



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LOS MATERIALES

**Mecanosíntesis de jarosita adicionada con Ca^{2+} y Sr^{2+} para posibles
aplicaciones en ingeniería tisular**

T E S I S

Para obtener el grado de Maestra en Ciencias de los Materiales

PRESENTA

Lic. en Ing. Fatima Montserrat Cruz Franco

Directores

Dr. Eduardo Cerecedo Sáenz

Dra. Arely Montserrat González González

Mineral de la Reforma, Hgo., Agosto del 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Basic Sciences

Director

Mineral de la Reforma, Hgo., a 08 de mayo de 2026

Número de control: ICBI-D/913/2026

Asunto: Autorización de impresión.

MTRA. OJUKY DEL ROCIO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UA EH

El Comité Tutorial de la tesis titulada "**Mecanosíntesis de jarosita adicionada con Ca^{2+} y Sr^{2+} para posibles aplicaciones en ingeniería tisular.**" realizado por la sustentante **Fátima Montserrat Cruz Franco** con número de cuenta **323332** perteneciente al programa de la **Maestría en Ciencias de los Materiales**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

El Comité Tutorial

Dr. Eduardo Cerecedo Sáenz
Director de tesis

Dra. Arely Montserrat González González
Codirectora

Dr. Juan Hernández Ávila
Titular

Dr. Edgar Cardoso Legorreta
Suplente

Dr. Gabriel Vergara Rodríguez
Director del ICBI

GVR/IBO

"Amor, Orden y Progreso"



Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo
Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,
México, C.P. 42184
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 40001
direccion_icbi@uaeh.edu.mx, vergara@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

Agradecimientos

A mis directores de tesis, la **Dra. Arely Montserrat González González** y el **Dr. Eduardo Cerecedo Sáenz**, por su invaluable orientación, apoyo y acompañamiento durante el desarrollo de este trabajo. Les agradezco profundamente el tiempo dedicado, la confianza depositada en mí y los conocimientos compartidos a lo largo de este proceso. Sus observaciones, recomendaciones y experiencia fueron fundamentales tanto para la realización de esta investigación como para mi formación académica y profesional.

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)**, por el apoyo brindado durante mi formación de posgrado y por contribuir al desarrollo de mi preparación académica y científica.

A la **Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH)**, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado, así como por proporcionar la formación académica, infraestructura y recursos necesarios para el desarrollo de este trabajo de investigación.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)**, por las facilidades y el apoyo brindados para la realización de parte de esta investigación. **Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT IA207226.**

Finalmente, agradezco a todas aquellas personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron al desarrollo y culminación de este trabajo de investigación.

Contenido

1.	Resumen	11
2.	Abstract	13
3.	Introducción	15
4.	Antecedentes.....	17
5.	Marco teórico.....	19
5.1.	Mecanosíntesis	19
5.2.	Jarositas.....	21
5.2.1.	Formación natural	22
5.2.2.	Formación industrial.....	22
5.2.3.	Formación sintética	23
5.3.	Iones bioactivos	23
5.3.1.	Calcio	25
5.3.2.	Estroncio	26
5.4.	Ingeniería tisular.....	27
5.5.	Células troncales de pulpa dental (<i>Dental Pulp Stem Cells, DPSCs</i>) .	29
5.6.	Biomateriales	31
5.6.1.	Clasificación de los biomateriales	31
5.6.2.	Aplicaciones de los biomateriales	32

5.7.	Factores bioactivos	33
5.8.	Tejido óseo	34
5.8.1.	Estructura y composición ósea	35
6.	Planteamiento del problema	38
7.	Objetivo general	40
8.	Objetivos específicos.....	40
9.	Hipótesis.....	41
10.	Justificación	42
11.	Desarrollo experimental.....	43
11.1.1.	Difracción de Rayos X (DRX).....	47
11.1.2.	Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)	47
11.1.3.	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	48
11.2.	Pruebas biológicas.....	48
11.2.1.	Evaluación de citotoxicidad y viabilidad celular.....	48
11.2.2.	Ensayo Alamar Blue™	49
11.2.3.	Ensayo LIVE/DEAD™	50
11.2.4.	Análisis del citoesqueleto celular mediante microscopía confocal	51
11.2.5.	Diferenciación osteogénica	52
11.2.6.	Tinción con Rojo de Alizarina S	52
12.	Resultados.....	53

12.1.	Composición química.....	54
12.1.1.	Difracción de rayos X.....	54
12.1.2.	Cristalinidad y tamaño del cristalito.....	58
12.1.3.	Microscopía electrónica de barrido	61
12.1.4.	Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier.....	69
12.2.	Ensayos biológicos	71
12.2.1.	Ensayo Alamar Blue™	71
12.2.2.	Organización del citoesqueleto e interacción célula-material.....	75
13.	Discusión	81
14.	Conclusiones	97
15.	Trabajo a futuro	100
16.	Referencias	101

Índice de figuras

Figura 1 Tríada de la ingeniería tisular. Representación de los tres componentes básicos de la ingeniería tisular: células con capacidad regenerativa, andamios que proporcionan soporte estructural y factores bioactivos que modulan la respuesta celular. Elaboración propia. 29

Figura 2 Organización estructural y celular del tejido óseo. Esquema de la matriz extracelular, compuesta por una fase orgánica de colágeno tipo I y una fase inorgánica

de hidroxiapatita; principales tipos celulares —osteoblastos, osteocitos y osteoclastos—
; y organización en hueso trabecular y cortical. Elaboración propia..... 37

Figura 3 Flujo general del procedimiento experimental. Etapas de síntesis mecanoquímica del material tipo jarosita, adición de Ca^{2+} o Sr^{2+} , caracterización por DRX, FTIR y MEB–EDS, y evaluación biológica con *DPSCs*. Elaboración propia con BioRender.com. 44

Figura 4 Procedimiento de síntesis mecanoquímica de los materiales tipo jarosita. Secuencia de cálculo estequiométrico, selección y pesado de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, K_2SO_4 y CaSO_4 o SrSO_4 , mezcla en mortero cerámico con agua des-ionizada y obtención del material sólido. Elaboración propia con BioRender.com. 45

Figura 5 Procedimiento de lavado y ajuste de pH de los materiales tipo jarosita. La muestra se suspendió en agua, se midió el pH, se mantuvo a 70 °C y 400 rpm durante 5 min, se dejó sedimentar y se decantó el sobrenadante; el ciclo se repitió hasta alcanzar un pH cercano a 7.4. Elaboración propia con BioRender.com..... 46

Figura 6 Representación de los materiales tipo jarosita adicionados con estroncio y calcio. Esquema visual de las muestras obtenidas después de la síntesis y el acondicionamiento de pH. Elaboración propia con BioRender.com..... 54

Figura 7 Patrones de difracción de rayos X de la jarosita potásica y de los materiales adicionados con Sr^{2+} y Ca^{2+} . Se presentan los difractogramas desplazados verticalmente para facilitar la comparación y los marcadores de las fases identificadas mediante las cartas PDF indicadas en la leyenda. El eje horizontal corresponde a 2θ (°) y el vertical a intensidad (u. a.). Elaboración propia. 57

Figura 8 Ampliación de la reflexión principal de los materiales tipo jarosita. Comparación de la región aproximada de $2\theta = 32.8\text{--}35.6^\circ$ para la jarosita potásica y los sistemas adicionados con Sr^{2+} y Ca^{2+} ; las líneas verticales y etiquetas señalan las posiciones de las reflexiones y los espaciamentos interplanares calculados. Elaboración propia. 58

Figura 9 Relación entre tamaño de cristalito y cristalinidad de los materiales tipo jarosita. Diagrama de dispersión para jarosita potásica, material adicionado con Ca^{2+} y material adicionado con Sr^{2+} ; los símbolos identifican cada sistema. Elaboración propia. 60

Figura 10 Espectro EDS del material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Espectro acumulado de la región analizada, con señales correspondientes a O, S, Sr, Fe y K. Los resultados son semicuantitativos y corresponden al área seleccionada. 63

Figura 11 Morfología del material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido a $5000\times$ y 20 kV, donde se observan partículas micrométricas aglomeradas con morfologías irregulares, tabulares y prismáticas. Barra de escala = 5 μm . Elaboración propia. 63

Figura 12 . Distribución elemental del material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Mapas EDS de Sr, S, O, K y Fe obtenidos en la misma región de la micrografía; cada color representa la señal del elemento indicado y las barras de escala corresponden a 2.5 μm 64

Figura 13 Morfología del material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido a $5000\times$ y 20 kV, con partículas

micrométricas aglomeradas y cristales tabulares o prismáticos recubiertos por partículas finas. Barra de escala = 5 μm 66

Figura 14 Espectro EDS del material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Espectro acumulado de la región analizada, con señales correspondientes a O, S, Ca, Fe y K. Los resultados son semicuantitativos y corresponden al área seleccionada. 67

Figura 15 Distribución elemental del material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Mapas EDS de Ca, S, O, K y Fe obtenidos en la misma región de la micrografía; cada color representa la señal del elemento indicado y las barras de escala corresponden a 2.5 μm 68

Figura 16 Espectros ATR-FTIR de la jarosita potásica y de los materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} . Espectros registrados entre 4000 y 400 cm^{-1} , con las principales bandas señaladas. El eje horizontal corresponde al número de onda (cm^{-1}) y el vertical a la señal de transmitancia..... 70

Figura 17 Ensayo de citotoxicidad mediante Alamar Blue. El gráfico muestra el porcentaje de viabilidad celular en presencia de las soluciones sólidas jarosíticas adicionadas con calcio y estroncio, evaluadas a las 24, 48 y 72 horas de cultivo, en comparación con el grupo control sin biomateriales. Los datos se analizaron mediante ANOVA (* $p < 0.05$). 73

Figura 18 Ensayo de citotoxicidad mediante Alamar Blue. Análisis de citotoxicidad mediante absorbancia de las soluciones sólidas jarosíticas adicionadas con calcio y estroncio. Evaluadas con *DPSCs* a las 24, 48 y 72 horas de cultivo, en comparación con el grupo control sin biomateriales. Los datos se analizaron mediante ANOVA (ns). 73

Figura 19 Evaluación de la viabilidad celular de *DPSCs* mediante el ensayo LIVE/DEAD™ después de 24 h de exposición a los materiales jarosíticos. Micrografías representativas del control de células viables (A–B), células expuestas al material jarosítico adicionado con Ca^{2+} (C–D) y células expuestas al material jarosítico adicionado con Sr^{2+} (E–F). Las imágenes A, C y E fueron adquiridas con un objetivo de 10×, mientras que B, D y F corresponden a un objetivo de 40×. La fluorescencia verde asociada a calceína-AM indica células viables con integridad de membrana conservada, mientras que la fluorescencia roja correspondiente al homodímero de etidio-1 (EthD-1) se asocia con células con membrana comprometida. Barra de escala: 10 μm 74

Figura 20 Análisis de la diferenciación osteogénica de *DPSCs* mediante tinción con Rojo de Alizarina S. A) Vista macroscópica y B) microscópica (10x) del control negativo, compuesto por *DPSCs* cultivadas en medio DMEM, donde no se observa mineralización. C) Vista macroscópica y D) microscópica (10x) del control positivo, con *DPSCs* cultivadas en medio de inducción osteogénica, mostrando una mineralización extensa y generalizada, E) Vista macroscópica y F) microscópica (10x) del grupo experimental con calcio (Ca^{2+}), donde se aprecian nódulos de mineralización densos y bien definidos Y, G) Vista macroscópica y H) microscópica (10x) del grupo experimental con estroncio, que también muestra evidencia de depósitos de calcio en la matriz. 80

Figura 21 Organización del citoesqueleto de *DPSCs* en el grupo control. Imagen obtenida mediante microscopía confocal después de 24 h de cultivo sin exposición al material tipo jarosita. Los filamentos de actina F, teñidos con faloidina-FITC, se observan en verde, mientras que los núcleos celulares teñidos con DAPI se muestran en azul-cian. Las células presentan una morfología predominantemente alargada de tipo fibroblástico

y una red de filamentos de actina distribuida a lo largo del cuerpo celular. Barra de escala = 50 μm 76

Figura 22 Organización del citoesqueleto de *DPSCs* después de 24 h de interacción con el material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Imagen obtenida mediante microscopía confocal. Los filamentos de actina F, teñidos con faloidina-FITC, se observan en verde, mientras que los núcleos celulares teñidos con DAPI se muestran en azul-cian. Se observan células con morfología predominantemente alargada de tipo fibroblástico y filamentos de actina distribuidos a lo largo del citoplasma. Barra de escala = 50 μm 77

Figura 23 Organización del citoesqueleto de *DPSCs* después de 24 h de interacción con el material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Imagen obtenida mediante microscopía confocal. Los filamentos de actina F, teñidos con faloidina-FITC, se observan en verde, mientras que los núcleos celulares teñidos con DAPI se muestran en azul-cian. Las células presentan una morfología predominantemente alargada de tipo fibroblástico, con una red de filamentos de actina claramente observable en el citoplasma. Barra de escala = 50 μm 78

Figura 24 Representación esquemática tentativa de los sistemas tipo jarosita adicionados con Sr^{2+} y Ca^{2+} . El modelo superior corresponde al sistema adicionado con Sr^{2+} y el inferior al sistema adicionado con Ca^{2+} . Se muestra la celda cristalina de referencia y la distribución propuesta de K^+ , Sr^{2+} , Ca^{2+} , Fe, S, O, H y grupos OH^- , de acuerdo con la leyenda de colores. Elaboración propia con VESTA versión 3.90.5a ... 88

1. Resumen

Se llevó a cabo la síntesis mecanoquímica de compuestos tipo jarosita adicionados con calcio y estroncio, con el objetivo de evaluar la influencia de estos cationes sobre la estructura cristalina, la cristalinidad, la microestructura, la composición química y la respuesta biológica del sistema, considerando su posible aplicación en ingeniería tisular. Para ello, se realizaron los experimentos por triplicado, iniciando con la obtención de la jarosita potásica base y continuando con la adición de Ca y Sr. La caracterización por difracción de rayos X mostró que la muestra base corresponde a una fase de jarosita trigonal, identificada mediante el PDF 96-901-0317, mientras que la muestra adicionada con estroncio presentó una fase de jarosita con el PDF 96-901-6966, junto con una fase secundaria de celestina (SrSO_4), en concordancia con el PDF 96-900-4484. Por su parte, la muestra adicionada con calcio exhibió señales atribuibles a una fase relacionada con calcio, asociada al PDF 96-901-1034, además de reflexiones correspondientes a natrojarosita, de acuerdo con el PDF 96-901-7622. La reflexión de mayor intensidad se localizó en la región de $2\theta \approx 30\text{--}33^\circ$, característica de la estructura general $\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$, observándose ligeros desplazamientos y variaciones en el espaciamiento interplanar ($d \approx 3.22\text{--}3.04 \text{ \AA}$), atribuibles a procesos de hidratación superficial y microdeformaciones generadas durante el lavado posterior a la mecano-síntesis. El tamaño de cristalito se estimó mediante la ecuación de Scherrer, mientras que el porcentaje de cristalinidad se obtuvo por integración de las contribuciones cristalinas y amorfas del difractograma mediante el software Match!, esto reveló que la jarosita potásica presentó cristalitos finos y cristalinidad moderada a baja, mientras que la muestra adicionada con calcio mostró una cristalinidad prácticamente

nula, lo que sugiere un mayor desorden estructural; en contraste, la muestra adicionada con estroncio exhibió mayores tamaños de cristalito y porcentajes de cristalinidad más altos, indicando un mejor orden estructural y una posible estabilización de la red cristalina. La caracterización mediante microscopía electrónica de barrido, espectrometría de dispersión de energía de rayos X y mapeo elemental evidenció materiales heterogéneos, densamente aglomerados y con distribución composicional polidispersa; en la muestra con estroncio predominaron O, S y Sr, con menores proporciones de Fe y K, mientras que en la muestra con calcio dominaron O, S y Ca, con bajos contenidos de Fe y K. Los espectros de FTIR confirmaron la preservación de la firma vibracional principal de una fase sulfatada tipo jarosita, aunque con variaciones en la intensidad y posición de las bandas, atribuibles a modificaciones locales en el entorno químico de los grupos sulfato e hidroxilo. En la evaluación biológica, el ensayo de citotoxicidad mediante Alamar Blue mostró viabilidades celulares superiores al 70 % a las 24, 48 y 72 horas para ambos materiales, sin diferencias estadísticas significativas respecto al grupo control, lo que indica ausencia de efectos citotóxicos. De manera complementaria, el análisis de diferenciación osteogénica mediante tinción con Rojo de Alizarina S evidenció formación de depósitos de calcio en los grupos experimentales, observándose nódulos de mineralización densos y bien definidos en el sistema con calcio, así como mineralización en el sistema con estroncio. En conjunto, los resultados demuestran que la naturaleza del catión adicionado ejerce una influencia directa sobre la organización estructural y composicional del sistema tipo jarosita, favoreciendo el estroncio un mayor orden cristalino y promoviendo el calcio un comportamiento más desordenado, sin comprometer la viabilidad celular y mostrando ambos materiales una

respuesta biológica favorable para su consideración como candidatos potenciales en aplicaciones de ingeniería tisular.

2. Abstract

Mechanochemical synthesis was carried out to obtain jarosite-type compounds containing calcium and strontium, with the aim of evaluating the influence of these cations on the crystal structure, crystallinity, microstructure, chemical composition, and biological response of the system, considering its potential application in tissue engineering. To this end, all experiments were performed in triplicate, beginning with the synthesis of the potassium jarosite base material and followed by the addition of Ca and Sr. X-ray diffraction characterization showed that the base sample corresponds to a trigonal jarosite phase, identified by PDF card 96-901-0317, whereas the strontium-added sample exhibited a jarosite phase matching PDF 96-901-6966, together with a secondary celestine phase (SrSO_4), in agreement with PDF 96-900-4484. In turn, the calcium-added sample exhibited signals attributable to a calcium-related phase associated with PDF 96-901-1034, in addition to reflections corresponding to natrojarosite, according to PDF 96-901-7622. The most intense reflection was located in the $2\theta \approx 30\text{--}33^\circ$ region, characteristic of the general $\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ structure, and slight shifts together with variations in the interplanar spacing ($d \approx 3.22\text{--}3.04 \text{ \AA}$) were observed, which can be attributed to surface hydration processes and microstrains generated during the post-mechanosynthesis washing step. The crystallite size and degree of crystallinity, estimated using the Scherrer equation, revealed that potassium jarosite exhibited fine crystallites and moderate-to-low crystallinity, whereas the calcium-added sample showed nearly null

crystallinity, suggesting a higher degree of structural disorder; in contrast, the strontium-added sample displayed larger crystallite sizes and higher crystallinity values, indicating improved structural ordering and possible stabilization of the crystal lattice. Characterization by scanning electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy, and elemental mapping revealed heterogeneous, densely agglomerated materials with a polydisperse compositional distribution; in the strontium-containing sample, O, S, and Sr predominated, with lower proportions of Fe and K, whereas in the calcium-containing sample, O, S, and Ca were dominant, with low Fe and K contents. FTIR spectra confirmed the preservation of the main vibrational signature of a sulfate jarosite-type phase, although variations in band intensity and position were observed, attributable to local modifications in the chemical environment of sulfate and hydroxyl groups. In the biological evaluation, the Alamar Blue cytotoxicity assay showed cell viabilities above 70% at 24, 48, and 72 h for both materials, with no statistically significant differences relative to the control group, indicating the absence of cytotoxic effects. Complementarily, osteogenic differentiation analysis by Alizarin Red S staining revealed the formation of calcium deposits in the experimental groups, with dense and well-defined mineralization nodules observed in the calcium-containing system, as well as mineralization in the strontium-containing system. Overall, the results demonstrate that the nature of the added cation exerts a direct influence on the structural and compositional organization of the jarosite-type system, with strontium favoring greater crystalline order and calcium promoting more disordered behavior, without compromising cell viability, while both materials exhibited a favorable biological response supporting their consideration as potential candidates for tissue engineering applications.

3. Introducción

La mecano-síntesis es una ruta de síntesis en estado sólido que emplea energía mecánica para inducir transformaciones físicas y químicas en los materiales. Este método ha despertado interés por su capacidad para reducir el uso de solventes, acortar los tiempos de procesamiento y modificar propiedades como el tamaño de cristal, la densidad de defectos y la reactividad superficial, lo que lo convierte en una alternativa atractiva para la obtención de materiales funcionales (Arfelis et al., 2024).

Dentro de los materiales que pueden obtenerse por esta vía, la jarosita representa una familia estructural de interés debido a su flexibilidad composicional. Su fórmula general, $\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$, permite la incorporación de diferentes cationes en su estructura, lo que puede generar variaciones en su orden cristalino, estabilidad y comportamiento superficial. Aunque tradicionalmente la jarosita ha sido estudiada en contextos mineralógicos, hidrometalúrgicos y ambientales, recientemente también ha comenzado a explorarse como material sintético con posibles aplicaciones funcionales y biomédicas (Cruells & Roca, 2022; Serralde-Lealba et al., 2022).

En este contexto, la adición de calcio y estroncio resulta especialmente relevante. El calcio es un elemento esencial en la mineralización ósea y participa en diversos procesos de señalización celular, mientras que el estroncio ha sido ampliamente estudiado por su capacidad para estimular la actividad osteoblástica y modular la resorción ósea. Debido a ello, ambos elementos han despertado un interés considerable en el diseño de biomateriales inorgánicos dirigidos a la regeneración de tejido mineralizado (Mehta & Gentleman, 2026; Straub et al., 2025).

La incorporación de calcio y estroncio en matrices tipo jarosita puede inducir cambios en la red cristalina, en la morfología de las partículas y en la composición local del material. Estas modificaciones pueden repercutir directamente en su interacción con sistemas biológicos. Asimismo, se ha reportado que las jarositas potásicas dopadas con estos elementos presentan características favorables para su evaluación como biomateriales, lo que respalda el interés por profundizar en el estudio de este tipo de sistemas (Serralde-Lealba et al., 2022).

Por otra parte, las aplicaciones en ingeniería tisular requieren materiales capaces de integrarse con el entorno biológico y de favorecer procesos como la adhesión celular, la proliferación, la formación de matriz mineralizada y la diferenciación osteogénica.

En particular, la ingeniería tisular ósea demanda biomateriales biocompatibles, bioactivos y con propiedades fisicoquímicas adecuadas para apoyar la regeneración del hueso. En este sentido, los materiales inorgánicos modificados con iones terapéuticos, como Ca^{2+} y Sr^{2+} , han cobrado gran relevancia en los últimos años (Mehta & Gentleman, 2026; Sabouri et al., 2026).

La información sobre la obtención específica de jarositas adicionadas con calcio y estroncio mediante mecano-síntesis sigue siendo limitada, así como sobre la influencia de esta ruta en sus propiedades estructurales, morfológicas y biológicas. Por ello, resulta necesario profundizar en el estudio de estos materiales y establecer su potencial en aplicaciones en la ingeniería tisular (Arfelis et al., 2024; Serralde-Lealba et al., 2022).

Con base en lo anterior, la presente investigación se enfoca en la mecano-síntesis de jarosita adicionada con calcio y estroncio, así como en su caracterización estructural,

morfológica y biológica, con el propósito de evaluar su potencial aplicación en ingeniería tisular.

4. Antecedentes

Las enfermedades y defectos óseos críticos constituyen un desafío clínico creciente, con alta incidencia en poblaciones envejecidas y en pacientes con patologías como osteoporosis, fracturas complejas y lesiones tumorales. Los tratamientos convencionales, como los injertos autólogos y alogénicos, presentan limitaciones asociadas a la disponibilidad de tejido, riesgo de rechazo inmunológico, infección y morbilidad en el sitio donador (dos Santos et al., 2024). Ante este panorama, la ingeniería tisular ha impulsado el desarrollo de biomateriales capaces de actuar como andamios osteoinductivos, favoreciendo la regeneración ósea de manera segura y eficaz.

Dentro de los biomateriales más empleados destacan los fosfatos de calcio, como la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico, así como los biovidrios, reconocidos por su similitud química con la fase mineral del hueso y su capacidad osteoconductiva (Vaiani et al., 2023). Sin embargo, estos materiales presentan ciertas desventajas, entre ellas la limitada osteoinductividad intrínseca, una reabsorción poco controlada y, en algunos casos, un desempeño mecánico insuficiente en defectos óseos sometidos a carga (dos Santos et al., 2024). Estas limitaciones han impulsado la búsqueda de materiales alternativos y estrategias de modificación que potencien su desempeño biológico.

Una de las aproximaciones más estudiadas en los últimos años es la modificación iónica mediante la adición de iones bioactivos, técnica que permite alterar la red cristalina y las propiedades superficiales de los biomateriales, mejorando así su interacción celular

y el microambiente osteogénico (Wan et al., 2020). Entre los cationes más relevantes se encuentran el calcio (Ca^{2+}), esencial para la mineralización de la matriz extracelular, y el estroncio (Sr^{2+}), el cual ha demostrado un efecto dual: estimula la proliferación y diferenciación osteoblástica, al mismo tiempo que inhibe la actividad osteoclástica, favoreciendo un balance positivo en la regeneración ósea (Borciani et al., 2022; L. Liu et al., 2024). Además, se ha reportado que los biomateriales dopados con Sr^{2+} no solo favorecen la osteogénesis, sino también la angiogénesis y la modulación inmune hacia fenotipos celulares reparativos, lo que amplía sus aplicaciones en regeneración tisular (Alves Côrtes et al., 2024; Y. Zhang et al., 2025).

En paralelo, la mecanoquímica ha emergido como una herramienta innovadora en la síntesis de materiales. Definida como el aprovechamiento de la energía mecánica para inducir reacciones químicas en sólidos, esta metodología se considera una tecnología verde por su bajo impacto ambiental, la ausencia de solventes y los tiempos de reacción reducidos (Cuccu et al., 2022). A través de la mecanoquímica es posible acceder a fases metaestables y soluciones sólidas no obtenibles por métodos convencionales, lo que representa una ventaja significativa en el diseño de biocerámicas. En este marco, la mecanosíntesis se ha consolidado como una estrategia eficaz para la preparación de materiales cerámicos en micro y nanodimensiones, generando partículas con mayor superficie específica, defectos cristalinos y morfologías favorables para la interacción celular (Reynes et al., 2024).

Si bien la mayor parte de los esfuerzos en biomateriales se ha centrado en fosfatos de calcio y biovidrios, se ha comenzado a explorar el potencial de fases menos

convencionales como la jarosita. Este mineral pertenece al supergrupo alunita-jarosita, con fórmula general $AB_3(TO_4)_2(OH)_6$, y se caracteriza por su capacidad para incorporar diversos cationes en el sitio A, lo que permite obtener soluciones sólidas estables (Cruells & Roca, 2022). Aunque históricamente la jarosita ha sido estudiada en contextos geoquímicos y ambientales, investigaciones recientes sugieren que su versatilidad estructural y su composición rica en hierro podrían aprovecharse en aplicaciones biomédicas. El hierro, por ejemplo, es un cofactor esencial en la proliferación y diferenciación celular, mientras que la posibilidad de adicionar Ca^{2+} y Sr^{2+} abre la puerta a diseñar materiales con propiedades osteoinductivas (Grigg et al., 2024). Algunos reportes experimentales preliminares señalan que fases tipo jarosita pueden favorecer la adhesión y proliferación celular, además de liberar iones capaces de modular respuestas osteogénicas y angiogénicas (Y. Zhang et al., 2025).

De esta manera, la mecano síntesis de micropartículas tipo jarosita adicionada con Ca^{2+} y Sr^{2+} se plantea como una estrategia innovadora y prometedora. La combinación de la versatilidad estructural de la jarosita, el efecto bioactivo de los iones dopantes y las ventajas de la mecanoquímica podría permitir el desarrollo de un nuevo biomaterial con potencial osteogénico, capaz de integrarse en la ingeniería tisular orientada a la regeneración ósea.

5. Marco teórico

5.1. Mecano síntesis

La mecano síntesis es una técnica avanzada que implica la molienda mecánica intensiva de polvos precursores, y ha ganado creciente atención en los últimos años por

su capacidad para fabricar materiales innovadores. Este proceso de alta energía induce transformaciones significativas, como la formación de aleaciones metaestables que no pueden obtenerse mediante métodos tradicionales de solidificación (Hamzaoui et al., 2024). Además, permite la producción de materiales nanoestructurados mediante la reducción de microcristales a nanocristales, lo que abre nuevas posibilidades para el desarrollo de compuestos avanzados (Hamzaoui et al., 2024).

Una de las características más atractivas de esta técnica es su capacidad para combinar diferentes elementos a temperatura ambiente. Esta propiedad la convierte en una opción especialmente interesante para la síntesis de aleaciones y compuestos sin recurrir a altas temperaturas ni al uso excesivo de disolventes, lo cual se traduce en un proceso más eficiente, económico y amigable con el medio ambiente (Baláž et al., 2021).

En las últimas décadas, la mecano-síntesis se ha consolidado como una alternativa ecológica a los métodos convencionales, que usualmente requieren condiciones extremas como temperaturas elevadas y disolventes químicos. Según Al-Ithawi et al., (2023), esta técnica ofrece una vía sostenible para inducir reacciones químicas en condiciones más simples, ya sea a temperatura ambiente o mediante el calor generado por la propia molienda. Esto contribuye significativamente a reducir el impacto ambiental, minimizando la generación de residuos y optimizando el consumo energético, sin comprometer la eficiencia del proceso.

Otra ventaja destacable de la mecano-síntesis es que permite superar los problemas de solubilidad comunes en muchas reacciones químicas. Las deformaciones elásticas, plásticas y de cizallamiento generadas durante el proceso de molienda proporcionan una alta energía mecánica que promueve reacciones imposibles de lograr

mediante métodos tradicionales (Silveiro et al., 2020). Este fenómeno amplía las posibilidades para la creación de compuestos y materiales novedosos que, con otros métodos, requerirían procesos químicos más complejos y menos sostenibles.

A pesar de los importantes avances logrados, el campo de la mecano síntesis continúa siendo en gran parte inexplorado. Silveiro et al., (2020) destacan que aún existen muy pocos estudios centrados en la preparación de compuestos mediante enfoques mecanoquímicos, lo que subraya el enorme potencial de esta técnica para la síntesis de nuevos materiales funcionales.

Desde esta perspectiva, es necesario continuar investigando para comprender mejor sus mecanismos y expandir sus aplicaciones, con el fin de abrir nuevas fronteras en el desarrollo de materiales avanzados.

5.2. Jarositas

La jarosita es un mineral del grupo de los sulfatos, cristaliza en el sistema trigonal con estructura romboédrica, y fue identificada por primera vez en el Barranco de Jaroso (Sierra de la Almagrera, España), lo que le dio su nombre característico (Hernández-Lazcano et al., 2021). Su fórmula general responde a la expresión $DG_3(TO_4)_2(OH,H_2O)_6$, donde D corresponde a cationes monovalentes (K^+ , Na^+ , Ag^+ , H_3O^+) o divalentes (Pb^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+}), el sitio G suele estar ocupado por cationes trivalentes como Fe^{3+} o Al^{3+} , y el sitio T por aniones tetraédricos, principalmente SO_4^{2-} , aunque también pueden participar AsO_4^{3-} y PO_4^{3-} (Cruells & Roca, 2022).

5.2.1. Formación natural

Las jarositas se forman de manera natural en ambientes altamente ácidos y oxidantes, típicamente en contextos de drenaje ácido de mina (DAM). En estos sistemas, la oxidación de sulfuros metálicos como la pirita (FeS_2) y la marcasita libera grandes cantidades de hierro y sulfato en solución, los cuales, en presencia de cationes alcalinos (K^+ , Na^+), precipitan como jarosita.

También se han identificado jarositas en ambientes volcánicos ácidos asociados a fumarolas y depósitos sulfatados, así como en lagunas salinas ácidas, donde las condiciones geoquímicas favorecen su nucleación. De manera análoga, estudios recientes han demostrado la formación de jarosita en hielo profundo de la Antártida, lo que refuerza la hipótesis de que en Marte pudo originarse bajo condiciones de agua limitada y elevada acidez (Baccolo et al., 2021).

5.2.2. Formación industrial

En la industria, la jarosita es un subproducto de procesos hidrometalúrgicos, particularmente en la producción de zinc. Durante la etapa de lixiviación, el Fe^{2+} contenido en los concentrados se oxida a Fe^{3+} y precipita como jarosita en condiciones de pH bajo y alta concentración de sulfatos. Este proceso permite controlar la purificación de soluciones y evitar la acumulación de hierro en el circuito de lixiviación (Kumar Singh et al., 2023).

De manera similar, se han reportado fases jarosíticas en procesos de recuperación de otros metales como cobre, plomo y plata, cuando existen condiciones ácido-sulfatadas.

5.2.3. Formación sintética

Las jarositas pueden sintetizarse en condiciones controladas de laboratorio. El método más estudiado es la síntesis hidrotermal, que se lleva a cabo a temperaturas entre 60 y 95 °C, en soluciones con alto contenido de sulfatos y pH menor a 2, lo que permite obtener fases puras y bien cristalizadas. También se han reportado métodos de precipitación química controlada a temperatura ambiente, en los cuales la jarosita se obtiene ajustando la acidez de la solución y la concentración de cationes alcalinos (Cruells & Roca, 2022).

Si bien existen múltiples rutas de formación natural, industrial y sintética, hasta la fecha no se han reportado en la literatura estudios sobre la obtención de jarositas mediante métodos de mecano-síntesis. Esto abre un campo de investigación inexplorado que podría aportar nuevas ventajas en términos de control microestructural, eficiencia y sostenibilidad, y constituye un aspecto de innovación dentro del presente trabajo.

5.3. Iones bioactivos

La regeneración ósea es un proceso biológico altamente regulado mediante el cual el organismo es capaz de restaurar la estructura y la función del tejido óseo tras fracturas, lesiones traumáticas o enfermedades degenerativas, como la osteoporosis (Dimitriou et al., 2011). Aunque el tejido óseo posee una capacidad intrínseca de reparación, cuando el tamaño del defecto o las condiciones fisiológicas del paciente superan esta capacidad, es necesario recurrir a estrategias terapéuticas que favorezcan o apoyen este proceso natural de reparación (Bai et al., 2023).

Durante varias décadas, muchos biomateriales utilizados en aplicaciones ortopédicas y odontológicas se diseñaron principalmente con una función estructural, actuando como sustitutos. Por ello, el desarrollo de biomateriales ha adquirido un papel importante, donde el enfoque actual busca restituir la estructura y función del tejido y dirigir activamente la respuesta celular. Tradicionalmente, muchos de estos materiales se diseñaban con un propósito principalmente estructural, es decir, como soporte mecánico. No obstante, el enfoque actual en la síntesis de biomateriales que busca restituir la estructura y la función del tejido tras fracturas, lesiones o enfermedades degenerativas como la osteoporosis. En los últimos años, los biomateriales han pasado de ser simples soportes mecánicos a actuar como plataformas bioactivas capaces de dirigir la respuesta celular y acelerar la curación (Bai et al., 2023)

Un ion bioactivo es una especie iónica capaz de interactuar con células, tejidos o fluidos biológicos y desencadenar una respuesta fisiológica específica. En el contexto de los biomateriales para ingeniería tisular, estos iones pueden liberarse desde la matriz del material y participar en procesos como adhesión celular, proliferación, diferenciación osteogénica, mineralización, angiogénesis o modulación de la respuesta inflamatoria. Su efecto depende del tipo de ion, su concentración, velocidad de liberación y del biomaterial que lo contiene (Bai et al., 2023).

Una estrategia especialmente prometedora consiste en incorporar iones bioactivos a la matriz del biomaterial. Diversos elementos como calcio, magnesio, flúor, fósforo y estroncio, entre otros, intervienen de forma natural en la homeostasis ósea; al liberarse de manera controlada desde el implante, estos iones desencadenan rutas de señalización que estimulan la osteogénesis, potencian la mineralización y favorecen la

osteointegración (Dec et al., 2023). Así, el biomaterial no solo aporta la resistencia necesaria para soportar las cargas del cuerpo, sino que también ejerce una acción terapéutica multidireccional sobre células troncales mesenquimales, osteoblastos y demás actores del microambiente óseo.

Esta aproximación reduce el riesgo de rechazo y de complicaciones postquirúrgicas, al tiempo que mejora la calidad y la velocidad de la reparación. En conjunto, la liberación iónica controlada representa una evolución clave en el diseño de implantes ortopédicos y dentales, posicionándose como agentes activos en la regeneración ósea más que como meros rellenos estructurales.

5.3.1. Calcio

El calcio es el quinto elemento más abundante en la corteza terrestre y un nutriente esencial para los organismos vivos, ya que participa en numerosos procesos celulares y fisiológicos (Qi et al., 2018). Desde el punto de vista biológico, el calcio se encuentra principalmente en los tejidos duros, como huesos y dientes, formando parte de biominerales como fosfatos de calcio, carbonato de calcio, silicato de calcio y fluoruro de calcio. Debido a su presencia estructural en el tejido óseo, este elemento cumple un papel fundamental en la estabilidad mineral, la mineralización de la matriz extracelular y la homeostasis del hueso.

En el campo de los biomateriales, los compuestos a base de calcio se han estudiado extensamente para aplicaciones biomédicas debido a su excelente biocompatibilidad, bioactividad y biodegradabilidad (Min et al., 2024).

Los biomateriales a base de Ca se emplean en la fabricación de biocerámicas, biovidrios, cementos óseos y andamios porosos capaces de imitar tanto la composición

química como la microestructura del hueso natural. Asimismo, el desarrollo de la nanotecnología ha impulsado la creación de nanomateriales con Ca, los cuales ofrecen ventajas adicionales en diagnóstico, terapia y teranóstica debido a su elevada área superficial y capacidad de funcionalización (Qi et al., 2018).

En relación con los procesos biológicos, el Ca regula funciones clave como la proliferación celular, la mineralización de la matriz y la expresión génica osteogénica. Por ello, el diseño racional de biomateriales basados en calcio se perfila como una estrategia prometedora para optimizar la ingeniería y regeneración de tejidos óseos, potenciando la neoformación y la integración con el tejido anfitrión (Wu, Cheng, et al., 2024).

5.3.2. Estroncio

El estroncio es un elemento que, en su forma iónica Sr^{2+} , ha despertado amplio interés en el área de los biomateriales debido a su similitud química con el calcio y a su participación en procesos relacionados con el metabolismo óseo (Borciani et al., 2022). Aunque no constituye el principal componente mineral del hueso, como ocurre con el calcio, el Sr^{2+} puede incorporarse en matrices minerales y cerámicas, especialmente en sistemas relacionados con fosfatos de calcio, vidrios bioactivos e hidroxiapatita, donde puede modificar la bioactividad del material y su interacción con el tejido óseo.

En aplicaciones biomédicas, el Sr^{2+} se ha incorporado en matrices como el vidrio bioactivo, obteniendo resultados prometedores en aplicaciones de regeneración del tejido óseo (Silva et al., 2023). Asimismo, la adición de hidroxiapatita con Sr^{2+} ha demostrado ser una estrategia eficaz para potenciar tanto su bioactividad como su

capacidad de inducir la formación ósea, posicionándose como un aditivo valioso en el diseño de biomateriales funcionales (Handa et al., 2024).

Desde la perspectiva biológica, el ion estroncio (Sr^{2+}) ha demostrado desempeñar un papel dual en el metabolismo óseo, ya que estimula la actividad de los osteoblastos, promoviendo la formación de nuevo tejido óseo, y suprime la actividad de los osteoclastos, reduciendo así la resorción ósea (Alves Côrtes et al., 2024). Esta acción se relaciona con su capacidad para unirse al receptor sensor de calcio (CaSR), presente en las células óseas, a través del cual modula procesos como el crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis (Sebastian K et al., 2024).

5.4. Ingeniería tisular

La ingeniería tisular es una disciplina interdisciplinaria que integra principios de ingeniería, biología celular y ciencia de los biomateriales para desarrollar sustitutos biológicos y estructuras funcionales destinadas a restaurar, mantener o mejorar la función de tejidos dañados. Para ello, combina biomateriales, células y moléculas bioactivas mediante diferentes estrategias de fabricación, con el propósito de favorecer la reparación y regeneración tisular (Norouzi et al., 2024).

Este campo se fundamenta en la interacción de tres componentes esenciales (Figura 1):

- Células con capacidad regenerativa: responsables de secretar matriz extracelular y diferenciarse hacia el linaje celular requerido
- Andamios tridimensionales (*scaffolds*): proporcionan soporte estructural y una matriz temporal para la adhesión y organización celular.

- Factores bioactivos: moléculas señalizadoras que regulan la proliferación, diferenciación y maduración celular.

La sinergia entre células, biomateriales y señales bioactivas constituye la base de los enfoques modernos de la ingeniería tisular. En el caso de la regeneración ósea, estas estrategias buscan reproducir aspectos estructurales, mecánicos y bioquímicos del microambiente natural del hueso para favorecer la formación de nuevo tejido mineralizado (Percival et al., 2024). En este sentido, se han desarrollado biomateriales y andamios con arquitecturas y propiedades funcionales capaces de mejorar la interacción con el tejido huésped y estimular la adhesión, proliferación y diferenciación osteogénica de las células (Todd et al., 2024). Asimismo, debido a la estrecha relación entre la formación de hueso y el establecimiento de nuevos vasos sanguíneos, las estrategias actuales también buscan promover de manera coordinada la osteogénesis y la angiogénesis para favorecer una regeneración ósea funcional (Xu et al., 2024).

No obstante, persisten desafíos relevantes, como la dificultad de reproducir con precisión la compleja estructura tridimensional del tejido óseo, alcanzar una vascularización suficiente y garantizar una integración estable del injerto evitando respuestas inmunes adversas. Estas limitaciones continúan guiando la investigación en biomateriales, biología celular e inmunomodulación, consolidando a la ingeniería tisular como un pilar de la medicina regenerativa actual (Alonzo et al., 2021; Delpierre et al., 2023).

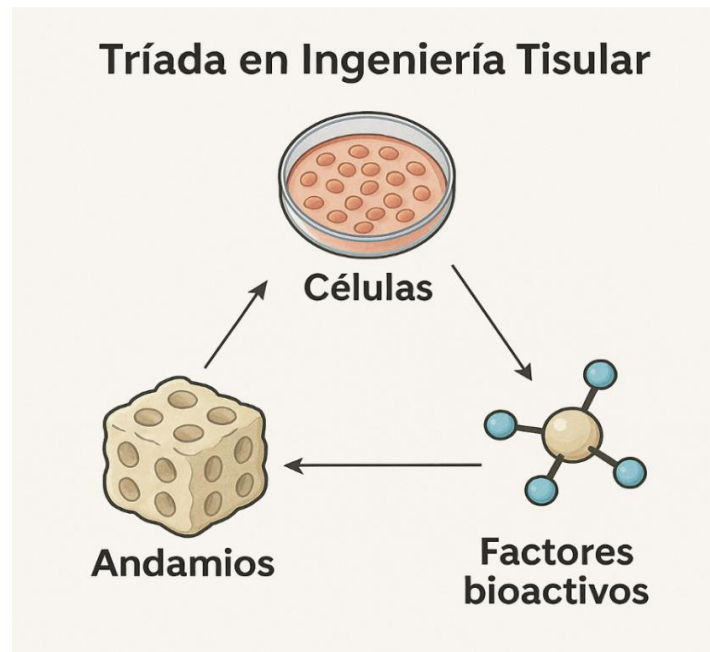


Figura 1 Tríada de la ingeniería tisular. Representación de los tres componentes básicos de la ingeniería tisular: células con capacidad regenerativa, andamios que proporcionan soporte estructural y factores bioactivos que modulan la respuesta celular. Elaboración propia.

5.5. Células troncales de pulpa dental (*Dental Pulp Stem Cells, DPSCs*)

Las células troncales de pulpa dental (*Dental Pulp Stem Cells, DPSCs*) son un tipo de células troncales mesenquimales (*MSCs*, por sus siglas en inglés, *Mesenchymal Stem Cells*) aisladas de la pulpa dental humana, reconocidas por su alta capacidad proliferativa, multipotencial y relativa facilidad de obtención en comparación con otras fuentes celulares. En los últimos años, se han posicionado como un modelo celular idóneo para aplicaciones en regeneración ósea, gracias a su capacidad de diferenciación hacia linajes osteogénicos y su interacción favorable con biomateriales (Gronthos et al., 2000).

Diversos estudios recientes han demostrado que las *DPSCs* presentan una tasa de crecimiento más elevada y un envejecimiento celular más lento que otras *MSCs*, lo

cual se traduce en un mayor rendimiento proliferativo y en un potencial osteogénico superior (Sadeghi Ghadi et al., 2024). Además, metodologías de aislamiento optimizadas, como la técnica de explante múltiple, permiten obtener mayores cantidades celulares sin comprometer su estabilidad biológica (Wu, Sun, et al., 2024).

En el contexto de la regeneración ósea, se ha observado que las *DPSCs* liberan factores bioactivos y vesículas extracelulares que actúan como inductores de diferenciación y mineralización, lo que amplía su aplicabilidad tanto en terapias celulares directas como en enfoques basados en secretoma (Y. Liu, 2024). La combinación de *DPSCs* con andamios bioactivos también ha demostrado resultados significativos: una revisión sistemática reciente reportó que la integración de estas células en diferentes *scaffolds* mejora de manera notable la formación de tejido óseo en comparación con andamios sin células (Namjoynik et al., 2023; X. Zhang et al., 2024).

Asimismo, el diseño de andamios híbridos avanzados, como los basados en grafeno y nanotubos de carbono, ha potenciado la diferenciación osteogénica de *DPSCs* y la deposición de matriz mineralizada (X. Zhang et al., 2024). Este efecto se ha relacionado con la activación de vías de señalización intracelular y la modulación de factores transcripcionales osteogénicos. En paralelo, se ha documentado que las modificaciones epigenéticas, en particular la metilación de histonas, regulan genes clave implicados en la osteo/odontogénesis, constituyendo una estrategia emergente para potenciar el desempeño de *DPSCs* en terapias regenerativas (Hu & Fan, 2025).

5.6. Biomateriales

Los biomateriales constituyen uno de los pilares fundamentales en el campo de la ingeniería tisular y la medicina regenerativa. Se definen como materiales naturales o sintéticos diseñados para interactuar con los sistemas biológicos, con el propósito de reemplazar, reparar o regenerar tejidos y órganos dañados. Su función principal es proporcionar un entorno adecuado para la adhesión, proliferación y diferenciación celular, facilitando la integración con el tejido circundante y promoviendo la regeneración funcional (Fang et al., 2023).

5.6.1. Clasificación de los biomateriales

La clasificación de los biomateriales puede realizarse en función de su origen, composición química y comportamiento biológico (Z. Huang et al., 2021).

5.6.1.1. Según su origen:

Naturales: provienen de organismos biológicos e incluyen materiales como el colágeno, la quitina, el quitosano o el alginato. Se caracterizan por su alta biocompatibilidad y capacidad para promover la regeneración tisular, aunque pueden presentar limitaciones en resistencia mecánica o estabilidad.

Sintéticos: son obtenidos mediante síntesis controladas y ofrecen reproducibilidad y ajuste de propiedades físicas y químicas. Entre ellos se encuentran los polímeros (PLGA, PCL, PEG), las cerámicas (hidroxiapatita, fosfatos de calcio) y los metales (titanio, magnesio o aleaciones biodegradables) (Y. Wang et al., 2021).

5.6.1.2. Según su comportamiento biológico:

Bioinertes: no inducen una respuesta biológica significativa y permanecen estables en el entorno fisiológico, como la alúmina o el titanio.

Bioactivos: promueven la interacción química con los tejidos, estimulando la formación de uniones directas con el hueso o con tejidos blandos. Ejemplos de estos materiales son los vidrios bioactivos y las cerámicas de fosfato de calcio.

Bioresorbibles o biodegradables: se degradan de manera controlada dentro del organismo y son reemplazados gradualmente por tejido regenerado. Este grupo incluye polímeros biodegradables como el PLGA y compuestos cerámicos como el β -fosfato tricálcico.

5.6.2. Aplicaciones de los biomateriales

Las aplicaciones de los biomateriales abarcan diferentes áreas de la medicina y la ingeniería tisular, dependiendo de las propiedades mecánicas, químicas y biológicas requeridas (Chen et al., 2012):

Regeneración ósea: es una de las aplicaciones más estudiadas, utilizando cerámicas bioactivas como la hidroxiapatita y el β -fosfato tricálcico, que imitan la fase mineral del hueso y estimulan la osteogénesis.

Ingeniería de tejidos blandos: los polímeros naturales y sintéticos, como el colágeno y el PLGA, permiten desarrollar estructuras flexibles que facilitan la regeneración de piel, cartílago o vasos sanguíneos.

Liberación controlada de fármacos: los biomateriales biodegradables pueden actuar como sistemas transportadores que administran medicamentos o factores de crecimiento de manera localizada y sostenida.

Implantes y prótesis: los metales y sus aleaciones, como el titanio o el magnesio, se emplean por su alta resistencia, biocompatibilidad y estabilidad mecánica, siendo ampliamente utilizados en ortopedia y odontología.

En conjunto, los biomateriales representan una interfaz dinámica entre la ingeniería y la biología. Su desarrollo actual se orienta hacia materiales inteligentes, multifuncionales y bioinspirados, capaces de responder a estímulos fisiológicos y adaptarse al entorno tisular, mejorando la eficacia de los tratamientos regenerativos (D. Huang et al., 2025).

5.7. Factores bioactivos

Los factores bioactivos son moléculas o señales biológicas capaces de regular el comportamiento celular durante los procesos de reparación y regeneración de tejidos. Su función principal es estimular respuestas celulares específicas, como adhesión, proliferación, migración, diferenciación, formación de matriz extracelular y angiogénesis, procesos necesarios para la formación de nuevo tejido (Safari et al., 2021; X. Wang et al., 2024).

De manera general, los factores bioactivos pueden incluir factores de crecimiento, citocinas, péptidos, proteínas de la matriz extracelular, vesículas extracelulares, genes, fármacos e incluso iones bioactivos. Sin embargo, en el contexto de la ingeniería tisular ósea, los de mayor interés son aquellos que favorecen la reparación y regeneración del

hueso, particularmente los factores de crecimiento relacionados con osteogénesis y angiogénesis (Ball et al., 2023; X. Wang et al., 2024).

Entre los factores bioactivos más estudiados para regeneración ósea se encuentran las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF). Estas señales pueden participar en la diferenciación osteogénica, vascularización, proliferación celular, producción de matriz extracelular y mineralización, por lo que complementan la función de las células y los andamios dentro de la tríada de la ingeniería tisular (Ball et al., 2023; X. Wang et al., 2024; Zhu et al., 2022).

5.8. Tejido óseo

El tejido óseo es un tejido conectivo especializado que forma parte del sistema esquelético, caracterizado por una matriz extracelular mineralizada que le otorga dureza y rigidez. Su organización le permite cumplir múltiples funciones: brindar soporte mecánico, proteger órganos vitales, servir como anclaje para los músculos y actuar como un reservorio dinámico principalmente de iones de calcio y grupos fosfato. Además, participa en la homeostasis metabólica y constituye el principal sitio de hematopoyesis, lo que resalta su importancia biológica y funcional en el organismo (Ferraz, 2024; Yang et al., 2023).

5.8.1. Estructura y composición ósea

Para diseñar andamios óseos funcionales en ingeniería tisular, es fundamental comprender la biología, estructura y fisiología del hueso. Este tejido es altamente dinámico, vascularizado y capaz de regenerarse, remodelarse y adaptarse a lo largo de toda la vida del organismo. Estas propiedades son el resultado de un ciclo continuo de formación y resorción ósea, mediado por células especializadas y un reservorio mineral principalmente compuesto por calcio y fosfato.

El tejido óseo está formado (Figura 2) por una matriz extracelular que incluye una fase orgánica, compuesta principalmente por fibras de colágeno tipo I, que aporta flexibilidad; y una fase inorgánica mineralizada, constituida principalmente por cristales de fosfato de calcio en forma de hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, responsables de la rigidez y resistencia del hueso. Esta matriz es sintetizada por osteoblastos, los cuales se originan a partir de células troncales mesenquimales bajo la influencia de factores de crecimiento como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) (Ferraz, 2024).

Además de la matriz extracelular, el tejido óseo contiene células especializadas fundamentales para su metabolismo y renovación continua. Los osteoblastos son responsables de la formación de nuevo tejido óseo. Por su parte, los osteocitos, que derivan de osteoblastos maduros, participan en la regulación de la actividad ósea y funcionan como mecanosensores. En contraste, los osteoclastos se encargan de la resorción del tejido óseo envejecido, lo que permite mantener el equilibrio dinámico y el remodelado constante del hueso (Yang et al., 2023).

En cuanto a su estructura y organización, el tejido óseo se clasifica en dos tipos principales: hueso trabecular o esponjoso y hueso cortical o compacto. El hueso

trabecular se localiza predominantemente en la porción interna y se caracteriza por una red tridimensional de trabéculas que favorece el intercambio de nutrientes y la actividad metabólica. Por otro lado, el hueso cortical constituye la capa externa, presenta una mayor densidad y se organiza en osteonas concéntricas alrededor de los canales de Havers, lo que le confiere una elevada resistencia mecánica frente a fuerzas de compresión, torsión y flexión.

El desarrollo del tejido óseo inicia alrededor de la sexta a séptima semana del desarrollo embrionario mediante procesos de osificación intramembranosa y endocondral. Las células troncales mesenquimales, debido a su capacidad multipotente, se diferencian hacia la línea osteogénica bajo la regulación de diversas señales moleculares. Las células osteoprogenitoras, localizadas principalmente en el periostio y el endostio, dan origen a osteoblastos, los cuales sintetizan y secretan la matriz osteoide que posteriormente se mineraliza. A medida que esta matriz se deposita, algunos osteoblastos quedan atrapados en ella y se diferencian en osteocitos, células encargadas del mantenimiento de la matriz ósea. Por otro lado, los osteoclastos, derivados de precursores hematopoyéticos de la línea monocito-macrófago, son responsables de la resorción ósea y desempeñan un papel fundamental en el remodelado y la homeostasis del tejido óseo (Percival et al., 2024).

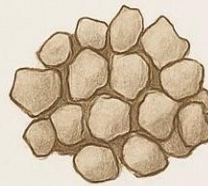
En conjunto, el tejido óseo constituye un sistema complejo y multifuncional que combina propiedades estructurales, biológicas y metabólicas. Su comprensión detallada es fundamental para el diseño de biomateriales capaces de integrarse y participar activamente en procesos de regeneración ósea.

Organización estructural y celular del tejido óseo

Matriz extracelular



Fase orgánica
Colágeno tipo I

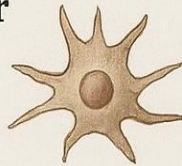


Fase inorgánica
Hidroxipatita

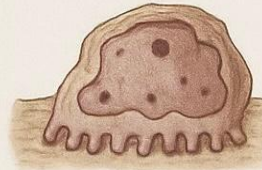
Composición celular



Osteoblasto

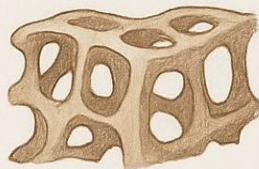


Osteocito



Osteoclasto

Estructura funcional



Hueso trabecular



Hueso cortical

Figura 2 Organización estructural y celular del tejido óseo. Esquema de la matriz extracelular, compuesta por una fase orgánica de colágeno tipo I y una fase inorgánica de hidroxipatita; principales tipos celulares osteoblastos, osteocitos y osteoclastos; y organización en hueso trabecular y cortical. Elaboración propia.

6. Planteamiento del problema

Las enfermedades óseas representan un desafío clínico creciente, especialmente en personas mayores de 50 años, donde constituyen aproximadamente la mitad de las enfermedades crónicas. Aunque el tejido óseo posee una capacidad intrínseca de regeneración, esta resulta insuficiente frente a defectos óseos críticos o segmentarios, los cuales no pueden consolidarse de manera espontánea. Dichos defectos, originados por traumatismos, resecciones tumorales, fracturas no consolidantes o envejecimiento, generan un impacto severo en la calidad de vida de los pacientes y representan una carga significativa para los sistemas de salud (Vaiani et al., 2023).

La reparación de estos defectos requiere intervenciones complejas y prolongadas, sensibles a variables como la edad, el estilo de vida y enfermedades preexistentes. El autoinjerto sigue siendo el "estándar de oro" por su eficacia osteogénica, aunque es limitado por la morbilidad del sitio donante y el volumen disponible. Alternativas como los biomateriales sintéticos de hidroxiapatita, fosfatos de calcio o vidrios bioactivos han mostrado buenos resultados osteoconductores, pero aún presentan limitaciones en estabilidad, costos elevados y falta de osteoinducción intrínseca (Baggio et al., 2025).

Por tanto, existe una necesidad urgente de desarrollar biomateriales cerámicos osteoinductores efectivos, estables, seguros y accesibles. Este tipo de materiales podría superar las deficiencias de los sistemas actuales y ofrecer soluciones más viables en el tratamiento de defectos óseos críticos (Lin et al., 2024).

En este contexto, la jarosita ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$) surge como un candidato innovador y poco explorado. Se trata de un mineral abundante y económico, cuya composición rica en hierro podría favorecer procesos celulares asociados tanto a la

angiogénesis como a la diferenciación osteogénica. Estudios recientes con jarosita dopada con calcio han demostrado biocompatibilidad y capacidad osteoinductora sin necesidad de medio diferenciador, lo que abre nuevas posibilidades para su aplicación en ingeniería de tejidos óseos (Serralde-Lealba et al., 2022).

Particularmente, la mecano-síntesis mediante reacción en estado sólido con mortero cerámico se presenta como una técnica de gran interés para la obtención de jarosita, al ser sostenible, de bajo costo y libre de solventes, además de permitir controlar parámetros estructurales y morfológicos clave como el tamaño de partícula, la defectología cristalina y la superficie específica, factores determinantes en la interacción biomaterial-célula. Sin embargo, se desconoce cómo la jarosita obtenida por este método se comporta en medios fisiológicos, cuál es su perfil de liberación iónica y si realmente puede inducir osteogénesis de manera segura y eficaz.

Aunque la síntesis hidrotermal de jarosita permite obtener fases cristalinas bien definidas y con morfologías controladas, este método implica condiciones energéticamente demandantes, tiempos prolongados de reacción y procesos adicionales de esterilización, lo que limita su escalabilidad en aplicaciones biomédicas. En contraste, la mecano-síntesis ofrece ventajas sustanciales: es un método más económico y sostenible, capaz de generar partículas nanoestructuradas con propiedades modulables (Y. Zhang et al., 2024) y, además, puede conferir efectos antimicrobianos adicionales debido a la alta densidad de defectos y la liberación controlada de iones (Baláž et al., 2021; Dubadi et al., 2023).

De este modo, la jarosita obtenida mediante mecano-síntesis se perfila como una alternativa que podría simplificar el procesamiento y reducir los costos de producción en

comparación con la ruta hidrotermal, al tiempo que presenta indicios de un mayor potencial osteoinductor y funcional.

El problema central de la presente investigación consiste en evaluar si la jarosita sintetizada por mecano-síntesis puede considerarse un biomaterial viable con capacidad osteoinductora para aplicaciones en regeneración ósea, así como en analizar la relación existente entre el método de síntesis, su comportamiento fisicoquímico y la respuesta biológica asociada.

7. Objetivo general

Sintetizar una jarosita adicionada con Ca^{2+} y Sr^{2+} empleando el método de mecano-síntesis (método de reacción en estado sólido con mortero de cerámica) y evaluar su citotoxicidad y potencial osteoinductor mediante ensayos de metabolismo celular y diferenciación *in vitro* y análisis de la organización del citoesqueleto celular.

8. Objetivos específicos

- Sintetizar material jarosítico mediante mecano-síntesis empleando el método de reacción en estado sólido con mortero de cerámica.
- Adicionar a la jarosita obtenida sulfato de estroncio o de calcio.
- Caracterizar el material obtenido mediante:
 - Difracción de rayos X (DRX): para identificar fases cristalinas y parámetros estructurales.

- Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR): para analizar grupos funcionales y enlaces característicos.
 - Microscopía electrónica de barrido (MEB): para determinar morfología, tamaño de partícula y microestructura.
- Evaluar la respuesta biológica de *DPSCs* al material jarosítico
 - Evaluar la viabilidad de las *DPSCs* cultivadas en el material jarosítico, mediante un ensayo de metabolismo celular de Alamar Blue y *LIVE/DEAD*.
 - Evaluar la diferenciación de las *DPSCs* sembradas con el material jarosítico a linaje osteogénico.
 - Evaluar la interacción de las *DPSCs* con el material jarosítico mediante microscopía confocal, analizando morfología celular.

9. Hipótesis

Se plantea que la jarosita adicionada con Ca^{2+} y Sr^{2+} , obtenida mediante mecanosíntesis, no presente efectos citotóxicos, mantenga la viabilidad de las *DPSCs* y potencie la diferenciación osteogénica *in vitro*.

10. Justificación

La síntesis de la jarosita adicionada con Ca^{2+} y Sr^{2+} representa una estrategia innovadora para potenciar la capacidad osteogénica de este biomaterial. La adición de iones bioactivos ha demostrado, en diferentes matrices cerámicas, favorecer la proliferación y diferenciación osteogénica de células troncales de pulpa dental, al modular la expresión génica y estimular rutas de señalización osteoblásticas (Gandhi, 2025; Wei et al., 2022). En este sentido, la jarosita constituye un enfoque prometedor para su aplicación en ingeniería tisular, donde la inducción de regeneración ósea sigue siendo un desafío clínico relevante (Serralde-Lealba et al., 2022).

La incorporación de jarosita adicionada con ciertos elementos en una matriz polimérica puede mejorar notablemente la estabilidad mecánica y biocompatibilidad, además de ofrecer un andamiaje con microarquitectura porosa óptima para la migración celular, la formación de vasos sanguíneos y la mineralización progresiva. Estas combinaciones híbridas cerámica-polímero han sido ampliamente reportadas como estrategias efectivas en odontología regenerativa, donde las enfermedades periodontales y las lesiones dentales constituyen una de las principales causas de pérdida ósea alveolar (Sanz-Horta et al., 2023; Tang et al., 2021).

Por otra parte, el uso de la mecano-síntesis como método de obtención confiere ventajas adicionales: permite controlar la microestructura, optimizar la porosidad interconectada y la rugosidad superficial, y, al mismo tiempo, reducir costos y uso de disolventes en comparación con métodos de síntesis convencionales. Estas características promueven una osteointegración efectiva en entornos fisiológicos.

11. Desarrollo experimental

El diseño de esta sección de la investigación se centró en la etapa experimental correspondiente a la síntesis del material jarosítico mediante el método de mecano-síntesis (Figura 3). En una primera fase, se evaluó la influencia de las variables independientes: sulfato de calcio y sulfato de estroncio (Tabla 1) en la síntesis de jarosita potásica dentro del sistema experimental propuesto (Figura 4). Una vez obtenidas las muestras, se procedió a ajustar el pH de cada una hasta alcanzar valores próximos a 7.4 (Figura 5).

Posteriormente, se llevó a cabo la caracterización físicoquímica y estructural con el fin de determinar sus propiedades. Los resultados obtenidos para cada variable se analizaron en función de los parámetros establecidos, con el propósito de correlacionar las composiciones más efectivas con las respuestas experimentales observadas.

Tabla 1

Reactivos empleados en la síntesis mecanoquímica de los materiales tipo jarosita adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+}

Reactivo	Fórmula	Pureza	Marca
Sulfato férrico	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	19-23%	Meyer
Sulfato de potasio	K_2SO_4	99%	Meyer
Sulfato de estroncio	SrSO_4	98%	Meyer
Sulfato de calcio	CaSO_4	99%	Meyer

El método experimental inicia con la síntesis de la jarosita, en la cual se obtienen partículas de este compuesto a partir de reactivos precursores como el sulfato férrico y

el sulfato de potasio. Posteriormente, la jarosita sintetizada se sometió a un proceso que consiste en la incorporación de sulfato de calcio o estroncio con el propósito de modificar sus propiedades fisicoquímicas y estructurales.

Una vez que a la jarosita se le adicionó sulfato de calcio o estroncio la muestra se sometió a una etapa de caracterización empleando diversas técnicas analíticas para determinar su composición, estructura y morfología. Finalmente, el material adicionado con dichos iones se evaluó mediante ensayos biológicos, en los cuales se analizó su interacción con células, con el objetivo de examinar la respuesta biológica frente al material sintetizado. De esta manera, se completa el proceso experimental, que abarca desde la síntesis inicial hasta la evaluación biológica del material.

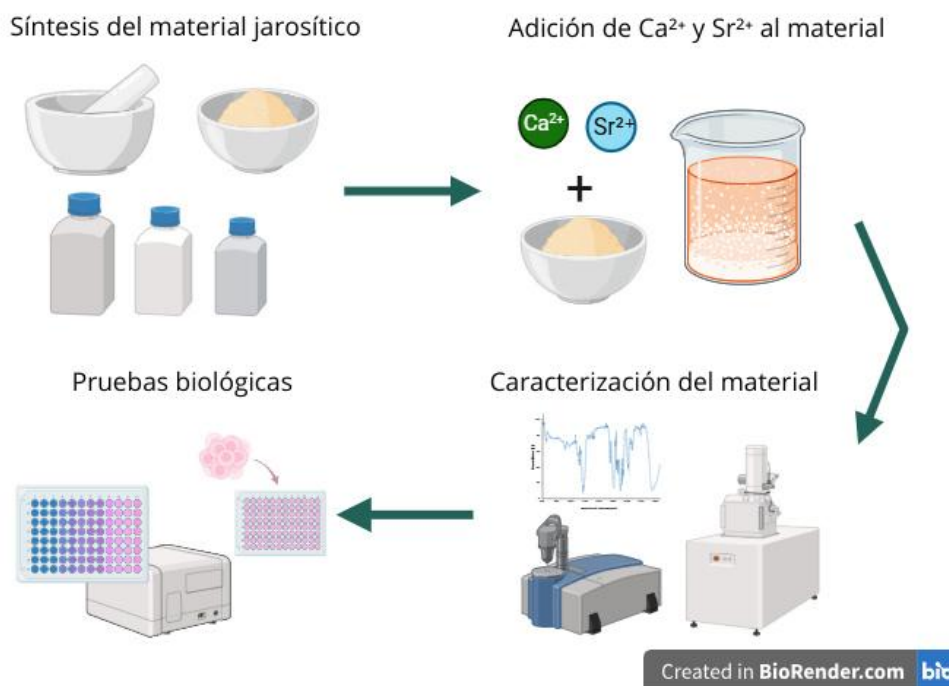
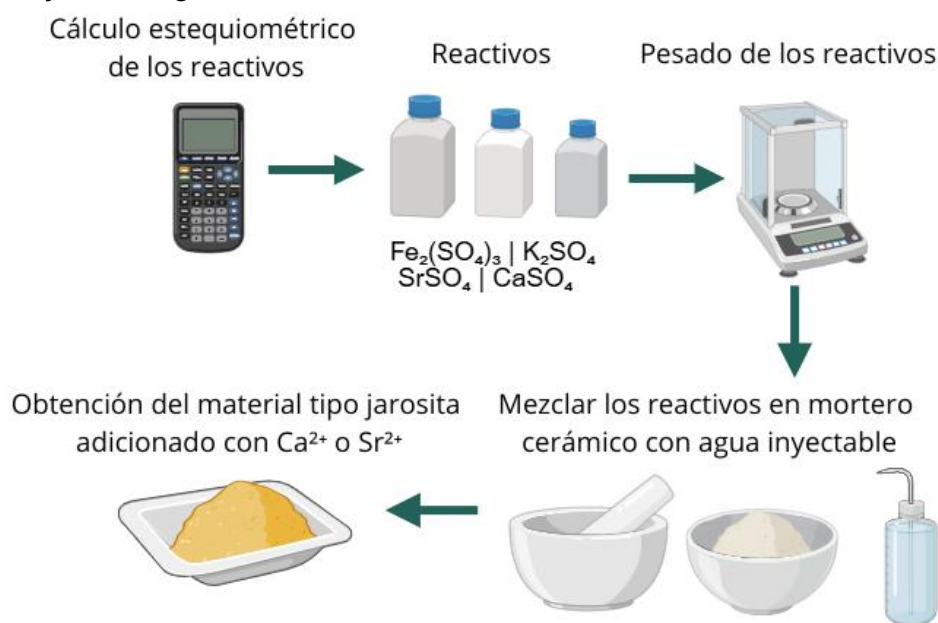


Figura 3 Flujo general del procedimiento experimental. Etapas de síntesis mecanoquímica del material tipo jarosita, adición de Ca^{2+} o Sr^{2+} , caracterización por DRX, FTIR y MEB-EDS, y evaluación biológica con DPSCs. Elaboración propia con BioRender.com.

La síntesis de la jarosita mediante mecano-síntesis inicia con el cálculo estequiométrico de los reactivos necesarios para obtener 25 g del material jarosítico. Con estos valores definidos, se hará el pesado preciso de los reactivos: sulfato de potasio, sulfato férrico y el sulfato correspondiente al elemento que se desea adicionar (calcio o estroncio). Los reactivos pesados se transfirieran a un mortero de cerámica, donde se mezclaron cuidadosamente hasta obtener una distribución homogénea de los sólidos.

Posteriormente, se adicionaron 10 mL de agua inyectable para favorecer la activación mecanoquímica. La mezcla se continúa trabajando durante 10 minutos, tiempo en el cual ocurre la reacción de formación; la aparición de una coloración de un amarillo ocre en la pasta indica la generación de la fase jarosita. Una vez logrado este cambio de color, el material se deja secar a temperatura ambiente, para su posterior caracterización estructural y morfológica.



Created in BioRender.com bio

Figura 4 Procedimiento de síntesis mecanoquímica de los materiales tipo jarosita adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} . Se muestra la secuencia de cálculo, pesado y mezcla de los reactivos en mortero cerámico hasta la obtención del material. Elaboración propia con BioRender.com.

Después del secado inicial, la jarosita se disolvió en agua inyectable para la determinación del pH. Debido a la acidez intrínseca del material, se realizaron lavados sucesivos con agua inyectable con el fin de incrementar gradualmente el pH. En cada ciclo, la suspensión se mantuvo bajo agitación constante a 400 rpm durante 5 min a una temperatura de 70 °C, lo que favoreció la eliminación de especies solubles responsables de la acidez residual. Posteriormente, los sólidos se dejaron sedimentar y el sobrenadante fue decantado cuidadosamente.

Este procedimiento se repitió hasta alcanzar un pH cercano a 7.4, valor necesario para asegurar la estabilidad del material antes de su uso experimental. Finalmente, las soluciones de jarosita neutralizadas serán secadas nuevamente y empleadas en las etapas siguientes de caracterización fisicoquímica y pruebas biológicas.

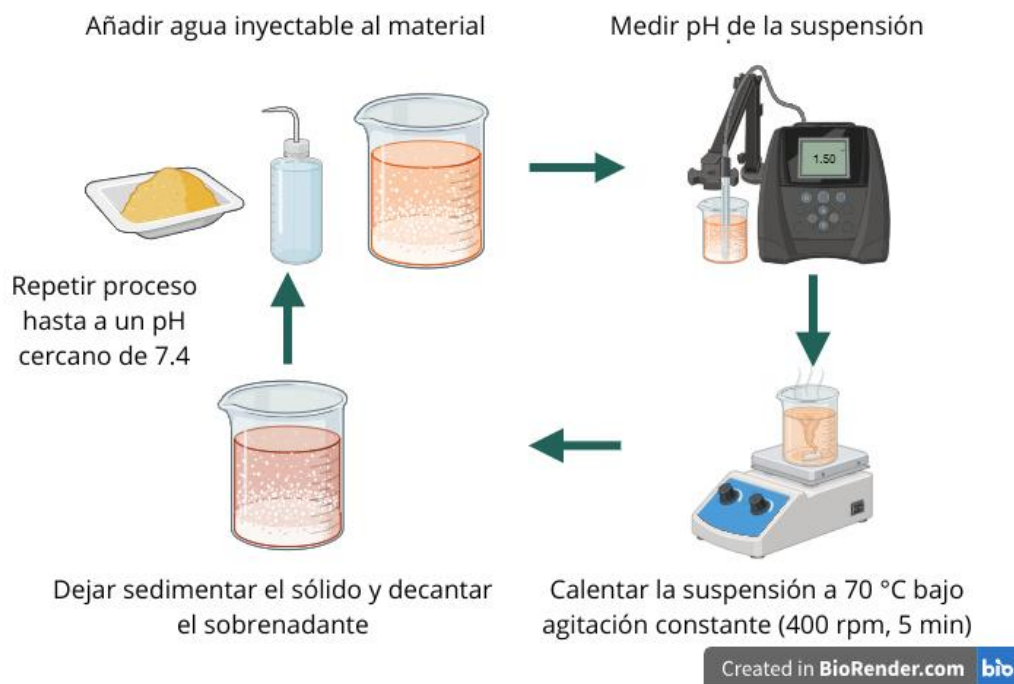


Figura 5 Procedimiento de lavado y ajuste de pH de los materiales tipo jarosita. La muestra se suspendió en agua inyectable y se mantuvo a 70 °C y 400 rpm durante 5 min. El proceso de sedimentación, decantación y lavado se repitió hasta alcanzar un pH cercano a 7.4. Elaboración propia con BioRender.com.

11.1. Caracterización de Materiales

11.1.1. Difracción de Rayos X (DRX)

La caracterización estructural de las muestras se llevó a cabo mediante difracción de rayos X, utilizando un difractómetro INEL modelo Equinox 2000, ubicado en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), México. Este equipo fue fabricado por INEL, en Artenay, Centro-Val de Loire, Francia, y emplea un tubo de cobalto como fuente de radiación. Cada análisis se realizó con un tiempo de barrido de 10 minutos por muestra. La indexación de los difractogramas obtenidos se realizó mediante el software *Match!* (Crystal Impact, Bonn, Alemania), el cual permite la comparación con bases de datos cristalográficas para la identificación de fases presentes.

11.1.2. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

El análisis morfológico y elemental de las muestras se efectuó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), utilizando un equipo JEOL JSM-IT300, fabricado por JEOL Ltd., Japón, y ubicado en la Escuela Superior de Apan, UAEH. El sistema está equipado con un detector de espectroscopía de dispersión de energía (EDS) marca Oxford Instruments, que permite el análisis elemental semicuantitativo. Para el estudio, se depositaron aproximadamente 10 mg de cada muestra en polvo sobre un portamuestras metálico y se recubrieron con una delgada capa de oro para mejorar la conductividad eléctrica. El análisis se realizó a un voltaje de operación de 20 kV, incluyendo mapeos y lecturas puntuales para determinar la distribución y concentración elemental en la superficie de las muestras.

11.1.3. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La composición química de los materiales fue evaluada mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en modo de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR), utilizando un espectrómetro modelo Frontier FTIR de la marca PerkinElmer (Waltham, MA, EE. UU.), localizado en el UAEH. Para cada análisis, se colocaron 10 mg del material en polvo sobre el cristal del accesorio ATR. Los espectros fueron registrados en un rango de 4000 a 400 cm^{-1} , abarcando las regiones del infrarrojo medio y cercano, con una absorbancia máxima del 75 %. Esta técnica permitió identificar grupos funcionales característicos presentes en las muestras, proporcionando información sobre la naturaleza de los enlaces químicos y la composición molecular.

11.2. Pruebas biológicas

11.2.1. Evaluación de citotoxicidad y viabilidad celular

La citotoxicidad de las soluciones sólidas adicionadas con Ca^{2+} y Sr^{2+} se evaluó mediante dos aproximaciones complementarias: el ensayo metabólico *Alamar Blue*[™] y el ensayo de viabilidad *LIVE/DEAD*[™]. El primero se empleó para determinar cuantitativamente la viabilidad celular relativa en función de la actividad metabólica, mientras que el segundo permitió evaluar cualitativamente la integridad de la membrana celular y corroborar la presencia de células viables y no viables mediante microscopía de fluorescencia. La evaluación se realizó tomando como referencia los criterios establecidos en la norma (ISO 10993-5, 2009) para ensayos *in vitro* de citotoxicidad.

11.2.2. Ensayo Alamar Blue™

Para la evaluación cuantitativa de la viabilidad celular se emplearon células troncales de pulpa dental humana (*DPSCs, Dental Pulp Stem Cells*), sembradas a una densidad de 5×10^3 células por pozo en placas de cultivo de 96 pocillos (TPP, Trasadingen, SH, Suiza), utilizando cinco réplicas por grupo experimental. Después de 24 h de incubación para permitir la adhesión celular, las soluciones sólidas adicionadas con calcio o estroncio, previamente suspendidas en medio de cultivo, se incorporaron a una concentración final aproximada de 0.05 mg/mL. El grupo control se mantuvo bajo las mismas condiciones de cultivo, pero sin exposición al material.

Las células se mantuvieron a 37 °C y 5 % de CO₂ en Dulbecco's Modified Eagle Medium Low-Glucose (DMEM-LG; Biowest), suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS; Gibco, Merelbeek, Bélgica) y 1 % de antibiótico/antifúngico (PAA, Cölbe, Alemania).

A las 24, 48 y 72 h de exposición, se retiró el medio de cultivo y se adicionaron 90 µL de medio fresco y 10 µL del reactivo *Alamar Blue*™ (Thermo Fisher Scientific) por pozo. Posteriormente, las placas se incubaron durante 3 h y la absorbancia se registró a 570 y 600 nm utilizando un lector de microplacas Biotek ELx808 (Winooski, VT, EE. UU.).

Los valores obtenidos se normalizaron con respecto al grupo control, establecido como 100 % de viabilidad celular, y se expresaron como porcentaje de viabilidad relativa. El análisis estadístico se realizó mediante el software GraphPad Prism, versión 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU.).

11.2.3. Ensayo LIVE/DEAD™

Como evaluación complementaria de la citotoxicidad, se realizó el ensayo de viabilidad/citotoxicidad *LIVE/DEAD™* (*LIVE/DEAD™ Viability/Cytotoxicity Kit*, Cat. No. L3224). Para este análisis, las *DPSCs* se sembraron sobre cubreobjetos redondos colocados en placas de cultivo de 24 pozos, a una densidad de 1×10^4 células por pozo, y se mantuvieron bajo condiciones estándar de cultivo a 37 °C y 5 % de CO₂.

Después de 24 h de incubación para favorecer la adhesión celular, se incorporaron los materiales adicionados con Ca²⁺ o Sr²⁺ a una concentración final de 0.05 mg/mL. Posteriormente, el ensayo *LIVE/DEAD™* se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante, empleando calceína-AM como marcador de células viables y homodímero de etidio-1 (EthD-1) como marcador de células con pérdida de integridad de membrana. Las muestras se incubaron con los fluoróforos durante 30 min.

Una vez concluida la incubación, los cubreobjetos se montaron sobre portaobjetos utilizando 10 µL de VECTASHIELD (Vector Laboratories). Las preparaciones se observaron mediante microscopía de epifluorescencia utilizando los objetivos de 10× y 40× en un microscopio ZEISS equipado con una fuente de iluminación HXP 120 C. La adquisición y visualización de las imágenes se realizó mediante el software ZEN Lite 2012 (ZEISS Microscopy).

La fluorescencia verde correspondiente a la calceína-AM se consideró indicativa de células viables con actividad enzimática e integridad de membrana conservadas, mientras que la fluorescencia asociada al EthD-1 se utilizó para identificar células con membranas comprometidas.

11.2.4. Análisis del citoesqueleto celular mediante microscopía confocal

Se emplearon *DPSCs*, las cuales fueron sembradas sobre cubreobjetos circulares colocados en placas de 24 pozos, a una densidad de 5×10^3 células por pozo. Las células se mantuvieron bajo condiciones estándar de incubación a 37 °C, en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂.

Después de 24 h de incubación, periodo establecido para permitir la adhesión celular sobre la superficie de los cubreobjetos, se retiró el medio de cultivo basal y se le agregó el material jarosítico adicionado con Ca²⁺ o Sr²⁺, hasta alcanzar una concentración final de 0.05 mg/mL. Las células se mantuvieron en interacción con los materiales durante 24 h adicionales.

Transcurrido el tiempo de exposición, las monocapas celulares se lavaron dos veces con PBS y se fijaron con paraformaldehído al 4 % durante 15 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizaron tres lavados con PBS para eliminar el exceso del agente fijador.

La organización del citoesqueleto se evaluó mediante la tinción de los filamentos de actina F con faloidina conjugada con isotiocianato de fluoresceína, faloidina-FITC (Sigma-Aldrich, P5282). De manera simultánea, los núcleos celulares se tiñeron con 4',6-diamidino-2-fenilindol, DAPI (Sigma-Aldrich, D9542). Finalmente, los cubreobjetos se montaron sobre portaobjetos utilizando 10 µL de medio de montaje Vectashield (Vector Laboratories).

Las muestras se analizaron mediante microscopía confocal de barrido láser, registrando los canales correspondientes a la fluorescencia verde de la actina F, la

fluorescencia azul de los núcleos y las imágenes en campo claro. Los canales se superpusieron para evaluar la distribución, extensión y morfología de las *DPSCs*, así como su proximidad e interacción aparente con las micropartículas.

11.2.5. Diferenciación osteogénica

Las *DPSCs* se sembraron a una densidad de 5×10^3 células por pozo en placas de cultivo de 12 pozos (TPP, Trasadingen, SH, Suiza). Tras 24 horas de incubación, se añadieron las soluciones sólidas de jarosita adicionada con calcio o con estroncio a los grupos experimentales correspondientes a una concentración aproximada de 0.5 mg/mL. Se incluyó un grupo control negativo (sin exposición a las soluciones sólidas) y un grupo control positivo, al cual se le adicionó medio inductor osteogénico (MesenCult™ Osteogenic, Stimulatory Kit (Human), Stem Cell, technologies). El medio de cultivo se renovó cada tercer día durante un periodo total de 21 días.

11.2.6. Tinción con Rojo de Alizarina S

Al término del ensayo, las células se lavaron y fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4 % para posteriormente evaluar la diferenciación osteogénica mediante la tinción con Rojo de Alizarina S (Sigma Aldrich), técnica que permite evidenciar la presencia de depósitos cálcicos extracelulares característicos de la mineralización osteogénica.

La tinción con Rojo de Alizarina S es una técnica histoquímica empleada para confirmar la diferenciación osteogénica de las células en cultivo. Este método se fundamenta en la alta afinidad del colorante por los depósitos de calcio formados durante

la mineralización de la matriz extracelular. El colorante se une de manera específica a los iones Ca^{2+} , dando lugar a la formación de complejos de tonalidad rojo-anaranjada.

Estos depósitos minerales pueden observarse directamente bajo el microscopio óptico, donde la intensidad y extensión de la coloración se correlacionan con el grado de mineralización de la matriz. Por tanto, la tinción con Rojo de Alizarina S constituye un indicador cualitativo del nivel de diferenciación osteogénica alcanzado por las células durante el cultivo.

12. Resultados

Se obtuvieron dos muestras: una de jarosita adicionada con estroncio y otra con calcio (Figura 6), una vez sintetizadas, el pH correspondiente se midió con un potenciómetro (Dual Star PH/ISE con electrodo y sonda ATC marca Thermo Orion, fabricado por Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.), obteniendo valores de 2.1 y 3 respectivamente. De acuerdo con estos resultados, las muestras se lavaron con agua inyectable a temperatura de 70 °C bajo agitación magnética a 400 rpm durante 5 minutos, se realizaron más lavados hasta llegar al pH deseado de 7.4 para poder realizar los ensayos celulares.



Created in BioRender.com bio

Figura 6 Representación de los materiales tipo jarosita adicionados con estroncio y calcio. Esquema visual de las muestras obtenidas después de la síntesis y el acondicionamiento de pH. Elaboración propia con BioRender.com

12.1. Composición química

12.1.1. Difracción de rayos X

La Figura 7 muestra los patrones de difracción de rayos X correspondientes a la jarosita base y a los compuestos tipo jarosita adicionados con Ca y Sr, obtenidos por mecanosíntesis. Se realizaron tres experimentos, comenzando con la síntesis del material base de jarosita potásica, con el propósito de identificar el efecto de los elementos añadidos.

En los tres casos se observan reflexiones características de estructuras tipo jarosita, en concordancia con los patrones de referencia reportados en las cartas PDF. La muestra base presenta correspondencia con la fase jarosita trigonal, identificada

mediante la carta PDF 96-901-0317. En la muestra adicionada con Sr se reconoce una fase principal tipo jarosita trigonal, asociada a la carta PDF 96-901-6966, así como la presencia de una fase secundaria de celestina (SrSO_4), en concordancia con la carta PDF 96-900-4484. Por su parte, la muestra adicionada con Ca presenta señales atribuibles a una fase de calcio, asociada a la carta PDF 96-901-1034, además de reflexiones correspondientes a natrojarosita, de acuerdo con la carta PDF 96-901-7622 (Figura 7).

La reflexión más intensa se localiza en la región cercana a $2\theta \approx 30\text{--}33^\circ$, asociada a planos cristalográficos característicos de la estructura general $\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$. No obstante, se observa un ligero desplazamiento de esta reflexión principal, acompañado de variaciones en el espaciamiento interplanar calculado ($d \approx 3.22\text{--}3.04 \text{ \AA}$). De acuerdo con la ley de Bragg, este desplazamiento hacia menores valores de 2θ indica un incremento en el espaciamiento interplanar. Este comportamiento puede atribuirse a efectos de hidratación inducidos durante el proceso de lavado posterior a la mecanosíntesis (Pérez Olvera et al., 2026).

La jarosita posee una estructura basada en octaedros FeO_6 conectados mediante grupos sulfato y estabilizada por cationes en el sitio A, lo que genera una red cristalina susceptible a interacciones con moléculas de agua adsorbidas. Durante los lavados, la exposición del material a medios acuosos puede favorecer la adsorción de agua en defectos estructurales, bordes de grano o regiones intergranulares generadas durante la molienda mecánica. La incorporación transitoria de especies hidratadas, o la interacción con los grupos hidroxilo estructurales, puede inducir microdeformaciones en la red cristalina o ligeras expansiones de la celda unitaria. Esto se manifiesta en el

difractograma como desplazamientos sutiles en las posiciones de los picos y variaciones en los valores de d (Figura 8).

En general, los resultados indican que la estructura tipo jarosita se conserva después de la mecano-síntesis. Asimismo, las diferencias observadas en la posición de las reflexiones y la aparición de fases secundarias, como celestina y calcio, sugieren efectos asociados tanto a la incorporación parcial de los elementos como a procesos posteriores de hidratación superficial y reorganización estructural.

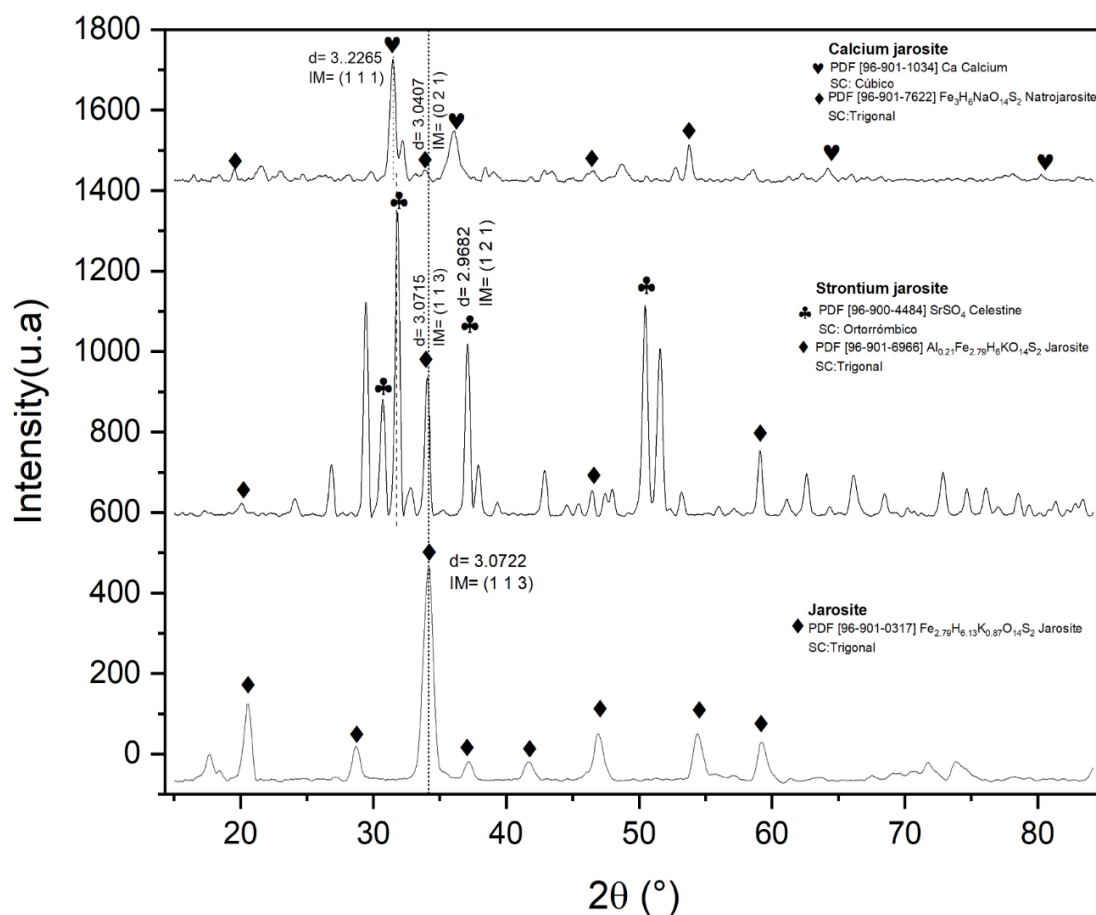


Figura 7 Patrones de difracción de rayos X de la jarosita potásica y de los materiales adicionados con Sr^{2+} y Ca^{2+} . Se presentan los difractogramas desplazados verticalmente para facilitar la comparación y los marcadores de las fases identificadas mediante las cartas PDF indicadas en la leyenda. El eje horizontal corresponde a 2θ (°) y el vertical a intensidad (u. a.). Elaboración propia.

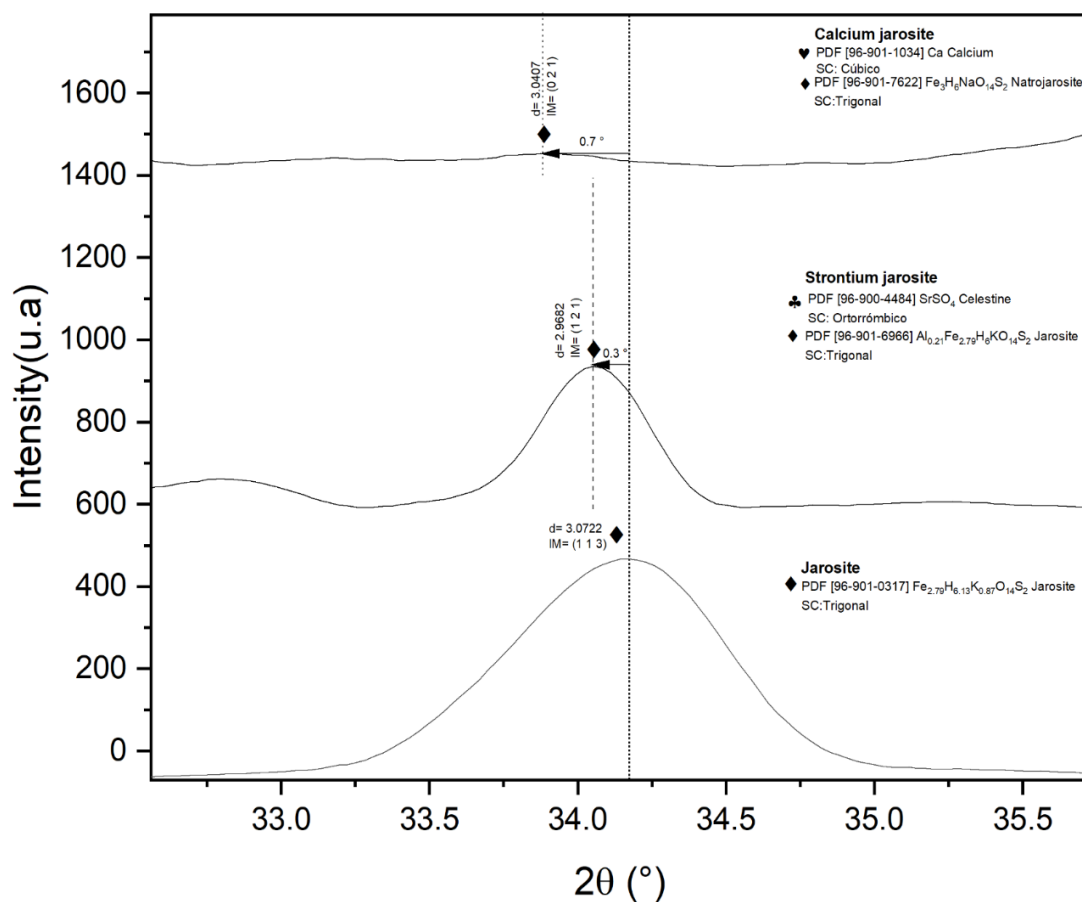


Figura 8 Ampliación de la reflexión principal de los materiales tipo jarosita. Comparación de la región aproximada de $2\theta = 32.8\text{--}35.6^\circ$ para la jarosita potásica y los sistemas adicionados con Sr^{2+} y Ca^{2+} ; las líneas verticales y etiquetas señalan las posiciones de las reflexiones y los espacimientos interplanares calculados. Elaboración propia.

12.1.2. Cristalinidad y tamaño del cristalito

La gráfica (Figura 9) relaciona el tamaño de cristalito ($\text{\AA}$) obtenido mediante la ecuación de Scherrer con el porcentaje de cristalinidad (%) para tres sistemas: jarosita potásica (K-jarosite), jarosita adicionada con Ca y jarosita adicionada con Sr.

En el caso de la jarosita potásica (Jarosite K), los datos muestran tamaños de cristalito relativamente pequeños, principalmente en el rango aproximado de 18–25 Å, con valores de cristalinidad generalmente bajos (≈ 2 –10 %), aunque aparece un punto con mayor cristalinidad cercano a 38 %. Este comportamiento sugiere que la jarosita pura presenta cristalitos finos y una cristalinidad moderada a baja, lo cual es consistente con materiales obtenidos por rutas de síntesis donde se favorece la nucleación sobre el crecimiento cristalino.

Para la jarosita adicionada con calcio (Jarosite Ca), los tamaños de cristalito se encuentran aproximadamente entre 12 y 37 Å, pero la cristalinidad es prácticamente nula o muy baja (≈ 0 %) en todos los puntos. Esto puede interpretarse como un alto grado de desorden estructural o pobre desarrollo cristalino, posiblemente asociado a que el Ca^{2+} introduce distorsiones en la red cristalina tipo jarosita, dificultando la formación de dominios cristalinos bien definidos. En términos de DRX, esto suele manifestarse como reflexiones más anchas (mayor FWHM) y, por lo tanto, tamaños cristalinos calculados poco representativos.

Por otro lado, la jarosita adicionada con estroncio (Jarosite Sr) muestra un comportamiento claramente distinto. Los tamaños de cristalito son mayores, aproximadamente entre 23 y 40 Å, y la cristalinidad alcanza valores significativamente más altos, alrededor de 48–57 % para varios puntos. Esto indica que la incorporación de Sr^{2+} favorece un mayor orden estructural y el crecimiento de dominios cristalinos más grandes. La presencia de Sr podría estabilizar la estructura tipo jarosita, promoviendo una mejor organización cristalina durante la síntesis.

En conjunto, la tendencia observada sugiere que la naturaleza del catión adicionada influye directamente en el desarrollo cristalino del material. Mientras que el calcio parece inducir mayor desorden estructural, el estroncio favorece una mayor cristalinidad y tamaños cristalinos más grandes, lo cual se refleja en los valores calculados mediante la ecuación de Scherrer.

Desde un punto de vista estructural, estos resultados indican que la adición de Sr^{2+} podría mejorar la estabilidad cristalina del sistema tipo jarosita, mientras que el Ca^{2+} podría generar defectos o microdeformaciones en la red, afectando el tamaño de los dominios coherentes de difracción.

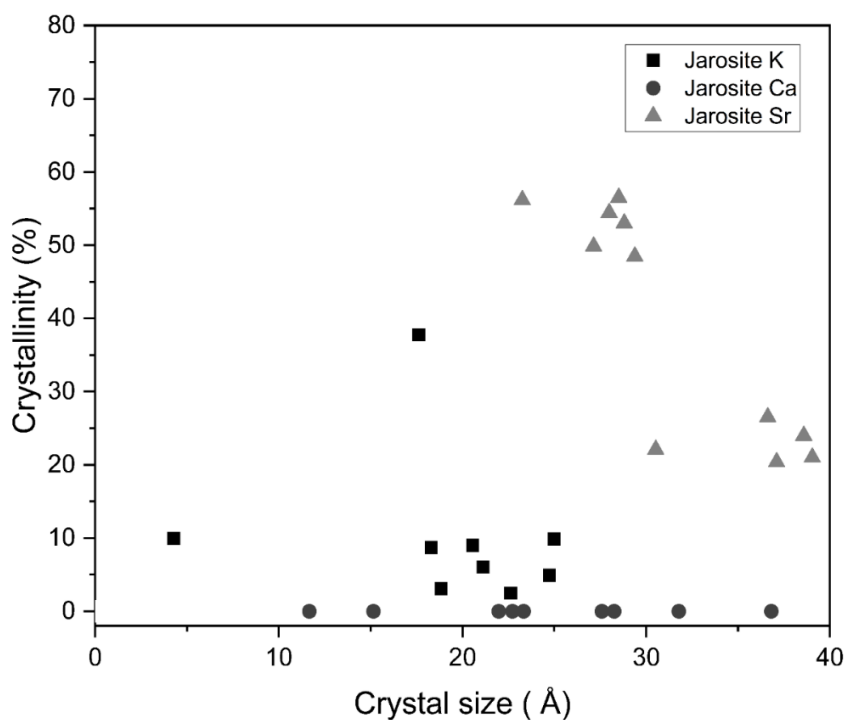


Figura 9 Relación entre tamaño de cristalito y cristalinidad de los materiales tipo jarosita. Diagrama de dispersión para jarosita potásica, material adicionado con Ca^{2+} y material adicionado con Sr^{2+} ; los símbolos identifican cada sistema. Elaboración propia.

12.1.3. Microscopía electrónica de barrido

Se utilizó microscopía electrónica de barrido (SEM) en conjunto con la espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS) para evaluar, analizar y observar las propiedades morfológicas y composicionales, semicuantitativamente, de las soluciones sólidas de jarosita obtenidas, con el fin de interpretar su relación con las propiedades estructurales y corroborar la adecuada incorporación de elementos adicionados a la estructura correspondiente. Las muestras se prepararon, siendo recubiertas por oro durante un minuto.

La micrografía del material obtenido por mecanosíntesis (Figura 10) muestra una morfología heterogénea, compuesta por partículas micrométricas densamente aglomeradas, con contornos irregulares y, en algunas zonas, con rasgos tabulares a prismáticos cortos. La textura observada es consistente con un proceso mecanoquímico, en el que la alta energía de molienda favorece simultáneamente la fractura de partículas, la generación de superficies frescas y la aglomeración secundaria. Como resultado, se aprecia una asociación íntima entre partículas finas y cristales de mayor tamaño, formando agregados compactos y una distribución granulométrica polidispersa.

Desde el punto de vista morfológico, la muestra no presenta una separación clara entre fases, sino una mezcla estrechamente intercrecida. Algunas partículas de hábito más definido y tamaño relativamente mayor pueden asociarse tentativamente con regiones enriquecidas en celestita (sulfato de estroncio), mientras que la fracción más fina e irregular se relaciona con la fase jarosítica. Sin embargo, esta diferenciación debe entenderse únicamente como una aproximación morfológica, ya que la identificación puntual de cada fase requiere respaldo composicional.

El análisis EDS del espectro (Figura 11) acumulado confirma la presencia predominante de O, S y Sr, con contenidos en peso de 45.46, 15.45 y 34.56 wt. %, respectivamente, además de menores proporciones de Fe (3.79 wt. %) y K (0.73 wt.%). Esta composición es congruente con un sistema constituido principalmente por una fase rica en estroncio y sulfato, atribuible a la celestita, junto con una contribución minoritaria de una fase portadora de hierro y potasio, compatible con jarosita. La baja proporción de Fe y K respecto a Sr sugiere que, en la zona analizada, la señal composicional estuvo dominada por la fase de celestita o por regiones con mayor contribución de esta fase. En conjunto, los resultados de MEB-EDS evidencian que la mecano-síntesis produjo un material heterogéneo, aglomerado e íntimamente mezclado, en el que coexisten dominios composicionales compatibles con jarosita y celestita.

De manera complementaria, el mapeo elemental de la Figura 12 permitió corroborar la distribución espacial de estos elementos dentro de los agregados analizados, mostrando que Sr y S se encuentran ampliamente distribuidos en la muestra, mientras que Fe y K se presentan en zonas más restringidas, lo que indica una heterogeneidad composicional a escala micrométrica y una mezcla estrecha entre ambas fases dentro del material sintetizado por mecano-síntesis.

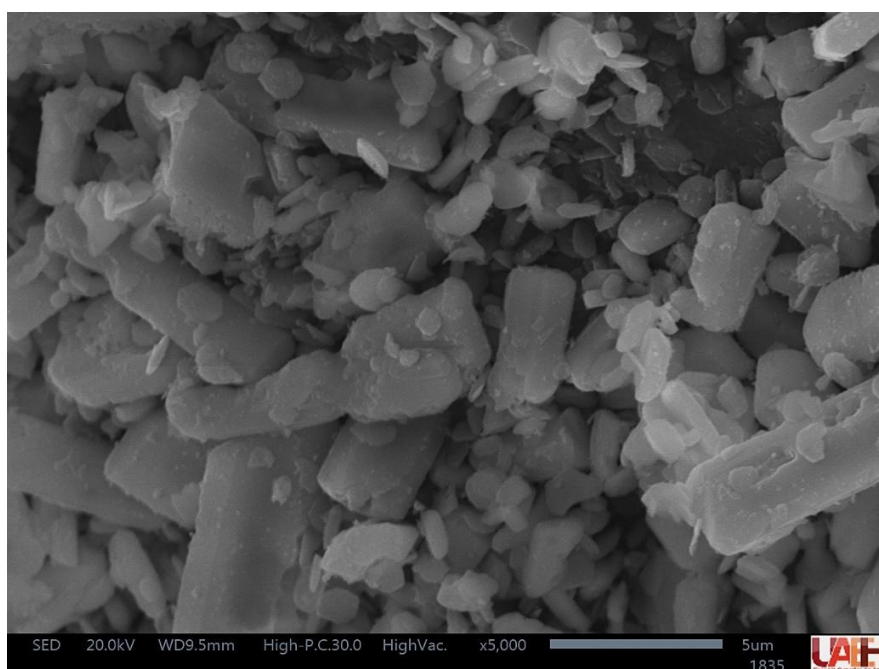


Figura 11 Morfología del material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido a 5000 $\times$ y 20 kV, donde se observan partículas micrométricas aglomeradas con morfologías irregulares, tabulares y prismáticas. Barra de escala = 5 μm . Elaboración propia.

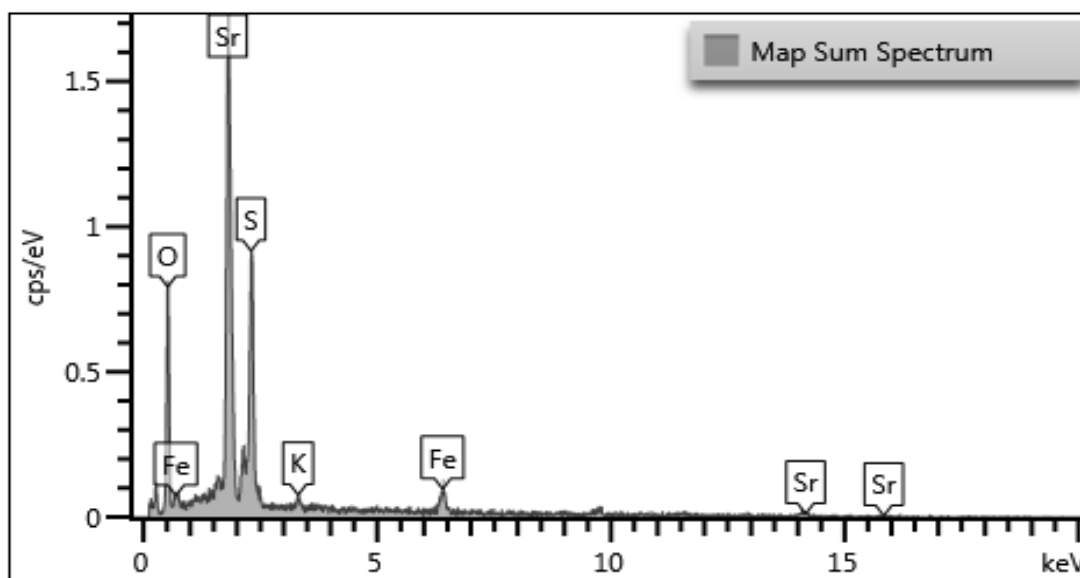


Figura 10 Espectro EDS del material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Espectro acumulado de la región analizada, con señales correspondientes a O, S, Sr, Fe y K. Los resultados son semicuantitativos y corresponden al área seleccionada.

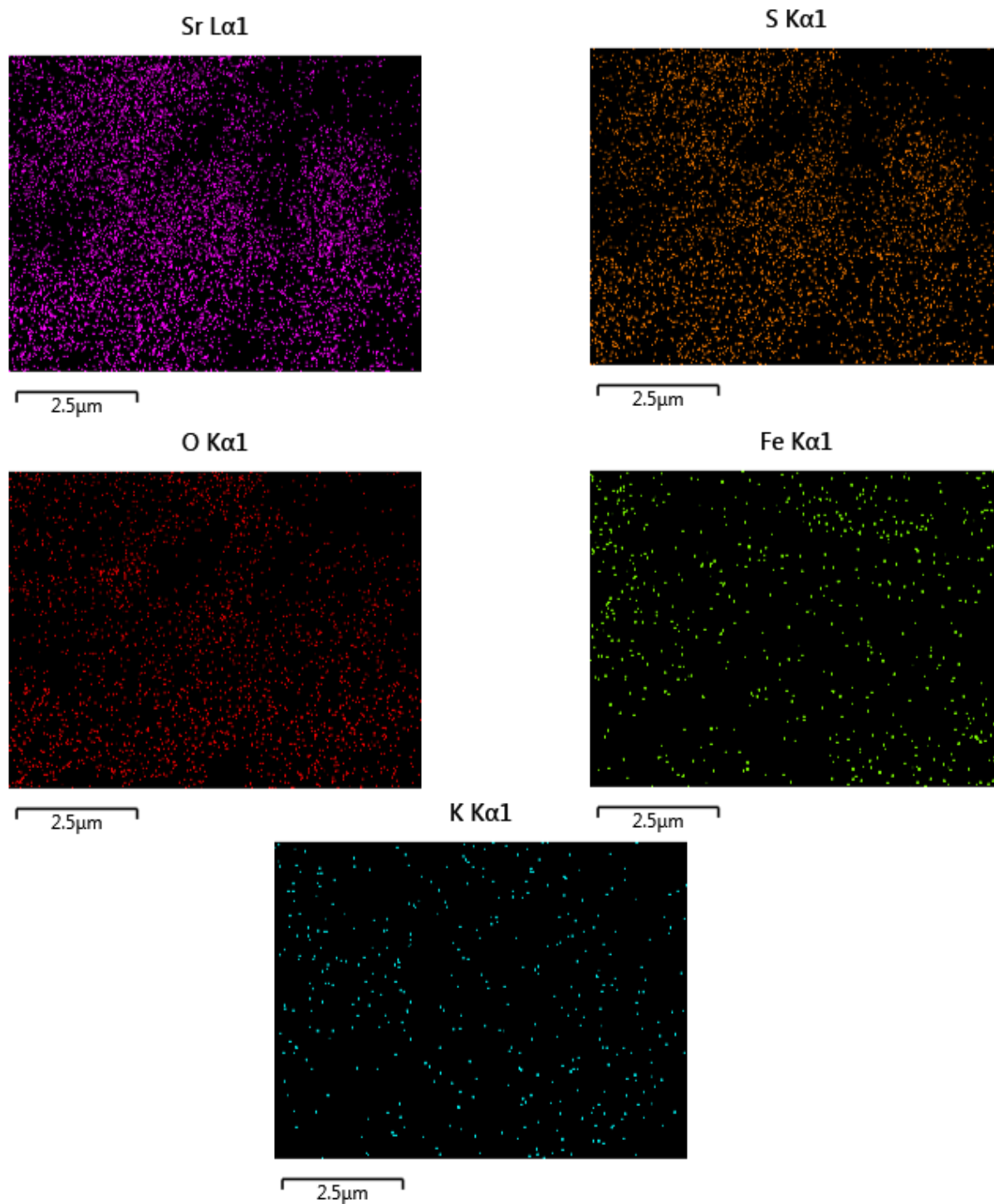


Figura 12 . Distribución elemental del material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Mapas EDS de Sr, S, O, K y Fe obtenidos en la misma región de la micrografía; cada color representa la señal del elemento indicado y las barras de escala corresponden a 2.5 μm.

La micrografía de microscopía electrónica de barrido (MEB) de la muestra sintetizada por mecano-síntesis de calcio (Figura 13) muestra una morfología heterogénea compuesta por partículas micrométricas densamente aglomeradas. Se distinguen cristales de mayor tamaño con hábito predominantemente tabular a prismático corto, con caras relativamente lisas y bordes bien definidos, sobre los cuales se encuentran adheridas partículas más finas de morfología irregular a subredondeada. Esta textura es consistente con los efectos del proceso mecanoquímico, en el que la molienda de alta energía favorece simultáneamente la fractura de partículas, la activación superficial y la aglomeración secundaria, generando una asociación íntima entre dominios de distinto tamaño y forma. En conjunto, la muestra presenta una microestructura polidispersa y compacta, sin una separación morfológica nítida entre las fases presentes.

El análisis EDS del espectro acumulado confirmó la presencia de O, S, K, Ca y Fe en la región analizada (Figura 14). Los valores cuantitativos obtenidos fueron 57.95 wt.% de O, 19.39 wt.% de S, 21.61 wt.% de Ca, 0.94 wt.% de Fe y 0.11 wt.% de K, lo que indica un predominio composicional de oxígeno, azufre y calcio, mientras que hierro y potasio aparecen en proporciones menores. Esta relación composicional sugiere que, en la zona evaluada, la contribución de la fase rica en calcio fue dominante, mientras que la señal asociada a la fase jarosítica fue comparativamente menor, de acuerdo con los bajos contenidos de Fe y K detectados.

De manera complementaria, el mapeo elemental (Figura 15) permitió corroborar la presencia espacial de O, S, K, Ca y Fe dentro de los agregados analizados, confirmando que la muestra obtenida por mecano-síntesis corresponde a un material

composicionalmente heterogéneo, en el que los elementos característicos de ambas contribuciones se encuentran íntimamente asociados a escala micrométrica. En conjunto, los resultados de MEB, EDS y mapeo elemental evidencian que la mecano-síntesis produjo un material aglomerado, heterogéneo y con mezcla estrecha entre las fases presentes.

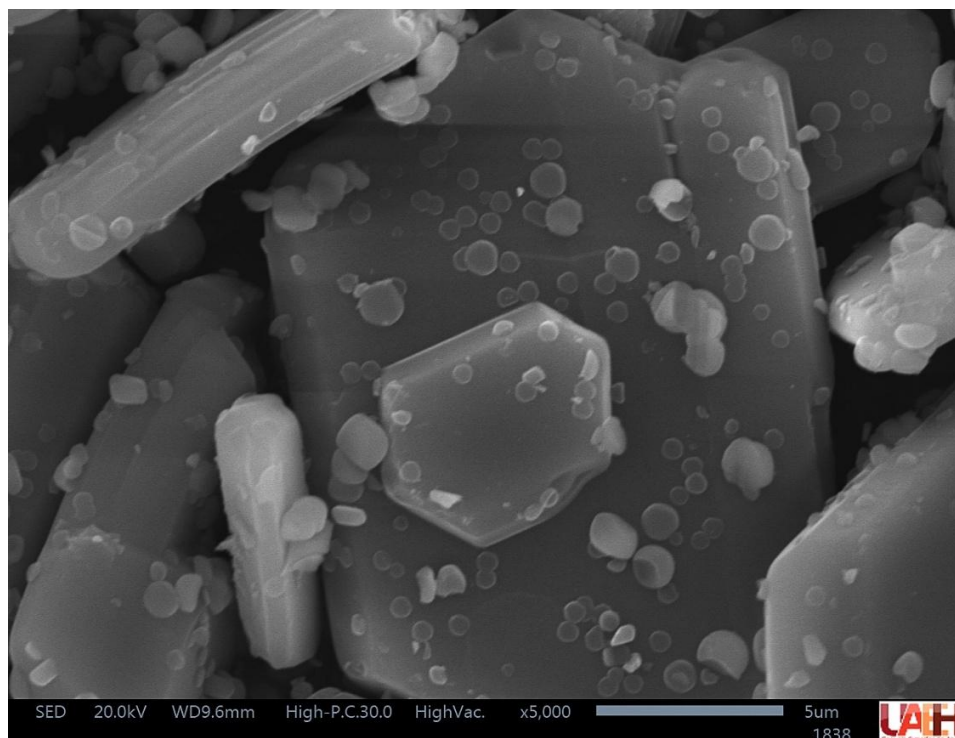


Figura 13 Morfología del material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido a 5000× y 20 kV, con partículas micrométricas aglomeradas y cristales tabulares o prismáticos recubiertos por partículas finas. Barra de escala = 5 µm.

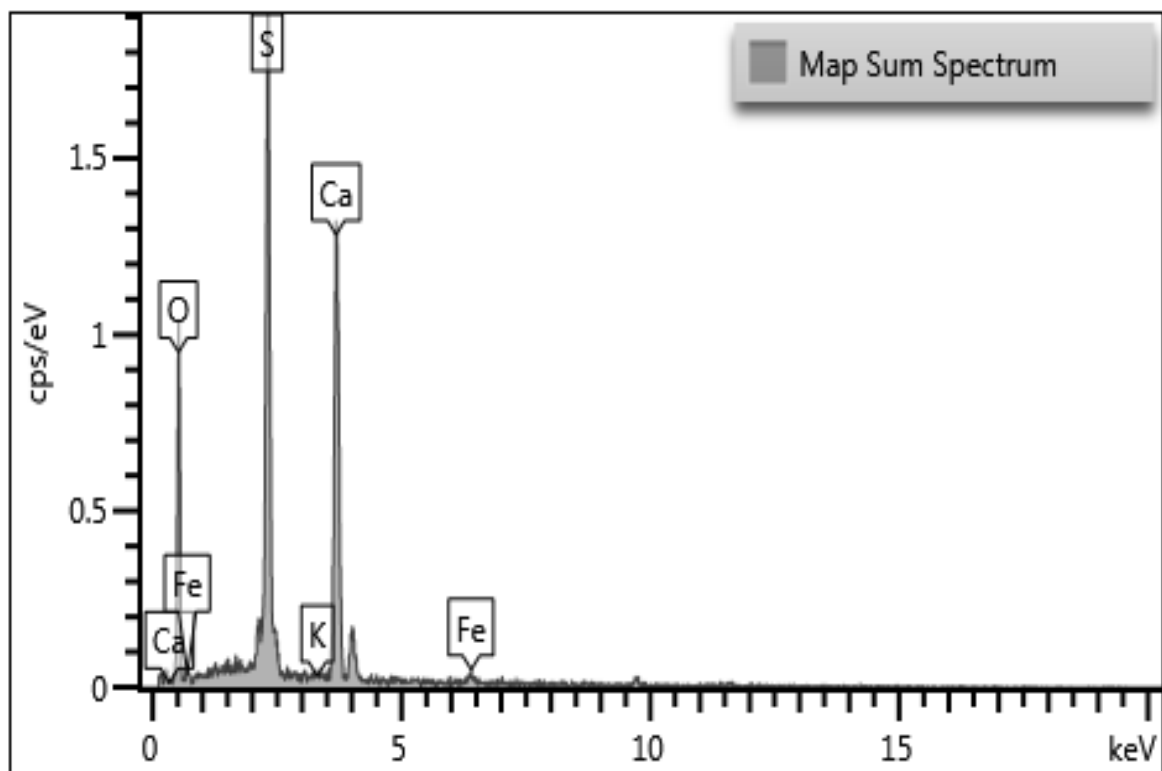


Figura 14 Espectro EDS del material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Espectro acumulado de la región analizada, con señales correspondientes a O, S, Ca, Fe y K. Los resultados son semicuantitativos y corresponden al área seleccionada.

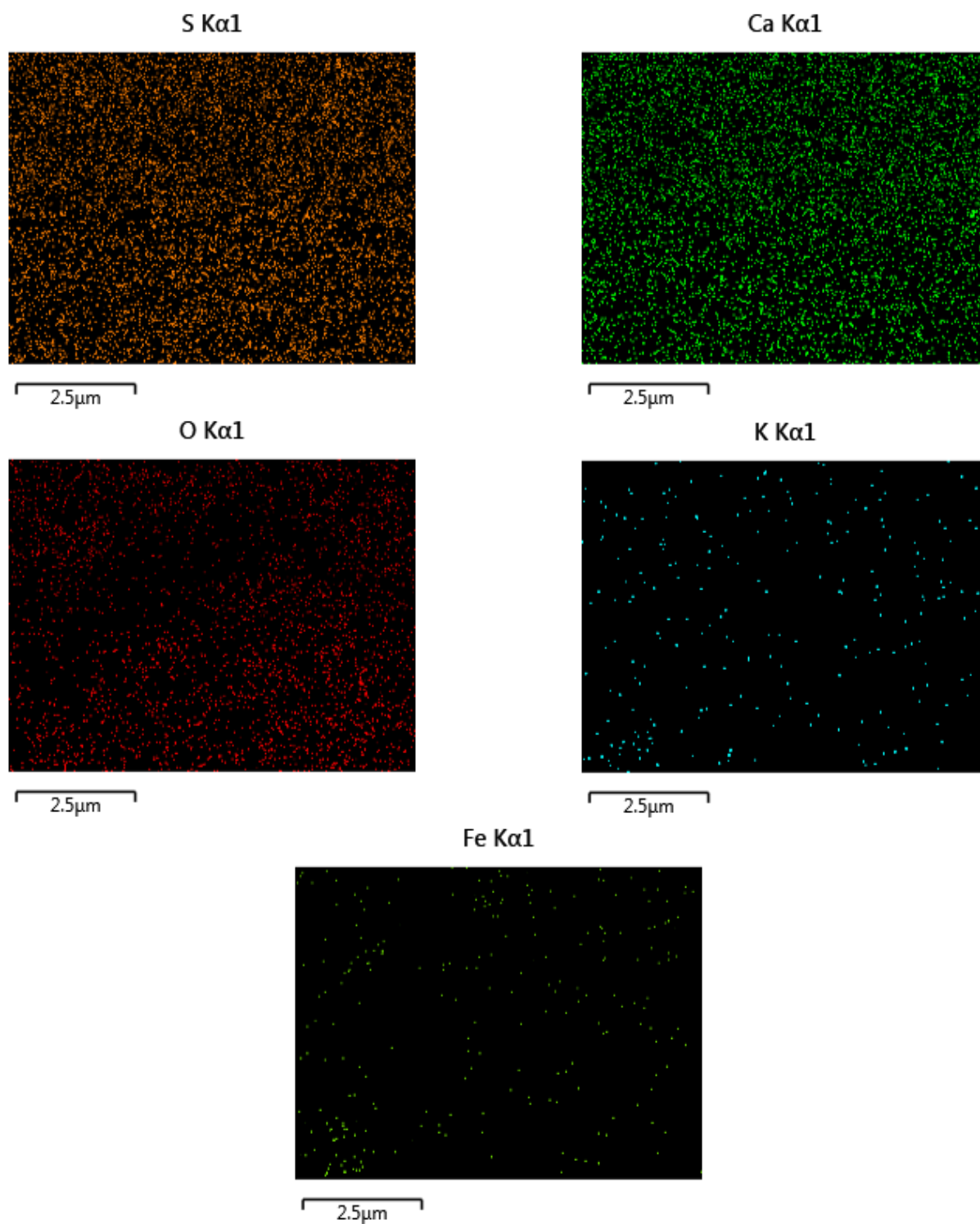


Figura 15 Distribución elemental del material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Mapas EDS de Ca, S, O, K y Fe obtenidos en la misma región de la micrografía; cada color representa la señal del elemento indicado y las barras de escala corresponden a 2.5 μm.

12.1.4. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier

La Figura 16 muestra los espectros FTIR de la jarosita, la muestra de jarosita–estroncio y la muestra de jarosita–calcio. En la jarosita se observa una banda ancha alrededor de 3382 cm^{-1} , atribuida al estiramiento de grupos O–H y/o agua asociada, así como una señal en 1621 cm^{-1} relacionada con la vibración de flexión del agua molecular. En la región de menor número de onda se distinguen bandas intensas en 1180, 1086, 1042 y 994 cm^{-1} , asociadas a vibraciones de estiramiento del grupo SO_4^{2-} , mientras que las señales en 628 y 559 cm^{-1} corresponden a modos de deformación del tetraedro sulfato. Este patrón vibracional es consistente con la firma espectroscópica reportada para minerales del grupo jarosita y con los modos fundamentales esperados para sulfatos, en los que las vibraciones más importantes se localizan en torno a $\sim 981\text{ cm}^{-1}$ (ν_1), $\sim 1104\text{ cm}^{-1}$ (ν_3) y $\sim 613\text{ cm}^{-1}$ (ν_4).

En la muestra de jarosita–estroncio se conserva la banda ancha cercana a 3382 cm^{-1} y la señal en 1621 cm^{-1} , lo que indica la persistencia de especies hidroxiladas y/o agua asociada. Además, se mantienen bandas en la región del sulfato alrededor de 1180, 1107, 1086 y 994 cm^{-1} , aunque con cambios en intensidad y definición respecto a la jarosita de referencia. Este comportamiento es coherente con la sensibilidad de las vibraciones del sulfato a cambios en el entorno estructural y con la respuesta espectral conocida de sulfatos de estroncio, cuyos modos principales también se concentran en la región $\sim 1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$.

Por su parte, la muestra de jarosita–calcio presenta bandas en 1107, 1086 y 739 cm^{-1} , conservando la contribución principal del sistema sulfatado, aunque con menor intensidad general y con un patrón ligeramente distinto al de la jarosita pura. En conjunto, los espectros evidencian que las muestras obtenidas por mecano-síntesis conservan la firma vibracional dominante de una fase sulfatada tipo jarosita, pero muestran variaciones en posición relativa, intensidad y definición de las bandas, lo que sugiere modificaciones locales en el entorno químico de los grupos sulfato e hidroxilo.

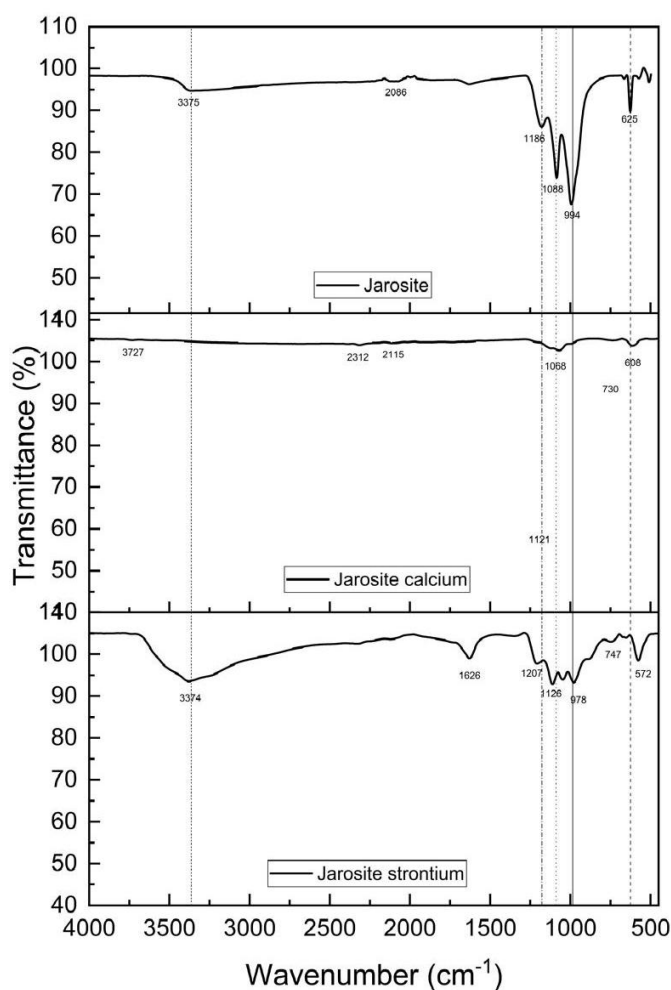


Figura 16 Espectros ATR-FTIR de la jarosita potásica y de los materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} . Espectros registrados entre 4000 y 400 cm^{-1} , con las

principales bandas señaladas. El eje horizontal corresponde al número de onda (cm^{-1}) y el vertical a la señal de transmitancia.

12.2. Ensayos biológicos

12.2.1. Ensayo Alamar Blue™

La viabilidad celular se midió a intervalos de 24, 48 y 72 horas, comparando los grupos experimentales con el grupo control (Figura 17 y 18). Los resultados muestran la viabilidad relativa de las células en cada tiempo de incubación, permitiendo evaluar el impacto de los materiales sobre la viabilidad celular.

A las 24 horas, las células expuestas al material jarosítico adicionado con calcio presentaron una viabilidad de $83.09 \pm 12.56 \%$, lo que fue menor que la del grupo control (100 %), aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Las células tratadas con soluciones sólidas adicionadas con estroncio mostraron una viabilidad similar al grupo control ($100.82 \pm 10.07 \%$).

A las 48 horas, ambos grupos experimentales exhibieron una ligera disminución en la viabilidad en comparación con el grupo control: adicionado con calcio ($90.17 \pm 9.87 \%$) y adicionado con estroncio ($98.03 \pm 3.02 \%$), pero nuevamente sin diferencias estadísticas significativas.

En la medición final a las 72 horas, los resultados fueron similares: adicionado con calcio ($96.05 \pm 9.93 \%$) y adicionado con estroncio ($94.86 \pm 9.52 \%$). En ningún momento, ni para los biomateriales evaluados, se observó una viabilidad celular inferior al 70 %, lo que indica que las soluciones sólidas de jarosita adicionadas con calcio y estroncio no presentan efectos citotóxicos.

Como complemento a los resultados obtenidos mediante *Alamar Blue*[™], se realizó el ensayo *LIVE/DEAD*[™] a las 24 horas de exposición. En las micrografías de fluorescencia (Figura 19) se observó un predominio de señal verde correspondiente a la calceína-AM tanto en las células expuestas al material jarosítico adicionado con calcio como en aquellas tratadas con el material adicionado con estroncio, lo que indica la presencia de células viables con integridad de membrana conservada y actividad enzimática funcional. Asimismo, no se observó una señal evidente de fluorescencia roja asociada al homodímero de etidio-1 (EthD-1), marcador de células con membrana comprometida. Estos resultados son consistentes con los valores de viabilidad obtenidos mediante *Alamar Blue*[™] a las 24 horas y aportan evidencia complementaria de que, bajo las condiciones evaluadas, ambos materiales no produjeron un efecto citotóxico evidente sobre las *DPSCs*.

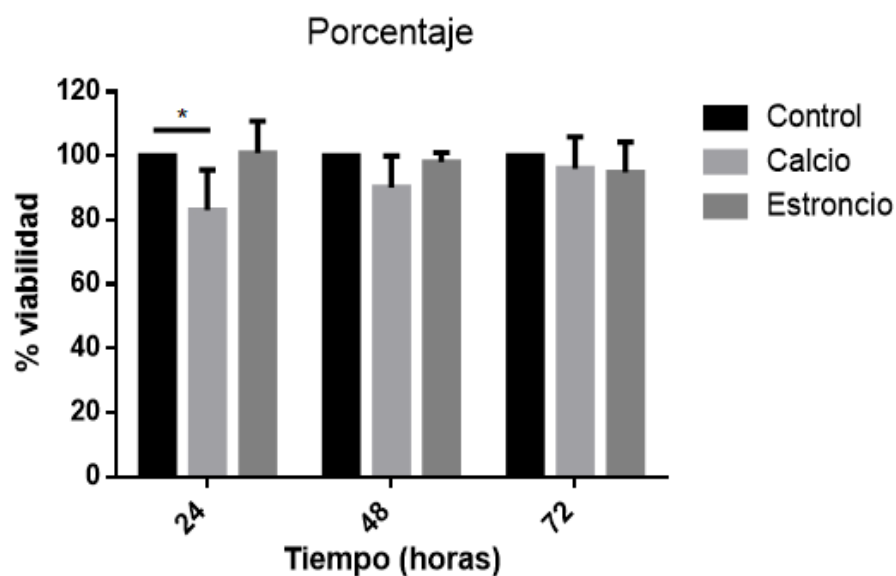


Figura 17 Ensayo de citotoxicidad mediante Alamar Blue. El gráfico muestra el porcentaje de viabilidad celular en presencia de las soluciones sólidas jarosíticas adicionadas con calcio y estroncio, evaluadas a las 24, 48 y 72 horas de cultivo, en comparación con el grupo control sin biomateriales. Los datos se analizaron mediante ANOVA (* $p < 0.05$).

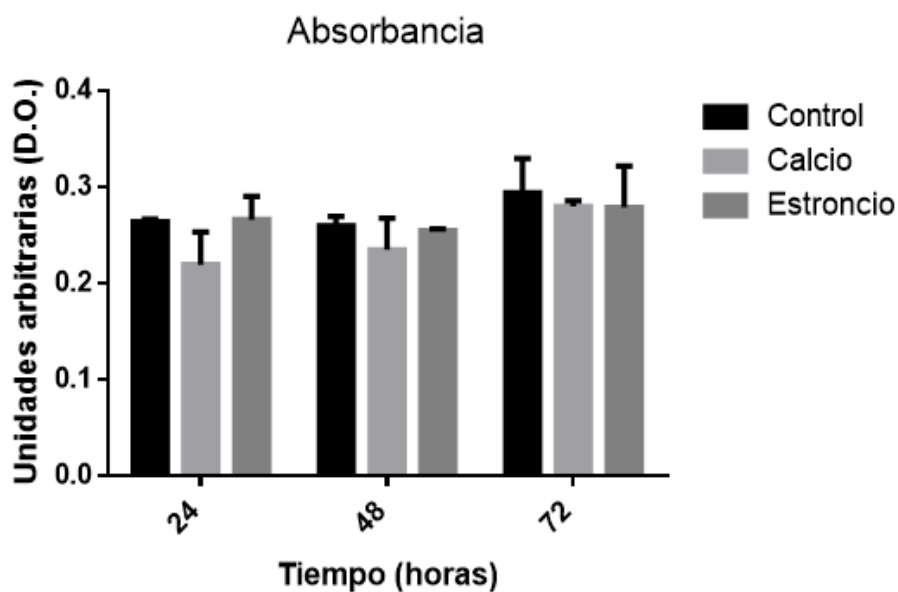


Figura 18 Ensayo de citotoxicidad mediante Alamar Blue. Análisis de citotoxicidad mediante absorbancia de las soluciones sólidas jarosíticas adicionadas con calcio y estroncio. Evaluadas con *DPSCs* a las 24, 48 y 72 horas de cultivo, en comparación con el grupo control sin biomateriales. Los datos se analizaron mediante ANOVA (ns).

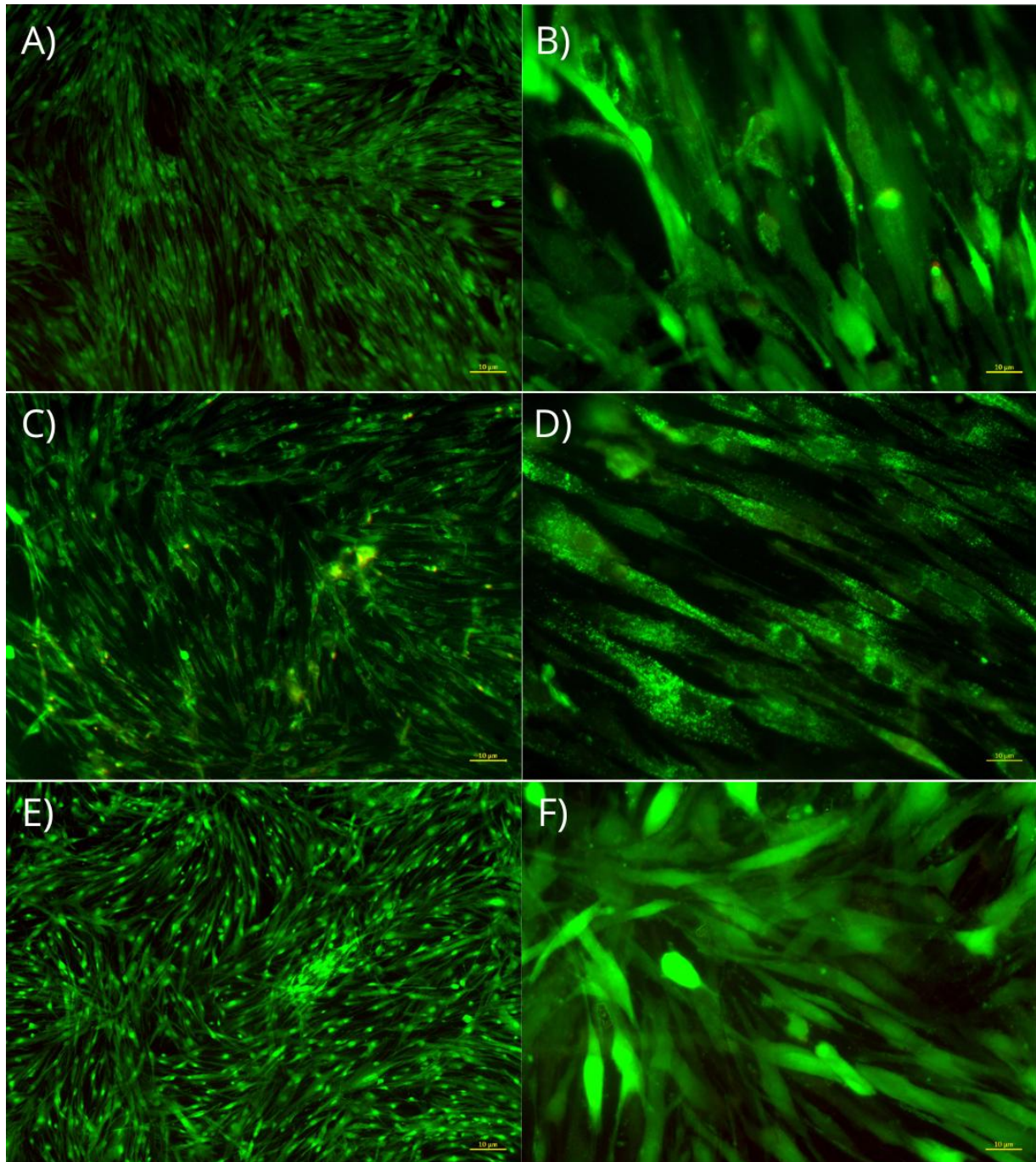


Figura 19 Evaluación de la viabilidad celular de DPSCs mediante el ensayo *LIVE/DEAD*[™] después de 24 h de exposición a los materiales jarosíticos. Micrografías representativas del control de células viables (A–B), células expuestas al material jarosítico adicionado con Ca^{2+} (C–D) y células expuestas al material jarosítico adicionado con Sr^{2+} (E–F). Las imágenes A, C y E fueron adquiridas con un objetivo de 10×, mientras que B, D y F corresponden a un objetivo de 40×. La fluorescencia verde asociada a calceína-AM indica células viables con integridad de membrana conservada, mientras que la fluorescencia roja correspondiente al homodímero de etidio-1 (EthD-1) se asocia con células con membrana comprometida. Barra de escala: 10 μm.

12.2.2. Organización del citoesqueleto e interacción célula-material

Mediante microscopía confocal se evaluó la morfología y la organización del citoesqueleto de las *DPSCs* después de 24 h de cultivo en el grupo control y de interacción con los materiales tipo jarosita adicionados con Ca^{2+} o Sr^{2+} . La tinción con faloidina-FITC permitió visualizar los filamentos de actina F, mientras que la tinción con DAPI permitió identificar los núcleos celulares.

En el grupo control (Figura 21), las *DPSCs* presentaron una distribución homogénea y una morfología predominantemente alargada de tipo fibroblástico. Los filamentos de actina F mostraron una organización definida, con fibras extendidas principalmente a lo largo del eje longitudinal de las células. Los núcleos presentaron morfología ovalada y distribución regular, sin alteraciones morfológicas evidentes.

En las células expuestas durante 24 h al material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} (Figura 22) se observó igualmente una morfología predominantemente alargada, con extensión del citoplasma y conservación de una red definida de filamentos de actina F. Las fibras se distribuyeron a lo largo del cuerpo celular y se observaron células extendidas en las regiones analizadas. Los núcleos conservaron una morfología predominantemente ovalada, aunque la distribución celular y de los filamentos presentó cierta heterogeneidad espacial respecto al grupo control.

Por su parte, las *DPSCs* expuestas al material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} (Figura 23) conservaron una morfología alargada de tipo fibroblástico y una red extensa de filamentos de actina F. Se observaron fibras orientadas en diferentes direcciones y células distribuidas a lo largo del campo analizado. Los núcleos se mantuvieron definidos

y predominantemente ovalados, sin evidencia morfológica clara de alteraciones generalizadas.

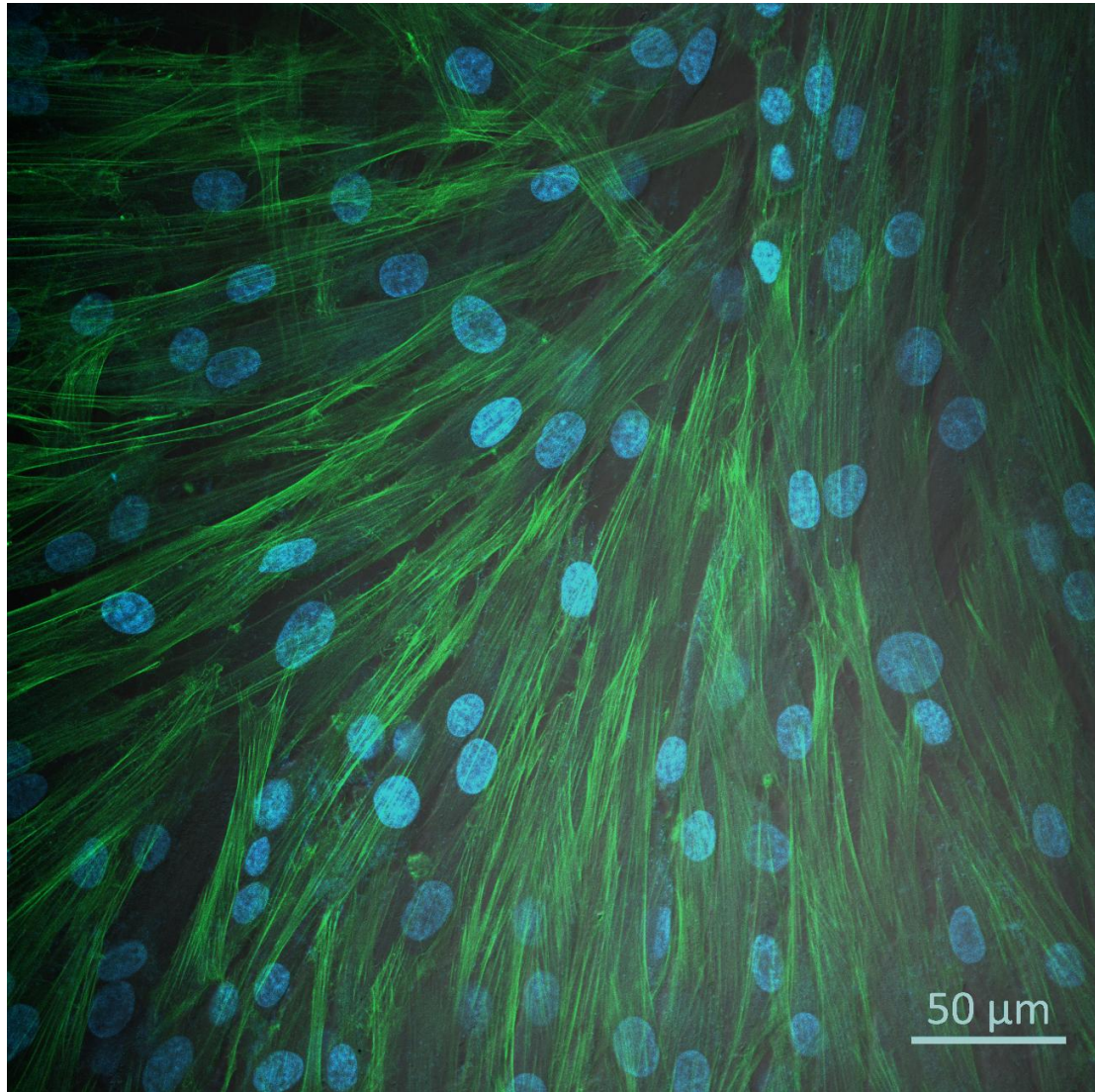


Figura 20 Organización del citoesqueleto de *DPSCs* en el grupo control. Imagen obtenida mediante microscopía confocal después de 24 h de cultivo sin exposición al material tipo jarosita. Los filamentos de actina F, teñidos con faloidina-FITC, se observan en verde, mientras que los núcleos celulares teñidos con DAPI se muestran en azul-cian. Las células presentan una morfología predominantemente alargada de tipo fibroblástico y una red de filamentos de actina distribuida a lo largo del cuerpo celular. Barra de escala = 50 μm.

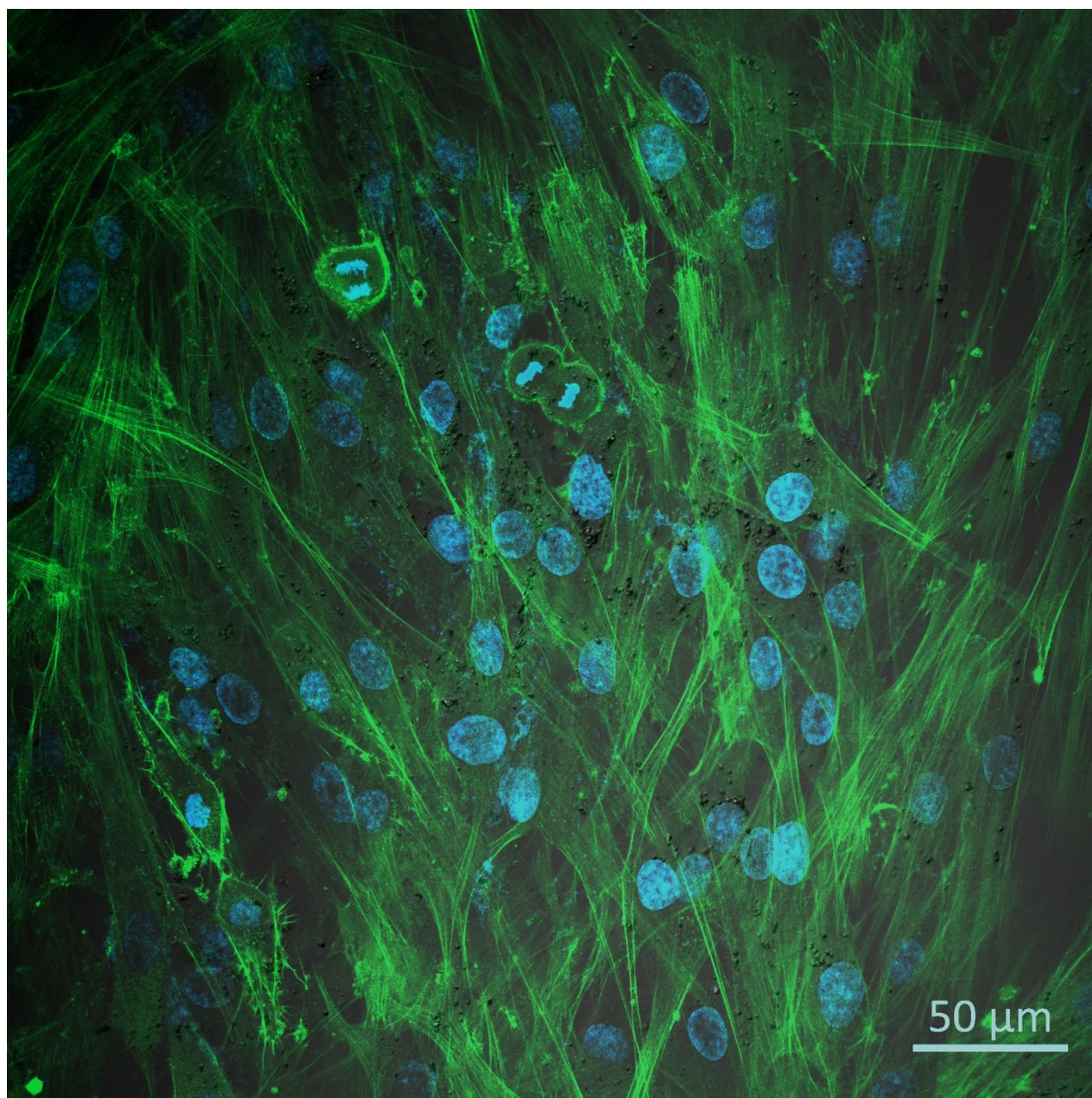


Figura 21 Organización del citoesqueleto de *DPSCs* después de 24 h de interacción con el material tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} . Imagen obtenida mediante microscopía confocal. Los filamentos de actina F, teñidos con faloidina-FITC, se observan en verde, mientras que los núcleos celulares teñidos con DAPI se muestran en azul-cian. Se observan células con morfología predominantemente alargada de tipo fibroblástico y filamentos de actina distribuidos a lo largo del citoplasma, también se observa la deposición del material en la región perinuclear. Barra de escala = 50 μm

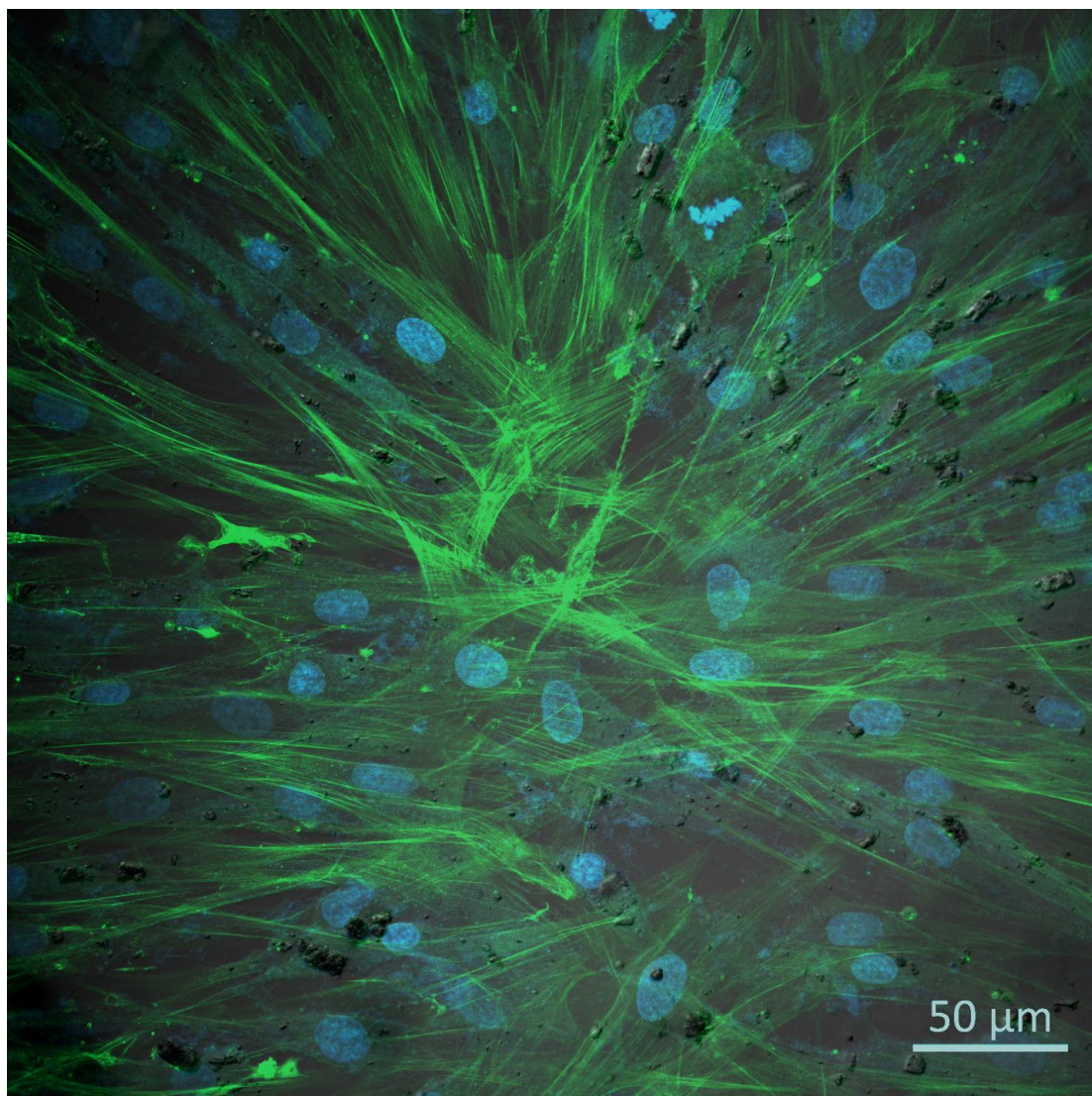
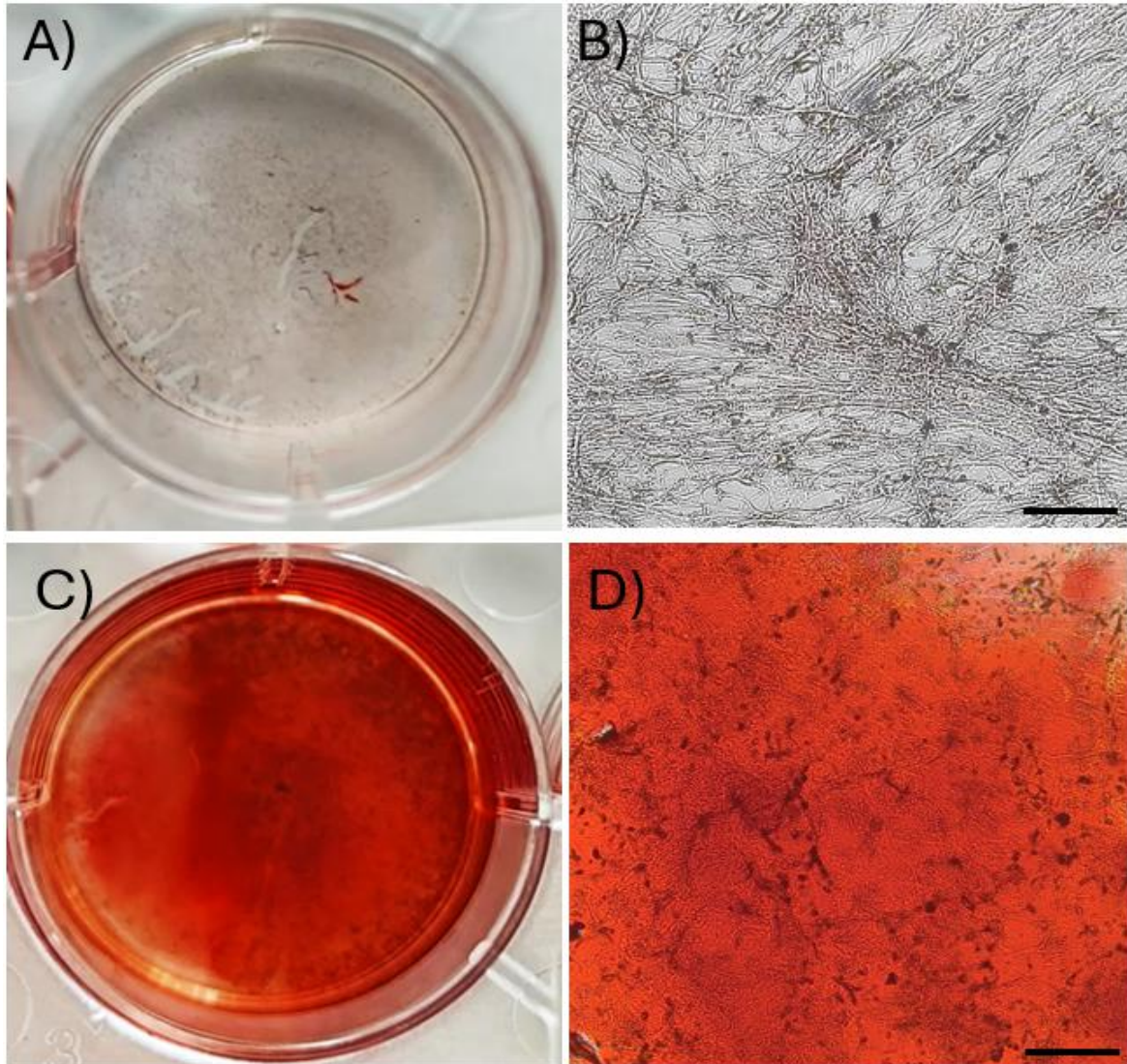


Figura 22 Organización del citoesqueleto de *DPSCs* después de 24 h de interacción con el material tipo jarosita adicionado con Sr^{2+} . Imagen obtenida mediante microscopía confocal. Los filamentos de actina F, teñidos con faloidina-FITC, se observan en verde, mientras que los núcleos celulares teñidos con DAPI se muestran en azul-cian. Las células presentan una morfología predominantemente alargada de tipo fibroblástico, con una red de filamentos de actina claramente observable en el citoplasma. Se observan partículas en interacción con las células. Barra de escala = 50 μm .

12.2.3. Diferenciación osteogénica



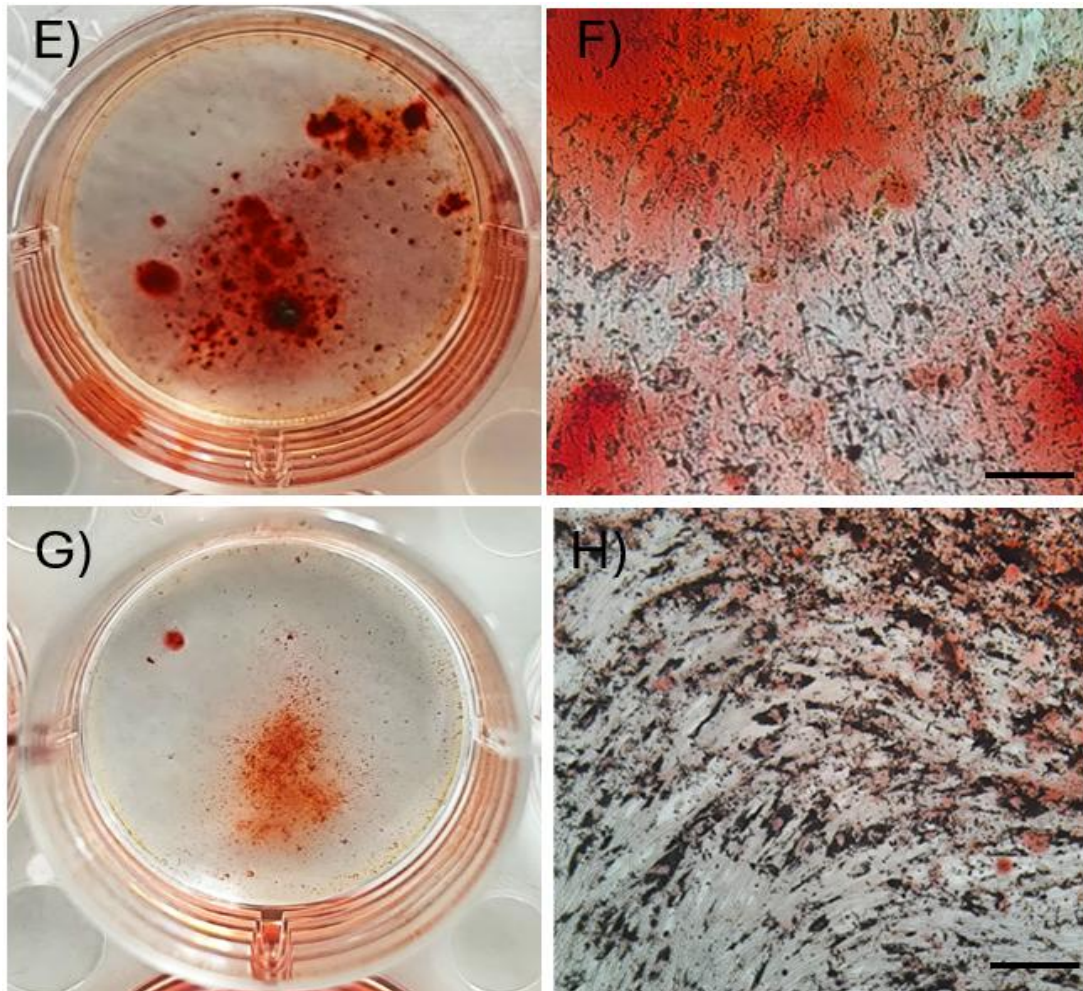


Figura 23 Análisis de la diferenciación osteogénica de *DPSCs* mediante tinción con Rojo de Alizarina S. A) Vista macroscópica y B) Vista microscópica (10x) del control negativo, compuesto por *DPSCs* cultivadas en medio DMEM, donde no se observa mineralización. C) Vista macroscópica y D) Vista microscópica (10x) del control positivo, con *DPSCs* cultivadas en medio de inducción osteogénica, mostrando una mineralización extensa y generalizada, E) Vista macroscópica y F) Vista microscópica (10x) del grupo experimental con calcio (Ca^{2+}), donde se aprecian nódulos de mineralización densos y bien definidos Y, G) Vista macroscópica y H) Vista microscópica (10x) del grupo experimental con estroncio, que también muestra evidencia de depósitos de calcio en la matriz.

13. Discusión

La presente investigación tuvo como objetivo sintetizar materiales tipo jarosita adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} mediante mecano-síntesis y evaluar su citotoxicidad y potencial osteogénico *in vitro* en células troncales de pulpa dental humana (DPSCs). Por ello, la discusión de los resultados debe entenderse desde una perspectiva integrada, en la que la síntesis, la estructura cristalina, la composición química, la morfología y la respuesta biológica no se analizan como elementos aislados, sino como variables interdependientes que determinan el posible desempeño del material en la ingeniería tisular ósea.

El principal objetivo consistió en sintetizar material jarosítico mediante mecano-síntesis empleando el método de reacción en estado sólido con mortero de cerámica. Los resultados de difracción de rayos X muestran patrones compatibles con el difractograma que exhiben picos estrechos de alta intensidad compatibles con estructuras tipo jarosita, lo que indica que la energía mecánica aplicada durante la molienda fue suficiente para inducir la formación de fases sulfatadas relacionadas con la familia $\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$. Este resultado es relevante ya que demuestra que la mecano-síntesis puede funcionar como una ruta alternativa a los métodos hidrotermales comúnmente empleados para la obtención de jarositas sintéticas, ya que la mecano-síntesis favorece la activación de los precursores sólidos mediante fenómenos simultáneos de fractura, deformación, generación de defectos, formación de nuevas superficies reactivas y la interacción entre partículas (Silveiro et al., 2020). Estos procesos pueden disminuir las barreras cinéticas de reacción y permitir la formación de fases cristalinas o parcialmente cristalinas bajo condiciones más simples, con menor uso

de solventes y sin tratamientos térmicos. Este comportamiento es consistente con lo reportado para procesos mecanoquímicos, en los cuales la energía mecánica puede inducir reacciones químicas en estado sólido y generar materiales con defectos estructurales, tamaños cristalinos reducidos (James et al., 2012; Reynes et al., 2024; Y. Zhang et al., 2024).

La síntesis del material fue exitosa en términos de obtención de materiales tipo jarosita, y los resultados indican que el sistema requiere de una optimización para alcanzar una homogeneidad estructural completa. La presencia de fases secundarias, la baja cristalinidad en algunas muestras y la heterogeneidad observada por SEM-EDS sugieren que la reacción mecanoquímica ocurrió de forma parcial o localizada. Esto puede atribuirse a la naturaleza manual del proceso, al corto tiempo de molienda, a la limitada energía transferida por el mortero cerámico y a la posible competencia entre nucleación de jarosita, persistencia de sulfatos precursores y formación de fases secundarias.

Respecto al objetivo específico relacionado con la adición de Ca^{2+} y Sr^{2+} al material tipo jarosita. Los resultados indican que ambos cationes modificaron de manera importante la organización estructural y composicional del material, aunque no necesariamente mediante una incorporación homogénea dentro de la red cristalina tipo jarosita.

En el caso del sistema adicionado con Sr^{2+} , la DRX evidenció la coexistencia de una fase tipo jarosita con el PDF 96-901-6966 con una fase secundaria atribuida a celestina (SrSO_4) con el PDF 96-900-4484. Este resultado sugiere que el estroncio no se incorporó completamente en el sitio estructural de la jarosita, sino que una fracción

importante permaneció como fase sulfatada rica en Sr^{2+} . La presencia de celestina puede explicarse por la baja solubilidad del SrSO_4 y por la estabilidad propia de esta fase bajo las condiciones de síntesis empleadas. En términos de cristalografía, las jarositas poseen una estructura que permite variaciones composicionales en el sitio A; sin embargo, no implica que todos los cationes se incorporen de forma completa o uniforme, especialmente cuando existen diferencias de radio iónico, carga efectiva, energía reticular y condiciones cinéticas limitadas (Basciano & Peterson, 2008; Cruells & Roca, 2022).

La muestra adicionada con Sr^{2+} presentó mayor cristalinidad y mayor tamaño de cristalito en Å (ángstrom) en comparación con el sistema con Ca^{2+} . Este comportamiento puede interpretarse como una mayor tendencia del sistema con estroncio a formar dominios cristalinos mejor definidos. Sin embargo, este aumento de cristalinidad no debe atribuirse exclusivamente a una sustitución estructural de Sr^{2+} en la jarosita, ya que la presencia de celestina también podría contribuir al incremento del orden cristalino observado por DRX. Por consiguiente, el Sr^{2+} favoreció la formación de un sistema heterogéneo con dominios cristalinos más ordenados, donde coexisten fases tipo jarosita y fases sulfatadas ricas en estroncio.

Por otro lado, la muestra adicionada con Ca^{2+} mostró un comportamiento asociado con bajo orden cristalino y cristalinidad prácticamente nula. Este resultado sugiere que la presencia de Ca^{2+} promovió mayor desorden estructural, posiblemente por la formación de fases pobremente cristalinas, defectos locales, microdeformaciones o dominios de orden de corto alcance.

El calcio es un ion de gran relevancia en biomateriales para regeneración ósea debido a su papel en la mineralización y en la homeostasis del tejido óseo; sin embargo, desde el punto de vista estructural, su presencia puede modificar de manera significativa la nucleación y el crecimiento cristalino de matrices inorgánicas, dependiendo de la composición del sistema y de las condiciones de síntesis (Min et al., 2024; Qi et al., 2018).

De esta manera se logró adicionar Ca^{2+} y Sr^{2+} al sistema, como lo confirman DRX y SEM-EDS; sin embargo, los resultados no permiten afirmar una incorporación homogénea de los cationes dentro de la red jarosítica. Esta interpretación se sustenta en la convergencia de los resultados de DRX, SEM-EDS y FTIR. La presencia de fases secundarias en los difractogramas, como celestina en el sistema con Sr^{2+} y señales asociadas con fases cálcicas en el sistema con Ca^{2+} , indica que los cationes adicionados no se incorporaron exclusivamente dentro de la red jarosítica. Además, los análisis EDS mostraron regiones enriquecidas en Sr o Ca, con proporciones bajas de Fe y K, lo que sugiere una distribución composicional heterogénea. De manera complementaria, los mapeos elementales evidencian que los elementos no se distribuyen de forma completamente uniforme, mientras que FTIR confirma la permanencia de grupos sulfato, pero con variaciones asociadas a cambios en el entorno químico local. En conjunto, estas evidencias permiten proponer que el material obtenido no corresponde a una solución sólida homogénea, sino a un sistema tipo jarosita con coexistencia de fases y dominios composicionales diferenciados.

La caracterización por DRX, FTIR y SEM-EDS permitió obtener información complementaria sobre las fases cristalinas, los grupos funcionales, la morfología y la distribución elemental de los materiales obtenidos.

La DRX confirmó que la muestra base conserva bandas características de jarosita potásica, mientras que las muestras adicionadas con Ca^{2+} y Sr^{2+} presentaron modificaciones en la posición e intensidad de los picos, así como aparición de fases secundarias. La banda principal localizada en la región de $2\theta \approx 30\text{--}33^\circ$ se asocia con planos característicos de la estructura general $\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$. Los desplazamientos observados en esta región pueden relacionarse con variaciones en el espaciamiento interplanar, microdeformaciones y cambios locales en la red cristalina (Dolabella et al., 2022; H. Zhang et al., 2018). Estos fenómenos son previsibles en materiales obtenidos por mecano-síntesis, ya que la energía mecánica puede inducir tensiones residuales, defectos, disminución del tamaño y alteraciones en el orden de largo alcance (James et al., 2012; Y. Zhang et al., 2024)

Además, el proceso de lavado posterior a la síntesis pudo contribuir a la hidratación superficial del material y a la eliminación parcial de especies solubles (Pérez Olvera et al., 2026). La jarosita es un sulfato básico hidratado, cuya estructura incluye grupos hidroxilo y puede interactuar con moléculas de agua en defectos, bordes de grano o zonas intergranulares. Por ello, la exposición a medios acuosos durante el ajuste de pH pudo generar cambios leves en el entorno químico local, afectando la posición de las bandas y la intensidad relativa de los picos.

La FTIR complementa esta interpretación, ya que los espectros conservaron bandas características de grupos sulfato, grupos hidroxilo y agua asociada. La presencia

de señales en la región de $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ confirma las vibraciones del grupo SO_4^{2-} , mientras que las bandas cercanas a 3380 cm^{-1} y 1620 cm^{-1} se relacionan con estiramientos O–H y flexión de agua molecular (Pérez Olvera et al., 2026). Las variaciones en intensidad, definición y posición de estas bandas indican que, aunque la identidad química sulfatada se conserva, el entorno local de los grupos funcionales fue modificado por la adición de Ca^{2+} o Sr^{2+} y por el proceso mecanoquímico.

La SEM mostró partículas micrométricas densamente aglomeradas, con contornos irregulares y distribución polidispersa. Esta morfología es coherente con un proceso de molienda donde coexisten fenómenos de fractura, deformación plástica, compactación y reaglomeración, características comúnmente observadas en materiales obtenidos mediante mecano-síntesis debido a la alta energía mecánica involucrada durante el procesamiento (James et al., 2012; Suryanarayana, 2001). En biomateriales particulados, la morfología, el tamaño de partícula y el grado de aglomeración son parámetros relevantes, ya que pueden modificar el área superficial disponible, la adsorción de proteínas, la interacción célula-material, la sedimentación de partículas en medios biológicos y la disponibilidad local de especies iónicas en el microambiente celular (Jones et al., 2006).

Los resultados de EDS y mapeo elemental muestran una distribución composicional heterogénea. En el sistema con Sr^{2+} predominan O, S y Sr, mientras que Fe y K aparecen en menor proporción; esto coincide con la presencia de una fase rica en Sr, probablemente celestina. En el sistema con Ca^{2+} predominan O, S y Ca, con bajos contenidos de Fe y K, lo que sugiere una contribución importante de fases cálcicas o dominios sulfatados ricos en calcio. Esta relación entre DRX y SEM–EDS es

fundamental: ambas técnicas coinciden en que los materiales no son fases únicas homogéneas, sino sistemas multifásicos o composicionalmente heterogéneos.

A partir de la integración de los resultados obtenidos mediante DRX, FTIR y SEM-EDS, se propuso una representación esquemática del sistema tipo jarosita adicionado con Ca^{2+} y Sr^{2+} (Figura 24). El modelo considera la presencia de una estructura cristalina principal tipo jarosita, constituida por unidades de hierro, sulfato e hidroxilo, así como la distribución de los elementos adicionados. Los resultados de caracterización sugieren que el Ca^{2+} y el Sr^{2+} no se incorporaron de manera completa y homogénea en los sitios cristalinos de la jarosita, distribuidos en dominios enriquecidos o formando fases secundarias. Por tanto, la representación propuesta constituye un modelo interpretativo sustentado en la evidencia experimental y no una determinación definitiva de la posición cristalográfica de estos iones.

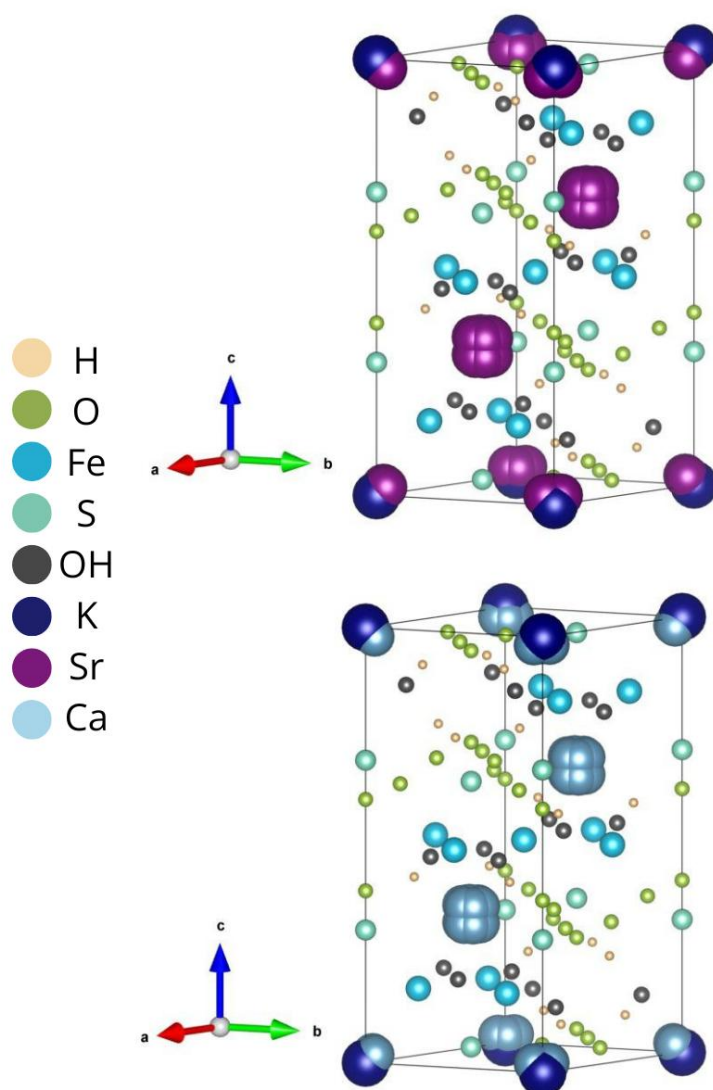


Figura 24 Representación esquemática tentativa de los sistemas tipo jarosita adicionados con Sr^{2+} y Ca^{2+} . El modelo superior corresponde al sistema adicionado con Sr^{2+} y el inferior al sistema adicionado con Ca^{2+} . Se muestra la celda cristalina de referencia y la distribución propuesta de K^+ , Sr^{2+} , Ca^{2+} , Fe, S, O, H y grupos OH^- , de acuerdo con la leyenda de colores. Elaboración propia con VESTA versión 3.90.5a

Para la evaluación de la viabilidad de *DPSCs* cultivadas en presencia del material jarosítico se realizó el ensayo colorimétrico de metabolismo mitocondrial. Los resultados mostraron que las muestras adicionadas con Ca^{2+} y Sr^{2+} mantuvieron valores de viabilidad celular superiores al 70 % durante los tiempos evaluados de 24, 48 y 72 h. De acuerdo con la norma ISO 10993-5, una reducción de viabilidad mayor al 30 % respecto al control puede considerarse indicativa de citotoxicidad *in vitro*; por tanto, los materiales evaluados pueden considerarse no citotóxicos bajo las condiciones experimentales empleadas (Gruber & Nickel, 2023)

Este resultado es especialmente relevante considerando la naturaleza química de las jarositas. Estos materiales suelen asociarse con condiciones ácidas de formación, por lo que el ajuste de pH previo a los ensayos celulares fue esencial. Las muestras inicialmente presentaron valores ácidos, pero fueron lavadas hasta alcanzar un pH cercano al fisiológico. Esta adecuación probablemente contribuyó de manera importante a la respuesta celular favorable, ya que un pH residual ácido podría afectar la actividad metabólica, la adhesión y la proliferación celular. Por ello, la ausencia de citotoxicidad no debe atribuirse únicamente a la composición del material, sino también al acondicionamiento químico posterior a la síntesis.

Las *DPSCs* son un modelo celular adecuado para evaluar materiales con potencial osteogénico, debido a su origen mesenquimal, alta capacidad proliferativa y potencial de diferenciación. Desde su descripción inicial, estas células han sido consideradas una fuente relevante para aplicaciones en medicina regenerativa, particularmente en contextos dentales y óseos (Bryniarska-Kubiak et al., 2024; Gronthos et al., 2000). Estudios recientes han reforzado su utilidad en ingeniería tisular, ya que

pueden responder a señales del microambiente, secretar matriz extracelular y participar en procesos de mineralización cuando se cultivan en condiciones adecuadas o en contacto con biomateriales bioactivos (Y. Liu, 2024; Namjoynik et al., 2023; X. Zhang et al., 2024).

En el sistema con Ca^{2+} , la viabilidad inicial a 24 h fue menor que la del control con una diferencia estadísticamente significativa (* $p < 0.05$), sin embargo, se recupera en los siguientes tiempos evaluados, 48 y 72 h (de $90.17 \pm 9.86 \%$ a $96.05 \pm 9.93 \%$) manteniéndose siempre por encima del 70% de viabilidad. Esta disminución moderada podría relacionarse con un proceso inicial de adaptación celular al contacto con partículas inorgánicas, a cambios locales en la concentración iónica o a la sedimentación de partículas sobre la monocapa celular, lo que sugiere que el material adicionado con Ca^{2+} no generó un efecto tóxico progresivo, sino una respuesta transitoria compatible con la adaptación celular (Figura 18).

En el sistema con Sr^{2+} , los valores de viabilidad se mantuvieron cercanos al control durante los tiempos evaluados. Esto sugiere que la presencia de dominios ricos en estroncio y la coexistencia con fases sulfatadas no generaron una alteración metabólica significativa en las DPSCs. La literatura ha reportado que el Sr^{2+} puede presentar efectos favorables en células relacionadas con el tejido óseo, siempre que su concentración se mantenga dentro de rangos adecuados, ya que su actividad biológica depende de la dosis, la forma química y la liberación desde la matriz del biomaterial (Alves Côrtes et al., 2024; Borciani et al., 2022; Silva et al., 2023).

Los resultados obtenidos mediante *LIVE/DEAD*[™] complementan la evaluación cuantitativa realizada con *Alamar Blue*[™], al proporcionar evidencia visual sobre la

integridad de la membrana celular después de 24 h de exposición a los materiales. En las muestras adicionadas con Ca^{2+} y Sr^{2+} se observó un predominio de fluorescencia verde asociada a calceína-AM, indicando una elevada presencia de células metabólicamente activas y con membranas celulares conservadas. Aunque se identificaron señales puntuales compatibles con EthD-1, estas fueron considerablemente menos frecuentes respecto a la señal correspondiente a células viables. Este comportamiento concuerda con los resultados obtenidos mediante *Alamar Blue*[™], donde la viabilidad a las 24 h fue de $83.09 \pm 12.56 \%$ para el sistema adicionado con Ca^{2+} y de $100.82 \pm 10.07 \%$ para el sistema con Sr^{2+} . En conjunto, ambos ensayos indican que los materiales no producen una disminución significativa de la viabilidad celular bajo las condiciones evaluadas, ya que *Alamar Blue*[™] demuestra el mantenimiento de la actividad metabólica, mientras que *LIVE/DEAD*[™] evidencia predominantemente la conservación de la integridad de la membrana celular.

La ausencia de citotoxicidad también puede relacionarse con la composición sulfatada y mineral del sistema. Diversos biomateriales cerámicos e inorgánicos han mostrado buena compatibilidad celular cuando presentan estabilidad química adecuada, ausencia de especies tóxicas solubles en concentraciones elevadas y pH compatible con el medio fisiológico (dos Santos et al., 2024; Vaiani et al., 2023). En este estudio los resultados de viabilidad sugieren que las especies liberadas durante los tiempos de exposición no perjudican a las *DPSCs*.

La respuesta biológica observada también puede relacionarse con la composición propia de la matriz tipo jarosita. Este material corresponde a un sulfato básico de hierro con grupos hidroxilo estructurales, por lo que su interacción con el medio celular puede

estar influenciada por la presencia de Fe, grupos sulfato, grupos hidroxilo, grado de hidratación, cristalinidad y características superficiales. En este sentido, el Fe puede considerarse un componente modulador dentro del sistema, ya que participa en procesos celulares asociados con metabolismo, proliferación y homeostasis tisular. Su efecto biológico depende de su concentración disponible, estado de oxidación y velocidad de liberación, debido a que una disponibilidad excesiva de especies de Fe podría favorecer procesos de estrés oxidativo o alterar la respuesta celular (Grigg et al., 2024; Savadkouhi Ghoudjanaki et al., 2025).

Asimismo, los grupos sulfato e hidroxilo identificados mediante FTIR pueden contribuir a la interacción entre el material y el medio de cultivo. Estos grupos funcionales forman parte de la química superficial del sistema y pueden favorecer la hidratación del material, la adsorción de moléculas presentes en el medio, la interacción con proteínas séricas y la nucleación de depósitos minerales. En biomateriales, la química superficial es un factor determinante para la adhesión celular inicial, ya que condiciona la adsorción de proteínas y la formación de una interfase material–célula. Por ello, la matriz sulfatada e hidroxilada de la jarosita podría participar indirectamente en la respuesta favorable observada, al modificar el microambiente de contacto entre las partículas y las *DPSCs* (Chaves Filho et al., 2022; Cruells & Roca, 2022).

Por otra parte, el K presente en la estructura debe interpretarse principalmente como un catión estructural de la jarosita, más que como el responsable directo del comportamiento biológico ya que el potasio es un ion fisiológico esencial. En conjunto, estos elementos permiten proponer que la respuesta celular no depende únicamente de los cationes adicionados, sino también de la matriz jarosítica, su carácter sulfatado e

hidroxilado, su estabilidad química, la heterogeneidad estructural y el acondicionamiento del pH antes de los ensayos biológicos.

Los resultados demuestran que tanto el sistema adicionado con Ca^{2+} como el sistema adicionado con Sr^{2+} mantuvieron viabilidad celular por encima del umbral de citotoxicidad. Esto respalda su consideración como materiales no citotóxicos en una etapa inicial de evaluación *in vitro*.

Respecto al objetivo específico que consistió en evaluar la diferenciación de las DPSCs sembradas con el material jarosítico hacia linaje osteogénico. Se empleó la tinción con Rojo de Alizarina S, técnica que permite identificar depósitos ricos en calcio asociados con procesos de mineralización extracelular. Los resultados mostraron depósitos mineralizados en los grupos experimentales tratados con materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} , con una mineralización más evidente en el sistema con calcio.

La presencia de depósitos teñidos con Rojo de Alizarina S sugiere que los materiales generaron un microambiente favorable para la mineralización de la matriz extracelular. En el caso del sistema con Ca^{2+} , este comportamiento puede relacionarse con el papel central del calcio en la formación de fases minerales asociadas al tejido óseo. El Ca^{2+} participa en la nucleación y crecimiento de depósitos minerales, además de intervenir en procesos de señalización celular relacionados con proliferación, diferenciación y mineralización. Por ello, la presencia de dominios ricos en calcio dentro del material pudo favorecer la formación de depósitos cálcicos durante el cultivo celular (Min et al., 2024; Qi et al., 2018; Wu, Cheng, et al., 2024).

La mineralización observada en el sistema con Sr^{2+} también es relevante. El estroncio ha recibido atención en el campo de los biomateriales para regeneración ósea debido a su similitud química con el calcio y a su capacidad para modular respuestas celulares asociadas con formación ósea. Se ha reportado que el Sr^{2+} puede estimular la actividad osteoblástica, favorecer la expresión de marcadores osteogénicos y contribuir al equilibrio entre formación y resorción ósea mediante efectos sobre osteoblastos y osteoclastos (Alves Côrtes et al., 2024; Borciani et al., 2022; Silva et al., 2023).

En general, los materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} podrían influir en la mineralización mediante diferentes vías. Una posibilidad es que la liberación local de iones desde dominios cálcicos o estróncicos modifique el microambiente del cultivo, favoreciendo la nucleación de depósitos minerales. Otra posibilidad es que la superficie del material, al presentar defectos, grupos sulfato, grupos hidroxilo y heterogeneidad composicional, actúe como sitio de nucleación para especies minerales. En biomateriales inorgánicos, la química superficial, la rugosidad, la energía superficial y la disponibilidad iónica son factores relevantes para la deposición mineral y la interacción con células osteogénicas (Dec et al., 2023; Lin et al., 2024; Vaiani et al., 2023).

La mayor mineralización observada en el sistema con Ca^{2+} podría relacionarse con su menor cristalinidad y mayor desorden estructural. Los materiales menos cristalinos o con mayor densidad de defectos pueden presentar mayor reactividad superficial y potencialmente mayor disponibilidad de especies iónicas.

En el sistema con Sr^{2+} , la mayor cristalinidad y la presencia de celestina podrían implicar una liberación iónica más lenta o limitada, debido a la estabilidad de SrSO_4 . Esto podría explicar por qué la mineralización fue observable pero menos intensa que en el

sistema con Ca^{2+} . Sin embargo, esta interpretación también requiere estudios complementarios.

De manera complementaria, se evaluó mediante microscopía confocal la morfología y organización del citoesqueleto de las DPSCs después de 24 h de interacción con los materiales tipo jarosita adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} . La tinción de los filamentos de actina F con faloidina-FITC mostró células con una morfología alargada de tipo fibroblástico, adecuada extensión citoplasmática y presencia de fibras de estrés distribuidas longitudinalmente a lo largo del cuerpo celular. Estas características indican que, durante el periodo analizado, las células conservaron una organización citoesquelética compatible con su adhesión y extensión sobre la superficie del cubreobjetos.

La superposición de las imágenes de fluorescencia con el campo claro permitió observar células distribuidas en regiones próximas a las partículas y aglomerados de los materiales. La presencia de células extendidas en estas zonas sugiere que los sistemas adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} no produjeron un efecto evidente de exclusión celular ni una alteración generalizada de la adhesión. Asimismo, no se observaron cambios morfológicos notorios, como retracción citoplasmática generalizada o desorganización severa de los filamentos de actina, que pudieran asociarse con una respuesta celular adversa aguda.

Por otra parte, la tinción nuclear con DAPI mostró núcleos definidos, sin evidencia morfológica clara de fragmentación o condensación intensa de la cromatina. En conjunto, la conservación de la morfología fibroblástica, la organización de la actina F y la integridad nuclear aparente concuerda con los porcentajes de viabilidad superiores al 70

% obtenidos para ambos materiales. Por tanto, el análisis confocal complementa los resultados del ensayo metabólico y respalda que las micropartículas tipo jarosita adicionadas con Ca^{2+} y Sr^{2+} no provocaron alteraciones celulares agudas evidentes bajo las condiciones y el periodo de exposición evaluados.

Los materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} favorecieron la presencia de depósitos mineralizados en cultivos de *DPSCs*, lo cual respalda su potencial como sistemas bioactivos para aplicaciones en ingeniería tisular ósea. Sin embargo, la confirmación de su capacidad osteoinductora requiere ensayos complementarios que permitan establecer mecanismos celulares y moleculares específicos.

La hipótesis planteó que la jarosita adicionada con Ca^{2+} y Sr^{2+} , obtenida mediante mecano síntesis, no presentaría efectos citotóxicos, mantendría la viabilidad de las *DPSCs* y potencializaría la diferenciación osteogénica *in vitro*. Con base en los resultados obtenidos, esta hipótesis puede aceptarse parcialmente.

La primera parte de la hipótesis se cumple, ya que los materiales evaluados no presentaron efectos citotóxicos bajo las condiciones experimentales empleadas. Los valores de viabilidad celular se mantuvieron por encima del 70 % en todos los tiempos evaluados, lo que permite considerar a los sistemas como no citotóxicos de acuerdo con el criterio de ISO 10993-5. Este resultado respalda la compatibilidad inicial de los materiales con *DPSCs* y confirma que el acondicionamiento del pH fue adecuado para evitar efectos metabólicos adversos.

La segunda parte de la hipótesis, relacionada con la diferenciación osteogénica, se cumple de manera parcial. La tinción con Rojo de Alizarina S mostró depósitos

mineralizados en los grupos tratados con materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} , lo que sugiere una respuesta favorable hacia la mineralización extracelular.

Además, los resultados permiten añadir una observación relevante: el efecto de Ca^{2+} y Sr^{2+} no fue equivalente. El Sr^{2+} favoreció un mayor orden cristalino, mientras que el Ca^{2+} se asoció con mayor desorden estructural y mineralización más evidente. Esto indica que la naturaleza del catión adicionado desempeña un papel central en la evolución fisicoquímica y biológica del sistema.

14. Conclusiones

La mecano-síntesis permitió obtener materiales tipo jarosita adicionados con calcio y estroncio mediante una ruta de reacción en estado sólido con mortero de cerámica. La presencia de reflexiones compatibles con fases jarosíticas en los patrones de DRX confirma que el método empleado fue viable para inducir la formación de sistemas sulfatados relacionados con la estructura $\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$. Sin embargo, la baja cristalinidad y la presencia de fases secundarias indican que la síntesis no produjo materiales completamente homogéneos, por lo que el proceso requiere optimización para mejorar el control estructural y composicional.

La adición de Ca^{2+} y Sr^{2+} modificó de manera diferenciada la estructura del sistema tipo jarosita. El material adicionado con Sr^{2+} presentó mayor cristalinidad y dominios cristalinos más definidos; no obstante, la identificación de celestina (SrSO_4) indica que una fracción del estroncio permaneció como fase sulfatada secundaria. En contraste, el material adicionado con Ca^{2+} mostró menor cristalinidad y mayor desorden

estructural, lo que sugiere la formación de fases pobremente cristalinas o dominios de orden corto.

Los resultados de DRX, SEM-EDS y FTIR evidencian que la incorporación de Ca^{2+} y Sr^{2+} no ocurrió de manera completamente homogénea dentro de la red jarosítica. En su lugar, los materiales obtenidos corresponden a sistemas heterogéneos tipo jarosita con coexistencia de fases y dominios composicionales ricos en calcio o estroncio. Esta interpretación se sustenta en la presencia de fases secundarias por DRX, la distribución elemental heterogénea observada por SEM-EDS y las variaciones en las bandas vibracionales de FTIR.

La caracterización por SEM mostró partículas micrométricas aglomeradas, con morfología irregular y distribución polidispersa. Esta microestructura es congruente con el proceso de mecanosíntesis, en el cual ocurren fenómenos simultáneos de fractura, activación superficial y aglomeración secundaria. La heterogeneidad morfológica y composicional observada puede influir en la interacción del material con el medio biológico, debido a la presencia de superficies reactivas y dominios de distinta composición.

Los espectros FTIR confirmaron la presencia de grupos funcionales característicos de sistemas sulfatados, principalmente bandas asociadas a SO_4^{2-} , grupos hidroxilo y agua asociada. La conservación de estas señales indica que los materiales mantienen una identidad química compatible con fases tipo jarosita; sin embargo, los cambios en intensidad y posición de algunas bandas sugieren modificaciones locales en el entorno químico de los grupos sulfato e hidroxilo.

Los ensayos de citotoxicidad mediante Alamar Blue demostraron que los materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} no presentaron efectos citotóxicos sobre *DPSCs* durante los tiempos evaluados. En todos los casos, la viabilidad celular se mantuvo por encima del 70 %, criterio utilizado para considerar un material como no citotóxico bajo condiciones *in vitro*.

La tinción con Rojo de Alizarina S evidenció la presencia de depósitos mineralizados en los grupos tratados con materiales adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} . El sistema con calcio presentó depósitos más densos y definidos, lo que sugiere una mayor relación con procesos de mineralización extracelular. El sistema con estroncio también mostró mineralización observable, lo que indica una respuesta biológica favorable.

La respuesta biológica observada parece estar relacionada con la combinación de composición iónica, grado de cristalinidad, heterogeneidad composicional, morfología aglomerada y acondicionamiento del pH. El sistema con Ca^{2+} , aunque presentó mayor desorden estructural, mostró mineralización más evidente, posiblemente asociada con una mayor reactividad superficial o disponibilidad local de especies cálcicas. Por su parte, el sistema con Sr^{2+} presentó mayor orden cristalino y mantuvo una respuesta celular favorable.

El análisis mediante microscopía confocal mostró que las *DPSCs* conservaron su morfología fibroblástica, una adecuada extensión citoplasmática, fibras de actina F organizadas y núcleos sin alteraciones morfológicas evidentes después de 24 h de interacción con las micropartículas tipo jarosita adicionadas con Ca^{2+} o Sr^{2+} . Estos hallazgos complementan los resultados de viabilidad celular y respaldan que, en las

condiciones evaluadas, los materiales no produjeron alteraciones celulares agudas evidentes.

En general, fue posible sintetizar y caracterizar materiales tipo jarosita adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} mediante mecano-síntesis, así como demostrar su ausencia de citotoxicidad y su potencial inicial para favorecer procesos de mineralización *in vitro*.

15. Trabajo a futuro

Como trabajo a futuro, se propone optimizar el proceso de mecano-síntesis de los sistemas tipo jarosita adicionados con Ca^{2+} y Sr^{2+} mediante el ajuste de variables como la proporción de reactivos, el porcentaje de adición de cada ion, el tiempo de molienda, la cantidad de líquido empleada y las condiciones de lavado y secado. Esta optimización permitiría mejorar la reproducibilidad, la homogeneidad química y el control de las fases formadas.

Asimismo, será necesario ampliar la caracterización fisicoquímica mediante la determinación del área superficial específica por BET y del potencial zeta. El área superficial permitirá conocer la superficie disponible para la interacción con el medio biológico y su posible influencia en la disolución y liberación iónica. Por su parte, el potencial zeta permitirá evaluar la carga superficial, la estabilidad de las suspensiones y la tendencia de las partículas a aglomerarse.

También se propone cuantificar mediante ICP-OES la cantidad de Ca^{2+} y Sr^{2+} presente en los materiales, así como su liberación en medios fisiológicos o de cultivo durante diferentes periodos. En el sistema cálcico, deberá analizarse si su baja cristalinidad favorece una mayor interacción con el medio, la liberación de Ca^{2+} y la

formación de depósitos minerales. En el sistema adicionado con Sr^{2+} , será fundamental determinar la concentración liberada, debido a que su respuesta biológica depende de la dosis disponible y del tiempo de exposición celular.

En la evaluación biológica, será conveniente estudiar diferentes concentraciones de material y ampliar el análisis de la diferenciación osteogénica mediante la expresión de marcadores como RUNX2, fosfatasa alcalina, osteopontina y osteocalcina. Esto permitirá confirmar de manera más precisa el efecto de los materiales sobre las distintas etapas del proceso osteogénico.

Posteriormente, se propone incorporar las partículas en un andamio tridimensional biocompatible con porosidad, interconectividad y propiedades mecánicas adecuadas para la regeneración ósea. Finalmente, una vez optimizadas sus propiedades fisicoquímicas y comprobada su respuesta *in vitro*, será necesario realizar estudios *in vivo* para evaluar la biocompatibilidad, la respuesta inflamatoria, la integración con el tejido y la formación de nuevo tejido óseo.

16. Referencias

- Al-Ithawi, W. K. A., Aluru, R., Baklykov, A. V., Khasanov, A. F., Kovalev, I. S., Nikonov, I. L., Kopchuk, D. S., Novikov, A. S., Santra, S., Zyryanov, G. V., & Ranu, B. C. (2023). Mechano-synthesis of Polyureas and Studies of Their Responses to Anions. *Polymers*, 15(20), 4160. <https://doi.org/10.3390/polym15204160>
- Alonzo, M., Alvarez Primo, F., Anil Kumar, S., Mudloff, J. A., Dominguez, E., Fregoso, G., Ortiz, N., Weiss, W. M., & Joddar, B. (2021). Bone tissue engineering techniques,

advances, and scaffolds for treatment of bone defects. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 17, 100248. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2020.100248>

Alves Côrtes, J., Dornelas, J., Duarte, F., Messoria, M. R., Mourão, C. F., & Alves, G. (2024). The Effects of the Addition of Strontium on the Biological Response to Calcium Phosphate Biomaterials: A Systematic Review. *Applied Sciences*, 14(17), 7566. <https://doi.org/10.3390/app14177566>

Arfelis, S., Martín-Perales, A. I., Nguyen, R., Pérez, A., Cherubin, I., Len, C., Malpartida, I., Bala, A., & Fullana-i-Palmer, P. (2024). Linking mechanochemistry with the green chemistry principles: Review article. *Heliyon*, 10(14). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34655>

Baccolo, G., Delmonte, B., Niles, P. B., Cibir, G., Di Stefano, E., Hampai, D., Keller, L., Maggi, V., Marcelli, A., Michalski, J., Snead, C., & Frezzotti, M. (2021). Jarosite formation in deep Antarctic ice provides a window into acidic, water-limited weathering on Mars. *Nature Communications*, 12(1), 436. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20705-z>

Baggio, A. M. P., Sillmann, Y. M., Eber, P., Michallek, F. R. S., Monteiro, J. L. G. C., Bassi, A. P. F., & Guastaldi, F. P. S. (2025). How Does Ceramic-Based Scaffold Microarchitecture Impact Maxillofacial Bone Regeneration? A Systematic Review of Large Animal Models. *Applied Sciences*, 15(12), 6899. <https://doi.org/10.3390/app15126899>

Bai, L., Song, P., & Su, J. (2023). Bioactive elements manipulate bone regeneration. *Biomaterials Translational*, 4(4), 248–269. <https://doi.org/10.12336/biomatertransl.2023.04.005>

- Baláž, M., Bedlovičová, Z., Daneu, N., Siksa, P., Sokoli, L., Tkáčiková, Ľ., Salayová, A., Džunda, R., Kováčová, M., Bureš, R., & Bujňáková, Z. L. (2021). Mechanochemistry as an Alternative Method of Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antibacterial Activity: A Comparative Study. *Nanomaterials*, 11(5), 1139. <https://doi.org/10.3390/nano11051139>
- Ball, J. R., Shelby, T., Hernandez, F., Mayfield, C. K., & Lieberman, J. R. (2023). Delivery of Growth Factors to Enhance Bone Repair. *Bioengineering*, 10(11), 1252. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10111252>
- Basciano, L. C., & Peterson, R. C. (2008). Crystal chemistry of the natrojarosite-jarosite and natrojarosite-hydronium jarosite solid-solution series: A synthetic study with full Fe site occupancy. *American Mineralogist*, 93(5–6), 853–862. <https://doi.org/10.2138/am.2008.2731>
- Borciani, G., Ciapetti, G., Vitale-Brovarone, C., & Baldini, N. (2022). Strontium Functionalization of Biomaterials for Bone Tissue Engineering Purposes: A Biological Point of View. *Materials*, 15(5), 1724. <https://doi.org/10.3390/ma15051724>
- Bryniarska-Kubiak, N., Basta-Kaim, A., & Kubiak, A. (2024). Mechanobiology of Dental Pulp Cells. *Cells*, 13(5), 375. <https://doi.org/10.3390/cells13050375>
- Chaves Filho, G. P., Lima, M. E. G. B., Rocha, H. A. de O., & Moreira, S. M. G. (2022). Role of sulfated polysaccharides from seaweeds in bone regeneration: A systematic review. *Carbohydrate Polymers*, 284, 119204. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119204>
- Chen, Q., Zhu, C., & Thouas, G. (2012). Progress and challenges in biomaterials used for bone tissue engineering: Bioactive glasses and elastomeric composites. *Progress in Biomaterials*, 1. <https://doi.org/10.1186/2194-0517-1-2>

- Cruells, M., & Roca, A. (2022). Jarosites: Formation, Structure, Reactivity and Environmental. *Metals*, 12(5), 802. <https://doi.org/10.3390/met12050802>
- Cuccu, F., Luca, L. D., Delogu, F., Colacino, E., Solin, N., Mocci, R., & Porcheddu, A. (2022). *Mechanochemistry: New Tools to Navigate the Uncharted Territory of “Impossible” Reactions*. <https://doi.org/10.1002/cssc.202200362>
- Dec, P., Modrzejewski, A., & Pawlik, A. (2023). Existing and Novel Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 529. <https://doi.org/10.3390/ijms24010529>
- Delpierre, A., Savard, G., Renaud, M., & Rochefort, G. Y. (2023). Tissue Engineering Strategies Applied in Bone Regeneration and Bone Repair. *Bioengineering*, 10(6), 644. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10060644>
- Dimitriou, R., Jones, E., McGonagle, D., & Giannoudis, P. V. (2011). Bone regeneration: Current concepts and future directions. *BMC Medicine*, 9, 66. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>
- Dolabella, S., Borzì, A., Dommann, A., & Neels, A. (2022). Lattice Strain and Defects Analysis in Nanostructured Semiconductor Materials and Devices by High-Resolution X-Ray Diffraction: Theoretical and Practical Aspects. *Small Methods*, 6(2), 2100932. <https://doi.org/10.1002/smtd.202100932>
- dos Santos, V. I., Chevalier, J., Fredel, M. C., Henriques, B., & Gremillard, L. (2024). Ceramics and ceramic composites for biomedical engineering applications via Direct Ink Writing: Overall scenario, advances in the improvement of mechanical and biological properties and innovations. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 161, 100841. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2024.100841>

- Dubadi, R., Huang, S. D., & Jaroniec, M. (2023). Mechanochemical Synthesis of Nanoparticles for Potential Antimicrobial Applications. *Materials*, 16(4), 1460.
<https://doi.org/10.3390/ma16041460>
- Fang, Y., Huang, S., Gong, X., King, J. A., Wang, Y., Zhang, J., Yang, X., Wang, Q., Zhang, Y., Zhai, G., & Ye, L. (2023). Salt sensitive purely zwitterionic physical hydrogel for prevention of postoperative tissue adhesion. *Acta Biomaterialia*, 158, 239–251.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.12.045>
- Ferraz, M. P. (2024). An Overview on the Big Players in Bone Tissue Engineering: Biomaterials, Scaffolds and Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 3836. <https://doi.org/10.3390/ijms25073836>
- Gandhi, Y. (2025). Biomaterials for Guided Bone Regeneration: Science and Rationale. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 24(4), 877–885.
<https://doi.org/10.1007/s12663-025-02668-0>
- Grigg, A. R. C., Notini, L., Kaegi, R., ThomasArrigo, L. K., & Kretzschmar, R. (2024). Structural Effects of Aluminum and Iron Occupancy in Minerals of the Jarosite-Alunite Solid Solution. *ACS Earth and Space Chemistry*, 8(2), 194–206.
<https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.3c00174>
- Gronthos, S., Mankani, M., Brahimi, J., Robey, P. G., & Shi, S. (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(25), 13625–13630. <https://doi.org/10.1073/pnas.240309797>
- Gruber, S., & Nickel, A. (2023). Toxic or not toxic? The specifications of the standard ISO 10993-5 are not explicit enough to yield comparable results in the cytotoxicity

assessment of an identical medical device. *Frontiers in Medical Technology*, 5.

<https://doi.org/10.3389/fmedt.2023.1195529>

Hamzaoui, R., Bouchenafa, O., Idir, R., Djerbi, A., Fen-Chong, T., Florence, C., & Boutin, F. (2024). Development of Sustainable Construction Materials from Inert Waste Mixtures Using the Mechanosynthesis Process. *Materials*, 17(17), 4301.

<https://doi.org/10.3390/ma17174301>

Handa, S., Nath, D., Pal, A., & Sah, M. K. (2024). Biomimetic hydroxyapatite and strontium-doped derivatives from crab shells and their ingenious scaffold fabrication for bone tissue engineering. *Materials Today Communications*, 38, 108072.

<https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2024.108072>

Hernández-Lazcano, E., Cerecedo-Sáenz, E., Hernández-Ávila, J., Toro, N., Karthik, T. V. K., Mendoza-Anaya, D., Fernández-García, M. E., Rodríguez-Lugo, V., & Salinas-Rodríguez, E. (2021). Synthesis of Hydronium-Potassium Jarosites: The Effect of pH and Aging Time on Their Structural, Morphological, and Electrical Properties. *Minerals*, 11(1), 80. <https://doi.org/10.3390/min11010080>

Hu, M., & Fan, Z. (2025). Role and mechanisms of histone methylation in osteogenic/odontogenic differentiation of dental mesenchymal stem cells. *International Journal of Oral Science*, 17(1), 24. <https://doi.org/10.1038/s41368-025-00353-z>

Huang, D., Li, Z., Li, G., Zhou, F., Wang, G., Ren, X., & Su, J. (2025). Biomimetic structural design in 3D-printed scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Today Bio*, 32, 101664. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.101664>

Huang, Z., Wan, Y., Zhu, X., Zhang, P., Yang, Z., Yao, F., & Luo, H. (2021). Simultaneous engineering of nanofillers and patterned surface macropores of

- graphene/hydroxyapatite/polyetheretherketone ternary composites for potential bone implants. *Materials Science and Engineering: C*, 123, 111967.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111967>
- ISO 10993-5:2009. (2009). ISO. <https://www.iso.org/standard/36406.html>
- James, S. L., Adams, C. J., Bolm, C., Braga, D., Collier, P., Frišćić, T., Grepioni, F., Harris, K. D. M., Hyett, G., Jones, W., Krebs, A., Mack, J., Maini, L., Orpen, A. G., Parkin, I. P., Shearouse, W. C., Steed, J. W., & Waddell, D. C. (2012). Mechanochemistry: Opportunities for new and cleaner synthesis. *Chemical Society Reviews*, 41(1), 413–447. <https://doi.org/10.1039/c1cs15171a>
- Jones, E. J. P., Nadeau, T.-L., Voytek, M. A., & Landa, E. R. (2006). Role of microbial iron reduction in the dissolution of iron hydroxysulfate minerals. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 111(G1). <https://doi.org/10.1029/2005JG000089>
- Kumar Singh, V., Manna, S., Kumar Biswas, J., & Pugazhendhi, A. (2023). Recovery of residual metals from jarosite waste using chemical and biochemical processes to achieve sustainability: A state-of-the-art review. *Journal of Environmental Management*, 343, 118221. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118221>
- Lin, S., Zhuang, Y., Chen, K., Lu, J., Wang, K., Han, L., Li, M., Li, X., Zhu, X., Yang, M., Yin, G., Lin, J., & Zhang, X. (2024). Osteoinductive biomaterials: Machine learning for prediction and interpretation. *Acta Biomaterialia*, 187, 422–433.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2024.08.017>
- Liu, L., Hou, S., Xu, G., Gao, J., Mu, J., Gao, M., He, J., Su, X., Yang, Z., Liu, Y., Chen, T., Dong, Z., Cheng, L., & Shi, Z. (2024). Evaluation of osteogenic properties of a novel

- injectable bone-repair material containing strontium in vitro and in vivo. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1390337>
- Liu, Y. (2024). Application of dental pulp stem cells for bone regeneration. *Frontiers in Medicine*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1339573>
- Mehta, D., & Gentleman, E. (2026). Advances in strontium-releasing biomaterials for bone repair. *Biomaterials*, 326, 123718. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2025.123718>
- Min, K. H., Kim, D. H., Kim, K. H., Seo, J.-H., & Pack, S. P. (2024). Biomimetic Scaffolds of Calcium-Based Materials for Bone Regeneration. *Biomimetics*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/biomimetics9090511>
- Namjoynik, A., Islam, M. A., & Islam, M. (2023). Evaluating the efficacy of human dental pulp stem cells and scaffold combination for bone regeneration in animal models: A systematic review and meta-analysis. *Stem Cell Research & Therapy*, 14(1), 132. <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03357-w>
- Norouzi, S., Saveh Shemshaki, N., Norouzi, E., Latifi, M., Azimi, B., Danti, S., Qiao, X., Miao, Y., Yang, S., Gorji, M., Petrovic, V., Aboudzadeh, M. A., & Bagherzadeh, R. (2024). Recent advances in biomaterials for tissue-engineered constructs: Essential factors and engineering techniques. *Materials Today Chemistry*, 37, 102016. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2024.102016>
- Percival, K. M., Paul, V., & Hussein, G. A. (2024). Recent Advancements in Bone Tissue Engineering: Integrating Smart Scaffold Technologies and Bio-Responsive Systems for Enhanced Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 6012. <https://doi.org/10.3390/ijms25116012>

- Pérez Olvera, F. C., Barajas Martell, L. G., Hernández-Ávila, J., Cerecedo Sáenz, E., Hernández González, A., Saldana, M., Flores-Badillo, J., Mendoza Huizar, L. H., Gonzalez Gonzalez, A. M., Cruz Franco, F. M., & Espinosa Morales, E. (2026). Synthesis of Potassium Jarosite Solid Solutions: Characterization and Evaluation of Their Potential Electrical Properties. *Materials*, 19(6), 1179. <https://doi.org/10.3390/ma19061179>
- Qi, C., Lin, J., Fu, L.-H., & Huang, P. (2018). Calcium-based biomaterials for diagnosis, treatment, and theranostics. *Chemical Society Reviews*, 47(2), 357–403. <https://doi.org/10.1039/C6CS00746E>
- Reynes, J. F., Leon, F., & García, F. (2024). Mechanochemistry for Organic and Inorganic Synthesis. *ACS Organic & Inorganic Au*, 4(5), 432–470. <https://doi.org/10.1021/acsorginorgau.4c00001>
- Sabouri, Z., Dequeecker, M., Anees, H., Adib, F. R., Jamous, R., Zheng, J., Lyu, X., Stoetzel, S., Heiss, C., El Khassawna, T., & Jahed, V. (2026). Recent advances in biomaterials for bone regeneration: Bridging innovation and clinical translation. *Materials Today Bio*, 36, 102685. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.102685>
- Sadeghi Ghadi, Z., Asadi, A., Pilehvar, Y., Abasi, M., & Ebrahimnejad, P. (2024). Enhancing osteogenic differentiation of dental pulp stem cells through rosuvastatin loaded niosomes optimized by Box-Behnken design and modified by hyaluronan: A novel strategy for improved efficiency. *Journal of Biological Engineering*, 18(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s13036-024-00406-7>

- Safari, B., Davaran, S., & Aghanejad, A. (2021). Osteogenic potential of the growth factors and bioactive molecules in bone regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 175, 544–557. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.052>
- Sanz-Horta, R., Retegi-Carrion, S., Ruiz-Hernandez, R., Khatami, N., Elvira, C., Martinez-Campos, E., Rodríguez-Hernández, J., & Abarategi, A. (2023). Polycaprolactone with multiscale porosity and patterned surface topography prepared using sacrificial 3D printed moulds: Towards tailor-made scaffolds. *Biomaterials Advances*, 151, 213465. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213465>
- Savadkouhi Ghoudjanaki, M., Bahadorani, F., Hosseini, M., Panta, R., & Karimi, B. (2025). Metal-Based Categorization of Recent Metal Organic Frameworks with Application in Bone Disease Treatment. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 11(12), 6895–6929. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5c00830>
- Sebastian K, K., Singh, A. K., & Biswas, A. (2024). Strontium doped 58S bioglass incorporated chitosan/gelatin porous scaffold for bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 283, 136983. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136983>
- Serralde-Lealba, J. R., Cerecedo-Sáenz, E., Hernández-Ávila, J., Arenas-Flores, A., Veloz-Rodríguez, M. A., Gutiérrez-Amador, M. del P., González-González, A. M., Rosales-Ibáñez, R., & Salinas-Rodríguez, E. (2022). Doped Potassium Jarosite: Synthesis, Characterization and Evaluation as Biomaterial for Its Application in Bone Tissue Engineering. *Metals*, 12(6), 1052. <https://doi.org/10.3390/met12061052>
- Silva, A. V., Gomes, D. dos S., Victor, R. de S., Santana, L. N. de L., Neves, G. A., & Menezes, R. R. (2023). Influence of Strontium on the Biological Behavior of Bioactive

Glasses for Bone Regeneration. *Materials*, 16(24), 7654.

<https://doi.org/10.3390/ma16247654>

Silveiro, C., Bonifácio, V. D. B., Prata, J. V., Costa, A. I., & Barata, P. D. (2020). Towards Greener Mechano-synthesis of Functional Calixarenes. *Chemistry Proceedings*, 3(1), 48.

<https://doi.org/10.3390/ecsoc-24-08405>

Straub, J., Sewing, A., Walter, N., Wong, R. M. Y., Alt, V., Heiss, C., & Rupp, M. (2025).

Calcium Sulfate Bone Substitutes in Clinical Use: History, Material Properties, Application, and Outlook for the Future. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 113(4), e35555. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.35555>

Suryanarayana, C. (2001). Mechanical alloying and milling. *Progress in Materials Science*, 46(1), 1–184. [https://doi.org/10.1016/S0079-6425\(99\)00010-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6425(99)00010-9)

Tang, G., Liu, Z., Liu, Y., Yu, J., Wang, X., Tan, Z., & Ye, X. (2021). Recent Trends in the Development of Bone Regenerative Biomaterials. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.665813>

Todd, E. A., Mirsky, N. A., Silva, B. L. G., Shinde, A. R., Arakelians, A. R. L., Nayak, V. V., Marcantonio, R. A. C., Gupta, N., Witek, L., & Coelho, P. G. (2024). Functional Scaffolds for Bone Tissue Regeneration: A Comprehensive Review of Materials, Methods, and Future Directions. *Journal of Functional Biomaterials*, 15(10), 280. <https://doi.org/10.3390/jfb15100280>

Vaiani, L., Boccaccio, A., Uva, A. E., Palumbo, G., Piccininni, A., Guglielmi, P., Cantore, S., Santacroce, L., Charitos, I. A., & Ballini, A. (2023). Ceramic Materials for Biomedical Applications: An Overview on Properties and Fabrication Processes. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(3), 146. <https://doi.org/10.3390/jfb14030146>

- Wan, B., Wang, R., Sun, Y., Cao, J., Wang, H., Guo, J., & Chen, D. (2020). Building Osteogenic Microenvironments With Strontium-Substituted Calcium Phosphate Ceramics. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.591467>
- Wang, X., Zeng, J., Gan, D., Ling, K., He, M., Li, J., & Lu, Y. (2024). Recent Strategies and Advances in Hydrogel-Based Delivery Platforms for Bone Regeneration. *Nano-Micro Letters*, 17(1), 73. <https://doi.org/10.1007/s40820-024-01557-4>
- Wang, Y., Zhang, Y., Chen, K., Shao, F., Wu, Y., Guo, C., Wu, H., Zhang, D., Li, W., Kong, Q., & Wang, H. (2021). Injectable nanostructured colloidal gels resembling native nucleus pulposus as carriers of mesenchymal stem cells for the repair of degenerated intervertebral discs. *Materials Science and Engineering: C*, 128, 112343. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112343>
- Wei, H., Cui, J., Lin, K., Xie, J., & Wang, X. (2022). Recent advances in smart stimuli-responsive biomaterials for bone therapeutics and regeneration. *Bone Research*, 10(1), 17. <https://doi.org/10.1038/s41413-021-00180-y>
- Wu, Y., Cheng, M., Jiang, Y., Zhang, X., Li, J., Zhu, Y., & Yao, Q. (2024). Calcium-based biomaterials: Unveiling features and expanding applications in osteosarcoma treatment. *Bioactive Materials*, 32, 385–399. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.10.008>
- Wu, Y., Sun, J., Wang, W., Wang, Y., & Friedrich, R. E. (2024). How to make full use of dental pulp stem cells: An optimized cell culture method based on explant technology. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1324049>

- Xu, Z., Wang, B., Huang, R., Guo, M., Han, D., Yin, L., Zhang, X., Huang, Y., & Li, X. (2024). Efforts to promote osteogenesis–angiogenesis coupling for bone tissue engineering. *Biomaterials Science*, 12(11), 2801–2830. <https://doi.org/10.1039/d3bm02017g>
- Yang, Y., Jiang, Y., Qian, D., Wang, Z., & Xiao, L. (2023). Prevention and treatment of osteoporosis with natural products: Regulatory mechanism based on cell ferroptosis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 18(1), 951. <https://doi.org/10.1186/s13018-023-04448-3>
- Zhang, H., Sui, T., Salvati, E., Daisenberger, D., Lunt, A. J. G., Fong, K. S., Song, X., & Korsunsky, A. M. (2018). Digital Image Correlation of 2D X-ray Powder Diffraction Data for Lattice Strain Evaluation. *Materials*, 11(3), 427. <https://doi.org/10.3390/ma11030427>
- Zhang, X., Zhuang, J., Wei, C., Jin, C., Zhu, M., Zhao, S., & Xie, H. (2024). Enhancing Osteogenic Differentiation of Dental Pulp Stem Cells with Covalently Bonded All-Carbon Scaffolds. *Advanced Functional Materials*, 34. <https://doi.org/10.1002/adfm.202400766>
- Zhang, Y., Chen, Y., Shi, Y., Hu, H., Dai, Z., Liu, Z., & Li, X. (2025). A phase-transited lysozyme coating doped with strontium on titanium surface for bone repairing via enhanced osteogenesis and immunomodulatory. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1506671>
- Zhang, Y., Xu, J., Zhang, Z., Zhao, L., Li, M., Li, M., Zhao, D., Zhong, G., Hu, X., Zhang, X., Zhu, W., Zheng, C., & Sun, X. (2024). Mechanochemical synthesis of nanostructured and composite oxide ceramics: From mechanisms to tailored properties. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 21(2), 616–654. <https://doi.org/10.1111/ijac.14598>

Zhu, L., Liu, Y., Wang, A., Zhu, Z., Li, Y., Zhu, C., Che, Z., Liu, T., Liu, H., & Huang, L. (2022). Application of BMP in Bone Tissue Engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.810880>