



EL SABER DE MIS HIJOS  
HARÁ MI GRANDEZA

# UNIVERSIDAD DE SONORA

---

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA  
Y METALURGIA

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE  
LA BIOACTIVIDAD DE BIOMATERIALES  
COMPUESTOS DE HIDROXIAPATITA  
CARBONATADA/HIDROXIAPATITA  
ESTEQUIOMÉTRICA DE BAJA  
CRISTALINIDAD**

Tesis

Que para obtener el título de:

**INGENIERO QUÍMICO**

Presenta

**MARCELA MONTOYA BLUMENKRON**

Hermosillo, Sonora

Junio de 2020

# 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

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	viii
<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Objetivos.....	2
1.2.1 Objetivo general.....	2
1.2.2 Objetivos específicos.....	2
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	4
2.1. Materiales.....	4
2.2. Biomateriales.....	4
II.2.1. Características de los Biomateriales.....	4
2.3. Clasificación de los Biomateriales.....	4
2.3.1 Biomateriales metálicos.....	5
2.3.2. Biomateriales poliméricos.....	5
2.3.3. Biomateriales cerámicos.....	6
2.3.4. Biomateriales absorbibles o biodegradables.....	6
2.3.5. Biomateriales bioinertes.....	7
2.3.6. Biocerámicos con superficie de reacción.....	7
2.3.7. Biocerámicos compuestos.....	8
2.4. Hidroxiapatita.....	8
II.4.1. Hidroxiapatita estequiométrica.....	8
2.5. Biocompatibilidad.....	9
2.6. Técnica Sol-Gel.....	9

<b>3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b> .....	11
3.1. Materiales y Equipo Utilizados.....	11
3.2. Métodos Experimentales.....	11
3.2.1. Método para la síntesis de hidroxiapatita estequiométrica.....	11
3.2.2. Método para la síntesis de hidroxiapatita carbonatada.....	13
3.3. Formulación de Bioimpósitos Hidroxiapatita Estequiométrica - Hidroxiapatita Carbonatada.....	15
3.4. Técnicas de Caracterización.....	16
III.4.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	16
III.4.2. Análisis térmico (ATG-ATD).....	16
III.4.3. Difracción de rayos-X (DRX).....	16
III.4.4. Espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR).....	16
III.4.5. Espectroscopia de absorción atómica (AA) y colorimetría....	16
3.5. Evaluación de las Propiedades Bioactivas.....	17
III.5.1 Baño fisiológico simulado (SBF) .....	17
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	20
4.1. Síntesis de Hidroxiapatita Estequiométrica de baja cristalinidad...20	
4.1.1. Análisis térmico (ATG-ATD).....	20
4.1.2. Difracción de rayos-X (DRX).....	20
4.1.3. Espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR).....	20
4.2. Síntesis de Hidroxiapatita Carbonatada.....	23
4.2.1. Análisis térmico (ATG-ATD).....	23
4.2.2. Difracción de rayos-X (DRX).....	25
4.2.3. Espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR).....	27

4.3. Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Biomateriales Compuestos de Hidroxiapatita Carbonatada/Hidroxiapatita Estequiometria de Baja Cristalinidad.....	28
4.3.1. Evaluación de la solubilidad.....	28
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>33</b>
5.1. Conclusiones.....	33
5.2. Recomendaciones.....	34
<b>6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>36</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Diagrama de flujo para la síntesis de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad por la ruta sol-gel.....	12
<b>Figura 2.</b> Diagrama de flujo para la síntesis de hidroxiapatita carbonatada por la ruta sol-gel.....	14
<b>Figura 3.</b> Análisis termogravimétrico y térmico diferencial para xerogel seco obtenido a partir de nitrato de calcio y fosfato de amonio inmersos en agua desde la temperatura ambiente hasta 1000°C con una velocidad de calentamiento de 10°C / min.....	21
<b>Figura 4.</b> Patrones de difracción de rayos-X del gel seco obtenido a partir de nitrato de calcio y fosfato de amonio inmersos en agua tratado térmicamente hasta 350°C y 750°C.....	22
<b>Figura 5.</b> Espectro FT-IR del xerogel seco producido a partir de fosfato de amonio y nitrato de calcio en agua tratado térmicamente hasta 350°C.....	23
<b>Figura 6.</b> Curvas de análisis termogravimétrico (TGA) y térmico diferencial (DTA) del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua.....	24
<b>Figura 7.</b> Patrones de difracción de rayos-X del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua tratado térmicamente hasta 1000°C.....	25
<b>Figura 8.</b> Patrones de difracción de rayos-X del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01 M y agua destilada.....	26
<b>Figura 9.</b> Espectro FT-IR del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua, tratado térmicamente a 1000°C lavado con HCl 0.01 M y agua destilada.....	27
<b>Figura 10.</b> Micrografías de MEB de los polvos de (a) Hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad y (b) Hidroxiapatita carbonatada.....	28
<b>Figura 11.</b> Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF.....	29

- Figura 12.**Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos del compósito formulado con 80% hidroxiapatita carbonatada/20% hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBB..... 31
- Figura 13.**Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos del compósito formulado con 50% hidroxiapatita carbonatada/50% hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF..... 31
- Figura 14.**Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos del compósito formulado con 20% hidroxiapatita carbonatada/80% hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF..... 32
- Figura 15.**Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos de hidroxiapatita carbonatada sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF..... 32

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla I.</b> Concentración del fluido fisiológico simulado (SBF) propuesto por Kokubo, comparada con el plasma sanguíneo humano.....	17

## RESUMEN

La necesidad de tratar lesiones mayores en los tejidos duros del organismo ha estimulado enormemente la búsqueda y desarrollo de materiales capaces de sustituir huesos y dientes. El campo de los biomateriales ha experimentado un espectacular avance en los últimos años aumentando de forma considerable la esperanza de vida, teniendo éxito en la utilización de prótesis, implantes, sistemas y aparatos médicos que deben trabajar en contacto con los tejidos corporales.

La hidroxiapatita sintética es el material más utilizado para múltiples aplicaciones biomédicas, entre ellas el recubrimiento de implantes por su excelente bioactividad, promoción de la función celular y osteoconductividad; además puede unirse directamente a los tejidos y promover su crecimiento. Por tal razón, existen numerosas técnicas para la síntesis de hidroxiapatita; sin embargo, el proceso sol-gel es uno de los métodos más importantes para la producción de este biomaterial, debido a sus grandes ventajas, entre las que se encuentran el uso de reactivos económicos y fáciles de adquirir, procedimientos con bajas temperaturas y relativa simplicidad, altos grados de pureza de los productos, entre otras.

Por tal razón en este estudio de investigación se trabajó en la síntesis, caracterización y evaluación de las propiedades bioactivas de biocerámicos compuestos de hidroxiapatita carbonatada/hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad, con diferentes proporciones de ambos biocerámicos.

Ambas hidroxiapatitas se sintetizaron por dos técnicas sol-gel diferentes, con las cuales se formularon tres biocompuestos. Las propiedades bioactivas de estos biocompuestos fueron evaluadas poniéndolos en contacto durante 1, 2, 3 y 4 semanas con una solución fisiológica simulada (SBF), analizando la solubilidad de los iones Ca y P.

Los resultados muestran un comportamiento sinérgico de la solubilidad iónica, y por ende de la bioactividad de los biocerámicos, al formular materiales con diferentes fracciones de hidroxiapatita carbonatada e hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad. Lo que puso de manifiesto que en las diferentes formulaciones de los tres biocompuestos, se encontró mayor solubilidad que en los dos materiales base a partir de los cuales fueron formulados.

A partir de este estudio se destaca que existe la posibilidad de modular la bioactividad de biomateriales cerámicos compuestos de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad e hidroxiapatita carbonatada del tipo "B", variando la proporción de los mismos, con lo cual se pueden empatar la solubilidad y la bioactividad de los tejidos duros a los cuales repararán y en su caso reemplazarán.

# 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

## 1.1. Introducción

La necesidad de tratar lesiones mayores en los tejidos duros del organismo ha estimulado enormemente la búsqueda y desarrollo de materiales capaces de sustituir huesos y dientes. El sustituto óseo ideal debería ser osteogénico, biocompatible, absorbible y capaz de proporcionar soporte estructural.

El campo de los biomateriales ha experimentado un espectacular avance en los últimos años aumentando de forma considerable la esperanza de vida, teniendo éxito en la utilización de prótesis, implantes, sistemas y aparatos médicos que deben trabajar en contacto con los tejidos corporales.

No cualquier material puede ser empleado como biomaterial; para ello, debe tener una característica muy especial: ser biocompatible, es decir, poseer la habilidad para ser aceptado por el cuerpo del paciente y que, además, no irrite a los tejidos circundantes, no provoque una respuesta inflamatoria y no produzca reacciones alérgicas [1].

Los biocerámicos se introdujeron en una época en la que comenzaban a detectarse fracasos en los biomateriales utilizados hasta ese momento, como eran el acero, aleaciones de cobalto, polimetil metacrilato, entre otros.

El fracaso se debió, entre otras razones, a la encapsulación de estos materiales, lo que hizo dirigir la mirada hacia los cerámicos, en un intento de buscar una buena osteointegración.

Hay que tener presente que los La necesidad de tratar lesiones mayores en los tejidos duros del organismo ha estimulado enormemente la búsqueda y desarrollo de materiales capaces de sustituir huesos y dientes. El sustituto óseo ideal debería ser osteogénico, biocompatible, absorbible y capaz de proporcionar soporte estructural.

La hidroxiapatita sintética es el material más utilizado para múltiples aplicaciones biomédicas, entre ellas el recubrimiento de implantes por su excelente bioactividad, promoción de la función celular y osteoconductividad. Además puede unirse directamente a los tejidos y promover su crecimiento [1, 2].

Existen muchas técnicas para la síntesis de biomateriales cerámicos; sin embargo, el proceso sol-gel es uno de los métodos más importantes para la producción de estos biomateriales, debido a las ventajas que éste presenta, entre ellas el uso de reactivos económicos y fáciles de adquirir, procedimientos con bajas temperaturas y relativa simplicidad para cada una de las etapas de la síntesis y en su caso, de la purificación final de los materiales [3].

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.2. Objetivo general**

Síntesis, caracterización y evaluación de las propiedades bioactivas de biocerámicos compuestos de hidroxiapatita carbonatada/hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad, con diferentes proporciones de ambos biocerámicos.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

1. Síntesis de hidroxiapatita carbonatada mediante una técnica de sol-gel, utilizando como agentes precursores trietil fosfato ( $\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ ) y Acetato de Calcio  $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ .
2. Síntesis de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad mediante una técnica de sol-gel, utilizando como agentes precursores, nitrato de calcio ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ) y fosfato de amonio ( $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ ).

3. Formulación de biocompuestos de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad/hidroxiapatita carbonatada, con distintas proporciones de ambos biocerámicos.
4. Caracterización de los biocerámicos mediante diferentes técnicas analíticas.
5. Evaluar la bioactividad de los biocerámicos compuestos, poniéndolos en contacto durante 1, 2, 3 y 4 semanas con una solución fisiológica simulada (SBF), analizando la solubilidad de los iones Ca y P.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Materiales**

Se le conoce como materia prima a las sustancias que se extraen directamente de la naturaleza; estas pueden ser de origen animal, vegetal, y mineral.

Un material es aquella materia prima transformada mediante procesos físicos y/o químicos, preparados y disponibles para un uso específico dependiendo de sus propiedades. Prácticamente cada objeto de nuestra vida cotidiana está fabricado con algún material [3].

### **2.2. Biomateriales**

Biomaterial es una sustancia creada por un organismo vivo o una sustancia que está en contacto con un organismo vivo [4].

#### **2.2.1. Características de los Biomateriales**

Los biomateriales son biocompatibles, es decir, la cualidad de no inducir efectos tóxicos o dañinos sobre los sistemas biológicos donde actúan, devolviendo una respuesta apropiada por parte del receptor y con un fin específico.

Son Bioinertes. Aceptados por el cuerpo y resisten largos periodos de tiempo en el entorno altamente corrosivo de fluidos corporales.

Biodegradables. Son diseñados para degradarse gradualmente y ser reemplazados por el tejido huésped.

Los biomateriales son materiales diseñados para actuar con sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o reemplazar algún tejido del cuerpo [5-7].

### **2.3. Clasificación de los Biomateriales**

Dentro de los Biomateriales se encuentran los de tipo: [4]

- Metálicos.
- Poliméricos.

- Cerámicos.
- Compuestos.

### **2.3.1. Biomateriales metálicos**

Los Biomateriales Metálicos son aquellos que están compuestos básicamente por uno o más metales, también pueden contener otros materiales como el carbono.

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.

Para que los biomateriales metálicos puedan ser utilizados es necesario que sean tolerados por el organismo y que tengan una buena resistencia a la corrosión.

Mayormente los biomateriales metálicos son utilizados para la elaboración de válvulas cardíacas, instrumentación quirúrgica, y sobre todo en implantes por sus grandes propiedades mecánicas [4, 5].

### **2.3.2. Biomateriales poliméricos**

Estos poseen grandes ventajas ya que tienen una gran estabilidad y son biodegradables. Existe una gran variedad de polímeros biocompatibles.

- Polímeros naturales: como por ejemplo la celulosa, glucosalina, provenientes directamente del reino vegetal o animal.
- Polímeros sintéticos: son los que se obtienen por procesos de polimerización controlados por el hombre a partir de materias primas de bajo peso molecular como el nylon, polietileno, y cloruro de polivinilo.
- Polímeros artificiales: son el resultado de modificaciones mediante procesos químicos de ciertos polímeros naturales; nitrocelulosa.

El desarrollo de los biopolímeros en las aplicaciones incluye prótesis faciales, partes de prótesis de oído, aplicaciones dentales; marcapasos, riñones, hígado y pulmones [4, 5].

### **2.3.3. Biomateriales cerámicos**

Los biomateriales cerámicos son materiales biocompatibles, poseen un alto punto de fusión, baja conductividad eléctrica y térmica, también tienen una alta estabilidad química.

Tienen gran resistencia al desgaste en aplicaciones donde hay articulación de superficies como materiales de prótesis dentales, de cadera y rodilla, además su principal ventaja es que se unen muy bien al hueso, lo cual es importante en aplicaciones ortopédicas y dentales. Se caracterizan por tener buena compatibilidad con el cuerpo humano.

Dentro de los biomateriales cerámicos se encuentran los materiales cerámicos biodegradables, bioinertes y biocerámicas con superficie de reacción [6].

Los biomateriales compuestos o biocompuestos son aquellos que se formulan por la unión de dos o más de los biomateriales analizados anteriormente, con el fin conseguir una combinación de propiedades que no es posible obtener en los materiales originales.

### **2.3.4. Biocerámicos absorbibles o biodegradables**

Los biomateriales cerámicos absorbibles deben tener composiciones que contengan solamente los elementos que son fácilmente metabolizables por el organismo, tales como Ca, P, H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub>. Con el tiempo dichos biomateriales son totalmente reabsorbidos por el cuerpo y reemplazados por los tejidos. Consecuentemente, la función de estos materiales es participar en el proceso dinámico de formación y reabsorción que se produce en los tejidos óseos, es decir, su función es la de servir como andamiaje o llenado de espacios, permitiendo a

los tejidos su filtración y su sustitución. Así, pues, deben ser biodegradables y de naturaleza porosa [6, 7].

La principal ventaja de estos materiales es su facilidad de adquisición en el mercado y la posibilidad de eliminación de una segunda intervención quirúrgica; sin embargo, tienen el inconveniente de que su resistencia disminuye durante el proceso de reabsorción. Dentro de los biomateriales de este tipo que presentan buenas características se encuentran los fosfatos tricálcicos y algunas formulaciones de hidroxiapatitas [6].

### **2.3.5. Biocerámicos Bioinertes**

Son aquellos que el organismo no es capaz de metabolizar y resintetizar en compuestos que puedan ser absorbidos, estos son no tóxicos, no producen ninguna alergia ni reacción secundaria al cuerpo, son totalmente biocompatibles y resistentes a la corrosión. Estos biocerámicos pueden resistir largos periodos de tiempo en un entorno altamente corrosivo de fluidos corporales.

Se suelen emplear para implantes permanentes, cirugía maxilofacial, craneal y prótesis de cadera. Pueden ser de Óxido de Titanio ( $TiO_2$ ), Cromo-Cobalto (Cr-Co), basados en alúmina ( $Al_2O_3$ ) y zirconio (Zr) [5-7].

### **2.3.6 Biocerámicos con superficie de reacción**

Un biocerámico con superficie de reacción, es aquel, que el organismo utiliza sólo por un período de tiempo, esto debido a sus propiedades.

Entre estos materiales se encuentran el Bioglass y el Ceravital, los cuales consisten en una mezcla de óxidos de silicón, calcio, sodio, fósforo, magnesio y potasio [7].

### **2.3.7 Biocerámicos compuestos**

Los biocerámicos compuestos son los que están formados por dos materiales diferentes, combinados de modo tal que se puedan aprovechar las propiedades mecánicas ventajosas de cada uno de ellos.

La mayoría de los biomateriales compuestos se fabrican para proporcionar determinadas propiedades mecánicas: fortaleza o solidez, rigidez, dureza o resistencia.

La aplicación de biomateriales compuestos está orientada a la fijación de fracturas, cemento óseo, reemplazo de cartílagos, tendones y ligamentos, y ha tenido mucho éxito en la fabricación de piernas artificiales [4, 7,11].

### **2.4. Hidroxiapatita**

La Hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) es un biomaterial cerámico basado en fosfato de calcio. Cuando se implanta en un sitio óseo, se reabsorbe lentamente, dejando así una reserva de fosfato y calcio disponible para los procesos de biomineralización y regeneración ósea. Este fosfato de calcio, se puede obtener de forma sintética, presenta características de biocompatibilidad, no toxicidad, estabilidad química, osteoconducción y bioactividad; tales propiedades hacen a este biomaterial muy práctico para usos médicos [11].

La Hidroxiapatita se puede usar como reemplazo de partes pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología, recubrimiento de superficies de metales para implantes, refuerzo en materiales compuestos, entre otros. Para una aplicación determinada se requieren diferentes características, como pueden ser su capacidad de reabsorción, bioactividad entre otras [6].

#### **2.4.1. Hidroxiapatita estequiométrica**

La hidroxiapatita estequiométrica es el material de referencia utilizado en la ingeniería biomédica, pero debido a que es muy estable químicamente y a que tiene una estructura muy rígida, posee una cinética de resorción muy baja en

medio fisiológico y presenta bajas propiedades mecánicas, lo que limita su aplicación.

De acuerdo con esto, en la búsqueda de obtener un material que se acerque cada vez más al hueso natural, surge el interés por el estudio de la Hidroxiapatita carbonatada (HAC), la cual es un derivado de la hidroxiapatita estequiométrica, con propiedades de resolución y biactividad muy diferentes a la primera. En la literatura se presentan importantes reportes en propiedades de biocompatibilidad, osteoconducción y biodegradabilidad, propiedades que hacen de ésta un biomaterial con un gran potencial para uso en la ingeniería de tejidos [6].

## **2.5. Biocompatibilidad**

La importancia de estudiar la biocompatibilidad, radica en que los materiales de implante deben ser completamente tolerados por los organismos vivos. A diferencia de los biomateriales cerámicos, el resto de los biomateriales presentan diferencias sustanciales entre su estructura y la de los tejidos vivos que reemplazarán; sin embargo, esta prueba es imprescindible para cualquier tipo de material que se proponga como pieza o elemento de implante funcional, dentro de cualquier organismo vivo.

La biocompatibilidad es la habilidad de un material para ser aceptado por el cuerpo del paciente. La ausencia de rechazo de un implante o de un dispositivo por parte del organismo implica una aceptación tanto biológica, como química y mecánica [9].

## **2.6. Técnica Sol-Gel**

Esta técnica permite la fabricación de materiales amorfos y policristalinos con características especiales en su composición y propiedades. Su utilidad radica en que necesita menor temperatura en comparación con los métodos tradicionales de fabricación de materiales vía etapas tratamientos térmicos, llegando hasta la fusión.

El método sol-gel es una ruta química que inicia con la síntesis de una suspensión coloidal de partículas sólidas o cúmulos en un líquido (sol) y la hidrólisis y condensación de este sol para formar un material sólido lleno de solvente (gel) [8].

Al solvente se le extrae al gel simplemente dejándolo reposar a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo llamado envejecimiento, en el cual el gel se encoge expulsando al solvente y agua residual. Al término del tiempo de envejecimiento. Después de estas etapas, por lo general aún se tienen solventes y agua en el material, además de que la consistencia física y sus propiedades no son las más adecuadas para su aplicación. Para solucionar esto, el material se somete a un tratamiento térmico, al final del cual se obtiene el producto final en forma de monolito, polvos o de películas delgadas.

El proceso sol gel es una ruta química que permite fabricar materiales amorfos y policristalinos de forma relativamente sencilla. Se pueden obtener nuevos materiales que por los métodos tradicionales de fabricación son muy difíciles de obtener, tales como combinaciones de óxidos ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ , etc.). Asimismo, se ha consolidado como una ruta muy atractiva para la fabricación de biomateriales cerámicos de fosfatos y silicatos de calcio [8,10, 12].

### **3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

#### **3.1 Materiales y Equipos Utilizados.**

Reactivos y materiales utilizados:

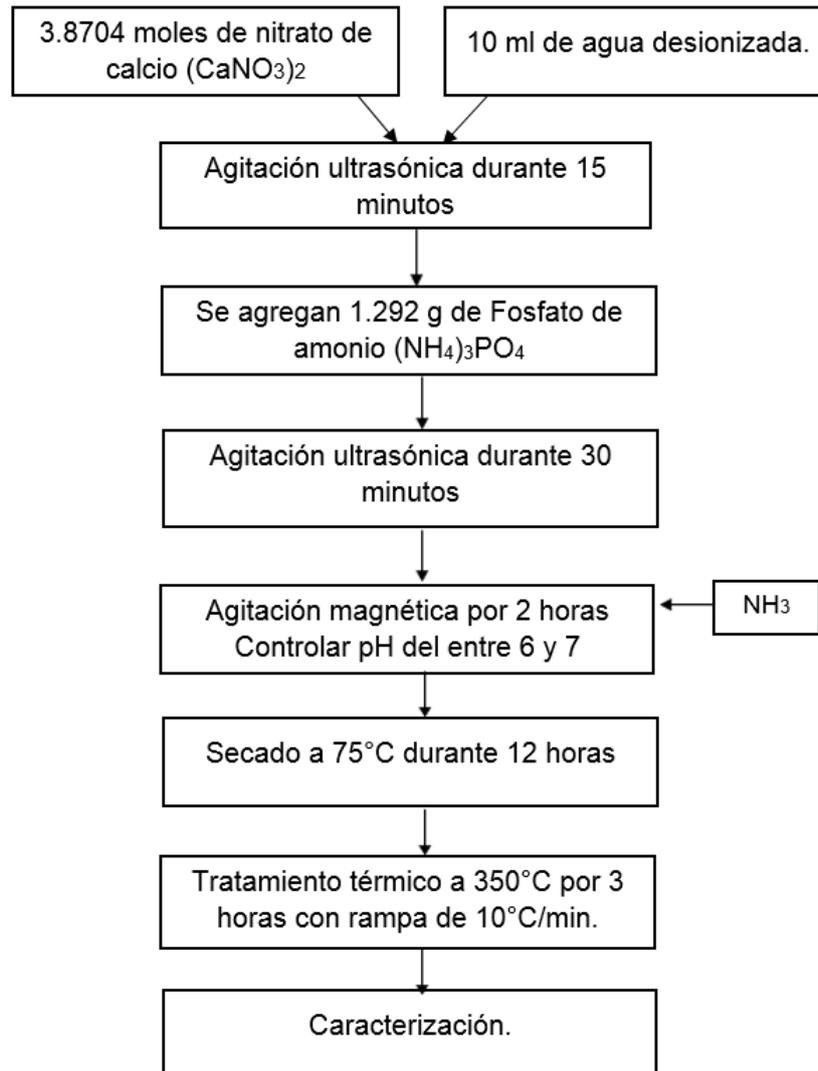
1. Fosfato de amonio,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (s). 99% pureza, marca Sigma - Aldrich, Japón.
2. Acetato de calcio,  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Ca}$  (s). 99% pureza, marca Sigma-Aldrich, Japón.
3. Nitrato de calcio,  $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$  (s). 99% pureza, marca Sigma- Aldrich, USA.
4. Trietil fosfato,  $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}_4$  (l). 99.8% pureza, marca Sigma-Aldrich, E.U.A.
5. Amoniac,  $(\text{NH}_4)$  (l). Mínimo de pureza 25% marca Merck.
6. Agua desionizada.
7. Baño de agitación ultrasónico, marca Branson modelo 2510.
8. Placa de calentamiento y agitación.
9. Horno de secado,
10. Horno de alta temperatura.

#### **3.2 Métodos Experimentales**

##### **3.2.1. Método para la síntesis de hidroxapatita estequiométrica**

- En un vaso de precipitado conteniendo 10 mL de agua desionizada se agregan 0.1639 moles de nitrato de calcio  $(\text{CaNO}_3)_2$ , posteriormente, el vaso se coloca dentro un baño ultrasónico para la homogeneización de sus componentes. Pasados 15 minutos, se agrega al vaso de precipitado 0.0979 moles de fosfato de amonio y es colocado de nuevo en el baño ultrasónico durante 30 minutos más.
- Enseguida se lleva a cabo un proceso de agitación magnética con una duración de 2 horas, durante el cual se adiciona amoniac, con el fin de mantener un control del pH de la solución entre 6 y 7.

- Transcurrido el tiempo, el material se lleva a un secador en el cual permanece 12 horas. Seguidamente se somete a un calentamiento en un horno a 350°C durante 3 horas, obteniendo así la hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad. El diagrama de flujo para este método se muestra en la Figura 1.

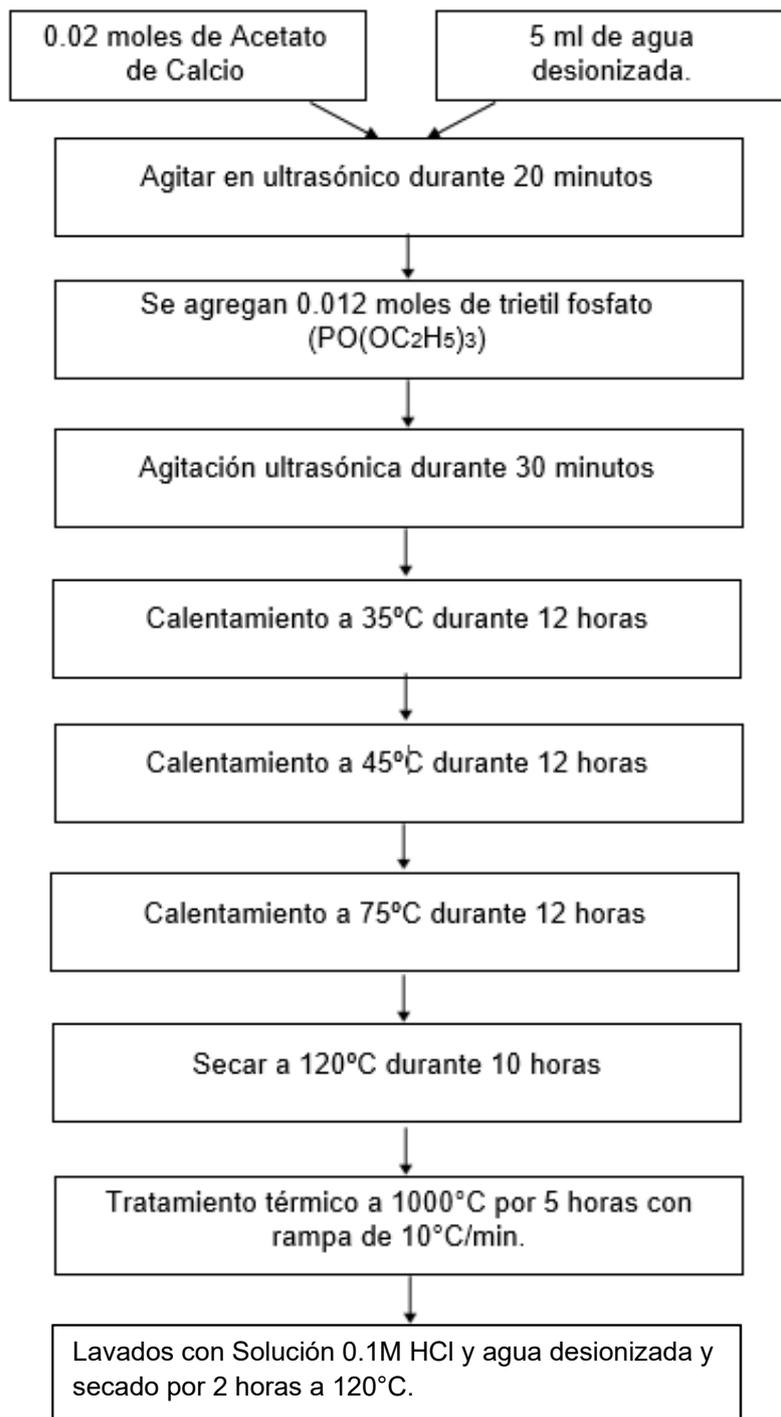


**Figura 1.** Diagrama de flujo para la síntesis de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad por la ruta sol-gel.

### 3.2.2. Método para la síntesis de hidroxiapatita carbonatada

- En un vaso de precipitado de 100 mL se agregan 5 mL de agua desionizada y se agregan 0.02 moles de acetato de calcio.
- Después, el vaso es colocado dentro de un baño ultrasónico para la homogeneización de sus componentes.
- Pasados 20 minutos, se agrega al vaso de precipitado 0.012 moles de trietil fosfato agregándole gota por gota, y es colocado de nuevo en el baño ultrasónico durante 30 minutos más.
- Enseguida el material se lleva a una serie de calentamientos primeramente a una temperatura de 35°C durante 12 horas, después a 45°C por otras 12 horas y para finalizar a 75°C por las siguientes 12 horas.
- Con el fin de secar el material obtenido se pasa a un secador en donde permanece por 12 horas a una temperatura de 120 ° C.
- El material se lleva a un horno a una temperatura de 350°C por un tiempo de 5 horas.
- Es necesario que a nuestro material terminado lo sometamos a una serie de lavados con 50 mL de HCl 0.1M. El material es filtrado, lavado con agua desionizada y secado a 120°C por 2 horas, teniendo como resultado hidroxiapatita carbonatada del tipo "B".

El diagrama de flujo para este método se muestra en la Figura 2.



**Figura 2.** Diagrama de flujo para la síntesis de hidroxapatita carbonata del tipo “B” por la ruta de sol-gel.

### **3.3. Formulación de Biocompuestos Hidroxiapatita Estequiométrica - Hidroxiapatita Carbonatada**

Se formularon los siguientes compósitos para evaluar su solubilidad y con ello su bioactividad.

#### Compósitos:

1. 80% Hidroxiapatita Carbonatada/20% Hidroxiapatita Estequiométrica. (80% HC - 20% HE).
2. 50% Hidroxiapatita Carbonatada/50% Hidroxiapatita Estequiométrica. (50% HC - 50% HE).
3. 20% Hidroxiapatita Carbonatada/80% Hidroxiapatita Estequiométrica. (20% HC – 80% HE).

#### Materiales base:

4. 100% Hidroxiapatita Carbonatada. (100% HC)
5. 100% Hidroxiapatita Estequiométrica. (100% HE)

Los porcentajes en peso de cada uno de los materiales formulados, se calcularon sobre la base total de 0.5 g.

Para la evaluación de la bioactividad de cada uno de los compósitos se formuló primeramente una solución SBF (Baño Fisiológico Simulado), donde se colocaron 0.5 g de cada compósito en 40 mL de la solución SBF, analizando durante 1, 2, 3 y 4 semanas consecutivas la concentración de los iones Calcio y fósforo, así como el comportamiento del pH de la solución.

Lo anterior constituye una prueba eficiente para correlacionar la bioactividad de los materiales de implante, ya que en tanto más solubles, mayor será la velocidad para la formación de capas neoformadas de apatita sobre los materiales, mismas que servirán como elemento de unión directa entre estos elementos de implante y los tejidos vivos.

### **3.4. Técnicas de Caracterización**

#### **3.4.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)**

Para el análisis de la morfología externa de los materiales se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL-5300 (Tokio, Japón), todas las micrografías presentadas se obtuvieron sin ningún tipo de recubrimiento de los materiales.

#### **3.4.2. Análisis termogravimétrico (ATG-ATD)**

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

#### **3.4.3 Difracción de rayos-X (DRX)**

Los patrones de difracción de rayos-X se obtuvieron con un difractómetro de polvos Phillips X'PERT (Phillips Electronics, N.V. Eindhoven, Netherlands), con radiación CuK $\alpha$  (40 mA, 45 KV) y velocidad de barrido de 1.2°/min. En ambos casos, variando el ángulo 2 $\theta$  desde 10° hasta 80°.

#### **3.4.4 Espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR)**

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron con un espectrómetro FT-IR Thermo Scientific Nicolet iS50 en el rango de 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Las muestras fueron analizadas en modo de transmisión.

#### **3.4.5 Espectroscopia de absorción atómica (AA) y colorimetría**

Se utilizó un equipo de Absorción Atómica Perkin-Elmer Analyst 400 para medir los cambios en la concentración de los iones Ca y P, y un medidor de pH para evaluar los cambios de la solución SBF durante el periodo de inmersión de las muestras.

### 3.5 Evaluación de las Propiedades Bioactivas

#### 3.5.1 Baño fisiológico simulado (SBF)

En 1991 Tadashi Kokubo, 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 I, comparada con la composición del plasma sanguíneo humano [13].

**Tabla I.** Concentración del fluido fisiológico simulado (SBF) propuesto por Kokubo, comparada con el plasma sanguíneo humano.

Concentración de los iones (mM)								
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
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 (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>) y HCl 1M a 37°C.

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

1. Cloruro de sodio, (NaCl, 99%, Jalmek, NL, México), 7.996 g/L.
2. Bicarbonato de sodio, (NaHCO<sub>3</sub>, 99.7%, Jalmek, NL, México), 0.350 g/L.
3. Cloruro de potasio, (KCl, 99%, Jalmek, NL, México), 0.224 g/L.
4. Fosfato de potasio dibásico, (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, 99%, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), 0.228 g/L.
5. Cloruro de magnesio hexahidratado, (MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 99.3%, Jalmek, NL, México), 0.305 g/L.
6. Cloruro de calcio, (CaCl<sub>2</sub>, 97.7%, Jalmek, NL, México), 0.278 g/L.
7. Sulfato de sodio, (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 99%, Jalmek, NL, México), 0.071 g/L.

8. Tris-(hidroximetil)-aminometano,  $((\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2)$ , 99.8%, J.T. Baker, Phillipsburg, NJ), 6.057 g/L.
9. Ácido 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 inducir 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 desionizada, añadiendo 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. La solución SBF es una mezcla súper saturada, cualquier método de preparación inapropiado puede generar una precipitación. Por tal razón, en todo momento durante la elaboración, se debe distinguir una solución transparente, libre de cualquier indicio de precipitación. Si aparece cualquier tipo de precipitado, la preparación debe detenerse, eliminando la solución y empezar de nuevo con otra preparación.

Para preparar 1 L de solución, los reactivos se disolvieron en 700 mL de agua desionizada, 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 de ionizada, 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 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 pH  $\approx 7.45$  en la solución. Posteriormente

se añadió en gotas la cantidad de HCl 1M necesaria para ajustar el pH  $\approx$  7.42, agregando de nuevo la cantidad necesaria de tris-(hidroximetil)-aminometano para volver a alcanzar un pH  $\approx$  7.45, para bajarlo de nuevo hasta 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 pH  $\approx$  7.42 con HCl 1M.

Finalmente, se retiró de la solución el electrodo de pH, se lavó con agua desionizada 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 desionizada, esta agua de lavado se añadió a la solución, llenando casi 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 una placa calefactora hasta alcanzar la temperatura de 37 °C. Una vez que se alcanza esta temperatura, el recipiente se aforó exactamente a 1 litro con agua desionizada [13].

Con esta solución se llevó a cabo la evaluación de la bioactividad de los materiales.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Síntesis de Hidroxiapatita Estequiométrica**

#### **4.1.1. Análisis Térmico (ATG-ATD)**

Con el fin de conocer las temperaturas a las cuales es posible obtener hidroxiapatita estequiométrica a partir del xerogel seco, este se sometió a un proceso de análisis térmico el cual se presenta en la Figura 3. Esta figura muestra el análisis termogravimétrico (TGA) combinado con análisis térmico diferencial (DTA) para el xerogel seco de nitrato de calcio y fosfato de amonio desde la temperatura ambiente hasta 1000 °C. Las líneas del xerogel seco muestran una transición térmica en la región de temperatura de 180 °C a 350 °C, lo que corresponde a una pérdida de peso de aproximadamente 40% con un pico exotérmico aproximadamente 280 °C. Esta pérdida de peso podría estar asociada a la formación de hidroxiapatita en sus primeras etapas de cristalización. Se observa un proceso térmico adicional entre los 500 °C y 700 °C, correspondiente a una pérdida de peso insignificante, representado por un pico exotérmico aproximadamente a los 650 °C, el cual podría estar asociada a la formación de hidroxiapatita en etapas más avanzadas de cristalización.

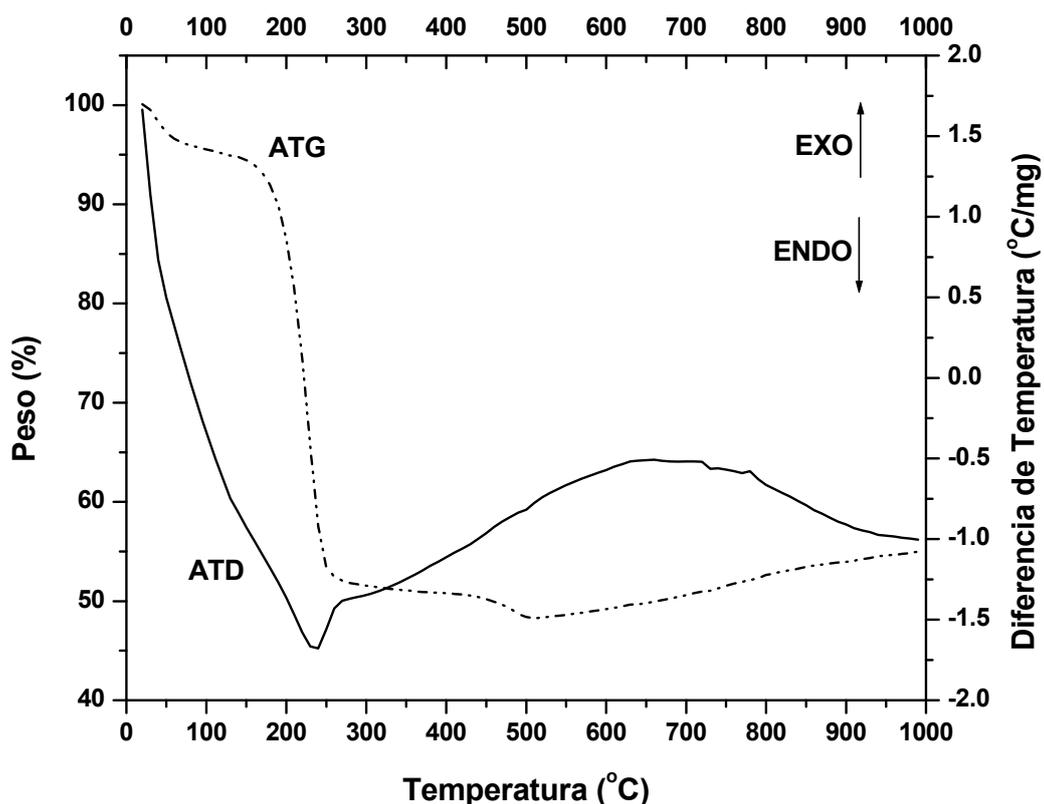
#### **4.1.2. Difracción de rayos-X (DRX)**

La Figura 4 muestra los patrones de DRX para el xerogel seco de nitrato de calcio y fosfato de amonio inmersos en agua después del tratamiento térmico a 350°C y 750°C. Esta figura muestra que el xerogel tratado a 350°C se transforma en hidroxiapatita en una etapa de cristalización temprana; cuando el xerogel se trató a 750°C, se convierte en hidroxiapatita perfectamente cristalizada. En ambos casos el análisis revela la presencia de hidroxiapatita como fase individual en los materiales.

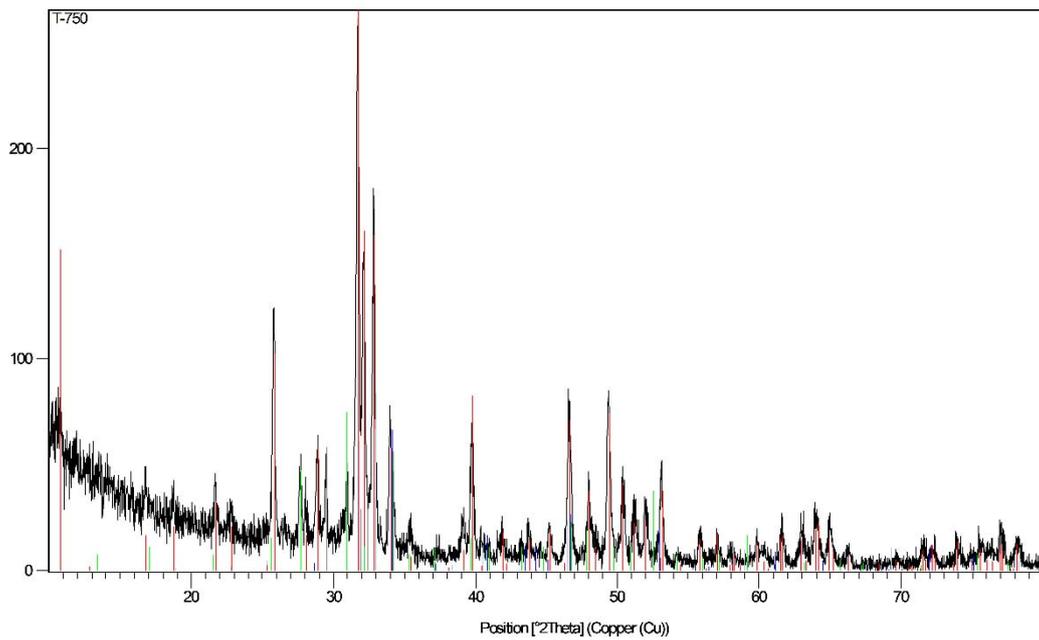
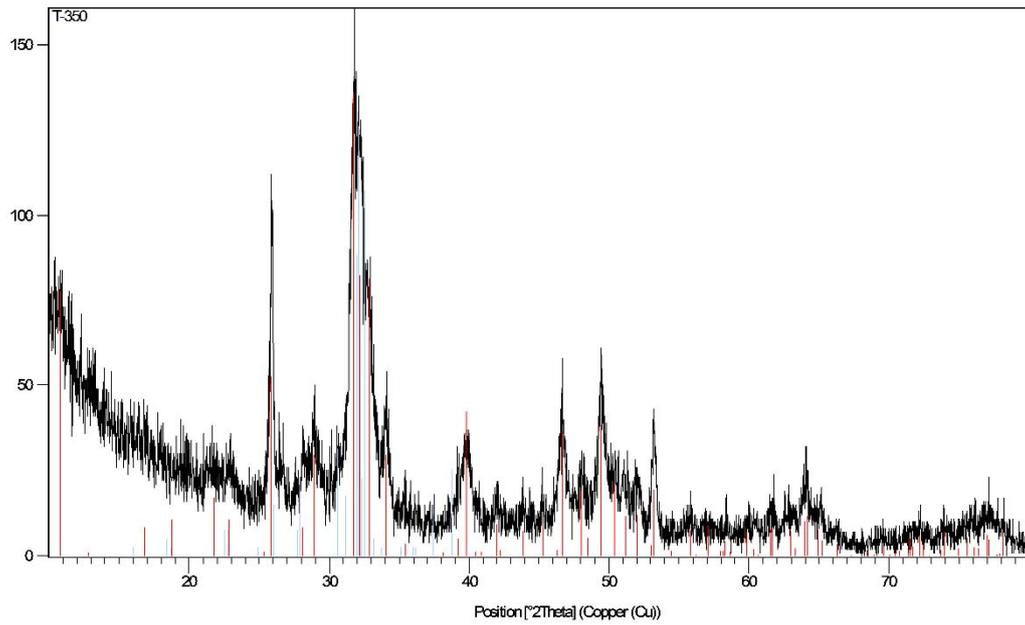
#### **4.1.3. Espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR)**

La Figura 5, muestra el espectro FT-IR para el xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de nitrato de calcio y fosfato de amonio inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 350°C. Las bandas observadas alrededor de 3572

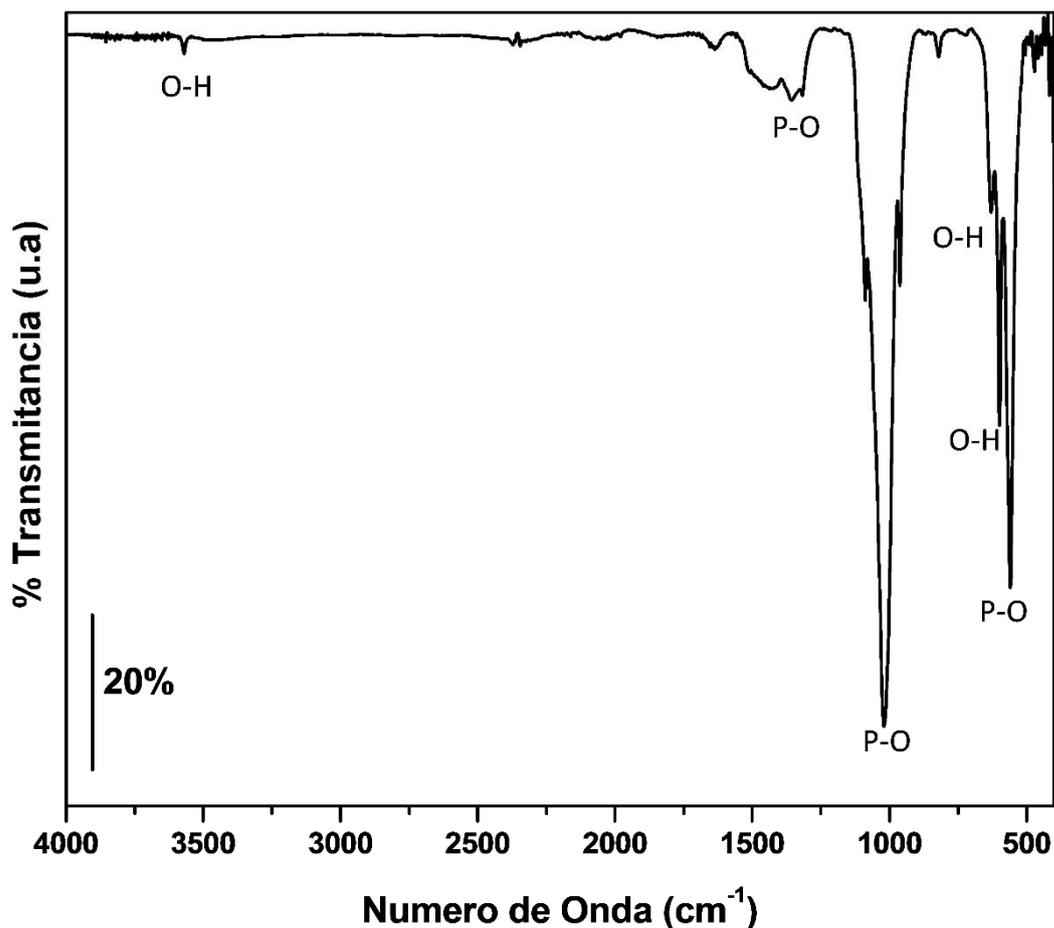
$\text{cm}^{-1}$  y  $634 \text{ cm}^{-1}$  corresponden a los iones OH. Las bandas a  $1037 \text{ cm}^{-1}$  y  $962 \text{ cm}^{-1}$  están asociadas con los enlaces P-O; las bandas a  $602 \text{ cm}^{-1}$  y  $567 \text{ cm}^{-1}$  son causadas también por vibraciones del grupo P-O. La presencia de las dos bandas a  $602 \text{ cm}^{-1}$  y  $567 \text{ cm}^{-1}$  junto con la banda a  $634 \text{ cm}^{-1}$  es una clara evidencia de la presencia de hidroxiapatita en el material.



**Figura 3.** Análisis termogravimétrico y térmico diferencial para xerogel seco obtenido a partir de nitrato de calcio y fosfato de amonio inmersos en agua desde la temperatura ambiente hasta  $1000^{\circ}\text{C}$  con una velocidad de calentamiento de  $10^{\circ}\text{C} / \text{min}$ .



**Figura 4.** Patrones de difracción de rayos-X del gel seco obtenido a partir de nitrato de calcio y fosfato de amonio inmersos en agua tratado térmicamente hasta 350 °C y 750 °C.



**Figura 5.** Espectro FT-IR del xerogel seco producido a partir de fosfato de amonio y nitrato de calcio en agua tratado térmicamente hasta 350°C.

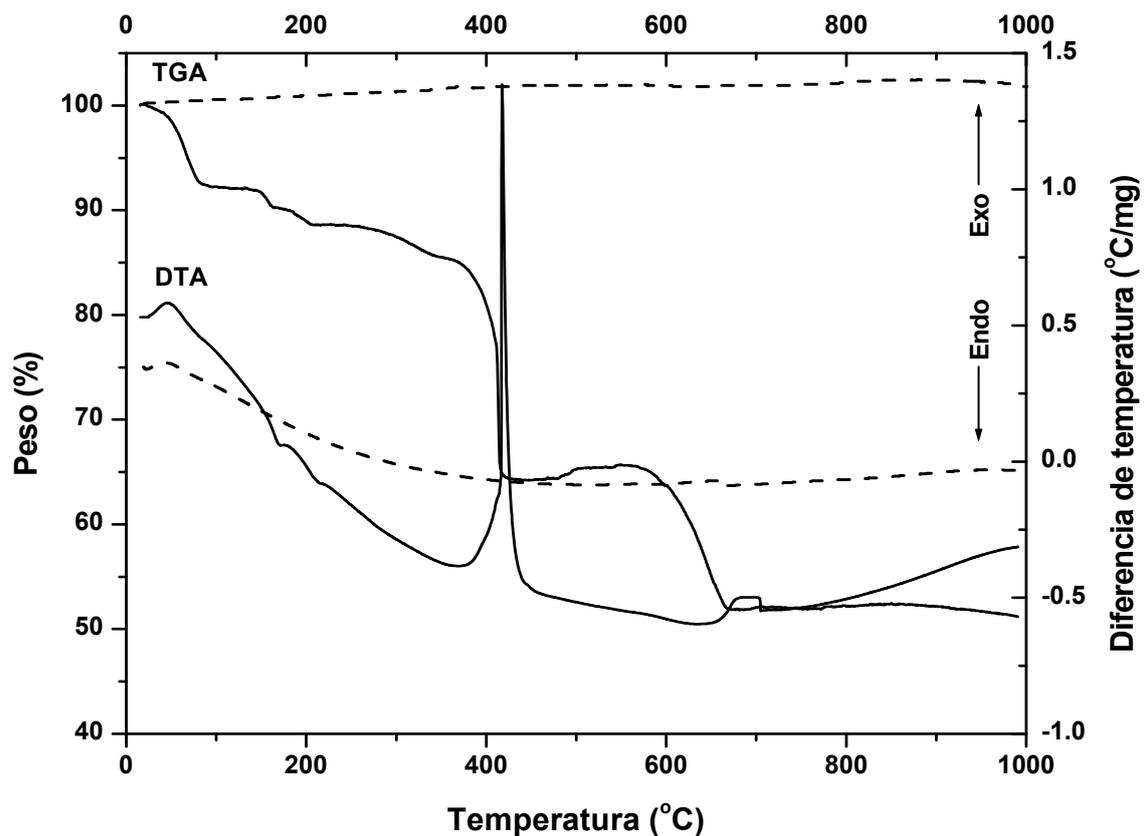
## 4.2. Síntesis de Hidroxiapatita Carbonatada

### 4.2.1 Análisis térmico (ATG/ATD)

Con el fin de conocer las temperaturas a las cuales es posible obtener hidroxiapatita carbonatada a partir del xerogel seco, este se sometió a un proceso de análisis térmico el cual se presenta en la Figura 6. En esta figura se aprecian dos procesos térmicos importantes el primero aproximadamente a 450°C y el segundo a 650°C. Al inicio del calentamiento se puede apreciar una pequeña caída en el porcentaje en peso por debajo de los 100°C la cual puede atribuirse a la eliminación de agua físicamente unida. Posteriormente se aprecia ligeras

disminuciones sucesivas en el porcentaje en peso las cuales pueden deberse a la eliminación de remanentes de los reactivos precursores utilizados.

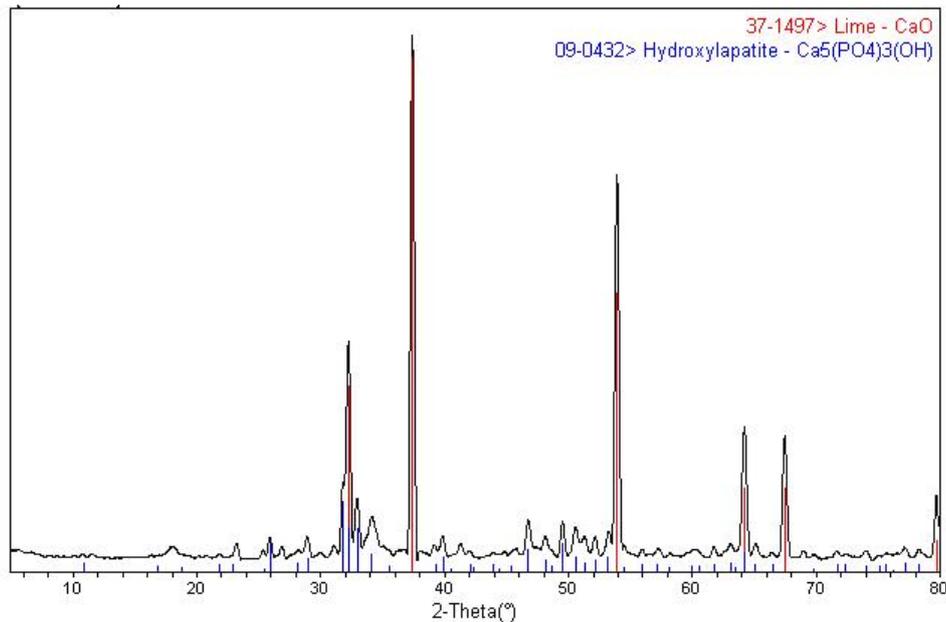
Sin embargo, aproximadamente a 400°C inicia una fuerte caída del porcentaje en peso acompañada de un intenso pico exotérmico, lo cual es un indicativo de que se llevó a cabo un proceso de cristalización. Los resultados de los análisis de difracción de rayos-X, demuestran que a este nivel térmico se obtiene hidroxiapatita acompañada con carbonato de calcio. En el segundo proceso térmico, se observa una importante caída del porcentaje en peso acompañada de un pequeño pico endotérmico, mismo que puede deberse a la conversión de carbonato de calcio en óxido de calcio, liberando dióxido de carbono en forma de gas, el cual es el responsable de la caída del porcentaje en peso.



**Figura 6.** Curvas de análisis termogravimétrico (TGA) y térmico diferencial (DTA) del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua.

#### 4.2.2. Difracción de rayos-X (DRX)

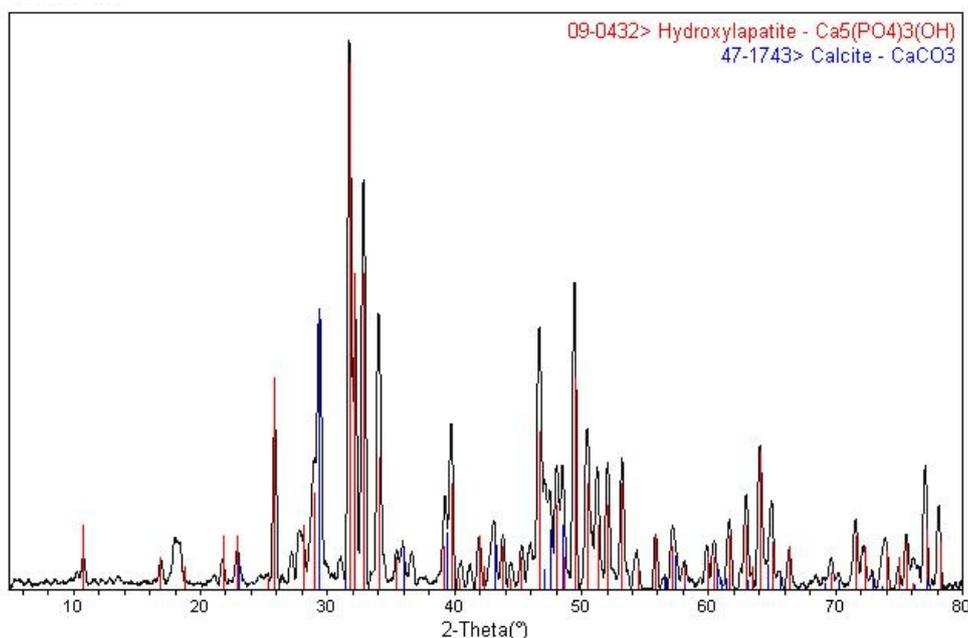
La Figura 7 muestra los patrones de difracción de rayos-X para el xerogel seco producido a partir del acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C. En esta figura se observan los patrones de difracción característicos del óxido de calcio (JCPDS 37-1497), producto de la descomposición del carbonato de calcio. A muy baja intensidad con respecto al patrón del óxido de calcio se observa el patrón de difracción de la hidroxiapatita (JCPDS 09-432). Lo anterior indica que el producto final es hidroxiapatita acompañada de óxido de calcio.



**Figura 7.** Patrones de difracción de rayos-X del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua tratado térmicamente hasta 1000°C.

Para eliminar este óxido de calcio presente en el producto se llevaron a cabo una serie de lavados ácidos con ácido clorhídrico 0.01 M para convertir el óxido de calcio en cloruro de calcio.

Tomando en cuenta la alta solubilidad del cloruro de calcio en agua se realizaron una serie de lavados con agua desionizada para la obtención final de hidroxiapatita, el resultado de esto se muestra en la Figura 8.



**Figura 8.** Patrones de difracción de rayos-X del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl 0.01 M y agua destilada.

La Figura 8 muestra que después de los lavados con HCl a 0.01 M y agua desionizada, se obtuvo hidroxiapatita como producto final. Sin embargo, si se aprecia detenidamente este patrón de difracción de rayos-X en  $2\theta = 29.2^\circ$  se observa un pequeño pico correspondiente al patrón de difracción del carbonato.

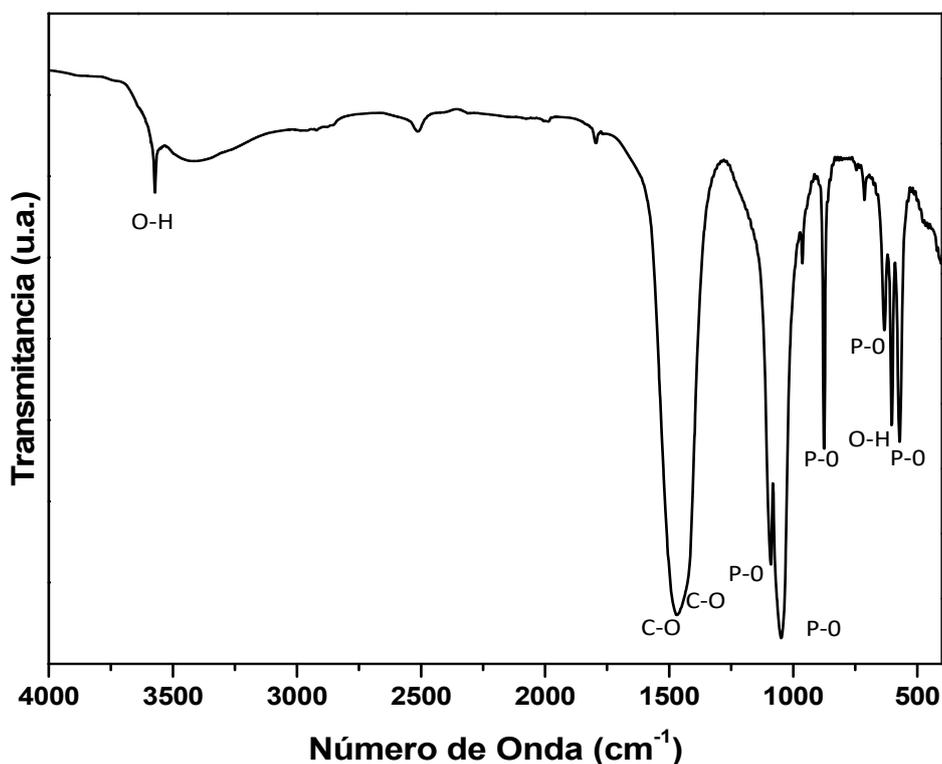
Por otro lado planos (211) y (112) del patrón de difracción de la hidroxiapatita se observa que estos aparecen ligeramente traslapados. De lo anterior se concluye que la hidroxiapatita obtenida es una hidroxiapatita carbonatada [13].

Como se conoce, la hidroxiapatita carbonatada puede ser de dos tipos hidroxiapatita carbonatada del tipo A donde los iones carbonatos desplazan a iones OH mientras la hidroxiapatita del tipo B desplaza a iones fosfato. Sin embargo

la técnica de difracción de rayos-X está limitada a indicar únicamente que la hidroxiapatita sintetizada es carbonatada, y no puede descifrar si será del tipo A o del tipo B; para saberlo se recurre al espectro FT-IR de la Figura 9.

#### 4.2.3 Espectroscopia infrarroja de transformadas de Furier (FT-IR)

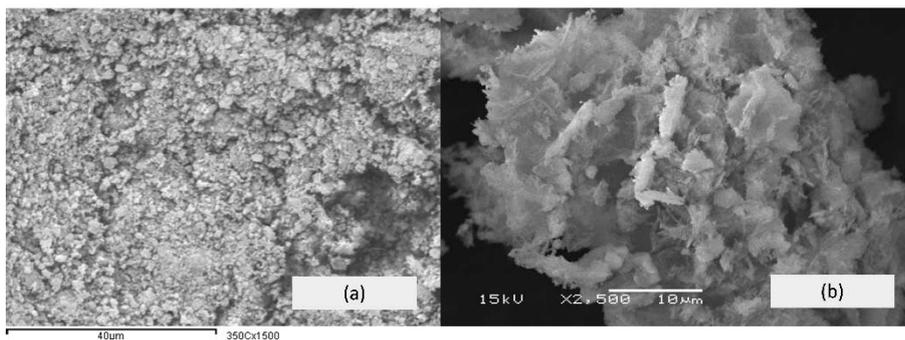
La Figura 9 presenta las bandas características para los ligandos O-H, P-O, y además presenta una intensa banda alrededor de  $1500\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la presencia de carbonato C-O, corresponde a la integración de dos bandas una a  $1550\text{ cm}^{-1}$  y otra  $1492\text{ cm}^{-1}$ , mismas que reflejan la presencia de hidroxiapatita carbonatada del tipo B. Si estas bandas aparecieran recorridas  $50\text{ cm}^{-1}$  hacia la izquierda se hubiera tratado de hidroxiapatita carbonatada del tipo A.



**Figura 9.** Espectro FT-IR del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua, tratado térmicamente a  $1000^{\circ}\text{C}$  lavado con HCl 0.01 M y agua destilada.

Por todo lo anterior se comprueba que la hidroxiapatita sintetizada por esta ruta es hidroxiapatita carbonatada del tipo B [13].

La Figura 10 muestra las imágenes de microscopio electrónico de barrido de los polvos de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad e hidroxiapatita carbonatada, donde se puede apreciar la consistencia de ambos materiales. En la primera se aprecia un material formado por partículas con cierta tendencia a aglomerarse de forma densa, mientras que en la segunda se aprecia un material formado por partículas que muestran también una tendencia a aglomerarse pero de forma menos densa que la hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad, lo cual puede influir en la respuesta de su solubilidad al interactuar con fluidos fisiológicos simulados.



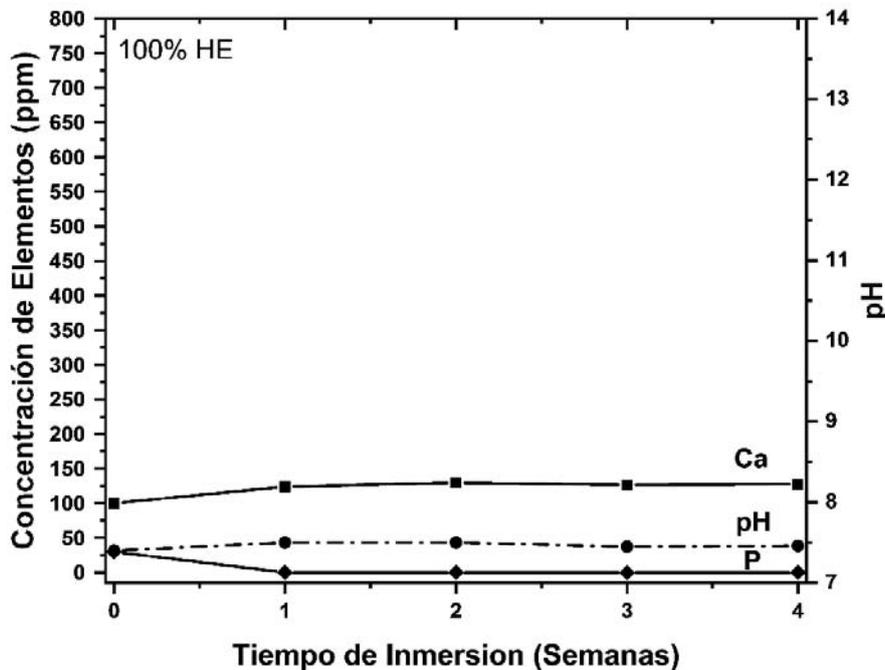
**Figura 10.** Micrografías de MEB de los polvos de (a) Hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad y (b) Hidroxiapatita carbonatada.

### **4.3. Evaluación de las Propiedades Bioactivas de los Biomateriales Compuestos de Hidroxiapatita Carbonatada/Hidroxiapatita Estequiometría de Baja Cristalinidad**

#### **4.3.1. Evaluación de la solubilidad**

Las Figuras 11 a la 15 muestran el comportamiento bioactivo, expresado en pruebas de solubilidad de los iones calcio (Ca) y fósforo (P) a partir de los 5 materiales analizados en este estudio; los 2 materiales base: hidroxiapatita

estequiométrica de baja cristalinidad (100% HE) e hidroxiapatita carbonatada (100% HC), así como también el de los 3 materiales compuestos a partir de los dos anteriores: 80% HC- 20% HE, 50% HC- 50% HE y 20% HC- 80% HE.

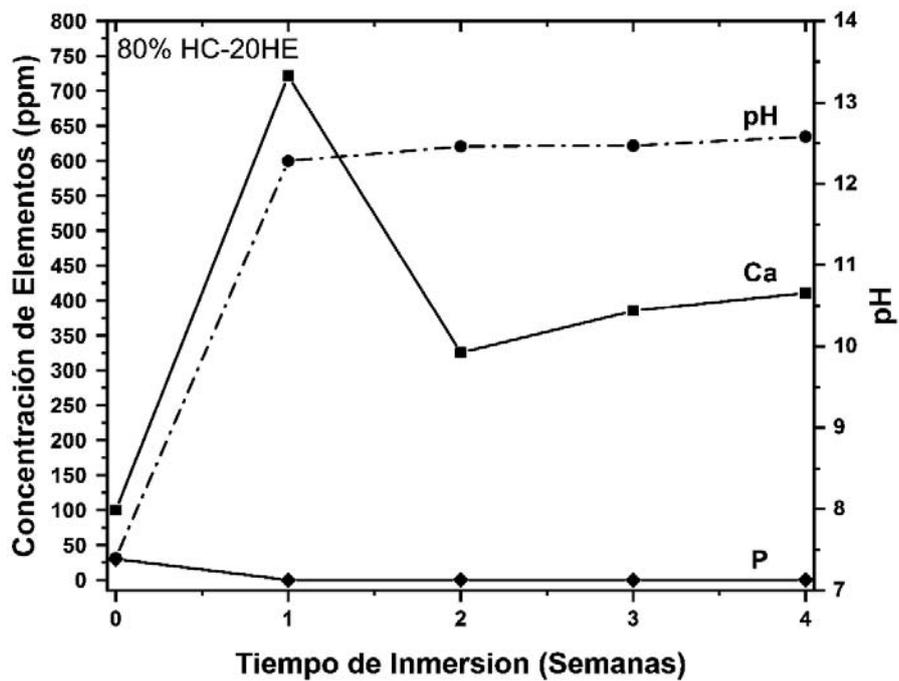


**Figura 11.** Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos de hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF.

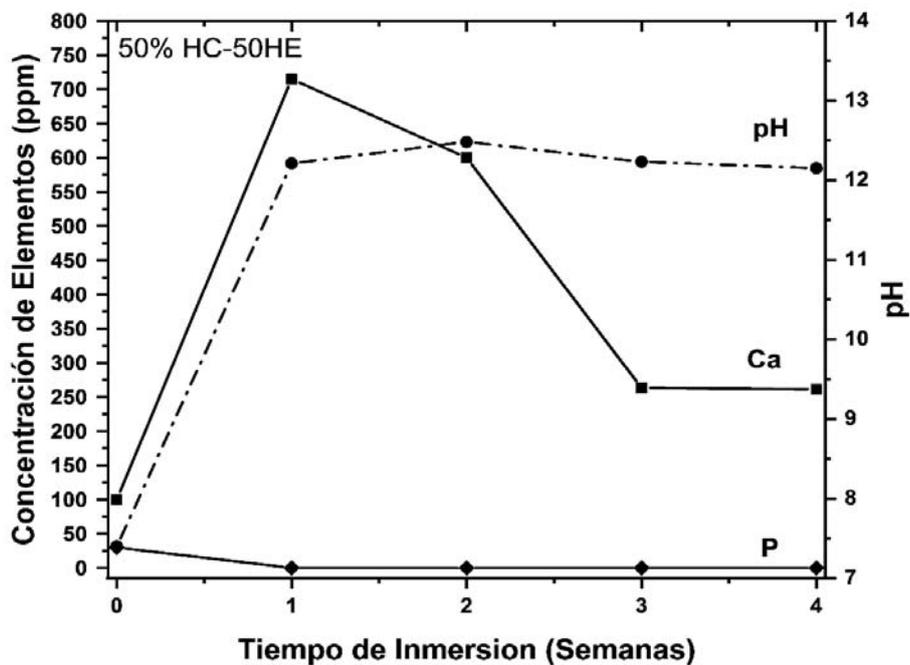
El comportamiento de la solubilidad de los iones Ca y P y el pH de la solución, se analiza al poner en contacto los materiales con una solución de un fluido fisiológico simulado (SBF) durante 4 semanas. A este respecto, las Figuras 11 y 15 muestran que la solubilidad de la hidroxiapatita carbonatada es muchos más alta que la solubilidad de la hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad. Lo anterior se demuestra al observar el comportamiento en la Figura 15, donde se aprecia la alta concentración de iones Ca de alrededor de 525 ppm durante la primer semana, estabilizándose en 350 ppm para la cuarta semana, con valores de pH desde 7.42 hasta 12.4. Lo anterior contrastado con el comportamiento que exhibe la hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad en la Figura 11, donde las concentraciones de iones Ca solo alcanzan alrededor de 125 ppm y valores de

pH cercanos a 7.5. Por lo que corresponde a la evolución de los iones P en la solución, en ambos casos estos disminuyen drásticamente desde el inicio del período de evaluación. Lo anterior se debe a que después de descompensarse la carga iónica de la solución sobresaturada de la solución SBF, producto de la disolución parcial de los materiales inmersos en ella, primeramente ocurre una precipitación sobre los materiales de una primera capa rica en P, sobre la cual, posteriormente precipita otra capa rica en iones Ca, las cuales interactúan para cristalizar en forma de apatita neoformada, dando lugar primeramente a una disminución de iones P, seguida de la disminución de iones Ca desde la solución.

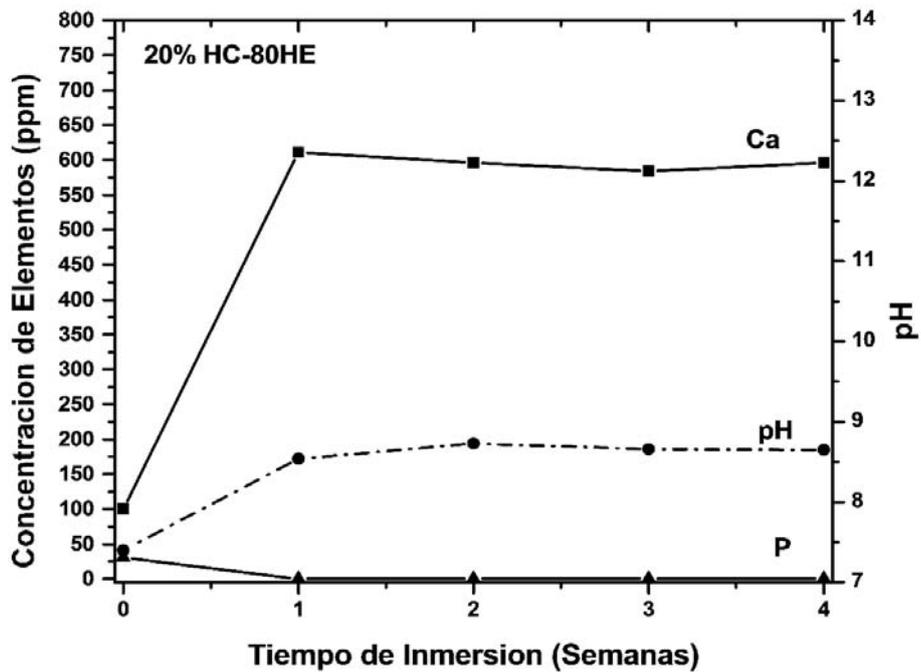
Por lo que corresponde al comportamiento de los materiales compuestos con los materiales base anteriores, las Figuras 12 a la 14 muestran un comportamiento sinérgico de la solubilidad, al formular materiales con diferentes fracciones de hidroxiapatita carbonatada e hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad. Lo anterior significa que en los tres materiales compuestos: 80% HC- 20% HE, 50% HC- 50% HE y 20% HC- 80% HE, pueden apreciarse comportamientos superiores en la disolución de iones Ca y los valores de pH, comparados con los ya explicados para 100% HC y 100% HE. Las Figuras 12 y 13 muestran que los mejores comportamientos de solubilidad y por ende, los materiales compuestos más bioactivos de este estudio son 80% HC- 20% HE, 50% HC- 50% HE, que en ambos casos se aprecian disoluciones de 725 ppm de Ca desde la primer semana, el cual se estabiliza entre 350 y 400 ppm durante la cuarta semana. Asimismo, los valores de pH alcanzan en ambos casos, valores superiores a 12.



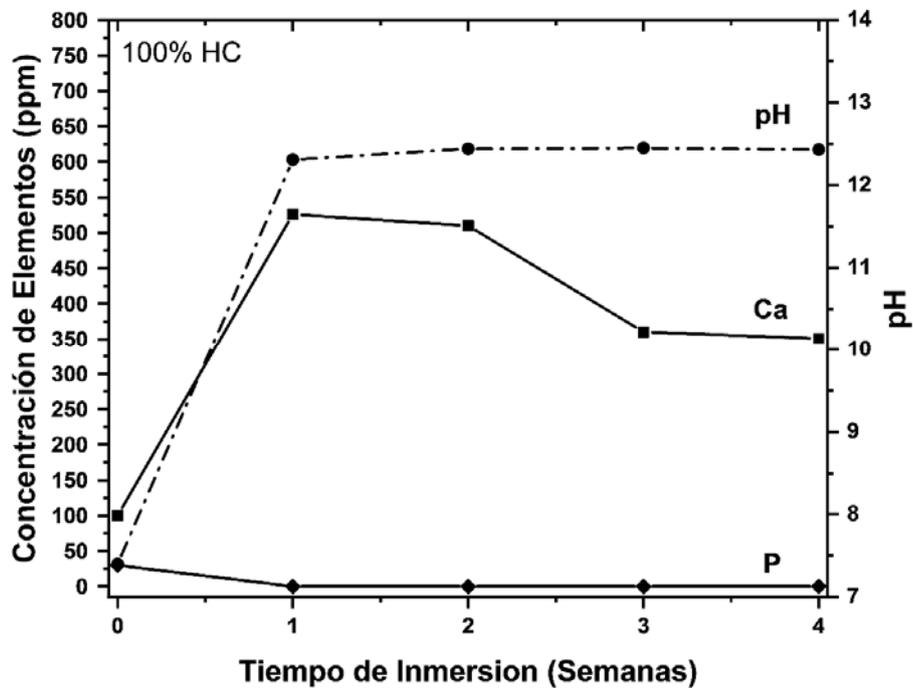
**Figura 12.** Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos del compuesto formulado con 80% hidroxiapatita carbonatada-20% hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF.



**Figura 13.** Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos del compuesto formulado con 50% hidroxiapatita carbonatada-50% hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF.



**Figura 14.** Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos del compuesto formulado con 20% hidroxiapatita carbonatada-80% hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF.



**Figura 15.** Curvas de pH y solubilidad de los iones Ca y P para 0.5 gramos de hidroxiapatita carbonatada sumergidos durante 4 semanas en la solución SBF.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

Las conclusiones derivadas del presente estudio se pueden resumir como sigue:

- Se sintetizó hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad, mediante una técnica sol-gel usando como agentes precursores nitrato de calcio y fosfato de amonio, tratando térmicamente el xerogel a una temperatura de 350°C. Los análisis de difracción de rayos-X y espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier, demostraron que se produjo hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad como fase única.
- Se sintetizó hidroxiapatita carbonatada del tipo "B" mediante una técnica sol-gel usando como agentes precursores acetato de calcio y trietil fosfato, tratando térmicamente el xerogel a una temperatura de 1000°C, donde se obtuvo hidroxiapatita acompañada de óxido de calcio. Mediante lavados con HCl diluido y agua se logró obtener el producto deseado. Los análisis de difracción de rayos-X y espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier, demostraron que se produjo hidroxiapatita carbonatada del tipo "B" exenta de contaminantes tales como carbonato de calcio, óxido de calcio, entre otros.
- Se formularon mediante mezcla directa, biocerámicos compuestos con ambos tipos de hidroxiapatitas, (hidroxiapatita carbonatada "HC" e hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad "HE" en proporciones 100% HE, 20% HC-80% HE, 50% HC-50% HE, 80% HC-20% HE y 100% HC; resultado los biocompósitos 80% HC- 20% HE, 50% HC- 50% HE las fases más solubles y la hidroxiapatita estequiométrica de baja cristalinidad como la fase menos soluble de este estudio. Se destaca que conforme se aumentó el contenido de hidroxiapatita carbonatada en los biocerámicos compuestos, se propició una mayor solubilidad de los iones Ca y P, hacia la solución fisiológica, así como también, se alcanzaron valores de pH más altos. Lo anterior refleja comportamientos bioactivos más eficientes en estos biomateriales, al aumentar la proporción de hidroxiapatita carbonatada. Asimismo, se destaca

un efecto de sinergia en el comportamiento de la solubilidad de los 3 biocerámicos compuestos (20% HC-80% HE, 50% HC-50% HE y 80% HC-20% HE) con respecto al comportamiento de los materiales base (100% HE y 100% HC).

Lo anterior pone de manifiesto la posibilidad de conjugar diferentes proporciones de ambos materiales base (100% HE y 100% HC), con el fin de ajustar la velocidad de solubilidad de los mismos, y con ello el comportamiento de su bioactividad, con el fin de obtener biocerámicos compuestos con características bioactivas tales, que reproduzcan la solubilidad y la bioactividad de los tejidos duros dañados, que serán reemplazados por estos materiales de implante

## **5.2. Recomendaciones**

- La primera recomendación que se deriva de este trabajo es la de implementar un análisis similar del estudio de la bioactividad de estos biocompósitos cerámicos, pero ahora sinterizados en forma de piezas sólidas densas, con el fin de comparar su comportamiento con los polvos evaluados en el presente trabajo y tener conocimiento de su respuesta como piezas moldeadas a formas específicas de los tejidos duros que sustituirán.
- Seguidamente se recomienda soportar los polvos producidos en este trabajo, en alguna biopelícula degradable como las de quitosana, con el fin de evaluar su bioactividad a la par con un componente totalmente reabsorbible.
- Finalmente se recomienda llevar a cabo estudios de biocompatibilidad, mediante pruebas de sensibilidad cutánea, hemólisis, cultivos celulares, entre otros; con lo cual se estará en posibilidades de conocer una respuesta más integral del comportamiento de estos biocerámicos al interactuar con organismos vivos, con lo cual se podrán proponer alternativas de usos más

eficientes para cada una de sus formulaciones, consistencias físicas y formas geométricas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R. Sastre, S. De Aza, J. San Román, "Biomateriales", (2004).
- [2] L. L. Hench, "Bioceramics: From Concept to Clinic," *Journal of the American Ceramic Society*, Vol. 74, No. 7, 1991, pp. 1487-1510.
- [3] T. Kokubo, "A/W Glass-Ceramic: Processing and Properties," In: L. L. Hench and J. Wilson, Eds., *An Introduction to Bioceramics*, World Scientific, Singapore, 1993, pp. 75-88.
- [4] S. Correa and David Pulgarín, Tesis: Implementación de una metodología para la fabricación de pigmentos cerámicos a través de las vías tradicional y sol-gel. Medellín: TDG Universidad Nacional de Colombia, 2003.
- [5] W.F. Smith, J Hashemi, GN Cázares. Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales, 4th Edition Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales, 2006.
- [6] M. A. Encinas-Romero, Jesús Peralta-Haley, Jesús L. Valenzuela-García, Felipe F. Castellón-Barraza. Synthesis and Structural Characterization of Hydroxyapatite-Wollastonite Biocomposites, Produced by an Alternative Sol-Gel Route. 2013.
- [7] M. A. Encinas-Romero, S. Aguayo-Salinas, J. L. Valenzuela-García, S. R. Payán and F. F. Castellón-Barraza, "Mechanical and Bioactive Behavior of Hydroxyapatite- Wollastonite Sintered Composites," *International Journal of Applied Ceramic Technology*, Vol. 7, No. 2, 2010, pp. 164-167.
- [8] V. Lázaro Magdalena, A. Mateu Roig, Yolanda Reig Otero, and Yolanda Prada Marcos, 'Procesos de obtención de nanomateriales' *Nanotecnología aplicada a la cerámica*, no. 1, pp. 28-34, Nov. 2009.
- [9] D.W. Richerson, *Modern Ceramic Engineering*. Chapter 9.2: powder processing. New York: Marxel Dekker, INC., 1992
- [10] C.J. Binker and G.W. Scherer *Sol-Gel the physics and chemistry of sol-gel processing*. U. Kingdom: Academy Press, 1990.
- [11] M. Markovic and B. O. Fowler, "Preparation and Comprehensive Characterization of a Calcium Hydroxyapatite. Reference Material," *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*, Vol. 109, No. 6, 2004, pp. 553-568.
- [12] C. J. Brinker, G. W. Scherer. *Sol-gel Science -The Physics and Chemistry of Sol-gel Processing*. New York, Academic Press, 1990.

- [13] M.A. Encinas. Síntesis y caracterización de Compósitos de Hidroxiapatita-Wollastonita, Preparados Mediante la Técnica Sol-Gel, Tesis Doctoral Universidad de Sonora, 2009.