

**DISEÑO Y FABRICACION DE MATERIALES
BIOCOMPATIBLES BASADOS EN SOLES DE
SILICE PARA SER USADOS EN IMPLANTES**

TESIS QUE PRESENTA

JUAN COREÑO ALONSO

PARA LA OBTENCION DEL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

JULIO DE 1999

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
DIVISION DE CIENCIAS BASICAS E INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE FISICA
AREA DE POLIMEROS

**DISEÑO Y FABRICACIÓN DE MATERIALES
BIOCOMPATIBLES BASADOS EN SOLES DE
SÍLICE PARA SER USADOS EN IMPLANTES**

TESIS QUE PRESENTA
JUAN COREÑO ALONSO

PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
ÁREA DE POLÍMEROS
ASESOR: ROGELIO RODRÍGUEZ TALAVERA

JULIO DE 1999

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

DENOMINACION DE LA TESIS

DISEÑO Y FABRICACION DE MATERIALES BIOCOPATIBLES BASADOS EN SOLES DE SILICÉ PARA SER USADOS EN IMPLANTES

En México, D.F. se presentaron a las 12:00 horas del día 16 del mes de JULIO del año 1999 en la Unidad IZTAPALAPA de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del Comité del Posgrado.

DRA. TESSY MARIA LOPEZ GOERNE;
 DR. HUMBERTO VAZQUEZ TORRES;
 DRA. CRISTINA PIÑA BARBA;
 DR. ERICK MAURICIO RIVERA MUÑOZ Y
 DR. ROGELIO RODRIGUEZ TALAVERA

bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último se reunieron a la presentación de la Disertación Pública para la obtención del Grado de Doctor



CIENCIAS

JUAN COREÑO ALONSO

quien presentó una tesis producto de una investigación original cuya denominación aparece al margen y de acuerdo con el artículo 78 fracciones I, II, IV y V del Reglamento de Estudios Superiores de esta Universidad, los miembros del Comité resolvieron:

Juan Coreño Alonso
 JUAN COREÑO ALONSO
 FIRMA DEL INTERESADO

APROBARLO

Acto continuo, el Presidente del Comité comunicó al interesado el resultado y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISO

[Signature]
 DR. ANTONIO AGUILAR AGUILAR
 DIRECCION DE SISTEMAS ESCOLARES

VISTO BUENO

[Signature]
 DRA. MARIA JOSE ARROYO PANIAGUA
 DIRECTORA DE DIVISION

PRESIDENTE

[Signature]
 DRA. TESSY MARIA LOPEZ GOERNE

SECRETARIO

[Signature]
 DR. ROGELIO RODRIGUEZ TALAVERA

VOCAL

[Signature]
 DR. HUMBERTO VAZQUEZ TORRES

VOCAL

[Signature]
 DRA. CRISTINA PIÑA BARBA

VOCAL

[Signature]
 DR. ERICK MAURICIO RIVERA MUÑOZ

AGRADECIMIENTOS

La realización de la presente tesis no hubiera sido posible sin la generosa ayuda material y moral de amigos, compañeros y técnicos, tanto en la UAM como en la UNAM, IMP e IPN. Les reitero mi agradecimiento por sus palabras de apoyo y su atención en la discusión de aspectos experimentales, su colaboración para el préstamo de reactivos y equipos, así como la asistencia técnica para la caracterización de los materiales obtenidos.

Agradezco, así mismo, al jurado asignado para la revisión de esta tesis sus observaciones y comentarios, ya que con sus valiosas aportaciones permitieron enriquecer el contenido original de la misma:

Dr. Rogelio Rodríguez Talavera

Dr. Humberto Vázquez Torres

Dra. Tessy López Goerne

Dra. Cristina Piña Barba

Dr. Erick Rivera

Agradezco a al UAM –Iztapalapa, en especial al área de polímeros, en cuyo laboratorio se desarrolló el trabajo experimental de este estudio. Igualmente, considero necesario agradecer al personal de bibliotecas de la UAM, UNAM y CINVESTAV pues en sus acervos bibliográficos se ha nutrido este trabajo.

La presente tesis pudo ser posible también, gracias a la beca asignada al autor por CONACyT. Agradezco por tanto a los contribuyentes, cuyos impuestos hacen posible la formación de recursos humanos en el campo científico y tecnológico.

INDICE

Resumen	1
Introducción.....	2
Capítulo I	
Materiales sintéticos para uso quirúrgico.....	4
Capítulo II	
2.1 Materiales cerámicos y su fijación en el organismo.....	9
2.1.1 Cerámicos cristalinos casi inertes	13
2.1.2 Cerámicos porosos	15
2.1.3 Cerámicos bioactivos y resorbibles.....	16
2.1.3.1 Vidrios bioactivos	16
2.1.3.2 Vidrios cerámicos	19
2.1.3.3 Cerámicos calcio-fosfato	22
2.2 Materiales compuestos principalmente por sílice	25
2.3 Materiales no cerámicos con superficies bioactivas	26
Capítulo III	
Implantes para tejido óseo y naturaleza del hueso	27
Mecanismo biológico de unión de implantes	30
Capítulo IV	
Mecanismos de formación de apatita en materiales bioactivos	33
Proceso sol-gel	42
Superficie de la sílice	47
Capítulo V .- Parte Experimental y Resultados	
Método A) para crecimiento de apatita.....	51
Método B) para crecimiento de apatita	53
Materiales y Técnicas de caracterización.....	55
Resultados y discusión	57
Conclusiones.....	77
Apéndice.....	79
Bibliografía.....	87

RESUMEN

Se realizó el crecimiento de apatita de fosfato de calcio sobre dos diferentes sustratos de sílice. La sílice fue preparada a partir de soles sintetizados por la hidrólisis alcalina de ortosilicato de tetraetilo. En el primer método los soles de sílice fueron diluidos en alcohol etílico para ser posteriormente coagulados por la adición de cloruro de calcio en agitación. En el segundo método los soles sin diluir se agregaron para obtener precipitados utilizando la misma sal. La relación molar de los reactivos utilizados para la síntesis de los soles coagulados fue variada respecto de los soles precipitados.

La fase de apatita se creció empleando en ambos casos diferentes soluciones y condiciones de reacción. La apatita se caracterizó empleando difracción de rayos X, espectroscopía Raman, resonancia magnético nuclear y microscopía electrónica de barrido y transmisión.

Se encontraron algunas relaciones entre las condiciones de crecimiento, los sustratos utilizados y las características de la apatita obtenida. La rapidez de crecimiento de la fase de apatita depende de la temperatura de reacción, así como de la temperatura de secado de los sustratos. La morfología y tamaño de la fase de apatita está influida por la relación molar Ca/P de la solución de crecimiento, de la temperatura de reacción y del tipo de sustrato empleado. Por último, se presenta una hipótesis que permite explicar la etapa inicial de nucleación de la apatita sobre sustratos de sílice, eco base en los resultados obtenidos y los antecedentes bibliográficos.

INTRODUCCION

El empleo de materiales naturales como implantes dentro del cuerpo humano es bastante antiguo. Como ejemplo puede citarse el implante de jade encontrado en la dentadura de una mujer Maya, del periodo 600-800 D.C. Por lo que respecta a materiales fabricados por el hombre, la porcelana ha sido utilizada para restauración dental desde finales del siglo XVIII.

Entre los materiales más ampliamente utilizados como dispositivos médicos se encuentran las aleaciones metálicas, los polímeros y las cerámicas. El uso que pueden encontrar cada uno de estos biomateriales se encuentra supeditado, entre otros casos, a sus características mecánicas: las aleaciones se utilizan en la reparación o sustitución de partes del organismo sujetas a altos esfuerzos mecánicos como los huesos largos o los dientes, mientras que los polímeros se emplean sobre todo en implantes de tejidos suaves.

A diferencia de los metales y los polímeros, los materiales cerámicos presentan pobres propiedades mecánicas, pues por ser rígidos y frágiles son propensos a presentar fracturas fácilmente; sin embargo, desde el punto de vista tejido-implante, actualmente se consideran como los mejores materiales para aplicaciones biomédicas, ya que son materiales no tóxicos. Muchos de ellos presentan un tipo de interacción, la cual podría denominarse positiva con los tejidos que los rodean al ser implantados, desarrollando una interferencia bioquímica que les permite ser reconocidos por el organismo y llegar a ser parte integral del tejido. A este comportamiento se le conoce como bioactividad.

Se han probado una gran variedad de composiciones de materiales cerámicos con objeto de ser implantadas en el cuerpo humano; sin embargo, pocas han encontrado aplicación clínica; puesto que, además de formar una zona interfacial estable con el tejido conectivo que lo rodea, deben igualar el comportamiento mecánico del tejido que se va a reemplazar. Por lo que hace a la primera característica, desde el descubrimiento en 1969 del primer material bioactivo hecho por el hombre (Bioglass®), se ha desarrollado una amplia gama de materiales que presentan propiedades similares de unión. Dentro de éstos biomateriales se encuentran los vidrios, los vidrios-cerámicos y los fosfatos de calcio.

El uso de fosfatos de calcio para reparación de huesos fue iniciado probablemente por Albee, quien reportó en 1920 que el fosfato tricálcico estimulaba la osteogénesis. Sesenta años después, este tipo de materiales está disponible comercialmente para aplicaciones biomédicas. Entre estos materiales, la hidroxiapatita ha llamado ampliamente la atención, ya que tiene una composición y estructura similar a la de los tejidos duros del cuerpo humano por lo cual tiene excelentes propiedades químicas de implantación, lo que la hace un material muy promisorio dentro del campo de los materiales biocerámicos.

Este trabajo tiene como objetivo principal la preparación de un material con base en sílice que sirva de base para el crecimiento de apatita de fosfato de calcio, compuesto con un alto potencial de biocompatibilidad. Para conocer el contexto dentro del que se encuentra este trabajo se presenta una revisión de algunos de los principales materiales que han encontrado uso en aplicaciones quirúrgicas, haciendo énfasis en los materiales cerámicos y su tipo de unión al ser implantados en el cuerpo humano.

CAPITULO I

MATERIALES SINTETICOS PARA USO QUIRURGICO

Según la “Segunda consulta para el consenso sobre definiciones en biomateriales de la Sociedad Europea de Biomateriales (1991)”¹, se entiende por el término biomaterial un material empleado con la intención de que establezca contacto con sistemas biológicos para evaluar, curar, aumentar o reemplazar cualquier órgano, tejido o función del cuerpo. El objeto puede consistir de materiales vivos o no vivos. Dentro de los primeros se consideran las colonias de células y tejidos tomados de uno o más individuos, generalmente inmediatamente después de muertos, incluyendo piel, huesos, córneas y órganos completos como hígado y corazón. Los objetos construidos a partir de biomateriales y que están diseñados para desempeñar una función específica dentro del cuerpo se conocen generalmente como implantes.^{2,3}

Dos características importantes de un biomaterial son su biofuncionalidad y su biocompatibilidad. El comportamiento funcional de un biomaterial se conoce como biofuncionalidad y describe el comportamiento del material implantado en el organismo, lo que depende entre otros factores de su uso, forma, fatiga, fractura, fijación, reacciones tisulares, corrosión, sobrecarga, etc. La biocompatibilidad ha sido definida como el estado de coexistencia mutua entre un biomaterial y el ambiente fisiológico, de modo tal que ninguno tenga un efecto indeseable por la existencia del otro. También puede entenderse como el control permanente de las influencias recíprocas entre el organismo y el implante.⁴

Cualquier material aplicable en implantaciones quirúrgicas da lugar a un amplio espectro de reacciones bioquímicas dentro del cuerpo. Este espectro puede dividirse aproximadamente en tres categorías:^{5,6}

- 1.- Materiales casi inertes, con mínima reactividad química
- 2.- Materiales totalmente resorbibles, con posible disolución en constituyentes metabólicos
- 3.- Materiales con actividad superficial controlada

Los materiales inertes como el polietileno de ultra alto peso molecular y la alúmina son casi químicamente inertes dentro del cuerpo y exhiben una interacción química mínima con el tejido adyacente. Los materiales bioresorbibles, tales como el fosfato tricálcico y los polímeros resorbibles, se diseñan para ser lentamente reemplazados tejido regenerado, eliminándose la interface original. Idealmente, no hay diferencia perceptible entre el sitio de implante y el tejido huésped una vez que se ha completado la resorción. Los materiales en la tercera categoría se encuentran dentro de los materiales bioactivos que son definidos¹ como aquellos que se diseñan para producir o adaptar actividad biológica.

Los materiales de uso quirúrgico más frecuente son los siguientes:

A) Metales y aleaciones⁷. - Quirúrgicamente, rara vez se usan metales puros. Aparte de su alto costo, hay razones de tipo químico y mecánico por las cuales se prefiere el uso de aleaciones. Aún los elementos nobles como el Pt y el Au muestran lentos procesos de corrosión, particularmente como resultado de la acción complejante de enzimas, proteínas y hormonas presentes en los fluidos. Los objetos metálicos más comunes se presentan en la forma de clavos, tornillos, tuercas, pernos, grapas, placas, pinzas intramedulares, alambres, bandas y prótesis para coyunturas. Estos materiales generalmente se utilizan para reparar daños óseos, o pueden servir ya sea como coadyuvantes o promotores de la maduración natural del hueso, o como sustitutos de partes óseas removidas. En el ámbito del tejido vascular sus aplicaciones son pocas, salvo algunas en válvulas para el corazón. Otras aplicaciones de aleaciones metálicas son posibles en odontología, para el reemplazo de raíces dentales, el reacomodo de la posición natural de los dientes y el llenado de cavidades dentales luego de la extracción de caries. Estas aleaciones están constituidas de Ag, Zn, Cu, Sn (y algunas veces de pequeños porcentajes de Au, Cd y Sb) para ser disueltas en Hg en el momento de ser usadas para obtener una amalgama pastosa adecuada.

Hasta ahora, tres principales tipos de substratos se han utilizado para fabricar aleaciones de este tipo: Fe, Co y Ti. A continuación se describen algunos ejemplos.

Una de las aleaciones más frecuentemente utilizadas con fines ortopédicos, gracias a su resistencia a la corrosión, es el acero 316L, especialmente si contiene pocas inclusiones. Este acero contiene Mo, bajo contenido de C y S y es inoxidable.

La aleación Co-Cr-Mo tiene óptimas propiedades mecánicas y suficiente dureza para soportar los esfuerzos a los cuales se somete. La aleación Co-Cr-Mo empleada quirúrgicamente deriva, con algunas adaptaciones, de la aleación dura Stellite 21, empleada en electrodos o en soldadura, conocida en los EE.UU. como Vitallium.

El Ti es muy dúctil y elástico para uso quirúrgico por lo que se prefieren sus aleaciones. Estas se caracterizan por tener buena flexibilidad, gran ligereza y alta resistencia a la corrosión. La aleación utilizada más frecuentemente contiene V y Al, pero como el primero se considera que puede producir tumores por algunas personas, ahora se da preferencia a las aleaciones en las que el Ni sustituye al V.

Con el fin de evitar o reducir el contacto de la superficie de aleaciones con el ambiente fisiológico o mejorar sus propiedades de adhesión, se ha propuesto la posibilidad de recubrir las superficies metálicas con materiales tanto inertes como bioactivos. Infortunadamente, éstos no poseen las propiedades elásticas de los metales y algunas veces dan lugar a fenómenos de fractura y separación del recubrimiento.

B) Polímeros⁸.- Los polímeros biomédicos están considerados hoy en día como los mejores materiales para implantaciones de tejidos suaves en los sistemas cardiovascular, respiratorio, digestivo, nervioso y genitourinario. Estos materiales son flexibles, ligeros, aislantes térmicos, fáciles de producir y moldear. Sus características mecánicas, sin embargo, permiten solamente en algunas ocasiones su uso como materiales estructurales para soportar cargas mecánicas, a diferencia de los metales. Entre sus aplicaciones más exitosas en implantes quirúrgicos está el reemplazo de algunos defectos cardiacos por teflón (politetrafluoroetileno) y dacrón (politereftalato de etilo). A pesar de las muchas propiedades deseables de los polímeros actuales, su degradación por el ambiente fisiológico y su falta de compatibilidad con éste son los principales problemas para su aplicación en el desarrollo de órganos artificiales. Hasta ahora, el uso de polímeros se extiende a la ortopedia, oftalmología, odontología, farmacología y en sistemas de liberación controlada de fármacos.

Los polímeros presentan desventajas como materiales de implante ya que pueden influir sobre su entorno a través de la difusión de monómeros, solventes o catalizadores. Tal influencia puede ocurrir aún mucho tiempo después de la implantación, o en órganos alejados del implante. Además, pueden ocurrir dificultades por la acción bioquímica del ambiente fisiológico que rodea al polímero, así como problemas relacionados con la biocompatibilidad entre el polímero y los líquidos orgánicos con los que entra en contacto, lo cual puede limitar el desarrollo de órganos artificiales. Algunos efectos tóxicos son causados por antioxidantes, estabilizadores y aditivos aromáticos de bajo peso molecular contenidos en el polímero.

Entre los polímeros más utilizados están los polilacturos y poli- ϵ -caprolactonas, utilizados como fibras bioabsorbibles empleadas para material de sutura; ciertos poliuretanos, poliacrilamidas y polipropilenos para implantes vasculares; así como la polisulfona y el polietileno de ultra alto peso molecular en aplicaciones ortopédicas, y el polimetacrilato de metilo como sustancia cementante.

C) Materiales cerámicos.- Según la definición de la “American Ceramic Society”, un material cerámico es un producto hecho utilizando calor sobre materias primas arenosas en las que la sílice y los silicatos son los principales componentes⁹. Sin embargo, la introducción de nuevas tecnologías en las últimas décadas ha conducido a una redefinición del término cerámico que actualmente incluye cualquier producto esencialmente inorgánico no metálico que tenga requisitos funcionales. Se ha encontrado que algunos de los materiales dentro de este grupo poseen combinación de propiedades que los hacen muy promisorios como implantes.¹⁰

Originalmente los materiales cerámicos se utilizaron en cirugía por ser químicamente inertes, debido a la alta energía de enlace de sus componentes atómicos. Tal comportamiento coincide con la característica llamada refractividad, ya que la estabilidad química refleja también la estabilidad a altas temperaturas, en términos de alto punto de fusión o por ser inertes a los gases calientes con los cuales el material definido como refractario entra en contacto. En un sistema biológico la estabilidad química buscada no

corresponde precisamente al concepto de refractividad; sin embargo, los materiales refractarios son comúnmente estables químicamente en el organismo humano¹⁰.

Los materiales cerámicos, a diferencia de los polímeros y los metales, no poseen las propiedades mecánicas que permiten a estos materiales ser utilizados como implantes. Los materiales cerámicos son rígidos y frágiles lo cual disminuye su resistencia al impacto. A pesar de lo anterior, son considerados actualmente los mejores materiales para aplicaciones biomédicas, donde no se requiera una alta resistencia mecánica, debido al amplio espectro de propiedades específicas con óptimos valores, especialmente su alta biocompatibilidad, como en el caso de los fosfatos de calcio. Algunos otros como la alúmina (Al_2O_3) pueden considerarse inertes pero poseen mejores propiedades mecánicas.

El siguiente capítulo trata sobre los principales materiales cerámicos empleados como implantes y su forma de unión a los tejidos óseos.

CAPITULO II

2.1 MATERIALES BIOCERAMICOS Y SU FIJACION EN EL ORGANISMO

Los materiales cerámicos, por lo general, presentan altos valores de resistencia a la compresión y son químicamente inertes, por lo cual se han investigado para su uso tanto en algunas aplicaciones ortopédicas como dentales. Los materiales biocerámicos considerados comúnmente para implantes ortopédicos incluyen materiales cristalinos como la alúmina, fosfatos de calcio, y algunos tipos de vidrios. Los materiales cerámicos para implantes dentales y ortopédicas pueden involucrar cuatro diferentes tipos de interfaces de fijación con los tejidos¹¹:

- 1) Los materiales casi inertes, densos, no porosos, se unen por crecimiento del hueso sobre irregularidades de la superficie, cementándolos en los tejidos o ajustándolo a presión en el defecto (fijación morfológica). Ej: la alúmina ya sea monocristal o policristalina.
- 2) Para implantes porosos e inertes, hay crecimiento óseo dentro de ellos, lo cual permite unir mecánicamente el hueso al material (fijación biológica). Ej: la alúmina porosa policristalina o los recubrimientos porosos de hidroxiapatita (a este material se hará referencia a lo largo de este trabajo con la abreviatura Hap).
- 3) Los materiales cerámicos densos, no porosos y con superficies reactivas se unen directamente por química con el hueso[⊕](fijación bioactiva). Ej. Vidrios bioactivos e Hap.
- 4) Los materiales cerámicos densos no porosos (o porosos) resorbibles que son diseñados para ser lentamente reemplazados por el hueso. Ej: Sulfato de calcio o fosfato tricálcico.

En la Fig. 1 se muestra una comparación de la actividad química relativa para los diferentes tipos de biocerámicos. La reactividad relativa mostrada en la Fig. 1a) correlaciona muy cercanamente con la rapidez de formación de una unión interfacial de los implantes con el hueso Fig 1b). El grado de bioactividad de un material específico puede relacionarse

[⊕] El término unión al hueso se tradujo del inglés *bone-bonding* que se define como la fijación, por medio de un proceso fisicoquímico, de continuidad entre el implante y la matriz ósea. (1)

con el tiempo para que se dé una unión de más del 50% de la interface. Todos los implantes bioactivos requieren un periodo de incubación antes de que el hueso se regenere y se una, lo cual es evidente en la Fig. 1. El lapso de la incubación al cual este proceso ocurre varía en un amplio margen dependiendo de la composición del implante, lo cual controla la cinética de la reacciones superficiales. Si las reacciones superficiales son muy rápidas, el implante es resorbible. Si por el contrario, son muy lentas, el material es inerte¹².

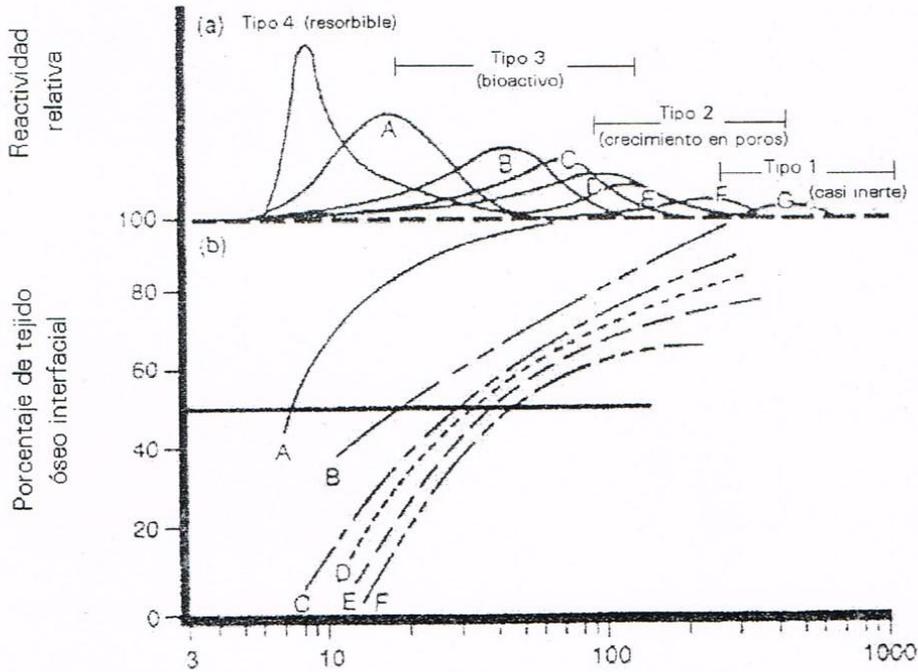


Fig 1.-Espectro de bioactividad para varios implantes biocerámicos: a) rapidez relativa de bioactividad y b) dependencia con el tiempo para la formación de unión al hueso en la interface del implante. ((A) Bioglass 45S5, (B) Ceravital KGS, (C) Bioglass 55S4.3, (D) vidrio cerámico A/W, (E) Hap, (F) Ceravital KGX, y (G) $Al_2O_3-Si_3N_4$).

El grado de reactividad de un implante ejerce influencia sobre el espesor de la zona interfacial o cápsula entre el material y el tejido. Los análisis de falla de los materiales implantados durante los últimos 20 años generalmente muestran fallas originadas a partir de la interface tejido-material. Cuando el material es casi inerte y la zona interfacial no está química o biológicamente unida hay movimiento relativo y desarrollo progresivo de una cápsula fibrosa no adherente tanto en los tejidos suaves como duros. El movimiento en la zona interfacial finalmente puede conducir al deterioro de la función del implante o del

tejido en la zona interfacial, o ambos. El espesor de la cápsula no adherente varía según sea la composición del material implantado (Fig. 2)

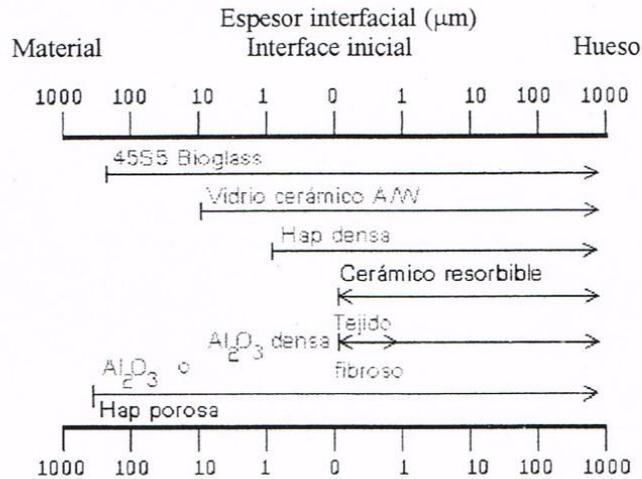


Fig. 2.-Comparación de los espesores interfaciales de la capa de reacción de implantes bioactivos o del tejido fibroso de los cerámicos inactivos en el hueso.

El tejido fibroso en la zona interfacial con implantes densos de alúmina grado médico puede ser muy delgado. Consecuentemente, si los implantes de alúmina son colocados con un ajuste mecánico muy cerrado y están cargados principalmente en compresión, son clínicamente exitosos. Pero, si están cargados de tal manera que pueda ocurrir movimiento interfacial, la cápsula fibrosa puede llegar a ser de varios cientos de micrómetros de espesor y el implante se suelta rápidamente. Esto conduce invariablemente a falla clínica por una variedad de razones, incluyendo la fractura del implante o del hueso adyacente al implante. El hueso en la zona interfacial a menudo es estructuralmente débil debido a enfermedad, muerte localizada del hueso (especialmente si se usa cemento óseo de polimetacrilato de metilo) o a una protección de esfuerzos cuando el módulo más alto del implante evita que el hueso esté cargado adecuadamente¹².

La unión en los biocerámicos microporosos casi inertes (tipo 2) se da a través del crecimiento de tejido dentro de los poros de una superficie o por todo el implante. El aumento en el área superficial entre el implante y el tejido resulta en un aumento de la resistencia al movimiento del dispositivo en el tejido. La zona interfacial es establecida por el organismo dentro y fuera de los poros. Este método de unión a menudo se denomina fijación biológica, y es capaz de soportar estados de esfuerzos más complejos que los

implantes del tipo 1 (inertes), que logran solamente fijación morfológica. La limitación asociada con los implantes del tipo 2 (porosos), es que, para que el tejido permanezca viable y saludable es necesario que los poros sean del tamaño adecuado para la función que va a desempeñar el implante. Para el caso específico de sustitución de hueso de necesario que sean mayores de 100 μm . La gran área superficial requerida para esta porosidad se debe a la necesidad de proveer suministro de sangre al tejido conectivo en crecimiento. El tejido vascular no aparece en poros menores de 100 μm . Cuando el material es un metal, puede ocurrir la corrosión del implante y una pérdida de iones metálicos hacia el tejido, lo cual puede acarrear gran variedad de problemas médicos. Estos problemas potenciales pueden disminuirse utilizando materiales cerámicos bioactivos como recubrimientos que también acelerarían la velocidad de formación de hueso en los poros. Sin embargo, la fracción de alta porosidad que se necesita para el crecimiento de hueso en cualquier material, disminuye su resistencia mecánica. Consecuentemente este enfoque para resolver problemas de estabilidad interfacial es mejor cuando se utilizan materiales con recubrimiento poroso o como rellenos de espacios en tejidos no sometidos a cargas.¹²

Otra aproximación a la solución de problemas de unión interfacial es el uso de materiales bioactivos (tipo 3). El concepto de materiales bioactivos es intermedio entre el bioresorbible y el bioinerte. Un material bioactivo es aquél que se diseña para provocar o adaptarse a una actividad biológica¹⁰. En los implantes óseos esta actividad resulta en la formación de una unión interfacial entre el tejido y el material. Entre los materiales para implantes óseos se incluyen un gran número de materiales bioactivos con una amplia gama de velocidades de unión y espesores de las capas interfaciales de unión. Sin embargo, la rapidez de formación del enlace, su resistencia, el mecanismo de formación y el espesor de la zona interfacial formada varía para los diferentes materiales. La interface adherente que forman con los tejidos puede resistir grandes fuerzas mecánicas. Por ejemplo, se encontró que en pruebas de resistencia torsional, en fémur de monos en los que se había implantado un vidrio-cerámico, algunos implantes podían soportar esfuerzos de hasta 115 MPa. La zona de falla se daba en el hueso, quedando la zona de contacto hueso-vidrio intacta. Es importante señalar que cambios relativamente pequeños en la composición del material pueden afectar de forma importante la respuesta del organismo hacia él.¹²

Los materiales bioresorbibles están diseñados para degradarse gradualmente en un determinado periodo de tiempo para ser reemplazados por el tejido huésped natural. Esto conduce a una muy delgada capa o ausencia de zona interfacial. Esta es la solución óptima para el problema de los biomateriales si los requisitos de resistencia y desempeño a corto plazo pueden conjugarse. El tejido natural puede repararse por él mismo y ser gradualmente reemplazado a lo largo de la vida por una regeneración continua de población celular. A medida que se envejece el reemplazo de células y tejidos es menor y menos eficiente, lo cual explica el desgaste del tejido, infortunadamente unas partes más rápidamente que otras.

Los materiales resorbibles se basan en el mismo principio de reparación que ha evolucionado a través de millones de años. Los principales problemas a resolver en el desarrollo de biocerámicas resorbibles son: 1) mantenimiento de la resistencia mecánica y la estabilidad de la zona interfacial durante el periodo de degradación y reemplazo por el tejido huésped natural y 2) equilibrio de la rapidez de resorción con la de reparación de los tejidos del cuerpo, las cuales varían enormemente. Algunas sustancias se disuelven muy rápidamente mientras que otras lo hacen muy lentamente. En todo caso, es preferible que la rapidez de reparación del tejido sea mayor que la de resorción del material. Es esencial que el material resorbible consista solamente de sustancias aceptables metabólicamente. Este criterio impone limitaciones considerables para el diseño de la composición de materiales resorbibles. Ejemplos exitosos son los polímeros resorbibles poli(ácido láctico)-poli(ácido glicólico) (PLA-PGA) utilizado para suturas, los cuales son metabolizados hasta CO_2 y agua y, por tanto, son capaces de funcionar por un periodo y luego disolverse y desaparecer. Los materiales cerámicos de fosfato de calcio, porosos o granulados, son materiales exitosos para el reemplazo de tejido duro resorbible solamente cuando se necesitan bajas resistencias mecánicas como en el caso de reparación de mandíbula o partes óseas en la cabeza.¹²

2.1.1 CERAMICOS CRISTALINOS CASI INERTES¹¹

La alúmina de alta densidad y alta pureza ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, >99.5%) fue la primera biocerámica utilizada ampliamente en aplicaciones clínicas. Se utiliza en cojinetes de carga

para prótesis de cadera e implantes dentales, debido a su combinación de excelente resistencia a la corrosión, buena biocompatibilidad, alta resistencia al desgaste y mecánica. Aunque algunos implantes dentales son de zafiro mono-cristalino, la mayor parte de los dispositivos de alúmina son de α - Al_2O_3 policristalina muy finamente granulada. Se utiliza una pequeña cantidad de magnesia (<0.5%) como ayuda para la sinterización y para limitar el crecimiento del grano durante el sinterizado.

La resistencia mecánica a la fatiga y a la fractura de este material es función del tamaño de grano y del porcentaje de la ayuda de sinterizado, esto es, la pureza. La alúmina con un tamaño de grano promedio menor de 4 μm y porcentaje de pureza mayor de 99.7% muestra buena resistencia a la flexión y excelente resistencia a compresión. Un aumento en el tamaño de grano a más de 7 μm puede disminuir las propiedades mecánicas cerca de 20%. Deben evitarse altas concentraciones de ayudas porque se quedan en las fronteras de grano y disminuyen la resistencia a la fatiga, especialmente en los ambientes fisiológicos corrosivos.

La alúmina ha sido utilizada en cirugía ortopédica por cerca de 20 años debido principalmente a sus excepcionalmente bajos coeficientes de fricción y rapidez de desgaste. Las excelentes propiedades tribológicas (fricción y desgaste) de la alúmina ocurren solamente cuando los granos son muy pequeños (<4 μm) y presentan una distribución de tamaño muy cerrada. Tales condiciones conducen a valores muy bajos de rugosidad ($R_a \leq 0.02 \mu$). Si hay granos de mayor tamaño presentes pueden salir y conducir a un rápido desgaste debido a la fricción seca local y a la abrasión causada por los granos de alúmina en las superficies de los cojinetes de unión.

Se ha detectado que en algunos casos puede ocurrir protección de esfuerzos debido al alto módulo de Young de la alúmina comparada con la del hueso, lo cual evita que el hueso esté cargado, un requisito para que el hueso permanezca saludable y fuerte. Esto puede ocasionar atrofia en el hueso esponjoso y aflojamiento de la cavidad acetabular en paciente mayores con osteoporosis o artritis reumatoide

Otras aplicaciones clínicas de las prótesis de alúmina incluyen prótesis de rodilla, tornillo para huesos, cresta alveolar y reconstrucción maxilofacial, substitución de huesos

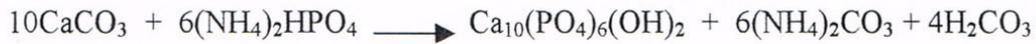
osiculares (oído medio), queratoprótesis (reemplazo de córnea) y reemplazo parcial de huesos.

2.1.2 CERAMICOS POROSOS

Cuando se emplean materiales con poros interconectados mayores de 100 μm , éstos pueden servir como puente estructural o andamiaje para que pueda crecer nuevo tejido óseo dentro de los poros fijando el implante. La estructuras de ciertos corales presentan estas características lo que permite que puedan tomarse como base o molde para la fabricación de piezas sometidas a cargas pequeñas.

Los géneros de coral más utilizados son *Porites*, con tamaño de poro de 140 a 160 μm , y *Goniopora* con tamaños más grandes de 200 a 1000 μm . El proceso para la fabricación de piezas para implantes de este tipo fue desarrollado en 1972 por White¹³ y se conoce como "Replamineform". Esta técnica permite duplicar la microestructura porosa del coral en otros materiales como cerámicos, metales y polímeros. Someramente, el proceso consiste en quitar la materia orgánica sumergiendo el coral en hipoclorito de sodio, después de lo cual se lava con agua destilada y se seca. Posteriormente, se da la forma al coral dar la forma deseada a la pieza de coral para ser posteriormente quemada a fin de eliminar dióxido de carbono del carbonato de calcio coralino. La estructura porosa original se conserva y sirve de molde para vaciar dentro de él, a vacío, el material de fabricación de la pieza. Una vez que se ha moldeado el material, el carbonato de calcio de la estructura coralina se disuelve en ácido clorhídrico diluido. En una variante de este proceso, como primer paso se quema el coral para eliminar el CO_2 del carbonato coralino, con lo cual se genera CaO en su lugar. Después de esto, se sigue el mismo procedimiento descrito anteriormente. Por este método pueden fabricarse piezas de α -alúmina, óxido de titanio, fosfatos de calcio, aleaciones de Co-Cr-Mo, poliuretano y PMMA. El material coralino puede utilizarse como tal para implante, sin embargo su uso presenta desventajas debido a la baja resistencia mecánica y alta solubilidad del carbonato de calcio que lo compone.

Pueden fabricarse además materiales porosos de Hap mediante la conversión hidrotérmica de aragonita coralina en presencia de fosfato de amonio a 375°C y 12 000 psi, de acuerdo a la siguiente reacción¹⁴



La fabricación de materiales porosos se justifica principalmente para materiales como la alúmina y las aleaciones, ya que la unión del hueso con ellos no es muy fuerte, sin embargo para materiales como la Hap y otros fosfatos de calcio la presencia de porosidad es innecesaria, según Doremus¹⁵, pues se une fuertemente al hueso. La presencia de porosidad, por otra parte, puede debilitar y permitir mayor corrosión en los materiales de implante.

Ciertos materiales como la alúmina también pueden hacerse porosos utilizando un agente espumante apropiado que produzca gases durante el calentamiento, o mezclando partículas de metal o sales solubles en la superficie para que puedan ser removidas al sumergirlas en un disolvente adecuado.¹²

2.1.3 CERAMICOS BIOACTIVOS Y RESORBIBLES

2.1.3.1 VIDRIOS BIOACTIVOS

La unión con el hueso se demostró por primera vez, para materiales sintéticos, dentro de cierto intervalo de composiciones de vidrios que contenían SiO_2 , Na_2O , CaO y P_2O_5 en proporciones específicas. Estos materiales fueron desarrollados en la Universidad de Florida en la década de los 70 y se comercializan con el nombre de Bioglasses®.¹⁶ Existen tres características claves en su composición que los distinguen de los vidrios fabricados a partir de sílice y óxidos alcalinos tradicionales: 1) la cantidad de sílice es menor de 60%, 2) alto contenido de óxidos de sodio y calcio y 3) alta razón óxido de calcio / óxido de fósforo. Estas características en su composición los hacen altamente reactivos cuando se exponen a un medio acuoso. Muchos vidrios bioactivos se basan en la fórmula 45S5 (45 significa el porcentaje de sílice, S el compuesto que forma la red, SiO_2 y 5 la razón molar de Ca/P).¹²

Para propósitos de comparación, en la tabla 1 se muestra la composición de algunos biovidrios y cerámicas vítreas.¹²

Tabla 1.- Composición del biovidrio 45S5 y los vidrios cerámicas Ceravital y A/W (% en peso).

Material	SiO ₂	P ₂ O ₅	CaO	Ca(PO ₃) ₂	CaF	MgO	Na ₂ O	K ₂ O
45S5	45	6	24.5	--	--	--	24.5	--
Ceravital	46.2	--	20.2	25.5	--	2.9	4.8	0.4
A-W	34.2	16.3	44.9	--	0.5	4.6	--	--

La dependencia de composición de vidrios a partir de SiO₂, CaO y Na₂O para la unión a los tejidos se muestra en la Fig. 3.¹⁶ Todos los vidrios contienen un 6% en peso de P₂O₅. Las composiciones a la mitad del diagrama (región A) se unen con el hueso, por lo que recibe el nombre de frontera bioactiva. Los vidrios en la región B (como los de las ventanas o las botellas) se comportan como los materiales inertes, es decir, dan lugar a su encapsulación por el tejido fibroso. Los vidrios en la región C son resorbibles y desaparecen en lapsos de 10 a 30 días luego de ser implantados. Los vidrios en la región D son técnicamente imprácticos y no se ensayaron.

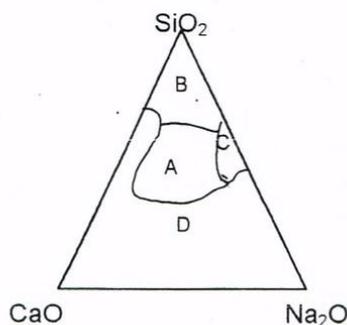


Fig.3.- Comportamiento de los vidrios bioactivos para diferentes composiciones. A área bioactiva, B área inerte y C área resorbible.

Más recientemente se ha encontrado que los vidrios dentro del sistema binario CaO-SiO libres de P₂O₅ probados *in vivo* se unen al hueso a través de una capa superficial de apatita.¹⁷ También se ha encontrado que los vidrios del sistema Na₂O-SiO₂ forman una capa de apatita *in vitro*.¹⁸

Las aplicaciones más comunes de los biovidrios se dan en recubrimientos para prótesis dentales, maxilofaciales y de ortopedia, implantes dentales, aumento del arco alveolar, reconstrucción maxilofacial e implantes en el oído medio principalmente.

VIDRIOS BIOLÓGICOS CARGADOS

Todos los tejidos naturales son en sí mismos compositos y podría esperarse que la combinación de propiedades mecánicas específicas y de bioactividad, en principio, permitieran la elaboración de materiales con propiedades específicas para la solución de problemas biomédicos particulares. Sin embargo, muchos de los compositos propuestos para este fin no han sido exitosos ya que presentan falla principalmente en la zona interfacial de unión entre la matriz y la carga bajo la acción del fluido del tejido y enzimas celulares, aunque algunas composiciones han sido exitosas.¹⁶

Para mejorar su calidad y preservar sus propiedades elásticas con el tiempo, los vidrios biológicos pueden ser cargadas con materiales inertes, generalmente inorgánicos, pero también orgánicos. La carga puede lograrse insertando dentro de la masa vítrea nitruros y óxidos refractarios en la forma de granos, o fibras de metales o polvos de Pt capaces de inducir la cristalización de vidrios bioactivos a vidrios-cerámicos bioactivos, o redes de fibras metálicas o poliméricas. La producción de compositos vidrio/alúmina se obtiene al mezclar Linde "A" de alúmina de $0.3\mu\text{m}$ de diámetro y Alcoa de $100\mu\text{m}$ de diámetro calcinadas (el polvo de alúmina se mezcla con el vidrio biológico molido por medio de un aglomerante compuesto de silicato de sodio húmedo). El procedimiento de producción consiste en calentar a temperaturas entre 700 y 1300°C , luego de un secado prolongado de más de dos días. En general, estos compositos muestran excesiva susceptibilidad a la disolución durante pruebas de inmersión en líquidos fisiológicos simulados, por lo que no son muy utilizados.¹⁹

Se pueden obtener mejores resultados a partir de compositos usando polímeros obtenidos por asociación de fibras de polímeros orgánicos con fibras de vidrios biológicos para la formación de cuerdas. Las fibras tienen dimensiones que van desde medio mm hasta varios mm y se hacen a partir de fibras sencillas que miden entre $75\mu\text{m}$ y 1mm . La unión de las fibras se logra torciendo las fibras acopladas y, subsecuentemente, fijándolas

mediante calentamiento a una temperatura apropiada y haciendo pasar las cuerdas a través de un horno programado. La temperatura usada generalmente corresponde a la de ablandamiento del vidrio, pero no debe ser excesiva, para evitar la descomposición del polímero. Las fibras vítreas se obtienen por hilado del vidrio puro. Algunos composites de vidrio biológico/Silastic® se han producidos en los EE UU, con buenos resultados en términos de adhesión entre la fibra vítrea y la fase sílico-orgánica.¹⁹

2.1.3.2 VIDRIOS-CERAMICOS (GLASS-CERAMICS)

Los vidrios-cerámicos son una forma particular de vidrios biológicos cargados. Estos vidrios difieren de los vidrios biológicos ordinarios en que tienen homogéneamente dispersos, dentro de la matriz vítrea, microcristales muy finos, generalmente menores de $1\mu\text{m}$ de tipo cerámico, que contribuyen a las propiedades mecánicas del material.²⁰ A diferencia de los vidrios bioactivos cargados, sin embargo, éstos microcristales se producen por precipitación espontánea de las fases cristalinas de la sustancia vítrea fundida, durante el calentamiento o el enfriamiento. Estas fases cristalinas no están, por lo tanto, básicamente constituidas por componentes ajenos a la composición de los vidrios biológicos sino que son, en su mayor parte, fases de los componentes que están presentes también en la fase vítrea. La formación de la fase cristalina puede ocurrir naturalmente o ser estimulada por la inseminación de pequeñas cantidades de fases dispersas; por ejemplo TiO_2 o P_2O_5 . La estructura del composito resultante de finos cristales dentro de la matriz vítrea a menudo mejora sus propiedades, sin embargo, debido a la marcada variación de su densidad que tiene lugar durante la cristalización, es difícil impedir la formación de fracturas causadas por el crecimiento de los granos. Pero cuando se obtiene una estructura uniforme para los vidrios-cerámicos biológicos, la resistencia mecánica se incrementa desde cerca de 34.5MPa a cerca de 58.6 MPa, según se ha demostrado por pruebas de compresión diametral. Estos valores corresponden a un módulo de ruptura de 69 MPa. Los vidrios-cerámicos pueden presentar características de unión al hueso similar a la de los biovidrios.¹⁹

Un grupo de este tipo de materiales es el conocido como Ceravital ®, que contiene microcristales de apatita y está basado en la formulación del Bioglass pero tiene un menor contenido de álcalis (0-5% en peso) y ha sido probado ampliamente en aplicaciones ortopédicas, dentales, maxilofaciales, y otolaringológicas.^{16,17}

Otra familia interesante de vidrios-cerámicos que forma cristales de fosfatos y silicato de calcio se ha desarrollado en el Instituto Kyoto de Japón. En este tipo de vidrios, los materiales de partida se funden a 1450°C por 2 h y se enfrían rápidamente para formar un vidrio "G". Si este vidrio se calienta por 4 h a 870°C los cristales de apatita crecen para formar vidrios "A". Se puede generar más material cristalino triturando el vidrio y presionándolo en comprimidos, usando parafina como aglomerante. Tratando estos comprimidos a 1050 o 1200°C por 4 h se obtuvieron las muestras denominadas "A-W" y "A-W-CP" que contenían cristales de apatita, wollastonita (A-W) y whitlockita (A-W-CP) dentro de la matriz vítrea. Estos materiales no pueden ser formados de la misma manera que los vidrios sino que deben ser sinterizados como se hace con los cerámicos cristalinos, de tal forma que el proceso no es tan ventajoso como lo es para los vidrios-cerámicos cristalizados directamente de los vidrios. Sin embargo, el material "A-W" es fácilmente maquinado en diferentes formas por herramientas de diamante.^{15,17,21}

La resistencia a la flexión del material "A-W" es aproximadamente de 200 MPa en aire, lo cual es casi el doble que la de la Hap sinterizada y más alta que la del hueso humano cortical (169 MPa). Se confirmó que la alta resistencia mecánica de este material es atribuible a la alta rigidez de fractura que se incrementa con la precipitación de β -wollastonita además de la apatita.²⁰ Esto se hizo por comparación de la resistencia del vidrio-cerámico "A-W" con la del vidrio padre "G" y de un vidrio-cerámico "A" que contiene solamente apatita, ambos con la misma composición que el "A-W".²¹

Los implantes de los vidrios-cerámicos que contienen cristales de apatita se unen bien al hueso. Los vidrios-cerámicos "A-W" y "A-W-CP" tienen similar resistencia de adhesión a la Hap densa; estos biomateriales se adhieren mucho mejor que el Bioglass 45S5 ó la alúmina. El hueso mismo es un poco más fuerte que las uniones más fuertes entre éste y los implantes. En pruebas de adhesión de diversos materiales implantados en

tibia de conejos, se encontró que las cargas promedio de falla (en kg y luego de 8 semanas de implantación) eran de 2.8, 6.3 y 7.4 para el Bioglass, la Hap y el vidrio A-W respectivamente, mientras que para el hueso sin implante era de 12.0.¹⁵

Cuando el hueso se une a estos vidrios-cerámicos se forma una capa muy delgada de apatita entre el hueso y el implante, parecida a la que se forma sobre los vidrios microporosos y otros compuestos de calcio. Se ha demostrado, sin embargo, que la fase de apatita dentro de los vidrios-cerámicos no es esencial para la unión al hueso.^{15,17}

Estos materiales pueden encontrar similares aplicaciones que los biovidrios, además de que pueden utilizarse como implantes en regiones sometidas a esfuerzos mayores que aquéllos, como son vértebras artificiales, discos intervertebrales, y hueso iliaco.¹⁶

Otro sistema vidrio-cerámico se basa en los vidrios que contienen sílice, óxidos de magnesio y potasio, y fluoruro con pequeñas cantidades de alúmina y zirconia. La principal fase cristalina que crece en estos vidrios es fluormica tetrasilica ($K_2Mg_5Si_8O_{20}F_4$) después de calentarla a 775°C por 14 h. Estos cristales son laminares y parecidos a la mica; la microestructura está compuesta por una red de cristales orientados al azar en una matriz vítrea. Este material puede ser moldeado por el proceso de la cera-perdida, lo que permite que el material sea conformado a una superficie irregular y es especialmente valioso para restauraciones dentales.¹⁵

Existe otro biovidrio-cerámico a base de silicato de fosfato que contiene mica flogopita ($(Na,K)Mg_3(AlSi_3O_{10})F_2$), y cristales de apatita que se une bien al hueso aunque contenga Al_2O_3 en su composición. Los iones Al están dentro de la fase cristalina y no alteran la cinética superficial de reacción del material. Una ventaja de este material desarrollado en la Universidad de Jena en Alemania es su fácil maquinabilidad.^{11,13}

También se ha desarrollado una familia de materiales vidrio-cerámicos porosos a partir de espumas vítreas por un equipo de investigación francés: los vidrios-cerámicos CAP (CaO, Al_2O_3, P_2O_5), CKAP ($CaO, Al_2O_3, P_2O_5, K_2O$), CASP ($CaO, Al_2O_3, P_2O_5, SiO_2$). El propósito de este trabajo es el de lograr unión mecánica a través del crecimiento de hueso dentro de la porosidad del material cerámico. Cuando los diámetros de poro son suficientemente grandes (50 μm) se observa una buena reconstrucción, pero la resistencia

mecánica es siempre demasiado baja (20 MPa) para esperar su utilidad en dispositivos para prótesis.²²

2.1.3.3 CERAMICOS CALCIO-FOSFATO

Las sustancias fosfáticas, notablemente las de calcio, son de particular interés como materiales de implante. Son fáciles de ceramizar por métodos usuales así como por prensado en caliente, además, proveen superficies apropiadas para la unión celular, mientras que la conexión con la fracción mineral está asegurada por la acción enzimática de las mismas células. El comportamiento en vivo de los implantes de este tipo de materiales depende de una gran variedad de factores entre los que se encuentran, la relación Ca/P, la estructura cristalográfica y el porcentaje y tipo de porosidad.²³

Se sabe, desde hace más de 15 años, que los materiales cerámicos de este tipo pueden ser utilizados exitosamente para el reemplazo y aumento del tejido óseo. Esto puede comprenderse tomando en cuenta que la estructura del hueso es un compuesto que consiste de una fase continua (hecha de proteínas de colágeno y otros polímeros biológicos y fluido fisiológico), en el cual se encuentran distribuidos pequeños cristales de fosfatos de calcio.²⁴

Los fosfatos de calcio más utilizados para propósitos médicos son el fosfato tricálcico y la Hap.

FOSFATO TRICALCICO, β -Ca₃(PO₄)₂.- También conocido como whitlockita, puede sintetizarse en forma densa y libre de poros por sinterización de cristales finos precipitados, de forma similar a la sinterización de Hap. El material resultante es fuerte pero probablemente menos resistente a la fatiga que la Hap. El hueso se une bien a este material sin que se presenten reacciones de rechazo. La única ventaja de este material sobre la Hap es que es lentamente resorbible por los fluidos corporales por lo que puede ser utilizado en aplicaciones que requieran la presencia de un implante por lapsos de algunos meses solamente. Se comercializa como Synthograft y Augmen.^{12,25}

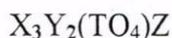
BCP O CERÁMICA BIFÁSICA (Hap + β -Ca₃(PO₄)₂).-Se obtiene cuando algunos fosfatos de calcio tribásicos se sinterizan sobre 900°C. La razón β -Ca₃(PO₄)₂/Hap en estos

cerámicos puede variarse de 20/80 a 100/0. También puede obtenerse por precipitación o hidrólisis de apatitas. Algunos materiales que se comercializaban anteriormente como β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ son en realidad BCP²⁵. Aparentemente, el máximo de actividad osteogénica y de consolidación de la unión hueso-cerámico se logra con una mezcla de 93% de Hap y 7% de β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.²³

HIDROXILAPATITA.- La Hap, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es un compuesto que tiene composición y estructura similar a los minerales de los huesos y los dientes, por lo que presenta excelentes propiedades químicas para la implantación dentro del organismo sin que se presenten reacciones de rechazo ni encapsulación por tejido fibroso, desarrollándose un enlace muy fuerte entre los implantes de Hap y el hueso.¹⁵ La Hap pura puede obtenerse hidrotérmicamente a temperaturas menores de 600°C, o por reacciones de estado sólido a temperaturas superiores a los 900°C²⁶. Los materiales compactos de Hap se preparan a partir de material seco, pulverizado y tamizado y posteriormente sinterizado a temperaturas alrededor de los 1300°C.²⁷

Es muy común que se denomine a la Hap como hidroxiapatita pero según la Asociación Mineralógica Internacional²⁸, IMA por sus siglas en inglés, el nombre apropiado debe ser hidroxilapatita por estar el ión hidroxilo presente en su estructura. A pesar de esta recomendación gran parte de la literatura consultada se refiere a éste mineral en el ambiente biológico como hidroxiapatita o simplemente apatita.

La Hap pertenece a una familia muy amplia de especies minerales conocidas como apatitas, que cristalizan en el grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$ (sistema hexagonal) con dos moléculas por celda unitaria. Las apatitas están basadas en la estructura de la fluoroapatita la cual tiene la fórmula estructural:²⁸



Donde: X y Y son sitios con números de coordinación 7 y 9 respectivamente,

T es un sitio tetraédrico de coordinación 4, y

Z es un sitio aniónico en un canal definido por los sitios X donde su número de coordinación es de 3X cationes.

Debido a la naturaleza acomodaticia de estos sitios estructurales, se pueden presentar una gran cantidad de sustituciones iónicas que conducen a una extensa variedad de minerales tanto naturales como sintéticos. Las sustituciones químicas más comunes en las apatitas naturales son: X,Y = Ca, Sr, Ba, Re, Pb, U y Mn; T = P, As, V, Si, S y C (como CO₃) y Z = F, Cl, OH y O.²⁸

La Hap pura presenta dimensiones de celda $a = b = 9.418 \text{ \AA}$ y $c = 6.884 \text{ \AA}$. Sin embargo, se sabe que si no existen vacancias, la Hap también se puede presentar en una forma pseudo-hexagonal con estructura monoclinica con simetría 2, y sistema de traslación a lo largo del eje b, de longitud $b/2$.²⁹

Mediante análisis de difracción de rayos X se ha establecido la cercana similitud estructural entre las fases inorgánicas de dientes y huesos y la Hap pura. Esto ha conducido a que en algunas ocasiones se refiera al componente mineral de tales tejidos como Hap. Sin embargo, las apatitas de sistemas biológicos son mucho más complicadas, y presentan diferencias tanto en composición como cristalográficas respecto a la Hap pura.³⁰

La Hap ha sido empleada como implante en situaciones similares a la de los biovidrios y, en los últimos años, gracias a su similitud con el mineral óseo, se ha empezado a utilizar como recubrimiento de superficies metálicas porosas para prótesis ortopédicas aunque de manera limitada ya que se pueden presentar problemas de degradación o separación del recubrimiento de Hap¹². Sin embargo, las excelentes características de biocompatibilidad de la Hap han llevado a un gran número de investigadores a explorar nuevas técnicas para aplicar recubrimientos de Hap, y otros fosfatos de calcio, en metales³¹⁻³⁴. Además, existe un gran interés por mejorar las propiedades mecánicas de la Hap pura³⁶⁻³⁷, así como por explorar nuevas rutas para su procesamiento o síntesis. Por ejemplo, se han reportado síntesis de fibras³⁸ y cintas³⁹ que pueden dar nuevas aplicaciones a la Hap.

Según las especificaciones de la ASTM⁴⁰, la Hap cerámica para implantes quirúrgicos debe tener una relación molar Ca/P de 1.67; además el análisis cuantitativo de rayos X debe mostrar un 95% mínimo de Hap y debe ser cristalina, pues la Hap amorfa se resorbe. Entre más cercano se encuentre la relación Ca/P del valor estequiométrico mayor

es la estabilidad de la Hap dentro del cuerpo mientras que su bioactividad es mayor si esta razón es menor de 1.67.²⁹

Aparentemente la Hap no es estable dentro del organismo pues se ha encontrado que, para apatitas con relación Ca/P menores de 1.67 sumergidas en diferentes soluciones acuosas, disminuye la relación Ca/P de las superficies.⁴¹ Así mismo, se sabe que la superficie de muestras de Hap sinterizada a 1250°C por 1 h y dejada en contacto con la humedad ambiental, se degrada para formar productos como CaHPO_4 y $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,⁴² y que los recubrimientos de apatita se degradan en el tejido óseo.^{12,43}

En los siguientes párrafos se tratarán algunos materiales que no han sido utilizados como implantes pero es importante mencionarlos por su alto potencial de aplicación como biomateriales.

2.2 MATERIALES COMPUESTOS PRINCIPALMENTE POR SILICE

Hasta la fecha no existen biomateriales hechos totalmente de SiO_2 . Sin embargo, existen pruebas de que este compuesto es bioactivo (capaz de cristalizar apatita en su superficie) al menos el plasma humano simulado (PHS), a pH 7.4 y 37°C. El PHS es una solución con una composición de electrolitos muy cercana a las del cuerpo humano: Na^+ 142, K^+ 5.0, Ca^{++} 2.5, Mg^{++} 1.5, Cl^- 103.0, HCO_3^- 27.0, HPO_4^{2-} 1.0 y SO_4^{2-} 0.5 (todas son concentraciones mM).

En 1977 se encontró que la sílice casi pura era capaz de unirse al hueso si su área superficial era mayor que $400 \text{ m}^2/\text{g}$,⁴⁴ aunque posteriormente se demostró que el vidrio de sílice casi puro también podría unirse al hueso si su porosidad era mayor de $80 \text{ m}^2/\text{g}$.⁴⁵ En 1990 se demostró que los vidrios que contienen principalmente SiO_2 y solamente un 10% molar de CaO y P_2O_5 , sin Na_2O forman capas de apatita en solución de pH controlado.⁴⁶

Li et al.⁴⁷⁻⁵⁰ han encontrado que geles de sílice pura preparados por el método sol-gel a partir de TEOS en un medio acuoso, a pH ácido, en presencia de polietilenglicol y posteriormente secados, son capaces de inducir la nucleación de apatita sobre su superficie,

cuando son sumergida PHS. Esta capacidad se pierde cuando los geles son tratados a altas temperaturas.

2.3 MATERIALES NO CERAMICOS CON SUPERFICIES BIOACTIVAS.

Aparte de los materiales biocerámicos, se ha encontrado que una gran variedad de diferentes materiales puede cristalizar apatita sobre su superficie siempre y cuando éstos sean sometidos a algún tipo de tratamiento superficial. Entre los materiales que pueden servir de sustrato para hacerles crecer una capa de apatita, semejante a la que se forma en los materiales vitro-cerámicos, están la alúmina, el acero inoxidable, el titanio puro, el polietileno y el PMMA. El crecimiento de apatita puede lograrse colocando el sustrato en contacto con un vidrio con base en SiO-CaO ("G") del cual pueden solubilizarse iones calcio y silicato en PHS a 36.5°C. Después de 7 días se observa una capa de apatita que puede llegar a medir hasta 30 µm si se realizan inmersiones sucesivas en PHS nuevo.

Empleando la técnica de crecimiento descrita anteriormente se ha encontrado que la fuerza de adhesión* de una capa de apatita de 15 µm sobre alúmina pulida con lija de diamante fue de 2Mpa.²¹ La fuerza de adhesión de la capa de apatita con respecto al sustrato puede incrementarse hasta 10 MPa realizando un pretratamiento de los sustratos por descarga incandescente de O₂ gaseoso.⁵¹ Además, la velocidad de crecimiento de la capa de apatita puede disminuirse apreciablemente si la superficie de los sustratos se lija con pasta de diamante, y posteriormente se somete a radiación UV con longitudes de onda de 183.9 nm y 253.9 nm en aire. Este tratamiento modifica la superficie y aumenta el número de sitios de nucleación para la apatita.⁵²

* Los términos señalados con * se definen en el apéndice.

CAPITULO III

IMPLANTES PARA TEJIDO OSEO Y NATURALEZA DEL HUESO

El hueso es un organismo vivo que puede considerarse como un compuesto formado por una fase mineral y una fase orgánica. La fase orgánica consiste de células, sustancias grasas y polímeros naturales (polisacáridos, colágeno, polifosfatos) principalmente. La proporción de las diversas sustancias que componen el hueso varía dependiendo de la parte del esqueleto de que se trate, pero aproximadamente puede considerarse que el tejido óseo adulto contiene cerca de un 10% de agua absorbida, un 65% de material inorgánico y 25% de material orgánico.^{53,54}

Una tercera parte del peso de la porción orgánica del hueso compacto está formada de ácidos grasos libres, y el resto está constituido de colágeno (90-95%), sustancias cementantes y células. El colágeno de los huesos pertenece al tipo I (los 5 diferentes tipos de colágeno difieren en la composición de sus cadenas). El colágeno es una proteína que se caracteriza por su resistencia al alargamiento. Contiene una gran cantidad de glicina (aproximadamente una tercera parte), de prolina e hidroxiprolina (una cuarta parte) y poco o nada de cisteína⁵⁵. Cada fibra de colágeno esta formada por varios agregados estrechamente conectados, y los cristales de apatita se disponen longitudinalmente paralelos a las fibras de colágeno. La longitud de los cristales corresponde aproximadamente a un a tercera parte de 640 Å, a la unidad fundamental de repetición promedio de las fibrillas de colágeno.⁵⁴

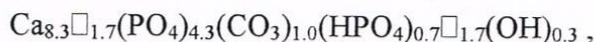
El análisis químico de la fase mineral del hueso muestra la presencia de altas cantidades de Ca^{2+} y PO_4^{3-} (35 y 15% aproximadamente) y en menor proporción de CO_3^{2-} (7%). Otros iones presentes en cantidades mucho menores son Mg^{2+} , F^- , Cl^- , Na^+ y K^+ . Los iones calcio y fosfato conducen a la formación de las diferentes sales de fosfato de calcio que se cristalizan y acumulan a lo largo de las fibras de colágeno. La combinación de sales cristalizadas y el colágeno produce la dureza característica del hueso.⁵⁴

La naturaleza química y cristalográfica de los tejidos duros es difícil de determinar debido principalmente a tres causas: 1) los minerales biológicos son microcristalinos y no homogéneos lo cual hace difícil la aplicación de técnicas que han sido exitosas en la determinación estructural de otro tipo de apatitas, 2) al papel que se ha atribuido a precursores calcio-fosfato como el fosfato de calcio amorfo y el difosfato de calcio, y 3) a la facilidad con la cual las sustancias adventicias y otros elementos extraños se incorporan dentro de la matriz ósea, ya que estas sustancias pueden estar solamente adsorbidas en la superficie de los cristales, o combinadas químicamente, dentro de la estructura para formar moléculas complejas en las cuales los cationes y los aniones se intercambian con los fluidos óseos. Así, algunos iones de átomos pesados traza como el Pb^{2+} muestran una preferencia de fijación en el tejido óseo.^{54,30}

Si se pudiera referir con pocas palabras a la naturaleza química de la fase mineral biológica presente en hueso maduro, se describiría como una apatita no estequiométrica, (con una relación molar Ca/P >1.67, la relación en la Hap pura) carbonatada.

Se ha propuesto que la composición del mineral óseo es la siguientes: 15% de whitlockita magnesio de fórmula aproximada $Ca_9Mg(HPO_4)(PO_4)_6$, 25% de Hap que contiene sodio y carbonato $[Ca_{8.5}Na_{1.5}[(PO_4)_{4.5}(CO_3)_{1.5}]CO_3]$ y 60% de fosfato de calcio carbonatado con estructura similar a la del fosfato octacálcico $Ca_8(PO_4)_4(CO_3)(OH)_2$.⁵⁶

En estudios más recientes se muestra que la composición más probable para la apatita ósea natural (en un hueso maduro) puede corresponder a la fórmula:⁵⁷



donde el símbolo \square significa una laguna o vacancia. Tal vacancia surge por razones de electroneutralidad (cuando un átomo o grupo de átomos llenan éste u otro sitio con una carga diferente de la prevista para ellos). Estas vacancias representan defectos en el retículo cristalino y son extremadamente importantes ya que confieren diferentes características a los mismos materiales y, en el caso de la Hap, juegan un papel importante en sus propiedades. La formación de tales vacancias ocurre durante el crecimiento del hueso debida a la lenta sustitución por grupos CO_3^{2-} en los sitios normalmente ocupados por grupos PO_4^{3-} , llamados sitios A. La diferencia en la carga iónica da lugar a un rearrreglo de

los cationes y de los otros grupos aniónicos en sus propios sitios. Para lograr una compensación de carga local, un sitio puede permanecer vacío. La capacidad de fijación de cada componente de la apatita ósea natural así como la de regeneración del hueso disminuye con la edad de los vertebrados.

El hueso es un organismo dinámico; nunca está metabólicamente en reposo, pues se regenera en forma constante y vuelve a dejar, en condiciones apropiadas, su matriz y minerales a lo largo de las líneas de tensión mecánica. Aún después de que los huesos han alcanzado la forma y tamaño propios del adulto, el hueso antiguo se destruye en forma perpetua y se forma en ese lugar nuevo tejido óseo. La regeneración se lleva a cabo a diferentes velocidades en las diversas regiones corporales y permite que el hueso gastado o lesionado se elimine y reemplace con nuevo tejido. Gracias a la vitalidad típica del tejido óseo, éste puede autorepararse cuando se presenta una lesión o fractura.⁵⁸

En la Fig. 4a) se presenta una progresión normal del proceso de cicatrización en un defecto óseo⁵⁹. Inicialmente se forma un exudado dentro del defecto que se reorganiza lentamente. Durante el proceso de osteogénesis puede crecer nuevo hueso, ya sea directamente a partir de las paredes óseas existentes (osteoinducción) o a partir de áreas aisladas dentro del tejido que se reorganiza si se encontraran presentes las células óseas (osteoblastos) y los factores de crecimiento apropiados. Finalmente, se forma hueso nuevo, aunque puede haber áreas donde también exista tejido conectivo laxo no mineralizado. Si el defecto ha de ser regenerado en un lapso apropiado, existe un límite para el tamaño del defecto que puede ser unido de la forma anteriormente expuesta que, de ser sobrepasado, origina que el defecto sea llenado solamente con tejido sin mineralizar. En este caso, es posible reparar el defecto implantando materiales adecuados, en cuya presencia, ocurre una reconstrucción similar a la del proceso normal de restauración, aunque modificada por el implante.

La figura 4b) muestra la cicatrización en presencia de un implante. Este proceso se lleva a cabo en el espacio entre hueso e implante. Si el espacio es pequeño, habrá una tendencia para que se forme hueso nuevo, pero ésta puede verse modificada por influencias mecánicas y químicas. Bajo ciertas circunstancias, el defecto se llenará completamente con hueso, de forma que habrá un contacto íntimo hueso-implante. En otros casos, se forma una

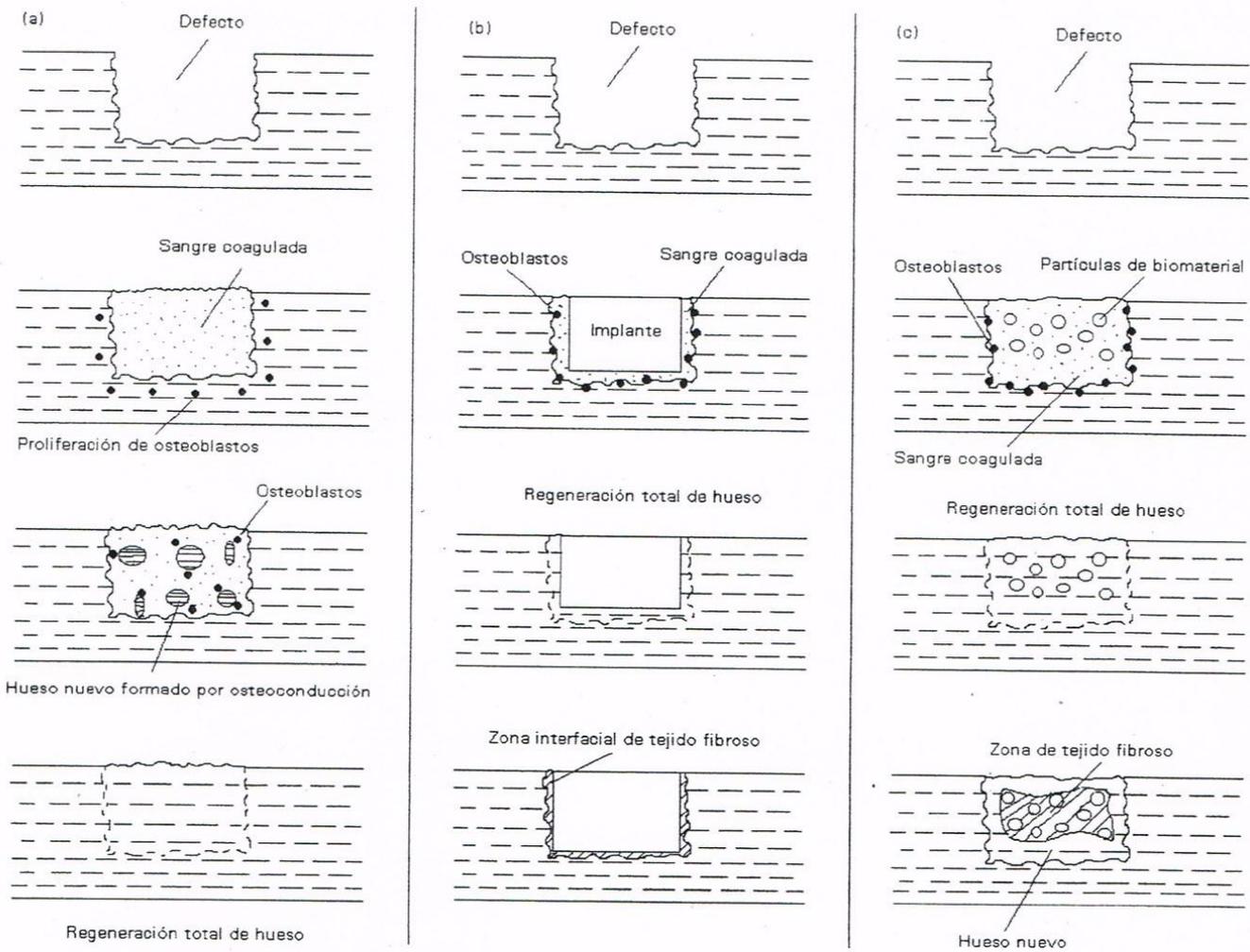


Fig 4. Diagrama de cicatrización de hueso: a) ausencia de implante, b) presencia de implante monolítico y, c) presencia de implante particulado.

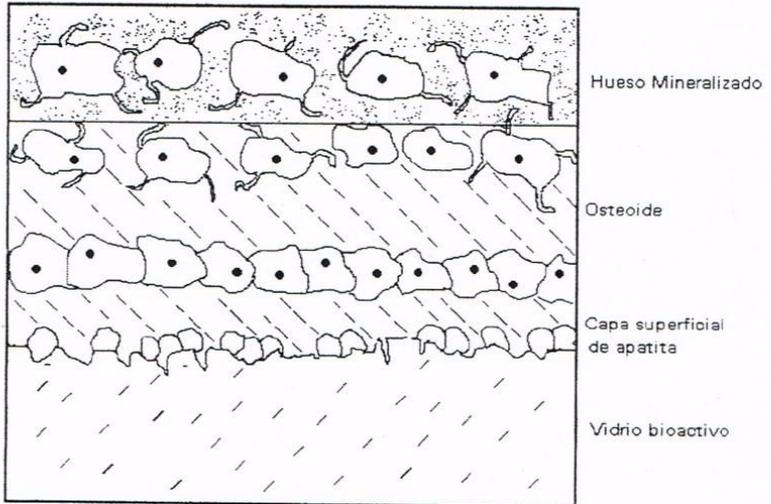


Fig 5. Estructura histológica alrededor de un vidrio bioactivo en contacto con tejido duro.

zona interfacial de tejido fibroso laxo entre el hueso y el implante; esto tiene consecuencias funcionales considerables si lo que se desea es que el implante permanezca seguro en el hueso. Cuando se utiliza material granulado en lugar de un bloque (Fig. 4c), en principio, ocurre una combinación de los dos procesos revisados anteriormente.

MECANISMO BIOLÓGICO DE UNIÓN DE IMPLANTES

Entre los factores principales que influyen sobre el comportamiento de un implante se encuentra la adhesión o no adhesión de los constituyentes proteínicos de los tejidos suaves y membranas celulares a la zona interfacial entre las células y el implante.

En un implante, la adhesión celular puede darse a través de una capa proteínica sobre la cual se van anclando subsecuentemente colonias celulares. Esta adhesión celular irreversible es un proceso que, en parte, depende de interacciones específicas receptor- esto es, en presencia de exopolisacáridos, vitales para la agregación subsecuente célula-célula, puede llevarse a cabo una colonización celular estable.⁶⁰

Este tipo de adhesión celular fisiológica está gobernada por un amplio espectro de factores fisicoquímicos que no han sido desarrollados en una teoría consistente, tales como enlaces químicos, interacciones dipolares, dispersiones coloidales y potencial zeta, relaciones hidrofílico-hidrofóbicas, conexiones apropiadas de sitios macromoleculares especiales relacionados a grupos químicos receptor-aceptor, atrapamiento de cadenas y de fibras de fibrina.⁶⁰

La reconstrucción ósea la realizan células especializadas llamadas osteoblastos que depositan en el espacio extracelular un material llamado matriz preósea, la cual contiene fibrillas de colágena y una fracción de mucopolisacáridos. Probablemente esta matriz juega un papel importante en la regulación del crecimiento y distribución de los cristales de Hap, cuya precipitación está influida por enzimas fosfatasa-alcálicas.⁵⁹ El proceso de calcificación se produce cuando las sales minerales se acumulan en espacios microscópicos entre las fibras de colágeno. Las sales se cristalizan y se endurecen y, después de que se

llenar estos espacios, empieza una nueva acumulación de sales alrededor de las fibras de colágeno donde se cristalizan nuevamente y se endurecen.⁶¹

En un implante, el papel de las cerámicas inertes es el de restaurar las deficiencias mecánico-fisiológicas, evitando cualquier interacción con el tejido vivo que lo rodea. Por el contrario, debido a su capacidad para participar en el mecanismo bioquímico complejo que estimula la formación de hueso, las cerámicas bioactivas son consideradas intencionalmente en el diseño de prótesis con una actividad bioquímica superficial. Esta actividad debe estimular las reacciones selectivas adecuadas en el ambiente fisiológico, ayudando a la formación de una unión fisiológica estable entre el tejido y la superficie del implante.⁶²

Cuando es implantada la Hap pura, aparece en su superficie una matriz celular de hueso a partir de osteoblastos diferenciados, produciendo una capa delgada de 3 a 5 μ m. Entre esta área y las células se forman haces de colágena. Así mismo, se han identificado cristales de mineral óseo, en una región que de otra forma sería amorfa. A medida que el sitio madura la zona de unión se encoje a un espesor de 0.05 a 0.2 μ m. El resultado es la formación de hueso normal unido a través de una capa delgada epitaxial hacia el implante.¹²

Se ha demostrado por TEM un alineamiento epitaxial casi perfecto de los cristales de hueso que se han formado con los cristales de apatita del implante,¹² y el empleo de SEM ha permitido observar que, en la zona interfacial entre un implante de Hap y el hueso, la colágena crece directamente sobre la superficie del implante en una escala de 10 nm o menos. Se podría decir que los osteoblastos son “engañados” por la Hap por su cercana similitud con el mineral óseo, permitiendo que la colágena y la fase mineral crezcan directamente sobre el implante.¹⁵

Para el caso de los biovidrios¹² y vidrios-cerámicos²¹ (Fig. 5) se sabe que, para que haya unión con el tejido, debe formarse una capa biológicamente activa de apatita carbonatada sobre la superficie de los materiales implantados. La presencia de una superficie de apatita es quizá la única característica común de todos los materiales para

implantes bioactivos, además de la de unirse con el hueso sin (o con muy poca) formación de tejido fibroso en la zona interfacial.^{12,62} De esta forma, se produce una continuidad íntima que en los sitios de adhesión coincide con la estructura del tejido mineralizado, con un remodelamiento de la superficie cerámica que hace difícil discriminar la posición precisa de la zona interfacial.

La rapidez de formación de la capa de apatita y el tiempo para que se dé la cristalización varían ampliamente. Cuando la dicha rapidez se hace excesivamente lenta, no se forma ninguna unión y el material deja de ser bioactivo.¹²

Los diferentes estudios que a continuación se citan permiten conocer las diversas hipótesis que existen para explicar la nucleación y crecimiento de apatita en biovidrios y vidrios-cerámicos. Hasta la fecha no hay una explicación completamente satisfactoria sobre el mecanismo de nucleación y formación de apatita. Esta explicación, además de que arrojaría luz para la comprensión de estos procesos desde un punto de vista químico, podría ser de gran utilidad para diseñar y fabricar materiales con mejores propiedades de implantación médica.

CAPITULO IV

MECANISMOS DE FORMACION DE APATITA EN MATERIALES BIOACTIVOS

Se han propuestos varios mecanismos para tratar de explicar el crecimiento de apatita sobre los diferentes materiales bioactivos basados en sílice

El primer mecanismo, que es el mejor estudiado, se propuso para el biovidrio 45S5 y a continuación se describe:¹²

1.-Intercambio rápido de Na^+ o Ca^{2+} con H^+ , presentes en la solución, según la reacción:



Esta etapa está controlada generalmente por difusión y presenta una dependencia con $t^{-1/2}$.

2.-Pérdida de sílice soluble en la forma de $\text{Si}(\text{OH})_4$ hacia la solución, resultado del rompimiento de enlaces Si-O-Si y la formación de Si-OH en la zona interfacial vidrio-solución, mediante la reacción:



Esta etapa está controlada por la reacción interfacial y muestra una dependencia con $t^{1.0}$

3.-Condensación y repolimerización de la capa rica en sílice, de acuerdo a la reacción:



4.-Migración de grupos Ca^{++} y PO_4^{3-} a la superficie a través de la capa rica en sílice formando una capa rica en $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ sobre la capa de sílice, seguida por el crecimiento de la capa amorfa $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ por incorporación del calcio y fosfatos solubles desde la solución.

5.Cristalización de la capa amorfa $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ por incorporación de aniones OH^- , CO_3^{2-} o F^- de la solución para formar una capa de apatita que incorpora estos iones en su estructura.

Ohtsuki y colaboradores⁶³ han presentado una explicación adicional para contrastar la velocidad de nucleación de apatita en vidrios basados en SiO_2 y CaO en comparación

con vidrios basados en CaO y P₂O₅. Los autores encontraron que la velocidad de nucleación de apatita para los vidrios con base en SiO₂ y CaO es mucho mayor que para los segundos. A partir de que la velocidad de nucleación I, de un cristal en un sustrato en una solución a temperatura T, viene dada generalmente por la ecuación⁶⁴:

$$I = I_o \exp\left(-\frac{\Delta G^*}{kT}\right) \exp\left(-\frac{\Delta G_m}{kT}\right)$$

donde ΔG^* es la energía libre para la formación de un embrión de tamaño crítico, ΔG_m es la energía de activación para el transporte a través de la interface núcleo-solución. Entre ellos, ΔG_m es independiente del sustrato y ΔG^* viene dada por la ecuación⁶⁴:

$$\Delta G^* = \frac{16\sigma^3 f(\theta)}{3(kT/V_\beta \ln(IP/K_o))^2}$$

donde σ es la energía interfacial entre el núcleo y la solución, IP es el producto de actividad iónica del cristal en la solución, K_o es el valor de IP en el equilibrio, es decir, el producto de solubilidad del cristal, θ es el ángulo de contacto de equilibrio del cristal con el sustrato, y V_β es el volumen molecular de la fase cristalina. Entre ellos, f(θ) depende del sustrato, y IP/K_o, una medición del grado de sobresaturación, también depende del sustrato cuando éste provee constituyentes iónicos del cristal, mientras que, los otros son independientes del sustrato. Los autores⁶⁴ demuestran cuantitativamente que las diferencias en las velocidades de nucleación observadas no se deben al factor IP/K por lo que éstas deben atribuirse al término f(θ). Este término generalmente viene dado como:

$$f(\theta) = \frac{(2 + \cos \theta)(1 - \cos \theta)^2}{4}$$

y disminuye al disminuir la energía interfacial entre el cristal y el sustrato. Esto indica que los vidrios basados en CaO y SiO₂ proveen de una superficie específica con menor energía

interfacial hacia la apatita. Como se encontró que este tipo de vidrios forman una capa de hidrogel de sílice que antecede a la formación de apatita, mientras que los vidrios basados en CaO y P₂O₅ no lo hacen, los autores⁶⁴ concluyen que es la capa de sílice la que provee de sitios específicos favorables para la nucleación de apatita. Entonces, se propone que el ion calcio, que se disuelve de los vidrios, aumenta el grado de sobresaturación del fluido que rodea a la apatita y que forma núcleos sobre la superficie de sílice hidratada. Estos núcleos crecen espontáneamente consumiendo los iones calcio y fósforo del medio circundante.

Por su parte, Li^{65,66} y colaboradores, a partir del hecho de que los biovidrios quedan cargados negativamente cuando se realiza el intercambio iónico con la solución circundante, propusieron que la superficie del vidrio juega un papel importante en la reacción de éste con la solución que lo rodea. Una superficie cargada negativamente atrae cationes de la solución disminuyendo con ello la energía total del sistema, lo cual conduce a un incremento de cationes en la zona interfacial. Es decir, se genera una doble capa eléctrica donde el potencial químico iónico, μ_{iD} , viene dado por la ecuación siguiente:

$$\mu_{iD} = \mu_{iD}^{\circ} + TR \ln a_{iD} + Z_i F \Phi_o$$

donde μ_{iD}° es el potencial químico estándar y a_{iD} la actividad de los iones en la doble capa, F es la constante de Faraday, T la temperatura, R la constante de los gases, Z_i es la valencia del ion y Φ_o es el potencial de la superficie.

Para los iones en el resto de la solución se tiene:

$$\mu_{iB} = \mu_{iB}^{\circ} + TR \ln a_{iB}$$

donde μ_{iB}° es el potencial químico estándar de los iones en el resto de la solución, respectivamente; y a_{iB} es la actividad de los iones. Considerando que la doble capa está en equilibrio con la solución, y que $\mu_{iD} = \mu_{iB}$, entonces:

$$\mu_{iD} = \mu_{iB}, \quad y$$

$$\mu_{iB}^{\circ} + TR \ln a_{iB} = \mu_{iD}^{\circ} + TR \ln a_{iD} + Z_i F \Phi_o$$

luego:

$$a_{iD}/a_{iB} = \exp\left(-Z_i F \Phi_o / RT\right)$$

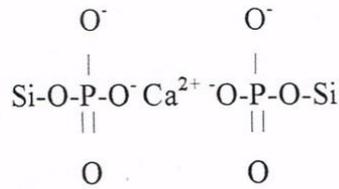
Como a pH básico la superficie está cargada negativamente, de esta última ecuación se deduce que las actividades de los cationes cerca de la superficie del vidrio son mayores que en la solución. Puesto que el potencial eléctrico negativo en la superficie es proporcional al campo eléctrico, entonces, a mayor potencial eléctrico sobre la superficie, mayor es la concentración de cationes en la doble capa. De hecho, se ha comprobado que para la sílice pura a pH 8.1 hay $0.27 \text{ Ca}^{2+}/\text{nm}^2$, mientras que a pH 8.75 hay $0.42 \text{ Ca}^{2+}/\text{nm}^2$. Los autores concluyen entonces que el crecimiento de apatita en la superficie de los biovidrios se debe a la sobresaturación, respecto a la Hap, causada por la acumulación de Ca^{2+} , en la solución cercana a la superficie negativamente cargada de los biovidrios.

La descripción de la serie de reacciones que se llevan a cabo en los biovidrios no explican el inicio del crecimiento de la apatita, por lo que Andersson⁶⁷ propone que después de la salida de los iones, al transformarse la superficie del vidrio en gel de sílice, su flexibilidad y la gran cantidad de oxígenos en los extremos de las cadenas de sílice, provee una gran cantidad de sitios donde la distancia oxígeno-oxígeno es favorable para la formación de complejos. Proponen que la etapa inicial para el crecimiento de fosfato de calcio sería el acomplejamiento del fosfato por el gel de sílice y que, posteriormente, el calcio es atraído por el fosfato por razones de compensación de carga.

En un artículo posterior⁶⁸ los mismos autores proponen que la reacción :



es más probable que la formación de un quelato, y que éstos grupos formados pueden ser unidos por iones calcio estabilizando el gel de sílice:



En esta estructura cada fosfato puede unirse todavía a otro Ca^{2+} , lo cual puede dar lugar a una estructura tridimensional.

Por lo que respecta a los vidrios cerámicos del tipo A-W, se sabe que no se forma la capa rica en sílice como la de los biovidrios en un ambiente acuoso, pero sí que pierden una concentración sustancial de especies de silicio solubles. Se propone¹⁷ que los iones calcio y silicato que se disuelven del material vidrio-cerámico desempeñan cooperativamente un papel importante en la formación de la capa superficial de apatita. El calcio puede incrementar el grado de sobresaturación del fluido corporal que rodea al material, mientras que los iones silicato pueden proveer sitios favorables para la nucleación de apatita. Los iones fosfato necesarios para el crecimiento de apatita son aportados por la solución que rodea al vidrio. La disolución preferente de la wollastonita y la matriz vítrea dan lugar a la formación de una superficie áspera compuesta principalmente de apatita residual en la parte más externa del material original. Esta superficie áspera, rica en apatita, provee sitios favorables para una mayor deposición de apatita superficial y para formar enlaces químicos.

De las hipótesis anteriormente referidas, se desprende que el gel de sílice formado en la superficie de los biovidrios o las especies de sílice disueltas en el caso de los vidrios-cerámicos desempeñan un papel primordial para la nucleación de apatita sobre ellos en un ambiente biológico. Esto ha llevado a estudiar el crecimiento de apatita sobre la superficie de geles de sílice pura principalmente en la Universidad de Kyoto.^{47-50,69}

Por lo general, la sílice es preparada por este grupo usando el método sol-gel, a partir de la hidrólisis de TEOS y su posterior polimerización en presencia de polietilenglicol (PEG) en medio ácido. Finalmente, los geles son secados a diferentes temperaturas. El estudio de crecimiento de apatita sobre los geles de sílice se realiza

utilizando plasma humano simulado (PHS) en condiciones fisiológicas (pH = 7.4 y temperatura = 36.5°C).

En la segunda parte de este capítulo se describe el método sol-gel para la preparación de geles de sílice, así como su superficie y deshidratación al tratarse térmicamente.

En un primer estudio⁴⁸ se encontró que el gel de sílice secado a 400°C puede crecer apatita en su superficie, mientras que sobre cristal de cuarzo y vidrio de sílice de alta pureza no se detecta este crecimiento en similares condiciones. Como la principal diferencia entre el gel y los otros materiales es la abundancia de grupos silanol en su superficie, se propuso que la nucleación de apatita pudiera deberse a estos grupos.

Posteriormente⁵⁰ se encontró que los geles de sílice son permiten el crecimiento de apatita sobre su superficie, pero esta propiedad se pierde cuando los geles son tratados a temperaturas superiores a 900°C, ya que luego de dos semanas no hay formación de apatita en ellos. En dicho trabajo se observó: 1) que el número de grupos silanol presentes disminuía gradualmente al aumentar la temperatura de tratamiento, y 2) que el grado de disolución de la sílice se mantenía constante hasta los 800°C pero disminuía abruptamente a la mitad a los 900°C. La disolución de la sílice generalmente procede vía hidrólisis, por lo que deben formarse nuevos grupos silanol en la superficie. Estos hechos llevan a pensar que los grupos silanol que se forman sobre la superficie de la sílice, y no los ya existentes (que pudieran ser estructuralmente diferentes), son los responsables de la nucleación de la apatita.

En un trabajo anterior⁴⁷ con sustratos preparados de forma similar se encontró que, para geles calentados por dos horas entre 900 y 1200°C, el periodo de inducción para la formación de apatita aumenta al aumentar la temperatura de calentamiento y que ésta capacidad se pierde a los 1200°C. Los autores proponen que la formación de apatita está directamente relacionada con la velocidad de rehidratación o hidrólisis de las superficies de sílice, la cual disminuye a mayor temperatura de calentamiento.

Posteriormente se encontró que la sílice preparada en presencia de ácido poliacrílico (PA) en lugar de PEG, o solamente en agua pura, y calcinada a 600°C por dos horas no

presentaba crecimiento de apatita; mientras que la preparada en presencia de PEG, sí. En los tres casos el grado de disolución de los geles es similar. De esto se concluyó que solamente cierto tipo de unidad estructural de grupos silanol que se forman en presencia de PEG, al rehidratarse la superficie del gel, es capaz de llevar a cabo la nucleación de apatita. Estos sitios pueden estar relacionados con microporos menores de 1.7 nm ya que éstos poros se encontraron únicamente en el gel preparado en presencia de PEG.⁷⁰

Con objeto de estudiar el efecto de la textura en la velocidad de formación de apatita, Pereira y colaboradores⁴⁵ utilizaron geles de sílice sintetizados a partir de ortosilicato de tetrametilo (TMOS), en medio ácido en agua pura, tratados a la misma temperatura (600°C) pero con diferentes tamaños y volúmenes de poro y áreas superficiales, así como geles tratados a diferentes temperaturas pero con el mismo tamaño de poro. Se encontró que a mayor volumen y tamaño de poro era menor el periodo de inducción para el crecimiento de apatita. Es interesante notar que en este estudio un gel secado a 600°C por 3 h muestra crecimiento de apatita después de 12; días mientras que en el trabajo anterior, los geles preparados en agua o en presencia de PA y secados a 600°C por 2h, no muestran crecimiento luego de 2 semanas, de estar sumergidos en similares soluciones de crecimiento.

Estos autores encontraron⁴⁵ que ni la concentración de grupos hidroxilo ni la cantidad total de éstos grupos están relacionados con la velocidad de nucleación, y proponen que el concepto de una actividad iónica mayor asociada a una doble capa puede aplicarse para fundamentar la hipótesis de que los poros son sitios de nucleación para la apatita. Esto puede considerarse así ya que dentro de los poros hay una superposición del potencial de superficie originado por la doble capa eléctrica de la sílice, que incrementa la actividad iónica dentro de los poros comparada con una superficie plana. Entonces, la concentración iónica dentro de los poros es mayor que en cualquier otra parte de la superficie, y el grado de sobresaturación requerido para que se dé la nucleación heterogénea es más probable que ocurra dentro del poro.

Considerando lo anterior, se puede explicar el hecho de que el tamaño y el volumen de poro tengan efectos importantes en la formación de apatita, si se supone que los poros son los sitios de nucleación, puesto que si el volumen de poro disminuye, el número de

sitios de crecimiento lo hace y, en consecuencia, la velocidad de nucleación también. Por otra parte, una disminución del tamaño de poro produce una disminución en la velocidad de difusión de iones dentro de ellos, y esto se convierte en un factor limitante para el crecimiento de apatita.

En un estudio posterior⁷¹ se “demuestra”, utilizando geles de TEOS con diferentes distribuciones de tamaño de poro que la estructura del poro, no está relacionada con la nucleación de apatita; además se señala nuevamente que es un cierto tipo de unidad estructural de grupo silanol, que se forma fácilmente en presencia de PEG, la que estimula la nucleación de apatita.

En un trabajo más reciente⁷², donde se estudia el crecimiento de apatita sobre diferentes substratos de $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ y de SiO_2 pura, preparados por el método sol-gel, se encuentra que existe crecimiento de apatita solamente en algunas composiciones en el sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ y en todos los substratos de sílice pura. Cabe aclarar que se utilizaron tres tipos de geles de sílice: uno preparado en medio ácido en presencia de PEG, otro en medio ácido en ausencia de PEG y otro en medio alcalino. Los autores concluyen que el crecimiento de apatita se favorece en substratos con gran volumen de mesoporos y una amplia distribución de tamaños de mesoporos, y que no es necesaria una gran área superficial. Aparentemente, la presencia de mesoporos es necesaria para la formación de apatita, pero no es condición suficiente, ya que esta característica está también presente en sistemas donde no hubo crecimiento de apatita. Es conveniente aclarar que en la mayoría de los trabajos mencionados en los que se usa gel de sílice, no se aclara cuál es la relación área superficial/volumen de solución, dato que puede ser importante conocer para relacionarlo con el crecimiento de la apatita.

Es importante señalar que no solamente los grupos silanol son capaces de inducir la nucleación de apatita, sino también los iones silicato disueltos de materiales sólidos. Así, Cho y colaboradores⁷³ han demostrado el crecimiento de apatita sobre poliétersulfona, tratada con descarga incandescente de oxígeno gaseoso, cuando se coloca en presencia de geles de sílice secados a 600°C en una primera inmersión en plasma humano simulado (PHS), para ser luego sumergida en solución de PHS con concentración de electrolitos 1.5 veces mayor. En contraste, cuando el substrato se coloca en presencia de un vidrio de sílice

pura que sea prácticamente insoluble no hay crecimiento de apatita. Mediante espectroscopia XPS* se detectó la presencia de sílice enlazado a átomos de oxígeno en los substratos en contacto con los geles. Estos resultados llevan a concluir que los iones silicato que se solubilizan de los geles, al ser adsorbidos por los substratos son responsables de la nucleación de apatita sobre los ellos y que los núcleos de apatita formados por el efecto catalítico de los iones silicato, luego de la primera inmersión, pueden crecer espontáneamente consumiendo el calcio y el fosfato en las sucesivas inmersiones.

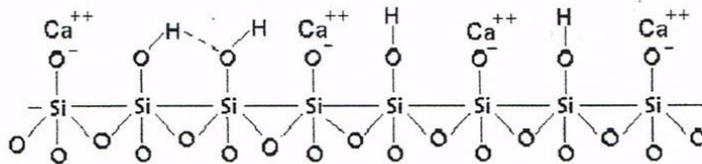
Las observaciones obtenidas en el estudio previamente descrito son consistentes con un trabajo anterior⁷⁴ en el cual se observó que no se forma apatita sobre polímeros orgánicos, con tratamiento superficial similar, cuando se omite la primera inmersión en presencia de vidrios de los que puede disolverse sílice. Además del crecimiento de apatita sobre polímeros orgánicos se ha observado crecimiento de capa de apatitas sobre otros tipos de substratos (pg 26 de este trabajo) utilizando vidrios en lugar de geles de sílice. Estos vidrios, además de dar lugar a la disolución de iones silicato, permiten la disolución de iones calcio capaces de sobresaturar la solución que rodea a los substratos.

Por lo que hace al tipo de especie que origina la nucleación de apatita, se ha demostrado por Damen y Cate⁷⁵ que a pH 7.2, la sílice polimerizada, más que el ácido silícico, es la responsable de la disminución en el periodo “lag” que precede a la precipitación espontánea de hidroxiapatita en soluciones que contenían 1 mM de CaCl₂ y 7.5 mM de KH₂PO₄. Similares observaciones se obtuvieron utilizando suspensiones de polvo de sílice, lo cual parece confirmar la afirmación anterior.

Las observaciones y conclusiones obtenidas en los diversos trabajos citados no permiten llegar a una explicación única sobre el mecanismo preciso de nucleación de apatita sobre sílice. En algunos casos existen contradicciones en los resultados experimentales de diferentes estudios que, hasta donde se sabe, no son explicados por los distintos autores. Además, otro tipo de factores como la concentración de electrolitos o variaciones en el pH influyen en la nucleación de apatita⁴⁵, lo cual puede complicar la obtención de una conclusión definitiva. A pesar de lo anterior, hay ciertos factores que pueden considerarse juegan un papel importante en la formación de apatita sobre sílice:

- 1) Es necesaria la sobresaturación de la solución cercana a la superficie para que exista precipitación de apatita.
- 2) La velocidad de nucleación de apatita depende de la concentración de electrolitos en la superficie.
- 3) Se requiere el establecimiento de una doble capa eléctrica en la superficie de la sílice, que permita la acumulación de electrolitos en ella.
- 4) Es necesaria la presencia de grupos silanol, que dan lugar a la formación de una doble capa y que también proporcionen sitios apropiados para la nucleación de la apatita.

Los puntos 3) y 4) pueden mostrarse esquemáticamente como se muestra a continuación:



No existe una regla general para poder predecir la “bioactividad” (capacidad de crecimiento de apatita) de vidrios de diferentes composiciones, aunque se han propuesto clasificaciones⁷⁶ para explicar, por ejemplo, por qué algunos vidrios que contienen aluminio son bioactivos, cuando generalmente es aceptado que este elemento evita la bioactividad. Aunque no todos los vidrios son bioactivos, parece razonable pensar, de acuerdo a lo discutido anteriormente, que los grupos silanol juegan un papel importante en la nucleación de la apatita.

PROCESO SOL-GEL

La formación de los grupos silanol en los biovidrios es consecuencia de la formación de una capa de gel de sílice, con una pequeña proporción de CaO y P₂O₅, que se forma rápidamente en su superficie y que puede llegar a medir algunas decenas de micrómetros. En los estudios que utilizan el gel de sílice puro para el crecimiento de apatita, éste se prepara mediante el método sol-gel.

El término sol-gel describe varios tipos de procesos en diferentes áreas de la química. Uno de ellos es la gelación reversible de ciertas soluciones de polisacáridos. Otros métodos son importantes para la síntesis de materiales cerámicos y dentro de éstos se encuentran los que utilizan alcóxidos inorgánicos como material de partida. Los alcóxidos son miembros de una familia de compuestos conocidos como metalorgánicos, los cuales se caracterizan por tener un grupo alquilo (R, de fórmula general C_xH_{2x+1}) unido a un átomo metálico central (M) por medio de átomo de oxígeno. Estos compuestos tienen la fórmula general $M(OR)_z$ y pueden considerarse como derivados del alcohol, ROH, o del hidróxido metálico $M(OH)_z$ correspondientes.⁷⁷

Los geles de sílice son muy a menudo sintetizados a partir de la hidrólisis de alcóxidos monoméricos tetrafuncionales de silicio empleando generalmente un ácido mineral o una base como catalizador. Una serie de reacciones de hidrólisis (1), y de condensación (2 y 3) describen este proceso sol-gel:

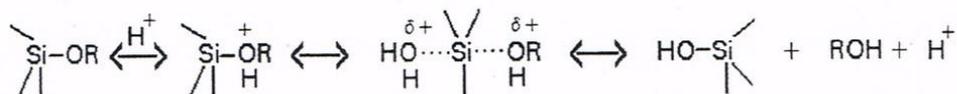


Debido a que el agua y los alcóxidos de silicio son inmiscibles entre sí, la reacción de hidrólisis se facilita por la presencia de solventes que sean agentes homogeneizantes como alcoholes, dioxano, THF, etc.

El grado y rapidez de la hidrólisis es más fuertemente afectada por la presencia del catalizador, que por factores como la temperatura o el solvente. La hidrólisis ocurre por el ataque nucleofílico del oxígeno del agua sobre el átomo de silicio. Generalmente, se acepta que la hidrólisis ocurre mediante una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2 -Si) que involucra estados de transición o intermediarios pentacoordinados, aunque por analogía con la química del carbono, también se han sugerido iones siliconio ($\text{Si}(\text{OR})_3^+$) como intermediarios.⁷⁸

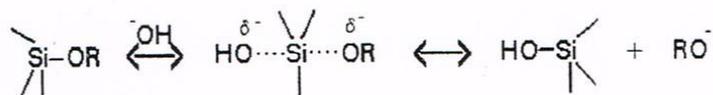
Para la hidrólisis en condiciones ácidas, es probable que un grupo alcóxido sea protonado en un primer paso rápido. La densidad electrónica en el átomo de silicio disminuye, lo que lo hace más electrofílico y por lo tanto más susceptible al ataque por el

agua. La molécula del agua ataca por la parte opuesta al grupo alcóxido protonado y adquiere una carga parcial positiva. La carga positiva en el alcóxido protonado disminuye, lo que hace al alcohol un buen grupo saliente. El estado de transición da lugar a una inversión del tetrahedro del silicio con la salida del alcohol ROH:



De acuerdo con este mecanismo, la velocidad de hidrólisis aumenta con sustituyentes que reducen el impedimento estérico alrededor del silicio. Los sustituyentes donadores de electrones, que ayudan a estabilizar las cargas positivas que se desarrollan, incrementarían también la rapidez de hidrólisis pero en menor grado pues el silicio adquiere poca carga en el estado de transición.⁷⁹

En condiciones alcalinas es probable que la hidrólisis ocurra, en un primer paso rápido, vía el ataque nucleofílico de un grupo hidroxilo sobre el silicio. Un ion alcóxido se desplaza, lo cual puede ser ayudado por la formación de enlace de hidrógeno del ion alcóxido con el solvente.



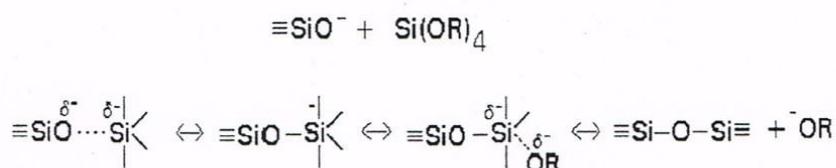
Como en el caso de la catálisis ácida, el mecanismo es afectado por el efecto estérico e inductivo, sin embargo, los efectos estéricos son más importantes pues el silicio adquiere una carga formal negativa en el estado de transición. Los sustituyentes atractores de electrones como el grupo -OH deberían ayudar a estabilizar la carga del metal, originando que la velocidad de hidrólisis se incremente con el grado de sustitución de OH, mientras que los sustituyentes que son donadores de electrones deberían disminuir las velocidades de reacción.⁷⁹

El pH de la reacción es muy importante para determinar las propiedades finales del material que se sintetiza. Bajo condiciones básicas, las partículas que inicialmente se forman tienen un diámetro aproximado de 1nm. Estas partículas aumentan su tamaño durante la síntesis. El gel resultante tiende a ser mesoporoso o macroporoso. Cuando la reacción se realiza a pH 7, las partículas en el sol varían entre 2.54 y 20 nm, mientras que a

pH mayores las partículas son de tamaño de 100 nm aproximadamente y con mayor uniformidad de tamaños. Por esta razón, el gel resultante, a pH neutro, tiene una distribución de tamaño de poro no uniforme.⁷⁹

Muchas veces las reacciones de condensación comienzan antes de que la hidrólisis sea completa. La secuencia típica de los productos de condensación son monómeros, dímeros, trímeros lineales, trímeros cíclicos, ciclotetrámeros y anillos de otros órdenes. Los anillos forman la estructura básica para la generación de partículas coloidales discretas observadas en sistemas acuosos.

El mecanismo más aceptado para la reacción de condensación, en condiciones básicas, involucra el ataque de un grupo silanol desprotonado sobre una especie de silicio neutral. Generalmente se acepta que el mecanismo de condensación involucra estados de transición o intermediarios penta o hexacoordinados:



Se cree que la condensación en medio ácido involucra especies silanol protonadas. La protonación del grupo silanol lo hace más electrofílico y más susceptible a ataque nucleofílico. Es más probable que las especies silanol más básicas (silanol de monómeros u oligómeros poco ramificados) sean protonadas. Por lo tanto, las reacciones de condensación ocurren preferentemente entre especies neutras y grupos silanol protonados situados en monómeros o grupos terminales de cadenas.⁷⁸

Se ha demostrado que variaciones en las condiciones de hidrólisis y condensación afectan profundamente las estructuras de los soles de silicio producidos por el método sol-gel en escalas de 1 a 20 nm. Una hidrólisis en dos pasos, siendo el primero de ellos en condiciones ácidas, produce estructuras ramificadas caracterizadas por una dimensión fractal de masa, d_f^* . La hidrólisis catalizada por base en un sólo paso producen partículas

caracterizadas por una dimensión fractal de superficie d_s^* , mientras que la hidrólisis y condensación en medio básico en condiciones acuosas produce partículas coloidales lisas.

La razón molar $H_2O : Si$ (r) puede ser variada desde menos de 1 a más de 50, y las concentraciones de los ácidos o bases desde 0.01 hasta 7 M para obtener estructuras finales diversas como geles monolíticos, películas, fibras y polvos. La variación en las condiciones de reacción también causa modificación en la estructura y propiedades de los productos.⁸⁰

Como el agua es un subproducto de la reacción de condensación, un valor r de 2 es teóricamente suficiente para una hidrólisis y condensación completas, a fin de obtener sílice anhidra, como se muestra en la siguiente reacción global utilizando ortosilicato de tetraetilo como precursor



Sin embargo, aun en exceso de agua ($r \gg 2$), la reacción no se lleva a cabo totalmente, sino que se produce un espectro de especies intermedias ($[SiO_x(OH)_y(OC_2H_5)_z]_n$; donde $2x + y + z = 4$).

Cuando se lleva a cabo la hidrólisis de TEOS en una solución básica de agua y alcohol se obtienen partículas esféricas monodispersas. En este método, r puede ser mayor de 20. Altos valores de r y de pH promueven la condensación, lo que favorece la formación de estructuras compactas más que de redes poliméricas extendidas del tipo de las que se encuentran normalmente en los geles obtenidos de alcóxidos⁸⁰.

La estabilidad de los soles puede variar según sean las condiciones de pH, temperatura, presencia de electrolitos y moléculas orgánicas y tamaño y concentración de las partículas. Los soles al unirse pueden formar agregados según diferentes mecanismos que han sido clasificados de la siguiente manera⁸¹:

Gelación.- Las partículas se unen en cadenas ramificadas que llenan el volumen completo del sol, de tal manera que no hay un incremento en la concentración de la sílice en ninguna región macroscópica del medio. En su lugar, el medio se hace viscoso y luego solidifica por una red coherente de partículas que por acción capilar retienen el líquido.

Coagulación.- Las partículas se unen en grupos relativamente cerrados en los cuales la sílice está más concentrada que en el sol original, de tal forma que el coágulo sedimenta como un gel relativamente denso.

Floculación.- Las partículas se unen por puentes de un agente floculante, formando una estructura que permanece abierta y voluminosa.

Coacervación.- Las partículas están rodeadas por una capa adsorbida de material que las hace menos hidrofílicas, pero sin formar puentes entre ellas. Las partículas se agregan como una fase líquida concentrada inmisible en la fase acuosa.

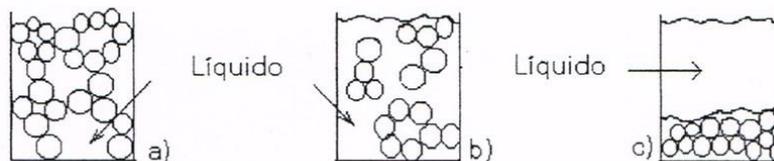


Fig. 6.-Esquema de los procesos de gelación (a), coagulación y floculación (b) y coacervación (c).

Los términos floculación y coagulación a veces se usan indistintamente o se hace referencia a ellos con el término más amplio de precipitación. Iler⁸¹ establece que la floculación de sílice ocurre por la adición de un polímero o partícula coloidal que se adsorbe simultáneamente sobre la superficie de dos partículas, mientras que la coagulación ocurre principalmente por la adición de electrolitos a pH alcalino. Los cationes se adsorben sobre los soles por intercambio iónico, con lo que la superficie pierde un grupo silanol y entonces la coagulación puede ocurrir al reducirse la capa de hidratación que estabiliza las partículas, pues las moléculas de agua están unidas por puentes de hidrógeno con los grupos silanol, o por la formación de puentes entre dos partículas a través de los cationes adsorbidos.

SUPERFICIE DE LA SILICE

La sílice obtenida por el método sol-gel es amorfa y puede ser clasificada como sílice microamorfa según Iler,⁸¹ puesto que dentro de esta categoría se incluyen soles, geles, polvos y vidrios porosos que generalmente consisten de partículas elementales de tamaño menor de una micra con un área superficial específica mayor de $3 \text{ m}^2/\text{g}$.⁸²

Se afirma que la sílice amorfa no es verdaderamente amorfa, sino que consiste de regiones de orden atómico local, o cristales de tamaño extremadamente pequeño, los cuales han revelado, por estudios cuidadosos de difracción de rayos X que tienen la estructura de la cristobalita. Sin embargo, por procedimientos de difracción ordinarios, este material muestra solamente una banda amplia⁸².

Generalmente, se acepta que una superficie de sílice amorfa lisa y no porosa, estabilizada por calor, está completamente “hidroxilada” teniendo de 4 a 5 grupos SiOH por nanómetro cuadrado; los cuales permanecen cuando la muestra es secada entre 120 y 150°C. Dado que los átomos de silicio sobre la superficie de la sílice amorfa no están, por definición, en un arreglo geométrico regular exacto, es obvio que los grupos hidroxilo unidos a la superficie no están equidistantes uno del otro. Por lo tanto, no son equivalentes ni en su comportamiento de absorción ni en sus reacciones químicas. Además, en una solución acuosa puede imaginarse que las moléculas extras de ácido monosilícico pueden condensarse en la superficie, como se muestra en la Fig. 7 E y F. Aunque estos grupos han sido propuestos para explicar ciertos datos, es probable que se condensen posteriormente dejando solamente grupos SiOH en la superficie seca⁸³. Al calentar la superficie de la sílice hidratada sobre los 150°C, los grupos hidroxilo se condensan para formar enlaces siloxano y agua (Fig. 7).

A medida que la temperatura se eleva, los grupos hidroxilo se condensan para formar enlaces siloxano y agua. Los grupos silanol empiezan a condensarse extensamente sobre los 170°C. A 400°C queda algo menos de la mitad de grupos hidroxilo, y a 800°C queda aproximadamente 1 grupo SiOH/nm². Si la temperatura de secado no es muy alta, la superficie puede rehidratarse. La rehidratación probablemente ocurre solamente junto a un grupo hidroxilo presente y el área hidroxilada crece en “parches” conforme procede la hidratación a lo largo de la frontera entre la superficie hidroxilada y las áreas con grupos siloxano.⁸³

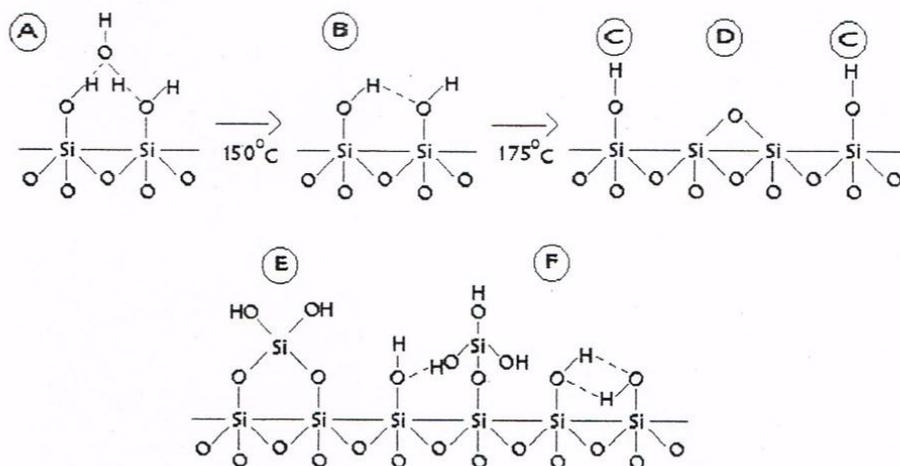


Fig 7.- Grupos hidroxilos presentes en la superficie de la sílice amorfa: A, grupo hidroxilo vecinal hidratado; B, vecinal anhidro; C, aislados; E, geminal; F, vecinal enlazado por puente de hidrógeno. D representa un grupo siloxano deshidratado. Los grupos E y F no están presentes en una superficie seca.

La sílice es poco soluble, una determinada muestra de sílice amorfa exhibe una solubilidad reproducible en el equilibrio. Sin embargo, los valores de solubilidad reportados para las sílices amorfas van desde 70 hasta más de 150 ppm a 25°C. Tales variaciones son aparentemente debidas a las diferencias en el tamaño de partícula, al estado de hidratación interna y a la presencia de trazas de impurezas en la sílice o adsorbidas en su superficie durante las mediciones.

La velocidad a la cual se disuelve la sílice en agua está influida por muchos factores; pero, sin importar el tipo de sílice, el proceso de disolución requiere la presencia de un catalizador. La disolución de sílice en agua es, en efecto, una despolimerización a través de una hidrólisis; y su grado de solubilidad se considera como la concentración de Si(OH)_4 alcanzado en el estado de equilibrio del proceso polimerización-despolimerización. El catalizador es un material que puede ser quemisorbido* e incrementa el número de coordinación del átomo de sílice en la superficie a más de cuatro, con lo cual se debilitan los enlaces oxígeno de los átomos de silicio subyacentes. Por debajo de pH 11 y hasta pH 3 el ión hidroxilo es el catalizador que controla la velocidad de disolución de la sílice hasta que se alcanza la saturación.

Sobre la superficie de la sílice hay espacios entre los iones oxígeno suficientemente amplios para acomodar iones hidroxilo. Tal superficie, entonces, lleva una carga iónica y la sílice está constantemente siendo intercambiada en un equilibrio entre la superficie y la solución. El primer paso es la adsorción de un ión hidroxilo, después de lo cual un átomo de silicio entra en solución como ion silicato. Si el pH es mucho menor que 11 entonces este ion se hidroliza a sílice soluble, $\text{Si}(\text{OH})_4$ y OH^- y el proceso se repite⁸⁵.

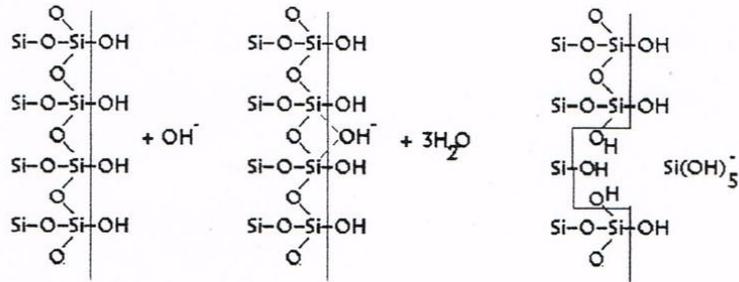


Fig 8.- Mecanismo propuesto para la disolución de una superficie hidroxilada de sílice.

OBJETIVO

Este trabajo tiene como objetivo estudiar algunas condiciones de crecimiento de apatita de fosfato de calcio sobre sílice, preparada por el método sol-gel; así como explorar una hipótesis sobre el proceso inicial de la formación de apatita, es decir, la primera etapa de su nucleación en sílice.

CAPITULO V

PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

PREPARACION DE LOS MATERIALES

Se utilizaron dos diferentes métodos para la síntesis de los materiales. Estos difieren tanto en la preparación de la sílice, empleada como substrato para el crecimiento de apatita, como en el procedimiento que se utilizó para su crecimiento. Se denominarán A) y B). En ambos métodos la sílice se obtiene por hidrólisis y polimerización de TEOS en condiciones alcalinas. En el método A) la suspensión original de sílice se diluye con etanol para ser posteriormente coagulada mediante la adición de CaCl_2 , mientras que en el método B) la adición de CaCl_2 se realiza directamente en la suspensión resultante con lo que se obtiene la precipitación de los soles.

METODO A)

PREPARACION DE LOS SOLES

A una solución de 4 moles de agua destilada en 6 moles de etanol se le agregó otra solución de un mol de TEOS destilado en 6 moles de etanol, en agitación vigorosa (400-500 rpm). El pH inicial del agua se ajustó a 12 utilizando NH_4OH concentrado. La mezcla resultante se colocó en un matraz de dos bocas y se calentó hasta ebullición, manteniéndola en esa condición. Se tomaron muestras cada 10 minutos para medir tamaño de partícula por dispersión de luz dinámica. Una vez que se alcanzó un tamaño constante de partícula (aproximadamente 100 nm) la reacción se detuvo. La mezcla se diluyó con etanol y se enfrió para evitar la gelación.

COAGULACION DE LOS SOLES

Una solución acuosa de CaCl_2 0.1 M se agregó gota a gota a un volumen determinado de suspensión de sílice coloidal en agitación hasta que la concentración final de calcio fue 0.01 M. Después de una agitación por una hora, el coágulo formado se dejó sedimentar y el líquido sobrenadante se descartó. Posteriormente, el sólido se centrifugó para eliminar la mayor parte de líquido. El sólido se lavó dos veces resuspendiéndolo en agua destilada y manteniéndolo en agitación moderada (150-200 rpm) durante 20 minutos. Los coágulos obtenidos se secaron a 400°C por 2 horas y se molieron utilizando un mortero de ágata, para evitar la contaminación de la muestra.

CRECIMIENTO DE APATITA

El crecimiento de apatita se realizó resuspendiendo los coágulos de sílice en soluciones acuosas con diferentes electrolitos. Se utilizaron cuatro diferentes soluciones de crecimiento:

- 1) PHS a 37°C ,
- 2) PHS-1, modificación del PHS con relación $\text{Ca/P}=1.0$ a 90°C ,
- 3) PHS-2, modificación del PHS con relación $\text{Ca/P}=1.67$ a 90°C ,
- 4) PHS-3, modificación del PHS con relación $\text{Ca/P}=2.5$ a 90°C .

El PHS es una solución con contenido de electrolitos similar al plasma humano y ha sido utilizado extensamente para estudios de crecimiento de apatita.^{45-50,71-74} La tabla 3 muestra la composición de las diferentes soluciones de crecimiento así como la del plasma humano (PH).

Tabla 3.-Concentraciones de las soluciones de crecimiento de apatita y del plasma humano (PH)

Solución	Ca/P	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl	HCO_3^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}
PH	2.5	142.0	5.0	2.5	1.5	103.0	27.0	1.0	0.5
PHS	2.5	142.0	5.0	2.5	1.5	147.0	4.2	1.0	0.5
PHS-1	1.67	142.4	--	2.0	--	144.0	--	1.2	--
PHS-2	1.0	143.0	--	1.5	--	143.0	--	1.5	--
PHS-3	2.5	142.0	--	2.5	--	145.0	--	1.0	--

Las concentraciones de los electrolitos son mM.

Los experimentos realizados utilizando PHS modificados se realizaron por triplicado en matraces balón. El primer matraz contenía solamente 20 mL de PHS, sin sílice, para descartar cualquier posible cristalización espontánea. El segundo matraz contenía 0.35 g de sílice coagulada molida a un tamaño de malla de 0.125-0.25 mm, en 30 mL de PHS; y el tercero contenía 0.2 g de sílice coagulada, molida de tamaño menor de 0.125 mm. Este tercer matraz se empleó para medir el consumo de fósforo en la solución en función del tiempo y seguir la evolución de los productos de reacción mediante difracción de rayos X. El experimento a 37°C sirvió de referencia y, en este caso, los coágulos de sílice no fueron secados; los coágulos se añadieron al PHS y se mantuvieron a 37°C en agitación por 7 días. Después de este lapso, el sólido se lavó y se secó a 100°C por 2 horas.

METODO B)

SINTESIS DE LOS SOLES DE SILICE

A una solución de 3.8 mL de TEOS sin destilar en 4.0 mL de etanol se agregó otra de 1.2 mL de agua destilada en 4.0 mL de etanol en agitación. El pH inicial del agua se ajustó a 11.8 con NH_4OH concentrado. En este caso la relación TEOS:agua:etanol fue 1:4:8. Después de 17 horas de reacción a temperatura ambiente, la suspensión resultante se precipitó adicionando 2.9 mL de una solución acuosa 0.1M de CaCl_2 con agitación. Después de 15 minutos la mezcla se centrifugó y el sólido se lavó tres veces; la primera vez con una solución agua/etanol 50/50 (v/v) y las siguientes con agua destilada.

ADSORCION DE CALCIO SOBRE LOS SOLES DE SILICE

El sólido se suspendió en 20 mL de agua destilada y el pH se ajustó a 10.6 con NH_4OH . La suspensión se mantuvo en agitación por tres horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregaron 6 mL de la solución 0.1M de CaCl_2 gota a gota y después de dos horas la suspensión se centrifugó y se lavó tres veces con agua destilada. El sólido obtenido se utilizó para el crecimiento de apatita como a continuación se describe.

CRECIMIENTO DE APATITA

La apatita se creció usando dos diferentes procedimientos:

- 1) Una quinta parte del sólido se suspendió en 75 mL de una solución de PHS modificado. Esta es una solución 0.14M de NaCl a pH 7.4 y Na_2HPO_4 1.2 mM. En esta solución se realizaron mediciones de fósforo cada 6 horas hasta que no se observó consumo de fósforo. Entonces, se adicionaron 1.5 mL de solución 0.1 M de CaCl_2 para tener una concentración 0.2 M. Se midió nuevamente el consumo de fosfato y, una vez que se hubo consumido completamente se agregaron 1.5 mL de solución de Na_2HPO_4 0.06 M. Con este procedimiento se realizaron dos experimentos, uno en condiciones de reflujo (90°C) y otro a 37°C . Para este último experimento, el CaCl_2 se añadió desde el inicio de la reacción.

- 2) Esta es una modificación del procedimiento anterior en condiciones de reflujo. En este caso se utilizó una concentración cuatro veces mayor de precipitado. La concentración de fosfato se midió cada dos horas. Una vez consumido completamente, se agregaron 1.5 mL de Na_2HPO_4 0.06 M para tener nuevamente una solución 1.2 mM. Este procedimiento se repitió hasta que no hubo consumo de fosfato. Entonces, el sólido se centrifugó y lavó con agua destilada. Posteriormente se resuspendió en una solución de PHS a pH 7 que contenía NaCl 0.14M, Na_2HPO_4 1.2 mM y CaCl_2 2 mM. Cuando no se observaba más consumo de fosfato el sólido se resuspendía en nueva solución de PHS modificado.

En todos los experimentos, una vez que se obtuvieron los productos, éstos se secaron a 120°C por dos horas.

Para descartar la nucleación espontánea de fosfatos de calcio en los experimentos a 90°C , se realizaron experimentos separados que contenían solamente NaCl 0.14 M, CaCl_2 2mM y Na_2HPO_4 1.2 mM a 7.4. Se hicieron determinaciones de fosfato cada dos horas.

En el procedimiento 1) la concentración de calcio en solución se determinó en un experimento separado utilizando la misma concentración de precipitado que en el original, resuspendiéndolo en agua destilada a temperatura de reflujo por dos horas.

La cantidad de la fase de apatita crecida en cada experimento se estimó suspendiendo los productos en soluciones a pH 1 por 24 horas. El peso de apatita se determinó como el del material solubilizado en la solución ácida.

MATERIALES Y TECNICAS DE CARACTERIZACION

Se utilizó TEOS Aldrich Chem Co. Grado 98%. Para el método A) este reactivo se destiló a vacío. En el método B) se utilizó sin destilar. Se empleó etanol grado reactivo Baker Co. sin destilar.

En todos los experimentos en que se empleó PHS el pH se ajustó a temperatura ambiente a 7.4 utilizando tris(hidroximetil)amino metano $[(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2]$ (TRIS) y ácido clorhídrico. Una solución de 100 mL de este buffer se prepara mezclando 50 mL de una solución 0.1 M de TRIS con 42 mL de HCl 0.1 M, ajustando el pH hasta 7.4 y aforando a 100 mL.

El PHS se preparó disolviendo las siguientes sales grado reactivo en 100 mL de buffer pH 7.4:

NaCl	0.7877 g	KCl	0.0373 g
Na ₂ HPO ₄	0.0142 g	MgCl ₂	0.05 g
NaHCO ₃	0.0353 g	CaCl ₂	0.0277 g
Na ₂ SO ₄	0.0071 g		

El fosfato se midió utilizando el método de azul de molibdeno⁸⁶ como se describe a continuación:

Se prepararon las siguientes soluciones:

Molibdato de amonio.- Se disolvieron 25 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 175 mL de agua destilada. Luego se adicionan cuidadosamente 280 mL de H₂SO₄ concentrado a 400 mL de agua destilada. Se dejaron enfriar las soluciones, y se agregó la solución de molibdato, y posteriormente se diluyó a 1L.

Cloruro estanoso.- Se disolvieron 2.5 g de SnCl₂·2H₂O recién adquirido en 100 mL de glicerol. Se calentó en baño de agua agitando para acelerar la disolución.

Solución ácida.- Se adicionó lentamente 300 mL de H₂SO₄ concentrado a 600 mL de H₂O. Una vez frío se agregó 4 mL de HNO₃ y diluir a 1 L.

Procedimiento de lectura.- A 50 mL de muestra se agregó 1 gota de solución ácida, 2 mL de molibdato de amonio y 5 gotas de solución de cloruro estanoso. Se agitó entre cada

adición, y luego de 10 minutos se leyó la absorbancia a 690 nm. Las lecturas se tomaron refiriéndolas a una curva patrón de K_2HPO_4 .

TECNICAS DE CARACTERIZACION

Se emplearon diversas técnicas de caracterización para confirmar la síntesis de apatita, puesto que ésta se obtiene en pequeña proporción respecto a la sílice. Para este propósito se utilizó difracción de rayos X*, espectroscopía Raman* y resonancia magnética nuclear (^{31}P MAS NMR)*.

Las determinaciones de fosfato se realizaron en un espectrofotómetro de absorción de luz UV-VIS modelo Perkin Elmer Lambda 5 a temperatura ambiente.

Las mediciones de dispersión de luz dinámica (DLS) para determinación del tamaño de partícula se hicieron en un dispersor Brookhaven Instrument con un correlador digital modelo 9000. En todos los casos el ángulo de dispersión fue de 90° . Las lecturas se realizaron a temperatura ambiente. La fuente de luz fue un haz de argón láser operado a 488 nm.

Los difractogramas de rayos-X se obtuvieron en un difractómetro Philips automático controlado por una computadora Macintosh, en el intervalo de $20-50^\circ$ con una velocidad de barrido de 2° min^{-1} y empleando radiación CuK_α . Las muestras se prepararon colocando una capa de polvo finamente molido en un portamuestras de vidrio.

La caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido se realizó en un microscopio Zeiss modelo DSM940A. Las muestras fueron recubiertas con oro y observadas a diferentes ampliaciones. Las micrografías de transmisión se obtuvieron en un equipo JEOL modelo JEM 100CX a diferentes ampliaciones.

La caracterización micro Raman se hizo en un espectrofotómetro DILOR modelo Labram equipado con un láser He-Ne y con un microscopio óptico confocal utilizando un intervalo de longitud de onda de 100 a 1200 cm^{-1} .

Los espectros de estado sólido de Resonancia Magnética Nuclear de ^{31}P se obtuvieron mediante la técnica de giro de ángulo mágico en un espectrofotómetro Bruker modelo ASX300 empleando un portamuestra CP-MAS de 4 mm, a una velocidad de giro de 5KHz, a temperatura ambiente, usando H_3PO_4 como referencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Fig. 9 muestra el patrón de difracción de rayos-X de la Hap comercial pura con la asignación de los planos de las reflexiones más intensas. Las Figs. 10-12 muestran los patrones de difracción de rayos X de las muestras que contienen apatita crecida sobre sus superficies en diferentes intervalos de tiempo, para los experimentos utilizando PHS modificado. La Fig. 10 es el patrón de difracción de las muestras sumergidas en PHS-1 a 90°C a 10, 23, 33 y 48 h. La señal amplia, localizada alrededor de los 25° corresponde a la fase amorfa de la sílice. Las Figs. 11 y 12 corresponden a los experimentos en los que se empleó PHS-2 y PHS-3 respectivamente. El difractograma de la muestra preparada en PHS a 37°C se muestra en la Fig. 13.

Las apatitas obtenidas en sistemas acuosos, ya sea por precipitación o hidrólisis, tienen una relación molar Ca/P menor que el valor estequiométrico de la Hap pura²⁶. Se sabe que para los fosfatos de calcio sintetizados *in vitro*, condiciones de pH entre 7 y 8, y temperaturas de 37°C o mayores favorecen la formación de apatita,^{87,88} aunque se ha señalado que los compuestos de este tipo obtenidos a bajas temperaturas deberían ser más exactamente denominados como “apatíticos”⁸⁷. Sin embargo, toda la literatura consultada sobre el crecimiento de apatita en geles de sílice, o aún en otros sustratos,^{21,47-49} a 37°C se refieren a este compuesto con este nombre, y alguno lo hace como hidroxiapatita⁴⁵.

Como puede observarse, en todos los difractogramas de los diferentes experimentos existe una señal característica alrededor de los 32°. Ya que las condiciones de reacción utilizadas favorecen la formación de apatita, como se ha señalado anteriormente, la señal alrededor de los 32° puede atribuirse a un traslapamiento de las tres señales más intensas de la Hap: (211), (112) y (300) que están localizadas entre los 31° y 33°, como ha sido sugerido en la literatura.⁴⁷ El patrón completo de la fase cristalina de apatita es difícil de obtener debido al enmascaramiento producido por la señal ancha de la sílice amorfa, además de que la proporción de apatita es menor del 10% del total de la muestra y crece sobre pequeñas partículas de sílice de las que sería difícil separarlas.

En la Fig. 14 se nota que la intensidad de la señal a 32° aumenta conforme lo hace la razón Ca/P. Puede observarse que, al inicio del crecimiento de los cristales sobre la superficie de la sílice, la cantidad de fase cristalina es pequeña y hasta las 33 horas

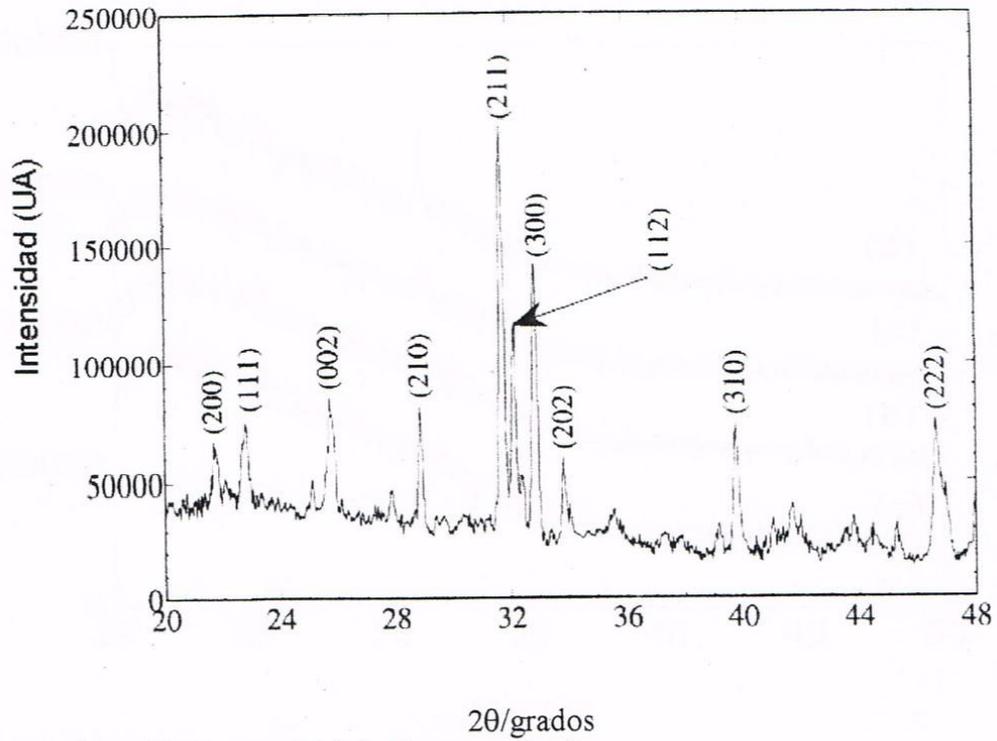


Fig 9.- Patrón de difracción de rayos X de la Hap pura cristalina.

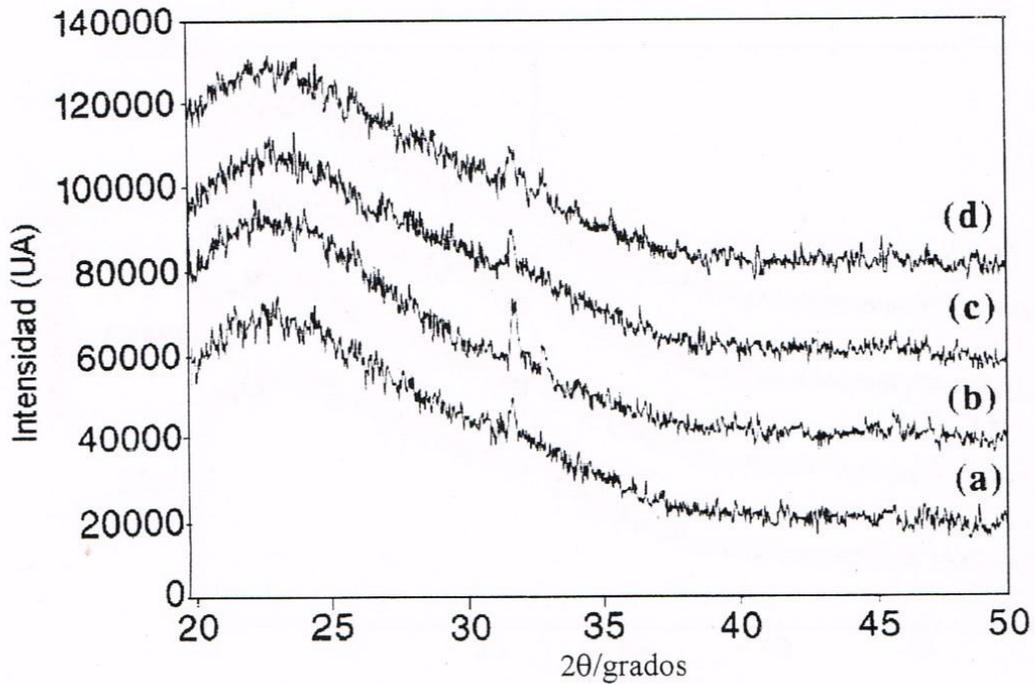


Fig 10.- Patrón de difracción de rayos X de los coágulos de sílice sumergidos en PHS-1, relación molar Ca/P =1.67, a 90°C con tiempos de inmersión: a) 10 h, b) 23 h, c) 33 h y d) 48 h.

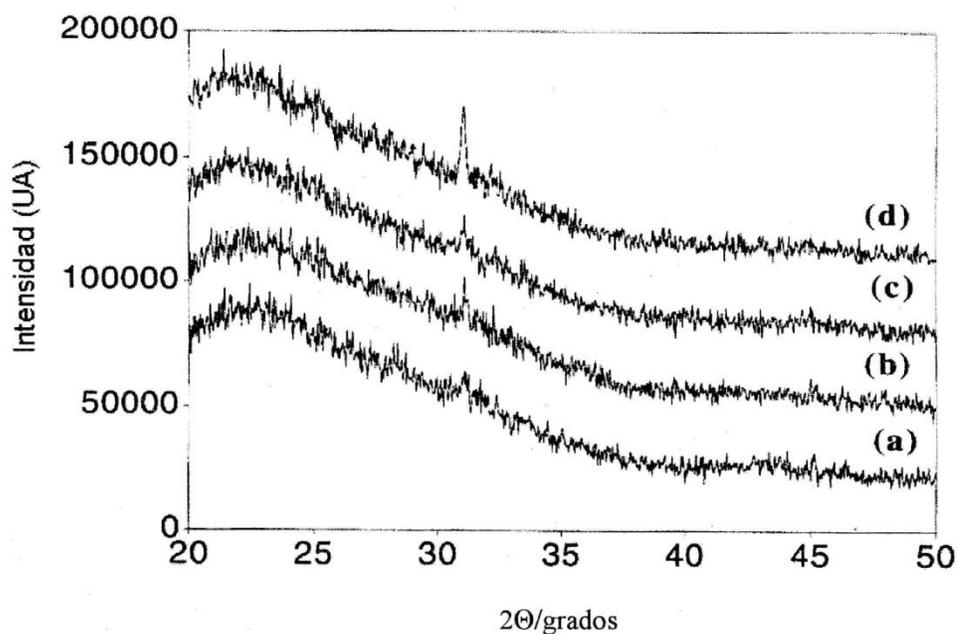


Fig 11.-Patrón de difracción de rayos X de los coágulos de sílice sumergidos en PHS-2, relación molar Ca/P =1, a 90°C con tiempos de inmersión: a) 10 h, b) 23 h, c) 33 h y d) 48 h.

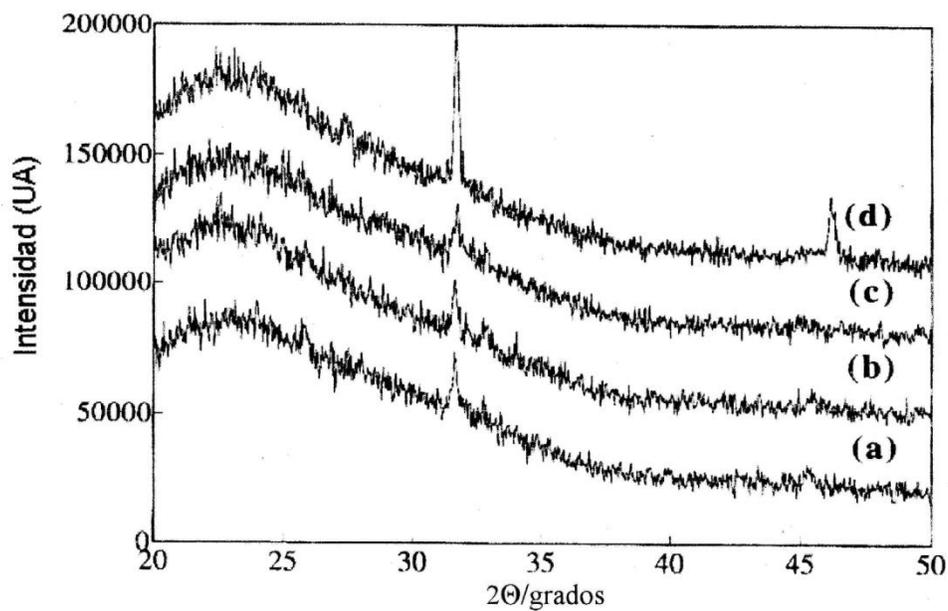


Fig 12.-Patrón de difracción de rayos X de los coágulos de sílice sumergidos en PHS-3, relación molar Ca/P =2.5, a 90°C con tiempos de inmersión: a) 10 h, b) 23 h, c) 33 h y d) 48 h.

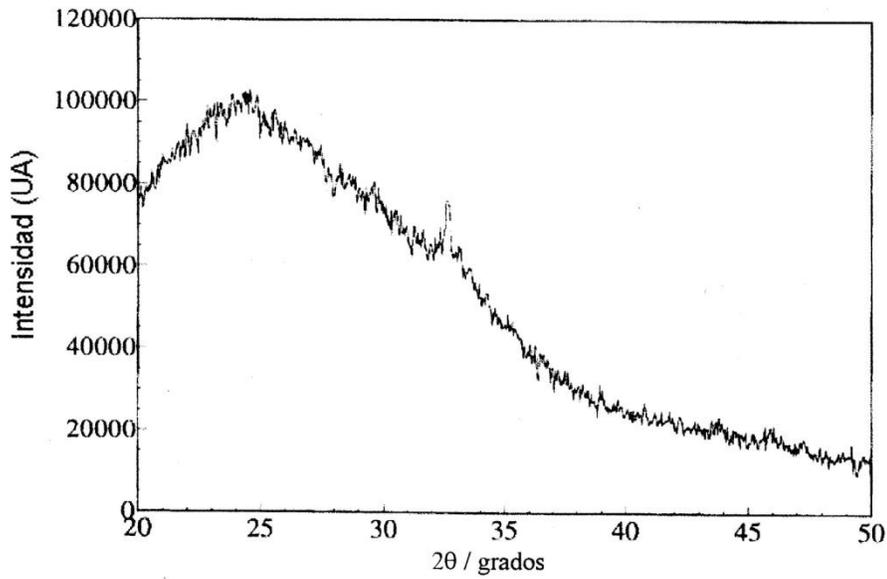


Fig. 13.- Patrón de difracción de rayos X del coágulo sumergido en PHS a 37°C por 7 días.

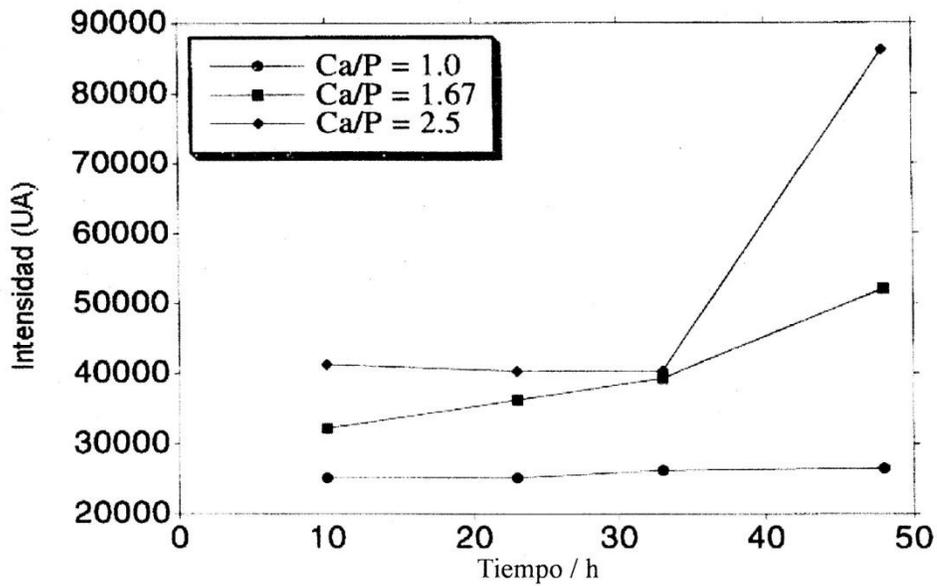


Fig. 14.-Gráfica de la intensidad de difracción como función del tiempo de inmersión para las muestras sumergidas en los PHS modificados.

permanece prácticamente constante, según se aprecia por la intensidad de la señal en las Figs. 12 y 13. Para tiempos mayores que las 33 h, para los experimentos en PHS-2 y PHS-3, la altura de la señal de difracción se incrementa notablemente produciendo una reflexión más intensa y aguda. Ya que la altura de la señal de difracción es proporcional a la cantidad de fase cristalina que contribuye a ella, puede observarse que existe un aumento un poco mayor del doble de esta fase en el experimento PHS-3 respecto al PHS-1.

Las Fig. 15 muestra los espectros de ^{31}P MAS NMR para los experimentos PHS-1 (a), PHS-2 (b) y PHS-3 (c) por 48 h. En los tres casos se observa solamente un pico intenso y dos bandas laterales. Los valores de desplazamiento químico isotrópico obtenidos de δ 2.792 (a), 2.840 (b) y de δ 2.924 (c), están dentro de los valores reportados⁹⁰⁻⁹² para apatitas calcio-fosfato con relación molar Ca/P entre 1.33 y 1.66. Estas apatitas muestran un solo pico principal con δ 2.8 ± 0.2 . Los valores de desplazamiento obtenidos son claramente diferentes de los correspondientes para otros fosfatos de calcio, y confirman la identificación de la fase cristalina como apatita. Se obtuvieron similares desplazamientos para los cuatro experimentos.

La Fig. 16 muestra el cambio en la concentración de fósforo para los cuatro experimentos. Tanto la velocidad como la cantidad de consumo de fósforo son similares para los tres experimentos a 90°C . La disminución en el consumo de fósforo para estos experimentos termina aproximadamente 23 h después del inicio de la reacción, mientras que para el experimento a 37°C comienza aproximadamente en este punto. Es interesante notar que aún para el experimento a 37°C , en el cual se da el consumo de fósforo más lento, la velocidad de consumo es mayor que la reportada⁵⁰ para geles secados a 400°C . Para estos últimos se observó consumo de fósforo a partir de 6 días después de la inmersión de los geles en PHS. Algunos factores que pueden explicar la diferencia en la velocidad de consumo de fósforo, que está directamente relacionada con la formación de apatita⁴⁷ son los siguientes:

- a) En el presente estudio se utilizaron soles de sílice coagulada en lugar de geles, por lo cual se dispone de mayor área superficial activa para la reacción química.
- b) Efecto de aceleramiento de la reacción a temperaturas mayores (90°C).

c) La adición de calcio para coagular los soles de sílice pudo haber permitido también que algunos iones hayan quedado adsorbidos en el sustrato durante su coagulación y hayan podido acelerar la reacción, ya que incrementan la actividad iónica en la solución que rodea los agregados. Este efecto puede ser una explicación adicional al aumento en la rapidez de nucleación de apatita sobre sílice obtenida por coagulación con calcio, como ha sido reportado⁷².

Es importante mencionar que para los experimentos “blanco”, es decir en los que no se agregó sílice, el consumo de fósforo fue nulo hasta las 48 h. Con base en esto se descarta que la formación de apatita se haya debido a una la nucleación espontánea.

La Fig. 17 muestra una superficie lisa, característica de los coágulos secados a 400°C de la sílice pura. Las Figs. 18 a 20 muestran el crecimiento de apatita sobre la sílice seca molida a tamaño de 0.125 a 0.25 mm a 90°C durante 48 h para los tres experimentos en PHS. En ningún caso se observa el crecimiento de cristales en agregados esféricos como se ha reportado en trabajos similares a 37°C^{49,69}.

La Fig. 18 corresponde a la sílice sumergida en PHS-1, en donde puede observarse que el tamaño de los cristales es más pequeño y uniforme experimentos que en los experimentos efectuados en PHS-2 y PHS-3. La Fig. 19 muestra cristales de apatita de tamaños muy variables, aproximadamente de entre 5 y 30 µm; así mismo puede observarse que los cristales no crecen formando agregados como en los otros dos experimentos. En la Fig. 20 se ven cristales de apatita de mayor tamaño que en los anteriores formando un agregado muy compacto.

La Fig. 21 corresponde al experimento a 37°C. Puede observarse la presencia de una superficie rugosa, muy diferente de las anteriores. Esta superficie corresponde a una fase de apatita muy poco cristalizada, como se corrobora por DRX, comparada con los experimentos a 90°C. Esta muestra se mantuvo en PHS hasta que se observó el pico característico cerca de los 32°, a los 7 días. Una muestra de la fase de apatita crecida en sílice sin secar, pero en PHS modificado a 90°, con una relación Ca/P de 2.5, se muestra en la Fig. 22. En este caso se ve una superficie más accidentada compuesta de cristales sin una estructura regular, aunque se logra observar algunos cristales en forma de hojuelas, con morfología mejor definida que los obtenidos a 37°C. A partir del conjunto de micrografías

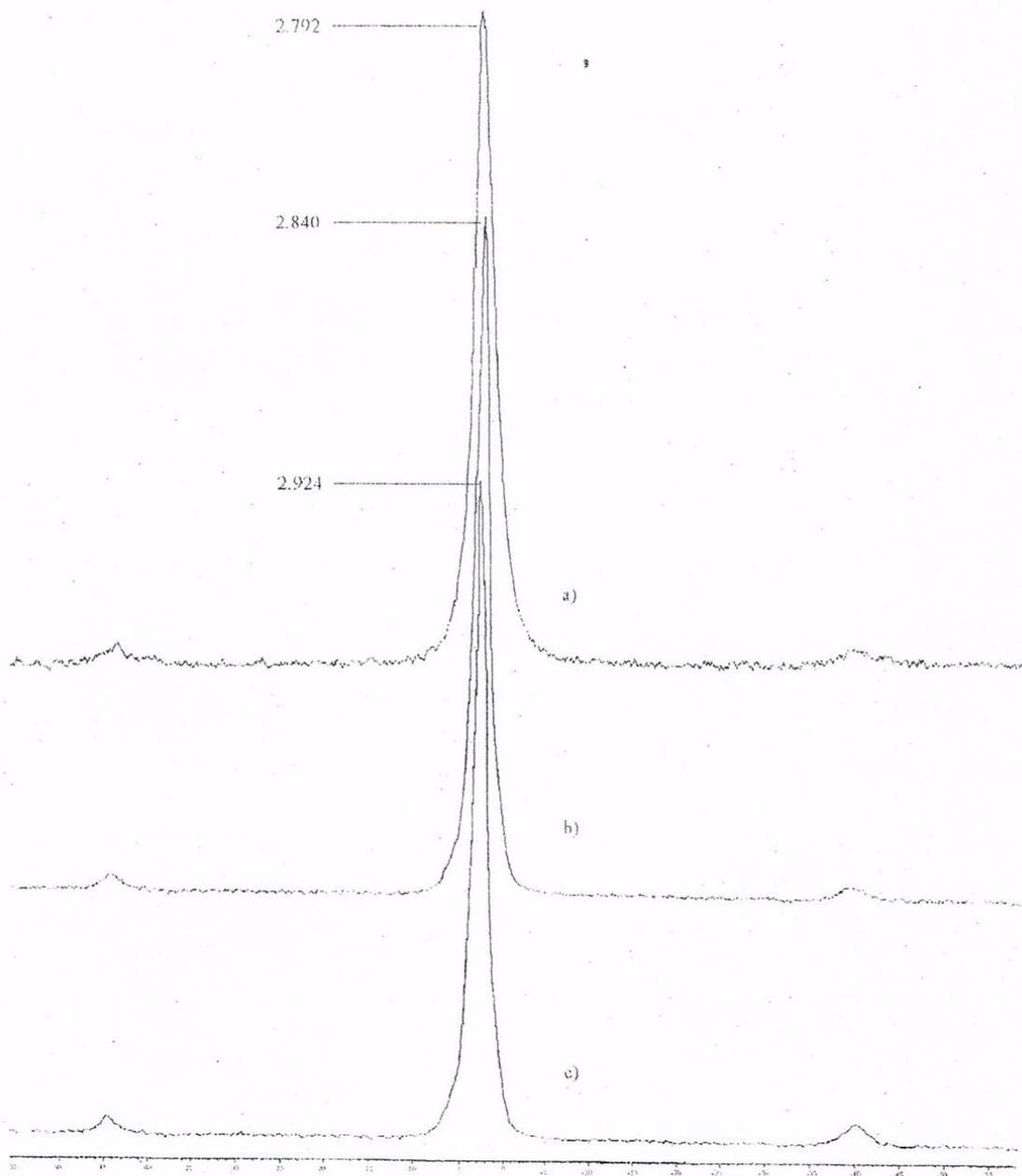


Fig 15.- Espectros de ^{31}P MAS NMR de la apatita crecida sobre sílice obtenida en diferentes PHS: a) PHS-1, b) PHS-2 y c) PHS-3, luego de 48 h de reacción.

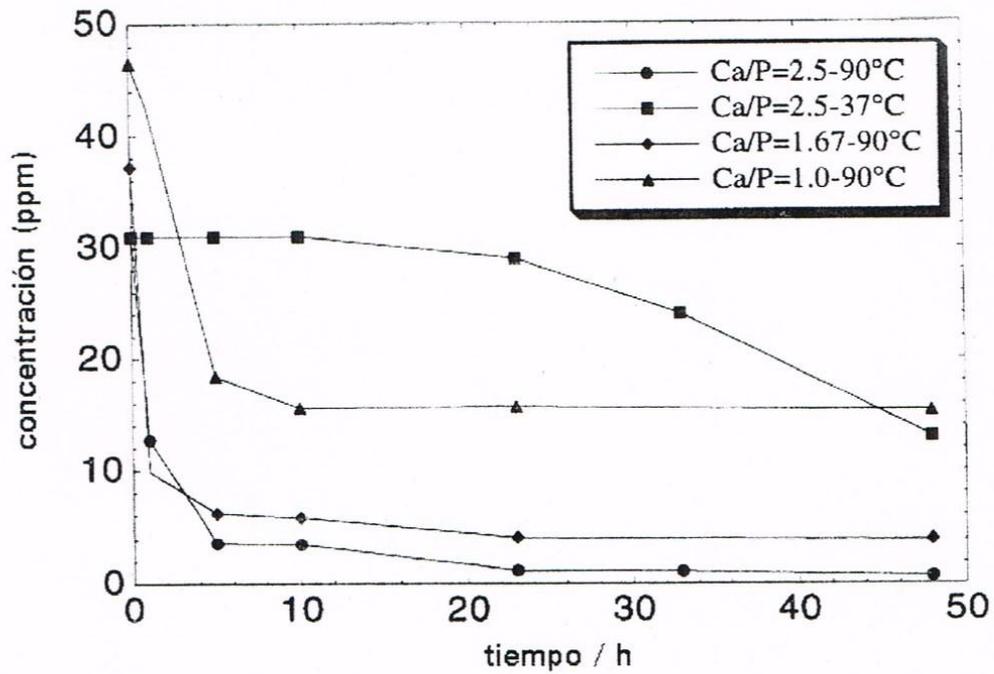


Fig. 16.- Consumo de fósforo en función del tiempo para los diferentes experimentos de crecimiento de apatita utilizando el método A).

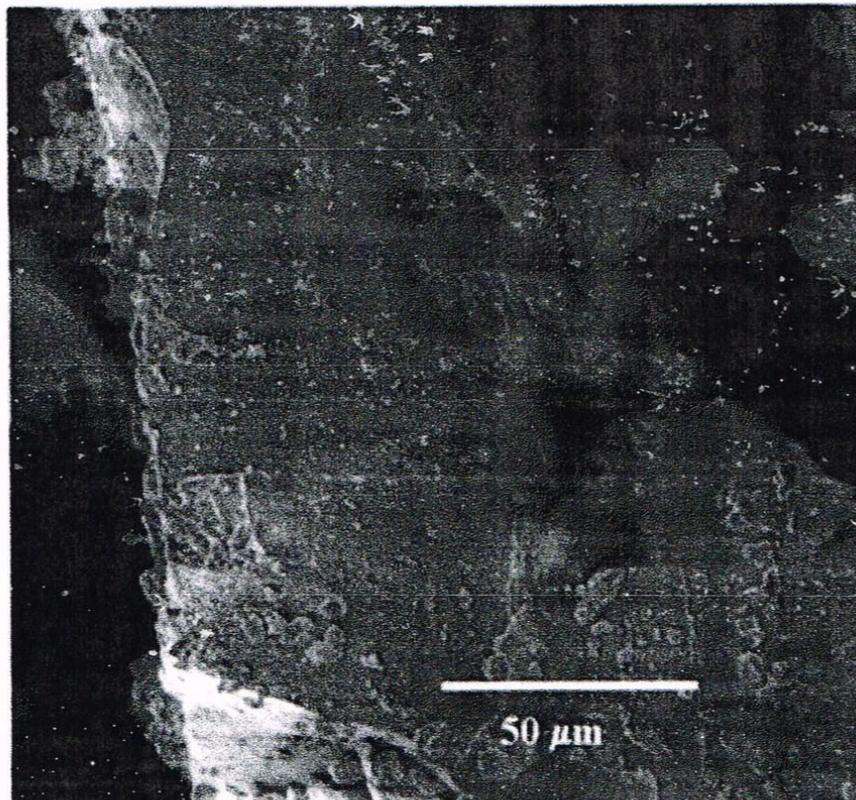


Fig. 17.- Micrografía de MEB de la superficie de sílice pura obtenida por coagulación con calcio secada a 400°C.



Fig. 18.- Micrografía de MEB de la sílice secada a 400°C, sumergida en PHS-2 con relación Ca/P = 1.67 por 48 h.

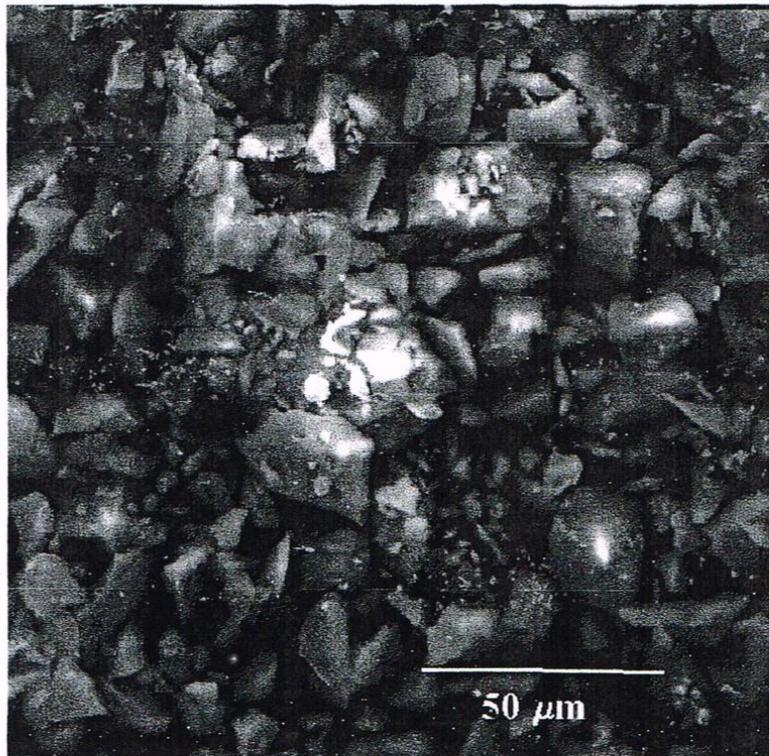


Fig. 19.- Micrografía de MEB de la sílice secada a 400°C, sumergida en PHS-3 con relación Ca/P = 2.5 por 48 h.

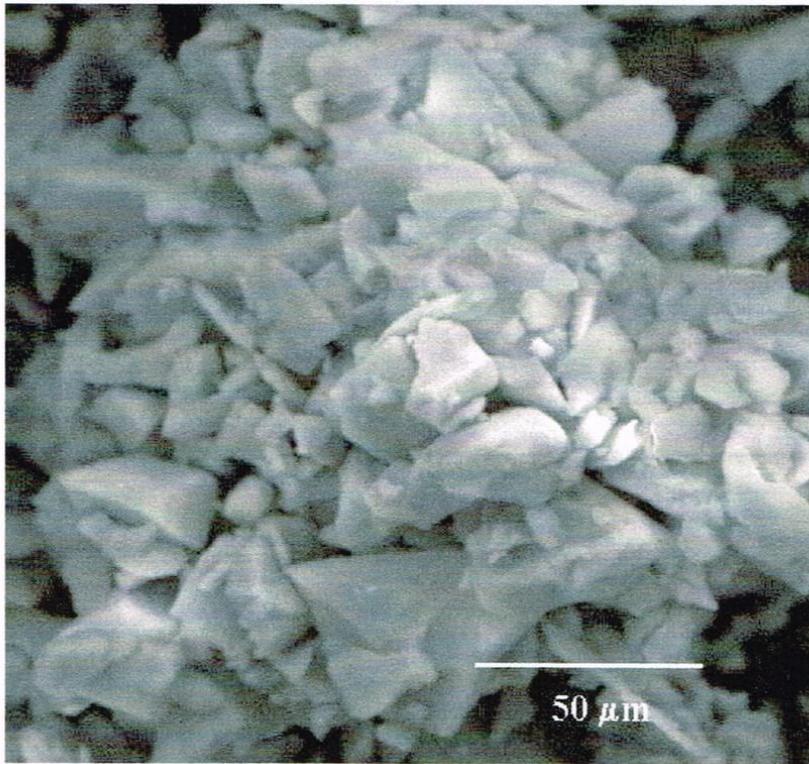


Fig. 20.-Micrografía de MEB de la sílice sumergida en PHS relación Ca/P=1.0 por 48 h.



Fig. 21.-Micrografía de MEB de la sílice sumergida en PHS a 37°C por 7 días.

de los diferentes experimentos puede observarse la importante influencia que tienen el sustrato y la temperatura de sobre el crecimiento de la fase de apatita.

Para la apatita crecida en geles de sílice secada a 400°C se ha reportado que su morfología depende de la razón Ca/P, y puede ser modificada de forma sustancial por la presencia o ausencia de ciertos iones como el F⁻.⁹³ A partir de los resultados obtenidos en estos experimentos puede observarse que la razón Ca/P afecta el tamaño de cristal y su forma de agregación, pero no la morfología de los cristales, cuando crecen en el mismo tipo de sustrato; es decir, con idéntico tratamiento térmico, como se observó en los experimentos en PHS modificado. Quizá altas temperaturas disminuyan el efecto de la variación en la razón Ca/P sobre la morfología de la fase cristalina de apatita. Por otra parte, el crecimiento de apatita en similares condiciones y con la misma relación Ca/P, pero en sustratos diferentes como son la sílice sin secar y la tratada a 400°C, origina también un crecimiento muy diferente de la fase de apatita.

Como anteriormente se ha mencionado, se ha propuesto que los grupos silanol, o un cierto tipo de ellos, son responsables de la nucleación de apatita. Tomando en consideración esta hipótesis y el hecho de que la sílice sin secar tiene una densidad de grupos silanol mucho mayor que la tratada a 400°C, puede pensarse que en los geles sin secar existe una mayor densidad de sitios nucleantes. Este hecho podría originar que los cristales crezcan muy próximos entre sí y den lugar a la formación de una superficie con una alta densidad de cristales (si se compara con los coágulos secados, como la que se observa para los experimentos en sílice sin secar).

METODO B)

La Fig. 23 muestra el espectro Raman correspondiente a la muestra del procedimiento 2) de este método. Ya que la apatita es un componente presente en baja proporción (16 y 12% para experimento a 90 y 37° respectivamente) solamente se puede asignar con precisión la banda intensa de estiramiento simétrico del fosfato en 958 cm⁻¹ de la apatita⁹⁴. Para la Hap pura está señal se localiza en los 962cm⁻¹.⁹⁵ No se observaron señales que pudieran corresponder a otros fosfatos de calcio como el fosfato tricálcico o monetita.

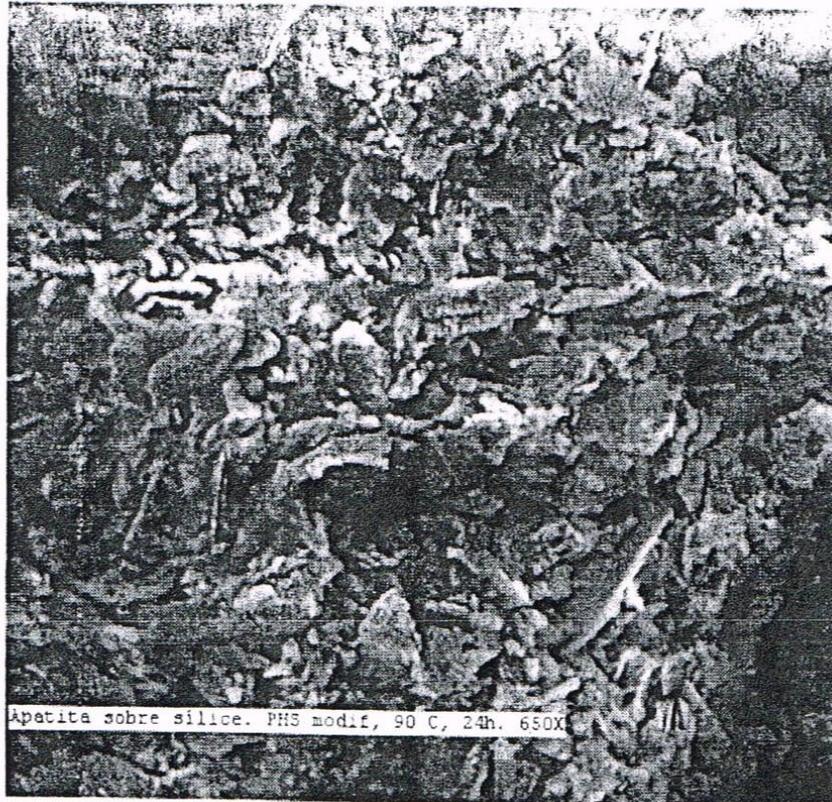


Fig. 22.-Micrografía de MEB de sílice sin tratamiento térmico sumergida en PHS relación Ca/P=2.5 a 90°C.

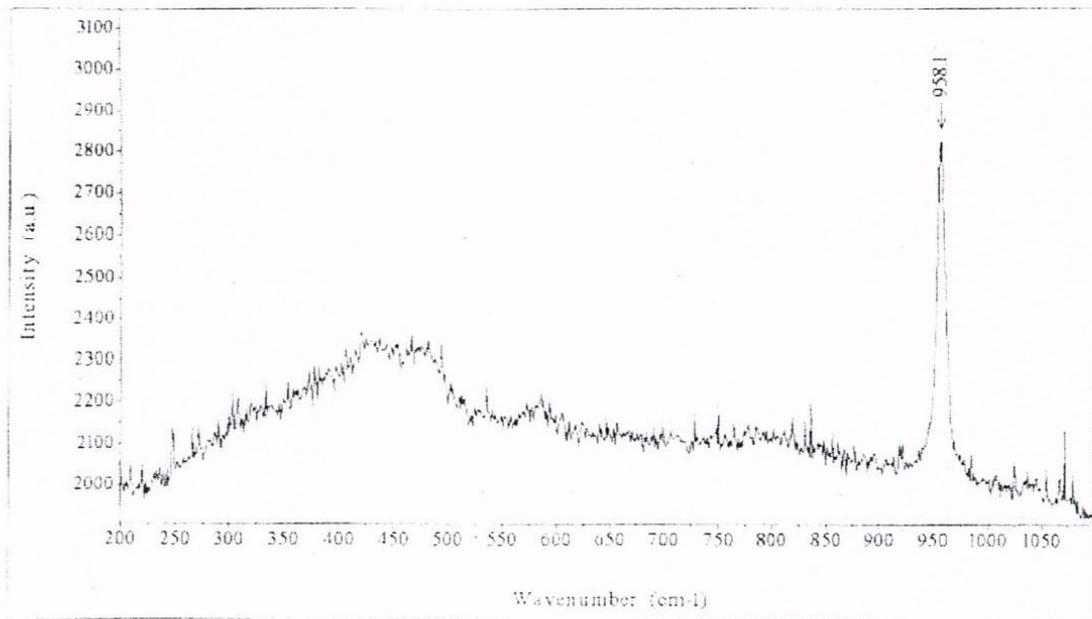


Fig. 23.-Espectro de Raman de la muestra obtenida por el método B) procedimiento 2).

Los espectros de RMN de ^{31}P para los tres experimentos de este método mostraron valores de desplazamiento químico, δ , similares a los obtenidos para las muestras de apatita del método A) (2.8 ± 0.2 ppm) los cuales corresponden a una fase de apatita de fosfato de calcio.

La Fig. 24 muestra el patrón de difracción de rayos X para el conjunto de muestras obtenidas en este método de crecimiento. Nuevamente, la señal ancha cerca de 23° se debe a la sílice amorfa. El patrón correspondiente al procedimiento 1) a 90°C muestra picos bien definidos que coinciden con las principales señales de la Hap pura. Por el contrario, aunque la cantidad de fase de apatita no difiere mucho para la muestra a 37°C , se obtuvieron señales de difracción menos definidas e intensas, comparadas con las anteriores, alrededor de los 32° , que corresponde a una estructura con menor cristalinidad. El patrón correspondiente al procedimiento 2) muestra un grupo de señales similares a las obtenidas en el procedimiento 1) a 90°C , entre los 31 y 33° . Las señales alrededor de los 32° corresponden a los planos de difracción (211), (112) y (300) de la Hap pura (Fig. 9)

La Fig. 25 muestra micrografías representativas de la muestra obtenida en el procedimiento 2). La Fig. 25a muestra un agregado de sílice con un cristal de apatita que ha crecido tangencialmente a lo largo de tres de las partículas del agregado. La Fig. 25b muestra, además de un cristal que crece tangencialmente de una de las partículas de sílice, otro que crece en forma perpendicular a la superficie de una segunda partícula. Estos cristales no tienen una forma tan definida como los que se pueden observar en la Fig. 25c. En este caso la apatita creció en forma de cristales con morfología acicular en todas direcciones del agregado. Además, en la parte inferior derecha se ve el crecimiento de cristal sobre una serie de partículas de sílice alineadas en una forma similar a la Fig. 25a.

La Fig. 26 corresponde al procedimiento 1) a 90°C . Como puede verse, en este caso la apatita crece en forma de varilla sin tamaños uniformes. En la Fig. 26a no es muy evidente el crecimiento de los cristales a partir de las partículas de sílice, ya que son muy largas comparadas con el tamaño de los soles y parecieran superpuestas. Sin embargo, en las Figuras 26b y 26c puede verse la estrecha unión entre una partícula y el cristal de apatita. También puede verse que en algunos casos un cristal relativamente largo ha servido de sitio de nucleación para otro pequeño; este fenómeno se ha observado para otros sistemas de crecimiento de apatita⁴⁹. Para esta muestra, los cristales son muchos más largos

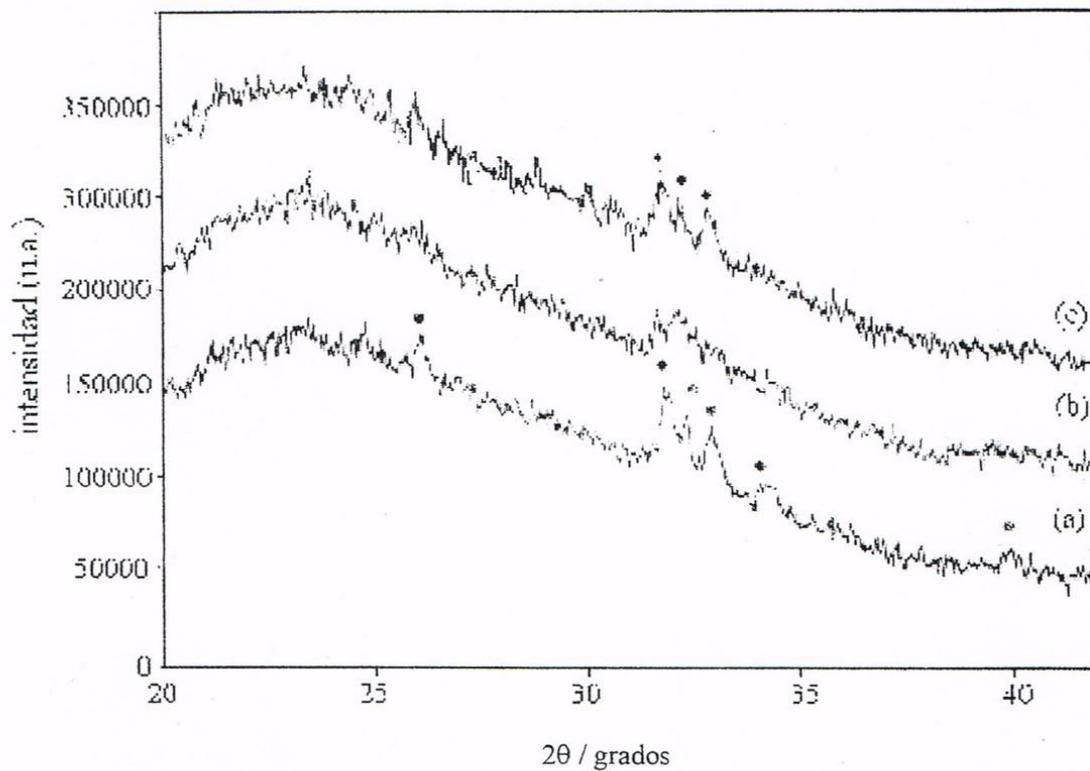


Fig. 24.- Patrón de difracción de rayos X para el método B) procedimiento 1) a 90°C (a), 37°C (b) y para el procedimiento 2 (c) (• señales correspondientes a la apatita).

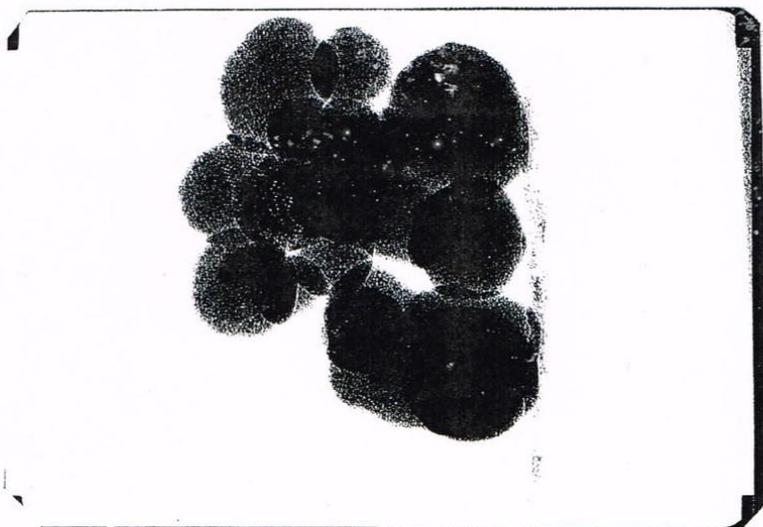


Fig. 25 a.- Micrografía de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 2) 100 000x.

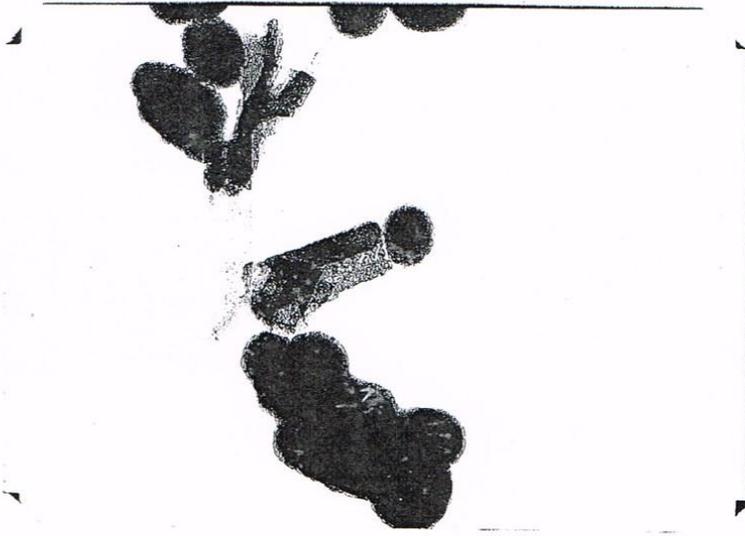


Fig. 25 b.- Micrografía de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 2) 66 000x.

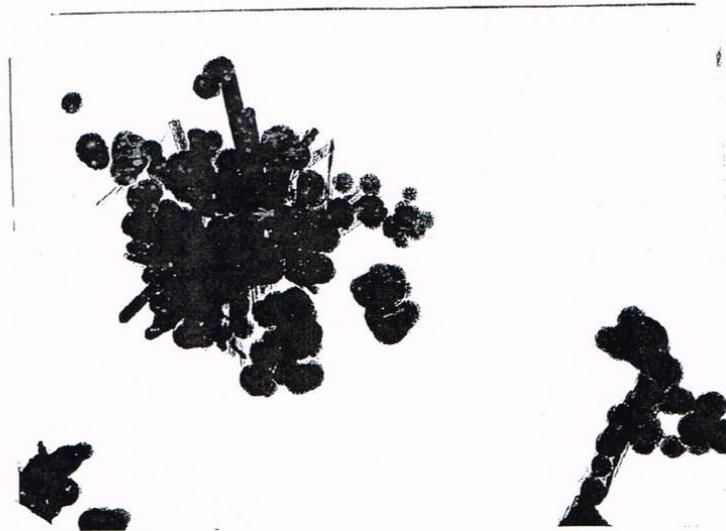


Fig. 25 c.- Micrografía de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 2).
26 000x.



Fig. 26 a.- Micrografía de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 1) a 90°C.
33 000x.



Fig. 26 b.- Micrografía de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 1) a 90°C.
66 000x.

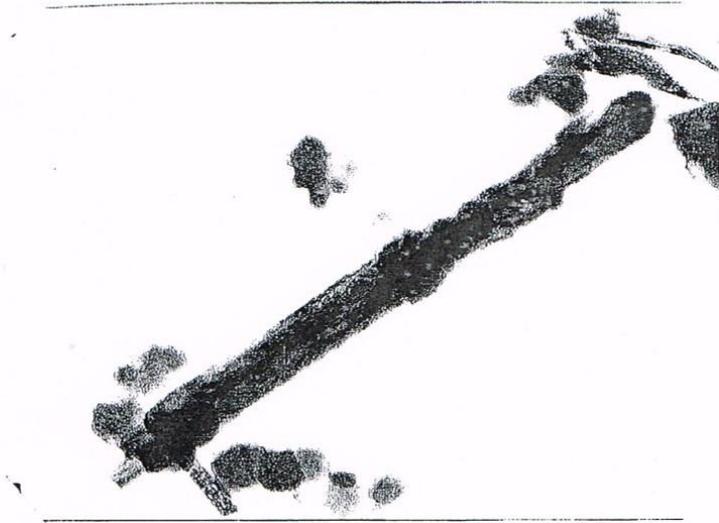


Fig. 26 c.- Micrografía de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 1) a 90°C.
100 000x.



Fig. 27 a.- Micrografía de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 1) a 37°C.
66 000x.



Fig. 27 b.- Micrografia de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 1) a 37°C.
100 000x.

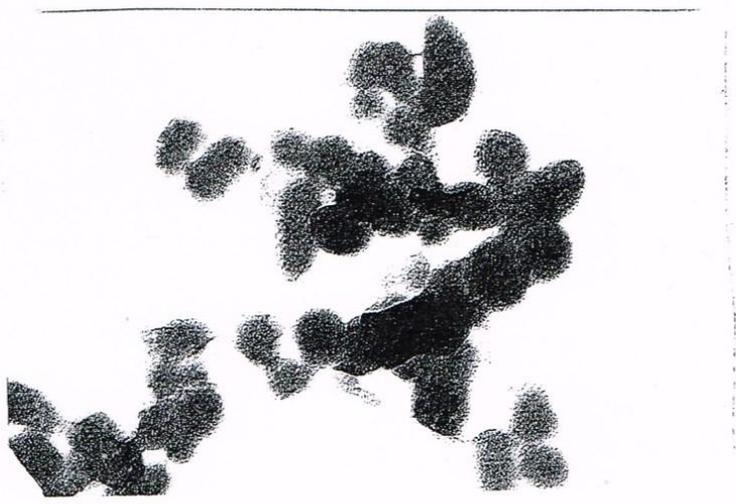


Fig. 27 c.- Micrografia de MET del material obtenido por el método B) procedimiento 1) a 37°C.
100 000x.

que los obtenidos en el procedimiento 2), tomando como referencia el diámetro de los soles en cada caso. Para el procedimiento a 37°C, el crecimiento de apatita se muestra en las Figs. 27a a 27c. La apatita crecida en estos experimentos no muestra una morfología definida y generalmente estructuras pequeñas no muy cristalinas. En los tres experimentos se observa que casi la totalidad de los cristales está asociado a partículas de sílice.

En estos experimentos la nucleación espontánea de apatita también se descartó, ya que en el blanco no se observó consumo de fosfato una vez que fue consumido en el procedimiento 2). Por otra parte, la concentración de calcio en el experimento que contenía solamente sílice fue de 20 ppm, es decir, el calcio que va de la sílice a la solución no excede la concentración en los experimentos que es 5 veces mayor.

Se sabe que sobre pH 7 la sílice coloidal puede adsorber iones calcio y que, mientras mayor sea el pH de la suspensión coloidal, es mayor la cantidad de calcio que puede ser adsorbido por unidad de superficie.^{96,97} Por otra parte, sobre pH 7 la concentración de cargas iónicas negativas en la superficie de la sílice es suficiente para permitir la estabilización de los soles por repulsión mutua de las partículas. En los experimentos realizados en este método, la primera adición de calcio a la suspensión de sílice causa la desestabilización y agregación de los soles, debido a que se adsorben iones calcio desplazando un ion H⁺ por intercambio iónico. El calcio conserva una carga positiva, por lo que la agregación de las partículas de sílice puede ocurrir debido a la atracción mutua de los sitios negativos de una partícula con los positivos de otra. Después de resuspender los agregados en la solución básica acuosa (el pH inicial fue 10.6, y baja a 10.2 después de agregar el CaCl₂ y agitar por dos horas) ocurre un aumento en la densidad de carga negativa sobre la superficie, y una fracción de los iones calcio añadidos se adsorben en ella. Después de la adsorción de calcio, la superficie está compuesta por grupos SiOH, SiO⁻ y SiOCa⁺, estando los primeros en mayor proporción.

Como se ha mencionado anteriormente, existen dos hipótesis para explicar la nucleación de apatita sobre geles de sílice pura. La primera propone que un cierto tipo de grupos estructurales es el causante de la nucleación de apatita, mientras que la segunda

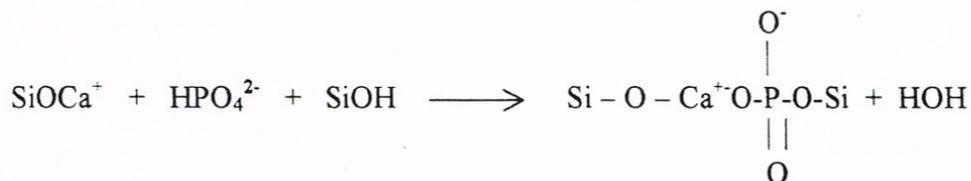
sugiere que los poros juegan un papel muy importante en la nucleación. Ninguna de estas propuestas explica el inicio del crecimiento de la apatita en sílice pura.

Para los biovidrios se ha señalado que los grupos silanol están involucrados directamente en la nucleación de la apatita, y se ha revisado la hipótesis que sugiere que los grupos fosfatos se unen a la sílice (que provee sitios con una adecuada distancia oxígeno-oxígeno) como primer paso en la formación de apatita. En los agregados preparados en este trabajo, un posible sitio que pudiera estar involucrado en el inicio de la nucleación de la apatita es el calcio covalentemente adsorbido sobre la superficie de la sílice.

Se ha señalado que los cationes metálicos pueden adsorberse en la superficie de la sílice formando enlaces covalentes con los grupos silanol:⁹⁸



En el caso presente, el calcio covalentemente unido a la superficie de la sílice conservaría una carga negativa capaz de retener un grupo HPO_4^{2-} . Una vez en la superficie, éste podría unirse a un grupo silanol, como se ha reportado,⁶⁸ dando lugar a una unión iónica estable:



Este sitio “siloxi-calcio-fosfato-siloxi” podría ser la primera etapa en el crecimiento de la apatita. También se ha propuesto que el Ca^{++} podría quedar unido a la superficie a través de una capa “coordinadamente enlazada”; en cualquier caso, parece razonable sugerir la unión del Ca^{++} a los grupos silanol como la primera etapa en el crecimiento de la apatita⁹⁸.

Por lo que respecta al papel que juegan los poros en la nucleación de apatita, éste quizá esté relacionado con la difusión de iones OH^- y la formación de sitios SiOCa^+ . Se ha observado⁴⁵ una disminución en la velocidad de nucleación de apatita conforme disminuye el tamaño de poro de la sílice secada a altas temperaturas. Los autores proponen que este efecto se debe a que la doble capa generada en la sílice incrementa la actividad iónica

dentro de los poros, respecto a una superficie plana, y que una disminución en el tamaño del poro disminuye la rapidez de difusión de los iones (calcio y fosfato), lo que se convierte en un factor limitante para el crecimiento de apatita. Como se ha mencionado antes, a mayor pH de una suspensión coloidal de sílice, es mayor la cantidad de calcio que puede ser adsorbido por ella, así como la cantidad de sitios negativos en su superficie, los cuales contribuyen a la formación de la doble capa. Considerando lo anteriormente expuesto, la disminución en la rapidez de nucleación de apatita, al disminuir el tamaño del poro, puede relacionarse también con una disminución en la rapidez de difusión de los iones hidroxilo dentro de ellos.

Tanto la cantidad de sitios SiOCa^+ , como la de sitios negativos en la superficie de la sílice aumentan conforme lo hace el pH. Entonces, como los grupos hidroxilo, -más voluminosos que el oxígeno (O^{2-}) que tiene un radio iónico de 1.4\AA ,- tienen un radio sólo algunas cuantas veces menor que los poros de la sílice de tal estudio (1.2 a 5.3 nm), su difusión dentro de los poros puede verse restringida a medida que éstos son más pequeños, con lo que se disminuye la velocidad de formación de apatita en ellos.

Por lo que respecta al tipo de grupo silanol que favorece la nucleación de apatita, quizá sea más conveniente referirse a un conjunto de grupos silanol que puedan ofrecer características químicas y estructurales adecuadas para la formación de la apatita. Los minerales fluorellestadita e hidroxilellestadita pertenecen al grupo de las apatitas y en su estructura presentan grupos silicato como sitio tetraédrico tetracoordinado: $[\text{Ca}_5(\text{SiO}_4, \text{PO}_4, \text{SO}_4)_3(\text{F}, \text{OH}, \text{Cl})]$ y $[\text{Ca}_5(\text{SiO}_4, \text{PO}_4, \text{SO}_4)_3(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl})]$ respectivamente.⁹⁹ Esto puede llevar a pensar que el sitio inicial para el crecimiento de apatita involucre un conjunto de sitios Si-O que sean similares espacialmente a los presentes en esos minerales apatíticos. Estos grupos pudieran ser generados durante el proceso de disolución de la sílice en medio acuoso.

Este tipo de sitios podrían estar también involucrados en la formación de apatita en otros sustratos^{21,52}, pues podrían formarse sobre su superficie cuando se sumergen junto con un vidrio, del que pueden disolverse grupos silicato y iones calcio, en PHS. Este primer paso serviría para formar las “semillas” que posteriormente permitan el desarrollo de cristales de apatita cuando los sustratos se sumergen en PHS nuevo.

En el procedimiento 2), la primera etapa en la síntesis de apatita es la adición de fosfato al PHS. Como éste fue consumido, es evidente que hubo formación de apatita o algún precursor. Esto puede ocurrir solamente en una solución sobresaturada, y puede explicarse considerando que la superficie de la sílice está negativamente cargada en el PHS, así que se desarrolla una doble capa eléctrica en la vecindad de la superficie de la sílice y origina una región con mayor actividad iónica que en el resto de la solución, como se ha sugerido para la zona interfacial biovidrio-solución. En esta primera etapa, el calcio necesario para la reacción con el grupo fosfato es proporcionado por el que está físicamente adsorbido en la sílice.

Las diferencias entre los cristales formados en los diferentes experimentos pueden deberse a que, en el primer método, los sitios de nucleación son menos que en el segundo (pues la cantidad de sólido utilizado es cuatro veces menor), lo que da lugar a crecimiento de pocos cristales de tamaño relativamente grande. Por el contrario, utilizando una concentración de coágulo mayor, hay más sitios de nucleación que originan más cristales de menor tamaño. A 37°C la formación de apatita es más lenta que a 90°C de acuerdo a las mediciones de fósforo, ya que la desorción de calcio es menor. Así, probablemente el número de sitios de nucleación es mayor y, por lo, tanto el tamaño de cristales es también menor. La morfología de la apatita y el efecto de la temperatura sobre su cristalinidad es similar a la reportada para fosfatos de calcio obtenidos de sistemas acuosos a pH 7.5.¹⁰⁰

En las micrografías de transmisión puede observarse que no todos los agregados están asociados con cristales de apatita. Esto puede deberse al hecho de que no todos ellos quedaron expuestos en la superficie. Sin embargo, también existe la posibilidad de que una vez formado el núcleo de apatita, el crecimiento de éste sea más rápido que la formación de otro núcleo nuevo, de tal forma que los iones se consumen preferentemente sobre el sitio en crecimiento ya formado.

CONCLUSIONES

Se ha logrado el crecimiento de apatita de fosfato de calcio sobre coágulos y soles de sílice preparada por hidrólisis de ortosilicato de tetraetilo en condiciones alcalinas. La optimización de las condiciones de crecimiento puede permitir la fabricación de un compuesto con potenciales aplicaciones como biomaterial, gracias a las propiedades de biocompatibilidad que presentan los materiales con base en fosfato de calcio.

La rapidez de crecimiento de la fase de apatita obtenida sobre la sílice, como es de esperarse depende en gran medida de la temperatura de crecimiento, así como del tipo de sustrato empleado. Temperaturas de 90°C y coágulos sin secar favorecen la rapidez de formación de apatita.

Por otra parte, se encontró que la relación molar Ca/P de la solución de crecimiento, la temperatura de reacción y el sustrato influyen en la morfología de la fase de apatita que se produce. La apatita puede crecer en forma de granos de forma y tamaños no uniformes, hojuelas y con morfología acicular, según sean la combinación de condiciones de crecimiento.

Se obtuvo un mejor recubrimiento de la sílice sobre los coágulos, tanto tratados térmicamente como sin secar, que sobre los soles precipitados. Esta diferencia puede atribuirse a las diferentes formas de agregación de la sílice. Sin embargo, factores como el pH local en la superficie, el tamaño de los soles, o el grado de sobresaturación en la solución que rodea la superficie puede influir de forma importante el crecimiento de la apatita. Esto evidencia que es necesario un estudio profundo de la superficie de la sílice, así como en las condiciones de crecimiento para lograr conclusiones más precisas.

Se ha propuesto un mecanismo para tratar de explicar la etapa inicial de la nucleación de la apatita sobre la sílice. Tal mecanismo propone como primer paso la unión química de iones calcio a un conjunto apropiado de sitios silanol en la superficie de la sílice, a los que posteriormente podrían enlazarse iones fosfato, formando un "cluster" que podrá crecer para formar un cristal de apatita.

PERSPECTIVAS Y SUGERENCIAS

La fabricación de materiales para uso quirúrgico basados en sílice y recubiertos de apatita podría ser de gran interés pues la presencia de sílice permitiría abaratar los costos de un potencial biomaterial así diseñado.

Este trabajo puede servir como base para la elaboración de implantes con porosidad entre 100 y 200 micras que por estar recubiertos de apatita facilitarían el crecimiento de tejido óseo entre los poros. Este tipo de material encontraría aplicaciones en huesos no sometidos a altos esfuerzos mecánicos. El tratamiento a altas temperaturas o la elaboración de materiales más densos mediante sinterización podrían lograr mejores propiedades mecánicas. En este caso sería necesaria la caracterización química, mecánica y biológica a fin de evaluar las propiedades del material así obtenido puesto que muy probablemente las características del material “verde” se vean alteradas por el tratamiento térmico.

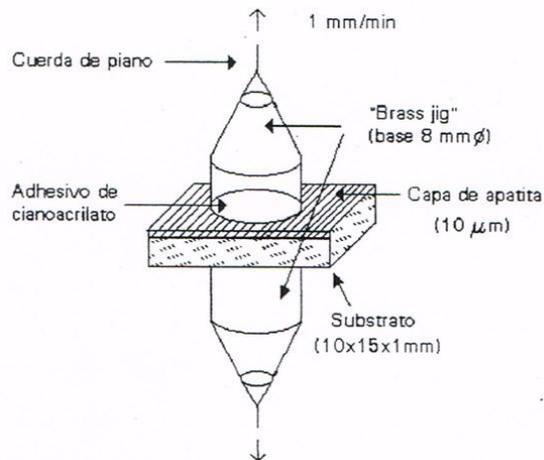
Desde el punto de vista biológico es necesario realizar evaluaciones en sistemas biológicos, a fin de conocer la tolerancia de los organismos. Así mismo, es necesario establecer qué posible relación existe entre la relación molar Ca/P y su cristalinidad, así como la presencia de sílice sin recubrir y la geometría del implante en la biocompatibilidad del material fabricado.

Por otra parte, es necesario un estudio más detallado de la superficie de la sílice tanto por métodos espectroscópicos (RMN, espectroscopía fotoelectrónica de rayos-x) como químicos (determinación de acidez superficial) y físicos (evaluación de potencial zeta, medición de área superficial, tamaño poro de la sílice), que permitan dilucidar el mecanismo preciso de crecimiento de apatita y las condiciones adecuadas para lograr el crecimiento controlado de apatita sobre sílice. Estos estudios además de arrojar luz sobre el mecanismo de crecimiento desde el punto de vista químico podrían conducir a desarrollar nuevos materiales con mejores propiedades tanto mecánicas como de biocompatibilidad.

APENDICE

Medición de la fuerza de adhesión¹⁰¹.

Un par de *brass jigs* con una base de 8 mm de diámetro se pegaron a la superficie exterior de la capa de apatita de 10µm de espesor formada en los sustratos, y al lado opuesto del sustrato con un adhesivo de cianoacrilato, como se muestra en la figura. Se permitió la solidificación del adhesivo por un día completo. Después, la fuerza de adhesión de la capa de apatita al sustrato se midió aplicando una fuerza tensil a la zona interfacial utilizando una máquina de pruebas tipo Instron (Shimazu, Kyoto, Japan) a una velocidad *crosshead* de 1mm/min, hasta que ocurrió la fractura en la zona interfacial entre la apatita y el sustrato. Se realizaron al menos cinco mediciones para cada dato.



Dimensión fractal de masa y de superficie¹⁰².

Cuando se agregan partículas coloidales, como los soles de sílice, es común que se formen estructuras fractales un fractal en masa se distingue de un objeto euclidiano convencional por el hecho de que la masa del fractal (m) se incrementa con su radio de acuerdo a la relación

$$m \propto r^{df}$$

donde df es la dimensión fractal de masa del objeto. Para un objeto euclidiano $m \propto r^3$ pero, para un fractal, $df < 3$ por lo que su densidad ($\rho \propto m/r^{df}$) disminuye a medida que el objeto aumenta en sus dimensiones. Por otra parte, una superficie fractal (s) tiene un área que se incrementa más rápidamente que r^2 . Esto puede escribirse como

$$s \propto r^{ds}$$

donde ds es la dimensión fractal de superficie. Ds relaciona el área de un objeto a su tamaño. En tres dimensiones varía desde 2 para una superficie original hasta 3 para una superficie muy “retorcida o enrollada”.

Monolito.- Objeto que puede moldearse de forma deseada, mayor de unos milímetros.

Complejación¹⁰³. - En química, se entiende como la formación de complejos. Un ion complejo se interpreta como un agregado formado cuando un ion metálico (a veces un átomo) enlaza a otros iones o moléculas diferentes que se agrupan a su alrededor. Estas moléculas del agente complejante se denominan ligandos en el complejo.

Quemisorción¹⁰⁴. - La adsorción sobre sólidos se clasifica como adsorción física (fisorción) y adsorción química (quimisorción); la línea divisoria entre las dos no siempre es nítida. En la primera, las moléculas pueden mantenerse adheridas por fuerzas relativamente débiles, mientras que en la segunda se produce una reacción química en la superficie del sólido.

La técnica de espectroscopía electrónica de rayos-X, XPS por sus siglas en inglés, también se conoce como ESCA (electron spectroscopy for chemical analysis). Esta técnica consiste en la exposición de una muestra a un haz monocromático de rayos-X. Los rayos-X se producen por emisión termoiónica, que es la misma forma en que se producen los rayos-X para propósitos médicos. Cuando el haz de rayos choca con la muestra, el átomo se ioniza y los electrones de cada nivel electrónico (1s, 2s, 3p, etc.) son expulsados con una energía cinética igual a la diferencia entre la energía del haz y la energía de ionización. Como la energía del haz es una cantidad bien definida, puede determinarse la energía de ionización de los electrones expulsados al medir su energía cinética. Un espectro de XPS para un determinado elemento consiste de varios picos obtenidos a diferentes energías, como una huella dactilar. Se pueden obtener dos tipos importantes de información:

- 1) Identificación de los elementos presentes en la muestra.

- 2) Estado de oxidación para cualquier elemento, ya que se presentan pequeños desplazamientos en la energía de enlace debidos a los cambios en los estados de oxidación.
- 3) Diferenciar un mismo elemento presente en un compuesto según su ambiente químico.

Un ejemplo¹⁰⁵ del empleo de esta técnica está en el estudio de fosfatos de calcio. XPS permite el análisis químico cualitativo y cuantitativo de fosfatos de calcio sintéticos y naturales a una profundidad de 3-4 nm de la superficie de la muestra.

Espectroscopía Raman¹⁰⁶. - Cuando un haz de radiación electromagnética incide en una partícula que es pequeña con respecto a la longitud de onda de la radiación, los electrones de la partícula están en un campo alterno intenso causado por los componentes eléctricos y magnéticos de la radiación. Dichos electrones oscilarán con la frecuencia de la radiación incidente, produciendo una radiación electromagnética de la misma frecuencia que la incidente, pero que sale de la partícula en todas direcciones. Esta es una radiación dispersa, y tal efecto se conoce como dispersión Rayleigh. Si la polarizabilidad de una partícula, generalmente una molécula, cambia en lugar de permanecer constante, entonces la frecuencia de la radiación dispersa variará igualmente. La polarizabilidad se refiere a la facilidad de separación de cargas dentro de un campo eléctrico externo.

Si una o más formas de vibración de una molécula involucra cambios en la polarizabilidad, la radiación dispersa contendrá esta frecuencia vibracional sobrepuesta a la frecuencia de la radiación incidente. Esto se conoce como efecto Raman.

Un fotón, con energía $h\nu$ (donde h es la constante de Planck y ν la frecuencia de la radiación) insuficiente para provocar cambios a un estado electrónico excitado, induce una oscilación forzada en la molécula, que se encuentra en su estado electrónico fundamental, en un nivel de vibración y rotación bajos. Si la molécula cambia de un nivel de energía E hasta otro con energía E' , la luz dispersada tiene una frecuencia de ν' y

$$h\nu + E = h\nu' + E'$$

Generalmente, la luz dispersada tiene una frecuencia más baja (llamada línea de Stokes) pues su energía se pierde hacia la molécula. Sin embargo, cuando fotón reacciona con una molécula que se encuentra en un estado excitado, la molécula puede ceder energía

al fotón de modo que en la radiación dispersada se encuentre una línea de frecuencia más alta (línea de anti-stokes). Para cualquier transición permitida habrá líneas de dos clases: Stoke y anti-Stokes, pero estas últimas son más débiles a causa del número relativamente pequeño de moléculas que se encuentran en estados excitados de energía.

La diferencia de frecuencias entre la línea de Raman y la radiación incidente es una medida de la diferencia de energía entre los niveles de energía de vibración o de rotación de la molécula, y es independiente de la frecuencia de la luz incidente. La diferencia entre los distintos niveles de energía puede calcularse partiendo de la desviación Raman ($\nu - \nu'$), por medio de

$$E' - E = h(\nu - \nu')$$

Las desviaciones observadas son generalmente del orden de $100 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ y corresponden a cambios en los niveles energéticos de vibración, pero las líneas Raman de rotación se observan también ocasionalmente. Las líneas Raman más fuertes, generalmente son las debidas a transiciones entre niveles de energía adyacentes que corresponden a una frecuencia de vibración simple, es decir, frecuencias fundamentales de vibración. Cuando hay un cambio simultáneo de energía asociado con un modo de vibración se obtienen valores correspondientes a sumas y restas de varias frecuencias fundamentales. Aunque las líneas Raman pueden corresponder a líneas infrarrojas, algunas veces corresponden a transiciones que no están permitidas en la región infrarroja.

Los diferentes grupos atómicos en un compuesto dan lugar una serie de líneas Raman que pueden ser características para tal compuesto, por lo que, la espectroscopia Raman puede utilizarse para la identificación de moléculas, componentes moleculares y estructuras cristalinas.

Resonancia Magnética Nuclear¹⁰⁶. - En la espectroscopia RMN la absorción característica de energía por núcleos que giran dentro de un potente campo magnético, después de irradiarlos con otro campo secundario más débil y perpendicular al primero, permite identificar las configuraciones atómicas en las moléculas.

Los núcleos de algunos isótopos poseen un movimiento intrínseco de giro alrededor de su eje. El propio giro (espín) de estas partículas cargadas genera un campo magnético a

lo largo del eje del espín. Si tal núcleo se coloca en un campo magnético externo, sus momentos magnéticos se podrán alinear a favor o en contra del campo aplicado. El campo magnético aplicado induce la alineación de los núcleos en contra de las tendencias desordenantes propias de los procesos térmicos. Al acrecentar la intensidad del campo magnético externo únicamente se logra aumentar la velocidad e precesión de los núcleos.

Un núcleo tiene un momento angular representado por el número cuántico del espín, I , al cual se le asignan valores de medio en medio, $0, \frac{1}{2}, 1, \dots, \frac{9}{2}$, dependiendo del núcleo en particular. Los núcleos magnéticos $I > 0$ pueden actuar recíprocamente con un campo magnético externo adoptando orientaciones discretas con sus correspondientes niveles de energía. Para núcleos como H^1, C^{13}, P^{31} con $I = 1/2$ sólo hay dos orientaciones posibles, en el sentido del campo aplicado (de menor energía) o en contra del sentido del campo (de mayor energía). A cada orientación le corresponde un nivel discreto de energía. La diferencia de energía, ΔE entre ambos niveles de energía es igual a $2\mu H_0$, donde H_0 es la intensidad del campo magnético aplicado y μ es el momento magnético que es una propiedad característica de cada tipo de núcleo. ΔE es directamente proporcional a la intensidad del campo magnético aplicado. En las determinaciones de RMN es común el empleo de un campo de 14,092 gauss, lo que da lugar a un $\Delta E = 5.7 \times 10^{-3}$ cal/mol, para los protones. A temperatura ambiente la energía térmica es considerablemente mayor y es suficiente para mantener igual densidad nuclear en ambos niveles, aproximadamente. En efecto, a $25^\circ C$, de acuerdo a la distribución de Boltzmann, por cada millón de protones sólo hay tres protones más en el nivel inferior.

El pequeño exceso de núcleos que se encuentra en el nivel inferior se puede elevar a niveles superiores por absorción de energía radiante. Como $\Delta E = h\nu = 2\mu H_0$, para esta pequeña diferencia de energía corresponde una frecuencia ν de 60 MHz. Este valor se encuentra dentro de la región de la radiofrecuencia con una $\lambda = 5$ m. Este proceso de absorción de energía se denomina "resonancia magnética". O se puede decir también que el núcleo "resuena" a la frecuencia de resonancia adecuada. En el campo de los 14 000 gauss, las frecuencias de radiación correspondientes requeridas para producir resonancias se encuentran en la región de las radiofrecuencias (1-45 MHz).

En un campo magnético externo fijo, la radiofrecuencia exacta a la cual un núcleo absorbe depende del ambiente químico que lo rodea, en la molécula en la que se encuentra,

debido a que la densidad electrónica en su alrededor produce campos locales que causan efectos de protección. De esta manera, los núcleos de un mismo tipo de isótopo, dispuestos en varios sitios de una molécula presentan frecuencias de resonancia ligeramente distintas. La detección de las diferentes absorciones de un mismo núcleo en una molécula da lugar a un espectro que permite la identificación de la molécula, o el ambiente químico de un determinado núcleo. Para núcleos como el C^{13} , los ensanchamientos de las líneas de resonancia en materiales policristalinos resultan del hecho de que las moléculas se encuentran orientadas en todas las direcciones posibles. La protección que recibe cualquier núcleo particular de su ambiente electrónico está en función de la orientación de las moléculas que lo contienen. Este tipo de ensanchamiento de las líneas, debido a los desplazamientos químicos por anisotropía, puede eliminarse significativamente haciendo girar la muestra muy rápidamente (más de 2kHz) alrededor de un eje orientado en un ángulo aproximado de 54.7° (el ángulo mágico) con respecto al campo magnético externo, en esta forma, la calidad del espectro de RMN se aproxima a la que se obtiene de las muestras líquidas.

Difracción de rayos-X¹⁰⁶. - La difracción de ondas electromagnéticas se produce porque los elementos de una rejilla de difracción absorben la radiación y luego sirven como fuente secundaria reemitiendo en todas las direcciones. La difracción se presenta cuando los espacios entre los planos de las rejillas tienen una magnitud del orden de la longitud de onda del haz que llega a ellos. Los espaciamientos interatómicos en los cristales son del orden de 1 \AA y la radiación electromagnética de esta longitud de onda está en la región de los rayos-X. Por esta razón, los cristales se comportan como redes de difracción para los rayos-X. En este caso, las fuentes de radiación secundaria son los átomos, o más precisamente, sus electrones.

Las ondas de las radiaciones al ser difractadas por los diferentes planos de la red cristalina pueden dar lugar a interferencias constructivas o destructivas; es decir, pueden estar en fase o fuera de fase entre sí. Las ondas dispersadas desde un plano de puntos de la red, con un ángulo igual al de incidencia están en fase entre sí. Existe una relación simple entre la distancia entre las capas o planos de átomos, la longitud de onda de los rayos X y el ángulo de difracción, conocida como ecuación de Bragg, que es

$$n\lambda = 2d\sin\theta$$

donde θ = ángulo entre el rayo incidente y los planos atómicos

d = espacio entre los planos

λ = longitud de onda de los rayos-X

n = entero positivo

La interferencia constructiva entre las ondas dispersadas por los puntos de la red produce un haz de rayos-X, difractado sólo para aquellos ángulos de incidencia que satisfacen la ecuación anterior.

Como la cantidad de átomos en un cristal es muy grande, sería casi nula la posibilidad de que las ondas dispersadas se pudiesen interferir constructivamente, excepto por el hecho de que, en un cristal, los átomos se encuentran distribuidos en una forma regular, repetitiva y ordenada.

Los átomos localizados exactamente sobre los planos de un cristal, contribuyen grandemente a la intensidad del haz difractado. Los átomos dispuestos exactamente en la parte media entre los planos, ejercen una interferencia destructiva máxima, y los localizados en una posición intermedia pueden interferir constructiva o destructivamente, dependiendo de su localización exacta; en todo caso, su interferencia será inferior a la interferencia máxima.

La posición, o ángulos, en que los haces son difractados por un cristal depende únicamente de la forma y tamaño de la unidad repetitiva del cristal y de la longitud de onda de la radiación incidente; la intensidad de los haces difractados depende del número y tipo de átomos contenidos en el cristal y de su posición en la unidad fundamental repetitiva del cristal, o sea, de la celda reticular unitaria. Por consiguiente, no existen dos sustancias que posean patrones de difracción de rayos-X idénticos, cuando se considera tanto la dirección como la intensidad de todos los haces difractados, por lo que dichos patrones constituyen una huella digital del compuesto cristalino y pueden ser empleado para la determinación de estructuras cristalinas.

Dispersión de luz dinámica¹⁰⁷.- Las partículas de tamaño submicrométrico en suspensión muestran un significativo movimiento al azar debido a las colisiones con las moléculas del

medio líquido que lo rodea (movimiento browniano), Como resultado, cuando una dispersión coloidal se ilumina por una fuente de luz, las fases de cada una de las ondas dispersada (que llegan a un detector a un ángulo fijo) fluctúan al azar con el tiempo debido a las fluctuaciones en las posiciones de las partículas que dispersan las ondas. Debido a que las ondas se interfieren mutuamente, la intensidad neta de la luz dispersada fluctúa al azar con el tiempo alrededor de un valor medio. La dispersión de luz dinámica aprovecha el hecho de que la dependencia con el tiempo de las fluctuaciones de la intensidad (calculada a partir de una función de autocorrelación de la intensidad dispersada) puede relacionarse con el coeficiente de distribución traslacional de las partículas, las cuales a su vez pueden relacionarse con el tamaño de las partícula a través de la ecuación de Stokes-Einstien. La técnica de dispersión de luz dinámica, también conocida como dispersión de luz cuasi-elástica, permite la determinación de tamaños promedio y distribución de tamaños de partículas, dentro de ciertos intervalos de tamaños.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- P.J. Doherty, R.L. Williams y D.F. Williams, "Biomaterial Tissue Interface". *Advances in Biomaterials* 10, Elsevier, Amsterdam, 1992, p. 527-530.
- 2.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, p. 5.
- 3.- Sitio web: www.swri.org/3pub/ttoday/fall/implant.htm
- 4.-
- 5.- L.L. Hench y E.C. Ethridge, "Biomaterials: an interfacial approach", Academic Press, Inc., San Diego, 1982, p. 3.
- 6.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, pp. 100.
- 7.- Ibid., pp. 105-112.
- 8.- Ibid., pp. 121-132.
- 9.- G.G. Hawly, "The Condensed Chemical Dictionary", Van Nostrand Reinhold Company, 10th ed. New York, 1981.
- 10.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, p. 158.
- 11.- L.L. Hench y E.C. Ethridge, "Biomaterials: an interfacial approach", Academic Press, Inc., San Diego, 1982, p. 63-64.
- 12.- L.L. Hench, *Journal of the American Ceramic Society*, 74[7], 1487-510 (1991).
- 13.- R. White, J. Weber, y E. White, *Science*, 176, 992 (1972).
- 14.- D.M. Roy y S. A. Linnehan, *Nature*, 247, 220-227 (1974).
- 15.- R.H. Doremus, *Journal of Materials Science*, 27, 258-297 (1992).
- 16.- L. L. Hench y J. Wilson, *Science*, 226, 630 (1984).
- 17.- T. Kokubo, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 120, 138-151 (1990).
- 18.- L. L. Hench y M. Ogino, *Ibid.*, 38 & 39, 673 (1980).
- 19.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, pp. 144-146
- 20.- K.K. Chawla, "Ceramic Matrix Composites", Chapman & Hall, London. 1993, p. 16.
- 21.- T. Kokubo, *Biomaterials*, 12, 155-163 (1991).
- 22.- M. A. Barbosa (ed), "Biomaterials Degradation", North Holland, Amsterdam, 1991, p. 146.
- 23.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, pp. 173-177
- 24.- M. A. Barbosa (ed), "Biomaterials Degradation", North Holland, Amsterdam, 1991, p. 169.
- 25.- R. Z. LeGeros, "Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basilea, 1991, pp 155-156.
- 26.- P.W. Brown. y B. Constantz, "Hydroxyapatite and Related Materials", CRC Press Inc., Boca Raton, 1994, pp 46-48.
- 27.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, p. 182.

- 28.- P.W. Brown, y B. Constantz, "Hydroxyapatite and Related Materials", CRC Press Inc., Boca Raton, 1994, pp 30-33.
- 29.- I. Arita, Tesis Doctoral, CISESE, Mexico (1995).
- 30.- R. Z. LeGeros, "Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basilea, 1991, p. 108.
- 31.- K.A. Khor, P. Chang y Y. Wang. *JOM*, **49**[2], 51-57 (1997).
- 32.- M. Nagano, T. Nakamura, T. Kokubo, M. Tanahashi y M. Ogawa, *Biomaterials*, **17**, 1771-1777 (1996).
- 33.- D.M. Liu, H.M. Chou, J.D. Wu y M.S. Tung, *Materials Chemistry and Physics*, **37**, 39-44 (1994).
- 34.- L.D. Piveteau, M.I. Girona, L. Schlapbach, P. Barboux, J.P. Boilot y B. Gasser, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **10**, 161-167 (1997).
- 35.- M.G.S. Murray, J. Wing, C.B. Ponton y P.M. Marquis, *Journal of Materials Science*, **34**, 3061-3074 (1995).
- 36.- P. Van Landuyt, F. Li, P. Keustermans, J.M. Streydio, F. Delannay y E. Munting, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **6**, 8-13 (1995).
- 37.- H. Lu, Z. Qu y Y. Zhou, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **9**, 583-587 (1998).
- 38.- M. Yoshimura, H. Suda, K. Okamoto y K. Ioku, *Journal of Materials Science*, **29**, 3399-3402 (1994).
- 39.- I. Arita, D.S. Wilkinson M.A. Mondragón y V. Castaño, *Biomaterials*, **16**, 403-408 (1995).
- 40.- ASTM Standard F 1185 – 88 Composition of Ceramic Hydroxylapatite for Surgical Implants. 1993.
- 41.- S. Amrah-Bouali, C. Rey, A. Lebubble y D. Bernache, *Biomaterials*, **15**[4], 269-272 (1994).
- 42.- A. Tempieri, G. Celotti, F. Szontagh y E. Landi, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **6**, 29-37 (1995).
- 43.- M. Nagano, T. Nakamura, M. Tanahashi y M. Ogawa, *Biomaterials*, **17**[18], 1771-1777 (1996).
- 44.- S.M. Jones, S. E. Friberg y J. Sjoblom, *Journal of Materials Science*, **29**, 4075-4080 (1994).
- 45.- M.M. Pereira, A. E. Clark y L. L Hench, *Journal of the American Ceramic Society*, **78**[9], 2563-68 (1995).
- 46.- R. Li, A. E. Clark y L.L. Hench, *Journal of Applied Biomaterials*, **2**, 231-239 (1991)
- 47.- P. Li, I. Kangasniemi, K. De Groot, T. Kokubo y AU Yli-Urpo, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **168**, 281-286 (1994).
- 48.- P. Li, C. Ohtsuki. T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, T. Nakamura y T. Yamamuro, *Journal of the American Ceramic Society*, **75**[8], 2094-97 (1992).
- 49.- P. Li, C. Ohtsuki, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, T. Nakamura y T. Yamamuro, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **4**, 127-131 (1993).
- 50.- S.B. Cho, Ohtsuki. T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, T. Nakamura, T. Kitsugi y T. Yamamuro, *Journal of the American Ceramic Society*, **78**[7], 1769-74 (1995).

- 51.- M. Tanahashi T. Kokubo, Y. Nakamura, Y. Katsura y M. Nagano, *Biomaterials*, **17**, 47-51 (1996).
- 52.- G.J. Liu, F. Miyaji, T. Kokubo, H. Takadama, Y. Nakamura y A. Murakami, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **9**, 285-290 (1998).
- 53.- R. Z. LeGeros, "Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basilea, 1991, p. 110.
- 54.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, pp. 19-20.
- 56.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, pp. 412.
- 57.- J. W. Boretos y M. Eden, "Comtemporary Biomaterials", Noyes Publications, NJ, 1984, p. 478.
- 58.- G.J. Tortora y N.P. Anagnostakos, "Principios de Anatomía y Fisiología", Harla, México, DF. 1993, p. 170.
- 59.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, p. 8. y 22-23
- 60.- Ibid., p. 320.
- 61.- G.J. Tortora y N.P. Anagnostakos, "Principios de Anatomía y Fisiología", Harla, México, DF. 1993, p. 164.
- 62.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, p. 332 y 333.
- 63.- C. Ohtsuki, T Kokubo, T. Yamamuro, *J. Non-Cryst. Solids*, **143**, 84-94 (1992).
- 64.- J.J. Gilman. (ed.), "The Art and Science of Growing Crystals", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1966, pp. 276-277.
- 65.- P. Li y F. Zhang, *Ibid.*, **119**, 112-118 (1990).
- 66.- P. Li y F. Zhang. F. Zhang y T. Kokubo, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **3**, 452-456 (1992).
- 67.- Ö.H. Andersson, K.H. Karlsson y K. Kangasniemi, *J. Non-Cryst. Solids*, **119**, 290-296 (1990).
- 68.- Ö.H. Andersson, K.H. Karlsson, *J. of Non-Cryst. Solids*, **129**, 145-151 (1991).
- 69.- P. Li, K. Nakanishi, T. Kokubo y K. De Groot, *Biomaterials*, **14** [13], 963-719 (1993).
- 70.- S . B. Cho, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, C. Ohtsuki y T. Nakamura, *Journal of Biomedical Materials Research (Applied Biomaterials)*, **33**, 145-151 (1996).
- 71.- S. B. Cho, F. Miyaji, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga y T. Nakamura, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **9**, 279-284 (1998).
- 72.- T. Peltola, M. Jokinen, H. Rahiala, E. Levänen, J.B. Rosenholm, I. Kangasniemi y A. Yli-Urpo, *Journal of Biomedical Materials Research*, **44**, 12-21 (1999).
- 73.- S. B. Cho, F. Miyaji, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga y T. Nakamura, *Journal of Biomedical Materials Research*, **32**, 375-381 (1996).
- 74.- M. Tanahashi, T. Yano, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto, T. Nakamura y T. Yamamuro, *Journal of Biomedical Materials Research*, **29**, 349-357 (1995).
- 75.- J.M. Damen y J.M. Ten Cate, *J. Dent. Res*, **68**, 355-359 (1989).
- 76.- R. Hill, *Journal of Materials Science Letters*, **15** [13], 1122-1125 (1996).

- 77.- D. Segal, "Chemical Synthesis of Advanced Ceramic Materials", Cambridge University Press, 1989, Oxford, p. 33y 40-41.
- 78.- C. J. Brinker y G. W. Scherer, "Sol-Gel Science", Academic Press, New York, 1990, pp. 139-149.
- 79.- R.D. González, T. López y R. Gómez, *Catalysis Today*, **35**, 293-317, (1997).
- 80.- C. J. Brinker y G. W. Scherer, "Sol-Gel Science", Academic Press, New York, 1990, pp.108-111 y 273.
- 81.- R. K. Iler, "The Chemistry of Silica", John Wiley & Sons Inc. New York, 1979, pp. 364-384.
- 82.- Ibid., pp. 22.
- 83.- Ibid., pp. 631 y 625-26.
- 84.- Ibid., pp. 639 y 645.
- 85.- Ibid., pp. 40 y 63.
- 86.- APHA, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 14th ed., Washington DC, 1976.
- 87.- A. Ravaglioli y A. Krajewski, "Bioceramics", Chapman & Hall, London, 1992, p. 175.
- 88.- R. Z. LeGeros, "Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basilea, 1991, p. 48.
- 89.- Idem., p. 61.
- 90.- W.P. Rothwell, J.S. Waugh y J. P. Yesinowski, *Journal of the American Chemical Society*, **102**, 2637 (1980).
- 91.- W.P. Aue, A.H. Roufosse, M.J. Glimcher y F.G. Griffin, *Biochemistry*, **23**, 6110-6114 (1984).
- 92.- P. Boudeville, S. Serra, J.M. Leloup, J. Margerit, B. Pauvert y A. Terol, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **10**, 99-109 (1999).
- 93.- P. Li, N. Kazuki, T. Kokubo y K. De Groot, *Biomaterials*, **1** [13], 963-968 (1993).
- 94.- M. A. Walters, Y.C. Leung, N.C. Blumenthal, R.Z. LeGeros y K. A. Konsker, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **39**, 193-200 (1990).
- 95.- P.N. de Aza, F. Guitián, y C. Santos, *Chemistry of Materials*, **9**, 916-922 (1997).
- 96.- R. K. Iler, *Journal of Colloid and Interface Science*, **53** [3], 476-488 (1975).
- 97.- R. Zerrouk, A. Foissy, R. Mercier, Y. Chevallier y J.C. Mourawski, *Journal of Colloid and Interface Science*, **139** [1], 20-29 (1990).
- 98.- R. K. Iler, "The Chemistry of Silica", John Wiley & Sons Inc., New York, 1979, pp. 664 y 666
- 99.- P.W. Brown. y B. Constantz, "Hydroxyapatite and Related Materials", CRC Press Inc., Boca Raton, 1994 p. 34.
- 100.- R. Z. LeGeros, "Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basilea, 1991, p. 19.
- 101.- M. Tanahashi, T. Yao, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto, T. Nakamura, T. Yamamuro, *Journal of the American Ceramic Society*, **77**[11], 2085-808 (1994).
- 102.- C. J. Brinker y G. W. Scherer, "Sol-Gel Science", Academic Press, New York, 1990, pp. 7-9.
- 103.- J.B. Russel y A. Larena, "Química", McGraw-Hill. México, D.F., 1988.
- 104.- I.N. Levine, "Fisicoquímica", McGraw-Hill. México, D.F., 1988.

- 105.- P.W. Brown. y B. Constantz, "Hydroxyapatite and Related Materials", CRC Press Inc., Boca Raton, 1994 p. 319-324.
- 106.- H.H. Willard, L.L. Merrit, J.A. Dean, F.A. Settel. "Métodos Instrumentales de Análisis", Grupo. Ed. Iberoamérica, México, D.F., 1991.
- 107.-C.C. Craver y T. Prover (eds), "Polymer Characterization", A.C.S., Washington, D.C., 1990 p. 106.