



EL SABER DE MIS HIJOS
HARA MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y MATERIALES

Síntesis y Caracterización de Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita, Preparados Mediante la Técnica Sol-Gel

TESIS

Presentada al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales
como requisito parcial para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIA DE MATERIALES

Por:

MARTÍN ANTONIO ENCINAS ROMERO

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

COMITÉ EVALUADOR DE TESIS:

Presidente	Dr. Salvador Aguayo Salinas
Secretario	Dra. Judith Celina Tánori Córdova
Vocal	Dr. Santos Jesús Castillo
Vocal	Dr. Jesús Leobardo Valenzuela García
Vocal Externo	Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses
Vocal Suplente	Dr. Luis Enrique Gutiérrez Millán

DIRECCIÓN DE TESIS:

Dr. Salvador Aguayo Salinas

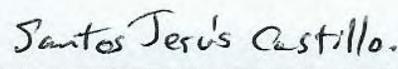
Los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis de Doctorado de Martín Antonio Encinas Romero la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencia de Materiales, en el Programa de Doctorado en Ciencia de Materiales.



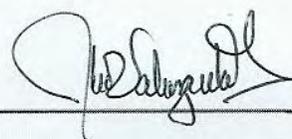
Dr. Salvador Aguayo Salinas
Presidente



Dra. Judith Celina Tánori Córdova
Secretaria



Dr. Santos Jesús Castillo
Vocal



Dr. Jesús Leobardo Valenzuela García
Vocal



Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses
Vocal Externo



Dr. Luis Enrique Gutiérrez Millán
Vocal Suplente

10 de junio de 2009

DEDICATORIA

*A mi esposa Mireya
y mis hijos Julieta y Martín Fernando*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales de la Universidad de Sonora, por darme la oportunidad de desarrollar mis estudios de doctorado.

Agradezco a mi director de tesis, Dr. Salvador Aguayo Salinas, por invitarme a colaborar en este proyecto, brindándome la oportunidad de desarrollarme en un campo de investigación apasionante y lleno de expectativas para continuar aportando con nuestro trabajo, alternativas en el área de materiales biocerámicos. Asimismo, agradezco su apoyo y confianza a lo largo del desarrollo del trabajo de tesis.

Agradezco a los integrantes del comité de tesis, Dra. Judith Celina Tánori Córdova, Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses, Dr. Santos Jesús Castillo, Dr. Jesús Leobardo Valenzuela García y Dr. Luis Enrique Gutiérrez Millán, por sus valiosos comentarios y recomendaciones, a lo largo del trabajo de investigación, así como en la revisión del escrito final del trabajo de tesis.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico mediante la beca 189156, otorgada para el desarrollo de mis estudios de doctorado.

Agradezco al Programa Anual de Colaboración Académica y Cultural UNISON-UNAM mediante el proyecto Px-864, por el apoyo económico para el desarrollo de estancias de investigación en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, y en el Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Agradezco a la División de Ingeniería y al Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, por el apoyo económico para materiales, reactivos y apoyo complementario para estancias de investigación.

Agradezco a la Minera NYCO S.A. de C.V., por proporcionar la Wollastonita NYAD M-325, utilizada en este trabajo de tesis.

Para el desarrollo de este trabajo de investigación, se requirió de la utilización de importantes recursos en lo referente a laboratorios y equipo especializado, por lo cual expreso mi agradecimiento a todas aquellas personas que apoyaron con su experiencia y asistencia técnica. Dr. Eric M. Rivera Muñoz (CFATA-UNAM-Juriquilla-Qro.), Dra. Genoveva Hernández Padrón (CFATA-UNAM-Juriquilla-Qro.), Dr. Rafael Ramírez Bond (CINVESTAV-Querétaro), Dr. Juan Muñoz Saldaña (CINVESTAV-Querétaro), Ing. Francisco Rodríguez (CINVESTAV-Querétaro), Ing. Israel Gradilla Martínez (CNyN-UNAM-Ensenada), M.C. Eloísa Aparicio Ceja (CNyN-UNAM-Ensenada), Ing. Sandra R. Payán Díaz (CNyN-UNAM-Ensenada), M.C. Eric Flores Aquino (CNyN-UNAM-Ensenada), Tec. Alejandro Tiznado Vázquez (CNyN-UNAM-Ensenada), M.C. Eduardo A. Larios Rodríguez (Lab. de Microscopia Electrónica de Transmisión-UNISON), Dr. Francisco Brown Bojórquez (DIPM-UNISON), Dra. Hisila Santacruz Ortega (DIPM-UNISON) y Dra. María Elena Zayas Saucedo (DIFUS-UNISON).

Un agradecimiento especial al Dr. Enrique C. Samano Tirado (CNyN-UNAM-Ensenada), por su asistencia técnica, comentarios y discusión, durante la evaluación de las propiedades mecánicas de los materiales.

Expreso mi más sincero reconocimiento al Dr. Felipe Francisco Castellón Barraza (CNyN-UNAM-Ensenada), por todo su apoyo, tiempo y dedicación, durante las etapas de síntesis y caracterización de los materiales. Asimismo, le agradezco el contacto con otros investigadores y personal técnico, sin los cuales hubiera resultado muy difícil llegar a la conclusión de este trabajo.

Finalmente agradezco a todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron directa e indirectamente en el desarrollo de este trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABLAS.....	xviii
RESUMEN.....	xix
SUMMARY.....	xxi
1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
1.1. Justificación.....	1
1.2. Objetivo General.....	4
1.3. Objetivos Particulares.....	4
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1. Generalidades.....	6
2.1.1. Características Generales del Tejido óseo.....	6
2.1.1.1. Estructura Macroscópica del Tejido Óseo.....	7
2.1.1.2. Estructura Microscópica del Tejido Óseo.....	8
2.1.1.3. Composición.....	10
2.1.1.4. Propiedades Mecánicas.....	14
2.1.2. Biomateriales.....	15
2.1.2.1. Clasificación de los Biomateriales.....	16
2.1.3. Biocerámicos de Fosfatos de Calcio.....	20
2.1.3.1. Propiedades Físicoquímicas.....	23
2.1.3.2. Propiedades Biológicas.....	32
2.1.3.3. Interacciones e Intercambios con Células y Tejidos.....	32

ÍNDICE DE CONTENIDO (continuación)

	Página
2.1.3.4. Modificaciones Biológicas.....	34
2.1.3.5. Factores de Bioactividad.....	35
2.1.3.6. Aplicaciones.....	35
2.2. Propiedades de la Hidroxiapatita.....	36
2.2.1. Propiedades Cristalográficas.....	36
2.2.2. Propiedades Físicas.....	40
2.2.3. Propiedades Biológicas.....	40
2.3. Propiedades de la Wollastonita.....	41
2.3.1. Propiedades Cristalográficas.....	42
2.3.2. Propiedades Físicas.....	46
2.3.3. Propiedades Biológicas.....	46
2.4. Técnicas de Preparación de Hidroxiapatita.....	48
2.4.1. Generalidades.....	48
2.4.2. Preparación de Hidroxiapatita Cerámica Densa.....	50
2.4.2.1. Métodos de Precipitación.....	50
2.4.2.2. Métodos de Hidrólisis.....	51
2.4.2.3. Fosfatos de Calcio Disponibles Comercialmente.....	52
2.4.2.4. Reacciones de Estado-Sólido.....	52
2.4.2.5. Reacciones Hidrotermales.....	52
2.4.2.6. Método Sol-Gel.....	53
2.4.2.7. Compactación y Sinterización.....	53
2.5. Procesamiento Sol-Gel.....	55
2.5.1. Preparación del Sol.....	55
2.5.2. Gelificación.....	55

ÍNDICE DE CONTENIDO (continuación)

	Página
2.5.3. Envejecimiento.....	56
2.5.4. Secado y Tratamiento Térmico.....	56
2.6. Evaluación de la Biocompatibilidad en Biomateriales.....	56
2.6.1. Evaluación de la Respuesta Tisular.....	58
2.6.2. Estudio de la Biocompatibilidad.....	59
2.7 Evaluación de Propiedades Mecánicas Mediante Nanoindentación.....	60
2.7.1. El Microscopio de Fuerza Atómica.....	60
2.7.2. Nanoindentación en Microscopio de Fuerza Atómica.....	62
2.7.2.1. Curvas Típicas de Indentación.....	63
2.7.2.2. Deformación Elástica-Plástica.....	65
2.7.2.3. Teoría de Oliver y Pharr.....	66
2.8 Evaluación de la Bioactividad en Biocerámicos.....	71
2.8.1. Diseño de la Solución de Fluido Fisiológico Simulado (SBF).....	72
2.8.2. Análisis de Bioactividad en Materiales de Implante.....	73
2.8.2.1. Inmersión de los Materiales en la Solución SBF.....	74
3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	76
3.1. Síntesis y Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.	76
3.1.1. Procedimiento Experimental.....	76
3.1.2. Técnicas de Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.....	80
3.1.2.1. Análisis Térmico.....	80
3.1.2.2. Difracción de Rayos-X.....	80
3.1.2.3. Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier.....	80

ÍNDICE DE CONTENIDO (continuación)

	Página
3.1.2.4. Espectroscopia Raman.....	80
3.1.2.5. Espectroscopia de Dispersión de Energía.....	81
3.1.2.6. Microscopia Electrónica de Barrido.....	81
3.1.2.7. Microscopia Electrónica de Transmisión.....	81
3.2. Sinterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.....	81
3.2.1. Procedimiento Experimental.....	81
3.2.2. Técnicas de Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita Sinterizados.....	82
3.3. Evaluación de las Propiedades Mecánicas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.....	83
3.3.1. Procedimiento Experimental.....	83
3.4. Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.....	83
3.4.1. Procedimiento Experimental.....	83
3.4.1.1. Preparación del Fluido Fisiológico Simulado (SBF).....	83
3.4.1.2. Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Materiales....	86
3.4.1.3. Técnicas de Caracterización.....	87
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	88
4.1. Síntesis y Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita- Wollastonita.....	88
4.1.1. Análisis Térmico en los Geles Secos.....	88
4.2.2. Caracterización de los Geles Secos.....	91
4.1.3. Caracterización de los Materiales Tratados Térmicamente.....	95

ÍNDICE DE CONTENIDO (continuación)

	Página
4.1.4. Caracterización de los Materiales Después de Tratamiento de Lavado Ácido.....	97
4.2. Sinterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.....	115
4.2.1. Caracterización de los Materiales Después del Tratamiento de Sinterización.....	115
4.3. Evaluación de las Propiedades Mecánicas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.....	126
4.3.1. Nanoindentación en Microscopio de Fuerza Atómica.....	128
4.4. Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.....	137
4.4.1. Evaluación en Solución de Fluido Fisiológico Simulado (SBF).....	137
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	153
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	158
PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS.....	177

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema de las partes que constituyen el hueso.....	10
Figura 2. Siete niveles jerárquicos de la estructura ósea.....	11
Figura 3. Representación esquemática de los componentes del hueso desde escala nanoscópica hasta escala macroscópica.....	13
Figura 4. Isotermas de solubilidad para diferentes fases de fosfatos de calcio a 37°C. La solubilidad está expresada por la cantidad de iones calcio en solución en función del pH.....	25
Figura 5. Imagen de microscopio electrónico de barrido de un material microporoso.....	28
Figura 6. Imagen de microscopio electrónico de barrido de un material macroporoso.....	29
Figura 7. Diferentes presentaciones de materiales de fosfato de calcio: (B) bloques y (G) gránulos.....	31
Figura 8. Arreglo atómico de la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ en una celda unitaria hexagonal.....	36
Figura 9. Estructura de la celda unitaria hexagonal de la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	38
Figura 10. Patrón de difracción de rayos-X para la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ en el intervalo de $2\theta = 3-70^\circ$	39
Figura 11. Espectro FT-IR mostrando las bandas de absorción características para O-H y P-O en la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	39
Figura 12. Espectro Raman para la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	40
Figura 13. Estructura de la Wollastonita, CaSiO_3 : (a) Cadena de SiO_4 , (b) Estructura cristalina, (c) Ejes cristalográficos de una estructura triclinica.....	44

LISTA DE FIGURAS (continuación)

	Página
Figura 14. Patrón de difracción de rayos-X para la wollastonita, CaSiO_3 en el rango de $2\theta = 5-90^\circ$	45
Figura 15. Espectro FT-IR para la wollastonita, CaSiO_3	45
Figura 16. Espectro Raman para la wollastonita, CaSiO_3	46
Figura 17. Micrografía de microscopio electrónico de barrido de la wollastonita, CaSiO_3 mostrando su forma acicular característica.....	47
Figura 18. Patrón de difracción de rayos-X de la capa de apatita, formada sobre una película de wollastonita cuando se sumerge por 21 días en una solución de fluido fisiológico simulado (SBF).....	48
Figura 19. Punta de un microscopio de fuerza atómica (AFM).....	61
Figura 20. Diagrama esquemático de las partes principales de un AFM.....	62
Figura 21. Esquema del proceso de indentación.....	62
Figura 22. Diferentes vistas de una punta de diamante comercial tipo Berkovich utilizada en las pruebas de nanoindentación.....	64
Figure 23. Ejemplos de curvas típicas de carga-desplazamiento para materiales con comportamiento plástico (a) y elástico (b y C).....	65
Figura 24. Representación esquemática de la deformación de una superficie durante y después de la indentación, mostrando las magnitudes empleadas en el análisis de las propiedades mecánicas.....	66
Figura 25. Curva típica de carga-desplazamiento en una prueba de nanoindentación.....	69
Figura 26. Diagrama de flujo del proceso integral para la síntesis y caracterización de compósitos de hidroxiapatita-wollastonita.....	79
Figura 27. Diagrama esquemático de un material inmerso en solución SBF.....	86

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Página

- Figura 28. Gráficos de DTA/TGA para las muestras: (—) gel seco de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol y (---) wollastonita natural, tratados térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min.....**89**
- Figura 29. Gráficos de TGA para los geles secos de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita natural: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt y (e) 100% wt, tratados térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min..... **90**
- Figura 30. Gráficos de DTA para los geles secos de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita natural: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt y (e) 100% wt, tratados térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min..... **91**
- Figura 31. Patrones de difracción de rayos-X para: (a) gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, (b) wollastonita natural. (■) Acetato de calcio, (+) Wollastonita.....**92**
- Figura 32. Espectros FT-IR para: (a) gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, (b) wollastonita natural.....**93**
- Figura 33. Espectros FT-IR para los geles secos producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt.....**94**
- Figura 34. Espectros Raman para los geles secos producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt.....**94**
- Figura 35. Patrones de difracción de rayos-X para el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta (a) 500°C y (b) 1000°C. (c) Carbonato de calcio, (o) Óxido de calcio, (*) Hidroxiapatita.....**96**

LISTA DE FIGURAS (continuación)

	Página
Figura 36. Patrones de difracción de rayos-X para el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C. (*) Hidroxiapatita, (o) Óxido de calcio, (+) Wollastonita.....	96
Figura 37. Patrones de difracción de rayos-X para el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C y lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (c) Hidroxiapatita carbonatada.....	98
Figura 38. Patrones de difracción de rayos-X para el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol: (a) gel secado a 120°C, (b) gel tratado térmicamente hasta 1000°C, (c) gel tratado térmicamente hasta 1000°C lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (c) Hidroxiapatita carbonatada, (o) Óxido de calcio, (■) Acetato de calcio.....	98
Figura 39. Patrones de difracción de rayos-X para el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita tratado térmicamente hasta 1000°C y lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (c) Hidroxiapatita carbonatada, (+) Wollastonita.....	99
Figura 40. Patrones de difracción de rayos-X para el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita: (a) gel tratado térmicamente hasta 1000°C, (b) gel tratado térmicamente hasta 1000°C lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (C) Hidroxiapatita carbonatada, (o) Óxido de calcio, (+) Wollastonita.....	100
Figura 41. Patrones de difracción de rayos-X para (a) wollastonita natural, geles secos producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (b) 80% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt, (e) 0% wt. (*) Hidroxiapatita, (C) Hidroxiapatita carbonatada, (+) Wollastonita.....	100

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Página

- Figura 42. Espectros FT-IR para: (a) gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, secado a 120°C, (b) wollastonita natural, geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (c) 0% wt, (d) 20% wt..... **102**
- Figura 43. Espectros FT-IR para los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 80% wt, (b) 50% wt, (c) 20% wt, (d) 0% wt..... **102**
- Figura 44. Espectros Raman para (a) gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, secado a 120°C, (b) wollastonita natural, geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (c) 0% wt, (d) 20% wt..... **104**
- Figura 45. Imágenes de SEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada..... **105**
- Figura 46. Imágenes de SEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada..... **105**
- Figura 47. Imágenes de SEM para los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 50% wt, (b) 80% wt, (c) wollastonita natural..... **107**
- Figura 48. Espectro EDS para la Hidroxiapatita producida a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratados térmicamente hasta 1000°C y lavados con HCl 0.01M y agua deionizada..... **107**

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Página

- Figura 49. Espectros EDS para los compositos de hidroxiapatita-wollastonita producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita: (a) 20% wt, (b) 50% wt, (c) 80% wt y (d) 100% wt, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada..... **108**
- Figura 50. Imágenes de TEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada..... **109**
- Figura 51. Imágenes SAED (a) y (b) de TEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (c) Ilustración esquemática de la estructura cristalina de la hidroxiapatita. Los círculos sólidos representan los átomos de OH, los círculos abiertos representan los átomos de Ca.....**110**
- Figura 52. Imágenes de TEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada.....**112**
- Figura 53. Imágenes SAED de TEM para el gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita tratado térmicamente hasta 1000°C y lavado con HCl 0.01M y agua deionizada..... **112**
- Figura 54. Imágenes de TEM de los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 50% wt, (b) 80% wt, (c) wollastonita natural..... **113**
- Figura 55. Imágenes SAED de TEM de los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 50% wt, (b) 80% wt, (c) wollastonita natural.....**113**
- Figura 56. Curvas DTA/TGA para: (—) gel seco de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, (----) wollastonita natural, tratados térmicamente a partir de la temperatura ambiente hasta 1400°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min..... **116**

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Página

- Figura 57. Patrones de difracción de rayos-X para: (a) hidroxiapatita pulverizada e hidroxiapatita sinterizada a 1200°C durante 5h, (b) wollastonita natural pulverizada y wollastonita natural sinterizada a 1200°C durante 5h..... **117**
- Figura 58. Patrones de difracción de rayos-X de los materiales base: (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h..... **118**
- Figura 59. Espectros de XPS de baja resolución de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h..... **119**
- Figura 60. Espectros XPS de alta resolución del orbital Ca 2*p*: (a) materiales base (100H, 100W) y (b) compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h. Las líneas punteadas en (b) representan las BE del Ca 2*p* para 100H y 100W respectivamente..... **120**
- Figura 61. Espectros XPS de alta resolución de los orbitales: (a) P 2*p* y (b) Si 2*p* de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h. Las líneas punteadas representan las BE de P 2*p* y Si 2*p* para 100H y 100W respectivamente..... **122**
- Figura 62. Espectros XPS de alta resolución de los orbitales: (a) O 1*s* y (b) C 1*s* de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h..... **123**
- Figura 63. Imágenes de SEM de hidroxiapatita, wollastonita y el compósito 80H-20W pulverizados, y las superficies de fractura de hidroxiapatita (100H), wollastonita (100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5 h..... **125**
- Figura 64. Imágenes de AFM a una escala de 1.5 μm, mostrando la topografía de las superficies de los materiales base: (a) 100H y (e) 100W, y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita: (b) 80H-20W, (c) 50H-50W y (d) 20H-80W, sinterizados a 1200°C durante 5 h..... **127**
- Figura 65. Imagen de AFM a una escala de 5 μm, de una pieza dental, mostrando la morfología de cada una de sus regiones..... **128**

LISTA DE FIGURAS (continuación)

	Página
Figura 66. Curvas de carga-desplazamiento obtenidas para una misma carga de 2500 μN , de los materiales base: (a) 100H y (e) 100W y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita: (b) 80H-20W, (c) 50H-50W y (d) 20H-80W, sinterizados a 1200°C durante 5h.....	130
Figura 67. Análisis de sección después de las pruebas de nanoindentación con una misma carga de 2500 μN , en los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W).....	131
Figura 68. Perfiles de dureza H , de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W) en función de la profundidad de contacto h_c	133
Figura 69. Perfiles del módulo elástico reducido E_r , de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W) en función de la profundidad de contacto h_c	133
Figura 70. Valores promedio de la dureza H , y el módulo elástico reducido E_r , de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, en función del porcentaje en peso de wollastonita.....	134
Figura 71. Esmalte, dentina y la frontera entre ambas regiones en una pieza dental, mostrando la morfología y las propiedades mecánicas correspondientes....	136
Figura 72. Imágenes de SEM de las superficies de los materiales base (100H y 100W), inmersos en la solución SBF durante 1, 2 y 3 semanas.....	138
Figura 73. Espectros EDS de las superficies de los materiales base (100H y 100W), inmersos en la solución SBF durante 3 semanas.....	138
Figura 74. Imágenes de SEM de las superficies de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), inmersos en la solución SBF durante 1, 2 y 3 semanas.....	140
Figura 75. Imágenes de SEM de la sección transversal de la capa de hidroxiapatita neoformada sobre las superficies de: (a) hidroxiapatita, (e) wollastonita y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, (b) 80H-20W, (c) 50H-50W y (d) 20H-80W, inmersos en la solución SBF durante 3 semanas.....	141

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Página

- Figura 76. Patrones de difracción de rayos-X de los materiales después de: (a) 1 semana y (b) 3 semanas de inmersión en la solución SBF. Patrones de difracción de rayos-X de los compósitos (c) 50H-50W y (d) 20H-80W después de 0, 1 y 3 semanas de inmersión en la solución SBF..... **142**
- Figura 77. Espectros EDS (a) y (b), espectro XPS de alta resolución en las regiones Si $2p$ (c) y P $2p$ (d), para 100W, antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF. (e) Espectros EDS de la evolución de la capa de apatita neoformada sobre la superficie de wollastonita (100W) durante 0, 1, 2 y 3 semanas de inmersión en la solución SBF..... **144**
- Figura 78. Espectros EDS para los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF..... **145**
- Figura 79. Espectros XPS de alta resolución en la región Ca $2p$ para los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF..... **146**
- Figura 80. Espectros XPS de alta resolución en la región P $2p$ para los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF..... **147**
- Figura 81. Espectros XPS de alta resolución en la región Si $2p$ para los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF..... **148**
- Figura 82. Variación en la concentración de Ca, P y Si y valores de pH en la solución SBF, cuando los compósitos 80H-20W, 50H-50W, 20H-80W y los materiales base (100H y 100W), fueron sumergidos durante 1, 2 y 3 semanas en esta solución..... **151**

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla I. Propiedades mecánicas del hueso cortical ensayado a tracción y compresión en dirección longitudinal y transversal.....	15
Tabla II. Características de algunos biomateriales según su clasificación.....	21
Tabla III. Principales formulaciones de fosfatos de calcio, obtenidos por reacciones térmicas, así como por reacciones de precipitación.....	22
Tabla IV. Propiedades mecánicas del hueso y cerámicos de fosfatos de calcio.....	30
Tabla V. Concentración iónica del fluido fisiológico simulado (SBF) propuesto por Kokubo, comparada con el plasma sanguíneo humano.....	72
Tabla VI. Composición química de la wollastonita NYAD [®] M325, producida por la Minera NYCO S.A. de C.V.....	78
Tabla VII. Propiedades típicas de la wollastonita NYAD [®] M325, producida por la Minera NYCO S.A. de C.V.....	78
Tabla VIII. Valores promedio de la dureza H , y el módulo elástico reducido E_r , de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, en función del porcentaje en peso de wollastonita.....	134

RESUMEN

La hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es un fosfato de calcio ampliamente utilizado en cirugía del tejido óseo, debido a la similitud de este compuesto, con el componente principal de la fase inorgánica de los tejidos duros y su naturaleza bioactiva, lo cual permite una unión química directa entre el hueso y este biomaterial. Los materiales densos de hidroxiapatita sinterizada tienen gran aplicación en casos de sustitución y/o reparación de defectos óseos en cirugía dental y ortopédica. Sin embargo, la hidroxiapatita es quebradiza y relativamente débil comparada con los implantes tradicionales tales como metales, aleaciones y cerámicos de alta resistencia. Las propiedades mecánicas de la hidroxiapatita no son suficientes para que ésta sea utilizada como implante en situaciones de carga, como en el caso de huesos y dientes artificiales. Por lo tanto, la aplicación de este material se ha destinado principalmente a recubrir a otros materiales con propiedades mecánicas más resistentes. Una solución para resolver este problema es combinarla con una fase de refuerzo adecuada, para producir compósitos que permitan obtener materiales con propiedades mecánicas óptimas sin detrimento de su biocompatibilidad, superando con ello sus limitaciones mecánicas. Por lo tanto, el compósito ideal deberá ser biológica y mecánicamente compatible con estos tejidos duros del organismo. La wollastonita CaSiO_3 , ha sido utilizada como biomaterial en huesos artificiales y raíces dentales debido a su buena bioactividad y biocompatibilidad. También se ha utilizado como fase de refuerzo para fabricar biocompósitos con propiedades mecánicas más eficientes. En este trabajo se sintetizaron una serie de compósitos de hidroxiapatita-wollastonita mediante la técnica sol-gel, utilizando acetato de calcio $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$, y trietil fosfato $\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$, como precursores de hidroxiapatita y wollastonita natural de alta pureza como fase de refuerzo. Los compósitos fueron caracterizados por análisis térmico diferencial (DTA), análisis termogravimétrico (TGA), difracción de rayos-X (XRD), espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FTIR), espectroscopia Raman, espectroscopia de dispersión de energía (EDS), microscopia electrónica de barrido (SEM), y de transmisión (TEM). Los resultados muestran que la hidroxiapatita se forma a una temperatura relativamente baja alrededor de 420°C , acompañada de carbonato de calcio, mientras que la wollastonita

permanece sin reacción a lo largo de todo el proceso. Para purificar los productos se requirió de un tratamiento térmico a alta temperatura (1000°C) y lavados con ácido clorhídrico diluido (0.01M) y agua deionizada, dando como resultado compositos de hidroxiapatita carbonatada tipo-B-wollastonita como productos finales. Los materiales sintetizados se sinterizaron a 1200°C durante 5 h, evaluándose el efecto de la cantidad de wollastonita sobre las propiedades mecánicas y bioactivas de los materiales. El efecto de refuerzo de la wollastonita se evaluó midiendo la dureza H , y el módulo elástico reducido E_r , en los materiales, mediante técnicas de nanoindentación en un microscopio de fuerza atómica (AFM). Las propiedades bioactivas se analizaron poniendo en contacto estos materiales con una solución de fluido fisiológico simulado (SBF), con la concentración iónica aproximada a la del plasma sanguíneo humano, a 37°C bajo condiciones estáticas. La bioactividad se evaluó examinando la formación de una capa de apatita neoformada sobre la superficie de los materiales, después de permanecer en contacto durante 1, 2 y 3 semanas con el fluido fisiológico simulado (SBF). Las características morfológicas y la composición de estas capas formadas sobre los materiales se evaluaron mediante microscopia electrónica de barrido (SEM), espectroscopia de dispersión de energía (EDS), difracción de rayos-X (XRD) y espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS). Asimismo, se analizó el pH y la carga iónica de la solución SBF remanente, esta última evaluada mediante espectroscopia de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Estos análisis revelan un incremento en la dureza y el módulo de elástico reducido de los materiales con la adición de wollastonita. Asimismo, la interacción de estos materiales con el fluido fisiológico simulado produjo una capa de fosfato de calcio sobre sus superficies, mediante un mecanismo de disolución-precipitación, la cual presentó una composición similar a la de las apatitas biológicas, resultando más gruesa y densa en los materiales con mayor proporción de wollastonita.

SUMMARY

Hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, is a type of calcium phosphate-based material widely used as implant in hard tissue surgery due to its chemical similarity with the mineralized phase of human bone and its bioactive nature, which permits direct chemical bonding between bone and this biomaterial. Dense sintered hydroxyapatite has many bone replacement applications and is used for repair of bony defects in dental and orthopedic applications. However, hydroxyapatite is brittle and relatively weak when compared with common implants such as metals, alloys and high strength ceramics. The mechanical properties of hydroxyapatite are not good enough to be used as an implant in load-bearing situations, like artificial teeth or bones. Therefore the best use of hydroxyapatite in load bearing implant applications is as coating of one of those implant surfaces. One approach to solve this problem is to combine it with a fracture tough phase to produce a composite, overcoming its mechanical limitations by reinforcing it with a suitable material, in order to obtain materials with optimized properties, without detriment to its biocompatibility. Thus, the ideal composite should be the one that is biologically and mechanically compatible with hard tissues. Wollastonite, CaSiO_3 , has also been used as a medical material for artificial bones and dental roots because of its good bioactivity and biocompatibility. Also, it has been widely used as a filler to fabricate biocomposites with improved mechanical properties. In this work, composites of hydroxyapatite-wollastonite were synthesized by a sol-gel route, using calcium acetate $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$, and triethyl phosphate $\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$, as precursors of hydroxyapatite and high purity natural wollastonite as reinforcement element. These composites were characterized by differential thermal analysis (DTA), thermogravimetric analysis (TGA), X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), Raman spectroscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS), scanning and transmission electron microscopic techniques (SEM and TEM). Formation of hydroxyapatite occurs at relatively low temperature of about 420°C , accompanied with calcium carbonate, while the wollastonite remains without reacting. The composites were purified by heat treatment to a higher temperature (1000°C) and washing with hydrochloric acid (0.01M) and de-ionized water

to produce B-type carbonated hydroxyapatite-wollastonite composites as final products. The synthesized materials were sintering at 1200°C and the effect of the amount of wollastonite in the composites on the mechanical and bioactive properties was evaluated. The wollastonite reinforcement effect was assessed by measuring hardness H , and reduced elastic modulus E_r , on the materials by nanoindentation methods. Bioactive properties were analyzed soaking these materials for various periods of time in a Simulated Body Fluid (SBF) with ion concentrations nearly equal to that of human blood plasma at of 37°C, under static conditions. The bioactivity was evaluated by examining the formation of the bone-like apatite layer on the surfaces of the materials after soaking in SBF during 1, 2 and 3 weeks. The morphological evaluation and composition of formed layers on the surface of the materials were examined using scanning electron microscopy (SEM) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). Also, the pH values and ionic concentration of SBF solution were analyzed, this latter using inductively coupled plasma technique (ICP-OES). The analyses reveal an enhancement of hardness and reduced elastic modulus with the addition of wollastonite. Also, the interaction of these materials with an SBF, produce a calcium phosphate layer on their surfaces (bone-like apatite layer), by a dissolution-precipitation mechanism, which were thicker and denser when the wollastonite is in a higher proportion.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades

2.1.1. Características Generales del Tejido Óseo

El hueso es un tejido conjuntivo especializado, cuya composición, organización y dinámica le permiten aportar una función mecánica de soporte y participar en la homeostasis mineral. Está formado por una matriz mineralizada que incluye distintos tipos de células, lo que le confiere una gran dureza y resistencia. Las fuerzas que actúan sobre el tejido óseo modifican permanentemente su forma, de tal manera que la presión condiciona su reabsorción y la tensión da lugar a la neoformación ósea.

El tejido óseo está constituido en su mayor parte por matriz extracelular, sin embargo, es uno de los sistemas más dinámicos del organismo y experimenta fenómenos de crecimiento, modelado, remodelado y reparación.

Un conjunto de 206 huesos en el organismo conforman el esqueleto, el cual tiene un peso de aproximadamente 9 kg. El esqueleto proporciona el marco estructural para el apoyo y protección de los diferentes órganos del cuerpo. Además, los huesos proveen los puntos de sujeción a la musculatura responsable del movimiento corporal y la locomoción, conforman la reserva principal de minerales en el organismo y alojan la médula ósea que produce y suministra las células hematopoyéticas.

Los huesos del esqueleto presentan diferentes formas y tamaños que se relacionan con su función específica. Respecto a su estructura global, el tejido óseo está constituido por diferentes fases sólidas y líquidas, que le otorgan la característica de ser junto a la dentina y el esmalte de los dientes, los únicos tejidos duros del organismo [1-5].

Según el grado de madurez, el tejido óseo se clasifica en fibrilar y laminar. El hueso fibrilar está considerado como un hueso inmaduro o primitivo y normalmente se encuentra en

los embriones y recién nacidos, en los callos formados en el período de remodelación después de una fractura y en la región de la metáfisis de los huesos en crecimiento. Este tipo de huesos tiene fibras gruesas que no están orientadas uniformemente. Tiene más células por unidad de volumen que el hueso laminar, su contenido mineral varía y las células están dispersas al azar. El hecho de que las fibras de colágeno estén desorientadas le confiere a este tipo de hueso isotropía con respecto a las características mecánicas del tejido. El hueso laminar se comienza a formar un mes después del nacimiento, por lo que este tipo de hueso es más maduro que el fibrilar y de hecho se forma a partir del proceso de remodelación del hueso inmaduro. Al contrario del tipo anterior, en el hueso laminar, las fibras de colágeno están altamente organizadas y orientadas, lo cual le confiere propiedades anisotrópicas, es decir, el comportamiento mecánico de esta clase de hueso varía dependiendo de la orientación de las fuerzas aplicadas, teniendo la mayor resistencia en dirección paralela al eje longitudinal de las fibras de colágeno [1,3-5].

2.1.1.1. Estructura Macroscópica del Tejido Óseo

Los huesos poseen una estructura macroscópica común y están constituidos por tejido óseo esponjoso o trabecular, que representa alrededor del 20% del volumen total del hueso, el cual se encuentra en continuidad con el tejido óseo cortical o compacto, que corresponde aproximadamente al 80%.

Hueso Esponjoso

Está conformado por un entramado tridimensional de tabiques o trabéculas óseas ramificadas, que se orientan de manera paralela a las líneas de fuerza y limitan un sistema laberíntico de espacios intercomunicantes, ocupados por la médula ósea. El hueso esponjoso se encuentra en el esqueleto axial, en las epífisis y metáfisis de los huesos largos y en los huesos planos y tiene la capacidad de resistir fuerzas de compresión y tensión.

Hueso Cortical

Está constituido por una masa sólida y continua cruzada por una red de finos conductos longitudinales y transversales, conocidos como canales de Havers y conductos de Volkmann respectivamente, los cuales alojan vasos sanguíneos y fibras nerviosas. Predomina en el esqueleto apendicular, conformando la diáfisis de los huesos que adopta la forma de un cilindro hueco para contener la médula ósea. Sus características particulares lo hacen resistente a las fuerzas de flexión, torsión y cizallamiento.

2.1.1.2. Estructura Microscópica del Tejido Óseo

Desde el punto de vista microscópico, el hueso se divide en tres tipos: plexiforme, haversiano y laminar.

Hueso Plexiforme

Corresponde a un hueso inmaduro que se encuentra en el tejido óseo esponjoso y cortical de los individuos en crecimiento, por lo que durante la maduración es sustituido gradualmente por hueso laminar a partir de los 14-16 años. Este tipo de hueso está ausente en el esqueleto adulto, aunque se puede formar cuando se acelera la producción de matriz ósea, como ocurre en los callos de fractura y tumores óseos.

El hueso plexiforme carece de una relación estable entre el contenido mineral y el colágeno, de tal manera que su densidad mineral es muy variable, a diferencia de los huesos haversiano y laminar, que se describen a continuación, los cuales mantienen una relación fija entre estos elementos.

Hueso Haversiano

Se encuentra constituido por un conjunto de láminas concéntricas, denominadas osteonas o sistemas de Havers, con un diámetro de alrededor de 200 μm y una longitud de 1-2 cm, poseen un eje neurovascular central, denominado canal haversiano, que está recubierto

por osteoblastos y células osteoprogenitoras. Las osteonas están conformadas por alrededor de 4-20 láminas óseas, entre las cuales se localizan los osteocitos. A nivel de la unión entre las osteonas vecinas se encuentra una delgada línea de cementación, que está compuesta principalmente por sustancia fundamental calcificada.

La microestructura de tipo osteonal o haversiana está presente en el hueso cortical maduro y se forma como resultado de la invasión vascular del tejido óseo ya existente, por lo que posee una menor resistencia mecánica y un sistema circulatorio menos eficiente que el del hueso laminar.

Hueso Laminar

Las trabéculas del hueso esponjoso y los sistemas circunferenciales del hueso compacto están compuestos por una serie de láminas óseas paralelas entre sí. Las láminas tienen un espesor que oscila entre 3-7 μm , y están formadas por fibras de colágeno dispuestas paralelamente unas con otras, aunque presentan una orientación distinta respecto de las fibras de láminas vecinas. En la interfase entre las láminas óseas se encuentran las cavidades osteocitarias con sus correspondientes células, cuya nutrición depende de los canalículos existentes en la matriz ósea, los que permiten el intercambio de moléculas e iones entre los capilares sanguíneos y los osteocitos. La Figura 1 muestra una representación de las partes que constituyen el hueso.

La Figura 2 muestra los siete niveles jerárquicos de la estructura ósea, comenzando por cristales nanoscópicos de hidroxapatita, los cuales se encuentran orientados y alineados en el interior de fibras autoensambladas de colágeno; las fibras de colágeno se encuentran arregladas en capas paralelas formando lamelas, las cuales están orientadas concéntricamente alrededor de vasos sanguíneos formando osteonas; finalmente, las osteonas se encuentran densamente empacadas formando hueso compacto o formando una red trabecular de hueso microporoso, dando lugar a las fases de hueso cortical y esponjoso respectivamente.

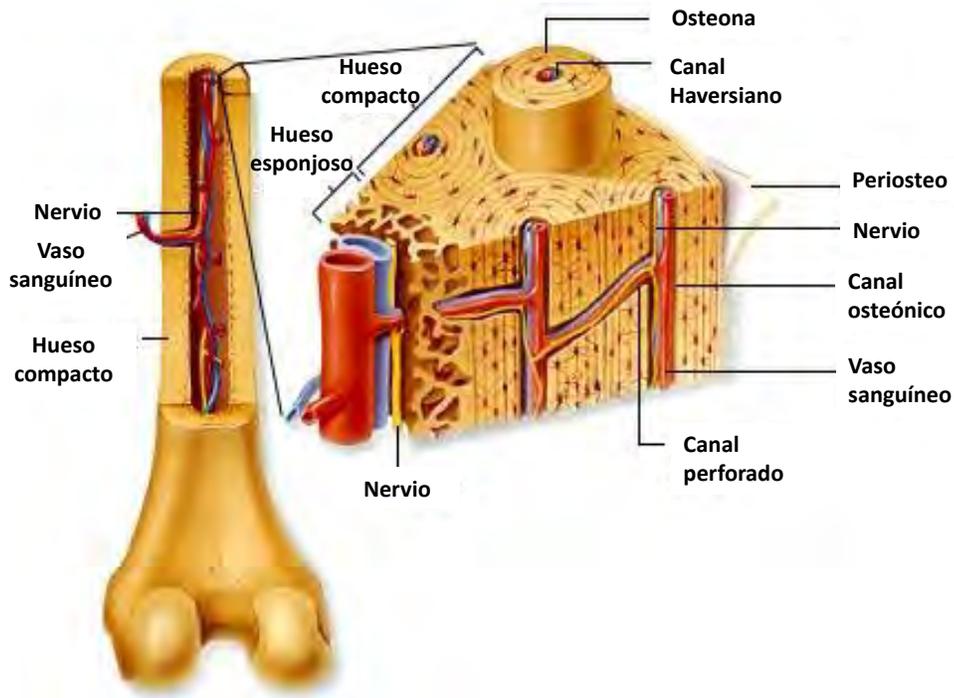


Figura 1. Esquema de las partes que constituyen el hueso [1].

2.1.1.3. Composición

El hueso está compuesto por una matriz ósea que representa alrededor de un 98% y células específicas que corresponden a un 2%. Aproximadamente un 10% de su volumen se encuentra constituido por agua.

Matriz Ósea

Es la responsable de las propiedades biomecánicas del tejido óseo, de tal manera que el hueso esponjoso se encuentra mineralizado aproximadamente un 99.2% y el hueso cortical en un 99.9%. La matriz ósea está conformada por una fracción orgánica, cuyo peso representa alrededor de un 25%, y una fracción inorgánica que equivale a un 75%.

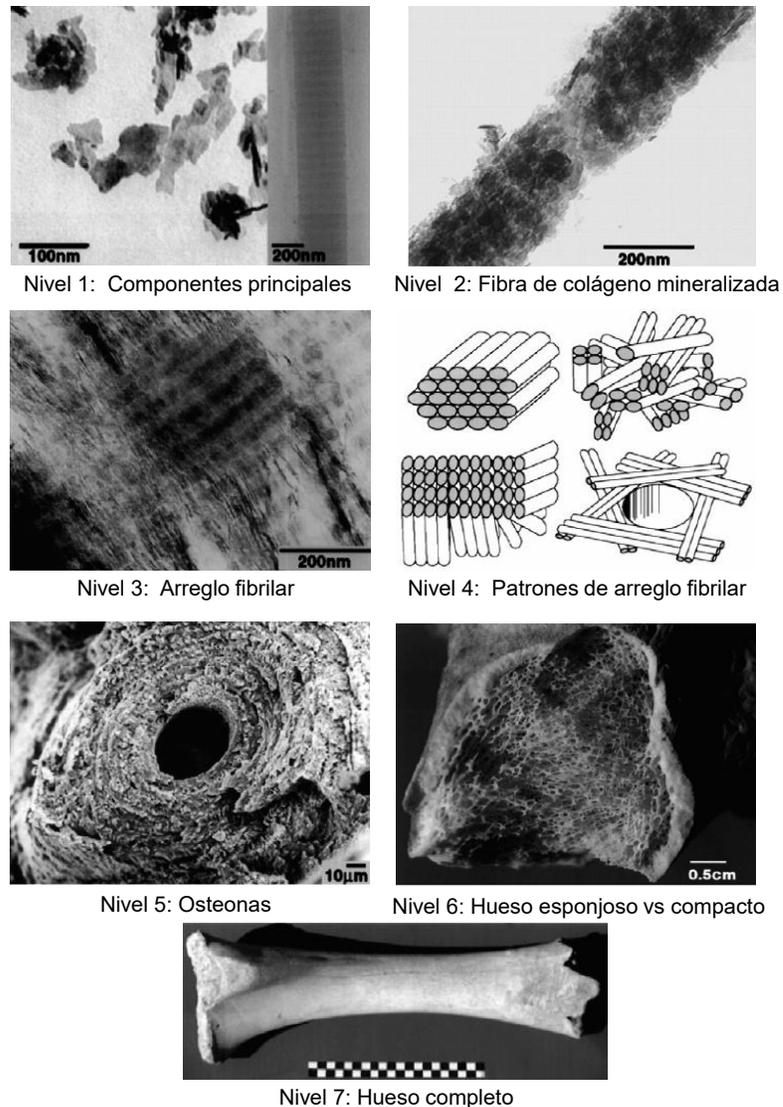


Figura 2. Siete niveles jerárquicos de la estructura ósea [3].

Fracción Orgánica

Está constituida por fibras de colágeno tipo I, que representan entre un 85-90% de la fracción orgánica, y que se encuentran rodeadas por sustancia fundamental interfibrilar. Las moléculas de colágeno son sintetizadas en el retículo endoplásmico de los osteoblastos, y luego son secretadas a la matriz extracelular donde se organizan y asocian en fibras. Las fibras de colágeno están compuestas por fibrillas de estructura periódica de 500-700 Å de grosor, que se encuentran íntimamente mezcladas con la fase mineral y se

disponen en paralelo en las laminillas óseas, proporcionando al hueso su estructura laminar.

Fracción Inorgánica

Está conformada principalmente por fosfato cálcico de tipo amorfo, relativamente parecido a la hidroxiapatita mineral, la cual se presenta como pequeños cristales con forma de aguja, y estructura hexagonal de 2-7 nm de diámetro y de 5-10 nm de longitud. Esta fracción tiene una estructura sólida continua, y los cristales de hidroxiapatita se orientan con su eje paralelo al de las fibras de colágeno tipo I, en las que se encuentran nucleados. Además del fosfato cálcico, existe una pequeña proporción de iones carbonato (CO_3^{2-}) y sodio (Na^+).

Las diferentes modificaciones de la hidroxiapatita, es decir, sustituciones de los grupos fosfato o hidroxilo por grupos carbonato, o sustituciones de los grupos hidroxilo por fluoruros o cloruros, así como sustituciones de los iones Ca^{2+} por otros cationes como Na^+ , K^+ y Mg^{2+} , pueden alterar algunas propiedades físicas de los cristales como su solubilidad. La cristalización y la relación Ca/P dependen del tipo de hueso, ya sea esponjoso o cortical, así como de la edad. Los valores medios porcentuales son de 35.5% para el calcio y 18.5% para el fósforo con una relación Ca/P igual a 1.61.

Las características mecánicas de la fase mineral del tejido óseo dependen de su porosidad, que para el hueso cortical es proporcionada por los canales de Havers y Volkmann y las cavidades de reabsorción, y para el caso del hueso esponjoso, por los espacios intertrabeculares. Las propiedades mecánicas del tejido óseo varían significativamente de acuerdo a su contenido de agua, existiendo un grado de hidratación crítica, ya que entre 37 y 48 mg $\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ de hueso, el agua puede liberarse de su ligadura a la estructura ósea.

En resumen, las fibras de colágeno proporcionan al tejido óseo flexibilidad y resistencia a la tensión, mientras que las sales minerales le confieren dureza, rigidez y resistencia a la compresión [1-5].

La Figura 3 muestra una representación esquemática de los constituyentes del tejido óseo desde escala nanoscópica hasta escala macroscópica, mostrando su organización y los niveles jerárquicos de su estructura.

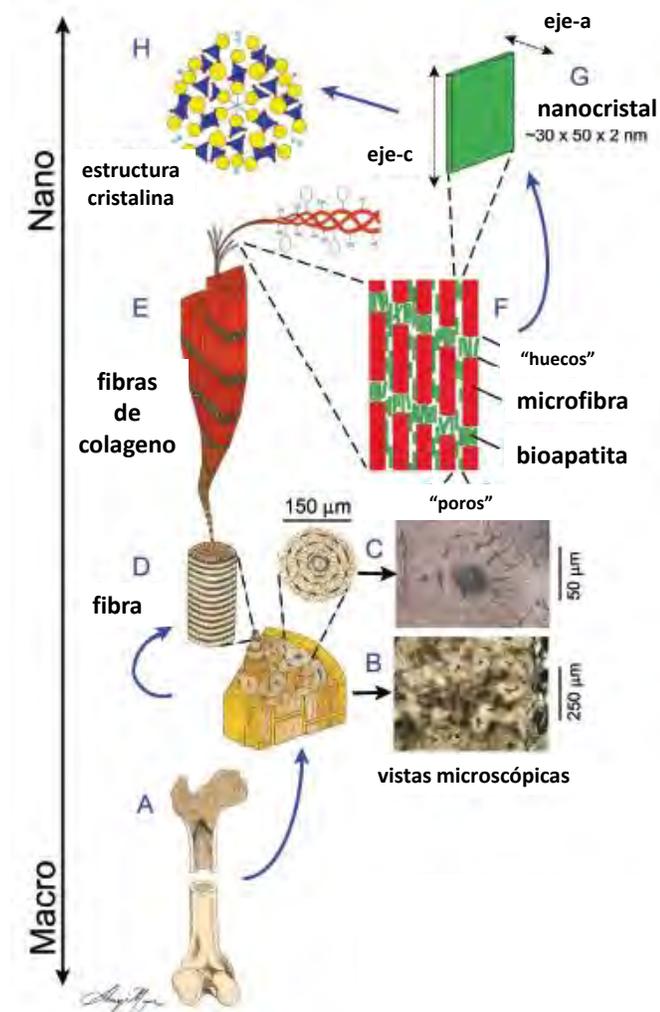


Figura 3. Representación esquemática de los componentes del hueso desde escala nanoscópica hasta escala macroscópica [4].

2.1.1.4. Propiedades Mecánicas

El hueso posee una resistencia a la tensión similar a la del hierro, pero es tres veces más ligero y diez veces más flexible. El esqueleto se adapta a su función específica en el organismo tanto respecto a su configuración como a su estructura microscópica. La naturaleza tiende a seguir, en general, la ley del mínimo, de tal manera que las funciones mecánicas de carga y de protección se consiguen con el mínimo peso y máxima eficacia.

Las distintas cargas que actúan sobre los huesos del esqueleto se encuentran relacionadas con las diversas actividades del individuo, tanto compresivas, como de tracción o de cizalladura. El hueso esponjoso trabaja principalmente a compresión, en cambio, el hueso cortical debe soportar fuerzas de compresión, tracción y cizalladura. En términos generales, la fase mineral del hueso le confiere su resistencia a la compresión y cizalladura, mientras que el colágeno le proporciona su resistencia a la tracción [2,6].

Hueso Esponjoso

Las propiedades del hueso esponjoso dependen de su densidad aparente, por lo que los valores del módulo elástico y resistencia varían con ésta. Así, la densidad del hueso esponjoso oscila entre 0.1-1 g/cm³, mientras que la del hueso cortical es de aproximadamente 1.8 g/cm³. Las trabéculas del hueso esponjoso tienen una densidad que fluctúa entre 1.6-1.9 g/cm³, muy similar a la del hueso cortical. La magnitud de las propiedades del hueso esponjoso son muy variables, pero los valores medios de su resistencia son de 5-10 MPa y su módulo de Young oscila entre 50-100 MPa.

Hueso Cortical

Las propiedades mecánicas del hueso cortical varían con la orientación de las fuerzas. Para las cargas longitudinales la resistencia a la tracción oscila entre 78.8-151 MPa, la resistencia a la compresión entre 131-224 MPa y el módulo de Young entre 17-20 GPa. Los valores de referencia para las fuerzas transversales corresponden a una resistencia a

la tracción entre 51-56 MPa, una resistencia a la compresión entre 106-133 MPa y un módulo de Young entre 6-13 GPa. Los valores de resistencia a la cizalladura oscilan entre 53.1-70 MPa y el módulo de cizalladura es de 3.3 GPa. La Tabla I resume las principales propiedades mecánicas del hueso cortical ensayado a tracción y a compresión [2,6,92-94].

Tabla I. Propiedades mecánicas del hueso cortical ensayado a tracción y compresión en dirección longitudinal y transversal [2].

	Longitudinal	Transversal
Resistencia a la Tracción (MPa)	78.8 – 151	51 - 56
Resistencia a la Compresión (MPa)	131 – 224	106 - 133
Módulo de Elasticidad (GPa)	17 – 20	6 - 13

2.1.2. Biomateriales

El mejor sustituto óseo es el hueso mismo, ya sea proveniente del propio paciente, como en el caso del autoinjerto óseo, o bien obtenido de un donante, como en caso del aloinjerto óseo. Sin embargo, cuando esto no es posible, debe utilizarse materiales de implante denominados “biomateriales”, con el objetivo de tratar, aumentar o sustituir al tejido óseo dañado.

Un biomaterial es una sustancia diseñada para ser implantada o incorporada dentro de un sistema vivo. Los biomateriales se implantan con el objeto de reemplazar y/o restaurar tejidos vivos y sus funciones, lo que implica que estén expuestos de modo temporal o permanente a fluidos corporales. Sin embargo, algunos biomateriales pueden estar localizados fuera del propio cuerpo, incluyéndose en esta categoría a la mayor parte de los materiales dentales [9-11].

Los requisitos que debe cumplir un biomaterial son:

- Ser biocompatible, es decir, debe ser aceptado por el organismo, no provocar que éste desarrolle sistemas de rechazo ante su presencia.
- No ser tóxico, ni carcinógeno.
- Ser químicamente estable e inerte.
- Tener una resistencia mecánica adecuada.
- Tener densidad y peso adecuados.
- Tener un diseño de ingeniería adecuado, es decir, el tamaño y la forma del implante deben ser los apropiados.
- Ser relativamente barato, reproducible y fácil de procesar, para hacer eficiente su producción en gran escala [10,11].

2.1.2.1. Clasificación de los Biomateriales

Existen cuatro grupos de materiales sintéticos usados para implantación en el tejido óseo:

- Biomateriales metálicos.
- Biomateriales poliméricos.
- Biomateriales cerámicos.
- Biomateriales compuestos o compósitos.

Biomateriales Metálicos

El número de elementos metálicos que se utilizan en la fabricación de implantes es muy limitado, si tenemos en cuenta que más de tres cuartas partes del sistema periódico lo son. El primer requisito para su utilización es que sean tolerados por el organismo, por lo que es muy importante la dosis que puedan aportar a los tejidos vivos. Otro requisito indispensable es que tengan una buena resistencia a la corrosión. La corrosión es un problema general de los metales, más aún si están inmersos en un medio como el organismo humano, y a temperaturas del orden de 37°C. Sin embargo, algunos metales escapan, por lo menos en principio a este problema, tal es el caso de los metales

preciosos. Otros al formar una capa de óxido en su superficie, la pasivan, protegiendo el interior del metal evitando que la corrosión progrese, como en el caso del titanio [18,95,96].

Biomateriales Poliméricos

Los polímeros ampliamente utilizados en implantes, deben su éxito a las enormes posibilidades que presentan, tanto en variedad de compuestos, así como en ofrecer la posibilidad de fabricarlos de distintas maneras, con características bien determinadas, y con la facilidad de conformarlos en fibras, tejidos, películas y bloques. Pueden ser tanto naturales como sintéticos y, en cualquier caso, se pueden encontrar formulaciones bioestables, es decir, con carácter permanente, particularmente útiles para sustituir parcial o totalmente tejidos u órganos lesionados o destruidos, y biodegradables, esto es, con carácter temporal, por lo tanto, con una función adecuada durante un tiempo determinado. Entre estos materiales tienen particular importancia los cementos óseos acrílicos, que han encontrado importantes campos de aplicación, especialmente en traumatología [10-11].

Biomateriales Cerámicos

Los materiales biocerámicos poseen una buena biocompatibilidad y oseointegración, además, son los materiales más parecidos al componente mineral del hueso, por lo que sus expectativas de aplicación son muy amplias. Sin embargo, su carácter rígido y quebradizo limita su empleo a aquellas aplicaciones que no deban soportar grandes cargas. Estructuralmente, los cerámicos se pueden clasificar en: sólidos cristalinos, sólidos amorfos como los vidrios y sólidos amorfos con núcleos de cristalización como el caso de los vitrocerámicos. Además, atendiendo a su actividad química en el organismo, se consideran tres tipos de biocerámicos:

- Bioinertes: Al_2O_3 , TiO_2 , SiO_2 , ZrO_2 .
- Bioactivos: Biovidrios, Hidroxiapatita, Vitrocerámicos.
- Biorreabsorbibles: $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Biomateriales Cerámicos Bioinertes

Estos materiales deben tener una influencia casi nula sobre los tejidos vivos que los rodean. Por ello deben cumplir ciertos requerimientos: El material debe ser insoluble en el organismo, cualquier materia desprendida del implante no debe afectar a las células, debe producirse una fuerte y rápida absorción de moléculas del organismo en la superficie del implante, para así quedar completamente cubierto por el tejido vivo. El cerámico bioinerte más popular y de mayor uso es la alúmina. Sin embargo el principal problema para su empleo en implantes es el alto módulo de elasticidad que posee 380-420 GPa, lo cual provoca un elevado desajuste elástico en la interfase con el hueso. Tal hecho genera una distribución asimétrica de cargas y el implante, al tener el mayor módulo de elasticidad, soportará la mayor parte de los esfuerzos. Es decir, el hueso estará "protegido" de los esfuerzos, lo cual es perjudicial, pues los huesos que no soportan esfuerzos o que sólo reciben esfuerzos de compresión, terminan experimentando un cambio biológico que conduce a su debilitamiento y atrofia. Con ello, la probabilidad de fractura del hueso, de la interfase o del implante, será sumamente elevada. Para solucionar este problema se han propuesto varios caminos. Quizás el más prometedor consiste en la utilización de materiales cerámicos polifásicos, pues así es posible variar la cantidad relativa de las fases presentes y otras características macro y microestructurales de manera adecuada, para adaptar sus propiedades a las del biosistema.

Biomateriales Cerámicos Bioactivos

Los materiales cerámicos bioactivos son aquellos que poseen la capacidad de desarrollar una fuerte unión con el tejido óseo, razón por la que despiertan un gran interés con fines de utilización clínica en implantes para la sustitución y reparación de este tejido. El mecanismo de unión deriva de una secuencia de reacciones entre el material y el medio

fisiológico, con formación de una capa de material nuevo. Los estudios in vitro e in vivo han puesto de manifiesto que el material bioactivo forma una capa de hidroxiapatita carbonatada (CHA) en su superficie, al entrar en contacto con suero fisiológico artificial, saliva humana parótida o al ser implantado, uniéndose directamente a través de dicha capa al tejido óseo.

Biomateriales Cerámicos Biorreabsorbibles

Los cerámicos biorreabsorbibles, son materiales que además de bioactivos son reabsorbibles. Lo cual les permite la posibilidad de permanecer el tiempo suficiente en el organismo, interactuando con el sistema biológico, mientras el defecto se corrige. Tal es el caso del β -TCP, que se reabsorbe por la acción de las células óseas, cumpliendo así dos funciones:

- Aportación, in situ, de Ca y P lentamente y de forma continua.
- Aparición de porosidad progresiva, con tamaño de poro adecuado para el crecimiento del hueso neoformado, a medida que el β -TCP es degradado por el medio fisiológico [10-20].

Biomateriales Compuestos o Compósitos

Tanto los biomateriales cerámicos como los poliméricos pueden combinarse para producir materiales compuestos o compósitos, los cuales permiten la obtención de implantes que reúnen las mejores características biológicas y mecánicas de los materiales originales, resultando en implantes óseos más eficientes. Uno de los polímeros naturales más utilizados en asociación con otros para obtener biomateriales compuestos es el colágeno. Así, en distintas experiencias se ha combinado colágeno con hidroxiapatita granulada. Luego de su implantación este compuesto se comporta como un biomaterial osteoconductor. Sin embargo, hasta ahora la utilización exclusiva de colágeno no ha demostrado capacidad para promover neoformación ósea. También se han desarrollado

biomateriales compuestos que asocian cerámicas con diferentes polímeros sintéticos y materiales que combinan cerámicas de distintas características [18,22,97].

La Tabla II muestra algunos ejemplos de materiales de implante para tejido óseo, según su clasificación, mostrando algunas ventajas y desventajas en su aplicación.

2.1.3. Biocerámicos de Fosfatos de Calcio

Aunque hay una gran cantidad de biocerámicos, los compuestos basados en fosfatos de calcio, los cuales engloban compuestos tales como hidroxiapatita (HA), fosfatos tricálcicos (α -TCP y β -TCP), fosfato dicálcico dihidratado (DCPD), fosfato dicálcico anhidro (DCPA) y fosfato tetracálcico (TTCP), son los más comúnmente utilizados, en especial HA, β -TCP y los compuestos bifásicos constituidos por una mezcla en proporción variable de HA y β -TCP. La razón principal es que presentan casi la misma composición química que el esqueleto de los vertebrados, permitiendo el intercambio de algunos iones cuando se encuentran en contacto con fluidos biológicos. Asimismo, presentan una excelente biocompatibilidad, y una vez que son introducidos en el organismo, después de un cierto tiempo, ejercen una unión química con el hueso, llegando a incorporarse al tejido óseo.

Los cerámicos basados en fosfatos de calcio representan una familia de materiales cada uno presentando características fisicoquímicas específicas, dando como resultado propiedades biológicas variables, lo cual les confiere interés en mayor o menor medida, para utilizarse como materiales de sustitución ósea.

Tabla II. Características de algunos biomateriales según su clasificación [12].

Material	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
METÁLICOS			
Co-Cr-Mo Ti-6Al-4V Ti Acero 316L Nitinol (Ni-Ti) AgPdAu	Alta resistencia transversal y de tensión.	Carecen de compatibilidad completa con el medio fisiológico. Desajuste de las propiedades mecánicas con el sistema músculo-esqueleto. Corrosión en Acero 316L.	Fijación ortopédica: tornillos, clavos, alambres, placas, barras intermedulares, implantes dentales.
POLIMÉRICOS			
Poli(etileno): (LDPE, HDPE, UHMWPE) Poli(etileno tereftalato) ePTFE (Gore Tex™) Silicona Polimetil metacrilato (PMMA) Poliuretano	Alta resistencia al desgaste Elasticidad. Fácil moldeo y diseño de propiedades.	Baja resistencia transversal y compresiva. Alto régimen de deformación. Falta de compatibilidad con medio fisiológico.	Ortopédicos. Tendones artificiales. Músculos artificiales. Injertos vasculares. Reconstrucción de tejido blando.
CERÁMICOS			
Alúmina Zirconia Fosfato Tricálcico Hidroxiapatita Carbón pirrolítico Silicatos de Calcio Vidrios bioactivos	Compatibilidad con sistema músculo-esqueleto. Similitud con propiedades físicas del hueso. Resistencia a la corrosión. Inertes a los tejidos. Adherencia a los tejidos. Alta resistencia a compresión. Alta resistencia al desgaste.	Baja resistencia a tensión, corte e impacto. Difícil conformación. Falta de elasticidad. Baja reproducibilidad de Propiedades mecánicas. Sensibilidad al mellado. Falta de resistencia.	Ortopédico. Revestimiento de metales. Válvulas cardíacas Odontológico.
COMPÓSITOS			
Hidroxiapatita-Poli(etileno) Alumina-Zirconia Polímero reforzado con fibra de carbono (CFRC)	Compatibilidad con sistema músculo- esqueleto. Adherencia a tejidos. Sin corrosión-degradación. Alta resistencia.	Falta de resiliencia. Difícil fabricación. Propiedades mecánicas e interfaciales poco conocidas.	Ortopédico. Válvulas cardíacas.

Los fosfatos de calcio de interés biológico son los ortofosfatos, sales del ácido ortofosfórico, las cuales se presentan en la Tabla III, en orden decreciente de su relación Ca/P [98,99].

Tabla III. Principales formulaciones de fosfatos de calcio, obtenidos por reacciones térmicas, así como por reacciones de precipitación [99].

Nombre	Abreviatura	Fórmula	Ca/P
Fosfato tetracálcico	TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2$	2.0
Hidroxiapatita	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
Hidroxiapatita deficiente en calcio	CDHA	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)_5(\text{OH})_2$	1.5
Fosfato de calcio amorfo	ACP	$\text{Ca}_{10-x}\text{H}_{2x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.5
Fosfato tricálcico (α , β)	TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Fosfato octacálcico	OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
Fosfato dicálcico anhidro (Monetita)	DCPA	CaHPO_4	1.0
Fosfato dicálcico dihidratado (Brushita)	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0
Fosfato monocálcico monohidratado	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.5

De acuerdo a los procesos de síntesis para los fosfatos de calcio, se pueden distinguir dos categorías: los materiales obtenidos por precipitación en solución acuosa alrededor de la temperatura ambiente (fosfatos de calcio de baja temperatura) y los materiales obtenidos por las reacciones térmicas a temperaturas elevadas (fosfatos de calcio de alta temperatura) [99].

Fosfatos de Calcio de Baja Temperatura

- Fosfato dicálcico anhidro (DCPA).
- Fosfato dicálcico dihidratado (DCPD).
- Fosfato octacálcico (OCP).
- Hidroxiapatita precipitada (PHA).
- Fosfato de calcio amorfo (ACP).

Fosfatos de Calcio de Alta Temperatura

- Fosfato monocálcico (MCP).
- Fosfatos tricálcicos α y β (α -TCP y β -TCP).
- Fosfatos de calcio bifásicos (BCP).
- Hidroxiapatita (HA).

El empleo clínico de estos biomateriales se remonta a 1920, cuando Albee realiza la primera publicación respecto del uso satisfactorio de un fosfato de calcio en la restauración ósea. Sin embargo, la utilización efectiva de los cerámicos de fosfato de calcio recién comienza en la década de los ochenta. Dependiendo de la aplicación, se utilizan cerámicos bioactivos o reabsorbibles, para lo cual se utilizan diferentes fases de compuestos de fosfato de calcio [100].

2.1.3.1. Propiedades Físicoquímicas

El estudio de los cerámicos de fosfatos de calcio ha estado centrado en los compuestos del sistema ternario $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$, fundamentalmente la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico.

El comportamiento de los implantes constituidos por estos materiales depende de una variedad de factores, entre los que destacan la relación Ca/P, la estructura cristalográfica y la porosidad.

Características Químicas

Composición Química

El excelente comportamiento histológico de los fosfatos de calcio no es una sorpresa, ya que la hidroxiapatita es el componente mineral predominante de los huesos de los vertebrados, así como del esmalte dentario, constituyendo entre el 60-70% del esqueleto humano calcificado y el 90% de la matriz ósea inorgánica. La fracción mineral de los

huesos está compuesta de fosfatos de calcio organizados en forma de hidroxiapatita carbonatada del tipo B, una fase en la cual una parte de los iones PO_4^{3-} en la hidroxiapatita son sustituidos por iones CO_3^{2-} , caracterizada además por presentar una baja cristalinidad.

Algunos cerámicos fosfocálcicos sintéticos presentan estas características, en el sentido de que los componentes principales son los iones calcio Ca^{2+} e iones fosfato PO_4^{3-} . La principal diferencia con las apatitas biológicas, es la presencia en estas últimas de múltiples sustituciones iónicas (CO_3^{2-} , Mg^{2+} , Na^+) o deficiencias atómicas en calcio.

Estas similitudes químicas y estructurales explican la importancia de estos cerámicos como materiales de sustitución ósea [18,22,100].

Solubilidad en Fluidos Biológicos

La propiedad más importante de los fosfatos de calcio probablemente es su solubilidad en el agua, ya que en función de esta puede predecirse el comportamiento in vivo de estos materiales. Si la solubilidad de un fosfato de calcio, es menor que la parte mineral del hueso, este se degradará sumamente despacio, por ejemplo la hidroxiapatita. Por otro lado, si su solubilidad es mayor que la parte mineral del hueso, este se degradará rápidamente. Por consiguiente, utilizando las isotermas de solubilidad de diferentes fosfatos, como las presentadas en la Figura 4, puede predecirse el comportamiento de degradación in vivo de estos materiales, el cual sigue un orden de acuerdo con la siguiente escala a pH 7:



Sin embargo, la superficie de un fosfato de calcio altamente soluble puede ser reactiva y puede cubrirse con un fosfato de calcio débilmente soluble, reduciendo así su velocidad de degradación.

Tanto in vitro como in vivo, los fosfatos de calcio son solubles en fluidos biológicos. Esta solubilidad depende de su composición química y sus propiedades físicas. Los β -TCP son más solubles que la HA, esta última considerada como la menos soluble de los cerámicos fosfocálcicos. Asimismo, la solubilidad de las mezclas bifásicas es controlada por la relación de HA/ β -TCP.

Las fases estables de estos biocerámicos dependen considerablemente de la temperatura y de la presencia de agua, tanto en la etapa de su procesamiento como en el medio donde luego se utilizarán. Asimismo, es importante entender la estrecha dependencia existente entre la relación Ca/P, pH y solubilidad. Así tenemos que, mientras menor sea la relación Ca/P, mayor es la acidez y solubilidad de la muestra. Para relaciones Ca/P < 1, tanto acidez como solubilidad presentan valores muy elevados. Por otro lado, estos parámetros disminuyen bastante para relaciones Ca/P próximos al valor de 1.67, el cual corresponde al valor de la hidroxiapatita estequiométrica, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

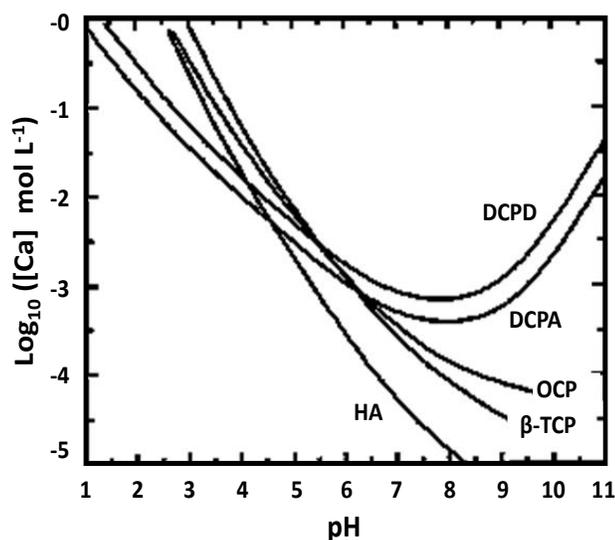


Figura 4. Isotermas de solubilidad para diferentes compuestos de fosfato de calcio a 37°C. La solubilidad está expresada por la cantidad de iones calcio en solución en función del pH [24].

Termodinámicamente, a la temperatura del cuerpo humano, sólo dos fosfatos de calcio son estables en contacto con fluidos corporales, a $\text{pH} < 4.2$ la fase estable es $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (DCPD), mientras que a $\text{pH} \geq 4.2$ la fase estable es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, (HA). Sin embargo, por razones cinéticas pueden precipitar fácilmente otras fases como fosfato octacálcico, (OCP) a valores de pH entre 5-7, o hidroxiapatita deficiente en calcio (CDHA) a valores de pH mayores. Algunas fases que se encuentran deshidratadas como los fosfatos tricálcico (TCP) y tetracálcico (TTCP) se hidrolizan en presencia de los fluidos corporales a 37°C y de esta forma se convierten en hidroxiapatita.

La hidroxiapatita corresponde al cerámico de fosfato de calcio menos soluble y se reabsorbe lentamente en aproximadamente un 1% de su volumen por año desde su implantación. El fosfato tricálcico no es un componente natural del tejido óseo, y tiene la característica de ser un cerámico más soluble en los fluidos corporales que la hidroxiapatita, por lo que su reabsorción es entre 10 a 20 veces más rápida (dependiendo del pH del medio). Sin embargo, el volumen de hueso neoformado que se encarga de sustituirlo es menor que el de fosfato tricálcico degradado. Su alta capacidad de remodelación debilita precozmente su resistencia mecánica, razón por la cual para su utilización clínica se le debe asociar con otros materiales menos reabsorbibles o que posean potencial osteoinductivo.

Evaluar la solubilidad de estos materiales es importante, ya que permite la posibilidad de que estos materiales sean reemplazados progresivamente por el hueso, mientras se biodegradan [24, 101-110].

Características Físicas

Después de la síntesis química de fosfatos de calcio, estos generalmente se presentan en forma de polvos. Antes de su aplicación deben someterse a un proceso de conformado específico, el cual permita definir sus características físicas, para conocer: (1) estructura cristalina y cristalinidad, (2) porosidad y (3) forma física.

Este proceso denominado sinterización, consiste en calcinar ($T < 900^{\circ}\text{C}$) y luego calentar (entre 1100°C y 1300°C) el polvo comprimido. Bajo el efecto de la presión y la temperatura, las juntas de grano de los cristales de polvo se unen, logrando con esto mejores características en las propiedades mecánicas así como una estructura densa.

Modificando las variables del proceso de sinterizado, tales como temperatura, tiempo de sinterización, distribución del tamaño de partícula y además mezclándolos con aditivos orgánicos, se puede controlar la porosidad. Por otro lado, este método a alta temperatura, representa un inconveniente importante para este tipo de materiales, ya que condiciona su tamaño y su forma, la cual deben definirse previamente a la implantación, por lo que pueden presentar problemas de adaptación a los defectos óseos generando una falta de fijación. Esto causa a menudo problemas de adaptación y fijación en la cavidad donde deben ser colocados.

Los problemas de adaptación y fijación de los cerámicos de fosfatos de calcio convencionales han llevado a la elaboración de biomateriales cerámicos capaces de fraguar a temperatura ambiente, a partir de la reacción de una fase sólida en polvo y una fase líquida, consiguiéndose la formulación de los cementos óseos de fosfatos de calcio.

Estructura Cristalina y Cristalinidad

En función de las condiciones de preparación, un mismo compuesto químico puede presentar diferente estructura cristalina y cristalinidad, modificando con ello su solubilidad.

Por ejemplo, el fosfato tricálcico (TCP) puede presentar dos estructuras cristalinas diferentes: la forma α (α -TCP) y la forma β (β -TCP). Con gran solubilidad, la forma α se degrada mucho más rápido, en relación con la cinética de colonización de células óseas. Por tal razón, sólo la forma β es utilizada en aplicaciones ortopédicas.

La cristalinidad, propiedad que refleja el tamaño y la perfección de los cristales, también modifica la solubilidad de estos cerámicos. Los cristales de tamaño pequeño presentan defectos reticulares, lo cual hace que se disuelvan más rápidamente en relación con los cristales voluminosos los cuales están mejor estructurados cristalográficamente [105-110].

Porosidad

De acuerdo con las condiciones de preparación existen dos tipos de porosidad dentro de los cerámicos, la microporosidad y la macroporosidad.

La microporosidad corresponde a los espacios que existen entre los cristales de los cerámicos, los cuales corresponden a un tamaño entre 1-10 μm de diámetro. Estos espacios no pueden ser colonizados por células óseas, únicamente se distribuyen dentro de ellos los fluidos biológicos. La Figura 5 muestra un ejemplo de un material microporoso.

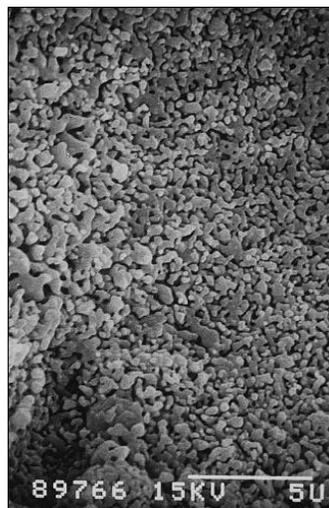


Figura 5. Imagen de microscopio electrónico de barrido de un material microporoso [22].

La macroporosidad se traduce en la presencia de poros calibrados en el material, los cuales resultan por la adición de un agente generador de poros durante el proceso de sinterización. Contrario a los microporos, presentan un diámetro que se extiende entre

100-600 μm , lo cual permite la colonización por las células óseas, a partir de lo cual se produce el crecimiento óseo en los intersticios del implante. La Figura 6 muestra un ejemplo de un material macroporoso.

La solubilidad, tendencia a la reabsorción y propiedades mecánicas de los cerámicos de fosfatos de calcio dependen de la relación Ca/P y de su microestructura, es decir, de la porosidad del material. Una porosidad alta aumenta la solubilidad del material y con ello la actividad biológica. Sin embargo, una porosidad alta deteriora las propiedades mecánicas. Las variaciones en la microporosidad tienen mayor influencia en la resistencia a la tracción que a la compresión, por lo que los cerámicos de fosfatos cálcicos son bastantes frágiles, Tabla IV. El comportamiento mecánico de las cerámicas de fosfato de calcio influye enormemente en sus aplicaciones como implantes. Tanto la resistencia a tensión como a compresión y a la fatiga dependen del volumen total de porosidad del material. Estos biomateriales no pueden emplearse en áreas sometidas a fuerzas de torsión, flexión y cizalladura, por lo que estos inconvenientes deben ser neutralizados mediante osteosíntesis, hasta que la neoformación ósea incremente su resistencia a niveles similares a la del hueso contiguo.

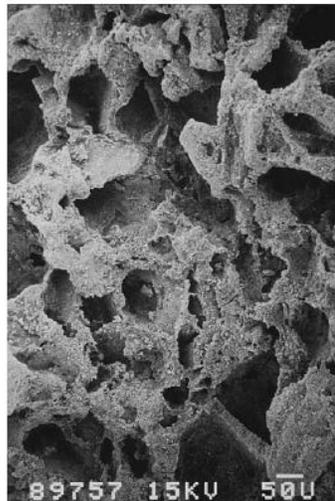


Figura 6. Imagen de microscopio electrónico de barrido de un material macroporoso [22].

Lo ideal es encontrar la porosidad óptima en estos materiales, la cual permita preservar una invasión celular y obtener con ello una buena colonización ósea, mientras se mantienen propiedades mecánicas adecuadas, permitiendo con ello, el uso generalizado de estos materiales en cirugía ortopédica [22,104, 105].

Por otro lado, la reabsorción o biodegradación de las cerámicas de fosfatos cálcicos puede ser originada por disolución fisicoquímica, que depende del tipo de material y del pH del medio, y por desintegración física en forma de pequeñas partículas a causa de un ataque químico. Los factores que aumentan la tasa de biodegradación de estos materiales son el aumento del área superficial, la disminución de la cristalinidad y homogeneidad de los cristales, la disminución del tamaño del grano y las sustituciones iónicas con CO_3^{2-} , Mg^{2+} o Sr^{2+} . Los factores que disminuyen la biodegradación son la existencia de flúor en la hidroxiapatita, la presencia de Mg^{2+} en el fosfato tricálcico y la disminución de la relación HA/ β -TCP en los compuestos bifásicos. Todo lo anterior hace necesario tener en buen control la microestructura, el estado de las fases y la composición química de las cerámicas de fosfatos de calcio para obtener la tasa de reabsorción requerida [100, 104, 105,108-110].

Tabla IV. Propiedades mecánicas del hueso y cerámicos de fosfatos de calcio [22].

Material	Resistencia a la Compresión (MPa)	Resistencia a la Tensión (MPa)	Módulo de Elasticidad (GPa)
Hueso			
Hueso Cortical	200	100	20
Hueso Esponjoso	60-90	5.0	1
Fosfatos de Calcio			
Porosos	10-100	3.6	-
Densos	300-1300	100-280	50-150

Forma Física

Las presentaciones de estos materiales se adaptan a las necesidades propias de la cirugía ortopédica, generalmente son en forma de bloques o gránulos como los observados en la Figura 7.

Actualmente, los cerámicos de fosfatos de calcio se emplean como implantes porosos, gránulos o polvos para el relleno de cavidades óseas en áreas sin soporte de carga, como pequeños implantes densos en el oído medio, como recubrimiento sobre implantes metálicos y como fase bioactiva en materiales compuestos. El mecanismo de enlace con el hueso se establece directamente por el crecimiento de pequeños cristales de apatitas biológicas sobre el implante.



Figura 7. Diferentes presentaciones de los materiales de fosfato de calcio: (B) bloques y (G) gránulos [22].

Las características fisicoquímicas de los cerámicos fosfocálcicos son esenciales para su actividad biológica. Condicionan su solubilidad y así sus interacciones con el ambiente que los rodea, en función de las dos propiedades biológicas más importantes: la biocompatibilidad y la bioactividad [22].

2.1.3.2. Propiedades Biológicas

Biocompatibilidad

La biocompatibilidad puede definirse como la tolerancia biológica local de cualquier biomaterial, caracterizada por la ausencia de una respuesta inflamatoria aguda o crónica durante su implantación e incorporación, así como por la carencia de efectos nocivos sobre tejidos distantes. Biocompatibilidad se puede denominar más correctamente como una “aceptabilidad biológica”, que corresponde a la interacción de los biomateriales con los tejidos susceptibles de estar en contacto con ellos.

Bioactividad

La bioactividad se define como la capacidad de un material para inducir, estimular, provocar o modular una acción biológica definida en el tejido receptor. Así, un material bioactivo es aquel que posibilita una respuesta biológica específica en su interfase con los tejidos, favoreciendo el enlace de ambos.

2.1.3.3. Interacciones e Intercambios con Células y Tejidos

Cualquiera que sea la fase de fosfato de calcio utilizada como implante, la secuencia de biointegración de estos materiales con el medio local es idéntica. Sin embargo, sus cinéticas varían según las características fisicoquímicas de cada material.

El factor que determina la bioactividad de estos materiales “in vivo”, es su degradación en el medio, la cual se produce por dos vías: disolución por contacto con fluidos biológicos (biodegradación) y disolución mediada por células (biorreabsorción). Así se han preparado sustitutos óseos basados en mezclas entre hidroxiapatita y β -fosfato tricálcico que evolucionan, bajo condiciones fisiológicas, a carbonatoapatita. Estas reacciones están basadas en equilibrios entre la fase más estable, hidroxiapatita, y la más reabsorbible, β -fosfato tricálcico, que dan lugar a una mezcla que sufre una progresiva disolución en el cuerpo humano, sirviendo como semilla de formación de hueso nuevo y aportando iones

Ca^{2+} y PO_4^{3-} al medio local. De esta manera, se busca conseguir un balance óptimo de las fases más estables de hidroxiapatita y de las más solubles del fosfato tricálcico para que este biomaterial compuesto presente una cinética de reabsorción que se adapte al proceso de remodelación ósea.

Entre la células implicadas en la reabsorción de los materiales fosfocálcicos, se encuentran las células de tipo osteoblástico, las mismas que se encuentran implicadas en la reabsorción ósea y células gigantes multinucleadas que únicamente degradan al material. Bajo ciertas condiciones patológicas, los monolitos, los macrófagos y los fibroblastos pueden también estar implicados en estos procesos de reabsorción. La disolución de estos materiales empieza a desarrollarse simultáneamente dentro de los macroporos y microporos, desde las primeras horas después de su implantación, dando lugar a dos fenómenos sucesivos: inicialmente se detecta la precipitación de apatitas biológicas y posteriormente la osteoformación, esta última detectable únicamente después de varios días de la implantación.

A nivel de los microporos ocurre la biodegradación de cristales del material, dando como consecuencia un aumento en la concentración local de iones calcio y fosfato, formándose un nuevo equilibrio de saturación. Esto trae como consecuencia la precipitación de nuevas fases fosfocálcicas, como resultado de la interacción de estos iones con los presentes en los fluidos circundantes. Estas precipitaciones involucran procesos de nucleación y crecimiento.

Varios estudios han identificado estas nuevas fases formadas sobre las superficies de los cristales como apatitas carbonatadas similares a las que se encuentran presentes en los huesos. Este proceso de biodegradación/precipitación se desarrolla sin intervención celular dando como resultado una rápida mineralización dentro de los microporos.

A nivel de los macroporos, la disolución del biomaterial por biodegradación se acompaña por una actividad celular de biorreabsorción. Simultáneamente, las apatitas neoformadas por precipitación, son responsables de una modificación en la actividad celular ósea, dando como resultado (1) una reducción en la formación y actividad de los osteoclastos, y especialmente (2) la proliferación y diferenciación de osteoclastos en la superficie de los macroporos. Esta activación celular es el origen de la colonización ósea del implante, sin la interposición de tejido fibroso, formando inicialmente sobre la superficie del implante una matriz no mineralizada, seguido de una etapa secundaria de mineralización y finalmente la formación de hueso lamelar.

2.1.3.4. Modificaciones Biológicas

Los fenómenos de biorreabsorción-biodegradación inducen modificaciones fisicoquímicas y mecánicas en los materiales.

Entre las modificaciones fisicoquímicas se encuentran:

- Un aumento de la porosidad, llegando incluso hasta una fragmentación del implante. A largo plazo se puede lograr la completa sustitución del implante por parte del hueso.
- Modificaciones ultraestructurales en particular la forma y tamaño de los cristales.
- Remanentes químicos por efectos de la disolución y la formación de nuevas especies fosfocálcicas.

A pesar de la capacidad de estos materiales de desintegrarse progresivamente, sus características mecánicas se ven mejoradas luego de su implantación, debido a: (1) la precipitación de apatitas biológicas dentro de los microporos, (2) el desarrollo de tejido óseo neoformado dentro de los macroporos. En efecto, las nuevas propiedades mecánicas observadas son las de un material compuesto formado por el implante cerámico modificado y el hueso neoformado.

2.1.3.5. Factores de Bioactividad

En forma general, la bioactividad en los materiales cerámicos fosfocálcicos, sigue la misma secuencia de eventos biológicos. Sin embargo, no todos presentan la misma reactividad.

El principal factor de bioactividad es sin duda, la solubilidad del material, la cual está fuertemente ligada con sus propiedades fisicoquímicas. Sin embargo, la cinética de biodegradación/biorreabsorción de estos materiales de implante no debe ser tan rápida que no permita la colonización de los macroporos por las células osteoblásticas, repercutiendo con esto en la estabilidad del implante y en la producción del hueso neoformado [22,108-111].

2.1.3.6. Aplicaciones

La solubilidad, tendencia a la reabsorción y propiedades mecánicas de los cerámicos de fosfatos de calcio dependen de la relación Ca/P y de su microestructura o porosidad del material. Las variaciones en la microporosidad tienen mayor influencia en la resistencia a la tracción que a la compresión, por lo que los cerámicos de fosfatos cálcicos son bastantes frágiles. Por lo cual no pueden emplearse como sustitutivos óseos en áreas sometidas a fuerzas de torsión, flexión y cizalladura.

Actualmente, las cerámicas de fosfatos de calcio se emplean como implantes porosos, gránulos o polvos para el relleno de cavidades óseas en áreas sin soporte de carga, como pequeños implantes densos en el oído medio, como recubrimiento sobre implantes metálicos y como fase bioactiva en materiales compuestos.

De los diferentes cerámicos fosfocálcicos utilizados en cirugía ortopédica mostrados en la Tabla III, las combinaciones bifásicas de compuestos macroporosos han representado una alternativa interesante, ya que desarrollan una cinética de degradación compatible con una cinética de la colonización ósea. Así desde hace 20 años, estos materiales se usan

extensivamente como materiales de sustitución ósea, con una eficacia clínica reconocida [111-115].

2.2. Propiedades de la Hidroxiapatita

2.2.1. Propiedades Cristalográficas

La hidroxiapatita estequiométrica definida como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, tiene porcentajes en peso teóricos de: 39.68% de Ca y 18.45% de P, resultando en una relación molar Ca/P = 1.67. Asimismo, tiene una estructura cristalográfica bien definida, perteneciendo al sistema hexagonal con un grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$. Este grupo espacial se caracteriza por la existencia de seis ejes-c perpendiculares a tres ejes-a equivalentes (a_1, a_2, a_3) con ángulos de 120° uno del otro. La unidad más pequeña, conocida como celda unitaria, contiene una representación completa de un cristal de hidroxiapatita, consistente de grupos Ca, PO_4 y OH estrechamente empacados en el arreglo mostrado en la Figura 8.

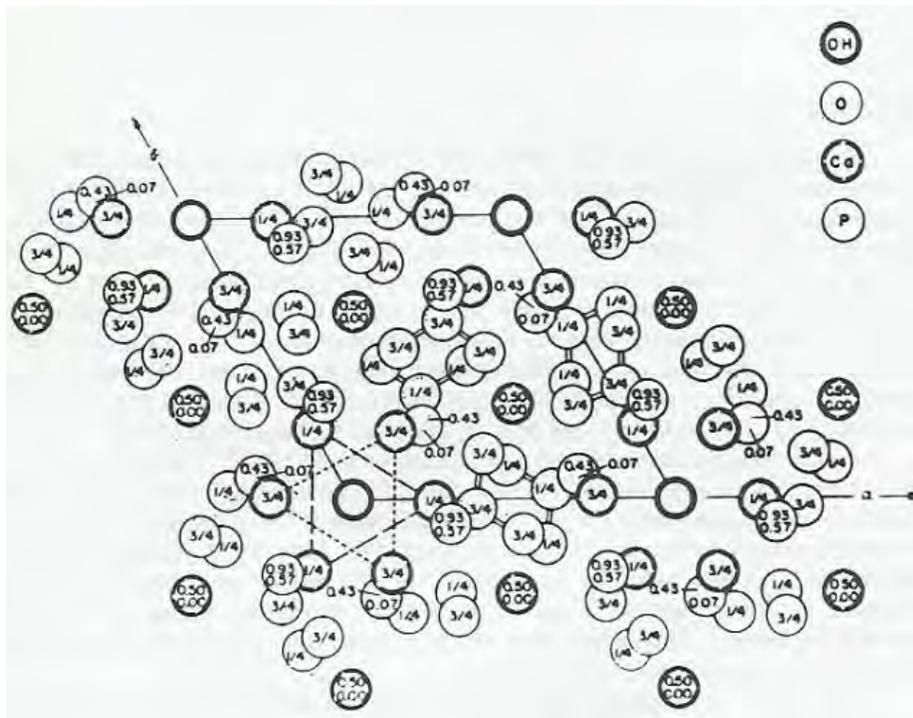


Figura 8. Arreglo atómico de la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ en una celda unitaria hexagonal [100].

Los iones OH localizados en las esquinas de la celda unitaria se encuentran rodeados por dos grupos de átomos Ca(II) arreglados en posición triangular en posiciones $z = 0.25$ y 0.75 , por dos grupos tetraédricos PO_4 también en posiciones triangulares y por un arreglo hexagonal de átomos Ca(I) a la distancia extrema. Los parámetros de red tienen valores de 9.422 \AA y $6.881 \text{ \AA} \pm 0.003 \text{ \AA}$, para los ejes a y c respectivamente [100,116].

Los diez átomos de calcio pertenecen a Ca(II) o Ca(I). Cuatro átomos de calcio ocupan las posiciones Ca(I): dos a $z = 0$ y dos a $z = 0.5$. Seis átomos de calcio ocupan las posiciones Ca(II): un grupo de tres átomos de calcio en forma de triángulo a $z = 0.25$ y otro grupo similar a $z = 0.75$, rodeando a los grupos OH localizados en las esquinas de la celda unitaria a $z = 0.25$ y $z = 0.75$ respectivamente. Los seis fosfatos (PO_4) tetraédricos se encuentran en un arreglo helicoidal desde $z = 0.25$ hasta $z = 0.75$. La red de grupos PO_4 provee el armazón del esqueleto el cual proporciona a la estructura de la hidroxiapatita su estabilidad (Figura 9).

La estructura de la hidroxiapatita permite la sustitución de Ca, PO_4 y OH por otros iones, tales como fluoruro (F^-), cloruro (Cl^-) y carbonatos (CO_3^{2-}), dando como resultado cambios en sus propiedades, morfología, solubilidad, etc, pero sin tener cambios significativos en su simetría hexagonal. Una de las sustituciones más importantes la representan los carbonatos (CO_3^{2-}), los cuales pueden sustituir tanto a los grupos hidroxilo (OH) como a los grupos fosfato (PO_4), designando estas sustituciones como Tipo A y Tipo B respectivamente, siendo esta última sustitución, la composición más parecida a la estructura de la fase mineral de los huesos y dientes, las cuales se denominan apatitas biológicas. Las apatitas biológicas difieren de la hidroxiapatita pura en estequiometría, composición, cristalinidad, y algunas propiedades físicas y mecánicas. Generalmente, las apatitas biológicas son deficientes en calcio, ($Ca/P = 1.5-1.65$) presentando la sustitución de grupos fosfato por grupos carbonatos, por tal razón, también se refiere a ellas como hidroxiapatitas carbonatadas del Tipo B [100,116].

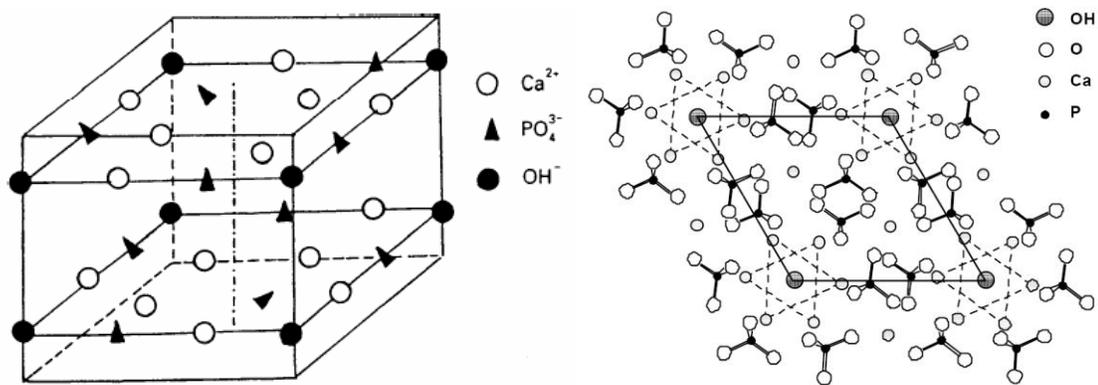


Figura 9. Estructura de la celda unitaria hexagonal de la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [99,100].

El análisis por difracción de rayos X (XRD) para la hidroxiapatita, resulta en un patrón con picos de difracción bien definidos, con altas intensidades. En la Figura 8 se muestra los planos cristalográficos más importantes, (JCPDS 09-0432) [116].

La espectroscopia infrarroja (FT-IR), muestra las bandas de absorción características para O-H y P-O, representando respectivamente, las vibraciones de los grupos OH^{-1} (3571 cm^{-1} , 631 cm^{-1} y 342 cm^{-1}) y PO_4^{3-} , $\nu_1\text{PO}_4$ (962 cm^{-1}), $\nu_2\text{PO}_4$ (472 cm^{-1}), $\nu_3\text{PO}_4$ (1090 cm^{-1} y 1048 cm^{-1}) y $\nu_4\text{PO}_4$ (601 cm^{-1} y 574 cm^{-1}) en la hidroxiapatita, como se observa en la Figura 11. Asimismo, La espectroscopia Raman para la hidroxiapatita en la Figura 12, muestra las bandas de los iones fosfatos PO_4^{3-} para los modos normales $\nu_1\text{PO}_4$ (962cm^{-1}), $\nu_2\text{PO}_4$ (447 cm^{-1} y 431 cm^{-1}) $\nu_3 \text{PO}_4$ (1075 cm^{-1} , 1052 cm^{-1} , 1047 cm^{-1} , 1040 cm^{-1} y 1028.5 cm^{-1}) y $\nu_4\text{PO}_4$ (614 cm^{-1} , 607 cm^{-1} , 590 cm^{-1} y 579 cm^{-1}), La banda de iones OH^{-1} (3576 cm^{-1}) no se muestra en esta figura [116-131].

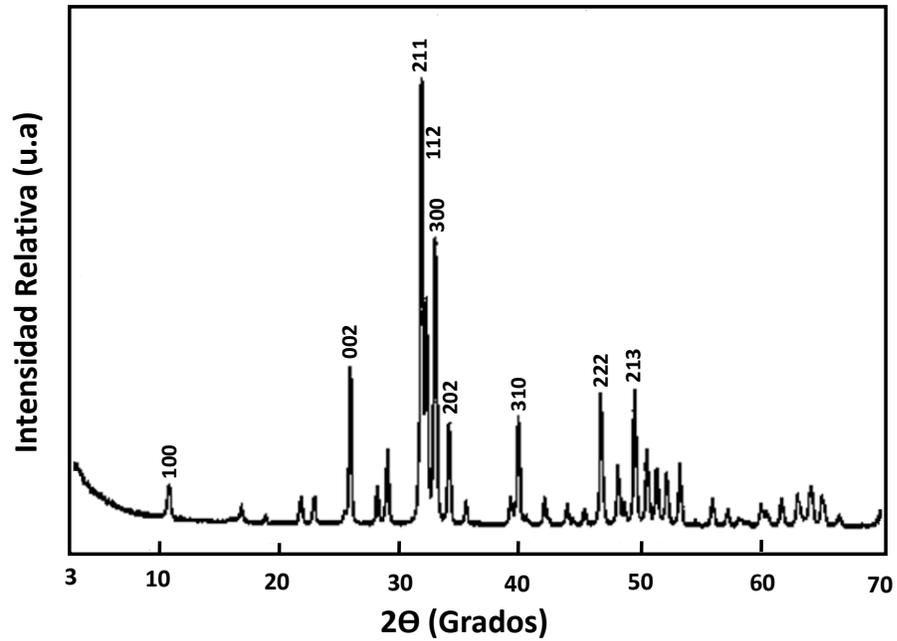


Figura 10. Patrón de difracción de rayos-X para la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ en el rango de $2\theta = 3^\circ$ a 70° [100, 116].

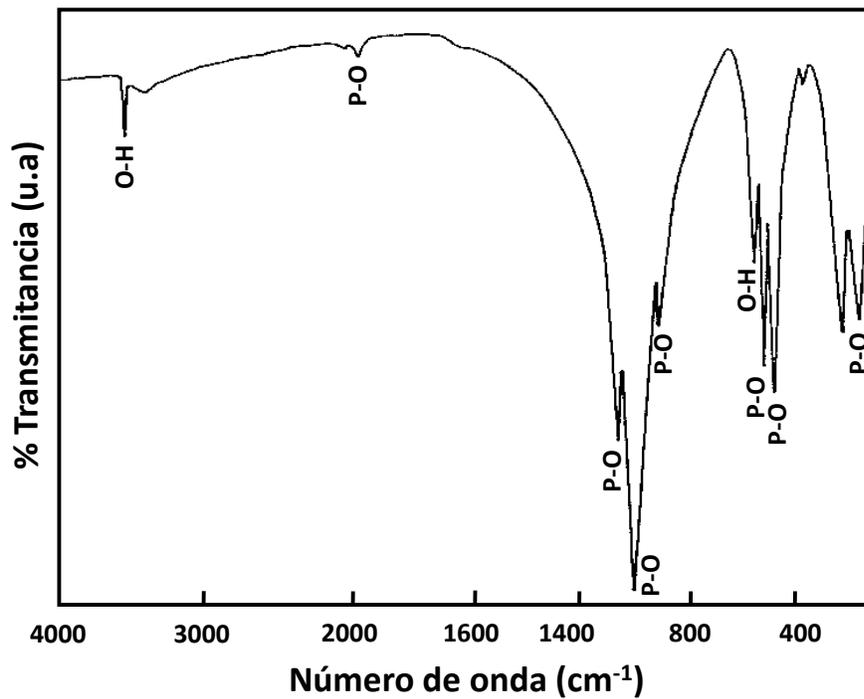


Figura 11. Espectro FT-IR mostrando las bandas de absorción características para O-H y P-O en la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [100].

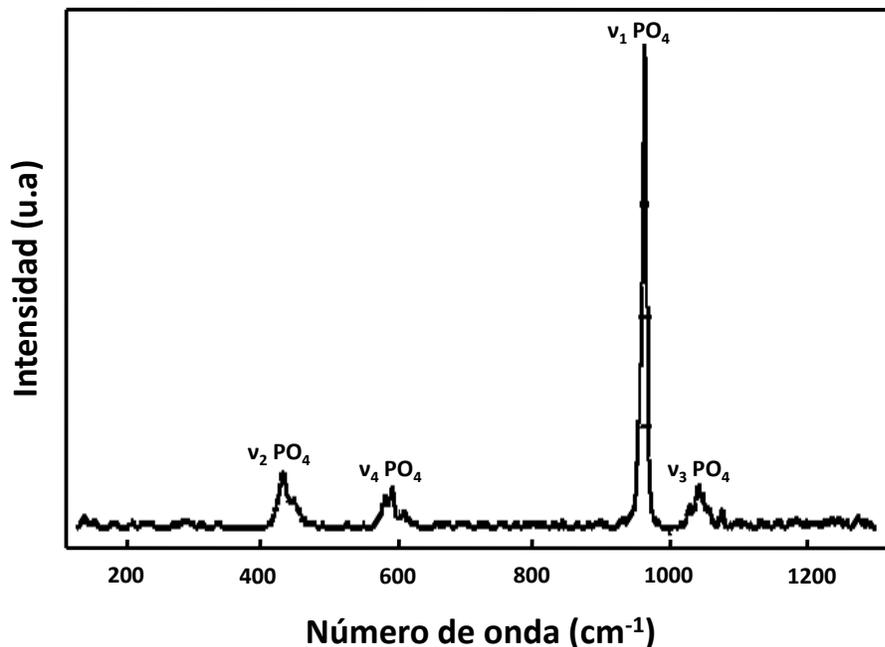


Figura 12. Espectro Raman para la hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [117].

2.2.2. Propiedades Físicas

Las diversas técnicas de síntesis de hidroxiapatita culminan con procesos de sinterización, permitiendo la obtención de presentaciones densas o macroporosas. Desde el punto de vista biomecánico, la resistencia tensil de la hidroxiapatita densa varía entre 79 y 106 MPa y la de su formulación porosa es de alrededor de 42 MPa. Entre algunas de sus propiedades físicas se encuentran: densidad = 3.01 g/cm^3 , punto de fusión = 1650°C , una dureza en la escala Mohs de 5, y 600 en la escala Vickers. Se caracteriza por ser un material rígido, frágil y difícil de adaptar a los defectos óseos, para su utilización en clínica se dispone de presentaciones en forma de gránulos y bloques [2, 19,132].

2.2.3. Propiedades Biológicas

La hidroxiapatita es el cerámico fosfocálcico menos soluble y se reabsorbe muy lentamente en aproximadamente un 1 % de su volumen por año desde su implantación. La hidroxiapatita muestra un perfil biológico muy atractivo. Este perfil incluye la ausencia de toxicidad tanto local como sistémica, ausencia de procesos inflamatorios, pirogénicos y

de cualquier otra respuesta adversa por parte del organismo, al aplicarla tanto en las formas sólidas como en las particuladas. Así, por ejemplo, los cultivos celulares de fibroblastos no se ven afectados de forma distinta por la introducción de placas de titanio con o sin recubrimiento de hidroxiapatita. Este perfil probablemente puede generalizarse para todos los materiales de implante basados en fosfatos de calcio. Esta compatibilidad biológica se debe a su naturaleza química, ya que los iones calcio e iones fosfato disueltos a partir de estos materiales se integran al sistema regulador del organismo y son manejados de manera normal.

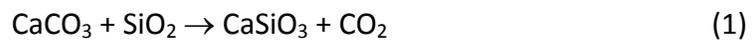
La hidroxiapatita es un biocerámico de tipo tres, es bioactiva, su superficie es reactiva y se enlaza directamente al hueso; es una de las más utilizadas en los quirófanos como implante óseo, como recubrimiento de metales bioinertes para mejorar su biocompatibilidad y como liberador controlado de fármacos. Anteriormente sólo se usaba hidroxiapatita no porosa para la sustitución parcial de huesos, sin la posibilidad de crecimiento de estructuras dentro del mismo. En los últimos años, el desarrollo y uso de estas estructuras porosas dio un giro en el área de implantes óseos para permitir así la remodelación y reparación fisiológica del hueso. Sus aplicaciones incluyen implantes dentales, sistemas percutáneos, tratamientos periodontales, aumento de la cresta alveolar, ortopedia, cirugía maxilofacial, otorrinolaringología, cirugía plástica y cirugía espinal. Una de las aplicaciones más importantes es el recubrimiento de superficies metálicas para la fijación de prótesis ortopédicas y dentales, la técnica más empleada es la proyección por plasma del polvo de hidroxiapatita [2, 27,28, 100].

2.3. Propiedades de la Wollastonita

La wollastonita es silicato de calcio que se encuentra en forma natural con fórmula molecular CaSiO_3 , tiene una composición en peso teórica de 48.3% de óxido de calcio (CaO) y 51.7% de dióxido de silicio (SiO_2). La wollastonita es un mineral no metálico de múltiples aplicaciones industriales [83]. Principalmente se asocia a depósitos tipo skarn, como producto del metamorfismo de contacto y metasomatismo de rocas plutónicas con

rocas carbonatadas. En dicho contacto se produce migración de fluidos hidrotermales que acompañan la aparición de una mineralogía estable (calcosilicatada) a las condiciones del metamorfismo termal.

La reacción metamórfica entre sílice y carbonato de calcio para formar wollastonita ocurre aproximadamente 450-600°C y profundidades cercanas a la superficie. La reacción química a través del contacto metamórfico de sílica y caliza ocurre según la reacción siguiente [133,134].



En la naturaleza pueden encontrarse otros iones que sustituyen al calcio como el hierro y el manganeso formando ferrowollastonita y manganowollastonita respectivamente.

Respecto a su geología económica, México es uno de los principales países productores a nivel mundial, conjuntamente con EUA, India, Finlandia y China. Prácticamente, la totalidad de la producción nacional se destina a la exportación. Los principales yacimientos se encuentran en el estado de Sonora (Hermosillo, NYCO-Minerals), Zacatecas (Pánfilo Natera) e Hidalgo (Villa Juárez), siendo el depósito de Hermosillo de gran escala y los de Pánfilo Natera y Villa Juárez, de pequeña y mediana producción [134].

2.3.1. Propiedades Cristalográficas

La wollastonita es un mineral polimorfo, es decir, posee diferentes estructuras físicas bajo la misma composición química CaSiO_3 . Los dos polimorfismos más conocidos son: wollastonita formada a baja temperatura, (β -wollastonita) y pseudowollastonita formada a alta temperatura, (α -wollastonita). Existen dos formas estrechamente relacionadas del polimorfismo a baja temperatura, las cuales son: wollastonita en sí, que posee una estructura cristalográfica triclinica (wollastonita-1T) y la que posee una estructura cristalográfica monoclinica conocida como parawollastonita o wollastonita-2M.

Existen otros polimorfismos raros de este mineral como la wollastonita-3T, wollastonita-4T, wollastonita-5T y wollastonita-7T. En general, cuando se habla de wollastonita, se refiere a la forma triclinica de la wollastonita o wollastonita-1T.

La estructura cristalina de la wollastonita consiste en cadenas de oxígeno-silice (SiO_4) tetraédricas unidas para formar infinitas cadenas triples unidimensionales de $[\text{Si}_3\text{O}_9]^{6-}$ (Figura 13a). Estas, están enlazadas entre sí por iones de calcio (Ca^{2+}) coordinadamente con los átomos de oxígeno, lo cual compensa la carga eléctrica, ubicándose paralelamente al eje cristalográfico b (Figura 13b). Esto explica el por qué los cristales siempre se extienden en la dirección de b [010]. (El crecimiento en la dirección b corresponde longitudinalmente a la estructura que se presenta en la Figura 13c) [133].

La wollastonita tiene una estructura cristalina perteneciente al grupo triclinico, Figura 13c, con un grupo espacial P1, con parámetros y ángulos de red: $a = 7.94 \text{ \AA}$, $b = 7.32$, $c = 7.07 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ 2'$, $\beta = 95^\circ 22'$, $\gamma = 103^\circ 26'$. El análisis por difracción de rayos X (XRD) para la wollastonita, resulta en un patrón con picos de difracción bien definidos, como se observa en la Figura 14 [84].

Las Figuras 15 y 16 muestran respectivamente los espectros infrarrojo y Raman para la wollastonita.

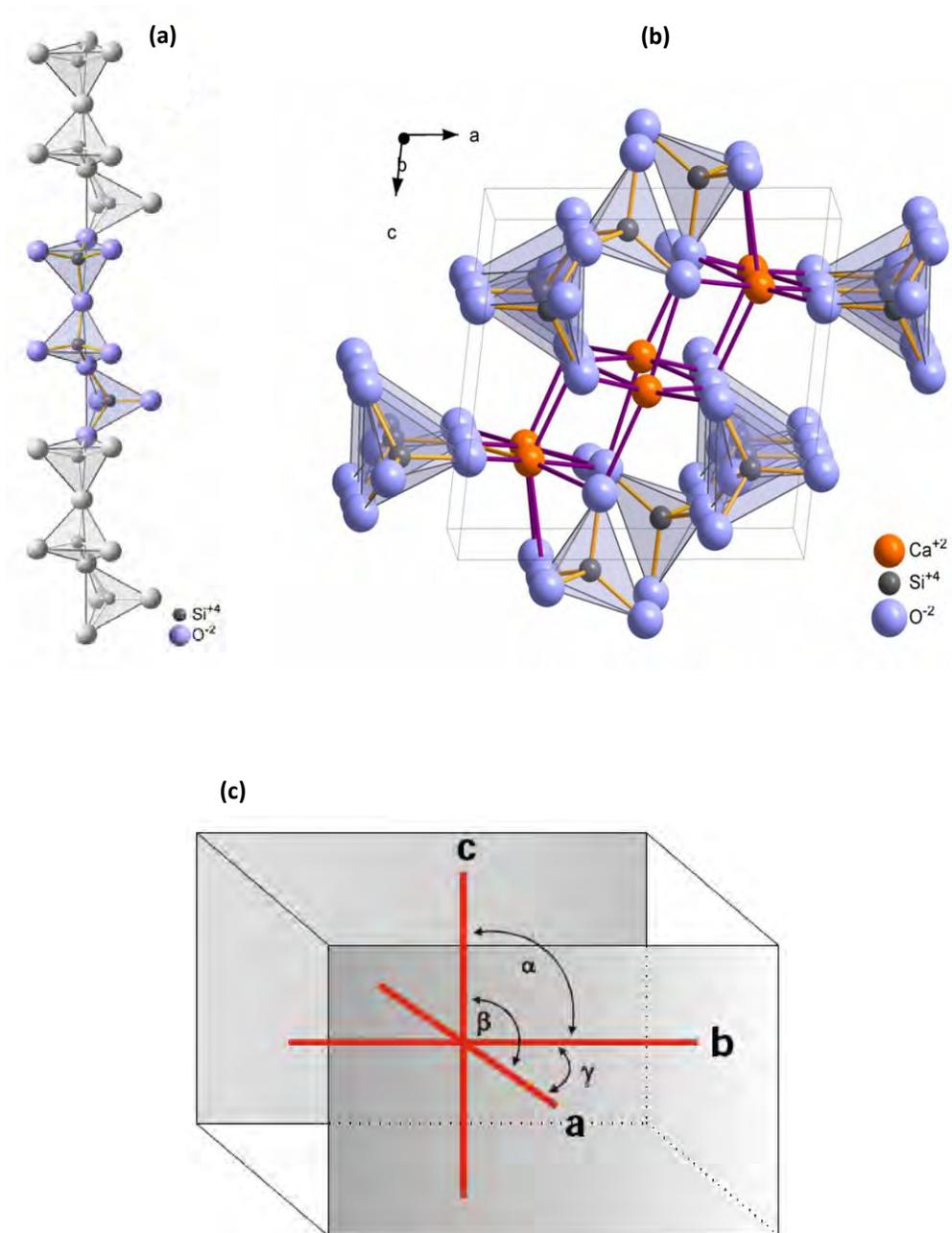


Figura 13. Estructura de la Wollastonita, CaSiO_3 : (a) Cadena de SiO_4 , (b) Estructura cristalina, (c) Ejes cristalográficos de una estructura triclinica [133,135].

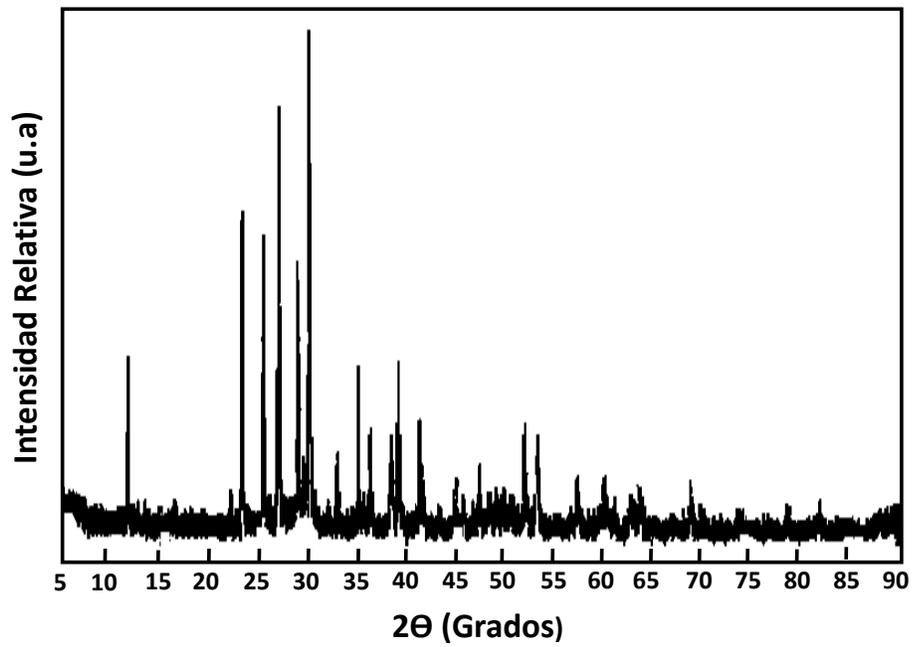


Figura 14. Patrón de difracción de rayos X para la wollastonita, CaSiO_3 en el rango de $2\theta = 5^\circ$ a 90° [84].

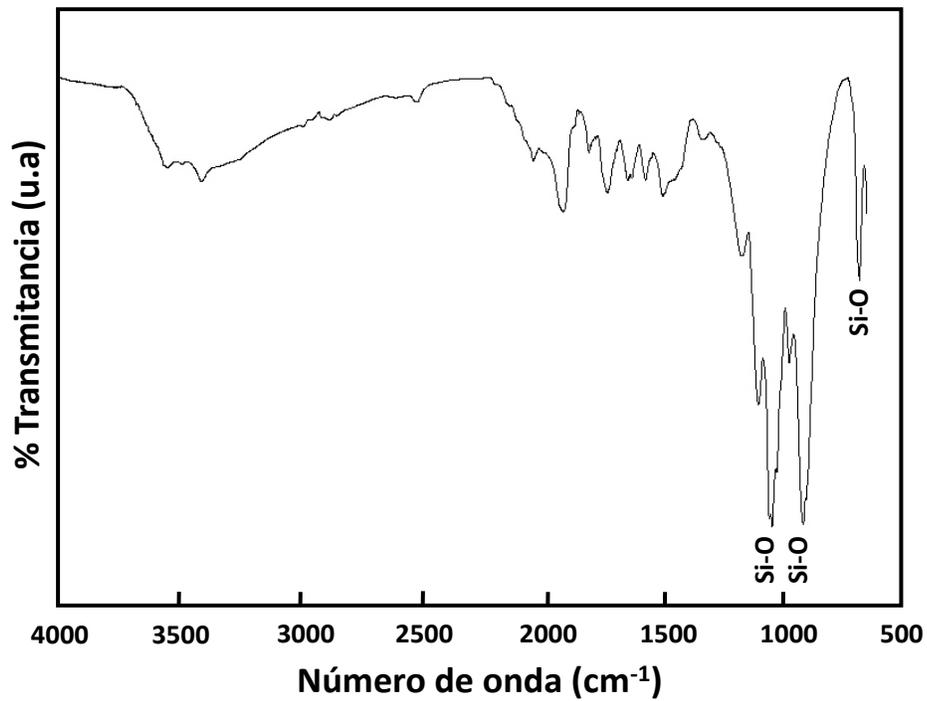


Figura 15. Espectro FT-IR mostrando las bandas de absorción características para Si-O para la wollastonita, CaSiO_3 [84].

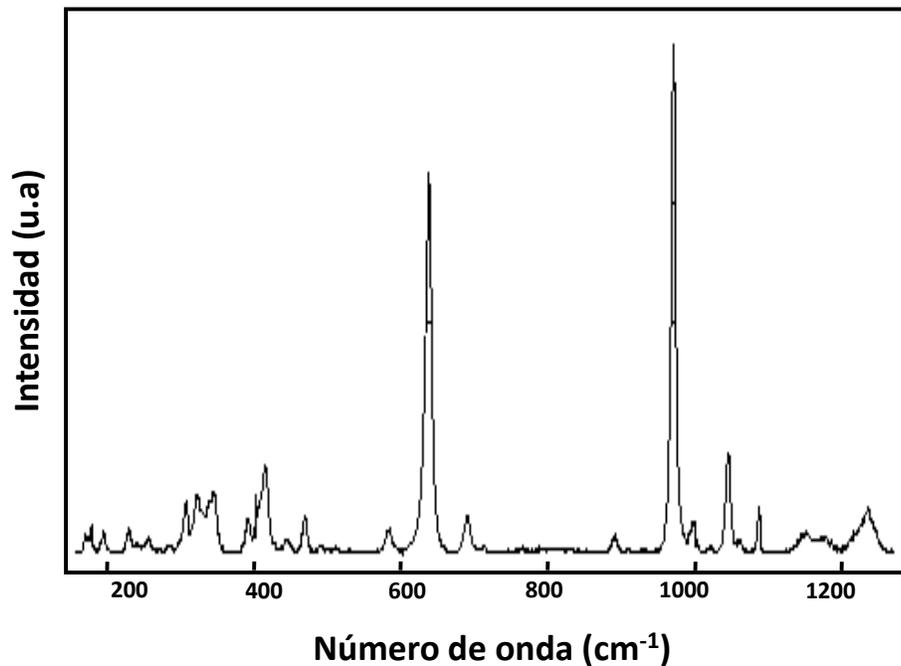


Figura 16. Espectro Raman para la wollastonita [84]

2.3.2. Propiedades Físicas

Entre la principales propiedades físicas de la wollastonita se encuentran: densidad = 2.8-3.2 g/cm³, punto de fusión = 1540°C y dureza según la escala Mohs entre 4.5-5.

La wollastonita es única entre los minerales no metálicos industriales por su combinación de color blanco, pH alcalino (8.0-9.0) y su forma cristalina acicular, (forma de agujas) le permite ser utilizada como componente de refuerzo para otros materiales [83]. La Figura 17 muestra la morfología acicular típica de la wollastonita, la cual confiere mayor eficiencia mecánica en los materiales compuestos donde se encuentra presente.

2.3.3. Propiedades Biológicas

Desde la década de los 90, la wollastonita ha sido considerada objeto de estudio como material artificial para implante en huesos y piezas dentales, debido a que este material exhibe buenas características de biocompatibilidad y bioactividad, tanto en estudios “in

vitro” como en estudios “in vivo”. Varios investigadores han reportado una rápida formación de una capa de apatita sobre la superficie de la wollastonita, comparada con las capas obtenidas sobre otros materiales cerámicos como biovidrios y vitrocerámicos cuando están inmersos en fluidos fisiológicos simulados (SBF) [71-82,85-91]. La Figura 18 muestra el patrón de difracción de rayos X de la capa formada sobre la superficie de una película de wollastonita, cuando ésta se sumerge en un sistema de fluido fisiológico simulado. Este difractograma muestra un patrón semejante al presentado por las apatitas biológicas, formadas por los biocerámicos bioactivos cuando interactúan con los sistemas biológicos [85-91]. Por otro lado, numerosos estudios toxicológicos han demostrado que la wollastonita es un material totalmente biocompatible, por lo cual se considera que no presenta propiedades adversas para la salud [136].

La posibilidad de poder ser utilizado como material de refuerzo, conjugado con las reconocidas propiedades bioactivas, ponen a la wollastonita a la vanguardia entre el resto de los cerámicos, como uno de los materiales más adecuados para la formulación de biocompósitos, los cuales puedan ser utilizados como materiales de implante en lesiones del tejido óseo.

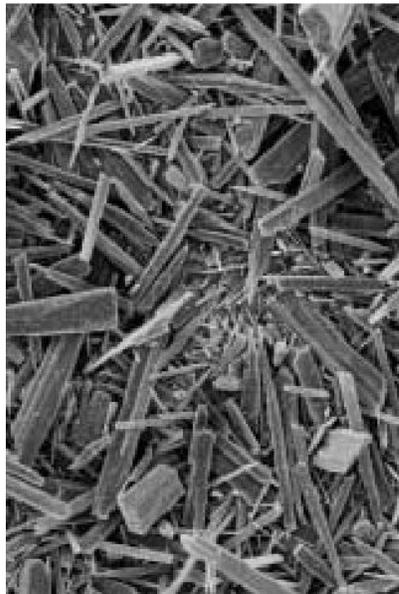


Figura 17. Micrografía de microscopio electrónico de barrido de la wollastonita, CaSiO_3 mostrando su forma acicular característica [84].

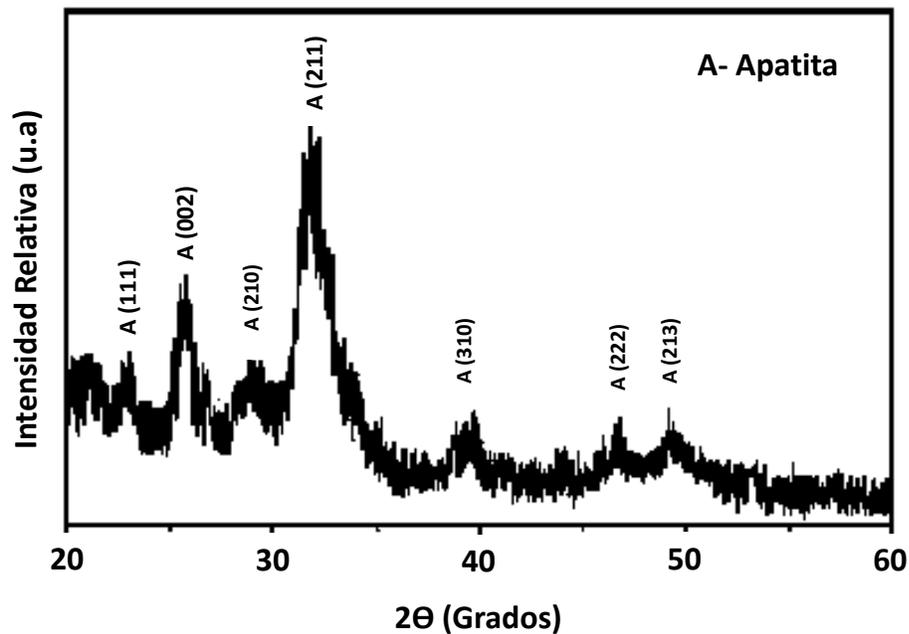


Figura 18. Patrón de difracción de rayos X de la capa de apatita, formada sobre una película de wollastonita cuando se sumerge por 21 días en un sistema de fluido fisiológico simulado (SBF) [85].

2.4. Técnicas de Preparación de Hidroxiapatita

2.4.1. Generalidades

La hidroxiapatita puede ser de origen natural (bovina, coralina o ficógena) o sintética (cerámica o no cerámica).

Hidroxiapatita de origen natural

El hueso bovino es una fuente de hidroxiapatita popularizada en los años 50. Hoy día se dispone de procedimientos capaces de eliminar todos sus elementos proteicos y celulares, convirtiéndolo en un material desprovisto de inmunogenicidad. Generalmente se desproteiniza por un proceso de calcinación. Su estructura macroscópica es muy similar a la matriz mineral del hueso humano y su utilización se limita al relleno de defectos óseos ya que su resistencia mecánica es baja.

El coral es otra fuente de hidroxiapatita. Algunos tipos de coral escleroactiniforme de los géneros geniópora y porites forman un almacén constituido por canales paralelos intercomunicados por poros. Este exoesqueleto está formado por carbonato cálcico, que se convierte en hidroxiapatita al generarse un intercambio químico con fosfatos, en medio acuoso y presencia de calor, (transformación hidrotermal con intercambio iónico) [30,137].



En este proceso, la estructura porosa se conserva, permitiendo que el tejido conectivo y el hueso crezcan al interior del material. Este implante es una alternativa para manejar defectos óseos que requieren ser rellenados. Sin embargo, carecen de la resistencia del hueso y se reabsorben muy rápido [138].

Otro tipo de hidroxiapatita natural microporosa y no reabsorbible, se deriva de las algas (ficógena). La arquitectura natural de algunas algas calcificadas (rhodophyceae y cholophyceae) presentan una superficie muy parecida a la del hueso, teniendo afinidad por las proteínas y los factores de crecimiento de la matriz ósea. La integración ósea y la proliferación de hueso sobre la superficie de gránulos de hidroxiapatita ficógena se debe a que los patrones de mineralización de las algas y el hueso son muy parecidos.

Hidroxiapatita sintética

La hidroxiapatita sintética no cerámica (PHA) exhibe una química compleja, $(\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x})$ ya que la relación molar Ca/P oscila en el rango de 1.5 a 1.67 y algunas veces hasta fuera de éste. Se obtiene habitualmente por precipitación química en solución acuosa al añadir una solución rica en fosfatos a otra con iones calcio en condiciones controladas ($\text{pH} > 7$). Los cristales de PHA presentan una baja cristalinidad y tamaños submicrométricos. Equivale a la porción mineral del hueso humano desde el punto de vista físico, químico y cristalográfico. Es un material que se reabsorbe

lentamente actuando como matriz ósea sobre la que se va depositando el hueso neoformado.

La hidroxiapatita sintética de origen cerámico (HA) es la forma obtenida al calcinar hidroxiapatita no cerámica a 700-1300°C. Está constituida por partículas esféricas con alta cristalinidad, densidad y gran pureza. Es un material muy biocompatible, no reabsorbible, que permite la aposición directa del hueso. El medio utilizado y las temperaturas aplicadas, condicionan la estructura cristalina, la porosidad y la solubilidad del producto resultante.

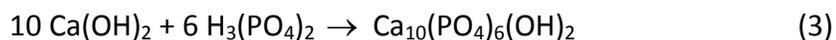
2.4.2. Preparación de Hidroxiapatita Cerámica Densa.

La preparación de hidroxiapatita densa se lleva a cabo mediante las etapas siguiente: (1) preparación de los polvos de hidroxiapatita o utilización de productos disponibles comercialmente; (2) compactación de los polvos bajo altas presiones, en tamaños y formas adecuadas; y (3) sinterización.

La Hidroxiapatita pura puede obtenerse a partir de reacciones en sistemas hidrotermales o a partir de reacciones de estado-sólido. Sin embargo, cuando se prepara a partir de sistemas acuosos tal como en los métodos de precipitación o hidrólisis, la hidroxiapatita obtenida generalmente es deficiente en calcio, con valores de relación molar Ca/P menores a 1.67 correspondiente a la hidroxiapatita estequiométrica. Cuando la reacción de precipitación se lleva a cabo bajo condiciones de alta alcalinidad, el precipitado contendrá carbonato lo cual se reflejará en un valor de relación molar Ca/P superior al valor estequiométrico.

2.4.2.1 Métodos de Precipitación

Los métodos más comunes para la preparación de hidroxiapatitas comerciales consisten en agregar gota por gota ácido fosfórico, H_3PO_4 a una suspensión agitada de hidróxido de calcio, $Ca(OH)_2$ en agua (método de Rathje).



Este método se modifica por la adición de hidróxido de amonio NH_4OH , para mantener el pH del sistema con alta alcalinidad y asegurar la formación de hidroxiapatita (HA), después de la sinterización de la hidroxiapatita precipitada (PHA).

Otro método de precipitación consiste en la reacción de nitrato de calcio $\text{Ca(NO}_3)_2$ y fosfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, con la adición de hidróxido de amonio, NH_4OH (método de Hayek y Newesely).



Este método presenta una fuerte dependencia con el pH y la concentración de los reactivos, para poder obtener eficientemente hidroxiapatita pura después del proceso de sinterización del precipitado, por lo cual exige un estricto control de estos parámetros. En procesos de precipitación se recomienda el uso de acetato de calcio $\text{Ca(CH}_3\text{COO)}_2$ como fuente de calcio en lugar de cloruro o nitrato de calcio, debido a que los iones acetato no se incorporan en la hidroxiapatita, a diferencia de los iones nitrato y cloruro los cuales pueden hacerlo.

2.4.2.2. Método de Hidrólisis

La hidroxiapatita puede formarse también a partir de la hidrólisis de fosfatos de calcio ácidos como el DCPD, OCP, DCPA en soluciones de hidróxido de amonio, sodio o potasio, carbonato, fluoruro o cloruro, dependiendo de la composición deseada para el producto final.

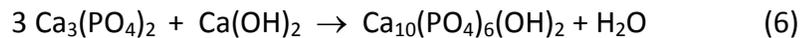
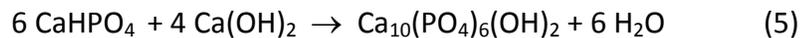
La hidroxiapatita producida en sistemas acuosos por los métodos de precipitación e hidrólisis, generalmente son deficientes en calcio, lo cual produce la formación de β -tricalcio fosfato con la HA durante el proceso de sinterización.

2.4.2.3. Compuestos de Fosfatos de Calcio Disponibles Comercialmente

Compuesto de fosfatos de calcio disponibles comercialmente (fosfato de calcio tribásico, hidroxiapatita cálcica) son utilizados como polvo de hidroxiapatita con o sin la adición de cantidades apropiadas de CaCO_3 , CaO o Ca(OH)_2 , para lograr sistemas menos deficientes en calcio y minimizar la formación de β -tricalcio fosfato durante el proceso de sinterización.

2.4.2.4. Reacciones de Estado-Sólido

La hidroxiapatita puede formarse también mediante reacciones de estado sólido como lo muestran las reacciones siguientes:

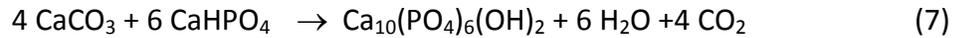


La mezcla de fosfatos de calcio, se comprime y sinteriza por encima de 950°C . También pueden prepararse por este método apatitas sustituidas (ejemplo; Sr por Ca; F o Cl por OH), añadiendo los compuestos apropiados en la mezcla.

2.4.2.5. Reacciones Hidrotermales

Las reacciones anteriores pueden desarrollarse también hidrotermalmente a 275°C , bajo presión de vapor de 12000 psi. Asimismo, β -TCP, TTCP entre otros compuestos, pueden ser fácilmente convertidos a hidroxiapatita bajo estas condiciones.

Carbonato de calcio en presencia de la cantidad apropiada de CaHPO_4 o $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, puede transformarse en hidroxiapatita como sigue:



2.4.2.6. Método Sol-Gel

El proceso sol-gel es uno de los métodos más importantes para la producción de nuevos materiales. Además de las ventajas comerciales tales como bajos costos de operación, bajo consumo de energía e impacto ambiental casi nulo, el uso de bajas temperaturas en estas técnicas, hace posible tener estricto control de los parámetros del proceso con mayor flexibilidad, en relación al uso de altas temperaturas en los procesos tradicionales. Entre las ventajas de las técnicas sol-gel para la producción de biomateriales inorgánicos se encuentran: nuevas composiciones, mayor homogeneidad, altos niveles de pureza, bajas temperaturas en el recubrimiento de sustratos, mejor control de distribución de tamaños en polvos, control de la química de superficie, control de las redes de poros en escalas nanométricas, entre otras. Para el caso de la síntesis de fosfatos de calcio el método sol-gel permite un eficiente mezclado molecular de calcio y fósforo, mejorando la homogeneidad química de los productos. Asimismo, la alta reactividad de los materiales producidos vía sol-gel permite la reducción de temperaturas y evitan cualquier fenómeno de degradación durante las etapas de sinterización posteriores. Además se ha demostrado que los materiales sintetizados por esta vía tienen mejores características y respuestas bioactivas en relación con los materiales formados por los métodos tradicionales.

2.4.2.7. Compactación y Sinterización

Los polvos de hidroxiapatita preparados por alguno de los métodos descritos anteriormente, pueden tener una conformación densa o macroporosa. La conformación densa de la HA es microporosa, esta porosidad es inducida de manera no intencional y

depende de la temperatura y tiempo de sinterización. Para la hidroxiapatita densa el tamaño de los poros adquiere valores menores a 1 μm de diámetro. Por otro lado, la macroporosidad, puede ser inducida deliberadamente, mezclando los polvos con un componente volátil (ejemplo; peróxido de hidrógeno o naftaleno) provocando la rápida evaporación de este componente antes de la sinterización. La macroporosidad también puede ser una propiedad del material utilizado para producir la hidroxiapatita, como es el caso de los corales y el hueso.

Los polvos de hidroxiapatita son comprimidos o compactados dentro de moldes, con o sin la presencia de agentes aglomerantes (ejemplos; almidón en agua, ácido esteárico en alcohol, o hidrocarburos de bajo peso molecular). Los comprimidos pueden sinterizarse en aire (método convencional) a la temperatura deseada, generalmente entre 900-1300°C, a velocidades de calentamiento de 100°C/hr, manteniéndolos a la máxima temperatura por varias horas para posteriormente ser enfriado a la misma velocidad con la que fue calentado.

También se utilizan técnicas de prensado en caliente, en las cuales la presión y el calor se aplican simultánea y continuamente. Este procedimiento permite que la densificación tenga lugar a temperaturas mucho más bajas que las requeridas en los procesos de sinterización convencionales. Estas bajas temperaturas de densificación previenen la formación de otras fases de fosfato de calcio (ejemplo; α -TCP, β -TCP, TTCP). Asimismo, otra alternativa es el proceso de prensado isostático en caliente, (HIP) donde los materiales se comprimen mediante presión gaseosa a altas temperaturas, produciendo materiales densos con resistencias a la compresión altas comparadas con las obtenidas en los métodos convencionales de prensado uniaxial. Las desventajas de la implementación de estas técnicas son el alto costo de los equipos y una geometría limitada en los productos finales.

2.5. Procesamiento Sol-Gel

El procesamiento sol-gel se puede dividir en cuatro grandes etapas fundamentales:

- Preparación del sol.
- Gelificación.
- Envejecimiento.
- Secado y tratamiento térmico.

2.5.1. Preparación del Sol

Un sol es una suspensión coloidal de partículas sólidas en un líquido, existen dos vías básicas para obtener los soles: los sistemas acuosos y los sistemas orgánicos. En los sistemas acuosos se utilizan como precursores óxidos, hidróxidos y sales tanto orgánicas como inorgánicas, estos compuestos se dispersan o se disuelven en agua. Los sistemas orgánicos se obtienen a partir de compuestos metal-orgánicos (principalmente alcóxidos) disueltos en un solvente orgánico, que generalmente es un alcohol. Durante esta etapa se desarrollan reacciones de “hidrólisis” de los alcóxidos metálicos (M-OR) con el agua, formándose hidróxidos metálicos (M-OH). Asimismo, los hidróxidos metálicos se combinan ($M-OH + HO-M$ ó $M-OR + HO-M$) para producir un óxido metálico (M-O-M), liberando además una molécula de agua o de alcohol, razón por la cual, esta segunda reacción recibe el nombre de “condensación”.

2.5.2. Gelificación

Las reacciones de hidrólisis y condensación del proceso anterior, conducen a la formación de agregados, que se enlazan hasta formar un único agregado gigante denominado gel. En el momento de formación del gel hay muchos agregados en el sol que se unen entre sí para formar una red sólida, responsable de la elasticidad, ocurriendo un cambio abrupto de la viscosidad.

2.5.3. Envejecimiento

Luego de la gelificación el sistema continúa reaccionando, dando lugar a reacciones como: 1) Polimerización, con la cual se aumenta la interconexión del esqueleto sólido, en consecuencia aumenta la densidad y la resistencia mecánica del sólido, 2) Sinéresis, en la cual ocurre la contracción del esqueleto sólido del gel, acompañada de la expulsión de la fase líquida contenida en los poros, 3) Maduración, el cual se debe a la disolución y precipitación producida por la diferencia de solubilidad entre las partículas, y finalmente, 4) Cambios de fase, los cuales pueden ocurrir en todo el proceso de envejecimiento, por ejemplo, puede ocurrir que la fase líquida se divida en dos fases, también puede ocurrir la cristalización de sales utilizadas en sistemas multicomponentes.

2.5.4. Secado y Tratamiento Térmico

El secado de la fase líquida la cual constituye la mayor parte del volumen del gel húmedo, (70-90%), ocurre mediante evaporación, la cual causa una contracción acompañada de endurecimiento del gel, estos geles secos también reciben el nombre de “xerogeles”.

Durante el tratamiento térmico ocurren una serie de cambios físicos y químicos en los materiales, los cuales pueden llevar a la transformación de fases existentes y la aparición de nuevos compuestos. Estos cambios pueden ser analizados mediante técnicas como el análisis termogravimétrico y dilatometría entre otras [139-142].

2.6. Evaluación de la Biocompatibilidad en Biomateriales

Previo al empleo de cualquier biomaterial en el organismo es fundamental determinar su biocompatibilidad. Este concepto hace referencia al grado de aceptación de un material por parte del organismo y se denomina más precisamente aceptabilidad biológica.

La bioaceptabilidad puede estudiarse evaluando los siguientes eventos:

- La interacción entre los biomateriales y tejidos receptores.
- La reacción resultante de la degradación del material.
- Los factores mecánicos involucrados.

El objetivo principal de los estudios de biocompatibilidad es analizar las posibles respuestas adversas, tales como, inflamación, pirogenicidad, toxicidad sistémica, sensibilización, mutagenicidad, carcinogenicidad y reacción a partículas extrañas. Además, estos ensayos permiten determinar el comportamiento y actuación de los nuevos materiales. El riesgo biológico de la utilización de los biomateriales depende de la sustancia utilizada, de su actividad específica, de la cantidad implantada y de la frecuencia y/o del tiempo de exposición. La información debe obtenerse bajo condiciones similares a las que posteriormente estará sometido, durante alguna aplicación específica, hecho en el que cumplen un importante rol los diferentes modelos animales, que permiten investigar la eficiencia de los nuevos biomateriales.

Los factores que influyen en la biocompatibilidad de un material son los siguientes:

Factores químicos

La composición del material determina en gran medida su potencial toxicidad. Por ejemplo, los polímeros pueden ser tóxicos por sí mismos o por la acción de sus productos de degradación.

Factores eléctricos

Las corrientes de polarización anódica o catódica que presentan los metales condicionan su corrosión. Por ejemplo, la polarización anódica provoca la disolución de iones metálicos en el organismo.

Factores superficiales

La superficie de un material puede tener características hidrofílicas o hidrofóbicas, lo que condiciona la aptitud de las proteínas para la adsorción y, secundariamente, su tolerancia. En general, los materiales de superficie hidrofílica son mejor tolerados.

Factores mecánicos

Las interacciones en la interface entre el tejido y el biomaterial condicionan la respuesta tisular. Es el caso de los implantes intraóseos en que se puede producir la formación de tejido fibroso mediado por fuerzas de tracción o de cizallamiento, o de tejido óseo, por interacción de compresión.

Factores geométricos

La respuesta a un mismo material depende de la granulometría, geometría y cantidad del mismo, de tal manera que la reacción es distinta si la formulación es compacta o particulada. En general, el implante en forma de partículas genera una respuesta cuantitativamente mayor.

2.6.1. Evaluación de la Respuesta Tisular

Los estudios relacionados con los biomateriales deben considerar la evaluación de cuatro fenómenos:

- Procesos iniciales en la superficie del material.
- Corrosión y degradación del biomaterial.
- Respuesta local.
- Respuesta sistémica.

La interacción entre un biomaterial y el tejido receptor origina una respuesta local similar a la provocada por un traumatismo o infección. La respuesta es variable, pero, en general,

comienza con una reacción inflamatoria aguda, continúa con una respuesta inflamatoria crónica y concluye con un proceso de reparación.

La respuesta tisular frente a los biomateriales se analiza habitualmente por medio de la histología, por lo que los estudios experimentales comparativos deben estandarizar el tamaño, forma y superficie de los implantes a utilizar.

2.6.2. Estudio de la Biocompatibilidad

La tendencia actual en el estudio de la biocompatibilidad, es la realización de una serie de pruebas biológicas. Las cinco pruebas fundamentales son cultivos celulares, implantación tisular, prueba de hemólisis, irritación cutáneo-mucosa y prueba de sensibilización.

Cultivos Celulares

El comportamiento de las células en la interface entre el tejido y el material permite definir la aceptabilidad biológica y la biofuncionalidad de éste último. Los cultivos celulares determinan tres niveles de biocompatibilidad:

- No biocompatible: Cuando el sistema celular se desdiferencia.
- Biocompatible: Si las estructuras y funciones celulares específicas se mantienen en calidad y cantidad.
- Bioactivo: Cuando el material estimula la diferenciación celular.

Implantación Tisular

La respuesta tisular frente a la implantación de un biomaterial depende del modelo animal, la geometría del implante, el lugar y tiempo de inserción. El estudio se puede realizar a nivel intraperitoneal, intramuscular, especialmente en la región paravertebral, o en el tejido subcutáneo.

Prueba de Hemólisis

Permite la valoración “in vitro” de las propiedades hemolíticas de los biomateriales en estudio o extractos de éste, los que son puestos en contacto con sangre, ya sea en condiciones estáticas o dinámicas, determinando el aumento de hemoglobina libre.

Prueba de Sensibilización

Está diseñada para estudiar el potencial de una sustancia o extracto de material, para producir una reacción de tipo alérgico en contacto con la piel, en modelos animales, valorando la reacción cutánea a las 24, 48 y 72 horas.

Prueba de Irritación Cutánea

Esta prueba sirve para estudiar la irritación que produce un biomaterial al ponerse en contacto con la piel, en modelos animales, valorando la aparición de eritema o edema.

Comportamiento Mecánico

El comportamiento de un material sometido a una carga mecánica depende de cuatro propiedades básicas: elasticidad, plasticidad, fractura y viscosidad. Las propiedades que describen el comportamiento mecánico se definen a través de diversas ecuaciones. Sin embargo, algunas relaciones simples entre tensión y deformación proporcionan una adecuada descripción de las propiedades mecánicas de muchos materiales [2].

2.7. Evaluación de Propiedades Mecánicas Mediante Nanoindentación

2.7.1. El microscopio de Fuerza Atómica

El microscopio de fuerza atómica (AFM), es un versátil instrumento utilizado para discernir y visualizar una amplia variedad de procesos a pequeña escala. Usando el AFM no solo es posible observar la imagen de la superficie con resolución atómica, si no también se puede medir la fuerza de interacción entre la sonda que barre la superficie y los átomos que

forman la muestra al ser analizada. El principio de un AFM es simple, consta de una punta muy afilada, atómicamente hablando, (idealmente compuesta por un solo átomo), montada al final de un brazo flexible (cantiliver), Figura 19. Esta es la encargada de examinar la superficie de la muestra. La punta convencional es de nitruro de silicio con un radio de curvatura de 30-50 nm. La muestra se coloca sobre un cilindro (piezoeléctrico), el cual facilita su movimiento respecto a la punta cuando es examinada, existiendo en ese instante movimiento del cantiliver en dirección vertical respecto a la superficie de la muestra. Este movimiento es controlado por medio de un haz láser que incide sobre el vértice del cantiliver y que se refleja a un fotodetector cuádruple (superficie plana con cuatro cuadrantes, comúnmente llamado detector sensible a la posición). La diferentes señales que detecta el fotodetector del cuadrante superior e inferior le indican al AFM cuál es la deflexión vertical del cantiliver y el resto de los cuadrantes le indican la deflexión horizontal. La información obtenida por el AFM es la topografía de la superficie de la muestra, cuya estructura se puede investigar desde una escala micrométrica hasta una nanométrica teniendo con esto un amplio rango de aplicaciones. La Figura 20 muestra un diagrama esquemático de las partes principales de un AFM.

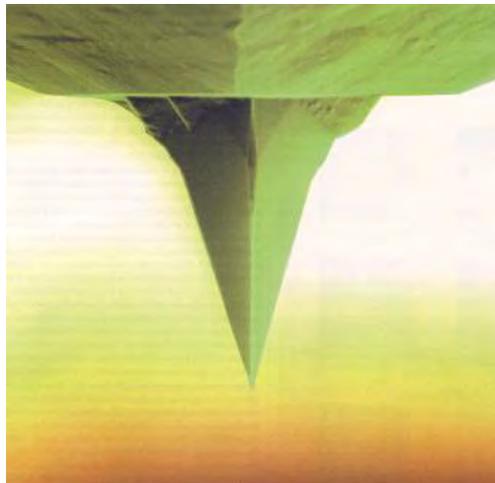
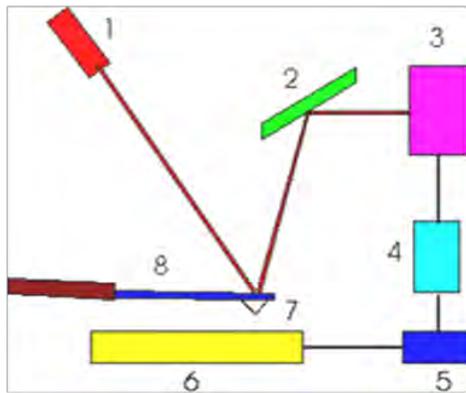


Figura 19. Punta de un microscopio de fuerza atómica (AFM).



1. Láser
2. Espejo
3. Fotodetector
4. Amplificador
5. Registrador
6. Muestra
7. Punta (tip)
8. Ménsula (cantilever)

Figura 20. Diagrama esquemático de las partes principales de un AFM.

2.7.2. Nanoindentación en Microscopio de Fuerza Atómica

Los métodos convencionales de obtención del valor de dureza de un material se basan en la medida óptica de la huella residual que queda sobre la muestra después de aplicar sobre ella una carga normal. Dicha carga se aplica por medio de un indentador de diamante con una geometría piramidal (Vickers o Knoop), según se indica en la Figura 21. El valor de dureza para dicho material se calcula dividiendo la carga aplicada por el área de la huella residual. En los experimentos tradicionales de microindentación, el área de

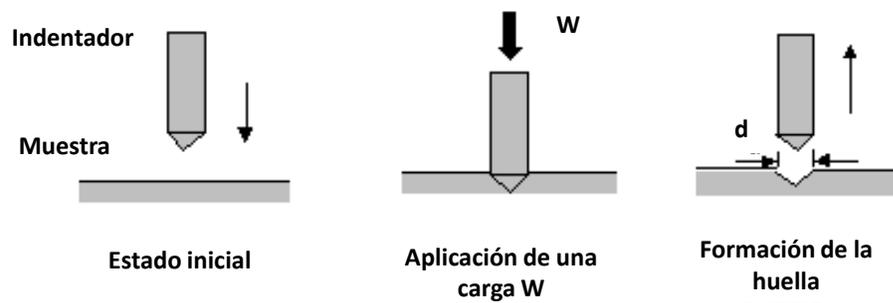


Figura 21. Esquema del proceso de indentación.

Las distintas técnicas existentes para medir la dureza en función de la carga aplicada se dividen en: macroindentación ($P > 10 \text{ N}$), microindentación ($10 \text{ N} > P > 10 \text{ mN}$) y nanoindentación ($P < 10 \text{ mN}$) [143].

Una medida de indentación se convierte en nanoindentación cuando el tamaño de la huella residual es demasiado pequeño para ser resuelta con precisión mediante microscopía óptica. Un dispositivo de nanoindentación comúnmente usado es un transductor con una punta de diamante montada sobre una de sus placas, el cual reemplaza al cantiliver en un AFM. El transductor normalmente está formado por tres placas paralelas donde en una de ellas se coloca un pequeño cilindro de Ti con una punta de diamante en su extremo.

La prueba consiste en conducir la punta de diamante tipo Berkovick, (la cual consiste en un tetraedro con un radio de curvatura entre 60-100 nm aproximadamente en su ápice Figura 22), hasta la superficie de la muestra, en este momento se aplica una carga sobre ella hasta deformarla (deformación plástica y/o elástica) mientras se mide el desplazamiento del indentador. La carga máxima dividida entre el área de contacto proyectada entre el indentador y la muestra resulta ser la dureza del material en unidades de presión ($P=N/m^2$). Otro resultado de estas mediciones es el módulo de elástico que corresponde a la resistencia contra la deformación plástica y elástica.

La punta de diamante se usa tanto para realizar las indentaciones como para capturar las imágenes en modo AFM antes y después de las indentaciones.

2.7.2.1. Curvas Típicas de Indentación

La curva de indentación es la relación entre la carga W y el desplazamiento h (profundidad de penetración), la cual continuamente se monitorea mientras dura la indentación. Según sea el valor de este desplazamiento se puede determinar el grado de elasticidad del material a estudiar. Un material con un comportamiento preferentemente elástico

recuperara gran parte del desplazamiento máximo, mientras que un material con un comportamiento plástico tendrá una recuperación muy pequeña (Figura 23). La Figura 23a representa el comportamiento fundamentalmente plástico, típico de un metal, con una recuperación elástica prácticamente nula. Por otro lado, las Figura 23b y 23c representan el comportamiento de un material con una gran recuperación elástica más propio de los materiales cerámicos como los estudiados en este trabajo.

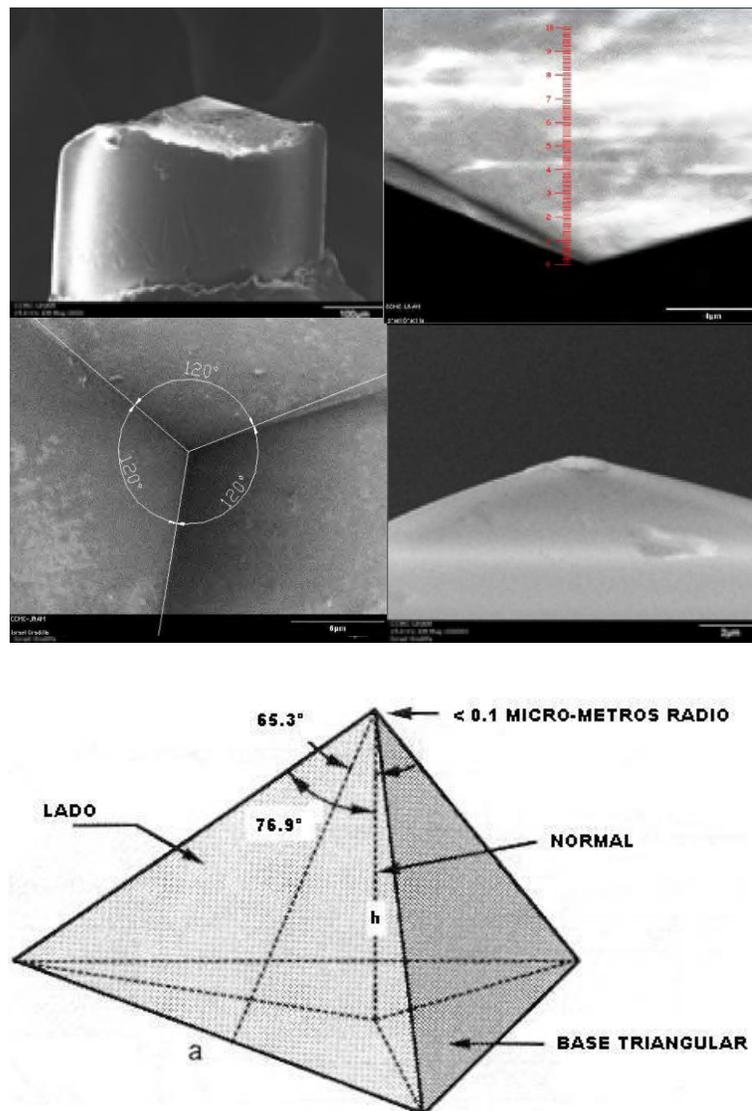


Figura 22. Diferentes vistas de una punta de diamante comercial tipo Berkovich utilizada en las pruebas de nanoindentación.

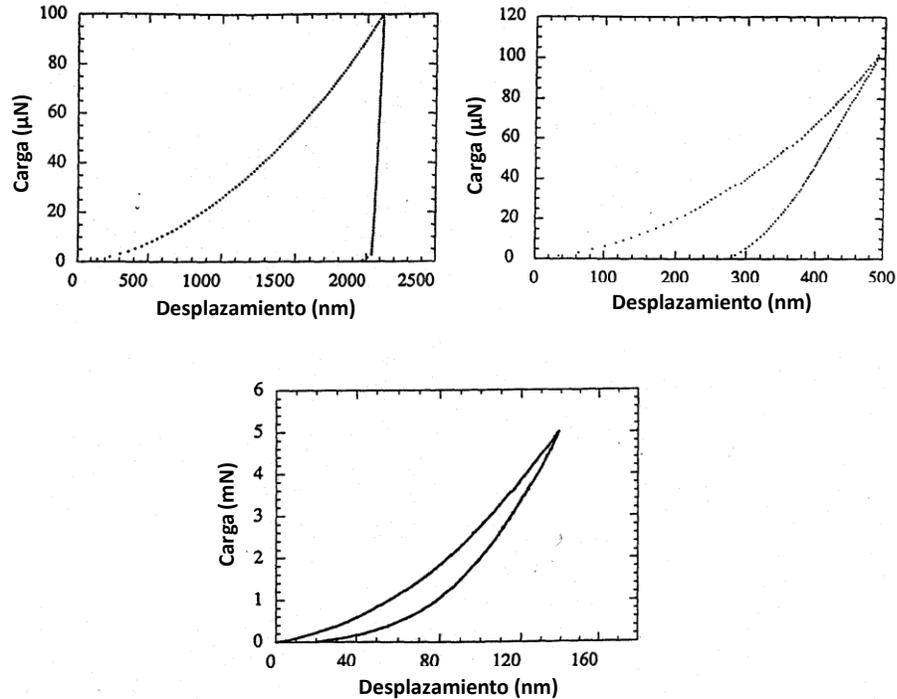


Figura 23. Ejemplos de curvas típicas de carga-desplazamiento para materiales con comportamiento plástico (a) y elástico (b y C) [143].

2.7.2.2. Deformación Elástica-Plástica

Un sólido elástico se deforma elásticamente de acuerdo a la ley de Young, y el cuerpo recupera su forma original después de haber reducido su carga aplicada a cero. Como resultado, no hay una impresión en la superficie después de la indentación. En un sólido perfectamente rígido no ocurre deformación hasta el punto del rendimiento del material, cuando la deformación plástica tiene lugar. Cuando esto ocurre no hay restablecimiento de la forma original durante la descarga y la impresión permanece. En un sólido elástico-plástico, este se deforma elásticamente de acuerdo a la ley de Young y después se deforma plásticamente. La deformación elástica se recupera durante la descarga. La representación gráfica de la deformación de una superficie elástica-plástica durante y después de la indentación se muestra en la Figura 24.

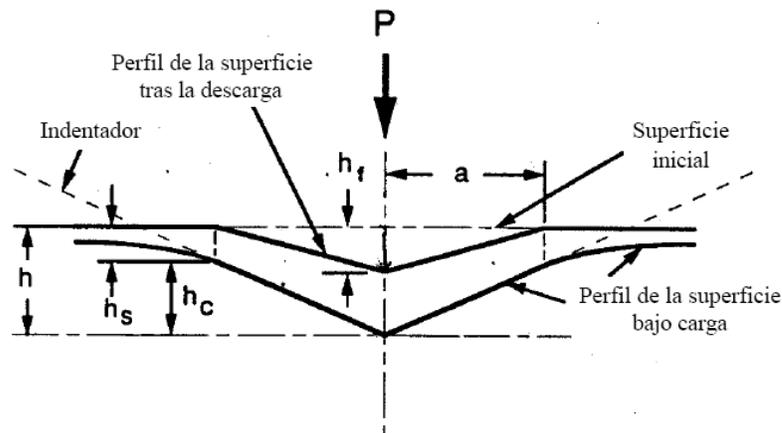


Figura 24. Representación esquemática de la deformación de una superficie durante y después de la indentación, mostrando las magnitudes empleadas en el análisis de las propiedades mecánicas [144,145].

En esta Figura se define la profundidad de contacto h_c , como la profundidad del indentador estando en contacto con la muestra bajo carga. La profundidad medida durante la indentación h , incluye la depresión de la muestra más la profundidad de contacto. La depresión de la muestra durante la indentación $h_s = h - h_c$, es causada por la deformación elástica y debe ser restada de los datos para obtener la profundidad real de indentación o dureza. En la carga máxima, la carga y la deformación son P_{max} y h_{max} respectivamente, siendo a , el radio de contacto del círculo para una punta cónica. Cuando se retira el indentador, al final del proceso de descarga, se recupera el desplazamiento del área de contacto y permanece la profundidad residual, impresión indicadora de la dureza y definida por h_f .

2.7.2.3. Teoría de Oliver y Pharr

A partir de los datos contenidos en la curva carga-desplazamiento, también se pueden obtener otros valores relativos a las propiedades mecánicas del material tales como la dureza H , el módulo elástico reducido E_r , la rigidez del contacto S , el porcentaje de recuperación elástica $\%R$, entre otras. En el presente trabajo estos cálculos fueron realizados usando el método desarrollado por Oliver y Pharr.

La dureza es equivalente a la presión media bajo la punta del indentador, y se calcula como la carga aplicada dividida por el área de contacto entre el indentador y la muestra. En los experimentos tradicionales de microindentación, el área de indentación se determina directamente por medios ópticos una vez que se ha retirado la carga. Al ir disminuyendo el tamaño de las indentaciones el método anterior se complica, y como consecuencia se tiene que acudir a microscopios de alta resolución ya que no somos capaces de ver la marca dejada en la muestra por el nanoindentador. A este problema hay que incluir los errores asociados a la propia óptica que nos permite visualizar la indentación. Para solucionar los problemas anteriores, en nanoindentación se hace uso de la capacidad del equipo para medir con precisión los desplazamientos de la punta. Por lo tanto, se hace un cálculo del área en función de la geometría del indentador y la profundidad de contacto.

Lo anterior se basa en la posibilidad de describir la geometría del indentador con una función de área $F(h)$, que relaciona el área de la sección del indentador con la distancia de penetración desde el vértice de la punta. Suponiendo que el indentador no se deforma de manera apreciable, el área de contacto en carga máxima se puede calcular a partir de una relación del tipo: $A_c = F(h_c)$, donde h_c hace referencia a la profundidad plástica o profundidad de contacto. La forma concreta de la función de área $F(h_c)$, debe determinarse experimentalmente. Para un indentador Berkovich perfecto, la relación entre h_c y A_c es: $A_c(h_c) = 24.5 h_c^2$. Sin embargo, hay que tener en cuenta las desviaciones de una forma perfecta debido al desgaste de la punta y a otros factores. Esto lleva a una función de área corregida de la siguiente forma:

$$A_c(h_c) = 24.5 h_c^2 + C_1 h_c^1 + C_2 h_c^{1/2} + C_3 h_c^{1/4} + \dots + C_8 h_c^{1/128} \quad (9)$$

donde las constantes C_i deben ser determinadas experimentalmente para la punta que se esté empleando.

Una vez que tenemos la función de área, el problema es cómo determinar la profundidad de contacto h_c , a partir de las curvas de carga-desplazamiento. Inicialmente, esta profundidad se obtenía a partir de una línea tangente en los primeros puntos de la curva de descarga. Se presupone que el área de contacto permanece constante al principio de la descarga y que el comportamiento de la curva es lineal. El valor de h_c se extrapola del corte de la línea con el eje X.

Sin embargo, en la mayoría de los casos las curvas de descarga no se pueden describir bien con una relación lineal. En consecuencia hay que emplear relaciones no lineales como las indicadas por Pharr y colaboradores [144,145]. Según estos estudios, las curvas de descarga están mejor descritas por una ley de la forma:

$$P = A(h - h_f)^m \quad (10)$$

donde P es la carga aplicada, h el desplazamiento del indentador, h_f el desplazamiento final al terminar la descarga. A y m son parámetros que se determinan mediante un análisis de regresión por mínimos cuadrados de los datos experimentales. Para varios materiales estudiados, el valor de m oscila entre 1.25-1.6 lo que corrobora un comportamiento no lineal.

La medida de nanoindentación implica un registro continuo del desplazamiento h , del indentador (profundidad) y de la carga aplicada P . Una gráfica típica de carga-desplazamiento se muestra en la Figura 25, donde aparecen también los parámetros necesarios para determinar la dureza y el modulo elástico (P_{max} , h_{max} y S_{max}).

En esta figura se puede apreciar que tras la descarga, el indentador no se queda en el punto de máximo desplazamiento, sino que el material ha recuperado parte del desplazamiento máximo quedándose en lo que se llama desplazamiento residual h_f . Según sea el valor de este desplazamiento residual se puede determinar el grado de

elasticidad del material a estudiar. Un material con un comportamiento preferentemente elástico recuperara gran parte del desplazamiento máximo, mientras que un material con un comportamiento plástico tendrá una recuperación muy pequeña.

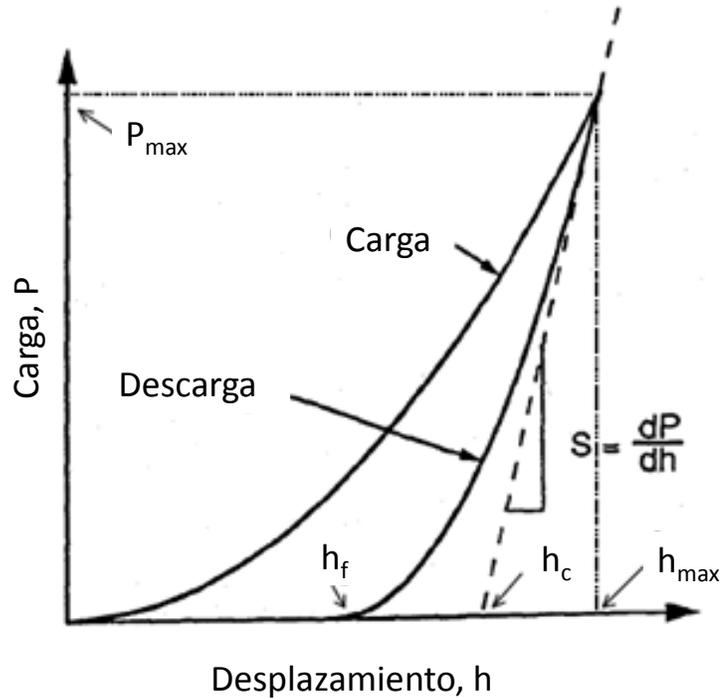


Figura 25. Curva típica de carga-desplazamiento en una prueba de nanoindentación [144].

A partir de este gráfico se obtiene también la rigidez de contacto en la descarga (la cual corresponde a la pendiente de la sección inicial de la curva de descarga), definida por la expresión:

$$S = \frac{dP}{dh} \quad (11)$$

La intersección de la extrapolación de la pendiente con el eje horizontal, carga cero, se denota por h_c .

Oliver y Pharr, propusieron una ecuación para la determinación de la profundidad de contacto h_c , de la forma:

$$h_c = h_{max} - \varepsilon \frac{P_{max}}{S} \quad (12)$$

Donde S es la rigidez, P_{max} es la carga máxima, h_c es la profundidad de contacto, h_{max} es la máxima profundidad y ε es un factor geométrico. Así, ε puede tomar los valores de 0.72, 0.75, y 1 para geometrías en forma de cono, esfera y punzones planos respectivamente. Para el ápice de un indentador Berkovich se toma $\varepsilon = 0.75$.

Una vez que tenemos el valor de h_c , podemos calcular el área de contacto del indentador con la ayuda de la función de área (ecuación 9), y finalmente podemos calcular la dureza del material dividiendo la carga aplicada por el área calculada:

$$H = \frac{P_{max}}{A_c} \quad (13)$$

Otro de los datos que se puede extraer de las curvas de carga-desplazamiento es el módulo de elasticidad, el cual se calcula a partir de la curva de descarga, pues es donde se presenta el comportamiento elástico del material.

Teniendo en cuenta que el indentador no es perfectamente rígido, es decir, que también se deforma elásticamente, se deben tener en cuenta las propiedades elásticas del indentador. Esto se hace a través del módulo de elasticidad reducido, definido como:

$$\frac{1}{E_r} = \frac{(1-\nu_s^2)}{E_s} + \frac{(1-\nu_i^2)}{E_i} \quad (14)$$

donde E_s y ν_s son el módulo elástico y coeficiente de Poisson del material, y E_i y ν_i son módulo elástico y coeficiente de Poisson para el indentador.

El módulo elástico reducido se puede calcular a partir de la rigidez S , y el área de contacto A_c , como se indica en la ecuación siguiente:

$$E_r = \frac{S\sqrt{\pi}}{2\sqrt{A_c}} \quad (15)$$

A partir de las ecuaciones anteriores y con los valores del módulo de elasticidad y del coeficiente de Poisson del indentador, se puede extraer el módulo de elasticidad del material de estudio [143-145].

Por otro lado, si el indentador es diamante, se tiene que $E_i = 1141$ GPa y $\nu_i = 0.07$, debido a que para la mayoría de los sólidos ν_s varía en el orden de 0.3 a 0.4 entonces una buena aproximación de la ecuación (14) es:

$$\frac{1}{E_r} \approx \frac{(1-\nu_s^2)}{E_s} \quad (16)$$

ya que la afectación del cálculo del módulo de elasticidad con esta aproximación es mínima [146,148].

2.8. Evaluación de la Bioactividad en Biocerámicos

La habilidad de un material de implante para lograr una unión directa con el tejido óseo, es generalmente evaluada examinando su capacidad para formar una capa de hidroxiapatita carbonatada, al ponerse en contacto con un fluido fisiológico simulado (SBF), el cual contiene una carga iónica con concentración aproximadamente igual al plasma sanguíneo humano. Este análisis resulta de gran utilidad para la predicción del comportamiento “in vivo” de la bioactividad del material [149-157].

2.8.1. Diseño de la Solución de Fluido Fisiológico Simulado (SBF)

En 1991 Tadashi Kokubo [153], propuso que la bioactividad “in vivo” de un material puede predecirse mediante el análisis de su habilidad para formar una capa de hidroxiapatita carbonatada sobre su superficie, al ponerse en contacto con una solución SBF. Asimismo, propuso la composición y concentraciones de los diferentes iones en esta solución, la cual se presenta en la Tabla V, comparada con la composición del plasma sanguíneo humano.

Es preciso mencionar, que la composición de la solución SBF mostrada en la Tabla V, es una formulación corregida por el mismo Kokubo, conocida como “corrected SBF (c-SBF)” ya que la formulación original (original SBF), no consideraba a los iones SO_4^{2+} contenidos en el plasma humano. Sin embargo, esta solución c-SBF se reporta convencionalmente como solución SBF en la mayoría de las investigaciones relacionadas con esta técnica.

Esta formulación ha sido objeto de varias modificaciones, las cuales tratan de corregir las diferencias existentes entre esta solución y el plasma sanguíneo.

Tabla V. Concentración iónica del fluido fisiológico simulado (SBF) propuesto por Kokubo, comparada con el plasma sanguíneo humano [153].

	Concentración de los iones (mM)							
	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl	HCO_3^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.20	1.0	0.5
Plasma Sanguíneo	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5

pH ajustado a 7.4 por adición de Tris-(Hidroximetil)-aminometano $(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$ y HCl 1M a 37°C.

Como se observa en la Tabla V, esta solución corregida comparada con el plasma sanguíneo humano es aún rica en ion Cl^- y deficiente en ion HCO_3^- . En 2003 Oyane y colaboradores [154,155], trataron de corregir estas diferencias formulando una solución

SBF conocida como “revised SBF (r-SBF)”, en la cual las concentraciones de Cl^- y HCO_3^- fueron respectivamente disminuida e incrementada, hasta alcanzar los niveles del plasma sanguíneo humano. Sin embargo, como el carbonato de calcio tiene fuerte tendencia a precipitar, no solo se produjeron precipitados de apatita sino también de calcita. En 2004 Takadama y colaboradores [156], propusieron una nueva modificación en la solución SBF, conocida como “newly improved SBF (n-SBF)” en la cual solo disminuyeron la concentración del ion Cl^- hasta el nivel del plasma sanguíneo, dejando la concentración del ion HCO_3^- igual a la del c-SBF. Esta nueva formulación fue comparada con la formulación convencional propuesta por Kokubo (c-SBF), con respecto a su estabilidad y reproducibilidad para producir apatita sobre materiales sintéticos, con lo cual se constató que el comportamiento del c-SBF no difiere del n-SBF en estos dos aspectos.

En el 2003 se presentó ante el Comité Técnico ISOTC/150 de la Organización Internacional para la Estandarización, la metodología para la preparación de esta formulación convencional para la solución c-SBF, como una solución indicada para la medida “in vitro” de la habilidad de los materiales de implante para formar una capa de apatita sobre su superficie, como una predicción de la bioactividad de estos materiales al momento de ser implantados dentro del organismo [153].

2.8.2. Análisis de Bioactividad en Materiales de Implante

El ensayo de bioactividad es uno de los análisis que se realiza a los materiales de implante, entre ellos los biocerámicos, el cual consiste en poner a estos materiales en contacto con fluidos fisiológicos simulados, emulando las condiciones del cuerpo humano, con el fin de determinar su comportamiento dentro del organismo y definir la posibilidad de su aplicación como materiales de implante con carácter bioactivo. La bioactividad consiste en una modificación superficial de los materiales, generada por su reacción con los fluidos fisiológicos, dando lugar la formación de una capa neoformada de hidroxiapatita carbonatada (CHA), un material biológicamente activo, el cual es química y estructuralmente equivalente a la fase mineral del hueso, permitiendo la unión interfacial

del implante con el tejido conectivo, logrando eventualmente igualar el comportamiento mecánico del implante con el tejido a reemplazar. Los biocerámicos que presentan esta característica se les denomina bioactivos.

El procedimiento para evaluar la habilidad de los materiales de implante para formar hidroxiapatita carbonatada sobre sus superficies, al ponerse en contacto con soluciones fisiológicas simuladas, se fundamenta en los aspectos siguientes:

2.8.2.1. Inmersión de los Materiales en la solución SBF.

- a) Una vez formulada la solución SBF, se procede a calcular el volumen apropiado de la misma, de acuerdo a las dimensiones del espécimen a evaluar.

Materiales densos

Para estos materiales, se miden las dimensiones del espécimen y se calcula su área superficial. Seguidamente se calcula el volumen de solución SBF que será usado para el análisis de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$V_s = \frac{S_a}{10} \quad (17)$$

donde V_s es el volumen de la solución SBF en mL y S_a es el área del espécimen en mm^2 .

Materiales porosos

Para materiales con alta porosidad, el volumen de solución SBF utilizado para el análisis, debe ser mayor al calculado con la ecuación (17).

- b) Una vez calculado el volumen adecuado de la solución SBF, este se coloca en un recipiente de plástico. Después de calentar la solución a 37°C, el espécimen se sumerge completamente en ella.

- c) Después de sumergir el espécimen en la solución SBF y mantenerlo a 37°C, el análisis de bioactividad se puede realizar en diferentes intervalos de tiempo dentro de las primeras cuatro semanas. Lo anterior se debe a que los materiales bioactivos, generalmente producen una capa de hidroxiapatita carbonatada sobre sus superficies, dentro de las primeras cuatro semanas de inmersión [153].

- d) Una vez transcurrido el tiempo de análisis, el espécimen se saca de la solución SBF y se lava con agua deionizada. Seguidamente se seca a temperatura ambiente.

- e) Finalmente se analiza la nueva capa formada sobre la superficie de los materiales, así como también, la carga iónica y el pH de la solución SBF remanente.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1. Síntesis y Caracterización de Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita

3.1.1. Procedimiento Experimental

Los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita se prepararon mediante la técnica sol-gel utilizando acetato de calcio ($\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$, Sigma-Aldrich, Tokyo, Japan), como fuente de calcio, trietil fosfato ($\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), como fuente de fosfato, y wollastonita natural de alta pureza (CaSiO_3 , NYAD[®] M325 Minera NYCO S.A. de C.V., Depósito Pilares, Hermosillo, Sonora, México), con 98.25% de pureza, como fase de refuerzo. La cantidad de los agentes precursores se fijó de tal forma que se obtuviera una relación molar Ca/P igual a 1.67, correspondiente a la relación de calcio y fósforo en la hidroxiapatita estequiométrica, las cantidades de wollastonita se fijaron de tal manera que se obtuvieran porcentajes en peso de 0, 20, 50, 80 y 100% de este material en los compósitos. Las Tablas VI y VII muestran el análisis químico y las propiedades típicas de la wollastonita usada en este trabajo [158].

La síntesis de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita se desarrolló mediante las etapas siguientes: i) Para producir aproximadamente 1.0 g de hidroxiapatita pura, se disolvieron 0.02 moles de acetato de calcio en 5 mL de etanol mediante agitación ultrasónica, seguidamente se agregaron gota a gota 0.012 moles de trietil fosfato para obtener una relación molar Ca/P igual a 1.67. ii) La mezcla de precursores fue colocada en un equipo con agitación magnética, en el cual se mantuvo agitándose por 12 h a temperaturas entre 25-30°C. iii) La temperatura se elevó entre 40-45°C manteniendo la agitación durante 12 h. iv) Seguidamente se detuvo la agitación y la temperatura se elevó a 75°C manteniéndose durante 10 h, etapa en el cual se observó la gelación en el sistema. v) Los geles fueron secados a 120°C por 10 h.

Para producir los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, primeramente se suspendió la cantidad adecuada de wollastonita para obtener materiales con porcentajes en peso de

20% (0.25 g), 50% (1 g) y 80% (4 g) en el volumen apropiado de etanol para mantener una relación sólido-líquido constante de 1:2.25 (w/v) en todos los experimentos. Posteriormente se continuó con cada una de las etapas descritas anteriormente, hasta obtener la mezcla de geles secos con la proporción adecuada de wollastonita natural.

Los geles secos fueron molidos en un mortero de ágata hasta obtener un polvo fino y posteriormente tratados térmicamente hasta 1000°C, en un horno de alta temperatura Thermolyne 46100 (Thermolyne, Bubuque, IA) en aire. La temperatura se elevó a razón de 10°C/min hasta llegar a la temperatura de 1000°C, manteniéndose a esta condición durante 5 h. Seguidamente, los materiales se sacaron del horno permitiendo un enfriamiento súbito al medio ambiente.

Para purificar los materiales producidos después del tratamiento térmico y obtener únicamente las fases de hidroxiapatita y wollastonita, los polvos se dispersaron y agitaron durante 2 h en 150 mL de una solución de HCl 0.01M. Seguidamente, se separaron las fases sólida y líquida mediante filtración a través de papel wathman No. 42. El residuo sólido fue lavado repetidas veces con agua deionizada y secado a 120°C por 2 h.

Los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita fueron caracterizados por las técnicas de difracción de rayos-X (XRD, por sus siglas en inglés), espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR), espectroscopia Raman, espectroscopia de dispersión de energía (EDS), microscopía electrónica de barrido (SEM), y microscopía electrónica de transmisión (TEM).

El diagrama de flujo del proceso integral de síntesis y caracterización de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita aparece en la Figura 25.

Tabla VI. Composición química de la wollastonita NYAD[®] M325, producida por la Minera NYCO S.A. de C.V. [158].

Composición Química	CaSiO₃
Componente	Valor Típico (%)
CaO	46.25
SiO ₂	52.00
Fe ₂ O ₃	0.25
Al ₂ O ₃	0.40
MnO	0.025
MgO	0.50
TiO ₂	0.025
K ₂ O	0.15
%wt. Pérdidas (1000°C)	0.40

Tabla VII. Propiedades típicas de la wollastonita NYAD[®] M325, producida por la Minera NYCO S.A. de C.V. [158].

Propiedades Típicas	Valor
Apariencia	Blanca
Morfología	Acicular
Peso Molecular	116
Gravedad Específica	2.9
Tamaño de Partícula Promedio (µm)	9
Area Superficial (m ² /g) (BET)	1.3
Índice de refracción	1.63
pH (10%)	9.9
Solubilidad en agua (g/100cc.)	0.0095
Densidad (lbs./cu.ft.)	181
Dureza Mohs	4.5
Coefficiente de Expansión (mm/mm/°C)	6.5x10 ⁻⁶
Punto de Fusión (°C) – Teórico	1540
Punto de Fusión (°C) – ASTM D1857	1410

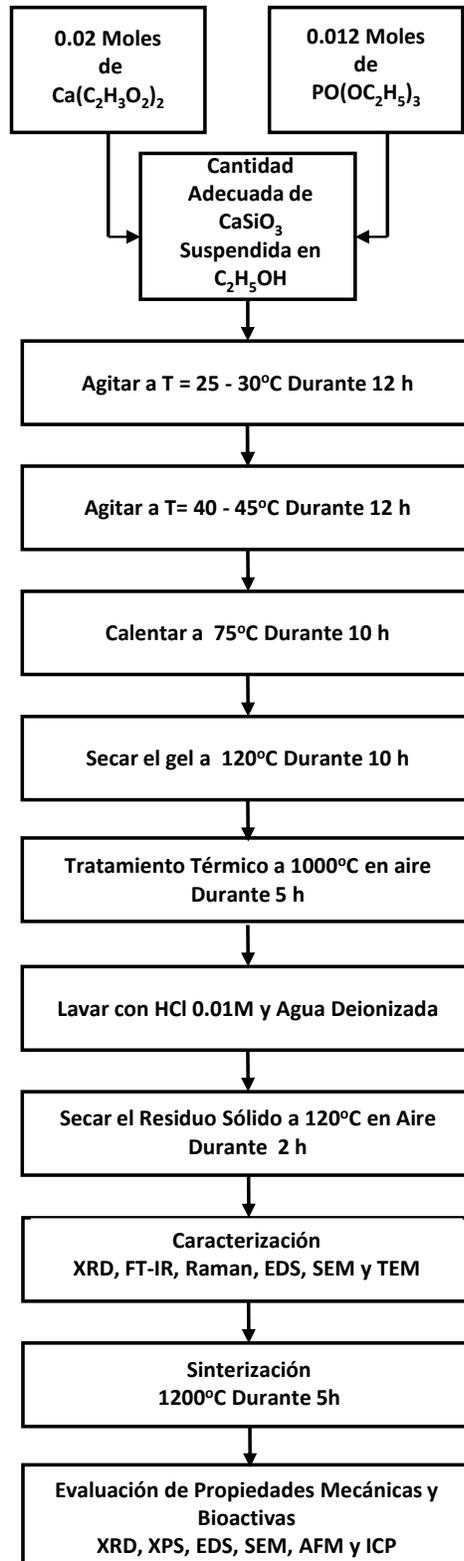


Figura 26. Diagrama de flujo del proceso integral para la síntesis y caracterización de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita.

3.1.2. Técnicas de Caracterización de los compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita

3.1.2.1 Análisis Térmico

Para detectar las transformaciones que ocurren en los materiales con la modificación de su temperatura se utilizó el análisis térmico gravimétrico (TGA), en combinación con el análisis térmico diferencial (DTA). Ambos análisis se desarrollaron en un equipo analizador simultáneo DSC-TGA (TA Instruments SDT 2990, New Castle, DE). El intervalo de calentamiento fue de temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de 10°C/min con un flujo de aire de 23 cm³/min. Se utilizaron 3 mg de muestra colocados sobre 10 mg de alúmina.

3.1.2.2. Difracción de Rayos-X

Los patrones de difracción de rayos-X se obtuvieron con dos difractómetros: un difractómetro de polvos Rigaku Miniflex (Tokio, Japan), con radiación CuK α (40 mA, 40 KV) y velocidad de barrido de 2°/min y un difractómetro de polvos Phillips X'PERT (Phillips Electronics, N.V. Eindhoven, Netherlands), con radiación CuK α (40 mA, 45 KV) y velocidad de barrido de 1.2°/min. En ambos casos, variando el ángulo 2 θ desde 10° hasta 80°.

3.1.2.3. Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron con dos espectrómetros: un espectrómetro FT-IR Vector 33 Brucker (Boston, MA), en el rango de 4000-400 cm⁻¹, y un espectrómetro FT-IR Perkin-Elmer Modelo Spectrum GX (Perkin-Elmer, Shelton CT). Las muestras fueron mezcladas con KBr y prensadas para formar pastillas las cuales fueron analizadas en modo de transmisión, en el intervalo de 4000-400 cm⁻¹.

3.1.2.4. Espectroscopia Raman

Los espectros Raman se obtuvieron con un espectrómetro micro-Raman Dilor Labram (Lille, France), con radiación de excitación de longitud de onda 632.8 nm y laser de He-Ne de 20 mW, con una resolución del orden de 1 cm⁻¹, en el intervalo de 4000-400 cm⁻¹.

3.1.2.5. Espectroscopia de Dispersión de Energía

Los espectros de dispersión de energía se obtuvieron con un microscopio electrónico de barrido JEOL-5300, (Tokyo, Japan) equipado con un detector de rayos-X característicos para el análisis cualitativo y semicuantitativo de la composición química de las muestras.

3.1.2.6. Microscopia Electrónica de Barrido

Para el análisis de la morfología externa de los materiales se utilizaron dos microscopios electrónicos de barrido: JEOL-5410LV (Tokyo, Japan) y JEOL-5300 (Tokyo, Japan), todas las micrografías presentadas se obtuvieron sin ningún tipo de recubrimiento de los materiales.

3.1.2.7. Microscopia electrónica de Transmisión

Las imágenes de alta resolución y los patrones de difracción de electrones de área selecta (SAED), se obtuvieron con un microscopio electrónico de transmisión JEOL, JEM-2010F (Tokyo, Japan). Las muestras fueron preparadas por dispersión de los polvos en agua deionizada formando suspensiones muy diluidas. Se coloca una gota de esta suspensión en una rejilla de cobre recubierta con carbón.

3.2. Sinterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita

3.2.1. Procedimiento Experimental

Para las pruebas de sinterización, los compósitos se molieron mezclados con etanol durante 30 min en un molino de bolas de carburo de tungsteno Fritsch Pulverisette 6 planetary mono mill (Idar-Oberstein, Germany), a una velocidad de 200 rpm. Los materiales molidos se secaron a 120°C para eliminar el etanol y obtener un polvo fino. Se produjeron tabletas cilíndricas mediante presión uniaxial de 0.5 g de polvo colocados en un troquel de 10 cm de diámetro, comprimidos en una prensa Carver press Hydraulic Unit 3912 (Carver Inc., Wabash, IN) a una presión de 220 MPa durante 5 min. Los experimentos de sinterización se desarrollaron en un horno de alta temperatura

Thermolyne 46100 (Thermolyne, Bubuque, IA) a 1200°C. El proceso térmico se desarrolló a una velocidad de 2°C/min desde la temperatura ambiente hasta la temperatura de sinterización, manteniéndose a esta temperatura durante 5 h, seguido por un enfriamiento a una velocidad de 2°C/min. Las tabletas sinterizadas fueron pulidas mecánicamente mediante películas de diamante de alta precisión, montadas en un disco rotatorio plano (SBT Inc., San Clemente, CA). El tamaño de las partículas de diamante en las películas utilizadas fue de 0.5-20 µm. Los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita sinterizados contienen 0, 20, 50, 80 y 100% en peso de wollastonita, identificadas como 100H, 80H-20W, 50H-50W, 20H-80W y 100W respectivamente.

3.2.2. Técnicas de Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita Sinterizados

Los materiales sinterizados fueron caracterizados usando un difractómetro de rayos X, X'PERT XRD (Phillips Electronics, N.V. Eindhoven, Netherlands) en el rango de 2θ de 20°-50°. La microestructura de los compósitos sinterizados se analizó usando un microscopio electrónico de barrido JEOL 5300 SEM (Tokyo, Japan). La composición elemental de las superficies de los compósitos se analizó mediante espectroscopia de dispersión de energía (EDS), y espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS).

Los espectros XPS de baja y alta resolución se obtuvieron con un espectrómetro CAMECA-MAC-3 (Riber LDM-32, France), en el cual la fuente de rayos-X usa la línea $AlK\alpha$ (1486.6 eV) para excitar la muestra. La escala de energía en el espectrómetro se calibró previamente usando como referencia la energía de enlace (BE) de Cu $2p_{3/2}$ a 932.7 eV y Ag $3d_{5/2}$ a 368.3 eV. La resolución máxima obtenida bajo estas condiciones es de 0.8 eV, medida a partir de la transición C 1s en una lámina de grafito pirolítico. Además, los cambios en energía de picos asociados con cargas electrónicas superficiales se monitorearon siguiendo el valor de 284.5 eV para el pico C 1s en los espectros XPS.

3.3. Evaluación de las Propiedades Mecánicas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.

3.3.1. Procedimiento Experimental

Las propiedades mecánicas de los compósitos hidroxiapatita-wollastonita sinterizados fueron medidas usando un nanoindentador TriboScope de Hysitron (Hysitron, Inc., Minneapolis MN). La dureza H , y el módulo de elasticidad reducido E_r , fueron calculados de la región de descarga de la curva de indentación mediante la teoría desarrollada por Oliver-Pharr [144,145]. Para lograr una confiable y eficiente medición de las propiedades mecánicas, todas las indentaciones se desarrollaran en ciertas zonas específicas del material (con morfología y topografía similar). Esto se logró haciendo barridos en un área de $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$ con la punta de diamante, la misma punta de diamante utilizada para las indentaciones. Una vez visualizada un área uniforme y homogénea se realizó el proceso de indentación en cada compósito. Después de elegir una región en un compósito dado, se desarrollaron 5 indentaciones (para 5 cargas diferentes). Estas cargas fueron 700, 1000, 1500, 2000 y 2500 μN . Se analizaron cuatro regiones diferentes correspondiendo un total de 20 indentaciones para cada compósito.

3.4. Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.

3.4.1. Procedimiento Experimental

3.4.1.1 Preparación del Fluido Fisiológico Simulado (SBF)

La solución SBF se formuló a partir de los reactivos y las cantidades siguientes:

1. Cloruro de sodio, (NaCl , 99%, Jaltek, NL, México), 7.996 gpl.
2. Bicarbonato de sodio, (NaHCO_3 , 99.7%, Jaltek, NL, México), 0.350 gpl.
3. Cloruro de potasio, (KCl , 99%, Jaltek, NL, México), 0.224 gpl.
4. Fosfato de potasio dibásico ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 99%, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), 0.228 gpl.

5. Cloruro de magnesio hexahidratado, ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99.3%, Jalmek, NL, México), 0.305 gpl.
6. Cloruro de calcio, (CaCl_2 , 97.7%, Jalmek, NL, México), 0.278 gpl.
7. Sulfato de sodio, (Na_2SO_4 , 99%, Jalmek, NL, México), 0.071 gpl.
8. Tris-(Hidroximetil)-aminometano, $((\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$, 99.8%, J.T. Baker, Phillipsburg, NJ), 6.057 gpl.
9. Acido clorhídrico, (HCl , Fermont, NL, México), 1M.

- En la preparación de la solución SBF debe evitarse el uso de recipientes de vidrio, ya que sobre su superficie puede inducirse la nucleación de apatita. En su lugar se deben utilizar recipientes de plástico con superficies suaves.
- La solución SBF se preparó en un recipiente de plástico, disolviendo las cantidades apropiadas de cada uno de los reactivos en agua deionizada, añadiéndolos uno por uno, en el orden indicado anteriormente, hasta que cada reactivo se disolvió completamente. Se consumieron aproximadamente 40 mL de HCl 1M, para ajustar el pH a 7.4 en 1 L de solución.
- Dado que la solución SBF es una solución supersaturada, cualquier método de preparación inapropiado puede generar una precipitación en la solución. Por tal razón, en todo momento durante la preparación se debe distinguir una solución transparente, libre de cualquier indicio de precipitación. Si aparece cualquier tipo de precipitado, la preparación debe detenerse, eliminar la solución y empezar de nuevo.
- Para preparar 1 L de solución, primeramente los reactivos se disolvieron en 700 mL de agua deionizada, la cual se ajusta previamente a 37°C en una placa calefactora provista de agitación magnética. Aproximadamente el 90% del ácido clorhídrico se añade antes de agregar el cloruro de calcio.

- Después de agregar el sulfato de sodio, el volumen de la solución se ajustó a 900 mL con agua deionizada, manteniendo la temperatura a 37°C.
- Se introdujo el electrodo de pH en la solución, justo antes de agregar el tris-(hidroximetil)-aminometano, el pH de la solución se encontró $\approx 2.0 \pm 1.0$.
- Se añadió el tris-(hidroximetil)-aminometano poco a poco, esperando a que se disolviera completamente y observando el aumento gradual de pH en la solución, hasta que ésta alcanzó un valor de $\text{pH} \approx 7.3$. Este reactivo no debe agregarse de forma rápida, ya que un incremento radical del pH puede ocasionar una precipitación de fosfato de calcio en la solución.
- Seguidamente se ajustó la temperatura a 37°C y se agregó más tris-(hidroximetil)-aminometano hasta alcanzar un valor de $\text{pH} \approx 7.45$ en la solución.
- Posteriormente se añadió en gotas la cantidad de HCl 1M necesaria para ajustar el $\text{pH} \approx 7.42$, agregando de nuevo la cantidad necesaria de tris-(hidroximetil)-aminometano para volver a alcanzar un $\text{pH} \approx 7.45$, para bajarlo de nuevo hasta $\text{pH} \approx 7.42$ con HCl 1M, repitiendo esta operación hasta que todo el tris-(hidroximetil)-aminometano se agregó a la mezcla, ajustando finalmente el $\text{pH} \approx 7.42$ con HCl 1M.
- Finalmente, se retiró de la solución el electrodo de pH, se lavó con agua deionizada y ésta se agregó a la solución. La solución se retiró del recipiente plástico y se colocó en un recipiente volumétrico, la superficie del recipiente plástico se lavó en repetidas ocasiones con agua deionizada, esta agua de lavado se añadió a la solución aforando aproximadamente hasta la marca de 1 L.

- Considerando que la disminución de la temperatura puede afectar el volumen de la solución, el recipiente se tapó, la mezcla se colocó en un baño a 20°C. Una vez que se alcanzó esta temperatura, el recipiente se aforó exactamente a 1 L con agua deionizada.
- El fluido se preservó en un recipiente de plástico herméticamente sellado a una temperatura de 5-10°C durante 30 días.

3.4.1.2 Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Materiales

La bioactividad de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita se evaluó analizando la nueva capa de apatita formada sobre la superficie de los materiales después de sumergirse en 40 mL de la solución SBF durante 1, 2 v 3 semanas a 37°C. (Figura 27).

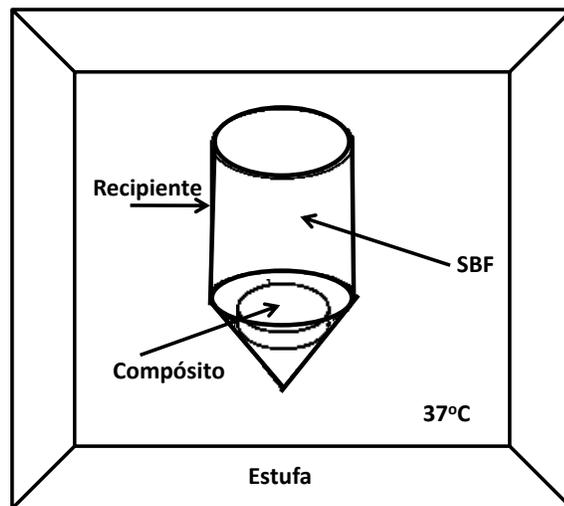


Figura 27. Diagrama esquemático de un material inmerso en solución SBF.

3.4.1.3. Técnicas de Caracterización

El efecto de la interacción de los materiales con el sistema fisiológico simulado, se analizó evaluando las características de las capas formadas sobre de los materiales. La evaluación de la morfología y composición de las capas se evaluó mediante SEM/EDS, utilizando un microscopio electrónico de barrido JEOL 5300 SEM (Tokyo, Japan) y espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X CAMECA-MAC-3 (Riber LDM-32, France). Para la determinación de los cambios en la concentración de los iones Ca, P y Si, así como los cambios de pH de la solución SBF durante el período de inmersión de las muestras, se utilizó un espectrómetro de plasma acoplado inductivamente, Optima 2100 DV ICP-OES (Perkin-Elmer, Shelton, CT) y un medidor de pH (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Síntesis y Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita

4.1.1. Análisis Térmico en los Geles Secos

Para conocer el efecto de la temperatura en los geles secos producidos al final de la etapa sol-gel, se desarrollaron técnicas de análisis térmico (TGA/DTA), con el objeto de detectar las diferentes etapas de transformación que se presentan en estos materiales, hasta alcanzar los productos finales deseados.

La Figura 28 muestra las curvas de análisis térmico gravimétrico (TGA) combinadas con las curvas de análisis térmico diferencial (DTA), del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, formulado para obtener hidroxiapatita pura, así como también las curvas TGA/DTA para la muestra de wollastonita natural, ambos tratados térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C. El gráfico de TGA para este gel presenta algunas señales de pérdidas en peso al inicio del tratamiento, las cuales pueden ser atribuidas a pérdidas de humedad en el sistema, así como a la evolución de compuestos orgánicos presentes en el gel, los cuales fueron añadidos como precursores o formados a partir de alguna reacción con los componentes del medio. La primera transición térmica importante, ocurre en el intervalo de temperatura de 380°C-450°C, a la cual le corresponde una pérdida en peso de aproximadamente 25%, ésta se encuentra relacionada con un intenso pico exotérmico en la curva de DTA, alrededor de 420°C. Esta primera transformación podría estar asociada con la formación de hidroxiapatita acompañada de carbonato de calcio en forma de calcita (CaCO_3) [51,52]. Alrededor de 600- 700°C se observa una transición térmica adicional, correspondiente a una pérdida en peso de aproximadamente 20%, relacionada con un pico endotérmico alrededor de 650°C, el cual puede deberse a la conversión de carbonato de calcio a óxido de calcio (CaO) y dióxido de carbono (CO_2). Por otro lado, el comportamiento de la muestra de wollastonita natural, demuestra que este material no presenta ninguna transición térmica en el intervalo de temperatura evaluado.

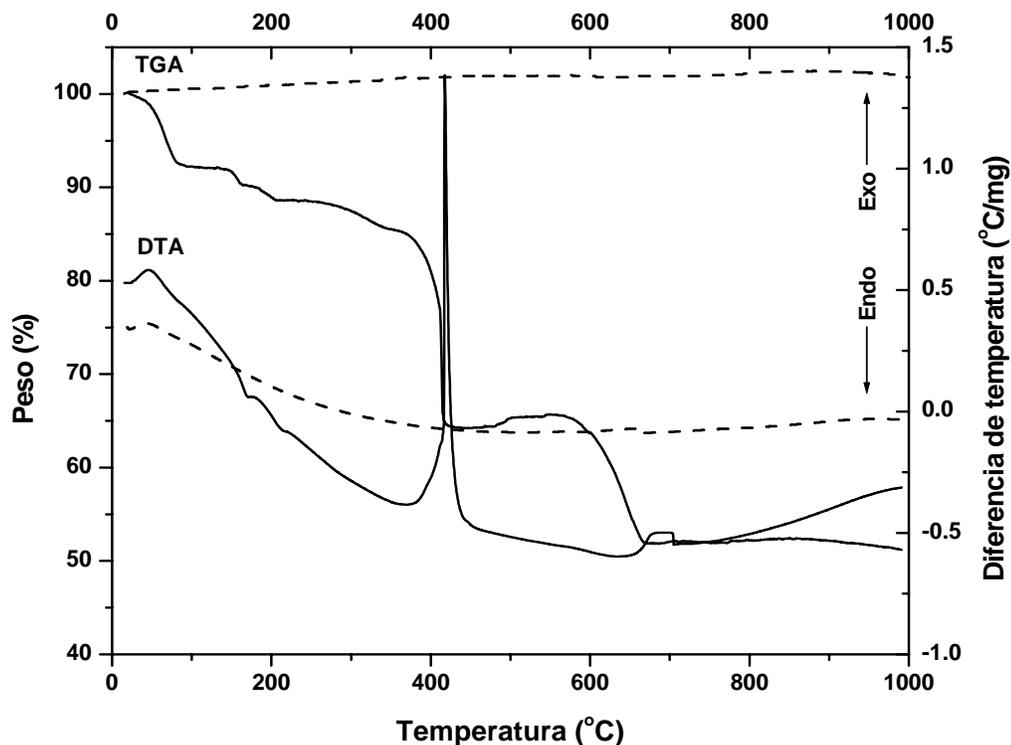


Figura 28. Gráficos de DTA/TGA para las muestras: (—) gel seco de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol y (---) wollastonita natural, tratados térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min.

La Figura 29 muestra los gráficos de TGA de los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, cada uno con diferente porcentaje en peso de wollastonita natural, tratados térmicamente a partir de la temperatura ambiente hasta 1000°C. En los materiales con 0 y 20% wt de wollastonita, Figuras 29a y 29b respectivamente, no se observan diferencias significativas, ambas curvas muestran los dos procesos térmicos explicados anteriormente, con pérdidas en peso similares. Sin embargo, cuando la cantidad de wollastonita se incrementa a 50 y 80% wt, los porcentajes de pérdidas en peso disminuyen, Figuras 29c y 29d, debido a que el material activo se encuentra en menor cantidad. Lo anterior demuestra que la wollastonita incorporada a los materiales permanece sin reaccionar a lo largo de todo el proceso, como se presenta en la Figura 29e.

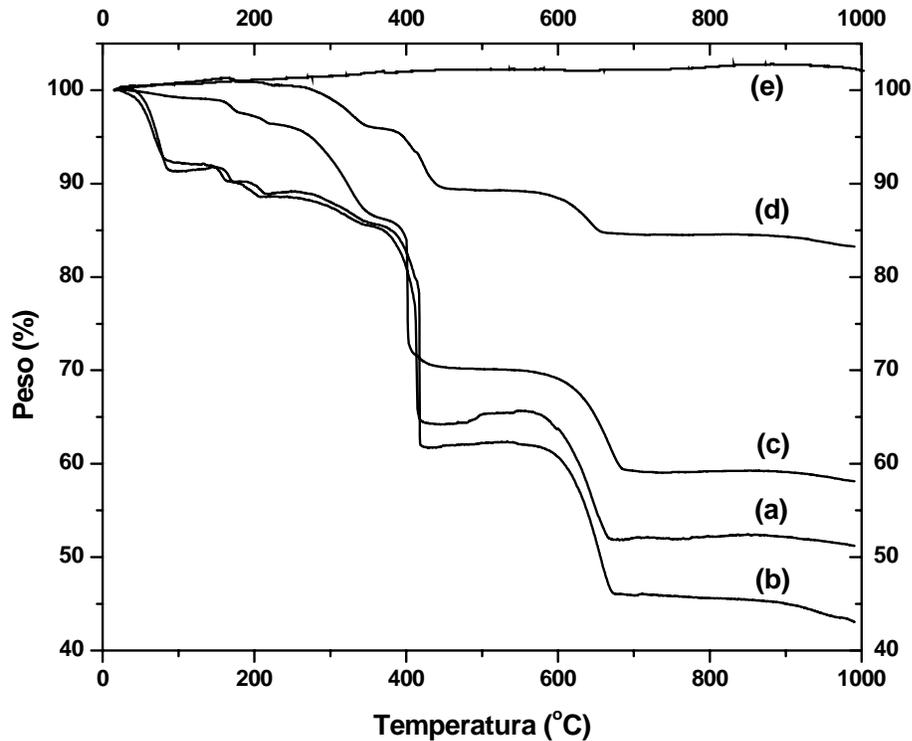


Figura 29. Gráficos de TGA de los geles secos de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita natural: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt y (e) 100% wt, tratados térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min.

En los gráficos de DTA presentados en la Figura 30, de los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita natural, se observa el mismo comportamiento respecto a los procesos térmicos descritos anteriormente. Solo se distinguen pequeñas diferencias en las temperaturas donde ocurren la formación de hidroxiapatita acompañada de carbonato de calcio y la subsecuente transformación de carbonato a óxido de calcio. Estas reacciones se observan entre 400- 420°C y 650-700°C respectivamente.

Para corroborar cada una de las etapas descritas en los análisis térmicos, se procedió a desarrollar secuencialmente los tratamientos térmicos respectivos en los geles secos y describir posteriormente su caracterización.

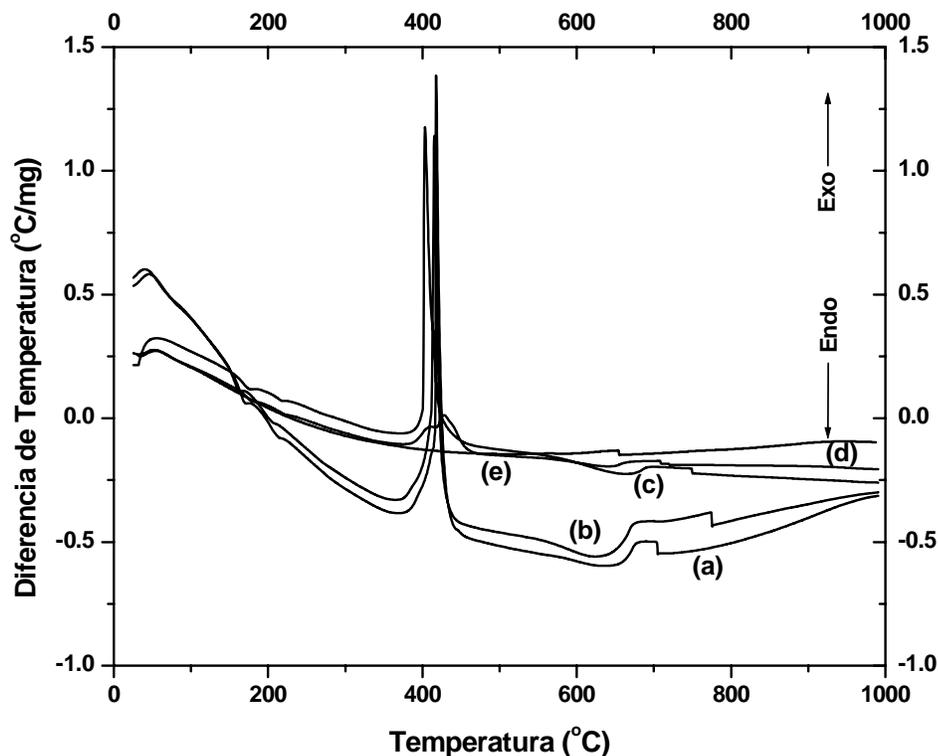


Figura 30. Gráficos de DTA de los geles secos de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita natural: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt y (e) 100% wt, tratados térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min.

4.1.2. Caracterización de los Geles Secos

Difracción de rayos-X

El análisis por difracción de rayos-X para el gel secado a 120°C, producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, formulado para obtener hidroxiapatita pura, así como para la muestra de wollastonita natural, se muestran en la Figura 31. El patrón de difracción del gel seco en la Figura 31a, no muestra ningún indicio de la presencia de hidroxiapatita hasta esta etapa del procesamiento, únicamente se aprecia el acetato de calcio remanente (JCPDS 19-0199), en una mezcla de compuestos amorfos provenientes de las reacciones entre los agentes precursores.

Por lo que respecta al análisis por difracción de rayos-X de la muestra de wollastonita natural, en la Figura 31b se puede observar su patrón típico de difracción (JCPDS 84-0654), asegurando con esto la pureza del material.

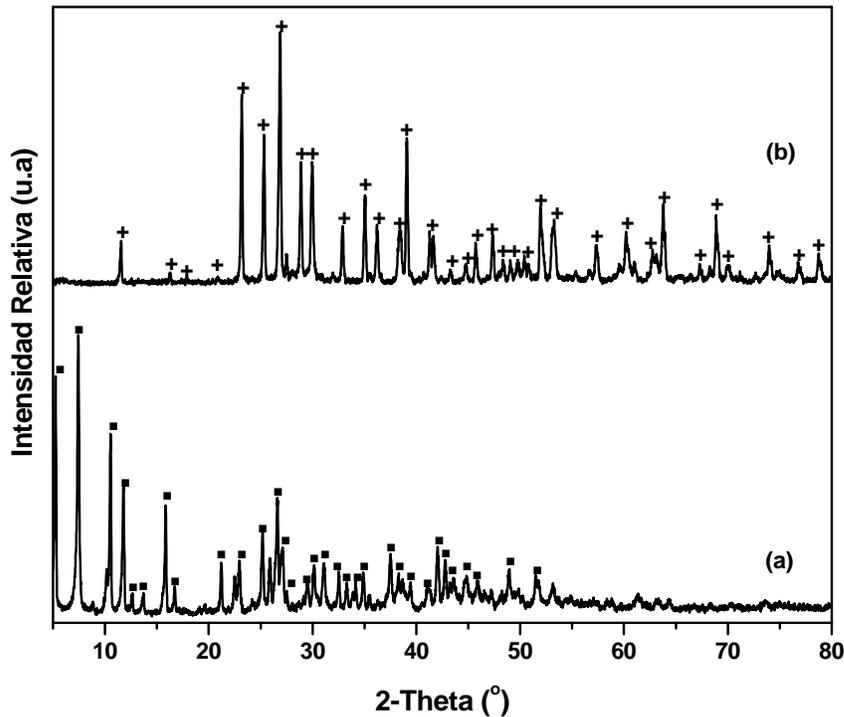


Figura 31. Patrones de difracción de rayos-X para: (a) gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, y (b) wollastonita natural. (■) Acetato de calcio, (+) Wollastonita.

Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier

La Figura 32 corresponde a los espectros de infrarrojo correspondientes la wollastonita natural, y al gel obtenido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, secado a 120°C. Este último espectro reafirma la presencia de acetato de calcio en este gel, mezclado con algún compuesto de fosfato de calcio amorfo carbonatado, derivado de las reacciones entre los agentes precursores de la hidroxiapatita. De esta manera también se corrobora, que hasta este nivel del procesamiento no existe ningún indicativo de la presencia de hidroxiapatita en los geles secos con diferente porcentaje en peso de wollastonita presentados en la Figura 33.

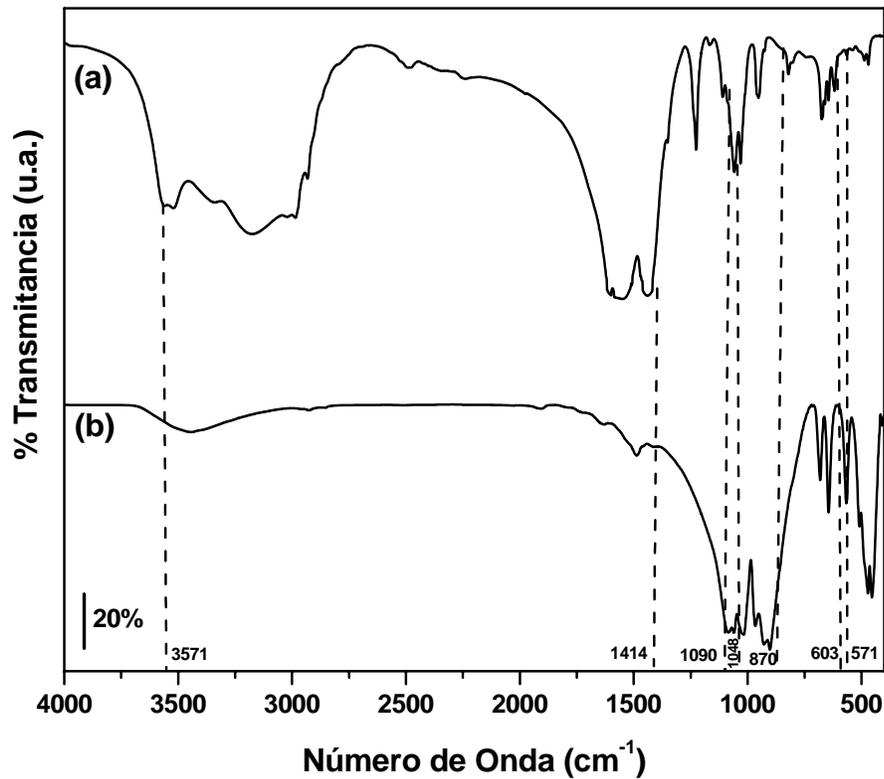


Figura 32 Espectros FT-IR para: (a) gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, (b) wollastonita natural.

Espectroscopia Raman

En la Figura 34 se presentan los espectros Raman correspondientes a los geles obtenidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, secados a 120°C. El resultado de esta comparación corrobora también por esta técnica, que hasta este nivel del procesamiento no existe ningún indicativo de la presencia de hidroxiapatita en los geles secos, destacando de nuevo la presencia de acetato de calcio, en una mezcla de wollastonita y compuestos derivados de las reacciones entre los agentes precursores de la hidroxiapatita.

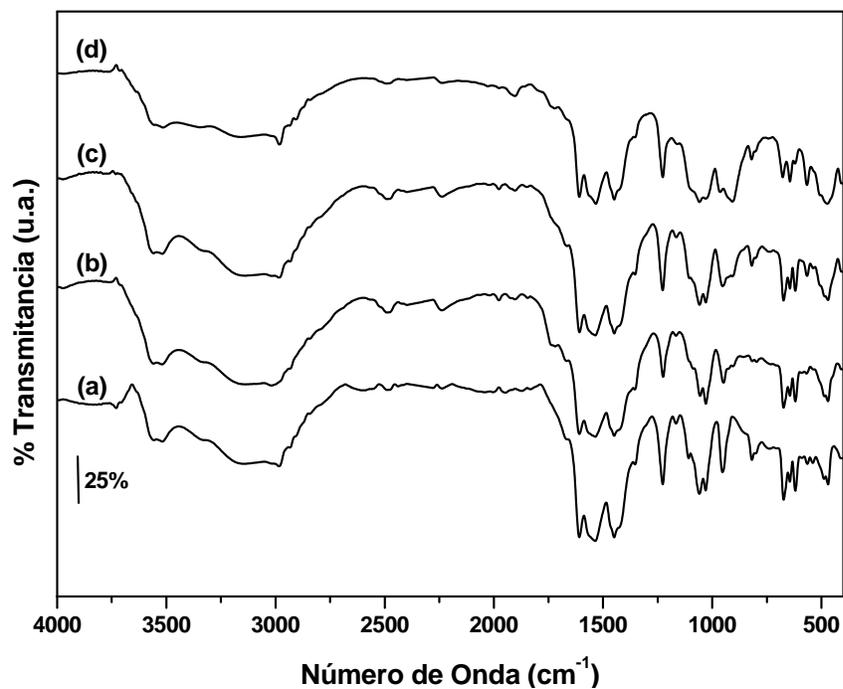


Figura 33. Espectros FT-IR de los geles secos producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt y (d) 80% wt.

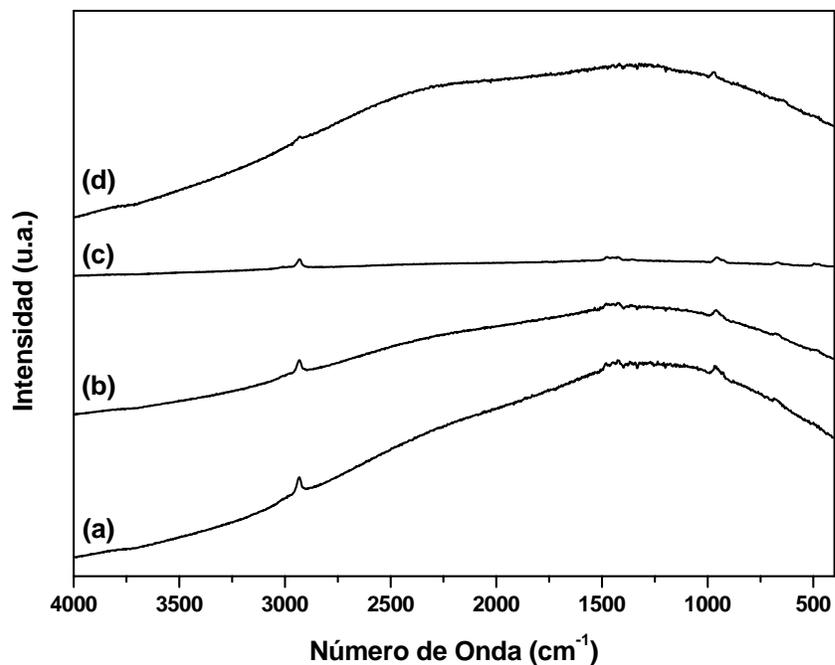


Figura 34. Espectros Raman de los geles secos producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita: (a) 0% wt, (b) 20% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt.

4.1.3. Caracterización de los Materiales Tratados Térmicamente

Difracción de rayos-X

En la Figura 35 se presentan los patrones de rayos-X para el gel obtenido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 500 y 1000°C. En estos patrones de difracción se comprueba que efectivamente a la temperatura de 500°C se presentan los primeros indicios de la presencia de hidroxiapatita, acompañada de carbonato de calcio (JCPDS 47-1743), Figura 35a, el cual posteriormente se transforma a óxido de calcio (JCPDS 37-1497), como se indicó en el análisis térmico, Figura 35b. Asimismo, la Figura 36 presenta el patrón de rayos-X para el gel seco obtenido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C. De igual manera, se aprecia la presencia de hidroxiapatita y wollastonita acompañadas de óxido de calcio.

El carbonato de calcio en forma de calcita, el cual se produce junto con hidroxiapatita aproximadamente a 400-420°C, se descompone en óxido de calcio aproximadamente a 650-700°C, como se describe en la siguiente reacción.



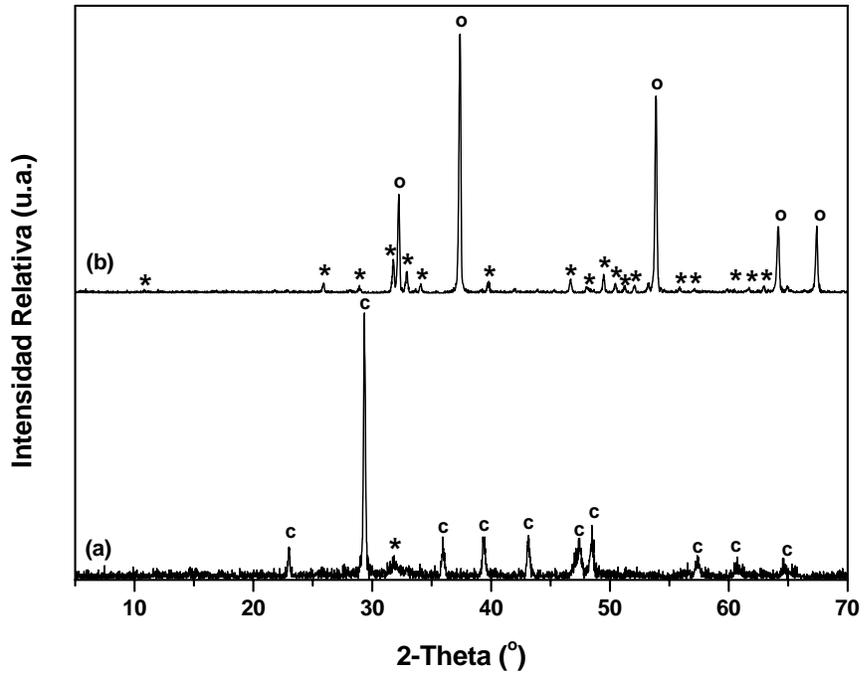


Figura 35 Patrones de difracción de rayos-X del gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta: (a) 500°C y (b) 1000°C. (c) Carbonato de calcio, (o) Óxido de calcio, (*) Hidroxiapatita.

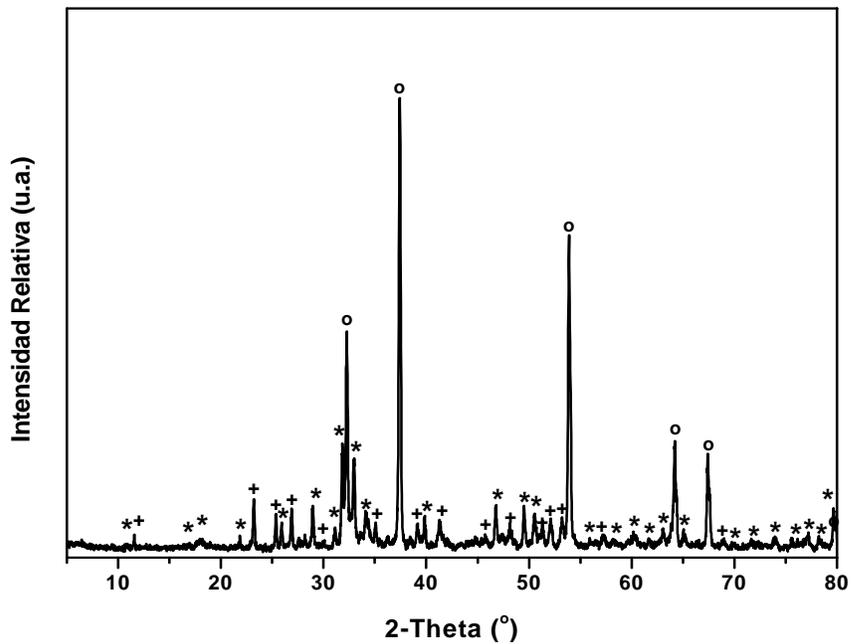


Figura 36 Patrones de difracción de rayos-X del gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C. (*) Hidroxiapatita, (o) Óxido de calcio, (+) Wollastonita.

4.1.4. Caracterización de los Materiales Después del Tratamiento de Lavado Ácido

Difracción de rayos-X

Para producir hidroxiapatita y compósitos de hidroxiapatita-wollastonita de forma pura, se desarrolló una etapa de purificación de los materiales para eliminar el óxido de calcio presente. Este tratamiento consistió en lavar los materiales con una solución diluida de HCl (0.01M). Con lo anterior se promueve la conversión del óxido de calcio a cloruro de calcio mediante la reacción siguiente:



Aprovechando la alta solubilidad del CaCl_2 en agua, así como la baja solubilidad de la hidroxiapatita en este medio, se procedió a lavar los materiales con agua deionizada, separando al final el residuo sólido purificado para proceder a su caracterización.

La Figura 37 muestra el patrón de difracción de rayos-X para el gel obtenido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C , lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. Se observa que efectivamente, el óxido de calcio desaparece del material por efecto de los lavados, dejando a la hidroxiapatita como la fase principal (JCPDS 09-0432). Sin embargo, si se analiza cuidadosamente el patrón de difracción en esta figura, se observa la presencia de un nuevo pico de difracción, aproximadamente a un ángulo $2\theta = 29.3^\circ$, así como el traslape de los planos (211) y (112) a un ángulo $2\theta \approx 32^\circ$ del patrón de difracción de la hidroxiapatita. Lo anterior puede atribuirse a la presencia de hidroxiapatita carbonatada (CHA) en el producto final [51,163-165]. La Figura 38 resume los patrones de difracción de los materiales obtenidos a través de todas las etapas de procesamiento de la hidroxiapatita.

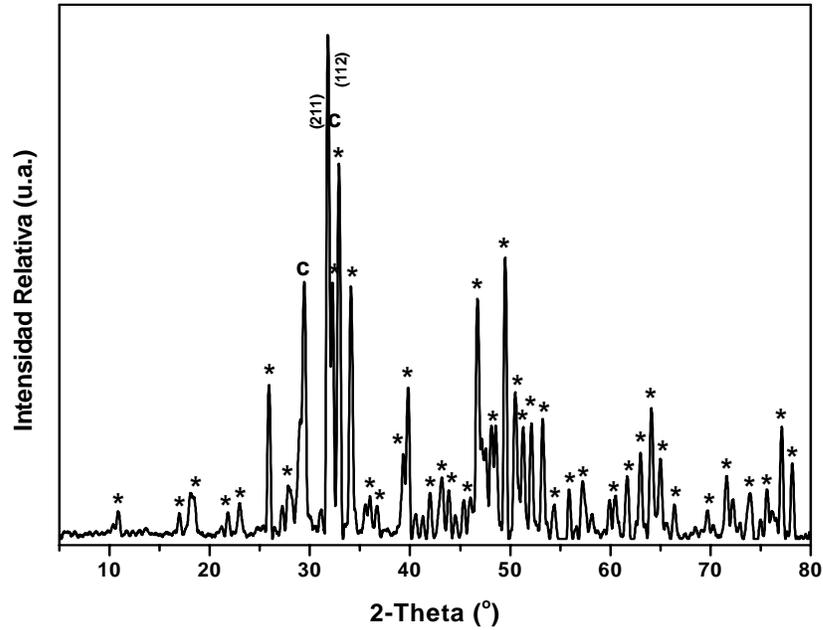


Figura 37 Patrones de difracción de rayos-X del gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (c) Hidroxiapatita carbonatada.

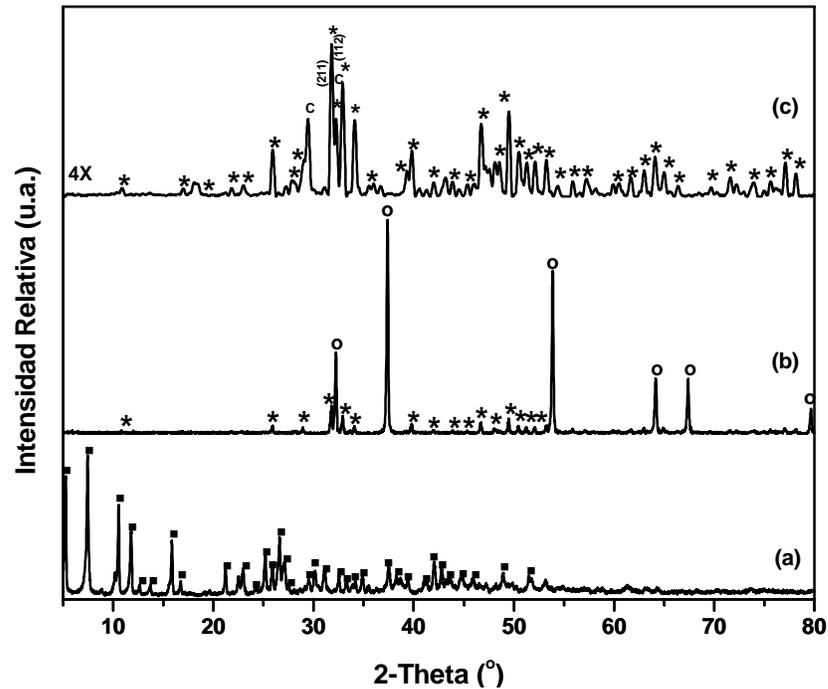


Figura 38 Patrones de difracción de rayos-X del gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol: (a) gel secado a 120°C, (b) gel tratado térmicamente hasta 1000°C y (c) gel tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (c) Hidroxiapatita carbonatada, (o) Óxido de calcio (■) Acetato de calcio.

El patrón de rayos-X de la Figura 39 muestra un comportamiento similar al comentado anteriormente, pero ahora correspondiente al gel obtenido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. Con lo anterior se demuestra que la hidroxiapatita se produce de igual manera en presencia o ausencia de wollastonita, asimismo, queda de manifiesto que la wollastonita permanece sin reaccionar y sin interactuar con la formación de hidroxiapatita durante de todas las etapas del proceso. La Figura 40 resume los patrones de difracción de los materiales obtenidos a través de todas las etapas de procesamiento del compuesto con 80% wt de hidroxiapatita y 20% wt de wollastonita. La Figura 41 muestra los patrones de difracción de rayos-X para la muestra de wollastonita natural, así como para cada uno de los compósitos obtenidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, donde se aprecia en todos los casos la presencia de una mezcla de fases de hidroxiapatita carbonatada y wollastonita.

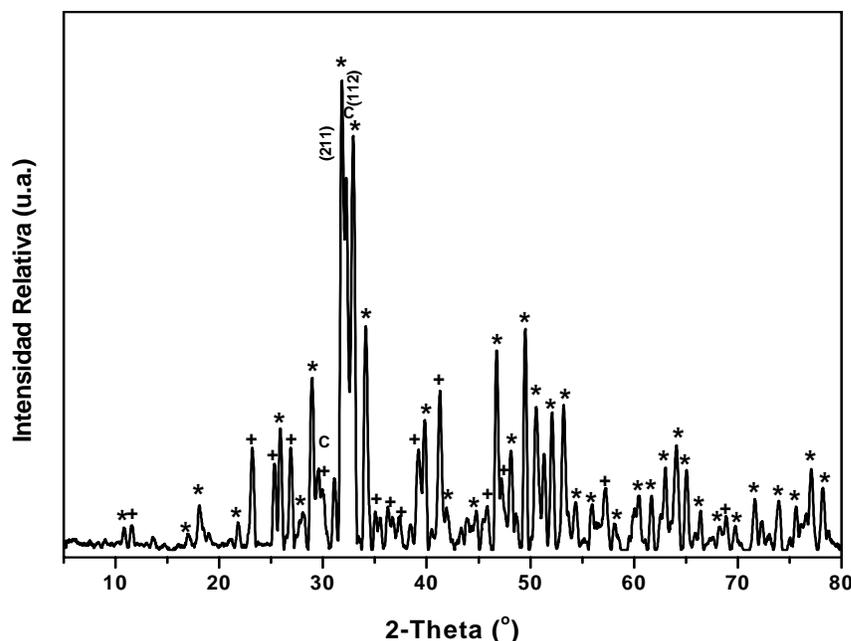


Figura 39 Patrones de difracción de rayos-X del gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (c) Hidroxiapatita carbonatada, (+) Wollastonita.

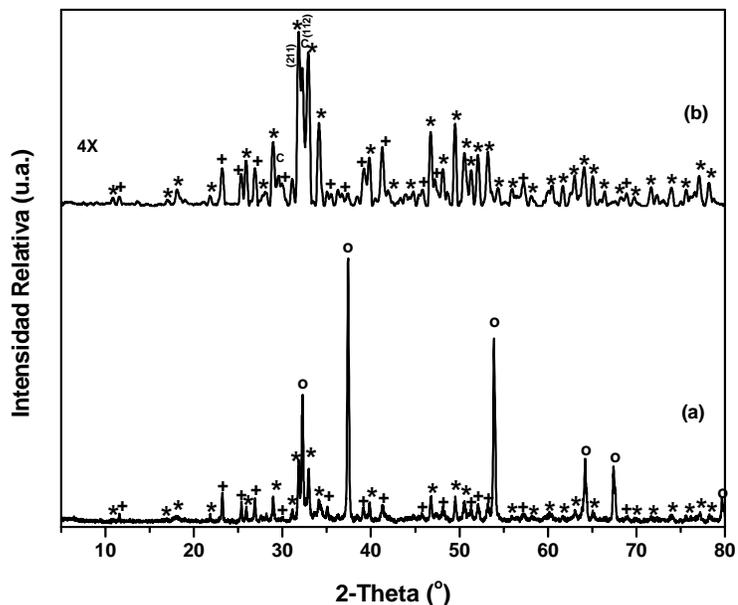


Figura 40 Patrones de difracción de rayos-X del gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita: (a) gel tratado térmicamente hasta 1000°C y (b) gel tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. (*) Hidroxiapatita, (C) Hidroxiapatita carbonatada, (o) Óxido de calcio, (+) Wollastonita.

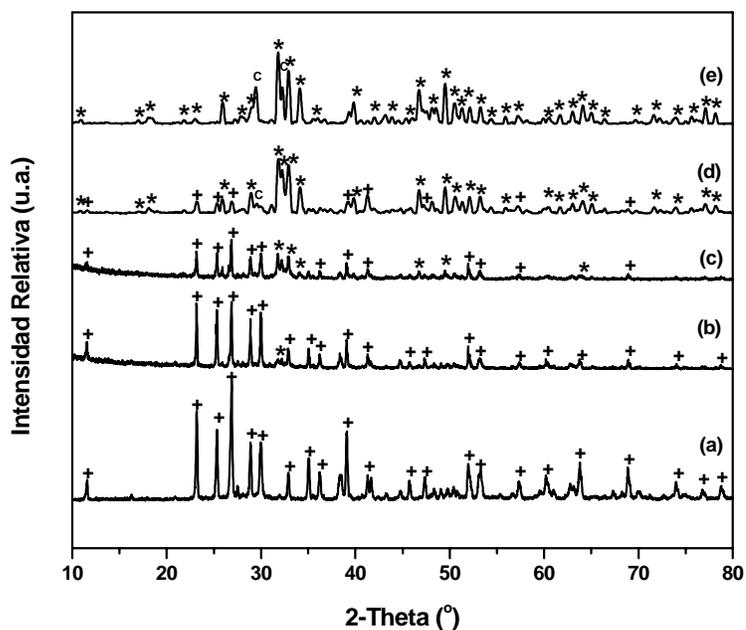


Figura 41 Patrones de difracción de rayos-X: (a) wollastonita natural y geles secos producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (b) 80% wt, (c) 50% wt, (d) 80% wt, (e) 0% wt. (*) Hidroxiapatita, (C) Hidroxiapatita carbonatada, (+) Wollastonita.

Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier

La Figura 42 muestra comparativamente los espectros FT-IR para el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol sin tratamiento térmico (44a), la muestra de wollastonita natural (44b), el gel seco tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada (44c), y el compósito de hidroxiapatita con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada (44d). Los espectros de infrarrojo de esta figura pueden dividirse en cuatro regiones, caracterizadas por los picos alrededor 3650-3500 cm^{-1} , 1500-1400 cm^{-1} , 1100-1000 cm^{-1} y 650-600 cm^{-1} . Los picos observados alrededor de 3571 cm^{-1} y 632 cm^{-1} corresponden respectivamente, a los modos vibracionales de estiramiento y libración de los iones OH^- . Las Bandas entre 1471 cm^{-1} y 1414 cm^{-1} se deben a la absorción infrarroja de los carbonatos en el modo vibracional ν_3 . El modo ν_2 de los carbonatos resulta también en un intenso pico de absorción a 870 cm^{-1} . Las bandas alrededor de 1000 cm^{-1} en la Figura 42b son diferentes a las bandas alrededor de 1100 cm^{-1} en la Figura 42c. Las primeras son atribuidas principalmente a la presencia de silicatos en la wollastonita, mientras que las últimas son atribuidas a la absorción infrarroja de los fosfatos. Los picos a 1048 cm^{-1} y 1090 cm^{-1} están asociados con el modo de estiramiento ν_3 de los enlaces P-O, y las bandas a 962 cm^{-1} corresponden a las vibraciones en los enlaces P-O en el modo de estiramiento simétrico ν_1 del grupo PO_4^{3-} . Las bandas a 603 cm^{-1} y 571 cm^{-1} , son causadas por las vibraciones de flexión ν_4 triplemente degeneradas del grupo PO_4^{3-} . La clara presencia de los dos picos a 603 cm^{-1} y 571 cm^{-1} , junto con el pico encontrado aproximadamente a 632 cm^{-1} confirman la presencia de hidroxiapatita en los compósitos [51,159-162]. La presencia de carbonato sustituyendo a los fosfatos en la estructura de la hidroxiapatita, se resalta por la presencia de picos definidos en números de onda correspondientes a hidroxiapatita carbonatada del tipo "B" (1471, 1414 y 870 cm^{-1} , ν_{3b} , ν_{3a} y ν_2 de los iones CO_3^{2-} que remplazan a los iones PO_4^{3-} en la estructura de la hidroxiapatita) [163]. La Figura 43 muestra los espectros FT-IR para la muestra de wollastonita natural, así como para cada uno de los compósitos obtenidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de

wollastonita. En todos los casos se observa un comportamiento semejante en las bandas de absorción explicadas anteriormente, producto de la presencia de la mezcla de fases de hidroxiapatita y wollastonita.

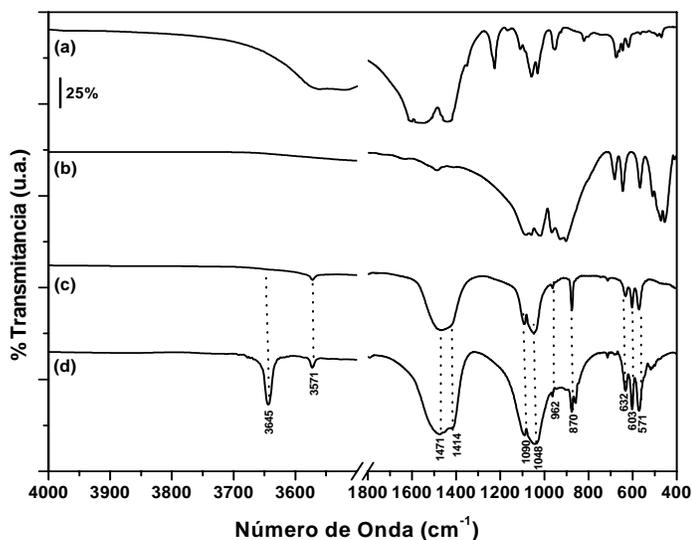


Figura 42 Espectros FT-IR para: (a) gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, secado a 120°C, (b) wollastonita natural, geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (c) 0% wt y (d) 20% wt.

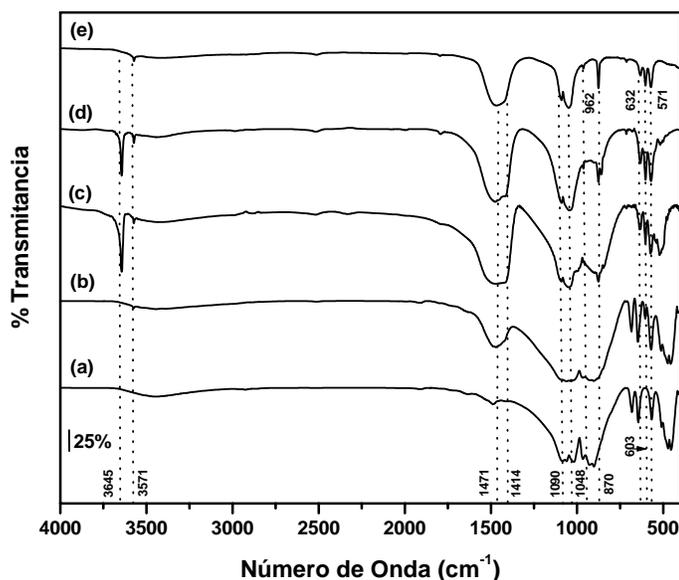


Figura 43 Espectros FT-IR para los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 100% wt, (b) 80% wt, (c) 50% wt, (d) 20% wt y (e) 0% wt.

Espectroscopia Raman

La Figura 44 muestra comparativamente los espectros Raman para la muestra de wollastonita natural (44b), el gel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol sin tratamiento térmico (44a), el gel seco tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada (44c), y el compuesto de hidroxiapatita con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada (44d). La Figura 44c muestra una banda a 3573 cm⁻¹ correspondiente al modo de estiramiento de los iones OH⁻. Las bandas a 1074 cm⁻¹ y 1052 cm⁻¹ corresponden al modo de vibración fundamental ν_3 del grupo PO₄³⁻, la intensa banda a 962 cm⁻¹ corresponde al modo de vibración fundamental ν_1 del grupo PO₄³⁻, las bandas a 590 cm⁻¹ y 579 cm⁻¹ corresponden al modo de vibración fundamental ν_4 del grupo PO₄³⁻, las bandas a 447 cm⁻¹ y 431 cm⁻¹ corresponden al modo de vibración fundamental ν_2 en el grupo PO₄³⁻ [164,165].

La intensa banda de vibración ν_1 del CO₃²⁻, para la hidroxiapatita carbonatada del tipo "B" se presenta a 1070 cm⁻¹; esta banda se encuentra opacada por la intensa banda del grupo PO₄ a 1074 cm⁻¹ [51,123-125,162,163,166-169]. En la Figura 44d el espectro Raman para el compuesto con 80% wt y 20% wt de wollastonita, muestra un comportamiento similar al explicado anteriormente, mostrando la respuesta de la mezcla de fases de hidroxiapatita y wollastonita.

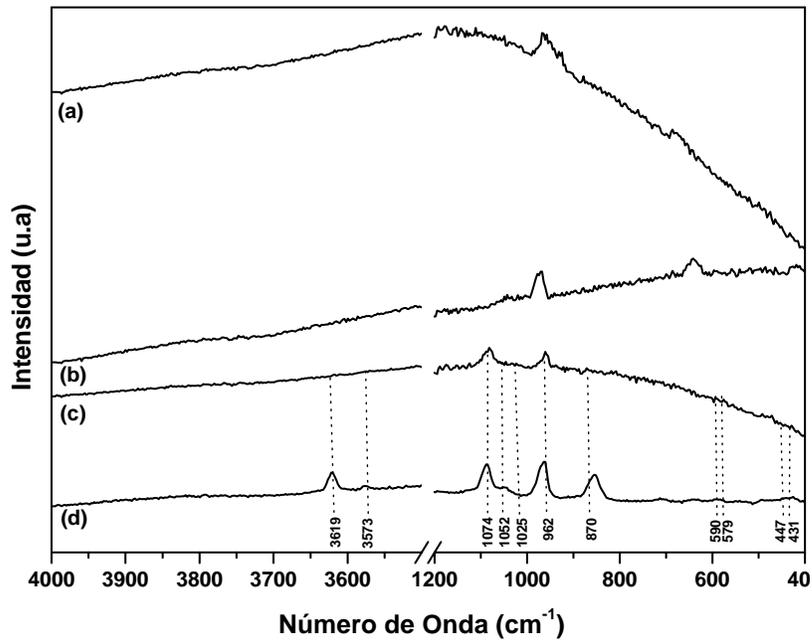


Figura 44 Espectros Raman para: (a) gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, secado a 120°C, (b) wollastonita natural, geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en alcohol etílico con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (c) 0% wt, (d) 20% wt.

Microscopia Electrónica de Barrido

La Figura 45 muestra las imágenes de microscopio electrónico de barrido de la hidroxiapatita obtenida después de los lavados con HCl 0.01M y agua destilada. En esta figura puede apreciarse que las partículas de hidroxiapatita son esféricas y de tamaño submicrométrico, las cuales presentan una fuerte tendencia a aglomerarse.

La Figura 46 muestra las imágenes de microscopio electrónico de barrido del compuesto obtenido con 80% wt de hidroxiapatita y 20% wt de wollastonita, después de los lavados con HCl 0.01M y agua deionizada, en esta figura las partículas de hidroxiapatita aparecen aglomeradas a lo largo de toda la superficie de las fibras de wollastonita.

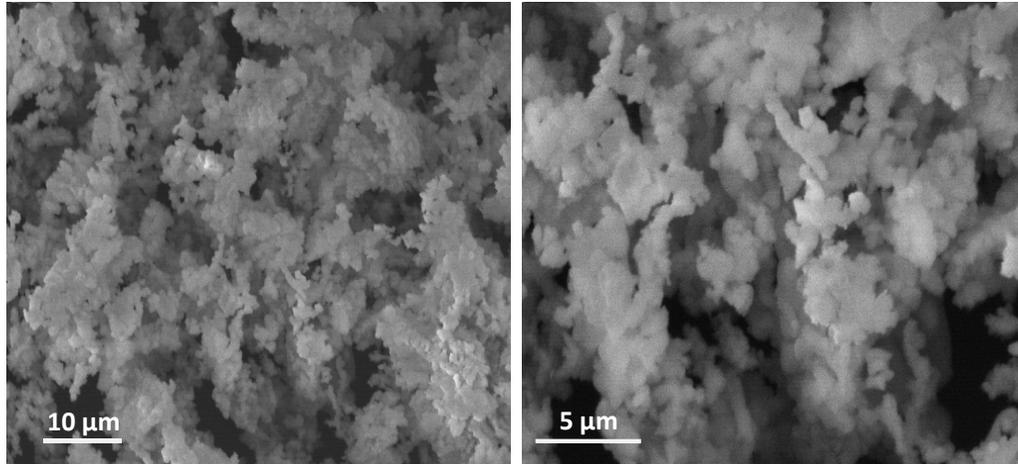


Figura 45 Imágenes de SEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada.

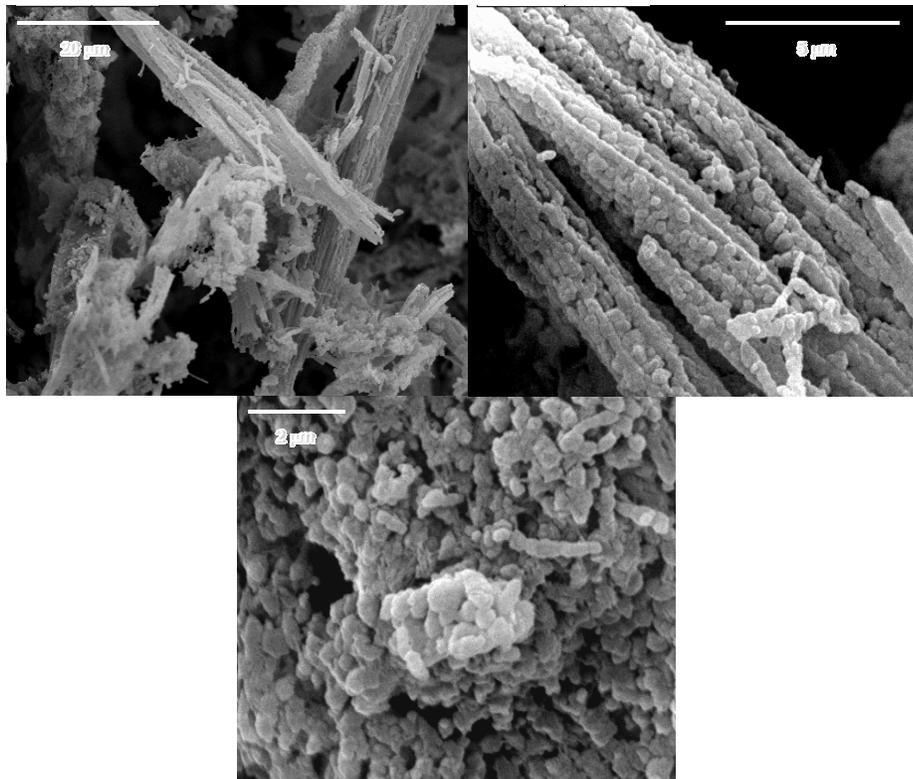


Figura 46 Imágenes de SEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada.

La Figura 47 muestra las imágenes de microscopio electrónico de barrido de la wollastonita natural, Figura 47c, y los compósitos producidos con diferente porcentaje en peso de wollastonita, 50% wt, Figura 47a y 80% wt, Figura 47b. En los materiales que contienen hidroxiapatita, se observa que ésta se encuentra distribuida uniformemente sobre las fibras de wollastonita, poniendo de manifiesto la directa y eficiente integración de ambas fases durante el proceso de síntesis de estos compósitos.

La Figura 48 muestra el espectro EDS para la muestra hidroxiapatita obtenida después de los lavados con HCl 0.01M y agua deionizada, en la cual se muestran los elementos que la componen como el calcio (Ca), fósforo (P), oxígeno (O) y una pequeña fracción de carbón (C) con una relación molar Ca/P de aproximadamente 1.69.

La Figura 49 muestra los espectros EDS para los diferentes compósitos de hidroxiapatita wollastonita, donde se destaca además de los elementos mencionados en la figura anterior, la presencia de silicio (Si) contenido en la fase de wollastonita, el cual disminuye conforme disminuye el porcentaje de esta última en los compósitos.

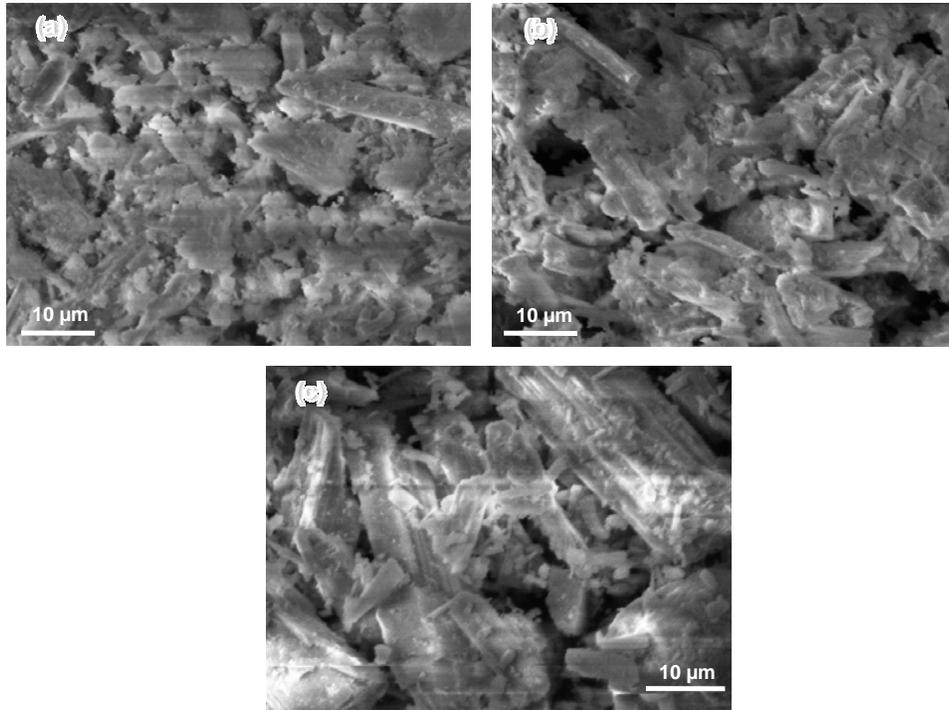


Figura 47 Imágenes de SEM de los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 50% wt, (b) 80% wt, (c) Wollastonita natural.

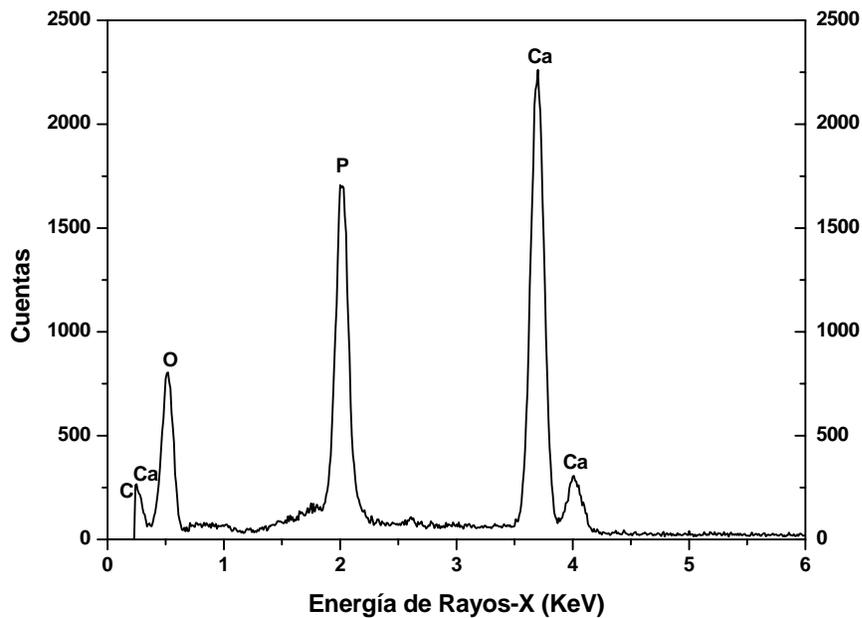


Figura 48 Espectro EDS de la hidroxiapatita producida a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratados térmicamente hasta 1000°C y lavados con HCl 0.01M y agua deionizada.

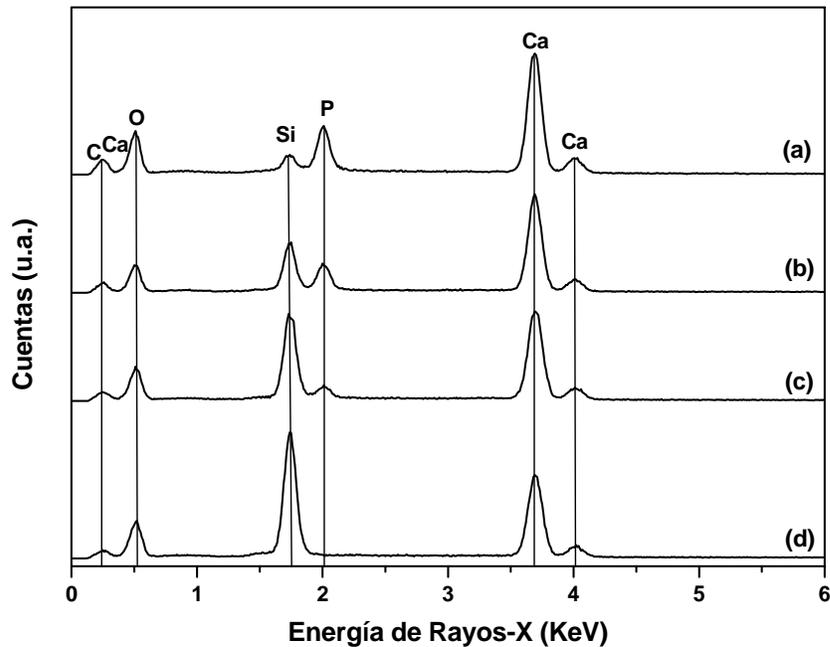


Figura 49 Espectros EDS de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita: (a) 20% wt, (b) 50% wt, (c) 80%, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada, (d) wollastonita natural.

Microscopia Electrónica de Transmisión

La Figura 50 muestra las imágenes de microscopio electrónico de transmisión del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada. En esta figura puede apreciarse la forma típica de las partículas de hidroxiapatita, mostrando la morfología hexagonal que la caracteriza. La mayoría de las partículas se encuentran en un intervalo de tamaño entre 50-100 nm.

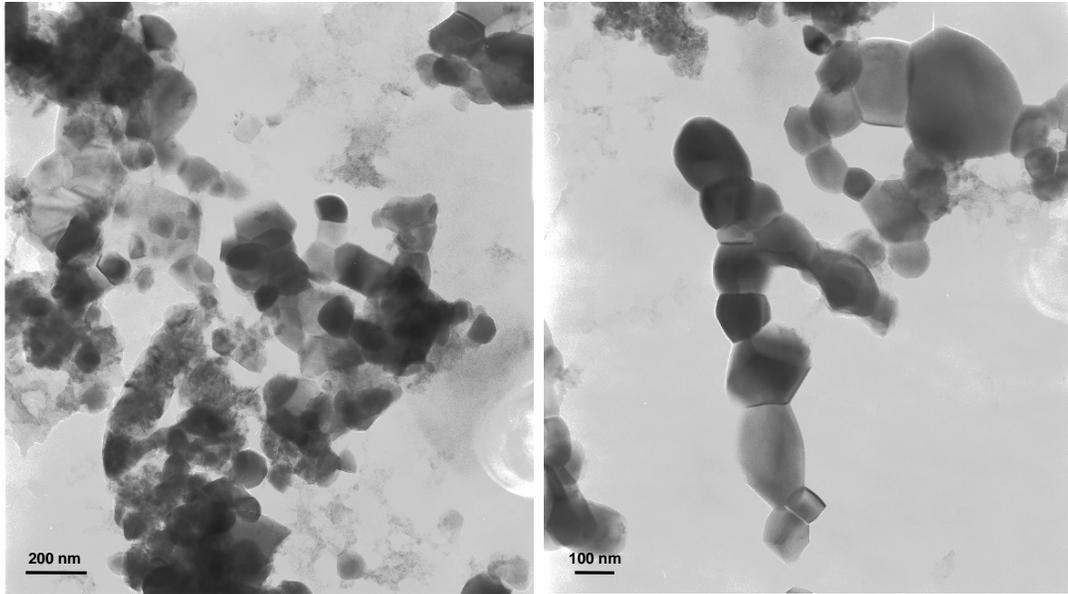


Figura 50 Imágenes de TEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada.

La Figura 51 muestra las imágenes de difracción electrónica de área selecta (SAED) obtenida en microscopio electrónico de transmisión, del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada, en la cual se observa la forma típica de difracción electrónica de un material cristalino con celda hexagonal, sistema al cual pertenece la hidroxiapatita [170-172]. Asimismo, se muestra la indexación de los planos (211) y (004), con sus respectivas distancias interplanares.

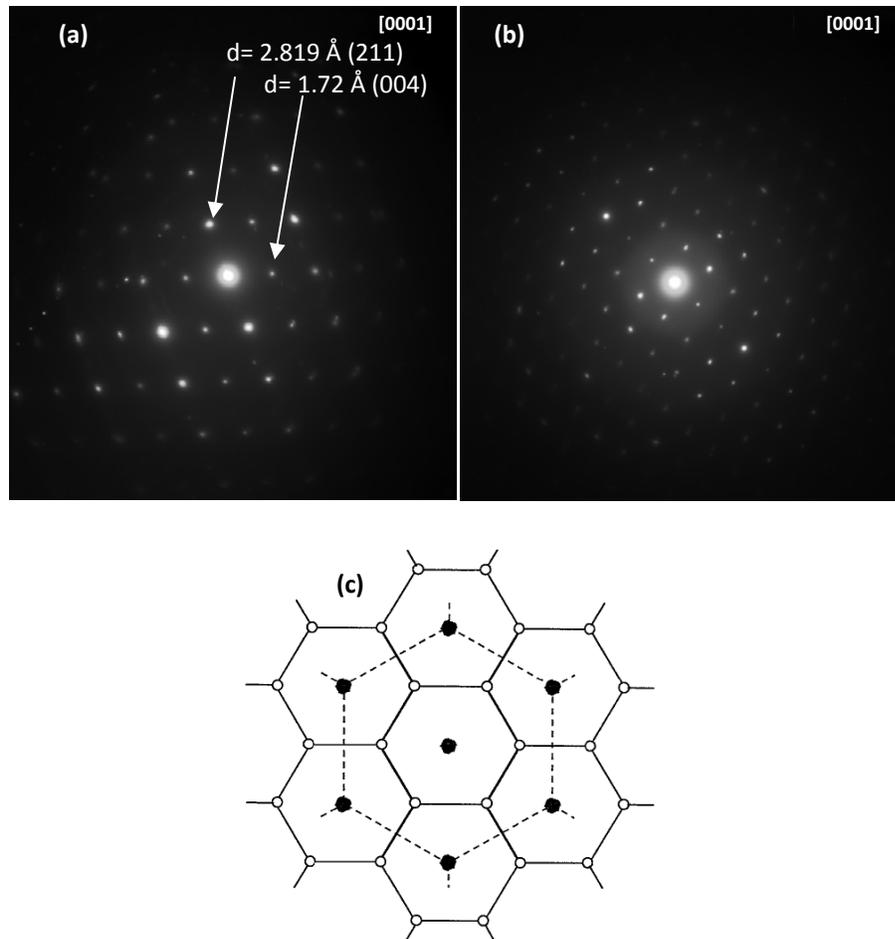


Figura 51 Imágenes SAED (a) y (b) de TEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C , lavado con HCl $0.01M$ y agua deionizada. (c) Ilustración esquemática de la estructura cristalina de la hidroxiapatita. Los círculos sólidos representan los átomos de OH, los círculos abiertos representan los átomos de Ca [171].

La Figura 52 muestra las imágenes de microscopio electrónico de transmisión del compuesto producido con 80% wt de hidroxiapatita y 20% wt de wollastonita después de los lavados con HCl $0.01M$ y agua deionizada. En esta figura se observa a la hidroxiapatita intercalada entre las fibras de wollastonita, con el mismo tamaño y forma que la hidroxiapatita sintetizada en ausencia de wollastonita, lo cual vuelve a poner de manifiesto que la wollastonita no tiene ninguna interacción en la síntesis de hidroxiapatita.

La Figura 53 muestra las imágenes de difracción electrónica de área selecta (SAED), obtenida en microscopio electrónico de transmisión, del compuesto producido con 80% wt de hidroxiapatita y 20% wt de wollastonita después de los lavados con HCl 0.01M y agua deionizada, en la cual se observa el patrón de difracción electrónica de un material policristalino, debido a la interacción de la red hexagonal de la hidroxiapatita y la triclínica de la wollastonita.

La Figura 54 muestra las imágenes de microscopio electrónico de transmisión de los compósitos producidos con diferente porcentaje en peso de wollastonita (50 y 80% wt), después de los lavados con HCl 0.01M y agua deionizada, Figuras 54a y 54b respectivamente. En estas figuras puede apreciarse que en ambos materiales la hidroxiapatita aparece de nuevo intercalada uniformemente entre las fibras de wollastonita, a pesar de que esta aparece en menor proporción. Asimismo, la forma y tamaño de la hidroxiapatita en estas imágenes son similares a la sintetizada en ausencia de wollastonita, lo cual vuelve a poner de manifiesto que la wollastonita no tiene ninguna interacción en la síntesis de hidroxiapatita en todos los compósitos. En la Figura 54c se muestra la imagen de la wollastonita natural en ausencia de hidroxiapatita.

La Figura 55 muestra las imágenes de difracción electrónica de área selecta (SAED), obtenidas en microscopio electrónico de transmisión, de los compósitos producidos con diferente porcentaje en peso de wollastonita (50 y 80% wt), después de los lavados con ácido clorhídrico y agua deionizada, Figuras 55a y 55b respectivamente. En estas figuras puede apreciarse que en ambos materiales aparecen de nuevo patrones de difracción electrónica correspondientes a materiales policristalinos, debido a la interacción de la red hexagonal de la hidroxiapatita y la triclínica de la wollastonita. Sin embargo, en la Figura 55c, correspondiente al patrón de difracción de la wollastonita natural, puede apreciarse la estructura de una red triclínica característica de la wollastonita utilizada en este trabajo. Asimismo, se muestra la indexación de los planos $(\bar{2}20)$ y $(1\bar{1}1)$, con sus respectivas distancias interplanares.

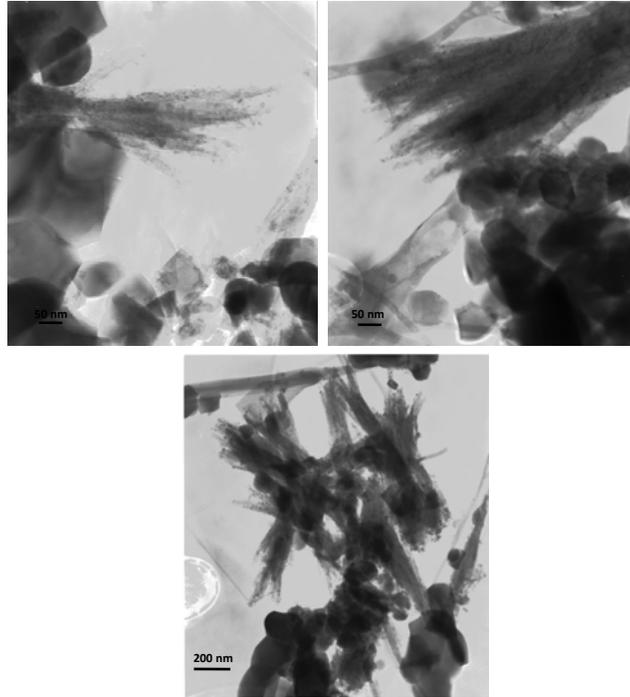


Figura 52 Imágenes de TEM del gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01M y agua deionizada.

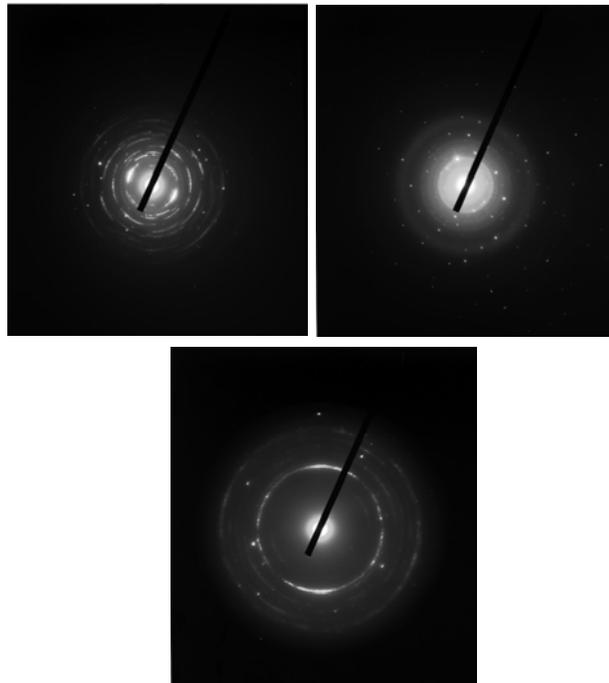


Figura 53 Imágenes SAED de TEM para el gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con 20% wt de wollastonita tratado térmicamente hasta 1000°C y lavado con HCl 0.01M y agua deionizada.

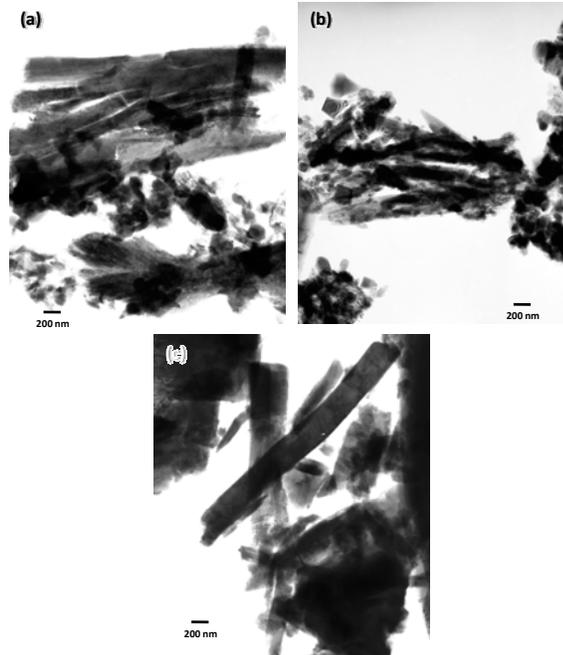


Figura 54 Imágenes de TEM de los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 50% wt, (b) 80% wt, (c) wollastonita natural.

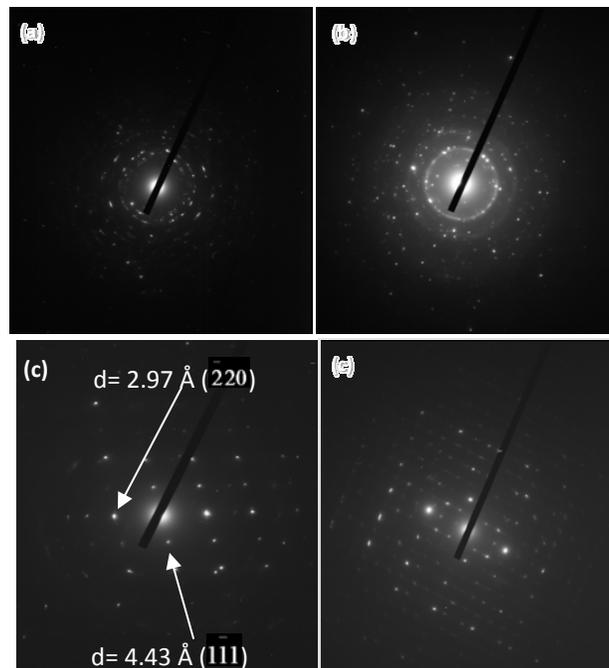


Figura 55 Imágenes SAED de TEM de los geles producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, con diferente porcentaje en peso de wollastonita, tratados térmicamente hasta 1000°C, lavados con HCl 0.01M y agua deionizada: (a) 50% wt, (b) 80% wt, (c) wollastonita natural.

Después de la caracterización de los materiales a través de las diferentes etapas de síntesis y purificación, se puede afirmar que los polvos de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita se han sintetizado mediante una ruta sol-gel adecuada, con reactivos relativamente baratos y accesibles, en un procedimiento sencillo complementado con tratamientos térmicos y lavados ácidos suaves para lograr su purificación. Los resultados demuestran que los geles secos obtenidos después del proceso sol-gel, son una mezcla de acetato de calcio residual, una fase amorfa de algún fosfato de calcio y wollastonita para aquellos materiales que la contienen. Durante el tratamiento térmico de estos geles, la primera etapa (para temperaturas menores a 380°C), corresponde a la evolución de compuestos orgánicos formados por la reacción de los agentes precursores para dar lugar al gel seco. La segunda etapa (alrededor de 420°C), caracterizada por una fuerte reacción exotérmica, indica la formación de hidroxiapatita en las primeras etapas de cristalización, acompañada de carbonato de calcio en forma de calcita. Una tercera etapa (al alcanzar la temperatura de 650°C), correspondiente a una reacción endotérmica, la cual indica la transformación de carbonato de calcio en óxido de calcio, acompañada por la evolución de dióxido de carbono. Finalmente, aplicando un tratamiento ácido a la mezcla de hidroxiapatita wollastonita y óxido de calcio obtenidos mediante tratamiento térmico a 1000°C, el óxido de calcio se convierte a cloruro de calcio, y aprovechando la alta solubilidad de éste último en agua comparado con la baja solubilidad de la hidroxiapatita en este medio, el cloruro de calcio es eliminado de los materiales obteniendo finalmente compósitos de hidroxiapatita carbonatada tipo B-wollastonita.

Asimismo, los resultados demuestran que la wollastonita natural permanece sin reaccionar a lo largo de todo el proceso de síntesis y purificación de los compósitos, las partículas de hidroxiapatita sintetizadas se aglomeran y distribuyen uniformemente sobre la superficie de las fibras de la wollastonita. Además, las diferentes proporciones de wollastonita involucradas en la síntesis de los compósitos no afectan las etapas de síntesis ni las características finales, tales como estructura y morfología de la hidroxiapatita

producida. En todos los casos se encontró hidroxiapatita carbonatada tipo B con un grado adecuado de cristalización, mostrando las primeras etapas de sinterización después del tratamiento térmico a 1000°C.

Las apatitas biológicas presentes en los huesos, dientes y esmalte dental son hidroxiapatitas carbonatadas. El tipo B es la sustitución por carbonatos preferencial encontrada en los tejidos calcificados de varias especies. La presencia de carbonatos en la hidroxiapatita influencia su sinterabilidad, solubilidad y actividad biológica en los materiales de implante. Por tal razón, la presencia de hidroxiapatita carbonatada en los compósitos de este estudio, ofrece confiabilidad para lograr una sinterización adecuada y una evaluación eficiente de las propiedades mecánicas y bioactivas en estos materiales [173].

4.2. Sinterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita

La Figura 56 muestra las curvas de análisis térmico gravimétrico (TGA) combinadas con las curvas de análisis térmico diferencial (DTA) para el gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en alcohol etílico, formulado para obtener hidroxiapatita pura, así como también las curvas TGA/DTA para la muestra de wollastonita natural, ambos calentados a partir de la temperatura ambiente hasta 1400°C. En esta figura se observa que ambos materiales no presentan ninguna descomposición o transformación apreciable en el intervalo de 1000-1400°C. Asimismo, este análisis demuestra que no habrá ninguna interacción entre ambos componentes por efecto del tratamiento térmico al momento de su sinterización a 1200°C.

4.2.1. Caracterización de los Materiales Después del Proceso de Sinterización

Difracción de rayos-X

La Figura 57a muestra comparativamente los patrones de difracción de rayos-X de la hidroxiapatita pulverizada, obtenida después del tratamiento térmico a 1000°C, lavada

con HCl 0.01M y agua deionizada, y una tableta de hidroxiapatita sinterizada a 1200°C durante 5 h (100H). En esta figura se observa que el patrón de difracción de la tableta sinterizada, presenta mayor resolución y por tanto mejor cristalinidad que el patrón de difracción de los polvos. Asimismo, no se observa la presencia de fases cristalinas nuevas después del proceso de sinterización; en buen acuerdo con otros estudios que han reportado la estabilidad térmica de la hidroxiapatita a esta temperatura [174]. Sin embargo, lo que ocurre en este patrón de difracción después del proceso de sinterización es una disminución en la intensidad del pico a $2\theta = 29.3^\circ$ y la separación de los planos (211) y (112) a $2\theta \approx 32^\circ$ que se encontraban traslapados. Lo anterior indica que el contenido de carbonato en la tableta de hidroxiapatita sinterizada es menor que en la hidroxiapatita pulverizada, debido a la formación de CaO, el cual aparece en forma de trazas en el patrón de difracción de hidroxiapatita sinterizada [175,176].

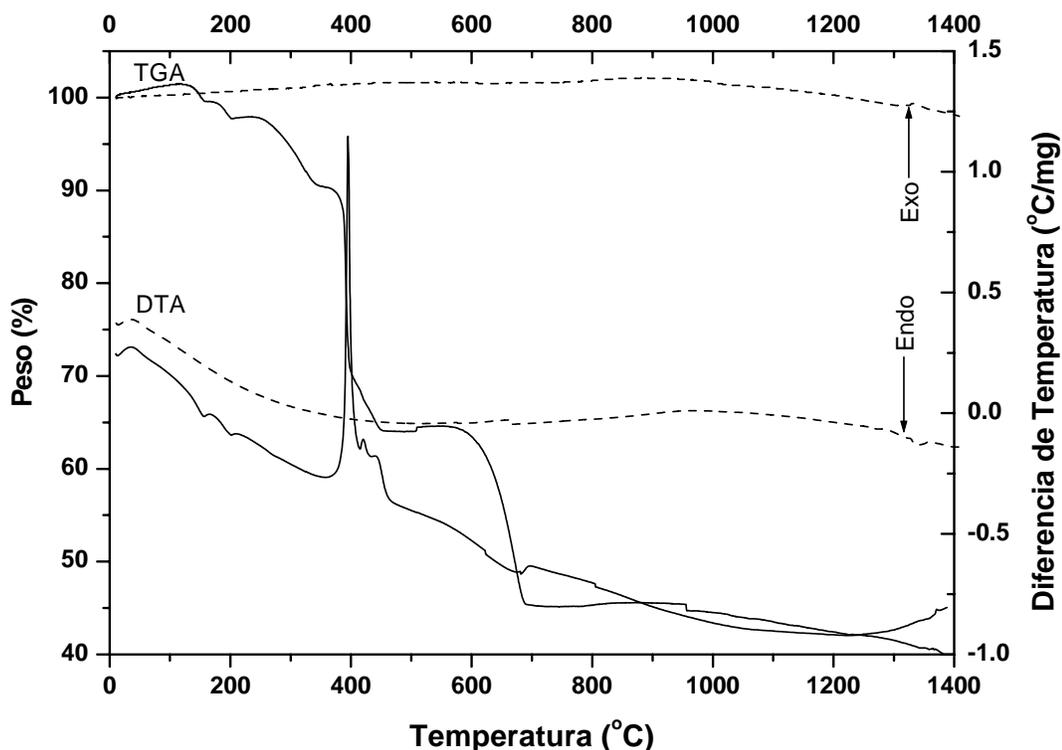


Figura 56 Curvas DTA/TGA para: (—) gel seco de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, (---) wollastonita natural, tratados térmicamente a partir de la temperatura ambiente hasta 1400°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min.

La Figura 57b muestra comparativamente los patrones de difracción de rayos-X de la wollastonita natural pulverizada, y una tableta de wollastonita natural sinterizada a 1200°C durante 5h (100W). Ambos patrones demuestran que la wollastonita no sufre ningún cambio apreciable después del proceso de sinterización. La Figura 58 resume los patrones de difracción de rayos-X para todos los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita sinterizados a 1200°C durante 5h, en los cuales aparecen únicamente la hidroxiapatita carbonatada y wollastonita como fases principales.

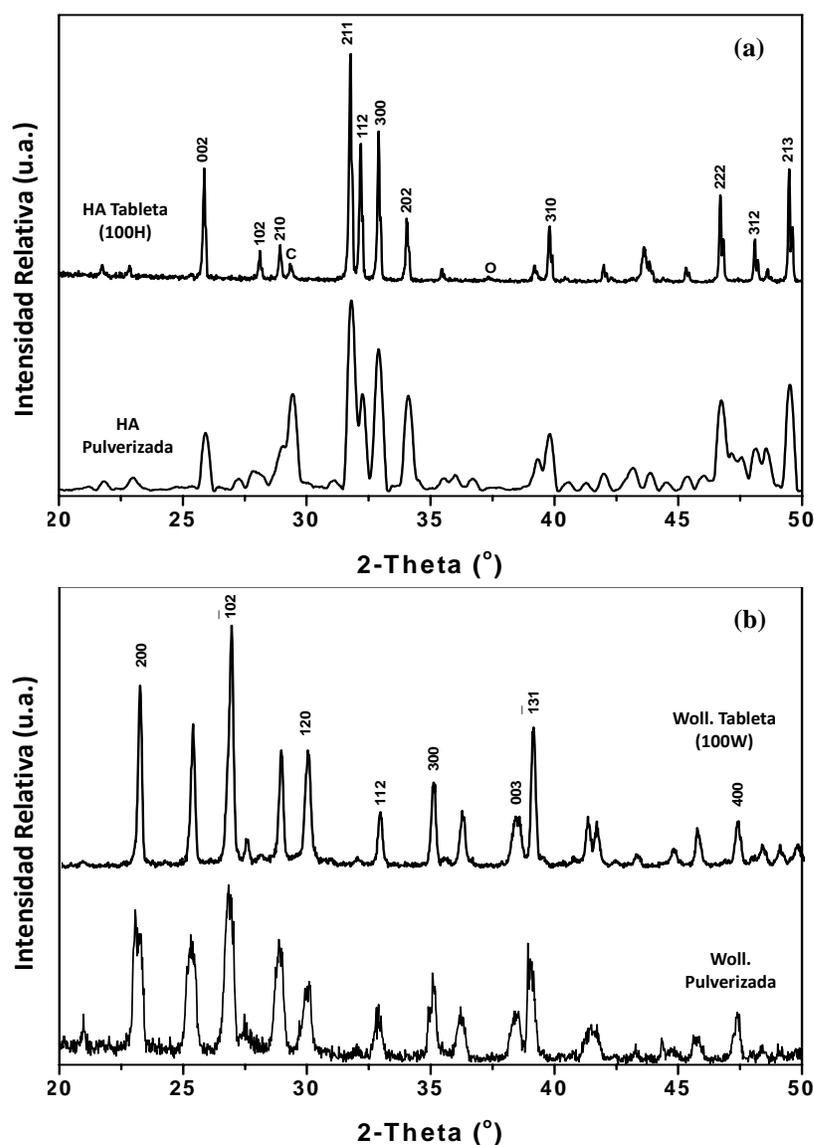


Figura 57 Patrones de difracción de rayos-X para: (a) hidroxiapatita pulverizada e hidroxiapatita sinterizada a 1200°C durante 5h, (b) wollastonita natural pulverizada y wollastonita natural sinterizada a 1200°C durante 5h.

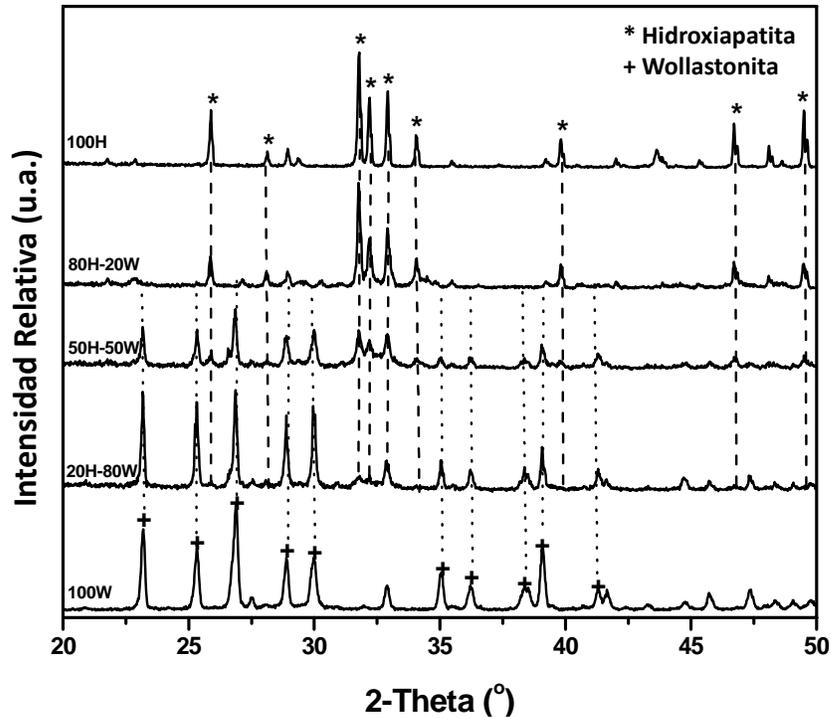


Figura 58 Patrones de difracción de rayos-X de los materiales base: (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h.

Espectroscopia Fotoelectrónica de rayos-X

La Figura 59 presenta los espectros de XPS de baja resolución para los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, en los cuales se pueden identificar claramente los picos correspondientes a oxígeno, calcio, carbono, fósforo y silicio, mostrando los picos fotónicos de O 1s, Ca 2s, Ca 2p, C 1s, P 2s, P 2p, Si 2p y Ca 3p, respectivamente. En todos los casos las señales producidas provienen de las fases de hidroxiapatita y wollastonita.

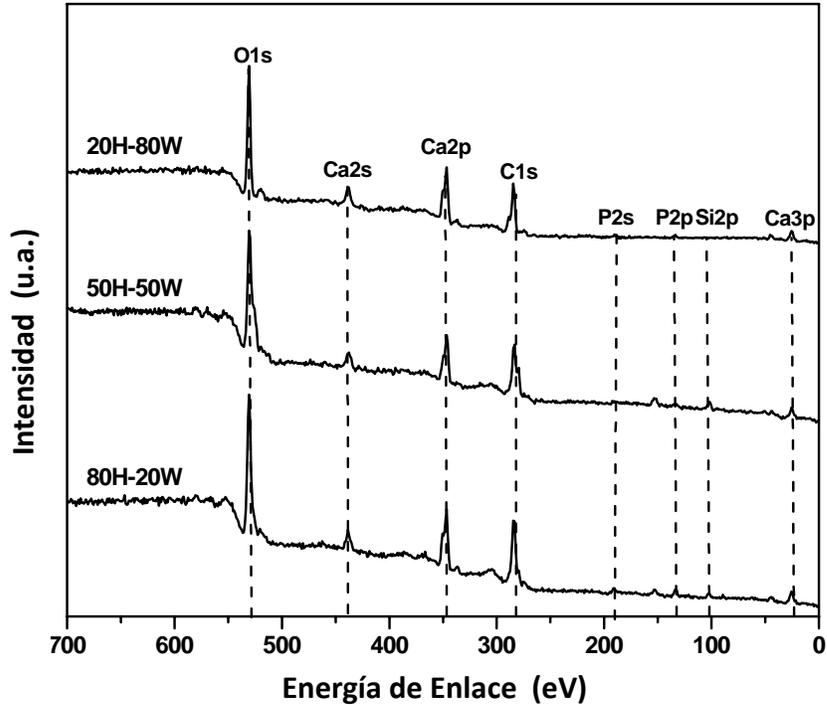


Figura 59 Espectros XPS de baja resolución de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h.

La Figura 60 muestra los espectros XPS de alta resolución alrededor del pico fotónico del orbital Ca 2*p* en la hidroxiapatita y la wollastonita, Figura 60a, y en los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, Figura 60b. La Figura 60a muestra energías de enlace (BE) para el orbital Ca 2*p*_{3/2} de 347.8 eV y 347 eV, los cuales corresponden a la hidroxiapatita [177] y la wollastonita [178], respectivamente. En la Figura 60b los picos correspondientes a los orbitales Ca 2*p*_{3/2} y Ca 2*p*_{1/2} en los compósitos 80H-20W, 50H-50W y 20H-80W aparecen a energías de enlace de 347.3, 347.2, 347.1 eV y 350.7, 350.6, 350.4 eV, respectivamente. Todos los espectros presentan un doblete con una separación de ≈ 3.4 eV, el cual es característico del estado de oxidación Ca²⁺ en compuestos inorgánicos con enlaces Ca-O [179,180]. La energía de enlace para el orbital Ca 2*p* en los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita se incrementa con el contenido de hidroxiapatita y disminuye con el contenido de wollastonita.

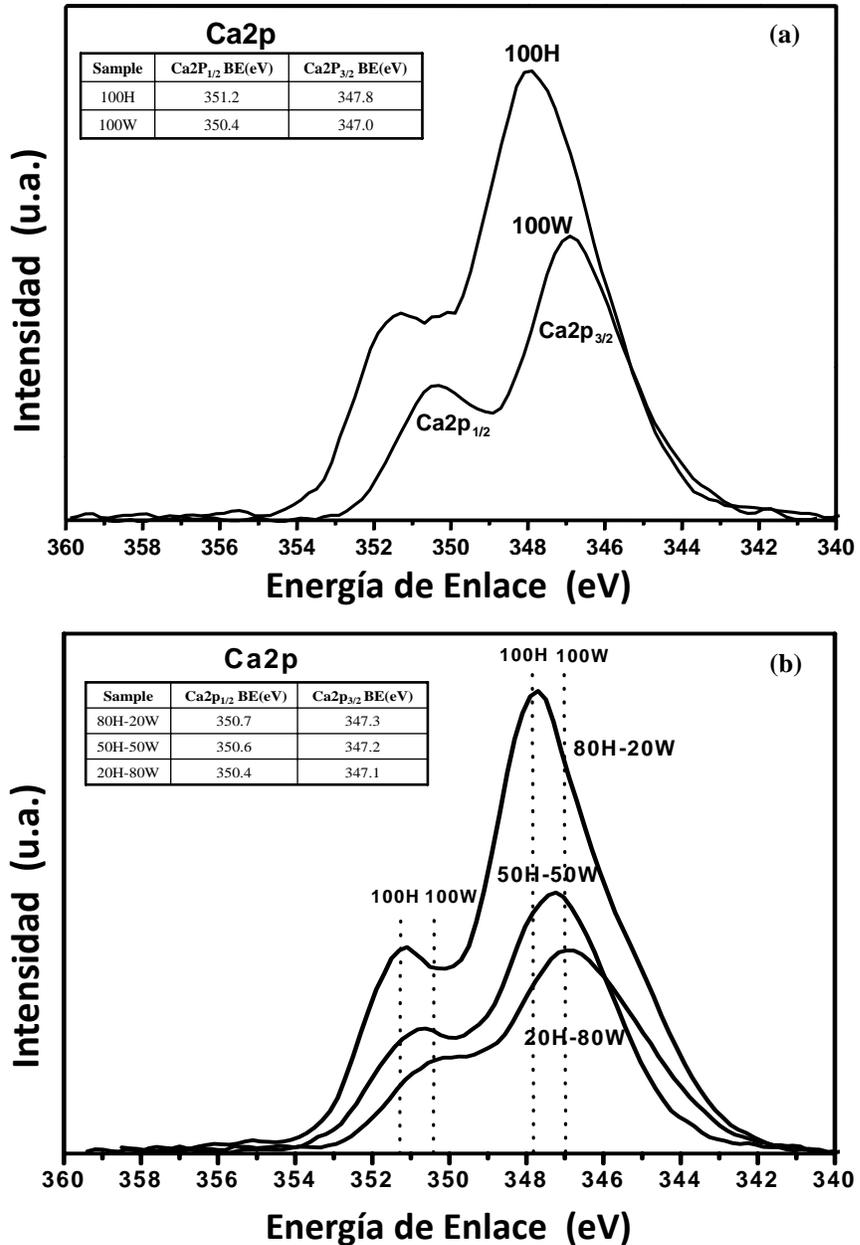


Figura 60 Espectros XPS de alta resolución del orbital Ca 2p: (a) materiales base (100H, 100W) y (b) compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h. Las líneas punteadas en (b) representan las BE del Ca 2p para 100H y 100W respectivamente.

La Figura 61 muestra los espectros XPS de alta resolución alrededor de los picos de los orbitales P 2p y Si 2p. La Figura 61a muestra los picos del orbital P 2p_{3/2} para los compósitos 80H-20W, 50H-50W y 20H-80W, localizados a energías de enlace de 133.5, 133.2 y 132.9 eV respectivamente. Todos los picos aparecen alrededor de 133.8 eV, el cual

es el valor de BE asociado con la hidroxiapatita [177]. En la Figura 61b se presentan los picos del orbital Si $2p_{3/2}$ para los mismos materiales, los cuales se localizan a valores de BE de 101.5, 101.6 y 101.7 eV respectivamente. Todos alrededor de 102.3 eV, el cual es el valor de BE asociado con la wollastonita para este orbital [178]. Es importante enfatizar que los valores de BE para el orbital P $2p_{3/2}$ se aproximan a los valores de BE del material base 100H, conforme la hidroxiapatita aparece en mayor porcentaje. Asimismo, los valores de BE del orbital Si $2p_{3/2}$ se aproximan a los valores del material base 100W, conforme la wollastonita aparece en mayor proporción.

La Figura 62 muestra los espectros XPS de alta resolución alrededor de los picos de los orbitales O $1s$ y C $1s$. La Figura 62a muestra los picos del orbital O $1s$ para todos los materiales, el cual aparece a una BE de 531.5 eV para todos los casos. Asimismo, La Figura 62b muestra los picos del orbital C $1s$ para todos los materiales, el cual aparece a una BE de 284.5 eV para todos los casos. Sin embargo, en el material de hidroxiapatita (100H) y en todos los compósitos (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W) se puede apreciar otro pico a valores BE superiores al de la línea base (≈ 289.3 eV), el cual es un indicativo de la presencia de carbón en forma de carbonatos. Este hecho demuestra la presencia de hidroxiapatita carbonatada en estos materiales [181], lo cual está de acuerdo con los resultados de los análisis de XRD, FT-IR, EDS y Raman presentados anteriormente. Por todo lo anterior, los resultados de la técnica XPS demuestran que la hidroxiapatita y la wollastonita permanecen como fases separadas en los compósitos sinterizados, y los pequeños cambios en la BE de algunos picos solo dependen de las diferentes proporciones de los materiales base en los materiales, ya que cambios de BE menores a 0.5 eV en los picos de Ca, P y Si, indican que no existe un efecto considerable en el estado de los iones calcio, fosfato y silicato [182].

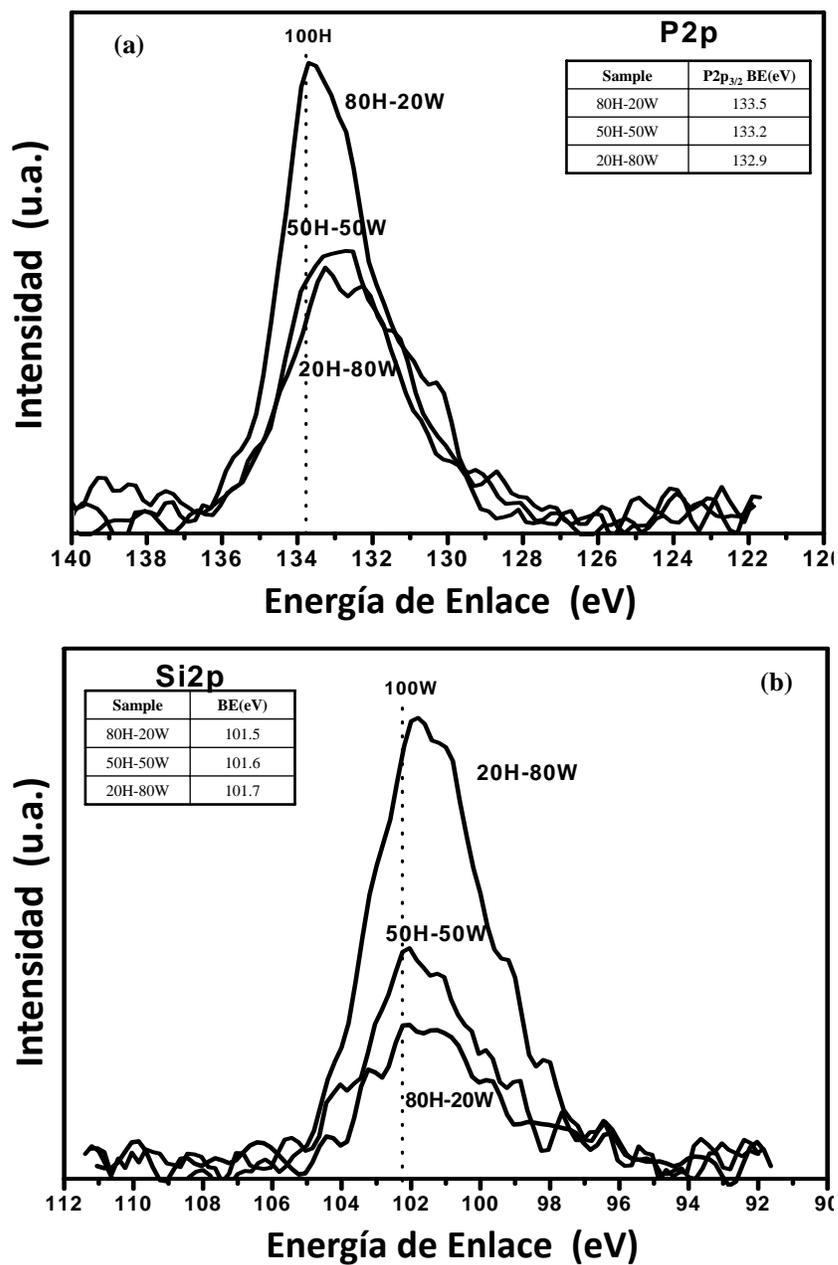


Figura 61 Espectros XPS de alta resolución de los orbitales: (a) P 2p y (b) Si 2p de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h. Las líneas punteadas representan las BE de P 2p y Si 2p para 100H y 100W respectivamente.

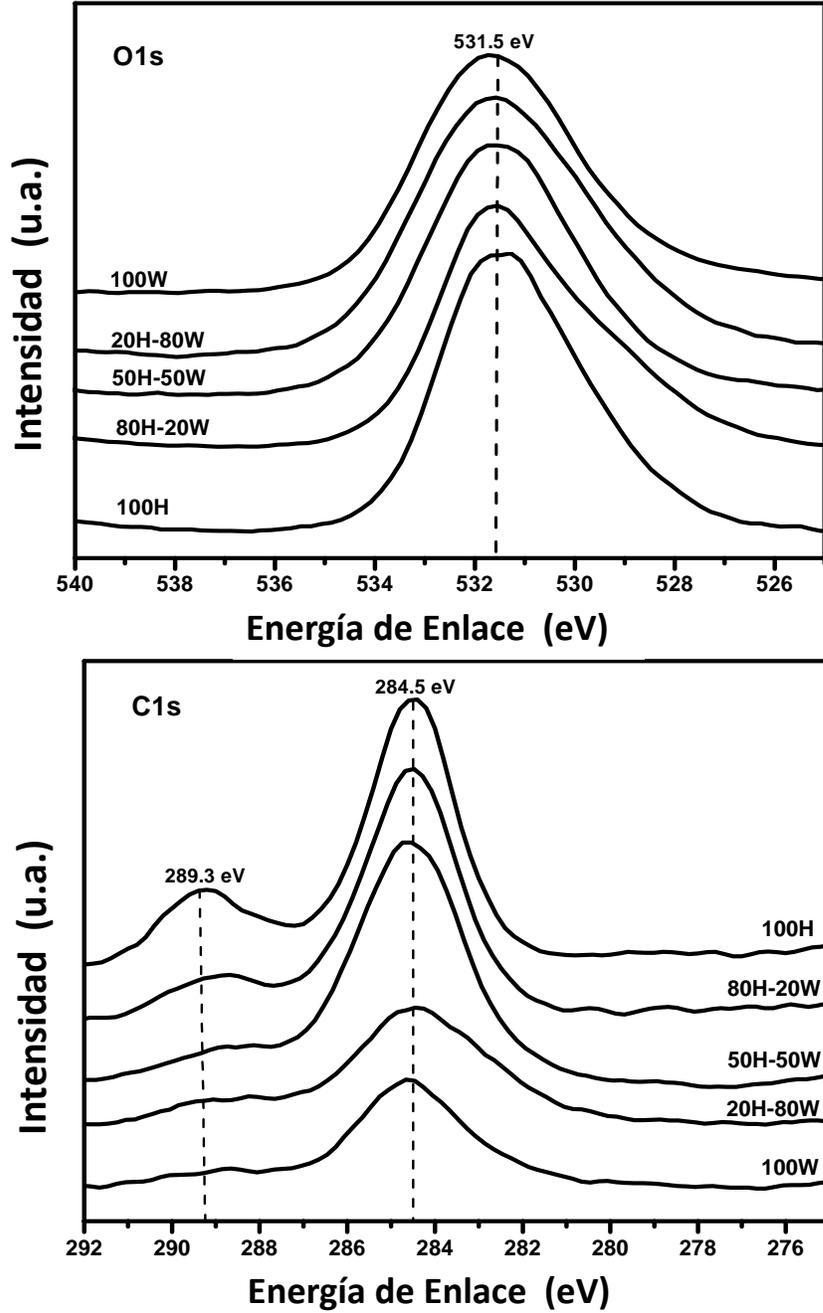


Figura 62 Espectros XPS de alta resolución de los orbitales: (a) O 1s y (b) C 1s de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5h.

Microscopia Electrónica de Barrido

La Figura 63 muestra las imágenes de microscopio electrónico de barrido de los polvos de hidroxiapatita, wollastonita natural y el compósito con 80% wt de hidroxiapatita y 20% wt de wollastonita, así como las imágenes de las superficies de fractura de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W) sinterizados a 1200°C durante 5 h. En el caso de los materiales pulverizados, se aprecia una distribución uniforme de las partículas de hidroxiapatita sobre las fibras aciculares de wollastonita, cubriendo una gran proporción de su superficie, lo cual asegura una eficiente integración de ambos materiales base en los compósitos sinterizados.

Las superficies de fractura de todos los materiales sinterizados muestran una estructura microcristalina compacta, destacando las visibles fronteras cristalinas y un cierto grado de microporosidad. Lo anterior demuestra que los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita producidos bajo las condiciones de sinterización de este estudio, no presentan una estructura completamente densa [183].

Aunque se puede pensar que este pequeño nivel de microporosidad, puede afectar en cierta medida algunas de las propiedades mecánicas, lo destacable de esta característica es que repercute directamente en las propiedades bioactivas de los materiales. Lo anterior debido a que cierto grado de microporosidad permite la penetración de las soluciones fisiológicas al interior de los especímenes, logrando con ello, que el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita carbonatada se produzca desde el interior hacia la superficie, resultando en propiedades bioactivas más eficientes. Por lo tanto, lograr una relación adecuada entre la porosidad y las propiedades mecánicas en estos materiales, tiene una importante implicación en la producción de implantes para sustitución y/o regeneración ósea.

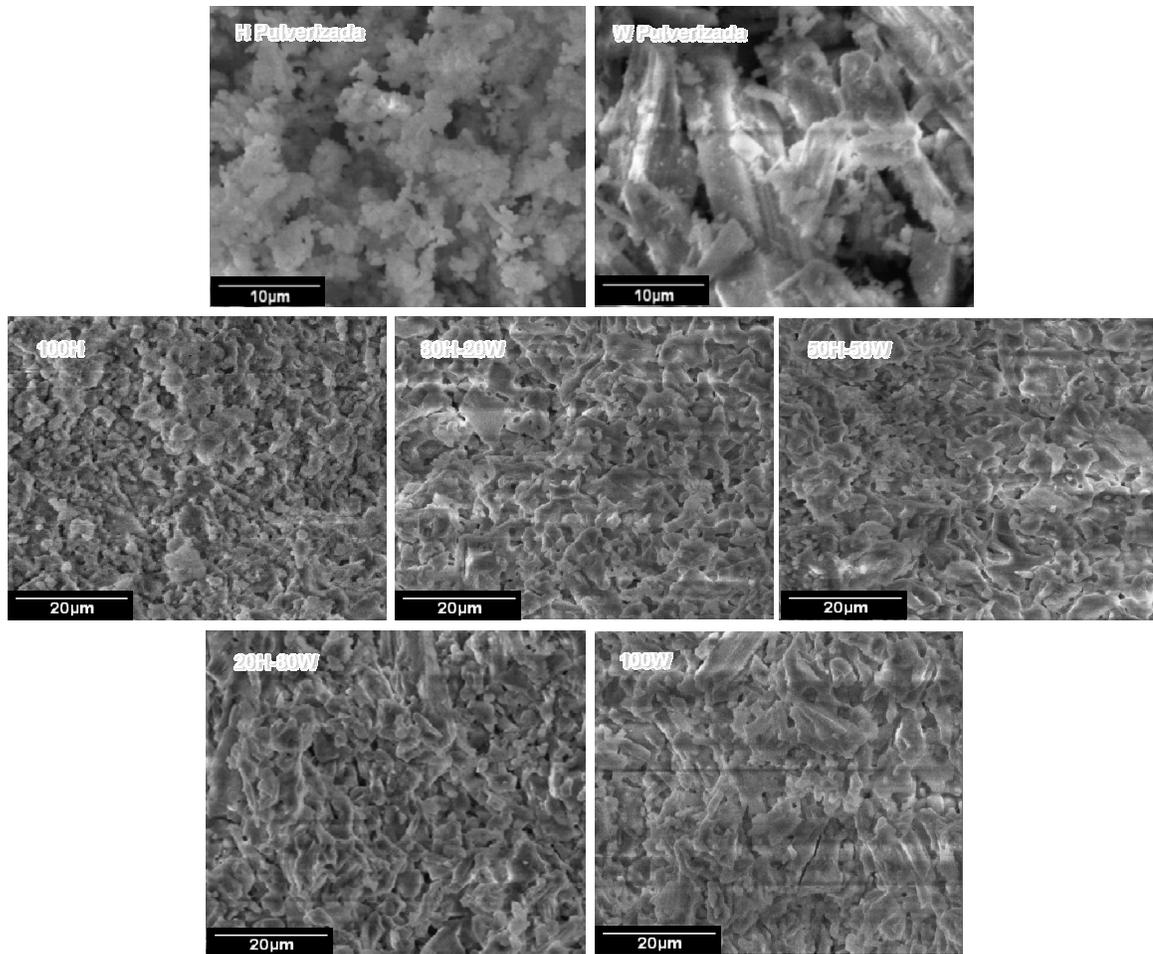


Figura 63 Imágenes de SEM de de los polvos de hidroxiapatita y wollastonita, y las superficies de fractura de hidroxiapatita (100H), wollastonita (100W) y los compositos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5 h.

Microscopia de Fuerza Atómica

La Figura 64 muestra a una escala de 1.5 μm , las imágenes tridimensionales de microscopio de fuerza atómica, de la topografía de las superficies pulidas de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), sinterizados a 1200°C durante 5 h. La Figura 64a muestra la morfología de los cristales de hidroxiapatita (100H), donde se observan cristales en forma alargada, con secciones ligeramente alineadas con diferentes patrones, los cuales aparecen distribuidos aleatoriamente. La Figura 64d muestra la morfología de los cristales de wollastonita (100W) donde se

observan cristales en forma rectangular, bien organizados con el mismo patrón de alineación y tamaño de grano muy uniforme. En los compósitos con mayor proporción de wollastonita (50H-50W y 20H-80W), los cristales de wollastonita aparecen intercalados en la matriz de hidroxiapatita, y los patrones de alineación de ambos cristales parecen ser más uniformes. Este tipo de arreglo uniforme y ordenado, puede ser uno de los factores que influya en la eficiencia de las propiedades mecánicas en estos materiales.

Con el objeto de comparar las características morfológicas de los materiales producidos con los componentes naturales de los tejidos duros del organismo, la Figura 65 muestra la imagen de microscopio de fuerza atómica de una pieza dental, pulida mediante un tratamiento semejante al practicado en los materiales de este estudio. Esta figura muestra la morfología correspondiente al esmalte dental, la dentina, así como la frontera entre ambas regiones [184]. En ella puede apreciarse que la forma y organización de los cristales naturales que componen al esmalte y la dentina, son muy parecidos a los cristales observados en la hidroxiapatita y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita sinterizados en este trabajo.

4.3. Evaluación de Propiedades Mecánicas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.

Contrario a otros compósitos preparados con fibras de wollastonita [73], en las imágenes de microscopio electrónico de barrido, de las superficies de fractura de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita mostradas de la Figura 63, las impresiones o huellas debidas a fibras de wollastonita que fueron arrancadas o extraídas de la matriz (fiber pulled-out), durante el proceso de fractura, son insignificantes, y solo se aprecia un número reducido de pequeñas decohesiones de fibra-matriz (fiber debonding) en los compósitos. Aunque ambos fenómenos son causados por los esfuerzos interfaciales en la interface fibra-matriz, la ausencia de impresiones de fibras de wollastonita extraídas de la matriz durante la fractura de los materiales, es un indicativo de eficientes propiedades tensiles en estos compósitos.

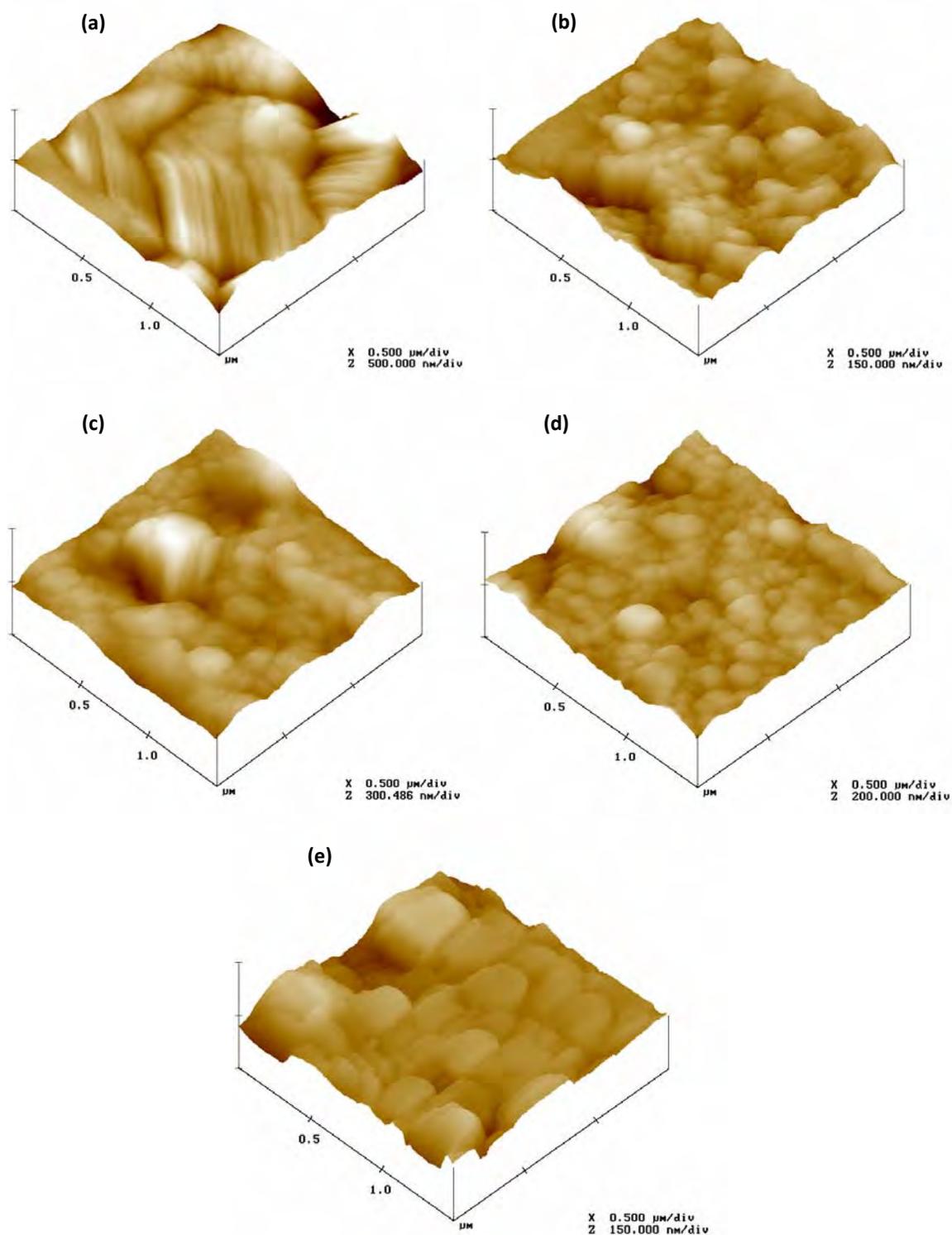


Figura 64 Imágenes de AFM a una escala de 1.5 μm, mostrando la topografía de las superficies de los materiales base: (a) 100H y (e) 100W, y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita: (b) 80H-20W, (c) 50H-50W y (d) 20H-80W, sinterizados a 1200°C durante 5 h.

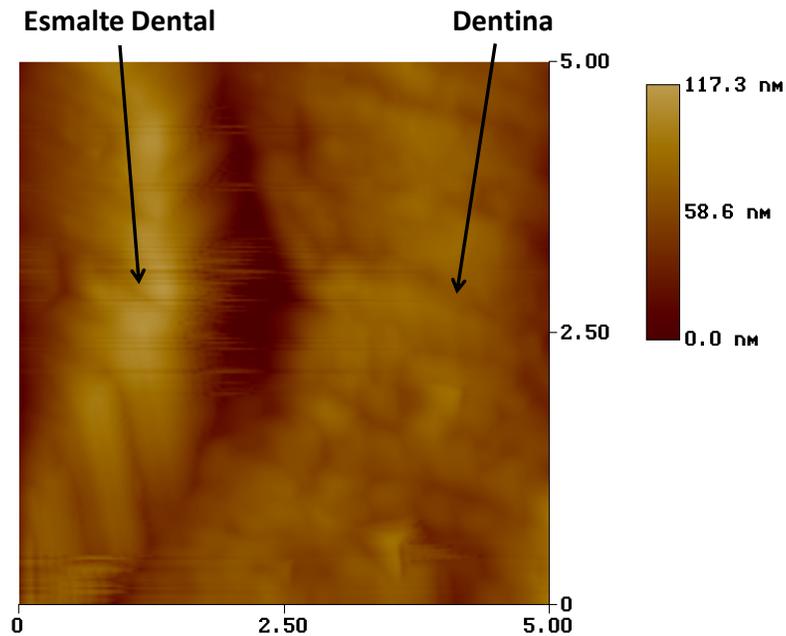


Figura 65 Imagen de AFM a una escala de 5 μm , de una pieza dental, mostrando la morfología de cada una de sus regiones [184].

4.3.1. Nanoindentación en Microscopio de Fuerza Atómica

La Figura 66 muestra las curvas de carga-desplazamiento obtenidas de las pruebas de nanoindentación, aplicando para todos los casos, el valor de la carga más alta utilizada en este estudio (2500 μN). En esta figura se observa que al aumentar la cantidad de wollastonita en los compósitos, las propiedades mecánicas de los materiales se tornan más eficientes, transformándose desde un material altamente deformable (100H), a un material mecánicamente más resistente (100W). Después de retirar la punta del indentador, la deformación plástica correspondiente a 100H comparada con la de los compositos 80H-20W y 50H-50W es ligeramente superior, sin embargo, resulta mucho mayor que la deformación plástica del compuesto 20H-80W y de 100W. La Figura 66e muestra la curva de carga-desplazamiento para la hidroxiapatita sinterizada (100H), en la cual se pueden observar una serie de desplazamientos escalonados (pop-ins) con magnitudes entre 5-15 nm, consistentes en un incremento repentino de la profundidad de contacto para una determinada carga, las cuales están asociados con fenómenos de

nucleación de dislocaciones en el material inducidos por la carga aplicada [143,185]. Este comportamiento prácticamente desaparece al momento en que la wollastonita se incorpora en los compósitos, lo cual indica que las fibras de wollastonita, actúan como obstáculos para el movimiento de las dislocaciones durante el proceso de deformación, produciendo un endurecimiento de los materiales. Otros estudios han reportado este tipo de comportamiento durante las pruebas de nanoindentación de hidroxiapatita en películas [186], monocristales [187] y compósitos poliméricos [188]. En pruebas de nanoindentación en películas, estos desplazamientos son causados por la relajación energética correspondiente a procesos de delaminación y fenómenos de flexión durante el proceso de nanoindentación [186]. En monocristales de hidroxiapatita estos desplazamientos se deben a fenómenos de dislocación y plasticidad [187], y en matrices de cerámico-polímero, estos desplazamientos son consecuencia de la influencia de un campo de deformación entre ambas fases [188]. Con la información anterior, y observando que tal comportamiento prácticamente desaparece cuando la segunda fase (wollastonita), entra a formar parte de los compósitos (Figuras 66b-d), este estudio considera que tales desplazamientos se deben a fenómenos de plasticidad y dislocación, debido a que el contorno en forma de material apilado (pile-up), que aparece en la imagen del análisis de sección transversal de la Figura 67, para la hidroxiapatita (100H) después del proceso de nanoindentación, se produce por un mecanismo de deslizamiento plástico [186,188]. Aunque por otro lado, otra causa de estos desplazamientos puede ser la microporosidad, que aunque en pequeña escala se encuentra presente en los materiales. Para el caso de la wollastonita sinterizada (100W), la curva de carga desplazamiento mostrada en la Figura 67a, muestra el comportamiento típico de un material mecánicamente más resistente, donde además no se presenta ningún desplazamiento a lo largo de todo el proceso de carga y descarga. Asimismo, el análisis de sección transversal para la wollastonita presenta un contorno de apilamiento mínimo de material después del proceso de nanoindentación. La Figura 67, muestra también al efecto que tiene la adición de wollastonita en los materiales, fortaleciendo su dureza y minimizando su deformación plástica.

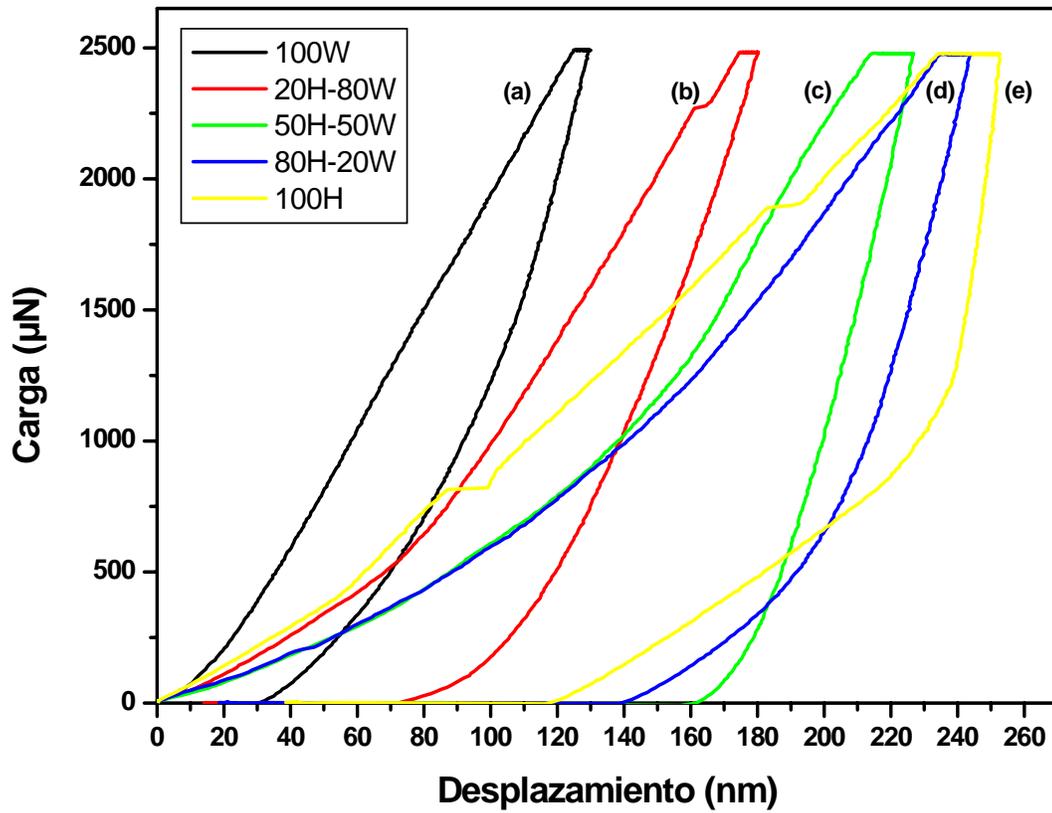


Figura 66 Curvas de carga-desplazamiento obtenidas para una misma carga de 2500 μN , de los materiales base: (a) 100W y (e) 100H y los compósitos de hidroxapatita-wollastonita: (b) 20H-80W, (c) 50H-50W y (d) 80H-20W, sinterizados a 1200°C durante 5h.

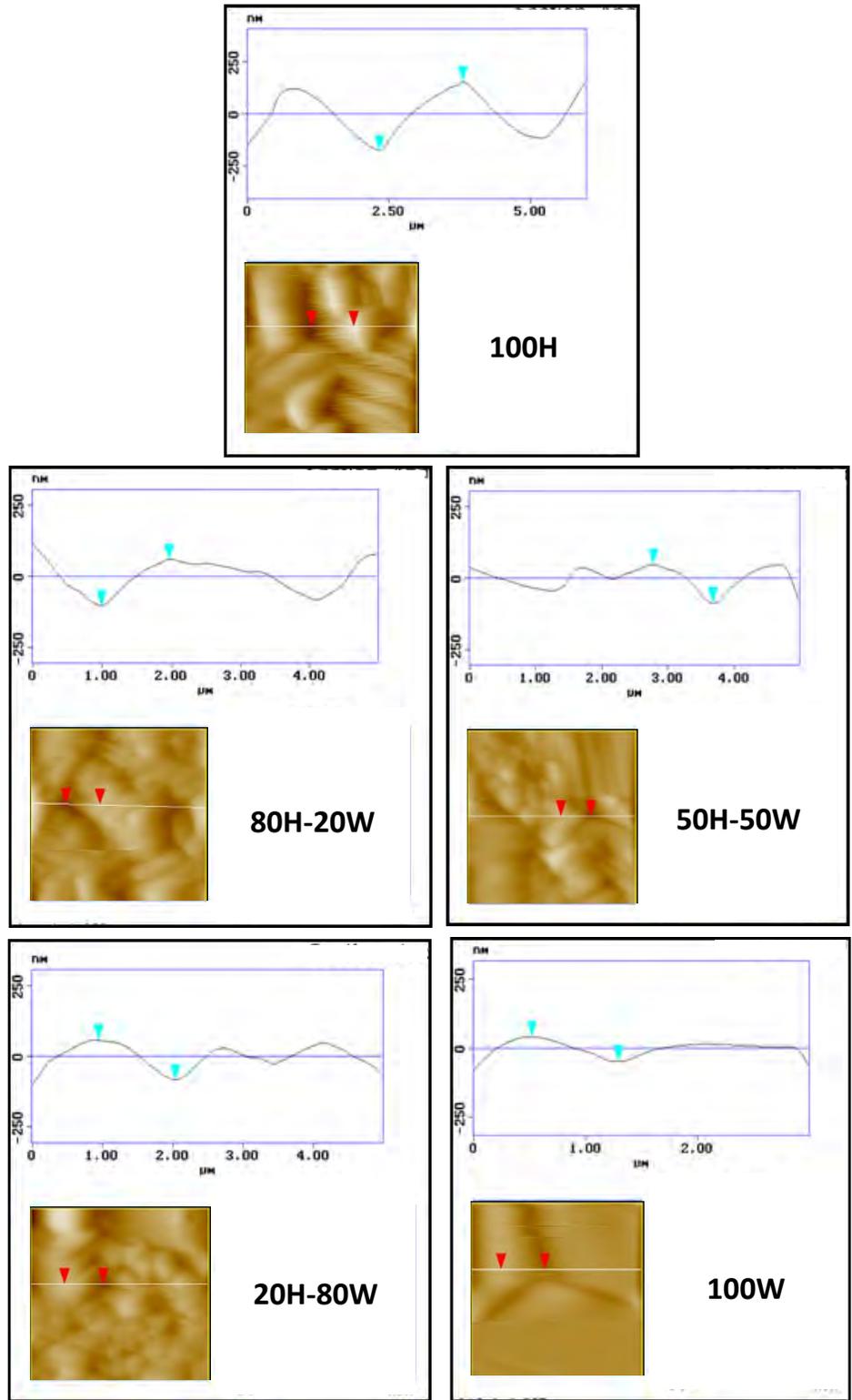


Figura 67 Análisis de sección después de las pruebas de nanoindentación con una misma carga de 2500 μN , en los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W).

La dureza H , y el módulo elástico reducido E_r , se obtuvieron de las curvas de nanoindentación mediante la teoría propuesta por Oliver y Pharr [144,145]. Las Figuras 68 y 69 muestran respectivamente, los perfiles de H y E_r de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), en función de la profundidad de contacto h_c , del indentador. En ellas se puede apreciar que tanto H como E_r aumentan conforme el contenido de wollastonita se incrementa en los materiales. Asimismo, estos valores permanecen prácticamente constantes, con respecto a los valores de h_c , lo que pone de manifiesto la homogeneidad de las propiedades mecánicas analizadas, conforme aumenta la distancia desde la superficie al interior de estos materiales [189].

Los valores promedio y las desviaciones estándar para H y E_r mostrados en la Tabla VIII y la Figura 70, fueron adquiridos de un total de 20 indentaciones para cada compósito. En la Figura 70 se observa una tendencia al incremento de la dureza y el módulo elástico reducido cuando el contenido de wollastonita aumenta en los materiales. Comparando los datos de H y E_r de los compósitos sinterizados de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), con los valores de la hidroxiapatita sinterizada (100H), se observa que los valores promedio máximos corresponden al compósito 20H-80W, resultando en un incremento de aproximadamente 200% en H y 45% en E_r con relación a los valores de 100H. Esto es una clara indicación de cómo la wollastonita incrementa de una forma eficiente las propiedades mecánicas en los compósitos.

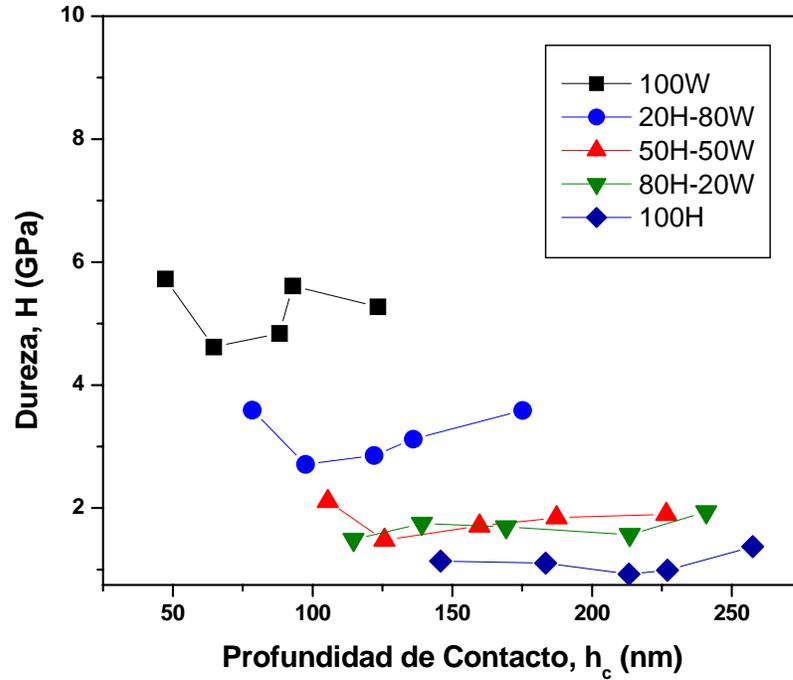


Figura 68 Perfiles de dureza H , de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W) en función de la profundidad de contacto h_c .

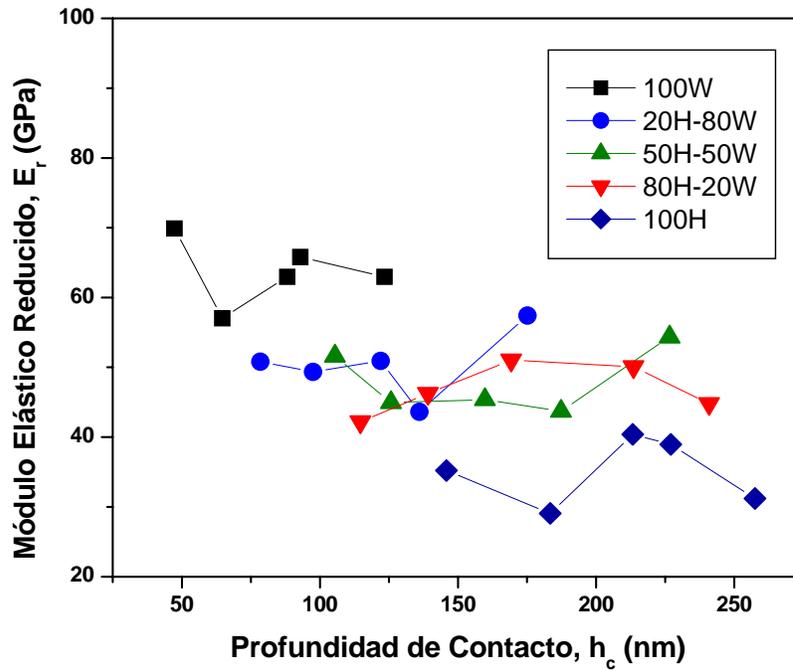


Figura 69 Perfiles del módulo elástico reducido E_r , de los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W) en función de la profundidad de contacto h_c .

Tabla VIII Valores promedio de la dureza H , y el módulo elástico reducido E_r , de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, en función del porcentaje en peso de wollastonita.

Contenido de Wollastonita (% wt)	Dureza, H (GPa)	Módulo Elástico Reducido, E_r (GPa)
0	1.10 ± 0.17	34.97 ± 4.85
20	1.68 ± 0.17	46.87 ± 3.68
50	1.80 ± 0.23	47.99 ± 4.68
80	3.17 ± 0.40	50.42 ± 4.91
100	5.21 ± 0.47	63.73 ± 4.70

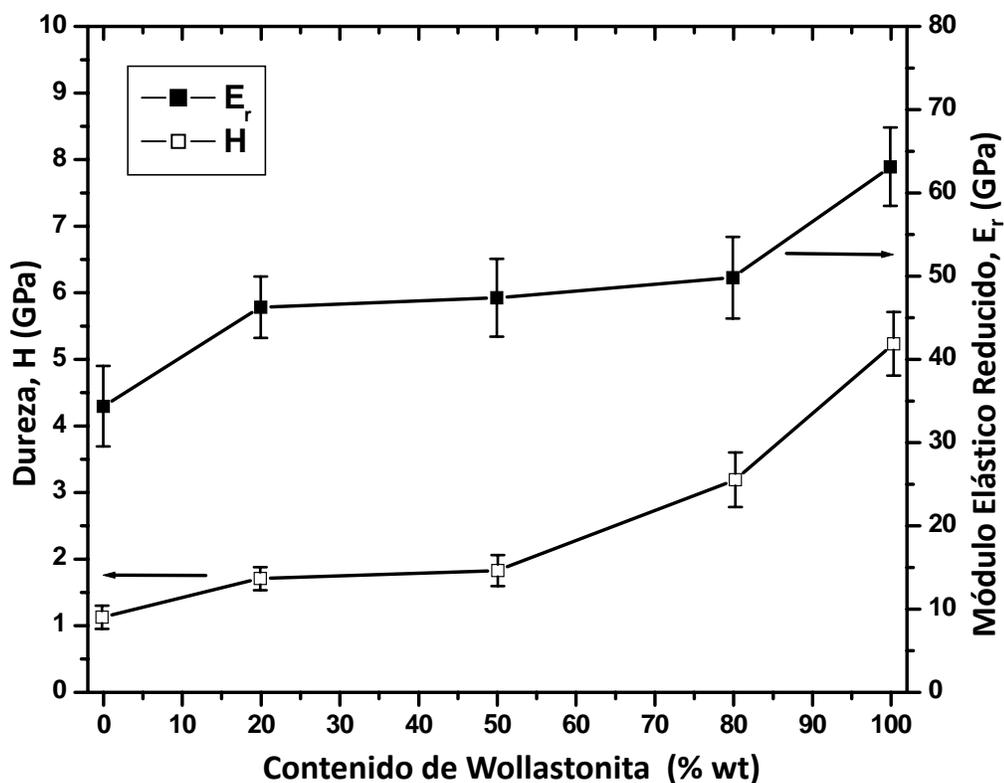


Figura 70 Valores promedio de la dureza H , y el módulo elástico reducido E_r , de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, en función del porcentaje en peso de wollastonita.

Los valores de H y E_r encontrados en los materiales de este trabajo, son comparables a los reportados por otros estudios [184], al analizar con la misma técnica y el mismo equipo, los valores de la dentina, el esmalte dental y la frontera entre ambas regiones, en piezas dentales sometidas a procesos de fluorinado, con el objeto de contrarrestar el efecto de desmineralización debida al uso de aparatos de ortodoncia. La Figura 71 muestra el análisis de las propiedades mecánicas de una de estas piezas dentales, donde se observan valores de H y E_r aproximados a los encontrados en los materiales del presente estudio. Asimismo, se puede apreciar en las curvas de carga-desplazamiento, un comportamiento mecánico muy parecido al que se presentó en los materiales base y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita. Por otro lado, los diferentes valores de H y E_r encontrados en estos materiales, comprenden tanto las características mecánicas de los huesos corticales como las de los huesos trabeculares o esponjosos [2,22,192,193].

Lo anterior pone de manifiesto, que según la formulación y consecuentemente las propiedades mecánicas de los materiales base y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita sinterizados en este estudio, estos pueden tener diversas aplicaciones, de acuerdo a la naturaleza del tejido duro que se desee restablecer.

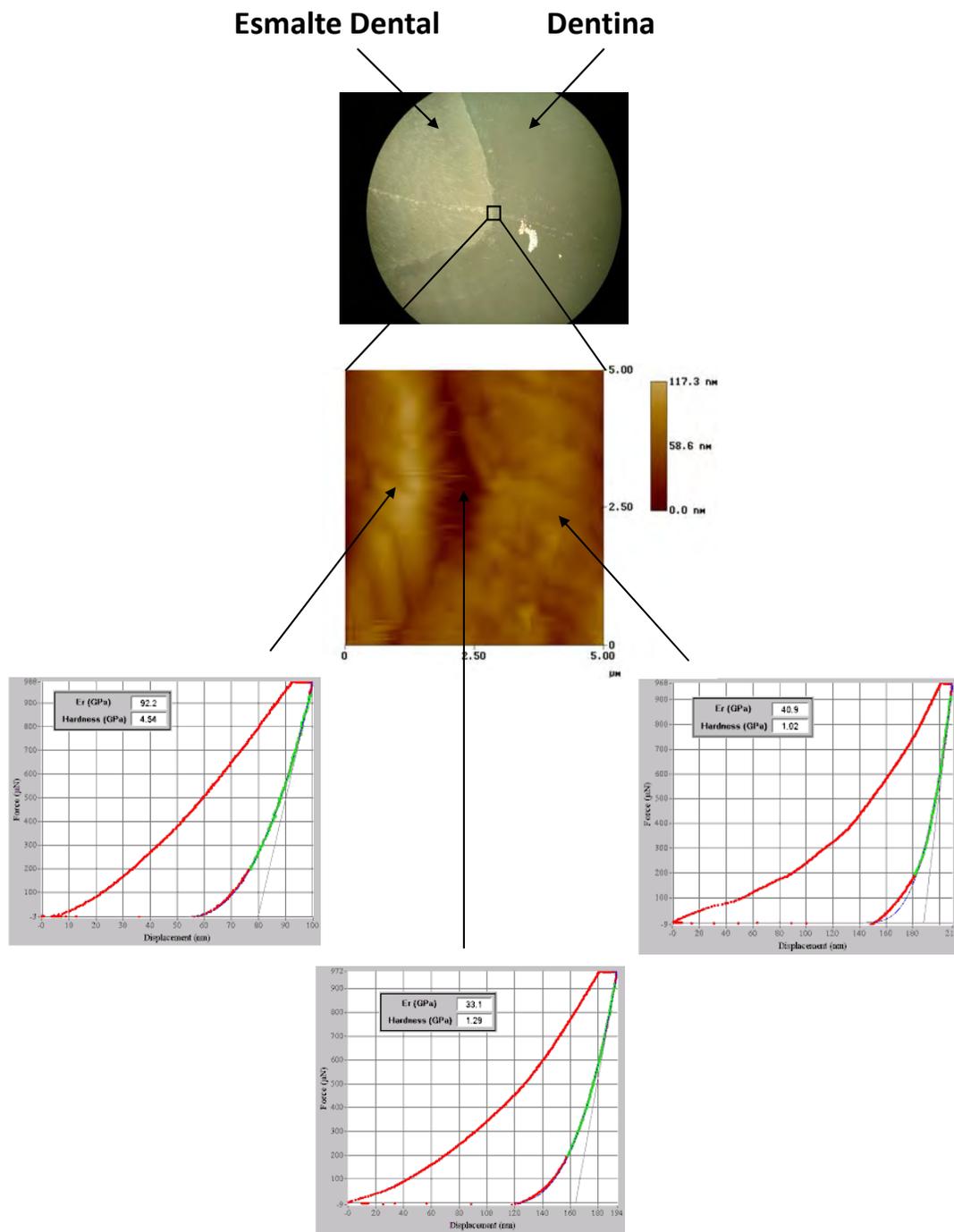


Figura 71 Esmalte, dentina y la frontera entre ambas regiones en una pieza dental, mostrando la morfología y las propiedades mecánicas correspondientes [184].

4.4. Evaluación de Propiedades Bioactivas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.

4.4.1. Evaluación en Fluido Fisiológico Simulado

Las Figuras 72 y 74 muestran las imágenes de SEM de las superficies de los materiales, después de sumergirse en la solución SBF durante varios períodos de tiempo. La Figura 73 muestra la superficie de los materiales base (100H y 100W) sumergidos durante 1, 2 y 3 semanas. Las imágenes de 100H muestran desde la primer semana, la desaparición de las fronteras de los cristales, apreciándose pequeñas fisuras debidas a la presencia de una capa superficial, de un nuevo material formado por la aglomeración de pequeñas partículas de apariencia esférica. Después de 2 y 3 semanas, el número de partículas aglomeradas aumenta con la formación de nuevas partículas sobre las superficies de otras partículas, formando cúmulos en forma de hojuelas, las cuales consisten en pequeñas partículas, en lugar de propiciar un crecimiento en tamaño de las partículas previamente formadas. La textura de esta capa consiste en partículas débilmente condensadas, presentando alta porosidad y alta rugosidad en la superficie. A esta nueva capa la denominaremos "apatita neoformada", por su semejanza con las apatitas biológicas formadas por los materiales bioactivos al estar en contacto con fluidos fisiológicos.

En la muestra 100W, la capa de apatita neoformada crece como resultado del incremento del tamaño de las partículas, así como por la formación de nuevas partículas sobre la superficie de otras partículas [194], mostrando fracturas grandes y profundas. Esta capa aparece más gruesa y densa que la capa formada sobre 100H.

La Figura 73 muestra los espectros EDS de las superficies de los materiales base (100H y 100W), sumergidos durante 3 semanas en la solución SBF, en los cuales se muestra claramente que la nueva superficie corresponde a un fosfato de calcio carbonatado, con constituyentes químicos semejantes a los de las apatitas biológicas.

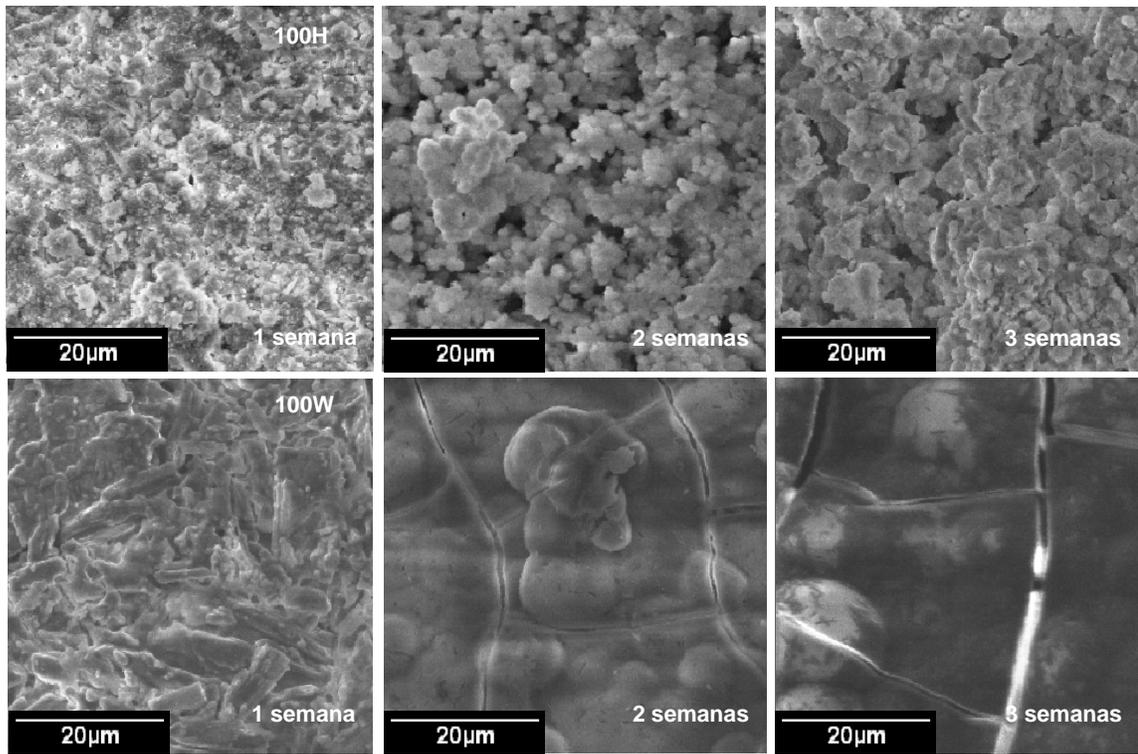


Figura 72 Imágenes de SEM de las superficies de los materiales base (100H y 100W), inmersos en la solución SBF durante 1, 2 y 3 semanas.

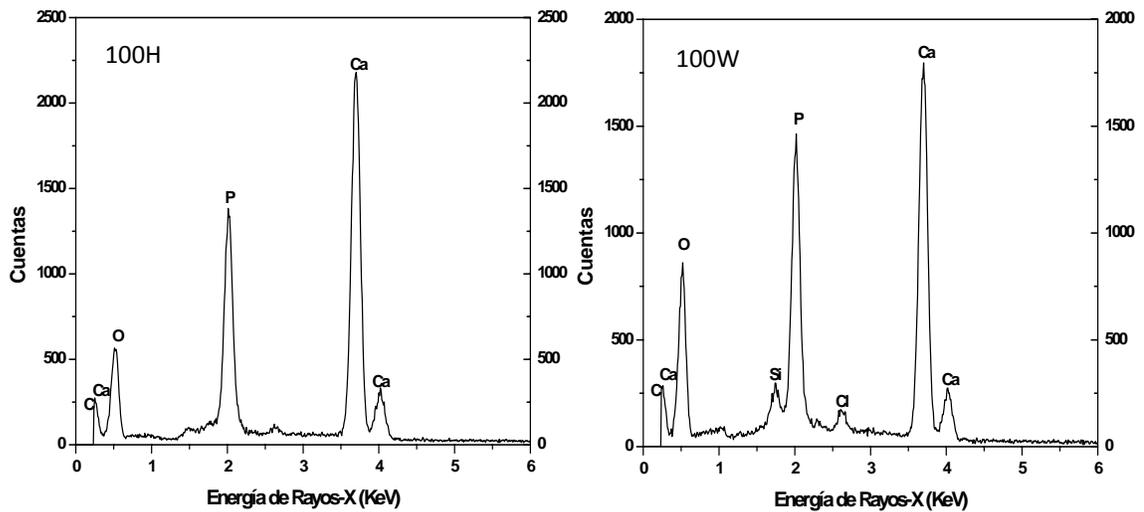


Figura 73 Espectros EDS de las superficies de los materiales base (100H y 100W), inmersos en la solución SBF durante 3 semanas.

Las imágenes de la Figura 74 muestran una tendencia similar en las superficies de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), después de sumergirse en la solución SBF durante 1, 2 y 3 semanas, demostrando que el comportamiento para la formación de la capa de apatita neoformada en los compósitos, tiene características de ambos materiales base. Asimismo, las capas son más gruesas, densas y homogéneas, conforme la wollastonita aparece en mayor proporción en estos materiales, (Figura 75).

Las diferentes características en el comportamiento para la formación, así como en la textura de las capas de apatita neoformada en los compósitos, indican que los materiales presentan diferente bioactividad y biodegradación [195], lo cual está directamente relacionado con su microestructura, área superficial y las fases presentes.

Las Figuras 76a y 76b muestran los patrones de difracción de rayos-X de las capas de apatita neoformadas sobre la superficie de 100H, 100W, 50H-50W y 20H-80W, al sumergirse en la solución SBF durante 1 y 3 semanas. Los patrones XRD de todas las capas indican que el compuesto formado corresponde a una apatita semejante al componente que forman los huesos (bone-like apatite). Estas capas de apatita crecen en orientaciones preferenciales en los patrones XRD manifestadas por altas intensidades de los picos correspondientes a las reflexiones de los planos (211), (300), (002), (102), y (112). Asimismo, comparando la intensidad relativa de los picos de wollastonita e hidroxiapatita en los compósitos 50H-50W y 20H-80W, en las Figuras 76c y 76d, puede deducirse que la wollastonita, se disuelve más rápido que la hidroxiapatita al ponerse en contacto con la solución SBF [75].

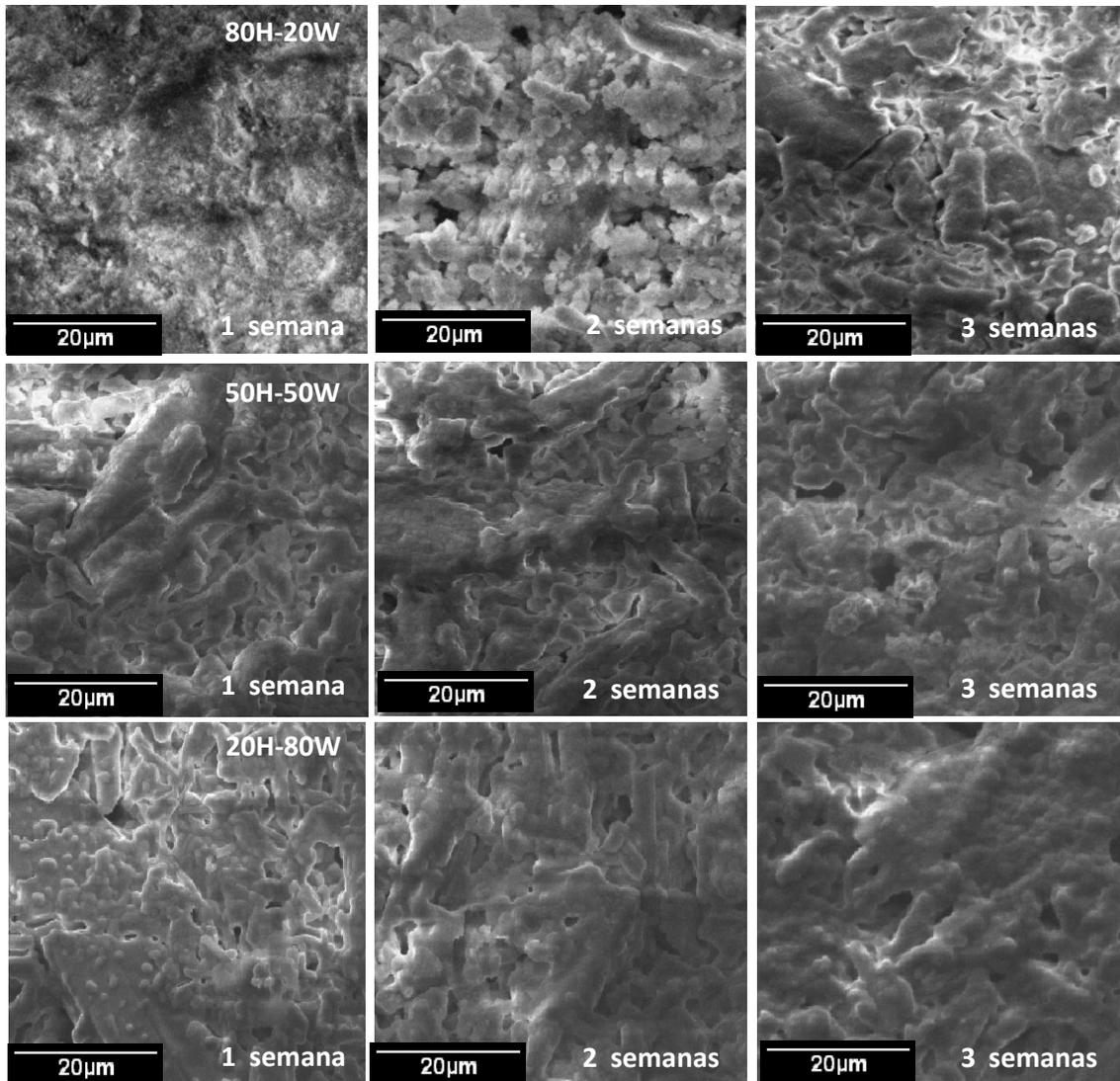


Figura 74 Imágenes de SEM de las superficies de los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), inmersos en la solución SBF durante 1, 2 y 3 semanas.

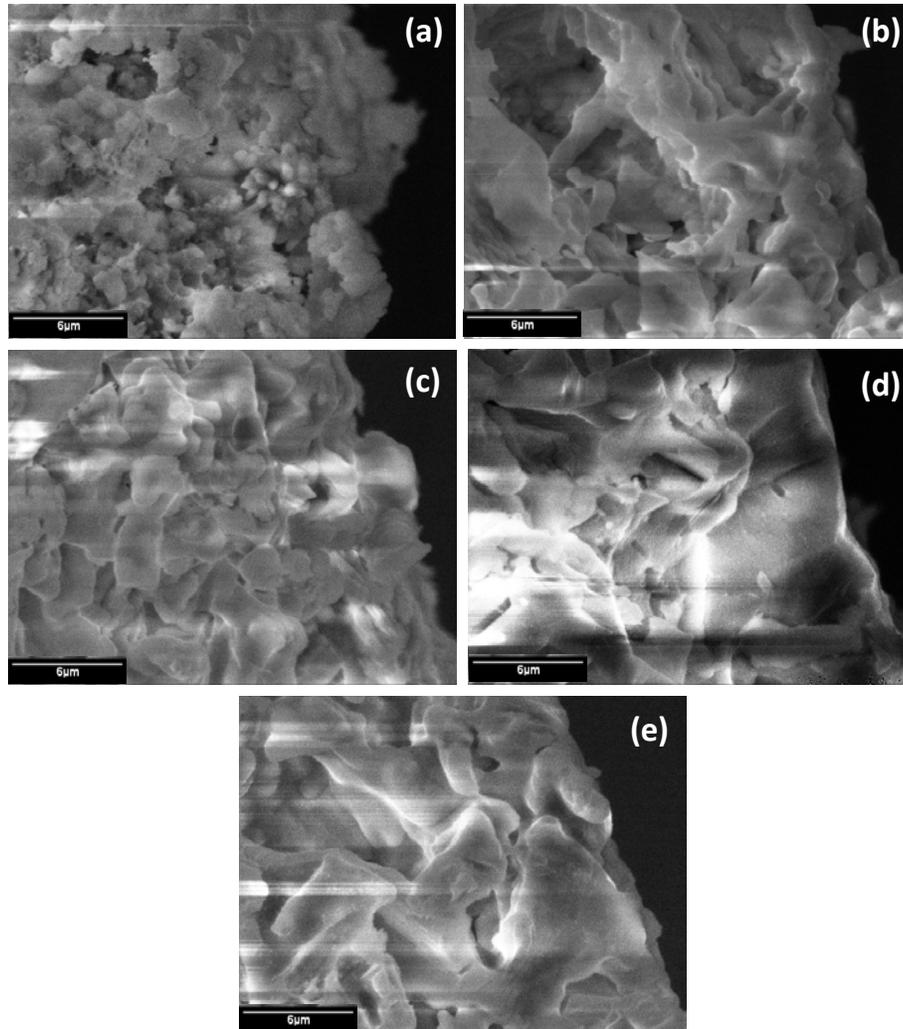


Figura 75 Imágenes de SEM de la sección transversal de la capa de hidroxiapatita neoformada sobre las superficies de (a) hidroxiapatita, (e) wollastonita y los composites de hidroxiapatita-wollastonita, (b) 80H-20W, (c) 50H-50W y (d) 20H-80W, inmersos en la solución SBF durante 3 semanas.

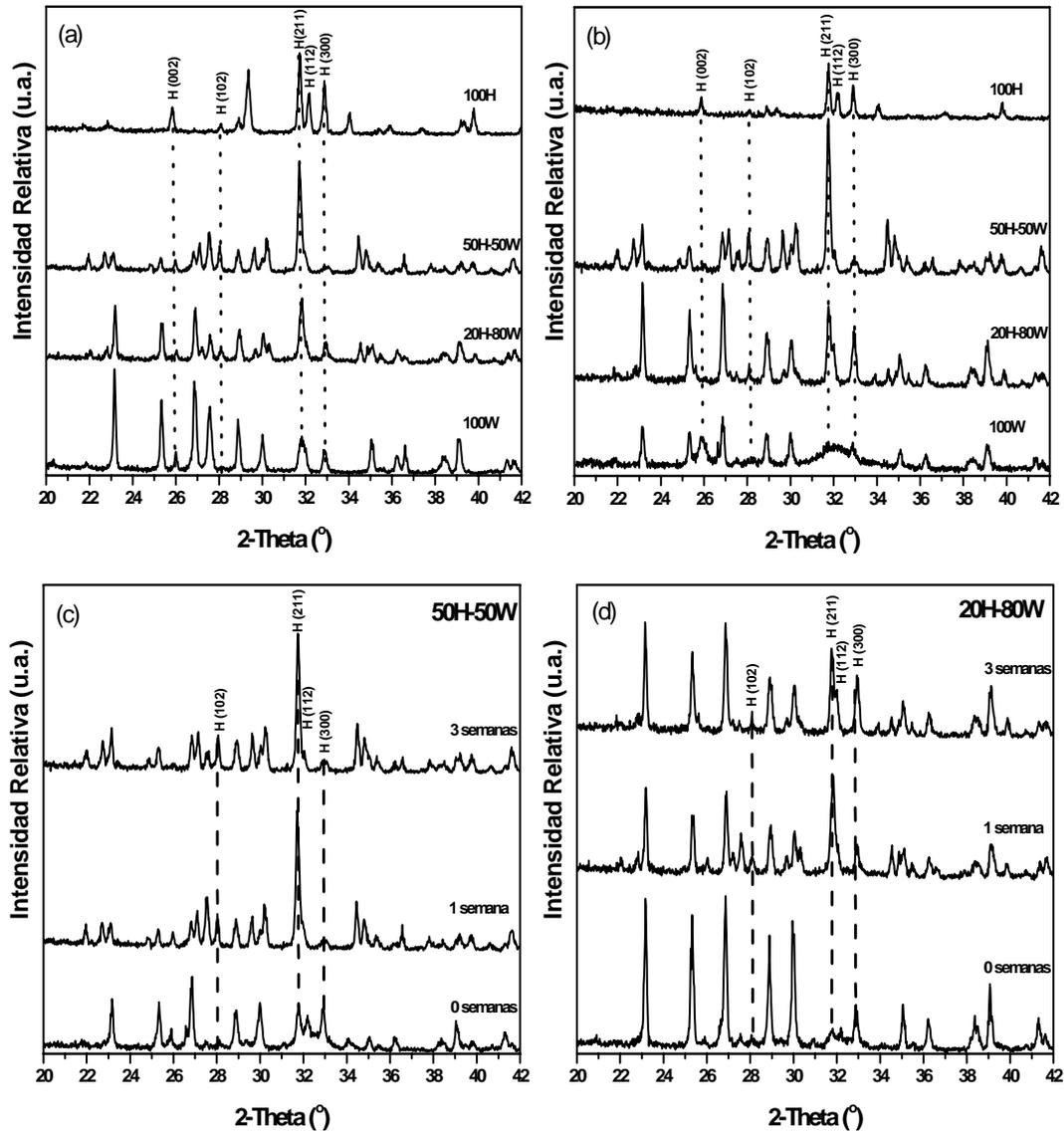


Figura 76 Patrones de difracción de rayos-X de los materiales después de: (a) 1 semana y (b) 3 semanas de inmersión en la solución SBF. Patrones de difracción de rayos-X de los compósitos (c) 50H-50W y (d) 20H-80W después de 0, 1 y 3 semanas de inmersión en la solución SBF.

La Figura 77 muestra el espectro EDS y el espectro XPS de alta resolución en las regiones de Si 2*p* y P 2*p* para la muestra de wollastonita sinterizada (100W), antes y después de sumergirse durante 3 semanas en la solución SBF. En la Figura 77a, de acuerdo con el espectro EDS antes de que la tableta fuera sumergida en la solución SBF, los principales elementos detectados fueron Ca, Si y O, los cuales corresponden a los constituyentes de la wollastonita. Después de que esta tableta fue sumergida durante 3 semanas en la solución

SBF, el espectro EDS de la superficie de la tableta detectó como elementos principales al Ca, P, O y C, correspondientes a una capa de un fosfato de calcio carbonatado, semejante al componente de los tejidos duros del organismo, Figura 77b . La presencia de pequeñas cantidades de Si detectadas en el análisis, puede deberse a porciones remanentes de la superficie de la wollastonita, las cuales no han sido totalmente cubiertas por esta capa de apatita neoformada. La Figura 77c muestra los espectros XPS de alta resolución en la región Si $2p$ para la muestra 100W antes y después de sumergirse por 3 semanas en la solución SBF; estos gráficos muestran una gran diferencia en la intensidad de los picos. Antes de sumergirse en la solución SBF, el pico del orbital Si $2p$ aparece con una gran intensidad, localizado a una BE de 102.3 eV, la cual corresponde a la wollastonita, después de la inmersión por 3 semanas, aparece el mismo pico a la misma BE pero con muy pequeña intensidad, el cual corresponde aparentemente a la superficie remanente de wollastonita. La Figura 77d muestra el espectro XPS de alta resolución en la región P $2p$, para la muestra 100W antes y después de sumergirse por 3 semanas en la solución SBF; antes de sumergirse en la solución, no aparece la presencia de fósforo en la superficie de la muestra de wollastonita; sin embargo, después de sumergirse por 3 semanas en la solución, aparece un pico intenso en la región P $2p$, localizado a una BE de 133.5 eV, el cual corresponde a la capa de apatita neo formada. La Figura 77e muestra los espectros EDS, mostrando la evolución de la capa de apatita, producida sobre la muestra de wollastonita al sumergirse en la solución SBF durante 0, 1, 2 y 3 semanas. En esta figura se aprecia como gradualmente desaparecen los constituyentes de la wollastonita y aparecen los componentes de la capa de apatita.

Los espectros EDS y XPS para el resto de los materiales, reflejan una tendencia similar en las características químicas de las capas de fosfato de calcio formadas sobre sus superficies, Figuras 78 y 79-81. Ambas técnicas demuestran que la capa de apatita neoformada, como resultado de la interacción de los materiales con la solución SBF, es un fosfato de calcio con características similares a las apatitas biológicas que componen al tejido óseo.

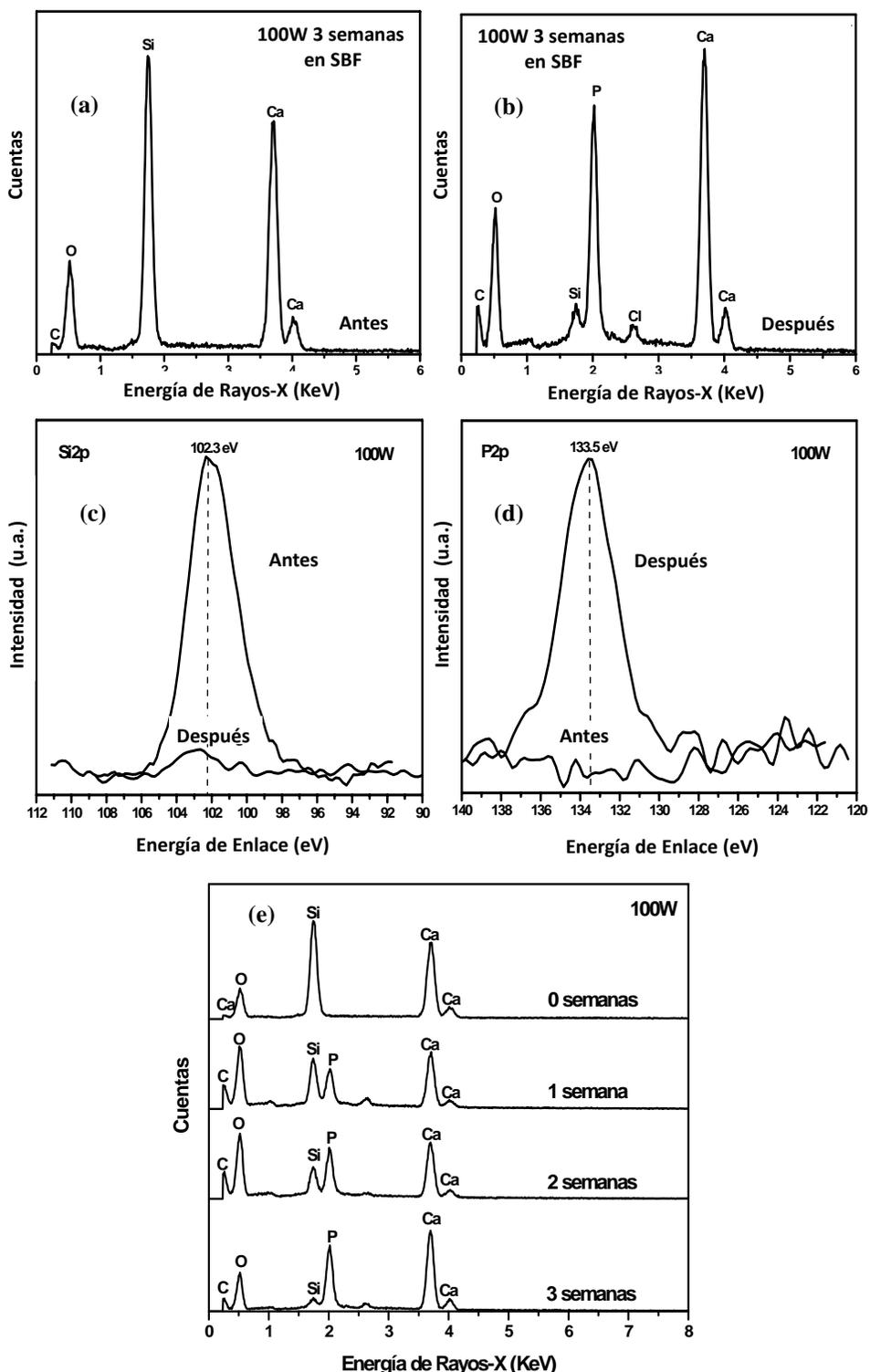


Figura 77 Espectros EDS (a) y (b) y espectros XPS de alta resolución en las regiones Si 2p (c) y P 2p (d) para 100W, antes y después de sumergirse durante 3 semanas en la solución SBF. (e) Espectros EDS de la evolución de la capa de apatita neoformada sobre la superficie de wollastonita (100W) durante 0, 1, 2 y 3 semanas de inmersión en la solución SBF.

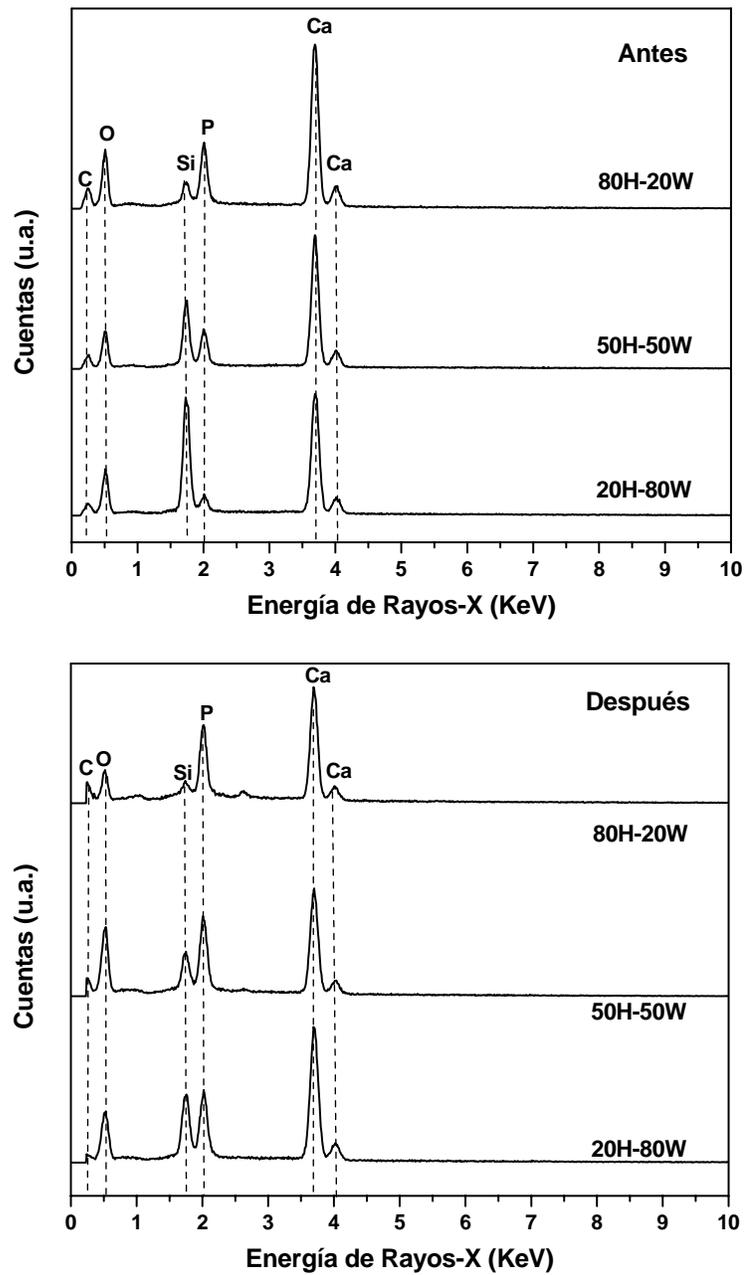


Figura 78 Espectros EDS, para los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF.

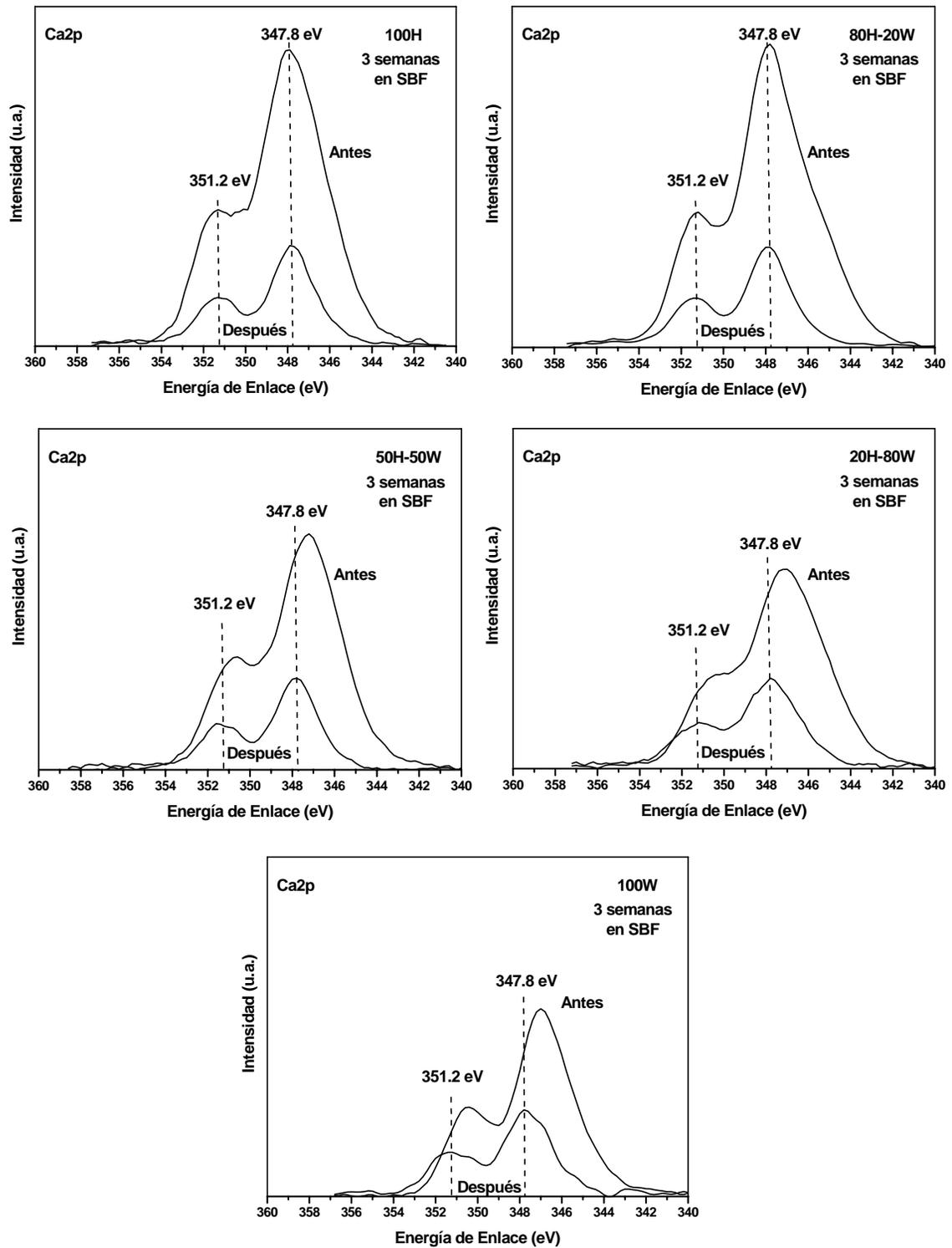


Figura 79 Espectros XPS de alta resolución en la región Ca 2p para los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF.

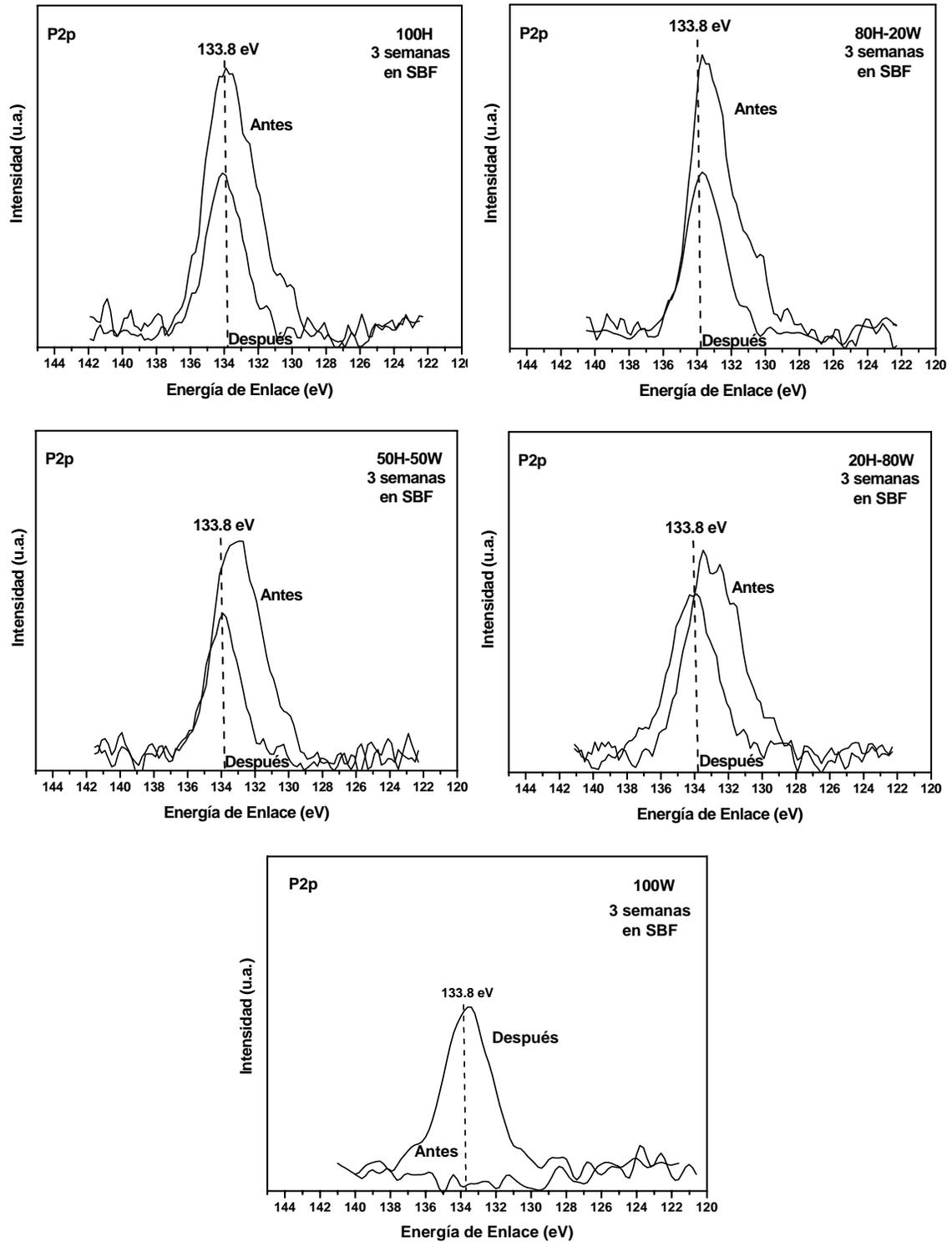


Figura 80 Espectros XPS de alta resolución en la región P 2p para los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF.

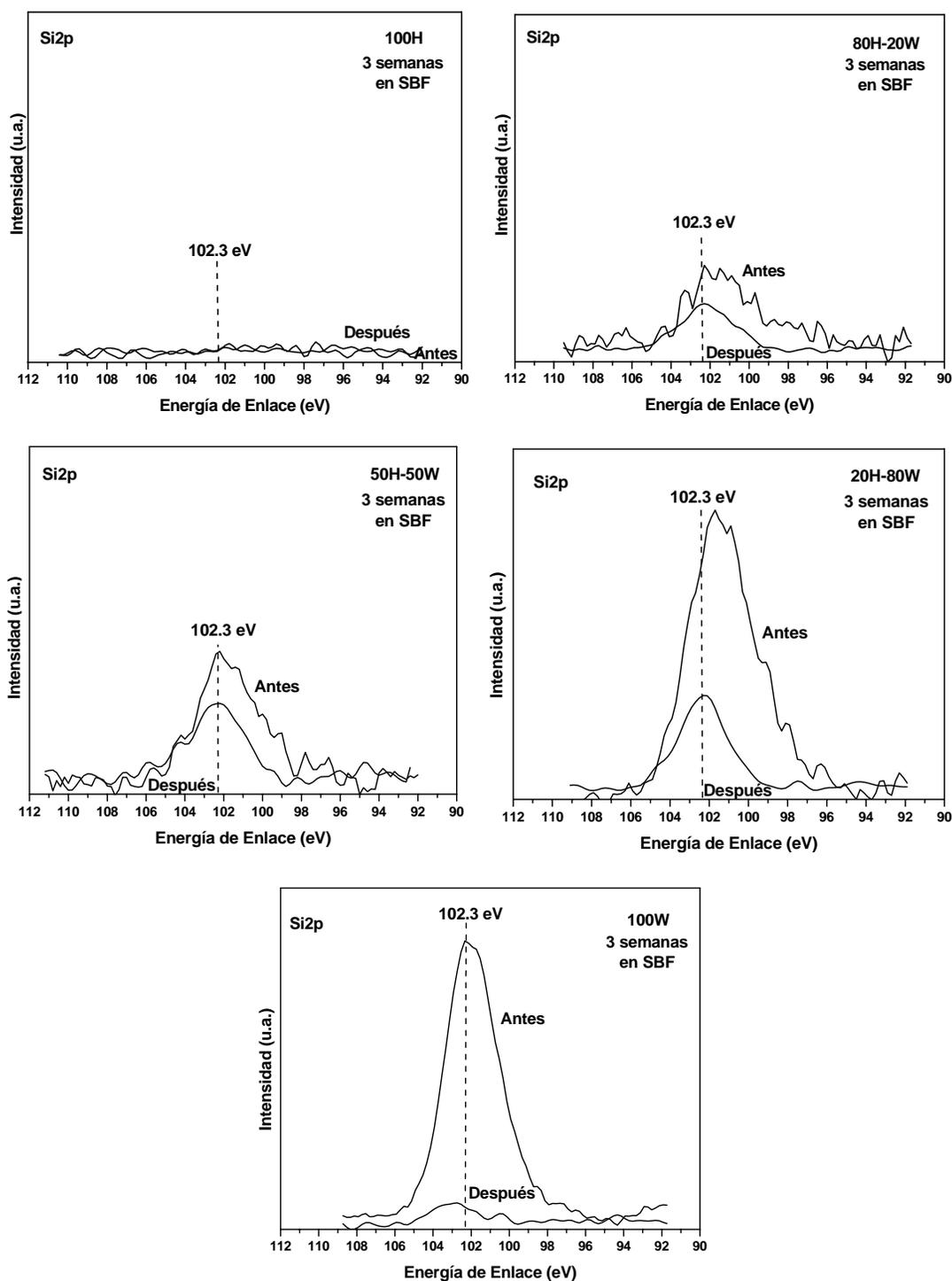


Figura 81 Espectros XPS de alta resolución en la región Si 2p para los materiales base (100H y 100W) y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita (80H-20W, 50H-50W y 20H-80W), antes y después de 3 semanas de inmersión en la solución SBF.

La Figura 82 muestra los cambios en pH y las variaciones en la concentración Ca, Si y P en la solución SBF, como resultado de la inmersión de los materiales en esta solución, durante varios períodos de tiempo; tales cambios son correlacionados con la bioactividad de los mismos.

Para el caso de 100H, la figura muestra un ligero decremento en las concentraciones de Ca y P en la solución SBF, a lo largo de todo el período de inmersión, asimismo, los valores de pH exhiben un comportamiento prácticamente constante a lo largo de todo el período de evaluación. Lo anterior pone de manifiesto, que la muestra hidroxiapatita sinterizada, presenta una velocidad de disolución baja, con relación al consumo de Ca y P a partir de la solución SBF para la producción de la capa de apatita sobre su superficie. Aunque otros estudios han reportado un incremento de estos iones en las etapas iniciales de inmersión, estas no fueron apreciadas en este estudio, ya que la primera muestra fue analizada después de una semana de inmersión.

Para el caso de la muestra de wollastonita natural y los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita sinterizados, la figura muestra, desde las etapas iniciales de inmersión, un incremento en las concentraciones de Ca y Si, mientras que la concentración de P disminuye durante la primera semana para después mantenerse constante. Asimismo, se aprecia un incremento del pH durante las primeras dos semanas, el cual tiende a disminuir ligeramente durante la tercer semana, y a estabilizarse. En el caso de los compósitos, los iones Ca pueden disolverse de ambos materiales, hidroxiapatita y wollastonita, mientras que los iones Si y P pueden disolverse únicamente de la wollastonita y la hidroxiapatita respectivamente [73]. Sin embargo, la disolución de P a partir de la hidroxiapatita, la cual debiera manifestarse como un incremento de la concentración de este elemento en la solución SBF, durante los primeros días de inmersión, no puede ser apreciada en los diagramas de la Figura 82, debido a que los primeros valores fueron tomados después de una semana de inmersión.

La disolución de iones Ca de los materiales en la solución SBF permite un incremento en el grado de supersaturación local, causando un incremento en el pH de la solución, dando como resultado la precipitación de apatita mediante el consumo de Ca^{2+} , PO_4^{3-} y OH^- , lo cual se refleja en una disminución en la concentración de los iones P de la solución SBF [194]. Sin embargo, aunque para la producción de la capa de apatita neoformada se consuman iones Ca, la disolución de estos iones a partir de los materiales, es mayor que su consumo, con excepción de 100H. Subsecuentemente, la concentración de iones Ca y Si continúa aumentando mientras que la concentración de iones P continúa disminuyendo, lo cual indica que este ion también es utilizado para la producción de la capa de apatita.

En la wollastonita, la disolución de los iones Ca es más rápida que la de los iones Si. Los iones Ca son liberados hacia la solución, con la cual intercambia iones H, para formar una capa de sílica hidratada, sobre la superficie de las fibras de wollastonita, dando lugar a la formación de grupos Si-OH, los cuales han sido reconocidos como catalizadores para la nucleación y crecimiento de la capa de apatita neoformada [73,196-198].

Por otro lado, la hidroxiapatita sinterizada al ser expuesta a la solución SBF, exhibe una carga superficial negativa, debida a la presencia de los iones fosfato e hidroxilo, la cual permite la interacción con los iones Ca de la solución, para formar una capa de fosfato de calcio amorfo “rico” en calcio, con una carga superficial positiva. Esta interactúa con los iones fosfato de la solución, dando lugar a la formación de una capa de fosfato de calcio amorfo “pobre” en calcio, la cual se estabiliza cristalizando en la capa de apatita neoformada final [199-200]. La cinética de este proceso está directamente influenciada por las temperaturas de sinterización, resultando en un proceso más lento, en los materiales que son sinterizados a altas temperaturas [199].

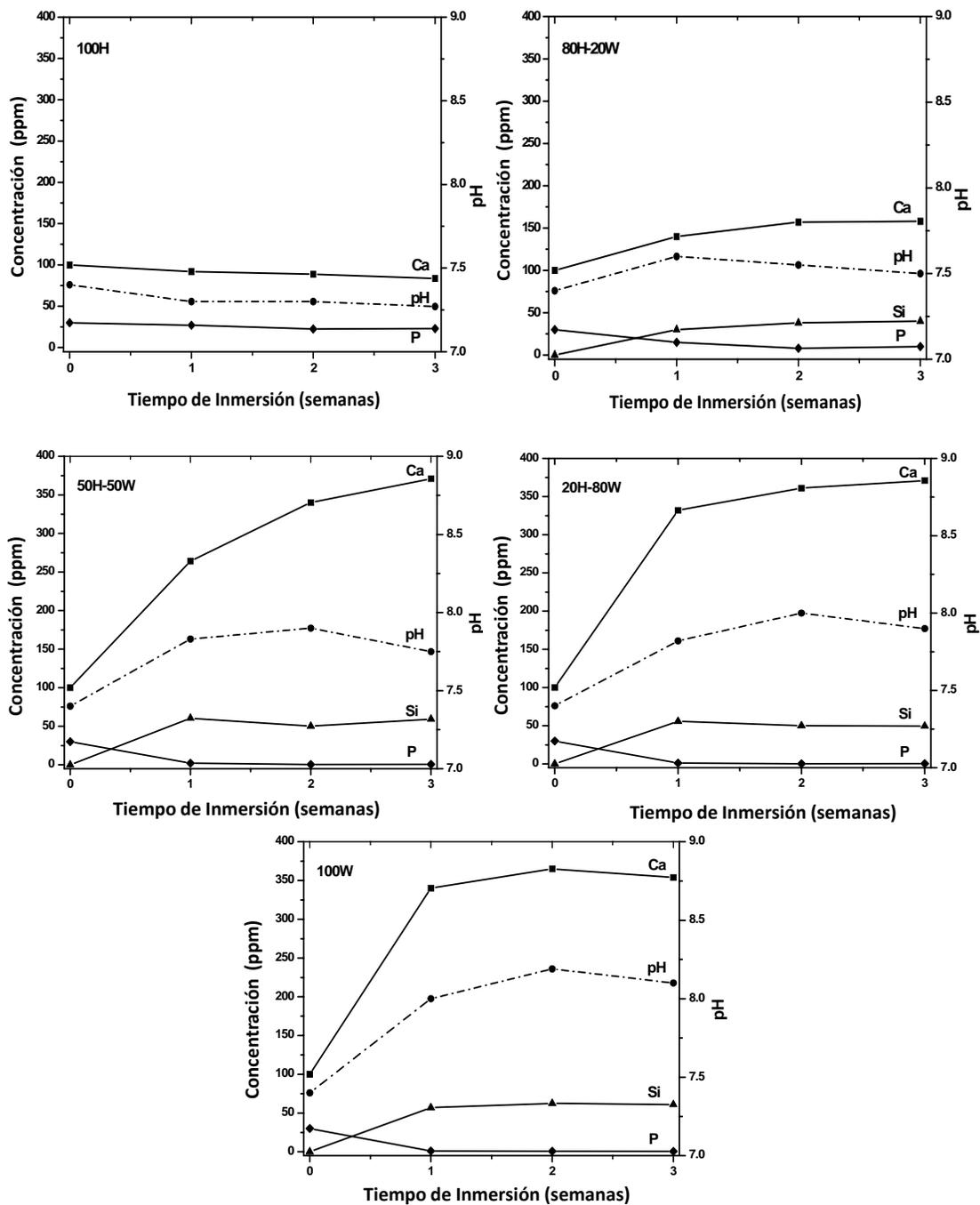


Figura 82 Variación en la concentración de Ca, P y Si y valores de pH en la solución SBF, cuando los materiales base (100H y 100W) y los compósitos 80H-20W, 50H-50W, 20H-80W, fueron sumergidos durante 1, 2 y 3 semanas en esta solución.

Todos los materiales estudiados, mostraron habilidad para la formación de una nueva capa de apatita sobre sus superficies al ponerse en contacto con la solución SBF, sin embargo, las variaciones en la concentración de los iones Ca, P y Si, así como el comportamiento del pH de la solución fisiológica simulada, demuestra que durante las pruebas de inmersión, tiene lugar la disolución superficial de los materiales con un consumo simultáneo de P desde la solución, resultando más rápida conforme el contenido de wollastonita aumenta en los mismos, produciendo capas de apatita más gruesas y densas.

Los análisis anteriores indican que la bioactividad de la wollastonita y los composites de hidroxiapatita-wollastonita sinterizados es superior a la bioactividad de la hidroxiapatita sinterizada en este estudio, siendo más evidente a partir del compuesto 50H-50W. Por tanto se puede concluir que tal grado de bioactividad es superior en 100W, 20H-80W, 50H-50W, 80H-20W y 100H respectivamente. Lo cual puede deberse a que la velocidad de disolución de la fase de wollastonita fue superior a la de fase de hidroxiapatita en la solución SBF. Después de períodos de inmersión prolongados, las concentraciones de Ca, Si y P permanecen prácticamente constantes, indicando un aparente estado de equilibrio entre los mecanismos de disolución y precipitación.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las conclusiones más importantes de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se indican en los puntos siguientes:

I) Síntesis y Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita

- Se sintetizaron compósitos de hidroxiapatita-wollastonita utilizando una técnica sol-gel, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato como agentes precursores de hidroxiapatita y wollastonita natural de alta pureza como fase de refuerzo.
- Los geles secos producidos al final de la etapa sol-gel, consisten una mezcla de un fosfato de calcio amorfo y acetato de calcio remanente. Dicha mezcla resultó potencialmente activa para la formación de hidroxiapatita, mediante un proceso de tratamiento térmico posterior.
- La formación de hidroxiapatita en los compósitos ocurre a una temperatura relativamente baja en el intervalo de 400-420°C, acompañada de la formación de carbonato de calcio, en forma de calcita.
- Para eliminar el carbonato de calcio de los compósitos se requirió de un tratamiento térmico adicional a 1000°C, para descomponer el carbonato de calcio en óxido de calcio.
- Para eliminar el óxido de calcio de los compósitos y obtener únicamente las fases de hidroxiapatita y wollastonita en los productos finales, se requirió de lavados con ácido clorhídrico 0.01M, convirtiendo al óxido de calcio en cloruro de calcio.

- Aprovechando la alta solubilidad del cloruro de calcio en agua, comparada con la baja solubilidad del resto de las fases en este medio, se practicaron una serie de lavados con agua deionizada, para finalmente separar mediante filtración los residuos sólidos y líquidos.
- La fase de wollastonita permanece sin reaccionar a lo largo de todo el proceso de síntesis y purificación.
- La caracterización de los materiales purificados, mediante las técnicas XRD, FT-IR y Raman, demostró que los productos finales forman compósitos de hidroxiapatita carbonatada tipo B-wollastonita.
- Los análisis de la morfología externa e interna desarrollados en SEM y TEM, demostraron que las partículas de hidroxiapatita aparecen aglomeradas uniformemente sobre las fibras de wollastonita, mostrando tamaños submicrométricos del orden de 50-100 nm.

II) Sínterización y Caracterización de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita

- Los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita, comprimidos en forma de tabletas, se sinterizaron a 1200°C durante 5 h. Los análisis de XRD y XPS demostraron que estos materiales no experimentan transformaciones significativas durante este tratamiento, no encontrándose la presencia de nuevas fases, producto de la descomposición de los materiales base.
- La hidroxiapatita carbonatada y la wollastonita permanecen como fases individuales en los compósitos sinterizados, no existiendo evidencia de reacción entre ambas.

- El grado de carbonatación de la hidroxiapatita en los compósitos sinterizados, resultó menor comparado con el grado de carbonatación de los polvos sintetizados, dando como resultado la presencia de trazas de óxido de calcio.
- Los compósitos sinterizados presentan cierto grado de porosidad, indicando que a las condiciones de sinterización de este estudio, los materiales producidos no son totalmente densos. Este grado de porosidad, aunque mínimo, es importante para asegurar la eficiente integración de estos materiales con el tejido óseo, dando lugar a propiedades bioactivas más eficientes.

III) Evaluación de las Propiedades Mecánicas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.

- El análisis de las superficies de fractura de los compósitos, demostró la presencia de fenómenos asociados con esfuerzos interfaciales, tales como pequeñas decohesiones fibra-matriz (fiber debonding). Asimismo, la ausencia de impresiones debidas a extracciones de fibras de wollastonita de la matriz de hidroxiapatita (fiber pulled-out), fue un indicativo de las eficientes propiedades tensiles en los materiales.
- El análisis de las propiedades mecánicas, mediante técnicas de nanoindentación en los compósitos, reveló una fuerte tendencia al aumento en la dureza y el módulo elástico reducido, relacionada con el incremento de la cantidad de wollastonita en los materiales, demostrando que la adición de wollastonita en los compósitos, mejora sus propiedades mecánicas.

IV) Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita.

- El análisis de bioactividad de los compósitos, mediante su interacción con un fluido fisiológico simulado, durante varios períodos de tiempo, reveló la formación de una capa de apatita neo formada sobre sus superficies, similar a las apatitas biológicas que componen al tejido óseo.
- Mediante las técnicas SEM-EDS, XPS, XRD e ICP, se demostró que la formación de esta capa de apatita, se lleva a cabo mediante un mecanismo de disolución-precipitación.
- La velocidad de disolución y la consecuente precipitación, en el proceso de formación de apatita sobre la superficie de los materiales, resultó más rápida en la superficie de wollastonita en relación con la superficie de hidroxiapatita. Este efecto se manifestó en los compósitos, resultando en mecanismos de disolución-precipitación más rápidos, conforme el contenido de wollastonita aumenta en los materiales, dando lugar a capas de apatita más gruesas, densas y homogéneas.

Los compósitos de hidroxiapatita-wollastonita se sintetizaron mediante una ruta sol-gel adecuada, utilizando reactivos relativamente baratos y accesibles, con un procedimiento sencillo, complementado con tratamientos térmicos y lavados ácidos suaves para lograr su purificación. Las condiciones del proceso de sinterización, permitieron mantener las fases de hidroxiapatita y wollastonita prácticamente sin transformaciones significativas, lográndose obtener en todos los casos estructuras densas, mismas que mantuvieron cierto grado de microporosidad, dando lugar a una interrelación directa entre las propiedades mecánicas y bioactivas de los compósitos. La evaluación de propiedades mecánicas (H y E_r), demostró que estos materiales poseen eficiencias mecánicas que van desde los valores conocidos para el hueso esponjoso y cortical, hasta los de la dentina y el esmalte dentario, lo cual pone de manifiesto una amplia posibilidad de utilización de estos

materiales, para la reparación de lesiones en los tejidos duros del organismo. Asimismo, el análisis de bioactividad demostró que la wollastonita, además de influir directamente en las propiedades mecánicas de los compósitos, presenta también una fuerte influencia en la habilidad de estos materiales para producir una capa de apatita neoformada sobre sus superficies, la cual dará lugar a la unión directa entre estos materiales de implante y el tejido óseo, una vez que estos sean implantados en el organismo.

Por otro lado, tomando en cuenta la interrelación de las propiedades mecánicas y bioactivas, para las diferentes composiciones de hidroxiapatita y wollastonita en los compósitos, se puede sugerir la posibilidad de que estos materiales, no solo puedan usarse como materiales estructurales, sino también como inductores de osteoconducción, así como en tratamientos auxiliares de pulpotomía.

Entre las recomendaciones más importantes, para complementar esta investigación destacan las siguientes:

- Complementar la evaluación de la eficiencia mecánica de los compósitos, mediante el análisis de propiedades mecánicas adicionales, tales como tenacidad a la fractura, resistencia a la tensión y compresión, entre otras.
- Desarrollar un análisis de porosidad en los materiales, para determinar su relación con las propiedades mecánicas y bioactivas analizadas en este estudio.
- Desarrollar el estudio de biocompatibilidad para estos materiales, evaluando los puntos descritos en el capítulo 2, secciones 2.6.1 y 2.6.2 de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] M. Bostrom, A. Boskey, J. Kaufman, and T. A. Einhorn, "Form and Function of Bone," *Orthopaedic Basic Science, Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System*. eds. J.A. Buckwalter, T.A. Einhorn and S.R. Simon. American Academy of Orthopaedic Surgeons, 320-369, 2000.
- [2] E.S. Zansana Salamanca, "Estudio Comparativo de la Utilidad de los Cementos y Vidrios Basados en Fosfatos de Calcio como Sustitutivos Óseos en Defectos Cavitarios Experimentales," *Tesis Doctoral*, Universitat de Barcelona. Barcelona, España. Cap. 5, 195-196, 2004.
- [3] M.J. Olszta, X. Cheng, S.S. Jee, R. Kumar, Y. Kim, M.J. Kaufman, E. Douglas, and L.B.Gower, "Bone Structure and Formation: A New Perspective," *Materials Science & Engineering R*, 58 [3] 77-116 (2007).
- [4] J.D. Pasteris, B. Wopenka, and E. Valsami-Jones," Bone and Tooth Mineralization: Why Apatite," *Elements*, 4 97-104 (2008).
- [5] B. Wopenka and J.D. Pasteris, "A Mineralogical Perspective on the Apatite in Bone," *Materials Science and Engineering C*, 25 131–143 (2005).
- [6] J.K. Weaver, "The Microscopic hardness of Bone," *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 48 273-288 (1966).
- [7] T. Hasenkam, G.E. Fatner. J.A. Cutroni, J.C. Weaver. D.E. Morse, and P.T. Hansma, "High-resolution ASFM Images of Intact and Fractured Trabecular Bone," *Bone*, 35 4-10 (2004).
- [8] P.S. Malchesky, "Artificial Organs 2003: A Year in Review," *Artif. Organs.*, 28 [4] 410-428 (2004).
- [9] J.L. Brash, "Biomaterials in Canada: The First Four Decades," *Biomaterials* 26 7209-7220 (2005).
- [10] L.L. Hench, "Biomaterials: a Forecast for the Future," *Biomaterials*, 19 1419–1423 (1998).

- [11] B.D. Ratner and L.L. Hench, "Perspectives on Biomaterials, Current Opinion," *Solid State and Materials Science*, 4 379-380 (1999).
- [12] H. Alexander, J.B. Brunsky, S.L. Cooper, L.L. Hench, L.W. Hergenrother, A.S. Hoffman, J. Khon, R. Langer, N.A. Peppas, B.D. Ratner, S.W. Shalaby, S.A. Visser, and L.V. Yannas "Classes of Materials Used in Medicine," *Biomaterials Science. An Introduction to Materials in Medicine*. eds. B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, and J-E. Lemons. Academic Press. USA, 37-124, 1996.
- [13] L.L. Hench, "Bioceramics: From Concept to Clinic," *Journal of the American Ceramic Society*; 74 [7] 1487-1510 (1991).
- [14] L.L. Hench, "Bioceramics," *J. Am. Ceram. Soc.*, 81 [7] 1705–28 (1998)
- [15] M. Jarcho, "Calcium Phosphate Ceramics as Hard Tissue Prosthetics," *Clin. Orthop.*, 259-278 (1981).
- [16] S.M. Best, A.E Porter, E.S. Thian, and J. Huang, "Bioceramics: Past, Present and for the Future," *Journal of the European Ceramic Society*, 28 [7] 1319-1327 (2008).
- [17] J.E. Lemons, "Ceramics: Past, Present and Future," *Bone*, 19 [1] 121-128 (1996).
- [18] M. Vallet-Regí, "Ceramics for Medical Applications," *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2 97–108 (2001).
- [19] R. Schenetter, J. P. Sthal, V. Alt, T. Pavlidis, E. Dingeldein, and S. Wenisch, "Calcium Phosphate-Based Bone Substitutes," *European Journal of Trauma*, 4 219-229 (2004).
- [20] R.M. Meffert, "Ceramic-Coated Implant Systems," *Adv. Dent. Res.*, 13 170-172 (1999)
- [21] T.V. Thamaraiselvi and S. Rajeswari, "Biological Evaluation of Bioceramic Materials. A Review," *Trends Biomater. Artif. Organs.*, 18 [1] 9-17 (2004).
- [22] E. Goyenvalle, O. Gauthier, J. M. Bouler, J. C. Le Nihouannen, G. Daculsi, et E. Aguado, "Intérêts et Limites des Céramiques Phosphocalciques en Chirurgie Orthopédique Vétérinaire," *Revue Méd. Vét.*, 151 [4] 291-302 (2000).

- [23] S-H. Kwon, Y-K- Jun, S-H Hong, and H-E Kim, "Synthesis and Dissolution Behavior of β -TCP and HA/ β -TCP Composite Powders," *Journal of the European Ceramic Society*, 23 1039–1045 (2003).
- [24] L.C. Chow, "Solubility of Calcium Phosphates," *Octacalcium Phosphate. Monogr. Oral Sci.*, eds. L.C. Chow and E.D. Eanes. Basel, Karger 18 94-111 (2001).
- [25] Z-F. Chen, B.W. Darvell, and V.W-H. Leung, "Hydroxyapatite solubility in simple inorganic solutions," *Archives of Oral Biology*, 49 359-367 (2004).
- [26] R.Z. LeGeros, "Calcium Phosphate Materials in Restorative Dentistry: A Review," *Adv. Den. Res.*, 2 [1] 164–180 (1998).
- [27] R. Petit, "The Use of Hydroxyapatite in Orthopaedic Surgery: A Ten-Year Review," *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol.*, 9 71-74 (1999).
- [28] W. Suchanek and M. Yoshimura, "Processing and Properties of Hydroxyapatite Based Biomaterials for Use as Hard Tissue Replacement Implants," *J. Mater. Res.*, 13 [1] 94-117 (1998).
- [29] M.P. Ferraz, F.J. Monteiro, and C.M. Manuel, "Hydroxyapatite Nanoparticles: A Review of Preparation Methodologies," *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*, 2 74-80 (2004).
- [30] Y.X. Dazhi-Wang and L.Y. Honggao-Tang, "Hydrothermal Conversion of Coral into Hydroxyapatite," *Materials Characterization*, 47 83– 87 (2001).
- [31] K. Ioku, S. Yamauchi, H. Fujimori, S. Goto, and M. Yoshimura, "Hydrothermal Preparation of Fibrous Apatite and Apatite Sheet," *Solid State Ionics*, 151 147–150 (2002).
- [32] S. Padilla, M. Vallet-Regí, M.P. Ginebra, and F.J. Gil, "Processing and Mechanical Properties of Hydroxyapatite Pieces Obtained by the Gelcasting Method," *Journal of the European Ceramic Society*, 25 375–383 (2005).
- [33] L. Yubao, K. de Groo, J. de Wijn, C. Klein, and S. Meer, "Morphology and composition of nanograde calcium phosphate needle-like crystals formed by simple hydrothermal treatment," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 5 326-31 (1994).

- [34] B. Yeong, X. Junmin, and J. Wang, "Mechanochemical Synthesis of Hydroxyapatite from Calcium Oxide and Brushite," *J. Am. Ceram. Soc.*, 84 [2] 465–67 (2001).
- [35] M.C.M. Donadel, V.L. Laranjeira, V. T. Goncalves, J.C. de Lima Fávere, and L.H.M. Prates, "Hydroxyapatites Produced by Wet-Chemical Methods," *J. Am. Ceram. Soc.*, 88 [8] 2230–2235 (2005).
- [36] J. Zhang, M. Maeda, N. Kotobuki, M. Hirose, H. Ohgushi, D. Jiang, and M. Iwasa, "Aqueous Processing of Hydroxyapatite," *Materials Chemistry and Physics*, 99 398–404 (2006).
- [37] B. Chen, Z. Zhang, J. Zhang, M. Dong, and D. Jiang, "Aqueous Gel-Casting of Hydroxyapatite," *Materials Science and Engineering A*, 435–436 198–203 (2006).
- [38] J. Zhang, H. Tanaka, F. Ye, D. Jiang, and M. Iwasa, "Colloidal Processing and Sintering of Hydroxyapatite," *Materials Chemistry and Physics*, 101 69–76 (2007).
- [39] A. Cuney Tas, "Synthesis of Biomimetic Ca-hydroxyapatite Powders at 37°C in Synthetic Body Fluids," *Biomaterials* 21 1429-1438 (2000).
- [40] D. Choi and P.N. Kumta, "An Alternative Chemical Route for the Synthesis and Thermal Stability of Chemically Enriched Hydroxyapatite," *J. Am. Ceram. Soc.*, 89 [2] 444–449 (2006).
- [41] G. de With, H.J.A. van Dijk, N. Hattu, and K. Prijs, "Preparation, Microstructure, and Mechanical Properties of Dense Polycrystalline Hydroxyapatite," *J. Mater. Sci.*, 16, 1592–98 (1981).
- [42] W. Suchanec and M. Yoshimura, "Processing and Properties of Hydroxyapatite-Based Biomaterials for Use as Hard Tissue Replacements," *J. Mater. Res.*, 13, 94–117 (1998).
- [43] R.R. Rao, H.N. Roopa, and T.S. Kannan, "Solid-State Synthesis and Thermal Stability of HAP and HAP-TCP Composite Ceramic Powders," *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 8, 511–18 (1997).

- [44] A.C. Tas, F. Korkusuz, M. Timicin, and N. Akkas, "An Investigation of the Chemical Synthesis and High-Temperature Sintering Behavior of Calcium Hydroxyapatite (HA) and Tricalcium Phosphate (TCP) Bioceramics," *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 8, 91–96 (1997).
- [45] P. Layrolle, A. Ito, and T. Tateishi, "Sol–Gel Synthesis of Amorphous Calcium Phosphate and Sintering into Microporous Hydroxyapatite Bioceramics," *J. Am. Ceram. Soc.*, 81, 1421–28 (1998).
- [46] U. Vijayalakshmi and S. Rajeswari, "Preparation and Characterization of Microcrystalline Hydroxyapatite Using Sol-Gel Method," *Trends Biomater. Artif. Organs*, 19 [2] 57-52 (2006).
- [47] Y. Ota, T. Iwashita T. Kasuga, and Y. Abe, "Novel Preparation Method of Hydroxyapatite Fibers," *J. Am. Ceram. Soc.*, 81 [6] 1665–68 (1998).
- [48] Y. Liu, W. Wang, Y. Zhan, Ch. Zheng, and G. Wang, "A Simple Route to Hydroxyapatite Nanofibers," *Materials Letters*, 56 496–501 (2002).
- [49] L.L Hench, "Sol-Gel Material for Bioceramics applications. Current Opinion," *Solid State Materials Science*, 2 604-606 (1997).
- [50] C.S. Chai, K.A. Gross, and B. Ben-Nissan, "Critical Ageing of Hydroxyapatite Sol–Gel Solutions," *Biomaterials*, 19 2291–2296 (1998).
- [51] A. Jillavenkatesa and R.A. Condrate, "Sol-Gel Processing of Hydroxyapatite," *Journal of Materials Science*, 33 4111-4119 (1998).
- [52] A. Jillavenkatesa, D. T. Hoelzer, and R. A. Condrate, "An Electron Microscopy Study of the Formation of Hydroxyapatite Through Sol–Gel Processing," *J. Mater. Sci.*, 34 4821–4830 (1999).
- [53] D-M Liu, T. Troczynski, and W.J. Tseng, "Water-based Sol-Gel Synthesis of Hydroxyapatite: Process Development," *Biomaterials*, 22 1721-1730 (2001).
- [54] M-F Hsieh, L-H Perng, T-S Chin, and H-G Perng, "Phase Purity of Sol-Gel-Derived Hydroxyapatite Ceramic," *Biomaterials*, 22 2601-2607 (2001).
- [55] D-M Liu, Q. Yanga, T. Troczynskia, and W. J. Tseng, "Structural Evolution of Sol–Gel-Derived Hydroxyapatite," *Biomaterials*, 23 1679–1687 (2002).

- [56] D-M Liu, T. Troczynska, and W. J. Tseng, "Aging Effect on the Phase Evolution of Water-Based Sol-Gel Hydroxyapatite," *Biomaterials*, 23 1227–1236 (2002).
- [57] A. Balamurugan, S. Kannan, and S. Rajeswari, "Bioactive Sol-Gel Hydroxyapatite Surface for Biomedical Applications In Vitro Study," *Trends Biomater. Artif. Organs.*, 16 [1] 18-20 (2002).
- [58] G. Bezzi, G. Celotti, E. Landi, T.M.G. L. Torretta, I. Sopyan, and A. Tampieri, "A Novel Sol-Gel Technique for Hydroxyapatite Preparation," *Materials Chemistry and Physics*, 78 816–824 (2003).
- [59] S.R. Ramanan and R. Venkatesh, "A Study of Hydroxyapatite Fibers Prepared Via Sol-Gel Route," *Materials Letters*, 58 3320–3323 (2004).
- [60] A. Bigi, E. Boanini, and K. Rubini, "Hydroxyapatite Gels and Nanocrystals Prepared Through a Sol-Gel Process. *Journal of Solid State Chemistry*, 177 30923098 (2004).
- [61] T.A. Kuriakose, S. N. Kalkura, M. Palanichamy, D.A. Karsten Dierks, G. Bocelli, and C. Betzel, "Synthesis of Stoichiometric Nanocrystalline Hydroxyapatite by Ethanol Based Sol-Gel Technique at Low Temperature," *Journal of Crystal Growth*, 263 517–523 (2004).
- [62] I-S Kim and P.N. Kumta, "Sol-Gel Synthesis and Characterization of Nanostructured Hydroxyapatite Powder," *Materials Science and Engineering B*, 111 232–236 (2004).
- [63] K. Cheng, G. Shen, W. Weng, G. Han, J.M.F. Ferreira, and J. Yang, "Synthesis of Hydroxyapatite/Fluoroapatite Solid Solution by a Sol-Gel Method," *Materials Letters*, 51 37–41 (2001).
- [64] S. Bose and S.K. Sah, "Synthesis of Hydroxyapatite Nanopowders via Sucrose-templated Sol-Gel Method," *J. Am. Ceram. Soc.*, 86 [6] 1055–57 (2003)
- [65] Y. Masuda, K. Matubara, and S. Sakka, "Synthesis of Hydroxyapatite from Metal Alkoxides through Sol-Gel Technique," *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 98 1266–77 (1990).
- [66] C.M. Lopatina, V. Pizziconia, T.L. Alford, and T. Laursen. "Hydroxyapatite Powders and Thin Films Prepared by a Sol-Gel Technique," *Thin Solid Films*, 326 227–232(1998).

- [67] A. Deptula, W. Lada, T. Olczak, A. Borello, C. Avani, and A. diBartolomeo, "Preparation of Spherical Powders of Hydroxyapatite by Sol–Gel Processing," *J. Non-Cryst. Solids*, 147, 537–41 (1992).
- [68] C. Chai, B. Ben-Nissan, S. Pyke, and L. Evans, "Sol–Gel Derived Hydroxyapatite Coatings for Biomedical Applications," *Mater. Manuf. Processes*, 10, 205–16 (1995).
- [69] S.W. Russell, K.A. Luptak, C.T.A. Suchicital, T.L. Alford, and V.B. Pizziconi, "Chemical and Structural Evolution of Sol–Gel-Derived Hydroxyapatite Thin Films under Rapid Thermal Processing," *J. Am. Ceram. Soc.*, 79, 837–42 (1996).
- [70] C.M. Lopatin, V. Pizziconi, T.L. Alford, and T. Laursen. "Hydroxyapatite Powders and Thin Films Prepared by a Sol–Gel Technique," *Thin Solid Films*, 326 227–32 (1998).
- [71] T. Kokubo, "A/W Glass-Ceramic: Processing and Properties," *An Introduction to Bioceramics*. eds., L.L. Hench and J. Wilson. World Scientific, Singapore, 75–88, 1993.
- [72] T. Yamamuro, "A/W Glass-Ceramic: Clinical Applications," *An Introduction to Bioceramics*. eds., L.L. Hench and J. Wilson. World Scientific, Singapore. 89–103, 1993.
- [73] Y.E. Greish and P.W. Brown, "Characterization of Wollastonite-Reinforced HAp–Ca polycarboxylate Composites," *J. Biomed. Mater. Res.*, 55 618–628 (2001).
- [74] V.V. Shumkova, V.M. Pogrebenkov, A.V. Karlov, V.V. Kozik, and V.I. Vereshchagin. "Hydroxyapatite-Wollastonite Bioceramics," *Glass and Ceramics*, 57 [9-10] 350-353 (2000).
- [75] H-S. Ryu, J.K. Lee, H. Kim, and K.S Hong, "New Type of Bioactive Materials: Hydroxyapatite/ α -Wollastonite Composites," *J. Mater. Res.*, 20 [5] 1154-1162 (2005).
- [76] H. Li and J. Chang, "Fabrication and Characterization of Bioactive Wollastonite/PHBV Composite Scaffolds," *Biomaterials*, 25 5473–5480 (2004).

- [77] P.N. De Aza, F. Guitián, and S. De Aza, "Bioactivity of Wollastonite Ceramics: In Vitro Evaluation," *Scr. Metall. Mater.*, 31 1001–1005 (1994).
- [78] P.N. De Aza, F. Guitián, and S. De Aza, "Bioeutectic: a New Ceramic Material for Human Bone Replacement," *Biomaterials*, 18 1285–1291 (1997).
- [79] P.N. De Aza, Z. Luklinska, M.R. Anseau, F. Guitián, and S. De Aza, "Reactivity of Pseudowollastonite in Human Saliva," *Journal of Dentistry*, 27 107–113 (1999).
- [80] P.N. De Aza, Z. Luklinska, M.R. Anseau, F. Guitián, and S. De Aza, "Reactivity of Wollastonite-Tricalcium Phosphate Bioeutectic Ceramic in Human Parotid Saliva," *Biomaterials*, 21 1735–1741 (2000).
- [81] P.N. De Aza, Z.B. Luklinska, M.R. Anseau, F. Guitián, and S. De Aza, "Morphological Studies of Pseudowollastonite for Biomedical Application," *J. Microsc.*, 182 24–31 (1996).
- [82] D.A. Cortés, A. Medina, J.C. Escobedo, S. Escobedo, and M.A. López, "Effect of Wollastonite Ceramics and Bioactive Glass on the Formation of a Bonelike Apatite Layer on a Cobalt Base Alloy," *J. Biomed. Mater. Res.*, 70A 341–346 (2004).
- [83] H. Fattah, "Wollastonite: New aspects promise growth," *Industrial Minerals*. 11 21–43 (1994).
- [84] C. Paluszkiwicz, M. Blazewicz, J. Podporska, and T. Gumuła, "Nucleation of Hydroxyapatite Layer on Wollastonite Material Surface: FTIR studies," *Vibrational Spectroscopy*, 48 [2] 263–268 (2008).
- [85] X. Li and C. Ding, "Morphology of Apatite Formed on Surface of Wollastonite Coating Soaked in Simulate Body Fluid," *Materials Letters*, 57 652–655 (2002).
- [86] X. Liu, C. Ding, and P.K. Chu, "Mechanism of apatite Formation on Wollastonite Coatings in Simulated Body fluids," *Biomaterials*, 25 1755–1761 (2004).
- [87] M.I. Alemany, M. Velásquez, M.A. de la Casa-Lillo, and P. De Aza, "Effect of Materials Processing Methods on the In Vitro Bioactivity of Wollastonite Glass-ceramic Materials," *Journal of non-crystalline solids*, 351 1716–1726 (2005).
- [88] W. Xue, X. Liu, X. Zheng, and C. Ding, "In Vivo Evaluation of Plasma Sprayed Wollastonite Coating," *Biomaterials*, 26 3455–3460 (2005).

- [89] L. Xuanyong, D. Chuanxian, and Z. Wang, "Apatite Formed on the Surface of Plasma-Sprayed Wollastonite Coating Immersed in Simulated body Fluid," *Biomaterials*, 22 2007-2012 (2001).
- [90] X. Weichang, L. Xuanyong, Z. XueBin, and D. Chuanxian, "In vivo Evaluation of Plasma-Sprayed Wollastonite Coating," *Biomaterials*, 26 3455–3460 (2005).
- [91] M. Risbud, D.N. Saheb, J. Jog, and R. Bhonde, "Preparation, Characterization and in Vitro Biocompatibility Evaluation of Poly(butylene terephthalate)/Wollastonite Composites," *Biomaterials*, 22 1591-1597 (2001).
- [92] S.C. Cowin, "The Mechanical Properties of Cortical Bone Tissue," *Bone Mechanics*. ed., S.C. Cowin. Philadelphia. CRC Press. 181, 1991.
- [93] M. Ontañó, C. Aparicio, M.P Ginebra, and J.A. Planell, "Structure and Mechanical Properties of Bone," *Structural Biological Materials*. ed., M. Elices. Amsterdam. Pergamon. 31-71, 2000.
- [94] S.C. Cowin, W.C. Van Burskirk, and R.B. Ashman, "Properties of bone," *Handbook of Bioengineering*. eds., R. Shalak and S. Chien, USA. Mc Graw Hill. 21, 1987.
- [95] H.K. David, "Metals in medical applications," *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, 3 309-316 (1998).
- [96] Y. Okazakia and E. Gotoh, "Comparison of Metal Release from Various Metallic Biomaterials in vitro," *Biomaterials*, 26 11-21 (2005).
- [97] P. Decheyne, M. Marcolongo, and E. Schepers "Bioceramics Composites," *An Introduction to Bioceramics*. eds., L.L. Hench and J. Wilson. World Scientific, Singapore. 281–297, 1993.
- [98] J.P. Schmit, J.O. Hollinger, and S.B. Milan, "Reconstruction of Bone Using Calcium Phosphate Bone Cements: A Critical Review," *J. Oral. Maxillofac. Surg.*, 57 1122-1126 (1999).
- [99] M. Vallet-Regí and J.M. González-Calbet, "Calcium phosphates as substitution of bone tissues," *Progress in Solid State Chemistry*, 32 1–31 (2004).

- [100] R.Z LeGeros and J.P. LeGerosDecheyne, "Dense Hydroxyapatite," *An Introduction to Bioceramics*. eds., L.L. Hench and J. Wilson. World Scientific, Singapore. 139–180, 1993.
- [101] M.B. Conz, J.M. Granjeiro, and G. de Almeida Soares, "Physicochemical Characterization of Six Commercial Hydroxyapatites for Medicaldental Applications as Bone Graft," *J. Appl. Oral Sci.*, 13 [2] 136-140 (2005).
- [102] C. Rey, C. Combes, C. Drouet, H. Sfihi, and A. Barroug. "Physico-chemical Properties of Nanocrystalline Apatites: Implications for Biominerals and Biomaterials," *Materials Science and Engineering C*, 27 [2] 198-205 (2007)
- [103] A. Sinha, A. Ingle, K.R. Munim, S.N.Vidya, B.P. Sharma, and A.N Bhisey, "Development of Calcium Phosphate Based Bioceramics," *Bull. Mater. Sci.*, 24 [6] 653–657 (2001).
- [104] O. Gauthier, J. M. Bouler, E. Aguado, P. Pilet, and G. Daculsi, " Macroporous Biphasic Calcium Phosphate Ceramics: Influence of Macropore Diameter and Macroporosity Percentage on Bone Ingrowth," *Biomaterials*, 19, 133-139 (1998).
- [105] M. Kawata, H. Uchida, K. Itatani, I. Okada, S. Koda, and M. Aizawa, "Development of Porous Ceramics with Well-Controlled Porosities and Pores Size from Apatite Fibers and their Evaluation," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15 817-823 (1998).
- [106] D. Tadic and M. Epple, "A Thorough Physicochemical Characterisation of 14 Calcium Phosphate-Based Bone Substitution Materials in Comparison to Natural Bone," *Biomaterials*, 25 987–994 (2004).
- [107] P.N. De Aza, A. H. de Aza, and S. de Aza., "Crystalline Bioceramic Materials," *Bol. Soc. Esp. Ceram. V.*, 44 [3] 135-145 (2005).
- [108] C.P. Klein, A.A. Driessen, and K. de Groot, "Relationship Between the degradation Behaviour of Calcium Phosphate Ceramics and their Physical-chemical Characteristics and Ultrastructural Geometry," *Biomaterials*, 5 157-60 (1984).

- [109] F. Driessens and R. Verbeec, "Relation Between Physico-chemical Solubility and Biodegradability of calcium phosphates," *Implant materials in biofunction. Advances in Biomaterials*. eds. C. de Putter, G.L de Lange, K de Groot K and A.J.C. Lee. Amsterdam. Elsevier 48-52, 1988.
- [110] A.S. Wagh and S.Y. Jeong, "Chemically Bonded Phosphate Ceramics: I, A Dissolution Model of Formation," *J. Am. Ceram. Soc.*, 86 [11] 1838–44 (2003).
- [111] R. Xin, Y. Leng, J. Chen, and Q. Zhang, "A Comparative Study of Calcium Phosphate Formation on Bioceramics in Vitro and in Vivo," *Biomaterials*, 26 6477–6486 (2005).
- [112] K.A. Gross and C.C. Berndt, "Biomedical application of Apatites," *Phosphates: Geochemical, Geobiological, and Material Importance. Reviews in Mineralogy & Geochemistry*. eds. M.J. Kohn MJ, J. Rakovan and J.M. Hughes. 48 631-672, 2002.
- [113] T.M. Turner, D.R. Sumner, R.M Urban, D.P. Rivero, and J.O. Galante, "A Comparative Study of Porous Coatings in a Weight-Bearing Total Hip-Arthroplasty Model," *J. Bone Joint Surg. Am.*, 68 1396-1409 (1986).
- [114] S. J. Kalita, A. Bhardwaj, and H.A. Bhatt, "Nanocrystalline Calcium Phosphate Ceramics in Biomedical Engineering," *Materials Science and Engineering C*, 27 [3] 444–449 (2007)
- [115] T.W. Bauer and J. Schils, "The Pathology of Total Joint Arthroplasty. I Mechanism of Implant Fixation," *Skeleton Radiol.*, 28 [8] 423-32 (1999).
- [116] A Balamurugan, J. Michel, J. Fauré, H. Benhayoune, L. Wortham, G. Sockalingum, V. Banchet, S. Bouthors, D. Laurent-Maquin, and G. Balossier, "Synthesis and Structural Analysis of Sol gel Derived Stoichiometric Monophasic Hydroxyapatite," *Ceramics–Silikáty*, 50 [1] 27-31 (2006).
- [117] Database of Raman Spectroscopy, X-ray Diffraction and Chemistry of Minerals.htm
- [118] M. Blazewicz and C. Paluszkiwicz, "Characterization of Biomaterials Used for Bone Regeneration by FTIR Spectroscopy," *Journal of Molecular Structure*, 563-564 147-152 (2001)

- [119] A.C. Ko, L.P Choo-Smith, M. Hewko, and M. G. Sowa, "Detection of Early Dental Caries Using Polarized Raman Spectroscopy," *Optical Society of America*, 14 [1] 203-215 (2006).
- [120] I. Notingher, A.R. Boccaccini, J. Jones, V. Maquet, and L.L. Hench, "Application of Raman Microspectroscopy to the Characterization of Bioactive Materials," *Materials Characterization*, 49 255– 260 (2003)
- [121] G. Penel, G. Leroy, C. Rey , and E. Bres, "Microraman Spectral Study of the PO₄ and CO₃ Vibrational Modes in Synthetic and Biological Apatites," *Calcif. Tissue Int.*, 63 475– 81 (1998).
- [122] A. A. van Apeldoorn, Y. Aksenov, M. Stigter, I. Hofland, J. D. de Bruijn, H. K. Koerten, C. Otto, J. Greve, and C. A. van Blitterswijk, "Parallel High-Resolution Confocal Raman SEM Analysis of Inorganic and Organic Bone Matrix Constituents," *J. R. Soc. Interface*, 2 39–45 (2005).
- [123] A. Antonakosa, E. Liarokapis, and T. Leventouri, "Micro-Raman and FTIR Studies of Synthetic and Natural Apatites," *Biomaterials* 28 3043–3054 (2007).
- [124] F.F.M. de Mul, M.H.J. Hottenhuis, P. Bouter, J. Greve, J. Arends, and J.J. ten Bosch, "Micro-Raman Line Broadening in Synthetic Carbonated Hydroxyapatite," *J. Dent. Res.* 65 [3] 437-440 (1986).
- [125] H. Tsuda and J. Arends, "Orientational Micro-Raman Spectroscopy on Hydroxyapatite Single Crystals and Human Enamel Crystallites," *J. Dent. Res.* 73 [11] 1703-1710 (1994).
- [126] H. Tsuda and J. Arends, "Raman Spectroscopy in Dental Reserach: A Short Review of Recent Studies," *Adv. Dent. Res.*, 11 [4] 539-547 (1997).
- [127] P.N. de Aza, F. Guitián, and C. Santos, "Vibrational Properties of Calcium Phosphate Compounds. 2. Comparison between Hydroxyapatite and α -Tricalcium Phosphate," *Chem. Mater.*, 9 916-922 (1997).
- [128] L. Kubisz and M. Połomska, "FT NIR Raman Studies On γ -irradiated Bone," *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 66 [3] 616-625 (2007).

- [129] F.F.M. de Mul, M.H.J. Hottenhuis, P. Bouter, J. Greve, J. Arends, and J. J. Ten Bosch, "Micro-Raman Line Broadening in Synthetic Carbonated Hydroxyapatite," *J. Dent. Res.*, 65 [3] 437-440 (1986).
- [130] A. Aminzadeh, M Sarfaraz, and A. Yalan, "Raman Spectroscopic Studies of Bioactive Materials," *Iran. J. Chem. & Chem. Eng.*, 21 [1] 1– 5 (2002)
- [131] A.S. Losarczyk, Z. Paszkiewicz, and C. Paluszkiwicz, "FTIR and XRD Evaluation of Carbonated Hydroxyapatite Powders Synthesized by Wet Methods," *Journal of Molecular Structure*, 744–747: 657–661 (2005).
- [132] P. van Landuyt, F. Li, J. P. Keustermans, J. M. Streydio, F. Delannay, and E. Munting, "The Influence of High Sintering Temperatures on the Mechanical Properties of Hydroxyapatite," *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 6 8–13 (1995).
- [133] F.F. Hassa Blaña, "Estudio de la Factibilidad para Fabricar Wollastonita a Partir de Minerales de Calcio y Cuarzo," *Tesis*, Universidad Diego Portales, Santiago de Chile, Cap. II, 14-20, 2002.
- [134] Y. López Acosta, K. Flores Castro, M- Ramirez Cardona y L.E Ortíz Hernández, "La Wollastonita: un Mineral no Metálico, con Múltiples Aplicaciones," *Boletín de la Sociedad Mexicana de Mineralogía*, 17 149-150 (2006).
- [135] A. Ibáñez y F. Sandoval, "La Wollastonita: Propiedades, Síntesis y Aplicaciones Cerámicas," *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr.*, 32 [6] 349-361 (1993).
- [136] L.D. Maxim and E.E. McConnell, "A Review of the Toxicology and Epidemiology of Wollastonite," *Inhalation Toxicology*, 17 451-466 (2005).
- [137] E.C Shors and R.E. Holmes, "Porous Hydroxyapatite," *An Introduction to Bioceramics*. eds., L.L. Hench and J. Wilson. World Scientific, Singapore, 181–198, 1993.
- [138] J.I. Arias, "Nuevos Enfoques para Mejorar las Propiedades Mecánicas y Biológicas de Compuestos Cálcidos para su Uso como Sustitutos Óseos," *REDVET: Revista Electrónica de Veterinaria*, 8 [12] 1695-7504 (2007).
- [139] C.J. Brinker and G.W. Scherer, "Sol-Gel Science - The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing," *Academic Press Inc.* Boston, 1990.

- [140] Y.A. Attia "Sol-Gel Processing and Applications," *Plenum Press*. New York and London, 1994.
- [141] J. Livage J, "Sol-gel processes,". *Curr Opin Solid State Mater Sci.*, 2 132-136 (1997).
- [142] H. Podbielska and A. Ulatowska-Jarza, "Sol-Gel Technology for Biomedical Engineering," *Bulletin of the Polish Academy of Sciences, Technical Sciences*, 53 [3] 261-271 (2005).
- [143] D.C. Sánchez, "Estudio de las Propiedades Mecánicas en Monocristales y Láminas Delgadas de MgO Mediante la Técnica de Nanoindentación," *Tesis Doctoral*, Universidad Autónoma de Madrid, España. Cap. 2, 19-36, 2002.
- [144] W.C. Oliver and G.M. Pharr, "An Improved Technique for Determining Hardness and Elastic Modulus Using Load and Displacement Sensing Indentation Experiments," *J. Mater. Res.*, 7 [6] 1564-1583 (1992).
- [145] W.C. Oliver and G.M. Pharr, "Measurement of Hardness and Elastic Modulus by Instrumented Indentation: Advances in Understanding and Refinements to Methodology," *J. Mater. Res.*, 19 [1] 3-20 (2004).
- [146] L. He and M. Swain, "Enamel-A Metallic-like, Deformable Biocomposite," *Journal of Dentistry*, 35 [5] 431-437 (2007).
- [147] J.R. Withers and D.E. Aston, "Nanomechanical Measurements with AFM in the Elastic Limit," *Advances in Colloid and Interface Science*. 120 57–67 (2006).
- [148] J.W. Leggoe, "Determination of the Elastic Modulus of Microscale Ceramic Particles Via Nanoindentation," *J. Mater. Res.*, 19 [8] 2437-2447 (2004).
- [149] T. Kokubo, "Apatite Formation on Surfaces of Ceramics, Metals and Polymers in Body environment," *Acta mater.*, 46 [1], 2519-2527 (1998).
- [150] T. Kokubo, "Bioactive Glass Ceramics: Properties and Applications," *Biomaterials*, 12 155–63 (1991).
- [151] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, and T. Yamamuro, "Solutions Able to Reproduce in Vivo Surface-structure Change in Bioactive Glass-ceramic A-W," *J Biomed. Mater. Res.*, 24 721–34 (1990).

- [152] T. Kokubo, S. Ito S, T. Huang, T. Hayashi, S- Sakka, and T Kitsugi, "Ca, P-rich Layer Formed on High-strength Bioactive Glass-ceramic A-W," *J. Biomed. Mater. Res.*, 24 331–43 (1990).
- [153] T. Kokubo and H. Takadama. "How Useful is SBF in Predicting in Vivo Bone Bioactivity?," *Biomaterials*, 27 2907–2915 (2006).
- [154] A. Oyane, H.M Kim, T. Furuya, T. Kokubo , T. Miyazaki, and T. Nakamura, "Preparation and Assessment of Revised Simulated Body Fluids," *J. Biomed. Mater. Res.*, 65A 188–95 (2003).
- [155] A. Oyane, K. Onuma, A. Ito A, H.M Kim, T. Kokubo, and T. Nakamura, "Formation and Growth of Clusters in Conventional and New Kinds of Simulated Body Fluids," *J. Biomed. Mater. Res.*, 64A 339–48 (2003).
- [156] H. Takadama, M. Hashimoto, M. Mizuno, and T. Kokubo, "Round-robin Test of SBF for in Vitro Measurement of Apatite-forming Ability of Synthetic Materials," *Phos. Res. Bull.*, 17 119–25 (2004).
- [157] A. Helebrant, L. Jonasova, and L Sanda, "The Influence of Simulated Body Fluid Composition on Carbonated Hydroxyapatite Formation," *Cemanics-Silikaty*, 46 [1] 9-14 (2002).
- [158] NYCO Minerals Inc. *Premium Quality Wollastonite NYAD[®] M325*. NYCO IN-299-04-01 Booklet, Nyco Minerals Inc., Willsboro NY. 2001.
- [159] N.B. Colthup, L.H. Daly, and S.E. Wiberley, "Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy," Academic Press, Inc. (London) LTD, 1975.
- [160] J.D. Dyer, "Aplicaciones de la Espectroscopia de Absorción en Compuestos Orgánicos," Prentice Hall Internacional, 1973.
- [161] E. Landi, G. Celotti, G. Logroscino, and A. Tampieri, "Carbonated Hydroxyapatite as Bone Substitute," *J. Eur. Ceram. Soc.*, 23 2931–2937 (2003).
- [162] A.S. Losarczyk, Z. Paszkiewicz, and C. Paluszkiwicz, "FTIR and XRD Evaluation of Carbonated Hydroxyapatite Powders Synthesized by Wet Methods," *J. Mol. Struct.*, 744–747 657–661 (2005).

- [163] M. Markovic and B. O. Fowler, "Preparation and Comprehensive Characterization of a Calcium Hydroxyapatite. Reference Material," *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, 109 553–568 (2004).
- [164] P.N. de Aza, F. Guitián, and C. Santos, "Vibrational Properties of Calcium Phosphate Compounds. 2. Comparison between Hydroxyapatite and β -Tricalcium Phosphate," *Chem. Mater.*, 9 916–922 (1997).
- [165] G. Xu, I. A. Aksay, and J. T. Groves, "Continuous Crystalline Carbonate Apatite Thin Films. A Biomimetic Approach," *J. Am. Chem. Soc.*, 123 [10] 2196–2203 (2001).
- [166] R. Cuscó, F. Guitián, S. de Aza, and L. Artús, "Differentiation between Hydroxyapatite and β -Tricalcium Phosphate by Means of m-Raman Spectroscopy," *J. Eur. Ceram. Soc.*, 18 1301–1305 (1998).
- [167] H. Tsuda and J. Arends, "Orientational Micro-Raman Spectroscopy on Hydroxyapatite Single Crystals and Human Enamel Crystallites," *J. Dent. Res.*, 73 [11] 1703–1710 (1994).
- [168] F.F.M. de Mul, M. H.J. Hottenhuis, P. Bouter, J. Greve, J. Arends, and J. J. ten Bosch, "Micro-Raman Line Broadening in Synthetic Carbonated Hydroxyapatite," *J. Dent. Res.*, 65 [3] 437–440 (1986).
- [169] A. Antonakosa, E. Liarokapisa, and T. Leventourib, "Micro-Raman and FTIR Studies of Synthetic and Natural Apatites," *Biomaterials*, 28 3043–3054 (2007).
- [170] K. Hans-Joachim, E. F. Bres, D. Bernache-Assolant, and Z. Gunter, "High-Resolution Electron Microscopy and Convergent-Beam Electron Diffraction of Sintered Undoped Hydroxyapatite," *J. Am. Ceram. Soc.*, 80 [1] 37–44 (1997).
- [171] Y. LENG and S. QU, "TEM Examination of Single Crystal Hydroxyapatite Diffraction," *Journal of Science*, 21 829–830 (2002).
- [172] E.I. Suvorova, and P. A. Buffat, "Electron Diffraction From Micro and Nanoparticles of Hydroxyapatite," *Journal of Microscopy*, 196 [1] 46–58 (1999).
- [173] L.L. Hench, "Characterization of Bioceramics," *An Introduction to Bioceramics*. eds., L.L. Hench and J. Wilson. World Scientific, Singapore. 319–334, 1993.

- [174] T.A. Kuriakose, S.N. Kalkura, M. Palanichamy, D. Arivuoli, K. Dierks, G. Bocelli, and C. Betzel, "Synthesis of Stoichiometric Nano Crystalline Hydroxyapatite by Ethanol based Sol-gel Technique at Low Temperature," *Journal of Crystal Growth*, 263 517–523 (2004).
- [175] A. Slosarczyk, Z. Paszkiewicz, and C. Paluszkiwicz, "FTIR and XRD Evaluation of Carbonated Hydroxyapatite Powders Synthesized by Wet Methods," *Journal of Molecular Structure*, 744–747 657–661 (2005).
- [176] D. Taddic and M. Epple, "A thorough Physicochemical Characterization of 14 Calcium Phosphate-Bases Bone Substitution Materials in Comparison to Natural Bone," *Biomaterials*, 25 987-994 (2004).
- [177] W.J. Landis and J.R. Martin, "X-ray Photoelectron Spectroscopy Applied to Gold-Decorated Mineral Standards of Biological Interest," *J. Vac. Sci. Technol.*, A2 1108-1111 (1984).
- [178] C.D. Wagner, D.E. Passoja, H.F. Hillery, T.G. Kinisky, H.A. Six, W.T. Jansen, and J.A. Taylor. "Auger and Photoelectron Line Energy Relationships in Aluminium- Oxygen and Silicon-Oxygen Compounds," *J. Vac. Sci. Technol.*, 21 933-944 (1982).
- [179] M.C. Chang and J. Tanaka, "XPS Study for the Microstructure Development of Hydroxyapatite–Collagen Nanocomposites Cross-linked Using Glutaraldehyde," *Biomaterials*, 23 3879–3885 (2002).
- [180] J. Moulder, W.F. Strickle, P.E. Sobol and K.D. Bomben, "Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy," Perkin-Elmer Corporation, 68-69, 1992.
- [181] L. Gan and R. Pilliar "Calcium Phosphate Sol–Gel-Derived Thin Films on Porous-Surfaced Implants for Enhanced Osteoconductivity. Part I: Synthesis and Characterization," *Biomaterials*, 25 5303–5312 (2004).
- [182] A. Yasukawa, T. Yokoyama, K. Kandori, and T. Ishikawa, "Reaction of calcium Hydroxyapatite with Cd^{2+} and Pb^{2+} Ions," *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 299 203–208 (2007).

- [183] S. Padilla, M. Vallet-Regí, M. P. Ginebra, and F. J. Gil, "Processing and Mechanical Properties of Hydroxyapatite Pieces Obtained by the Gelcasting Method," *Journal of the European Ceramic Society*, 25 375–383 (2005).
- [184] C. Centeno, U. Ruiz, O. Contreras, and E. Samano, "Effect of Fluoride on Mechanical Properties of Teeth Demineralized by Use of Orthodontic Appliances," *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, [841] R3-3-Y3-3 (2005).
- [185] C. Kearny, Z. Zhao, B.J.F. Bruet, R. Radovitzky, M.C. Voyce, and C. Ortiz, "Nanoscale Anisotropic Plastic Deformation in Single Crystal of Aragonite," *Phys. Rev. Lett.*, 96 255505-1-55505-4 (2006).
- [186] S. Zhang, Y.S. Wang, X.T. Zeng, K.A. Khor, Wenjian Weng, and D.E. Sun, "Evaluation of Adhesion Strength and Toughness of Fluorinated Hydroxyapatite Coatings," *Thin Solid Films*, 516 5162–5167 (2008).
- [187] J.L. Cuy, A.B. Mann, J.J. Livi, M-F. Teaford, and T.P. Weihs, "Mechanical Properties and Anisotropy in Hydroxyapatite Single Crystals," *Scripta Materialia*, 57 361-354 (2007).
- [188] P.S. Uskokovic, C.Y. Tang, C.P. Tsui, N. Ignjatovic, and D.P. Uskokovic, "Micromechanical Properties of a Hydroxyapatite/poly-l-lactide Biocomposite Using Nanoindentation and Modulus Mapping," *Journal of the European Ceramic Society*, 27 [2-3] 1559–1564 (2007).
- [189] A.C. Fischer-Cripps. "Critical Review of Analysis and Interpretation of Nanoindentation Test Data," *Surface & Coatings Technology*, 200 4153–4165 (2006).
- [190] S. Habelitz, S.J. Marshall, G.W. Marshall Jr. and M. Balooch, "Mechanical Properties of Human Dental Enamel on the Nanometre Scale," *Archives of Oral Biology*, 46 173–183 (2001).
- [191] J.L. Cuy, A.B. Mann, K.J. Livi, M.F. Teaford, and T.P. Weihs, "Nanoindentation Mapping of the Mechanical Properties of Human Molar Tooth Enamel," *Archives of Oral Biology*, 47 281–291 (2002).

- [192] G.X. Ni, Y.S. Choy, W.W. Lu, A.H.W. Ngan, K.Y. Chiu, Z.Y. Li, B. Tang, and K.D.K. Luk, "Nano-mechanics of Bone and Bioactive Bone Cement Interfaces in a Load-Bearing Model," *Biomaterials*, 27 1963–1970 (2006).
- [193] L. de Macedo Soares Silva, V. Ebacher, D. Liu, H. McKay, T.R. Oxland, and R. Wang, "Elasticity and Viscoelasticity of Human Tibial Cortical Bone Measured by Nanoindentation," *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 874 2005.
- [194] P. Siriphannon, Y. Kameshima, A. Yasumori, K. Okada, and S. Hayashi, "Formation of Hydroxyapatite on CaSiO₃ Powders in Simulated Body Fluid," *Journal of the European Ceramic Society*, 22 511-520 (2002).
- [195] W. Zhao, J. Chang, J. Wang, W. Zhai, and Z. Wang, "In Vitro Bioactivity of Novel Tricalcium Silicates Ceramics," *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, 18 917-923 (2007).
- [196] W. Xue, X. Liu, X. Zheng, and C. Ding, "Dissolution and Mineralization of Plasma-Sprayed Wollastonite Coatings with Different Crystallinity," *Surface & Coatings Technology*, 200 2420–2427 (2005).
- [197] H-Y Kim, T. Himeno, T. Kokubo, and T. Nakamura, "Process and Kinetics of Bonelike Apatite Formation on Sintered Hydroxyapatite in a Simulated Body Fluid," *Biomaterials*, 26 4366-4373 (2005).
- [198] P. Siriphannon, Y. Kameshima, A. Yasumori, K. Okada, and S. Hayashi, "Influence of Preparation Conditions on the Microstructure and Bioactivity of CaSiO₃ Ceramics: Formation of hydroxyapatite in Simulated Body Fluid," *J. Biomed. Mater. Res.* 52 30-35 (2000).
- [199] H-Y Kim, T. Himeno, T. Kokubo, and T. Nakamura, "Process and Kinetics of Bonelike Apatite Formation on Sintered Hydroxyapatite in a Simulated Body Fluid," *Biomaterials*, 26 4366-4376 (2005).
- [200] R. Xin, Y. Leng, Jiyong Chen, and Q. Zhan, "A Comparative Study of Calcium Phosphate Formation on Bioceramics in Vitro and in Vivo." *Biomaterials*, 26 6477–6486 (2005).

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS

1. M.A. Encinas-Romero, S. Aguayo-Salinas, S.J. Castillo, F.F. Castillon-Barraza, and V.M. Castano, "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Wollastonite Composite Powders by Sol-Gel Processing," *Int J. Appl. Ceram. Technol.*, 5 [4] 401–411 (2008).
2. M.A. Encinas-Romero, S. Aguayo-Salinas, J.L. Valenzuela-García, S.R. Payán, and F.F. Castillon-Barraza, "Mechanical and Bioactive Behavior of Hydroxyapatite-Wollastonite Sintered Composites," *Int J. Appl. Ceram. Technol.*, DOI:10.1111/j-1744-7402.2009.0273x.