vista a bajos aumentos de nanohilos en un par de electrodos tipo peine bajo un campo eléctrico AC de 1.5 V<sub>pp</sub> a 1 MHz y (d) su amplificación. (e) Amplificación del segmento definido por la línea punteada en (c).

## 1.2 Hipótesis

La presencia de campos eléctricos durante la síntesis hidrotérmal de nanocintas de hidroxiapatita inducirá su recristalización.

## 1.3 Objetivos

### 1.3.1 Objetivo general

Sintetizar nanocintas de HAp mediante el método hidrotérmal y llevar a cabo su recristalización aplicando campos eléctricos.

### 1.3.2 Objetivos específicos

- a) Sintetizar nanoestructuras de HAp por el método hidrotermal a presión atmosférica y establecer los valores óptimos de los parámetros de reacción.
- b) Determinar las propiedades cristalográficas, morfológicas y de composición atómica de las nanoestructuras de HAp.
- c) Fabricar un arreglo de electrodos de Au tipo dentado usando la erosión con iones de Ga focalizados (FIB).
- d) Recristalizar las nanocintas de HAp en presencia de un campo eléctrico aplicado mediante los electrodos de Au.
- e) Determinar las propiedades cristalográficas, morfológicas y de composición atómica de la HAp recristalizada.
- f) Valorar cualitativamente la concentración de defectos nativos en las nanoestructuras de HAp previo y posterior a la aplicación de un campo eléctrico alterno.

## Capítulo 2. Metodología

### 2.1 Síntesis de nanoestructuras de hidroxiapatita por el método hidrotermal

Para la síntesis de HAp [ $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ] por el método hidrotermal (Figura 16) se prepararon inicialmente dos soluciones acuosas (0.1 M): la primera de nitrato de calcio tetrahidratado [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  99 %, Alfa-Aesar, A16645], disolviendo 1.577 g del reactivo en 66.8 mL de agua desionizada; y la segunda de fosfato de amonio [ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  98 %, Alfa Aesar, 11597], disolviendo 0.528 g de éste en 40 mL de agua desionizada. Las cantidades de los reactivos y agua utilizados, se ajustaron de forma que se mantuviera una relación de Ca/P= 1.67. La primera solución se colocó en un matraz volumétrico de 3 bocas y se calentó hasta llegar los 100 °C bajo agitación magnética constante (la cual se mantuvo hasta terminar la reacción). Una vez alcanzada dicha temperatura, se agregó la segunda solución gota a gota. La solución resultante se mantuvo bajo agitación magnética a 100 °C, mientras que el tiempo de reacción varió de 24 a 36 h para cada experimento. Una vez terminada la reacción, el precipitado blanco formado se separó por filtración y se lavó con agua desionizada hasta obtener un pH de 7. El producto se secó a 100 °C durante 1 h y posteriormente se trituró, obteniendo como resultado un polvo blanco.



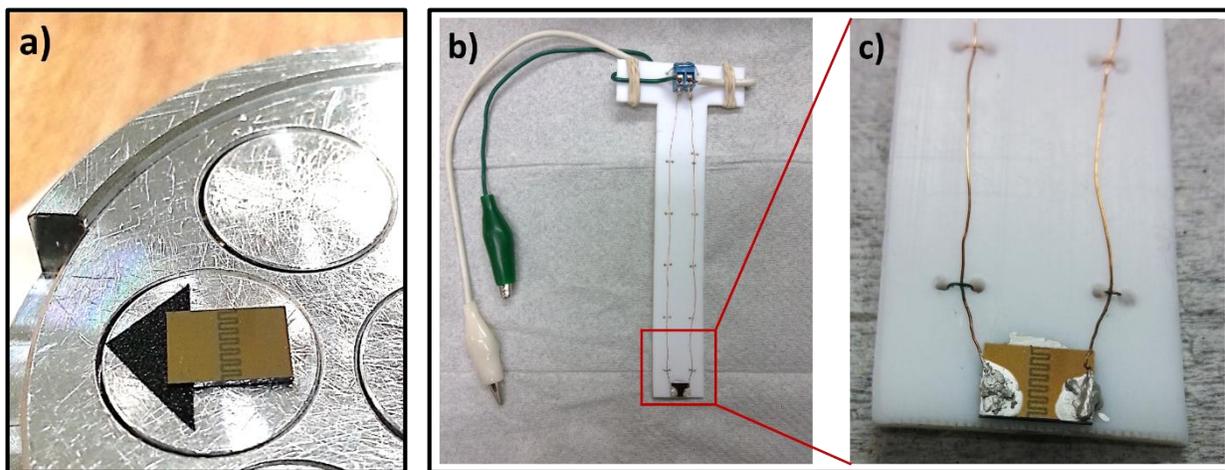
**Figura 16.** Diagrama del método hidrotermal utilizado para sintetizar las nanocintas de HAp.

### 2.2 Fabricación de electrodos mediante erosión con iones de galio focalizados

Para sintetizar la HAp en presencia de campos eléctricos se utilizó un arreglo de electrodos de Au, el cual se fabricó siguiendo este procedimiento: Primero se lavó un monocristal de silicio (100) con acetona de alta pureza en baño ultrasónico por 2 min; se dejó secar y después fue tratada bajo un flujo de oxígeno

de  $20 \text{ cm}^3/\text{min}$  a  $1000 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 16 horas para obtener una placa de dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ). Utilizando una evaporadora convencional, se depositó una película de oro (Au) sobre un sustrato de  $\text{SiO}_2$  en dos formas distintas: 1) recubriendo toda la superficie del sustrato, o bien, 2) depositando una franja de Au, longitudinal al sustrato, con la ayuda de una mascarilla. Finalmente, se utilizó la técnica de erosión con iones de galio focalizados (FIB), adaptada al SEM, que consiste, como su nombre lo indica, en erosionar con el haz de iones de galio (Ga) una superficie, en este caso el depósito de Au preparado sobre el sustrato de  $\text{SiO}_2$ . El diámetro del haz utilizado fue de  $10 \mu\text{m}$  y se realizaron dos tipos de erosión: Una en línea recta y otra en forma de onda cuadrada. En la Figura 17 (a) se muestra un ejemplo de los arreglos de electrodos de Au obtenidos mediante FIB.

Se fabricó un sistema para dicho arreglo partiendo de una base de teflón en forma de "T", con la finalidad de poder sujetarla en una de las bocas del matraz donde se realizó la síntesis de las nanocintas de HAp. En la parte superior se colocó un par de pines conectados a un cable con un par de caimanes; en la parte inferior se colocaron los microelectrodos de Au usando pintura de plata como pegamento y se utilizaron dos alambres de cobre para conectar cada pin con su correspondiente electrodo. El sistema final se puede apreciar en las Figuras 17 (b) y (c).



**Figura 17.** (a) Arreglo de electrodos fabricado mediante la erosión con FIB sobre un sustrato de  $\text{SiO}_2$  con una capa superficial de Au. (b) Sistema en forma de "T" usado para el crecimiento de las nanocintas de HAp y (c) ampliación del arreglo de electrodos.

## 2.3 Recristalización de nanoestructuras de HAp aplicando un campo eléctrico de corriente alterna

Se utilizó el sistema en forma de “T” con el arreglo de electrodos de oro, preparado anteriormente. Durante los últimos 15 minutos de síntesis de la HAp, se sumergió el sistema previamente conectado a una fuente generadora de pulsos para suministrar un campo eléctrico de corriente alterna (AC) con una frecuencia de 3.3 kHz, como se muestra en la Figura 18. Una vez terminados los 15 minutos, se retiraron los electrodos de la solución de HAp y se dejaron secar a temperatura ambiente.



**Figura 18.** Sistema usado para el crecimiento de las nanocintas de HAp aplicando un campo eléctrico alterno de 3.3 kHz mediante una fuente generadora de pulsos.

## 2.4 Técnicas de caracterización empleadas

### 2.4.1 Difracción de Rayos X (DRX)

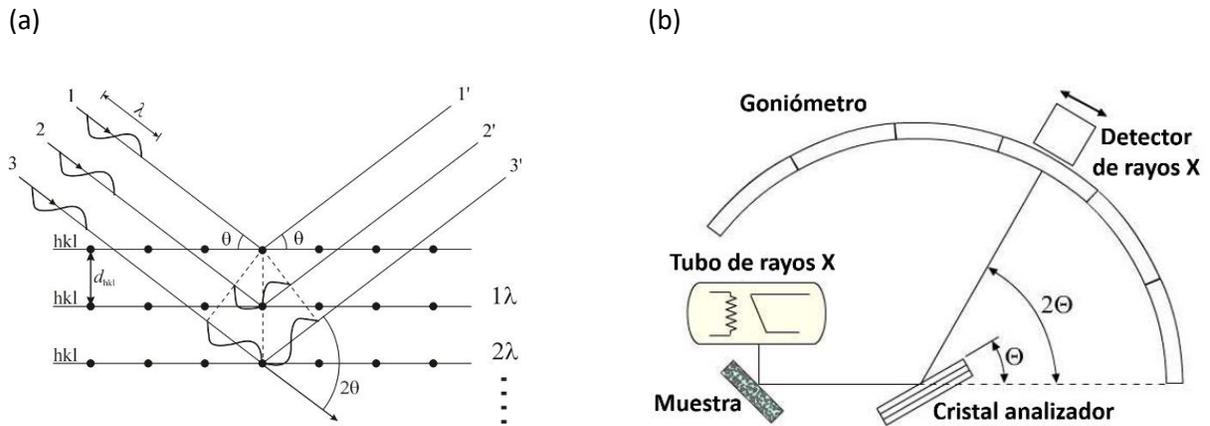
Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética de naturaleza similar a la luz pero con longitud de onda  $\lambda$  mucho menor (entre 10 y  $10^{-3}$  nm) y por tanto, con energías que van desde 100 eV hasta 100 keV (Waseda et al., 2011). Uno de los fenómenos que resultan de la interacción de los rayos X

con un material sólido es el de difracción, que ocurre cuando algunos fotones del haz incidente se desvían sin pérdida de energía, constituyendo radiación dispersa con la misma  $\lambda$  que la radiación incidente. Los átomos que componen dicho material, dispersan la radiación incidente en todas direcciones y en algunas de ellas, los rayos dispersados estarán en fase completamente, reforzándose mutuamente para producir un rayo difractado con intensidad suficiente para ser detectado. Para que esto suceda, se debe cumplir la *Ley de Bragg*:

$$2d_{hkl} \sin \theta = n\lambda, \quad (1)$$

donde  $d_{hkl}$  es la distancia interplanar que genera la difracción,  $\theta$  el ángulo de difracción,  $n$  es un entero y  $\lambda$  es la longitud de onda del rayo X incidente. Esta ley, representada en la Figura 19 (a), relaciona la longitud de onda de la radiación electromagnética, al ángulo de difracción y la distancia interplanar en una muestra cristalina (Bunaciu et al., 2015). La difracción de rayos X es una técnica que se usa con el propósito de identificar la estructura cristalina de un material. Un difractómetro de rayos X consta de 3 elementos principales: Un tubo de rayos X, un portamuestras y un detector de rayos X. Los rayos X incidentes utilizados para irradiar la muestra se generan en un tubo de rayos catódicos. Estos rayos se filtran para producir una radiación monocromática y colimados para alinearlos y formar un haz paralelo que se hace incidir en la muestra [Figura 19 (b)]. Durante la medición de difracción de rayos X la muestra y el detector se hacen girar, variando el ángulo de difracción  $\theta$ , con la ayuda de un goniómetro, para registrar los cambios en la intensidad de los rayos difractados. Cuando se satisface la condición de Bragg, la interferencia de los rayos X difractados por los planos atómicos es constructiva, generándose con ello un incremento en la intensidad de los rayos X difractados. El detector de rayos X registra y procesa la intensidad de esta señal, convirtiéndola en un conteo de pulsos para cada valor de  $\theta$ , lo cual permite generar un gráfico denominado *patrón de difracción*. Dichos patrones contienen información de los planos cristalinos de una muestra que se identifican típicamente para valores de  $2\theta$  en un intervalo de 5 a 70 grados, presentando picos de difracción con diferentes intensidades.

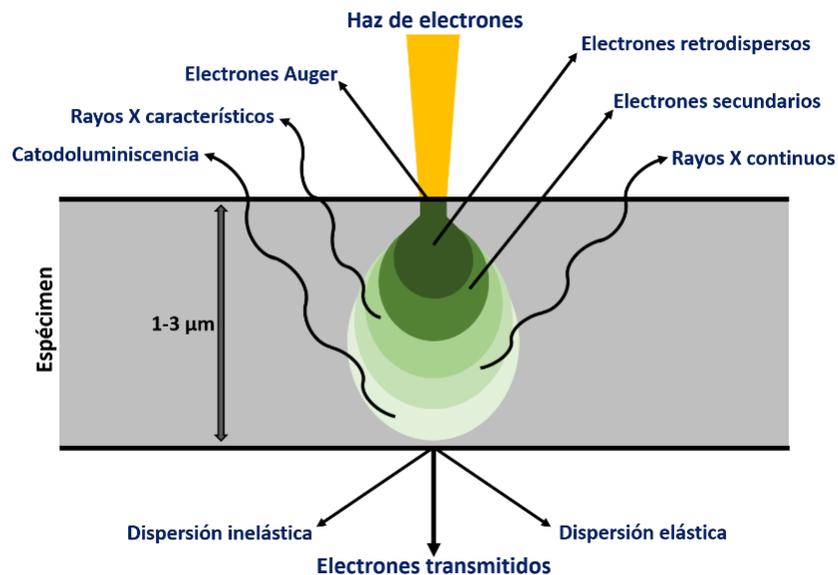
La estructura cristalina de las nanocintas de HAp se determinó mediante difracción de rayos X (XRD), utilizando un difractómetro *Philips X'pert MPD X-ray* con radiación  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1.5405 \text{ \AA}$ ) para adquirir difractogramas con un tamaño y tiempo de paso de  $0.02^\circ$  y 1 s respectivamente, en un intervalo  $2\theta$  de 20 a 70 grados. Los patrones de difracción de rayos X obtenidos se compararon con la base de datos (*PDF card data base*), utilizando las fichas DRX #09-0432 y #046-0905 (Anexo A) para la hidroxiapatita estequiométrica y la hidroxiapatita deficiente en calcio (Ca-D HAp), respectivamente.



**Figura 19.** (a) Esquema de difracción de rayos X por un cristal que satisface la condición de Bragg (DARC, 2015). (b) Diagrama de un sistema de difracción convencional.

## 2.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

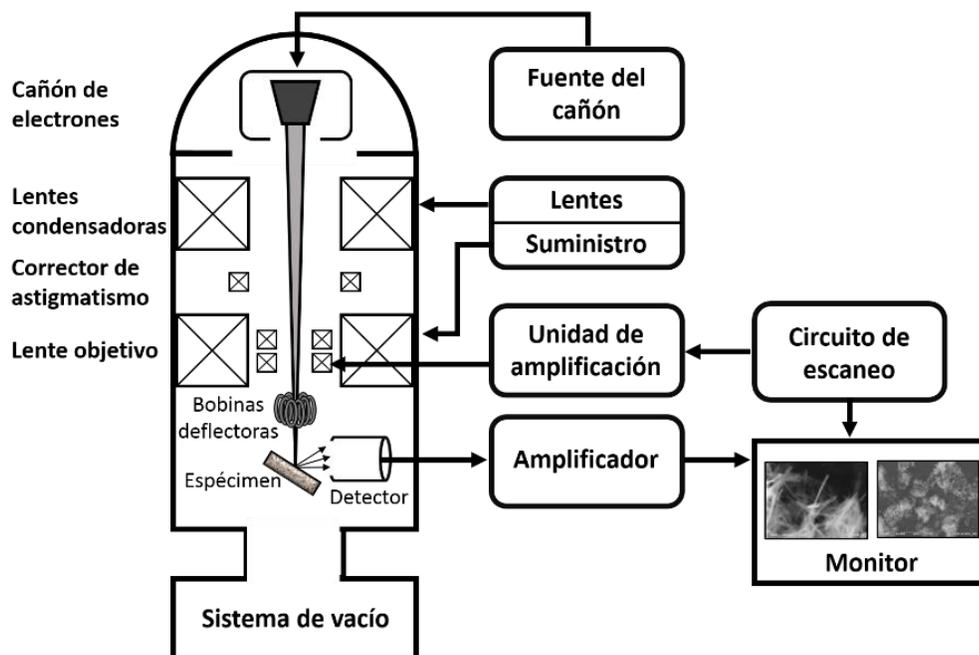
La interacción de un haz de electrones acelerados con la superficie de un sólido resulta en la dispersión elástica e inelástica de estos electrones, los cuales van propagándose lateralmente conforme penetran el sólido, perdiendo energía gradualmente y a su vez, generando diversas señales como se muestra en la Figura 20. El funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido se basa en esta interacción electrón-espécimen, la cual varía de acuerdo a cambios en la topografía y/o composición del espécimen analizado (Egerton, 2015).



**Figura 20.** Esquema de las señales generadas como consecuencia de la interacción electrón-espécimen.

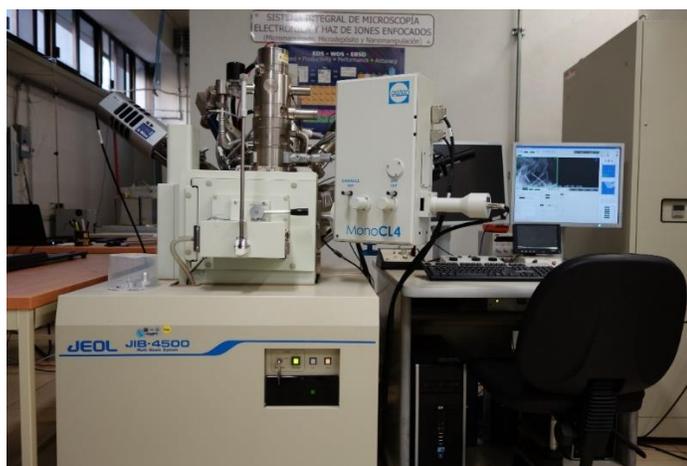
Un SEM (Figura 21) consiste en dos partes principales: la columna del microscopio que contiene un cañón de electrones, lentes y bobinas deflectoras electromagnéticas, aperturas, portamuestras y los detectores; y la parte electrónica que está conformada por las fuentes de alimentación para el voltaje de aceleración de los electrones y las lentes electromagnéticas, el generador de barrido, amplificadores de señal y monitores para mostrar y grabar imágenes, aunque los SEM actuales son controlados por un programa de computadora.

Para llevar a cabo un análisis de SEM, se acelera el haz de electrones aplicando un voltaje (de 0.5 a 30 kV) entre cátodo y ánodo formando una sección transversal del haz muy pequeña (denominada *e/cruce*) cerca del ánodo. El cruce es reducido por una o dos lentes condensadoras y una lente objetivo, para ser enfocado en la superficie de la muestra posteriormente. La lente objetivo posee una longitud de enfoque o *distancia de trabajo* (distancia entre la muestra y la pieza polar) variable relativamente amplia, que asegura que las distintas señales producidas por la interacción del haz de electrones con la muestra puedan ser colectadas por los detectores de forma eficiente. Después, las bobinas deflectoras del haz escanean línea por línea una pequeña zona de la muestra simultáneamente en dos direcciones perpendiculares, para cubrir un área cuadrada o rectangular y obtener finalmente una imagen, mediante la colección de electrones secundarios provenientes de cada punto de la muestra (Hawkes y Spence, 2007).



**Figura 21.** Diagrama de las partes que componen un microscopio electrónico de barrido convencional.

La morfología de las nanoestructuras de HAp se estudió mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando el instrumento JEOL JIB-4500 (Figura 22) operado a 15 kV. Para caracterizar las muestras por SEM, los polvos de HAp obtenidos no requirieron ninguna preparación adicional. Para el caso de los nanocintas crecidas en los microelectrodos de Au, éstas se analizaron por SEM de igual forma que las muestras en polvo de HAp.



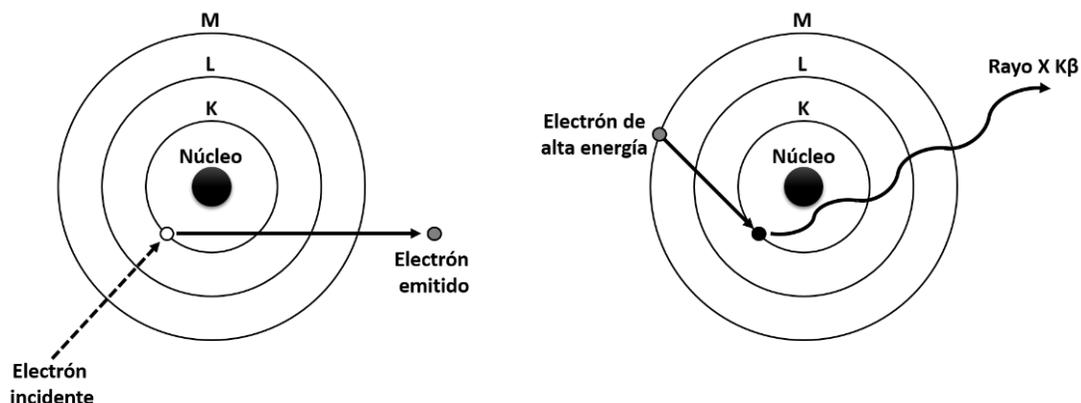
**Figura 22.** Imagen del microscopio electrónico de barrido JEOL JIB-4500 utilizado en este proyecto.

### 2.4.3 Espectroscopía de Energía Dispersa (EDS)

La técnica de EDS es ideal para realizar un análisis químico localizado, al revelar que elementos están presentes en una muestra en específico. Todos los elementos desde berilio (con número atómico  $Z=4$ ) hasta uranio ( $Z=92$ ) pueden ser detectados, aunque algunos instrumentos no están equipados para elementos ligeros con  $Z < 10$  (Agarwal, 1991). Un espectrómetro de energía dispersiva detecta los rayos X característicos producidos por cada elemento, después de haber bombardeado una muestra con electrones de alta energía en un microscopio electrónico (Figura 20); por lo que esta técnica suele encontrarse adaptada a un SEM o TEM.

El proceso de generación de los rayos X característicos (Figura 23) inicia con la expulsión de un electrón de una capa atómica interna (de menor energía) generando una vacante, dejando al átomo en estado excitado. Para que el átomo regrese a su estado basal (de mínima energía), un electrón de una capa superior (de mayor energía) llena dicha vacante liberando parte de su energía en la forma de un rayo X de energía equivalente a la diferencia entre las dos capas. La nomenclatura para estos rayos X comienza por

la letra K, L, M o N, la cual especifica la capa electrónica donde se haya formado la vacante, acompañada de la letra Griega  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  o  $\delta$ , que define el número de la capa electrónica superior a la capa de la vacante, de la que provino el electrón que la llenó (Ngo, 1999). Ejemplo de esto se observa en la Figura 23.



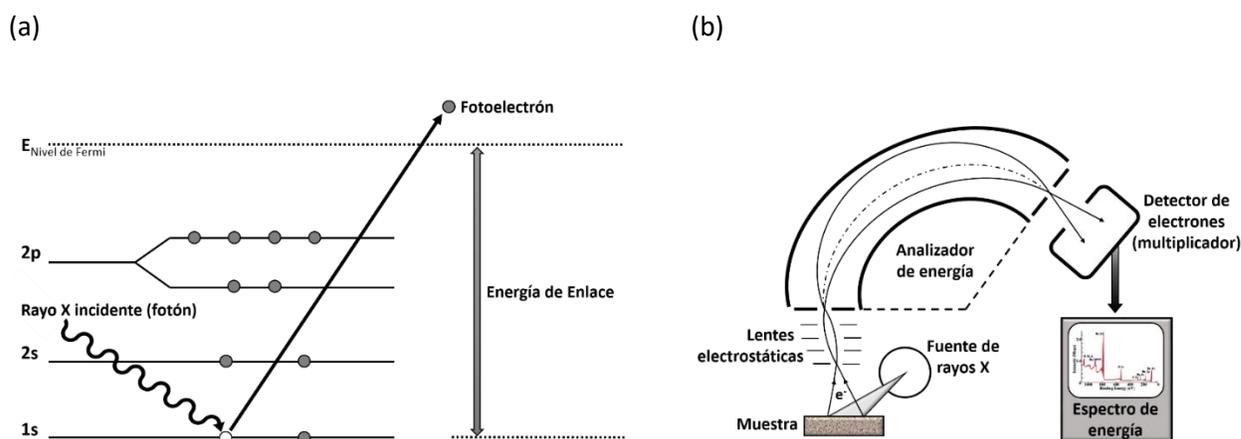
**Figura 23.** Proceso de generación de rayos X característicos en un átomo; formación de la vacante en la capa K, seguido del llenado de ésta por un electrón de mayor energía (capa M) y finalmente, la liberación de energía en forma de un rayo X  $K\beta$ .

Un sistema de EDS convencional está conformado por un detector a base de un semiconductor (comúnmente un detector por deriva de silicio o SDD) alimentado por un preamplificador con transistor de efecto de campo (FET) enfriado a una temperatura de aproximadamente 140 K, y el amplificador principal que provee mayor amplificación (como su nombre lo indica), además de una función de inspección de pulso rápido para reducir eventos de apilamiento; esto es normalmente controlado por un programa de computadora, haciendo posible realizar análisis de EDS de forma automática. Un experimento de EDS comienza cuando el haz de electrones irradia una muestra produciendo rayos X, los cuales una vez emitidos, crean un pulso de carga eléctrica cuando inciden en el detector. Esta corriente eléctrica, con un tiempo de vida corto, se convierte en un pulso de voltaje cuya amplitud refleja la energía del rayo X detectado. Por último, este pulso de voltaje se convierte en una señal digital y se agrega una cuenta más al canal de energía correspondiente. Una vez que termina la medición, las cuentas acumuladas producen un espectro de rayos X (Heath y Taylor, 2015). La cantidad de rayos X emitidos por cada elemento presente en la muestra proporciona una relación directa con la concentración del elemento en particular, ya sea en masa o en porcentaje atómico, permitiendo realizar también un análisis cuantitativo de la muestra.

Esta técnica incluida en el instrumento de SEM mencionado anteriormente (Figura 22), se utilizó con el fin de realizar un análisis de composición elemental cualitativo y cuantitativo, tanto de las nanoestructuras de HAp en polvo como las crecidas en los microelectrodos.

#### 2.4.4 Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X (XPS)

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X o XPS, es una técnica superficial que se basa en el uso de una fuente de rayos X, normalmente de Al-K $\alpha$  (1486.6 eV) o Mg-K $\alpha$  (1253.6 eV), como radiación primaria para provocar la ionización de los átomos de una muestra, liberando electrones de la superficie como resultado de un proceso de fotoemisión o *efecto fotoeléctrico*, representado en la Figura 24 (a). Los electrones que abandonan la muestra son detectados por un espectrómetro [Figura 24 (b)] de acuerdo a su energía cinética.



**Figura 24.** (a) Representación esquemática del proceso de XPS, mostrando la fotoionización de un átomo mediante la expulsión de un electrón de la capa 1s. (b) Diagrama esquemático de un espectrómetro XPS.

El analizador actúa como una ventana de energía (conocida como energía de paso), que acepta solamente electrones que poseen una energía dentro de dicha ventana. La energía de paso se mantiene fija para conservar una resolución energética constante, por lo que los electrones que entran al analizador son previamente ajustados a esta energía aplicando un campo electrostático variable. Cada electrón es detectado como un evento discreto a determinado tiempo y energía, adquiriendo información que se

almacena para ser finalmente presentada en forma de gráfica de intensidad (expresada generalmente como cuentas o cuentas por segundo) contra energía (electronvoltios, eV) del electrón (Moulder, 1992).

La cantidad experimental medida por el espectrómetro es la energía cinética ( $E_K$ ) del electrón, la cual depende de la energía del fotón de los rayos X incidentes. Por otra parte, la energía de enlace ( $E_B$ ) es el parámetro específico para el electrón, tanto del elemento como del orbital atómico al que pertenece (Watts y Wolstenholme, 2003). La relación entre los parámetros involucrados en un experimento de XPS, está dada por la ecuación (2):

$$E_B = h\nu - E_K - W, \quad (2)$$

donde  $E_B$  y  $E_K$  son la energía de enlace y energía cinética del electrón emitido, respectivamente,  $h\nu$  es la energía del fotón y  $W$  es la función trabajo determinada por la calibración del espectrómetro utilizado (Turner, 2006).

Cada elemento posee una estructura electrónica característica y por tanto, un espectro de XPS característico conformado por una serie de picos que aparecen sobre un fondo. Aunque la ionización de los átomos ocurre a unos cuantos micrómetros de profundidad, solo aquellos electrones que se originan dentro de las decenas de angstroms bajo la superficie del sólido, logran escapar de la muestra sin perder energía (regularmente medida en el rango de 20 a 2000 eV), produciendo así los picos en el espectro. Por otro lado, los electrones que sufren pérdida de energía debido a choques inelásticos antes de salir del sólido, forman el fondo del espectro (Moulder, 1992). La información principal de una muestra proviene de los picos correspondientes a electrones de orbitales atómicos internos. La nomenclatura utilizada para la descripción de XPS se sustenta en el momento asociado a las órbitas que siguen los electrones alrededor del núcleo, indicado por los números cuánticos  $n$  ( $n= 1, 2, 3, \dots$ ),  $l$  ( $l= 0, 1, 2, \dots$  señalado como s, p, d, ..., respectivamente), y  $j$  dado como un sufijo ( $1/2, 3/2, 5/2, \text{etc.}$ ).

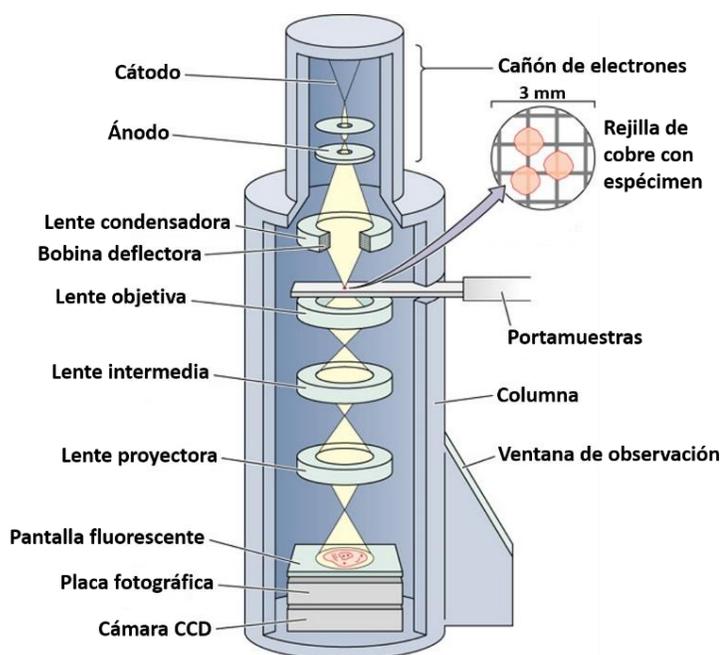
La técnica de XPS también puede utilizarse para identificar y determinar la concentración de elementos en la superficie, debido a variaciones en sus energías de enlace conocidas como *ajustes químicos* (que pueden surgir a partir de cambios en potencial químico dentro de los orbitales de electrones de valencia), permitiendo identificar el estado químico de los materiales en análisis (Tougaard, 2013). XPS fue empleada como una técnica adicional para apoyar los resultados de análisis elemental por EDS. Las medidas se llevaron a cabo en un sistema SPECS con un analizador PHOIBOS WAL usando un ánodo de aluminio, con las muestras de HAp en polvo sin ningún tratamiento adicional.

### 2.4.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

En un microscopio electrónico de transmisión, un haz de electrones penetra un espécimen delgado formando una imagen con el uso de las lentes apropiadas. El TEM posee alta resolución (de hasta 3 nm, regularmente) que permite obtener imágenes de un material con amplificación de hasta 400,000 veces para observarlo a detalle. Además, este instrumento puede ser utilizado para adquirir patrones de difracción de electrones, que brindan información de las propiedades de un material cristalino. Esta flexibilidad se logra mediante un sistema óptico-electrónico compuesto a base de un cañón de electrones y numerosas lentes magnéticas, las cuales se encuentran apiladas verticalmente para formar una columna de lentes.

Un sistema TEM se divide en tres secciones principales: el cañón de electrones, el portamuestras y la columna del microscopio (Figura 25). El cañón de electrones genera el haz de electrones ya sea por emisión termoiónica o bien por emisión de campo, el cual es acelerado por un voltaje (de 100 a 300 kV) y enfocado utilizando dos o más lentes condensadoras en una rejilla de cobre que contiene al espécimen. El diámetro del haz depende en gran parte del diseño y operación de cada sistema, y determina la intensidad con la cual se obtendrá una imagen de TEM. El portamuestras tiene como función mantener el espécimen en estado estacionario o en movimiento, así como introducirlo o extraerlo del microscopio. La última sección está conformada por al menos tres lentes, que en conjunto producen una imagen amplificada o un patrón de difracción de la muestra, la cual es proyectada sobre una pantalla fluorescente, o una cámara CCD para ser digitalizada (Figura 25).

Usualmente las imágenes de TEM son observadas y grabadas con una abertura objetivo centrada en el eje óptico de la lente objetivo, provocando que cualquier parte del campo de visión que no contiene a la muestra se forme a partir de electrones que no han sido dispersados, por lo que esta zona aparece más brillante con respecto a la muestra de estudio. Esta imagen centrada en la abertura es denominada imagen de *campo brillante*. Por el contrario, si la abertura objetivo se desplaza horizontalmente admitiendo electrones difractados, entonces las regiones con mayor difracción de la muestra aparecen brillantes en comparación con sus alrededores (fondo oscuro), resultando una imagen de *campo oscuro*. Asimismo, se pueden obtenerse patrones de difracción, los cuales se forman en el plano focal posterior a la lente objetivo y se amplifican mediante lentes intermedias y lentes proyectoras para ser visualizados en un monitor (Egerton, 2005).



**Figura 25.** Esquema general de las secciones que conforman un microscopio electrónico de transmisión (TDMU, 2009).

En esta tesis se utilizó un TEM JEOL-JEM 2010 operado a 200 kV para observar la morfología de las nanoestructuras de HAp. Para preparar las muestras para estudios de TEM, se tomó un poco de polvo de cada muestra de HAp y se dispersó en agua desionizada, y en otros casos etanol. Dichas soluciones se agitaron en ultrasonido, y finalmente se tomó una gota la cual fue depositada sobre una rejilla de lacey-carbon/Cu (mesh 600).

#### 2.4.6 Espectroscopía Raman

La espectroscopía Raman brinda información sobre los modos de vibración de una muestra en estudio, que permiten su identificación y cuantificación. Esta técnica se fundamenta en la dispersión inelástica de luz monocromática proveniente de una fuente láser. La dispersión inelástica implica que la frecuencia  $\nu_0$  de los fotones que componen la luz monocromática, cambia cuando estos interactúan con la muestra ya que son absorbidos por ella y posteriormente re-emitidos con una frecuencia distinta. Esta nueva frecuencia se desplaza hacia mayores o menores valores respecto a la frecuencia monocromática original. Este desplazamiento en frecuencia se denomina *efecto Raman*. El efecto Raman se basa en la deformación molecular en campo eléctrico  $E$  determinada por la polarizabilidad molecular  $\alpha$ . El rayo láser

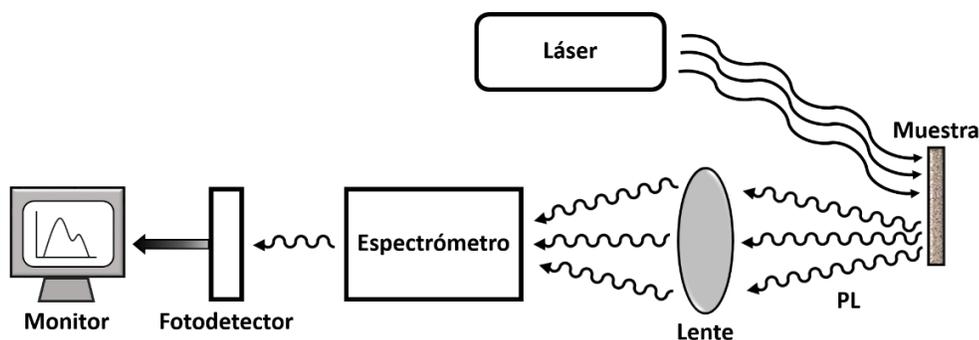


ultravioleta (UV), visible (Vis) o infrarrojo (IR) cercano. Existe una gran variedad de láseres que pueden emplearse como fuente, por ejemplo el de Helio-Cadmio (He-Cd, 325 nm) y Helio-Neón (He-Ne, 633 nm) que son de los más utilizados. La luz dispersada se colecta mediante una lente y se envía a través de un interferómetro, o espectrofotómetro, para adquirir un espectro Raman de la muestra en cuestión (Princeton Instruments, 2016). Estos espectros se grafican con respecto a la frecuencia del láser, de modo que la banda Rayleigh se ubique a  $0 \text{ cm}^{-1}$  y las bandas Raman se posicionen en las frecuencias correspondientes a niveles energéticos de las distintas vibraciones de un grupo funcional (InPhotonics, 1999). Generalmente, es posible obtener un espectro en un intervalo con número de onda de 4 a 4,000  $\text{cm}^{-1}$ , abarcando los modos de vibración normales activos de moléculas “orgánicas que aparecen entre 400 y 4,000  $\text{cm}^{-1}$ .

Los modos de vibración de la red de hidroxiapatita se determinaron mediante espectroscopia Raman, usando un micro-Raman Horiba Jobin-Yvon LabRam HR800. Las mediciones fueron realizadas a temperatura ambiente utilizando un láser He-Ne rojo de 633 nm. Para las nanoestructuras de HAp crecidas en presencia de campos eléctricos, no fue posible obtener un espectro Raman dado que, al haber utilizado un sustrato de dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ), la señal de este compuesto opacó por completo las señales atribuidas a los modos de vibración para los grupos fosfato de la HAp.

#### **2.4.7 Fotoluminiscencia (PL)**

Cuando un material es irradiado con luz de alta energía, este absorbe fotones y como consecuencia se crean excitaciones electrónicas. Estas excitaciones se relajan conforme los electrones regresan al estado de mínima energía. Si la relajación que resulta es radiativa, entonces la luz emitida se denomina fotoluminiscencia (PL). La luminiscencia es acumulada y analizada para obtener distinta información sobre el material, por ejemplo, el espectro de PL brinda las energías de transición que son utilizadas para determinar los niveles de energía electrónicos. La intensidad de PL provee una medida sobre el número de eventos de recombinación electrónica, mientras que la variación de ésta debido a parámetros externos, como la temperatura y campos eléctricos externos, sirve para caracterizar más a detalle los estados y bandas electrónicas del material analizado. La instrumentación utilizada para los experimentos de PL (Figura 27) consta de una fuente óptica, generalmente un láser al igual que Raman, por lo que estas técnicas suelen encontrarse en un mismo sistema; además, se usa un medidor de potencia óptica o en la mayoría de los casos, un espectrómetro.



**Figura 27.** Instrumentación empleada para realizar medidas de fotoluminiscencia.

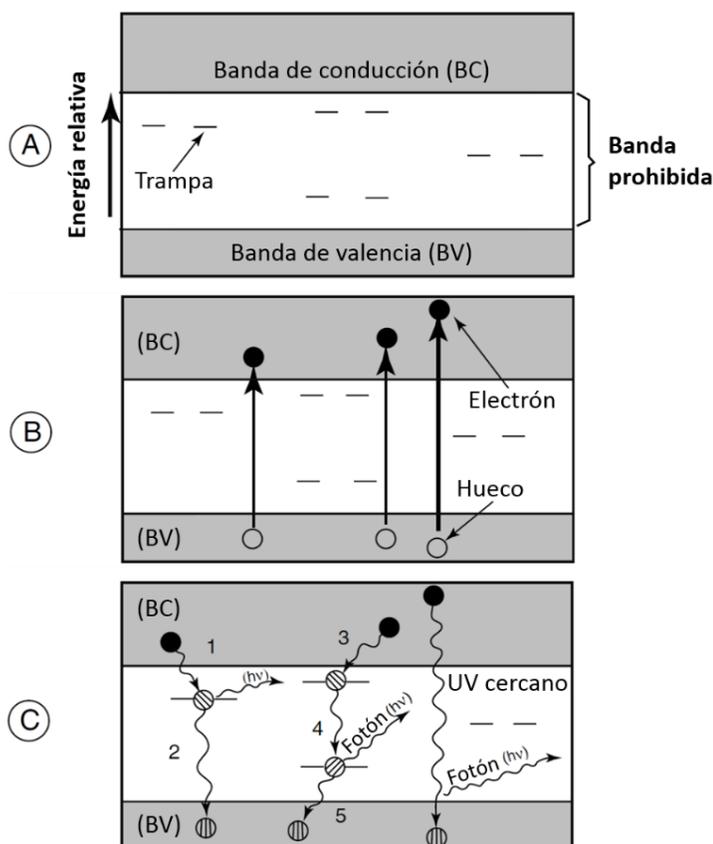
La técnica de PL es versátil, no destructiva, y requiere de una preparación mínima de la muestra a estudiar, ya que no depende de excitación o detección eléctrica. Por esta razón, esta técnica resulta de interés para analizar tanto semiconductores como materiales con baja conductividad (Gfroerer, 2006). El sistema micro-Raman utilizado para determinar los modos de vibración de las muestras de HAp, también fue usado para estudiar la fotoluminiscencia presente en las muestras de hidroxiapatita tanto en polvo, como las crecidas entre los microelectrodos. Para este análisis, se usó de un láser He-Cd UV de 325 nm para adquirir espectros con un intervalo de 330 a 1100 nm a temperatura ambiente.

#### 2.4.8 Catodoluminiscencia (CL)

Catodoluminiscencia se refiere a la emisión de luz cuando una muestra es bombardeada por un haz de electrones cuya fuente es un cátodo. La CL es ampliamente utilizada, en particular como una herramienta de análisis adicional en técnicas de microscopía electrónica como el SEM, ya que es el único método sin contacto y con alta resolución espacial que permite la caracterización de las propiedades ópticas y electrónicas de una muestra. De forma general, el análisis de CL realizado en un SEM puede ser dividido en microscopía y espectroscopía. La primera consta de la obtención de imágenes o mapas luminiscentes de regiones de interés, mientras que la segunda consiste en la adquisición de un espectro correspondiente a un área seleccionada de la muestra (Yacobi y Holt, 1990).

La señal de CL se forma mediante la detección de fotones de las regiones UV, Vis e IR cercano del espectro. De acuerdo con la teoría de bandas de estado sólido, el bombardeo de electrones provoca que

los electrones dentro del material sean promovidos de la banda de valencia (de menor energía) a la banda de conducción (de mayor energía). Cuando dichos electrones pierden energía e intentan regresar al estado basal, pueden ser atrapados momentáneamente por “trampas” dentro de la banda prohibida. Parte de la energía perdida cuando los electrones desocupan las trampas y continúan su caída a la banda de valencia, se convierte en fotones (Figura 28). Estas trampas de electrones son conocidas como *centros luminiscentes* y son responsables de la emisión de catodoluminiscencia (Boggs y Krinsley, 2006). Por ende, el espectro de emisión de CL puede ser clasificado en dos tipos: extrínseco (activado o de CL característica) e intrínseco (fundamental o de emisión de borde).



**Figura 28.** Representación esquemática de los procesos que generan la catodoluminiscencia en un material (Boggs y Krinsley, 2006).

Los espectros de emisión que dependen de impurezas incorporadas al material, son denominados extrínsecos. Las bandas de emisión son “activadas” por átomos de impurezas u otros defectos y la emisión

es característica del activador en particular. Los activadores son iones de distintas valencias que sustituyen cationes en la estructura huésped, por ejemplo metales de transición, tierras raras o actínidos. La CL intrínseca se debe a las recombinaciones electrón-hueco que ocurren a través de la banda prohibida, de modo que se considera una propiedad intrínseca del material (Yacobi y Holt, 1986). Este tipo de luminiscencia puede ser aumentada por factores como falta de estequiometría, imperfecciones estructurales o impurezas sustitucionales o intersticiales que distorsionan la red (Marshall et al., 1988).

Los portadores de carga generados en un semiconductor son difundidos y posteriormente se recombinan para dar lugar a la emisión de fotones. Sin embargo, los centros de recombinación de niveles energéticos en la banda prohibida de un semiconductor pueden ser tanto radiativos como no-radiativos, dependiendo de si generan la emisión de un fotón o no. Estos centros se caracterizan por una tasa de recombinación  $R \propto \tau^{-1}$ , donde  $\tau$  es el tiempo de recombinación. Cuando ambos centros de recombinación están presentes, radiativos y no-radiativos (dando lugar a un proceso competitivo), el tiempo de vida observable es:

$$\tau = \frac{\tau_{rr}\tau_{nr}}{\tau_{rr} + \tau_{nr}}, \quad (3)$$

donde  $\tau_{rr}$  y  $\tau_{nr}$  son los tiempos de vida de recombinaciones radiativas y no-radiativas, respectivamente. La eficiencia de recombinación radiativa (o eficiencia cuántica interna)  $\eta$ , está dada por la ecuación:

$$\eta = \frac{R_{rr}}{R} = \frac{\tau}{\tau_{rr}}, \quad (4)$$

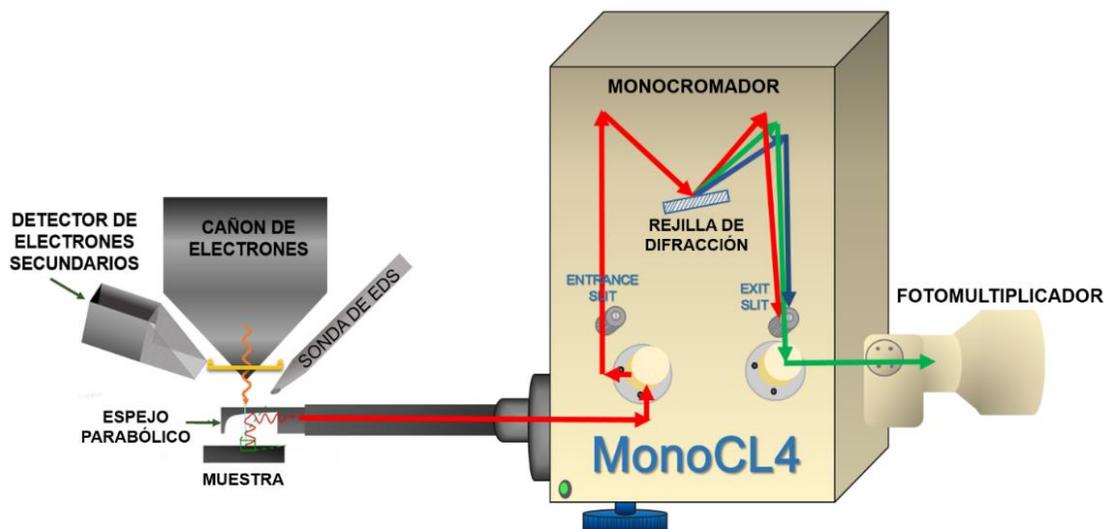
donde  $R_{rr}$  representa la tasa de recombinación radiativa mientras que  $R$  se refiere a la tasa de recombinación total (Yacobi y Holt, 1986). En general, la intensidad de CL (número de fotones emitidos por unidad de tiempo) dependerá de la tasa de recombinaciones por todos los mecanismos posibles  $\Delta n(r)/\tau$ , tomando en cuenta que solo una fracción corresponderá a recombinaciones radiativas  $\Delta n(r)\eta/\tau$ . Por tanto, si se asume una dependencia lineal de la intensidad de CL  $L_{CL}$ , con la densidad de portadores de carga en exceso estacionaria  $\Delta n$ , la cual puede ser verificada midiendo la dependencia de la  $L_{CL}$  con respecto a la corriente del haz de electrones  $I_b$ , es posible expresar la intensidad de CL total como:

$$L_{CL}(r) = \int f \frac{\Delta n(r)}{\tau_{rr}} d^3r, \quad (5)$$

donde  $f$  es una función que comprende los parámetros de corrección del sistema de detección de catodoluminiscencia y factores que toman en cuenta que no todos los fotones generados en el material son emitidos, debido a pérdidas por absorción óptica o reflexión (Yacobi y Holt, 1990).

Los sistemas actuales de detección de catodoluminiscencia utilizan un espejo parabólico como colector de la señal, así como una fibra óptica para su transmisión. En estos sistemas el haz de electrones incide sobre la muestra en el primer foco del espejo parabólico, reflejando la luz emitida hacia el segundo foco del espejo, donde es colimada por una lente y transportada a través de la fibra óptica hacia la ranura de entrada del monocromador. La luz con un estrecho rango de longitudes de onda llega entonces al fotomultiplicador, que se encarga de atenuar el ruido y amplificar la señal, teniendo como salida un tren de pulsos correspondientes a los fotones incidentes (Figura 29). Finalmente, esta señal amplificada es analizada por un sistema electrónico para ser desplegada en un monitor de computadora, ya sea como una imagen o un espectro de emisión de CL.

Para identificar de forma indirecta la presencia de defectos nativos en la HAp se usó la técnica de catodoluminiscencia mediante un sistema Gatan MonoCL4 adaptado a un SEM JEOL JIB-4500 (Figura 22), para obtener espectros de emisión luminiscente de las nanoestructuras en el rango visible. Además, se adquirieron espectros de CL en el rango infrarrojo cercano (800-2500 nm) utilizando un monocromador IR Oriel 74100 enfriado con nitrógeno y un fotomultiplicador Photocool Series PC176, ambos adaptados a un SEM Hitachi S2500.



**Figura 29.** Diagrama esquemático del sistema de colección de CL adaptado a un SEM JEOL JIB-4500.

Los defectos típicos de la HAp son vacantes de Ca y de O, los cuales introducen estados electrónicos en la región prohibida de energía de la HAp a través de los cuales ocurren transiciones electrónicas que generan radiación electromagnética en el rango visible. Las bandas de emisión de la HAp atribuidas a tales defectos cristalinos son muy anchas (mayores a los 200 nm) y claramente visibles en mediciones de CL. Sin embargo, dado que se desconoce la emisión de HAp en el infrarrojo cercano, se decidió realizar mediciones en este rango con la intención de encontrar bandas o picos de emisión luminiscente. Las variaciones en la intensidad relativa de estas bandas fueron utilizadas como parámetro de control cualitativo para describir cambios en la concentración de los defectos nativos presentes en las nanocintas de HAp, tanto las sintetizadas por el método hidrotérmal como las crecidas aplicando campos eléctricos.

## Capítulo 3. Síntesis hidrotermal de nanocintas de hidroxiapatita

En este capítulo se incluyen los resultados obtenidos de acuerdo a la caracterización estructural, morfológica y de composición de nanocintas de hidroxiapatita sintetizadas por el método hidrotermal, como fue descrito en el subtema 2.1. En la Tabla 2, se detallan las muestras de HAp obtenidas y las condiciones de reacción para cada una de ellas. En la columna de observaciones se indican las diferencias en el procedimiento de síntesis, particularmente para la muestra S1, ya que fue el primer experimento llevado a cabo. Se realizó una serie de pruebas hasta llegar a las condiciones óptimas de reacción, siendo éstas una temperatura y un tiempo de reacción de 100 °C y 36 h, respectivamente.

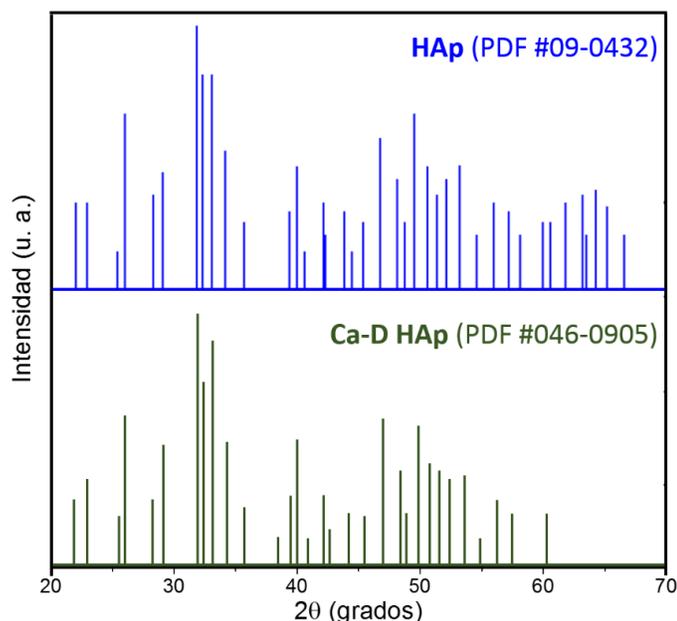
**Tabla 2.** Muestras de HAp obtenidas por el método hidrotermal.

Muestra	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Observaciones
S1	100	24	Se mezclaron la soluciones de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ antes de calentar a 100 °C.
S2	100	24	Se calentó la solución de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ a 100 °C y después se agregó la solución de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ .
S3			
S4		30	
S5		36	
S6			

### 3.1 Estructura cristalina

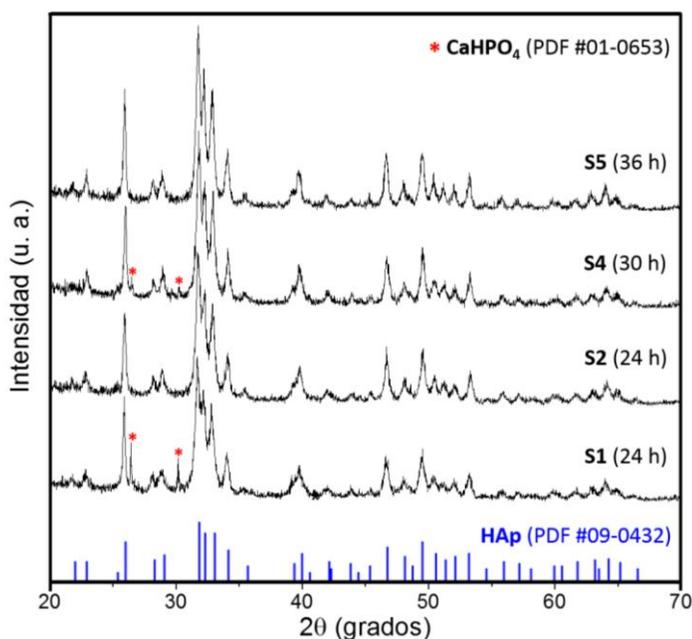
Para identificar la estructura cristalina de las muestras de la Tabla 2, éstas fueron caracterizadas por la técnica de difracción de rayos X (DRX). Se tomó como referencia la ficha de DRX de la HAp (PDF #09-0432) así como de la fase de HAp deficiente en calcio o Ca-D HAp (PDF #046-0905), dado que es común obtenerla cuando se utiliza un método húmedo para la síntesis de HAp, esto debido a la superposición entre las temperaturas de transformación de estas dos fases (Toriyama et al., 1996; Bohner, 2000; Wang et al., 2016). La Ca-D HAp presenta una relación Ca/P menor a 1.67, valor que corresponde a la HAp estequiométrica y a la HAp natural que forma parte de huesos y dientes (Anmin et al., 2006; Sadat-Shojai et al., 2013). A pesar de que ambas hidroxiapatitas (la estequiométrica y la Ca-D HAp) presentan una estructura cristalina hexagonal, la diferencia entre sus patrones de difracción se reduce a la presencia de

unas pocas señales que aparecen en el intervalo  $2\theta$  de 60 a 80 grados. A valores inferiores a los  $60^\circ$  los picos de difracción para estas dos fases de hidroxiapatita son prácticamente los mismos, dado que las señales de la HAp estequiométrica se superponen con las señales de la fase Ca-D HAp como se aprecia en la Figura 30.



**Figura 30.** Comparación entre los patrones de difracción de la HAp y la Ca-D HAp.

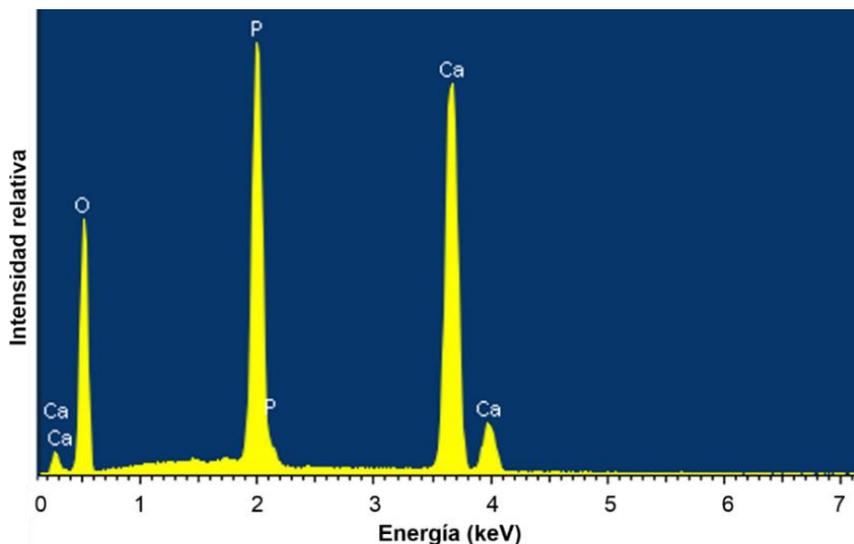
En la Figura 31 se presentan los difractogramas de las muestras de HAp obtenidas mediante la síntesis hidrotermal a distintos tiempos de reacción, revelando patrones de difracción compuestos por los picos de difracción característicos de la estructura hexagonal de HAp. Tales picos poseen una forma angosta bien definida, lo cual indica que los materiales obtenidos poseen una buena calidad cristalina. La Figura 31 muestra que para las primeras dos muestras (S1 y S2), sintetizadas por diferentes procedimientos y con el mismo tiempo de reacción (ver observaciones en Tabla 2), los difractogramas obtenidos presentan como diferencia la presencia de dos picos con ángulos de Bragg de  $26^\circ$  y  $30^\circ$ , correspondientes a la fase *monenita* o DCP ( $\text{CaHPO}_4$ ) que típicamente se encuentra presente en la formación de apatitas (Lu et al., 2000) y es considerada como una fase deseable al igual que otros fosfatos de calcio, por ser bioactiva, biodegradable y sobre todo benéfica al proceso de regeneración ósea y de administración de fármacos (Ghomi et al., 2011). La fase *monenita* también fue encontrada en la muestra S4 como revela la Figura 31, sin embargo, la fase predominante en todas las muestras fue la de HAp hexagonal. En el Anexo B se presentan los difractogramas de las muestras S3 y S6 ya que son esencialmente reproducciones de los difractogramas obtenidos en las muestras S2 (24 h) y S5 (36 h), respectivamente.



**Figura 31.** Patrones de difracción de las muestras S1, S2, S4 y S5, sintetizadas con distintos tiempos de reacción a excepción de las muestras S1 y S2, donde la variación consistió en el procedimiento de síntesis.

### 3.2 Composición elemental

Las muestras de HAp fueron analizadas mediante la técnica de Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS) para determinar su composición elemental, así como la relación atómica Ca/P presente en ellas. En la Figura 32 se exhibe el espectro de composición típico obtenido para las muestras, en el que se aprecian las señales de Ca, P y O, elementos constituyentes de la hidroxiapatita  $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$ .



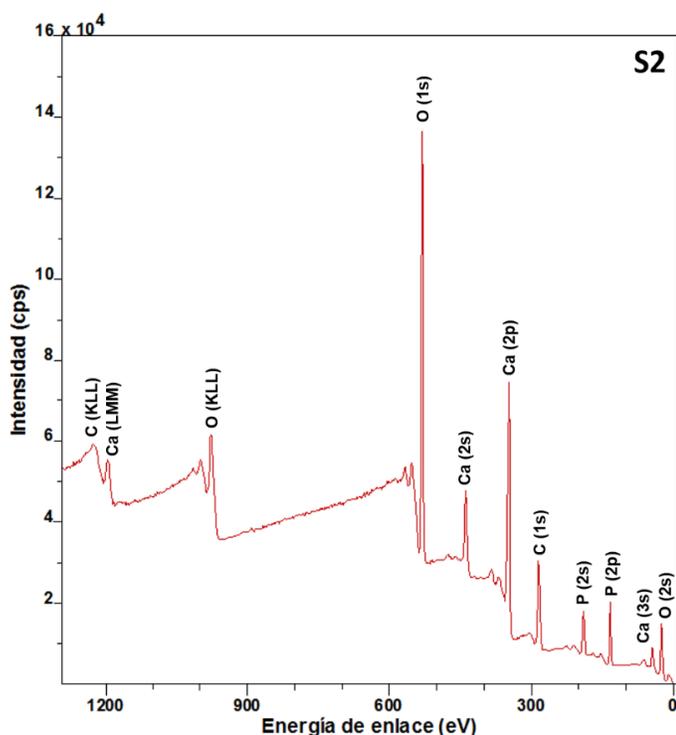
**Figura 32.** Espectro de composición elemental típico adquirido para una las muestras de HAp.

Para establecer la relación atómica Ca/P de cada muestra se realizó un análisis cuantitativo, mostrado en la Tabla 3. Debido a que los valores de dicha relación se mantuvieron en un rango de 1.31 a 1.39, fue posible concluir que la mayor fase presente en dichos productos es la de hidroxiapatita deficiente en calcio (Ca-D HAp), lo que implica la existencia de defectos en el material tipo vacancias de calcio ( $V_{Ca}$ ).

**Tabla 3.** Análisis cuantitativo de las muestras de HAp obtenido mediante EDS.

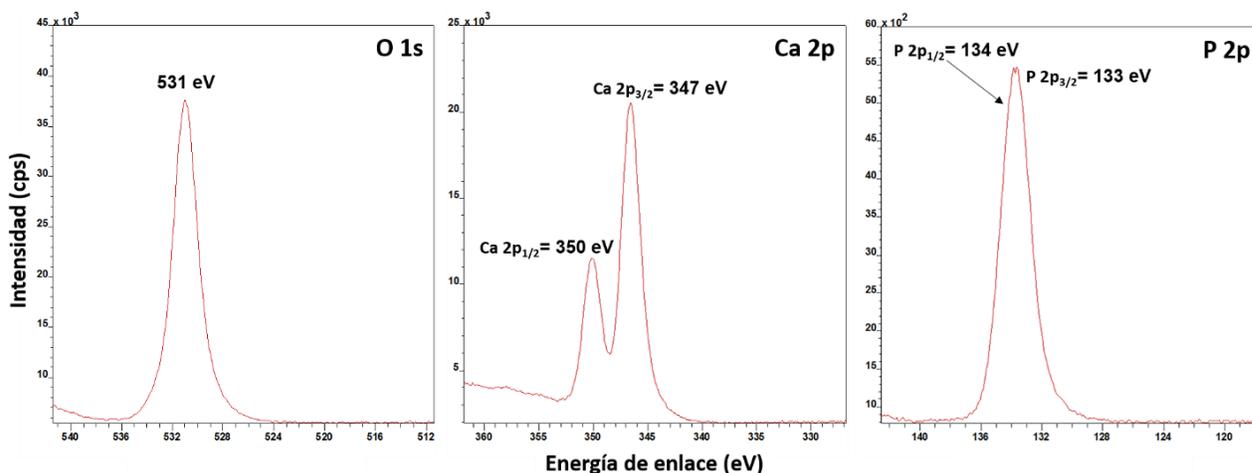
Muestra	Tiempo de reacción (h)	Elemento	Porcentaje atómico (%)	Relación atómica Ca/P
S1	24	O	70.93	1.34
		P	12.43	
		Ca	16.63	
S2	24	O	67.80	1.37
		P	13.58	
		Ca	18.62	
S3	24	O	70.51	1.39
		P	12.32	
		Ca	17.17	
S4	30	O	69.12	1.33
		P	13.26	
		Ca	17.62	
S5	36	O	67.64	1.33
		P	13.89	
		Ca	18.47	
S6	36	O	73.14	1.31
		P	11.61	
		Ca	15.24	

Adicionalmente, para estudiar el estado químico de los elementos presentes en las muestras se realizó un análisis por XPS. Un análisis a baja resolución de la muestra S2 (24 h) arrojó como resultado el espectro de la Figura 33, el cual fue prácticamente el mismo que el obtenido para las muestras S4 (30 h) y S5 (36 h), por lo que estos espectros se presentan en la sección de Anexos (Anexo C). En todos los espectros se detectaron las señales correspondientes a los átomos que componen la HAp, esto es, O 1s, Ca 2p y P 2p, con energías de amarre de 531, 347 y 133 eV, respectivamente. Además, se encontró una señal de carbono (C 1s) atribuida a enlaces C-C y C-H (Yoshida et al., 2000). Dado que se conoce que la energía de amarre de C 1s es de 284.6 eV (Wagner et al., 1979), ésta fue utilizada para corregir el corrimiento de los picos causado por efectos de acumulación de carga eléctrica (alrededor de 6 eV) durante la medición. Así mismo, se detectó la presencia de los picos Auger de carbono (C KLL), calcio (Ca LMM) y oxígeno (O KLL) a 1223, 1197 y 978 eV, respectivamente.



**Figura 33.** Espectro de XPS de la muestra S2 (24 h), en el que se observan los picos a las energías de enlace pertenecientes a la HAp.

Por otra parte, se adquirieron espectros de XPS a alta resolución de la muestra S2 para las señales de O (1s), Ca (2p) y P (2p), con sus respectivos valores de energía, como se muestra en la Figura 34. De acuerdo con los espectros de XPS obtenidos para las muestras S2, S4 y S5, se determinó la relación atómica de Ca/P presente en la superficie del material. Los resultados del análisis cuantitativo de dichas muestras se exhiben en la Tabla 4.



**Figura 34.** Espectro de XPS para las señales de O (1s), Ca (2p) y P (2p), correspondientes a la muestra S2.

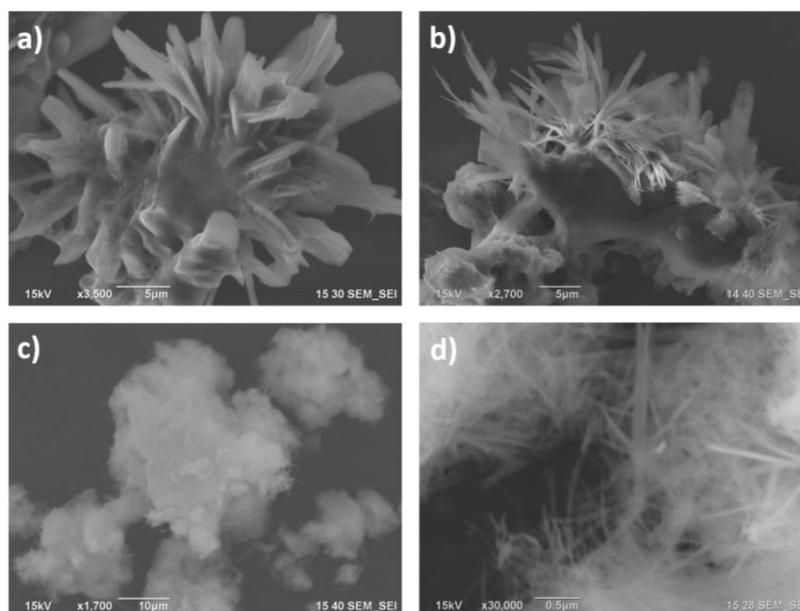
**Tabla 4.** Análisis cuantitativo de las muestras de HAp S2, S4 y S5, realizado por XPS.

Muestra	Tiempo de reacción (h)	Especie	Porcentaje atómico (%)	Relación atómica de Ca/P
S2	24	O (1s)	56.94	1.17
		Ca (2p)	23.22	
		P (2p)	19.84	
S4	30	O (1s)	80.54	1.19
		Ca (2p)	10.57	
		P (2p)	8.89	
S5	36	O (1s)	81.77	1.19
		Ca (2p)	9.93	
		P (2p)	8.30	

Estos resultados revelan que los valores calculados para la relación Ca/P mediante XPS, presentan un decremento significativo con respecto a los obtenidos mediante EDS, demostrando que la formación de defectos estructurales tipo vacancias de calcio en las muestras S2, S4 y S5, es mayor en la superficie que en el bulto.

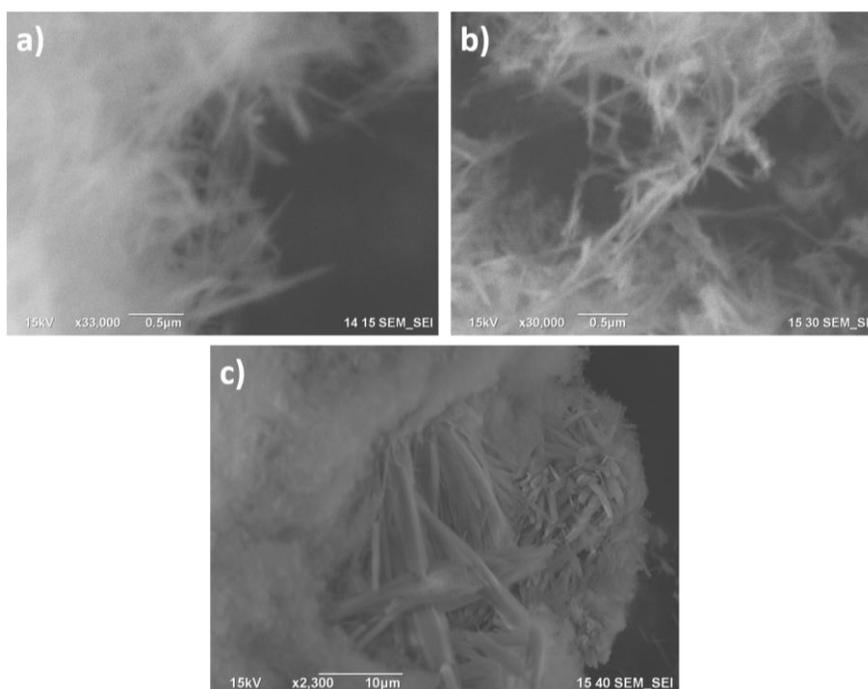
### 3.3 Morfología

Dado que se ha reportado que en la síntesis por el método hidrotérmal la temperatura y el tiempo de reacción influyen significativamente en la formación de nanocintas de HAp uniformes (Earl et al., 2006; Wang et al., 2016), durante la síntesis de la muestra S1 se tomaron pequeñas cantidades del material sintetizado a distintos tiempos de reacción, con la finalidad de observar el efecto de este parámetro sobre la morfología de la hidroxiapatita. En la Figura 35 se presentan las imágenes de SEM de este material formado después de 5, 15 y 24 h de reacción, revelando el proceso de formación de la HAp en forma de nanocintas. Se observa que, durante las primeras horas, la morfología consta de aglomerados compuestos de micro-placas alargadas [Figura 35 (a)] que, conforme aumenta el tiempo de reacción, se van separando en nanoestructuras con forma de cintas delgadas como muestra la Figura 35 (b), para finalmente obtener cúmulos de nanocintas delgadas cuando se alcanzan las 24 h de reacción [Figura 35 (c)]. En la Figura 36 se presentan las micrografías de SEM de las muestras S2 y S3, ambas sintetizadas después de 24 h de reacción. Sin embargo, aunque en las imágenes adquiridas a altos aumentos [Figuras 36 (a) y (b)] es posible observar la formación de nanocintas de HAp bastante definidas, se concluyó que un tiempo de síntesis de 24 h no fue suficiente para eliminar todas las placas micrométricas de la muestra, como se observa en la Figura 36 (c); por lo que se decidió aumentar el tiempo de síntesis a 30 y 36 h en experimentos posteriores.

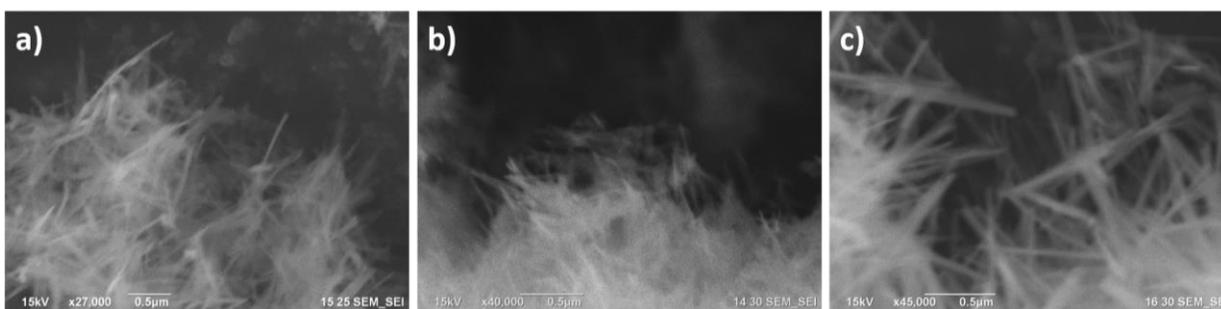


**Figura 35.** Imágenes de SEM de las muestras S1 a (a) 5 h, (b) 15 h y (c) 24 h, así como (d) la imagen SEM a altos aumentos de la muestra transcurridas las 24 h de reacción.

En las imágenes SEM de las muestras S4 (30 h), S5 y S6 (ambas de 36 h), presentadas en la Figura 37, se observa que después de 30 y 36 h de reacción fue posible obtener nanocintas delgadas de anchura uniforme, como era requerido para este proyecto.

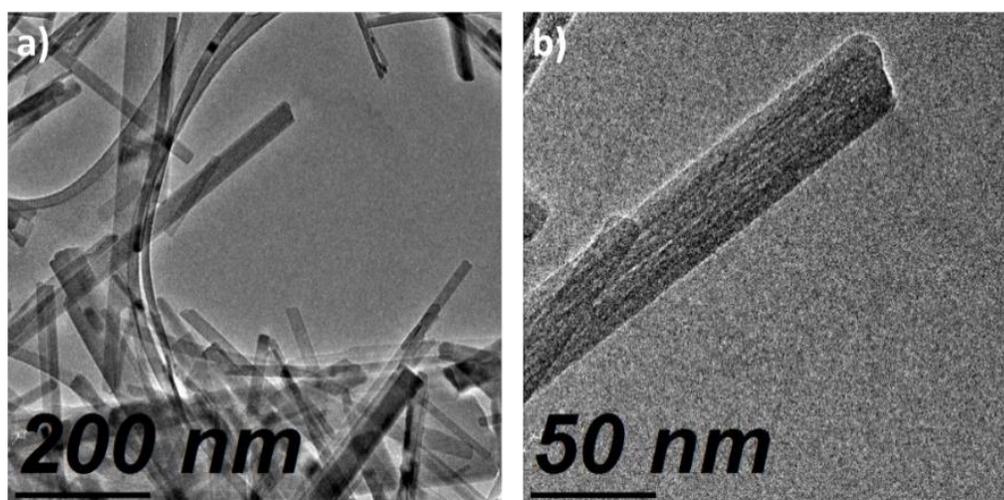


**Figura 36.** Micrografías de SEM a altos aumentos de las muestras (a) S2 y (b) S3, ambas de 24 h. (c) Imagen de SEM a bajos aumentos de la muestra S3.



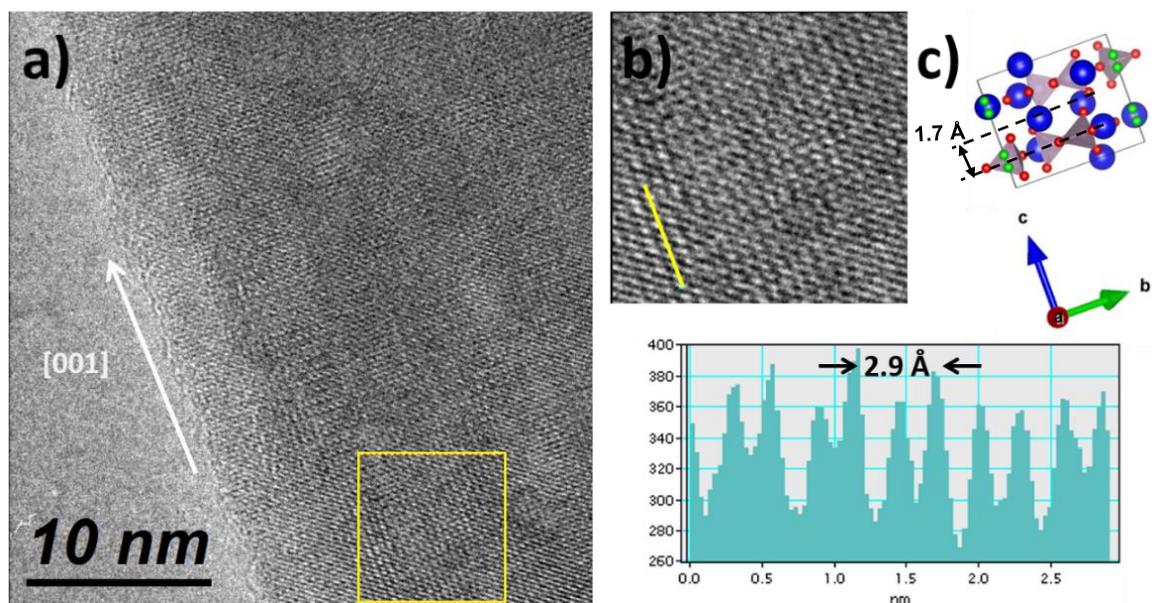
**Figura 37.** Imágenes de SEM de las muestras (a) S4, (b) S5 y (c) S6.

Para complementar los estudios de morfología de las muestras de hidroxiapatita se tomaron micrografías de TEM, las cuales confirmaron la formación de nanocintas delgadas con una anchura entre 10 y 100 nm, y longitudes de entre 0.5 y 1  $\mu\text{m}$ , como se observa en la Figura 38.



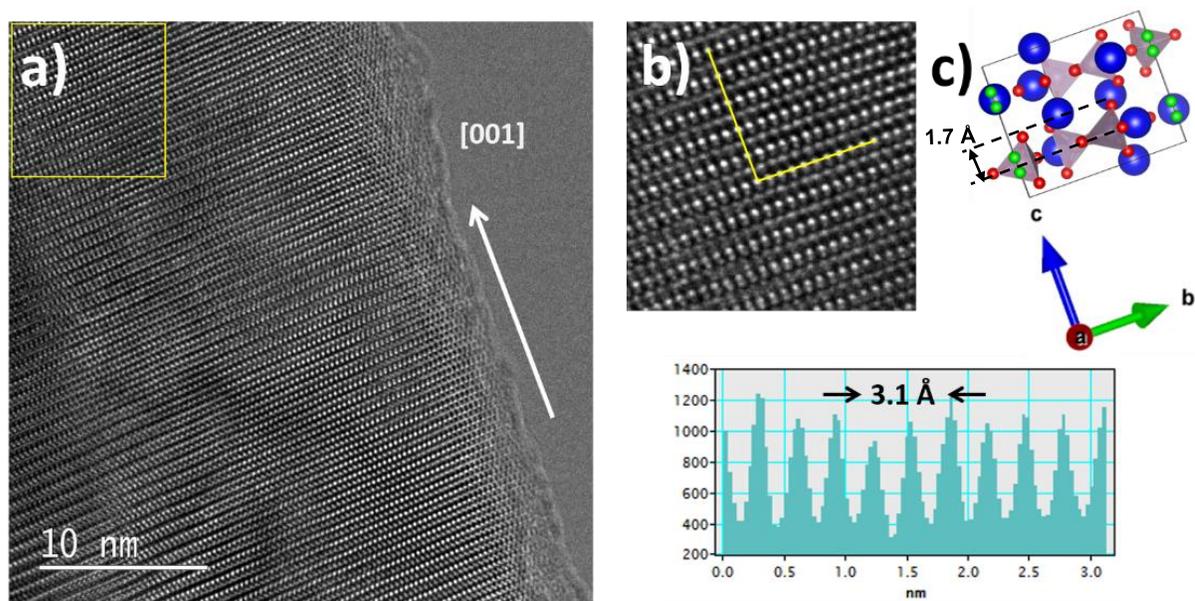
**Figura 38.** Micrografías TEM de la muestra S1 (24 h): (a) panorámica y (b) de una nanocinta individual.

Por otra parte, se obtuvieron imágenes de TEM de alta resolución para las muestras S2, S4 y S5, con el objetivo de observar la red cristalina de la HAp y determinar la dirección de crecimiento de las nanocintas. En la Figura 39 se presenta la imagen de TEM de alta resolución de la muestra S2, a partir de la cual se determinó una distancia interatómica de 2.9 Å a lo largo de la dirección de crecimiento. Mediante una simulación de la estructura cristalina usando el programa Vesta (ver 3.3.9) se calculó que a lo largo de la dirección [001] la distancia interatómica entre los planos formados por los iones  $(\text{PO}_4)^{3-}$  y los iones  $\text{Ca}^{2+}$  es de 1.7 Å [Figura 39 (c)].

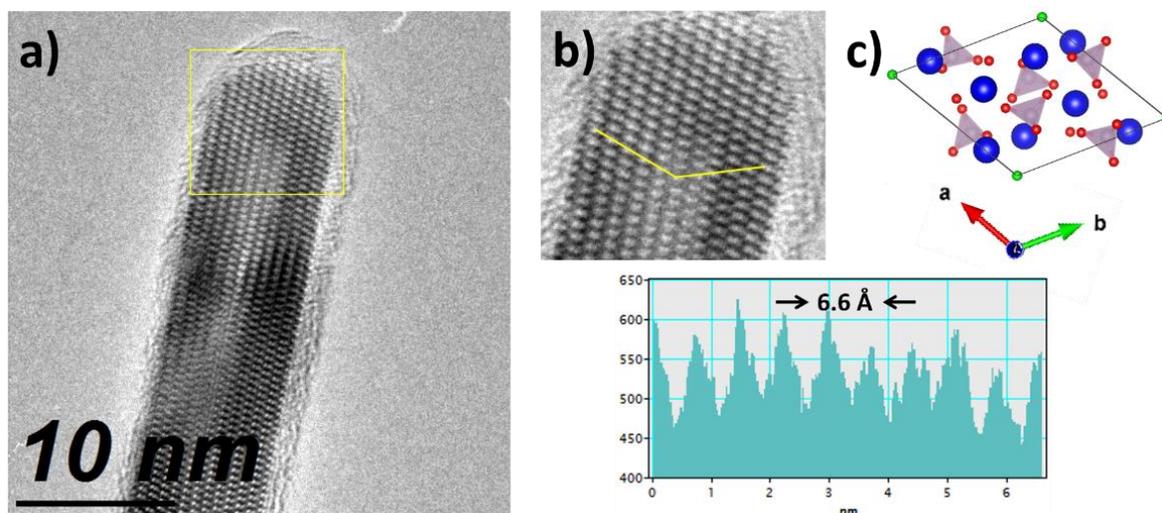


**Figura 39.** (a) Micrografía de TEM de alta resolución de la muestra S2 (24 h), (b) ampliación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.

A pesar de esta imprecisión en las mediciones, el análisis de TEM se llevó a cabo igualmente para las muestras S4 y S5 proponiendo un crecimiento de las nanoestructuras de estas muestras a lo largo de las direcciones cristalográficas [001] y [110], respectivamente (Figuras 40 y 41).

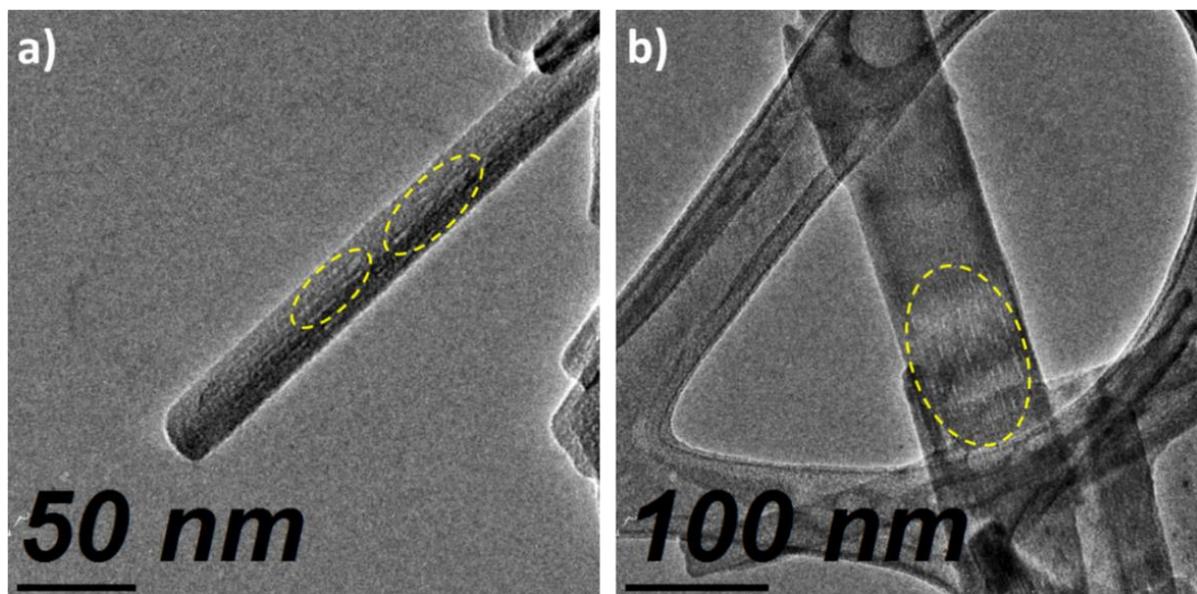


**Figura 40.** (a) Imagen de TEM de alta resolución de la muestra S4 (30 h), (b) ampliación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.



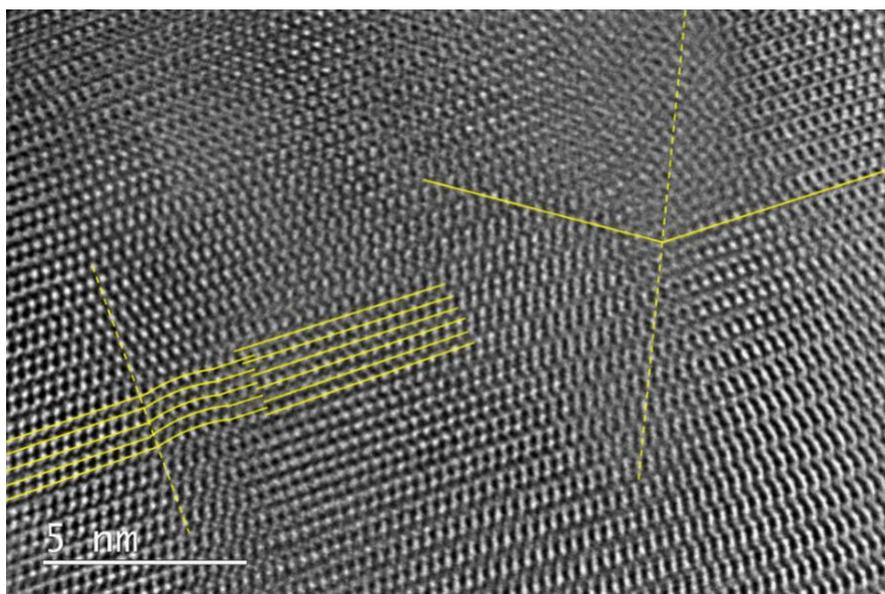
**Figura 41.** (a) Micrografía de TEM a alta resolución de la muestra S5 (36 h), (b) ampliación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.

Por otro lado, al realizar un análisis más detallado de las micrografías de TEM fue posible observar diversos defectos estructurales, siendo los más evidentes aquellos que generaron un daño en las nanocintas con forma de ranuras a lo largo de estas, como se puede apreciar en las imágenes de la muestra S3 (Figura 42).



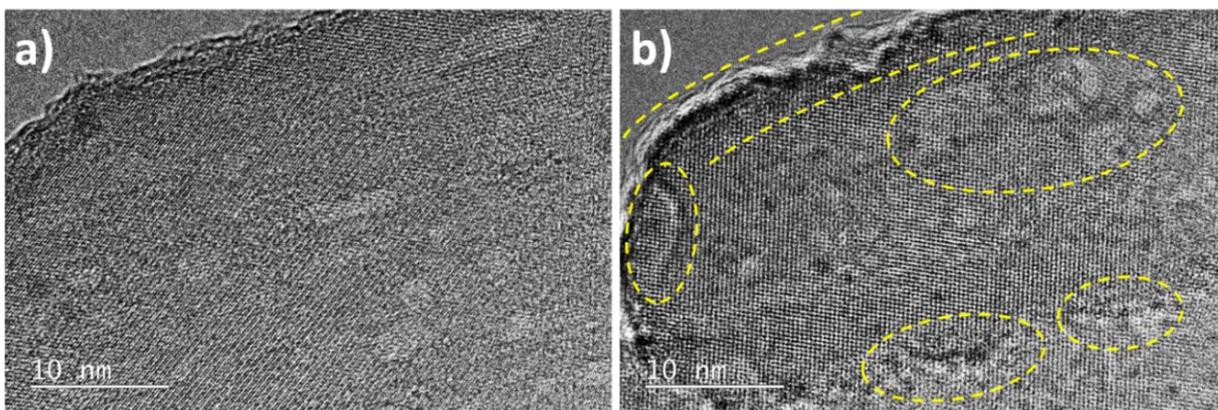
**Figura 42.** Imágenes de TEM de la muestra S3 (24 h) a bajos aumentos. Zonas encerradas indican la presencia de defectos en la superficie de la nanoestructura.

El aspecto más brillante en las imágenes de TEM (mayor intensidad) de estas ranuras revela que son formadas debido a una menor densidad atómica en tales regiones. Dado que los resultados de XRD, EDS y XPS revelan que todas las nanocintas de HAp sintetizadas en este trabajo presentan una deficiencia en iones de  $\text{Ca}^{2+}$  en su estructura cristalina, proponemos que dichas ranuras son formadas debido a la deficiencia en calcio en las nanocintas. Más aún, las imágenes de TEM adquiridas a altos aumentos revelaron la formación de defectos extensos tipo fronteras de dominio en el material (Figura 43). La presencia de dominios cristalinos, o maclas, podría ser la causa de nuestra imprecisión en determinar el espaciamiento interatómico a lo largo del crecimiento de las nanocintas.



**Figura 43.** Micrografía de TEM de la muestra S4 (24 h) a altos aumentos. Zonas remarcadas indican la formación de dominios y desalineación de filas atómicas en una nanocinta.

Resulta altamente probable que la deficiencia en calcio, presente en la HAp como vacancias de calcio ( $V_{\text{Ca}}$ ), genere fallas de apilamiento atómico que den lugar a la formación de fronteras de dominios, los cuales derivan a la vez en la formación de dominios cristalinos (Lüth, 2015). Como se ha indicado previamente, se espera que la superficie de las nanocintas de HAp presente una alta concentración de vacancias de calcio, dado que el análisis cuantitativo elaborado a partir de los espectros de XPS reveló una alta deficiencia en Ca (Tabla 4). Por otro lado, durante los estudios de TEM se observó que el haz de electrones tiende a generar poros y deformaciones en las nanocintas cuando éstas son observadas a altos aumentos y energías del haz de 200 keV. Ejemplo de esto se muestra en las micrografías de la muestra S4 (Figura 44), donde se observa la formación de poros y pliegues en la superficie de una nanocinta, además de su deformación por los extremos al estar 30 segundos bajo exposición del haz de electrones.



**Figura 44.** Imágenes de TEM de la formación de poros y deformación de una nanocinta de HAp en la muestra S4 (a) al momento de colocar el haz sobre la nanoestructura y (b) transcurridos 30 segundos de exposición. Zonas remarcadas exhiben la deformación del material.

Hasta la fecha, la formación de poros en estructuras delgadas de HAp representa un tema de discusión polémico, ya que algunos investigadores (Sutter et al., 2003; Gyeong-Man, 2010) han reportado que estos se generan durante la síntesis de la HAp, mientras que otros grupos de trabajo como el de Sato et al. (2002) establecen lo que hemos confirmado en este trabajo, que los poros en la HAp son formados por efecto de la irradiación con el haz de electrones.

### 3.4 Modos de vibración de la red

Haciendo uso de la técnica de micro-Raman, se logró determinar los modos de vibración de la red de hidroxiapatita. En la Figura 45 se muestran los espectros Raman de las muestras S2, S4, S5 y S6, donde aparece un pico muy intenso correspondiente al modo de tensión simétrica (*symmetric stretching mode*) del ión  $(\text{PO}_4)^{3-}$  a  $962 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_1$ ), así como de las señales asociadas a los modos de vibración de los iones  $(\text{PO}_4)^{3-}$  internos a  $430 \text{ cm}^{-1}$  para la flexión simétrica ( $\nu_2$ ),  $590 \text{ cm}^{-1}$  de la flexión anti-simétrica ( $\nu_4$ ), y  $1043 \text{ cm}^{-1}$  para la tensión anti-simétrica ( $\nu_3$ ), como se encuentra reportado en la literatura (De Aza et al., 1997; Neira et al., 2009; Yamini et al., 2014). De igual forma se observa un pico de baja intensidad a  $322 \text{ cm}^{-1}$ , atribuido a modos de traslación de los iones de  $\text{Ca}^{2+}$  (Cuscó et al., 1998). La Figura 45 muestra además que todos los espectros Raman presentan una gran similitud entre sí, tanto en intensidad como en su valor de número de onda, lo cual corresponde a la homogeneidad morfológica de las nanocintas de HAp obtenidas entre las diferentes muestras (Krause et al., 2009), así como a su alta cristalinidad (Mandair y Morris, 2015).

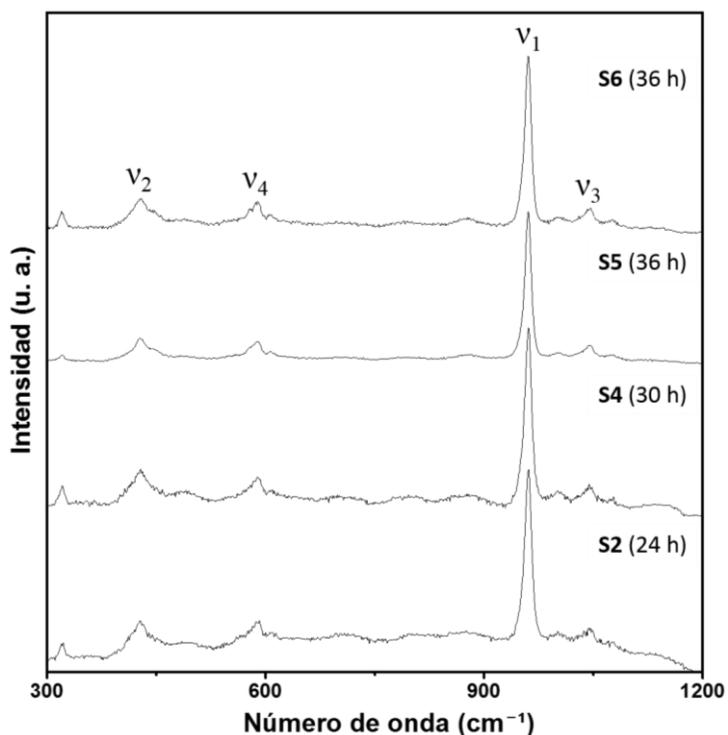


Figura 45. Espectros Raman de las muestras de HAp S2, S4, S5 y S6.

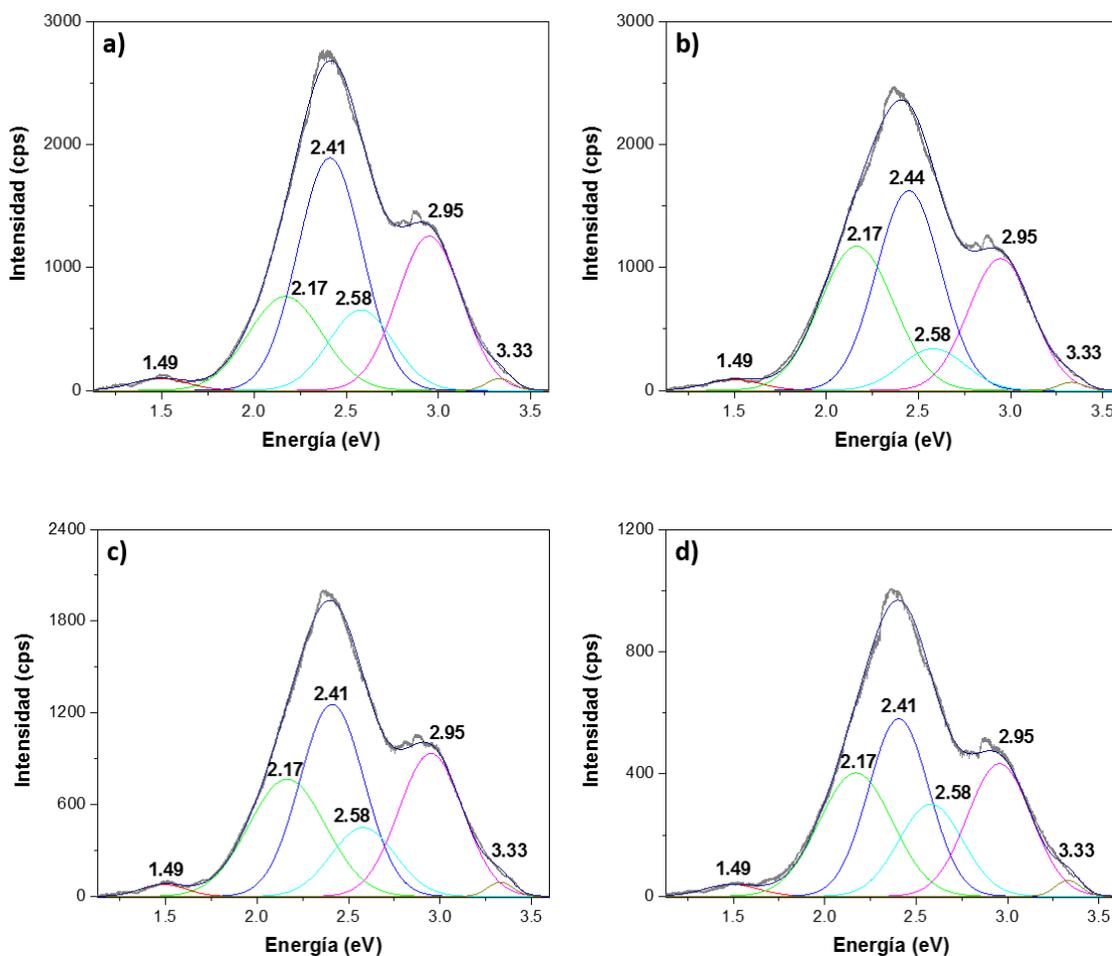
### 3.5 Luminiscencia

Las técnicas de fotoluminiscencia y catodoluminiscencia fueron empleadas para detectar la emisión de luz por parte de las muestras de hidroxiapatita. Dado que se ha calculado que la energía de banda prohibida ( $E_g$ ) de la HAp puede variar de 4.6 eV a 5.7 eV dependiendo de los defectos presentes en el material (Bystrov et al., 2016), resulta evidente que las transiciones electrónicas banda-banda no influyen en las emisiones de PL o CL, sino que éstas se deben a niveles energéticos dentro de la zona prohibida que surgen como consecuencia de distintos defectos nativos, o impurezas presentes en la red de hidroxiapatita.

Hasta la fecha, gran parte de los espectros de PL reportados para nanoestructuras de hidroxiapatita sintetizadas vía hidrotermal, consisten en una sola banda de emisión ancha que tiene su punto máximo en 2.95 eV, el cual varía ligeramente dependiendo del pH al que se haya realizado la síntesis (Zhang et al., 2009). Asimismo, se ha encontrado que este comportamiento se mantiene cuando la HAp se sintetiza por distintos métodos (Kumar et al., 2013; Bystrova et al., 2015), donde la diferencia radica en la intensidad de la misma banda de emisión. Esta señal centrada en 2.95 eV ha sido atribuida a vacancias de

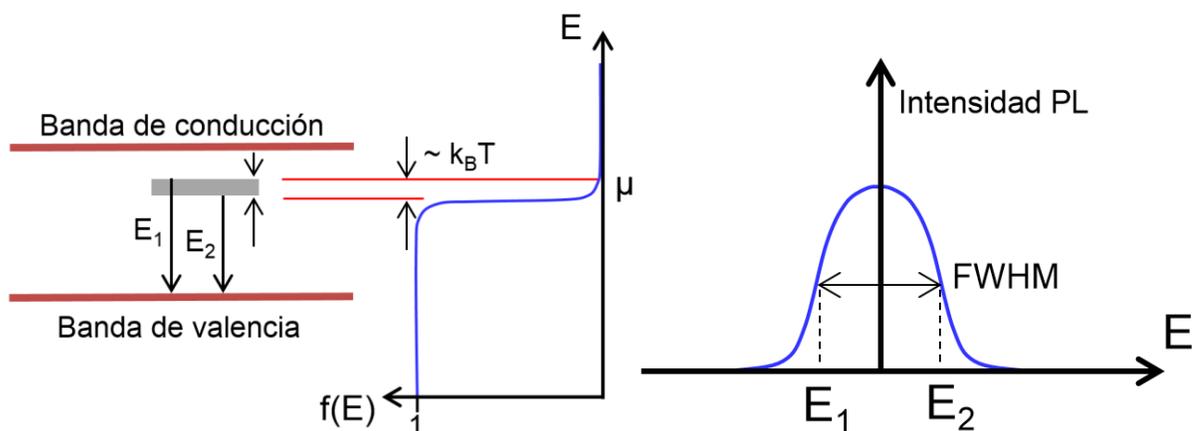
hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) por Bystrova et al. (2015), argumentando que a pesar de la posibilidad de que existan otros defectos contribuyendo en la formación de esta emisión, las vacantes de  $\text{OH}^-$  son la causa fundamental, dado que la intensidad de la señal incrementa conforme aumenta la concentración de vacantes de  $\text{OH}^-$  al aplicar un tratamiento térmico a la HAp.

Sin embargo, los espectros de PL obtenidos en las muestras sintetizadas en este trabajo revelaron que la luminiscencia de la HAp se compone por más de una banda de emisión, como se puede observar en la Figura 46. Múltiples cálculos para la deconvolución de estos espectros utilizando curvas Gaussianas fueron realizados usando el programa OriginPro 9.0, obteniendo 6 componentes con distintos valores en su semi-anchura a media altura (FWHM) como también muestra la Figura 46.



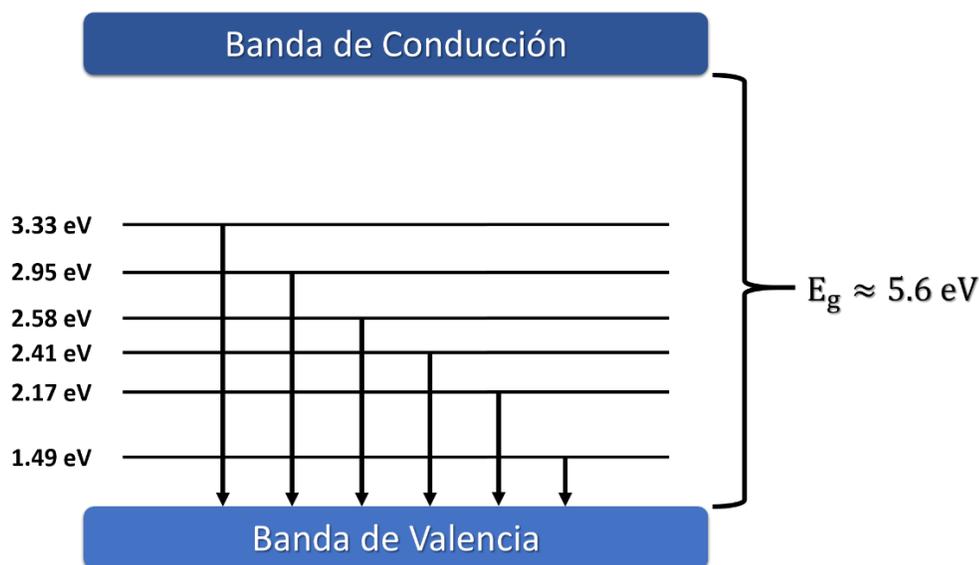
**Figura 46.** Espectros de fotoluminiscencia de las muestras a) S2 (24 h), b) S4 (30 h), c) S5 (36 h) y d) S6 (36 h).

Las componentes centradas en 1.49, 2.17 y 3.33 eV fueron calculadas con una FWHM de 0.35, 0.47 y 0.16 eV, respectivamente; mientras que el resto de las componentes (2.41, 2.58 y 2.95 eV) fueron calculadas usando un único valor FWHM de 0.41 eV. La diferencia en los valores de semi-anchura utilizados en estos cálculos se debió a que se atribuyó un origen específico a cada una de las componentes calculadas. En general, los valores de la FWHM de las emisiones que tienen como origen transiciones electrónicas entre niveles de energía generados por defectos cristalinos o impurezas, quedan determinados por la incertidumbre estadística de la función de distribución de Fermi para establecer la ocupación en tales estados de energía. La Figura 47 muestra un esquema que representa la dependencia de la FWHM en una emisión de PL, determinada por la diferencia de energías ( $E_1-E_2$ ), con la curvatura que presenta la función de distribución de Fermi a temperaturas mayores a 0 K. Esta curvatura que es dada por el producto de la constante de Boltzmann y la temperatura,  $k_B T$ , indica que para valores ligeramente menores (mayores) al potencial químico ( $\mu$ ) la probabilidad de ocupación de un estado electrónico localizado en la región prohibida de energía es menor a 1 (mayor a 0), por lo que habrá una incertidumbre ( $E_1-E_2$ ) en establecer la energía emitida por un electrón ante una transición desde dicho estado electrónico a la banda de valencia. En las deconvoluciones de estos espectros de PL se determinó que las componentes centradas en 2.17, 2.41, 2.58 y 2.95 eV, corresponden a niveles energéticos presentes en la banda prohibida de la HAp, por lo que se ha asignado un valor similar en su FWHM. En contraste, las componentes presentes en los extremos de la curva de emisión PL, centradas en 1.49 y 3.33 eV, fueron calculadas usando valores de FWHM diferentes debido a que, al coincidir con los valores mínimo y máximo de detección del sensor del sistema de PL usado, no se tiene la certeza de que pertenezcan a transiciones electrónicas entre estados electrónicos individuales como los mostrados en la Figura 47.



**Figura 47.** Esquema que representa la dependencia de la semi-anchura a media altura (FWHM), medida como la diferencia entre las energías  $E_1-E_2$ , con la función de distribución de Fermi  $f(E)$  establecida para un nivel de energía dentro de la banda prohibida.

En la Figura 48 se presenta un diagrama de niveles de energía, propuesto a partir de las componentes identificadas en los espectros de PL, utilizando un valor de  $E_g \approx 5.6$  eV para la HAp, tomando como referencia el trabajo publicado en 2016 por Bystrov y colaboradores.

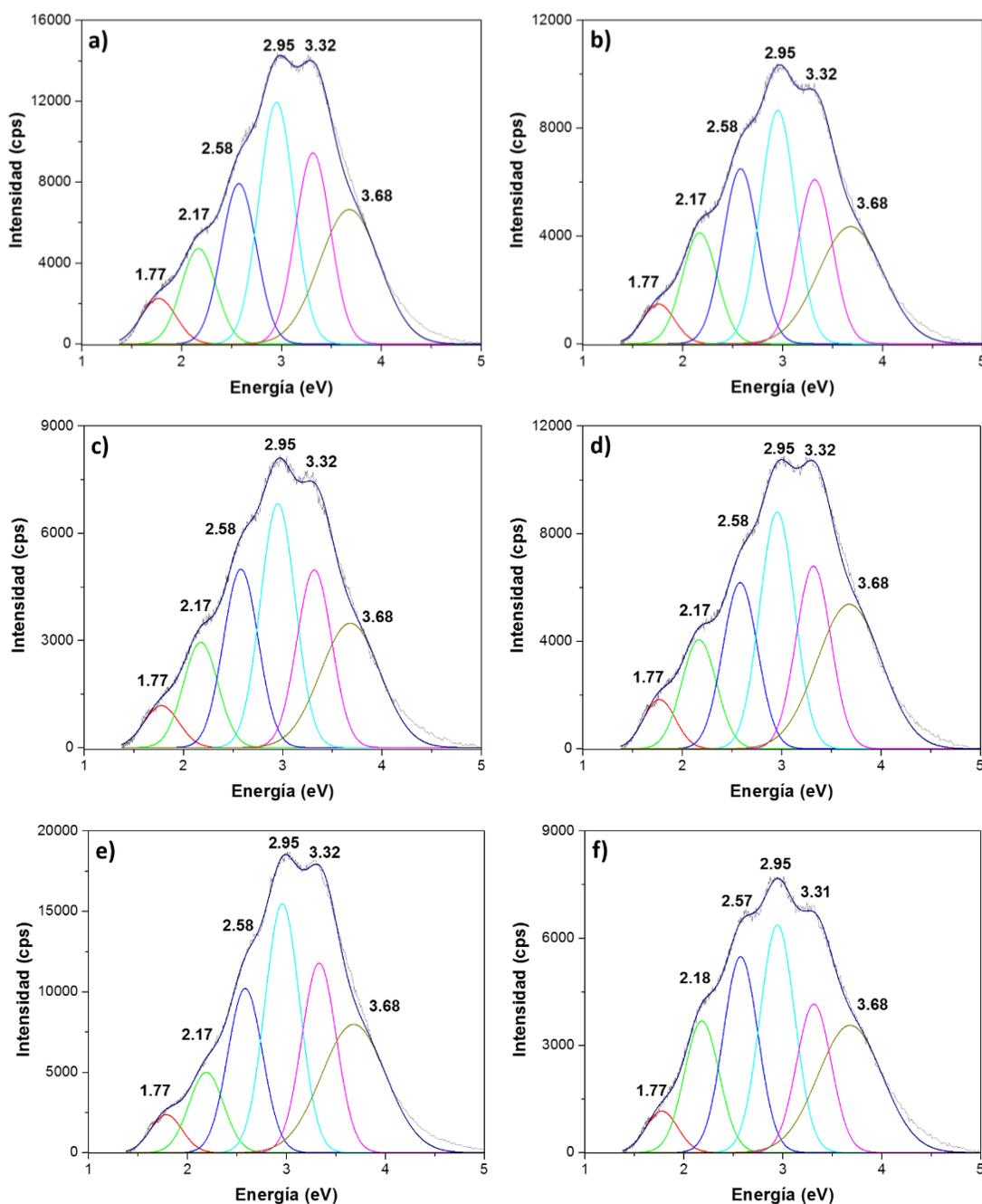


**Figura 48.** Diagrama de los niveles de energía propuestos para las nanocintas de HAp mediante PL.

Como se ha indicado previamente, la componente de 2.95 eV ha sido atribuido por Bystrova et al. (2015) a la formación de vacancias de iones  $\text{OH}^-$  en la HAp, mientras que las componentes centradas en 2.17, 2.41 y 2.58 eV han sido asociadas por Machado et al. (artículo de 2018, publicado en línea en septiembre de 2017) a defectos ubicados en el bulto tales como  $V_{\text{Ca}}$ , defectos intersticiales y distorsiones en los grupos fosfato. Resulta conveniente destacar que la componente de 2.41 eV [2.44 eV para la Figura 46 (b)] al poseer mayor área bajo su curva representa una mayor concentración del tipo de defecto cristalino responsable de esta emisión, sobre el cual hasta donde tenemos conocimiento aún no hay reportes en la literatura. Asimismo, los resultados de PL muestran que tanto el número de componentes como sus intensidades relativas se mantienen constantes sin importar la variación del tiempo de reacción empleado para sintetizar las diferentes muestras.

Para correlacionar los resultados de PL, se obtuvieron espectros de catodoluminiscencia en el rango visible de las nanocintas de HAp, los cuales se muestran la Figura 49. A pesar de ser técnicas con distinta fuente de excitación, los espectros de CL resultaron ser muy semejantes a los obtenidos por PL.

Así, se observó que algunas de las componentes de las curvas de emisión de CL corresponden con las obtenidas por PL para las diversas muestras estudiadas, independientemente de haber sido sintetizadas bajo diferentes tiempos de reacción. Notoriamente, estas componentes de CL sí muestran variaciones en sus intensidades relativas entre las diferentes muestras.



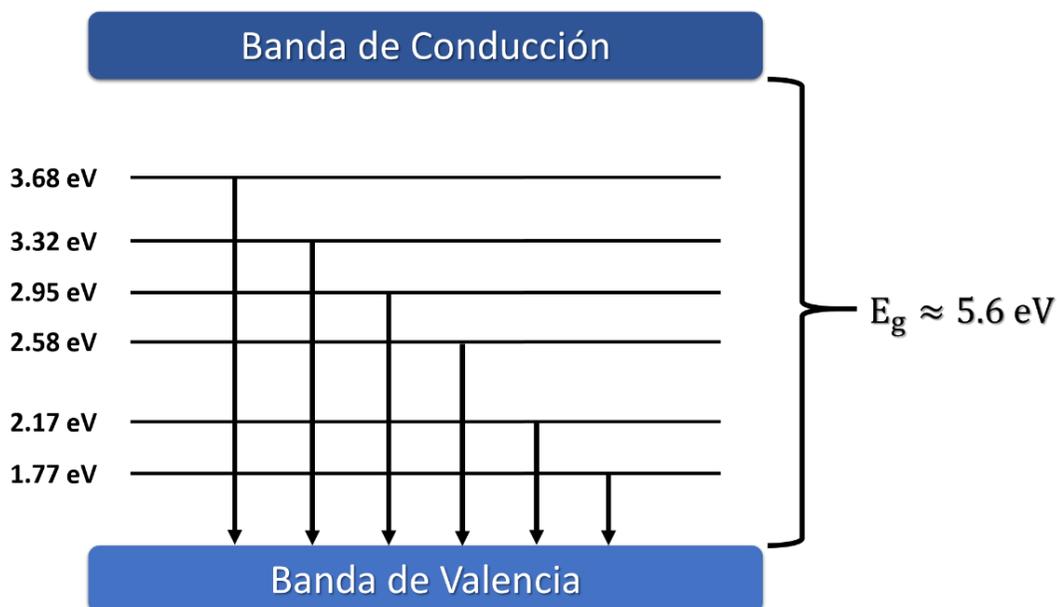
**Figura 49.** Espectros de catodoluminiscencia de las muestras a) S1, b) S2 y c) S3, con 24 h de reacción cada una; d) S4 de 30 h de reacción; e) S5 y f) S6, con 36 h de reacción.

Al igual que para PL, la deconvolución de los espectros de CL se llevó a cabo usando 6 curvas Gaussianas con distintos valores de FWHM. Las componentes ubicadas a los extremos de la curva, 1.77 y 3.68 eV, fueron calculadas usando valores FWHM de 0.37 y 0.76 eV, respectivamente, mientras que las componentes centrales de la curva, 2.17, 2.58, 2.95 y 3.32 eV, fueron calculadas usando un único valor FWHM de 0.41 eV. Cabe resaltar que estas últimas componentes aparecen también en los espectros de PL, incluyendo el hombro centrado en 2.95 eV asignado a vacancias de iones  $\text{OH}^-$ , el cual resultó ser la componente de mayor intensidad en los espectros CL, revelando que este tipo de defectos se encuentran en mayor concentración dentro de la región volumétrica de las muestras, donde se genera la señal de CL.

Asimismo, la componente centrada en 3.68 eV ha sido asociada también a defectos tipo vacancias de  $\text{OH}^-$ , en este caso por Bystrov et al. (2016), fomentando la idea de que las componentes identificadas en las curvas de emisión tanto de PL como CL, pudieran estar conformadas por más de un tipo de defecto (Machado et al., 2018).

Como se ha indicado, la componente centrada en 2.41 eV presentó la mayor intensidad en los espectros de PL, y como muestra la Figura 49, ésta no aparece en los espectros de CL. Si se toma en cuenta que la profundidad de penetración del láser UV usado como fuente de excitación en la técnica de PL es de tan solo unos pocos nanómetros, se podría considerar a la técnica de PL como superficial.

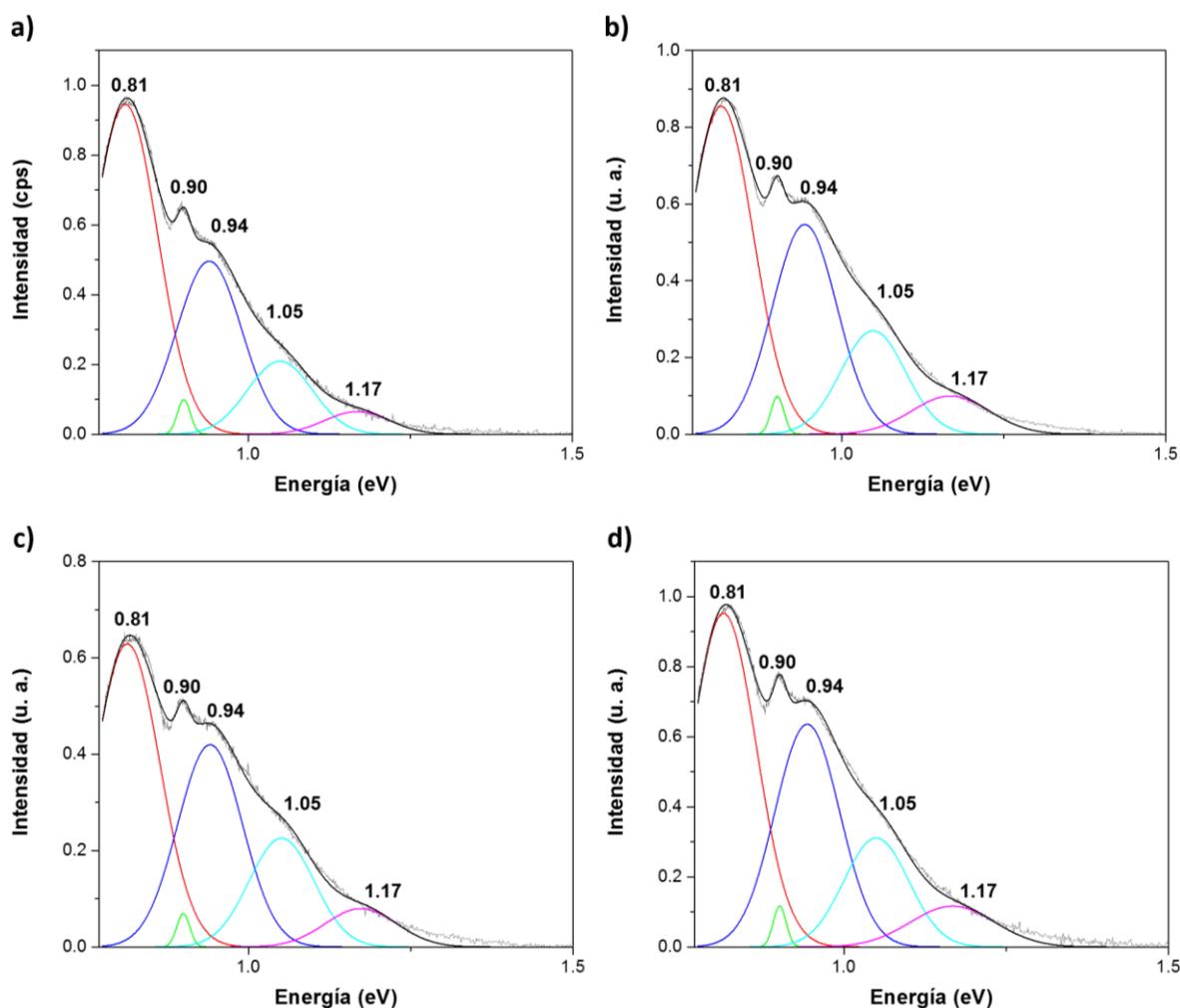
Como se ha mencionado, al usar un haz de electrones como fuente de excitación cuya profundidad de penetración es de hasta varios micrómetros, la técnica de CL podría considerarse como una técnica volumétrica en comparación con la PL. De acuerdo con este argumento, se propone que el tipo de defecto responsable de la emisión de 2.41 eV se encuentra en una concentración mucho mayor en la superficie de las nanocintas que en el bulto. Asociando esto último con los resultados de EDS y XPS (sección 3.2), establecemos que esta componente se relaciona a defectos tipo  $V_{\text{Ca}}$  superficiales, ya que la relación Ca/P resultó ser menor en la superficie ( $\text{Ca/P} \approx 1.2$ ), que en el bulto del material ( $\text{Ca/P} \approx 1.3$ ); mientras que la componente de 2.95 eV (observada con mayor intensidad en los espectros de CL que en los de PL) indica que, aunque las vacancias de iones  $\text{OH}^-$  estén presentes en la superficie, son más prominentes en el bulto que en la superficie de las nanocintas de HAp. En la Figura 50, se muestra el esquema de niveles energéticos propuestos con base en las componentes observadas en estos espectros de CL.



**Figura 50.** Esquema de los niveles energéticos propuestos para las nanocintas de HAp mediante CL.

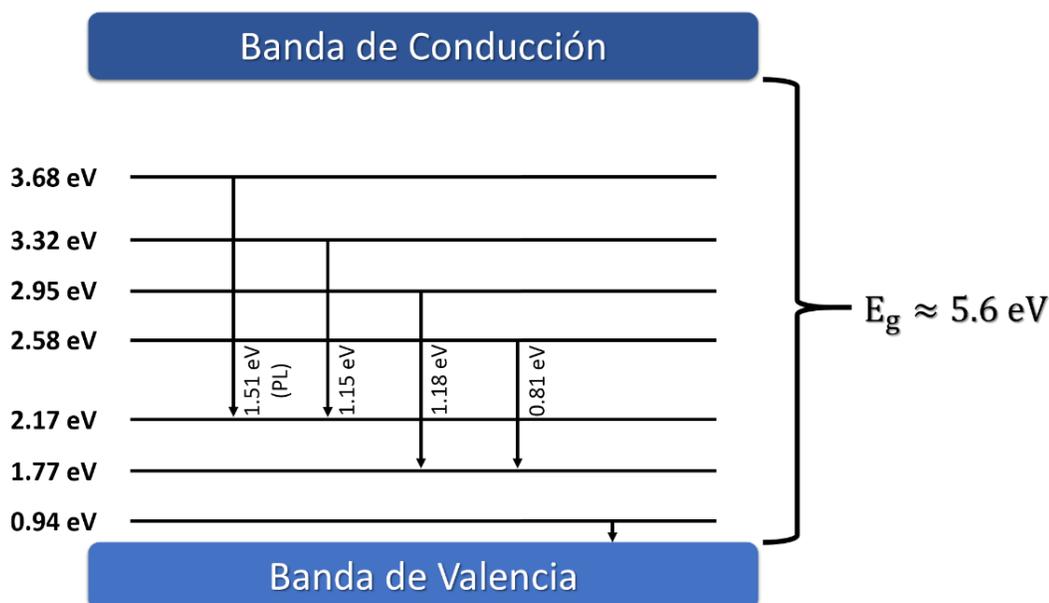
Como estudio complementario, se tomaron espectros de CL en el rango infrarrojo cercano (NIR) de las nanocintas de HAp, los cuales se exponen en la Figura 51. De la misma forma que para los casos anteriores, las deconvoluciones de estos espectros se realizaron mediante el uso de curvas Gaussianas, teniendo como resultado una curva de emisión conformada por 5 componentes con distintos valores de FWHM. Las componentes propuestas para estos espectros son 0.81, 0.90, 0.94, 1.05 y 1.17 eV, de las cuales las componentes centradas en 0.90 y 1.17 eV poseen una FWHM de 0.02 y 0.12 eV, respectivamente, mientras que el resto poseen una FWHM de 0.11 eV. Tomando en cuenta que la componente angosta centrada en 0.90 eV posee una FWHM muy pequeña (0.02 eV) comparada con el resto (0.11-0.12 eV), se espera que esta señal tenga un origen distinto a las demás componentes, y por tanto, desconocido hasta el momento.

En los espectros de CL en NIR se observa que la componente de mayor intensidad está centrada en 0.81 eV, y que las intensidades relativas entre las componentes permanecen constantes entre las muestras sintetizadas con distintos tiempos de reacción, a diferencia de los espectros de CL en el rango visible. Además, aparece un hombro centrado en 0.94 eV, el cual ha sido previamente asociado a vacantes de oxígeno ( $V_O$ ) presentes en los grupos  $(PO_4)^{3-}$  por Bystrov et al. (2016), asignación realizada a base de cálculos computacionales.



**Figura 51.** Espectros de catodoluminiscencia en el rango infrarrojo cercano de las muestras a) S2 (24 h), b) S4 (30 h), c) S5 (36 h) y d) S6 (36 h).

Debido a que todas las componentes están centradas en valores menores a 1.5 eV, se espera que algunas de estas señales se deban a transiciones electrónicas ocurridas entre los niveles energéticos identificados mediante las técnicas de PL (Figura 48) y CL (Figura 50), atribuidos a defectos puntuales en la HAp. La Figura 52 muestra estas transiciones. Si se analizan las diferencias en energía entre los valores de las componentes encontradas en los espectros de CL en el rango visible (1.77, 2.17, 2.58, 2.95, 3.32 y 3.68 eV), se observa que algunas de estas diferencias entre los posibles niveles profundos, coinciden o se acercan significativamente con los valores de las componentes encontradas en los espectros de CL en el rango infrarrojo cercano; por ejemplo, la diferencia entre 2.58 eV y 1.77 eV es de 0.81 eV, mientras que la diferencia entre 2.95 y 1.77 eV es de 1.18 eV, energías que corresponden a componentes que forman la curva de emisión de CL en NIR.



**Figura 52.** Diagrama de las transiciones electrónicas propuestas para las nanocintas de HAp.

Finalmente, cabe destacar que los resultados de PL y CL obtenidos en este trabajo han permitido identificar las vacancias de calcio y de iones  $\text{OH}^-$  como los defectos más probables presentes en las nanocintas de HAp estudiadas. Sin embargo, por el momento no ha sido posible identificar qué otro tipo de defectos pudieran dar origen a las componentes centradas en 1.77, 2.17, 2.58 y 3.32 eV, observadas en los espectros CL del rango visible, o afirmar si en efecto las componentes centradas en 0.81 y 1.17 eV de los espectros de CL en el NIR corresponden a transiciones entre niveles profundos; por lo tanto, se prevé hacer en un futuro próximo, un estudio más específico sobre la identificación de defectos puntuales tipo vacantes, particularmente usando la técnica de espectroscopía de resonancia paramagnética.

No obstante, estos resultados son de gran interés pues hasta ahora no existen reportes sobre catodoluminiscencia por parte de la HAp en el rango infrarrojo cercano, en parte debido a la especulación de que las recombinaciones electrón-hueco dadas entre niveles de energía muy próximos (del orden de 1 eV) pudieran ser no-radiativas (Machado et al., 2018); asimismo, no se han publicado espectros de CL en el rango visible que revelen la presencia de los diferentes defectos puntuales que posee la HAp, lo cual sí se ha logrado conseguir en este trabajo de tesis.

## Capítulo 4. Recristalización de nanocintas de hidroxiapatita en presencia de campos eléctricos

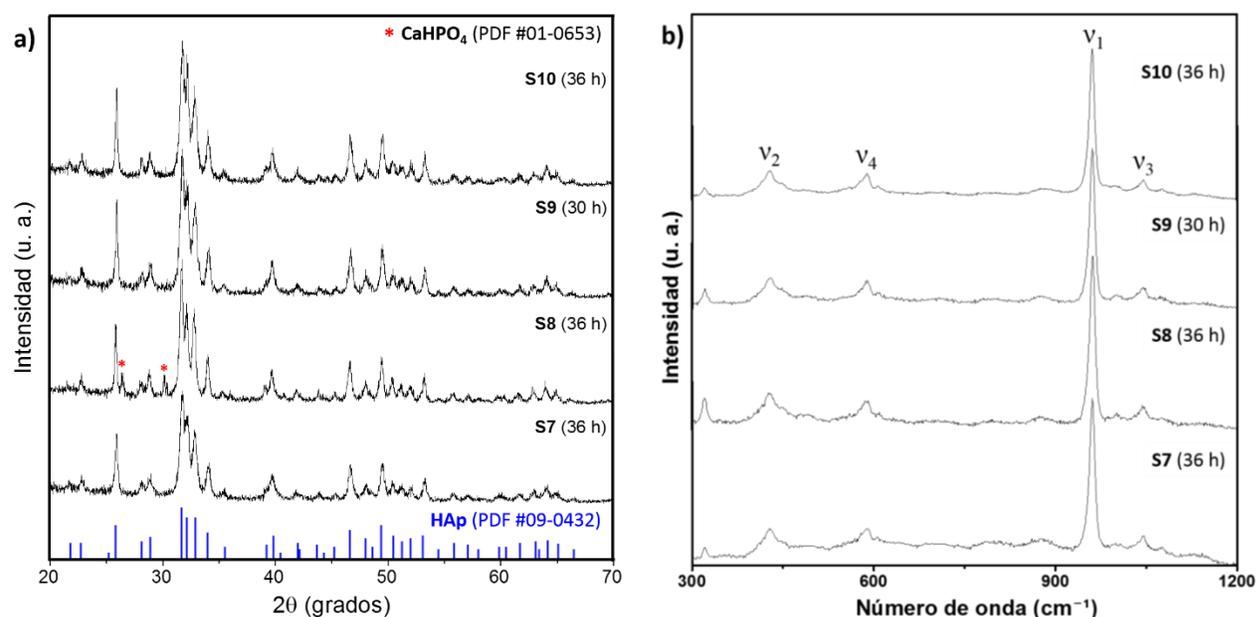
Este capítulo está conformado por los resultados referentes a los experimentos de recristalización de nanocintas de HAp deficiente en calcio realizados mediante la aplicación de un campo eléctrico de corriente alterna (AC), procedimiento detallado previamente en la sección 2.3 del capítulo de metodología. Tanto las muestras de nanocintas en polvo (denominadas “SX” como las muestras del capítulo anterior), como sus correspondientes nanocintas recristalizadas en los microelectrodos (llamadas “SXAC”), se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Muestras de HAp en polvo y sus correspondientes muestras de HAp recristalizada mediante la aplicación de un campo eléctrico alterno.

Tipo de muestra	Nombre de la muestra	Tiempo de reacción
Nanocintas de HAp del sobrenadante de la reacción (en polvo)	S7	36 h
	S8	
	S9	30 h
	S10	36 h
	S11	30 h
	S12	36 h
HAp recristalizada (depositada en microelectrodos)	S7AC	15 min (Aplicación del campo eléctrico de corriente alterna con una frecuencia de 3.3 kHz a temperatura ambiente)
	S8AC	
	S9AC	
	S10AC	
	S11AC	
	S12AC	

Las muestras de nanocintas de HAp en polvo fueron analizadas mediante las técnicas de DRX y espectroscopía Raman, con el propósito de comprobar que el material no fuera afectado por la introducción de los microelectrodos con aplicación de campo eléctrico de AC, en la solución de HAp en los últimos minutos de la síntesis. Los resultados de dichas técnicas se presentan en la Figura 53, donde se observa que tanto la estructura cristalina como los modos de vibración de la HAp, no fueron afectados por sumergir los microelectrodos en la solución de síntesis o por la aplicación de una corriente.

Al igual que en el capítulo anterior, por XRD se identifican señales de la fase monenita ( $\text{CaHPO}_4$ ) aunque solo en el difractograma correspondiente a la muestra S8. Los patrones de DRX de las muestras S11 (30 h) y S12 (36 h) se agregaron como Anexo D, dado que son reproducciones de las muestras S9 y S10, respectivamente, además de que todas las muestras presentaron el mismo patrón de difracción.



**Figura 53.** (a) Patrones de difracción y (b) espectros Raman de las muestras de nanocintas de HAp S7, S8, S9 y S10.

Debido a que los resultados anteriores, en conjunto con resultados de XPS y TEM de las muestras S7 y S8 (presentados como Anexos E y F, respectivamente), corroboran que no existe alteración alguna en las nanocintas de HAp obtenidas en las suspensiones en las que se realizaron los experimentos de

recristalización aplicando campo eléctrico, se considera innecesario discutir la caracterización de estas nanocintas al ser la misma discusión que para las nanocintas del capítulo anterior.

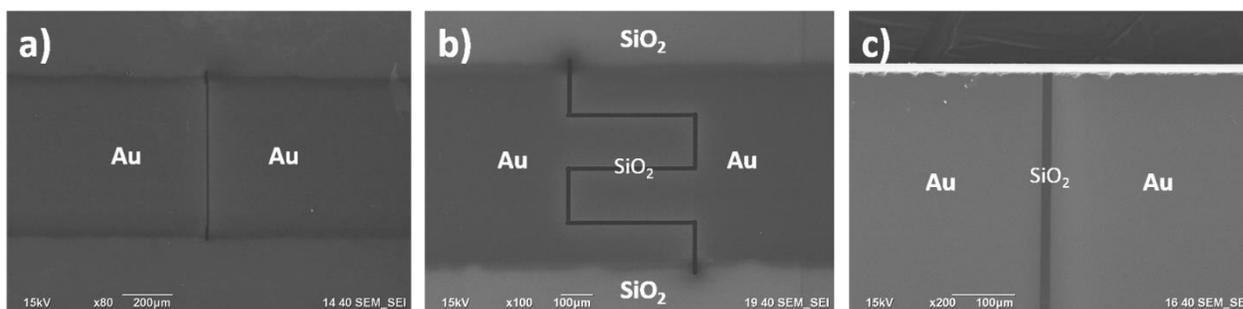
Por ende, los resultados que se presentan a continuación se enfocan en la comparación de las muestras de HAp recristalizada mediante la aplicación del campo eléctrico AC (depositada en microelectrodos de SiO<sub>2</sub> + Au) con sus correspondientes muestras de nanocintas de HAp (en polvo), crecidas estas últimas en suspensión durante el mismo experimento de recristalización.

Primeramente, en la Tabla 6 se agrega una relación de las muestras de HAp recristalizada con el tipo de microelectrodos utilizados para cada una de ellas, los cuales se separaron entre sí 10 μm siguiendo diferentes geometrías (línea recta y onda cuadrada) durante la erosión con iones de Ga<sup>3+</sup>.

**Tabla 6.** Muestras de HAp recristalizada con el tipo de microelectrodos utilizados para cada muestra.

Nombre del tipo de microelectrodos	Descripción del tipo de microelectrodos	Nombre de la muestra recristalizada
ML1	Placa de SiO <sub>2</sub> con una franja de Au depositada en la superficie y erosión en línea recta	S7AC
		S10AC
MZ	Placa de SiO <sub>2</sub> con una franja de Au depositada en la superficie y erosión en onda cuadrada	S8AC
		S9AC
ML2	Placa de SiO <sub>2</sub> con superficie recubierta de Au y erosión en línea recta	S11AC
		S12AC

En la Figura 54 se exponen las imágenes de SEM de los diseños en línea recta y onda cuadrada realizados con FIB para la fabricación de los microelectrodos utilizados para las pruebas de recristalización inducida por campos eléctricos.



**Figura 54.** Imágenes de SEM de los microelectrodos tipo (a) ML1, (b) MZ y (c) ML2.

## 4.1 Composición elemental

A partir de la técnica de EDS fue posible realizar un análisis cuantitativo de composición elemental y determinar la relación atómica de Ca/P presente en la HAp recristalizada mediante la aplicación de campos eléctricos. En la Tabla 7 se comparan los valores de la relación Ca/P de las muestras de HAp recristalizada (depositada en microelectrodos) con las muestras de HAp en polvo (suspendidas en la solución) correspondientes. En dicha tabla se observa un aumento en la relación atómica de Ca/P en las muestras de HAp recristalizada en comparación con las nanocintas sintetizadas en suspensión, indicando que el campo eléctrico AC aplicado induce una disminución en la concentración de defectos tipo vacancias de calcio ( $V_{Ca}$ ), y por tanto ocasiona un efecto de recocido (*annealing*) en las nanoestructuras de HAp, del que parte el proceso de recristalización.

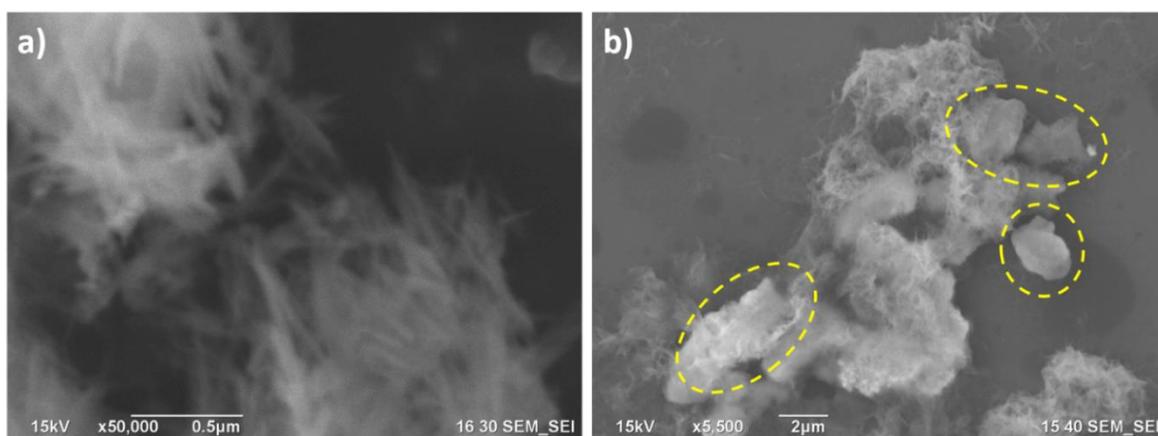
No obstante, aunque las condiciones del campo eléctrico AC aplicado fueron constantes para todas las muestras de HAp recristalizada (ver Tabla 5), la muestra S8AC presentó una relación de Ca/P de 0.79, lo cual señala la formación de un fosfato de calcio aparentemente debido a una reacción ocurrida por la corriente eléctrica aplicada a los microelectrodos. Dado que este fue el único caso de formación de un fosfato, se concluyó que este resultado podría ser consecuencia de un evento anómalo durante el experimento, por lo que la muestra S8AC no recibió caracterización adicional.

**Tabla 7.** Resultados del análisis cuantitativo realizado por EDS para las muestras de nanocintas de HAp y su respectiva muestra de HAp recristalizada.

Muestra	Elemento	Porcentaje atómico (%)	Relación atómica Ca/P
S7	O	67.15	1.34
	P	14.05	
	Ca	18.80	
S7AC	O	72.78	1.53
	P	8.87	
	Ca	13.60	
S8	O	68.21	1.44
	P	13.01	
	Ca	18.79	
S8AC	O	68.21	0.79
	P	13.01	
	Ca	18.79	
S9	O	72.49	1.33
	P	11.78	
	Ca	15.73	
S9AC	O	70.23	1.40
	Si	4.51	
	P	10.49	
	Ca	14.77	
S10	O	69.60	1.49
	P	12.21	
	Ca	18.19	
S10AC	O	78.20	1.61
	Si	2.24	
	P	7.48	
	Ca	12.07	
S11	O	76.39	1.49
	P	9.47	
	Ca	14.14	
S11AC	O	80.40	1.57
	Si	1.75	
	P	6.94	
	Ca	10.92	
S12	O	75.62	1.46
	P	9.90	
	Ca	14.48	
S12AC	O	79.01	1.63
	Si	2.93	
	P	6.86	
	Ca	11.20	

## 4.2 Morfología

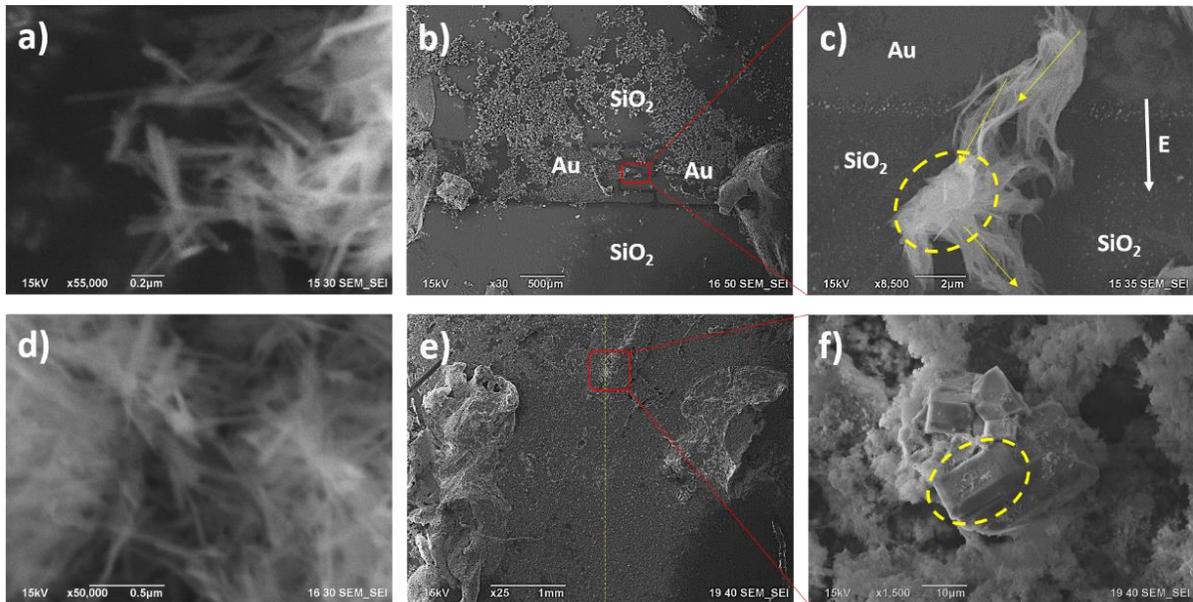
En la Figura 55 se presentan las micrografías de SEM de la muestra de nanocintas de HAp S7 y su muestra correspondiente de HAp recristalizada S7AC, donde se aprecia que esta última presenta una combinación de morfologías, ya que se observan cúmulos de nanocintas y la formación de grumos compactos de HAp [zonas encerradas en la Figura 55 (b)], aparentemente generados por coalescencia de nanocintas durante la aplicación del campo eléctrico AC.



**Figura 55.** Micrografías de SEM de la muestra (a) S7 y (b) S7AC.

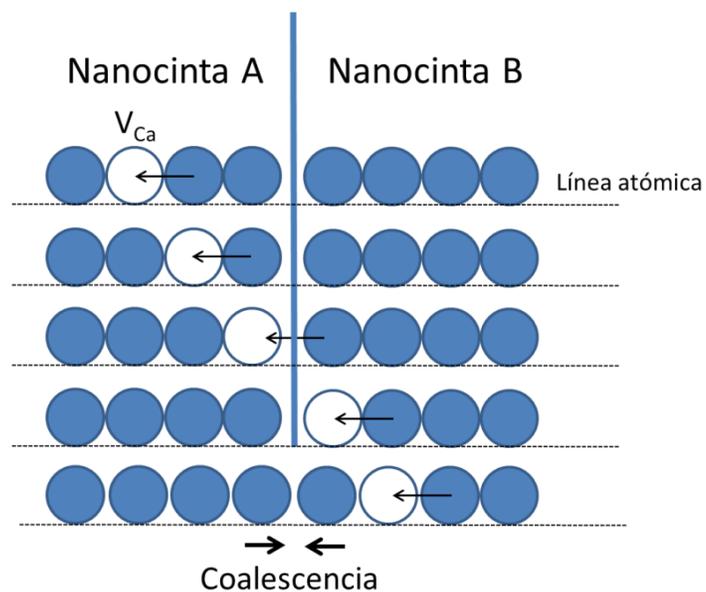
Asimismo, en la Figura 56 se presentan las imágenes de SEM de las muestras S9AC y S10AC con sus correspondientes nanocintas de HAp (S9 y S10, respectivamente), donde se observa nuevamente una combinación de morfologías; particularmente una aglomeración de nanocintas en la muestra S9AC y la formación de microestructuras con forma de prismas formados por la coalescencia de nanocintas de HAp en la muestra S10AC, como se señala en las imágenes Figura 56 (c) y (f).

El fenómeno de coalescencia observado en la nanocintas de HAp se atribuye a la alta movilidad iónica que posee la HAp, como se ha mencionado en el Capítulo 1, la cual aparentemente puede ser promovida por la presencia de un campo eléctrico AC.



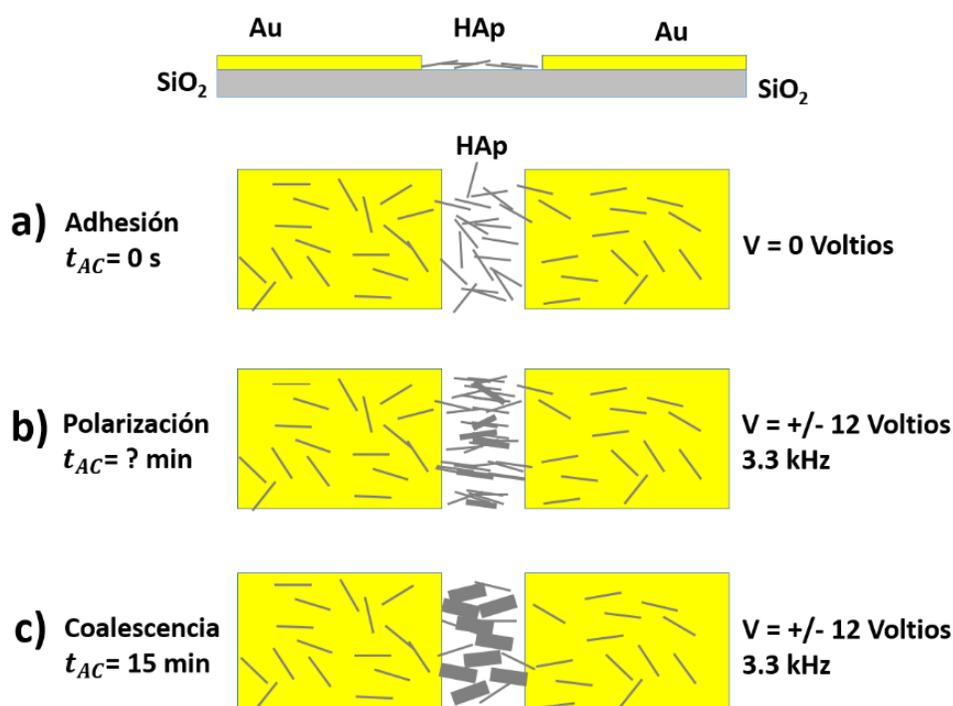
**Figura 56.** Imágenes de SEM de las muestras (a) S9, (b) S9AC (con microelectrodos tipo ML1), (c) ampliación de S9AC, (d) S10, (e) S10AC (con microelectrodos tipo MZ) y (f) ampliación de S10AC.

Particularmente, se propone que la presencia de vacancias de calcio ( $V_{Ca}$ ) en la HAp facilita este fenómeno de difusión de iones en estado sólido, las cuales al no ser otra cosa que espacios vacíos en la red cristalina permiten que iones vecinos difundan a través de ellas generando la coalescencia entre varias nanocintas. Un esquema de este proceso de muestra en la Figura 57, en donde se representa una fila atómica de una nanocinta A con otra fila atómica de una nanocinta B.



**Figura 57.** Esquema que representa la movilidad iónica a lo largo de una línea atómica de la red de HAp entre dos nanocintas generando su coalescencia.

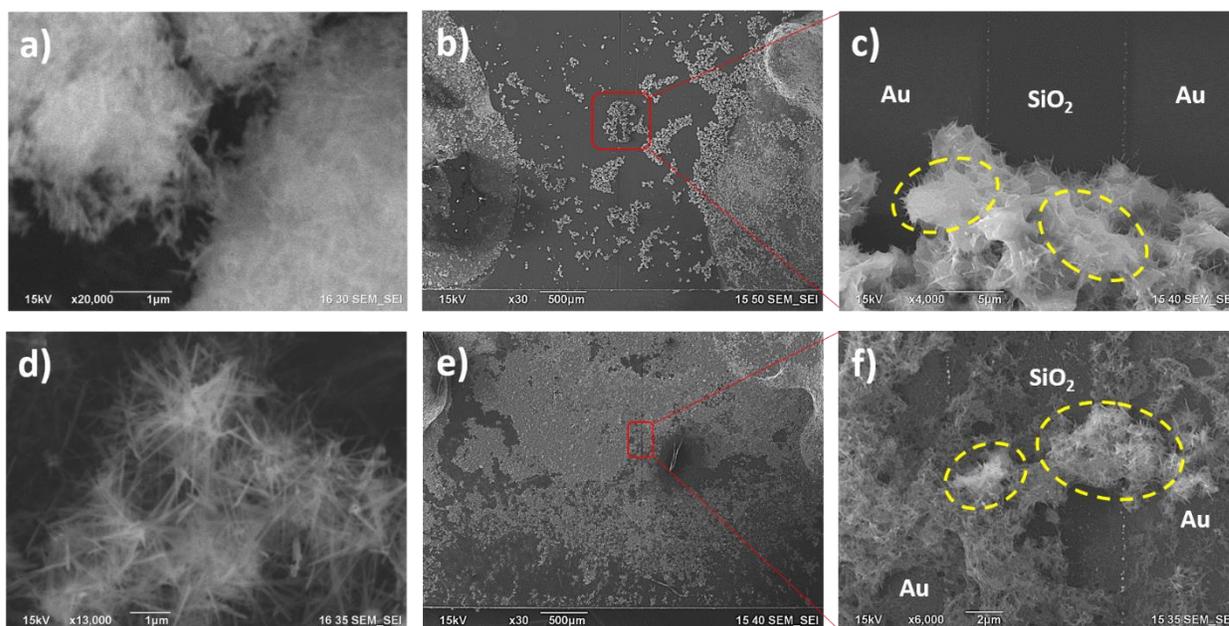
La primera de las cuales al poseer una  $V_{Ca}$  permitirá que ocurra un proceso de difusión iónica, por ejemplo de derecha a izquierda, entre las líneas atómicas de ambas nanocintas hasta generar su coalescencia. Así, las imágenes de SEM parecen indicar que el hecho de que ocurra la coalescencia del material vía recocido de  $V_{Ca}$ , correlaciona con el incremento en la relación atómica Ca/P observado mediante el análisis de EDS (ver Tabla 7). Este resultado representa un decremento en la concentración de  $V_{Ca}$  y por tanto un incremento en la calidad cristalina de la HAp, o purificación, lo cual a la vez define a un proceso de recristalización. Tomando en cuenta estos resultados, en la Figura 58 se propone un esquema dinámico del proceso de recristalización de las nanocintas de HAp depositadas en los microelectrodos de  $SiO_2 + Au$ .



**Figura 58.** Ilustración del proceso propuesto para la recristalización de las nanocintas de HAp comenzando por (a) la adherencia de las nanocintas de HAp a los microelectrodos de  $SiO_2 + Au$ , seguido de (b) la aplicación del campo eléctrico AC para finalmente dar paso a (a) la coalescencia de las nanocintas y por tanto, la generación de microestructuras compactas.  $t_{AC}$ : Tiempo de aplicación del campo eléctrico AC.

A diferencia de la muestra S10AC, las imágenes de SEM adquiridas de las muestras S11AC y S12AC (Figura 59) no revelan la misma formación de prismas micrométricos, sino solo la coalescencia de las

nanocintas de HAp. Este hecho podría ser explicado en términos de la intensidad del campo eléctrico aplicado entre los electrodos, ya que las muestras S9AC y S10AC fueron obtenidas en electrodos fabricados en una franja de Au de 700  $\mu\text{m}$  de anchura, mientras que las muestras S11AC y S12AC recrystalizaron en electrodos fabricados con una anchura de 5 mm. Dado que la intensidad de campo eléctrico en un capacitor (arreglo de electrodos paralelos) es directamente proporcional a la densidad superficial de carga eléctrica, esto es  $E = \sigma/\epsilon$ , se espera que en los primeros electrodos la intensidad del campo eléctrico sea mayor que la aplicada en los segundos.



**Figura 59.** Imágenes de SEM de las muestras (a) S11, (b) S11AC (con microelectrodos tipo ML1), (c) ampliación de S11AC, (d) S12, (e) S12AC (con microelectrodos tipo MZ) y (f) ampliación de S12AC.

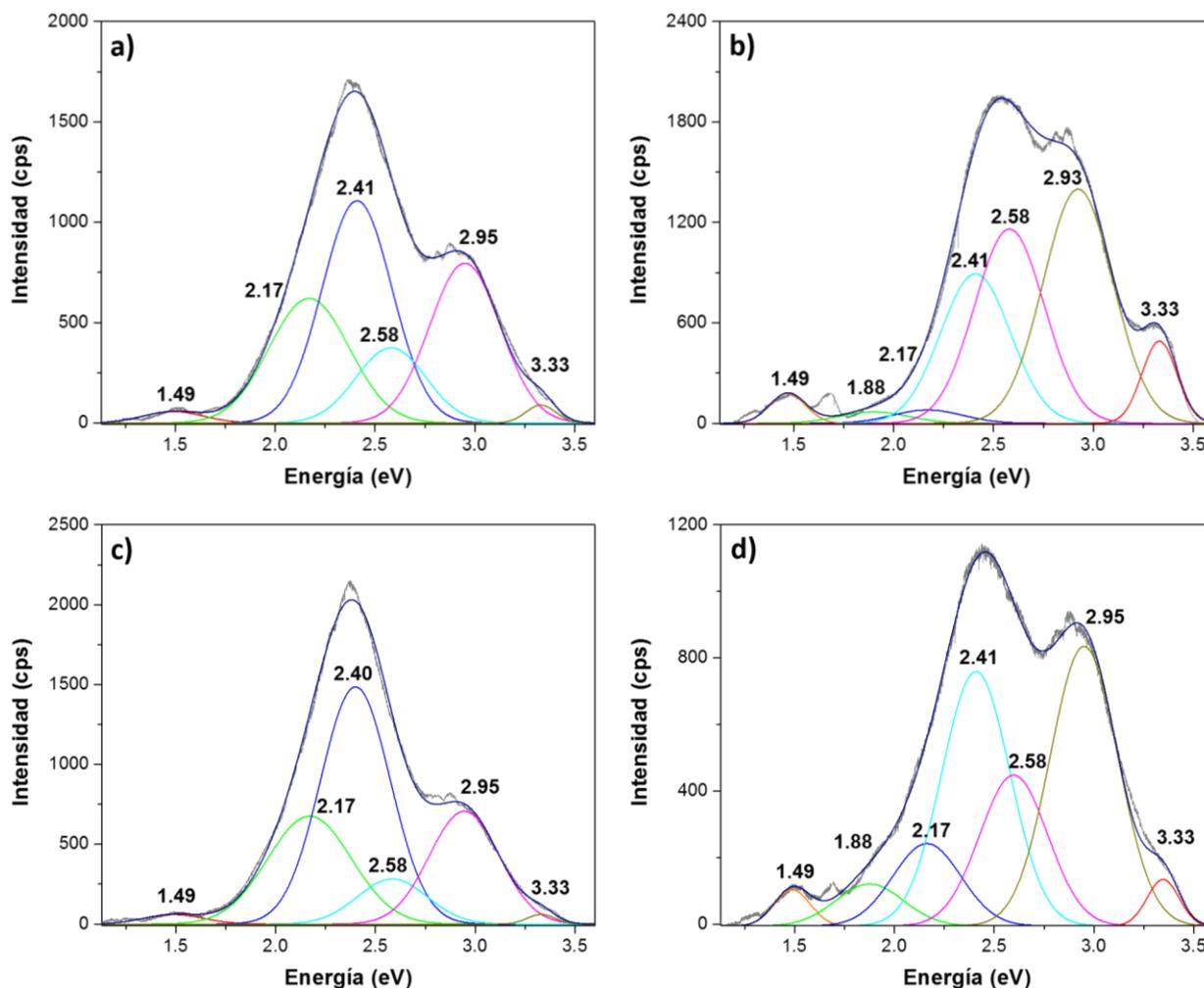
### 4.3 Luminiscencia

En esta sección se exponen los espectros de PL y CL (región visible e infrarrojo cercano) de las muestras de HAp recrystalizada con el propósito de observar el efecto de la recrystalización en la luminiscencia de estas muestras. En la Figura 60 se presentan los espectros de PL tomados de las muestras de nanocintas S9 y S10, así como de sus muestras de HAp recrystalizada correspondientes S9AC y S10AC.

Las deconvoluciones de estos espectros se realizaron utilizando las mismas componentes que las propuestas para los espectros de PL de las muestras del capítulo anterior (ver subtema 3.5); sin embargo,

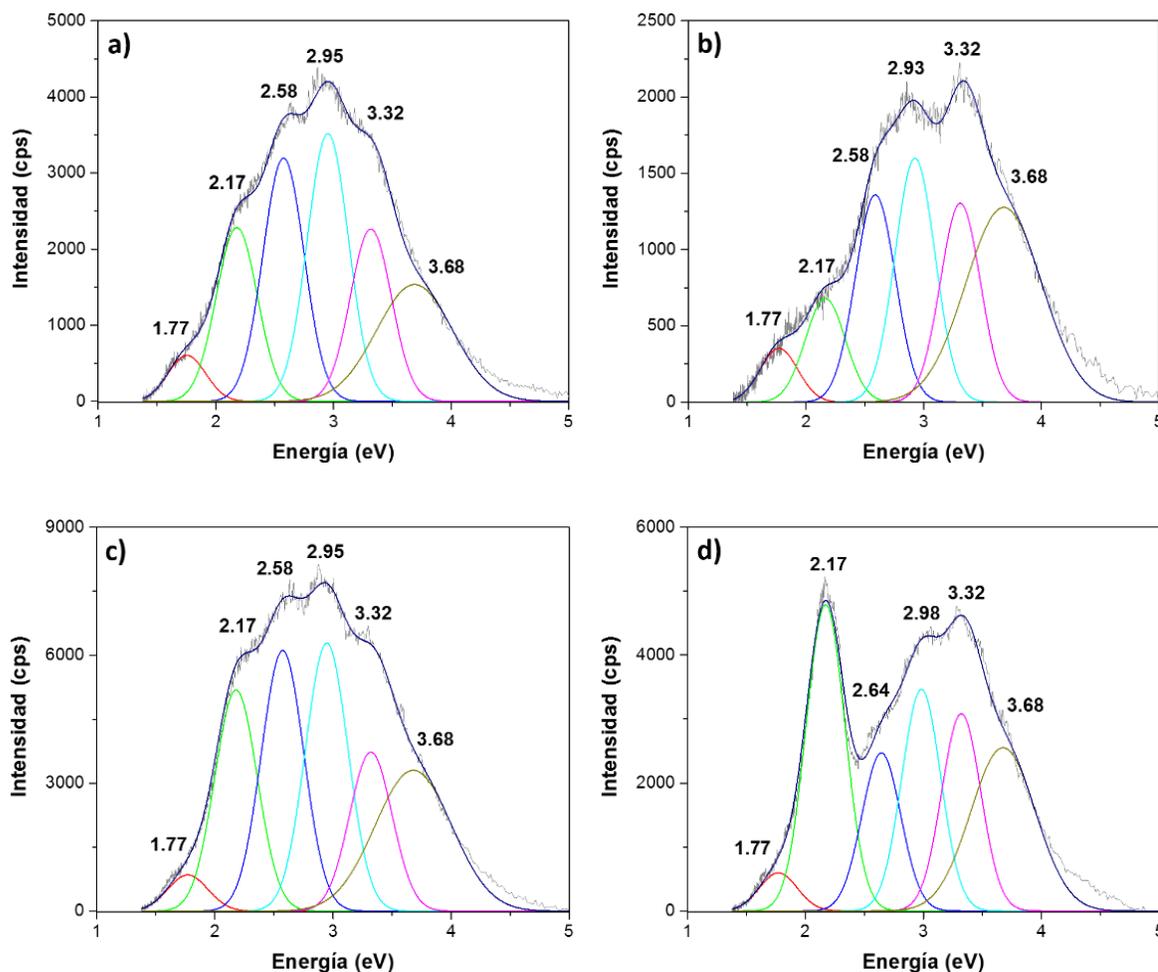
en la curva de emisión de las muestras de HAp recristalizada (S9AC y S10AC) se propuso una débil componente adicional centrada en 1.88 eV (FWHM= 0.41 eV) introducida para ajustar correctamente el espectro y cuyo origen no se ha explicado en este trabajo de tesis, ya que esta señal no aparece en los espectros de PL de las muestras de nanocintas de HAp. Además, se identifica un pico angosto que podría estar relacionado con alguna impureza de origen extrínseco.

Asimismo, las muestras S9AC y S10AC revelan un decremento en la intensidad de la emisión de 2.41 eV asociada a la presencia de  $V_{Ca}$ , respecto a la observada en las muestras S9 y S10 respectivamente, lo cual correlaciona con el incremento en su relación Ca/P detectado por EDS (ver Tabla 7), generado por la recristalización de la HAp como se ha discutido previamente. Además, los espectros de las muestras recristalizadas [Figuras 60 (b) y (d)] revelan un incremento en la intensidad relativa de la emisión de 2.95 eV, atribuida a la formación de  $V_{OH^-}$ .



**Figura 60.** Espectros de fotoluminiscencia de las muestras (a) S9, (b) S9AC, (c) S10 y (d) S10AC.

Con el fin de complementar los resultados de PL mostrados anteriormente, se adquirieron espectros de CL tanto en el rango visible como en el infrarrojo cercano, cuyas deconvoluciones se realizaron tomando como base las componentes propuestas en el capítulo anterior para ambos casos, así como sus valores de FWHM correspondientes. Comenzando por los espectros de CL en el rango visible, en la Figura 61 se presentan los espectros tomados para las muestras de HAp recristalizada S7AC y S10AC, a forma de comparación con sus respectivas nanocintas de HAp S7 y S10. En primera instancia, se observa que la muestra recristalizada S7AC posee un patrón similar al de la muestra de nanocintas S7, aunque presenta pequeñas diferencias en intensidad relativa entre sus componentes, posiblemente relacionadas con el ligero cambio observado en la morfología [ver Figura 55 (b)] debido a una recristalización mínima en el material.



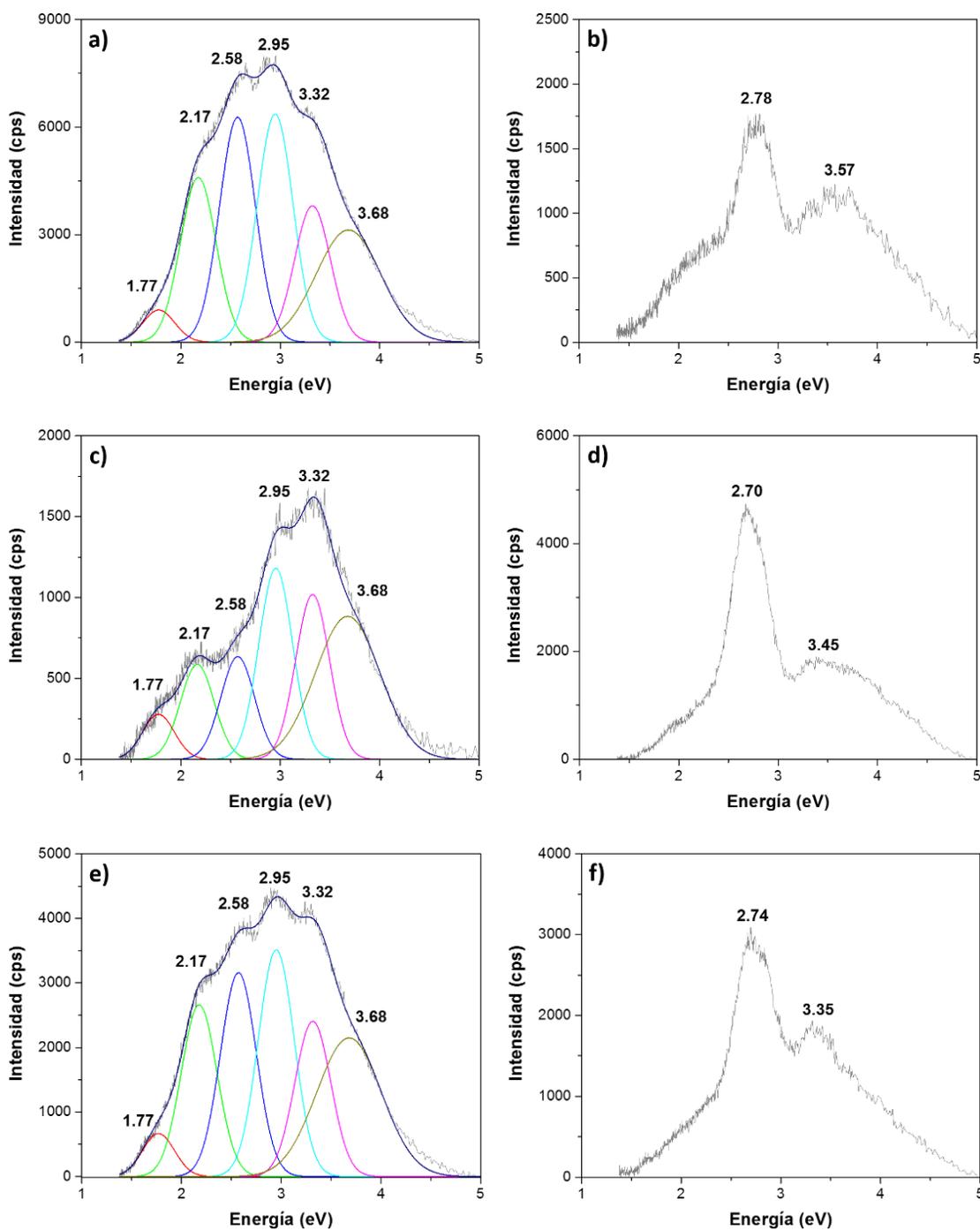
**Figura 61.** Espectros de CL en el rango visible de las muestras (a) S7, (b) S7AC, (c) S10 y (d) S10AC. Las muestras S7ACy S10AC, poseen microelectrodos tipo ML1.

Asimismo, la muestra S10AC presenta una distribución de componentes similar; sin embargo, la intensidad de la componente centrada en 2.17 eV incrementa significativamente, mientras que las componentes centradas originalmente en 2.58 y 2.95 eV [Figura 61 (c)] se desplazan a mayor energía con punto máximo en 2.64 y 2.98 eV, respectivamente [Figura 61 (d)].

Dada la rapidez con la que ocurre la recristalización inducida por campos eléctricos (durante 15 min a temperatura ambiente), se considera que la coalescencia de las nanocintas de HAp sucede de manera abrupta resultando en un cambio brusco de morfología y por tanto, en la remanencia de cierto tipo de defectos, dando lugar a diferencias en el área bajo la curva de ciertas componentes y posiblemente también, provocando su desplazamiento hacia menor o mayor energía. La Figura 60 también muestra que la intensidad absoluta de los espectros obtenidos de las muestras S7AC y S10AC decrece respecto a la observada en los espectros de las muestras S7 y S10, demostrando un decremento en la concentración de defectos nativos de la HAp como consecuencia de su recristalización.

En el caso de las muestras de HAp recristalizada S9AC, S11AC y S12AC, el patrón de la emisión de CL es bastante distinto al de sus correspondientes muestras de nanocintas S9, S11 y S12, respectivamente, como se aprecia en la Figura 62. Dichos espectros presentan una curva de emisión de baja intensidad conformada por una banda ancha que cubre prácticamente en su totalidad a la región visible, con solo dos hombros centrados a 2.7 y 3.5 eV aproximadamente, señales que no aparecen en los espectros de las nanocintas de HAp crecidas en suspensión (muestras S9, S11 y S12) y que por tanto se atribuye a impurezas de origen extrínseco. Así mismo, la extinción luminiscente (*quenching*) de los defectos nativos intrínsecos en los espectros de las muestras S9AC, S11AC y S12AC se atribuye al recocido del material producido por su recristalización.

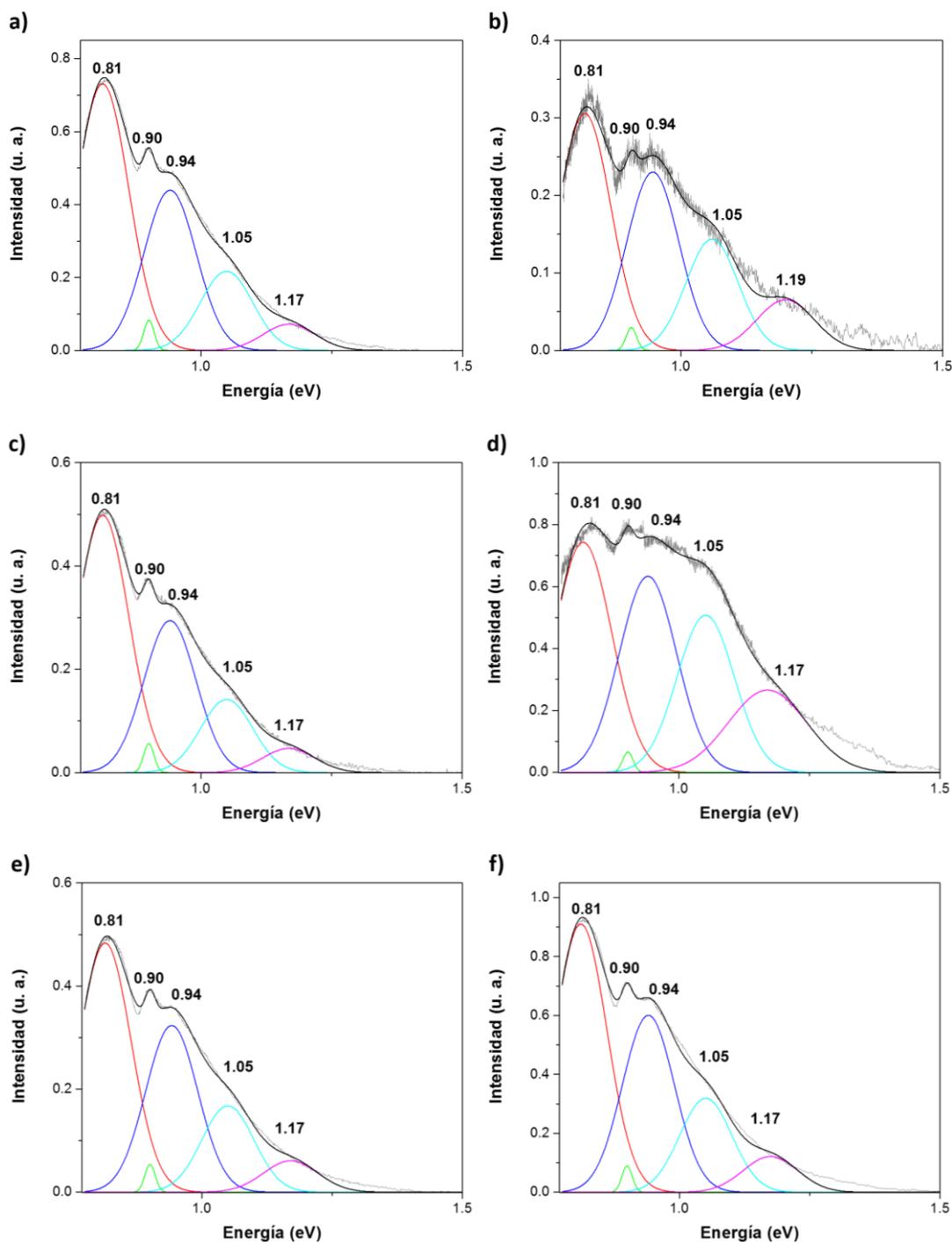
Por su parte, los espectros de CL en el rango infrarrojo cercano de las muestras de HAp recristalizada resultaron bastante similares a los de sus respectivas nanocintas, pues las componentes de la curva de emisión se mantienen constantes, como se distingue en la Figura 63. Tomando en cuenta que la muestra S10AC fue la que presentó una mayor adherencia de material en los microelectrodos [Figura 63 (f)], resulta factible que su espectro sea prácticamente igual al de la muestra de nanocintas S10, ya que fue posible obtener los espectros a bajos aumentos.



**Figura 62.** Espectros de CL en el rango visible de las muestras (a) S9, (b) S9AC, (c) S11, (d) S11AC, (e) S12 y (f) S12AC.

No obstante, las muestras S7AC y S9AC revelaron espectros un tanto más ruidosos aunque formados por las mismas componentes, debido nuevamente al poco material presente en los microelectrodos de dichas muestras. Además, en el caso particular de la muestra S9AC se observa un incremento en intensidad por parte de las componentes centradas en 0.94, 1.05 y 1.17 eV, probablemente

consecuencia de un aumento en la concentración de defectos asociados a vacancias o distorsiones en los grupos fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) de la red de HAp, dada la baja energía de las componentes (Bystrov et al., 2016; Machado et al., 2018).



**Figura 63.** Espectros de CL en el rango NIR de las muestras (a) S7, (b) S7AC, (c) S9, (d) S9AC, (e) S10 y (f) S10AC.

Finalmente, estos resultados de CL en el rango infrarrojo cercano revelan la factibilidad de utilizar tanto las nanocintas de HAp como la HAp recristalizada, como agentes de contraste para imágenes de termografía infrarroja (técnica utilizada en el campo de la medicina) ya que no es necesario introducir impurezas en la red de HAp para generar luminiscencia, tales como iones de tierras raras, lo cual ha sido demostrado por primera vez en este trabajo de tesis.

## Capítulo 5. Conclusiones

---

1. Se han sintetizado nanocintas de hidroxiapatita utilizando el método hidrotermal, resultando como parámetros óptimos de reacción un tiempo y temperatura de 36 horas y 100 °C, respectivamente. Mediante XRD se determinó que las nanoestructuras obtenidas poseen una alta cristalinidad y que son conformados por HAp deficiente en calcio (Ca-D HAp) como fase predominante.
2. Mediante un estudio de composición elemental cuantitativo, realizado por EDS, se confirmó que todas las muestras de HAp sintetizadas en este trabajo de tesis presentan deficiencia en calcio, mostrando una relación atómica de Ca/P  $\approx 1.33$  inferior a la esperada para la HAp estequiométrica (Ca/P = 1.66). Por su parte, el análisis cuantitativo de la superficie de las muestras elaborado mediante XPS reveló una relación atómica aún menor Ca/P  $\approx 1.20$ , demostrando que las estructuras de HAp presentan una mayor densidad de vacantes de calcio ( $V_{Ca}$ ) en su superficie que en el volumen.
3. Los estudios de SEM y TEM mostraron que las muestras sintetizadas por el método hidrotermal están compuestas por nanocintas delgadas de HAp con anchuras entre 10 y 100 nm, y longitudes entre 0.5 y 1  $\mu\text{m}$ . Las imágenes de TEM evidenciaron la presencia de algunos defectos en forma de ranuras en la superficie de las nanocintas, cuya formación hemos atribuido a la deficiencia en calcio del material. Además, se determinó que el haz de electrones del TEM genera deformaciones adicionales como poros y pliegues en las nanocintas cuando son irradiadas con densidades de corriente del orden de  $6.25 \times 10^{-3} \text{ nA/nm}^2$ .
4. Los resultados de PL y CL obtenidos en el rango visible, permitieron identificar a las vacancias de calcio ( $V_{Ca}$ ) y de iones hidroxilo ( $V_{OH^-}$ ) como los defectos más probables presentes en las nanocintas de HAp estudiadas, asignadas a las componentes de la curva de emisión centradas en 2.41, 2.95 y 3.68 eV. Sin embargo, no ha sido posible identificar qué otro tipo de defectos puntuales pudieran dar origen a las componentes centradas en 1.77, 2.17, 2.58 y 3.32 eV, en dichos espectros. Por su parte, los resultados de CL adquiridos en el rango NIR presentaron curvas de emisión compuestas por emisiones centradas en 0.81, 0.90, 0.94, 1.05 y 1.17 eV, de las cuales se ha propuesto que las emisiones de 0.81 y 1.17 eV se generan debido a transiciones electrónicas entre los niveles electrónicos generados por los defectos responsables de las emisiones de 2.95, 2.58 y 1.77 eV, mientras que la señal de 0.94 eV es atribuida a vacancias de oxígeno en los grupos fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ).

5. Se realizaron experimentos de recristalización de nanocintas de HAp deficiente en Ca mediante la aplicación de un campo eléctrico de corriente alterna (AC) durante los últimos 15 min de la síntesis hidrotermal de las nanocintas, con una frecuencia de 3.3 kHz a temperatura ambiente. Estos experimentos que resultaron en muestras de HAp recristalizada, se llevaron a cabo en microelectrodos fabricados a partir de sustratos de  $\text{SiO}_2/\text{Si}(100)$  con una capa de Au depositada en la superficie (en franja o cubriendo la superficie completa), erosionándola con iones de  $\text{Ga}^{3+}$  en forma de línea recta u onda cuadrada.
6. Estudios de DRX, espectroscopía Raman, XPS y TEM realizados a las nanocintas crecidas en el sobrenadante de la misma solución en donde se realizaron las pruebas de recristalización, confirmaron que las propiedades cristalinas, estructura de defectos y composición de las nanocintas no son afectadas por la introducción de un dispositivo ajeno a la solución, y por su subsiguiente polarización, presentando las mismas características que las nanocintas de HAp obtenidas sin realizar experimentos de recristalización.
7. Los análisis cuantitativos de composición elemental elaborados por EDS revelaron un incremento en la relación atómica de Ca/P de la HAp recristalizada con respecto a las nanocintas de HAp correspondientes, demostrando que la aplicación del campo eléctrico AC provoca una disminución en la concentración de defectos tipo  $V_{\text{Ca}}$  al generar un efecto de recocido (*annealing*) sobre estas nanocintas.
8. Los estudios realizados por SEM revelaron un cambio en la morfología en las muestras de HAp recristalizada, producido por la coalescencia de las nanonocintas de HAp que a la vez fue promovido por el decremento en la concentración de  $V_{\text{Ca}}$  al aplicar un campo eléctrico AC. Este fenómeno se ha explicado en términos de la alta movilidad iónica que posee la estructura cristalina de la HAp. Como consecuencia de este proceso se obtuvieron estructuras de HAp recristalizadas mucho más compactas en forma de prismas con dimensiones micrométricas. Asimismo, se determinó que el tipo de microelectrodos utilizado influye en la velocidad de recristalización de las nanocintas debido a que la intensidad de campo eléctrico en un arreglo de electrodos paralelos es directamente proporcional a la densidad superficial de carga eléctrica; por ende, las muestras que fueron obtenidas en los microelectrodos fabricados en una franja de Au de 700  $\mu\text{m}$  de anchura, presentaron un grado de recristalización mayor que las muestras que recristalizaron en los microelectrodos con una anchura de 5 mm.

9. Los estudios de PL y EDS en la HAp recristalizada revelaron una disminución de defectos tipo  $V_{Ca}$ , ya que se observó que la intensidad de la componente centrada en 2.41 eV asociada a este tipo de defectos desciende. Así mismo, se observó que el recocido que sufren las nanocintas de HAp al aplicar el campo eléctrico AC genera un incremento en la intensidad de la emisión de 2.95 eV, asignada a  $V_{OH^-}$ .
  
10. Los espectros de CL en el rango visible de la HAp recristalizada presentaron una disminución significativa en intensidad, corroborando así el recocido experimentado por las nanocintas de HAp, proceso que atenúa la luminiscencia al disminuir la cantidad de defectos presentes en el material.
  
11. Finalmente, los resultados de CL en el rango infrarrojo cercano demostraron que es posible utilizar tanto las nanocintas de HAp como la HAp recristalizada a futuro como agentes de contraste para imágenes de termografía infrarroja, ya que el proceso de recristalización no afecta significativamente la señal de CL en el NIR de la HAp deficiente en calcio, lo cual se ha probado por primera vez en este trabajo de tesis.

## Literatura citada

---

- Agarwal, B.K. 1991. X-ray Spectroscopy. (2a. ed.) Springer, Berlín.
- Anmin, H., Tong, L., Ming, L., Chengkang, C., Huiqin, L., Dali, M. 2006. Preparation of nanocrystals hydroxyapatite/TiO<sub>2</sub> compound by hydrothermal treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*. 63, 41–44. doi: 10.1016/j.apcatb.2005.08.003
- Boggs, S., Krinsley, D. 2006. Application of Cathodoluminescence Imaging to the study of sedimentary rocks. Cambridge University Press, New York.
- Bohner, M. 2000. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury*. 31, 37–47.
- Bunaciu, A., Udriștioiu, E., Aboul-Enein, H. 2015. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 45(4), 289-299. doi: 10.1080/10408347.2014.949616
- Bystrov, V., Piccirillo, C., Tobaldi, D., Castro, P., Coutinho, J., Kopyl, S., Pullar, R. 2016. Oxygen vacancies, the optical band gap (E<sub>g</sub>) and photocatalysis of hydroxyapatite: Comparing modelling with measured data. *Applied Catalysis B: Environmental*. 196, 100-107. doi: 10.1016/j.apcatb.2016.05.014
- Bystrova, A., Dekhtyar, Y., Popov, A., Coutinho, J., Bystrov, V. 2015. Modified hydroxyapatite structure and properties: Modeling and synchrotron data analysis of modified hydroxyapatite structure. *Ferroelectrics*. 475, 135-147. doi: 10.1080/00150193.2015.995580
- Cai, Y., Liu, Y., Yan, W., Hu, Q., Tao, J., Zhang, M. 2007. Role of hydroxyapatite nanoparticle size in bone cell proliferation. *Journal of Materials Chemistry*. 17, 3780–3787. doi: 10.1039/b705129h
- Cuscó, R., Guitián, F., de Aza, S., Artús, L. 1998. Differentiation between hydroxyapatite and β-tricalcium phosphate by means of μ-raman spectroscopy. *Journal of the European Ceramic Society*. 18, 1301-1305. doi: 10.1016/S0955-2219(98)00057-0
- DARC. 2015. Durham Archaeomaterials Research Centre: Services and Facilities. Consultado el 15 de julio de 2017, de: [http://www.darclab.com/?page\\_id=13](http://www.darclab.com/?page_id=13)
- De Aza, P.N., 1997. Vibrational properties of calcium phosphate compounds. 2. Comparison between hydroxyapatite and β-tricalcium phosphate. *Chemistry of Materials*. 9(4), 916-922. doi: 10.1021/cm9604266
- Earl, J., Wood, D., Milne, S. 2006. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite. *Journal of Physics: Conference Series*. 26, 268-271. doi: 10.1088/1742-6596/26/1/064
- Egerton, R.F. 2005. *Physical Principles of Electron Microscopy: An introduction to TEM, SEM, and AEM*. Springer, New York.
- Gfroerer, T.H. 2006. Photoluminescence in analysis of surfaces and interfaces. En: Meyers, R.A. (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Jon Wiley & Sons, Ltd., Chichester. (pp. 9209-9231).

- Ghomi, H., Fathi, M.H., Edris, H. 2011. Preparation of nanostructure hydroxyapatite scaffold for tissue engineering applications. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 58, 642-650. doi: 10.1007/s10971-011-2439-2
- Gyeong-Man, K. 2010. Fabrication of bio-nanocomposite nanofibers mimicking the mineralized hard tissues via electrospinning process. En: Kumar, A. (Ed.), *Nanofibers*. Intech, Rijeka. pp. 69-88.
- Hawkes, P., Spence, J. 2007. *Science of Microscopy: Volume I*. Springer, New York.
- Heath, J., Taylor, N. 2015. *Energy Dispersive Spectroscopy*. (2da ed.) John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- InPhotonics. 1999. Technical Note #11: An introduction to Raman for the Infrared Spectroscopist. Consultado el 24 de Julio de 2017, de: <http://www.inphotonics.com/raman.htm>
- Kantharia, N., Naik, S., Apte, S., Kheur, M., Kheur, S., Kale, B. 2014. Nano-hydroxyapatite and its contemporary applications. *Journal of Dental Research and Scientific Development*. 1, 15-19. doi: 10.4103/2348-3407.126135
- Krause, M., Viršek, M., Remškar, M., Salacan, N., Fleischer, N., Chen, L., Hatto, P., Kolitsch, A., Mçller, W. 2009. Diameter and morphology dependent Raman signatures WS<sub>2</sub> nanostructures. *ChemPhysChem*. 10, 2221-2225. doi: 10.1002/cphc.200900310
- Kumar, G., Girija, E., Thamizhavel, A. 2013. Synthesis and photoluminescence study of flower-like hydroxyapatite nanostructure for bioprobe applications. *AIP Conference Proceedings*. 1512, 250-251. doi: 10.1063/1.4791005
- Liu, C., Wang, W., Shen, W., Chen, T., Hu, L., Chen, Z. 1997. Evaluation of the biocompatibility of a nonceramic hydroxyapatite. *Journal of Endodontics*. 23, 490-493. doi: 10.1016/S0099-2399(97)80307-X
- Lu, H.B., Campbell, C.T., Graham, D.J., Ratner, B.D. 2000. Surface characterization of hydroxyapatite and related calcium phosphates by XPS and TOF-SIMS. *Analytical Chemistry*. 72(13), 2886-2894. doi: 10.1021/ac990812h
- Lüth, H. 2015. *Solid Surfaces, Interfaces and Thin Films*. (6ta ed.) Springer, Berlín.
- Machado, T., Sczancoski, J., Beltrán-Mir, H., Li, M., Andrés, J., Cordoncillo, E., Leite, E., Longo, E. 2018. Structural properties and self-activated photoluminescence emissions in hydroxyapatite with distinct particle shapes. *Ceramics*. 44, 236-245. doi: 10.1016/j.ceramint.2017.09.164
- Mandair, G.S., Morris, M.D. 2015. Contributions of Raman spectroscopy to the understanding of bone strength. *BoneKey Reports*. 4(620), 1-8. doi: 10.1038/bonekey.2014.115
- Marshall, D.J., Giles, J.H., Marino, A. 1988. Combined instrumentation for EDS elemental analysis and cathodoluminescence studies of geological materials. En: Hagni, R.D. (Ed.), *The Metallurgical Society Inc.*, Warrendale.

- Mostaf, N., Brown, P. 2007. Computer simulation of stoichiometric hydroxyapatite: structure and substitutions. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 68, 431-437. doi: 10.1016/j.jpics.2006.12.011
- Moulder, J.F., Stickle, W.F., Sobol, P.E., Bomben, K.D., Chastain, J. 1992. *Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy: A reference book of standard spectra for identification and interpretation of XPS data*. Perkin-Elmer Corporation, Eden Prairie.
- Nakamura, M., Nagai, A., Ohashi, N., Tanaka, Y., Sekijima, Y., Nakamura, S., Yamashita, K. 2008. Regulation of osteoblast-like cell behaviors on hydroxyapatite by electrical polarization. *Key Engineering Materials*. 361-363, 1055-1058. doi: 10.4028/www.scientific.net/KEM.361-363.1055
- Nakamura, S., Takaeda, H. y Yamashita, K. 2001. Proton transport polarization and depolarization of hydroxyapatite ceramics. *Journal of Applied Physics*. 89, 5386-5392. doi: 10.1063/1.1357783
- Neira, I.S., Kolen'ko, Y.V., Lebedev, O.I., Tendeloo, G., Gupta, H.S., Guitián, F., Yoshimura, M. 2009. An effective morphology control of hydroxyapatite crystals via hydrothermal synthesis. *Crystal Growth & Design*. 9(1), 466-474. doi: 10.1021/cg800738a
- Ngo, P. 1999. *Energy Dispersive Spectroscopy*. En: Wagner, L.C. (Ed.), *Failure Analysis of Integrated Circuits*. Springer, Boston. pp. 205-215.
- Park, J., Lakes, R. 1992. *Biomaterials: an introduction*. (2da ed.) Plenum Press, New York.
- Princeton Instruments. 2016. *Spectroscopy: Raman Methods*. Consultado el 23 de julio de 2017, de: <http://www.princetoninstruments.com/spectroscopy/Raman>
- Rezwan, K., Chen, Q., Blaker, J., Boccaccini, A. 2006. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 27, 3413-3431. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.039
- Sadat-Shojai, M., Khorasani, M., Dinpanah-Khoshdargi, E., Jamshidi, A. 2013. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia*. 9, 7591-7621. doi: 10.1016/j.actbio.2013.04.012
- Sato, K., Kogure, T., Iwai, H., Tanaka, J. 2002. Atomic-Scale  $\{10\bar{1}0\}$  Interfacial structure in hydroxyapatite determined by High-Resolution Transmission Electron Microscopy. *Journal of the American Ceramic Society*. 85(62), 3054-3058. doi: 10.1111/j.1151-2916.2002.tb00578.x
- Sharma, R.M., Bumbrah, G.S. 2016. Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. 6, 209-215. doi: 10.1016/j.ejfs.2015.06.001
- Sutter, B., Ming, D.W., Clearfield, A., Hossner, L.P. 2003. Mineralogical and chemical characterization of iron-, manganese-, and copper-containing synthetic hydroxyapatites. *Soil Science Society of America Journal*. 67, 1935-1942. doi: 10.2136/sssaj2003.1935

- Tanaka, Y., Nakamura, M., Nagai, A., Toyama, T. and Yamashita, K. 2009. Ionic conduction mechanism in Ca-deficient hydroxyapatite whiskers. *Materials Science and Engineering B*. 161, 115-119. doi: 10.1016/j.mseb.2009.01.016
- TDMU. 2009. Microscope, microscopic equipment, histologic technique, cytology, general structure of the cell, superficial complex. Consultado el 18 de julio de 2017, de: [http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/histolog/classes\\_stud/en.../stomat/ptn/1/01%20Microscope.%20Microscopic%20equipment.%20Histologic%20technique.%20Cytology.%20General%20structure%20of%20the%20cell.%20Superficial%20complex.htm](http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/histolog/classes_stud/en.../stomat/ptn/1/01%20Microscope.%20Microscopic%20equipment.%20Histologic%20technique.%20Cytology.%20General%20structure%20of%20the%20cell.%20Superficial%20complex.htm)
- Toriyama, M., Ravaglioli, A., Krajewski, A., Celotti, G., Piancastelli, A. 1996. Synthesis of hydroxyapatite based powders by mechano-chemical method and their sintering. *Journal of the European Ceramic Society*. 16, 429–36.
- Tougaard, S. 2013. Surface Analysis: X-ray Photoelectron Spectroscopy. En: Reedijk, J. (Ed.), *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier, Waltham. pp. 1-11.
- Turner, N. 2000. X-Ray Photoelectron and Auger Electron Spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*. 35(3), 203-254. doi: 10.1081/ASR-10010122
- Ueshima, M., Nakamura, S. y Yamashita, Y. 2002. Huge, millicoulomb charge storage in ceramic hydroxyapatite by bimodal electric polarization. *Advanced Materials*. 14, 591-595. doi: 10.1002/1521-4095(20020418)14:8<591::AID-ADMA591>3.0.CO;2-7
- Vallet-Regi, M., Gonzalez-Calbet, J. 2004. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry*. 32, 1–31. doi: 10.1016/j.progsolidstchem.2004.07.001
- Wagner, C.D., Riggs, W.M., Davis, L.E., Moulder, J. F. 1979. *Handbook of standard data for use in X-Ray Photoelectron Spectroscopy*. Perkin-Elmer Corporation: Physical Electronics Division, Norwalk.
- Wang, D., Zhu, R., Yu, R., Yao, J., Ke., J. 2008. Morphology control of hydroxyapatite through hydrothermal process. *Journal of Alloys and Compounds*, 457, 555-559. doi: 10.1016/j.jallcom.2007.03.081
- Wang, G., An, L., Li, W., Xu, Y., Zeng, D. and Cheng, Y. 2016. Controlled additive-free hydrothermal synthesis and characterization of uniform hydroxyapatite nanobelts. *Ceramics International*, 42, 3104-3112. doi: 10.1016/j.ceramint.2015.10.099
- Waseda, Y., Matsubara, E., Shinoda, K. 2011. *X-ray Diffraction Crystallography: Introduction, examples and solved problems*. Springer, Berlín.
- Watts, J., Wolstenholme, J. 2003. *An introduction to surface analysis by XPS and AES*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- Yacobi, B.G., Holt, D.B. 1986. Cathodoluminescence scanning electron microscopy of semiconductors. *Journal of Applied Physics*. 59(4), R1-R24. doi: 10.1063/1.336491
- Yacobi, B.G., Holt, D.B. 1990. *Cathodoluminescence microscopy of inorganic solids*. Plenum Press, New York.

- Yamini, D., Venkatasubbu, G.D., Kumar, J., Ramakrishnan, V. 2014. Raman scattering studies on PEG functionalized hydroxyapatite nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 117, 299–303. doi: 10.1016/j.saa.2013.07.064
- Yoshida, Y., Van-Meerbeek, B., Nakayama, Y., Snauwaert, J., Hellemans, L., Lambrechts, P., Vanherle, G., Wakasa, K. 2000. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *Journal of Dental Research*. 79(2), 709-714. doi: 10.1177/00220345000790020301
- Zavala, L. 2015. Síntesis y estudio de las propiedades luminiscentes de hidroxiapatitas dopadas con tierras raras mediante la técnica de catodoluminiscencia. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 106 pp.
- Zavala-Sanchez, L., Hirata, G., Novitskaya, E., Karandikar, K., Herrera, M., Graeve, O. 2015. Distribution of  $\text{Eu}^{2+}$  and  $\text{Eu}^{3+}$  ions in hydroxyapatite: A cathodoluminescence and Raman study. *ACS Biomaterials, Science & Engineering*. 1, 1306-1313. doi: 10.1021/acsbiomaterials.5b00378
- Zhang, C., Yang, J., Qwan, Z., Yang, P., Li, C., Hou, Z., Lin, J. 2009. Hydroxyapatite nano- and microcrystals with multiform morphologies: Controllable synthesis and luminescence properties. *Crystal Growth & Design*. 9(6), 2725-2733. doi: 10.1021/cg801353n
- Zhu, R., Liu, Z. y Zhang, G. 2010. Electric-field-assisted growth and alignment of ZnO nanowires in device fabrication. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 43, 155402- 155407. doi: 10.1088/0022-3727/43/15/155402

## Anexos

---

### Anexo A. Archivo de difracción del polvo de hidroxiapatita (#09-432)

#### Name and formula

Reference code:	00-009-0432
Mineral name:	Hydroxylapatite, syn
Compound name:	Calcium Phosphate Hydroxide
PDF index name:	Calcium Phosphate Hydroxide
Empirical formula:	Ca <sub>5</sub> HO <sub>13</sub> P <sub>3</sub>
Chemical formula:	Ca <sub>5</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (OH)

#### Crystallographic parameters

Crystal system:	Hexagonal
Space group:	P63/m
Space group number:	176
a (Å):	9.4180
b (Å):	9.4180
c (Å):	6.8840
Alpha (°):	90.0000
Beta (°):	90.0000
Gamma (°):	120.0000
Calculated density (g/cm <sup>3</sup> ):	3.16
Measured density (g/cm <sup>3</sup> ):	3.08
Volume of cell (10 <sup>6</sup> pm <sup>3</sup> ):	528.80
Z:	2.00
RIR:	-

#### Subfiles and quality

Subfiles:	Common Phase Inorganic Mineral Pharmaceutical
Quality:	Indexed (I)

#### Comments

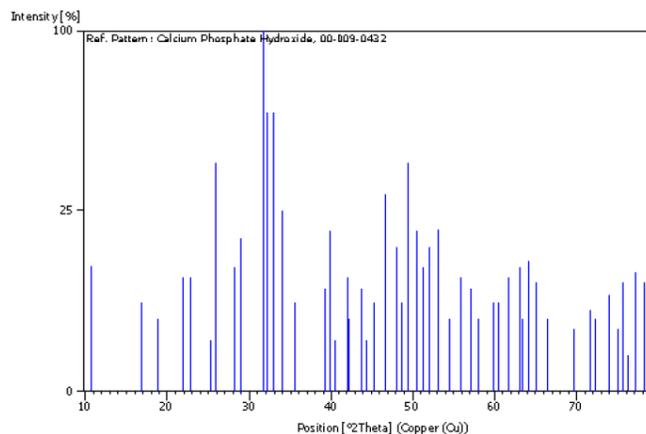
Color:	Green, bluish green, yellow-green, grayish green, violet, violet-blue, violet, colorless, light greenish white, gray, brown, pinkish red, pinkish-red, blue
Creation Date:	1/1/1970
Modification Date:	1/1/1970
Color:	Green, bluish green, yellow-green, grayish green, violet, violet-blue, violet, colorless, light greenish white, gray, brown, pinkish red, pinkish-red, blue. I/I <sub>1</sub> are peak values from a pattern which shows slight broadening of prism reflections
Sample Source or Locality:	Sample obtained following the procedure indicated by Hodge et al., <i>Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.</i> , <b>10</b> 156 (1938). Validated by calculated data 24-33
Additional Patterns:	To replace 34-10
Optical Data:	B=1.651, Q=1.644, Sign=-
Additional Patterns:	See ICSD 22059, 22060, 24240, 26204, 26205 and 34457 (PDF 73-293, 73-294, 73-1731, 74-565, 74-566 and 76-694).

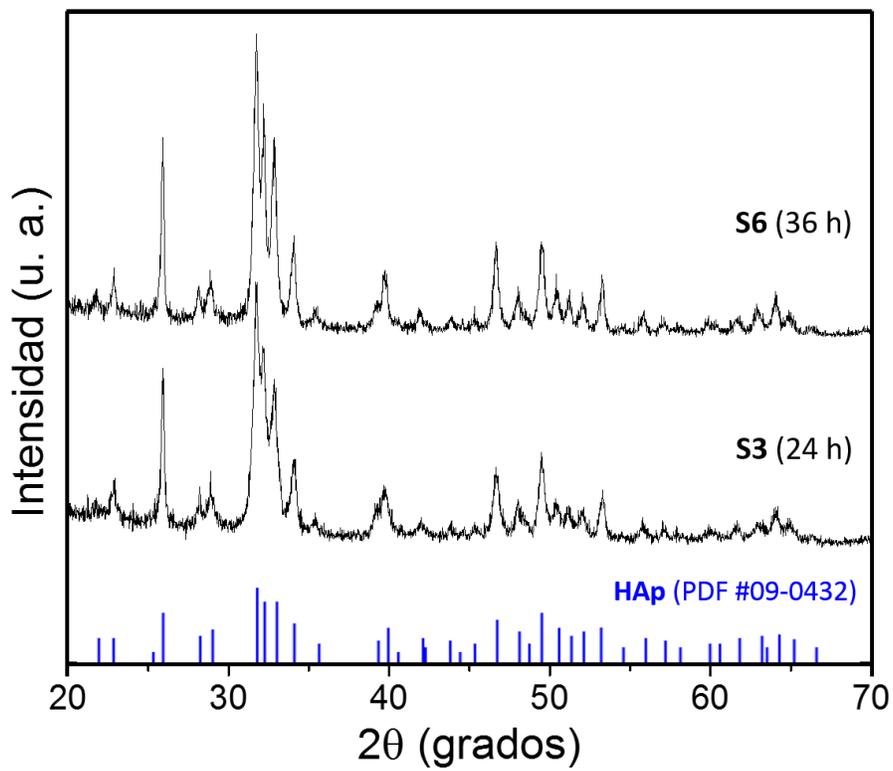
#### References

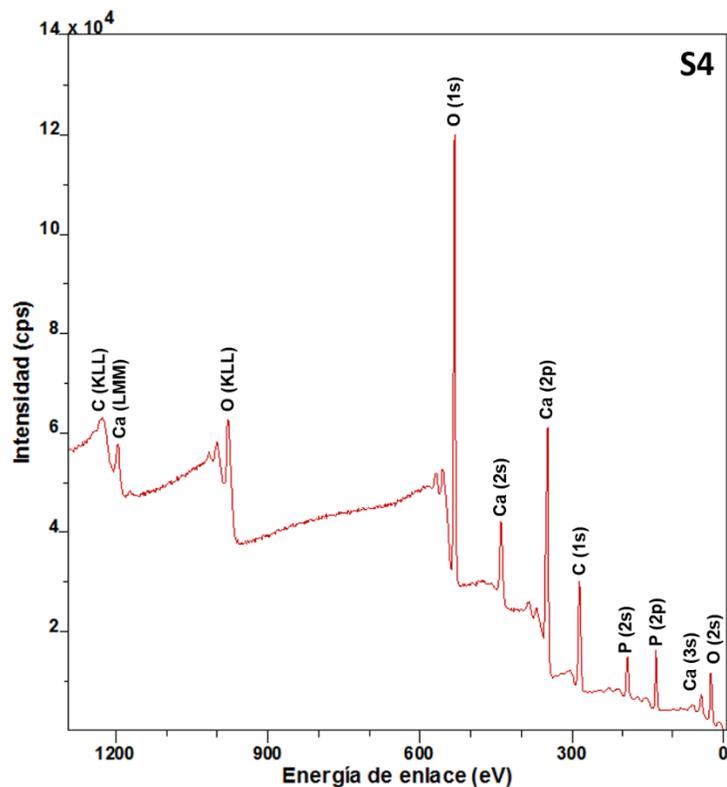
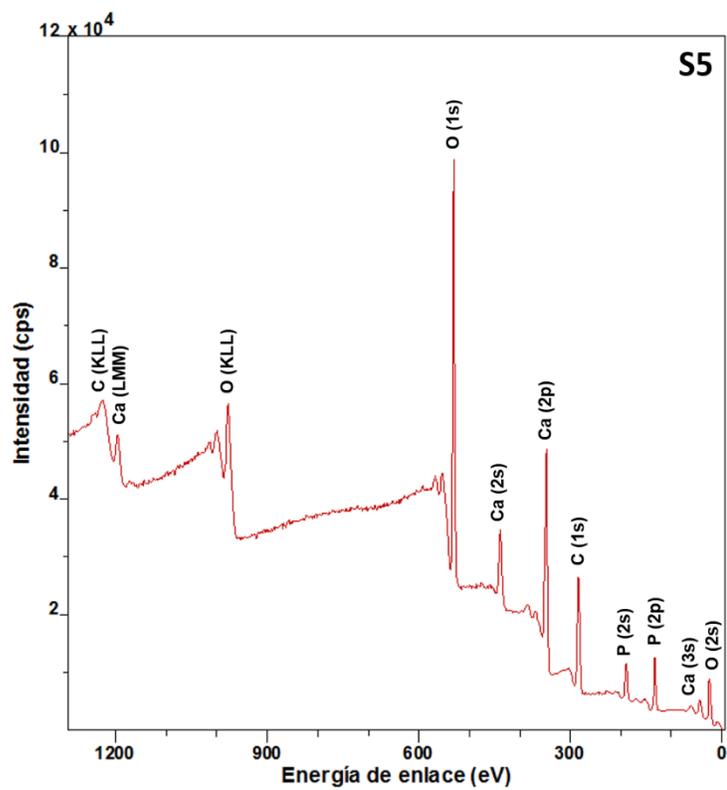
Primary reference:	de Wolff, P., Technisch Physische Dienst, Delft, The Netherlands., <i>ICDD Grant-in-Aid</i>
Optical data:	<i>Dana's System of Mineralogy, 7th Ed., II, 879</i>

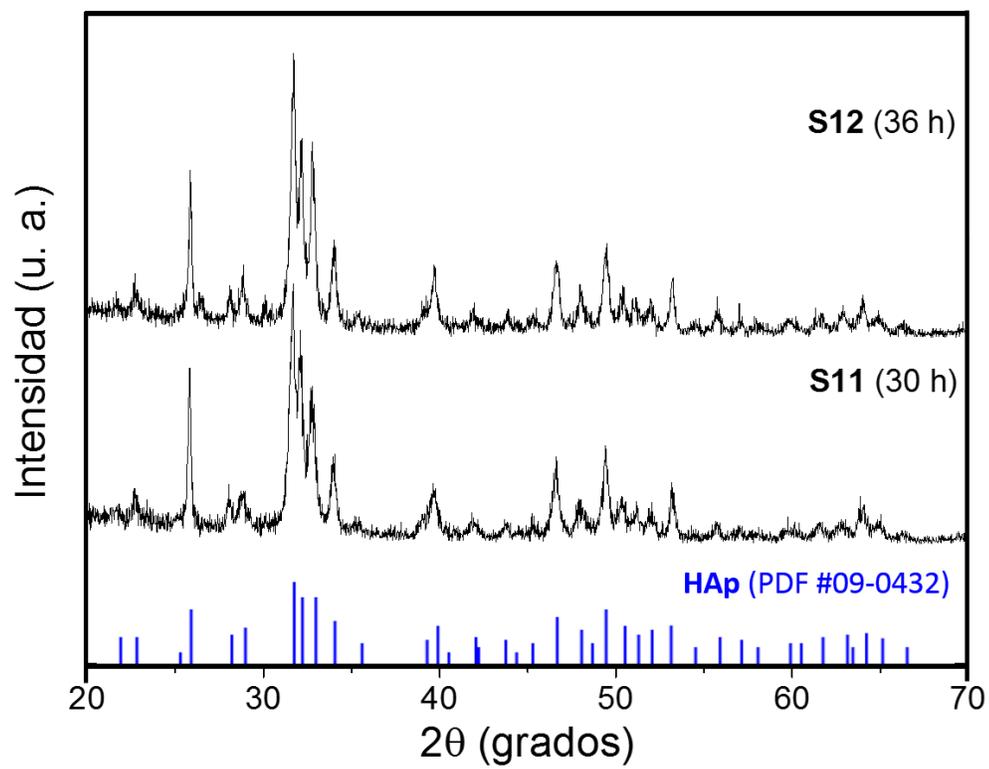
**Peak list**

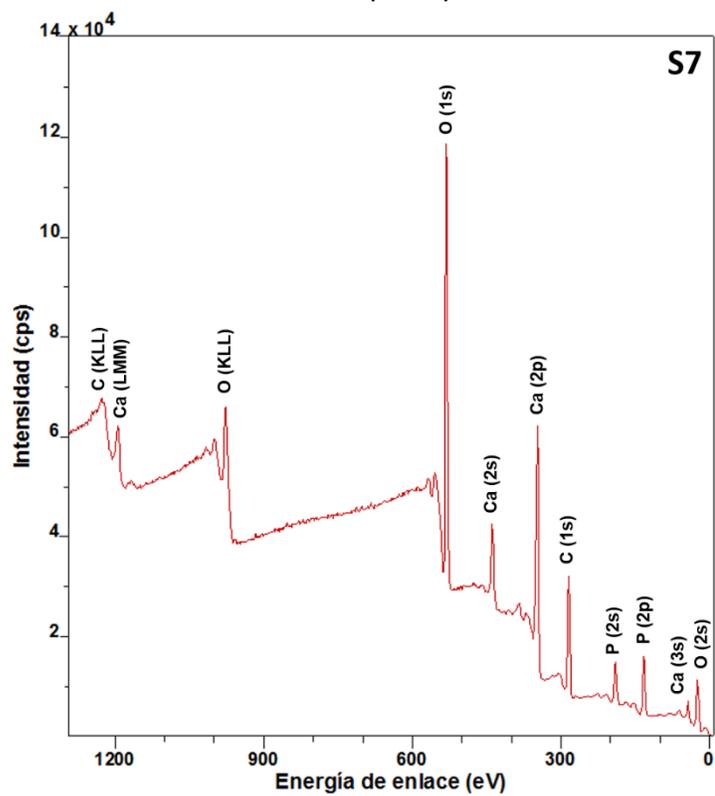
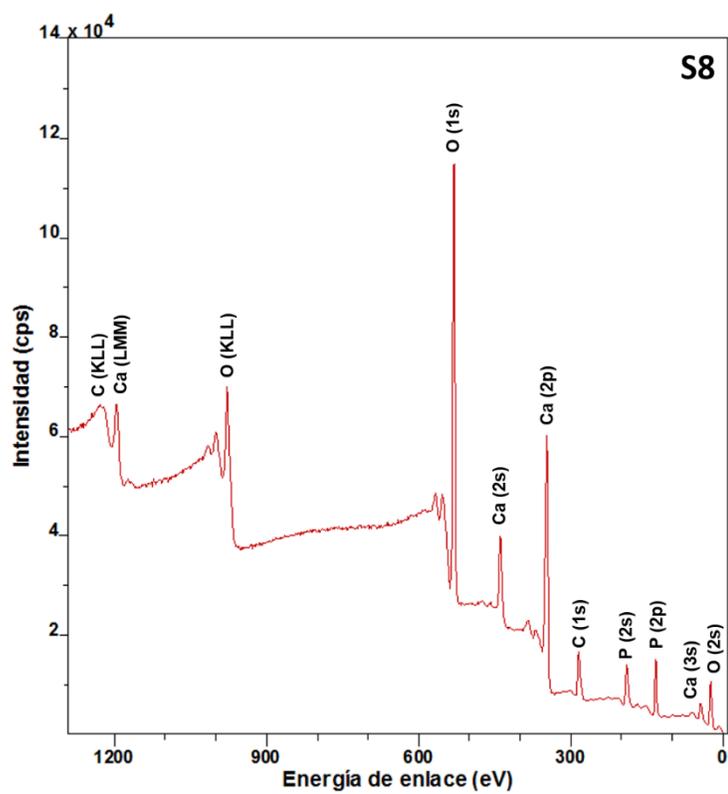
No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1	1	0	0	8.17000	10.820	12.0
2	1	0	1	5.26000	16.842	6.0
3	1	1	0	4.72000	18.785	4.0
4	2	0	0	4.07000	21.820	10.0
5	1	1	1	3.88000	22.902	10.0
6	2	0	1	3.51000	25.354	2.0
7	0	0	2	3.44000	25.879	40.0
8	1	0	2	3.17000	28.127	12.0
9	2	1	0	3.08000	28.967	18.0
10	2	1	1	2.81400	31.774	100.0
11	1	1	2	2.77800	32.197	60.0
12	3	0	0	2.72000	32.902	60.0
13	2	0	2	2.63100	34.049	25.0
14	3	0	1	2.52800	35.481	6.0
15	2	1	2	2.29600	39.205	8.0
16	3	1	0	2.26200	39.819	20.0
17	2	2	1	2.22800	40.453	2.0
18	3	1	1	2.14800	42.030	10.0
19	3	0	2	2.13400	42.319	4.0
20	1	1	3	2.06500	43.805	8.0
21	4	0	0	2.04000	44.370	2.0
22	2	0	3	2.00000	45.306	6.0
23	2	2	2	1.94300	46.713	30.0
24	3	1	2	1.89000	48.104	16.0
25	3	2	0	1.87100	48.624	6.0
26	2	1	3	1.84100	49.469	40.0
27	3	2	1	1.80600	50.494	20.0
28	4	1	0	1.78000	51.285	12.0
29	4	0	2	1.75400	52.102	16.0
30	0	0	4	1.72200	53.145	20.0
31	1	0	4	1.68400	54.442	4.0
32	3	2	2	1.64400	55.881	10.0
33	3	1	3	1.61100	57.129	8.0
34	5	0	1	1.58700	58.075	4.0
35	4	2	0	1.54200	59.940	6.0
36	3	3	1	1.53000	60.459	6.0
37	2	1	4	1.50300	61.662	10.0
38	5	0	2	1.47400	63.013	12.0
39	5	1	0	1.46500	63.445	4.0
40	3	0	4	1.45200	64.080	13.0
41	5	1	1	1.43300	65.033	9.0
42	4	2	2	1.40700	66.388	4.0
43	5	1	2	1.34800	69.701	3.0
44	4	3	1	1.31600	71.653	5.0
45	5	2	0	1.30600	72.288	4.0
46	4	2	3	1.28000	73.997	7.0
47	3	2	4	1.26500	75.025	3.0
48	2	1	5	1.25700	75.586	9.0
49	4	3	2	1.24900	76.156	1.0
50	5	1	3	1.23500	77.177	11.0
51	5	2	2	1.22100	78.230	9.0

**Stick Pattern**

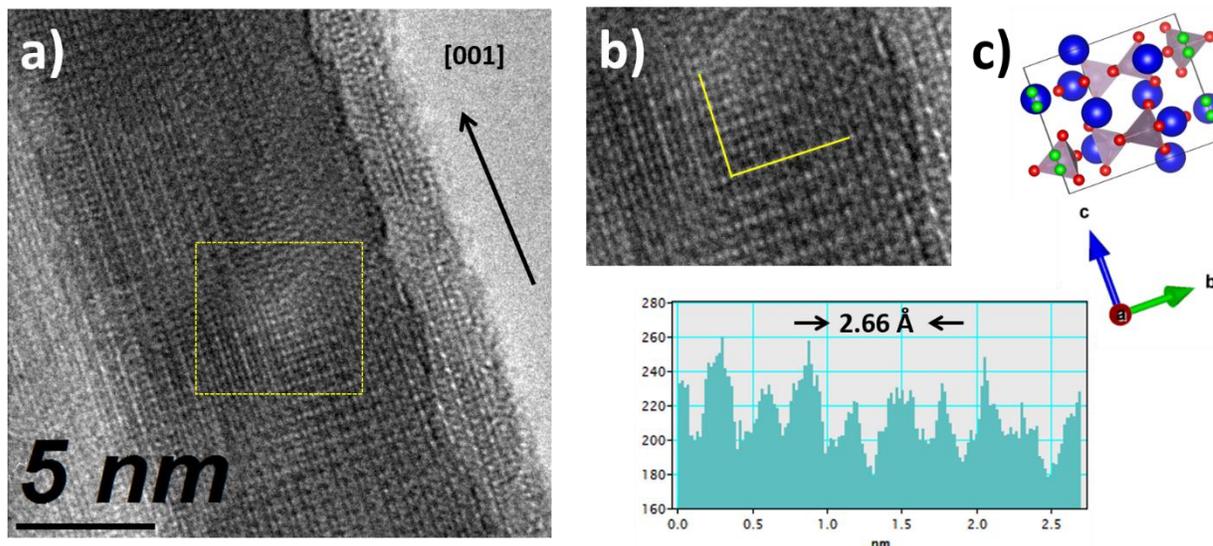
**Anexo B.** Difractogramas de las muestras de nanocintas de HAp S3 y S6.

**Anexo C1.** Espectro XPS de la muestra de HAp S4 (30 h).**Anexo C2.** Espectro XPS de la muestra de HAp S5 (30 h).

**Anexo D.** Patrones de difracción de las muestras de HAp S11 y S12.

**Anexo E1. Espectro XPS de la muestra S7 (36 h).****Anexo E2. Espectro XPS de la muestra S8 (36 h).**

**Anexo F1.** (a) Micrografía de TEM de alta resolución de la muestra S7 (36 h), (b) ampliación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.



**Anexo F2.** (a) Micrografía de TEM de alta resolución de la muestra S8 (36 h), (b) ampliación de una zona para determinación de distancia interatómica y (c) imagen de la estructura de HAp en la dirección de crecimiento estimada.

