



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**CENTRO DE FÍSICA APLICADA  
Y TECNOLOGÍA AVANZADA**

**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIOMATERIAL  
COMPUESTO DE HIDROXIAPATITA Y POLIURETANO COMO  
SUSTITUTO DE TEJIDO ÓSEO”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN TECNOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**ANGEL MANUEL ESCAMILLA PÉREZ**

**ASESOR: DR. JOSÉ ROGELIO RODRÍGUEZ TALAVERA**

**JURIQUILLA, QUERÉTARO**

**2011**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada

Asunto: VOTOS APROBATORIOS

**DR. RAMIRO PÉREZ CAMPOS**  
Director del CFATA  
PRESENTE

**ATN: LIC. ROSA MARÍA RAMOS HERNÁNDEZ**  
Coordinadora Administrativa

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIOMATERIAL COMPUESTO DE HODROXIAPATITA Y POLIURETANO COMO SUSTITUTO DE TEJIDO ÓSEO”**

Que presenta el pasante **Escamilla Pérez Angel Manuel**

Con número de cuenta: **40810029-2** para obtener el título de:

**Licenciado en Tecnología**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Juriquilla, Qro. a **23** del mes de **Septiembre** del año **2011**.

NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b> Dra. Miriam Rocío Estévez González	
<b>VOCAL</b> Dr. Achim Max Loske Mehling	
<b>SECRETARIO</b> Dr. José Rogelio Rodríguez Talavera	
<b>1ER SUPLENTE</b> Dra. Luz María López Marín	
<b>2DO SUPLENTE</b> Dr. Pedro Salas Castillo	



## DEDICATORIAS

Esta tesis es el fruto de varios meses de trabajo en el laboratorio, en donde una gran cantidad de familiares y amigos se han visto involucrados al brindarme su apoyo y confianza en todo momento, así que esta tesis es una realidad gracias a ustedes.

Dedico este trabajo especialmente a mis dos ángeles: mi mamá Carmen Gpe Pérez Flores y a mi abuelita Cruz Flores que siempre me dieron las fuerzas necesarias para seguir adelante, me enseñaron a no rendirme y a superar cualquier adversidad, gracias a ellas ahora soy lo que soy y sé que cuidan de mí donde se encuentren.

También le agradezco a mi papá Juan Manuel Escamilla Pozas, por dejarme volar, por su valor, por ser mi guía y un gran ejemplo de persona honesta, honrada y trabajadora, por estar presente dándome todo el apoyo necesario y ser una gran compañía.

A mi hermano Francisco Escamilla por ser mi amigo y confidente, por compartir tanto mis triunfos como fracasos, por ser mi compañero de juegos y estar siempre atento a escucharme. A mis primos Fernando, Angelita, Doris, a mis tías Anita, Rita y Doris por su gran ayuda y comprensión en todo momento. A mis sobrinas Mariana y Cecilia por sus travesuras que despejan un poco el estrés.

A Melva una amiga incondicional que siempre ha estado presente a pesar de las distancias. A su mamá por ser un gran apoyo. A ambas las considero parte de la familia.

A Sonia, Ioav, Grecia, Speedy, Pelos, Llorch, Fer, Manolin, Lennin, Mayra, Dipu, a todos y cada uno de “Les Porcs” mis amigos inseparables del Liceo que han ayudado a superarme día con día, así como me han apoyado en las buenas y en las malas.

A mis compañeros y amigos de generación, Leo, Mayra, Erik, Omar, Bartolo, Zapata, Armando y Yissel que me han brindado su compañía y consejos, que han soportado conmigo tanto veladas de estudio como de diversión, especialmente a Andrés, Gera y Kaleb que son unos hermanos para mí, gracias por aguantarme todo este tiempo.

A todas y cada una de las personas que han influido de alguna forma en mí para ser una mejor persona, estudiante, amigo, hijo, etc. A todos ustedes, mil gracias por confiar en mí.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Rogelio Rodríguez Talavera, director de esta tesis. Por todo el apoyo recibido, por la confianza al permitirme trabajar con él, por su paciencia y comprensión. Por la experiencia mostrada en sus asesorías.

A la Dra. Miriam Estévez por sus consejos y apoyo, por ser una pieza fundamental de mi formación como tecnólogo, por permitirme trabajar en el Laboratorio de Dispersión de Luz del CFATA para el desarrollo del proyecto. Así como por la realización de las pruebas de tamaño de partícula en el dispersor de luz.

A la Mtra. Carolina Muñoz Torres por la asesoría y las facilidades otorgadas para la realización de la prueba de plasma acoplado inductivamente (ICP).

A la Mtra. Carmen Vázquez Ramos y al Ing. Gerardo Antonio Fonseca por la ayuda y paciencia en la realización de las pruebas mecánicas.

A la Mtra. Alicia del Real por la toma de micrografías electrónicas de los materiales con la ayuda del microscopio electrónico de barrido (SEM).

A la Dra. Genoveva Hernández Padrón por su ayuda en realización de las pruebas espectroscópicas de FTIR y Raman.

A la Dra. Beatriz Millán Malo por el ensayo de difracción de rayos X (RDX) para la caracterización de la hidroxiapatita.

Al Dr. Achim Loske, al Mtro. en C. Francisco Fernández y al Dr. Miguel Paredes por la realización de las pruebas de biocompatibilidad en ratones.

A la química Concepción Arredondo por su apoyo en las pruebas *in vivo*.

Este proyecto fue realizado en las instalaciones del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la Universidad Nacional Autónoma de México en el campus de Juriquilla, Querétaro. Todos los ensayos de caracterización del material fueron realizados en el mismo Centro a excepción de la prueba de ICP realizada en el Centro de Geociencias del mismo campus.

# CONTENIDO

DEDICATORIAS .....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS .....	v
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
INTRODUCCIÓN .....	ix
OBJETIVOS .....	xi
CAPITULO 1 CONCEPTOS BÁSICOS .....	1
1.1 Tejido óseo .....	1
1.2 Biomateriales .....	5
1.3 Cerámicas .....	7
1.3.1 Hidroxiapatita (HAp) .....	11
1.3.2 Sílice (SiO <sub>2</sub> ) .....	13
1.3.3 Alúmina (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) .....	13
1.4 Polímeros .....	14
1.4.1 Poliuretano .....	16
1.5 Ensayos de caracterización .....	17
1.5.1 Difracción de rayos X (DRX) .....	18
1.5.2 Espectroscopia infrarroja (FTIR) .....	21
1.5.3 Espectroscopia Raman .....	28
1.5.4 Dispersión de luz .....	30
1.5.5 Emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP) .....	33
1.5.6 Pruebas mecánicas de compresión .....	36
1.5.7 Microscopia electrónica de barrido (SEM) .....	37
1.5.8 Pruebas de biocompatibilidad .....	40

CAPITULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
2.1 Síntesis de la hidroxiapatita.....	41
2.2 Caracterización de la hidroxiapatita.....	43
2.2.1 Difracción de rayos X (DRX).....	43
2.2.2 Espectroscopia IR.....	43
2.2.3 Espectroscopia Raman.....	44
2.2.4 Dispersión de Luz .....	44
2.2.5 Emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP).....	45
2.3 Síntesis del biomaterial .....	47
2.4 Caracterización del biomaterial .....	48
2.4.1 Pruebas mecánicas de compresión .....	48
2.4.2 Pruebas de densidad .....	49
2.4.3 Pruebas de absorción de agua .....	50
2.4.4 Pruebas de abrasión.....	51
2.4.5 Pruebas de porosidad.....	52
2.4.6 Pruebas de biocompatibilidad .....	53
CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
3.1 Hidroxiapatita .....	55
3.2 Biomaterial .....	59
3.3 Discusión.....	67
CAPITULO 4 CONCLUSIONES.....	70
BIBLIOGRAFÍA .....	71

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Tabla 1</b> Protocolo para la digestión ácida en el horno de microondas.....	45
<b>Tabla 2</b> Formulaciones trabajadas.....	47
<b>Figura 1</b> Regiones de los huesos a) Epífisis, b) Metáfisis, c) Diáfasis.....	3
<b>Figura 2</b> Representación esquemática de los defectos Frenkel y Schottky.....	9
<b>Figura 3</b> Grupo uretano. ....	16
<b>Figura 4</b> Los 14 Retículos de Bravais. aP Triclínico, mP monoclinico primitivo, mC monoclinico centrado en C, oP ortorrómbico primitivo, oA ortorrómbico centrado en A, ol ortorrómbico centrado en el cuerpo, oF ortorrómbico centrado en las caras, tP tetragonal primitivo, tl tetragonal centrado en el cuerpo, hP hexagonal primitivo, hR romboédrico, cP cúbico primitivo, cl cúbico centrado en el cuerpo y cF cúbico centrado en las caras. ....	19
<b>Figura 5</b> Diferentes modos vibracionales. ....	22
<b>Figura 6</b> Esquema de un interferómetro de Michelson. ....	26
<b>Figura 7</b> Espectrómetro FTIR de un sólo haz. ....	27
<b>Figura 8</b> Fenómeno de dispersión Raman y Rayleigh.....	29
<b>Figura 9</b> Esquema del equipo de dispersión de luz. ....	32
<b>Figura 10</b> Fuente de plasma acoplado inductivamente (antorcha). ....	34
<b>Figura 11</b> Información dada por la curva de esfuerzo-deformación.....	37
<b>Figura 12</b> Esquema característico de un equipo SEM.....	39
<b>Figura 13</b> Montaje experimental para la síntesis de HAp. ....	42
<b>Figura 14</b> FT-IR Bruker Vector33. ....	43
<b>Figura 15</b> Equipo raman dispersivo Bruker Senterra.....	44
<b>Figura 16</b> Dispensor de luz Brookhaven Instruments Corp. ....	45
<b>Figura 17</b> Horno de microondas .....	46
<b>Figura 18</b> Equipo de ICP-OES.....	46
<b>Figura 19</b> Equipo de pruebas mecánicas. ....	48
<b>Figura 20</b> Moldes para las pruebas mecánicas. ....	49
<b>Figura 21</b> Medición de las probetas de densidad. ....	49
<b>Figura 22</b> Prueba de absorción de agua. ....	50



<b>Figura 23</b> Probetas para la prueba de abrasión. ....	51
<b>Figura 24</b> Probeta sometida a la pérdida de masa. ....	51
<b>Figura 25</b> Medición de la pérdida de peso. ....	52
<b>Figura 26</b> Materiales recubiertos con oro. ....	52
<b>Figura 27</b> Microscopio electrónico de barrido. ....	53
<b>Figura 28</b> Probetas para pruebas de biocompatibilidad. ....	54
<b>Figura 29</b> Implante quirúrgico en ratas. ....	54
<b>Figura 30</b> Difractograma de la HAp. ....	55
<b>Figura 31</b> Espectro Infrarrojo de la HAp. ....	56
<b>Figura 32</b> Espectro Raman de la HAp. ....	57
<b>Figura 33</b> Gráfica del tamaño de las partículas. ....	58
<b>Figura 34</b> Módulo de Young. ....	59
<b>Figura 35</b> Fuerza a la ruptura. ....	60
<b>Figura 36</b> Deformación a la ruptura. ....	60
<b>Figura 37</b> Densidad en función de la temperatura. ....	61
<b>Figura 38</b> Formulación 80Al-20HAp 50°C. ....	62
<b>Figura 39</b> Formulación 80Al-20HAp 80°C. ....	62
<b>Figura 40</b> Formulación 80Al-20HAp 110°C. ....	63
<b>Figura 41</b> Formulación 80Al-20HAp 150°C. ....	63
<b>Figura 42</b> Tamaño de poro. ....	64
<b>Figura 43</b> Fracción de volumen de poro. ....	64
<b>Figura 44</b> Absorción de agua. ....	65
<b>Figura 45</b> Resistencia a la abrasión. ....	65
<b>Figura 46</b> Fotografía de 21 días después de la cirugía mostrando el tejido alrededor del implante (i), fibroblastos rodeados por fibras de colágeno dentro del implante (f) y adipocitos (a). ....	66

## RESUMEN

Se sintetizó un nuevo biomaterial híbrido (cerámica-polímero) con porosidad controlada cuya morfología es similar a la del tejido óseo. Dicho material contiene micropartículas de hidroxiapatita (HAp) sintética mezclada con partículas de otras dos cerámicas comerciales en diferentes concentraciones: micropartículas de alúmina y nanopartículas de sílice. Estas cerámicas ayudan a mejorar las propiedades mecánicas y de desgaste (abrasión) del material. Como matriz se utilizó un poliuretano monocomponente libre de solvente. Los poros fueron generados mediante una reacción producida entre los grupos hidroxilo (-OH) de la hidroxiapatita y los grupos ciano del poliuretano. Las diferentes formulaciones fueron sometidas a un tratamiento térmico a diferentes temperaturas: 30°C, 50°C, 80°C, 110°C y 150°C con el fin de determinar la relación entre porosidad y temperatura. Los materiales fueron caracterizados mediante ensayos mecánicos, de abrasión, de densidad, absorción de agua y microscopía electrónica de barrido (SEM).

**Palabras clave:** biomaterial, hidroxiapatita, tejido óseo, caracterización morfológica.

## **ABSTRACT**

A new hybrid ceramic-polymer biomaterial with controlled porosity was synthesized with a morphology that resembles real bone. This material contains synthetic hydroxyapatite (HAp) and two different ceramic particles in different concentrations: alumina micro-particles and silica nano-particles; these were added to improve the mechanical properties of the composite. A solvent-free, mono-component polyurethane was used as polymeric matrix. Porosity was generated by a chemical reaction between the OH groups of the hydroxyapatite and cyano groups of the polyurethane. The samples were thermally treated at different temperatures: 30°C, 50°C, 80°C, 110°C and 150°C in order to determine the relationship between porosity and temperature. The materials were characterized using scanning electron microscopy, density, water absorption, abrasion and mechanical tests.

**Key words:** biomaterial, hydroxyapatite, bone tissue, morphological characterization.

# INTRODUCCIÓN

La ciencia de los materiales es un área multidisciplinaria en donde se involucran una serie de conocimientos que permiten el desarrollo de nuevos materiales con el fin de facilitar la vida. Una de las áreas más favorecidas dentro de esta ciencia es la de los biomateriales. Este sector posee un enorme interés social y económico en una gran cantidad de los programas de investigación y desarrollo (I+D) a nivel mundial puesto que día con día la demanda de encontrar materiales apropiados para el tratamiento de diversos padecimientos se incrementa. Se estima que en Estados Unidos una de cada cuatro personas sufre algún tipo de problema de tipo esquelético-muscular y por tal motivo requieran del uso de algún tipo de implante ortopédico (1; 2).

Durante la segunda mitad del siglo pasado se dieron una gran cantidad de avances científicos y tecnológicos que abrieron paso al desarrollo de nuevos biomateriales favoreciendo el tratamiento de diversos males que afectaban la vida de las personas. Estos desarrollos han permitido incrementar la esperanza de vida de la gente, sin embargo aún hay mucho trabajo que realizar en el desarrollo de materiales que satisfagan las necesidades de los diferentes tejidos corporales tales como son las articulaciones, el tejido óseo, el tejido muscular, el tejido epitelial, etc (1).

Cabe señalar que el desarrollo de los nuevos biomateriales va enfocado a simular lo mejor posible el tejido a sustituir, porque hoy en día a pesar de ser utilizados, algunos materiales muestran ciertos problemas con los fluidos fisiológicos de los organismos al ser implantados. Es por tales motivos que los especialistas han optado por ir cambiando a los materiales bioinertes por los materiales bioactivos que poseen una mejor integración con el organismo y favorecen la regeneración del tejido que los rodea (1; 3).

Una de las biocerámicas más utilizadas por sus propiedades bioactivas y su similitud química con el hueso es la hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )(HAp). Esta se ha utilizado para tratar desde pequeños defectos óseos, hasta implantes dentales. Actualmente se puede encontrar en forma de cementos inyectables, gránulos o bloques macroporosos. Además existen diferentes métodos sencillos y de fácil aplicación para sintetizar hidroxiapatita estequiométrica para aplicaciones biomédicas (4; 5).

Otras dos cerámicas que han sido comúnmente utilizadas para el tratamiento de problemas óseos son la sílice y la alúmina. La sílice se utiliza para la producción de vidrios bioactivos que permiten la regeneración del tejido óseo. Estos materiales son utilizados para cirugías maxilofaciales y reconstrucción de

hueso e incluso de cartílago. La alúmina es una cerámica bioactiva y fue la primer cerámica en ser utilizada para el desarrollo de implantes (6; 7).

En los últimos años se han comenzado a desarrollar materiales que mezclan algún tipo de polímero con partículas cerámicas con la finalidad de simular el tejido óseo, es decir que la cerámica constituye la parte inorgánica del hueso, mientras que el polímero corresponde al aglutinante. Al formar este nuevo material híbrido se obtiene una mayor resistencia mecánica, la cual depende de la cerámica utilizada. Por lo tanto hace falta trabajar con diferentes mezclas de cerámicas y polímeros para obtener mejores resultados (4; 8; 9).

Por lo que concierne a la hidroxiapatita, se han realizado trabajos donde se agrega a diferentes polímeros como el polimetilmetacrilato (PMMA), el polietileno (PE), el poliácido láctico (PLA) e incluso algunos poliuretanos (8; 9; 10).

El hecho de incluir hidroxiapatita en estos materiales híbridos asegura la biocompatibilidad y favorece la osteogénesis. Así mismo al incluir una segunda cerámica se modifican las propiedades y características del material según la aplicación que se le vaya a dar. Tanto la sílice como la alúmina han sido trabajadas en conjunto con la hidroxiapatita mostrando resultados bastante favorables (7; 11; 12).

Otra línea de trabajo que se cuida bastante en el desarrollo de estos nuevos biomateriales es la porosidad. Se busca arduamente mediante diferentes técnicas de síntesis que los compositos contengan la porosidad adecuada para la formación de colágeno y de vasos sanguíneos y de esta forma reducir el impacto del injerto dentro del organismo y favorecer su aceptación (13).

En el presente trabajo se presenta la propuesta de un nuevo biomaterial híbrido en donde se utiliza una matriz de poliuretano monocomponente totalmente libre de solventes orgánicos, al cual se agrega una mezcla de cerámicas (hidroxiapatita, sílice y alúmina) con partículas de diferente tamaño, con la finalidad de emular el tejido óseo. La hidroxiapatita sirve para favorecer la osteogénesis una vez realizado el implante, mientras que la adición de la segunda cerámica mejora las propiedades mecánicas del material al llenar los espacios intersticiales dejados por la hidroxiapatita.

## OBJETIVOS

La presente investigación tiene el propósito de desarrollar un material híbrido partiendo de una mezcla de partículas cerámicas y polímero que posea las propiedades del tejido óseo para servir como un sustituto del mismo.

### Objetivos particulares

- ❖ Sintetizar hidroxiapatita estequiométrica mediante un método sencillo.
- ❖ Caracterizar la hidroxiapatita por absorción atómica (ICP) y por espectroscopia infrarroja (FTIR) y Raman.
- ❖ Caracterizar la fase cristalina de la hidroxiapatita usando rayos X.
- ❖ Verificar la relación estequiométrica Ca:P de la hidroxiapatita.
- ❖ Desarrollar los materiales híbridos con diferentes formulaciones y diferentes tratamientos térmicos.
- ❖ Caracterizar las propiedades físicas del material como densidad, pruebas mecánicas y porosidad.
- ❖ Analizar la biocompatibilidad del material.

# CAPITULO 1    CONCEPTOS BÁSICOS

## 1.1    Tejido óseo

El hueso es un tejido vivo que contiene un sistema complejo de capilares sanguíneos y fibras de colágeno en el interior de un soporte rígido inorgánico. Este tejido presenta cambios continuos debido al crecimiento del individuo, ya que es modificado por su mismo proceso de reconstrucción. Todas estas transformaciones ocurren a lo largo de la vida y en muchas ocasiones dependen de los esfuerzos mecánicos que actúan sobre él. Si el hueso permanece inmóvil por largos períodos de tiempo pierde parte de su fase mineral y se atrofia. Por el contrario (esfuerzos mecánicos excesivos), el hueso puede incrementar su masa y es llevado a una hipertrofia. Estos cambios pueden ser generados por factores externos, modificando su morfología, pero si los cambios son internos, entonces la porosidad, el contenido mineral y la densidad son modificadas (14).

El hueso se adapta a los requerimientos mecánicos limitando factores como las reservas nutricionales y su peso y tamaño. Esta optimización del diseño se basa en la presencia de características macro y microscópicas que minimizan el estrés del mismo y una apropiada distribución del material minimizando el peso o el volumen (14).

El esqueleto realiza dos funciones básicas: una función mecánica y una función metabólica. Algunos huesos proveen protección a ciertos órganos vitales como el corazón y el cerebro. También pueden llegar a dar soporte a los músculos y tendones. Además son el principal depósito del calcio con un 97% del contenido total (14).

El hueso está formado de iones minerales, agua y una matriz orgánica, sin embargo, la composición exacta varía dependiendo la edad, la especie y el sexo del individuo, además depende también del tipo de hueso, ya sea cortical o trabecular. El hueso trabecular contiene mayor cantidad de agua y menos contenido mineral que el hueso cortical (14).

La principal proteína de la matriz orgánica es el colágeno tipo 1 y representa alrededor del 70 al 90% de los componentes no mineralizados del hueso. Las proteínas tales como las fosfoproteínas, las glicoproteínas, las sialoproteínas, las glaproteínas y los proteoglicanos representan entre el 2 y el 5% de la matriz orgánica (14).

El colágeno es una molécula de 300 nm de largo y 1.5 nm de diámetro, es formada por tres cadenas de polipéptidos alfa unidos entre ellos por una triple

hélice. Las fibras de colágeno están unidas por enlaces intramoleculares e intermoleculares y tienen una orientación preferencial paralela al eje principal. Las fibras de colágeno dan la estructura sobre la cual es depositada la fase mineral (14).

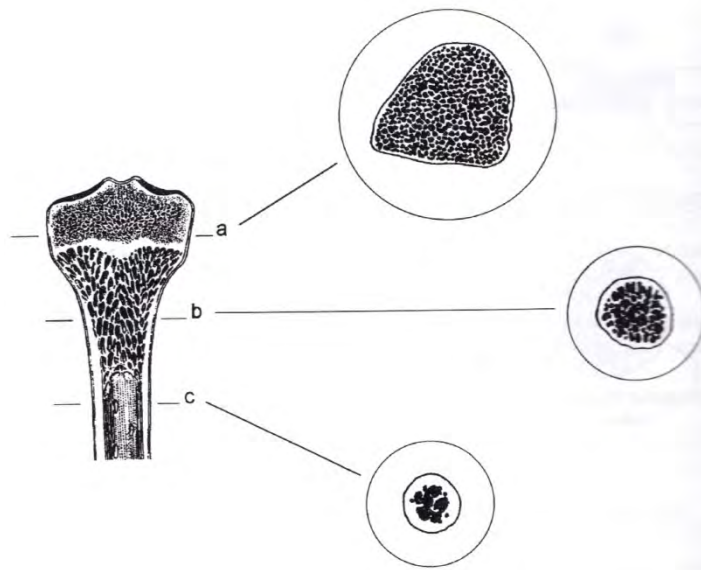
Tanto lípidos como carbohidratos están relacionados con la síntesis del tejido óseo, los cuales podrían ser el motor para la deposición de hidroxiapatita, además de controlar el flujo de nutrientes y electrolitos, tanto dentro como fuera de las células. Las enzimas juegan también un papel importante en la síntesis de los componentes de la matriz y en la reconstrucción de hueso (14).

Los componentes minerales del hueso están formados por fosfatos de calcio de los cuales el más importante es la hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Hoy en día se cuenta con el desarrollo de un modelo tridimensional que muestra la distribución de los cristales de hidroxiapatita dentro de la matriz. La mayoría de los cristales se encuentran distribuidos con su eje *c* paralelo al eje longitudinal de las moléculas de colágeno y el resto de los cristales son distribuidos de forma perpendicular. En este modelo la parte más débil de la estructura corresponde al espacio intermolecular. Los cristales de hidroxiapatita cuentan con un módulo elástico bastante elevado, con un valor de 114 GPa, mientras que el módulo de Young del eje de la molécula de colágeno es de 1.41 GPa. Retomando la idea de la debilidad entre los espacios moleculares se puede concluir que estas partes se rompen más fácilmente que cualquier otra parte (14).

El hueso es considerado un material compuesto y a diferentes escalas la estructura del hueso cortical puede ser caracterizado como particulado, fibroso, poroso o laminar. El hueso puede ser estudiado a diferentes niveles. Al nivel macroscópico la arquitectura del hueso presenta dos categorías, el hueso compacto y el hueso esponjoso. El hueso compacto correspondiente al hueso cortical que es un tejido denso cuyos espacios vacíos son llenados por capilares sanguíneos. El hueso esponjoso o trabecular consiste en una red de trabeculos intercomunicados. La gran diferencia entre ambos tejidos es la porosidad. La relación entre el volumen del tejido y el volumen ocupado por los poros es mayor en el hueso compacto (14).

Otro nivel de estudio, es el nivel microanatómico. Los huesos del fémur o la tibia pueden ser descritos mediante este tipo de análisis, ya que son caracterizados por poseer una larga forma cilíndrica y están alineados con respecto al eje principal. Estos huesos están estructurados por tres regiones características, las cuales pueden apreciarse en la figura 1. La primera es la epífisis que corresponde a las partes extremas del hueso y está formada principalmente por hueso trabecular, cubierto por una capa delgada de hueso compacto, además de una capa especializada de cartílago presente sobre la





orientación de las fibras. El último tipo de matriz es la matriz laminar, la cual está formada por capas de fibras acomodadas sucesivamente. Cada nivel muestra una dirección de las fibras de colágeno que se encuentran en sentido inverso con respecto a la lámina anterior. Bajo la luz polarizada aparecen zonas de luz y oscuridad de forma alternada (14).

El tejido no vascularizado corresponde al hueso compacto, mientras que el hueso vascularizado contiene una red intrínseca de colágeno y capilares sanguíneos la cual depende de la organización de las fibras en la matriz (14).

Partiendo de la unión de las dos clasificaciones anteriores se puede obtener una nueva clasificación que describe con mayor información los diferentes tejidos óseos. De esta forma encontramos el tejido óseo laminar que está constituido por un complejo denominado tejido fibrolaminar. Es caracterizado por la presencia de una matriz fibrosa hecha por hueso laminar o pseudolaminar; en este caso la vascularización está dada por un gran número de osteones primarios, distribuidos en diferentes niveles. La presencia de muchas conexiones permite la formación de diferentes niveles de vascularización (14).

El tejido óseo plexiforme es muy similar al tejido laminar, pero tiene una vascularización mucho más densa; los niveles vasculares de cada lámina están unidos por canales orientados radialmente, lo que produce una red tridimensional. El tejido óseo radial fibrolaminar es caracterizado por la abundancia de osteones primarios orientados radialmente y favorece el proceso de reposición de hueso. El tejido óseo reticular es una variación del complejo fibrolaminar del hueso compacto. Los osteones primarios presentan una orientación oblicua asociada con una rápida reposición de hueso (14).

El hueso está organizado en 7 niveles. Los componentes principales del tejido se encuentran en el primer nivel que son los cristales de la fase mineral, las fibras de colágeno tipo 1 y el agua. La unidad de estructura básica de hueso se encuentra en el segundo nivel, que corresponde a la mineralización de las fibras de colágeno. El tercer nivel corresponde al arreglo de las fibras. El cuarto nivel está constituido por láminas de los arreglos fibrosos, el cual da la respuesta mecánica. El quinto nivel de organización corresponde a la remodelación de las estructuras, mientras que los últimos dos niveles corresponden a los niveles macroscópicos mostrando las diferencias entre el hueso trabecular y el compacto además de mostrar la forma y diseño del hueso (14).

## 1.2 Biomateriales

En el pasado no existía un desarrollo dirigido al diseño de biomateriales por medio del método científico sino que su desarrollo consistía en la fabricación de materiales para necesidades industriales que fueron desarrollados por medio de prueba y error en animales y humanos; en algunos casos se demostró cierto nivel de éxito. Actualmente las aplicaciones de los biomateriales son diversas, desde sistemas de liberación controlada de medicamentos e ingeniería de tejidos, hasta el desarrollo de órganos híbridos (14).

El término biomateriales se utiliza para referirnos a aquellos materiales que constituyen parte de implantes médicos, sistemas extracorporales que son utilizados en medicina, curación, odontología y veterinaria. La National Institutes of Health Consensus Development Conference define un biomaterial como cualquier sustancia, diferente de una droga, o combinación de sustancias de origen sintético o natural que pueden ser usadas por cualquier período de tiempo como parte de un sistema que trata o reemplaza cualquier tipo de tejido, órgano o función del cuerpo (14).

La bioingeniería hace referencia a la aplicación de conceptos y metodologías de las ciencias físicas y matemáticas para la resolución de problemas relacionados con la reparación o sustitución de los tejidos dañados o perdidos. En este aspecto, cualquier material que sea utilizado con dicha finalidad es conocido como biomaterial (15).

Los biomateriales son aquellos cuya finalidad es el tratamiento, sustitución o restitución de un tejido u órgano dentro de organismos vivos. Por tal motivo, el material debe crear una interface amigable con el huésped que no afecte el equilibrio del mismo, es decir que no interfiera con los procesos biológicos. Esto significa que un biomaterial no debe ser tóxico, provocar alergias o rechazo por parte del huésped (16).

Los biomateriales pueden clasificarse según la forma en la que interactúan con el tejido en el que son implantados: así podemos clasificarlos en biotolerados, bioinertes y bioactivos. Por otro lado, el biomaterial puede ser implantado de manera interna o externa; al igual que puede ser temporal o permanente. Por tales motivos hace falta conocer las relaciones existentes entre el tejido u órgano a sustituir y el medio fisiológico que lo rodea con el objetivo de poder diseñar el material más apto y así evitar rechazo o corrosión del mismo (17).

Durante los últimos treinta años se han realizado grandes avances en la comprensión de las interacciones entre tejidos y materiales. Dichas investigaciones han permitido acuñar los términos de 'biomaterial' y de 'biocompatibilidad' dando al segundo como significado la habilidad del material de interactuar de manera apropiada con el huésped para una aplicación específica.

Existen dos diferentes tipos de biocompatibilidad, una es de superficie y la otra es de estructura. La primera corresponde a la interacción física, química y biológica del material con el tejido, mientras que la segunda busca la adaptación entre el compuesto y el medio mecánico del huésped (15).

Con el fin de que un compuesto sea clasificado como biomaterial, éste debe presentar las siguientes propiedades (17):

- No debe ser tóxico.
- No debe ser cancerígeno.
- No debe provocar alergias.
- No debe provocar inflamación.
- Debe ser biocompatible con el huésped.
- Debe ser biofuncional con respecto al tiempo de vida dentro del huésped.

Centrándonos en los biomateriales cerámicos, éstos poseen cuatro posibles formas de interactuar con el organismo (17):

- Fijación morfológica: El material se ajusta a presión sobre el defecto.
- Fijación biológica: Hay crecimiento del tejido dentro del material.
- Fijación bioactiva: El material se une químicamente al tejido.
- Materiales diseñados para ser absorbidos lentamente por el tejido.

En el momento de la implantación se genera una interacción entre el material y el tejido tanto a nivel celular como bioquímico. En un principio, existe un proceso de adsorción en el implante, lo que atrae células creando una zona de adaptación. Esta zona generalmente resulta benéfica para el implante y en el caso de injertos óseos es esencial la formación de esta región. Existe otro nivel de biocompatibilidad conocido como bioactividad, en donde las células se integran al implante de tal forma que la frontera entre ambas partes desaparece mostrando una región de transición entre el tejido y el material (17; 16).

En el caso de los materiales destinados a un uso ortopédico además de ser biocompatibles, químicamente estables y tener un tiempo de fatiga adecuado, deben estimular la formación de hueso, no deben causar molestias o sangrado, y la forma y tamaño deben de ser adecuados.

### 1.3 Cerámicas

Los materiales cerámicos son compuestos químicos o soluciones complejas, que contienen elementos metálicos y no metálicos. Por ejemplo, la alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) es una cerámica que tiene átomos metálicos (aluminio) y no metálicos (oxígeno). Los materiales cerámicos tienen una amplia gama de propiedades mecánicas y físicas (18).

Debido a sus enlaces iónicos o covalentes, los materiales cerámicos de forma general son duros, poseen poca resistencia a cierto tipo de esfuerzos, cuentan con un alto punto de fusión, baja conductividad eléctrica y térmica, buena estabilidad química y térmica, además de elevada resistencia a la compresión (18).

El término “cerámica” proviene de la palabra griega “*keramikos*” que significa “cosa quemada”, indicando de esta manera que las propiedades deseables de estos materiales generalmente se alcanzan después de un tratamiento térmico a alta temperatura que se denomina cocción (19).

Las cerámicas han sido utilizadas por los humanos desde hace miles de años (17) y hasta hace 40 años aproximadamente, los materiales más importantes de esta clase se denominaban “cerámicas tradicionales”, que son aquellas donde la materia prima es la arcilla (19). Recientemente se han realizado progresos importantes en el conocimiento de estos materiales y de los fenómenos causantes de las propiedades de los mismos (19), así mismo se han innovado las técnicas de fabricación, permitiendo que las cerámicas sean utilizadas como materiales de “alta tecnología” (17).

Dado que el enlace atómico de las cerámicas es generalmente un enlace del tipo iónico, se puede pensar que muchas de las estructuras cristalinas de las cerámicas están compuestas de iones eléctricamente cargados en lugar de átomos. Los iones metálicos (cationes) están cargados positivamente ya que han cedido sus electrones de valencia a los iones no metálicos (aniones) los cuales están cargados negativamente. Ya que las cerámicas están compuestas de al menos dos elementos, sus estructuras cristalinas son más complejas que las de los metales (19).

Existen dos características determinantes al momento de hablar de la estructura cristalina de las cerámicas: el valor de la carga eléctrica de los iones componentes y el tamaño relativo de los cationes y aniones. Con respecto a la primera característica, el cristal debe ser eléctricamente neutro. Por lo que concierne el segundo criterio, éste depende del tamaño de los radios iónicos de los cationes ( $r_C$ ) y de los aniones ( $r_A$ ). Puesto que los cationes ceden electrones, estos son de menor tamaño que los aniones; por lo tanto el cociente  $r_C/r_A$  es menor a la unidad. Cada catión prefiere tener a su alrededor tantos aniones

vecinos más próximos como le sea posible, de igual forma los aniones desean un número máximo de vecinos más próximos (19).

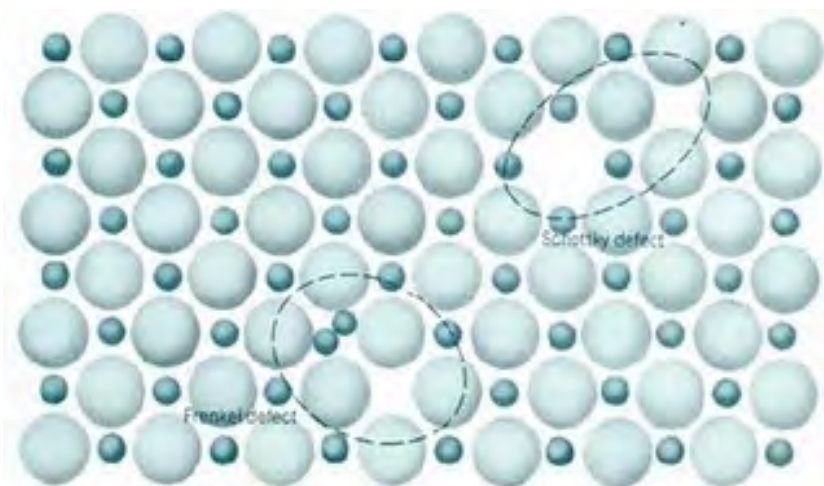
Las estructuras estables de los materiales cerámicos se forman cuando los aniones que rodean un catión se encuentran todos en contacto con el catión. El número de coordinación, es decir, el número de aniones más próximos a un catión está relacionado con el cociente entre sus radios (19).

Al igual que los metales, las estructuras de las cerámicas contienen una variedad de imperfecciones. Los defectos puntuales son de suma importancia para las propiedades físicas, mientras que las propiedades mecánicas son determinadas por las superficies, incluyendo los bordes de grano, la superficie de partícula y los poros. En los materiales cerámicos pueden existir defectos que involucren a los átomos; existen tanto vacantes iónicas como iones intersticiales tanto para los aniones como para los cationes de la cerámica (18).

La expresión “estructura de defecto” se utiliza comúnmente para designar los tipos y concentraciones de defectos atómicos en las cerámicas. Puesto que los átomos existen como iones cargados, cuando se considera la estructura de defectos se debe cumplir con la condición de electroneutralidad que es el estado existente cuando hay el mismo número de cargas iónicas positivas y negativas. Lo anterior nos indica que los defectos no aparecen de forma aislada en las cerámicas (19).

Un tipo de defecto de las cerámicas está formado por una vacante catiónica y un catión intersticial y es denominado defecto Frenkel. Este defecto puede ser visualizado como un catión que pasa de una posición normal a una posición intersticial. El defecto formado por una vacante aniónica y una vacante catiónica se llama defecto Schottky. La visualización de este defecto es la eliminación tanto de un catión como de un anión del interior del cristal y la colocación de ambos en una superficie externa. Dada que la eliminación es de dos elementos con cargas opuestas, la neutralidad de la carga del cristal se mantiene (19). Ambos tipos de defectos pueden visualizarse en la figura 2.

El cociente entre cationes y aniones no se altera por la formación de defectos Frenkel o Schottky. Si no existen otros tipos de defectos se dice que el material es estequiométrico. Para los compuestos iónicos, la estequiometría se define como el estado en el cual el cociente entre los cationes y los aniones es exactamente el esperado a partir de la fórmula química. Una cerámica no es estequiométrica si hay una desviación en el valor del cociente (19).



Griffith) ocurre principalmente a través de los granos y a lo largo de determinados planos cristalográficos, los cuales son de alta densidad atómica (18).

La resistencia a la fractura medida en los materiales cerámicos es menor a la predicha por modelos basados en las fuerzas de enlace entre átomos. Lo anterior se explica dada la presencia de pequeños defectos en el material, los cuales actúan como concentradores de tensión. El grado de amplificación de la tensión depende de la longitud de la grieta y del radio de curvatura de su punta, siendo mayor para defectos largos y puntiagudos (19).

La capacidad de una cerámica de resistir la fractura cuando una grieta está presente se especifica en términos de la tenacidad de la fractura. Esta propiedad de los materiales es una medida de la resistencia a la fractura frágil cuando hay presencia de una grieta. Los valores de la tenacidad de la fractura de las cerámicas son inferiores a los valores para metales, generalmente son inferiores a  $10 \text{ MPa/m}^2$  (19).

En algunas circunstancias, la fractura de las cerámicas se da de manera lenta por la propagación de las grietas. Este fenómeno se denomina fatiga estática o fractura retardada. Se ha constatado que este tipo de fractura es sensible al medio, sobretodo en presencia de humedad en la atmósfera. Cuando se habla de fatiga estática hace falta tomar en cuenta el tiempo de aplicación de la carga (19).

Por lo que concierne a esfuerzos de compresión, no hay amplificación de esfuerzos de tracción asociados a los defectos del material, por lo tanto los cerámicos frágiles presentan resistencias a la compresión superiores a aquellas por tracción. Además, la resistencia a la fractura de una cerámica frágil puede ser aumentada por medio de cargas residuales a la compresión en la superficie (19).

Cualquier deformación plástica de las cerámicas cristalinas es el resultado del movimiento de las dislocaciones; la fragilidad de estos materiales se explica parcialmente por el número limitado de sistemas de deslizamiento que pueden operar. El modo de deformación plástica de las cerámicas no cristalinas es el flujo viscoso; la resistencia del material a la deformación se expresa como viscosidad. A temperatura ambiente la viscosidad de muchas cerámicas no cristalinas es extremadamente alta (18).

Muchas piezas cerámicas poseen una porosidad sustancial lo que es perjudicial tanto para el módulo de elasticidad como para la resistencia a la fractura. Otra característica importante de estos materiales es su alto grado de dureza y la termofluencia. Esta última propiedad es muy importante, dado que la mayoría de las cerámicas son diseñadas para su uso a temperaturas elevadas. Los materiales cerámicos cristalinos tienen buena resistencia a la termofluencia por sus altos puntos de fusión y su elevada energía de activación para la difusión.



La termofluencia viene siendo el resultado del deslizamiento de los bordes de grano y se ve afectada por el tamaño de grano, la porosidad, las impurezas y la temperatura (18).

En las últimas décadas, el hombre se ha percatado del uso de las cerámicas como remplazo de algunas partes del cuerpo, especialmente el hueso. Estos materiales han adoptado el nombre de biocerámicas y en algunos casos son utilizados como refuerzo en materiales compuestos para diferentes implantes dadas sus cualidades de biocompatibilidad y alto esfuerzo como fibras (17).

### **1.3.1 Hidroxiapatita (HAp)**

Hasta el momento no se ha encontrado el biomaterial ideal que cumpla con todas las exigencias de la cirugía reconstructiva del hueso, sin embargo, se cuenta con la hidroxiapatita formada a partir de fósforo y calcio, siendo una de las cerámicas más favorecidas para el tratamiento de este tipo de problemas. La hidroxiapatita es una cerámica dura, refractaria, insoluble y con un punto de fusión superior a 1500°C, cuya estructura química es muy similar al tejido óseo (17; 15).

La hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  al ser un fosfato de calcio es un material cerámico perteneciente a la categoría de los biomateriales bioactivos, ya que se fija químicamente al hueso. El hueso está compuesto en una proporción de entre el 60 al 70% de tejido inorgánico, el 5% es agua, mientras que el resto es la matriz orgánica de la cual el 90% es colágeno y el 5% material orgánico (17; 20).

La hidroxiapatita puede ser fijada tanto biológicamente como bioactivamente. En ambos casos hay que verificar la porosidad del material, puesto que se necesitan poros de al menos 100  $\mu\text{m}$  con el fin de que haya interacción entre el hueso y el biomaterial. Estos poros permiten la formación de capilares sanguíneos que proporcionan el abastecimiento de sangre (15).

La hidroxiapatita de origen natural se obtiene de los huesos de mamíferos, y su utilización se limita al relleno de defectos óseos, puesto que tiene una baja resistencia mecánica. También podemos encontrar biomateriales en los corales ya que su exoesqueleto está formado por carbonato de calcio (21). Por lo que concierne a la hidroxiapatita sintética, puede tener un origen cerámico y no cerámico. La primera es producida a partir de una reacción de precipitación entre una solución rica en fosfatos y iones  $\text{Ca}^{2+}$ ; mientras que la segunda es producida por el calentamiento de fosfatos de calcio amorfos (15).

La hidroxiapatita es un material con muchas propiedades interesantes en lo que concierne el área de biomateriales (17):

- ✚ Biocompatibilidad: Se ha demostrado que algunas de las cerámicas de fosfato de calcio no son tóxicas, al mismo tiempo deben ser capaces de unirse al hueso.
- ✚ Biodegradación: La hidroxiapatita estequiométrica es un material muy poco soluble con una excelente fijación al hueso. La degradación de la hidroxiapatita no estequiométrica se produce mediante dos vías, la disolución por contacto con soluciones fisiológicas y por fagocitosis.
- ✚ Biomecánica: En general las cerámicas de fosfatos de calcio presentan una resistencia baja a la tensión y al impacto y son frágiles.

La hidroxiapatita, como comúnmente se le conoce, debería ser llamada según la Asociación Mineralógica Internacional hidroxiapatita por la presencia iones hidroxilo en la estructura. En el caso de los implantes quirúrgicos la hidroxiapatita cerámica debe tener una relación molar Ca/P de 1.67, al igual que el análisis por difracción de rayos X debe mostrar que el compuesto contiene al menos un 95% de hidroxiapatita cristalina (17; 22).

La familia de la apatita mineral  $[A_{10}(BO_4)_6X_2]$  cristaliza en prismas rombales hexagonales y tienen una dimensión de celda de  $a=9.432 \text{ \AA}$  y  $c=6.881 \text{ \AA}$ . Existen diferentes métodos para obtener la hidroxiapatita por precipitación a partir de soluciones acuosas de nitrato de calcio ( $Ca(NO_3)_2$ ) y fosfato monosódico ( $NaH_2PO_4$ ) (17).

En la última década se han realizado una inmensa cantidad de investigaciones relacionadas con la hidroxiapatita. Se ha trabajado con la HAp como relleno de cementos óseos durante la aplicación de prótesis de cadera (23). En este caso la HAp permite mejorar las propiedades mecánicas de la prótesis. Otra aplicación bastante común de la hidroxiapatita es su aplicación como prótesis dental; en algunos casos se utiliza mezclada con otros elementos tales como el magnesio (24).

Otro ejemplo de la presencia de la HAp en las investigaciones es la utilización de una esponja de colágeno con HAp que utilizan como medio de cultivo de algunas células y de esta forma simular el proceso de osteogénesis, sugiriendo su uso como un nuevo paso en la ingeniería de materiales (25). Además, se puede apreciar la variedad de trabajos al respecto, puesto que utilizan diferentes tipos de polímeros para encontrar la proporción adecuada para obtener un material lo más similar posible al hueso. Existen trabajos que utilizan mezclas de HAp con polimetilmetacrilato (PMMA) o hasta policaprolactona (PCL), dos polímeros muy diferentes, ya que mientras uno es considerado como irrompible el otro resulta ser biodegradable (23; 26). Así mismo se trabaja este tipo de biomateriales, tanto en forma sólida como en gel (27).

### 1.3.2 Sílice (SiO<sub>2</sub>)

La sílice es óxido de silicio. Es la parte principal de los componentes de la arena y su forma natural es el cuarzo en estado cristalino, mientras que en estado amorfo constituye el ópalo. Su punto de fusión es superior a los 1700°C, además de ser parcialmente soluble en agua (28).

Puesto que la sílice posee diferentes fases, se pueden tener diferentes grados de solubilidad. Cabe mencionar que no todas las fases se presentan en la naturaleza, algunas son producto de ciertas condiciones generadas en el laboratorio. De esta forma tenemos la sílice cristalina anhidra, la sílice cristalina hidratada, la sílice anhidra amorfa y la sílice amorfa hidratada. Por lo que concierne a la sílice amorfa, ésta puede ser dividida en tres tipos: sílice vítrea, sílice amorfa formada por sílice cristalina irradiada con neutrones de alta velocidad y sílice microamorfa (28).

El óxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) ha sido un material de uso común en la industria de los biomateriales, jugando un papel importante dada la respuesta biológica *in vitro* e *in vivo* de dichos materiales. Se ha demostrado en algunos estudios que el agregar silicio ayuda a la proliferación de las células óseas. En dichos trabajos se incorpora la sílice a la hidroxiapatita con la finalidad de mejorar las propiedades del material (29; 30).

### 1.3.3 Alúmina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

La alúmina es óxido de aluminio perteneciente a la categoría de las cerámicas relativamente bioinertes. Este grupo se caracteriza por su resistencia a la corrosión y al medio, además cumplen con todas las propiedades de las cerámicas utilizadas para implantes. La alúmina posee un dureza en la escala de Mohs de 9 (17).

La principal fuente de la alúmina de alta pureza es la bauxita. La alúmina comúnmente disponible es la alúmina alfa (α) y esta puede ser preparada por medio de la calcinación de alúmina trihidratada. La ASTM (American Society for Testing Materials) especifica que la alúmina que será utilizada para implantes debe contener 99.5% de alúmina pura y menos de 0.1% de sílice y óxidos alcalinos. La alúmina alfa posee una estructura cristalina romboédrica (a=4.758Å y c=12.991Å). En su estado natural es conocida como rubí o zafiro, esto depende del tipo y la cantidad de impurezas que es lo que le otorga el color (17).

La resistencia de la alúmina policristalina depende del tamaño de grano así como de la porosidad. Generalmente se obtiene mayor resistencia a los esfuerzos con una alúmina de grano pequeño y con bajo grado de porosidad. El estándar

ASTM requiere de un esfuerzo a la flexión mayor a 400 MPa y un módulo elástico de 380 GPa (17).

La alúmina ha sido utilizada en ortopedia desde hace más de 25 años, principalmente en el área dental. La dureza de la alúmina varía entre 20 y 30 GPa, lo cual permite su uso como abrasivo. Este material es inerte en medios *in vivo*, además la alta dureza y su baja fricción hacen que sea un material ideal para remplazo de articulaciones. Uno de los usos más comunes de la alúmina es la prótesis de cadera. Estos trabajos comenzaron con pruebas de implantes de huesos en monos Rhesus a inicios de la década de los 70's, mostrando que no había rechazo ni toxicidad en periodos de 350 días (17).

#### **1.4 Polímeros**

Los polímeros son macromoléculas que forman cadenas y cuyo peso molecular oscila entre los 10 000 y 1 000 000 g/mol. Son formados a partir de monómeros que son la unidad fundamental de la cadena polimérica y están unidos por enlaces químicos (31). Los polímeros tienen generalmente una base de carbono, pero también los hay inorgánicos como, por ejemplo, aquellos que están formados a partir de una base de sílice (18).

La polimerización es el proceso mediante el cual se unen químicamente moléculas pequeñas (monómeros) para formar el polímero. Si la unión es de unos cuantos monómeros, entonces el compuesto adquiere el nombre de oligómero (18).

Una aplicación común de los polímeros se encuentra en los materiales compuestos ya que se utilizan como matriz de muchos materiales. Además los polímeros son resistentes a la corrosión y al ataque químico por ácidos y bases (18).

Los polímeros pueden ser clasificados por medio de diferentes criterios. Una de las clasificaciones nos indica si un polímero es de cadena lineal o de cadena ramificada. El polímero lineal corresponde a una sola cadena de monómeros, mientras que el polímero ramificado posee cadenas principales y secundarias tal como se podrían observar las ramas de los árboles (18; 31). También se pueden clasificar según el número de unidades que se repiten a lo largo de la cadena, de esta forma tenemos los homopolímeros que están formados por una sola unidad que se repite, mientras que los heteropolímeros o copolímeros son aquellos polímeros que poseen dos o más unidades de repetición que forman la cadena (31). Otra categoría depende del comportamiento del polímero, de esta forma encontramos los polímeros termoplásticos, los termoestables y los elastómeros (18).

Los termoplásticos son polímeros con las cadenas entrelazadas. Estas pueden o no ser ramificadas y presentan un comportamiento dúctil cuando son calentados. Las cadenas de los termoplásticos se pueden desenlazar mediante la aplicación de un esfuerzo de tensión e incrementando la temperatura. Estos materiales pueden ser reciclados de forma sencilla puesto que al calentarse se ablandan y se terminan fundiendo. Así mismo pueden ser amorfos o cristalinos (18).

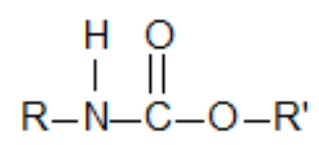
Los polímeros termoestables están constituidos por largas cadenas de moléculas que pueden ser ramificadas o lineales. Las moléculas están fuertemente unidas por medio de enlaces cruzados, es por lo mismo que se forman arreglos tridimensionales. Los polímeros termoestables generalmente son más resistentes que los termoplásticos pero también son más frágiles. Su reciclaje es bastante complicado puesto que con el aumento de la temperatura en lugar de fundirse se degradan (18).

Finalmente encontramos a los elastómeros o hules; estos materiales poseen una deformación elástica superior al 200%. Las cadenas poliméricas de estos materiales poseen la forma de espiral permitiendo un estiramiento reversible con la aplicación de una fuerza (18).

La reacción mediante la cual se genera un polímero se llama polimerización y existen dos métodos que son los más comúnmente utilizados para este proceso, así que la polimerización puede ser por adición o por condensación. La polimerización por adición se da cuando el monómero presenta un enlace no saturado, dicho enlace se rompe y permite que se pueda agregar otro monómero. La funcionalidad corresponde al número de sitios donde se puede fijar una nueva molécula de la unidad de repetición. Esta reacción necesita de un iniciador que permite la formación de radicales libres. Así mismo existen los terminadores de cadena que son compuestos químicos que finalizan la reacción generando polímeros con un peso molecular promedio particular (18).

El otro método de polimerización es por condensación, o reacciones de crecimiento por pasos. Para poder llevar a cabo esta reacción es necesaria la presencia de uno o más precursores. Durante el proceso se va condensando algún subproducto, mientras se va formando la cadena polimérica, en la cual los monómeros se difunden hacia los extremos para poder llevar a cabo la reacción. La reacción se termina cuando no hay más monómeros capaces de llegar a los extremos de la cadena para reaccionar (18).

En el área biomédica se ha utilizado un gran número de polímeros. Se ha demostrado que los egipcios hacia el año 3500 a.C. suturaban heridas con polímeros naturales. En la década de los años 30, los materiales con aplicaciones biomédicas estaban restringidos a materiales de origen natural, pero con el



respectivamente (31). El grupo uretano puede ser considerado como una mezcla de los grupos amida y ester, es por eso que las propiedades de los poliuretanos se encuentran entre aquellas de los poliésteres y las poliamidas (31).

Es importante señalar que existe un grado de inmiscibilidad entre los segmentos suaves y rígidos de este polímero por lo cual, a pesar de tener una apariencia macroscópica isotrópica, a escala microscópica no es totalmente homogéneo. El término poliuretano implica que el monómero, a partir del cual es sintetizado el poliuretano, es un uretano y por lo tanto el grupo dominante es el grupo uretano. Dependiendo de los diferentes pasos de la síntesis las propiedades como la rigidez, la cristalinidad, la flexibilidad, entre otras pueden ser modificadas (31).

Las reacciones de polimerización del poliuretano cuentan con partes tanto de la polimerización por adición como de la polimerización por condensación. La cinética de la reacción se asemeja más a la de condensación. El método más común para la síntesis de poliuretanos para aplicaciones biomédicas es conocido como de dos pasos, en el primero se involucra la síntesis de un prepolímero a partir de un diol por exceso de diisocianato. Este prepolímero generalmente posee un bajo peso molecular y es un líquido viscoso. Enseguida se agrega un diol o diamina como alargador de cadena y reacciona con el prepolímero, formando así el poliuretano copolímero.

## **1.5 Ensayos de caracterización**

Las pruebas de caracterización permiten identificar las diferentes propiedades de los materiales, algunas pruebas permiten la identificación de la estructura interna del material mientras que algunas otras ofrecen información sobre las propiedades físicas del compuesto.

Los métodos espectrométricos son aquellos métodos analíticos que se basan en la espectroscopia atómica y molecular. La espectroscopia es el término usado que hace referencia a las interacciones entre la radiación electromagnética y la materia. Los métodos espectrométricos son los que realizan una medición de la intensidad de la radiación con la ayuda de un transductor fotoeléctrico o algún otro dispositivo electrónico (33; 34). En el presente trabajo se utilizaron tres diferentes métodos espectroscópicos: Espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia Raman y emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP). Además se realizaron pruebas de difracción de rayos X con el fin de determinar la composición cristalina de la hidroxiapatita.

### 1.5.1 Difracción de rayos X (DRX)

Los métodos de caracterización que involucran rayos X se basan en la excitación de la muestra por medio de dicha forma de radiación electromagnética. Los rayos X pueden ser generados mediante el bombardeo de electrones o de partículas alfa. La energía emitida por los rayos X es igual a la energía de unión de los electrones involucrados en la transición (35).

La técnica de difracción de rayos X es un método de dispersión y uno de los métodos analíticos emergentes a finales del siglo XIX y principios del XX. Esta técnica permite identificar la estructura cristalina de los materiales, haciéndola una de las más poderosas técnicas por la alta precisión con la que determinan los arreglos atómicos en el espacio (35; 36).

Los cristales o sólidos cristalinos son una de las dos categorías de sólidos (cristalinos y amorfos). Los cristales poseen un ordenamiento estricto y regular, es decir que sus átomos, moléculas o iones ocupan posiciones específicas en un arreglo tridimensional. Esto permite que se conozca la estructura del material con sólo conocer la estructura de repetición. Gracias a la distribución de estas partículas en el sólido cristalino, las fuerzas netas de atracción intermolecular son máximas. La red es una colección de puntos llamados puntos de red y están ordenados con un patrón de periodicidad tal que los alrededores son idénticos. Una red puede ser uni, bi o tridimensional (37; 38).

Las fuerzas que mantienen la estabilidad del cristal pueden ser iónicas, covalentes, de van der Waals o una combinación de todas ellas. Los cristales pueden ser iónicos, covalentes, moleculares o metálicos (37).

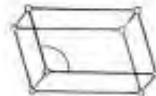
Los cristales iónicos están formados por especies cargadas y los cationes y aniones suelen ser de diferente tamaño. El radio de los iones permite conocer la estructura y la estabilidad de estos cristales. No conducen electricidad y poseen elevados puntos de fusión. Los átomos de los cristales covalentes se mantienen unidos en una red tridimensional por medio de enlaces covalentes. En un cristal molecular los puntos reticulares están ocupados por moléculas que se mantienen unidas por medio de fuerzas de van der Waals, esto los hace suaves y con bajos puntos de fusión.

Los cristales metálicos tienen la más simple de las estructuras, ya que cada punto reticular está ocupado por un átomo del mismo metal. Los cristales metálicos generalmente poseen una estructura cúbica centrada en el cuerpo (BCC) o centrada en las caras (FCC), pero también pueden llegar a ser hexagonales de empaquetamiento compacto. Esto provoca que los elementos metálicos sean muy densos. Así mismo los cristales metálicos son buenos conductores del calor y de la electricidad (37).





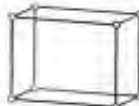
**aP**



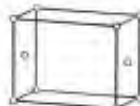
**mP**



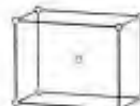
**mC**



**oP**



**oA**



**oI**



**oF**



**tP**



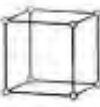
**tI**



**hP**



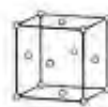
**hR**



**cP**



**cI**



**cF**

La difracción de rayos X es el resultado de la dispersión de átomos posicionados en arreglos regulares. Los espaciamentos interplanares de los átomos y los mismos átomos corresponden a la longitud de onda de los rayos X (magnitud de Ångströms,  $10^{-10}\text{m}$ ). La ley de Bragg es la base de la difracción de rayos X (35).

$$\text{Ley de Bragg} \quad n\lambda = 2d \sin \theta \quad (1)$$

donde  $n$  es un número natural que representa el orden de la reflexión,  $\lambda$  corresponde a la longitud de onda,  $d$  es la distancia interplanar y  $\theta$  el ángulo de incidencia (35; 38).

El espacio entre los diferentes planos de átomos sirve como una rejilla tridimensional. Los sólidos cristalinos muestran una estructura periódica de largo alcance a través de los picos de la difracción de Bragg. Los picos de Bragg son distribuidos simétricamente en patrones de difracción. La fuente más utilizada para esta prueba es la radiación de  $\text{Cu-K}\alpha$ , cuya longitud de onda es de  $0.1541\text{nm}$  (35).

La difracción de rayos X es utilizada tradicionalmente para obtener las características de la estructura cristalina de sistemas cristalinos. Existe una técnica especial para el análisis de la estructura cristalina de nanocristales conocida como difracción de rayos X de alta energía (HEXRD por sus siglas en inglés) (35).

La determinación de la estructura cristalina de los materiales ha permitido la realización de bases de datos cristalográficos. Algunos ejemplos de estas bases de datos son las bases de datos: Inorganic Crystal Structure Database (ICSD), Cambridge Structural Database (CSD) y Metals Crystallographic Data File (CRYST-MET). La primera base de datos contiene todas las estructuras que no contienen enlaces C-H y que no son metales o aleaciones. Esta base de datos es gestionada en Alemania. CSD es manejada por la universidad de Cambridge en Reino Unido y contiene todas las estructuras cristalinas que poseen enlaces C-H, es decir estructuras orgánicas y organometálicas. Finalmente la base de datos CRYST-MET incluye metales, aleaciones e incluso semiconductores (38).

La mayoría de las estructuras cristalinas son determinadas en un laboratorio convencional de difracción de rayos X, sin embargo, existen modernos difractómetros que ofrecen una mejor resolución gracias a la optimización de los instrumentos ópticos. La principal diferencia entre la técnica de difracción de polvos y la de un sólo cristal radica en la pérdida de información resultado de la proyección rotacional de la rejilla tridimensional (40).

### 1.5.2 Espectroscopia infrarroja (FTIR)

La espectroscopia infrarroja corresponde al estudio de las interacciones de la radiación electromagnética en la región infrarroja con la materia. Esta espectroscopia es sensible a la presencia de grupos funcionales dentro de una muestra. La espectroscopia infrarroja permite la identificación de sustancias desconocidas, así como la identificación por medio de comparación de espectros. Otra posibilidad brindada por este análisis es conocer la concentración dado que la intensidad de los picos de los espectros es proporcional a la concentración (41).

Esta técnica permite el análisis de sólidos, líquidos, gases, semisólidos, polímeros y polvos, además de ser una técnica relativamente rápida. Sin embargo, no todos los compuestos pueden ser vistos por medio de esta espectroscopia (41).

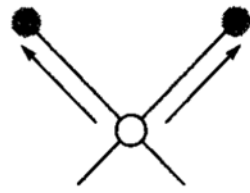
La región infrarroja del espectro electromagnético corresponde a las longitudes de onda entre 0.75 a 1000  $\mu\text{m}$ . Principalmente este tipo de análisis entrega los resultados en función del número de onda. La región infrarroja está dividida en tres: infrarrojo cercano, medio y lejano. La región del infrarrojo medio (670 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) se utiliza en mayor parte para el análisis cualitativo de compuestos orgánicos así como la determinación estructural con la ayuda de los espectros de absorción. En los últimos años con la llegada de los espectrómetros de transformada de Fourier aumentó el número de aplicaciones para este tipo de radiación (33).

Los espectros tanto de absorción como de emisión de compuestos moleculares en la región del infrarrojo pueden ser explicados tomando en cuenta que los resultados muestran diferentes cambios energéticos producidos por las transiciones de las moléculas de diferentes estados energéticos vibracionales y rotacionales (33).

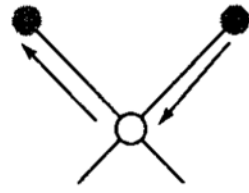
Existe una relación entre la energía o la frecuencia y el número de onda. La frecuencia de la radiación absorbida coincide con la frecuencia de vibración molecular, que es la causa del proceso de absorción (33).

La radiación infrarroja no posee energía suficiente para producir transiciones electrónicas que pueden ser encontradas en la región del ultravioleta o del visible, es por eso que la radiación IR se limita generalmente sólo a compuestos moleculares para los que existen diferencias de energía entre los distintos estados rotacionales y vibracionales (33).

Una molécula debe de tener un cambio en su momento dipolar cuando llega a vibrar o a girar, con esto se asegura la absorción de la radiación infrarroja. Bajo estas circunstancias el campo eléctrico de la radiación electromagnética interacciona con la molécula, modificando así la amplitud de algunos movimientos. El momento dipolar está determinado por la diferencia de carga y la separación

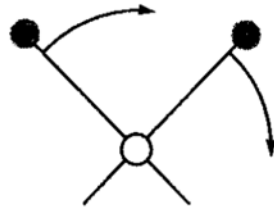


Simétrica

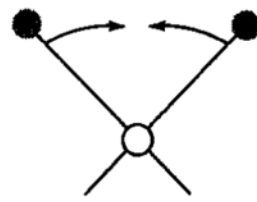


Antisimétrica

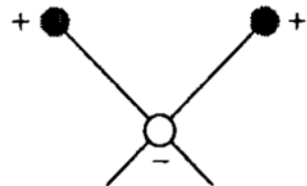
(a) Vibraciones de tensión



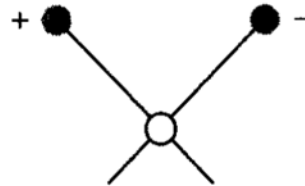
Balaceo en el plano



Tijereteo en el plano



Aleteo fuera del plano



Torsión fuera del plano

(b) Vibraciones de flexión

interatómica sobre el eje de enlace entre dos átomos, mientras que las segundas son caracterizadas por una modificación en el ángulo entre dos enlaces teniendo de esta forma los siguientes tipos: tijereteo, balanceo, aleteo y torsión (Figura 5). Aparte de las vibraciones antes mencionadas puede ocurrir una interacción o acoplamiento de las vibraciones si influyen sobre enlaces con un mismo átomo central (33; 34).

Las vibraciones de estiramiento pueden ser representadas con el modelo mecánico del movimiento armónico simple, es decir por medio de dos masas unidas por un resorte. Bajo la suposición que una masa se mantiene fija, solo vibra una masa, de esta forma la masa libre se desplaza una distancia  $x$  desde la posición de equilibrio bajo la aplicación de una fuerza  $F$  (33; 41; 42; 34). Aplicando la ley de Hooke que nos indica la proporcionalidad entre la fuerza y el desplazamiento, tenemos:

$$F = -kx \quad (2)$$

Donde  $k$  es la constante de fuerza que depende de la rigidez del resorte y el signo negativo muestra que se trata de una fuerza restauradora, es decir que se opone a la dirección del desplazamiento, tratando de regresar la masa a su posición inicial.

Por lo que concierne a la energía potencial  $E$  disminuye o aumenta al comprimir o estirar el resorte. Esta energía es proporcional al trabajo requerido para desplazar la masa. Entonces la variación de la energía potencial  $dE$  es igual a la fuerza  $F$  multiplicada por la diferencia de distancia  $dx$ :

$$dE = -F dx \quad (3)$$

Combinando las ecuaciones 2 y 3 e integrando entre la posición inicial  $x=0$  y  $x$  tenemos:

$$\begin{aligned} dE &= kx dx \\ \int_0^E dE &= \int_0^x kx dx \\ E &= \frac{1}{2} kx^2 \end{aligned} \quad (4)$$

El movimiento de la masa en función del tiempo puede ser deducido basándonos en la segunda ley de Newton de la mecánica clásica que indica que la fuerza es proporcional a la masa por su aceleración. Tomando la aceleración como la segunda derivada del tiempo y sustituyendo esto en la ecuación 2 tenemos:

$$m \frac{d^2x}{dt^2} = -kx \quad (5)$$

Una solución para esta ecuación diferencial es una función periódica cuya segunda derivada sea igual a la función original multiplicada por una constante. Un resultado es representado en la ecuación 6.

$$x = A \cos(2\pi\nu_m t) \quad (6)$$

Donde  $\nu_m$  corresponde a la frecuencia natural del oscilador y  $A$  es la amplitud máxima del movimiento. La segunda derivada de la ecuación 6 nos da:

$$\frac{d^2x}{dt^2} = -4\pi^2\nu_m^2 A \cos(2\pi\nu_m t) \quad (7)$$

Al sustituir las ecuaciones 6 y 7 a la ecuación 5 obtenemos

$$-m4\pi^2\nu_m^2 A \cos(2\pi\nu_m t) = -k A \cos(2\pi\nu_m t)$$

$$m4\pi^2\nu_m^2 = k$$

$$\nu_m^2 = \frac{k}{m4\pi^2}$$

$$\nu_m = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (8)$$

Como se puede observar, la frecuencia natural del oscilador no depende de la energía del sistema, los cambios energéticos sólo modifican la amplitud de la vibración. Para el sistema con dos masas se sustituye la masa  $m$  por la masa reducida  $\mu$ :

$$\mu = \frac{m_1 \times m_2}{m_1 + m_2} \quad (9)$$

Estas ecuaciones no describen completamente el comportamiento de las partículas de tamaño atómico, puesto que la naturaleza cuantizada de las energías vibracionales moleculares y otras energías atómicas no están incluidas, pero este sistema permite deducir las ecuaciones de onda de la mecánica cuántica en donde las soluciones para las energías potenciales tiene la siguiente forma:

$$E = \left( \nu + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (10)$$

donde  $h$  es la constante de Planck y  $v$  es el número cuántico vibracional que solo toma valores enteros positivos. Al sustituir la ecuación 8 en la ecuación 10 obtenemos:

$$E = \left( v + \frac{1}{2} \right) h\nu_m \quad (11)$$

Mediante las mediciones de vibración infrarroja y con la ayuda de la ecuación 7 se puede determinar la constante de fuerza de los diferentes tipos de enlace químicos, así mismo se puede encontrar el número de onda de la banda de absorción fundamental.

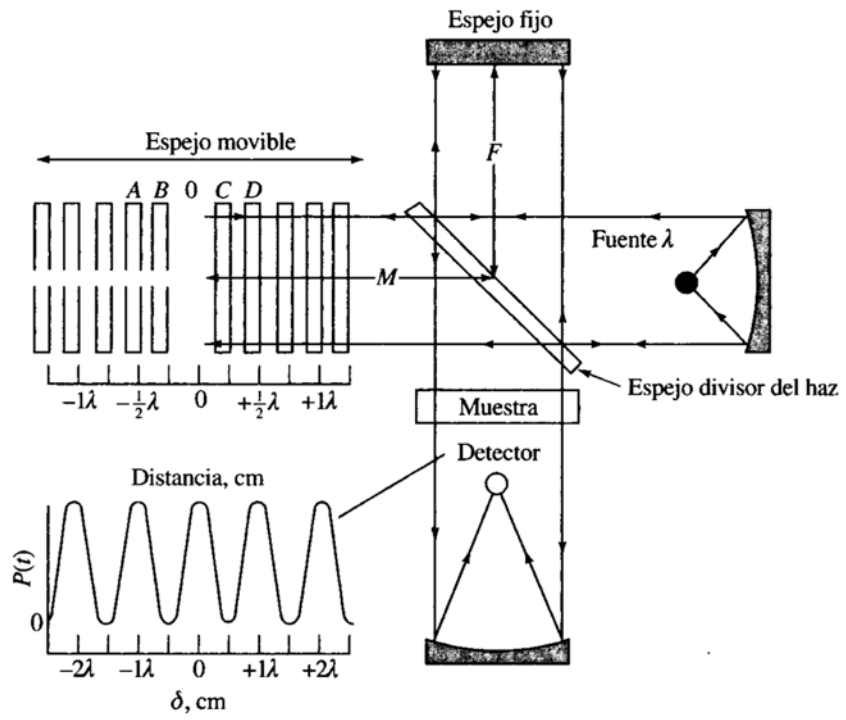
Para definir el movimiento de una molécula hace falta considerar el movimiento de toda la molécula en el espacio, la rotación de la molécula alrededor de su centro de gravedad y el movimiento de cada uno de sus átomos respecto a los demás, es decir las vibraciones individuales. Para definir el movimiento de traslación de la molécula se requieren 3 grados de libertad, de igual forma se necesitan 3 grados de libertad para definir la rotación de la molécula, entonces las vibraciones posibles para una molécula poliatómica son representadas por la ecuación  $3N - 6$ , donde  $N$  representa el número de átomos de la molécula. Cabe mencionar que de esas  $3N - 6$  posibles vibraciones sólo muestran un pico de absorción aquellas que generan un cambio en el momento dipolar (33).

Algunos factores generan la producción experimental de menos picos de absorción que los esperados teóricamente, tales como la simetría de las moléculas que no produce cambio en el momento dipolar para algunas vibraciones en particular, las energías de 2 o más vibraciones que son idénticas o casi idénticas, la intensidad de absorción baja que no es detectable por el equipo y la energía vibracional que se encuentra fuera del rango de trabajo del equipo (33).

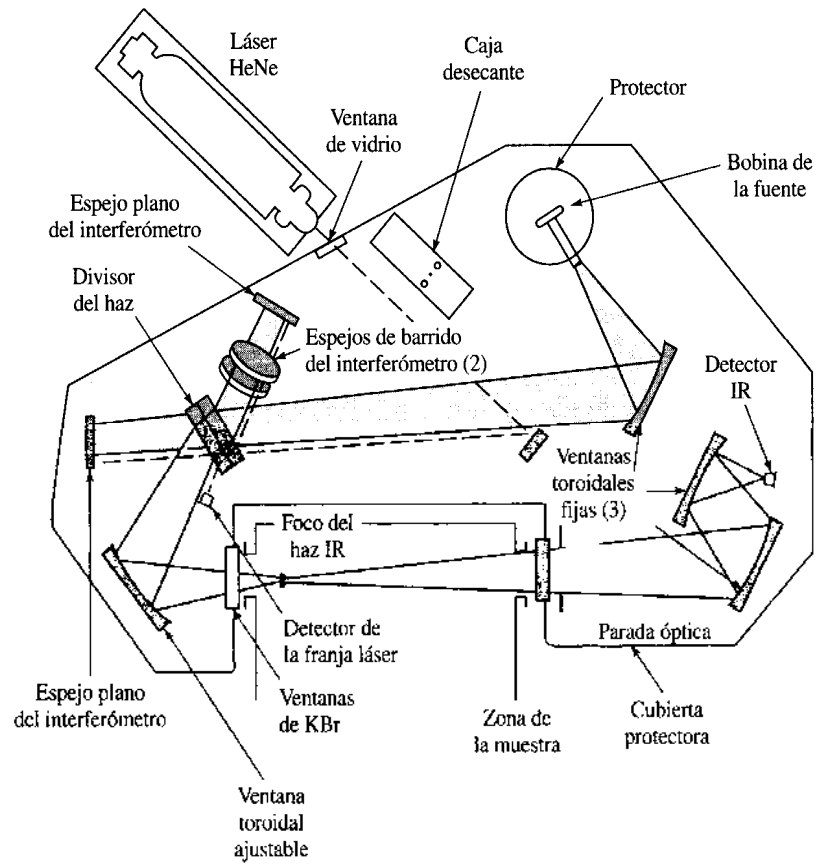
Existe el caso donde se presentan más bandas de las esperadas. Esto se debe a la existencia de sobretonos que aparecen a frecuencias dos o tres veces mayores que la frecuencia fundamental, además se pueden encontrar bandas de combinación cuando algún fotón genera simultáneamente dos modos vibracionales (33).

La energía de una vibración puede verse modificada por los átomos de la molécula, es decir, los otros osciladores que pueden afectar al oscilador o acoplarse. Algunos factores que influyen en los acoplamientos son: la presencia de un átomo común en dos vibraciones, la interacción entre las vibraciones de flexión, la deformación del ángulo del enlace debido a un estiramiento o la casi nula interacción entre grupos separados por dos o más enlaces (33).

Por lo que concierne a los instrumentos de medición de la absorción en el infrarrojo, existen tres tipos: espectrofotómetros dispersivos con monocromador de







### 1.5.3 Espectroscopia Raman

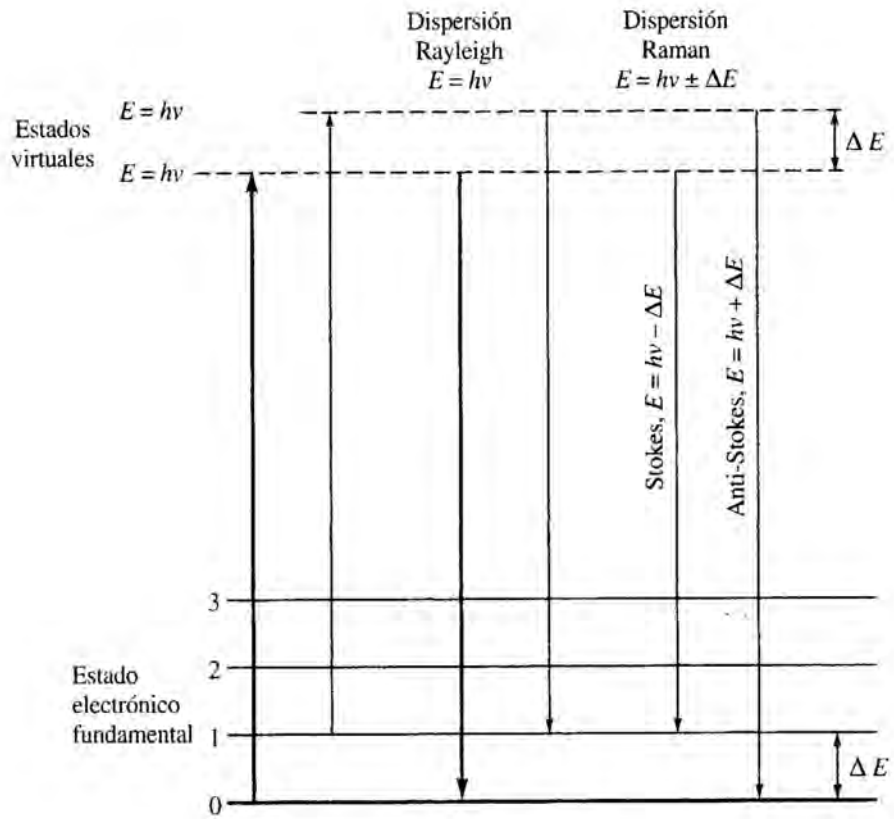
En el año de 1928 el físico hindú C. V. Raman observó que la longitud de onda visible de una pequeña fracción de la radiación dispersada por ciertas moléculas difiere de la del haz incidente, aunado a esto observó que los desplazamientos de la longitud de onda dependen de la estructura química de las moléculas que causan esta dispersión (33; 34).

La dispersión Raman corresponde al mismo tipo de cambios vibracionales asociados a la absorción infrarroja y existen similitudes impresionantes entre los espectros Raman e IR, sin embargo, existen diferencias entre los grupos que son activos en ambas técnicas, lo que comúnmente las hace complementarias. Una de las grandes ventajas de la espectroscopia Raman es el uso de agua como solvente, además de que las señales son generadas en la región del infrarrojo cercano y del visible. Sin embargo, este tipo de análisis comenzó a ser utilizado solo hasta cuando se pudo disponer de los rayos láser, lo que ocurrió hasta los años 60 (33).

En la espectroscopia Raman, la intensidad de las señales depende únicamente de las condiciones de excitación de las vibraciones moleculares, mientras que en el caso de IR las intensidades de las bandas de absorción decrecen conforme se van acercando a la región del infrarrojo medio. Por otro lado, en los espectros IR se tiene la superposición de diferentes sobretonos, lo que provoca que tenga baja selectividad estructural comparada con la espectroscopia Raman (42).

Los espectros Raman son obtenidos cuando se hace irradiar una muestra con una fuente potente de rayos láser de radiación monocromática visible o infrarroja. En ese proceso se registra el espectro de la radiación dispersada a un cierto ángulo, generalmente 90°. Con el fin de evitar el fenómeno de fluorescencia, las longitudes de onda de la excitación son eliminadas de las bandas de absorción. Dada que las intensidades de la dispersión Raman máximo son del 0.001% de la intensidad de la fuente, podría parecer difícil su detección, sin embargo, en la actualidad hay detectores muy sensibles que facilitan la detección (33).

La muestra es irradiada con un haz monocromático y como la longitud de onda de la excitación se encuentra muy lejos de la banda de absorción, se considera que la excitación afecta un estado virtual de nivel energético. Una molécula en el nivel vibracional fundamental absorbe un fotón de energía y emite otro de menor energía. Cuando la radiación dispersada es de frecuencia menor que la radiación de excitación se conoce con el nombre de difusión de Stokes. Cuando las moléculas se encuentran en un estado vibracional excitado se puede dispersar radiación de manera inelástica y por lo tanto producir una señal de



excitación debe ser escogida con cuidado dado que la fluorescencia representa problemas para la medición de la señal (33).

A diferencia de la espectroscopia infrarroja los componente ópticos del equipo Raman pueden ser de vidrio y la fuente láser puede ser enfocada con facilidad sobre una zona específica de la muestra, de igual forma la radiación emitida se enfoca eficazmente sobre la rendija de entrada o salida del espectrómetro (33).

Al igual que los espectrómetros infrarrojos existen equipos de Raman con transformada de Fourier, los cuales contienen también un interferómetro de Michelson. Este tipo de equipos utiliza un láser Nd-YAG el cual emite en una longitud de onda de 1064 nm. Esto elimina virtualmente la fluorescencia de las muestras, sin embargo, la sensibilidad de este láser es 23 veces menor que la de un láser de Ar (33; 42).

#### **1.5.4 Dispersión de luz**

El análisis del tamaño de las partículas siempre ha presentado un gran problema dado que todos los objetos son tridimensionales y los únicos que pueden ser descritos con una sola cantidad son la esfera por medio de su diámetro y el cubo por medio de su lado. Conociendo este parámetro se puede calcular el área superficial y el volumen del objeto. Además si se conoce la densidad de una partícula esférica también se puede calcular su masa. Los métodos comunes suponen que las partículas son esféricas y las tratan como si lo fueran o convierten la cantidad medida en una esfera equivalente. Otro problema presente en la medición del tamaño de las partículas se da al realizar el análisis con diferentes métodos, ya que cada uno puede llegar a presentar resultados diferentes. La solución para estos problemas es utilizar la misma técnica de medición y evaluar la muestra realizando comparaciones de tamaños de partícula y distribuciones del mismo. Varias técnicas muestran sus resultados mediante la suspensión de las partículas en un líquido en el cual son insolubles. El líquido puede presentar una suspensión homogénea en concentración y uniforme en tamaño para introducirla en el equipo de instrumentación, además la suspensión de la muestra en líquidos inhibe las fuerzas de cohesión que pudieran generar diferentes efectos como la coagulación o la aglomeración de las partículas. Así mismo los líquidos de suspensión deben ser químicamente inertes para los materiales que entran en contacto con el equipo (33).

El método de dispersión de luz es una técnica muy eficaz que permite sondear la dinámica de soluciones y medir el tamaño de partículas. Esta técnica permite obtener la información del tamaño de partículas con diámetros que van desde algunos nanómetros hasta casi 5  $\mu\text{m}$  (33).

Esa técnica necesita mediciones del corrimiento Doppler de la frecuencia de la luz dispersada Rayleigh como resultado del movimiento Browniano de las partículas. Este tipo de movimiento genera fluctuaciones en la intensidad de la dispersión en función del tiempo y genera un ensanchamiento de la línea de Rayleigh. En el caso de soluciones macromoleculares el ancho de la línea de Rayleigh es directamente proporcional al coeficiente de difusión traslacional ( $D_T$ ) (33).

En los ensayos de dispersión de luz la muestra está disuelta o dispersada en un medio y está iluminada mediante un láser monocromático. Para la medición de los anchos Doppler el equipo utiliza técnicas de pulsos de luz para trasladar las frecuencias ópticas a frecuencias cercanas a 0Hz. Generalmente estos equipos utilizan un tubo fotomultiplicador (TFM) como mezclador lineal debido a que su salida es proporcional al cuadrado del campo eléctrico que entra en contacto con la superficie fotosensible. La dependencia con respecto al tiempo de las fluctuaciones de la intensidad es utilizada para la determinación del tamaño de la partícula (33).

La señal de salida del TFM es proporcional a la intensidad de la radiación dispersada. Como las partículas dispersadas se encuentran en movimiento continuo, la misma intensidad observada fluctúa con el tiempo. Entre más pequeñas sean las partículas más rápido fluctúa la intensidad (33).

Hace falta determinar la función de autocorrelación de la señal, con esto la señal se multiplica como una versión retrasada de sí misma y el producto es promediado en el tiempo. Esta función corresponde a la transformada de Fourier del espectro de potencia, esta función debe ser una disminución exponencial cuya constante de tiempo  $\tau$  está directamente relacionada con el coeficiente de difusión traslacional de las partículas esféricas isotrópicas en movimiento browniano (33).

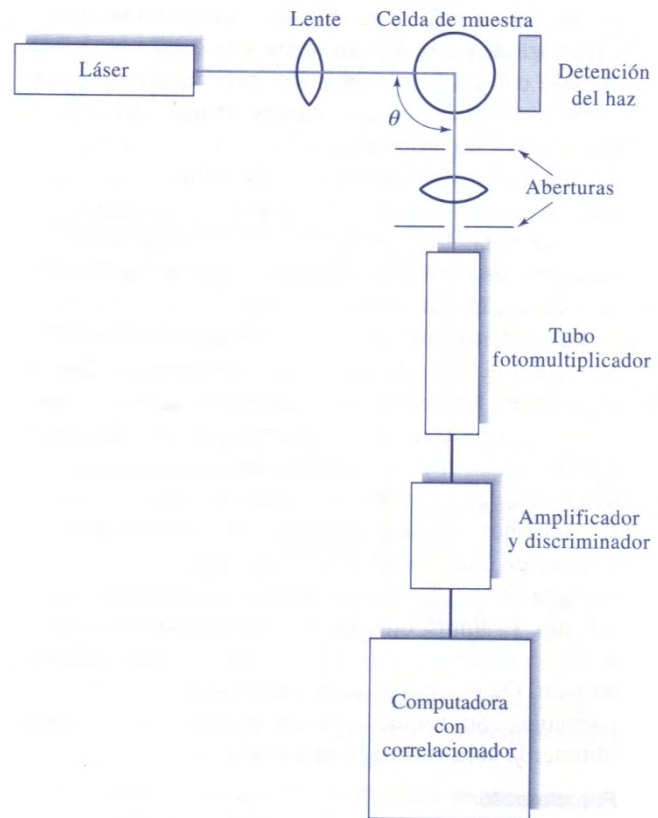
$$\tau = D_T q^2 \quad (12)$$

Donde  $q$  corresponde al módulo del vector de dispersión determinado por:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (13)$$

donde  $n$  representa el índice de refracción de líquido en suspensión,  $\theta$  el ángulo de dispersión y  $\lambda$  la longitud de onda de la radiación incidente.

El tamaño de la partícula es obtenido mediante el coeficiente de difusión traslacional y la información de la forma de la partícula. Para partículas no esféricas el diámetro obtenido es de una esfera hipotética que tendría el mismo coeficiente de difusión traslacional (33).



La cantidad de muestra utilizada, depende del tamaño de la partícula, de la potencia del láser y del índice de refracción de la misma. De forma general se requieren por lo menos mil partículas de la muestra para un correcto análisis (33).

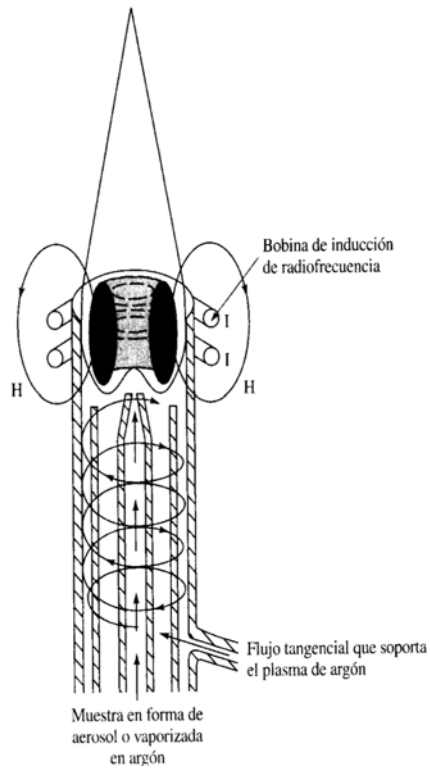
La luz dispersada es medida en cierto ángulo (generalmente 90°). La luz dispersada que llega al fotodetector actúa como un mezclador no lineal. A la salida del fotodetector se puede procesar la señal mediante técnicas de conteo de fotones (33).

#### **1.5.5 Emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP)**

Los métodos espectroscópicos de emisión de plasma, presentan baja susceptibilidad a interferencias químicas, además permiten registrar en forma simultánea los espectros de varios elementos a la vez. Otra ventaja es que las fuentes de plasma facilitan la determinación de concentraciones bajas de los elementos que son muy resistentes a la descomposición térmica. Los espectros de emisión a partir de fuentes de plasma llegan a ser muy complejos, lo que representa ventajas en cuanto a la búsqueda la información cualitativa pero aumentan la probabilidad de interferencias. Este tipo de espectroscopia requiere mayor resolución y un equipo óptico más caro que los equipos de absorción atómica (33).

El plasma es una mezcla gaseosa eléctricamente conductora con una concentración importante de cationes y electrones, tales que la carga neta sea nula. Generalmente se utiliza el plasma de argón para este tipo de análisis y los iones y electrones son las principales especies conductoras, sin embargo, los cationes provenientes de la muestra también están presentes en menor cantidad. Los iones de argón dentro del plasma son capaces de absorber potencia suficiente de una fuente exterior y así conservar la temperatura en un nivel en donde la ionización mantenga el plasma que llega a alcanzar temperaturas de hasta 10 000 K. Existen tres diferentes tipos de plasma de alta temperatura, el primero es el plasma acoplado por inducción, el segundo es el plasma de corriente continua y el último es el plasma inducido por microondas, este último es el menos utilizado (33).

La fuente característica para el plasma acoplado inductivamente es conocida como antorcha, la cual está constituida de tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de argón. El diámetro del tubo más grande es casi siempre alrededor de 2.5 cm. Este tubo en su parte superior cuenta con una bobina de inducción refrigerada con agua y alimentada con un generador de radiofrecuencia que puede llegar a producir potencias de entre 0.5 hasta 2 kW. La ionización del argón comienza con una chispa producida con la ayuda de una bobina Tesla. Los iones resultantes y sus electrodos asociados interaccionan con





Un plasma característico posee un núcleo opaco, blanco, brillante y muy intenso, cubierto por una cola en forma de llama en la parte superior. El núcleo del plasma llega a sobresalir algunos milímetros del tubo y produce un espectro atómico del argón que se superpone a un espectro continuo, éste último es característico de las reacciones de recombinación de electrones y iones y de la bremsstrahlung que es una radiación continua generada por las partículas cargadas cuando se detienen o bajan su velocidad. En la zona que se sitúa por entre los 10 y 30 mm por encima del núcleo se desvanece la emisión continua y por lo mismo el plasma es transparente ópticamente hablando. Las observaciones generalmente son realizadas a una altura de entre 15 y 20 mm sobre la bobina de inducción, donde la temperatura es alrededor de 6 000 y 6 500 K. Esta zona posee una radiación de fondo libre de las líneas de argón y resulta más fácil de análisis (33; 43).

En los espectrómetros de plasma acoplados inductivamente se puede observar radialmente la antorcha de forma perpendicular a su eje o de forma axial, de igual forma el equipo puede poseer un sistema de conmutación para ver ambos esquemas. En el arreglo axial la intensidad de radiación resultante es mayor al mismo tiempo que la precisión es superior produciendo límites de detección inferiores, pero la cola del plasma frío debe ser eliminada de la trayectoria de la luz con el fin de evitar interferencia (33; 43).

Los átomos de la muestra tienen un tiempo de residencia de 2 ms antes de alcanzar el punto de observación, durante este período los átomos son sometidos a temperaturas que oscilan entre 5 500 y 8 000 K. La atomización producida en los plasmas es más completa que la generada por las flamas en los métodos de absorción además de presentar menos interferencias químicas. Otra ventaja de este método es que la atomización es producida en un medio químicamente inerte, lo que aumenta el tiempo de vida del analito y evita la formación de óxidos. Las curvas de calibración son generalmente lineales dado que la temperatura del plasma se mantiene constante y estas curvas abarcan varios órdenes de magnitud en la concentración (33; 43).

Los equipos ideales para este tipo de absorción deben poseer una resolución de 0.01 nm, la adquisición y la recuperación de la señal, debe ser rápida, contener un mínimo de luz parásita, una alta exactitud y precisión en la identificación y selección de longitud de onda, una fácil corrección del fondo y una elevada estabilidad con respecto a los cambios ambientales (33).

La mayoría de los equipos utilizados abarcan el espectro ultravioleta y visible, algunos equipos diseñados para trabajar en condiciones de vacío logran trabajar hasta 150 nm. Los equipos para este tipo de espectroscopia pueden ser secuenciales, de varios canales simultáneos y de transformada de Fourier (33).

La espectroscopia de emisión de plasma, permite la identificación de todos los elementos metálicos. Para la observación de estos elementos en el analito la muestra debe ser introducida en la fuente en forma de solución generalmente acuosa. Como una gran cantidad de materiales de interés no se pueden disolver de forma directa en solventes comunes, hace falta de un tratamiento preliminar para obtener la disolución del analito para que quede preparado para la atomización. Los procesos de descomposición de los materiales requieren de un tratamiento a altas temperaturas, lo cual incrementa el riesgo de perder el analito por volatilización o como partículas en humo. Por otro lado, los reactivos utilizados para el proceso de descomposición llegan a introducir interferencia. Algunos métodos comunes para la descomposición y disolución de las muestras incluyen tratamientos con ácidos calientes, la oxidación con reactivos líquidos (digestión húmeda), la combustión en una bomba de oxígeno, la digestión a una alta temperatura y la fusión a alta temperatura (33; 43).

Las curvas de calibración, consisten en una gráfica mostrando la señal eléctrica proporcional a la concentración del analito. Dichas curvas tienen la cualidad de ser lineales; cuando se muestra algún tipo de desviación indica que se ha abarcado un intervalo demasiado grande. Con frecuencia se utiliza un patrón interno y en este caso el eje vertical de la curva representa la relación o el logaritmo de la relación entre la señal detectada del analito y la señal del patrón interno (33; 43).

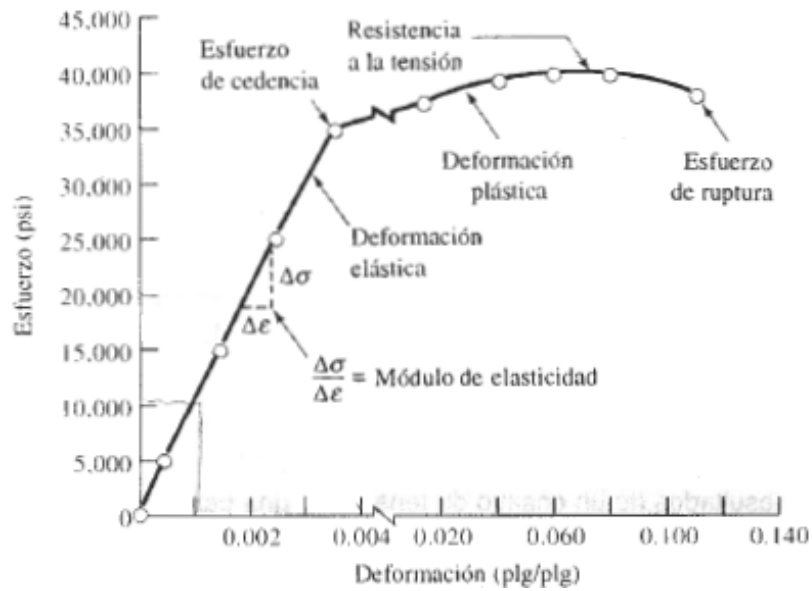
### 1.5.6 Pruebas mecánicas de compresión

Los ensayos mecánicos de los materiales miden la resistencia de un material a una fuerza estática o gradualmente aplicada. Para la realización de este tipo de pruebas la probeta se coloca en la máquina de pruebas y se aplica una fuerza  $F$ , la cual es llamada carga. Según el sentido de la fuerza  $F$  se dirá si el ensayo es de tensión o de compresión (18).

Para un material dado, los resultados de un solo ensayo son aplicables a todo tamaño y formas de muestras, siempre y cuando se conviertan la fuerza en esfuerzo y la elongación (o distancia de calibración) en deformación. El esfuerzo y la deformación se definen mediante las siguientes ecuaciones (18):

$$\text{Esfuerzo} = \sigma = \frac{F}{A_0} \quad (14)$$

$$\text{Deformación} = \varepsilon = \frac{|l - l_0|}{l_0} \quad (15)$$



los electrones secundarios emitidos por la superficie de una muestra bombardeada por un haz de electrones acelerados. Esto sería la base de lo que se conoce actualmente como microscopía electrónica de barrido (44; 45; 46).

El microscopio electrónico de barrido es un microscopio que usa electrones para la formación de la imagen de cuerpos generalmente opacos a los electrones. Se utiliza principalmente para análisis de las superficies de los materiales. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra. También produce imágenes de alta resolución. En este caso se reduce el campo de observación y se obtiene una alta magnificación. La preparación de las muestras es relativamente fácil pues la mayoría de los equipos SEM sólo requieren que las muestras sean conductoras (44; 46).

Un microscopio electrónico de barrido está formado por las siguientes partes (44; 46; 47):

- **Óptica electrónica:** Constituida por un cañón electrónico, los dispositivos de barrido y las lentes electromagnéticas (generalmente 3). El cañón genera y acelera los electrones, está formado por un cátodo de filamento de tungsteno, un electrodo regulador y un ánodo. Las lentes electromagnéticas, también llamadas condensadoras, producen imágenes reales de la imagen de la fuente de emisión.
- **Cámara del espécimen:** Permite colocar las muestras a analizar. La platina de este tipo de microscopios además de realizar movimientos perpendiculares al haz, también puede girar, inclinándose en diferentes direcciones.
- **Circuitos de alimentación de la óptica electrónica, de generación de alto voltaje y de producción de barrido:** El generador de barrido permite la sincronía entre el barrido de la superficie de la muestra y el barrido del monitor de observación.
- **Detectores de electrones:** Algunos de los detectores más comunes son los de electrones secundarios emitidos, los de electrones del haz retrodispersados, los de electrones transmitidos por la cara opuesta a la superficie irradiada, los de rayos X emitidos y los de catodoluminiscencia.
- **Dispositivos para observación y registro de las imágenes:** Corresponde al monitor donde se visualiza la imagen ampliada.

La calidad de un microscopio electrónico de barrido depende de la profundidad del foco, del ruido de la imagen y de la resolución. La profundidad de foco corresponde a la distancia a lo largo del eje óptico en el cual la muestra puede ser movida sin sufrir deformación en cuanto a la nitidez de la imagen,

mientras que la resolución corresponde a la distancia máxima en que dos objetos separados en la realidad pueden ser vistos separados en el microscopio (45).

El microscopio electrónico de barrido funciona haciendo incidir un delgado haz de electrones acelerados, con energías desde unos cientos de eV hasta unas decenas de keV (50 KeV), sobre una muestra gruesa, opaca a los electrones. Este haz se focaliza sobre la superficie de la muestra. De esta forma se realiza un barrido de la muestra siguiendo una trayectoria de líneas paralelas (45; 46).

De todas las formas de radiación resultantes de la interacción del haz incidente y la muestra hay dos realmente fundamentales en el microscopio electrónico de barrido: los electrones secundarios y los electrones retrodispersados. Los primeros son electrones de baja energía (decenas de eV) que resultan de la emisión por parte de los átomos constituyentes de la muestra (los más cercanos a la superficie) debido a la colisión con el haz incidente. Los electrones retrodispersados sin embargo, son electrones del haz incidente que han colisionado con los átomos de la muestra y han sido reflejados. La intensidad de ambas emisiones varía en función del ángulo que forma el haz incidente con la superficie del material, es decir depende de la topografía de la muestra (Figura 12) (45).

La señal emitida por los electrones y radiación resultantes del impacto se recoge mediante un detector y se amplifica para cada posición de la sonda. Las variaciones en la intensidad de la señal que se producen conforme la sonda barre la superficie de la muestra, se utilizan para variar la intensidad de la señal en un tubo de rayos catódicos que se desplaza en sincronía con la sonda. De esta forma existe una relación directa entre la posición del haz de electrones y la fluorescencia producida en el tubo de rayos catódicos. El resultado es una imagen topográfica muy ampliada de la muestra (45; 46).

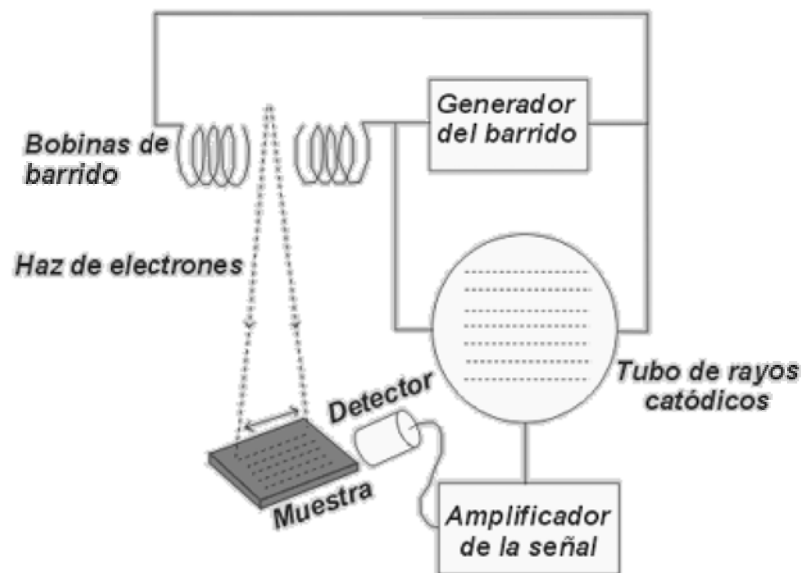


Figura 12 Esquema característico de un equipo SEM.

### 1.5.8 Pruebas de biocompatibilidad

Cualquier biomaterial considerado para una aplicación a corto o largo plazo que estará en contacto con tejidos, fluidos u órganos debe tener una evaluación de su biocompatibilidad. Dichas pruebas deben examinar la reacción del biomaterial bajo condiciones que simulen aquellas del medio biológico. La biocompatibilidad del material debe ser establecida y aprobada por las agencias regulatorias antes de que pueda ser utilizado clínicamente. Por ejemplo, en Estados Unidos, la agencia encargada de estos trámites es: la Food and Drug Administration (FDA) (32; 1).

La evaluación de la biocompatibilidad de los materiales consiste en una secuencia de pruebas que incluye pruebas *in vitro* utilizando células y tejidos, pruebas *ex vivo*, modelos animales y ensayos clínicos. Las pruebas *in vitro* han sido utilizadas satisfactoriamente para la caracterización de la biocompatibilidad. Las ventajas de estos ensayos son un costo razonable y la rapidez del proceso. Los modelos celulares *in vitro* muestran de forma efectiva la biocompatibilidad, sin embargo, como cualquier otro modelo se deben de tomar precauciones al momento de analizar los resultados y evitar riesgos por extrapolación. Esos modelos han sido muy favorecidos para el estudio de funciones y mecanismo de una línea celular en función del tiempo, sin embargo provee una perspectiva limitada del complejo medio celular del cuerpo (32).

Las pruebas en animales utilizadas para evaluar la biocompatibilidad de un material, pueden ser clasificadas en tres grandes categorías. Las pruebas no funcionales comprenden ensayos donde probetas de forma arbitraria son implantadas en tejido suave requiriendo de una cirugía menor, esos estudios son relativamente de corta duración pero otorgan información mostrando las interacciones del tejido con el biomaterial y las complicaciones sistemáticas (32).

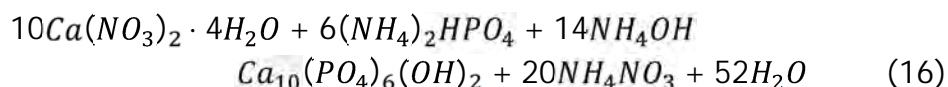
Los ensayos *ex vivo* corresponden a pruebas donde se hace circular sangre ya sea arterial o venosa dentro del material cerrando el circuito con el animal. Esa prueba se utiliza para determinar la compatibilidad del material con la sangre, analizando la acumulación de proteínas, la adhesión de células sanguíneas y la coagulación de la sangre en la superficie del material (32).

Los ensayos funcionales requieren de la implantación de una probeta funcional de la escala apropiada, es decir que el material cumpla con la función para el cual fue diseñado dentro del animal. Estas pruebas son estudios a largo plazo que requieren de consideraciones especiales como el diseño, la fabricación y la prueba de las prótesis en animales, lo que comparado con los otros métodos es más complejo y costoso. Independientemente del éxito que tengan los materiales en ensayos, *in vitro* o en animales, no es posible predecir la reacción dentro del cuerpo humano sin recurrir a ensayos clínicos (32).

## CAPITULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Síntesis de la hidroxiapatita

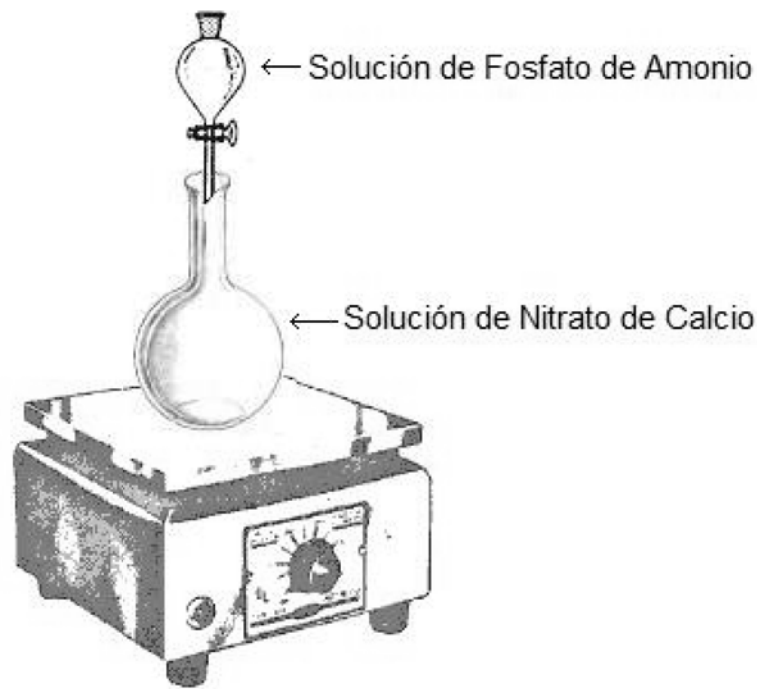
Como se mencionó antes, la hidroxiapatita tiene diferentes orígenes. Puede ser sintetizada en un laboratorio o puede obtenerse de la naturaleza. En el presente trabajo se realizó la síntesis de la HAp por una reacción de precipitación partiendo de dos soluciones, una de nitrato de calcio y otra de fosfato de amonio. La reacción que se lleva a cabo se muestra en la ecuación 16 (21).



La siguiente metodología permite la obtención de 10 g de HAp. Para la realización de la solución de nitrato de calcio hace falta pesar 23.5062 g de  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  y disolverlos en 600 mL de agua destilada. Una vez que se encuentre disuelto todo el nitrato de calcio se procede a verificar el pH de la solución esperando que se encuentre alrededor de 5. Enseguida se añaden 70 mL de  $NH_4OH$  con la finalidad de obtener un pH básico cercano a 12 (21).

Para la preparación de la solución de fosfato de amonio se pesan 7.8871 g de  $(NH_4)_2PO_4$  y se disuelven en 900 mL de agua destilada. Igual que con la solución anterior, se verifica el pH de la solución y se agregan 100 mL de  $NH_4OH$ . Ambas soluciones se mantienen en agitación vigorosa durante un periodo de 10 minutos. Pasado este tiempo se realiza el montaje de la figura 13. Aquí es importante señalar que se realiza la adición de la solución de fosfato de amonio a la solución de nitrato de calcio a una velocidad de 7 mL/min aproximadamente. Para lograr ajustar dicha velocidad fue necesario realizar algunas pruebas con la llave del embudo de separación agregando solamente agua hasta conseguir la velocidad deseada.

Justo cuando deja de caer la última gota de la solución de fosfato de amonio en la solución de nitrato de calcio, se mantiene en agitación el matraz con la mezcla de las dos soluciones y se comienza a contar el tiempo hasta alcanzar un periodo de 24 horas. Al día siguiente se quita la agitación y se deja en reposo por otras 24 horas. Una vez terminados estos periodos de tiempo se realiza la filtración del precipitado, al mismo tiempo que se le va dando unos lavados con agua destilada. Este paso es importante para eliminar toda traza del hidróxido de amonio que pudiera haber quedado como residuo. Se filtra una última vez el precipitado y se verifica que el producto cuente con un pH neutro.



**Figura 13 Montaje experimental para la síntesis de HAp.**

Cuando ya se cuenta con el producto filtrado se deja secando en la estufa a una temperatura de alrededor  $60-70^{\circ}\text{C}$ , esto con el fin de eliminar el exceso de agua. Finalmente se pasa la muestra obtenida a la mufla para su calcinación a  $700^{\circ}\text{C}$ . El proceso de calcinación se realiza mediante la aplicación de dos rampas, la primera es de  $150^{\circ}\text{C}$  durante un periodo de 120 minutos, mientras que la segunda es hasta  $700^{\circ}\text{C}$  por un periodo de 720 minutos.

Finalmente cuando pasa el periodo de calcinación y la mufla se enfría, se puede sacar la hidroxiapatita. Antes de poder aplicarla al desarrollo de nuevos biomateriales se pasa por un tamiz de malla 200 con el fin de homogeneizar el tamaño de las partículas.



## 2.2 Caracterización de la hidroxiapatita

La hidroxiapatita sintetizada fue sometida a diferentes pruebas y métodos espectrométricos con el fin de determinar las características tales como la cristalinidad y la estequiometría, así como asegurar que la HAp obtenida no tuviera algún componente ajeno, sea por contaminación o por errores al ser sintetizada.

### 2.2.1 Difracción de rayos X (DRX)

Esta técnica permite conocer la organización del conjunto de átomos de un compuesto, es decir la estructura cristalina del mismo. El método del polvo cristalino consiste en la irradiación por un haz de rayos X monocromático de un material formado por diminutos cristales distribuidos en todas las direcciones posibles. Para asegurar la orientación totalmente al azar se hace girar el haz de rayos X. Este método es el único que permite abordar el estudio de la cristalografía de especies que son obtenidas en forma de monocristales.

Se utilizó el Difractómetro Rigaku Miniflex+ para el análisis de difracción de rayos X. La prueba no requiere de ningún tratamiento especial por parte de la muestra, lo único que se pide es que se encuentre en polvo. Eso no implicó un problema puesto que el material ya estaba en dicha forma. Por otro lado, el equipo cuenta con una base de datos que permite identificar las diferentes fases cristalinas de la muestra.

### 2.2.2 Espectroscopia IR

Se utilizó el método de reflectancia difusa para la realización de esta prueba. Por lo que hizo falta mezclar la muestra con KBr, ya que este compuesto sirve como blanco para el infrarrojo al no ser detectado por la técnica. El equipo donde se realizó la prueba es un FT-IR Bruker Vector33 que se puede apreciar en la figura 14.



Figura 14 FT-IR Bruker Vector33.

### 2.2.3 Espectroscopia Raman

Se utilizó el equipo Raman Dispersivo Bruker Senterra (Figura 15) para la realización de esta prueba. El método utilizado fue el de polvos dado que la muestra se presentó en dicha forma y la longitud de onda del láser fue de 785 nm. Cabe señalar que la muestra no tuvo ningún tratamiento previo. La prueba se corrió con una potencia de 100 mW con una resolución de  $3.5 \text{ cm}^{-1}$ . Así mismo el barrido se realizó en la región de 80 a  $1520 \text{ cm}^{-1}$ , esto se debió a que las demás zonas del espectro no otorgaban información, la mayoría del resto de la señal se podría confundir con ruido, además esta zona es bastante representativa de la HAp.

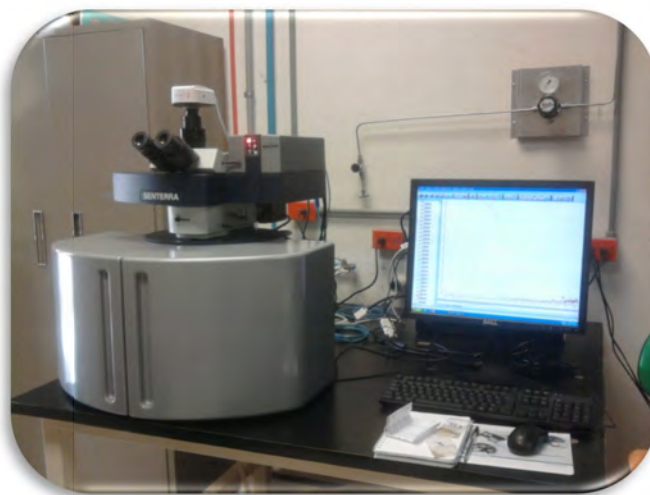


Figura 15 Equipo raman dispersivo Bruker Senterra.

### 2.2.4 Dispersión de luz

Esta prueba requiere de una preparación previa de la muestra. Se comienza con el lavado de todo el material con agua destilada y posteriormente un último enjuague de acetona, esto con el fin de eliminar todas las partículas de polvo para que el equipo detecte únicamente la muestra de análisis.

Enseguida se monta la membrana de nylon de  $0.2 \mu\text{m}$  y se filtra con ella el sistema dispersivo, que en este caso se trata de agua destilada. El vial debe ser lavado dos veces con el agua destilada filtrada por la membrana y se rellena con la tercera vez que se filtra, además es en ese momento cuando se agrega la muestra a analizar.

El vial una vez preparado se dejó por un periodo de 15 minutos en la sonicadora. De ahí se pasó al equipo Brookhaven Instruments Corp (Figura 16 Dispersor de luz Brookhaven Instruments Corp.) modelo BI-APD para el análisis de la

muestra. El dispersor está equipado con un láser He-Ne con una longitud de onda de 632.8 nm con un tiempo de integración de 10 s.

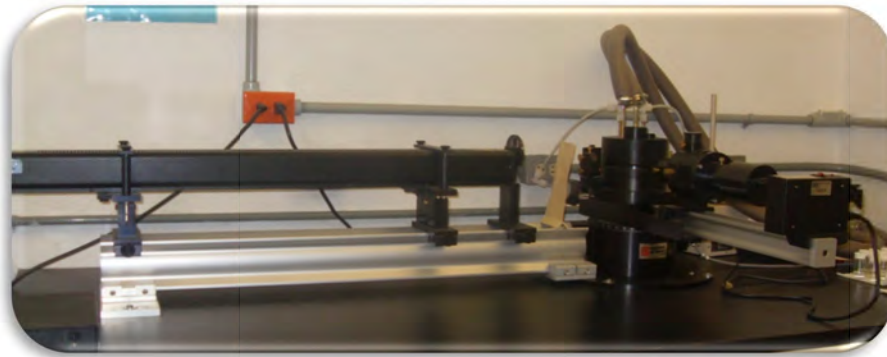


Figura 16 Dispersor de luz Brookhaven Instruments Corp.

La prueba de dispersión de luz nos da a conocer la concentración de las partículas por tamaño. Aquí lo que interesaba era encontrar un tamaño de partícula nanométrico puesto que era el tamaño requerido para la aplicación futura (proporcionar mejor empaquetamiento del biomaterial).

### 2.2.5 Emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP)

Esta es una de las pruebas más tardadas puesto que el tratamiento previo de la muestra es largo. Para empezar se tiene que realizar la digestión ácida de la muestra mediante un sistema cerrado. Para esto se pesó 0.1 g de la HAP sintetizada y se introdujeron en un vaso especial para microondas. Enseguida se le agregaron 8 mL de ácido nítrico concentrado y se metió la muestra al microondas con el protocolo mostrado en la Tabla 1 Protocolo para la digestión ácida en el horno de microondas.

Tabla 1 Protocolo para la digestión ácida en el horno de microondas.

Nivel	Potencia		Tiempo en Rampa	°C	Tiempo de Retención
	Max	%			
1	800	100	10:00	60	5:00
2	800	100	10:00	100	10:00
3	800	100	10:00	150	10:00
4	800	100	15:00	190	15:00

Una vez que salieron las muestras del horno, se abrieron los vasos con cuidado dentro de una campana y se colocó la muestra en un recipiente de teflón sobre una parrilla, esto con el fin de evaporar todo el ácido. Posteriormente se realizó un aforo a 25 mL con ácido nítrico al 2% y se pasó la muestra al equipo de ICP para su análisis.

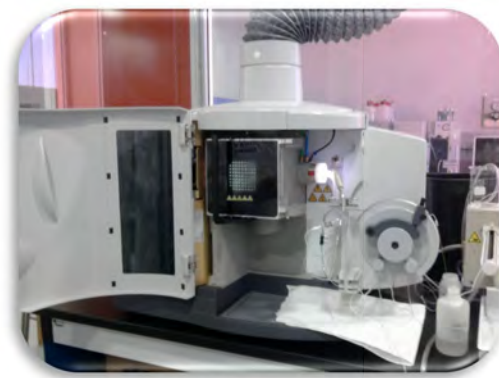
Cabe señalar que antes de pasar la muestra para su lectura en el equipo es necesario realizar una serie de estándares con el objetivo de calibrar el equipo y realizar una curva patrón. Esto permite al equipo realizar las operaciones necesarias para la determinación de la concentración de los diferentes elementos de la muestra y esta es la razón de la selección del método de ICP en lugar de absorción atómica. Ambos métodos permiten determinar la concentración de trazas de los elementos presentes en una muestra, sin embargo el equipo de absorción solo realiza la lectura de un sólo elemento por corrida, mientras que el ICP puede leer varios elementos en una misma prueba. Además la sensibilidad del ICP es mucho mayor que la de absorción.

Otro dato importante para la realización de esta prueba es la presencia de un estándar interno de algún elemento que no se encuentre presente en la muestra a analizar, en este caso se utilizó un estándar de itrio. El equipo realiza la lectura continua de ambos analitos y esto sirve para verificar que no haya saltos o perturbaciones durante las lecturas realizadas. De igual modo se realiza la limpieza del equipo entre dos diferentes lecturas con ácido nítrico al 2% que es la matriz de la muestra. Esta parte corresponde a dejar circular por el equipo la solución como si se tratara de un analito para leer, sólo con la diferencia que no se lanza la lectura desde la computadora.

El microondas utilizado fue un CEM Marx Xpress con controlador de alta presión y temperatura, mientras que el equipo de emisión atómica es un ICP-OES Thermo iCAP 6500 Duo. En la figura 17 se puede apreciar el horno de microondas en funcionamiento, mientras que en la figura 18 se aprecia el equipo de ICP.



**Figura 17 Horno de microondas**



**Figura 18 Equipo de ICP-OES.**

## 2.3 Síntesis del biomaterial

Se trabajó con un poliuretano monocomponente libre de solvente al cual se le añadió una mezcla de cerámicas como agente reforzante. Las cerámicas utilizadas fueron hidroxiapatita, alúmina y sílice. Las mezclas de cerámicas utilizadas se muestran en la Tabla 2 Formulaciones trabajadas.

Tabla 2 Formulaciones trabajadas.

<b>F o r m u l a c i ó n</b>	<b>HAp (%)</b>	<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (%)</b>	<b>SiO<sub>2</sub> (%)</b>
<b>50Si - 50HAp</b>	50	0	50
<b>70Al - 30HAp</b>	30	70	0
<b>80Al - 20HAp</b>	20	80	0

Los porcentajes mostrados en la tabla 2 son en masa y al realizar el biomaterial se agregaban 2.0 g de cerámica (mezcla) por cada 3.0 g de poliuretano. Las cerámicas se pesan por separado y se mezclan dentro de un frasco limpio y seco por alrededor de 5 min con el fin de homogeneizar. Posteriormente se pesa el poliuretano en un recipiente de Teflón. Se trabajó con este tipo de recipientes dado que el poliuretano es muy viscoso y con esto se evita que haya cierta adherencia a las paredes del mismo.

Cuando se tiene la resina pesada y las cerámicas mezcladas se procede a integrar la mezcla a la resina poco a poco, al mismo tiempo que se mezcla todo. Cuando la masa formada adquiere una consistencia suave y no pegajosa se puede pasar a los moldes.

Es importante remarcar que todo el proceso anterior se realiza a temperatura ambiente y en esas mismas condiciones la mezcla retícula completamente en un periodo de 24 h.

Los moldes fueron diseñados según las normas ASTM de las diferentes pruebas a realizar. La fabricación de los moldes fue en Teflón y antes de agregar la mezcla del poliuretano con las cerámicas, se engrasaban con grasa de silicona para facilitar el desmoldado de las probetas.

Con la finalidad de acelerar el proceso de reticulado se metieron al horno las probetas, aún dentro de los moldes, a diferentes temperaturas (50°C, 80°C, 110°C y 150°C). El tiempo de permanencia dentro del horno dependió de la temperatura a la cual fueron sometidas.

Al pasar el periodo de tiempo necesario, se desmoldaron las probetas y se realizaron las diferentes pruebas de caracterización según normas ASTM.

## 2.4 Caracterización del biomaterial

El material fue caracterizado mecánicamente por medio de pruebas de compresión. Así mismo los materiales fueron sometidos a pruebas de abrasión para determinar el desgaste que sufría. Se realizó una toma de imágenes por medio de SEM para determinar el grado de porosidad del material y comparar resultados con las pruebas de densidad, puesto que a mayor cantidad de poros el material tendería a ser menos denso. También se realizaron pruebas de absorción de agua y biocompatibilidad del material.

### 2.4.1 Pruebas mecánicas de compresión

El desarrollo de esta prueba permite conocer la resistencia a la fractura de los materiales sintetizados, así como su módulo de elasticidad. Esto permite comparar los materiales desarrollados con la resistencia del hueso. Este aspecto es muy importante dado que el material que se va a implantar debe poseer características similares a las del tejido que va a sustituir para no interferir negativamente con el entorno.

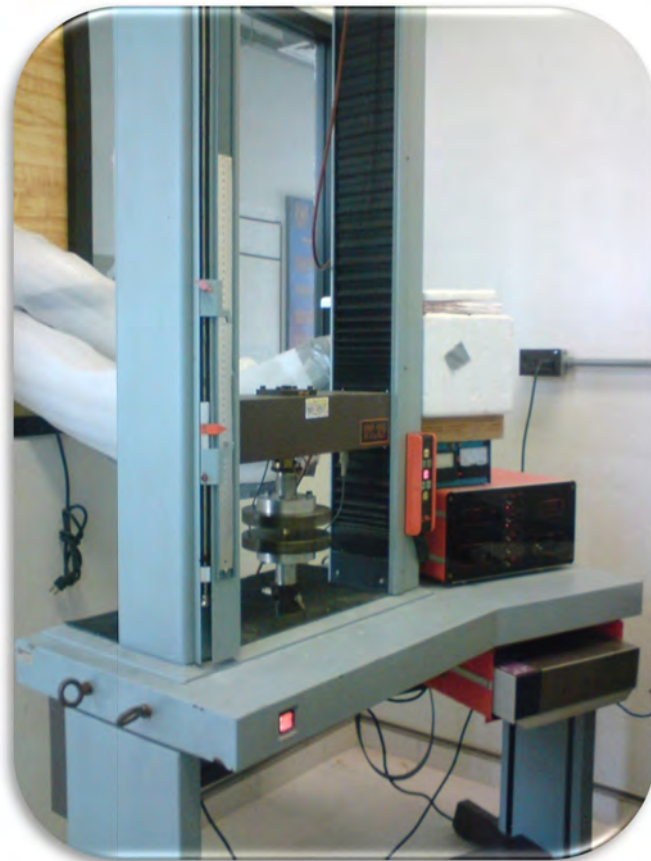


Figura 19 Equipo de pruebas mecánicas.



En el caso de los materiales sintetizados, se les realizaron ensayos de compresión mecánica. Para la realización de esta prueba se diseñaron moldes de teflón (Figura 20). Las probetas fueron cilindros de 20 mm de altura por 10 mm de diámetro. Las pruebas se realizaron bajo la norma ASTM D-695-02a en un equipo Adamel Lhomargy modelo DY.22 (Figura 19) con una velocidad de avance de  $(1.3 \pm 0.3)$  mm/min. La celda de carga fue de 5000 N con una resolución de 0.1 N.



Figura 20 Moldes para las pruebas mecánicas.

#### 2.4.2 Pruebas de densidad

Este ensayo se hizo con la finalidad de obtener la densidad de los materiales y poder realizar posteriormente un análisis comparativo con la porosidad del material. Para la realización de esta prueba se realizaron cortes a probetas cilíndricas, similares a las utilizadas en las pruebas mecánicas, para obtener formas geométricas bien definidas, es decir que se cortaron las probetas eliminando todo desperfecto. Los cortes fueron realizados con la ayuda de un disco de diamante.



Figura 21 Medición de las probetas de densidad.

Las probetas cilíndricas o cúbicas fueron medidas por sus lados con la ayuda de un vernier con una resolución de 0.01 mm y una precisión de 0.001 mm. Posteriormente las probetas fueron pesadas en una balanza analítica de resolución de  $10^{-5}$  g (Figura 21). Se realizaron cinco experimentos por cada formulación con la finalidad de obtener un resultado más fiable calculando la media de los valores obtenidos.

### 2.4.3 Pruebas de absorción de agua

Las probetas utilizadas en las pruebas de densidad sirvieron para la realización de la prueba de absorción de agua. Esta prueba también está ligada a la porosidad del material. Esto se explica dado que entre mayor sea la cantidad de agua absorbida habrá mayor interconexión entre los poros, lo que permitirá una mejor vascularización en el material.

En esta prueba, se volvieron a pesar las probetas con el fin de conocer la masa en seco de las mismas. Enseguida fueron colocadas en viales y se llenaron con agua destilada hasta el límite del vial (Figura 22). Se dejaron en esas condiciones durante un periodo de 3 semanas y se volvieron a pesar para conocer la nueva masa de las probetas. Cabe señalar que las probetas fueron retiradas de los viales con la ayuda de pinzas y se secaron superficialmente con la ayuda de un paño seco (48).

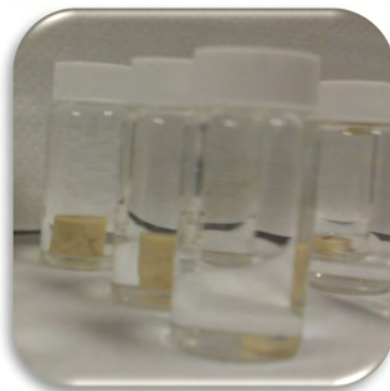


Figura 22 Prueba de absorción de agua.

Se utilizó una balanza analítica con una resolución de  $10^{-5}$  g. Así mismo como en los ensayos anteriores, todas las formulaciones se manejaron por quintuplicado.

La absorción de agua (WA) se obtuvo mediante la aplicación de la siguiente fórmula, donde  $W_i$  y  $W_f$  corresponden a las masas inicial y final:

$$WA = \frac{W_f - W_i}{W_i} \quad (17)$$



#### 2.4.4 Pruebas de abrasión

Esta prueba permite conocer el desgaste del material en función del tiempo. Para la realización del ensayo se diseñaron moldes de teflón según la norma ASTM-D-1242-95a. Las probetas tienen forma rectangular (2.0 x 1.0cm) con una altura de 0.5 cm (Figura 23).

La prueba consiste en agregar un peso a la probeta y someterla a un desgaste físico. Este desgaste es producido por la acción del peso del material sobre una lija adherida a una base rotatoria girando a 76 rpm. Se realizaron mediciones de peso cada 20 segundos hasta alcanzar un tiempo total de 600 segundos.



Figura 23 Probetas para la prueba de abrasión.

Se inicia la prueba con la masa inicial de la muestra que corresponde a la masa de la probeta en el tiempo cero, es decir cuando aún no es sometida a condiciones de desgaste. Enseguida se coloca el peso encima de la probeta y se coloca 20 segundos en el sistema (Figura 24). Cuando se le quita el peso, se realiza una limpieza de la muestra con la ayuda de una brocha, esto es con el fin de quitar todo residuo de polvo. Posteriormente se realiza la medición del nuevo peso y se repite el proceso (Figura 25). Al igual que con las pruebas de densidad y absorción de agua, se utilizó una balanza analítica con una resolución de  $10^{-5}$  g.

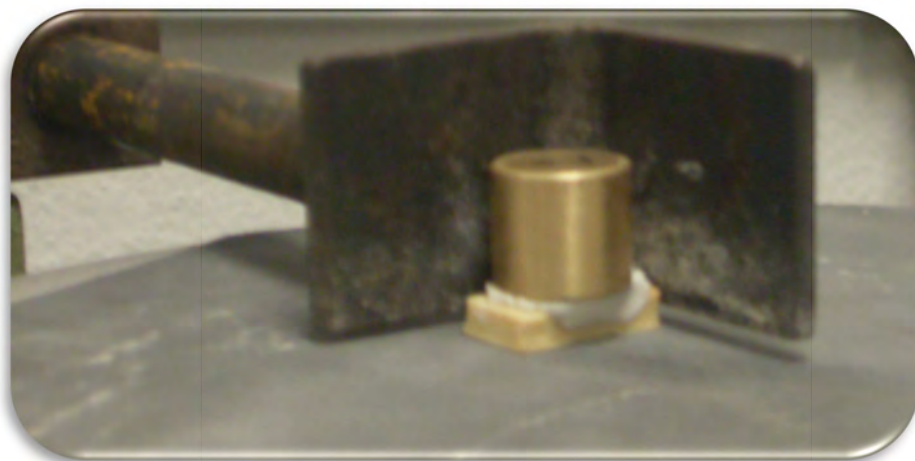


Figura 24 Probeta sometida a la pérdida de masa.

Posteriormente a las mediciones de pérdida de masa se realizaron los cálculos para determinar la resistencia a la abrasión que se define como el tiempo necesario para remover una unidad de masa del material y corresponde al inverso de la pérdida de masa.



Figura 25 Medición de la pérdida de peso.

#### 2.4.5 Pruebas de porosidad

Para la medición del grado de porosidad de los materiales se realizó la toma de una serie de imágenes por medio de la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM). Esta prueba es de vital importancia dado que el hueso es un material poroso que permite la formación de capilares sanguíneos por medio de la vascularización.



Figura 26 Materiales recubiertos con oro.

Las probetas fueron colocadas en los portamuestras con la ayuda de cinta de carbón conductora, así mismo se realizó un recubrimiento en oro para permitir descargar eléctricamente las muestras (Figura 26) (45). Es importante señalar que las muestras fueron cortadas con la ayuda de nitrógeno líquido, esto con el fin de que al realizar el corte la morfología del material no resultara dañada o modificada. Las observaciones fueron realizadas con un microscopio JEOL JSM-6060 (Figura 27) con energía de 20 kV en modo de electrones secundarios. Las observaciones se hicieron a diferentes ampliificaciones.



**Figura 27 Microscopio electrónico de barrido.**

Los poros fueron medidos con la ayuda del software Ipwin32. Dicho instrumento permitió valerse de la escala de las imágenes para generar un patrón y así calcular el diámetro de los poros con mayor facilidad. Por otro lado, se calculó la fracción de volumen de poro mediante la aplicación de la siguiente fórmula (49):

$$\Phi_p = 1 - \frac{\rho_p}{\rho_s} \quad (18)$$

donde  $\Phi_p$ ,  $\rho_p$  y  $\rho_s$  corresponden a la fracción de volumen de poro, la densidad del material poroso y la densidad del material no poroso. Este último se obtuvo utilizando un isocianato de no bloqueo.

#### **2.4.6 Pruebas de biocompatibilidad**

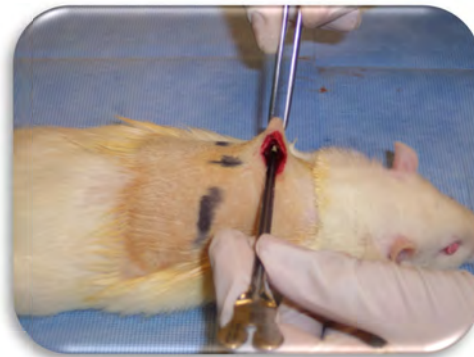
Para la realización de esta prueba se prepararon probetas de forma cilíndrica de 3 mm de diámetro por un centímetro de altura (Figura 28). Así mismo se utilizaron 60 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) de ochenta días de vida con un peso de alrededor 280 g. Los animales fueron donados por el Instituto de Neurobiología de la UNAM.

Se formaron tres grupos de quince ratas para la realización de la cirugía de implante de los materiales bajo anestesia general (Figura 29). El resto de los animales formaron parte de un grupo de control. Cinco animales de cada grupo fueron sacrificados pasados 2, 7 y 21 días después de la cirugía. Los materiales implantados fueron esterilizados en un equipo de autoclave a una temperatura de 121 °C durante 30 minutos antes de la cirugía. Todos los animales fueron anestesiados con una solución de ketamina y xilazina de forma intramuscular. Se realizó un corte longitudinal de 7 mm en la región dorsal donde se implantaron los materiales en la tercera vertebra torácica. Todo el procedimiento fue llevado a cabo bajo la norma NOM-062-ZOO-1999 (50).



**Figura 28** Probetas para pruebas de biocompatibilidad.

Las ratas fueron sacrificadas en una cámara de CO<sub>2</sub> y se removieron los implantes junto con el tejido que los rodeaba. Inmediatamente fueron colocadas en una solución tampón por un periodo de 24 horas, después se deshidrataron. Las muestras fueron analizadas en un microscopio óptico, tomando especial atención en el grado de fibrosis, el grado de inflamación y la presencia de colágeno.



**Figura 29** Implante quirúrgico en ratas.

## CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se analizarán los resultados obtenidos de las diferentes pruebas realizadas tanto a la HAp sintetizada como a los biomateriales desarrollados. Primero se comentarán los resultados de las pruebas de la HAp, los cuales indican si la reacción fue realizada con éxito así como la calidad del compuesto. Enseguida se explicarán e interrelacionarán los resultados de los ensayos realizados a los materiales con el fin de poder llegar a las conclusiones.

### 3.1 Hidroxiapatita

La primera prueba realizada a la HAp fue el ensayo de difracción de rayos X. Así se obtuvo el difractograma reportado en la figura 30. Con la ayuda de la base de datos se realizó la correlación entre las reflexiones obtenidas y las diferentes fases cristalinas. Como se puede apreciar, sólo se logró identificar la presencia de una sola fase cristalina y esta corresponde a la hidroxiapatita. Este resultado bastante favorable nos indica que la síntesis fue realizada en las condiciones correctas.

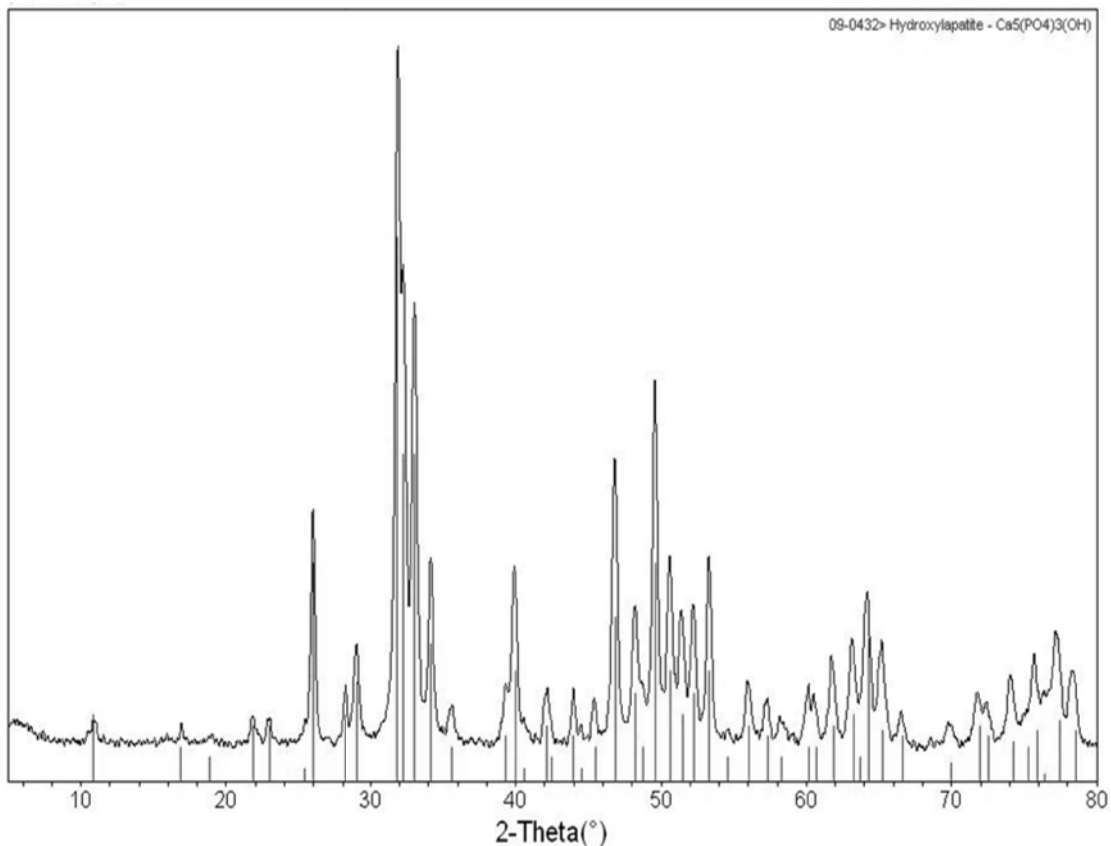
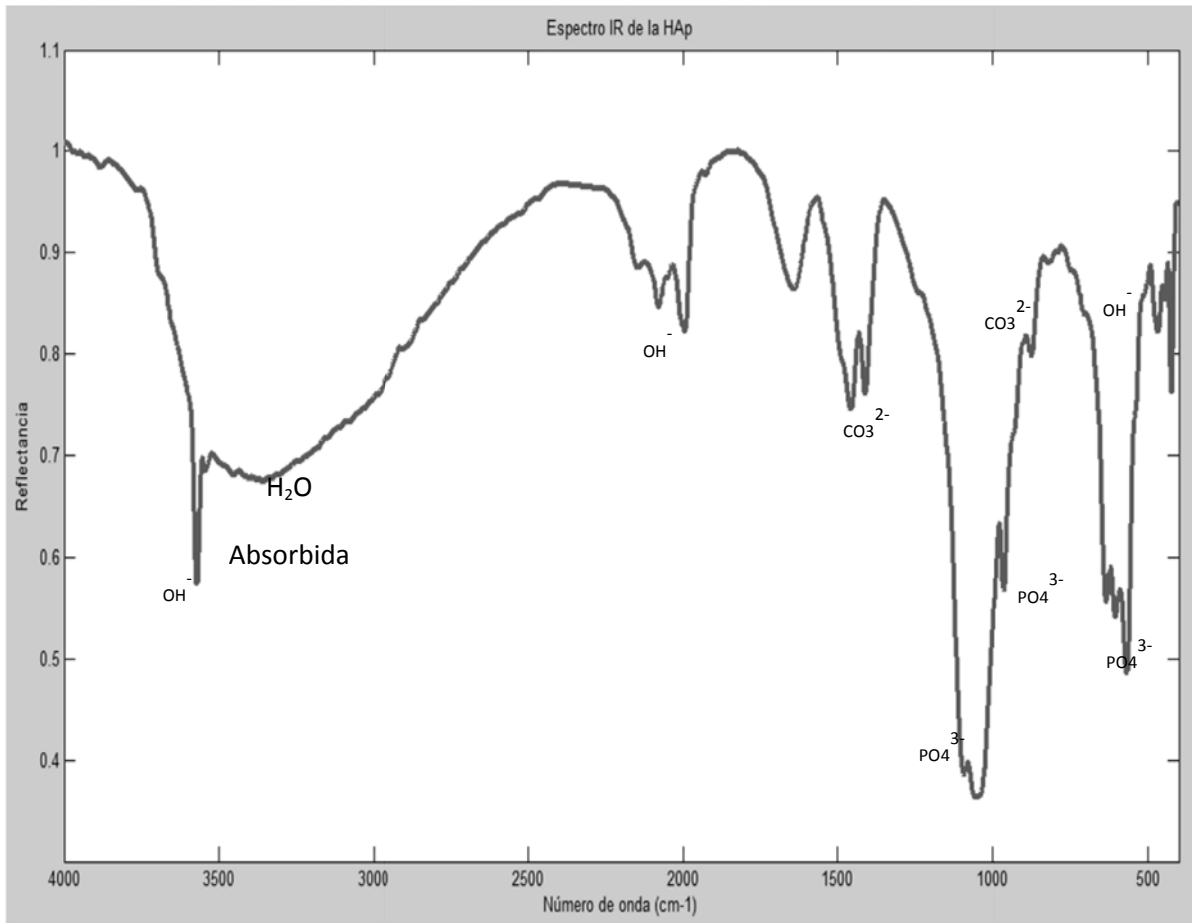


Figura 30 Difractograma de la HAp.

Otra de las pruebas realizadas a la HAp sintetizada fue la espectroscopia FTIR. El espectro de la figura 31 corresponde al resultado obtenido. En él se pueden apreciar los picos característicos del ion fosfato que absorbe en el rango de 1110-940  $\text{cm}^{-1}$  para los estiramientos y en el rango de 650-530  $\text{cm}^{-1}$  para las deformaciones (51; 52). Las bandas cercanas a 1500  $\text{cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento asimétrico del carbonato, mientras que la otra banda correspondiente al mismo ion define la deformación dentro del plano (51).

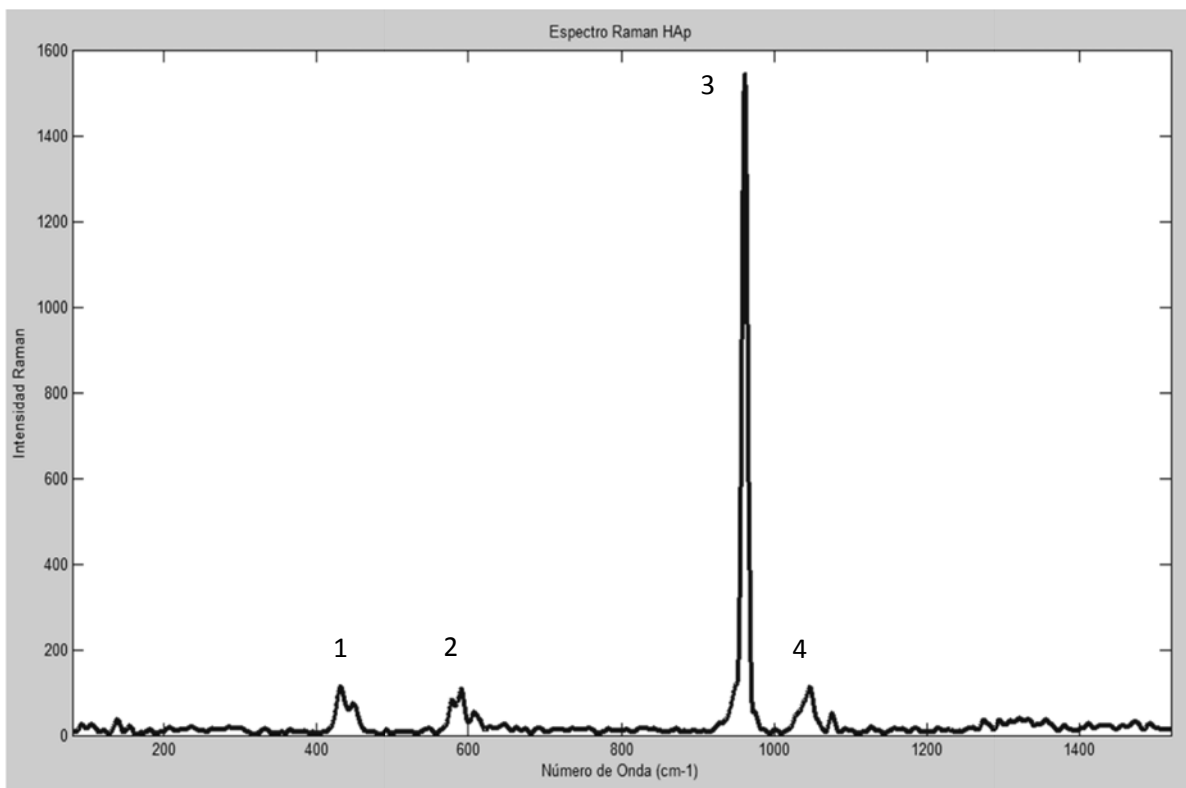


**Figura 31 Espectro Infrarrojo de la HAp.**

Cabe señalar que se comparó el espectro característico de la HAp con las bandas obtenidas en la muestra, demostrando que son prácticamente iguales (15; 20), la única diferencia es que el espectro de la HAp sintetizada tiene la presencia de un pico en 1640  $\text{cm}^{-1}$  que probablemente corresponda al estiramiento del carbonato que también cae dentro del rango de este ion (51).

Continuando con los métodos espectrométricos, en la figura 32 se puede apreciar el espectro de la HAp, resultado del fenómeno de dispersión Raman. En este espectro se pueden apreciar claramente cuatro picos importantes señalados con los números del 1 al 4. Estos picos corresponden a las vibraciones del ion fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Normalmente el ion fosfato en estado libre posee 9 modos vibracionales (53), pero en la HAp solo se aprecian 4 correspondiendo a los siguientes modos:

1. (400-450  $\text{cm}^{-1}$ ) Deformación simétrica
2. (550-650  $\text{cm}^{-1}$ ) Deformación asimétrica
3. (950  $\text{cm}^{-1}$ ) Estiramiento simétrico
4. (1000-1150  $\text{cm}^{-1}$ ) Estiramiento asimétrico (53; 54)



**Figura 32 Espectro Raman de la HAp.**

Como se mencionó anteriormente, sólo se pudo observar esta parte del espectro, las posibles vibraciones correspondientes a los grupos hidroxilo (-OH) no fueron apreciables.

La prueba de dispersión de luz muestra la recurrencia del tamaño de las partículas. Como se puede apreciar en la figura 33, la mayor recurrencia en el tamaño de las partículas es de aproximadamente 200 nm, obteniendo un rango de tamaño de partículas de 120 a 300 nm.

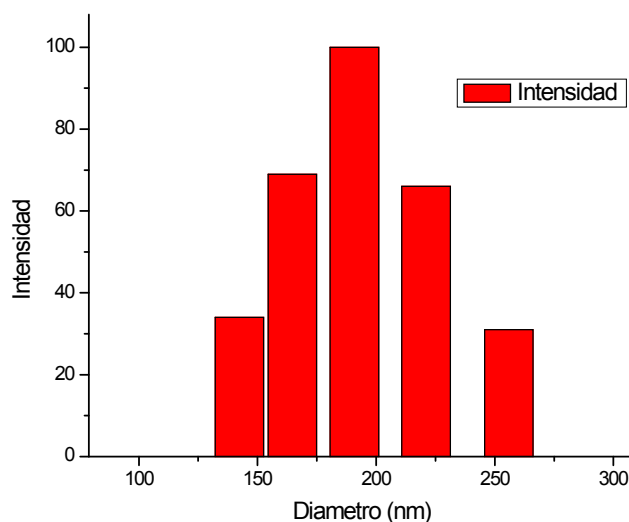


Figura 33 Gráfica del tamaño de las partículas.

Los resultados que nos entrega el equipo de ICP corresponden a la concentración de los analitos pero dentro de la solución aforada. Por otro lado se prepararon estándares con concentraciones muy bajas y los resultados obtenidos por parte del equipo se salían de la curva de control. Al encontrarse estos resultados fuera de la curva de trabajo no se puede asegurar que sean correctos, así que se recurrió a diluir las muestras en una relación 1:200. Para poder encontrar el valor real de la cantidad de calcio y fósforo presentes en la muestra hace falta primero calcular la concentración real al momento de aforar, esto se realiza fácilmente con la ecuación 19.

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (19)$$

Teniendo este valor se prosigue a realizar otro cálculo para determinar en ppm (mg/Kg) la concentración de los elementos analizados en la muestra, ya que el equipo nos da el resultado en ppm (mg/L) y el resultado cambia según las unidades, esto se explica por lo que se mencionó anteriormente, el equipo da la concentración del analito en la solución pero uno requiere la concentración del analito en la muestra y ésta es sólida. La ecuación 20 que utiliza el valor del aforo y la masa inicial tomada de la muestra para realizar la conversión de las unidades y de esta forma obtener el resultado deseado.

$$\frac{C_{solución}[mg/L] \times V_{aforo}[L]}{m_{muestra}[Kg]} = C_{muestra} \left[ \frac{mg}{Kg} \right] \quad (20)$$



Realizando toda esta serie de cálculos se encontró que la muestra de HAp contenía en promedio 427026 ppm de Ca, mientras que de P sólo 258405 ppm. Lo que corresponde a 427g de Ca y 258g de P en un kilogramo de HAp.

Ahora bien lo que interesa de este análisis es la determinación del cociente Ca:P, realizando una última operación se tiene como resultado que la relación Ca:P es igual a 1.653. Este dato no corresponde al ideal de 1.67 (22), sin embargo, se aproxima lo suficiente al valor esperado. Esta pequeña diferencia puede deberse a los errores cometidos a lo largo de la síntesis.

### 3.2 Biomaterial

Para facilitar el análisis de los resultados obtenidos por las diferentes pruebas se usará la nomenclatura utilizada en la Tabla 2. De esta manera se podrá realizar la comparación de resultados de las tres formulaciones en función de la temperatura.

De las pruebas mecánicas de compresión se puede obtener bastante información. Las figuras 34, 35 y 36 muestran el módulo de Young, el esfuerzo a la deformación y la deformación máxima al momento de la ruptura de los materiales.

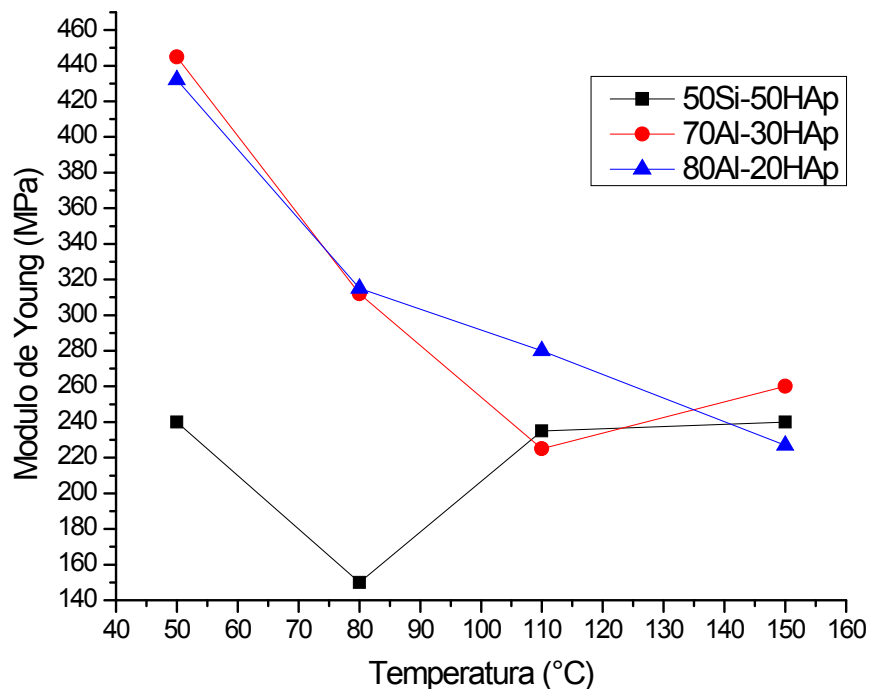


Figura 34 Módulo de Young.

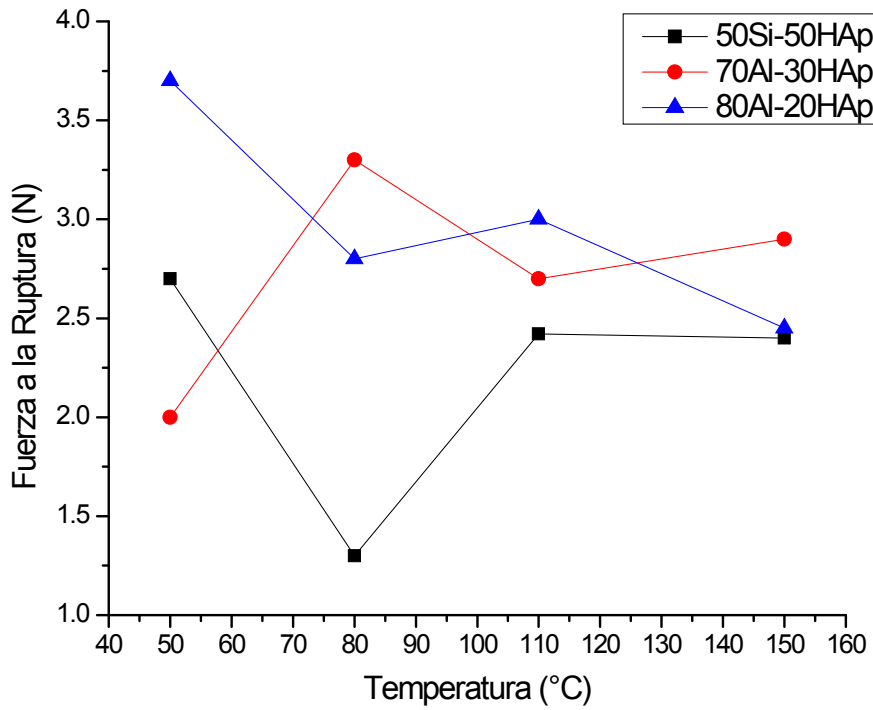


Figura 35 Fuerza a la ruptura.

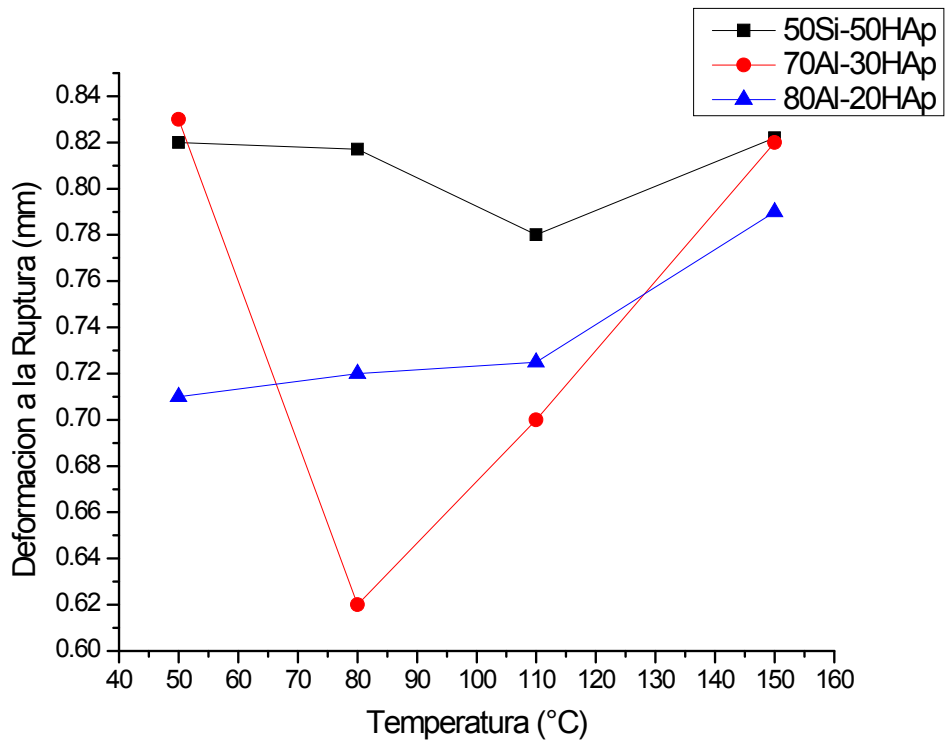


Figura 36 Deformación a la ruptura.

Los resultados de las pruebas de densidad son mostrados en la figura 37 en donde se puede apreciar que la densidad de los materiales decrece prácticamente de manera lineal conforme se incrementa la temperatura del tratamiento térmico.

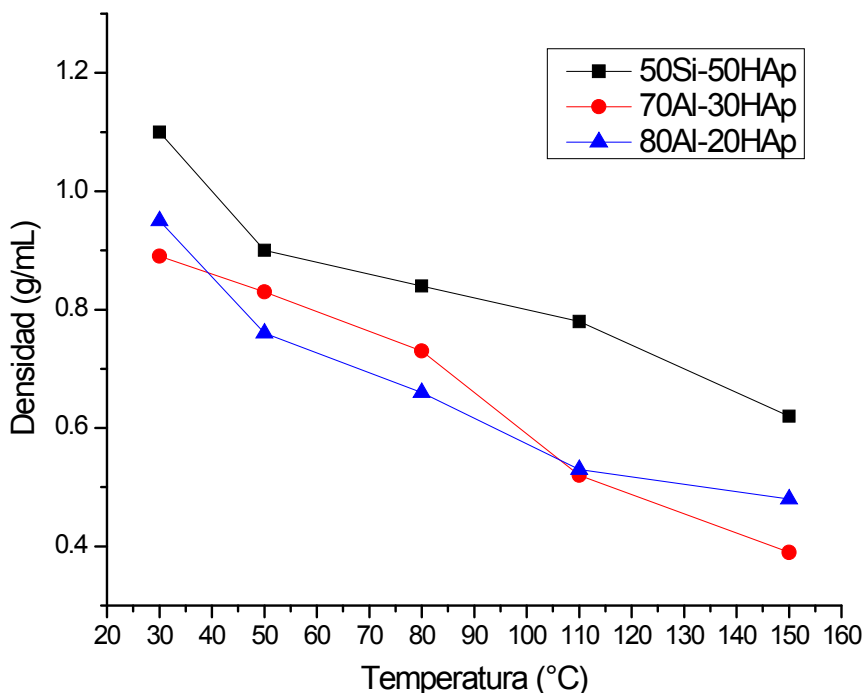
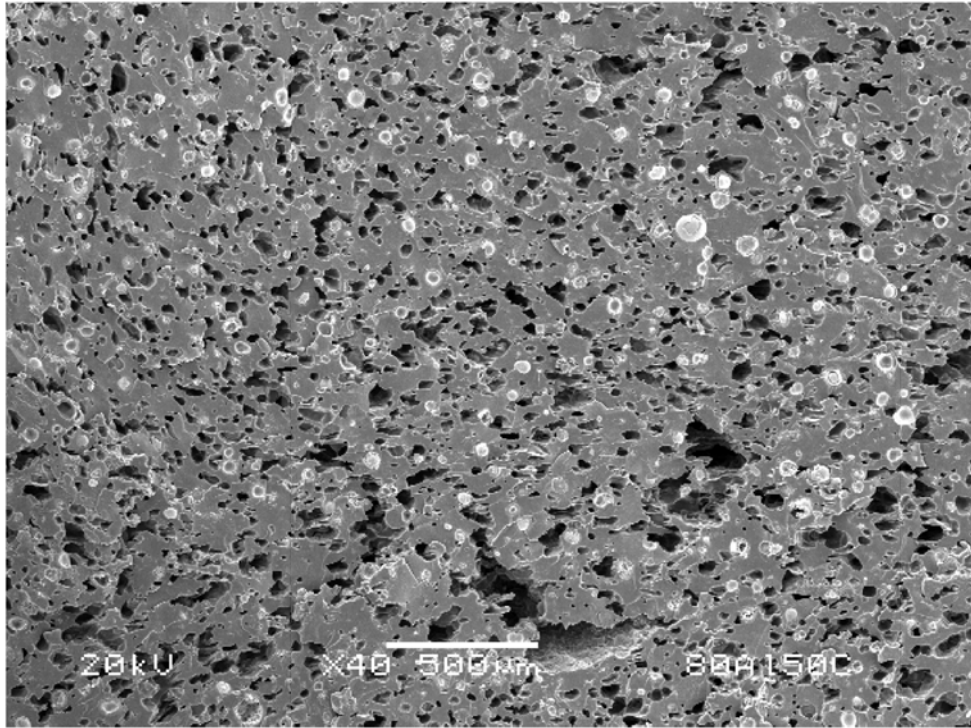


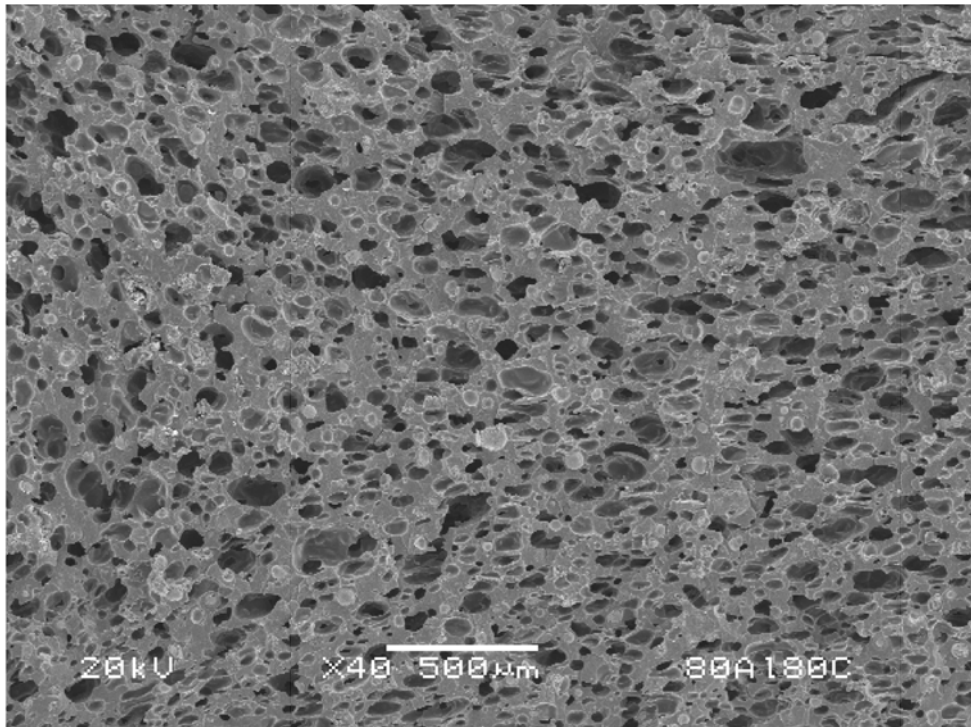
Figura 37 Densidad en función de la temperatura.

Este resultado no es de sorprenderse dado que al aumentar la temperatura, la reacción entre la HAp y el poliuretano se realiza de forma más rápida y por lo tanto se produce más  $\text{CO}_2$ , lo que genera poros de mayor tamaño y por lo tanto reduce la densidad del material por hacerlo más hueco. Esto se comprueba al realizar el análisis del tamaño de poro con ayuda de las micrografías SEM.

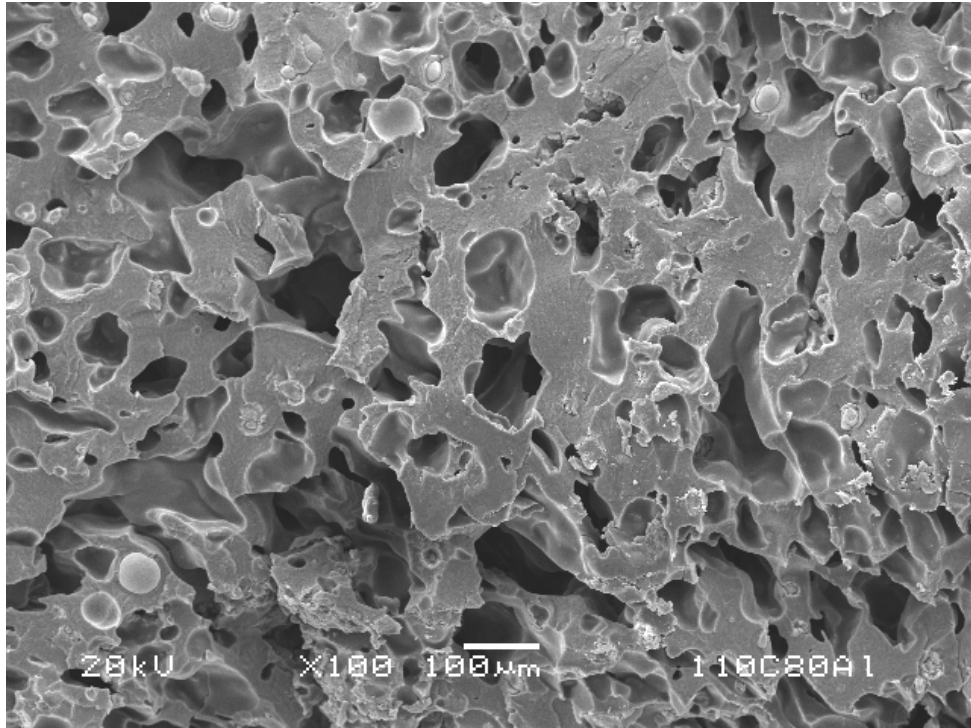
Las imágenes características correspondientes a la formulación 80A-20HAp con los diferentes tratamientos térmicos se muestran en las figuras 38, 39, 40 y 41 el resto de los materiales presentan una morfología similar. En la figura 42 se observa la gráfica que reporta el tamaño promedio de poros de las tres formulaciones en función de la temperatura, mientras que en la figura 43 muestra la fracción de volumen de poro para las diferentes formulaciones con sus tratamientos térmicos.



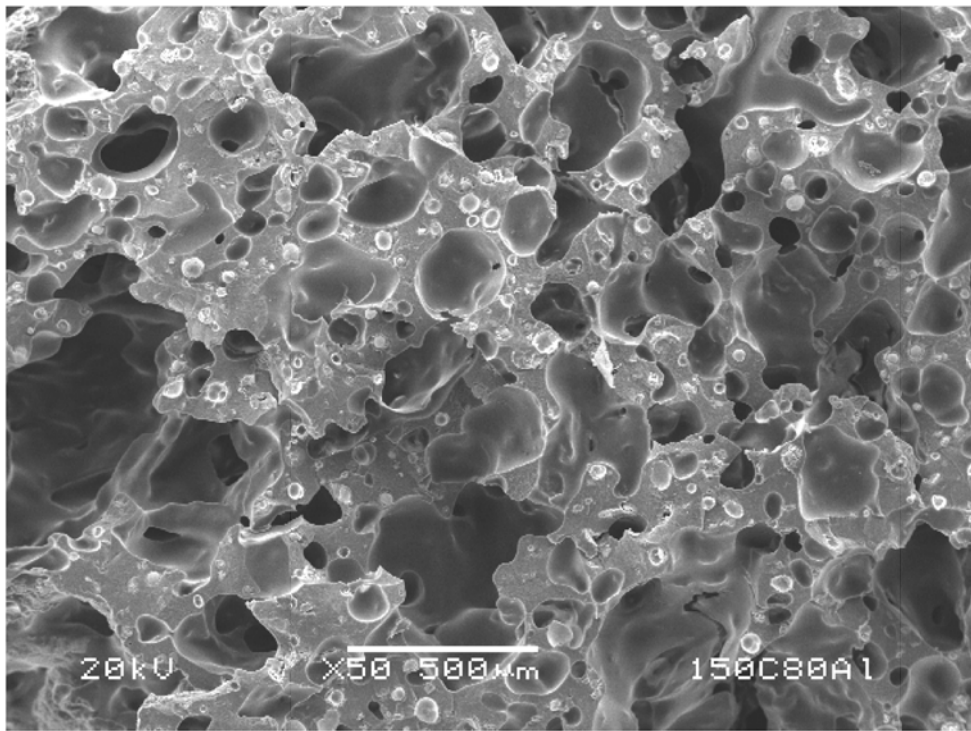
**Figura 38** Formulación 80Al-20HAp 50°C.



**Figura 39** Formulación 80Al-20HAp 80°C.



**Figura 40** Formulación 80Al-20HAp 110°C.



**Figura 41** Formulación 80Al-20HAp 150°C.

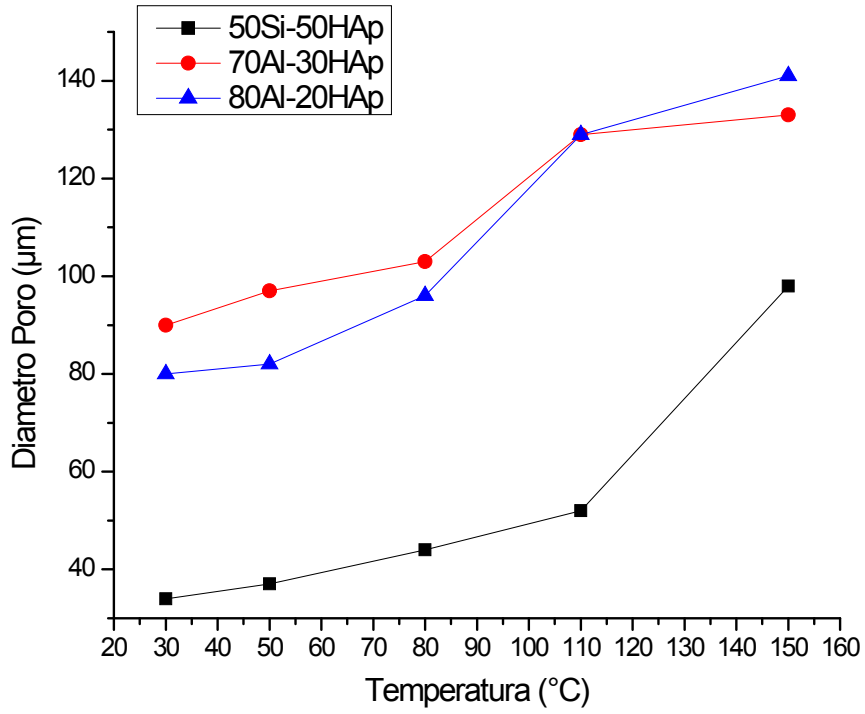


Figura 42 Tamaño de poro.

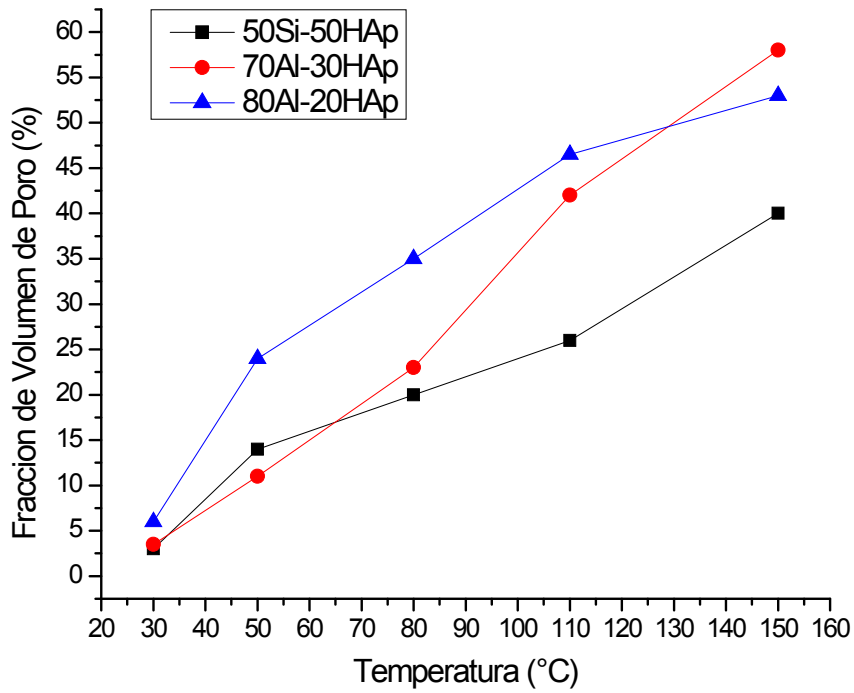


Figura 43 Fracción de volumen de poro.

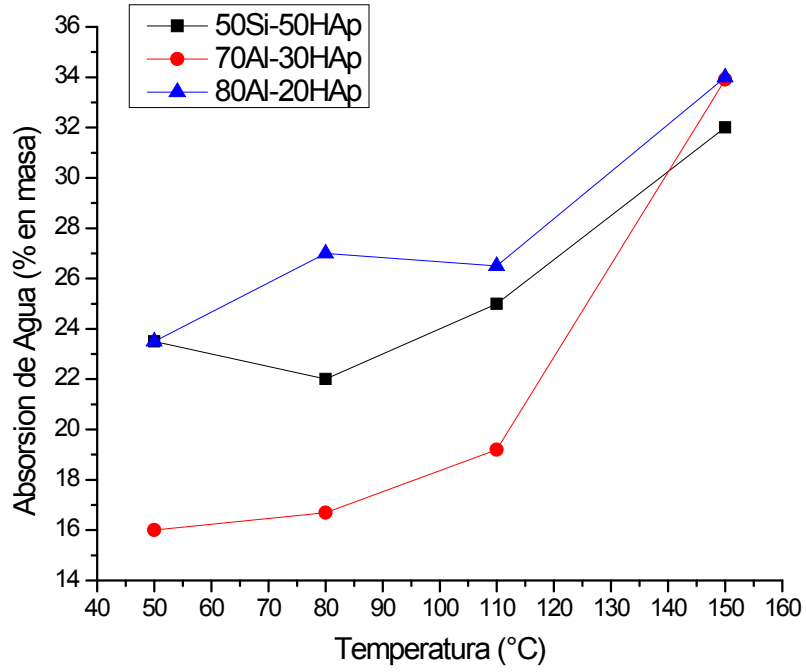


Figura 44 Absorción de agua.

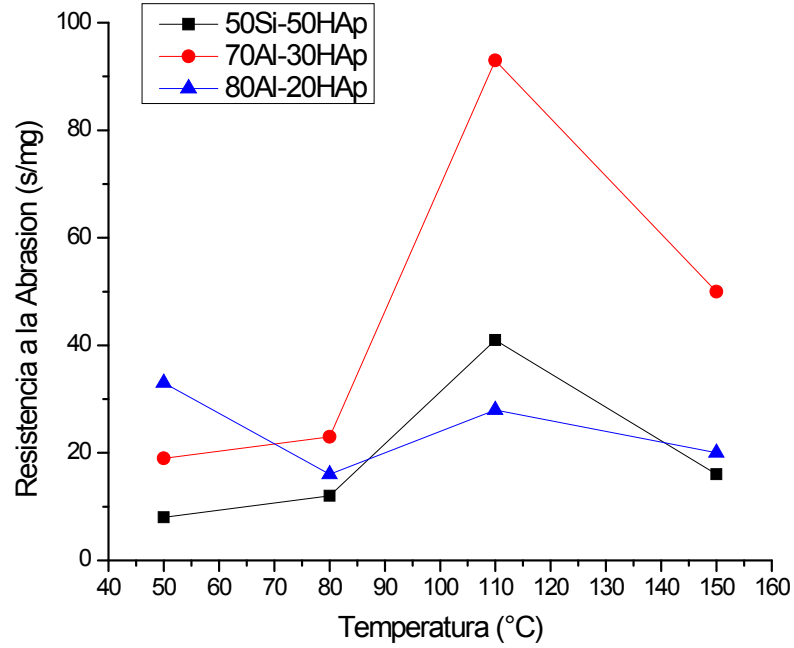
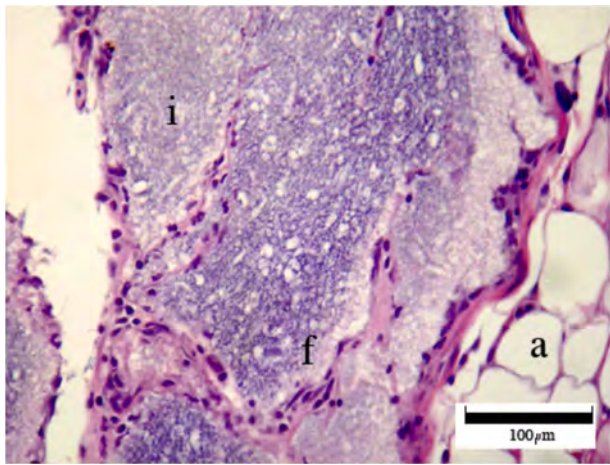


Figura 45 Resistencia a la abrasión.





### 3.3 Discusión

La densidad es la propiedad que más afecta a los materiales aquí desarrollados puesto que su reducción, al momento de incrementar la temperatura del tratamiento térmico, causa que la morfología, la porosidad, la absorción de agua y la resistencia mecánica y a la abrasión sean modificadas. La reducción de la densidad va de 1.0 a 0.4 g/mL, sigue una dependencia aproximadamente lineal con respecto a la temperatura, sin embargo, esta depende de la concentración y del tipo de partículas cerámicas utilizadas.

La reacción llevada a cabo entre el poliisocianato bloqueado y los grupos hidroxilo libera  $\text{CO}_2$  que sirve como formador de poro. La velocidad a la que se lleva a cabo esta reacción depende de la temperatura, lo cual puede ser constatado con la gráfica del tamaño promedio de los poros (Figura 42). El tamaño y la fracción de volumen de los poros se ve favorecido por el incremento de temperatura por dos factores: primero la temperatura acelera la reacción química generando  $\text{CO}_2$  de manera más rápida. Por otro lado tenemos que la presión del  $\text{CO}_2$  es dependiente de la temperatura e incrementa de forma lineal con la temperatura bajo la ley de los gases ideales. Estos dos factores actúan en conjunto para la formación de poros de mayor volumen, lo cual es demostrado con la ayuda de las gráficas de las figuras 42 y 43.

Se puede apreciar la existencia de dos regímenes en cuanto al tamaño de poro: el primero corresponde a un crecimiento lento de los poros a baja temperatura, mientras que el segundo es caracterizado por un crecimiento del tamaño de los poros más rápido a altas temperaturas. El cambio de régimen se da entre los  $80^\circ\text{C}$  y  $100^\circ\text{C}$  y depende de la cerámica utilizada, en el caso de los materiales conteniendo alúmina, el cambio de régimen se da a más baja temperatura ( $80^\circ$ ), mientras que para aquellos conteniendo sílice el cambio se da a  $110^\circ\text{C}$ .

La fracción de volumen de poro calculada con la ecuación 18 y los resultados reportados en la figura 43. Se realizó una muestra de referencia sin poros utilizando un isocianato no bloqueado con la finalidad de evitar la generación de  $\text{CO}_2$ . La densidad de este material fue de 1.04 g/mL. Como la fracción de volumen de poro está directamente relacionada con la densidad, ésta incrementa con la temperatura de una forma prácticamente lineal. A bajas temperaturas (inferiores a  $50^\circ\text{C}$ ) se obtienen valores 20% de porosidad, lo cual se debe a que los poros no alcanzan un tamaño suficiente para la interconexión de los mismos. Las muestras con alúmina alcanzan una excelente fracción de volumen de poro superando el 50%, lo cual favorece la formación de colágeno y vasos sanguíneos dentro del material.

Como se mencionó en la sección 1.3, los poros son considerados como defectos de los materiales, puesto que modifican las propiedades mecánicas. De forma general, los materiales porosos poseen pobres propiedades mecánicas dado que los poros actúan como concentradores de esfuerzos favoreciendo la generación de fracturas y fisuras responsables de las pobres propiedades mecánicas de estos materiales. En la figura 34 se puede constatar con el módulo de Young la forma en que los poros modifican la resistencia mecánica del material. Para temperaturas inferiores a los 110 °C se puede apreciar que el módulo de Young decrece con la temperatura, sin embargo, para las temperaturas más elevadas (arriba de 110 °C) se obtuvieron resultados inesperados. Los valores obtenidos para el módulo de Young son superiores a lo esperado, dado que al aumentar la temperatura la densidad disminuye dando paso a un incremento en el volumen de poros y por lo tanto esperando un deterioro en las propiedades mecánicas.

Para las muestras tratadas con temperaturas superiores a los 110 °C se observa que la rapidez del decaimiento del módulo de Young disminuye haciéndose más lento. Este efecto es más apreciable en las muestras conteniendo alúmina: para la muestra 80A-20HAp la rapidez de reducción del módulo de Young es menor alcanzando para 150 °C valores más altos que los esperados. Por otro lado, para la muestra 70A-30HAp el módulo de Young aumenta para altas temperaturas: hay un efecto de endurecimiento del material con la temperatura. Para la muestra conteniendo sílice, para temperaturas mayores de 110 °C el módulo de Young permanece prácticamente constante.

Se ha demostrado que los materiales con un tamaño de poro superior a los 100 µm estimulan el crecimiento de materia orgánica (colágeno, venas, etc.) en el interior (55; 56; 57). Es importante señalar que las muestras trabajadas con alúmina poseen tanto un tamaño de poro mayor con poros de diámetro superiores a los 100 µm para las temperaturas más elevadas, así como valores de módulo de Young superiores a las muestras conteniendo sílice.

Además, hay que recordar que los materiales tratados con temperatura de 150 °C mostraron un valor de módulo de Young superior a lo esperado. Este comportamiento se debe a que la temperatura comienza a degradar el polímero endureciéndolo, lo que provoca una reducción en su flexibilidad pero un incremento en el valor del módulo de Young.

Por lo que concierne al esfuerzo a la ruptura se podría esperar que a mayores temperaturas la resistencia fuera menor. Sin embargo, como se observa en la figura 35, la resistencia a la ruptura es menos sensible a los cambios de temperatura mostrando valores similares para todas las muestras. Esto muestra que el incremento en la porosidad en los materiales por el tratamiento térmico se

ve recompensado por la dureza generada en el polímero a elevadas temperaturas. De forma similar, la deformación a la ruptura (Figura 36) no se ve altamente influenciada por la temperatura dado que se obtuvieron valores cercanos para todos los materiales. A 150 °C el esfuerzo a la ruptura fue prácticamente el mismo para todas las muestras.

Por lo que concierne a la resistencia a la abrasión (Figura 45), todas las muestras obtuvieron el valor más elevado para la temperatura de 110 °C. Al incrementar la temperatura hasta 150 °C, la resistencia a la abrasión se vio reducida. Al igual que en el caso de las propiedades mecánicas, la resistencia a la abrasión se ve influenciada por la oposición de dos fenómenos, de un lado tenemos un incremento en los enlaces químicos debido a efectos de temperatura, mientras que del otro lado tenemos el incremento de la porosidad como consecuencia de la densidad. El decaimiento de la resistencia a la abrasión para las temperaturas elevadas indica que la dureza del material no es lo suficientemente alta para compensar por el alto grado de porosidad del material.

La morfología del material juega un papel importante para la absorción de agua. Como se puede apreciar en la figura 44, las muestras tratadas con elevadas temperaturas absorben una mayor cantidad de agua. Este resultado es bastante lógico dado que la porosidad incrementa con la temperatura lo que permite que el material atrape una mayor cantidad de agua en su interior. Aunado a esto, a mayores temperaturas, la fracción del volumen de poro aumenta incrementando la interconexión de los mismos. Esto permite que el agua penetre más profundamente en el material.

Se puede apreciar que a 150°C la absorción de agua es prácticamente la misma para todas las muestras, alcanzando casi un 35% de la masa del material en agua. Al igual que el tamaño de poro, la absorción de agua muestra dos regímenes, para las muestras tratadas con temperaturas superiores a 110°C la interconexión entre los poros es mayor lo que permite que se absorba mayor cantidad de agua.

En las pruebas de biocompatibilidad se demostró que los materiales no generaron ningún tipo de rechazo, la inflamación desaparece en un lapso no mayor de 21 días y se constató el desarrollo de fibras de colágeno dentro y fuera del material. Esto ayudó a mantenerlos en su posición y muestra la biocompatibilidad de los materiales.

## CAPITULO 4 CONCLUSIONES

Se logró sintetizar satisfactoriamente una hidroxiapatita con una relación estequiométrica cercana al valor ideal. Así mismo se consiguió sólo la formación de una fase cristalina y un tamaño de partícula ideal para el desarrollo de los materiales.

Se consiguió producir un material híbrido y poroso con buenas propiedades tanto mecánicas como de abrasión para ser utilizado como sustituto de tejido óseo. La porosidad fue controlada con la ayuda de la temperatura de los diferentes tratamientos térmicos. Así mismo, con el incremento de temperatura se consiguió reducir la densidad del material de 1.0 a 0.4 g/mL.

Los resultados de las pruebas mecánicas evidencian que existe un proceso de incremento en los enlaces químicos debido a efectos de temperatura. Este endurecimiento provoca la reducción de los efectos de la porosidad sobre las propiedades del material, tales como la resistencia mecánica y la resistencia a la abrasión.

Dado todo lo anterior es posible crear biomateriales con un alto grado de porosidad, al mismo tiempo que se tienen buenas propiedades mecánicas.

Con el incremento de temperatura, sobre todo para temperaturas superiores a los 110 °C, es posible obtener poros de mayor tamaño, lo cual viene a favorecer la vascularización por los capilares sanguíneos. Este factor permite también que se obtenga un buen grado de vascularización sin perjudicar o reducir las propiedades mecánicas del material.

Se obtuvo una respuesta satisfactoria por parte de las ratas a la implantación de los materiales, logrando la formación de fibras de colágeno dentro del material.

Las formulaciones conteniendo alúmina y siendo tratadas a elevadas temperaturas (110 °C y 150 °C) son las que por sus características son las más favorables para servir como implantes de tejido óseo.

Finalmente, una visión a largo plazo del proyecto puede ser la creación de empaques contenedores de circuitos que permitan tener un control en tiempo real de diferentes parámetros; tal podría ser el caso de la glucosa en pacientes con diabetes y de esta manera evitar complicaciones por la enfermedad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **Carmen Mijangos; José Serafín Moya.** *Nuevos Materiales en la Sociedad del Siglo XXI.* Madrid : Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2007. págs. 63-72.
2. **Teri A. Grieb; Ren-Yo Fornig; Richard E. Stafford; Jack Lin; Jamie Almeida; Simon Bogdansky; Chad Ronholdt; William N. Drohan; Wilson H. Burgess.** *Effective use of optimized, high-dose (50 kGy) gamma irradiation for pathogen inactivation of human bone allografts.* 14, United States of America : El Servier, 2005, Biomaterials, Vol. 26, págs. 2033-2042 .
3. **Stevens, Molly M.** *Biomaterials for bone tissue engineering.* 5, London, United Kingdom : El Servier, Mayo de 2008, Materials Today, Vol. 11, págs. 18-25.
4. **M. Descamps; J.C. Hornez; A. Leriche.** *Manufacture of hydroxyapatite beads for medical applications.* 29, Maubeuge, France : El Servier, 2009, Journal of the European Ceramic Society, págs. 369–375.
5. **T. Anee Kuriakose; S. Narayana Kalkura; M. Palanichamy; D. Arivuoli; Karsten Dierks; G. Bocelli; C. Betzel.** *Synthesis of stoichiometric nano crystalline hydroxyapatite by ethanol-based sol–gel technique at low temperature.* 263, s.l. : El Servier, 2004, Journal of Crystal Growth, págs. 517-523.
6. **Tiejun Gao; Hannu T. Aro; Heimo Ylanen; Eero Vuorio.** *Silica-based bioactive glasses modulate expression of bone morphogenetic protein-2 mRNA in Saos-2 osteoblasts in vitro.* 22, Turku, Finland : El Servier, 2001, Biomaterials, págs. 1475-1483.
7. **Cheol Y. Kim; Sang Soo Jee.** *Hydroxyapatite formation on bioactive-glazed alumina.* 23, South Korea : El Servier, 2003, Journal of the European Ceramic Society, págs. 1803-181.
8. **G. Suresh Kumar; E.K. Girija; A. Thamizhavel; Y. Yokogawa; S. Narayana Kalkura.** *Synthesis and characterization of bioactive hydroxyapatite-calcite nanocomposite for biomedical applications.* Salem , India : El Servier, 2010, Journal of Colloid and Interface Science, Vol. 349, págs. 56-62.
9. **Jin-long LIU, Yuan-yuan ZHU, Qing-liang WANG, Shi-rong GE.** *Biotribological behavior of ultra high molecular weight polyethylene composites containing bovine bone hydroxyapatite.* 4, Jiangsu, China : El Servier, 2008, Journal of China University of Mining and Technology, Vol. 18, págs. 606-612.
10. **Cai-Xia Zhao; Wei-De Zhang.** *Preparation of waterborne polyurethane nanocomposites: Polymerization from functionalized hydroxyapatite.* 44, China : El Servier, 2008, European Polymer Journal, págs. 1988–1995.
11. **Hockin H.K. Xu; Douglas T. Smith; Carl G. Simon.** *Strong and bioactive composites containing nano-silica-fused whiskers for bone repair.* 25, United States of America : El Servier, 2004, Biomaterials, págs. 4615–4626.

12. **Shahram Ghanaati; Carina Orth; Mike Barbeck; Ines Willershausen; Benjamin W Thimm; Patrick Booms; Stefan Stübinger; Constantin Landes; Robert Anton Sader; Charles James Kirkpatrick.** *Histological and histomorphometrical analysis of a silica matrix embedded nanocrystalline hydroxyapatite bone substitute using the subcutaneous implantation model in Wistar rats.* 3, Germany : Springer, 2010, Biomedical Materials, Vol. 5.
13. **D.J.A. Netz; P. Sepulveda; V.C. Pandolfelli; A.C.C. Spadaro; J.B. Alencastre; M.V.L.B. Bentley; J.M. Marchetti.** *Potential use of gelcasting hydroxyapatite porous ceramic as an implantable drug delivery system.* 213, Sao Paulo, Brazil : El Servier, 2001, International Journal of Pharmaceutics, págs. 117-125.
14. **Elices, Manuel.** *Structural Biological Materials: Design and Structure-Property Relationships.* 1a Edición. s.l. : Pergamon, 2000. págs. 31-67.
15. **D.Ratner, Buddy; Hoffman, Allan S.; Schoen, Frederick J.; Lemons, Jack E.** *Biomaterials Science, an Introduction to Materials in Medicine.* 2a. Edición. s.l. : Elsevier, 2004. págs. 18, 25, 153-166.
16. **Seeram Ramakrishna; Zheng-Ming Huang; Ganesh V Kumar; Andrew W Batchelor; Joerg Mayer.** *An Introduction to Biocomposites.* s.l. : Imperial College Press, 2004. págs. 1-34.
17. **Park, Joon B.; D.Broznio, Joseph.** *Biomaterials, Principles and Applications.* s.l. : Taylor & Francis Group, 2000. págs. 21-24, 27-32, 35.
18. **Askeland, Donald R.** *Ciencia e Ingeniería de los Materiales.* 4a. Edición. s.l. : CENGAGE Learning, 2010. págs. 400, 406-412, 416-428.
19. **Callister, William D.** *Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los Materiales.* s.l. : Editorial Reverté, 2000. págs. 198-208, 388-391, 408-411, 416-425.
20. **M.H. Fathi; A. Hanifi; V. Mortazavi.** *Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder.* 202, Isfahan, Iran : El Servier, 2008, Journal of Materials Processing Technology, págs. 536-542.
21. **Rivera, Jairo A.; Riaño, Carlos H.; Echavarría, Alejandro; Monsalve, Paula A.; Alzate, Gildardo J.; Restrepo, Luis F.; Jaramillo, Carlos D.** *Injertos óseos - Nueva alternativa. Fase III. Obtención, caracterización y evaluación de Hidroxiapatita Sintética y el compuesto de Hidroxiapatita Sintética porosa – Proteínas Morfogenéticas Óseas en un modelo experimental Lapino.* Medellín, Colombia : s.n., 2004, Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, Vol. 17:1.
22. **E. Landi; G. Celotti; G. Logroscino; A. Tampieri.** *Carbonated hydroxyapatite as bone substitute.* 23, Italy : El Servier, 2003, Journal of the European Ceramic Society, págs. 2931-2937.
23. **Alonso, Lizette Morejón; García-Menocal, José Angel Delgado; Mijares, Eduardo Mendizábal; Davidenko, Natalia; Farias, Alicia Quiroz; Ginebra, Maria Pau; Mur, Javier Gil; Planell, Josep Anton.** *Cementos óseos acrílicos*

*modificados con hidroxiapatita. Parte II. Propiedades mecánicas estáticas y comportamiento bioactivo.* 3, La Habana, Cuba : s.n., 2006, Revista CENIC Ciencias Químicas, Vol. 37.

24. **Roberto Crespi; Paolo Capparè; Enrico Gherlone.** *Dental Implants Placed in Extraction Sites Grafted With Different Bone Substitutes: Radiographic Evaluation at 24 Months.* 10, Milán, Italia : s.n., 2009, Journal of Periodontology, Vol. 80. doi: 10.1902/jop.2009.090156.

25. **Teruaki Yoshida; Masanori Kikuchi; Yoshihisa Koyama; Kazuo Takakuda.** *Osteogenic activity of MG63 cells on bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite sponges.* Tokyo, Japón : Springer Science+Business Media, 2009, Journal of Materials Science: Materials in Medicine. DOI 10.1007/s10856-009-3938-3.

26. **M. Lebourg; J. Suay Antón; J. L. Gomez Ribelles.** *Hybrid structure in PCL-HAp scaffold resulting from biomimetic apatite growth.* Valencia, España : Springer Science+Business Media, 2009, Journal of Materials Science: Materials in Medicine. DOI 10.1007/s10856-009-3838-6.

27. **M. Rabillard; J.-G. Grand; E. Dalibert; B. Fellah; O. Gauthier; G. W. Niebaue.** *Effects of autologous platelet rich plasma gel and calcium phosphate biomaterials on bone healing in an ulnar ostectomy model in dogs.* 6, Nantes, Francia : Schattauer, 2009, Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology.

28. **Iler, Ralph K.** *The Chemistry of Silica: Solubility, Polymerization, Colloid and Surface Properties, and Biochemistry.* s.l. : John Wiley & Sons, 1979. págs. 3-29.

29. **J. L. Xu; K. A. Khor.** *Chemical analysis of silica doped hydroxyapatite biomaterials consolidated by a spark plasma sintering method.* 101, Singapore : Elsevier, 2007, Journal of Inorganic Biochemistry, págs. 187-195.

30. **Ana I. Villacampa; Juan Ma. García-Ruíz.** *Synthesis of a new hydroxyapatite-silica composite material.* 211, Granada, España : Elsevier Science, 2000, Journal of Crystal Growth, págs. 111-115.

31. **Nina M. K. Lamba; kimberly A. Woodhouse; Stuart L. Cooper.** *Polyurethanes in Biomedical Applications.* 1a. Edición. s.l. : CRC PRESS, 1998. págs. 1, 5-23.

32. **Shalaby W. Shalaby; Karen J. L. Burg.** *Absorbable and Biodegradable polymers.* s.l. : CRC Press, 2004. págs. 1-10, 143-171.

33. **Douglas A. Skoog; F. James Holler; Timothy A. Nieman.** *Principios de Análisis Instrumental.* 6a. Edición. s.l. : CENGAGE Learning, 2008. págs. 197, 245-250, 409-410, 423-427, 463-471.

34. **Schrader, Bernhard.** *Infrared and Raman Spectroscopy: Methods and Applications.* s.l. : VCH, 1995. págs. 1-26.

35. **Gabor L. Hornyak; Joydeep Dutta; Harry F. Tibbals; Anil K. Rao.** *Introduction to Nanoscience*. United States : CRC Press, 2008. págs. 154-159.
36. **Mark Ladd; Rex Palmer.** *Structure Determination by X-ray Crystallography*. 4th Edition. New York : KlumerAcademic / Plenum Publishers, 2003. págs. 1-5, 51-62, 117-144.
37. **Sands, Donald E.** *Introducción a la Cristalografía*. España : Editorial Reverté, 1993. págs. 53-58.
38. **Massa, Werner.** *Crystal Structure Determination*. 1a. Edición. s.l. : Springer, 2000. págs. 3-25, 171-175.
39. **Kittel, Charles.** *Introduction to Solid State Physics*. 7a. Edición. United States : John Wiley & Sons, 1996. págs. 8-12.
40. **W. I. F. David; K. Shankland; L. B. McCusker; Ch. Baerlocher.** *Structure Determination from power Diffraction Data*. s.l. : Oxford University Press, 2006. págs. 29-46.
41. **Smith, Brian.** *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*. 1st Edition. s.l. : CRC Press, 1999. págs. 1-25.
42. **Donald A. Burns; Emil W. Ciurczak.** *Handbook of Near-Infrared Analysis*. 3rd Edition. s.l. : CRC Press, 2008. págs. 3-18, 67-91.
43. **Hill, Steve J.** *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*. 2nd Edition. s.l. : Blackwell Publishing, 2007. págs. 61-121.
44. **Gerardo Vázquez Nin; Olga Echeverría.** *Introducción a la Microscopía Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas*. México, D.F. : Fondo de Cultura Económica, 2000. págs. 92-109.
45. **Miguel José Yacamán; José Reyes Gasga.** *Microscopía Electrónica: Una visión del microcosmos*. 1a. Edición. s.l. : Fondo de Cultura Económica, 1995. págs. 13-39, 137.
46. **Wischnitzer, Saul.** *Introduction to Electron Microscopy*. 3rd Edition. s.l. : Pergamon Press, 1981. págs. 213-245.
47. **Joseph Goldstein; Dale Newbury; David Joy; Charles Lyman; Patrick Echlin; Eric Lifshin; Linda Sawyer; Joseph Michael.** *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. 3rd Edition. s.l. : Springer, 2003. págs. 21-60.
48. **C. Santos; R.L. Clarke; M. Braden; F. Guitian; K.W.M. Davy.** *Water absorption characteristics of dental composites incorporating hydroxyapatite filler*. 23, s.l. : El Servier, 2002, Biomaterials, págs. 1897–1904.
49. **M. G r jeu; P. Suquet.** *On the influence of local fluctuations in volume fraction of constituents on the effective properties of nonlinear composites*. 4, Marseille,



France : s.n., 2007, Journal of Mechanics and Physics of Solids, Vol. 55, págs. 842-878.

50. **Rogelio Rodriguez; Achim M. Loske; Francisco Fernández; Miriam Estevez; Susana Vargas; Gilberto Fernández; Miguel I. Paredes.** *In Vivo Evaluation of Implant–Host Tissue Interaction using Morphology-Controlled Hydroxyapatite-Based Biomaterials.* Querétaro, México : s.n., 2011, Journal of Biomaterials Science, Vol. 22, págs. 1799-1810.

51. **Colthup, Norman B.; Daly, Lawrence H.; Wiberly, Stephen E.** *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy.* 3a. Edición. s.l. : Academic Press, Inc., 1990. págs. 309-310, 362-371.

52. **Coates, John.** *Encyclopedia of Analytical Chemistry - Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach.* s.l. : R.A. Meyers, 2000. págs. 10815-10837.

53. **J.M. Coelho; J. Agostinho Moreira; A. Almeida.** *Synthesis and characterization of HAp nanorods from a cationic surfactant template method.* Porto, Portugal : Cornell University Library, 2010.

54. **R. Cuscó; F. Guitián; S. de Aza; L. Artús.** *Differentiation between Hydroxyapatite and  $\beta$ -Tricalcium Phosphate by Means of  $\mu$ -Raman Spectroscopy.* 18, Barcelona, España : Elsevier, 1998, Journal of the European Ceramic Society, págs. 1301-1305.

55. **Shuhua Teng; Lijuan Chen; Yanchuan Guo; Jingjing Shi.** *Formation of nano-hydroxyapatite in gelatin droplets and the resulting porous composite microspheres.* 101, Beijing , China : El Servier, 2007, Journal of Inorganic Biochemistry, págs. 686-691.

56. **Guangyuan Lu; Baiyang Sheng; Yujun Wei; Gan Wang; Lihai Zhang; Qiang Ao; Yandao Gong; Xiufang Zhang.** *Collagen nanofiber-covered porous biodegradable carboxymethyl chitosan microcarriers for tissue engineering cartilage.* 44, China : El Servier, 2008, European Polymer Journal, págs. 2820-2829.

57. **Ralph Holmes; Herbert Hagler.** *Porous hydroxyapatite as bone graft substitute in maxillary augmentation: An histometric study.* 16, United States of America : El Servier, 1988, Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, págs. 199-205.